

# 温阳振衰颗粒对慢性心衰模型大鼠心肌中MEF2表达的影响<sup>△</sup>

蔡虎志<sup>1\*</sup>,王笑莹<sup>2</sup>,陈青扬<sup>3</sup>,陈新宇<sup>4#</sup>(1.湖南中医药大学第一附属医院科研科,长沙 410007;2.贵阳中医学院基础医学院,贵阳 550000;3.湖南中医药大学第一附属医院中心重症加强护理病房,长沙 410007;4.湖南中医药大学第一附属医院,长沙 410007)

中图分类号 R256.21 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)34-4780-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.34.07

**摘要** 目的:研究温阳振衰颗粒对慢性心衰(CHF)模型大鼠心肌中肌细胞增强子(MEF2)表达的影响。方法:将60只大鼠随机抽取10只作为正常对照组(生理盐水),其余50只大鼠以阿霉素建立CHF模型后随机分为模型对照组(生理盐水)、阳性对照组[依那普利1.8 mg/(kg·d)]和温阳振衰颗粒低、中、高剂量组[0.72、1.44、2.88 g/(kg·d)],每天ig给药2次,连续给药4周。给药结束后,检测各组大鼠心功能指标[左心室射血分数(LVEF)、左心室短轴缩短率(LVFS)、左心室收缩末期内径(LVSD)和左心室舒张末期内径(LVDD)],检测各组大鼠心肌中MEF2和磷酸化MEF2(p-MEF2)mRNA及其蛋白的表达。结果:与正常对照组比较,模型对照组和各给药组大鼠LVEF、LVFS明显降低( $P<0.05$ ),LVSD、LVDD明显升高( $P<0.05$ );心肌中p-MEF2蛋白表达明显下调( $P<0.05$ ),MEF2 mRNA及蛋白表达差异无统计学意义( $P>0.05$ )。与模型对照组比较,各给药组大鼠心功能指标均明显改善( $P<0.05$ );心肌中p-MEF2蛋白表达均明显上调( $P<0.05$ ),MEF2 mRNA及蛋白表达差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。结论:温阳振衰颗粒能拮抗阿霉素诱导的MEF2蛋白磷酸化的下调作用,这可能是其治疗CHF的机制之一。

**关键词** 温阳振衰颗粒;慢性心衰;心肌细胞增强子;磷酸化心肌细胞增强子;大鼠

## Effect of Wenyang Zhenshuai Granules on the Expression of Myocardial MEF2 in Model Rats with Chronic Heart Failure

CAI Huzhi<sup>1</sup>, WANG Xiaoying<sup>2</sup>, CHEN Qingyang<sup>3</sup>, CHEN Xinyu<sup>4</sup>(1. Section of Scientific Research, the First Affiliated Hospital of Hunan University of TCM, Changsha 410007, China; 2. College of Basic Medicine, Guiyang University of Chinese Medicine, Guiyang 550000, China; 3. ICU Center, the First Affiliated Hospital of Hunan University of TCM, Changsha 410007, China; 4. The First Affiliated Hospital of Hunan University of TCM, Changsha 410007, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the effect of Wenyang zhenshuai granules on myocardial MEF2 in model rats with chronic heart failure (CHF). METHODS: 10 rats were randomly selected in 60 rats as normal control group (normal saline), the remaining 50 rats were randomly divided into model control group (normal saline), positive control group [enalapril, 1.8 mg/(kg·d)], Wenyang zhenshuai granules low-dose, medium-dose, high-dose groups [0.72, 1.44, 2.88 g/(kg·d)] after induced to CHF models by adriamycin, intragastrically administrated twice a day, for 4 weeks. After administration, heart function indexes [left ventricular ejection fraction (LVEF), left ventricular fractional shortening (LVFS), left ventricular end-diastolic diameter (LVSD) and left

[10] Jiang L, Huang J, Wang Y, *et al.* Metabonomic analysis reveals the CCl<sub>4</sub>-induced systems alterations for multiple rat organs[J]. *J Proteome Res*, 2012, 11(7):3848-3859.

[11] Griffin JL, Mann CJ, Scott J, *et al.* Choline containing metabolites during cell transfection: an insight into magnetic resonance spectroscopy detectable changes[J]. *FEBS Lett*,

2001, 509(2):263-266.

[12] Goldberg AL. Protein degradation and protection against misfolded or damaged proteins[J]. *Nature*, 2003, 426(6968):895-899.

