

文章编号: 1007-2861(2009)03-0320-06

三七毛根皂苷对动脉粥样硬化大鼠血脂及血管细胞黏附分子表达影响

胡俊, 沈中晨, 沈芸, 翁新楚

(上海大学 生命科学学院, 上海 200444)

摘要: 观察三七毛根皂苷(PNS)对实验性动脉粥样硬化(AS)大鼠血脂及血管细胞黏附分子-1(VCAM-1) mRNA表达的影响. 采用高脂饲料配合腹腔维生素D₃注射法建立AS大鼠模型, 将Wistar大鼠随机分成正常对照组、模型组、PNS低剂量组、PNS高剂量组、阳性对照组. 治疗4周后检测血脂水平、血清丙二醛(MDA)含量及超氧化物歧化酶(SOD)活力, 分离主动脉, 苏木素-伊红(Hematoxylin-Eosin)染色及RT-PCR技术检测主动脉VCAM-1 mRNA表达. 模型组大鼠均出现血脂异常及主动脉病理形态改变. PNS低、高剂量组能降低TC, TG, LDL-c及MDA含量, 升高HDL-c及SOD活力($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 下调VCAM-1基因mRNA的表达($P < 0.01$). 表明PNS具有良好的抗AS作用, 其下调相关基因VCAM-1 mRNA的表达可能是其产生治疗作用的分子机理之一.

关键词: 三七毛根粗总皂苷; 动脉粥样硬化模型; 血管细胞黏附因子-1

中图分类号: R 966

文献标志码: A

Effects of PNS on Blood Lipids and mRNA Expression of Vascular Cell Adhesion Molecule-1 in Atherosclerotic Rats

HU Jun, SHEN Zhong-chen, SHEN Yun, WENG Xin-chu

(School of Life Sciences, Shanghai University, Shanghai 200444, China)

Abstract: The effect of *Panax notoginseng* (PNS) on blood lipids and expression of aorta vascular cell adhesion molecule-1 of experimental atherosclerotic rats was studied. Atherosclerotic rats were replicated by administration of excessive vitamin D₃ followed by feeding a high-cholesterol diet. Experimental rats were divided into normal control group, model group, PNS low dosage group, PNS high dosage group, and simvastatin group. After treatment for 4 weeks, cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein (LDL-c), high density lipoprotein (HDL-c), malondialdehyde (MDA) level and activity of superoxide dismutase (SOD) were detected. Aorta alteration of tissue morphology was observed by Hematoxylin-Eosin staining. Half-quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to detect VCAM-1 gene expression in artery vessel. High- and low-dosages of PNS were significantly reduce serum TC, TG, LDL-c and MDA levels, elevate HDL-c and SOD activity in atherosclerotic rats ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). The histopathological observation of aortic arch showed alleviation of atherosclerotic damage by PNS. VCAM-1 mRNA expression was significantly inhibited by

收稿日期: 2008-01-21

通信作者: 翁新楚(1962~), 男, 教授, 博士生导师, 博士, 研究方向为天然产物资源开发、油脂抗氧化等. E-mail: wxch@staff.shu.edu.cn

PNS ($P < 0.01$). PNS can regulate down the gene expression of VCAM-1 in artery vessels of experimental atherosclerotic rats, which may account for the anti-atherosclerosis effects of PNS.

Key words: *Panax notoginseng* (PNS); atherosclerosis; vascular cell adhesion molecule-1

三七是名贵药食同源植物,历代医家和现代医学证明其具有活血化痰、消肿镇痛、预防和治疗心脑血管病等疗效。三七毛根是生长在主根上的须状根,其主要的有效成分三七皂苷(PNS)具有保护心肌、抗心律失常、抗休克、降低动脉血压等多方面的作用^[1]。动脉粥样硬化(AS)是危害人类健康的常见病,发病率和死亡率都很高^[2]。该病的形成是一种复杂的多因素参与的慢性病理过程^[3],因此寻找有效的药物及单体成分,深入探讨中药防治AS的作用机制已成为人们关注的课题。诸多研究表明,AS的发生和发展可能与细胞间黏附分子(ICAM-1)、血管细胞黏附分子(VCAM-1)等的表达有关^[4]。本实验参考文献[5],采用高脂喂养配合注射维生素D₃建立AS大鼠模型,研究PNS对AS大鼠血脂及胸主动脉VCAM-1 mRNA表达的影响,进一步探讨其抗AS的分子机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性Wistar大鼠40只,体重120~135 g,清洁级,中科院上海斯莱克实验动物有限公司提供。实验期间自由饮水,高脂饲料^[6]:5%胆固醇,0.5%胆酸钠,10%猪油,5%蛋黄粉,0.2%丙基硫氧嘧啶及83%基础饲料配制,适应性喂养1周后进行实验。

