

- [19] 王明帅, 司文腾, 孟亚轲, 等. 羟基红花黄色素 A 通过 MAPK/ERK 信号通路对去卵巢骨质疏松大鼠骨组织损伤的保护作用[J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(13): 3213-3217.
- [20] 王亚娜, 许晓琳, 马文华, 等. 芍药苷调节 PI3K/AKT/NF- κ B 信号通路对血栓闭塞性脉管炎大鼠的治疗作用研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2024, 40(6): 854-858.
- [21] 张 培, 张凌楠, 杨 勇, 等. 莪术醇通过激活 p38 MAPK 介导的线粒体凋亡途径诱导人舌鳞状细胞癌 Tea-8113 细胞凋亡[J]. 口腔医学研究, 2021, 37(6): 509-513.
- [22] 张东军, 边晓燕, 尹丽颖, 等. 伸筋草乙醇提取物对佐剂性关节炎大鼠治疗作用的实验研究[J]. 中医药学报, 2010, 38(4): 41-42.

温胆汤对 ApoE^{-/-} 动脉粥样硬化小鼠血管内皮功能及脂联素的影响

邱婷婷¹, 施 恒², 熊建华², 范增光², 赵永法², 欧阳效强^{2*}

(1. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004; 2. 江西中医药大学附属医院心血管科, 江西 南昌 330006)

摘要: **目的** 观察温胆汤对 ApoE^{-/-} 动脉粥样硬化 (AS) 小鼠血管内皮功能及脂联素 (APN) 的影响。**方法** 将 50 只 8 周龄雄性 ApoE^{-/-} 小鼠随机分为模型组、APN 组 (10 μ g/kg) 及温胆汤低、中、高剂量组 (3.9、7.9、15.6 g/kg), 通过高脂饲料喂养 12 周构建 AS 模型; 另取 10 只 C57BL/6J 小鼠作为正常组, 予普通饲料喂养 12 周。第 9 周开始, 各组小鼠给予相应药物干预 4 周, 第 12 周末给药后取材。油红 O 染色评估脂质沉积情况; HE 染色观察斑块形成情况; 全自动生化分析仪检测血脂水平; 试剂盒检测血清 APN、NO、ET-1、IL-1 β 、IL-6 水平; 免疫荧光染色检测主动脉血管 M1 型巨噬细胞浸润水平; Western blot 及 RT-qPCR 法检测主动脉 APN、MCP-1 蛋白、mRNA 表达。**结果** 与模型组比较, 温胆汤中、高剂量组脂质沉积减少, AS 斑块面积减小 ($P<0.01$); 血清 TC、TG、LDL-C 水平降低 ($P<0.01$); 血清 APN、NO 水平升高 ($P<0.01$), ET-1、IL-1 β 、IL-6 水平降低 ($P<0.01$); M1 型巨噬细胞 (F4/80+CD86) 浸润水平降低 ($P<0.01$); MCP-1 蛋白、mRNA 表达降低 ($P<0.01$), APN 蛋白、mRNA 表达升高 ($P<0.01$)。**结论** 温胆汤能够改善 ApoE^{-/-} 小鼠 AS 情况, 减轻脂质沉积, 其作用机制可能与上调脂联素、改善血管内皮功能、抑制炎症反应相关。

关键词: 温胆汤; 动脉粥样硬化; 脂联素; 内皮功能紊乱; 巨噬细胞极化; ApoE^{-/-} 小鼠

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)07-2396-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.07.043

据 WHO 统计, 心血管疾病 (cardiovascular diseases, CVD) 是目前全球人类死亡的主要病因^[1], 我国患病人数约有 3.3 亿, 其发生率和死亡率均位居世界首位, 且仍处于上升阶段^[2]。动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是 CVD 形成的主要病理基础之一^[3], 涉及脂质代谢异常、炎症反应、血管内皮损伤及功能紊乱等^[4-5]。研究发现, 脂联素 (adiponectin, APN) 是血管外周脂肪组织分泌的重要活性因子, 可通过调节脂质代谢、改善胰岛素抵抗、抗炎和改善血管内皮功能发挥抗 AS 的作用^[6-7]。

中医认为, 痰浊是 AS 的重要致病因素之一^[8]。温胆汤是化痰经典名方, 该方及其加减方在 CVD 治疗中应用广泛, 临床疗效确切^[9-10]。课题组预实验发现, 温胆汤能够

