

黄芪总皂苷、当归挥发油对动脉粥样硬化 ApoE^{-/-}小鼠脂质代谢的影响

陈琼, 黄水清(广州中医药大学科技创新中心, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 研究黄芪总皂苷、当归挥发油对动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS) ApoE^{-/-}小鼠脂质代谢的影响。**方法** 将 30 只 ApoE^{-/-}小鼠随机分为模型组、黄芪总皂苷组、当归挥发油组, 每组 10 只, 同时选用 10 只 C57BL/6 小鼠作为正常对照组。高脂饮食喂养建立动脉粥样硬化小鼠模型; 采用试剂盒测定小鼠血清、肝脏总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL-c)、高密度脂蛋白(HDL-c)、内皮素(ET-1)、一氧化氮(NO)、游离脂肪酸(FFA)、游离胆固醇(FC)含量; 油红 O 染色检测肝脏、主动脉、主动脉窦脂质沉积; HE 染色观察肝脏、主动脉病理改变; 以 ImageJ 软件统计主动脉窦脂质沉积、主动脉厚度、肝脏脂滴空洞的面积及其占总面积的百分比; Western Blot 法检测脂质代谢相关蛋白的表达变化。**结果** 高脂喂养 12 周后, 与正常对照组比较, 模型组血清 TC、TG、LDL-c、HDL-c 含量升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 黄芪总皂苷、当归挥发油组血清 TC、TG、LDL-c 含量降低($P < 0.05$)。高脂喂养 16 周后, 与正常对照组比较, 模型组血清、肝脏 TC、TG、LDL-c、HDL-c、ET-1、NO、FFA、FC 含量升高($P < 0.01$); 主动脉、主动脉窦脂质大量沉积; 肝脏脂肪性变严重, 脂滴空泡呈弥漫性分布, 肝脏油红脂滴和脂滴空洞面积增多; 主动脉管壁明显增厚($P < 0.01$), 伴有大量炎症细胞浸润及胆固醇结晶沉积; 肝脏 ABCA1、SR-BI、APOAI、LXR- α ($P < 0.05$)、SREBP2 ($P < 0.01$) 蛋白表达降低。与模型组比较, 黄芪总皂苷组、当归挥发油组血清 TC、TG、LDL-c、ET-1、NO 含量降低($P < 0.05$, $P < 0.01$); 肝脏 TC、TG、FFA、FC 含量降低($P < 0.01$); 主动脉窦脂质沉积, 肝脏油红脂滴及脂滴空洞面积减少($P < 0.05$, $P < 0.01$), 主动脉、肝脏病变相对减轻; 当归挥发油组肝脏 SR-BI、LXR- α ($P < 0.05$)、ABCA1、SREBP2、APOAI ($P < 0.01$) 蛋白表达升高; 黄芪总皂苷组肝脏 ABCA1、SR-BI ($P < 0.05$)、LXR- α 、SREBP2、APOAI ($P < 0.01$) 蛋白表达升高。**结论** 黄芪总皂苷、当归挥发油对动脉粥样硬化 ApoE^{-/-}小鼠的脂质代谢都有一定的干预调节作用, 其具体起效机制可能是通过调控 ApoE^{-/-}小鼠脂质代谢相关蛋白的表达水平来实现的。

关键词: 黄芪总皂苷; 当归挥发油; 动脉粥样硬化; 脂质代谢; 小鼠

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)06-0791-08

doi: 10.19378/j. issn. 1003-9783.2021.06.007

Effect of Astragalus Saponins and Angelica Volatile Oil on Lipid Metabolism in Atherosclerotic ApoE^{-/-} Mice

CHEN Qiong, HUANG Shuiqing (Science and Technology Innovation Center, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: Objective To study the effect of astragalus total saponins and angelica volatile oil on lipid metabolism in atherosclerotic ApoE^{-/-} mice. **Methods** Thirty ApoE^{-/-} mice were randomly divided into model group, astragalus saponins group, and angelica volatile oil group, 10 mice in each group, and 10 C57BL/6 mice were selected as the normal control group. Here we established atherosclerosis (AS) model on ApoE^{-/-} mice induced by high-fat diet. The contents of TC, TG, LDL-c, HDL-c, ET-1, NO, FFA, FC in serum and liver were detected by kit. Oil red O staining was used to detect lipid deposits in liver, aorta, and aortic sinus. HE Staining was used to observe the

收稿日期: 2020-12-14

作者简介: 陈琼, 女, 博士研究生, 研究方向: 中医药防治心脑血管疾病。Email: 15625133095 @163.com。通信作者: 黄水清, 男, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 中医药防治心脑血管疾病。Email: hsq@gzucm.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金项目(81774199); 广州市科技局项目(201803010047)。

