

基于TRPV1调控内皮细胞炎症反应探讨人参汤 治疗AS小鼠的作用机制

褚策¹, 袁雨露¹, 杨桢², 陶旭光¹, 陈香云², 何湛湛³, 张雨欣¹,
许咏琪¹, 陈婉平¹, 赵培彰⁴, 汪文来^{1*}, 赵红霞^{1*}

(1. 中国中医科学院中医基础理论研究所, 北京 100100; 2. 北京中医药大学, 北京 100029;
3. 兰溪市中医院, 浙江 金华 321100; 4. 四川大学华西临床医学院, 成都 610041)

[摘要] 目的: 基于瞬时受体电位香草酸受体亚型1(TRPV1)调控内皮细胞炎症反应探讨人参汤治疗动脉粥样硬化(AS)小鼠的作用机制。方法: 采用高脂饲料在载脂蛋白E敲除(ApoE^{-/-})小鼠上建立AS模型, 随机分为辛伐他汀组(0.02 g·kg⁻¹·d⁻¹)与人参汤低、中、高剂量组(剂量分别为1.77、3.54、7.08 g·kg⁻¹·d⁻¹), ApoE^{-/-}小鼠喂食高脂饲料同时给药, 每组12只; C57BL/6J小鼠作为正常组喂食普通饲料, 共9只。连续给药12周, 麻醉后取小鼠主动脉。大体油红O观察主动脉脂质斑块情况; 苏木素-伊红(HE)染色法观察主动脉根部病理变化; 免疫组化法分析小鼠主动脉根部促炎因子肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-1β(IL-1β)水平及TRPV1、磷酸化-磷脂酰肌醇3-激酶(p-PI3K)、磷酸化-蛋白激酶B(p-Akt)的表达水平; 实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测小鼠主动脉内皮型一氧化氮合酶(eNOS) mRNA的表达水平; 蛋白免疫印迹法检测TRPV1表达水平。结果: 与正常组比较, 模型组主动脉斑块显著增加(P<0.01), 主动脉根部TNF-α、IL-1β水平均显著升高(P<0.01)。TRPV1、p-PI3K、p-Akt表达水平降低(P<0.05, P<0.01), eNOS mRNA的表达水平降低(P<0.05, P<0.01)。与模型组比较, 人参汤各剂量组均可显著减少主动脉斑块(P<0.01), 显著降低TNF-α、IL-1β水平(P<0.01), TRPV1、p-PI3K、p-Akt、eNOS mRNA的表达水平明显增加(P<0.05, P<0.01)。结论: 人参汤通过提高TRPV1蛋白的表达水平, 上调PI3K/Akt/eNOS信号通路从而抑制内皮细胞炎症, 抑制AS的形成, 可能是其治疗AS的分子机制之一。

[关键词] 人参汤; 动脉粥样硬化; 瞬时受体电位香草醛亚家族1; 内皮细胞; 炎症

[中图分类号] R289; R259; R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)06-0046-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20252201

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20250929.2029.003>

[网络出版日期] 2025-09-30 09:47:35



Mechanisms of Renshentang in Treating AS via Regulation of Endothelial Cell Inflammation Based on TRPV1

CHU Ce¹, YUAN Yulu¹, YANG Zhen², TAO Xuguang¹, CHEN Xiangyun², HE Zhanzhan³,
ZHANG Yuxin¹, XU Yongqi¹, CHEN Wanping¹, ZHAO Peizhang⁴, WANG Wenlai^{1*}, ZHAO Hongxia^{1*}
(1. Institute of Basic Theory for Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing
100700, China; 2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;
3. Lanxi Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jinhua 321100, China;
4. West China School of Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

[收稿日期] 2025-07-04

[基金项目] 中国中医科学院科技创新工程黑地黄丸重大攻关项目(CI2021A00606); 中国中医科学院自主选项目(YZX202237, YZX202241, YZX202246, YZ2020042, YZ202225, YZ2020019, YZX-202414); 北京市中医药科技发展基金项目(JJ2018-99)

[第一作者] 褚策, 在读硕士, 从事经典名方现代理论诠释和热敏通道相关理论研究, E-mail: luckyc2022@163.com

[通信作者] * 赵红霞, 研究员, 硕士生导师, 从事经典名方中医理论现代研究与诠释、热敏通道理论及相关机制研究, E-mail: zhao-hongxia7000@163.com;

* 汪文来, 研究员, 从事热敏通道理论及相关机制研究、中医药防治骨质疏松症等疑难杂病作用机制研究, E-mail: wagnwenlai666@163.com

[Abstract] Objective: To investigate the mechanisms by which Renshentang treats atherosclerosis (AS) in mice, focusing on the regulation of endothelial inflammatory responses mediated by transient receptor potential vanilloid subtype 1 (TRPV1). **Methods:** An AS model was established in apolipoprotein E knockout (ApoE^{-/-}) mice fed a high-fat diet. The mice were randomly divided into a simvastatin group (0.02 g·kg⁻¹·d⁻¹) and low-, medium-, and high-dose Renshentang groups (1.77, 3.54, 7.08 g·kg⁻¹·d⁻¹), with 12 mice in each group. ApoE^{-/-} mice were fed a high-fat diet and treated simultaneously. C57BL/6J mice fed a normal diet served as the normal group (n=9). After continuous administration for 12 weeks, mice were anesthetized and the aortas were collected. Oil Red O staining was used to observe lipid plaque formation in the aorta. Hematoxylin-eosin (HE) staining was performed to examine pathological changes in the aortic root. Immunohistochemistry was used to analyze the levels of pro-inflammatory factors tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β), as well as the expression of TRPV1, phosphorylated phosphoinositide 3-kinase (p-PI3K), and phosphorylated protein kinase B (p-Akt) in the aortic root. Real-time quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR) was used to detect endothelial nitric oxide synthase (eNOS) mRNA expression in the aorta, and Western blot was used to detect TRPV1 protein expression. **Results:** Compared with the normal group, the model group showed a significant increase in aortic plaque formation ($P<0.01$) and significantly elevated levels of TNF- α and IL-1 β in the aortic root ($P<0.01$). The expression levels of TRPV1, p-PI3K, and p-Akt were decreased ($P<0.05$, $P<0.01$), and eNOS mRNA expression was reduced ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the model group, all Renshentang groups significantly reduced aortic plaque formation ($P<0.01$), significantly decreased TNF- α and IL-1 β levels ($P<0.01$), and markedly increased the expression levels of TRPV1, p-PI3K, p-Akt, and eNOS mRNA ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion:** Renshentang may inhibit endothelial inflammation and suppress the formation of AS by increasing TRPV1 protein expression and up-regulating the PI3K/Akt/eNOS signaling pathway, which may be one of the molecular mechanisms underlying its therapeutic effect against AS.