1.2 主要药品与试剂

三七毛根(云南文山三七研究所提供),PNS(实验室自提),TG,TC,LDL-c,HDL-c试剂盒(浙江东欧生物工程有限公司),MDA,SOD试剂盒(南京建成生物工程研究所),胆固醇、胆酸钠(北京鼎国生物技术发展公司),丙基硫氧嘧啶(上海复星药业股份有限公司),辛伐它汀(哈药集团三精制药有限公司),维生素D₃(上海通用药业股份有限公司);Trizol reagent总RNA抽提试剂(北京TIANGEN BIOTECH公司),Taq DNA聚合酶、dNTP、VCAM-1及 β -actin(β -肌动蛋白)引物(上海生工生物工程有限公司)。

1.3 主要仪器

光学显微镜及成像设备(Olympus, Japan),低温冰箱(日本SANYO公司),台式冷冻离心机(德国

Hettich公司),Tgradient PCR仪(德国Biometra公司),FR-200紫外与可见分析装置系统(上海复日科技公司),电泳仪(美国Bio-Rad公司)。

1.4 动物建模

大鼠预养1周后,腹腔注射给予维生素D₃,连续3 d,总剂量 $4 \times 10^4 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。同时喂食高脂饲料,造成AS大鼠模型,4周后采集血、肝脏和主动脉标本,作相关检测。

1.5 实验分组

健康40只大鼠,随机分成5组,每组8只,即正常对照组、模型组、PNS低剂量组($60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、PNS高剂量组($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、阳性对照组(辛伐它汀 $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),正常组和模型组灌胃给予生理盐水,给药组给予0.5% CMC溶液,每天1次,连续4周,给药体积为 $1.5 \text{ mL} \cdot \text{只}^{-1}$ 。

1.6 检查项目及方法

1.6.1 生化指标的检测

大鼠腹主动脉取血,检测血清TC,LDL-c,TG,HDL-c,MDA的含量及SOD的活力。

$\text{VLDL-c} = \text{TG} \times 0.453$,抗动脉粥样硬化指数(AAI) = $\text{TC}/\text{HDL-c}$ 。

1.6.2 肝脏系数的检测

大鼠处死后取肝脏,生理盐水冲洗,滤纸吸干,称重,计算肝系数。

肝系数(%) = $\text{肝重}(\text{g})/\text{体重}(\text{g}) \times 100\%$ 。

1.6.3 病理组织学检查

大鼠主动脉弓于4%甲醛溶液中固定12 h,石蜡包埋,切片,HE染色,逐级脱水,透明树胶封片,光镜下观察主动脉病理组织学变化。

1.6.4 胸主动脉RNA的提取

总RNA抽提试剂盒方法提取大鼠胸主动脉总RNA。

1.6.5 RT-PCR检测VCAM-1 mRNA表达

(1) 逆转录。逆转录在 $20 \mu\text{L}$ 体系中进行。取上步总RNA $2 \mu\text{L}$,Oligo(dT)(寡聚脱氧胸苷酸) $1 \mu\text{L}$ ($0.5 \mu\text{g}/\mu\text{L}$),混匀, 70°C 10 min后立即放入冰浴中,混匀如下:ddH₂O(双蒸水) $11 \mu\text{L}$,dNTPs $1 \mu\text{L}$, $5 \times$ buffer(缓冲液) $4 \mu\text{L}$,M-MLV逆转录酶 $1 \mu\text{L}$ 。RT程序: 70°C ,10 min; 37°C ,1 h; 95°C ,5 min; 4°C ,停

止. RT 反应结束, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存.