pathological changes of the liver and aorta. Image J software was used to count the aortic sinus lipid deposition, aortic thickness, the area of lipid droplets in the liver and its percentage of the total area. WB was applied to detect the expression of lipid metabolism-related proteins in liver. **Results** After 12 weeks of high-fat feeding, the serum TC, TG, LDL-c, HDL-c levels in the model group were higher than those in the normal group ($P < 0.01$). Compared with the model group, serum contents of TC, TG, LDL-c ($P < 0.05$) in the astragalus total saponins and angelica volatile oil group were reduced. After 16 weeks of high-fat feeding, TC, TG, LDL-c, HDL-c, ET-1, NO, FFA, and FC levels of the serum and liver in the model group were higher than those in the normal group ($P < 0.01$); A large amount of lipid deposition in aortic plaque, aortic sinus was visible. Fatty liver became severe and lipid droplet vacuoles were diffusely distributed, the area of oil red lipid droplets and lipid droplets cavities in liver were increased, the wall of aorta was thickened ($P < 0.01$), a large number of inflammatory cell infiltration and cholesterol crystal deposition appeared; Expressions of ABCA1, SR-BI, LXR- α , APOA1 ($P < 0.05$), SREBP2 ($P < 0.01$) protein in liver were reduced. Compared with the model group, the serum TC, TG, LDL-c ($P < 0.05$), ET-1, NO ($P < 0.01$) in the astragalus saponins and angelica volatile oil group were reduced; The contents of TC, TG, FFA, FC in liver were decreased ($P < 0.01$); Aortic sinus lipid deposition, liver oil red lipid droplets, lipid droplet cavity area were decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Pathological changes of the aorta and liver were relatively reduced. Protein expressions of SR-BI, LXR- α ($P < 0.05$), ABCA1, SREBP2, APOA1 ($P < 0.01$) in the volatile oil group were increased. Protein expressions of ABCA1, SR-BI ($P < 0.05$), LXR- α , SREBP2, APOA1 ($P < 0.01$) in the angelica astragalus total saponins group were also increased. **Conclusion** Astragalus saponins and angelica volatile oil have a certain regulation effect on the lipid metabolism of atherosclerotic ApoE^{-/-} mice and the mechanism may be achieved by regulating the expression level of ApoE^{-/-} mouse lipid metabolism protein.

Keywords: Astragalus total saponins; angelica essential oil; atherosclerosis; lipid metabolism; mice

近年来, 心血管疾病的死亡率不断上升, 对全世界人类健康造成了极大的危害, 动脉粥样硬化 (Atherosclerosis, AS) 是其重要的病变基础之一^[1], 及时干预动脉粥样硬化的发展对于心血管疾病的临床防控意义深远。中医认为年老体虚、气血不行、瘀血痰毒是动脉粥样硬化发病的主要病机, 当归补血汤作为补血活血治法的经典名方, 在防治心血管方面得到了广泛运用^[2-3]。黄芪总皂苷、当归挥发油是当归补血汤两大主要有效成分之一, 具有降脂、抗炎、抗血栓等多种药理学作用^[4-6]。本课题组前期动物实验^[7]结果亦表明, 当归补血汤全方可以通过调控 ApoE^{-/-}小鼠的脂质代谢, 从而发挥一定的抗动脉粥样硬化作用。基于此, 本实验选用 ApoE^{-/-}小鼠建立动脉粥样硬化模型, 观察黄芪总皂苷、当归挥发油对动脉粥样硬化小鼠脂质代谢的干预作用, 以期能进一步明确当归补血汤发挥调血脂抗动脉粥样硬化作用的药效物质基础。

1 材料与方法

1.1 动物 ApoE^{-/-}小鼠, 雄性, SPF 级, 6 周龄, 体

质量(22±2)g, 北京维通利华公司提供, 动物许可证号: SCXK(京)2016-0006, 动物质量合格证号: 11400700374843。C57BL/6 小鼠, 雄性, SPF 级, 6 周龄, 体质量(22±2)g, 广州中医药大学实验动物中心提供, 动物许可证号: SCXK(粤)2018-0034, 动物质量合格证号: 44005800009487。饲养于广州中医药大学 SPF 级实验动物中心, 使用许可证号: SCXK(粤)2018-0001。

1.2 药物及试剂 黄芪总皂苷标准品, 成都曼思特生物科技有限公司, 批号: MUST-19032805; 当归挥发油, 南京草本源生物科技有限公司, 批号: 2019032415; D12108c 高脂饲料, 美国 Research Diet 公司, 批号: 19032415; 总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL-c)、高密度脂蛋白(HDL-c)、一氧化氮(NO)试剂盒, HE 染色试剂盒, 南京建成生物科技有限公司, 批号分别为: 20190918、20190925、20190923、20190922、20190814、20190715; 内皮素(ET-1)试剂盒, 武汉华美生物科技有限公司, 批号: 20190926; 游离胆固醇(FC)、游离脂肪酸(FFA)试剂盒, 北京索莱宝生物科技有限

公司,批号分别为:20190928、20191012;兔多克隆抗体 APOAI、兔多克隆抗体 SREBP2、小鼠单克隆抗体 ABCA1、兔单克隆抗体 LXR- α 、兔单克隆抗体 SR-BI、兔单克隆抗体 β -actin、HRP 标记的山羊抗兔 IgG、HRP 标记的兔抗鼠 IgG,美国 Abcam 公司,批号分别为:ab20453、ab30682、ab66217、ab176323、ab52629、ab8226、ab6721、ab190492;BCA 蛋白定量试剂盒,美国 Thermo Fisher 公司,批号:2335;ECL 化学发光液,美国密理博公司,批号:1705102。

1.3 实验仪器 D7500 相机,日本尼康公司;Thermo Multiskan Sky 全波长酶标仪,美国 Thermo 公司;DMi8ID 倒置显微镜、CM1860 冰冻切片机,德国莱卡公司;垂直电泳仪、ChemiDOCTMXRS 成像仪,美国伯乐公司;SCIENTZ-192 组织匀浆机,宁波新芝公司。