[Keywords] Renshentang; atherosclerosis; transient receptor potential vanilloid subtype 1; endothelial cells; inflammation

心血管疾病(CVD)是一类严重危害人类健康和生命的重大疾病,世界范围内每年约1 670万人死于CVD,占全球死亡率第一位^[1]。动脉粥样硬化(AS)是CVD发生发展的重要病理基础,防治AS对减少心血管事件的发生率和死亡率具有重要意义。西医学治疗AS主要依靠降脂、抗血小板、抗凝等途径,存在不良反应及局限性^[2]。AS本质上是一种慢性炎症性疾病,炎症反应贯穿于AS发生发展的各个环节^[3]。内皮细胞作为血管屏障和炎症反应的关键参与者,其激活和损伤是AS的始动环节^[4]。氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)等刺激物可激活血管内皮细胞,使其释放大量肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-1 β 等促炎性细胞因子和趋化因子;同时,炎症因子可加速血管平滑肌细胞增殖与迁移,导致斑块不稳定及破裂,最终诱发急性心血管事件^[5]。因此,抑制血管内皮细胞过度炎症反应是防治AS的关键靶点。有研究表明,通过激活磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)/内皮型一氧化氮合酶(eNOS)信号通路可以促进生理性一氧化氮(NO)释放,进而调控AS血管的炎症反应、衰老进程等多种生理过程^[6-7]。NO具有强大的血管舒张、抗血小板聚集、抑制白细胞黏附和抗平滑肌增殖作用,是维持内皮稳态和抑制血管炎症的关键分子^[8]。因此,调控PI3K/Akt/eNOS通路改善内皮功能、抑制炎症是治疗AS潜在的干预途径。瞬时受体电位香草酸受体亚型1(TRPV1)作为一种非选择性阳离子通道,最初是作为辣椒素受体被发现的,可在热刺

激温度>43℃条件下激活^[9]。TRPV1在血管内皮细胞中表达,其激活被认为具有内皮保护作用^[9]。研究表明,TRPV1激动剂能增加细胞内钙离子(Ca²⁺)浓度,进而激活钙调蛋白依赖性通路,与PI3K和Akt的磷酸化激活相关^[10]。

中医学根据AS临床症状,将其归为“胸痹”的治疗范畴。人参汤出自《金匮要略·胸痹心痛短气》,由人参、干姜、白术、甘草组成。方中辛热的干姜为TRPV1的激动剂,而人参可通过延长TRPV1达到脱敏的时间增加姜的温热效应^[11]。课题组前期研究表明,人参汤能显著降低AS模型小鼠总胆固醇、甘油三酯及低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平^[12]。有学者通过网络药理学及分子对接技术,发现人参汤治疗冠心病作用与炎症调节密切相关^[13],但目前尚未见相关实验验证的研究报道。因此,本研究从抗炎角度,观察人参汤治疗AS小鼠的药效,并进一步研究该方是否可通过TRPV1调控PI3K/Akt/eNOS的表达减轻内皮炎症反应,以期为临床应用该方治疗AS提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 C57BL/6小鼠9只,载脂蛋白E敲除(ApoE^{-/-})小鼠造模60只,8周龄,体质量18~20 g, SPF级,雄性,所有动物均购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,合格证号SCXK(京)2019-0010。动物饲养于中国中医科学院中医基础理论研究所清洁级动物房,许可证号SYXK(京)2021-0017。

1.2 伦理 本实验已获得中国中医科学院中医基

础理论研究实验动物伦理委员会批准(批准文号IBTCMCACMS21-2310-04)。

1.3 药物 使用蒸馏水配制人参汤颗粒混悬液。免煎颗粒购自北京康仁堂有限公司(批号分别为21038692、21025471、21030471、21021851, 检验编号分别为C21110168、C2108868、C2110222、C2107836)。人参、甘草、干姜、白术各三两,各药物饮片用量参考相关文献按东汉时期剂量使用,即一两为13.92 g^[14]。按照体表面积法以小鼠20 g与人70 kg进行换算(换算系数9.1),小鼠等效剂量为21.72 g·kg⁻¹·d⁻¹。人参、甘草、干姜、白术饮片与颗粒的换算比分别为5:1、5:1、20:1、5:1,小鼠颗粒剂等效剂量为3.54 g·kg⁻¹·d⁻¹,将其作为人参汤中剂量。人参汤高剂量与低剂量分别为人参汤中剂量的2倍与0.5倍,即7.08 g·kg⁻¹·d⁻¹与1.77 g·kg⁻¹·d⁻¹。辛伐他汀组(杭州默沙东制药有限公司,批号U024517),按照成人等效剂量系数折算法计算给药剂量为0.02 g·kg⁻¹·d⁻¹,使用蒸馏水配制成混悬液,4℃保存备用。

