

畅脉乐通过调控PPAR信号通路对动脉粥样硬化大鼠巨噬细胞自噬、血管内皮功能及动脉斑块稳定性相关蛋白影响

黄松雄^{1*}, 张玉琴^{2#}, 刘巧婷¹, 李志¹, 吴帮发¹, 何洪金¹

¹福建中医药大学附属第二人民医院健康管理中心, 福建 福州

²福建中医药大学附属第二人民医院影像科, 福建 福州

收稿日期: 2023年9月23日; 录用日期: 2023年10月17日; 发布日期: 2023年10月23日

摘要

目的: 通过观察畅脉乐对过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)信号通路的调控, 研究畅脉乐对动脉粥样硬化大鼠巨噬细胞自噬、血管内皮功能及动脉斑块稳定性相关蛋白的影响。方法: 将30只大鼠随机分为对照组(n = 10)、模型组(n = 10)及畅脉乐组(n = 10); 除对照组外, 模型组及畅脉乐组大鼠均以高脂饮食为诱变剂建立动脉粥样硬化模型。畅脉乐组按5 mg/(kg·d)剂量服用畅脉乐胶囊, 对照组和模型组予以相应饲料喂养, 干预周期均为8周。8周后采血和采集血管组织, 采用透射电镜观察巨噬细胞中自噬小体数量, 蛋白免疫印迹法检测巨噬细胞中酶联相关轻链蛋白3(LC3)、选择性自噬接头蛋白p62(p62)的表达水平, 免疫荧光吸附法检测大鼠血清血管性血友病因子(vWF)、一氧化氮(NO)、内皮素-1(ET-1)、一氧化氮合酶(eNOS)含量, Western blot法检测动脉斑块稳定性相关蛋白[基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9、MMP抑制剂(TIMP)-1]及PPAR信号通路[PPAR γ /肝脏X受体 α /ATP结合盒转运体G1(PPAR γ /LXR α /ABCG1)]相关蛋白表达水平, RT-PCR测定细胞内PPAR γ 、LXR α 、ABCG1的mRNA水平。结果: 与对照组比较, 模型组大鼠自噬小体数量有所减少, LC3II/I表达水平明显下降, p62表达水平明显上升(P < 0.05); MMP-2、MMP-9表达水平明显上升, TIMP-1表达水平明显下降(P < 0.05); PPAR γ 、LXR α 、ABCG1蛋白及mRNA表达水平明显下降(P < 0.05)。与模型组比较, 畅脉乐组大鼠自噬小体数量增加, LC3II/I表达水平明显上升, p62表达水平明显下降(P < 0.05); MMP-2、MMP-9表达水平明显下降, TIMP-1表达水平明显上升(P < 0.05); PPAR γ 、LXR α 、ABCG1蛋白及mRNA表达水平明显上升(P < 0.05)。结论: 畅脉乐能够通过调控PPAR信号通路, 上调动脉粥样硬化大鼠巨噬细胞自噬水平, 改善血管内皮功能, 提高动脉斑块的稳定性, 进而起到抗动脉粥样硬化的作用。

关键词

畅脉乐, 动脉粥样硬化, 过氧化物酶体增殖物激活受体, 细胞自噬, 血管内皮, 斑块稳定性

*第一作者。

#通讯作者。

Changmaile Affects Macrophage Autophagy, Vascular Endothelial Function and Arterial Plaque Stability-Related Proteins in Atherosclerotic Rats by Regulating the PPAR Signaling Pathway

Songxiong Huang^{1*}, Yuqin Zhang^{2#}, Qiaoting Liu¹, Zhi Li¹, Bangfa Wu¹, Hongjin He¹

¹Health Management Center, Second People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou Fujian

²Department of Imaging, Second People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou Fujian