[13] Zira A, Kostidis S, Theocharis S, *et al.* <sup>1</sup>H NMR-based metabonomics approach in a rat model of acute liver injury and regeneration induced by CCl<sub>4</sub> administration[J]. *Toxicology*, 2013, 303(1):115-124.

[14] Harvey PJ, Gready JE, Hickey HM, *et al.* <sup>31</sup>P and <sup>1</sup>H NMR spectroscopic studies of liver extracts of carbon tetrachloride-treated rats[J]. *NMR Biomed*, 1999, 12(6):395-401.

(收稿日期:2017-06-16 修回日期:2017-09-22)

(编辑:林静)

△ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81173213、81704-061);湖南省教育厅资助项目(No.15C1047);2016年度湖南省中医药科研计划项目(No.201651)

\* 助理研究员,主治医师,博士。研究方向:中医药防治心脑血管疾病。电话:0731-85369076。E-mail:805032226@qq.com

# 通信作者:教授,主任医师,博士生导师,博士。研究方向:中医药防治心脑血管疾病。电话:0731-85600703。E-mail:chenxinyuchen@163.com

ventricular end-diastolic diameter (LVDD)] of rats in each group were detected, protein expressions of myocardial MEF2 and phosphorylated MEF2 (p-MEF2) and mRNA expression of MEF2 were determined. RESULTS: Compared with normal control group, LVEF, LVFS of rats in model control group and each administration group were significantly reduced ( $P<0.05$ ), LVSD, LVDD were significantly increased ( $P<0.05$ ); protein expression of myocardial p-MEF2 was significantly down-regulated ( $P<0.05$ ), and there were no statistical significances in protein or mRNA expressions of MEF2 ( $P>0.05$ ). Compared with model control group, heart function indexes of rats in each administration group were significantly improved ( $P<0.05$ ); protein expression of myocardial p-MEF2 was significantly up-regulated ( $P<0.05$ ), and there were no statistical significances in protein or mRNA expressions of MEF2 ( $P>0.05$ ). CONCLUSIONS: Wenyang zhenshuai granule can antagonize the down-regulation effect of adriamycin-induced MEF2 protein phosphorylation, which may be one of the mechanisms of its treatment for CHF.

**KEYWORDS** Wenyang zhenshuai granules; Chronic heart failure; Myocardial cell enhancer; Phosphorylated myocardial cell enhancer; Rats

慢性心衰(Chronic heart failure, CHF)作为复杂的临床综合征,一直是心血管内科临床防治的重点病症<sup>[1]</sup>。据流行病学调查显示,CHF总患病率为0.4%~2%,其中老年人患病率更高,达到10%。该病一旦确诊,患者5年生存率与恶性肿瘤相当,而该病发病率近年呈持续升高趋势<sup>[2-3]</sup>。温阳振衰颗粒是湖南中医药大学第一附属医院的院内制剂,其基本组方由制附子、干姜、甘草、红参、茯苓、麦冬、五味子等组成,将红参粉碎备用,其余6味药材用10倍量水提取2次,合并2次提取液,滤过,浓缩为浸膏,将浸膏干燥粉碎后与红参粉混匀制粒即得,为临床治疗CHF的有效中药复方,在医院门诊及住院部已经安全、有效地使用了8年有余。胞外信号调节激酶5(Extracellular signal-regulated kinase 5, ERK5)是丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinase, MAPK)家族中重要的一个亚族,本课题组前期研究发现,ERK5磷酸化蛋白具有显著的心肌保护特点,且温阳振衰颗粒可以明显上调ERK5磷酸化蛋白的表达<sup>[4]</sup>。本研究主要探讨ERK5下游关键调控基因肌细胞增强因子2(Myocyte enhancer factor 2, MEF2)在CHF的病理过程中具有怎样的表达特点与规律,以及温阳振衰颗粒是否通过ERK5下游通路调控蛋白MEF2的表达从而发挥对CHF的治疗作用,为阐明温阳振衰颗粒治疗CHF的作用机制提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

CUSON Sequoia 512型彩色多普勒超声诊断仪(美国西门子公司);LE-80K型超速离心机(美国Beckman公司);DYCZ-24F型电泳仪(北京六一仪器厂);Nova-Blot型转印仪(美国GE Healthcare公司);7300型Real-time聚合酶链式反应(RT-PCR)检测仪(美国Applied Biosystems公司);TG-16M型低温冷冻离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

