

制何首乌中大黄素对 ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化模型中 JAK2/STAT3 通路的影响

李妹娟, 王和生*, 王通渤, 赖陈岑, 冷传龙
(贵阳中医学院, 贵阳 550002)

[摘要] **目的:**探讨制何首乌中大黄素抗动脉粥样硬化的作用机制并对两面神激酶 2(JAK2)/信号转导及转录激活因子 3(STAT3)信号通路及相关因子细胞因子信号传导抑制蛋白 3(SOCS3)的影响。**方法:**雄性 ApoE 基因敲除(ApoE^{-/-})小鼠 80 只,随机均分为 8 组,分别为大黄素高、中、低剂量组、模型组、阳性药组、阴性组、正常组和大黄素中剂量 + AG490 组(DA 组)。除正常组,余 7 组用高脂饲料饲养,并皮下注射脂多糖,9 周后停注。第 10 周开始小鼠给药,6 周后处死。酶联免疫吸附测定法(ELISA)测定 JAK2, p-JAK2, STAT3, p-STAT3 及 SOCS3 的含量,苏木素-伊红(HE)染色检测胸主动脉病理变化,实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)法检测肝脏 JAK2, STAT3, SOCS3 mRNA 的表达。**结果:**与模型组比较,大黄素高、中剂量组 SOCS3 含量显著增加, p-JAK2, p-STAT3 含量显著减少($P < 0.01$),低剂量组 SOCS3 含量明显增加($P < 0.05$); JAK2, STAT3 无变化;各指标 DA 组效果不如中剂量组且两组间存在明显差异($P < 0.01$),但 STAT3 相对表达量中剂量组与 DA 组有差异($P < 0.05$);各组 SOCS3 mRNA 表达明显增加, JAK2, STAT3 mRNA 表达明显降低($P < 0.05, P < 0.01$)。HE 染色切片镜下观察,大黄素高、中剂量能有效延缓动脉粥样硬化斑块形成,而低剂量的效果不明显。**结论:**大黄素能明显作用于 ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化病变的发生发展,该作用机制可能与其抑制 JAK2/STAT3 信号通路有关。

[关键词] 动脉粥样硬化; 大黄素; 两面神激酶 2/信号转导及转录激活因子 3 (JAK2/STAT3) 信号通路; 细胞因子信号传导抑制蛋白 3 (SOCS3)

[中图分类号] R22; R24; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)18-0101-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181823

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180628.1751.009.html>

[网络出版时间] 2018-06-29 11:36

Effect of Emodin from *Polygonum Multiflori Radix Praeparata* on JAK2/STAT3 Pathways in ApoE^{-/-} Mice Atherosclerosis Model

LI Mei-juan, WANG He-sheng*, WANG Tong-bo, LAI Chen-cen, LENG Chuan-long
(Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the anti-atherosclerotic mechanism of emodin from *Polygonum multiflori Radix Praeparata* and the effect of Janus kinase 2 (JAK2) /signal transduction and activator of transcription 3 (STAT3) signaling pathway, and its related factor suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS3). **Method:** Eighty male ApoE^{-/-} mice were randomly divided into 8 groups: emodin high, middle, and low dose groups (40, 20, 10 mg·kg⁻¹), model group, positive control group (Xuezhikang, 200 mg·kg⁻¹), negative control group (tween-80, 4 mg·kg⁻¹), normal control group, and middle dose of emodin + AG490 group (DA group). In addition to the normal control group, the remaining 7 groups were fed with high-fat diet and subcutaneously injected with lipopolysaccharide, then stopped after 9 weeks. Mice were dosed on the 10th week and

[收稿日期] 20180314(013)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81160473,81460670);贵州省科技厅基金项目(黔科合 J 字[2013]2063 号)