Received: Sep. 23rd, 2023; accepted: Oct. 17th, 2023; published: Oct. 23rd, 2023

Abstract

Purpose: By observing the regulation of Changmaile on the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) signaling pathway, study the effect of Changmaile on macrophage autophagy, vascular endothelial function and arterial plaque stability-related proteins in atherosclerotic rats. **Methods:** 30 rats were randomly divided into control group (n = 10), model group (n = 10) and Changmaile group (n = 10); except for the control group, rats in the model group and Changmaile group Atherosclerosis models were established using high-fat diet as mutagen. The Changmaile group took Changmaile capsules at a dose of 5 mg/(kg·d), and the control group and model group were fed corresponding feeds. The intervention period was 8 weeks. After 8 weeks, blood and vascular tissues were collected. Transmission electron microscopy was used to observe the number of autophagosomes in macrophages. Western blotting was used to detect enzyme-linked light chain protein 3 (LC3) and selective autophagy adapter protein p62 expression level in macrophages. Immunofluorescence adsorption method was used to detect rat serum von Willebrand factor (vWF), nitric oxide (NO), endothelin-1 (ET-1), nitric oxide synthase (eNOS) content, Western blot method was used to detect arterial plaque stability-related proteins [matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9, MMP inhibitor (TIMP)-1] and PPAR signaling pathway [PPAR γ /liver X receptor α /ATP Binding cassette transporter G1 (PPAR γ /LXR α /ABCG1)] related protein expression levels, and RT-PCR measured the intracellular mRNA levels of PPAR γ , LXR α , and ABCG1. **Results:** Compared with the control group, the number of autophagosomes in the model group decreased, the expression level of LC3II/I decreased significantly, and the expression level of p62 increased significantly (P < 0.05); the expression levels of MMP-2 and MMP-9 increased significantly. The expression level of TIMP-1 decreased significantly (P < 0.05); the expression levels of PPAR γ , LXR α , ABCG1 protein and mRNA decreased significantly (P < 0.05). Compared with the model group, the number of autophagosomes in the Changmaile group increased, the expression level of LC3II/I increased significantly, and the expression level of p62 decreased significantly (P < 0.05); the expression levels of MMP-2 and MMP-9 decreased significantly, and the expression level of TIMP-1 expression level increased significantly (P < 0.05); PPAR γ , LXR α , ABCG1 protein and mRNA expression levels increased significantly (P < 0.05). **Conclusion:** Changmaile can upregulate the autophagy level of macrophages in atherosclerotic rats, improve vascular endothelial function, increase the stability of arterial plaques, and play an anti-atherosclerotic role by regulating the PPAR signaling pathway.

Keywords

Changmaile, Atherosclerosis, Peroxisome Proliferator-Activated Receptor, Autophagy, Vascular Endothelium, Plaque Stability

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

相关研究报道称,目前我国现存的冠心病患者有 1139 万例,缺血性脑卒中患者有 1300 万例,心脑血管疾病已发展成我国致残和致死的最主要原因,给患者家庭和社会均带来了沉重的负担[1]。而作为诸多心脑血管疾病的病理基础,动脉粥样硬化主要累及机体血管内膜及中膜,是一种慢性血管性疾病。探索动脉粥样硬化的发病机制及积极有效的治疗方案对预防心脑血管疾病产生、减少其进一步引发的致残及致死情况具有重要意义。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)/肝脏 X 受体 α (LXR α)/ATP 结合盒转运体 G1 (ABCG1)作为 PPAR 经典信号通路,已被证实参与调控脂质代谢、免疫应答、细胞自噬等维持机体内环境稳态的重要生物学行为,在动脉粥样硬化的发生和发展过程中扮演重要角色[2] [3]。畅脉乐胶囊是陈美华教授通过经年累计的临床经验所研制出的中药制剂,具有祛风通络和滋肾活血的功效,已被证实于动脉粥样硬化患者中的临床疗效确切[4]。但明确有关畅脉乐治疗动脉粥样硬化的基础研究较少,相关作用机制尚不明确。因此,本研究将从 PPAR γ /LXR α /ABCG1 信号通路调控巨噬细胞自噬、血管内皮功能及动脉斑块稳定性入手,探讨畅脉乐治疗动脉粥样硬化大鼠的作用机制。

