

银蓝调脂胶囊抗 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化的作用

郑柳怡¹, 甘海宁^{2,3}, 黄丹娥^{2,3}, 李茹月¹, 杨九妹¹, 陈玉兴^{2,3*}
(1. 广州中医药大学第五临床医学院, 广东 广州 510405; 2. 广东省第二中医院, 广东省中医药工程技术研究院, 广东 广州 510095; 3. 广东省中医药研究开发重点实验室, 广东 广州 510095)

摘要: **目的** 通过给予 ApoE 基因敲除小鼠高脂饮食建立动脉粥样硬化模型, 探讨银蓝调脂胶囊抗动脉粥样硬化的作用及其机制。**方法** 选取 10 只 C57BL/6 小鼠作为正常组, 50 只 ApoE^{-/-}小鼠随机分成模型组, 辛伐他汀片组, 银蓝调脂胶囊高、中、低剂量组, 每组 10 只。使用高胆固醇鼠饲料喂养 ApoE^{-/-}小鼠 12 周, 建立动脉粥样硬化模型。造模 12 周后连续灌胃给药 12 周, 每天 1 次。检测血清 ox-LDL 水平, 检测肝脏 TC、TG、LDL-C 水平, 检测胸主动脉斑块面积及肝脏脂质面积, RT-qPCR 法和 Western blot 法检测银蓝调脂胶囊对小鼠 LXR 信号通路相关基因和蛋白表达的影响。**结果** 银蓝调脂胶囊能降低 ApoE^{-/-}小鼠血清中 ox-LDL 水平 ($P<0.01$) 以及胸主动脉脂质斑块面积 ($P<0.01$), 减少肝脏中 TC、TG、LDL-C 水平 ($P<0.05$, $P<0.01$) 和脂质面积 ($P<0.01$)。机制研究表明, 银蓝调脂胶囊能上调肝脏中 ABCG5、SR-B1 mRNA 表达 ($P<0.01$) 和降低 iNOS mRNA 表达 ($P<0.01$), 上调 LXR α 、ABCG5、CYP7A1、SREBP-1c 蛋白表达 ($P<0.05$) 并降低 iNOS、COX2 蛋白表达 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 银蓝调脂胶囊有较好的抗动脉粥样硬化作用, 其机制可能与激活 LXR 信号通路, 促进胆固醇逆向转运并抑制炎症有关。
关键词: 银蓝调脂胶囊; 动脉粥样硬化; 肝 X 受体; 胆固醇逆向转运; 炎症
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2022)02-0555-05
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.02.041

动脉粥样硬化是以脂质代谢紊乱为疾病基础的一种心血管疾病, 发病率高, 死亡率高, 2015 年起全球有 1/3 人口死于动脉粥样硬化等心血管疾病^[1]。肝脏是脂质代谢的主要场所, 当摄入胆固醇过多时, 肝脏无法将其完全代谢, 胆固醇沉积在肝脏并诱导肝脏炎症发生, 且多余胆固醇会随着血液循环沉积在动脉壁中, 形成斑块^[2]。胆固醇逆向转运已然成为治疗动脉粥样硬化的新思路。在胆固醇逆向转运过程中, 肝 X 受体 (liver X receptors, LXRs) 是关键的核受体转录因子, 它将脂质代谢和炎症的关键信号节点连接起来^[3], 已有研究证明激活 LXR 的表达可促进巨噬细胞胆固醇流出, 有效缓解炎症以治疗动脉粥样硬化^[4]。银蓝调脂胶囊由银杏叶、绞股蓝、化橘红以及蜂胶组成, 已有实验证明银蓝调脂胶囊能够降低血清 TG、TC 等血脂水平, 具有调节高血脂症的作用^[5], 本实验将基于 LXR 信号通路继续探讨银蓝调脂胶囊抗动脉粥样硬化疾病的作用机制。

1 材料

- 1.1 动物 C57BL/6 小鼠、ApoE^{-/-}小鼠均购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 动物生产许可证号 SCXK (京) 2016-0006。
1.2 试剂与药物 辛伐他汀片 (美国默沙东公司, 批号