1.4 动物分组、造模及给药 将 30 只 ApoE^{-/-}小鼠随机分为模型组、黄芪总皂苷组、当归挥发油组,每组 10 只,高脂饮食连续喂养 8 周诱导建立动脉粥样硬化模型,同时选用 10 只 C57BL/6 小鼠普食喂养作为正常对照组。高脂喂养 8 周后断尾取血,测定血清 TC、TG、LDL-c、HDL-c 含量,辅助确定 ApoE^{-/-}小鼠的动脉粥样硬化成模情况。本课题组前期预实验及文献资料^[7-8]均证实,ApoE^{-/-}小鼠在高脂喂养 8 周后,能成功建立动脉粥样硬化模型。第 9 周开始灌胃给药,黄芪总皂苷组与当归挥发油给药剂量参考有关研究^[9-10]定为 30 mg·kg⁻¹,正常对照组与模型组予以等体积蒸馏水灌胃,连续给药 8 周。

1.5 血脂指标检测 给药 4 周后,断尾取血,给药 8 周后,摘眼球取血,全血静置 2 h,于 4℃以离心半径 8 cm、3 000 r·min⁻¹离心 15 min;取上层血清,用试剂盒检测各项血清指标,操作步骤按照试剂盒说明书进行。

1.6 肝脏 TC、TG、FFA、FC 水平检测 取新鲜肝脏,按 1:100 的质量体积比加入无水乙醇和 FFA 组织提取液(TC、TG、FC 以无水乙醇作为匀浆介质),使用组织匀浆机匀浆;于 4℃以离心半径 8 cm、12 000 r·min⁻¹离心 15 min,取上清,用试剂盒检测各项指标,操作步骤按试剂盒说明书进行。

1.7 肝脏、主动脉、主动脉窦油红 O 染色 给药 8 周后,从心脏心尖处灌注小鼠,摘取心脏、肝脏等组织存放于 4%多聚甲醛溶液中。肝脏、心脏组织经蔗糖浓液梯度脱水(10%、20%、30%)后,OCT 包

埋,使用冰冻切片机切片,厚度分别为 10、8 μ m,染色步骤参照有关研究^[11]进行。染色结束后用相机、显微镜观察并拍摄照片,以 ImageJ 软件统计主动脉窦脂质沉积、肝脏脂滴的面积及其占总面积的百分比。

1.8 肝脏、主动脉 HE 染色 肝脏、主动脉经 OCT 包埋,冰冻切片机切片,厚度 4 μ m,染色步骤参照相关文献^[12]进行。染色结束后用显微镜观察并拍摄照片,以 ImageJ 软件统计主动脉厚度、肝脏油红脂滴、脂滴空洞的面积。

1.9 Western Blot 法检测肝脏脂质代谢蛋白的表达

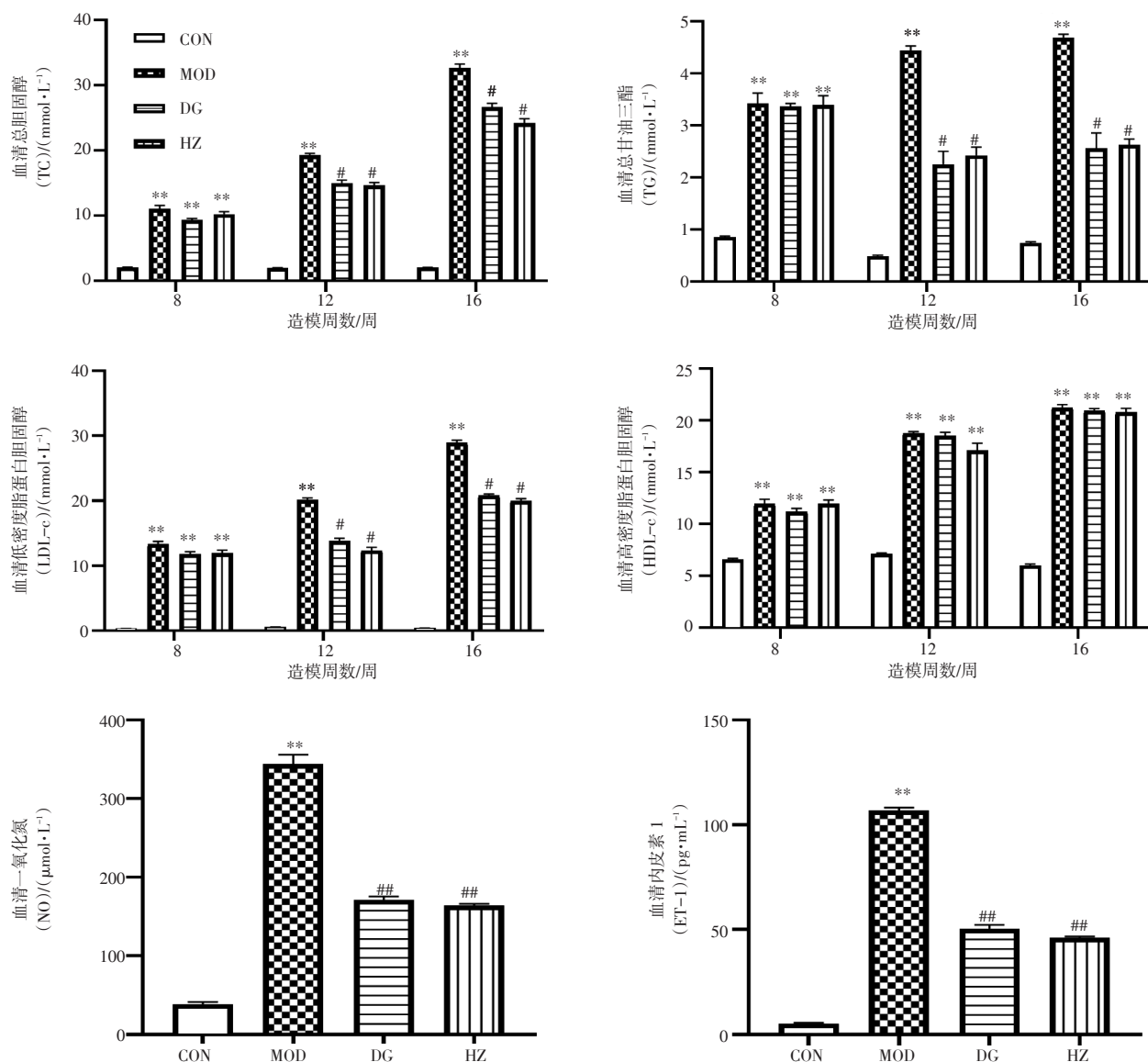
取适量新鲜肝脏组织,按 1:100 质量体积比加入含蛋白酶、磷酸酶抑制剂的组织裂解液,用匀浆仪匀浆,冰浴静置 1 h,于 4℃以离心半径 8 cm、12 000 r·min⁻¹离心 15 min,取上清,用 BCA 试剂盒定量各样品的蛋白浓度。根据蛋白浓度补加裂解液和 loading buffer,使各样品蛋白浓度统一。经 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白,转膜 2.5 h,5%牛奶常温封闭 2 h,一抗 4℃孵育过夜,二抗常温孵育 1 h,洗膜,曝光,使用 ImageJ 软件统计各条带的灰度值。

