

cology 2014; 28: 867-71 876 878.

15 Jones WE ,Thomas Jr CR. ACR appropriateness criteria<sup>®</sup> Resectable rectal cancer (J). Radiat Oncol 2012; 7: 161.

16 Fyles AW ,Dembo AJ ,Bush RS *et al.* Analysis of complications in patients treated with abdomino-pelvic radiation therapy for ovarian carcinoma (J). Int J Radiat Oncol Biol Phys ,1992; 22: 847-51.

17 Abayomi J ,Kirwan J ,Hackett A *et al.* The prevalence of chronic radiation enteritis following radiotherapy for cervical or endometrial cancer and its impact on quality of life (J). Eur J Oncol Nurs 2009; 13: 262-7.

18 Hall EJ ,Giaccia AJ. Radiobiology for the radiologist (M). 7th ed. Philadelphia: wolters kluwer health/lippincott williams & Wilkins 2012: 45-57.

(2021-10-12 修回)  
(编辑 杜娟)

## 基于 PPAR $\gamma$ /LXR $\alpha$ /ABCA1 信号通路探讨芪黄疽愈方对 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠动脉粥样硬化形成的影响及其作用机制

张欣<sup>1</sup> 葛建立<sup>1</sup> 苏坤<sup>1</sup> 张敏妹<sup>2</sup> 张静<sup>3</sup> 何建明<sup>1</sup> 马云龙<sup>1</sup> 孙云朝<sup>1</sup> 楚信强<sup>1</sup>  
(1 河北省中医院 河北 石家庄 050001; 2 石家庄市中医院; 3 北京东直门医院)

**〔摘要〕** 目的 基于过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR) $\gamma$ /肝 X 受体(LXR) $\alpha$ /三磷酸腺苷结合盒转运体(ABC)A1 信号通路探讨芪黄疽愈方影响对 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠动脉粥样硬化(AS)形成及其作用机制。方法 选取 25 只 C57BL/6 小鼠作为空白组给予普通饲料喂饲配合生理盐水灌胃,68 只 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠随机分为模型组(24 只)、中药组(22 只)、对照组(22 只)给予高脂饲料喂饲配合对应药物灌胃,12 w 后通过主动脉苏木素-伊红(HE)染色证实造模成功,通过小鼠状态了解小鼠一般状况;主动脉 HE 染色、油红 O 染色观察动脉硬化及脂质沉积情况;肝脏 HE 染色、油红 O 染色观察肝脏病理变化、红染脂滴情况,并通过 Western 印迹、聚合酶链反应(PCR)检测 PPAR $\gamma$ 、LXR $\alpha$ 、ABCA1 蛋白表达情况。结果 空白组皮毛水润光泽,精神状态良好,活跃,饮食饮水正常;模型组精神萎靡,皮毛晦暗,倦怠懒动,饮食差,饮水正常;与模型组相比,中药组及对照组给药后各症状均有不同程度改善。各组主动脉 HE、油红 O 染色显示,空白组主动脉切片未见 AS 斑块,主动脉大体标本未见明显红染脂质;与空白组相比,模型组主动脉切片可见斑块,大体标本可见明显红染脂质;与模型组相比,中药组及对照组动脉切片中 AS 斑块面积较小,大体标本中红染脂质面积较小。小鼠肝脏 HE、油红 O 染色显示,空白组肝细胞结构正常,细胞核位于细胞中央,细胞沿中央静脉为中心向四周放射排列,未见脂肪变性;油红 O 未见红染脂质;与空白组比较,模型组肝细胞排列紊乱,胞内可见形态不同、大小不等、数量不一的脂滴空泡,油红 O 切片可见大量红染脂质。与模型组比较,对照组、中药组肝脏病变程度减轻,肝细胞结构大部分清晰可见,脂滴数量减少,油红 O 红染脂质明显减少。Western 印迹检测肝脏 PPAR $\gamma$ 、LXR $\alpha$ 、ABCA1 蛋白的表达;与空白组相比,模型组 PPAR $\gamma$ 、LXR $\alpha$ 、ABCA1 蛋白表达均明显降低( $P < 0.05$ );与模型组相比,中药组均显著升高( $P < 0.05$ )。PCR 检测肝脏 PPAR $\gamma$ 、LXR $\alpha$ 、ABCA1 mRNA 的表达,与空白组相比,模型组 PPAR $\gamma$ 、LXR $\alpha$ 、ABCA1 mRNA 表达均明显降低( $P < 0.05$ );与模型组相比,中药组显著升高( $P < 0.05$ )。结论 芪黄疽愈方能够影响小鼠动脉硬化,升高肝脏 PPAR $\gamma$ 、LXR $\alpha$ 、ABCA1 蛋白表达,调节肝脏脂质代谢,促进胆固醇逆转运,延缓 AS 进展。

**〔关键词〕** 芪黄疽愈方; 过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR) $\gamma$ /肝 X 受体(LXR) $\alpha$ /三磷酸腺苷结合盒转运体(ABC)A1 信号通路; 肝脏; 脂质代谢; ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠; 胆固醇逆转运

(中图分类号) R26 (文献标识码) A (文章编号) 1005-9202(2024)07-1688-06; doi: 10.3969/j.issn.1005-9202.2024.07.036