(2) PCR 扩增. 引物序列参考文献[7]数据, 具体序列为

β -actin Sense 5'-CCTTCCTGGGCATGGAGTCCTG-3'
 Antisense 5'-GGAGCAATGATCTTGATCTTC-3'
 VCAM-1 Sense 5'-CACCTCCCCCAAGAATACAGA-3'
 Antisense 5'-GCTGATCCTCAACACCCACAG-3'

PCR 反应均在 $20\text{ }\mu\text{L}$ 体系中进行. 反应体系均为 cDNA $2\text{ }\mu\text{L}$, ddH₂O $14.4\text{ }\mu\text{L}$, $10\times$ PCR buffer $2\text{ }\mu\text{L}$ 、上游及下游引物各 $0.5\text{ }\mu\text{L}$ ($25\text{ }\mu\text{M}$), dNTP $0.4\text{ }\mu\text{L}$ ($10\text{ }\mu\text{M}$), β -actin (β -肌动蛋白)、VCAM-1 反应条件为: 预变性 $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 2 min , 变性 $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 1 min , 退火 $56\text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s , 延伸 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 1 min , 循环 35 轮, 然后 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min , $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 停止.

(3) 取 PCR 扩增产物 $10\text{ }\mu\text{L}$, 2% 琼脂糖凝胶电泳, 电压 80 V , 电泳 45 min . 结束后, 用凝胶成像系统拍照, 用自带 Blandleader 3.0 图像处理软件的光密度扫描仪扫描测定灰度值, 以 β -actin 为内参照, 测

定各样本 VCAM-1 mRNA 的表达量, 结果以目的基因片段 (476 bp) 的灰度值与 β -actin 扩增片段 (200 bp) 的灰度值的比值表示.

1.7 统计方法

实验数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 显著性检验用 student t test 检验, $P < 0.05$ 认为有显著性差异.

2 结果

2.1 PNS 对大鼠血脂的影响

治疗 4 周后, 与正常组比较模型组大鼠的 TC, TG, LDL-c 及 VLDL-c 升高, HDL-c 和 AAI 指数明显下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 证明造模成功. 与模型组比较, PNS 低、高剂量组可以显著性降低大鼠 TC, TG 和 VLDL-c, 升高 HDL-c 和 AAI 指数 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 其中 PNS 高剂量组更明显降低 LDL-c ($P < 0.05$, 见表 1 ~ 表 3).

表 1 PNS 对动脉粥样硬化大鼠治疗前后总胆固醇和甘油三酯的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of PNS on cholesterol (TC) and triglycerides (TG) in experimental atherosclerotic rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	TC/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)		TG/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	
		给药前	给药后	给药前	给药后
正常对照组		$2.20 \pm 0.12 (n=8)$	$1.60 \pm 0.17 (n=8)$	$1.56 \pm 0.23 (n=8)$	$1.37 \pm 0.19 (n=8)$
模型组		$2.04 \pm 0.19 (n=8)$	$3.89 \pm 0.12^{**} (n=6)$	$1.21 \pm 0.26 (n=8)$	$1.82 \pm 0.37^{*} (n=6)$
PNS 低剂量组	60	$1.99 \pm 0.13 (n=8)$	$2.37 \pm 0.29^{\Delta\Delta} (n=7)$	$1.30 \pm 0.29 (n=8)$	$0.67 \pm 0.18^{\Delta\Delta} (n=7)$
PNS 高剂量组	200	$2.24 \pm 0.33 (n=8)$	$2.93 \pm 0.38^{\Delta\Delta} (n=7)$	$1.08 \pm 0.24 (n=8)$	$0.72 \pm 0.24^{\Delta\Delta} (n=7)$
辛伐它汀组	4	$2.12 \pm 0.19 (n=8)$	$2.83 \pm 0.37^{\Delta\Delta} (n=6)$	$1.41 \pm 0.32 (n=8)$	$0.91 \pm 0.23^{\Delta\Delta} (n=6)$