1.4 试剂 蛋白定量法(BCA)试剂盒、蛋白酶抑制剂混合物、高效放射免疫沉淀法(RIPA)组织/细胞裂解液、膜再生液(北京索莱宝科技有限公司,货号分别为PC0020、P1261、R0010、SW3022);中性树胶、无水乙醇、二甲苯、正丁醇、异丙醇、三氯甲烷(国药集团化学试剂有限公司,货号分别为10004160、100092683、10023418、100052190、80109218、10006818);环保型脱蜡液、通用型组织固定液、油红O染液、苏木素染液、苏木素-伊红(HE)染色法高清恒染试剂盒、封闭液(武汉赛维尔科技有限公司,货号分别为G1128、G1101、G1015、G1004、G1076、G2052);兔单克隆抗体TRPV1(英国Abcam公司,货号ab305299);兔多克隆抗体TRPV1(美国Novus Biologicals公司,货号NBP1-97417);兔多克隆抗体磷酸化(p)-PI3K、兔多克隆抗体IL-1 β 、RevertAid First Strand cDNA合成试剂盒(美国Thermo Fisher公司,货号分别为PA5-104853、16806-1-ap、#K1622);鼠单克隆抗体p-Akt(武汉三鹰生物技术有限公司,货号66444-1-ig);兔多克隆抗体TNF- α (武汉博士德生物工程有限公司,货号BA0131);二抗辣根过氧化物酶(HRP)标记山羊抗小鼠(美国SeraCare公司,货号5220-0341); β -肌动蛋白(β -actin,美国CST公司,货号4970S);发光液(苏州新赛美生物科技有限公司,货号P10300);TBST(上海碧云天生物科技有限公司,货号ST673)。

1.5 仪器 Synergy型全自动酶标仪(美国BioTek公司);3K15型高速冷冻离心机(美国Sigma公司);Tissuelyser-24L型多样品组织研磨仪(上海净信实业发展有限公司);RM2016型病理切片仪(上海徕卡仪器有限公司);KD-P型组织摊片机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司);JB-P5型包埋机(武汉俊杰电子有限公司);PannoramicSCAN型扫描仪(匈牙利3DHISTECH公司);E100型显微镜(尼康仪器有限公司);PowerPac™HC高电流电泳仪电源、ChemIDocVRS+型凝胶成像仪(美国Bio-Rad公司);BeyoShaker™数字式翘板摇床(上海碧云天生物科技有限公司);Quantagene q225型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪(北京酷搏科技有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药 C57BL/6J及ApoE^{-/-}小鼠适应性喂养3 d后,称量体质量。将ApoE^{-/-}小鼠根据其质量按照随机区组分组方法分为模型组,辛伐他汀组,人参汤高、中、低剂量组,每组12只,普通饲料换为高脂饲料(1%胆固醇、10%猪油、10%蛋黄粉、79%基础饲料^[15]),饲料购自北京斯贝福科技有限公司);C57BL/6J小鼠为正常组,共9只,喂食普通饲料。正常组与模型组给予等体积蒸馏水,人参汤低、中、高剂量组给药剂量分别为1.77、3.54、7.08 g·kg⁻¹·d⁻¹,辛伐他汀组0.02 g·kg⁻¹·d⁻¹,灌胃给药,每天给药1次,1周给药6次,连续给药12周。室温20~24℃,湿度60%~65%,12 h昼夜循环,各组动物自由饮水。

2.2 小鼠大体油红O染色 每组各取3个样本,将充分固定后的主动脉从固定液中取出,使用磷酸盐缓冲液(PBS)清洗液将表面残留的固定液清洗干净,将主动脉竖向剖开,内面朝上,将其放置于载玻片上,然后将载玻片放至培养皿中。配置油红O工作液,浸染主动脉10 min,加盖避光。取出切片,浸入异丙醇分化2次,浸入纯水中浸洗10 s。用吸水纸擦干水分,置于黑色台面上拍照。

2.3 小鼠主动脉根部HE染色 每组各取6个样本,将靠近心脏部分主动脉充分固定后的主动脉从固定液中取出。使用PBS清洗干净,石蜡包埋,切片,选取主动脉根部三尖瓣瓣膜出现的位置,将组织展平,烤片。用苏木素染液染3~5 min,伊红染液中染色15 s,脱水、中性树胶封片,显微镜镜检。图像使用Image J软件分析主动脉斑块面积占比,手动勾勒内膜斑块边界和血管外弹力板边界,计算斑块

面积占比。

2.4 免疫组化法观察小鼠主动脉根部 TRPV1、p-PI3K、p-Akt、TNF- α 、IL-1 β 蛋白表达情况 取 2.3 项制备的石蜡切片, 每组各取 6 个样本, 进行石蜡切片脱蜡至水, 抗原修复。封闭, 加入一抗 TRPV1、p-PI3K、p-Akt、TNF- α 、IL-1 β (1: 200), 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。摇床上晃动洗涤 3 次, 每次 5 min, 加入二抗 HRP 标记山羊抗小鼠 (1: 500), 避光室温孵育 50 min, 二氨基联苯胺 (DAB) 显色及复染细胞核, 最后脱水封片, 镜下观察并采集图像。图像使用 Image J 软件分析其阳性染色相对面积。