有效改善 AS 小鼠血脂代谢, 减少斑块形成, 且能上调 APN 表达, 但其作用机制尚不清楚。基于此, 本研究以 APN 为切入点, 探讨温胆汤能否通过上调 APN 改善血管内皮功能及炎症反应, 发挥抗 AS 的作用, 以期为该方临床应用提供科学依据。

1 材料

1.1 动物 C57BL/6J 背景 ApoE 基因敲除 (ApoE^{-/-}) 小鼠 50 只、C57BL/6J 小鼠 10 只, 均为 SPF 级, 雄性, 8 周龄, 体质量 20~22 g, 购自斯贝福 (北京) 生物技术有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2020-0001, 动物质量合格证号 110324231105135028], 饲养于江西中洪博元生物技术有限公司 [实验动物使用许可证号 SYXK (赣)

收稿日期: 2024-11-07

基金项目: 国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目 (zyyzdxk-2023113); 江西省自然科学基金青年项目 (20232BAB216110); 江西省教育厅科学技术研究项目青年项目 (GJJ211251); 江西省中医药管理局一般项目 (2022A105); 江西省卫生健康委科技计划项目 (202310687);

作者简介: 邱婷婷 (1990—), 女, 博士生, 从事中医药防治心脑血管疾病研究。Tel: 18770059172, E-mail: 1069245607@qq.com

* **通信作者:** 欧阳效强 (1990—), 男, 博士, 主治医师, 从事中医药防治动脉粥样硬化研究。Tel: 15768966583, E-mail: 287316045@qq.com

2020-0001], 自由摄食与饮水。动物实验由伦理委员会批准, 并在实验过程中严格遵守动物使用的道德规范 (伦理批号 LL-202307300001)。

1.2 药材与药物 温胆汤由半夏 10 g、陈皮 15 g、枳实 10 g、竹茹 10 g、茯苓 10 g、甘草 5 g 组成, 均购自江西中医药大学附属医院中药房 (批号 230825、230709、230630、230912、230905、230919), 加 10 倍量去离子水浸泡 1 h, 武火煮沸, 文火煮 0.5 h, 取药汁, 过滤, 合并 2 次药液, 分别浓缩至 0.39、0.78、1.56 g/mL, 按照小鼠体质量以 0.1 mL/10 g 剂量灌胃, 低、中、高剂量分别为 3.9、7.9、15.6 g/kg。

1.3 试剂 小鼠 APN、内皮素 1 (endothelin-1, ET-1)、白介素 (interleukin, IL) -1 β 、IL-6 酶联免疫吸附 (ELISA) 试剂盒 (江苏酶免实业有限公司, 批号 2310M27、2310M16、2309M23、2309M11); 一氧化氮 (nitric oxide, NO) 生化试剂盒 (江苏艾迪生生物科技有限公司, 批号 ADS20231113); 小鼠 F4/80、CD86 抗体 (美国 Cell Signaling Technology 公司, 货号 70076、19589); BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (上海碧云天生物技术股份有限公司, 批号 042623231012); 小鼠 APN、单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) 抗体 (武汉三鹰生物技术有限公司, 批号 00048468、00134664)。

1.4 仪器 4 ℃ 高速离心机 [艾本德 (上海) 国际贸易有限公司]; Multiskan FC 酶标仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 显微镜 (日本 Olympus 公司); Western blot 电泳仪、多功能成像分析系统、荧光定量 PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 分组、造模及给药 取 10 只 C57BL/6J 小鼠作为正常组, 给予普通饲料喂养; 50 只 ApoE^{-/-} 小鼠给予高脂饲料 (脂肪 21%、胆固醇 0.15%、蛋白质 15.5%) 喂养 12 周建立 AS 模型, 并随机分为模型组、APN 组及温胆汤低、中、高剂量组, 每组 10 只。从第 9 周开始, 温胆汤低、中、高剂量组分别灌胃给予 3.9、7.9、15.6 g/kg 中药汤剂, APN 组尾静脉注射 10 μ g/kg APN, 正常组和模型组灌胃给予 0.9% 生理盐水, 连续 4 周。于末次给药 2 h 后, 小鼠腹腔注射 1% 戊巴比妥溶液, 待充分麻醉后分离血清及主动脉血管组织。

