中美澳科研發表:鹿心小分子活性肽對心肌細胞損傷保護作用的重要成果

主要作者:陳克成,男,研究員,主持了鹿腦小分子活性肽及鹿心小分子活性肽的研發

由澳大利亞三葉草健康研究院副院長陳克成科研團隊又一立項研發的“鹿心小分子活性肽對心肌細胞損傷的保護作用”，在美國 Goldenwell Biotech,ine、中國吉林農業大學藥材學院、長春中醫藥大學附屬醫院、吉林金梓源生物科技股份有限公司支持下發表了重要成果的科研論文。

缺血性心臟病 (Ischemic cardiomyopathy, ICM)是常見心臟病的代表,冠心病、心肌衰弱、心肌慢性炎症、心肌細胞損傷、心血管細胞損傷及其心梗都是同類危害人類健康的常見病,其發病率和病死率不斷增加,心肌缺血後再灌注階段又加重缺血心肌組織的病理損害,這種缺血後再灌注階段造成的損害稱爲心肌缺血 - 再灌注損傷 (Myocardialischemia reperfusion injury,MIRI)。心肌 MIRI 的發生發展機制十分複雜,主要是心肌細胞缺氧 / 復氧損傷,包括氧化應激、炎症反應、細胞凋亡、心肌纖維能量代謝障礙、血管內皮細胞功能障礙及鈣超載等因素。

而缺血性心臟病可簡單分爲冠狀動脈血管疾病和心肌疾病。冠狀動脈血管狹窄、堵塞,導致血流中斷,引起心肌梗死。針對冠狀動脈血管狹窄、堵塞,臨床多采用藥物溶栓,或行經經皮冠狀動脈介入術(percutaneous coronary intervention, PCI)、冠狀動脈旁路移植術(coronary artery bypass grafting, CABG)等恢復血流灌注,但在使用當前技術手段後,缺血性心臟病病死率並未因上述技術的開展下降,反而呈增高趨勢。分析其原因,是心肌梗死發作時心肌細胞大量死亡。人類左心室包含大約 20~40 億個心肌細胞。成體心肌細胞被認爲是終末分化細胞,多數爲多倍體細胞,不能進入細胞周期,失去分裂增殖能力。雖然低等脊椎動物心肌細胞表現出較強的心臟再生能力,新生哺乳動物心肌細胞短期內也有一定的再生增殖能力,但其僅能維持水平極低的日常代謝更新的需要,無力在心肌受損後進行補充和修復。

在靶向小分子活性肽干預實驗中,鹿心小分子活性肽對 H / R 損傷心肌細胞酶學指標的影響,對心肌細胞氧化應激指標的影響,心肌細胞 SOD 活性、MDA 含量的影響，心肌細胞中炎性因子水平的影響等作了多方面對應的數據分析。在論文討論中,心肌缺血 / 再灌注由多個環節引起,氧自由基損傷和鈣超載是比較公認的兩個因素。心肌缺血缺氧時,活性氧 (Reactive oxygen species,ROS) 產生增多。ROS 攻擊細胞膜上的不飽和脂肪酸,造成脂質過氧化損傷，產生大量丙二醛。脂質過氧 化物(Lipid peroxidation,LPO) 是生物膜和亞細胞膜中磷脂質所含多元不飽和脂肪酸被自 由基損傷、氧化而生成的過氧化産物。它可引起膜損傷、酶抑制、溶酶體 釋放,蛋白質交聯、DNA 和 RNA 結構破壞等生化毒性反應。自由基損傷的特點是使 SOD 活性下降在生命體的氧化與抗氧化平衡自我保護系統中起着極爲重要的作用。它們的活力反映了機體清除氧自由基的能力,脂質過氧化作用參與了心肌缺血缺氧的過程,冠心病患者血清中 SOD 活性下降及 MDA 含量