2. 材料与方法

2.1. 实验动物与细胞

购于上海斯莱克实验动物有限公司的 SPF 级健康 SD 雄性大鼠 30 只,周龄 6~7 周,体质量 200~220 g,许可证号为 SCXK (沪) 2017~0016。巨噬细胞系 RAW264.7 细胞购置 ATCC 细胞库(中国科学院)。

2.2. 主要试剂与仪器

畅脉乐胶囊(规格 0.5 g/粒,批号 20211224)由福建中医药大学附属第二人民医院制剂室提供,血管性血友病因子(vWF)、一氧化氮(NO)、内皮素-1 (ET-1)、一氧化氮合酶(eNOS)测定试剂盒(上海酶联生物科技有限公司),酶联相关轻链蛋白 3 (LC3)、选择性自噬接头蛋白 p62 (p62)、基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9、MMP 抑制剂(TIMP)-1、PPAR γ /肝脏 X 受体 α /ATP 结合盒转运体 G1 (PPAR γ /LXR α /ABCG1)抗体(英国 Abcam 公司),全自动荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司)。

2.3. 动物实验

2.3.1. 模型制备、分组及给药

30 只大鼠适应性喂养 1 周后,随机选取 20 只大鼠用 30 g/kg/d 剂量的高脂饲料(Van Heek)持续喂养 12 周以制备动脉粥样硬化模型,模型制备完成后分为模型组和畅脉乐组,每组各 10 只;剩余 10 只大鼠用相同剂量的普通饲料持续喂养 12 周,归为对照组。取 15 g 畅脉乐胶囊内容物加蒸馏水溶解后定容至 250 mL,得到药物浓度为 60 mg/mL 的药液。畅脉乐组大鼠以 10 mL/kg/d 的药液剂量灌胃,连续灌胃 4

周；对照组和模型组大鼠均以等剂量生理盐水灌胃，连续灌胃 4 周。

2.3.2. 动物血清和标本提取

采取摘除大鼠眼球取血法收集外周血，并以离心半径 9 cm、转速 3500 r/min 高速离心 10 min 后，提取上层血清低温保存待测。3 组大鼠采血后的进行解剖，对主动脉组织和心脏进行剥离，沿主动脉根部稍上方处剪开，将适量主动脉组织进行低温下保存待用，并将余下主动脉组织保存在装有固定液(Gluta)的离心管内，用于巨噬细胞自噬体观察自噬体的数量及。

2.3.3. 免疫荧光吸附法检测血清 vWF、NO、ET-1、eNOS 水平

将提前准备好的各组大鼠血清解冻后，于室温下采用免疫荧光吸附法检测 vWF、NO、ET-1 及 eNOS 含量，操作严格按照试剂盒说明书进行。

2.3.4. 蛋白免疫印迹法检测 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、PPAR γ 、LXR α 、ABCG1 蛋白表达水平

取出低温保存的大鼠主动脉组织，裂解后离心 5 min，取上清用 BCA 蛋白浓度试剂盒测定其中蛋白质浓度后，将各组蛋白用双蒸水稀释成相同浓度，加入 5 × SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液后加热变性，取其中待测液 20 μ L 进行 SDS-PAGE 电泳实验，将相应蛋白转移至的 PVDF 膜上(低温条件下，已活化)，并在含 5%脱脂奶粉的 TBST 封闭液中行封闭处理 1 h，加入 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、PPAR γ 、LXR α 、ABCG1 抗体及 GAPDH 抗体(均 1:1000)，4 $^{\circ}$ C 孵育过夜，再加入辣根过氧化物标记的羊抗兔 IgG 二抗(1:2000)室温孵育 1 h，显色后显影定影，拍照并分析各组大鼠主动脉组织中 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、PPAR γ 、LXR α 及 ABCG1 蛋白表达水平(GAPDH 为内参)。