L043451)。银蓝调脂胶囊, 由化橘红、银杏叶、绞股蓝和蜂胶组成, 化橘红、银杏叶和绞股蓝三药经水煎 2 次浓缩至 0.75 g/mL, 再经 50% 乙醇沉淀并真空干燥得到约 15% 的干浸膏, 取酒制蜂胶和干浸膏, 粉碎, 过筛, 加入药用淀粉适量, 混匀, 干压制粒, 装入胶囊, 即得, 由广东省中医药工程技术研究院制剂室生产, 批号 20170727, 使用时按照给药剂量用去离子水配置成所需的药液。氧化型低密度脂蛋白试剂盒 (ox-LDL) (天津安诺瑞康生物技术有限公司, 批号 462180831); 总胆固醇试剂盒 (TC)、甘油三酯试剂盒 (TG)、低密度脂蛋白试剂盒 (LDL-C) (南京建成生物工程研究所, 批号 20180805、20190704、20190703); Trizol RNA 裂解液 (美国英杰公司, 批号 20180107); 兔单克隆抗体 (GAPDH)、肝 X 受体 α 抗体 (LXR α)、ATP 结合盒转运子 G5 抗体 (ABCG5) (美国 Proteintech 公司, 批号 A5441、14351-1-AP、27722-1-AP); 细胞色素 P4507A1 抗体 (CYP7A1)、诱导型一氧化氮合酶抗体 (iNOS)、山羊抗兔 IgG 抗体 (英国 Abcam 公司, 批号 ab66153、ab191606、ab97051); 胆固醇调节元件结合因子 1c 抗体 (SREBP-1c) (武汉云克隆科技股份有限公司, 批号 PAC868Mu01)。

- 1.3 仪器 Varioskan Flash 型全波长多功能酶标仪 (美国

收稿日期: 2020-12-15
基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81973508); 广东省科技计划项目 (2017A070701017); 广州市科技计划项目 (202002030215)
作者简介: 郑柳怡 (1996—), 女, 硕士生, 研究方向为中药药理学。Tel: 15626254496, E-mail: 627139378@qq.com
* 通信作者: 陈玉兴 (1971—), 男, 主任中药师, 从事中药药理研究。Tel: 13360558288, E-mail: cyx89333@qq.com

Thermo 公司)；5450 型小型高速离心机（德国 Eppendorf 公司）；JJ3000 型电子天平（常熟市双杰测试仪器厂）；BSA2245 型电子天平 [赛多利斯科学仪器（北京）有限公司]；电泳仪、IQTM5 型荧光定量 PCR 仪（美国 Bio-Rad 公司）；HH-6 数显恒温水浴锅（金坛市富华仪器有限公司）。

2 方法

2.1 剂量换算 银蓝调脂胶囊每粒含 0.5 g 粉，粉末含生药量 4.77 g/g，根据每天 3 次，每次 4 粒的服用量，得出人临床生药用量为 28.6 g/d，参考《中药药理研究方法学》中剂量换算方法“体表面积比”换算动物临床等效剂量为含生药量 3.72 g/kg，作为银蓝调脂胶囊低剂量，临床等效剂量 2 倍为银蓝调脂胶囊中剂量组（含生药量 7.44 g/kg），4 倍为银蓝调脂胶囊高剂量组（含生药量 14.88 g/kg）。辛伐他汀片临床剂量为 80 mg/d，换算动物临床等效剂量为 10.40 mg/kg。

2.2 分组、造模与给药 10 只 C57BL/6 小鼠作为正常组，喂食普通饲料，50 只 ApoE^{-/-}小鼠作为造模组，喂食高胆固醇鼠饲料（1%胆固醇，15%猪油，3%奶粉，5%鸡蛋黄和 76%普通饲料），喂食 12 周后，将 50 只 ApoE^{-/-}小鼠随机分成模型组，辛伐他汀片组（10.40 mg/kg），银蓝调脂胶囊高（14.88 g/kg）、中（7.44 g/kg）、低（3.72 g/kg）剂量组，每组 10 只。各给药组灌胃给予相对应药物，正常组和模型组灌胃给予等量去离子水，10 mL/kg，每天 1 次，连续灌胃给药 12 周。给药期间，正常组喂食普通饲料，其