动脉粥样硬化(AS)作为心、脑血管及周围血管疾病的关键病理基础,是近年来中老年患者致死、致残的主要疾病之一。AS 以动脉壁脂质沉积、细胞死亡和斑块纤维化为特征,而脂质代谢紊乱是 AS 发生、发展的重要因素。胆固醇逆转运(RCT)<sup>(1)</sup>是将

体内异常代谢的脂质转运到肝脏代谢转化成胆汁,并通过肠道排出体外的过程。由此可见,肝脏在胆固醇逆转运中起重要意义,加强胆固醇逆转运并提高肝脏对脂质的正常代谢能够改善 AS 的进展。笔者通过前期的临床及动物实验研究证实芪黄疽愈方能够改善下肢动脉硬化闭塞症患者临床症状<sup>(2,3)</sup>,且能够调节动脉硬化闭塞症(ASO)大鼠脂质代谢紊乱,降低血清总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)及极低密度脂蛋白胆固醇(VLDL-C)水平,升高高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平,且有效促进 SR-B I 蛋白表达<sup>(4-6)</sup>,但脂质

基金项目:河北省科技厅科技支撑计划项目(19277753D);河北省中医药管理局(2018046)

通信作者:葛建立(1959-),男,主任医师,教授,硕士,主要从事周围血管疾病研究。

第一作者:张欣(1989-),女,主治医师,硕士,主要从事周围血管疾病研究。

在肝脏中的代谢机制尚不明确,推测其可能与肝脏内胆固醇代谢相关。本研究以高脂饮食喂饲的 ApoE $^{-/-}$ 小鼠及同品系同周龄 C57BL/6 小鼠为实验对象,探讨芪黄疽愈方是否能够影响动脉粥样硬化斑块形成,通过过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR) $\gamma$ -肝 X 受体(LXR) $\alpha$ -三磷酸腺苷结合盒转运体(ABC)A1 通路促进胆固醇逆转运,改善肝脏脂质代谢紊乱,从而达到抑制 AS 进展的目的。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 7 周龄 SPF 级雄性 ApoE $^{-/-}$ 小鼠 68 只(动物生产许可证号: SCXK(京) 2019-0009)和 25 只同品系、同周龄雄性 C57BL/6 小鼠(动物生产许可证号: SCXK(京) 2016-0006),体质量 18~20 g,均购自北京维通利华有限公司。实验动物于河北医科大学实验动物中心 SPF 级动物房不锈钢笼喂饲,每笼 5 只,动物房温度(24 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C,相对湿度 50%~70%,明暗周期 12/12 h,每周换水 3 次,换垫料 2 次。实验操作流程严格遵循河北医科大学动物实验伦理委员会的相关法规和各项规定,并通过河北省中医院实验动物福利与伦理审查。

**1.2 药物与试剂** 中药:芪黄疽愈方神威配方颗粒剂由红花、鸡血藤、海藻、浙贝母、鬼箭羽、土鳖虫、延胡索、黄芪、黄精、牛膝组成,由神威药业生产,河北省中医院中药房机器调配;阿托伐他汀钙片(立普妥),由辉瑞药业有限公司生产,国药准字 H20051408,产品批号:CG7011。

**1.3 试剂与仪器** 苏木素染色液、分化液、返蓝液、伊红染液(河北博海生物工程开发有限公司);中性树胶(中杉金桥);二甲苯、无水乙醇、95%乙醇(天津市永大化学试剂有限公司);石蜡(上海华灵康复器械厂);油红 O 染色液(武汉塞维尔生物科技有限公司);异丙醇(国药集团化学试剂有限公司);OCT 冰冻切片包埋剂(樱花,货号 4583);PPAR $\gamma$  一抗(武汉三鹰公司,货号 16643-1-AP);LXR $\alpha$  一抗(武汉三鹰公司,货号 14351-1-AP);ABCA1 一抗(武汉博士德,货号 BA1541-2);Trizol (ambion,货号 175805);氯仿(天津市科密欧,货号 20161107);异丙醇(天津市永大,货号 20160108);无水乙醇(天津市永大,货号 20180606);DEP 水(北京索莱宝,货号 E174);HiFiScript gDNA Removal cDNA Synthesis Kit(康维世纪,货号 60530) ChemoHS qPCR Mix( None ROX,莫纳生物,货号 140449)。

**1.4 仪器** 生物安全柜(广州瑞智净化设备有限公司,SW. TFG-15);光学显微镜(日本 OLYMPUS,

BX43);石蜡切片机(德国莱卡, RM2016);电脑生物组织摊烤片机(浙江省科迪, KD-T);电热恒温水浴锅(天津泰斯特, DK-98-11);照相机(佳能, D70);低温高速离心机(Eppendorf 公司, centrifuge5417R 型);超纯水仪(北京康铭泰克科技发展有限公司);蛋白浓度定量仪(Eppendorf 公司, 22331 hamburg 型);电泳仪(北京六一公司, DYCZ-24DN 型);半干转膜仪系统(ATTO 公司, WSE-4040 型);转移脱色摇床(海门其林贝尔仪器制造有限公司, TS-8 型);移液器(Eppendorf 公司, 10  $\mu$ l/20  $\mu$ l/200  $\mu$ l/1 000  $\mu$ l);CFX Manager 实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)仪 96 孔(美国 Bio-Rad 公司);PCR 八连管美国 Axygen 公司(批号: KBSW1);微量核酸分光光度计 ND-1000 美国 Thermo Scientific 公司;分析仪器(Tanon 公司, Tanon1600 型)。