注: $*P < 0.05$, $**P < 0.01$ 与正常对照组比较; $\Delta\Delta P < 0.01$ 与模型组比较

表 2 PNS 对动脉粥样硬化大鼠治疗前后低密度脂蛋白和高密度脂蛋白的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of PNS on low density lipoprotein (LDL-c) and high density lipoproteins (HDL-c)

in experimental atherosclerotic rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	LDL-c/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)		HDL-c/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	
		给药前	给药后	给药前	给药后
正常对照组		$1.56 \pm 0.09 (n=8)$	$1.71 \pm 0.06 (n=8)$	$0.90 \pm 0.15 (n=8)$	$0.88 \pm 0.13 (n=8)$
模型组		$1.58 \pm 0.14 (n=8)$	$3.18 \pm 0.51^{**} (n=6)$	$0.90 \pm 0.10 (n=8)$	$0.58 \pm 0.20^{**} (n=6)$
PNS 低剂量组	60	$1.52 \pm 0.10 (n=8)$	$2.89 \pm 0.26 (n=7)$	$0.83 \pm 0.09 (n=8)$	$0.89 \pm 0.25^{\Delta} (n=7)$
PNS 高剂量组	200	$1.55 \pm 0.16 (n=8)$	$2.74 \pm 0.27^{\Delta} (n=7)$	$0.84 \pm 0.05 (n=8)$	$1.41 \pm 0.17^{\Delta\Delta} (n=7)$
阳性对照组	4	$1.53 \pm 0.09 (n=8)$	$2.64 \pm 0.41^{\Delta} (n=6)$	$0.88 \pm 0.12 (n=8)$	$1.38 \pm 0.34^{\Delta\Delta} (n=6)$

注: $**P < 0.01$ 与正常对照组比较; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 与模型组比较

表3 PNS对动脉粥样硬化大鼠治疗前后极低密度脂蛋白和抗动脉粥样硬化指数的影响($\bar{x} \pm s$)Table 3 Effect of PNS on very low density lipoprotein(LDL-c) and antiatherosclerosis index(AAI) in experimental atherosclerotic rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	VLDL-c/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)		抗动脉粥样硬化指数 AAI	
		给药前	给药后	给药前	给药后
正常对照组		0.71 ± 0.10 (n=8)	0.68 ± 0.02 (n=8)	0.41 ± 0.07 (n=8)	1.24 ± 0.29 (n=8)
模型组		0.55 ± 0.12 (n=8)	0.83 ± 0.17** (n=6)	0.45 ± 0.08 (n=8)	0.18 ± 0.08** (n=6)
PNS 低剂量组	60	0.59 ± 0.13 (n=8)	0.30 ± 0.08 ^{△△} (n=7)	0.42 ± 0.06 (n=8)	0.56 ± 0.23 ^{△△} (n=7)
PNS 高剂量组	200	0.49 ± 0.11 (n=8)	0.33 ± 0.11 ^{△△} (n=7)	0.38 ± 0.07 (n=8)	0.92 ± 0.22 ^{△△} (n=7)
阳性对照组	4	0.64 ± 0.15 (n=8)	0.41 ± 0.10 ^{△△} (n=6)	0.42 ± 0.08 (n=8)	1.06 ± 0.49 ^{△△} (n=6)

注:** $P < 0.01$ 与正常对照组比较; ^{△△} $P < 0.01$ 与模型组比较

2.2 PNS对大鼠血清MDA和SOD影响

相比正常组,模型组大鼠血清中MDA含量显著升高($P < 0.01$),SOD活力显著降低($P < 0.01$),表明AS大鼠伴有自由基脂质过氧化损伤.与模型组比较,PNS

低剂量组能降低MDA含量($P < 0.05$),增加SOD的活力($P < 0.05$),PNS高剂量组也降低MDA含量,增加SOD的活力,但无显著性差异,结果表明PNS具有一定的体内脂质抗氧化能力(见表4).

表4 PNS对大鼠血清MDA和SOD的影响($\bar{x} \pm s$)Table 4 Effect of PNS on MDA and SOD in experimental atherosclerotic rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	数量	剂量/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	SOD/($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)	MDA/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)
正常对照组	n=8		266.58 ± 6.18	6.50 ± 0.37
模型组	n=6		252.93 ± 3.77**	9.89 ± 0.45**
PNS 低剂量组	n=7	60	264.09 ± 11.61 [△]	8.87 ± 0.40 [△]
PNS 高剂量组	n=7	200	258.29 ± 8.52	9.01 ± 0.37
阳性对照组	n=6	4	262.40 ± 11.65	9.05 ± 0.37

注:** $P < 0.01$ 与正常对照组比较; [△] $P < 0.05$ 与模型组比较

2.3 病理检测

2.3.1 肝脏病理检测

与正常组比较,各组大鼠肝系数没有统计学差异($P > 0.05$).但肉眼检查发现,正常组肝脏呈红色,边缘锐利,质韧富有弹性,肝窦排列整齐,颗粒均匀明显.模型组肝脏呈暗红色,边缘模糊,质地偏硬,肝有轻度水肿.PNS低、高剂量组及阳性对照组的肝水肿较模型组程度低(见图1).

