

# “清心通脉饮”对动脉粥样硬化兔模型 相关炎症因子的影响研究

刘学谦<sup>1,2</sup> 曹守沛<sup>2</sup> 宋耀鸿<sup>2</sup>

(1. 太仓市中医医院, 江苏太仓 215400; 2. 南京中医药大学附属南京中医院, 江苏南京 210001)

**摘要** 目的:观察清心通脉饮对动脉粥样硬化(AS)兔模型的治疗作用,并探索其可能的机制。方法:新西兰兔采用股动脉球囊扩张术建立AS模型,造模成功后随机分为模型组、阿托伐他汀组和清心通脉饮低、中、高剂量[3.33, 6.66, 13.32 g/(kg·d)]组,每组10只,另取10只兔作为正常组。各组均灌胃给予相应药物或生理盐水,每日1次,连续4周。末次给药后麻醉采血,全自动生化分析仪检测总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量,酶联免疫吸附测定(Elisa)法检测血清C反应蛋白(CRP)、白介素-1(IL-1)、干扰素- $\beta$ (IFN- $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平。取腹主动脉,苏木精-伊红染色法(HE)观察腹主动脉病理学变化,蛋白免疫印迹法(WB)检测腹主动脉组织中p38丝裂原活化蛋白酶(p38 MAPK)、核转录因子kappa B p65(NF- $\kappa$ B p65)、c-Jun氨基末端激酶(JNK)、调节蛋白激酶(ERK)蛋白及磷酸化p38 MAPK、NF- $\kappa$ B p65、JNK、ERK(p-p38 MAPK、p-NF- $\kappa$ B p65、p-JNK、p-ERK)蛋白表达情况。结果:与正常组比较,模型组兔血脂水平和TNF- $\alpha$ 、IL-1、CRP、IFN- $\beta$ 含量均显著升高( $P<0.01$ ),腹主动脉p-p38 MAPK、p-NF- $\kappa$ B、p-JNK、p-ERK蛋白表达明显升高( $P<0.01$ )。与模型组比较,清心通脉饮中、高剂量组和阿托伐他汀组血清TC、TG、LDL-C水平明显降低( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ );清心通脉饮高剂量组和阿托伐他汀组HDL-C水平明显升高( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ );清心通脉饮各剂量组和阿托伐他汀组TNF- $\alpha$ 、IL-1、CRP、IFN- $\beta$ 含量明显降低( $P<0.01$ ),腹主动脉p-p38 MAPK、p-NF- $\kappa$ B p65、p-JNK、p-ERK蛋白表达明显降低( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ )。模型组腹主动脉内膜破坏,结缔组织增生,泡沫细胞形成,纤维斑块钙化,坏死;清心通脉饮高剂量组和阿托伐他汀组动脉壁规整,平滑,未见明显脂质沉积,动脉内皮增生不明显。结论:清心通脉饮可改善动脉粥样硬化进展,其治疗动脉粥样硬化的机制可能与调节血脂代谢,下调p-p38 MAPK、p-NF- $\kappa$ B p65、p-JNK、p-ERK蛋白表达,抑制炎症反应,降低炎症因子的表达有关。

**关键词** 实验性动脉粥样硬化;清心通脉饮;炎症因子;主动脉;病理学;新西兰大白兔;雄性;实验研究

**中图分类号** R543.505 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X(2020)01-0079-05

**基金项目** 国家自然科学基金面上项目(81273716);江苏省“六大人才高峰”资助项目(WSN-067);南京市医学科技发展项目(YKK15119)

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是一种以侵犯大中型动脉血管为主的慢性疾病<sup>[1]</sup>,是很多心脑血管疾病的主要病理基础。脂质沉积是AS病灶发展的重要环节之一<sup>[2]</sup>,AS病灶中的脂质主要来自富含胆固醇的低密度脂蛋白(LDL-C),并沉积于动脉壁,损伤动脉内皮功能,促进AS病变的发生发展<sup>[3]</sup>。随着对AS机制研究的深入,研究者发现AS具有慢性炎症反应特征的病理过程,炎症反应贯穿从脂纹形成到斑块破裂的整个动脉粥样硬化发病的各个阶段<sup>[4]</sup>。AS可归属于中医学“头痛”“眩晕”“胸痹”“脉积”“痰核”等范畴。国医大师周仲瑛教授提出“瘀热论”与瘀热相搏证<sup>[5]</sup>。以往研究中,我们探究了不稳定型心绞痛的瘀热证型<sup>[6]</sup>,并采用宋耀鸿所拟之清心通脉饮治疗获得良好的疗效,其机制可能是通过降低巨噬细胞凋亡抑制AS进