[第一作者] 李妹娟,在读硕士,从事中西医结合基础研究工作,E-mail:1322283243@qq.com

[通信作者] *王和生,教授,硕士生导师,从事中西医结合基础研究工作,E-mail:wanghsh0413@126.com

sacrificed 6 weeks later. The contents of JAK2, p-JAK2, STAT3, p-STAT3 and SOCS3 were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The thoracic aorta was stained by hematoxylin and eosin (HE). The expression of JAK2, STAT3 and SOCS3 mRNA was detected by Real-time PCR. **Result:** Compared with the model group, SOCS3 content increased ($P < 0.01$), p-JAK2, and p-STAT3 levels decreased ($P < 0.01$) in the emodin high-and middle-dose group, and there was increased in low-dose ($P < 0.05$). There was no change in STAT3, JAK2. The effect of DA in each index was not as good as that in moderate dose group ($P < 0.01$), but the relative expression of STAT3 in middle dose group was significantly different from that in DA group ($P < 0.05$). The trend of SOCS3 gene expression in each group was increased to that detected by Real-time PCR and the results of JAK2 and STAT3 gene expression were decreased. Under the HE staining microscope, high and middle doses of emodin can effectively delay the formation of atherosclerotic plaque, but the effect of low dose is not obvious. **Conclusion:** Emodin can significantly affect the development of atherosclerotic lesions in ApoE^{-/-} mice. This mechanism may be related to the inhibition of JAK2/STAT3 signaling pathway.

[**Key words**] atherosclerosis; emodin; Janus kinase 2 (JAK2) /signal transduction and activator of transcription 3 (STAT3) signaling pathway; suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS3)

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是动脉管腔成粥样样变而使血管失去弹性,动脉管径变小的一种病理样变。心脑血管疾病病理基础最主要就包括 AS,而如何运用中医药干预 AS 是目前研究热门。临床发现制何首乌对 AS 有疗效,而其具体机制有待深入探索。Ross^[1]教授正式提出 AS 是一种炎症反应,形成了业内最具权威的学说(炎症学说),这打破了之前对 AS 的固有认识。此后涉及 AS 炎症通路及炎症因子的研究越来越多。两面神激酶 2/信号转导及转录激活因子 3(JAK2/STAT3)信号通路作为经典炎症通路,通过抗炎和免疫调节等手段,与 AS 密切相关。研究发现炎症因子可以通过 JAK2/STAT3 信号通路诱导动脉内膜增殖^[2],而通过上调主动脉内皮细胞内 JAK2/STAT3 介导的抗炎因子,可以促进动脉斑块的消退^[3]。细胞因子信号传导抑制蛋白 3(suppressor of cytokine signaling 3, SOCS3)是此通路的特异性细胞信号抑制因子,主要通过阻止炎症的发生和控制细胞的凋亡而抑制 AS 的发展^[4]。课题组前期研究发现制何首乌总游离蒽醌类化合物具有明显的抗兔颈动脉粥样硬化的作用^[5],且对于 ApoE^{-/-}小鼠 AS 模型有调节血脂、影响血清一氧化氮(NO)含量的作用^[6]。2015 年版《中国药典》证实制何首乌总游离蒽醌的主要有效成分为大黄素和大黄素甲醚,而大黄素的含量最多^[7]。所以在制何首乌抗 AS 作用中大黄素是否同样占主导地位,其作用机制如何,是课题组研究重点。本次实验主要通过检测 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化模型中 JAK2/STAT3 信号通路及相关因子 SOCS3 表达的情况,旨在对 AS 炎症通路方面有所

突破,进而研究制何首乌大黄素抗 AS 的作用机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 ApoE^{-/-}小鼠,雄性,5~6 周龄,体质量 15~18 g,饲养于贵州医科大学实验动物中心,合格证号 SCXK(黔)2012-0001,动物实验操作符合贵州医科大学实验动物伦理委员会审核,批准编号 1403001。

1.2 药物与试剂 大黄素(西安飞达生物技术有限公司,纯度 98.7%,批号 BH2015071);脂多糖(LPS),聚山梨酯-80(美国 Sigma 公司,批号分别为 L2880,9006-65-6);血脂康(北大维信生物有限公司,批号 6919959180241);AG490(深圳欣博盛生物科技有限公司,货号 SIH-428-25MG);羧甲基纤维素钠(美国 HMK 公司,批号 9004-32-4);胆固醇(北京索莱宝科技有限公司,批号 527C101);苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(武汉博士得生物技术有限公司,批号 11G07A80);小鼠 JAK2,磷酸化 JAK2(p-JAK2),STAT3,SOCS3 酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(武汉基因美生物技术有限公司,批号分别为 DRE31201, DRE31197, DRE31196, DRE30044);小鼠 p-STAT3 ELISA 试剂盒(南京森贝伽生物技术有限公司,批号 SJ-M0721);RNA 提取试剂盒(宝生物工程股份有限公司,批号 9767);HiFi-script cDNA 第一链合成试剂盒, UltraSYBR Mixture, DM2000 Marker, 5 × RNA 上样缓冲液(北京康为世纪生物科技有限公司,批号分别为 CW2569M, CW2602M, CW0632S, CW0611S);GoldView I 型核酸染色剂(Solarbio 公司,批号 G8140);50 × TAE 缓冲液(生工生物工程股份有限公司,批号 C804KA3426);