**1.5 动物分组与造模** 动物适应性喂养 1 w 后, ApoE $^{-/-}$ 小鼠更换为高脂饲料, C57BL/6J 小鼠继续普通对照饲料喂养,自由采食摄水,1 w 后分组给药。68 只 ApoE $^{-/-}$ 小鼠随机分为模型组 24 只,中药组 22 只,对照组 22 只。25 只 C57BL/6 小鼠作为空白对照组。

**1.6 给药方法** 空白组:给予 0.9%氯化钠溶液(0.2 ml/20 g 小鼠)灌胃,1 次/d,连续 12 w,自由饮水。模型组:给予 0.9%氯化钠溶液(0.2 ml/20 g 小鼠)灌胃,1 次/d,连续 12 w,自由饮水。中药组:芪黄疽愈方颗粒与生理盐水配比为质量浓度 0.54 g/ml 的水溶液,置于 4  $^{\circ}$ C 冰箱冷藏备用,给予中药液(0.2 ml/20 g 小鼠)灌胃,1 次/d,连续 12 w,自由饮水。对照组:阿托伐他汀钙片 26 mg 研磨成细末,以 100 ml 生理盐水调成配比为质量浓度 0.26 mg/ml 的悬混液,每次摇晃混合均匀后予小鼠(0.2 ml/20 g 小鼠)灌胃,1 次/d,连续 12 w,自由饮水。于 12 w 时,随机从空白组、模型组各取小鼠 3 只,麻醉处死后,取腹主动脉行苏木素-伊红(HE)切片后可见空白组腹主动脉管壁未见斑块,模型组腹主动脉管腔多发斑块,证实造模成功。

**1.7 标本采集及处理方法** 实验过程中,因灌胃操作模型组死亡 2 只,中药组死亡 2 只,实验结束前,空白组、对照组随机各 2 只用于实验预操作。12 w 后 4%水合氯醛溶液(0.2 ml/20 g)腹腔麻醉处死小鼠,取小鼠自主动脉弓至髂动脉分叉处主动脉,一部分置于冻存管中,于-80  $^{\circ}$ C 冰箱冻存,一部分置于 10%甲醛保存,以备检测。取出肝脏组织,肝左叶-20  $^{\circ}$ C 保存,制备冰冻切片,行油红 O 染色;肝右叶 4%多聚甲醛溶液固定,制备石蜡切片,进行 HE 染

色; 剩余部分组织置于冻存管中,  $-80^{\circ}\text{C}$  保存, 待行 Western 印迹、PCR 检测。

**1.8 检测指标** (1) 一般状态: 观察大鼠一般状态, 包括精神状态、毛色、活动灵敏度、饮食、饮水及体质量。(2) HE 染色、油红 O 染色观察小鼠主动脉病理变化: (1) HE 染色。包埋、切片: 小鼠主动脉组织经固定后, 切取约 15 mm 长的管腔, 放入包埋盒, 依次脱水、浸蜡, 包埋, 制成石蜡块, 使用切片机切 5  $\mu\text{m}$  厚石蜡切片; 入二甲苯脱蜡, 苏木素染色, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片; 通过光学显微镜观察, 选取目标区域进行拍照。(2) 油红 O 染色。将小鼠主动脉血管周围脂肪组织用镊子尽可能去除后, 置于固定液固定 24 h, 后将组织从固定液中取出, PBS 浸洗 2 次。再次摘除血管外周脂肪并用解剖剪沿着血管壁小心将血管纵向剖开。将剪好的血管用自来水稍洗 5 s, 血管先浸入 60% 异丙醇 3 s 再浸入油红 O 染色液中  $37^{\circ}\text{C}$  染色 60 min 后取出, 用镊子取出血管浸入 60% 异丙醇分化, 分化至管腔内脂肪斑块呈橘红色或鲜红色, 其他部位近无色, 后用蒸馏水洗终止分化。将血管取出, 滤纸吸去多余水分平铺放在刻度尺上, 选择光线良好处, 调整焦距曝光度, 拍照。并应用 Image-Pro Plus 进行图像处理。(3) HE 染色、油红 O 染色观察肝脏组织病理学形态变化: ① HE 染色。将小鼠主动脉、肝脏组织分别从 4% 多聚甲醛固定液中取出脱水, 用石蜡包埋之后在组织切片机上作 5  $\mu\text{m}$  连续切片, 然后常规 HE 染色, 树胶封片, 光学显微镜下观察小鼠主动脉、肝脏组织病理学变化情况并拍照。② 油红 O 染色。切片机预冷, OTC 固定液固定肝组织小块 15 min, 切片厚度 10~15  $\mu\text{m}$ , 进行常规油红 O 染色, 水溶性树胶封片, 显微镜下观察肝脏脂滴分布情况并采图。(4) Western 印迹检测 PPAR $\gamma$ 、LXR $\alpha$ 、ABCA1 蛋白表达: ① 将待测样品分别称重, 剪碎后于液氮中研磨至细粉末状, 分装于离心管中, 加入 RIPA 裂解液, 充分混匀,  $4^{\circ}\text{C}$  冰箱过夜裂解。 $4^{\circ}\text{C}$  下, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清备用, 测定蛋白浓度。制备十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 胶板, 根据蛋白定量结果, 加入相应体积的总蛋白样品与 4 倍蛋白质上样缓冲液, 轻轻混合,  $95^{\circ}\text{C}$  变性 10 min 后室温平衡。恒压电泳, 将凝胶上分离到的蛋白条带通过半干转的转膜方法 (转膜时间 PPAR $\gamma$ : 38 min; LXR $\alpha$ : 34 min; ABCA1: 130 min) 转印至聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜固相支持物上, 采用封闭 2 h 后依次与一抗 (PPAR $\gamma$  为 1:800; LXR $\alpha$  为 1:800; ABCA1 为 1:500) 孵育过夜, 洗涤后