展<sup>[7]</sup>。本研究建立了新西兰兔AS模型,观察清心通脉饮对AS模型兔血清中相关炎症因子、MAPK/NF- $\kappa$ B信号通路和动脉内膜的影响,进一步揭示清心通脉饮治疗AS可能的机制,为临床应用提供依据。

## 1 实验材料

**1.1 实验动物** 新西兰大白兔60只,雄性,普通级,4月龄,体重2.0~2.5 kg,由南京青龙山动物繁殖场提供,合格证号:SCXK(苏)2012-0008。本实验经南京中医药大学实验动物伦理委员会批准(编号:ACU160808)

**1.2 药物与试剂** 清心通脉饮(药物组成:太子参10 g、麦冬10 g、生地黄10 g、丹参10 g、赤芍10 g、牛膝10 g、银花10 g、甘松10 g),由南京中医药大学附属南京中医院制剂室制备,浓缩,每毫升含生药2.5 g。阿托伐他汀片剂,20 mg/片(辉瑞制药有限公司,批号:170918)。

戊巴比妥钠(德国进口分装,批号:922L0315);青霉素钠(哈药集团有限公司,批号:20170513); $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)、核转录因子kappa B p65(NF- $\kappa$ B p65)、调节蛋白激酶(ERK)、c-Jun氨基末端激酶(JNK)、p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)、磷酸化NF- $\kappa$ B p65(p-NF- $\kappa$ B p65)、p-ERK、p-JNK、p-p38 MAPK(美国CST公司,批号:03/2017,20170701,20161001,20161203,20161211,20160606,20160921,20160820,20160814);兔C反应蛋白(CRP)、白介素-1(IL-1)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、干扰素- $\beta$ (IFN- $\beta$ )ELISA试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,批号:4339660,4327714,20171226,0510791)。

1.3 主要仪器 全自动生化分析仪(7600-020型,日本HITACHI公司;CA-1500型,日本Cysmex公司);EnSpire酶标仪(美国PerkinElmer公司);5417R型高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司);HZL-X160型恒温振荡培养箱;TS-1000型摇床(中国海门市其林贝尔仪器制造有限公司);Powerpac Basic型湿转印系统(美国伯乐公司);Bio-rad型蛋白电泳仪/伯乐小型垂直电泳槽(美国伯乐公司);Mini-protean Tetra Cell型蛋白转印槽(美国伯乐公司);MM400混合球磨机(德国Retsch公司);1.5 mm $\times$ 15 mm PTCA扩张导管(美国Boston Scientific公司);0.014英寸导引导丝(美国Boston Scientific公司);球囊扩张压力泵(美国Cordis公司)。

## 2 实验方法

2.1 股动脉球囊扩张术建立AS模型 造模白兔使用3%利多卡因麻醉,穿刺右侧股动脉1.5~2 cm,沿0.014英寸导引导丝将球囊送入动脉中约15~20 cm,使用压力泵加压(6~8 atm)扩张球囊,抗阻力向后牵拉球囊约8~10 cm,抽空球囊30 s,再次扩张牵拉球囊,充分损伤腹主动脉内膜。缝合,碘伏擦拭切口。术后连续7 d每日予肌肉注射青霉素80万单位,并常规碘伏清创,预防感染。饲以配方高脂饲料(胆固醇2%,猪胆盐0.5%,猪油10%,蛋黄粉5%,丙基硫氧嘧啶0.2%,与82.3%基础饲料混合,由南京青龙山动物繁殖场配制)。12周后,取一只实验兔处死,截取主动脉根部至髂总动脉做病理切片,进行HE染色,观察造模情况。动脉可见内膜变薄,内皮破坏,纤维斑块生成,视为造模成功。