表 1 RT-qPCR 相关靶标基因引物序列

目标基因	正向 (5'→3')	反向 (5'→3')
SR-B1	TACTTGTCGCTCTACT	CGTGTCAATT GTCATTG
ABCG5	TCAACAGCAACTACTAC	TTCTCTACGGTCTAAT
iNOS	TCCTACCCCAACTTCCAATGCTC	TTGGATGGTCTTGCTCCTTAGCC
18S	ACGGCTACCACATCC	CAGACTTGGCCCTCCA

2.7 Western blot 法检测 ApoE^{-/-}小鼠肝脏中 LXRα、ABCG5、SREBP-1c、CYP7A1、COX2 和 iNOS 蛋白表达 取小鼠肝脏组织，充分剪碎，加入 RIPA 裂解液提取总蛋白，BCA 法检测蛋白质浓度，配平各蛋白样品，加样后进行 SDS-PAGE 电泳。将凝胶中的蛋白质转移至 PVDF 上，5%脱脂奶粉室温封闭 1.5 h 后，分别加入相应的一抗，在 4 ℃下过夜孵育，TBST 洗膜 3 次，每次 10 min。加入二抗，室温摇床孵育 1.5 h，TBST 洗膜后于 ECL 暗室化学发光显影，凝胶成像分析系统摄像分析，采用 Image J 软件检测出所得蛋白图像的目标条带以及相应内参条带灰度值，并计算蛋白表达，蛋白表达=目的蛋白灰度值/内参蛋白灰度值。

2.8 统计学分析 通过 SPSS 26.0 软件进行处理，计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析，方差齐时总体均值比较采用 F 检验，组间均数两两比较采用 SNK 法；方差不齐总体均值比较采用 Welch 检验，组间比较采用 Dunnett's T3 法。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

余各组持续喂食高胆固醇鼠饲料。末次给药 1 h 后，各组小鼠均摘眼球取血，3 000 r/min 离心 10 min，取血清；取胸主动脉和肝脏左叶部分置于 10% 甲醛溶液中保存，其余部分肝脏于-80 ℃冰箱储存。

2.3 ApoE^{-/-}小鼠血清 ox-LDL 水平及胸主动脉脂质斑块面积的检测 使用 ELISA 试剂盒，按照说明书步骤检测血清 ox-LDL 水平。除去胸主动脉周围脂肪，于 10% 甲醛固定 48 h 后脱水，随后进行油红 O 染色，利用 Image-Pro Plus 软件定量分析胸主动脉血管壁上脂质斑块面积。

2.4 ApoE^{-/-}小鼠肝脏 TC、TG 以及 LDL-C 水平的检测 使用单试剂 GPO-PAP 法并通过酶标仪检测肝脏 TC、TG 以及 LDL-C 水平。

2.5 ApoE^{-/-}小鼠肝脏脂质面积的检测 将肝脏左叶部分组织固定 48 h 后，进行脱水、浸蜡、包埋，切片厚度为 4 μm，随后进行油红 O 染色，从每个样本中随机选取 3 个 200 倍视野，利用 Image-Pro Plus 软件定量分析肝脏脂质面积。

2.6 RT-qPCR 法检测 ApoE^{-/-}小鼠肝脏 ABCG5、SR-B1、iNOS mRNA 表达 取肝脏组织，采用 Trizol 法提取肝脏总 RNA，逆转录合成 cDNA，以 cDNA 为模板，根据 GenBank 提供的基因序列设计特异性引物，引物设计利用 Primer 5.0 和 Beacon Designer 7.91 生物软件，见表 1，由英潍捷基（上海）贸易有限公司合成，通过 PCR 仪检测各基因的表达。