2.3.5. PPAR γ 、LXR α 及 ABCG1 mRNA 表达水平

取出低温保存的大鼠主动脉组织，RNA 的提取严格按照试剂盒说明书依次进行，先反转录获得 cDNA，之后配置好的反应体系[包括 TB Green $^{\circledR}$ Premix Ex Taq $^{\text{TM}}$ II (Tli RNaseH Plus) 12.5 μ L、灭菌水 8.5 μ L、下游引物 1 μ L、上游引物 1 μ L、cDNA 2 μ L]后，借助 RT-PCR 进行进行扩增反应(预变性：1 次循环、95 $^{\circ}$ C 30 s，变性：95 $^{\circ}$ C 5 s，退火延伸：40 个循环，60 $^{\circ}$ C 30 s)，并根据 2- $\Delta\Delta$ Ct 法计算得出 PPAR γ 、LXR α 及 ABCG1 mRNA 的相对表达水平(GAPDH 为内参)。相关基因引物序列见表 1。

Table 1. Related gene primer sequences

表 1. 相关基因引物序列

引物名称	序列(5'-3')	长度/bp	
PPAR γ	Forward Primer	5'-GCAGCTACTGCATGTGATCAAGA-3'	107
	Reverse Primer	5'-GTCAGCGGGTGGGACTTTC-3'	
	Forward Primer	5'-AGGAGTGTGCGACTTCGCAAA-3'	101
	Reverse Primer	5'-CTCTTCTTGCCGCTTCAGTTT-3'	
	Forward Primer	5'-GTCTCAGCCTTCTAAAGTTCCTC-3'	83
	Reverse Primer	5'-TCTCTCGAAGTGAATGAAATTTATCG-3'	

2.4. 体外实验

2.4.1. 巨噬细胞细胞分离

处死大鼠后，将 2 mL 预冷的 PBS 缓冲液注入在其腹腔内，轻微揉搓小鼠腹部后吸出腹腔液，相同步骤重复 3 次，随后将吸出的腹腔液用 5 mL 离心管保存，以 2000 r/min (离心半径 8 cm)离心 10 min 后，

保留细胞沉淀, 加入含 FBS 的 DMEM 培养液重悬后再次离心保留细胞沉淀, 加入 RPMI 1640 培养液重悬分离得到巨噬细胞。

2.4.2. 自噬小体观察

将得到的巨噬细胞依次进行固定、脱水、渗透包埋、切片、染色等操作后, 置于 Hitachi H-7650 型透射电镜下观察拍片观察自噬小体生成情况。

2.4.3. 蛋白免疫印迹法检测自噬相关蛋白 LC3、p62 表达水平

取制备完成的巨噬细胞, 同 1.3.4 一样采用蛋白免疫印迹法检测自噬相关蛋白 LC3、p62 表达水平。

2.5. 统计学方法

采用 SPSS 27.0 软件行统计学分析, 计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用 t 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. 畅脉乐对巨噬细胞自噬水平的影响

透射电镜观察发现, 自噬体以双层膜结构为主, 对照组大鼠主动脉组织可见少量自噬体, 线粒体结构完整; 与对照组比较, 模型组自噬体数量减少, 且线粒体结构不完整; 与模型组比较, 畅脉乐组自噬体数量明显增多, 且线粒体结构较为完整。Western blot 检测结果显示, 与对照组比较, 模型组 LC3II/I 表达水平明显下降, p62 表达水平明显上升, 差异有统计学意义(P < 0.05); 与模型组比较, 畅脉乐组 LC3II/I 表达水平明显上升, p62 表达水平明显下降, 差异有统计学意义(P < 0.05)。见表 2。

Table 2. Comparison of expression levels of autophagy-related proteins in rat macrophages in each group ($\bar{x} \pm s$)

表 2. 各组大鼠巨噬细胞自噬相关蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	LC3II/I	p62/GAPDH
对照组	10	2.16 ± 0.37	0.59 ± 0.08
模型组	10	1.09 ± 0.24*	1.05 ± 0.17*
畅脉乐组	10	3.85 ± 0.31 [#]	0.64 ± 0.10 [#]