2.2 分组与给药 将造模成功的白兔随机分为模型组、阿托伐他汀组(2.6 mg/kg)和清心通脉饮高、中、低剂量(3.33 g/kg、6.66 g/kg、13.32 g/kg)组,每组10只。另取10只正常白兔作为正常组,予正常饲料。各组分别灌胃给予相应的药物,正常组、模型组灌胃等容量生理盐水,每日1次,连续4周。

## 2.3 指标观察

2.3.1 生化分析法检测血脂 末次给药后次日以3%戊巴比妥钠,按照1 mL/kg麻醉动物,颈动脉采血。室温静置2 h,离心半径10.27 cm,1 800 r/min离心15 min,取上清置于-80℃冰箱保存,用HITACHI 7600全自动生化分析仪测定总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)。

2.3.2 HE染色观察腹主动脉病理形态 各组白兔颈动脉采血后处死,开腹截取腹主动脉至髂动脉分叉处,生理盐水冲洗干净,剪取部分组织分别做病理学切片。动脉标本置于4%的多聚甲醛中固定24 h(4℃),常规取材、脱水、石蜡包埋,沿动脉每隔1 mm横断面切取数张4  $\mu$ m厚的切片,HE染色,光镜下观察。

2.3.3 Elisa法测定血清炎症因子水平 按照Elisa试剂盒操作说明书检测各组兔血清中CRP、IL-1、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 水平。

2.3.4 Western Blot检测相关蛋白表达 取腹主动脉组织100 mg,加入1 mL细胞裂解液提取总蛋白,BCA法进行蛋白定量,4倍蛋白上样缓冲液煮沸5 min,蛋白变性。取蛋白样品进行10%分离胶和5%浓缩胶上样电泳,电泳结束后湿法转膜,转膜完毕,置于封闭液中室温非特异性封闭2 h。加入待检测蛋白一抗(1:1 000),4℃缓慢摇动过夜。室温TBST洗膜后孵育二抗(1:1 000,用5%BSA稀释),置摇床上,室温反应2 h。抗体结合区带用化学发光法检测,以 $\beta$ -actin作为内参进行相对定量,用Image J软件分析灰度值。

2.4 统计学方法 所有数据用SPSS 19.0软件分析,以( $\bar{x} \pm s$ )表示,先使用单因素方差分析,有差异后2组之间的比较用Student' s-t test检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 3 实验结果

3.1 各组白兔腹主动脉病理形态比较 见图1。模型组动脉内膜破坏,结缔组织增生,泡沫细胞形成,纤维斑块钙化,坏死;清心通脉饮低剂量组动脉脂质沉积,动脉内膜破坏,平滑肌细胞迁移,纤维帽形成,动脉管腔狭窄;清心通脉饮中剂量组可见脂质沉积,动脉内膜增厚;清心通脉饮高剂量组和阿托伐他汀组动脉壁规整,平滑,未见明显脂质沉积,动脉内皮增生不明显。

3.2 各组白兔血脂水平比较 见表1。

3.3 各组白兔血清中炎症细胞因子水平比较 见表2。

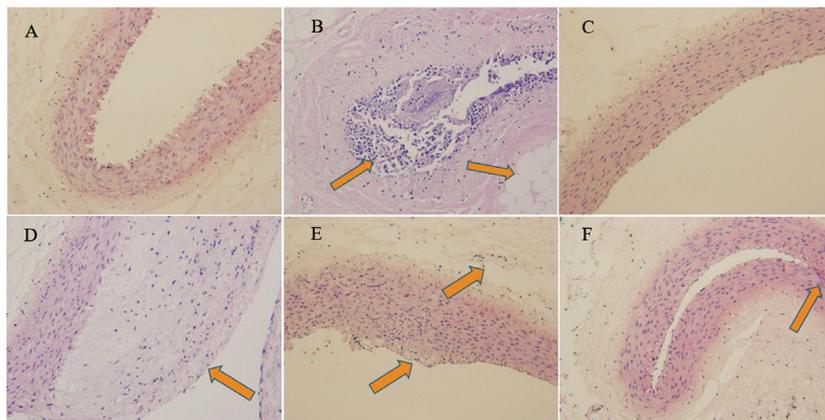
3.4 各组药物对MAPK/NF- $\kappa$ B信号通路的影响 见图2、表3。与正常组比较,模型组腹主动脉组织NF- $\kappa$ B p65、ERK、JNK、p38 MAPK表达无统计学