2.3.2 主动脉弓HE染色

HE染色镜下显示,正常对照组主动脉内皮完整,细胞排列整齐,内膜未见增厚,中膜梭形平滑肌细胞排列整齐,弹力纤维层结构清晰完整,呈环行排列,外膜为薄层疏松结缔组织,中膜平滑肌之间未见脂肪组织增多.模型组管壁明显增厚(见图2(b)),内皮下积聚大量泡沫细胞,并向管腔突起,靠近内膜的中膜平滑肌细胞增生,排列紊乱,弹力纤维层结构不清,肌纤维间结缔组织增多,形成纤维增生.PNS低、高剂量组则情况稍好,内膜未见明显增厚,内皮

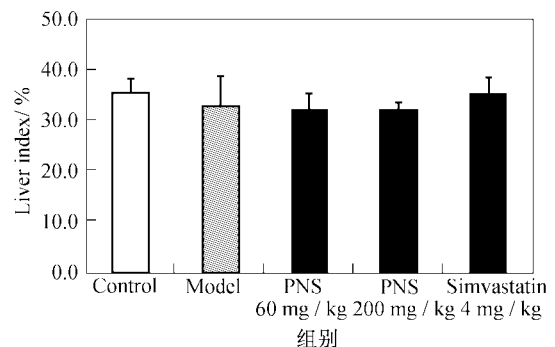


图1 PNS对大鼠肝系数的影响

Fig. 1 Effect of PNS on pathological score of liver index of experimental atherosclerotic rats

细胞及平滑肌细胞排列有稍许紊乱,仅部分泡沫细胞向管腔突起.阳性对照组(见图2(e))内皮细胞排列整齐,内膜未见增厚,中膜平滑肌排列整齐.

2.4 各组大鼠胸主动脉VCAM-1 mRNA特异性表达的差异

VCAM-1电泳鉴定图如图3所示,RT-PCR分析

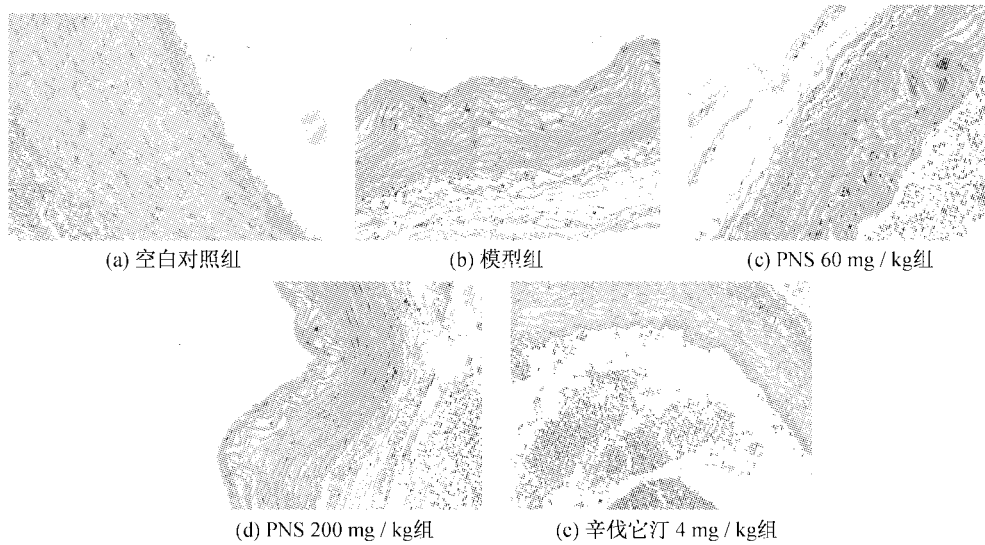


图2 动脉粥样硬化大鼠胸主动脉弓 HE 染色(×400)

Fig. 2 HE staining of artery from experimental atherosclerotic rats(×400)

数据如表5所示.与正常组相比,模型组 VCAM-1 mRNA 的表达量明显增加($P < 0.01$);与模型组相比,PNS 低、高剂量组均能显著性下调 VCAM-1 mRNA 的表达($P < 0.01$,见图3),说明 PNS 能够在转录水平上抑制 VCAM-1 基因的表达,表现为下调表达.