2.0 统计学处理方法 采用 SPSS 21.0 统计软件进行数据分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准误($\bar{x} \pm s_x$)表示。多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 Dunnett's 方法分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 黄芪总皂苷、当归挥发油对 ApoE^{-/-}小鼠血清 TC、TG、LDL-c、HDL-c、NO、ET-1 含量的影响 结果见图 1。高脂喂养 12 周(即给药 4 周)后,与正常对照组比较,模型组血清 TC、TG、LDL-c、HDL-c 浓度升高($P < 0.01$);与模型组比较,黄芪总皂苷、当归挥发油组血清 TC、TG、LDL-c 含量降低($P < 0.05$)。高脂喂养 16 周(即给药 8 周)后,与正常对照组比较,模型组血清 TC、TG、LDL-c、HDL-c、NO、ET-1 浓度升高($P < 0.01$);与模型组比较,黄芪总皂苷、当归挥发油组血清 TC、TG、LDL-c($P < 0.05$)及 NO、ET-1($P < 0.01$)含量降低,HDL-c 的差异无统计学意义($P > 0.05$)。

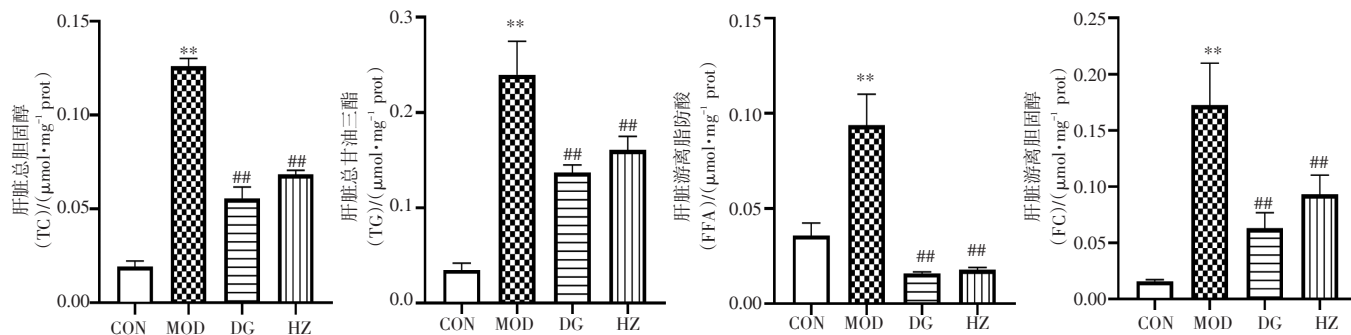
2.2 黄芪总皂苷、当归挥发油对 ApoE^{-/-}小鼠肝脏 TC、TG、FFA、FC 含量的影响 结果见图 2。与正常对照组比较,模型组肝脏 TC、TG、FFA、FC 含量升高($P < 0.01$)。与模型组比较,黄芪总皂苷、当归挥发油组肝脏 TC、TG、FFA、FC 含量降低($P < 0.01$)。



注: CON 为正常对照组; MOD 为模型组; DG 为当归挥发油组; HZ 为黄芪总皂苷组。与正常对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

图1 黄芪总皂苷、当归挥发油对 ApoE^{-/-}小鼠血清 TC、TG、LDL-c、HDL-c、NO、ET-1 含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Figure 1 Effects of astragalus total saponins and angelica volatile oil on serum TC, TG, LDL-c, HDL-c, NO, ET-1 levels in ApoE^{-/-} mice($\bar{x} \pm s$, $n=10$)



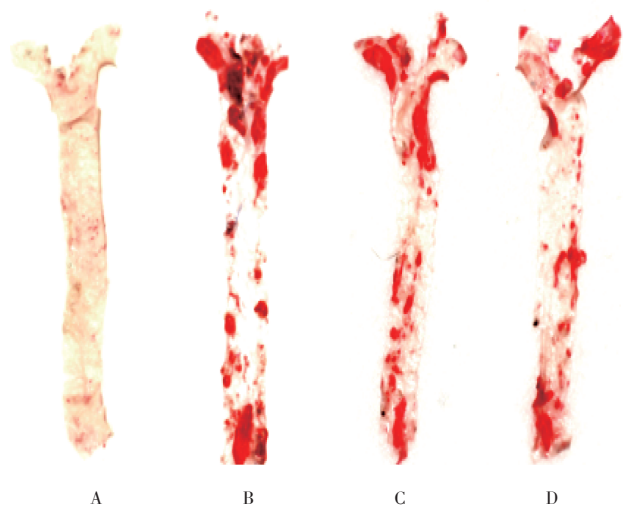
注: CON 为正常对照组; MOD 为模型组; DG 为当归挥发油组; HZ 为黄芪总皂苷组。与正常对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ** $P < 0.01$