差异 ( $P>0.05$ ), p-NF- $\kappa$ B p65、p-ERK、p-JNK、p-p38 MAPK 表达明显升高 ( $P<0.01$ )。清心通脉饮各剂量和阿托伐他汀均可不同程度地抑制p-NF- $\kappa$ B p65、p-ERK、p-JNK、p-p38 MAPK 表达,与模型组比较具有显著性差异 ( $P<0.01, P<0.05$ ), 对NF- $\kappa$ B p65、p-ERK、JNK、p38 MAPK 则无明显调节作用。

#### 4 讨论

动脉粥样硬化的病理机制非常复杂,与多种因素有关,“炎症学说”是现在普遍公认的一种AS病理学说<sup>[8]</sup>。动脉粥样硬化斑块发展决定着疾病的病变,在AS进展过程中,无论是早期脂质条纹,到明显硬化的纤维斑块、粥样斑块、不稳定斑块,还是斑块破裂和血栓形成等阶段,始终伴有炎症反应的存在。炎症细胞和促炎症因子始终贯穿于整个病变的发展过程,促进动脉粥样硬化的进展<sup>[4]</sup>。

TNF- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、IL-1、CRP 是常见的致炎因子,在动脉粥样硬化的发展中发挥着重要作用<sup>[9]</sup>。TNF- $\alpha$  可以加剧脂质和CRP、IL-1 等相关脂质的黏附,促进巨噬细胞凋亡,进一步破坏血管内膜完整性,同时TNF- $\alpha$  参与了动脉斑块的形成和破裂过程,加剧心血管事件的发生<sup>[10]</sup>。干扰素(IFN)是一类可以介导多种功能的相关细胞因子家族,其功能包括抗病毒、抗肿瘤、抗增殖和免疫调节活性等。但有研究显示,在心肌梗死患者中可发现IFN- $\beta$  信号传导的增强,通过增加IFN- $\beta$  给药,也发现缺血血管的灌注恢复减慢<sup>[11]</sup>。CRP是一个经典的致炎因子,很多研究显示CRP可通过凝集素样氧化低密度蛋白受体-1(LOX-1)和LDL相互作用导致动脉内皮功能障碍<sup>[12]</sup>。CRP广泛存在于AS斑块中,被认为是粥样病灶不稳定的标志之



A.正常组;B.模型组;C.阿托伐他汀组;D.清心通脉饮低剂量组;E.清心通脉饮中剂量组;F.清心通脉饮高剂量组

图B箭头指示:斑块内钙化坏死和泡沫细胞浸润;图D、E、F箭头指示:动脉内膜变薄,纤维斑块增生

图1 各组白兔腹主动脉病理形态(HE染色,  $\times 200$ )