JAK2(164 bp), STAT3(200 bp), SOCS3(153 bp), β -肌动蛋白(β -actin)(147 bp)引物由生物工程(上海)股份有限公司设计合成。

1.3 仪器 YD-335 型病理切片机(浙江益迪公司);KD-BM 型生物组织包埋机(浙江金华科迪仪器公司);C×40-32J02 型生物显微分析成像仪(日本 Olympus 公司);ST16R 型台式高速冷冻离心机, Mutiskan Go 型全波长扫描型酶标仪, ABI7500 型实时荧光定量 PCR 仪(美国赛默飞世尔公司);SIM-F121 型制冰机(日本 Sanyao 公司);T-100 型普通 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司);DYY-6D 型电泳仪(北京市六一仪器厂)。

2 方法

2.1 造模与给药 80 只雄性 ApoE^{-/-} 小鼠,随机均分为 8 组,大黄素高、中、低剂量组、模型组、阳性药组、阴性组、正常组和大黄素中剂量 + AG490 组。除正常组隔天腹部皮下注射生理盐水 0.5 mL 并给基础饲料饲养外,其他各组均用自制高脂饲料(21%猪油,0.15%胆固醇,78.85%基础饲料)喂养,同时隔天腹部皮下注射 LPS,剂量为 50 mg·L⁻¹ 每只,连续 9 周,即炎性刺激 + 高脂饲料法造成 AS 模型。造模后给药,所有造模动物停止 LPS 注射,高脂饲料继续喂养,按组别给药。正常组灌胃双蒸水,高、中、低剂量组分别灌服 40,20,10 mg·kg⁻¹ 大黄素,阳性药组灌服血脂康 200 mg·kg⁻¹,阴性组灌服聚山梨酯-80(大黄素溶剂)4 mg·kg⁻¹,大黄素中剂量 + AG490 组灌胃 20 mg·kg⁻¹ 大黄素加腹部皮下注射 4 mg·kg⁻¹ AG490。AG490 是经典的 JAK2/STAT3 信号通路阻断剂。给药时间为 6 周。

2.2 ELISA 检测血清中 JAK2, p-JAK2, STAT3, p-STAT3, SOCS 含量 每个样本进行血清分装。将试剂盒从 4 °C 冰箱取出,室温放置 20 min 后使用,所有操作严格按照试剂盒说明书进行。

2.3 主动脉病理学检查 各组动物处死后,取材靠近主动脉弓处胸主动脉 2 cm。将组织进行 4% 多聚甲醛固定 24 h,流水过夜后,常规石蜡包埋,切片,每张切片厚度为 4 μ m,置于防脱载玻片,脱蜡,HE 染色。显微镜 200 倍下对比观察主动脉内皮损伤修复情况。

2.4 实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测 AS 小鼠肝脏中 JAK2, STAT3, SOCS3 mRNA 表达水平的变化 按照 RNA 提取试剂盒说明书操作,得到超纯小鼠肝组织总 RNA 100 μ L。以 RNA 为模板,使用 HiFi-script cDNA 第一链合成试

剂盒进行反转录,42 °C 孵育 15 min,85 °C 孵育 5 min,16 °C,无时限,得到 cDNA。使用 Ultra SYBR Mixture(High ROX)进行加样扩增,引物序列见表 1。扩增程序为 95 °C 预变性 10 min,95 °C 变性 15 s,60 °C 退火 60 s,40 个循环,采用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 方法处理,计算 mRNA 的相对表达量。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primers used for PCR

引物名称	引物序列(5'-3')	片段长度 /bp
JAK2	上游 TGTGTGGAGCTTTGGAGTGG	164
	下游 GCCTTGCAATCTTCCGTTG	
STAT3	上游 TTGGGCATCAATCCTGTGGT	200
	下游 AGTAGTTCACACCAGGCCCTA	
SOCS3	上游 TTTTCTTTGCCACCCACGGA	153
	下游 CACGTTGGAGGAGAGAGGTC	
β -actin	上游 GTGCTATGTTGCTCTAGACTTCG	147
	下游 ATGCCACAGGATTCCATACC	