放入二抗 (山羊抗兔) 孵育 90 min, 曝光显色后扫描处理, 所得条带吸光度值分别与对应内参计算比值, 获得相对吸光度值, 用 Tanon Gis 软件测定条带灰度值。(5) RT-PCR 检测 PPAR $\gamma$ 、LXR $\alpha$ 、ABCA1 mRNA 表达: 设计引物序列 (5'-3'): PPAR $\gamma$  上游: GTT-GATTTCTCCAGCATTTTC, 产物长度: 119 bp, 下游: TTGATCGCACTTTGGTATT; LXR $\alpha$  上游: GCCT-CAATGCCTGATGTTTCTC, 产物长度 158 bp, 下游: GCTGACTCCAACCCTATCCCTAA; ABCA1 上游: CCCCTTGAACCTCACTAAAC, 下游 CCACATAATTG-CACATATCCC, 产物长度 233 bp。取肝脏组织 50 mg 研磨成粉状, 根据 PCR 试剂盒说明书操作提取肝脏总 RNA, DEPC 水稀释后, 微量紫外分光光度计测定 RNA 的浓度及纯度。用 RT KIT 试剂盒逆转录得到 cDNA, 用 RT-PCR 仪扩增 PCR (反应体系总体积为: 20  $\mu\text{l}$  反应体系加入 ChemoHS qPCR Mix 10  $\mu\text{l}$ , 上游引物 (10  $\mu\text{mol/L}$ )、下游引物 (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 各 0.4  $\mu\text{l}$ , cDNA 100 ng, RNase-Free ddH $_2$ O 20  $\mu\text{l}$ ], 以 GAPDH/ $\beta$ -actin 作为内参基因  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  法进行相对定量分析。**1.9 统计学分析** 采用 SPSS25.0 软件进行单因素方差分析。

## 2 结果

**2.1 小鼠一般状态** 空白组皮毛水润光泽, 精神状态良好, 活跃, 饮食饮水正常; 模型组精神萎靡, 皮毛晦暗, 倦怠懒动, 饮食差, 饮水正常; 与模型组相比, 中药组及对照组给药后各症状均有不同程度改善。**2.2 各组主动脉 HE、油红 O 染色结果** 空白组主动脉切片未见 AS 斑块, 主动脉大体标本未见明显红染脂质; 与空白组相比, 模型组主动脉切片可见斑块, 大体标本可见明显红染脂质; 与模型组相比, 中药组及对照组动脉切片中 AS 斑块面积较小, 大体标本中红染脂质面积较小, 见图 1。**2.3 各组肝脏 HE、油红 O 染色结果** 小鼠肝脏切片可见空白组肝细胞结构正常, 细胞核位于细胞中央, 细胞沿中央静脉为中心向四周放射排列, 未见脂肪变性; 油红 O 未见红染脂质; 与空白组比较, 模型组肝细胞排列紊乱, 胞内可见形态不同、大小不等、数量不一的脂滴空泡, 油红 O 切片可见大量红染脂质。与模型组比较, 对照组、中药组肝脏病变程度减轻, 肝细胞结构大部分清晰可见, 脂滴数量减少, 油红 O 红染脂质明显减少, 其中空白组肝脏油红 O 阳性细胞面积为 (39.72 $\pm$ 15.52)  $\mu\text{m}^2$ , 模型组为 (2 624.32 $\pm$ 96.28)  $\mu\text{m}^2$ , 中药组为 (287.92 $\pm$ 45.57)  $\mu\text{m}^2$ , 对照组为 (1 343.32 $\pm$ 133.20)  $\mu\text{m}^2$ , 见

