

护心康对动脉粥样硬化兔 NF- κ B 的干预作用

屈波 蔡光先 董晓斐 刘柏炎

(湖南中医药大学, 湖南 长沙 410007)

目的：研究护心康防治动脉粥样硬化的作用机制。**方法**：采用高脂喂饲复制兔动脉粥样硬化模型，将护心康分为低、中、高剂量3个剂量组进行干预治疗，检测给药后动脉管壁NF- κ B的变化。**结果**：护心康中、高剂量组NF- κ B均较模型组低 ($p < 0.05$)；低剂量组和模型组之间无明显差异 ($P > 0.05$)；高剂量组和中剂量组之间无明显差异 ($P > 0.05$)。**结论**：护心康具有降低动脉管壁NF- κ B的作用。

[关键词] 护心康；动脉粥样硬化；兔；NF- κ B；

Studies of Huxinkang on NF- κ B in atherosclerosis rabbits
QU Bo, CAI Guang-xian, DONG Xiao-fei, LIU Bai-yan,
(TCM university of Hunan, Changsha, Hunan 410007, China)

Obstract: To explore the mechanism of Huxinkang on atherosclerosis(AS) rabbit induced by high lipid diet through NF- κ B. **Methods**: 90 male Chinese white rabbits were randomly divided into 5 groups: normal group, model group, Huxinkang low、middle and high dose groups. Besides the normal group, each of the rabbits was fed high cholesterol diet for 63 days. The samples of aorta were taken for NF- κ B in the AS plaque. **Results**: The expression of NF- κ B in AS plaque were all marked decreased in the middle and high dose groups, compared with the model group ($p < 0.05$). And there is no marked difference between the middle and high dose groups, between the low dose group and model ($P > 0.05$). **Conclusion**: Huxinkang can decrease NF- κ B in artery plaque.

Key words : Huxinkang; atherosclerosis; rabbit; NF- κ B ;

[基金项目] 湖南省教育厅科学研究项目 (09B074)；湖南省中药粉体与创新药物研究省

部共建国家重点实验室培育基地开放基金项目 (ZYFT201304)

【作者简介】 屈波 (1970-12) 男, 博士, 副教授。主攻方向: 心血管系统疾病的中医药防治。Email : 1351552985@qq.com.

动脉粥样硬化是导致中风和冠心病最重要的原因, 由于生活水平提高, 膳食结构改变, 吸烟人数上升, 人口老龄化等因素, 发病率呈现上升趋势。预防动脉粥样硬化是预防心脑血管疾病的重要措施, 对其防治的研究具有重要意义。近几年研究发现, 动脉粥样硬化的本质是一种慢性免疫性炎症反应, 大量炎症因子和炎症介质参与其中。各种炎症因子可以通过细胞信号转导激活核转录因子 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ (nuclear transcription factor, $\text{NF-}\kappa\text{B}$), 使炎症介质和细胞因子的基因转录增强, 炎症介质和细胞因子的释放增多, 使炎症信号不断放大, 最终导致动脉粥样硬化病变的发生、发展^[1]。我们既往的研究表明, 护心康具有降低炎症因子 $\text{TNF-}\alpha$ 的作用, 而 $\text{TNF-}\alpha$ 可以激活 $\text{NF-}\kappa\text{B}$, 护心康对 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 是否有作用呢, 本实验拟对此进行研究。

1. 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SPF 级中国本兔 90 只, 雄性, 体重在 1.5—2.0kg, 由湖南中医药大学动物房提供。实验动物合格证: 湘医动字第 20-003 号。

1.1.2 药物 护心康片剂由湖南省中医药研究院附属医院制剂室生产, 批号为(湘)卫药剂(2003)12 第 039 号, 由瓜蒌壳、茯苓、旋覆花、茜草、生蒲黄、远志、山楂和玉竹等中药组成。

1.1.3 仪器和试剂 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 免疫组织化学检测试剂盒由北京中

山生物公司提供。批号：20120920；胆固醇：中国医药（集团）上海化学试剂公司提供，批号：20120815。

1.2 方法

1.2.1 造模 按文献的方法进行^[3]：每日给予高脂饲料(含0.5%胆固醇，5%猪油、15%蛋黄粉，79.5%普通饲料)，连续63天。

1.2.2 分组和造模 动物适应性饲养1周后，随机分为五组，每组18只：A组.正常对照组：常规条件饲养，普通饲料喂养；B组.模型组:按照上述方法造模，从造模后第30天起,蒸馏水灌胃，灌胃体积2mL / kg，每日2次，连续4周。C、D、E组：护心康低、中、高剂量组：从造模后第30天起，用护心康进行治疗，将护心康片剂粉碎后溶于蒸馏水，灌胃给药，灌胃体积2mL / kg，每日2次。护心康用量分别为0.27g、0.54g、1.08g / (kg·d)，分2次，连续4周。