图2 黄芪总皂苷、当归挥发油对 ApoE^{-/-}小鼠肝脏 TC、TG、FFA、FC 含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Figure 2 Effects of astragalus total saponins and angelica volatile oil on liver TC, TG, FFA, FC levels in ApoE^{-/-} mice($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

2.3 肝脏、主动脉、主动脉窦油红 O 染色 结果见图 3~6。正常对照组的肝脏、主动脉窦没有脂质沉积。与正常对照组比较，模型组肝脏脂肪性变严重，油红脂滴呈多囊状大面积分布；主动脉、主动

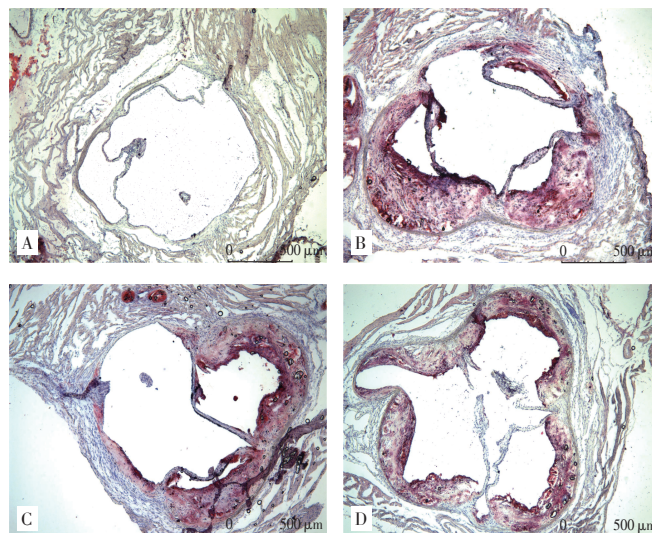
脉窦伴有大量脂质沉积。与模型组比较，黄芪总皂苷、当归挥发油组的肝脏、主动脉、主动脉窦脂滴或脂质面积降低($P < 0.05$)。



注：A 为正常对照组；B 为模型组；C 为黄芪总皂苷组；D 为当归挥发油组

图 3 各组主动脉油红 O 染色

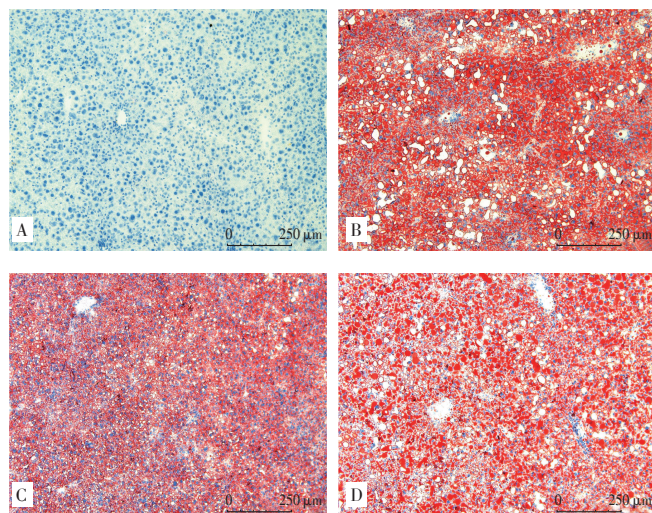
Figure 3 Oil red O staining of aorta



注：A 为正常对照组；B 为模型组；C 为当归挥发油组；D 为黄芪总皂苷组

图 5 各组主动脉窦油红 O 染色($\times 100$)

Figure 5 Oil red O staining of aortic sinus



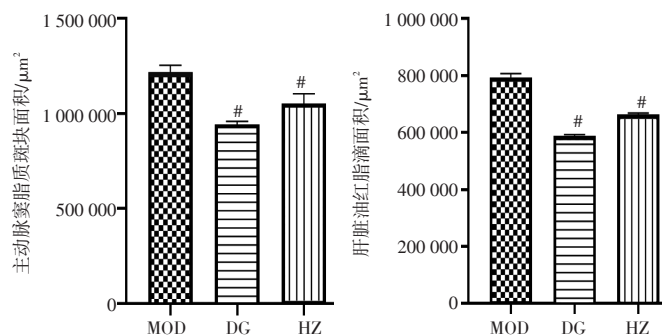
注：A 为正常对照组；B 为模型组；C 为当归挥发油组；D 为黄芪总皂苷组

图 4 各组肝脏油红 O 染色($\times 100$)

Figure 4 Oil red O staining of liver

2.4 肝脏、主动脉 HE 染色 结果见图 7~9。正常对照组的肝脏形态正常，HE 染色后肝脏没有脂滴空洞。与正常对照组比较，模型组肝细胞排列紊乱，组织形态异常，肉眼可见大面积脂滴空洞，肝脏脂滴空洞面积增多；主动脉管壁明显增厚($P < 0.01$)，

伴有大量巨噬细胞浸润及胆固醇沉积。与模型组比较，黄芪总皂苷、当归挥发油组肝脏、主动脉组织形态趋于正常；肝脏脂滴空洞面积减少($P < 0.05$, $P < 0.01$)，主动脉管壁厚度下降($P < 0.05$)，炎症细胞数量减少。