图 2。

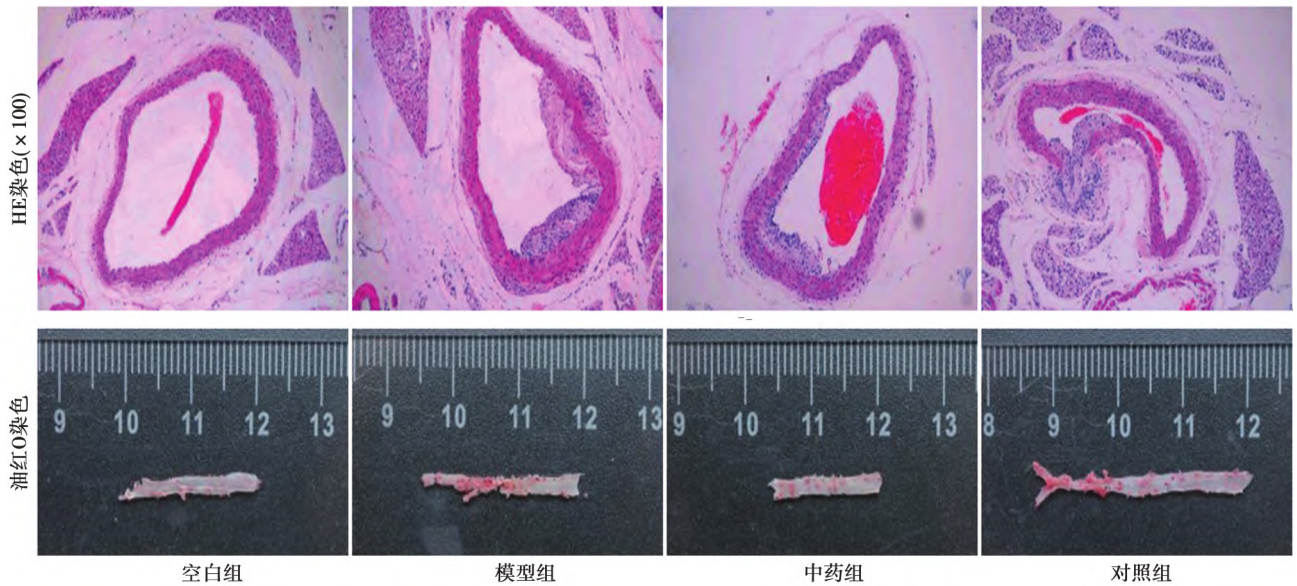


图 1 各组主动脉

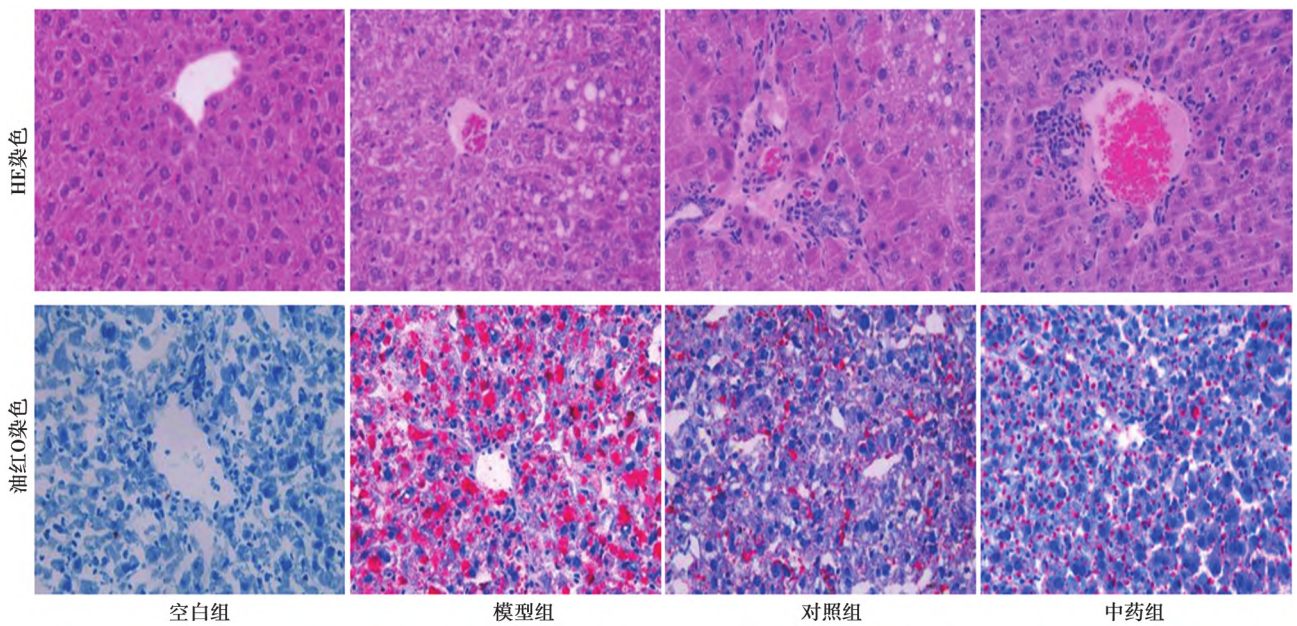


图 2 各组肝脏组织病理(×100)

**2.4 Western 印迹检测肝脏 PPAR $\gamma$ 、LXR $\alpha$ 、ABCA1 蛋白表达** 与空白组相比,模型组 PPAR $\gamma$ 、LXR $\alpha$ 、ABCA1 蛋白表达明显降低( $P < 0.05$ );与模型组相比,中药组以上指标显著升高( $P < 0.05$ ),见图 3、表 1。