注: 与对照组比较, *P < 0.05; 与模型组比较, [#]P < 0.05, 下同。

3.2. 畅脉乐对血管内皮功能的影响

与对照组比较, 模型组血清 vWF、ET-1 表达水平明显上升, NO、eNOS 明显下降, 差异有统计学意义(P < 0.05); 与模型组比较, 畅脉乐组血清 vWF、ET-1 表达水平明显下降, NO、eNOS 明显上升, 差异有统计学意义(P < 0.05)。见表 3。

Table 3. Comparison of serum biomarker expression levels of vascular endothelial function in rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

表 3. 各组大鼠血管内皮功能血清生物标志物表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	vWF/ng·L ⁻¹	NO/μmol·L ⁻¹	ET-1/ng·L ⁻¹	eNOS/μmol·L ⁻¹
对照组	10	327.58 ± 90.62	62.82 ± 16.75	83.92 ± 11.36	7.14 ± 2.30
模型组	10	632.09 ± 148.25*	21.38 ± 7.69*	109.33 ± 23.08*	4.91 ± 1.17*
畅脉乐组	10	410.83 ± 129.53 [#]	53.12 ± 14.31 [#]	86.96 ± 9.14 [#]	6.83 ± 1.24 [#]

3.3. 畅脉乐对动脉斑块稳定性相关蛋白的影响

与对照组比较, 模型组 MMP-2、MMP-9 表达水平明显上升, TIMP-1 表达水平明显下降, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 与模型组比较, 畅脉乐组 MMP-2、MMP-9 表达水平明显下降, TIMP-1 表达水平明显上升, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

Table 4. Comparison of expression levels of arterial plaque stability-related proteins in rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

表 4. 各组大鼠动脉斑块稳定性相关蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MMP-2/GAPDH	MMP-9/GAPDH	TIMP-1/GAPDH
对照组	10	0.83 ± 0.21	0.95 ± 0.14	1.04 ± 0.19
模型组	10	1.65 ± 0.49*	1.89 ± 0.35*	0.44 ± 0.10*
畅脉乐组	10	0.89 ± 0.28 [#]	1.03 ± 0.32 [#]	0.95 ± 0.23 [#]

3.4. 畅脉乐对 PPAR 信号通路的影响

与对照组比较, 模型组 PPAR γ 、LXR α 、ABCG1 蛋白及 mRNA 表达水平明显下降, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 与模型组比较, 畅脉乐组 PPAR γ 、LXR α 、ABCG1 蛋白及 mRNA 表达水平明显上升, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 5, 表 6。

Table 5. Comparison of expression levels of PPAR signaling pathway-related proteins in rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

表 5. 各组大鼠 PPAR 信号通路相关蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PPAR γ /GAPDH	LXR α /GAPDH	ABCG1/GAPDH
对照组	10	0.82 ± 0.28	1.05 ± 0.34	0.47 ± 0.12
模型组	10	0.54 ± 0.07*	0.80 ± 0.11*	0.15 ± 0.04*
畅脉乐组	10	0.73 ± 0.19 [#]	0.96 ± 0.25 [#]	0.42 ± 0.15 [#]

Table 6. Comparison of PPAR γ , LXR α and ABCG1 mRNA expression levels in rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

表 6. 各组大鼠 PPAR γ 、LXR α 及 ABCG1 mRNA 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PPAR γ	LXR α	ABCG1
对照组	10	1.16 ± 0.13	1.21 ± 0.19	1.08 ± 0.10
模型组	10	0.69 ± 0.08*	0.92 ± 0.11*	0.53 ± 0.06*
畅脉乐组	10	1.03 ± 0.18 [#]	1.15 ± 0.20 [#]	0.97 ± 0.14 [#]