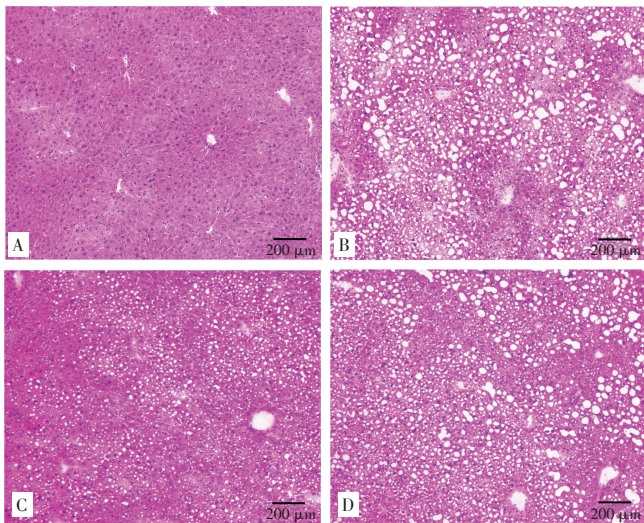


注：MOD 为模型组；DG 为当归挥发油组；HZ 为黄芪总皂苷组。与模型组比较，* $P < 0.05$

图 6 黄芪总皂苷、当归挥发油对 ApoE^{-/-}小鼠肝脏、主动脉窦脂质沉积的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Figure 6 Effects of astragalus saponins and angelica volatile oil on lipid deposition in the liver and aortic sinus of ApoE^{-/-} mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

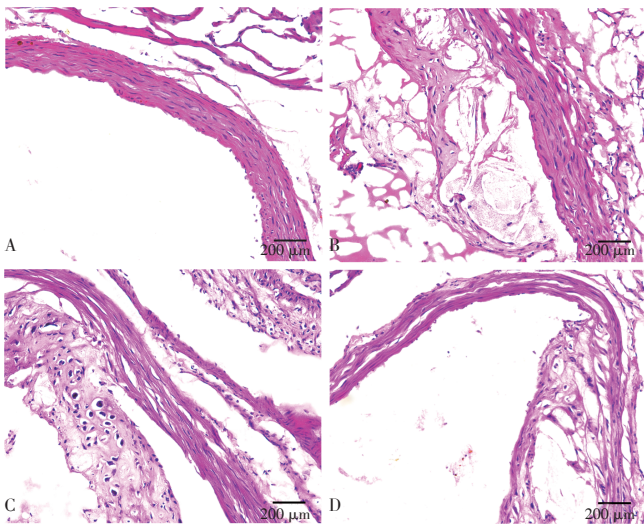
2.5 黄芪总皂苷、当归挥发油对 ApoE^{-/-}小鼠肝脏脂质代谢蛋白表达的影响 结果见图 10。与正常对照组比较, 模型组肝脏 ABCA1、SR-BI、APOAI、LXR- α ($P < 0.05$) 及 SREBP2 ($P < 0.01$) 蛋白表达降低。与模型组比较, 黄芪总皂苷组肝脏 ABCA1、SR-BI ($P < 0.05$) 及 SREBP2、APOAI、LXR- α ($P < 0.01$) 蛋白表达升高; 当归挥发油组肝脏 SR-BI、LXR- α ($P < 0.05$) 及 ABCA1、SREBP2、APOAI ($P < 0.01$) 蛋白表达升高。



注: A 为正常对照组; B 为模型组; C 为当归挥发油组; D 为黄芪总皂苷组

图 7 各组肝脏 HE 染色($\times 100$)

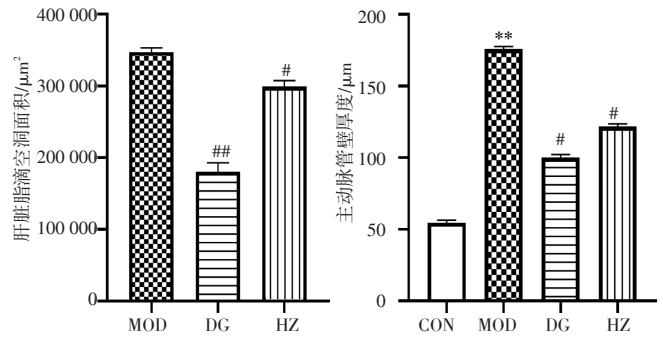
Figure 7 Hematoxylin-eosin staining of liver



注: A 为正常对照组; B 为模型组; C 为当归挥发油组; D 为黄芪总皂苷组

图 8 各组主动脉 HE 染色($\times 100$)

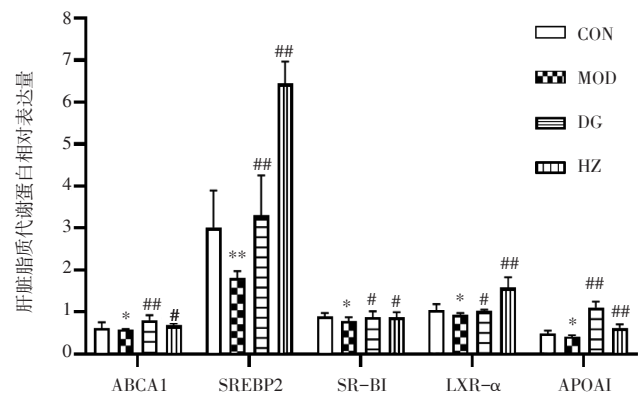
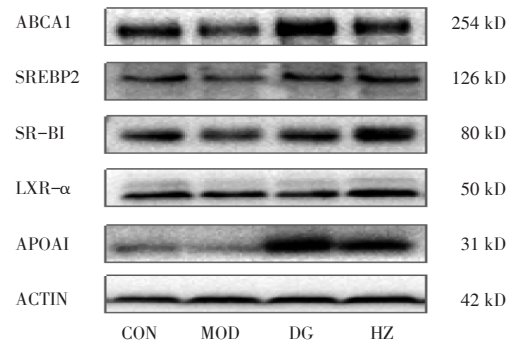
Figure 8 Hematoxylin-eosin staining of aorta