表1 各组白兔干预后血脂指标比较( $\bar{x} \pm s$ ) 单位: mmol/L

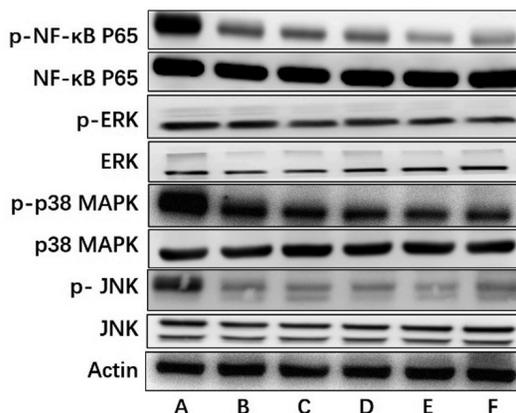
组别	动物数(只)	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常组	10	1.44 $\pm$ 0.53	0.78 $\pm$ 0.62	0.56 $\pm$ 0.08	0.55 $\pm$ 0.28
模型组	7	32.91 $\pm$ 3.91 <sup>##</sup>	22.01 $\pm$ 1.92 <sup>##</sup>	3.13 $\pm$ 0.68 <sup>##</sup>	27.05 $\pm$ 1.22 <sup>##</sup>
阿托伐他汀组	8	18.48 $\pm$ 2.13 <sup>**</sup>	8.39 $\pm$ 1.43 <sup>**</sup>	7.51 $\pm$ 1.38 <sup>**</sup>	14.40 $\pm$ 0.18 <sup>**</sup>
清心通脉饮低剂量组	7	28.23 $\pm$ 1.74	19.01 $\pm$ 1.14	4.45 $\pm$ 1.07	25.28 $\pm$ 1.15
清心通脉饮中剂量组	7	25.25 $\pm$ 3.21 <sup>**</sup>	11.78 $\pm$ 1.64 <sup>**</sup>	5.10 $\pm$ 1.61	21.45 $\pm$ 1.08 <sup>*</sup>
清心通脉饮高剂量组	8	22.65 $\pm$ 2.89 <sup>**</sup>	11.24 $\pm$ 1.58 <sup>**</sup>	5.83 $\pm$ 1.44 <sup>**</sup>	11.99 $\pm$ 1.43 <sup>**</sup>

注:与正常组比较,## $P<0.01$ ;与模型组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ 。

表2 各组白兔干预后血清CRP、IL-1、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数(只)	CRP/( $\mu$ g/mL)	IL-1/(pg/mL)	TNF- $\alpha$ /(pg/mL)	IFN- $\beta$ /(pg/mL)
正常组	10	7.28 $\pm$ 0.82	155.94 $\pm$ 6.64	83.68 $\pm$ 6.07	370.95 $\pm$ 20.08
模型组	7	15.13 $\pm$ 0.93 <sup>##</sup>	284.51 $\pm$ 9.91 <sup>##</sup>	237.28 $\pm$ 13.56 <sup>##</sup>	705.21 $\pm$ 36.14 <sup>##</sup>
阿托伐他汀组	8	9.34 $\pm$ 0.90 <sup>**</sup>	172.29 $\pm$ 7.83 <sup>**</sup>	137.02 $\pm$ 6.71 <sup>**</sup>	463.24 $\pm$ 22.70 <sup>**</sup>
清心通脉饮低剂量组	7	12.93 $\pm$ 1.41 <sup>**<math>\Delta</math><math>\Delta</math></sup>	260.34 $\pm$ 11.88 <sup>**<math>\Delta</math><math>\Delta</math><math>\Delta</math></sup>	185.76 $\pm$ 8.23 <sup><math>\Delta</math><math>\Delta</math><math>\Delta</math><math>\Delta</math></sup>	543.57 $\pm$ 19.28 <sup>**<math>\Delta</math><math>\Delta</math></sup>
清心通脉饮中剂量组	7	12.45 $\pm$ 0.66 <sup>**<math>\Delta</math><math>\Delta</math></sup>	212.21 $\pm$ 10.14 <sup>**<math>\Delta</math><math>\Delta</math></sup>	124.56 $\pm$ 13.64 <sup>**</sup>	538.81 $\pm$ 34.01 <sup>**<math>\Delta</math><math>\Delta</math></sup>
清心通脉饮高剂量组	8	8.95 $\pm$ 0.56 <sup>**<math>\Delta</math><math>\Delta</math></sup>	200.47 $\pm$ 6.28 <sup>**<math>\Delta</math><math>\Delta</math></sup>	104.75 $\pm$ 7.84 <sup>**<math>\Delta</math><math>\Delta</math></sup>	422.48 $\pm$ 25.55 <sup>**<math>\Delta</math><math>\Delta</math><math>\Delta</math></sup>