温阳振衰颗粒(湖南中医药大学第一附属医院提供,批号:201516,规格:每1g颗粒制剂相当于5.93g中药饮片);依那普利片(山东辰欣药业股份有限公司,批号:201525,规格:10mg/片);盐酸阿霉素注射剂(深圳万

乐药业有限公司,批号:201508,规格:10mg/瓶);MEF2、磷酸化MEF2(p-MEF2)抗体(美国Santa Cruz公司);SYBR Green PCR试剂盒(美国Thermo公司,批号:K0223)。

### 1.3 动物

健康SPF级SD大鼠60只,♀♂各半,体质量200~220g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,动物生产许可证号:SCXK(湘)2014-002。将大鼠置于光/暗周期为12h/12h(光照时间为6:00~18:00)、背景噪音为(40±10)db、温度为(20±3)℃条件下适应性饲养1周后用于实验,饲养期间自由饮食。

## 2 方法

### 2.1 CHF模型的制备

用生理盐水将阿霉素制备成质量浓度为2.0mg/mL的溶液,根据大鼠体质量对给药剂量进行调整,以1.5mL/kg的标准对大鼠iv给药,每周注射1次,连续注射6周,最终注射的阿霉素总量为9mL/kg<sup>[5]</sup>。

### 2.2 分组

将60只大鼠随机抽取10只作为正常对照组,其余50只大鼠按“2.1”项下方法进行CHF造模。在首次注射阿霉素后第20天(即第3次注射阿霉素后的第6天),对所有实验大鼠行超声心动图检查,并对阿霉素造模效果进行评价。然后将50只造模大鼠根据心功能分级先分层后随机分为5组,每组10只,分别为模型对照组、阳性对照组和温阳振衰颗粒低、中、高剂量组。

### 2.3 给药

自实验第21天开始,造模大鼠在iv阿霉素溶液的同时ig相应药物:温阳振衰颗粒低、中、高剂量组大鼠分别按0.72、1.44、2.88g/(kg·d)的剂量(分别根据临床用量的1、2、4倍剂量换算而得)ig温阳振衰颗粒生理盐水溶液,阳性对照组大鼠按1.8mg/(kg·d)的剂量ig依那普利生理盐水溶液<sup>[6]</sup>,每天给药2次,每次3mL,连续给药4周;正常对照组大鼠ig等体积生理盐水。

### 2.4 样本采集与指标检测

2.4.1 心功能指标 实验大鼠称质量后取平卧位固定,采用彩色多普勒超声诊断仪随机携带软件自动计算其左心室射血分数(LVEF)、左心室短轴缩短率(LVFS)、左心

室收缩末期内径(LVSD)、左心室舒张末期内径(LVDD)。

**2.4.2 Western blot法检测大鼠心肌中MEF2、p-MEF2蛋白表达** 将各组实验大鼠处死后取心肌组织,加组织裂解液,提取总蛋白,Bradford法测定蛋白质浓度;然后分装,-80℃保存,备用。检测时分别加入抗MEF2(1:500)、p-MEF2(1:250)抗体,4℃过夜。TBS-Tween 20漂洗10 min×3次,将膜取出,置于另一杂交袋中,加入酶标二抗(1:2 000),室温杂交2 h。TBST漂洗10 min×3次,化学发光液曝光,显像,扫描(300 dpi),以MEF2、p-MEF2蛋白条带灰度值与内参GAPDH蛋白条带灰度值的比值表示MEF2、p-MEF2蛋白的相对表达水平。

**2.4.3 RT-PCR法检测大鼠心肌中MEF2 mRNA表达** 取实验大鼠心肌组织,液氮保存。采用Trizol一步法提取心肌组织总RNA,于-80℃保存。根据美国国立生物技术信息中心(NCBI)基因库中基因序列进行引物设计:MEF2上游为5'-ATTTCAGCGGCAGCCTTGG-3',下游为5'-AGTCACCTGTCGGTTCCTCTC-3',扩增长度为188 bp;GAPDH上游为5'-GTCGGTGTGAACG-GATTG-3',下游为5'-TCCCATCTCAGCCTTGAC-3',扩增长度为181 bp。扩增条件:94℃、5 s,60℃、60 s,72℃、2 s,42个循环;基因扩增前94℃预变性10 min,扩增后72℃延伸10 min。反应结束后建立RT-PCR溶解曲线,读取目标扩增产物达到设定阈值所需的循环数( $c_t$ )值,以GAPDH为内参,校正每个样品的 $c_t$ 值得出 $\Delta c_t$ ( $\Delta c_t = c_{t\text{-MEF2}} - c_{t\text{-GAPDH}}$ )值,表达差异以 $2^{-\Delta\Delta c_t}$ 表示,式中 $\Delta\Delta c_t = \Delta c_{t\text{给药组}} - \Delta c_{t\text{正常对照组}}$ 。