2.5 Real-time PCR 检测小鼠主动脉 eNOS mRNA 水平 每组各取 6 个样本, 从小鼠主动脉组织中提取总 RNA 抽提, 并以微量分光光度计测量总 RNA 浓度及纯度。反转录, 逆转录, PCR 扩增。反应条件 95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s, 95 $^{\circ}$ C 变性 15 s, 60 $^{\circ}$ C 退火/延伸 30 s, 循环 40 次。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行相对定量分析, 引物由北京天一辉远生物科技有限公司合成提供, 引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
eNOS	上游 CTGCCACCTGATCCTAACTTGC	110
	下游 AGCCCTTTGATCTCAATGTCGT	
GAPDH	上游 CCTCGTCCCGTAGACAAAATG	133
	下游 TGAGGTCAATGAAGGGGTCGT	

2.6 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测小鼠主动脉组织 TRPV1 的表达量 每组各取 6 个样本, 提取组织。BCA 法检测蛋白浓度。调平蛋白浓度。经电泳、电转膜、快速封闭后, 依次孵育 TRPV1 (1: 1 000)、 β -actin (1: 1 000)、HRP 二抗 (1: 2 000)。

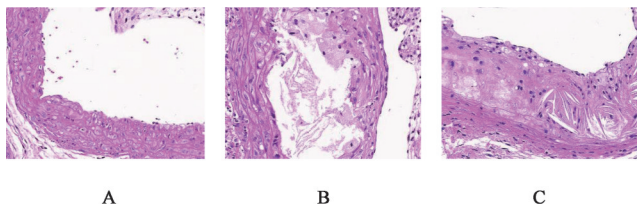


图 2 人参汤对 AS 小鼠主动脉根部病理变化的影响 (HE, $\times 400$)

Fig. 2 Effect of Renshentang on pathological changes of aortic root in AS mice (HE, $\times 400$)

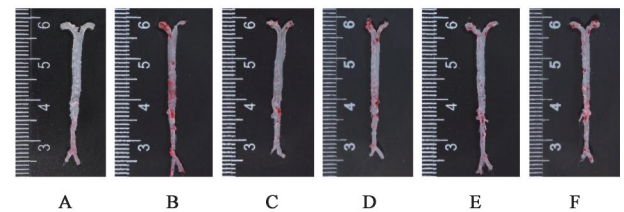
3.3 人参汤对小鼠主动脉根部炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 表达水平的影响 正常组小鼠主动脉根部分布少量 TNF- α 、IL-1 β 棕色阳性颗粒。与正常组比较, 模型组小鼠主动脉内、外层均有大量的 TNF- α 、

配 ECL 发光液于曝光机中曝光, 显影后使用 Image J 软件分析条带灰度值。

2.7 统计学方法 使用 IBM SPSS Statistics 26 统计软件进行分析, 计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 先对数据进行正态检验及方差齐性检验, 若数据符合正态分布, 采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 进行多组间比较, 方差齐时采用最小显著性差异法 (LSD) 检验, 事后检验两两比较; 方差不齐时采用 Dunnett T3, 若数据不满足正态、方差齐性时, 用非参数秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 人参汤对 AS 小鼠主动脉斑块的影响 与正常组比较, 模型组小鼠主动脉有大量脂质沉积, 斑块显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 辛伐他汀组和人参汤各个剂量组的斑块均显著降低 ($P < 0.01$), 其中以人参汤高剂量组的斑块降低最佳。见图 1、表 2。

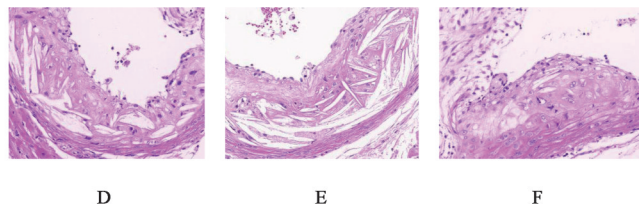


注: A. 正常组; B. 模型组; C. 辛伐他汀组; D. 人参汤低剂量组; E. 人参汤中剂量组; F. 人参汤高剂量组 (图 2-图 8 同)

图 1 人参汤对 AS 小鼠主动脉斑块的影响 (油红 O)

Fig. 1 Effect of Renshentang on aortic plaque in mice with AS (oil red O)

3.2 人参汤对 AS 小鼠主动脉根部病理变化的影响 主动脉根部 HE 染色结果显示, 与正常组比较, 模型组小鼠的主动脉斑块占比显著增多 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 辛伐他汀组和人参汤不同剂量斑块占比均显著降低 ($P < 0.01$), 以人参汤高剂量组效果最佳。见图 2、表 2。



IL-1 β 蛋白阳性表达。各给药组棕色颗粒明显减少, 其中以内皮细胞处改善显著。与正常组比较, 模型组小鼠主动脉根部斑块炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 显著增多 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组 TNF- α 、

表2 人参汤对AS小鼠主动脉根部斑块形成的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 2 Effect of Renshentang on formation of aortic root plaque in AS mice ($\bar{x}\pm s, n=3$) %

组别	剂量/g·kg ⁻¹	大体油红O染色	HE染色
正常组		2.56±0.69	0.57±0.14
模型组		15.51±3.65 ²⁾	36.03±2.78 ²⁾
辛伐他汀组	0.02	9.80±3.20 ⁴⁾	19.09±2.34 ⁴⁾
人参汤低剂量组	1.77	10.40±2.47 ⁴⁾	27.31±1.53 ⁴⁾
人参汤中剂量组	3.54	10.33±1.95 ⁴⁾	27.22±1.76 ⁴⁾
人参汤高剂量组	7.08	9.87±2.54 ⁴⁾	24.09±1.38 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与模型组比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ (表3-表6同)

IL-1 β 明显降低,差异有统计学意义($P<0.05, P<0.01$)。其中,人参汤各剂量组之间以人参汤中剂量降低TNF- α 、IL-1 β 表达的效果最佳。见表3、图3、图4。