1.2.3 指标检测 造模后第64天处死动物，采集主动脉，4%多聚甲醛/0.1MPBS 固定12小时。石蜡切片后按照试剂盒说明进行免疫组织化学检测。切片进行吸光度分析：以胞浆有棕黄色或棕褐色颗粒状染色者为阳性细胞。400倍镜下观察切片，每张切片分析10个连续的视野，应用Olympus BX-51光学显微镜、数码摄影系统和数字图像分析系统进行吸光度分析。取其均值为该标本测量结果，阳性着色越深，A值越高。

1.3统计学处理：采用SPSS 16.0统计软件进行分析。多组均数比较采用方差分析，两组均数比较采用q检验， $P < 0.05$ 为有显著性差异。

2. 结果

各组间 NF- κ B 平均吸光度的比较：其他组均比空白组高，差异有显著性 ($F=3.04, p<0.05$)；中、高剂量组均较模型组低，差异有显著性 ($q_{中}=3.64$ 、 $q_{高}=4.27$ ； $p<0.05$)；高剂量组较低剂量组有明显降低，差异有显著性 ($q=4.83$ ， $p<0.05$)。（见表 1）

表 1 兔 NF - κ B 吸光度测量

组别	NF - κ B 平均吸光度
空白组	0.21 \pm 0.063
模型组	0.48 \pm 0.043 *
低剂量组	0.40 \pm 0.054 *
中剂量组	0.36 \pm 0.025 * #
高剂量组	0.25 \pm 0.048 * # Δ

注：与模型组相比 # $p<0.05$ ；与空白组相比 * $p<0.05$ ；与低剂量组相比 $\Delta p<0.05$ ；

3 讨论

脂质代谢紊乱是动脉粥样硬化发病机制中的关键环节，其与 NF- κ B 的关系目前已有较多研究。极低密度脂蛋白可以引起主动脉内皮细胞及平滑肌细胞中的 NF- κ B 活化，且诱导细胞表达 TNF- α ；提示脂质在动脉粥样硬化的中的作用有一部分是通过 NF- κ B 的介导^[2]。在动脉粥样硬化斑块的好发部位 NF- κ B 的活化程度明显高于其他部位。冠心病患者的 NF- κ B 活性显著高于对照组，提示其参与了动

脉粥样硬化的形成和发展。而且冠状动脉病变范围越大、狭窄程度越重，NF- κ B活性越高，提示冠状动脉病变程度与炎症介质释放量相关^[3]。各种损伤因素会通过不同的信号途径激活NF- κ B，NF- κ B可以刺激血管内皮分泌多种细胞因子，促进动脉粥样硬化发生。

引起内皮细胞坏死或凋亡，

我们既往的研究表明，脂质代谢紊乱引起的慢性炎症反应与动脉粥样硬化的发生有密切关系，在动脉粥样硬化过程中发挥了重要的作用。护心康能有效降低血脂^[6]，抑制动脉粥样硬化家兔血清和斑块中TNF- α 和TLR4的表达^[7]。本研究表明，高脂喂饲的家兔动脉管壁明显增厚，管壁NF- κ B表达明显增强，护心康具有降低动脉管壁NF- κ B的作用。护心康可能通过以下途径降低NF- κ B：①护心康通过降低血脂中极低密度脂蛋白，从而减轻其对内皮和平滑肌细胞NF- κ B的刺激作用；②护心康可以有效降低动脉粥样硬化斑块中TLR4的表达，而TLR4信号通路可以激活NF- κ B，护心康通过降低TLR4，导致NF- κ B的产生减少。NF- κ B表达的降低可以导致下游细

胞因子释放减少，延缓动脉粥样硬化的发生。TNF- α 可通过NF- κ B刺激炎症细胞引起持续的慢性炎症，促进动脉粥样硬化的形成。因此，护心康可能通过降低TNF- α 及其下游信号NF- κ B的活化，从而起到抑制炎症因子的释放和活性，减缓动脉粥样硬化的发生。

参考文献

- [1] Libby P. Inflammation in atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012;32(9):2045-2051.
- [2] 赵凯 钱月慧 程晓东. TNF- α 、NF- κ B在动脉粥样硬化闭塞症兔动脉中的表达变化[J]. *宁夏医科大学学报* 2012, 34(1), 14-16.
- [3] 杨丽霞, 郑甲林, 齐峰, 等. 冠心病患者核因子 κ B 的变化及其临床意义[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2012, 4(3): 204-207.
- [4] Pamukcu B, Lip GY, Shantsila E. The nuclear factor-kappa B pathway in atherosclerosis: a potential therapeutic target for atherothrombotic vascular disease[J]. *Thromb Res.* 2011, 128(2):117-123
- [5] Sun X, He S, Wara AK, Icli B, et al. Systemic delivery of microRNA-181b inhibits nuclear factor- κ B activation, vascular inflammation, and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Circ Res.* 2014, 114(1):32-40.
- [6] 屈波, 蔡光先, 刘柏炎, 等. 护心康对动脉粥样硬化兔模型血脂的干预研究[J]. *实用预防医学*, 2007, 14(3): 686-687.
- [7] 屈波, 蔡光先, 刘柏炎, 等. 护心康对动脉粥样硬化兔 TNF- α 的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2008, 28(3):23-25.