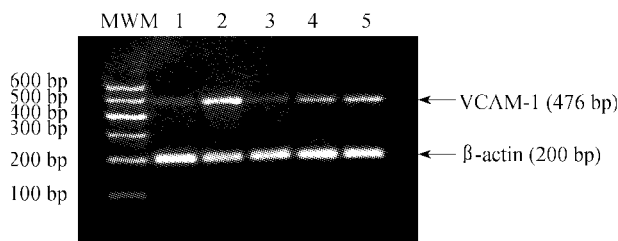


图3 PNS 对动脉粥样硬化大鼠胸主动脉壁 VCAM-1 的表达的影响

Fig. 3 Effect of PNS on VCAM-1 expressions in artery tissue of experimental atherosclerotic rats

表5 各组大鼠胸主动脉壁 VCAM-1 mRNA 表达结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Table 5 Gene expressions in artery tissue of experimental atherosclerotic rats ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	VCAM-1/ β -actin
正常对照组		0.63 ± 0.19
模型组		1.87 ± 0.36**
PNS 低剂量组	60	0.55 ± 0.17 $\Delta\Delta$
PNS 高剂量组	200	0.97 ± 0.33 $\Delta\Delta$
阳性对照组	4	1.11 ± 0.22 $\Delta\Delta$

注:** $P < 0.01$ 与正常对照组比较; $\Delta\Delta P < 0.01$ 与模型组比较

图3中MWM为DNA MW Marker V,第1泳道为空白对照组,第2泳道为模型组,第3~5泳道分别为PNS 60 mg/kg组、200 mg/kg组及辛伐它汀 4 mg/kg组样本RNA进行RT-PCR的结果.每个泳道的上样量为10 μ L RT-PCR产物.箭头所示为预期扩增的VCAM-1基因序列,大小为476 bp及 β -actin基因序列,大小为200 bp.结果显示,与空白组相比,模型组VCAM-1的表达大幅上调,而PNS 60 mg/kg, 200 mg/kg组VCAM-1的表达量与模型组相比有所抑制($P < 0.01$),说明了PNS具有下调VCAM-1 mRNA表达的作用.

3 讨论

AS的发病与胆固醇的代谢异常有着密切的联系,而高脂血症则被认为是AS病变的重要原因^[8].因此降低血脂水平,阻止脂质过氧化,调节血清脂类代谢紊乱,对有效延迟AS的进展或促其消退具有重要作用.本实验表明,PNS 60 mg/kg,200 mg/kg组可以明显降低AS大鼠血清TC,LDL-c及TG的含量,改善肝脏变性,减少其水肿程度,这表明PNS有着良好的体内降血脂及改善肝脏脂肪代谢的能力,可能这与PNS中主要成分的化学结构有关.PNS的有效成分三七皂苷Rg1,Rb1是两性化合物,结构中含有很强的亲脂基团和亲水性很强的糖链.亲脂基团与血脂结合,而亲水基团有助于血液带走PNS与脂类的结合物减少其在血管壁表面结合,从而抑制AS的形成.而辛伐它汀则为甲基羟戊二酰辅酶A

(HMG-CoA)还原酶抑制剂,抑制内源性胆固醇的合成.二者调节血液中的血脂水平的方式机理不同.

基础研究表明^[9],高血脂时体内自由基产生和清除平衡被破坏,产生大量的脂质过氧化物(LPO),动脉壁LPO含量与大动脉硬化高度相关,这些过氧化产物不仅直接损伤细胞造成细胞功能和结构的改变,而且对细胞膜本身的特殊结构及其存在的多种保护系统也有一定程度的损害.本实验结果表明,PNS 60 mg/kg组能够降低血清中MDA含量及提高SOD的活力,表明其具有一定的脂质机体抗氧化作用.