3.4 人参汤对小鼠主动脉根部TRPV1、p-PI3K、p-Akt变化的影响 与正常组比较,模型组小鼠TRPV1、p-PI3K、p-Akt蛋白阳性表达较少;与模型

表3 人参汤对AS小鼠主动脉根部TNF- α 、IL-1 β 表达的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 3 Effect of Shenshentang on expression of TNF- α and IL-1 β in aortic root of AS mice ($\bar{x}\pm s, n=6$) %

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TNF- α	IL-1 β
正常组		4.65±1.38	2.13±1.35
模型组		18.72±6.67 ²⁾	11.55±2.87 ²⁾
辛伐他汀组	0.02	9.12±3.33 ⁴⁾	7.51±1.11 ⁴⁾
人参汤低剂量组	1.77	12.94±4.07 ³⁾	8.77±2.09 ³⁾
人参汤中剂量组	3.54	10.35±3.23 ⁴⁾	5.79±1.20 ⁴⁾
人参汤高剂量组	7.08	11.13±2.01 ⁴⁾	6.69±1.81 ⁴⁾

组比较,各给药组阳性表达均明显增多,以内皮细胞处阳性表达增多明显。与正常组比较,模型组小鼠主动脉根部TRPV1、p-PI3K、p-Akt表达量显著降低($P<0.01$);与模型组比较,人参汤低剂量组p-Akt的表达量有一定的上升趋势,但差异无统计学意义,其余各给药组TRPV1、p-PI3K、p-Akt的表达量均明显升高($P<0.05, P<0.01$)。见图5-图7、表4。

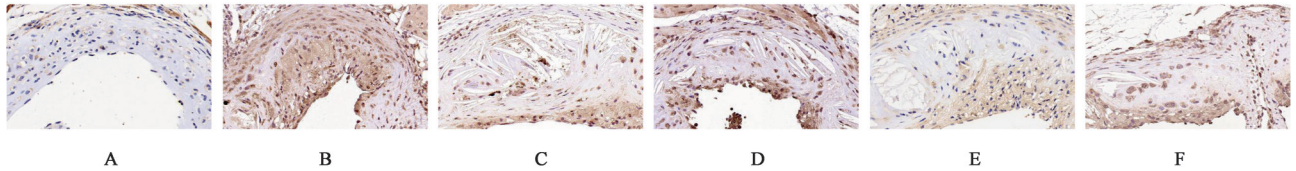


图3 人参汤对AS小鼠主动脉根部TNF- α 表达情况的影响(免疫组化,×400)

Fig. 3 Effect of Renshentang on expression of TNF- α in aortic root of AS mice (IHC, ×400)

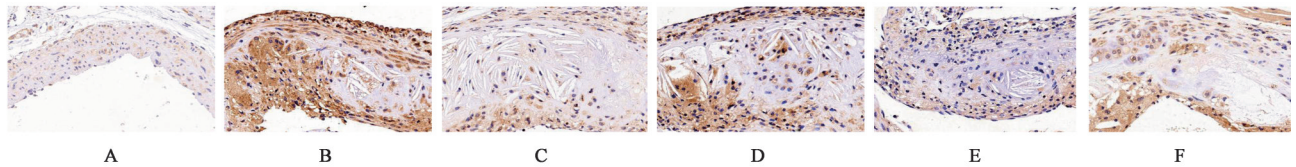


图4 人参汤对AS小鼠主动脉根部IL-1 β 表达的影响(免疫组化,×400)

Fig. 4 Effect of Renshentang on expression of IL-1 β in aortic root of AS mice (IHC, ×400)

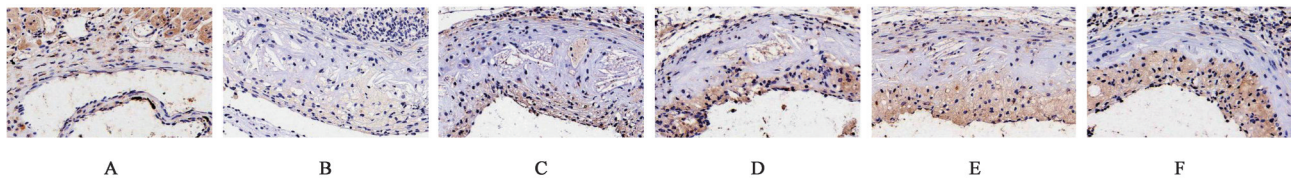


图5 人参汤对AS小鼠主动脉根部TRPV1情况的影响(免疫组化,×400)

Fig. 5 Effect of Renshentang on TRPV1 expression in aortic root of AS mice (IHC, ×400)

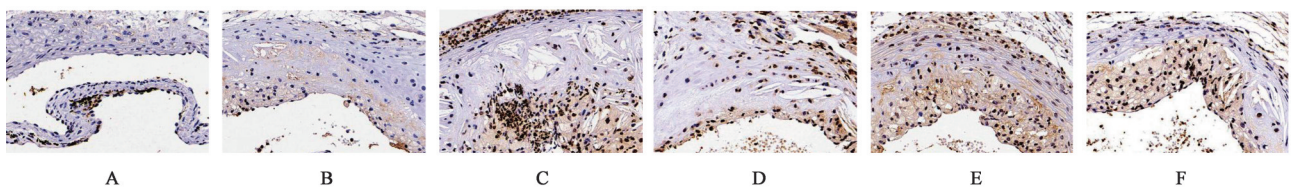


图6 人参汤对AS小鼠主动脉根部p-PI3K表达的影响(免疫组化,×400)

Fig. 6 Effect of Renshentang on p-PI3K expression in aortic root of AS mice (IHC, ×400)