## 2.5 统计学方法

采用SPSS 17.0统计分析软件包进行结果数据处理。所有资料均进行正态性检验,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组均数比较采用单因素方差分析,方差齐时采用LSD法进行组间两两比较,方差不齐时采用Tamhane' T2法。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 各组大鼠心功能指标测定结果

与正常对照组比较,其余各组大鼠LVEF、LVFS均显著降低( $P < 0.05$ ),LVSD、LVDD均显著升高( $P < 0.05$ )。与模型对照组比较,各给药组大鼠LVEF、LVFS均显著升高( $P < 0.05$ ),LVSD、LVDD均显著降低( $P < 0.05$ );且以温阳振衰颗粒中、高剂量组效果最为显著,与其他给药组比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),结果见表1。

### 3.2 各组大鼠心肌中MEF2、p-MEF2蛋白表达

与正常对照组比较,其余各组大鼠心肌中p-MEF2蛋白表达均显著下调( $P < 0.05$ ),而MEF2蛋白表达差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与模型对照组比较,各给药组大鼠心肌中p-MEF2蛋白表达均明显上调( $P < 0.05$ );其中以温阳振衰颗粒中、高剂量组上调最为明显,与其他各给药组比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。各组间MEF2蛋白表达差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。蛋

白表达电泳图见图1、测定结果见表2。

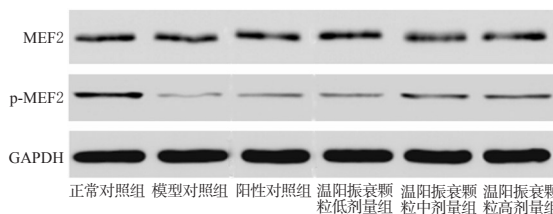
**表1 各组大鼠心功能指标的测定结果( $\bar{x} \pm s, n = 10, \%$ )**

**Tab 1 Determination results of heart function related indexes of rats in each group( $\bar{x} \pm s, n = 10, \%$ )**

组别	LVEF	LVFS	LVSD	LVDD
正常对照组	74.81±7.28	45.03±3.67	2.81±0.15	5.34±0.31
模型对照组	40.96±4.86*	27.24±2.43*	4.81±0.20*	7.57±0.43*
阳性对照组	47.52±5.87** <sup>△</sup>	33.08±2.92** <sup>△</sup>	4.20±0.21** <sup>△</sup>	6.68±0.37** <sup>△</sup>
温阳振衰颗粒低剂量组	49.52±5.68** <sup>△</sup>	32.08±2.58** <sup>△</sup>	4.18±0.16** <sup>△</sup>	6.59±0.41** <sup>△</sup>
温阳振衰颗粒中剂量组	58.83±6.01**	37.65±3.21**	3.85±0.18**	6.02±0.33**
温阳振衰颗粒高剂量组	59.95±5.32**	36.12±3.01**	3.96±0.19**	6.17±0.35**

注:与正常对照组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型对照组比较,\*\* $P < 0.05$ ;与温阳振衰颗粒中、高剂量组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$

Note: vs. normal control group, \* $P < 0.05$ ; vs. model control group, \*\* $P < 0.05$ ; vs. Wenyang zhenshuai middle-dose, high-dose group, <sup>△</sup> $P < 0.05$



**图1 各组大鼠心肌中MEF2、p-MEF2蛋白表达的电泳图**

**Fig 1 Electrophoresis chart of myocardial MEF2, p-MEF2 expressions of rats in each group**

**表2 各组大鼠心肌中MEF2、p-MEF2蛋白表达测定结果( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )**

**Tab 2 Determination results of myocardial MEF2, p-MEF2 expression levels of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )**

组别	MEF2/GAPDH	p-MEF2/GAPDH
正常对照组	0.45±0.03	0.45±0.05
模型对照组	0.44±0.03	0.06±0.02*
阳性对照组	0.43±0.03	0.14±0.01** <sup>△</sup>
温阳振衰颗粒低剂量组	0.45±0.03	0.13±0.01** <sup>△</sup>
温阳振衰颗粒中剂量组	0.44±0.03	0.26±0.03**
温阳振衰颗粒高剂量组	0.45±0.04	0.25±0.03**