4. 讨论

动脉粥样硬化在中医学无具体名称, 多将其归属于“中风”、“胸痹”、“脉痹”等病证范畴, 近代中医学者认为虚、瘀、痰是其主要病因所在, 故治疗当以活血化瘀、祛痰降浊、健脾益气之法为根本原则[5]。畅脉乐胶囊由葛根、赤芍、郁金、丹参、黄芪等多味中草药提炼而成, 方中葛根、郁金可行气解郁、祛瘀止痛, 使患者在活血通络的同时尽量减少正气受损; 赤芍可凉血散瘀; 丹参可通利血脉; 黄芪可补中益气。全方兼备攻补, 共奏活血益气之功效[6]。但目前有关畅脉乐胶囊治疗动脉粥样硬化的研究报道较少, 基础研究更是缺乏, 相关作用机制仍处于探索阶段, 有必要对其进行深入研究。

近年研究表明, 巨噬细胞自噬可通过抵抗细胞凋亡、抑制炎症及促进胆固醇外流等方式影响动脉粥样硬化的发生和发展。弱化巨噬细胞的自噬功能会造成脂质沉积增加, 而这会进一步导致动脉粥样硬化病变发生[7][8]。LC3 和 p62 是自噬小体形成和降解的重要标志, 巨噬细胞内上述自噬相关蛋白的表达水平

可有效评估巨噬细胞自噬体水平的高低[9]。本研究发现动脉粥样硬化疾病发生会导致巨噬细胞中自噬体数量减少, LC3II/I 表达水平下降, p62 表达水平上升, 说明巨噬细胞自噬与动脉粥样硬化的发生和发展有关; 同时畅脉乐可增加巨噬细胞中自噬体数量, 上调 LC3II/I 表达水平, 下降 p62 表达水平, 表明畅脉乐可能通过改善巨噬细胞自噬水平进而抑制动脉粥样硬化疾病发展。相关研究报道称, 血管内皮通透性改变是早期动脉粥样硬化发生和发展的重要因素, 血管硬度增加和内皮功能障碍的反馈回路可促进动脉粥样硬化形成, 对其靶向治疗有可能恢复整体血管稳态, 从而改善或消除动脉粥样硬化[10]。vWF、NO、ET-1、eNOS 均是血管内皮功能的重要指标, 其中 vWF 由血管内皮细胞合成, 具有较强的黏附能力, 是反映机体血管内皮功能受损的标志物[11]; NO 和 ET-1 是一对反映血管内皮功能的重要因子, 前者具有抑制血小板黏附于血管, 改善炎症反应和舒张血管平滑肌的作用, 后者可收缩血管并促进血管平滑肌细胞增殖[12]; eNOS 主要存在于内皮细胞中, 当血管内皮损伤时, eNOS 表达可通过生成 NO 来诱导血管扩张并抑制血小板黏附与聚集[13]。本研究通过免疫酶联吸附检测发现, 与对照组比较, 模型组血清 vWF、ET-1 表达水平明显上升, NO、eNOS 明显下降, 说明动脉粥样硬化会对损害血管内皮功能; 进一步研究发现, 畅脉乐可使 vWF、ET-1 表达水平明显下降, NO、eNOS 明显上升, 说明畅脉乐可能通过改善机体血管内皮功能进而缓解动脉粥样硬化疾病。动脉粥样硬化患者病情严重程度与斑块稳定性紧密关联, 不稳定型动脉粥样硬化斑块是诱发急性缺血性脑卒中等相关不良事件发生的危险因素, 严重影响患者生命安全[14]。作为能够降解细胞外基质的蛋白酶家族中的一员, MMP-2 可以实现对弹性蛋白和胶原蛋白的有效降解, 特别是其中纤维帽的基质成分, 从而使纤维帽变薄, 最终导致心肌梗死、血栓形成、斑块破裂等严重心血管不良事件发生[15]; MMP-9 和其抑制剂 TIMP-1 亦是保护动脉粥样硬化斑块稳定的关键蛋白酶, 当 MMP-9 过表达时会加速细胞外基质降解, 导致血管的病理性发生变化, 最终造成动脉粥样硬化斑块破裂的风险增加[16] [17]。本研究实验结果显示, 与对照组比较, 模型组 MMP-2、MMP-9 表达水平明显上升, TIMP-1 表达水平明显下降, 说明 MMP-2、MMP-9 及 TIMP-1 与动脉粥样硬化斑块形成有关; 进一步研究发现, 畅脉乐可抑制 MMP-2、MMP-9 表达, 促进 TIMP-1 表达, 说明畅脉乐可增加动脉粥样硬化斑块的稳定性。