2.2 油红 O 染色观察主动脉脂质沉积 将小鼠主动脉组织于 4% 多聚甲醛中固定, 生理盐水冲洗, 解剖剪沿血管壁纵向剖开, 血管浸入油红染液中, 37 ℃ 染色 60 min, 取出, 75% 乙醇分化至管内脂肪斑块呈橘红色或鲜红色、其他部位近无色, 蒸馏水冲洗, 于显微镜下观察主动脉脂质沉积情况。

2.3 HE 染色观察主动脉组织形态 将小鼠主动脉组织于 4% 多聚甲醛固定 24 h, 梯度脱水透明, 石蜡包埋, 切片 5 μ m, 60 ℃ 烤片, 二甲苯及梯度乙醇脱蜡至水, 放入苏木

素染缸中染色, 盐酸乙醇分化, 自来水冲洗返蓝, 放入伊红染缸中染色 2 min, 脱水透明后用中性树胶封片, 于光学显微镜下观察主动脉组织形态。

2.4 血脂水平检测 采用全自动生化分析仪检测仪检测小鼠血清总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 水平。

2.5 血清 APN、NO、ET-1、IL-1 β 、IL-6 水平检测 严格按照试剂盒说明书, 采用 ELISA 法检测小鼠血清 APN、ET-1、IL-1 β 、IL-6 水平, 化学法检测 NO 水平。

2.6 免疫荧光染色检测血管内皮 M1 型巨噬细胞浸润水平 各组小鼠主动脉组织石蜡切片脱蜡至水, 抗原修复, 切片放入 3% 双氧水中, 室温避光孵育 25 min, 封闭内源性过氧化物酶, 滴加 10% 山羊血清封闭, 滴加一抗, 孵育过夜, 滴加二抗, 室温避光孵育 50 min, 滴加酪胺盐-CY3, 将玻片置于柠檬酸修复液中, 微波修复, 恢复温度至室温, 重复上述步骤, 先后滴加一抗、二抗, PBS 洗涤, 滴加酪胺盐-488, DAPI 复染细胞核, 用抗荧光淬灭封片剂封片, 于 4 ℃ 避光保存。切片于荧光显微镜下观察并采集图像。

2.7 RT-qPCR 法检测主动脉 APN、MCP-1 mRNA 表达 取小鼠主动脉血管组织, 提取总 RNA, 测定浓度, 稀释至 200 ng/ μ L 后反转录, 采用实时荧光定量 PCR 法进行扩增反应, 40 个循环后采用 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 法进行相对定量分析。引物由北京擎科生物科技股份有限公司合成, 序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	引物序列	长度/bp
APN	正向 5'-ACTAATGAGACCTGGCCACTTTC-3'	106
	反向 5'-AACAGGAGAGCTTGCAACAGTAG-3'	
MCP-1	正向 5'-CACTCACCTGCTGCTACTCATTC-3'	200
	反向 5'-TGATCTCATTTGTGTTCCGATCCA-3'	
GAPDH	正向 5'-CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG-3'	138
	反向 5'-GGTGAAGAATGGGAGTTGCT-3'	

2.8 Western blot 法检测主动脉 APN、MCP-1 蛋白表达 采用 RIPA 裂解液提取小鼠主动脉蛋白, BCA 法测定浓度, 变性后进行 SDS-PAGE 电泳, 转移至 PVDF 膜上, 5% 脱脂奶粉溶液封闭 1.5 h, 分别加入相应的一抗 APN、MCP-1, 4 ℃ 摇床孵育过夜, TBST 洗膜 3 次, 加入二抗, 室温摇床孵育 1.5 h, TBST 洗膜 3 次, 滴加显影液, 在全能型凝胶成像系统下显影, 采用 Image J 软件检测条带灰度值, 以目的蛋白、内参蛋白灰度值的比值计算蛋白表达。

2.9 统计学分析 通过 SPSS 22.0 软件进行处理, 符合正态分布的计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 若方差齐, 进一步比较采用 LSD 法检验, 若方差不齐, 则采用 Tamhane 法检验; 2 组间比较采用 *t* 检验。以 *P*<0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 温胆汤对 AS 小鼠主动脉血管脂质沉积的影响 与正常组比较,模型组小鼠主动脉血管脂质沉积增加,主动脉斑块面积增大 ($P<0.01$);与模型组比较,APN 组和温胆汤各剂量组小鼠主动脉血管脂质沉积减少,主动脉斑块面积减小 ($P<0.05$, $P<0.01$),见图 1、表 2。