注:与正常组比较,## $P<0.01$ ;与模型组比较,\* $P<0.01$ ;与阿托伐他汀组比较, $\Delta$  $\Delta$  $P<0.01$ ;与清心通脉饮中剂量组比较, $\Delta$  $\Delta$  $\Delta$  $P<0.01$ 。



A.模型组;B.清心通脉饮低剂量组;C.清心通脉饮中剂量组;D.清心通脉饮高剂量组;E.阿托伐他汀组;F.正常组

图2 各组白兔MAPK/NF- $\kappa$ B信号通路表达

表3 各组白兔MAPK/NF-κB信号通路表达比较(̄x±s)

组别	NF-κB p65	p-NF-κB p65	ERK	p-ERK	JNK	p-JNK	p38 MAPK	p-p38 MAPK
正常组	1.52±0.01	0.28±0.06	0.36±0.01	0.19±0.02	0.52±0.03	0.19±0.01	0.97±0.04	0.43±0.04
模型组	1.58±0.02	1.57±0.02 <sup>#</sup>	0.34±0.03	0.35±0.01 <sup>#</sup>	0.52±0.01	0.52±0.01 <sup>#</sup>	1.03±0.02	2.06±0.02 <sup>#</sup>
阿托伐他汀组	1.49±0.01	0.30±0.05 <sup>**</sup>	0.33±0.01	0.22±0.02 <sup>**</sup>	0.51±0.01	0.20±0.01 <sup>**</sup>	0.96±0.01	0.45±0.03 <sup>**</sup>
清心通脉饮低剂量组	1.47±0.01	0.63±0.02 <sup>**△△</sup>	0.33±0.02	0.30±0.02 <sup>*△△</sup>	0.51±0.02	0.26±0.01 <sup>**△△</sup>	1.06±0.02	1.27±0.04 <sup>**△△</sup>
清心通脉饮中剂量组	1.51±0.02	0.51±0.03 <sup>**△△○○</sup>	0.31±0.02	0.28±0.01 <sup>**△△</sup>	0.59±0.01	0.24±0.01 <sup>**△△</sup>	1.08±0.01	1.02±0.05 <sup>**△△○○</sup>
清心通脉饮高剂量组	1.47±0.01	0.40±0.02 <sup>**△△○○☆☆</sup>	0.34±0.01	0.27±0.01 <sup>**△△</sup>	0.52±0.02	0.23±0.01 <sup>**△△○○</sup>	0.92±0.02	0.79±0.03 <sup>**△△○○☆☆</sup>

注:与正常组比较,##P<0.01;与模型组比较,\*P<0.05,\*\*P<0.01;与阿托伐他汀组比较,△P<0.05,△△P<0.01;与清心通脉饮低剂量组比较,○P<0.05,○○P<0.01;与清心通脉饮中剂量组比较,☆☆P<0.01。

一<sup>[13]</sup>。IL-1是一种多效性潜在促炎因子,现代研究也发现,采用药理抑制或者IL-1信号传导的遗传性可降低AS斑块的形成<sup>[14]</sup>。NF-κB是由Rel家族蛋白形成的同源或异源二聚体转录因子,在调节免疫反应、炎症反应和细胞生长中发挥重要作用<sup>[15]</sup>。丝裂原活化蛋白激酶家族(MAPKs)包括ERK1/2、JNK、p38 MAPK,每个MAPK信号通路由至少三个组分组成。MAPK途径被多种细胞外和细胞内刺激激活,包括生长因子、细胞因子、激素和各种细胞应激物,例如氧化应激和内质网应激。这些信号传导途径调节多种细胞活动,包括增殖、分化、存活和死亡<sup>[16]</sup>。ERK是将信号从表面受体转导至细胞核的关键信号分子,主要包括ERK1和ERK2两种亚型,其磷酸化后由细胞质转位到细胞核内,可介导Elk-1、ATF、Ap-1、c-fos和c-Jun(JNK)等转录因子的活化,参与细胞形态的维持、细胞骨架的构建和细胞的增殖与分化、凋亡、脂质代谢甚至炎症反应等多种生物学反应<sup>[17]</sup>。上游的p-ERK活化可激活p-JNK和cyclinD1促进血管平滑肌的过度增殖<sup>[18]</sup>。p38 MAPK和JNK与细胞的凋亡及炎症反应密切相关。p38 MAPK和JNK磷酸化可激活信号通路,导致细胞凋亡,抑制p38和JNK的磷酸化可以有效抗炎,降低ICAM-1、VCAM-1的表达,抑制动脉粥样硬化的发展<sup>[19]</sup>。