PPAR γ 是 PPAR 亚型中一类可控制细胞脂质代谢的转录因子, 高度表达于巨噬细胞中, 其与配体特异性结合后可促进下游糖脂代谢相关的一系列效应分子表达, 进而达到调节脂蛋白的代谢、促进巨噬细胞及时排出多余脂质的效果, 且可通过抑制巨噬细胞泡沫化的产生, 影响动脉粥样硬化斑块的稳定性, 被视作调控动脉粥样硬化斑块中巨噬细胞脂质代谢、极化和炎症的枢纽[18]。作为 PPAR γ 转录调控的主要下游靶基因之一, ABCG1 可通过抑制泡沫细胞形成, 进而对巨噬细胞内的胆固醇外流和泡沫细胞转运成新生高密度脂蛋白进行调节, 这也是其维护心血管系统的主要作用机制之一[19]。LXR 是一种胆固醇代谢相关的感受器, 其主要亚型 LXR α 能够和 PPAR- γ 信号通路进行偶联, 间接起到调控 ABCG1 的作用, 从而参与到脂质代谢的调控当中, 实现抗动脉粥样硬化的作用[20]。本研究实验结果表明, 与对照组比较, 模型组 PPAR γ 、LXR α 、ABCG1 蛋白及 mRNA 表达水平明显下降, 说明 PPAR γ /LXR α /ABCG1 信号通路参与动脉粥样硬化疾病的发生和发展密切相关; 而与模型组比较, 畅脉乐组 PPAR γ 、LXR α 、ABCG1 蛋白及 mRNA 表达水平明显上升, 说明畅脉乐可有效促进 PPAR γ /LXR α /ABCG1 信号通路的表达, 这可能是其发挥抗动脉粥样硬化的分子机制之一。

综上所述, 畅脉乐能够通过调控 PPAR 信号通路, 上调动脉粥样硬化大鼠巨噬细胞自噬水平, 改善血管内皮功能, 提高动脉斑块的稳定性, 进而起到抗脉粥样硬化的作用。