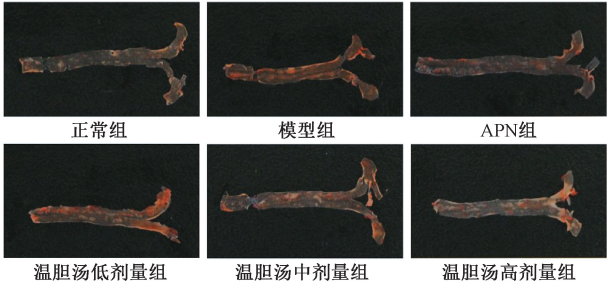


图 1 各组小鼠主动脉组织油红 O 染色

表 2 各组小鼠主动脉斑块面积比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	斑块面积/%
正常组	1.13±0.16
模型组	9.89±0.62**
APN 组	2.31±0.73##
温胆汤低剂量组	7.25±0.58#
温胆汤中剂量组	6.62±0.39##
温胆汤高剂量组	3.38±0.61##

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

表 3 各组小鼠 TC、TG、LDL-C、HDL-C 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	TC/(mmol·L ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)	LDL-C/(mmol·L ⁻¹)	HDL-C/(mmol·L ⁻¹)
正常组	3.03±0.18	1.12±0.12	0.86±0.16	3.04±0.14
模型组	33.55±2.54**	3.53±0.61**	16.63±2.23**	2.13±0.21**
APN 组	9.51±1.55##	1.31±0.23##	4.53±0.91##	2.53±0.27
温胆汤低剂量组	29.63±1.37##	3.22±0.44##	14.22±1.67##	2.22±0.24
温胆汤中剂量组	24.86±3.59##	2.28±0.42##	10.71±1.65##	2.21±0.17
温胆汤高剂量组	16.56±2.22##	1.62±0.15##	7.52±1.53##	2.42±0.15

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

表 4 各组小鼠血清 APN、NO、ET-1、IL-1β、IL-6 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	APN/(ng·mL ⁻¹)	NO/(μmol·L ⁻¹)	ET-1/(pg·mL ⁻¹)	IL-1β/(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)
正常组	1338.43±129.49	0.14±0.01	6.11±0.91	79.77±8.48	83.22±8.62
模型组	703.92±90.95**	0.05±0.02**	14.21±1.86**	155.59±9.39**	172.98±12.55**
APN 组	1356.23±156.52##	0.11±0.01##	7.36±1.39##	102.25±7.87##	106.55±6.17##
温胆汤低剂量组	802.61±102.44##	0.06±0.01##	14.16±1.73##	144.46±6.31#	160.23±8.32#
温胆汤中剂量组	1105.55±103.37##	0.09±0.01##	12.39±1.63##	125.79±7.92##	135.77±10.71##
温胆汤高剂量组	1172.77±157.81##	0.10±0.02##	9.69±0.56##	112.62±7.48##	121.43±8.41##

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

3.5 温胆汤对 AS 小鼠主动脉 M1 型极化的影响 正常组黄色荧光 (F4/80+CD86) 表达量稀少;模型组黄色荧光表达增加 ($P<0.01$),表明 ApoE^{-/-}小鼠主动脉血管中 M1 型巨噬细胞浸润增多;与模型组比较,APN 组和温胆汤中、高剂量组黄色荧光表达减少 ($P<0.01$),表明 APN 和温胆汤均具有抑制 AS 小鼠主动脉血管巨噬细胞 M1 型极化的作用,见图 3、表 5。

3.2 温胆汤对 AS 小鼠主动脉组织病理形态学的影响 与正常组比较,模型组小鼠主动脉内有较大斑块形成;与模型组比较,APN 组和温胆汤各剂量组小鼠主动脉内膜斑块减少,其中 APN 组主动脉血管内斑块体积最小,见图 2。

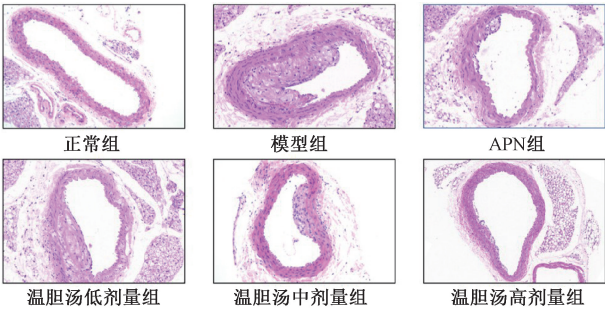
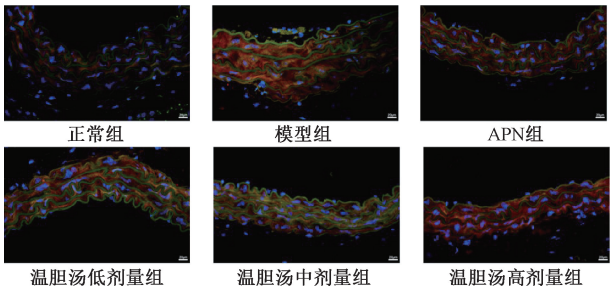