本研究结果表明,经清心通脉饮与阿托伐他汀干预后,AS模型白兔血脂水平和炎症因子含量均有不同程度的降低,腹主动脉病理程度减轻,p-NF-κB p65、p-p38 MAPK、p-JNK、p-ERK蛋白表达减少。本研究发现,造模后模型组兔LDL-C较正常组明显升高,这可能是由于在慢性炎症和高脂糖状态下,HDL的结构发生改变,导致血清淀粉样蛋白A(SAA)增多,即“高密度脂蛋白失功能”<sup>[20]</sup>。而各给药组的HDL-C又明显高于模型组,可能与药物改善LDL的功能有关<sup>[21]</sup>。

综上,清心通脉饮对AS具有良好的干预作用,其作用机制可能是通过降低血脂,抑制MAPKs/NF-κB通路活化,减少炎症因子的表达从而减轻血管炎症,

以达到抗动脉粥样硬化的目的。但具体机制仍需进一步深入研究,才能指导临床合理、安全、有效用药。

参考文献

- [1] NANCHEN D, RAGGI P. Is atherosclerosis imaging the most sensitive way to assess patients' risk and the best way to conduct future drug trials? A pros-and-cons debate[J]. *Atherosclerosis*, 2017, 266 : 229.
- [2] BRUIKMAN C S, STOEKENBROEK R M, HOVINGH G K, et al. New drugs for atherosclerosis[J]. *Can J Cardiol*, 2017, 33 (3) : 350.
- [3] LUCA L, ALDO B, ALESSANDRA V, et al. The role of adipocytokines in coronary atherosclerosis[J]. *Current Atherosclerosis Reports*, 2017, 19 (2) : 1.
- [4] BERTRAND M J, TARDIF J C. Inflammation and beyond : new directions and emerging drugs for treating atherosclerosis[J]. *Expert Opin Emerg Drugs*, 2017, 22 (1) : 1.
- [5] 周仲璇. 论痰热[J]. *南京中医药大学学报*, 2006, 22 (5) : 273.
- [6] 宋耀鸿. 不稳定型心绞痛痰热互结证证治探析[J]. *四川中医*, 2014, 32 (10) : 23.
- [7] 刘学谦, 王静, 曹守沛, 等. 凉血散瘀法通过抑制巨噬细胞凋亡抗动脉粥样硬化的作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25 (3) : 59.
- [8] ROSS R. Atherosclerosis : an inflammatory disease[J]. *N Engl J Med*, 1999, 340 (2) : 115.
- [9] 刘俊田. 动脉粥样硬化发病的炎症机制的研究进展[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2015, 36 (2) : 141.
- [10] 刘清霞, 张宏颖, 徐利霞, 等. 动脉粥样硬化斑块中TNF-α的表达与斑块稳定性的关系[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2019, 11 (4) : 441.
- [11] SCHIRMER S H, FLEDDERUS J O, BOT P T, et al. Interferon-Beta signaling is enhanced in patients with insufficient coronary collateral artery development and inhibits arteriogenesis in mice[J]. *Circ Res*, 2008, 102 (10) : 1286.
- [12] STANCEL N, CHEN C C, KE L Y, et al. Interplay between CRP, atherogenic LDL, and LOX-1 and its potential role in the pathogenesis of atherosclerosis[J]. *Clin Chem*, 2016, 62 (2) : 320.