基金项目

福建省自然科学基金(面上)项目, 项目编号: 2020J01246。

参考文献

- [1] 中国心血管健康与疾病报告 2021 概要[J]. 中国循环杂志, 2022, 37(6): 553-578.
- [2] Hu, H.J., Wang, X.H., Zhang, T.Q., *et al.* (2022) PLK1 Promotes Cholesterol Efflux and Alleviates Atherosclerosis by up-Regulating ABCA1 and ABCG1 Expression via the AMPK/PPAR γ /LXR α Pathway. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Molecular and Cell Biology of Lipids*, **1867**, Article ID: 159221. <https://doi.org/10.1016/j.bbaliip.2022.159221>
- [3] Wagner, N. and Wagner, K.D. (2023) Pharmacological Utility of PPAR Modulation for Angiogenesis in Cardiovascular Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, Article 2345. <https://doi.org/10.3390/ijms24032345>
- [4] 陈成, 张旺生, 陈铃, 等. 畅脉乐 II 胶囊对血瘀型颈动脉粥样硬化患者 CRP、IL-6 及血栓相关参数的影响[J]. 山西中医, 2022, 38(5): 12-15.
- [5] 赵晶, 秦合伟, 李彦杰, 等. 血管软化丸调控 PI3K/Akt/mTOR 通路影响细胞自噬及抗动脉粥样硬化的作用机制研究[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(1): 65-69, 268-270.
- [6] 翁一玲, 李煌, 卓辰茜, 等. 基于 UPLC-QE-MS 技术的畅脉乐胶囊化学成分分析及其抗脑血栓的网络药理学研究[J]. 中国现代药物应用, 2022, 16(21): 173-178.
- [7] Zhang, H., Ge, S., Ni, B., *et al.* (2021) Augmenting ATG14 Alleviates Atherosclerosis and Inhibits Inflammation via Promotion of Autophagosome-Lysosome Fusion in Macrophages. *Autophagy*, **17**, 4218-4230. <https://doi.org/10.1080/15548627.2021.1909833>
- [8] 曹乾. 在 ApoE $^{-/-}$ 小鼠中青蒿素通过 AMPK/mTOR/ULK1 促进巨噬细胞自噬减轻动脉粥样硬化机制研究[D]: [博士学位论文]. 沈阳: 中国医科大学, 2021.
- [9] 鲍友利, 曹寅, 吴鸿飞. “瓜蒌-薤白”药对诱导自噬抑制 NLRP3 炎症小体激活减轻 RAW264.7 巨噬细胞炎症反应[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(10): 2820-2828.
- [10] Alexander, Y., Osto, E., Schmidt-Trucksäss, A., *et al.* (2021) Endothelial Function in Cardiovascular Medicine: A Consensus Paper of the European Society of Cardiology Working Groups on Atherosclerosis and Vascular Biology, Aorta and Peripheral Vascular Diseases, Coronary Pathophysiology and Microcirculation, and Thrombosis. *Cardiovascular Research*, **117**, 29-42. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa085>
- [11] 曹程浩, 董晓瑞, 黄斌. 丹参饮合二陈汤加减对颈动脉粥样硬化血管内膜损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(7): 86-91.
- [12] Zhang, F., Guo, X., Xia, Y. and Mao, L. (2021) An Update on the Phenotypic Switching of Vascular Smooth Muscle Cells in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **79**, Article No. 6. <https://doi.org/10.1007/s00018-021-04079-z>
- [13] Munteanu, C. (2023) Hydrogen Sulfide and Oxygen Homeostasis in Atherosclerosis: A Systematic Review from Molecular Biology to Therapeutic Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, Article 8376. <https://doi.org/10.3390/ijms24098376>
- [14] 杨天睿, 苗云波, 段靳岚, 等. 血液生化指标与颈动脉粥样硬化斑块稳定性的相关性研究[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2022, 24(3): 237-239.
- [15] 杨雅雯, 夏敏, 吴芬, 等. Rho 相关卷曲螺旋蛋白激酶 1 在动脉粥样硬化血管壁中的表达及其与基质金属蛋白酶 2 及转化生长因子 1 的相关性[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2023, 22(1): 53-58.
- [16] Nasiri-Ansari, N., Spilioti, E., Kyrou, I., *et al.* (2022) Estrogen Receptor Subtypes Elicit a Distinct Gene Expression Profile of Endothelial-Derived Factors Implicated in Atherosclerotic Plaque Vulnerability. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, Article 10960. <https://doi.org/10.3390/ijms231810960>
- [17] 王建民, 孟蓓, 王胜利, 等. 通窍活血汤对动脉粥样硬化大鼠 SIRT1/PGC1 α 通路及斑块稳定性的影响[J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(12): 3009-3013.
- [18] 刘婷, 于红红, 王文佳, 等. 基于 PPAR γ /LXR α /ABCG1 通路探讨黄连解毒汤对泡沫细胞脂质蓄积的干预作用[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(4): 838-842.
- [19] Zhao, Z.W., Zhang, M., Wang, G., *et al.* (2021) Astragalins Retards Atherosclerosis by Promoting Cholesterol Efflux and Inhibiting the Inflammatory Response via Upregulating ABCA1 and ABCG1 Expression in Macrophages. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, **77**, 217-227. <https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000000944>
- [20] Franceschelli, S., De Cecco, F., Pesce, M., *et al.* (2023) Hydroxytyrosol Reduces Foam Cell Formation and Endothelial Inflammation Regulating the PPAR γ /LXR α /ABCA1 Pathway. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, Article 2057. <https://doi.org/10.3390/ijms24032057>