注:与正常对照组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型对照组比较,\*\* $P < 0.05$ ;与温阳振衰颗粒中、高剂量组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$

Note: vs. normal control group, \* $P < 0.05$ ; vs. model control group, \*\* $P < 0.05$ ; vs. Wenyang zhenshuai middle-dose, high-dose group, <sup>△</sup> $P < 0.05$

### 3.3 各组大鼠心肌中MEF2 mRNA表达测定结果

与正常对照组比较,其余各组大鼠心肌中MEF2 mRNA的表达差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。正常对照组、模型对照组、阳性对照组和温阳振衰颗粒低、中、高剂量组大鼠心肌MEF2 mRNA表达的相对水平依次为 $0.08 \pm 0.02$ 、 $0.11 \pm 0.04$ 、 $0.09 \pm 0.03$ 、 $0.09 \pm 0.03$ 、 $0.08 \pm 0.03$ 、 $0.10 \pm 0.04$ 。

## 4 讨论

MEF2属于MADS蛋白家族,在心肌中高表达<sup>[6]</sup>。已发现的脊椎动物中MEF2亚型有MEF2A、MEF2B、

MEF2C 和 MEF2D 4 种<sup>[7]</sup>, 心肌中主要亚型为 MEF2A 和 MEF2D<sup>[8]</sup>。MEF2 表达与活性组蛋白乙酰基转移酶 (HATs) 呈正相关。组蛋白去乙酰化酶 (HDAC4) 或 HDAC5 上有一个 MEF2 停靠区域, 钙调蛋白或伴侣蛋白 14-3-3 结合至该区域可解除 HDAC 对 MEF2 的抑制作用, 使 MEF2 释放并可通过与其他因子的相互作用启动肥厚基因转录。MEF2 基因失活可致心脏发育停止、心房钠尿肽 (ANP) 基因表达下调, 缺乏 MEF2 的小鼠表现出非正常的心脏功能, 但可抵抗压力诱导的心脏重塑 (如心肌肥厚)<sup>[9]</sup>。心肌细胞形态学变化导致心肌肥厚的状态下, MEF2A 及 MEF2C 并不随钙调蛋白磷酸酶的活化而进一步变化, 表明 MEF2 因子诱发心肌细胞肥大的过程相对独立, 不受钙调蛋白磷酸酶的调节。MEF2 更可对细胞骨架和线粒体网状结构产生影响, 并最终造成心力衰竭过程中常见的心肌收缩功能失调<sup>[10]</sup>。MEF2 是 ERK5 蛋白的重要下游靶蛋白, ERK5 蛋白磷酸化后可结合于 MEF2 的 MADS 结构域, 能够磷酸化 MEF2A、MEF2C 和 MEF2D 的顺式激活结构域而提高转录活性。此外, ERK5 含有一个转录激活结构域, 这表明 ERK5 作为辅激活因子募集基本转录器而激活 MEF2 依赖的转录<sup>[11]</sup>。这两个机制都适用于 ERK5 对 MEF2 活性的调节。

对于温阳振衰颗粒各组分的主要成分, 目前已有较为成熟的相关研究。其中, 附子为毛茛科植物乌头的子根, 2005 年版《中国药典》(一部) 记载: 其“通行十二经……回阳救逆”<sup>[12]</sup>。目前研究中, 不仅从附子中提取出了有稳定强心作用且副作用小的正性肌力化合物, 还进一步发现其为能够修复心肌受损细胞、恢复心肌搏动能力的脂溶性化合物。干姜为姜科植物姜的根茎, 《本草经疏》认为: 干姜“辛可散邪理结, 温可除寒通气, 故主胸满咳逆上气”; 现代药理研究发现, 干姜能够改善心肌缺氧和局部血液循环<sup>[13]</sup>, 减缓血栓形成。红参为五加科植物人参的主根加工品, 有大补元气、回阳救逆之用; 现代研究认为, 人参皂苷类能明显增加缺氧缺糖心肌细胞的搏动幅度和存活率<sup>[14]</sup>。甘草为豆科甘草属草本植物的根及根茎, 近年来, 诸多研究发现, 甘草主要有效成分中的甘草酸、甘草次酸以及疏水性黄酮类化合物是抗动脉粥样硬化的主要活性成分<sup>[15]</sup>, 且甘草次酸与甘草总黄酮也有明显的抗心律失常、减少室颤的作用。