图 2 各组小鼠主动脉血管 HE 染色 (×100)

3.3 温胆汤对 AS 小鼠血脂四项水平的影响 与正常组比较,模型组小鼠 TC、TG、LDL-C 水平升高 ($P<0.01$),HDL-C 水平降低 ($P<0.01$);与模型组比较,APN 组及温胆汤各剂量组小鼠 TC、TG、LDL-C 水平降低 ($P<0.01$),HDL-C 水平无明显差异 ($P>0.05$),见表 3。

3.4 温胆汤对 AS 小鼠血清 APN、NO、ET-1、IL-1β、IL-6 水平的影响 与正常组比较,模型组小鼠血清 APN、NO 水平降低 ($P<0.01$),ET-1、IL-1β、IL-6 水平升高 ($P<0.01$);与模型组比较,APN 组和温胆汤各剂量组小鼠血清 APN、NO 水平升高 ($P<0.01$),ET-1、IL-1β、IL-6 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$),见表 4。

3.6 温胆汤对 AS 小鼠主动脉组织 APN、MCP-1 蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组小鼠主动脉组织 APN 表达降低 ($P<0.01$),MCP-1 蛋白表达升高 ($P<0.01$);与模型组比较,APN 组和温胆汤中、高剂量组小鼠主动脉组织 APN 表达升高 ($P<0.01$),APN 组和温胆汤各剂量组小鼠主动脉组织 MCP-1 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$),见图 4、表 6。



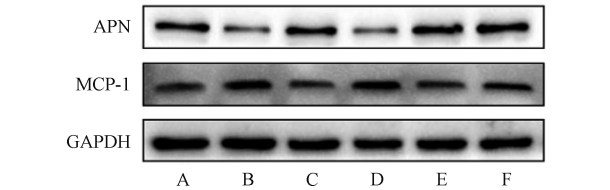
注：蓝色表示细胞核染色（DAPI），红色表示成熟巨噬细胞的标记物 F4/80，绿色表示 M1 型巨噬细胞的特异性标记物 CD86，黄色荧光表示 F4/80+CD86 阳性的 M1 型巨噬细胞。

图 3 各组小鼠主动脉血管免疫荧光染色

表 5 各组小鼠主动脉血管 F4/80+CD86 染色强度比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	(F4/80+CD86) 荧光强度
正常组	1.93±0.16
模型组	8.73±0.73**
APN 组	2.54±0.61##
温胆汤低剂量组	7.47±0.62
温胆汤中剂量组	5.82±0.58##
温胆汤高剂量组	3.47±0.39##

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



注：A 为正常组，B 为模型组，C 为 APN 组，D~F 分别为温胆汤低、中、高剂量组。

图 4 各组小鼠主动脉 APN、MCP-1 蛋白条带

表 6 各组小鼠主动脉组织 APN、MCP-1 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	APN/GAPDH	MCP-1/GAPDH
正常组	0.58±0.07	0.17±0.02
模型组	0.28±0.05**	0.60±0.03
APN 组	0.53±0.03##	0.27±0.05##
温胆汤低剂量组	0.31±0.06	0.53±0.04#
温胆汤中剂量组	0.45±0.02##	0.42±0.04##
温胆汤高剂量组	0.48±0.02##	0.34±0.03##

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

3.7 温胆汤对 AS 小鼠主动脉组织 APN、MCP-1 mRNA 表达的影响 与正常组比较，模型组小鼠主动脉组织 APN mRNA 表达降低 ($P<0.01$)，MCP-1 mRNA 表达升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，APN 组和温胆汤各剂量组小鼠主动脉组织 APN mRNA 表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)，MCP-1 mRNA 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，见表 7。