3 结果

3.1 银蓝调脂胶囊对 ApoE^{-/-}小鼠血清 ox-LDL 水平的影响 与正常组比较,模型组小鼠血清 ox-LDL 水平升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,银蓝调脂胶囊各剂量组小鼠血清 ox-LDL 水平均有降低 ($P < 0.01$);银蓝调脂胶囊各剂量组两两比较,ox-LDL 水平均无明显变化 ($P > 0.05$),见表 2。

表 2 银蓝调脂胶囊对 ApoE^{-/-}小鼠血清 ox-LDL 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量	ox-LDL/(ng·mL ⁻¹)
正常组	—	24.99±12.10
模型组	—	157.81±22.58 ^{##}
辛伐他汀片组	10.40 mg/kg	102.19±37.33 ^{**}
银蓝调脂胶囊高剂量组	14.88 g/kg	111.03±27.57 ^{**}
银蓝调脂胶囊中剂量组	7.44 g/kg	122.90±30.15 ^{**}
银蓝调脂胶囊低剂量组	3.72 g/kg	118.41±22.25 ^{**}

注:与正常组比较,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较,^{**} $P < 0.01$ 。

3.2 银蓝调脂胶囊对 ApoE^{-/-}小鼠胸主动脉脂质斑块面积的影响 与正常组比较，模型组小鼠主动脉脂质斑块面积增加 ($P < 0.01$)；与模型组比较，银蓝调脂胶囊各剂量组

小鼠主动脉脂质斑块面积均减少 ($P<0.01$)；银蓝调脂胶囊各剂量组两两比较，主动脉脂质斑块面积均无明显变化 ($P>0.05$)，见表 3。

表 3 银蓝调脂胶囊对 ApoE^{-/-}小鼠胸主动脉血管壁脂质斑块面积的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量	斑块面积/($\times 10^4 \mu\text{m}^2$)
正常组	—	2.37±0.38
模型组	—	16.19±4.22 ^{##}
辛伐他汀片组	10.40 mg/kg	13.38±3.13 [*]
银蓝调脂胶囊高剂量组	14.88 g/kg	7.86±3.01 ^{**}
银蓝调脂胶囊中剂量组	7.44 g/kg	8.47±1.58 ^{**}
银蓝调脂胶囊低剂量组	3.72 g/kg	11.57±3.83 ^{**}

注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ 。

表 4 银蓝调脂胶囊对 ApoE^{-/-}小鼠肝脏中 TC、TG、LDL-C 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量	TC/(mmol·L ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)	LDL-C/(mmol·L ⁻¹)
正常组	—	7.87±1.86	1.08±0.25	0.04±0.01
模型组	—	23.71±2.94 ^{##}	1.50±0.14 ^{##}	0.18±0.03 ^{##}
辛伐他汀片组	10.40 mg/kg	15.65±2.06 ^{**}	1.22±0.18 [*]	0.13±0.04 [*]
银蓝调脂胶囊高剂量组	14.88 g/kg	11.96±1.91 ^{**}	1.07±0.30 ^{**}	0.12±0.05 ^{**}
银蓝调脂胶囊中剂量组	7.44 g/kg	18.96±3.84 ^{**△△}	1.37±0.12 [△]	0.15±0.04
银蓝调脂胶囊低剂量组	3.72 g/kg	16.92±2.10 ^{**△△}	1.47±0.26 ^{△△}	0.17±0.06 [△]

注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$;与银蓝调脂胶囊高剂量组比较,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$ 。

表 5 银蓝调脂胶囊对 ApoE^{-/-}小鼠肝脏脂质面积的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量	脂质面积/($\times 10^4 \mu\text{m}^2$)
正常组	—	0.40±0.38
模型组	—	52.88±13.71 ^{##}
辛伐他汀片组	10.40 mg/kg	17.54±5.74 ^{**}
银蓝调脂胶囊高剂量组	14.88 g/kg	14.93±7.72 ^{**}
银蓝调脂胶囊中剂量组	7.44 g/kg	22.67±4.90 ^{**△△}
银蓝调脂胶囊低剂量组	3.72 g/kg	30.95±10.76 ^{**△△}