为保证操作中无 RNA 酶污染,随机从各组选取 12 个 RNA 样本进行电泳,检测完整性。电泳结果可看到所有样本均出现 5 S,18 S,28 S 3 个条带,说明 RNA 未降解,完整性好。见图 1。

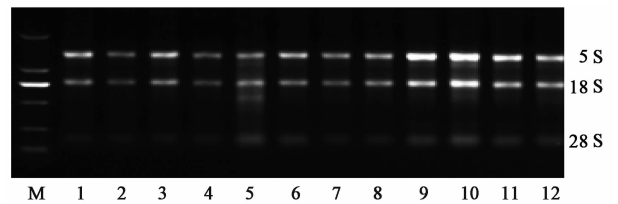


图 1 RNA 凝胶电泳

Fig.1 RNA gel electrophoresis picture

2.5 统计学分析 采用 SPSS 16.0 统计软件对所有处理后数据进行检验分析,并用单因素方差分析及组间多重比较分析组间差异。使用单因素方差分析及多重比较对组间均值差异进行分析,分析结果均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 AS 小鼠血清中 JAK2, STAT3, SOCS3 含量的影响 与正常组比较,模型组小鼠 JAK2, STAT3, p-JAK2, p-STAT3 水平显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,大黄素各剂量组 JAK2, STAT3 水平无变化; p-JAK2, p-STAT3 水平大黄素高、中剂量组及大黄素中剂量 + AG490 组明显比模型组显著降低($P < 0.01$),SOCS3 抑制水平显著升高($P < 0.01$),低剂量组 p-JAK2, p-STAT3, SOCS3 水平明显降低($P <$

0.05)。从 p-JAK2/JAK2, p-STAT3/STAT3 相对值看,与模型组比较,大黄素高、中剂量组及大黄素中剂量 + AG490 组的传导水平显著下降 ($P < 0.01$),

低剂量组明显下降 ($P < 0.05$); 与中剂量组比较, 大黄素中剂量 + AG490 组治疗效果有所下降 ($P < 0.05$)。见表 2,3。

表 2 制何首乌大黄素对 AS 小鼠血清中 JAK2, STAT3, SOCS3 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of emodin from Polygonum Multiflori Radix Praeparata (EPM) on serum levels of JAK2, STAT3 and SOCS3 in AS mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	JAK2	STAT3	SOCS3
正常	-	2 575.7 ± 467.8 ²⁾	9.7 ± 2.8 ²⁾	251.8 ± 64.9 ²⁾
模型	-	3 927.0 ± 824.2	19.7 ± 4.0	630.9 ± 80.8
大黄素	40	4 605.2 ± 1 076.9	19.0 ± 3.2	974.7 ± 111.9 ²⁾
	20	4 585.1 ± 1 156.0	19.2 ± 4.2	913.5 ± 96.8 ²⁾
	10	4 665.5 ± 1 174.7	19.5 ± 3.6	773.9 ± 76.6 ¹⁾
血脂康	200	3 206.6 ± 331.4 ¹⁾	14.5 ± 3.9 ²⁾	1 330.1 ± 156.4 ²⁾
阴性	4	4 078.6 ± 520.9	19.4 ± 3.0	650.2 ± 71.0
大黄素 + AG490	20 + 4	4 653.6 ± 1 185.3	21.3 ± 4.2	752.3 ± 83.2 ^{2,4)}

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与大黄素中剂量组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 3,4 同)。