陰離子自由基清除酶 SOD 活性; 降低心肌細胞培養液中炎性因子 TNF - α 、IL - 6 和 IL-1β 含量。 另外,本試驗結果顯示,鹿心小

鹿心小分子活性肽对 Wistar 乳鼠心肌细胞 H/R 损伤的保护作用*

陈克成[1,2], 丁云录[3], 魏　宇[4], 李庆杰[3**], 刘　爽[1**]

(1. 吉林金梓源生物科技有限公司, 四平 136000; 2. 澳大利亚三叶草健康研究院, 悉尼 NSW 2000); 3. 长春中医药大学附属医院, 长春 130021; 4. 吉林农业大学中药材学院, 长春 130118)

摘　要: 采用原代乳鼠心肌细胞建立缺氧/复氧(H/R)损伤模型,测定对照组、H/R 损伤组及鹿心小分子活性肽 50.000,25.000,12.500,6.250,3.125 g/mL 加药剂量组细胞培养液上清中 CK、AST 和 LDH-L 活力,MDA 含量及心肌细胞内 SOD 活性,炎性细胞因子 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 的含量。结果表明:与 H/R 模型组比较,鹿心小分子活性肽为 3.125~50.000 g/mL 时,显著或极显著降低细胞中 AST 活力水平和 IL-1β 含量、上调 SOD 水平(P<0.05 或 P<0.01);6.25~50.00 g/mL 时,CK 活力水平、TNF-α 含量显著或极显著下降(P<0.05 或 P<0.01);3.125~25.000 g/mL 时,IL-6 含量显著或极显著下降(P<0.05 或 P<0.01);6.25~25.00 g/mL 时,显著下调 MDA 含量(P<0.05);12.5~50.0 g/mL 时,LDH-L 活力水平显著或极显著下降(P<0.05 或 P<0.01)。说明鹿心小分子活性肽通过降低心肌酶释放、抑制炎症反应、减轻氧化应激对 H/R 心肌细胞损伤起到保护作用,并呈剂量依赖性。

关键词: 鹿心小分子活性肽; Wistar 乳鼠; H/R 损伤; 心肌细胞; 氧化应激; 炎性因子

中图分类号: S874; R285.5　　**文献标志码:** A　　**文章编号:** 1007-7448(2021)02-0077-05

引文格式: 陈克成,丁云录,魏宇,等.鹿心小分子活性肽对 Wistar 乳鼠心肌细胞 H/R 损伤的保护作用[J].经济动物学报,2021,25(2):77-81,90.

DOI: 10.13326/j.jea.2021.1595

心血管疾病是威脅人類健康的重要疾病。儘管有許多藥物治療心血管疾病。但其仍然是老年人的主要死因,文獻研究表明,在目前的醫藥技術手段中,還有大量慢性心力衰竭患者因得不到有效治療，而轉爲心肌急性心肌梗死。因此,探索有效治療心血管兒疾病的方法意義顯著。心血管再生治療方案的提出爲心血管疾病的治療提供了新的方向,該方案主要通過修復或再生受損的心肌和血管來重建或恢復心

國際學術中已有相關報道,正常成人心肌細胞平均每年僅更新 1%。成人心肌細胞中具有分裂能力的細胞頻次比例僅爲 1/3 000~1/1 000。一次心肌梗死在幾小時內就可以丟失掉 20%~40%的心肌細胞,而損傷的心肌不能依靠心肌細胞增殖而自愈,最終引起心力衰竭。心力衰竭是各種心臟疾病發展的終末階段,也是以心肌細胞丟失、殘留心肌細胞功能惡化爲主要特徵。而目前缺乏有效的使梗死心肌修復的

表 1　鹿心小分子活性肽对 H/R 损伤心肌细胞 LDH-L、CK 和 AST 活力的影响

Table 1　Effects of deer heart small molecule active peptides on the activity of LDH-L, CK and AST in H/R injured cardiomyocytes