**2.5 PCR 检测肝脏 PPAR $\gamma$ 、LXR $\alpha$ 、ABCA1 mRNA 表达** 与空白组相比,模型组 PPAR $\gamma$ 、LXR $\alpha$ 、ABCA1 mRNA 表达明显降低( $P < 0.05$ );与模型组相比,中药组以上指标显著升高( $P < 0.05$ ),见表 1、图 4。

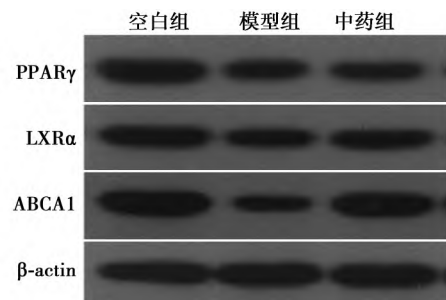


图 3 各组肝脏 PPAR $\gamma$ 、LXR $\alpha$ 、ABCA1 蛋白表达

表 1 各组肝脏 PPAR $\gamma$ 、LXR $\alpha$ 、ABCA1 蛋白和 mRNA 表达( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	蛋白			mRNA		
		PPAR $\gamma$	LXR $\alpha$	ABCA1	PPAR $\gamma$	LXR $\alpha$	ABCA1
空白组	20	461.67 $\pm$ 20.26	489.67 $\pm$ 10.02	520.00 $\pm$ 27.62	0.82 $\pm$ 0.23	0.93 $\pm$ 0.09	0.96 $\pm$ 0.05
模型组	19	156.33 $\pm$ 9.45 <sup>1)</sup>	185.33 $\pm$ 22.05 <sup>1)</sup>	181.33 $\pm$ 25.89 <sup>1)</sup>	0.11 $\pm$ 0.06 <sup>1)</sup>	0.16 $\pm$ 0.06 <sup>1)</sup>	0.35 $\pm$ 0.03 <sup>1)</sup>
中药组	20	272.67 $\pm$ 10.41 <sup>2)</sup>	331.00 $\pm$ 10.15 <sup>2)</sup>	360.33 $\pm$ 27.54 <sup>2)</sup>	0.49 $\pm$ 0.13 <sup>2)</sup>	0.36 $\pm$ 0.06 <sup>2)</sup>	0.59 $\pm$ 0.10 <sup>2)</sup>

与空白组比较: 1)  $P < 0.05$ ; 与模型组比较: 2)  $P < 0.05$

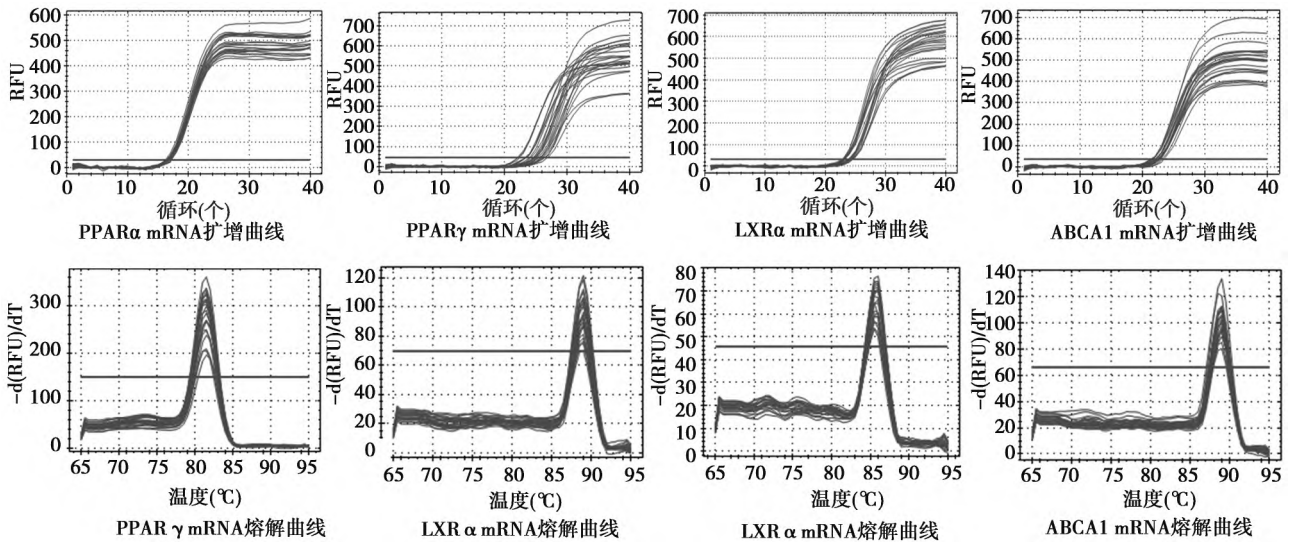


图 4 PCR 检测肝脏 PPAR $\gamma$ 、LXR $\alpha$ 、ABCA1 mRNA 表达

### 3 讨论

AS 主要是巨噬细胞和动脉壁平滑肌细胞过多的胆固醇累积导致细胞泡沫化,促进细胞内过量胆固醇流出是预防和治疗 AS 的有效策略<sup>(7,8)</sup>。RCT 既可以减少脂质在体内的堆积、维持胆固醇的体内平衡,还能够抑制动脉管壁的脂质沉积,改善血管壁重构<sup>(9)</sup>,而肝脏作为人体最重要的脂质代谢器官,在 RCT 过程中起重要作用,因此通过调节肝脏脂质代谢及 RCT,改善 AS 脂质沉积具有重要临床意义。