4 讨论

APN 具有抗 AS 的作用^[11-12]，它与血脂代谢紧密相

表 7 各组小鼠主动脉组织 APN、MCP-1 mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	APN	MCP-1
正常组	1.03±0.09	1.04±0.11
模型组	0.40±0.07**	4.79±0.47**
APN 组	0.82±0.04##	2.26±0.21##
温胆汤低剂量组	0.49±0.06#	3.92±0.47#
温胆汤中剂量组	0.68±0.08##	2.97±0.35##
温胆汤高剂量组	0.70±0.06##	2.61±0.21##

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

关。研究表明，血浆 APN 水平与 TG、LDL 水平呈负相关，与 HDL 水平呈正相关^[13]；APN 可通过活化单磷酸腺苷激活的蛋白激酶 [adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK] 影响乙酰辅酶 A 羧化酶 (acetyl CoA carboxylase, ACC)、脂肪酸转运限速酶肉碱棕榈基转移酶 1 (carnitine palmitoyl transferase I, CPT-1) 表达，增加脂肪酸氧化，从而降低血脂水平，改善脂质代谢紊乱^[14]。本研究结果显示，ApoE^{-/-}模型小鼠主动脉斑块面积增加，血清 APN、HDL-C 水平降低，TC、TG、LDL-C 水平升高；APN 干预后，ApoE^{-/-}小鼠斑块面积减少，血清 TC、TG、LDL-C 水平降低，HDL-C 水平升高，表明 APN 具有调节血脂、抑制 AS 的作用，而温胆汤干预后，ApoE^{-/-}小鼠主动脉斑块面积减少，血清 TC、TG、LDL-C 水平降低，血清 APN 升高，提示该方调节血脂、抗 AS 的作用可能与其上调 APN 表达相关。

血管内皮功能障碍是 AS 的早期病理表现^[15]，NO 生物利用度降低、血管舒张功能下降是内皮功能障碍的显著特点之一^[16]。NO 是由内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 合成分泌，具有抑制 VSMCs 增殖、白细胞粘附、改善血管内皮功能等多种抗 AS 作用。APN 可以改善血管内皮功能，促进内皮依赖性的血管舒张，它与其受体 1 和受体 2 相结合后通过增加 AMPK 介导的 eNOS 磷酸化水平，提高 eNOS 活性，促进 NO 分泌^[17]。本研究结果显示，ApoE^{-/-}模型小鼠血清 NO 水平降低，ET-1 水平增加；APN 干预后，血清 NO 水平提高，ET-1 水平降低，而温胆汤干预后，ApoE^{-/-}小鼠血清 APN、NO 水平升高，ET-1 水平降低，表明该方能够提高 NO 水平促进血管舒张，降低 ET-1 水平抑制血管收缩，其改善血管内皮功能可能与上调 APN 水平相关。

AS 是一种慢性炎症性疾病，巨噬细胞聚集和极化在炎症反应过程中扮演着十分重要的角色^[18]，它主要分为 2 种表型^[19]，即 M1 型和 M2 型，M1 型极化表现出促炎特性；M2 型则表现出抗炎特性。研究证实，AS 斑块中 M1 型巨噬细胞通过其促进炎症反应增加斑块脆弱性，而 M2 型巨噬细胞可能通过一系列修复和抑制炎症功能有利于斑块稳定和消退^[20]，因此，抑制巨噬细胞 M1 型极化，有利于抑制炎症反应防治 AS。研究表明，APN 可通过抑制巨噬细胞分化、促进巨噬细胞促炎表型向抗炎表型转化、降低 toll 样受

体 4 的表达来减轻炎症反应^[21]。动物实验显示, APN 通过抑制 NF-κB 信号通路, 增加抗炎因子 eNOS、IL-10 表达, 下调 TNF-α、IL-6 表达, 改善 ApoE^{-/-}小鼠炎症反应, 延缓 AS 进展^[22]。本研究发现, ApoE^{-/-}小鼠 APN 水平降低, 血清 IL-1β、IL-6 水平升高, 主动脉血管 M1 型巨噬细胞表达量增加, MCP-1 蛋白和 mRNA 表达也增加; APN 干预后, 血清 IL-1β、IL-6 水平下降, M1 型巨噬细胞表达减少, MCP-1 的蛋白和基因表达下降, 表明 APN 有抑制炎症的作用, 而温胆汤干预后, ApoE^{-/-}小鼠炎症指标下降, APN 表达上调, 表明该方抑制炎症反应的作用机制可能与其上调 APN 相关。

综上所述, 温胆汤可通过调节脂质代谢、改善血管内皮功能、抑制炎症发挥抗 AS 的作用, 其作用机制可能与其上调 APN 有关。课题组将在后续研究中通过基因敲除或过表达 APN 来进一步明确上述机制, 以期为 AS 临床治疗提供新的靶点。

参考文献:

[1] Roth G A, Johnson C, Abajobir A, *et al.* Global, regional, and national burden of cardiovascular diseases for 10 causes, 1990 to 2015[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2017, 70(1): 1-25.