组别	ρ/(μg·mL^{-1})	样本数	LDH-L 活力/(U·L^{-1})	CK 活力/(U·L^{-1})	AST 活力/(U·L^{-1})
对照	0	6	479.07±119.75**	877.98±248.02**	168.26±28.48**
H/R 模型	0	6	935.86±196.56	1 585.34±295.30	303.23±73.47
鹿心小分子活性肽	50.000	6	593.62±229.70*	1 211.36±239.62*	203.33±47.87*
鹿心小分子活性肽	25.000	6	513.21±135.26**	988.83±270.48**	180.66±42.29**
鹿心小分子活性肽	12.500	6	634.68±153.37*	1 071.40±290.98**	196.35±30.62*
鹿心小分子活性肽	6.250	6	715.94±164.66	1 202.05±237.54*	204.61±45.93*
鹿心小分子活性肽	3.125	6	739.33±169.77	1 339.35±257.10	215.28±32.58*

注:与模型组比较,“*”表示差异显著(P<0.05);“**”表示极差异显著(P<0.01)。下表同

表 2　鹿心小分子活性肽对 H/R 损伤心肌细胞 SOD 活性、MDA 含量的影响

Table 2　Effects of deer heart small molecule active peptides on SOD activity and MDA content in H/R injured cardiomyocytes

组别	ρ/(μg·mL^{-1})	样本数	SOD 活力/(U·mL^{-1})	c(MDA)/(nmol·mL^{-1})
对照	0	6	119.95±14.15**	28.50±4.08**
H/R 模型	0	6	73.13±10.18	41.72±6.40
鹿心小分子活性肽	50.000	6	97.67±16.93*	34.85±4.93
鹿心小分子活性肽	25.000	6	105.44±15.24**	29.89±7.23*
鹿心小分子活性肽	12.500	6	96.96±16.20*	30.77±6.69*
鹿心小分子活性肽	6.250	6	97.75±19.11*	32.38±4.54*
鹿心小分子活性肽	3.125	6	93.50±16.08*	34.76±5.19

升高是反映心肌缺血缺氧程度的重要標誌。此外,心肌細胞缺氧損傷引起胞漿酶釋放,細胞酶學變化可反映細胞損傷程度。缺氧缺糖可造成新生大鼠心肌細胞損傷，導致 CK、AST 和 LDH-L 釋放增加。不同程度心肌細胞損傷時與心肌酶釋放成正比,故測定培養基中心肌酶活性是反映心肌細胞損傷程度的一種敏感且較爲簡便的指標。炎症在心肌缺血再灌注損傷中發揮重要作用,H / R 誘導心肌細胞受損時,中性粒細胞與粘附因子結合,釋放多種炎性因子,如 TNF-α 、IL- 6、IL- 1β 等,並增加血管通透性,促使炎性因子擴散到心肌細胞,最終導致心肌功能障礙。大量研究發現,氧化應激、炎症等反應參與心肌損傷過程。

表 3　鹿心小分子活性肽对 H/R 损伤心肌细胞 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 含量的影响

Table 3　Effects of deer heart small molecule active peptides on the contents of TNF-α, IL-1β and IL-6 in H/R injured cardiomyocytes

组别	ρ/(μg·mL^{-1})	样本数	ρ(TNF-α)/(pg·mL^{-1})	ρ(IL-1β)/(pg·mL^{-1})	ρ(IL-6)/(pg·mL^{-1})
对照	0	6	8.46±0.17**	34.73±8.82**	23.60±6.47**
H/R 模型	0	6	15.93±2.23	79.27±22.85	41.43±6.97
鹿心小分子活性肽	50.000	6	12.09±3.32*	50.34±15.52*	38.24±7.77
鹿心小分子活性肽	25.000	6	10.88±3.45*	35.98±9.09**	28.60±6.04**
鹿心小分子活性肽	12.500	6	10.59±3.28**	37.18±6.81**	24.71±6.08**
鹿心小分子活性肽	6.250	6	12.51±2.83*	48.13±8.64*	29.35±5.85**
鹿心小分子活性肽	3.125	6	12.60±3.46	51.80±16.15*	30.97±7.10*