注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{**} $P<0.01$;与银蓝调脂胶囊高剂量组比较,^{△△} $P<0.01$ 。

表 6 ApoE^{-/-}小鼠肝脏 ABCG5、SR-B1、iNOS mRNA 表达 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量	ABCG5	SR-B1	iNOS
正常组	—	1.00±0.15	1.00±0.21	1.00±0.30
模型组	—	0.46±0.09 ^{##}	0.38±0.14 ^{##}	2.06±0.30 ^{##}
辛伐他汀片组	10.40 mg/kg	0.82±0.16 ^{**}	0.82±0.31 ^{**}	1.22±0.50 ^{**}
银蓝调脂胶囊高剂量组	14.88 g/kg	0.55±0.13	1.12±0.13 ^{**}	0.80±0.13 ^{**}
银蓝调脂胶囊中剂量组	7.44 g/kg	0.78±0.14 ^{**△△}	0.74±0.13 ^{**△△}	0.78±0.15 ^{**}
银蓝调脂胶囊低剂量组	3.72 g/kg	0.51±0.15 ^{△△}	0.88±0.14 ^{**△}	0.79±0.18 ^{**}

注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{**} $P<0.01$;与银蓝调脂胶囊高剂量组比较,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$;与银蓝调脂胶囊中剂量组比较,^{△△} $P<0.01$ 。

白表达的影响 与正常组比较，模型组小鼠肝脏 LXRα、ABCG5、CYP7A1、SREBP-1c 蛋白表达降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，银蓝调脂胶囊低剂量组小鼠肝脏 LXRα、ABCG5、CYP7A1、SREBP-1c 蛋白表达均升高 ($P<0.05$)；银蓝调脂胶囊各剂量组两两比较，各蛋白表达均无明显变化 ($P>0.05$)，见表 7、图 1。

3.6.2 银蓝调脂胶囊对 ApoE^{-/-}小鼠肝脏炎症反应相关蛋白表达的影响 与正常组比较，模型组小鼠肝脏 iNOS 蛋白

3.3 银蓝调脂胶囊对 ApoE^{-/-}小鼠肝脏 TC、TG、LDL-C 水平的影响 与正常组比较，模型组小鼠肝脏 TC、TG、LDL-C 水平升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，银蓝调脂胶囊高剂量组小鼠肝脏 TC、TG、LDL-C 水平均降低 ($P<0.01$)，中、低剂量组小鼠肝脏 TC 水平降低 ($P<0.05$)，见表 4。

3.4 银蓝调脂胶囊对 ApoE^{-/-}小鼠肝脏脂质面积的影响 与正常组比较，模型组小鼠肝脏脂质面积增加 ($P<0.01$)；与模型组比较，银蓝调脂胶囊各剂量组肝脏脂质面积均减少 ($P<0.01$)，且高剂量组减少肝脏脂质面积更显著 ($P<0.01$)，见表 5。

3.5 银蓝调脂胶囊对 ApoE^{-/-}小鼠肝脏中 ABCG5、SR-B1、iNOS mRNA 表达的影响 与正常组比较，模型组小鼠肝脏 ABCG5、SR-B1 mRNA 表达降低 ($P<0.01$)，iNOS mRNA 表达升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，银蓝调脂胶囊各剂量组 SR-B1 mRNA 表达升高 ($P<0.01$)，iNOS mRNA 表达降低 ($P<0.01$)，其中高剂量组 SR-B1 mRNA 表达升高更显著，中剂量组 ABCG5 mRNA 表达升高 ($P<0.01$)，见表 6。