表 3 制何首乌大黄素对 AS 小鼠血清中 p-JAK2, p-STAT3, p-JAK2/JAK2, p-STAT3/STAT3 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of EPM on serum levels of p-JAK2, p-STAT3, p-JAK2/JAK2, p-STAT3/STAT3 in AS mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	p-JAK2/ng·L ⁻¹	p-STAT3/ng·L ⁻¹	p-JAK2/JAK2	p-STAT3/STAT3 ($\times 10^{-3}$)
正常	-	104.6 ± 25.4 ²⁾	13.3 ± 3.0 ²⁾	0.041 ± 0.008 ²⁾	1.4 ± 0.4 ²⁾
模型	-	687.3 ± 70.5	75.9 ± 11.5	0.183 ± 0.044	4.0 ± 0.9
大黄素	40	289.4 ± 41.3 ²⁾	30.8 ± 4.7 ²⁾	0.066 ± 0.015 ²⁾	1.7 ± 0.4 ²⁾
	20	333.6 ± 49.4 ²⁾	36.6 ± 7.7 ²⁾	0.078 ± 0.026 ²⁾	2.0 ± 0.7 ²⁾
	10	621.5 ± 55.1 ¹⁾	61.2 ± 12.9 ¹⁾	0.142 ± 0.046 ¹⁾	3.2 ± 0.5 ¹⁾
血脂康	200	200.4 ± 36.4 ²⁾	26.8 ± 5.1 ²⁾	0.063 ± 0.012 ²⁾	1.9 ± 0.6 ²⁾
阴性	4	754.0 ± 106.3	73.8 ± 4.9	0.189 ± 0.043	3.9 ± 0.5
大黄素 + AG490	20 + 4	545.8 ± 51.2 ^{2,4)}	55.5 ± 7.3 ^{2,4)}	0.124 ± 0.031 ^{2,4)}	2.7 ± 0.5 ^{2,3)}

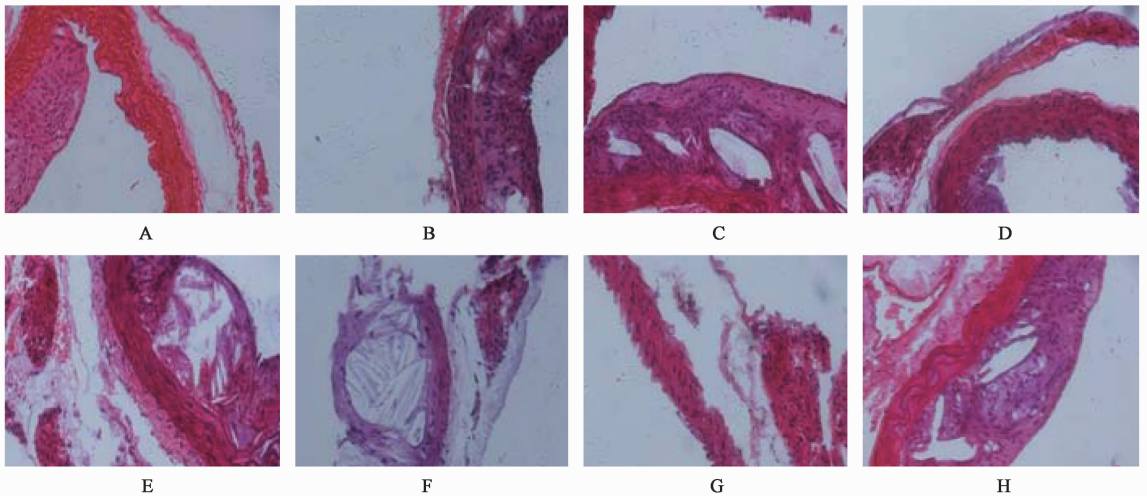
3.2 对 AS 小鼠胸主动脉病理组织学的影响 正常组中膜未见增生,无内膜浸润,未见斑块形成;模型组内膜明显增厚,斑块纤维帽变薄并有破裂现象,中膜有纤维增生,外膜完全破裂,属于 AS 后期;阴性组内膜明显增厚,属于 AS 中后期;高剂量组部分内膜增厚,中膜、内膜无分界,外膜完整;中剂量组内膜增厚,见少量的脂质沉积,中膜肌层模糊,外膜稍有破裂,整体完整;低剂量组有脂质核心形成,斑块的纤维帽较厚,有大量的炎性细胞,中膜肌层紊乱,血管内可见玻璃样变;血脂康组内膜增厚,内膜、中膜有分界,炎性细胞浸润,外膜完整;中剂量 + AG490 组脂质核心形成,有纤维帽覆盖,内膜增厚,见大量炎性细胞,中膜大部分被纤维组织取代,外膜破裂。见图 2。