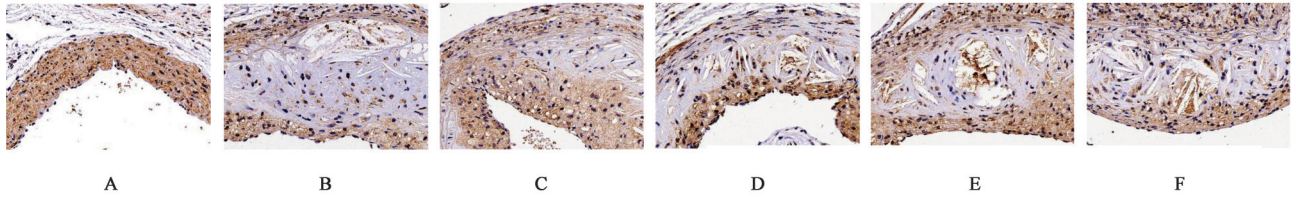


图7 人参汤对AS小鼠主动脉根部p-Akt表达的影响(免疫组化, ×400)

Fig. 7 Effect of Renshentang on p-Akt expression in aortic root of AS mice (IHC, ×400)

表4 人参汤对AS小鼠主动脉根部TRPV1、p-PI3K、p-Akt表达情况的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 4 Effect of Shentang on expression of TRPV1, p-PI3K and p-Akt in aortic root of AS mice ($\bar{x} \pm s, n=6$) %

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TRPV1	p-PI3K	p-Akt
正常组		19.55±3.56	9.57±2.56	23.83±2.69
模型组		13.01±2.64 ²⁾	4.26±2.14 ²⁾	7.73±1.46 ²⁾
辛伐他汀组	0.02	18.37±4.66 ³⁾	9.18±1.76 ⁴⁾	13.19±2.74 ³⁾
人参汤低剂量组	1.77	18.58±4.94 ³⁾	7.38±3.12 ³⁾	11.13±3.55
人参汤中剂量组	3.54	19.34±3.22 ³⁾	8.77±1.00 ⁴⁾	12.69±3.75 ³⁾
人参汤高剂量组	7.08	18.92±4.94 ³⁾	8.08±2.48 ⁴⁾	13.23±4.38 ⁴⁾

3.5 人参汤对小鼠主动脉组织eNOS mRNA表达水平的影响 与正常组比较,模型组小鼠主动脉组织eNOS mRNA表达量显著降低($P<0.01$);与模型组比较,辛伐他汀组、人参汤各剂量组小鼠主动脉组织eNOS mRNA表达量明显升高($P<0.05$, $P<0.01$),趋势上以人参汤高剂量组eNOS mRNA表达最好。见表5。

表5 人参汤对小鼠主动脉eNOS mRNA表达的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 5 Effect of Renshentang on eNOS mRNA expression in mouse aorta ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	eNOS
正常组		1.02±0.24
模型组		0.59±0.27 ²⁾
辛伐他汀组	0.02	1.22±0.33 ⁴⁾
人参汤低剂量组	1.77	0.96±0.21 ³⁾
人参汤中剂量组	3.54	1.01±0.23 ³⁾
人参汤高剂量组	7.08	1.02±0.27 ⁴⁾

3.6 人参汤对小鼠主动脉组织TRPV1表达水平的影响 与正常组比较,模型组小鼠主动脉TRPV1表达量降低($P<0.01$);与模型组比较,人参汤各剂量组TRPV1的表达量显著升高($P<0.01$),辛伐他汀组TRPV1的表达量有一定的上升趋势,但差异无统计学意义。见图8、表6。

4 讨论

AS属于西医病名,临床上可出现胸痛、心绞痛、眩晕等症状^[16]。中医认为,心脉痹阻,胸阳失旷,而

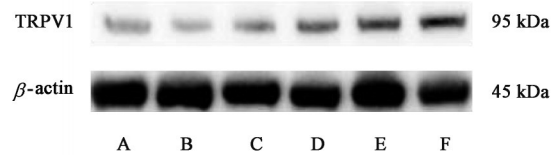


图8 各组小鼠主动脉TRPV1蛋白表达电泳

Fig. 8 Electrophoresis of TRPV1 protein expression in aorta of each group of mice

表6 人参汤对小鼠主动脉TRPV1表达水平的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 6 Effect of Renshentang on expression of TRPV1 protein in mouse aorta ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TRPV1/β-actin
正常组		0.78±0.02
模型组		0.49±0.09 ¹⁾
辛伐他汀组	0.02	0.65±0.13
人参汤低剂量组	1.77	0.96±0.24 ⁴⁾
人参汤中剂量组	3.54	0.96±0.15 ⁴⁾
人参汤高剂量组	7.08	1.03±0.10 ⁴⁾

发胸痹。胸痹临床表现为胸部憋闷疼痛,或突然发病,胸痛剧烈,持续不解^[17]。AS并无专属中医病名,根据其临床症状,可将其归为“胸痹”的治疗范畴。人参汤出自汉代张仲景所著《金匱要略》,原文记载为:“胸痹心中痞,留气结在胸,胸满,胁下逆抢心,枳实薤白桂枝汤主之,人参汤亦主之。”^[18]该方由人参、白术、甘草、干姜组成,是古代治疗胸痹的经典名方。

本研究首先采用大体油红O染色,结果表明模型组小鼠斑块显著增加,提示动脉粥样硬化模型造模成功。HE染色结果显示,人参汤各剂量组能有效降低AS斑块面积,改善血管腔狭窄。现代研究表明,AS是一种慢性炎症性疾病^[19]。氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)会触发血管内皮细胞中促炎性细胞因子和趋化因子表达的增加,导致动脉粥样硬化性炎症^[20]。课题组前期研究表明,人参汤能显著降低AS模型小鼠LDL-C水平^[12]。为进一步研究人参汤对AS小鼠炎症的影响,本研究选取TNF-α和IL-1β作为检测指标,二者为AS炎症级联反应的核心