3.6 银蓝调脂胶囊对 ApoE^{-/-}小鼠 LXR 信号通路相关蛋白表达的影响

3.6.1 银蓝调脂胶囊对 ApoE^{-/-}小鼠肝脏脂质代谢相关蛋

白表达升高 ($P<0.05$)；与模型组比较，银蓝调脂胶囊各剂量组小鼠肝脏 iNOS 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，高、低剂量组小鼠肝脏 COX2 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，且低剂量组肝脏 COX2 蛋白表达降低更显著，见表 8、图 2。

4 讨论

动脉粥样硬化即体内脂质代谢紊乱导致血管壁上脂质堆积引起动脉壁狭窄的疾病^[6]。临床研究表明，血清

表 7 ApoE^{-/-}小鼠肝脏 LXRα、ABCG5、CYP7A1、SREBP-1c 蛋白表达 ($\bar{x}\pm s$, n=3)

组别	剂量	LXRα	ABCG5	CYP7A1	SREBP-1C
正常组	—	1.00±0.11	1.00±0.07	1.00±0.10	1.00±0.08
模型组	—	0.73±0.10 [#]	0.79±0.17 [#]	0.63±0.20 [#]	0.78±0.07 ^{##}
辛伐他汀片组	10.40 mg/kg	0.71±0.24	0.90±0.20	0.86±0.25	0.51±0.05 [*]
银蓝调脂胶囊高剂量组	14.88 g/kg	0.76±0.05	1.44±0.32	0.97±0.26	0.99±0.13
银蓝调脂胶囊中剂量组	7.44 g/kg	0.90±0.05	1.54±0.29	1.08±0.26	0.97±0.11
银蓝调脂胶囊低剂量组	3.72 g/kg	1.12±0.11 [*]	1.77±0.24 [*]	1.12±0.23 [*]	1.21±0.23 [*]

注:与正常组比较,[#]P<0.05,^{##}P<0.01;与模型组比较,^{*}P<0.05。

表 8 ApoE^{-/-}小鼠肝脏 iNOS、COX2 蛋白表达 ($\bar{x}\pm s$, n=3)

组别	剂量	iNOS	COX2
正常组	—	1.00±0.00	1.00±0.00
模型组	—	1.82±0.47 [#]	1.01±0.08
辛伐他汀片组	10.40 mg/kg	0.80±0.15 ^{**}	0.96±0.06
银蓝调脂胶囊高剂量组	14.88 g/kg	1.03±0.24 [*]	0.82±0.04 [*]
银蓝调脂胶囊中剂量组	7.44 g/kg	0.99±0.31 [*]	0.89±0.04
银蓝调脂胶囊低剂量组	3.72 g/kg	0.84±0.24 ^{**}	0.58±0.03 ^{**△△&&}

注:与正常组比较,[#]P<0.05;与模型组比较,^{*}P<0.05,^{**}P<0.01;与银蓝调脂胶囊高剂量组比较,^{△△}P<0.01;与银蓝调脂胶囊中剂量组比较,^{&&}P<0.01。