PPAR $\gamma$  为 PPAR 家族一员,主要分布于肝脏和脂肪组织中,且可通过各种途径介导胆固醇的流出,对胆固醇代谢发挥重要作用<sup>(10,11)</sup>。LXR 作为体内脂质平衡稳定的主要调节器,是 PPAR $\gamma$  的直接靶基因<sup>(12)</sup>,能够通过控制 ABCA1、ABCG1 和 CETP 调节胆固醇逆转运,使得胆固醇能够从外周进入肝脏,并在肝脏内转化为胆汁酸最终排出体外<sup>(13)</sup>。本实验结果表明,芪黄疽愈方调节 PPAR $\gamma$ /LXR $\alpha$ /ABCA1 信号通路,可能与改善肝脏脂质代谢、促进 RCT 有关。

中医中“膏粱”“脂膏”的阐述及其特性与现代医学中的血脂具有极高一致性。若膏脂在体内的输布运化紊乱,则久之成浊,病从中生<sup>(14)</sup>。AS 患者其病因多为痰中有瘀,瘀中有痰,痰瘀互结,留于经络,

日久成为癥积,阻碍气机运行而发病,因此“癥积阻络”为其核心病机。芪黄疽愈方以“消癥通络”<sup>(15)</sup>为治疗大法,化癥积,通经络,诸症悉除。

综上,芪黄疽愈方能够改善小鼠动脉硬化及肝脏的脂质沉积程度,其作用机制可能是通过 PPAR $\gamma$ /LXR $\alpha$ /ABCA1 信号通路,调节肝脏脂质代谢,促进胆固醇逆转运,延缓动脉硬化进展。

### 4 参考文献

- 1 Glomset JA, Janssen ET, Kennedy R, et al. Role of plasma lecithin: cholesterol acyltransferase in the metabolism of high density lipoproteins (J). *J Lipid Res*, 1966; 7(5): 638-48.
- 2 张欣, 张静, 葛建立, 等. 芪黄疽愈方联合前列地尔注射液治疗下肢动脉硬化闭塞症随机对照研究 (J). *中国中西医结合杂志*, 2019; 39(12): 1457-62.
- 3 葛建立, 李晓东, 张欣, 等. “芪黄疽愈方”治疗糖尿病肢体动脉闭塞症 80 例临床研究 (J). *江苏中医药*, 2016; 48(9): 49-52.
- 4 张欣, 刘远, 葛建立, 等. 芪黄疽愈方对大鼠肢体动脉硬化闭塞症血流变的影响 (J). *陕西中医*, 2016; 37(3): 370-2.
- 5 张欣, 刘远, 葛建立, 等. 芪黄疽愈方对肢体动脉硬化闭塞症大鼠血脂水平的影响 (J). *河北中医*, 2016; 38(5): 725-8.
- 6 张静, 葛建立, 张欣, 等. 芪黄疽愈方对 ASOLE 大鼠肝脏脂质代谢相关因子表达的影响 (J). *中国中医基础医学杂志*, 2020; 26(12): 1784-86, 1869.
- 7 Kingwell BA, Chapman MJ, Kontush A, et al. HDL-targeted therapies: pro-

- gress failures and future (J). *Nat Rev Drug Discov* 2014; 13(6): 445-64.
- 8 Siddiqi HK, Kiss D, Rader D. HDL-cholesterol and cardiovascular disease: rethinking our approach (J). *Curr Opin Cardiol* 2015; 30(5): 536-42.
- 9 Ooimet M, Barrett TJ, Fisher EA. HDL and reverse cholesterol transport (J). *Circ Res* 2019; 124(10): 1505-18.
- 10 Zouari BK, Chouchane L, Jellouli K, et al. Correlation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR-gamma) and retinoid X receptor-alpha (RXR-alpha) expression with clinical risk factors in patients with advanced carotid atherosclerosis (J). *Med Sci Monit*, 2011; 17(7): 381-91.
- 11 Moore KJ, Rosen ED, Fitzgerald ML, et al. The role of PPAR-gamma in macrophage differentiation and cholesterol uptake (J). *Nat Med*, 2001; 7(1): 41-7.
- 12 Chawl AA, Boisvert WA, Leec H, et al. A PPAR-gamma-LXR-ABCA1 pathway in macrophages involved in cholesterol efflux and atherogenesis (J). *Mol Cell* 2001; 7: 161-71.
- 13 张世昭, 马超群, 孙丰翠, 等. 肝 X 受体在肝脏脂代谢中的研究进展 (J). *浙江医学* 2020; 42(15): 1677-80.
- 14 黄世敬, 王永炎. 论血脂异常与浊毒 (J). *辽宁中医杂志* 2016; 43(1): 65-7.
- 15 张静, 景璇, 张敏妹, 等. 葛建立消癥通络法治疗下肢动脉硬化闭塞症经验 (J). *河北中医* 2020; 42(3): 328-31.