3.3 对 AS 小鼠肝脏中 JAK2, STAT3, SOCS3 mRNA

表达水平的影响 与正常组比较,模型组 JAK2, STAT3, SOCS3 mRNA 显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较,阴性组 JAK2, STAT3, SOCS3 mRNA 表达水平无变化,大黄素高、中剂量组及中剂量 + AG490 组通路 mRNA 表达水平显著下调 ($P < 0.01$),低剂量明显下调 ($P < 0.05$); 与中剂量比较,中剂量 + AG490 组通路 mRNA 表达水平显著上调 ($P < 0.01$)。与中剂量比较,中剂量 + AG490 组通路抑制程度显著下调 ($P < 0.01$)。见表 4。

4 讨论

虽然中医典籍中没有明确的 AS 概念,但近年来,中医药在抗 AS 研究领域大展身手,为人们提供了更多研究思路。经过分析发现,何首乌含有多种抗 AS 有效成分,有部分具体作用机制还待阐明,大黄素就是其中之一。



A. 制何首乌大黄素高剂量组; B. 制何首乌大黄素中剂量组; C. 制何首乌大黄素低剂量组; D. 血脂康组; E. 阴性组; F. 模型组; G. 正常组; H. 制何首乌大黄素中剂量 + AG490 组

图 2 制何首乌大黄素对 AS 小鼠胸主动脉病理组织学的影响(HE, × 200)

Fig.2 Effect of EPM on thoracic aorta in AS mice(HE, ×200)

表 4 制何首乌大黄素对 AS 小鼠肝脏中 JAK2, STAT3, SOCS3 mRNA 的表达水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of EPM on expression levels of JAK2, STAT3 and SOCS3 mRNA in AS mice($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	JAK2	STAT3	SOCS3
正常	-	0.06 ± 0.01 ²⁾	0.09 ± 0.01 ²⁾	0.07 ± 0.02 ²⁾
模型	-	1.15 ± 0.24	0.83 ± 0.17	0.35 ± 0.08
大黄素	40	0.44 ± 0.09 ²⁾	0.34 ± 0.09 ²⁾	1.73 ± 0.35 ²⁾
	20	0.52 ± 0.08 ²⁾	0.47 ± 0.10 ²⁾	1.51 ± 0.28 ²⁾
	10	0.89 ± 0.12 ¹⁾	0.63 ± 0.11 ¹⁾	0.54 ± 0.10 ¹⁾
血脂康	200	0.24 ± 0.06 ²⁾	0.22 ± 0.06 ²⁾	2.36 ± 0.38 ²⁾
阴性	4	1.19 ± 0.25	0.86 ± 0.14	0.36 ± 0.10
大黄素 + AG490	20 + 4	0.81 ± 0.10 ^{2,4)}	0.57 ± 0.09 ^{2,4)}	0.85 ± 0.17 ^{2,4)}

JAK2/STAT3 是一条经典的细胞内信号通路,长期活跃于各种研究中。有文献报道,JAK2/STAT3 作为 JAK/STAT 重要成员,通过通路的激活,可以保护缺血心肌^[8]。JAK2/STAT3 信号传导被抑制,有助于限制肿瘤生长^[9]。近年来研究发现其与 AS 的关系同样密切,而对于多种抗 AS 药物,是抑制此通路还是激活此通路,急需明确。激活后的 STAT3 入核发挥基因调节作用,使血管平滑肌细胞增殖,而 JAK2 能特异性的激活 STAT3,是 STAT3 发挥作用的上游因子之一。在体内过表达的 STAT3 能从内皮修复机制作用下延缓小鼠 AS 的发展^[10]。STAT3 是一个较特殊的因子,具有促进细胞增殖和急性损伤的修复功能,对应两个 STAT3 的亚型:STAT3 α 和 STAT3 β 。STAT3 β 的序列比 STAT3 α 短,是它的负向调控因子^[11]。本次实验用大黄素高、中剂量干预

后,通路因子磷酸化水平及基因表达水平明显低于模型组;模型组通路水平明显高于正常组,与 AS 呈正相关,这可能与大黄素只作用于其中一个亚型-STAT3 α 有关。大黄素通过抑制此通路抗 AS 的具体靶点仍有待解锁。SOCS3 是 JAK2/STAT3 通路的特异性负调控因子,它的高表达会抑制通路的正常传导,主要通过酶的竞争性抑制作用和影响 STAT3 一系列的正常活动来发挥作用。实验证实,通过 SOCS3 抑制 JAK2/STAT3 信号通路,可以产生明显的抗炎效果^[12],而 SOCS3 能抑制 p-STAT3 而达到抗 AS 的目的^[13]。Gupta 等^[14]通过观察小型猪 AS 模型冠状动脉平滑肌细胞中 SOCS3 的指标水平,发现明显低于正常组,并提出 SOCS3 有明显抑制平滑肌细胞增殖的作用。本实验模型组 SOCS3 的含量高于正常组,但没有药物干预组上升的程度大。提