本試驗以心肌細胞在 H / R 損傷後心肌酶 CK、AST 和 LDH-L 的釋放量,超氧陰離子自由基清除酶 SOD 活性，過氧化脂質代謝産物 MDA 含量，炎性因子 TNF-α 、IL- 6 和 IL- 1β 含量爲檢測指標，測定鹿心小分子活性肽在 Wistar 乳鼠心肌細胞 H / R 損傷過程中，對上述各項指標的影響。結果表明,鹿心小分子活性肽可以明顯降低心肌細胞在 H / R 損傷後 CK、AST 和 LDH - L 的釋放量; 降低過氧化脂質代謝産物 MDA 含量; 升高心肌細胞內超氧分子活性肽在離體條件下對心肌細胞的保護作用,在一定的濃度(劑量) 範圍內呈現良好的量 - 效關係,可以改善心肌供血供氧,增強心肌動力,恢復冠狀動脈血管彈性(增強心臟血液灌注量) , 這對該藥以後的臨床應用具有一定的指導意義。

此次論文的發表,爲人類心肌、心血管損傷、中老年群體衰老性心臟功能減退找到了外源性補充修復再生的新途徑,對更進一步靶向性解決心肌、心血管等老年性高發疾病,陳克成團隊又向新的目標發起了挑戰,在下階段鹿心小分子活性肽的科研驗證中,將對其促進肝細胞生長因子及血管內皮生長因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)分泌,發揮心肌修復作用;通過旁分泌作抑制 T 細胞、B 細胞、自然殺傷細胞等多種免疫細胞的活性,減少炎症細胞 CD68+ 的數量，下調單核趨化蛋白 -1 表達,調節局部炎症反應;通過旁分泌作用阻斷 STAT3 等信號通路,釋放 VEGF、碱性成纖維細胞生長因子、胰島素樣生長因子 -1、蛋白激酶 B 等，抑制梗死區域周圍心肌細胞的凋亡、促進心肌重建,從而起到改善心功能,減輕心力衰竭或減緩心力衰竭發生的作用,使治療心臟病主要目的得以實現。

福布斯:幹一任美國總統 特朗普賺了 24 億美元

特朗普(專題)干一任美國總統,到底賺了多少錢?每年 40 萬美元的年薪他都捐了,九牛一毛而已,算他的收益當然要看特朗普集團的吸金能力。

《福布斯》算過。19 日,《福布斯》報道稱,特朗普集團在 2017 年 1 月至 2020 年 12 月期間,一共賺了 24 億美元(155 億元人民幣(專題))。

不過,也有美媒提出了不同看法。《華盛頓郵報》21 日在報道中提到，特朗普擔任總統期間,他的生意縮水了。

當年當上總統之後,按道理,特朗普應該避免總統職務和自己的商業集團發生利益衝突。而他怎么做到一邊做着總統，一邊賺的盆滿鉢滿?

2017 年 1 月，特朗普就任美國第 45 屆總統。他的律師説,特朗普會將其資産存入一個信託基金——“特朗普可撤銷信託”，另外他還會把公司交給自己的兩個兒子小唐納德(Donald Trump Jr.)和艾瑞克(Eric Trump)管理,從而避免任何形式的利益衝突。

《華爾街日報》稱,當時,特朗普家族的一位律師聲稱,特朗普集團將會遵守“對新交易的嚴格限制”。通過特朗普集團旗下酒店從外國政府賺的錢，作爲總統的特朗普會全部捐給美國財政部。