(2023-10-19 修回)

(编辑 滕欣航)

## 绞股蓝总苷通过 miR-210/ISCU 途径调节线粒体能量代谢对 ApoE<sup>-/-</sup> AS 小鼠的影响及机制

高浩 陈丝 王杰 王群 杨莹 赵卓 王莹 宋囡 (辽宁中医药大学 辽宁 沈阳 110847)

**〔摘要〕** 目的 探讨绞股蓝总苷通过影响 miR-210/铁硫簇组装蛋白 (ISCU) 途径, 调控线粒体能量代谢, 改善动脉粥样硬化模型小鼠动脉脂质沉积的作用机制。方法 30 只健康 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠随机分为模型组、绞股蓝总苷组和辛伐他汀组, 每组 10 只。10 只 C57BL/6J 小鼠作为正常组。模型组、绞股蓝总苷组和辛伐他汀组采用高脂饲料喂养 12 w。绞股蓝总苷组和辛伐他汀组分别采用绞股蓝总苷 (2.973 g/(kg·d)) 和辛伐他汀 (2.275 g/(kg·d)) 灌胃 4 w, 模型组、正常组灌胃给予等量生理盐水。造模结束后, 全自动生化分析仪检测血清总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 含量; 苏木素-伊红 (HE) 染色观察动脉粥样硬化斑块形成; 采用紫外吸收法检测动脉线粒体呼吸链复合体 I、II、III、IV、V; 实时荧光定量-聚合酶链反应 (PCR) 检测动脉 miR-210、ISCU 及线粒体 DNA (mtDNA) mRNA 表达; 采用 Wes 全自动 Western 印迹定量分析系统检测线粒体能量代谢相关蛋白 ISCU、mtDNA 表达。结果 与正常组比较, 模型组 miR-210 表达、TC、TG、LDL-C 水平显著升高, 呼吸链复合体 I、II、III、IV、V 水平、HDL-C、ISCU mRNA 及蛋白表达、mtDNA mRNA 水平显著下降 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 主动脉管腔见较大粥样斑块。与模型组相比, 绞股蓝总苷组及辛伐他汀组 TG、TC、LDL-C 水平显著降低 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), 绞股蓝总苷组和辛伐他汀组主动脉管腔中粥样斑块面积明显减小, 辛伐他汀组线粒体呼吸链复合体 I、II、III、IV、V 水平显著升高 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), 绞股蓝总苷组线粒体呼吸链复合体酶 I、III、IV 含量显著增加, miR-210 表达水平显著降低 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), 绞股蓝总苷组 ISCU mRNA 和蛋白表达及 mtDNA mRNA 水平显著升高 ( $P < 0.05$ ), 辛伐他汀组 ISCU mRNA 表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ )。结论 绞股蓝总苷可能通过 miR-210/ISCU 途径, 调控线粒体能力代谢, 缓解动脉粥样硬化斑块形成, 进而防治动脉粥样硬化。

**〔关键词〕** 绞股蓝总苷; 动脉粥样硬化; miR-210; 铁硫簇组装蛋白 (ISCU)

**〔中图分类号〕** R285.5 **〔文献标识码〕** A **〔文章编号〕** 1005-9202(2024)07-1693-05; doi: 10.3969/j.issn.1005-9202.2024.07.037

动脉粥样硬化 (AS) 是一种慢性炎症性血管疾病, 在全球造成数百万人死亡和财政负担<sup>(1)</sup>。AS 也是老年患者常见疾病, 其中, AS 是导致老年人死亡

的主要原因<sup>(2)</sup>。AS 病变主要累及大、中动脉, 其病理过程十分复杂<sup>(3)</sup>, 许多病理生理因素都有助于 AS 的发展, 如异常的脂质代谢, 内皮功能障碍, 血管炎症反应及血管平滑肌细胞的增殖和凋亡等, 而 AS 发展的分子机制尚不完全清楚<sup>(4)</sup>。

miRs 是一组长 21 ~ 22 个核苷酸的非编码 RNAs, 其功能是通过与目标基因的 3' 非翻译区 (UTR) 结合来抑制基因表达<sup>(5-7)</sup>。已有研究发现 miR-210 其下游为铁硫簇组装蛋白 (ISCU)<sup>(8)</sup>, miR-210 可以沉默 ISCU, 而 ISCU 又参与线粒体复合体 I 酶 (Complex I) 中铁硫簇的组装和运输, 从而参

基金项目: 辽宁省自然科学基金 (2019-ZD-0966); 2021 年辽宁省“百千万人才工程”资助项目 B 类项目

通信作者: 宋囡 (1981-), 女, 博士, 正高级实验师, 主要从事中西医结合防治心血管疾病研究。

王莹 (1986-), 女, 硕士, 中级实验师, 主要从事中西医结合防治心血管疾病研究。

第一作者: 高浩 (1997-), 女, 硕士, 主要从事中药复方及有效成分防治动脉粥样硬化的机制研究。