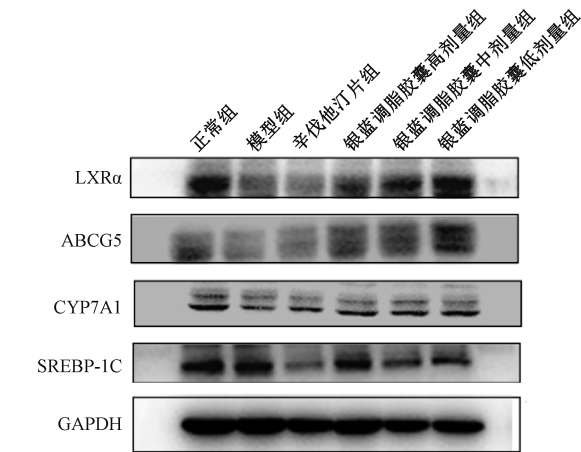


图 1 各组小鼠肝脏 LXRα、ABCG5、CYP7A1、SREBP-1c 蛋白印迹条带

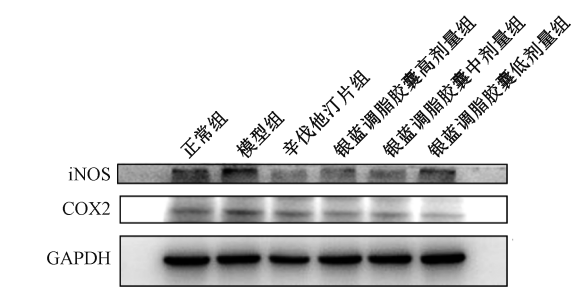


图 2 各组小鼠肝脏 iNOS、COX2 蛋白印迹条带

ox-LDL 升高及主动脉斑块增加是判断动脉粥样硬化的指标^[7]。如今抑制胆固醇合成不再是治疗动脉粥样硬化的唯一方法,促进胆固醇逆向转运已成为治疗的新思路。胆固醇逆向转运是通过高密度脂蛋白将周围组织中过量的胆固醇转移到肝脏进行胆汁酸合成和排泄的过程,在动脉粥样硬化的发生发展中具有关键作用^[8]。外周组织胆固醇流出

是其中一种途径,即外周组织细胞内胆固醇通过 ABCA1 释放到细胞外,经卵磷脂胆固醇酰基转移酶酯化为胆固醇酯后,与肝脏 B 族 I 型清道夫受体 (scavenger receptor class B type 1, SR-B1) 受体结合,进入肝脏^[9]。胆固醇酯通过 ABCG5/ABCG8 异二聚体向胆汁中转移,再经过 CYP7A1 代谢为胆汁酸排出体外^[10]。肝脏是代谢脂质的主要场所,当肝脏发生炎症时,其脂质代谢能力则会下降,会促进动脉粥样硬化的进展。其中环氧合酶 2 (cyclooxygenase 2, COX2) 和 iNOS 是肝炎的重要指标,当两种炎症因子表达增多,提示肝脏出现炎症^[11]。

LXRs 是胆固醇逆向转运途径中关键的固醇敏感转录因子,具有调节胆固醇水平并维持其稳态的重要作用^[12]。LXRs 具有 2 种亚型,分别为 LXRα 和 LXRβ。LXRα 主要在代谢活跃的组织 and 细胞中高表达,如肝、肠、脂肪组织和巨噬细胞。LXRβ 则在全身组织细胞广泛表达^[13]。邵丹阳^[14]发现,当 LXRs 被激活后,与脂质代谢相关的蛋白如 ATP 结合盒转运家族、载脂蛋白、CYP7A1、SR-B1 以及 SREBP-1c 表达均增加,显著改善血脂水平。除了具备维持胆固醇稳态的功能,近年来,已有文献报导 LXRs 也有抑制炎症因子合成的作用,激活 LXRα 可有效避免肝脏纤维化等疾病^[15],He 等^[16]发现激活 LXR 可以抑制 iNOS 以及 COX2 的表达,对炎症具有抑制作用。

本次实验中发现,ApoE^{-/-}模型组小鼠血清中 ox-LDL 水平升高,胸主动脉斑块面积增加,肝脏脂质水平上升;银蓝调脂胶囊进行干预之后,小鼠血清 ox-LDL 水平降低,且胸主动脉斑块面积减少,说明银蓝调脂胶囊具有较好的抗动脉粥样硬化作用;另发现,银蓝调脂胶囊能够较好地降低肝脏中 TC、TG、LDL-C 水平,提示银蓝调脂胶囊的抗动脉粥样硬化作用可能与提高肝脏脂质代谢能力相关。分子机制研究表明,银蓝调脂胶囊提高 LXRα、ABCG5、CYP7A1、SR-B1、SREBP-1c 的表达,提示 LXR 通路被激

活，与促进胆固醇逆向转运途径相关基因或蛋白的表达上调，从而使胆固醇从胸主动脉的斑块向肝脏转移并被代谢出体外有关。与此同时，肝脏中 iNOS 以及 COX2 等促炎因子的基因和蛋白表达下降，说明银蓝调脂胶囊可能通过激活 LXRs 而抑制炎症因子的表达，从而发挥抗炎作用。