心介质。其中TNF- α 作为促炎反应的“启动因子”，其可直接损伤血管内皮细胞，增加细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)等血管内皮黏附分子的表达，促进单核细胞黏附和浸润；同时，TNF- α 可诱导巨噬细胞分泌更多炎症因子，形成炎症放大效应^[21]。IL-1 β 由内皮细胞和巨噬细胞分泌，可通过NLRP3炎症小体激活后释放，可直接刺激血管平滑肌细胞增殖并向内膜迁移，参与斑块纤维化及钙化^[22]；同时，IL-1 β 可破坏血管内皮屏障功能，促进ox-LDL渗透和脂质沉积，在AS斑块形成早期即发挥重要作用^[23]。免疫组化染色结果显示，人参汤各剂量组均显著降低AS模型小鼠主动脉根部TNF- α 和IL-1 β 的表达，且在图像定位显示在血管内皮细胞附近降低趋势明显，提示人参汤治疗AS可能与减轻内皮细胞炎症反应相关。

TRPV1在内皮细胞中表达，参与调节血管张力和改善内皮细胞功能^[24-25]。TRPV1激活后，可以调节脂质代谢，保护内皮细胞，抑制平滑肌细胞增殖，并具有抗炎和抗氧化应激作用^[25]，是减轻炎症性疾病的潜在药物靶点^[26]。本研究通过免疫组化与Western blot均证实，AS模型小鼠主动脉TRPV1表达下调，而人参汤干预后能显著恢复其表达，且免疫组化定位显示其表达增加在内皮细胞区域尤为明显。研究表明，TRPV1激活后介导的Ca²⁺内流，可通过激活钙调蛋白及其下游激酶，进而正向调控PI3K/Akt信号通路^[10]。研究结果显示，人参汤在提高TRPV1表达的同时，也显著增加p-PI3K和p-Akt的水平，这与上述机制一致。激活的Akt是PI3K下游的关键信号分子，其重要功能之一是磷酸化激活eNOS^[27]。本研究中，模型组eNOS mRNA表达下降，而人参汤各剂量组均能显著提升其表达水平。结合p-Akt增加的结果，表明人参汤可能通过提高TRPV1的表达，进而上调PI3K/Akt促进eNOS的表达。本研究结果与最新研究报道具有相似的机制指向，姜黄素介导的氧化铁纳米颗粒可通过上调PI3K/Akt/eNOS信号通路减轻AS模型大鼠的炎症反应^[28]。辛伐他汀在本研究中虽能降低斑块和炎症因子水平，但对Western blot实验中TRPV1和免疫组化实验中p-Akt的提升作用不如人参汤显著，分析原因有可能是辛伐他汀治疗AS的核心作用是降低血脂水平^[29]。

人参汤由人参、干姜、白术、甘草4味药组成，其抗AS作用是多成分、多靶点协同的结果。干姜作为方中辛热之品，其活性成分姜烯酚、姜酚、姜烯酮

是TRPV1的激动剂^[30]，人参协同增强其效应。人参汤通过提高TRPV1蛋白的表达水平，上调PI3K/Akt/eNOS信号通路从而抑制内皮细胞炎症，减轻AS斑块形成，可能是其治疗AS的分子机制之一。AS炎症级联涉及更多因子和细胞，未来研究可进一步探讨人参汤对更广泛炎症因子谱、炎症细胞表型转换及对斑块稳定性的影响，以更全面阐明其抗AS炎症的机制网络。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] LEGEIN B, TEMMERMAN L, BIESSEN E A, et al. Inflammation and immune system interactions in atherosclerosis[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70(20): 3847-3869.
- [2] 中国医师协会中西医结合分会心血管专业委员会, 中华中医药学会心血管病分会. 动脉粥样硬化中西医结合防治专家共识(2021年)[J]. *中国中西医结合杂志*, 2022, 42(3): 287-293.
The Cardiovascular Professional Committee of the Chinese Medical Doctor Association's Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Branch, the Cardiovascular Disease Branch of the Chinese Association of Traditional Chinese Medicine. Expert consensus on the prevention and treatment of atherosclerosis with integrated traditional Chinese and western medicine(2021)[J]. *Chin J Integr Med*, 2022, 42(3): 287-293.
- [3] LIBBY P, RIDKER P M, HANSSON G K. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis[J]. *Nature*, 2011, 473(7347): 317-325.
- [4] GIMBRONE M A, GARCÍA-CARDEÑA G. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis[J]. *Circ Res*, 2016, 118(4): 620-636.
- [5] CHISTIakov D A, MELNICHENKO A A, GRECHKO A V, et al. Potential of anti-inflammatory agents for treatment of atherosclerosis[J]. *Exp Mol Pathol*, 2018, 104(2): 114-124.
- [6] CHEN L, QIN L, LIU X, et al. CTRP3 alleviates ox-LDL-induced inflammatory response and endothelial dysfunction in mouse aortic endothelial cells by activating the PI3K/Akt/eNOS pathway[J]. *Inflammation*, 2019, 42(4): 1350-1359.
- [7] 郑艳, 马振, 王南丁, 等. 基于PI3K/Akt/eNOS通路研究芪丹通脉片对ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化易损斑块的影响[J]. *中医学报*, 2024, 39(1): 55-62.
ZHENG Y, MA Z, WANG N D, et al. Effect of Qidan Tongmai tablet on atherosclerotic vulnerable plaque in ApoE^{-/-} mice based on PI3K/Akt/eNOS pathway[J]. *Acta Chin Med*, 2024, 39(1): 55-62.
- [8] DEANFIELD J E, HALCOX J P, RABELINK T J. Endothelial function and dysfunction: Testing and clinical relevance[J]. *Circulation*, 2007, 115(10): 1285-1295.
- [9] ZHANG C, YE L, ZHANG Q, et al. The role of TRPV1