# 去甲乌药碱对大鼠主动脉平滑肌细胞增殖和迁移的影响研究

翁嘉灏 周 苗 孙思明  
(上海市中医医院, 上海 200071)

**摘要** 目的:探讨去甲乌药碱对大鼠主动脉平滑肌细胞迁移和增殖的影响。方法:体外培养大鼠主动脉平滑肌细胞,使用不同浓度去甲乌药碱(0、10、30、100  $\mu\text{mol/L}$ )培养24 h后,通过划痕试验观察去甲乌药碱对平滑肌细胞趋化迁移能力的影响,通过CCK-8试验检测去甲乌药碱对平滑肌细胞增殖能力的影响。结果:划痕试验结果显示,去甲乌药碱10  $\mu\text{mol/L}$ 有抑制大鼠主动脉平滑肌细胞迁移的趋势,但无统计学意义( $P>0.05$ );30  $\mu\text{mol/L}$ 及以上浓度均具有抑制细胞迁移的作用( $P<0.01$ ),且具有剂量依赖性( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。CCK-8试验结果显示,去甲乌药碱各剂量均有明显的抑制大鼠主动脉平滑肌细胞增殖的作用( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),且具有剂量依赖性( $P<0.05$ )。结论:去甲乌药碱能抑制大鼠主动脉平滑肌细胞的迁移与增殖,且呈剂量依赖性。推测去甲乌药碱可能具有预防血管再狭窄的作用。

**关键词** 去甲乌药碱;主动脉;平滑肌细胞;细胞迁移;细胞增殖;SD大鼠;雄性;实验研究  
**中图分类号** R285.5 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X(2020)01-0083-04  
**基金项目** 上海市卫生和计划生育委员会面上项目(201640047)

血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)是构成血管壁组织结构及维持其正常生理功能的物质基础,其结构和功能的改变如异常增殖、迁移、表型转化等是导致动脉粥样硬化、高血压和血管成形术后再狭窄等多种心血管疾病共同的细胞

病理学基础<sup>[1]</sup>。附子是“回阳救逆第一品”,自《伤寒论》开始,就被用于治疗心力衰竭类似症状。近年来研究发现去甲乌药碱作为附子主要水溶性单体,具有抗血小板凝集、增加心脏收缩力及收缩频率、抗心肌细胞及神经元细胞凋亡等作用<sup>[2-4]</sup>。本课题组前期

- [13] BONCLER M, KEHREL B, SZEWCZYK R, et al. Oxidation of C-reactive protein by hypochlorous acid leads to the formation of potent platelet activator[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 107 (Pt B): 2701.
- [14] LIBBY P. Interleukin-1 Beta as a target for atherosclerosis therapy: biological basis of CANTOS and beyond[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2017, 70 (18): 2278.
- [15] SUN L F, AN D Q, NIYAZI G L, et al. Effects of Tianxianglan Granule treatment on atherosclerosis Via NF- $\kappa$ B and p38 MAPK signaling pathways[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17 (1): 1642.
- [16] KIM E K, CHOI E J. Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1802 (4): 396.
- [17] CSEH B, DOMA E, BACCARINI M. “RAF” neighborhood: protein-protein interaction in the Raf/Mek/Erk pathway[J]. *FEBS Lett*, 2014, 588 (15): 2398.
- [18] LI T J, SONG T, NI L, et al. The p-ERK-p-c-Jun-cyclinD1 pathway is involved in proliferation of smooth muscle cells after exposure to cigarette smoke extract[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 453 (3): 316.
- [19] FENG M, KONG S Z, WANG Z X, et al. The protective effect of coptisine on experimental atherosclerosis ApoE-/- mice is mediated by MAPK/NF- $\kappa$ B-dependent pathway[J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2017, 93: 721.
- [20] 李玉杰, 李宁, 张会永, 等. 失功能高密度脂蛋白结构改变及功能变化[J]. *中华中医药学刊*, 2018, 36 (4): 903.
- [21] 尔璐, 边云飞, 宋晓苏, 等. 失功能高密度脂蛋白与心血管疾病研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25 (3): 309.
- 第一作者: 刘学谦(1993—), 男, 医学硕士, 住院医师, 研究方向为中药治疗动脉粥样硬化机制研究。  
通讯作者: 曹守沛, 博士, 主任中医师, 硕士研究生导师。caosp336@126.com

修回日期: 2019-07-19

编辑: 吴 宁