注: CON 为正常对照组; MOD 为模型组; DG 为当归挥发油组; HZ 为黄芪总皂苷组。与正常对照组比较, ^{*} $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$

图 9 黄芪总皂苷、当归挥发油对 ApoE^{-/-}小鼠肝脏脂滴空洞、主动脉厚度的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Figure 9 Effects of astragalus total saponins and angelica volatile oil on lipid deposition in the liver and aortic thickness of ApoE^{-/-} mice($\bar{x} \pm s$, $n=10$)



注: CON 为正常对照组; MOD 为模型组; DG 为当归挥发油组; HZ 为黄芪总皂苷组。与正常对照组比较, ^{*} $P < 0.05$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$

图 10 黄芪总皂苷、当归挥发油对 ApoE^{-/-}小鼠肝脏脂质代谢蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Figure 10 Effects of astragalus saponins and angelica volatile oil on the expression of lipid metabolism protein in liver of ApoE^{-/-} mice($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

3 讨论

动脉粥样硬化作为心脑血管疾病的主要病理基础之一,受到国内外心血管疾病研究专家的广泛关注。及时防控动脉粥样硬化的发展对于全人类的健康有着十分重要的临床和现实意义。以脂质组分和蛋白质组分改变为特征的血脂代谢紊乱是动脉粥样硬化发病初期的首要病理改变^[13]。脂蛋白是血液中不溶性脂类的载体,由内、外核两部分构成,疏水内核富含胆固醇酯、甘油三酯,外核主要由蛋白质、磷脂、胆固醇等组成;是血液中不溶性脂类与蛋白质以疏水性相互作用结合在一起形成的脂质-蛋白质球状微粒复合物^[14]。

脂蛋白中脂质组分主要来源于饮食摄入和肝脏合成的胆固醇、甘油三酯^[15-16]。胆固醇是生物膜的结构组分,是性激素和胆汁酸生物合成的必需组分,其含量直接影响生物体细胞膜的稳定性、透过性、蛋白质的机动性,而甘油三酯则是哺乳动物体内新陈代谢能量的主要来源之一^[15]。在正常生理状态下,脂蛋白作为血浆蛋白的主要成分之一,参与哺乳动物细胞外脂质的包装、储存、运输、代谢等多个重要生理过程^[16]。在异常病理状态下,脂蛋白中的蛋白质组分(也常被称为载脂蛋白)参与脂质运输、代谢,补体激活、免疫响应、炎症响应、蛋白酶抑制剂、氧化应激等多个动脉粥样硬化病理环节,在动脉粥样硬化病变进程中有着举足轻重的地位^[17]。

动脉粥样硬化病变进程中的脂蛋白代谢异常主要表现在两方面,一方面,血浆中 TC、TG、LDL 的浓度异常升高,造成血浆中脂质大量蓄积;另一方面,血脂中主要负责胆固醇逆向转运的 HDL 浓度明显下降,使得生物体转运胆固醇的效率明显降低^[18]。过度蓄积的 LDL 通过 LDL 受体摄取活性氧基团,逐渐演变成氧化的 LDL (ox-LDL)^[19]。大量氧化的 ox-LDL 被巨噬细胞表面清道夫受体识别并吞噬,ox-LDL 因不受巨噬细胞脂质转运机制调控,进而在其体内不断蓄积,使得巨噬细胞逐渐演化为泡沫细胞^[20]。具有细胞毒性的 ox-LDL 蓄积到一定程度后,迫使泡沫细胞发生坏死和降解。泡沫细胞发生坏死和降解时,会分泌出大量的基质蛋白酶(MMP),MMP 属于 MMP 超家族成员,它能促使斑块的纤维帽和细胞外基质降解,使得粥样斑块趋于不稳定,继发斑块破裂出血^[21-22]。泡沫细胞在发生坏死和降解后,又同时释放出大量的炎症因子,使得血浆中炎

症因子的浓度在短时间内急剧升高。外周循环血中的单核细胞、淋巴细胞、巨噬细胞在炎症因子的招募下,大量向破损的血管内膜下聚集,募集于血管内膜下的细胞在 ox-LDL 及多种炎症因子的诱导下,最终会演化为泡沫细胞^[23]。综上,血脂代谢异常与炎症因子互为因果地在动脉血管内膜破损处形成恶性循环,促使动脉管壁的病理改变由脂肪条纹向粥样斑块、斑块坏死破裂出血进展,逐步推进动脉粥样硬化的进程。