AS会引起动脉壁的脂质沉积、沉着并伴有中层平滑肌细胞向内膜移行、增殖,形成纤维脂质斑块或粥样病灶,动脉壁增厚,血管变硬,管腔狭窄,严重时局部斑块内膜坏死脱落,血栓形成,血管腔阻塞.本实验对AS大鼠主动脉弓病理切片及HE染色发现,相比于模型组,PNS 60 mg/kg,200 mg/kg组内膜未见明显增厚,内皮细胞及平滑肌细胞排列有稍许紊乱,仅有部分泡沫细胞向管腔突起.证明PNS不但调节血脂,而且使胆固醇降低,有利于改善血管内皮细胞损伤,从而抑制动脉粥样硬化斑块的形成,这与文献[10]观点一致.

近年来,AS的发生和发展认为是一个慢性炎症过程^[11],诸多研究证明黏附分子的表达与AS的发生发展有关.高脂血症引发血管内皮功能障碍诱导内皮细胞表达多种黏附分子,使其表面呈异常高粘性.VCAM-1属于免疫球蛋白超家族成员,主要表达于血管内皮细胞、淋巴细胞、单核细胞,其能促进免疫细胞浸润,使单核细胞和淋巴细胞粘附于内皮,然后迁移入内皮下,单核细胞分化为巨噬细胞,表达识别ox-LDL的清道夫受体,使胆固醇沉积失去限制,形成泡沫细胞进而促进AS的发生.本实验通过半定量RT-PCR的方法发现PNS 60 mg/kg,200 mg/kg组可以明显下调血管壁内黏附分子VCAM-1 mRNA的表达($P < 0.01$).

本实验还发现PNS低剂量的效果有时好于高剂量,原因可能是因为PNS是一种中药粗提物,其中包含多种成分,服用后其在生物体内以多成分协同作用起到药效.如果单纯加大剂量,虽然其中某些有效成分的含量提高了,但同时也提高了一些非有效成分含量,可能这些非有效成分会抵消一部分有效成分的药效.而且中药在很多情况下,高剂量往往会带有一定的毒副作用,单纯加大剂量不一定会增加其药效,所以不一定会产生很明显的剂量依赖效应.

总结以上,PNS有明显的调节脂类代谢紊乱,减轻内皮细胞的损伤,清除氧自由基,能够良好的抑制

黏附分子VCAM-1 mRNA的表达,抑制单核细胞浸润和免疫黏附,从而预防AS的发生.

致谢:在本工作完成的过程中得到了上海药物研究所心血管药理室王逸平研究员、孙伟康老师、张杰老师及王文义博士的大力支持和帮助,在此一并致谢!

参考文献:

- [1] 孙健,崔燕,孟晓萍.三七总皂苷对培养的大白兔泡沫细胞产生的氧自由基的影响[J].长春中医学院学报,1999,15(3):49.
- [2] HAYEK T, MARIELLE K, AYELET R, et al. Ramipril administration to atherosclerotic mice reduces oxidized low-density lipoprotein uptake by their macrophages and blocks the progression of atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis*, 2002, 161:65-74.
- [3] ROSS R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s [J]. *Nature*, 1993, 362:801-809.
- [4] HWANG S J, BALLANTYNE C M, SHARRETT A R, et al. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1 and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study [J]. *Circulation*, 1997, 96(12):4219-4225.
- [5] 刘磊,焦向英,张炜芳,等.高脂饲料及维生素D₃联合应用建立大鼠动脉粥样硬化模型[J].山西医科大学学报,2005,36(6):681-683.
- [6] 徐叔云.药理实验方法学[M].2版.北京:人民卫生出版社,1991:145-147.
- [7] WANG H, LONG C, DUAN Z B, et al. A new ATP-sensitive potassium channel opener protects endothelial function in cultured aortic endothelial cells [J]. *Cardiovascular Research*, 2007, 73:497-503.
- [8] STEWART-PHILLIPS J L, LOUGH J, SKAMENE E. Genetically determined susceptibility and resistance to diet-induced atherosclerosis in inbred strains of mice [J]. *J Lab Clin Med*, 1988, 112:36-42.
- [9] 朱明军,罗琰.调脂胶囊对动脉粥样硬化大鼠MDA SOD的影响[J].中医药学刊,2006,24(10):1821-1822.
- [10] 李爱阳,赵丽华,刘燕京,等.微量元素对动脉粥样硬化家兔内皮素的影响[J].微量元素与健康研究,1997,14(3):5-7.
- [11] ROSS R. Atherosclerosis-an inflammatory disease [J]. *N Engl J Med*, 1999, 340:115-126.

(编辑:刘志强)