- channels in atherosclerosis [J]. *Channels (Austin, Tex.)*, 2020, 14(1):141-150.
- [10] WANG Y, CUI L, XU H, et al. TRPV1 agonism inhibits endothelial cell inflammation via activation of eNOS/NO pathway[J]. *Atherosclerosis*, 2017, 260: 13-19.
- [11] 杨桢. 基于热敏通道 TRPV1 的理中丸标志性成分之间的配伍研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2015.
- YANG Z. Research on the compatibility of the marked components of LI Zhong pill based on the thermosensitive channel TRPV1 [D]. Harbin: Heilongjiang University of Chinese Medicine, 2015.
- [12] 亓玉婕, 何湛湛, 杨桢, 等. 基于 TRPV1 对动脉血管平滑肌的自噬作用探讨人参汤治疗 AS 的作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(12):55-62.
- QI Y J, HE Z Z, YANG Z, et al. Mechanism of Renshen decoction in treatment of atherosclerosis based on autophagic effect of TRPV1 on arterial smooth muscle [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2023, 29(12):55-62.
- [13] 徐香梅, 徐文华, 杨文娜, 等. 基于分子对接和系统药理学探讨人参汤治疗冠心病的作用机制[J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2019, 21(11):2318-2327.
- XU X M, XU W H, YANG W N, et al. Exploring the mechanism of Renshen decoction in the treatment of coronary heart disease based on molecular docking and systemic pharmacology [J]. *World Sci Technol—Mod Tradit Chin Med Mater Med*, 2019, 21(11):2318-2327.
- [14] 江苏新医学院. 中药大辞典·附编[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1979:762.
- Jiangsu New Medical College. Dictionary of Traditional Chinese Medicine: Supplementary Volume [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1979: 762.
- [15] PLUMP A S, SMITH J D, HAYEK T, et al. Severe hypercholesterolemia and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice created by homologous recombination in ES cells[J]. *Cell*, 1992, 71(2):343-353.
- [16] 葛均波. 内科学[M]. 10版. 北京:人民卫生出版社, 2024:227.
- GE J B. Internal Medicine [M]. 10th Edition. Beijing: People's Medical Publishing House, 2024:227.
- [17] 张伯礼, 吴勉华. 中医内科学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2019:143.
- ZHANG B L, WU M H. Internal medicine of traditional Chinese medicine [M]. Beijing: China Publishing House of Traditional Chinese Medicine, 2019:143.
- [18] 张仲景. 金匮要略[M]. 北京:中国中医药出版社, 2003:97.
- ZHANG Z J. *Jingui Yaolue* [M]. Beijing: China Publishing House of Traditional Chinese Medicine, 2003:97.
- [19] ROSS R. Atherosclerosis: An inflammatory disease [J]. *N Engl J Med*, 1999, 340(2):115-126.
- [20] TRPKOVIC A, RESANOVIC I, STANIMIROVIC J, et al. Oxidized low-density lipoprotein as a biomarker of cardiovascular diseases [J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2015, 52(2):70-85.
- [21] ZHANG H, DHALLA N S. The role of pro-inflammatory cytokines in the pathogenesis of cardiovascular disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(2):1082.
- [22] GREBE A, HOSS F, LATZ E. NLRP3 inflammasome and the IL-1 pathway in atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2018, 122(12):1722-1740.
- [23] LIN S, ZHU P, JIANG L, et al. Neutrophil extracellular traps induced by IL-1 β promote endothelial dysfunction and aggravate limb ischemia [J]. *Hypertens Res*, 2024, 47(6):1654-1667.
- [24] HURT C M, LU Y, STARY C M, et al. Transient receptor potential vanilloid 1 regulates mitochondrial membrane potential and myocardial reperfusion injury [J]. *J Am Heart Assoc*, 2016, 5(9):e003774.
- [25] WANG Y X, WANG J, WANG C, et al. Functional expression of transient receptor potential vanilloid-related channels in chronically hypoxic human pulmonary arterial smooth muscle cells [J]. *J Membr Biol*, 2008, 223(3):151-159.
- [26] BUJAK J K, KOSMALA D, SZOPA I M, et al. Cancer and immunity-implication of TRPV1 channel [J]. *Front Oncol*, 2019, 9:1087.
- [27] XING S S, YANG X Y, ZHENG T, et al. Salidroside improves endothelial function and alleviates atherosclerosis by activating a mitochondria-related AMPK/PI3K/Akt/eNOS pathway [J]. *Vascul Pharmacol*, 2015, 72:141-152.
- [28] DU Q, CHEN B, YANG X, et al. Bioactive macromolecule-mediated biogenic FeONPs attenuate inflammation in atherosclerotic rat by activating PI3K/Akt/eNOS pathway [J]. *Curr Pharm Des*, 2025, 31(11):843-854.
- [29] 陈玲. 辛伐他汀的药理作用及临床应用效果观察 [J]. *中国医药指南*, 2019, 17(8):33-34.
- CHEN L. Pharmacological effects and clinical application results of simvastatin [J]. *Guide China Med*, 2019, 17(8):33-34.
- [30] YIN Y, DONG Y, VU S, et al. Structural mechanisms underlying activation of TRPV1 channels by pungent compounds in gingers [J]. *Br J Pharmacol*, 2019, 176(17):3364-3377.

[责任编辑 周冰冰]