本实验通过高脂饮食喂养 ApoE^{-/-}小鼠,成功建立了动脉粥样硬化模型,并用黄芪总皂苷、当归挥发油对动脉粥样硬化小鼠进行灌胃给药治疗,观察其对动脉粥样硬化小鼠脂质代谢的干预作用,以期进一步明确当归补血汤调控动脉粥样硬化模型小鼠脂质代谢的起效药物作用基础。实验结果显示,高脂喂养 16 周后,模型组小鼠血清、肝脏 TC、TG、FFA、FC、NO、ET-1 浓度升高;肝脏、主动脉病理改变严重,且伴有大量脂质沉积;肝脏脂质代谢调节蛋白 ABCA1、SR-BI、APOA1、LXR- α 、SREBP2 表达量降低。动脉粥样硬化模型小鼠经黄芪总皂苷、当归挥发油连续治疗 8 周后,血清中的血脂及肝脏中的胆固醇含量降低;肝脏、主动脉病理改变相对减轻;肝脏脂质代谢蛋白表达量增多。

综上,本研究结果显示黄芪总皂苷、当归挥发油对动脉粥样硬化的 ApoE^{-/-}小鼠的脂质代谢都有一定的调节作用,其具体起效机制可能是通过调节 ApoE^{-/-}小鼠脂代谢相关蛋白的表达水平来实现的。不足的是,本实验仅从动物实验水平探究了黄芪总皂苷、当归挥发油对 ApoE^{-/-}小鼠脂代谢的调控作用,下一步我们将开展体外细胞实验,进一步验证其干预动脉粥样硬化脂质代谢的分子机制。

参考文献:

- [1] DAHLÖF B. Cardiovascular disease risk factors: epidemiology and risk assessment[J]. Amer Car, 2010, 105(1): 3A-9A.
- [2] 冯君,刘建和,冉俊宁,等. 从痰、瘀、虚探讨动脉粥样硬化的中医医病机[J]. 陕西中医, 2020, 41(2): 217-219.
- [3] 武亚涛,王玲玲,陈学军,等. 益气化痰活血法治疗颈动脉粥样硬化斑块的临床疗效及其安全性[J]. 临床合理用药杂志, 2018, 11(6): 73-74.
- [4] 吴国泰,刘五洲,杜丽东,等. 当归挥发油对高血脂模型大鼠的降血脂作用及血管内皮保护作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2016, 24(10): 989-993.

- [5] 龚廷栋, 黄水清. 当归补血汤有效组分抗动脉粥样硬化配伍比例的基础研究[J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(4): 468-472.
- [6] 马园园, 王静, 罗琼, 等. 黄芪总皂苷药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(7): 153-157.
- [7] 许二巾. 当归补血汤抗ApoE小鼠动脉粥样硬化的作用及机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2019.
- [8] MEIR K, LEITERSDORF E. Atherosclerosis in the apolipoprotein E-deficient mouse—A decade of progress[J]. Arter Throm Vas Bio, 2004, 24(6): 1006-1014.
- [9] 王志旺, 妥海燕, 李荣科, 等. 当归挥发油对哮喘 BALB/c 小鼠的平喘作用及对 Treg 细胞活性的影响[J]. 中药药理与临床, 2016, 32(2): 137-141.
- [10] HUANG X, TAN H, CHEN B. Combination of total astragalus extract and total Panax notoginseng saponins strengthened the protective effects on brain damage through improving energy metabolism and inhibiting apoptosis after cerebral ischemia-reperfusion in mice[J]. Chin inte med, 2017, 23(6): 445-452.
- [11] 范磊. miR-552-3p改善糖脂代谢失调性疾病作用发现及机制研究[D]. 上海: 中国科学院大学, 2020.
- [12] 张文将. 安化黑茶防治脂类代谢障碍相关疾病的机理研究[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2019.
- [13] HUANG S, CAO Y. Correlation of cathepsin S with coronary stenosis degree, carotid thickness, blood pressure, glucose and lipid metabolism and vascular endothelial function in atherosclerosis [J]. Exp Ther Med, 2020, 19(1): 61-66.
- [14] 刘培彬, 叶子璐, 蔡潭溪, 等. 脂蛋白组学研究进展[J]. 生物化学与生理物理研究进展, 2014, 27(12): 1197-1206.
- [15] SCHITTMAYER M, BIRNER R. Functional proteomics in lipid research: lipases, lipid droplets and lipoproteins[J]. 2009, 72(6): 1006-1018.
- [16] ALONZI T, MANCONE C, AMICONE L, et al. Elucidation of lipoprotein particles structure by proteomic analysis[J]. Exp Rev Prot, 2008, 5(1): 91-104.
- [17] SCHAFTENAAR F, FRODERMANN V, KUIPER J, et al. Atherosclerosis: the interplay between lipids and immune cells[J]. Curr Opin Lip, 2016, 27(3): 209-215.
- [18] WANG H, GARRUTI G, LIU M, et al. Cholesterol and lipoprotein metabolism and atherosclerosis: recent advances in reverse cholesterol transport[J]. Ann Hepa, 2017(16): 27-42.
- [19] HAGHIKIA A, LANDMESSER U. Lipoproteins and cardiovascular redox signaling: role in atherosclerosis and coronary disease[J]. Anti Red Sig, 2018, 29(3): 337-352.
- [20] GISTERA A, HANSSON G. The immunology of atherosclerosis[J]. Nat Rev Nephrol, 2017, 6(13): 368 - 380.
- [21] GROH L, KEATING S, JOOSTEN L, et al. Monocyte and macrophage immunometabolism in atherosclerosis[J]. Semin Immu, 2018, 40(2): 203-214.
- [22] TABAS I, BORNFELDT K. Macrophage phenotype and function in different stages of atherosclerosis[J]. Cir Res, 2016, 118(4): 653-667.
- [23] BACK M, YURDAGUL A, TABAS I, et al. Inflammation and its resolution in atherosclerosis: mediators and therapeutic opportunities [J]. Nat Rev Car, 2019, 16(7): 389-406.

(编辑: 修春)