本课题组前期研究发现, 与阳性对照药依那普利对比, 温阳振衰颗粒能有效改善 CHF 实验动物症状, 同时还可以显著上调心肌中 ERK5 蛋白磷酸化的表达, 且效果较依那普利更为显著<sup>[4]</sup>。本研究则进一步发现, 温阳振衰颗粒不仅对 CHF 大鼠心功能指标有较为显著的改善作用, 且可以显著调控 p-MEF2 蛋白的表达, 但其对 ERK5 蛋白的关键下游靶基因 MEF2 蛋白和 MEF2 mRNA 的影响并不显著。这说明 MEF2 蛋白主要以磷酸化修饰来发挥其生物学作用, 且温阳振衰颗粒主要通过调控 MEF2 蛋白磷酸化而产生治疗作用, 但具体调控

模式尚需进一步研究。

## 参考文献

- [1] Hunt SA. ACC/AHA 2005 guideline update for the diagnosis and management of chronic heart failure in the adult: a report of the American College Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines[J]. *Circu*, 2005, 112 (12): 154-235.
- [2] Castillo A, Edriss H, Selvan K, et al. Characteristics of patients with congestive heart failure or chronic obstructive pulmonary disease readmissions within 30 days following an acute exacerbation[J]. *Qual Manag Health Care*, 2017, 26(3): 152-159.
- [3] Reyes EB, Ha JW, Firdaus I, et al. Heart failure across Asia: same healthcare burden but differences in organization of care[J]. *Int J Cardiol*, 2016, 11(15): 163-167.
- [4] Chen XY, Cai HZ, Chen QY, et al. Effects of Wenyang-zhenshuai granule on ERK1/2 and ERK5 activity in the myocardial tissue in a rabbit model of adriamycin-induced chronic heart failure[J]. *Inter J Clin Exp Med*, 2015, 8 (11): 20732-20741.
- [5] 余洪, 陈新宇, 卢青, 等. 大鼠 CHF 心阳虚型模型的建立[J]. *中医药导报*, 2013, 19 (3): 6-8.
- [6] 殷培培, 吴剑, 龚惠, 等. 钙离子钙调蛋白激酶 II-组蛋白去乙酰化酶信号通路与心肌肥厚的研究进展[J]. *上海医学*, 2013, 36(11): 976-979.
- [7] 王艳玲, 黄晓巍, 李哲, 等. 鹿茸多肽诱导心肌干细胞向心肌细胞分化的机制研究[J]. *中国药房*, 2016, 27(34): 4780-4783.
- [8] Xu J, Gong N L, Bodi I, et al. Myocyte enhancer factors 2A and 2C induce dilated cardiomyopathy in transgenic mice[J]. *Biol Chem*, 2006, 281(14): 9152-9162.
- [9] Pereira AH, Clemente CF, Cardoso AC, et al. MEF2C silencing attenuates load-induced left ventricular hypertrophy by modulating mTOR/S6K pathway in mice[J]. *PLoS One*, 2009, 4(12): e8472.
- [10] Inagawa K, Miyamoto K, Yamakawa H, et al. Induction of cardiomyocyte-like cells in infarct hearts by gene transfer of Gata4, Mef2c, and Tbx5[J]. *Circ Res*, 2012, 111 (9): 1147-1156.
- [11] Lee KS, Park JH, Lim HJ, et al. HB-EGF induces cardiomyocyte hypertrophy via an ERK5-MEF2A-COX<sub>2</sub> signaling pathway[J]. *Cell Signal*, 2011, 23(7): 1100-1109.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2005 年版. 北京: 化学工业出版社, 2005: 132.
- [13] 营大礼. 干姜化学成分及药理作用研究进展[J]. *中国药房*, 2008, 19(8): 1435-1436.
- [14] 孙娜, 徐钢, 徐珊, 等. 人参炮制对其化学成分和药理作用的影响[J]. *中国药房*, 2016, 27(6): 857-859.
- [15] 张明发, 沈雅琴. 甘草抗动脉粥样硬化和抗血栓形成研究进展[J]. *西北药学杂志*, 2011, 26(3): 222-226.

(收稿日期: 2017-03-30 修回日期: 2017-10-04)

(编辑: 林 静)