[2] Wang Z, Ma L, Liu M, *et al.* Summary of the 2022 report on cardiovascular health and diseases in China[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2023, 136(24): 2899-2908.

[3] Zhong S, Li L, Shen X, *et al.* An update on lipid oxidation and inflammation in cardiovascular diseases[J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 144: 266-278.

[4] Björkegren J L M, Lusis A J. Atherosclerosis: recent developments[J]. *Cell*, 2022, 185(10): 1630-1645.

[5] Kim S M, Huh J W, Kim E Y, *et al.* Endothelial dysfunction induces atherosclerosis; increased aggrecan expression promotes apoptosis in vascular smooth muscle cells[J]. *BMB Rep*, 2019, 52(2): 145-150.

[6] Qi X Y, Qu S L, Xiong W H, *et al.* Perivascular adipose tissue (PVAT) in atherosclerosis: a double-edged sword[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2018, 17(1): 134-154.

[7] Fang H, Judd R L. Adiponectin regulation and function[J]. *Compr Physiol*, 2018, 8(3): 1031-1063.

[8] 安冬青, 吴宗贵. 动脉粥样硬化中西医结合诊疗专家共识[J]. *中国全科医学*, 2017, 20(5): 507-511.

[9] 赵志珩, 张明雪, 邹宏, 等. 温胆汤加减方治疗冠心病 Meta 分析[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2018, 20(4): 97-103.

[10] 何俊明, 傅梦薇, 何浩强, 等. 黄连温胆汤加减方治疗冠心病稳定型心绞痛随机对照试验的系统分析[J]. *世界中西医结合杂志*, 2020, 15(9): 1623-1629.

[11] Liu L, Shi Z, Ji X, *et al.* Adipokines, adiposity, and atherosclerosis[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(5): 272-290.

[12] Esmaili S, Hemmati M, Karamian M. Physiological role of adiponectin in different tissues: a review[J]. *Arch Physiol Biochem*, 2020, 126(1): 67-73.

[13] Meeks K A C, Bentley A R, Doumatey A P. *et al.* Mendelian randomization study reveals a causal relationship between adiponectin and LDL cholesterol in Africans[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 18955-18966.

[14] Gan L, Yan J, Liu Z, *et al.* Adiponectin prevents reduction of lipid-induced mitochondrial biogenesis via AMPK/ACC2 pathway in chicken adipocyte[J]. *J Cell Biochem*, 2015, 116(6): 1090-1100.

[15] Vanhoutte P M, Shimokawa H, Feletou M, *et al.* Endothelial dysfunction and vascular disease—a 30th anniversary update[J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2017, 219(1): 22-96.

[16] Gimbrone M A Jr, García-Cardena G. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis[J]. *Circ Res*, 2016, 118(4): 620-636.

[17] Lu Y, Gao X, Wang R, *et al.* Adiponectin inhibits proliferation of vascular endothelial cells induced by Ox-LDL by promoting dephosphorylation of Caveolin-1 and depolymerization of eNOS and up-regulating release of NO[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 73: 424-434.

[18] Hou P, Fang J, Liu Z, *et al.* Macrophage polarization and metabolism in atherosclerosis[J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(10): 691-705.

[19] Vassiliou E, Farias-Pereira R. Impact of lipid metabolism on macrophage polarization: implications for inflammation and tumor immunity[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(15): 12032.

[20] Li H, Cao Z, Wang L, *et al.* Macrophage subsets and death are responsible for atherosclerotic plaque formation[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 843712.

[21] Zhang Z, Guo L, Yang F, *et al.* Adiponectin attenuates splenectomy-induced cognitive deficits by neuroinflammation and oxidative stress via TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathway in aged rats[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2023, 14(10): 1799-1809.

[22] Wang X, Chen Q, Pu H, *et al.* Adiponectin improves NF-κB-mediated inflammation and abates atherosclerosis progression in apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Lipids Health Dis*, 2016, 15(33): 1-14.