综上所述，银蓝调脂胶囊治疗动脉粥样硬化的机制可能与激活 LXR 信号通路，促进 ABCG1、SR-B1、CYP7A1 表达，加强胆固醇逆向转运，促进外周组织即血管壁斑块处的胆固醇流向肝脏进行代谢，降低血管壁斑块及肝脏脂质水平有关。与此同时，银蓝调脂胶囊亦能够抑制 iNOS、COX2 的表达从而缓解肝脏炎症反应，提高其脂质代谢能力相关。

参考文献：

[1] Jokinen E. Obesity and cardiovascular disease [J]. *Minerva Pediatr*, 2015, 67(1) : 25-32.

[2] 何 峰, 张雪莲, 温祥臣. 山楂酸对高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝模型小鼠炎症反应及氧化应激的影响 [J]. *中国药房*, 2019, 30(7) : 901-905.

[3] Jakobsson T, Treuter E, Gustafsson J Å, *et al.* Liver X receptor biology and pharmacology: new pathways, challenges and opportunities [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2012, 33 (7) : 394-404.

[4] Lin H C, Lii C K, Chen H C, *et al.* Andrographolide inhibits oxidized LDL-induced cholesterol accumulation and foam cell formation in macrophages [J]. *Am J Chin Med*, 2018, 46(1) : 87-106.

[5] 陈玉兴, 黄雪君, 杜铁良, 等. 银蓝调脂胶囊对实验性高脂血症新西兰兔血清脂质水平的影响 [J]. *中成药*, 2014, 36(7) : 1518-1521.

[6] Valencia-Enciso N, Mendivil C O. New biotechnological

treatments for lipid disorders [J]. *Rev Invest Clin*, 2018, 70 (5) : 244-254.

[7] 晏子俊, 张良明, 陈彦清, 等. 脑梗死患者颈动脉粥样硬化性斑块与 hs-CRP、Apo-B、ox-LDL、MMP-9 的相关性研究 [J]. *海南医学院学报*, 2019, 25(22) : 1713-1717; 1722.

[8] 刘 冬, 马志强, 杨 阳, 等. 肝 X 受体抗动脉粥样硬化作用机制的研究进展 [J]. *中华实验外科杂志*, 2017, 34 (11) : 2007-2009.

[9] 张 岩, 周 雯, 肖韩艳. 姜黄素对 THP-1 源性巨噬泡沫细胞 B 类 1 型清道夫受体表达的影响 [J]. *中国现代医生*, 2019, 57(7) : 26-29.

[10] 黄菊阳, 王 琴, 毕亚男, 等. 异补骨脂素不同时间给药对大鼠肝脏功能和转运体的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2019, 35(2) : 260-264.

[11] 章宝燕, 林拥华, 林志强, 等. 黄芩苷对肝脏缺血再灌注损伤大鼠诱导型一氧化氮合酶、核转录因子和 caspase-3 表达的影响 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2016, 23(6) : 60-63.

[12] 曾德飞, 李 薇, 汤琼健, 等. 肝 X 受体调节胆固醇代谢研究新进展 [J]. *南通大学学报 (医学版)*, 2019, 39(2) : 109-113.

[13] Seol W, Choi H S, Moore D D. Isolation of proteins that interact specifically with the retinoid X receptor: two novel orphan receptors [J]. *Mol Endocrinol*, 1995, 9(1) : 72-85.

[14] 邵丹阳. 芍药苷调控 LXRs-STAT3 信号通路改善肝纤维化进程的研究 [D]. 延吉: 延边大学, 2019.

[15] 杨兰馨, 肖元芬, 杨玉容, 等. 肝 X 受体——肝纤维化治疗新的分子靶点 [J]. *生命的化学*, 2019, 39(3) : 458-463.

[16] He X, Sun D Y, Chen S Y, *et al.* Activation of liver X receptor delayed the retinal degeneration of rd1 mice through modulation of the immunological function of glia [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (19) : 32068-32082.