示在 AS 形成后,SOCS3 尽量发挥负调控的作用,但含量不足无法达到完全抑制的作用,大黄素干预后 SOCS3 的含量再次显著升高,从而达到显著的效果。实验结果还可得出,通路的水平在加上 AG490 后,SOCS3 的影响下也有显著的变化,从而可看出 SOCS3 与通路密切相关。

综上,本实验旨在研究大黄素抗 AS 的作用机制,并用 ApoE^{-/-}小鼠造成 AS 模型,再通过 JAK2/STAT3 细胞信号通路探究其抗 AS 的作用机制,从而明确大黄素抗 AS 的机制路线。本实验通过 ELISA,Real-time PCR,病理切片,从而评估大黄素抗 AS 的效果及途径。结果显示大黄素能有效地延缓 AS 的形成,其中高、中剂量效果较好。大黄素抗 AS 的机制可能与阻断 JAK2/STAT3 信号通路有关,这为药物与临床研究抗 AS 提供了新的角度。

[参考文献]

[1] Ross R. Atherosclerosis an inflammatory disease[J]. N Engl J Med,1999,340(2):115-126.

[2] Chithra P K, Jayalekshmy A, Helen A. Petroleum ether extract of njavara rice (Oryza sativa) bran upregulates the JAK2-STAT3-mediated anti-inflammatory profile in macrophages and aortic endothelial cells promoting regression of atherosclerosis [J]. Biochem Cell Boil, 2017,95(6):652-662.

[3] WANG X, CHEN L, LIU J, et al. *In vivo* treatment of rat arterial adventitia with interleukin-1 β induces intimal proliferation via the JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. Mol Med Rep,2016,13(4):3451-3458.

[4] 黄良珠. JAK/STAT 信号通路及其负调控因子 SOCS 与动脉粥样硬化[J]. 中国动脉硬化杂志,2010,18(8):665-668.

[5] 赵健雄. 何首乌游离蒽醌对兔颈动脉粥样硬化斑块及炎症因子的影响研究[D]. 贵阳:贵阳中医学

院,2015.

[6] 冷传龙,王和生,王通渤,等. 制首乌总游离蒽醌对 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化模型肝脏、脂肪组织重量及血脂、血清 NO 的影响[J]. 时珍国医国药,2017,28(8):1806-1807.

[7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:176-177.

[8] 覃斐章,黄媛恒,陈兆霓,等. JAK2 /STAT3 信号通路介导王郎伞查尔酮后处理对大鼠离体心脏的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(24):153-158.

[9] Judd L M, Menheniott T R, LING H, et al. Inhibition of the JAK2/STAT3 pathway reduces gastric cancer growth *in vitro* and *in vivo* [J]. PLoS One, 2014, 9(5): e95993.

[10] Khan J A, CAO M, KANG B Y, et al. AAV/hSTAT3-gene delivery lowers aortic inflammatory cell infiltration in LDLR KO mice on high cholesterol [J]. Atherosclerosis, 2010, 213(1): 59-66.

[11] Schaefer T S, Sanders L K, Nathans D. Cooperative transcriptional activity of Jun and Stat3 β , a short form of Stat3[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92(16): 9097-9101.

[12] 王移飞,赵党生,王凤仪,等. 芍药汤调节湿热型溃疡性结肠炎大鼠 JAK2 /STAT3 和 SOCS3 的分子机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(23):97-102.

[13] XIANG S, LIU J, DONG N, et al. Suppressor of cytokine signaling 3 is a negativeregulator for neointimal hyperplasia of vein graft stenosis [J]. J Vasc Res, 2014, 51(2): 132-143.

[14] Gupta G K, Dhar K, Del Core M G, et al. Suppressor of cytokine signaling-3 and intimal hyperplasia in porcine coronary arteries following coronary intervention [J]. Exp Mol Pathol,2011,91(1): 346-352.

[责任编辑 周冰冰]