然而，這種安排讓一些倫理學專業人士感覺不對頭。他們認爲,這些措施沒有在特朗普的企業和他的總統職位之間 “建起一堵眞正的墻”。

現在,特朗普早就已經卸任了,身份也從總統搖身一變成了普通人。爲什么他的企業還在由同一家信託公司經營?唯一不同的是,該信託的受託人從 2 個變成了 1 個。

一開始,“特朗普可撤銷信託” 的受託人是特朗普的兒子小唐納德和時任特朗普集團首席財務官的艾倫·威塞爾伯格(Allen Weisselberg)。後來,威塞爾伯格在被控詐騙、共謀和重大盜竊罪後辭職,因此“特朗普可撤銷信託”的受託人只剩下小唐納德一個人。

有專家告訴《華盛頓郵報》，事實上,特朗普從來沒有兌現過他的承諾,放棄對其公司的控制權。美國佩斯大學法學教授布里奇特·克勞福 德 (Bridget J Crawford)一陣見血地説:“事實上,這個可撤銷信託毫無意義，相當于把東西從左手換到右手而已。”

所以,特朗普擔任總統期間,他的企業沾光賺錢了嗎?從《福布斯》的報道來看,確實如此。

從財産記録、債務文件、證券備案等各種文件曝光的信息來看，從 2017 年 1 月至 2020 年 12 月,特朗普集團共獲得了 24 億美元(155 億元人民幣)的收入。最賺錢的是特朗普的私人俱樂部和高爾夫球場,四年賺了 9.4 億美元。

邁阿密的特朗普國家多拉爾度假村賺的最多,4 年總收入 2.7 億美元，海湖莊園賺了 9000 萬美元,位于新澤西(專題)州貝德明斯特的特朗普國家高爾夫俱樂部賺了賺了 6000 萬美元。

當然,特朗普品牌旗下的俱樂部只是整個集團收入的其中一部分。疫情暴發,特朗普的俱樂部和酒店隨後相繼關門之後,特朗普集團商業房地産租賃客戶價格的暴漲,幫助集團提高了利潤。

《福布斯》估計，如果沒有疫情,特朗普的收入可能會高更多,疫情暴發導致他的收入下降到“僅有”4.5 億美元。

然而,《華盛頓郵報》的報道和《福布斯》的觀點似乎相反。《華盛頓郵報》認爲,特朗普的生意在他總統任職期間出現縮水。因爲疫情,有四家酒店倒閉了,一些大樓還通過將“特朗普”的字樣從建築表面移除，從而和這個名字脱離聯繫。

美司法部要求將特朗普稅表交國會

中新網 8 月 1 日電 據美國中文網報道,美國司法部 7 月 30 日轉變態度稱，國稅局(IRS)必須將前總統特朗普的稅表提交給國會。一名聯邦法官 7 月 31 日表示,給特朗普 3 天時間挑戰司法部的命令。

報道稱，哥倫比亞特區地方法院法官特雷弗·麥克法登表示,特朗普及其律師必須在 8 月 4 日之前做出回應。

不過，特朗普和他的律師目前都沒有表示,他們是否會挑戰司法部的命令。

7 月 30 日,美國司法部表示,國稅局必須向國會公佈特朗普的納稅申報表，這與其在特朗普政府期間的立場相反。

司法部法律顧問辦公室在一份長達 39 頁的意見中表示，民主黨領導的衆議院籌款委員會提出了一項具有合法立法目的的請求，想要查看特朗普的納稅申報表，以評估國稅局如何審計特朗普的稅表。

此前，特朗普一直拒絶公佈他的所得稅申報表，打破了候選人和前總統設定的數十年先例，他一再表示他的申報正在接受國稅局的審計。但是,實際上,納稅人可以在審計期間向公衆公佈他們的納稅申報表。

7 月 30 日的決定是在美國最高法院表示特朗普的長期會計師必須將他的稅表交給曼哈頓地區檢察官萬斯一年多之後做出的，萬斯辦公室的傳票是作爲刑事調查的一部分發出的。

7 月，特朗普集團及其首席財務官艾倫·魏塞爾伯格被萬斯辦公室指控犯罪，這是檢方對該集團進行數年調查後提出的首項刑事指控。檢方指特朗普集團在長達 15 年的時間里持續進行稅務欺詐。