

# 补阳还五汤对动脉粥样硬化模型主动脉 Rho 激酶, PAI-1 及 eNOS mRNA 表达的影响

张红珍<sup>1\*</sup>, 李丽<sup>2</sup>, 焦瑞<sup>2</sup>, 王静<sup>1</sup>, 郭春兰<sup>1</sup>, 张英<sup>2</sup>, 钱艳<sup>2</sup>

(1. 山西中医学院 中西医结合临床学院, 太原 030619; 2. 山西医科大学, 太原 030001)

**[摘要]** 目的:通过运用益气活血法的代表方剂补阳还五汤对动脉粥样硬化模型的干预,观察主动脉组织 Rho 激酶,纤溶酶原激活物抑制物-1 (PAI-1)及内皮型一氧化氮合酶(eNOS) mRNA 的表达、血脂等指标的变化,揭示该方药抗动脉粥样硬化作用的新靶点和新途径。方法:60 只大鼠随机分为正常组,模型组,补阳还五汤低、高剂量组(10, 20 g·kg<sup>-1</sup>),辛伐他汀组(0.6 mg·kg<sup>-1</sup>),补阳还五汤预防组(10 g·kg<sup>-1</sup>),除正常组外,其余各组维生素 D<sub>3</sub> 加高脂饮食诱导大鼠动脉粥样硬化模型,分别 ig 给予相应药物,补阳还五汤预防组给药的同时造模,造模成功后干预 28 d,检测主动脉 Rho 激酶,PAI-1 及 eNOS mRNA 表达,血脂水平总胆固醇(TC),甘油三酯(TG),高密度脂蛋白(HDL),低密度脂蛋白(LDL)和氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)。结果:与正常组比较,模型组大鼠 Rho 激酶,PAI-1 mRNA 表达量水平明显升高,eNOS mRNA 表达量水平明显降低及血脂 TC, TG, LDL, ox-LDL 水平明显升高(P < 0.01), HDL 水平明显降低,均具有明显统计学差异(P < 0.01),补阳还五汤低、高剂量治疗组、辛伐他汀组、补阳还五汤预防组明显降低大鼠 Rho 激酶,PAI-1 mRNA 表达量水平,明显升高 eNOS mRNA 表达量水平,明显降低血脂 TC, TG, LDL, ox-LDL 水平,明显升高 HDL 水平,均具有明显统计学差异(P < 0.05, P < 0.01)。结论:补阳还五汤可以下调 Rho 激酶,PAI-1 mRNA 的表达,同时,上调 eNOS mRNA 的表达水平、降低血脂,具有抗动脉粥样硬化作用,抑制 Rho 激酶 mRNA, PAI-1 mRNA 表达及上调 eNOS mRNA 表达水平可能是其作用机制之一。

**[关键词]** 补阳还五汤; 动脉粥样硬化; Rho 激酶; 纤溶酶原激活物抑制剂 1; 内皮型一氧化氮合酶

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)16-0110-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015160110

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150702.1016.010.html>

**[网络出版时间]** 2015-07-02 10:16

**Effect of Buyang Huanwu Tang on Rho Kinase, PAI-1 and eNOS mRNA Expressions in Atherosclerosis Model Aorta** ZHANG Hong-zhen<sup>1\*</sup>, LI Li<sup>2</sup>, JIAO Rui<sup>2</sup>, WANG Jing<sup>1</sup>, GUO Chun-lan<sup>1</sup>, ZHANG Ying<sup>2</sup>, QIAN Yan<sup>2</sup> (1. *Clinical Institute of Traditional Chinese Medicine and Western Medicine, Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030619, China*; 2. *Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China*)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effect of representative Qi-tonifying and blood-activating formulae Buyang Huanwu Tang (BYHWT) on the atherosclerosis model, in order to observe the aorta Rho kinase, PAI-1 and eNOS mRNA expressions and blood lipid indicator and reveal new targets and new ways of the formulae in inhibiting atherosclerosis. **Method:** Totally 60 rats were randomly divided into six groups: the normal control group, the model group, BYHWT low and high dose of groups (10, 20 g·kg<sup>-1</sup>), the Simvastatin group (0.6 mg·kg<sup>-1</sup>) and the BYHWT prevention group (10 g·kg<sup>-1</sup>). Except for the normal group, the other groups were fed with VD<sub>3</sub> and high fat diet to induce atherosclerosis and given corresponding drugs. The BYHWT prevention group was administered with drugs during the modeling. After the successful modeling and 28-day intervention, the expression level of Rho kinase, plasma tissue plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1), endothelial nitric oxide synthase (eNOS) mRNA expression, total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and oxidized low-density lipoprotein (ox-

**[收稿日期]** 20150306(146)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81373532)

**[通讯作者]** \*张红珍, 硕士, 副教授, 从事中西医结合防治动脉粥样硬化基础及临床研究, Tel: 0351-2272062, E-mail: zhangjieer@sina.com

LDL) in atherosclerosis aorta were detected. **Result:** Compared with the normal group, the model group showed significantly higher Rho kinase, PAI-1 mRNA expression, lipid TC, TG, HDL-C, ox-LDL and lower eNOS mRNA expression and LDL-C, all with significant statistical differences ( $P < 0.01$ ); BYHWT low and high dose groups, the Simvastatin group and the BYHWT prevention group showed notably lower Rho kinase, PAI-1 mRNA expression, lipid TC, TG, HDL-C, ox-LDL and higher eNOS mRNA expression, LDL-C, with significant statistical differences ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** BYHWT has an effect in down-regulating the Rho kinase and PAI-1 mRNA expression, up-regulating the eNOS mRNA expression and blood lipid, resisting atherosclerosis, inhibiting the Rho kinase and PAI-1 mRNA expression and increasing the Rho kinase and eNOS mRNA expression, which may be related to its mechanisms.

[ **Key words** ] Buyang Huanwu Tang; atherosclerosis; Rho kinase; plasma tissue plasminogen activator inhibitor 1; endothelial nitric oxide synthase

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)多由脂肪代谢紊乱、神经血管功能失调等引起,是大、中动脉内膜出现含胆固醇、类脂肪等黄色物质的一种病理状态。近年来,在世界范围内,以动脉粥样硬化为共同病理基础的心脑血管疾病的发病率、致残致死率居高不下,被称为“人类第一杀手”,因此 AS 引起了医学界的广泛关注<sup>[1]</sup>。现代医学治疗 AS 主要从调血脂、抗氧化、抗凝、抗栓、扩血管等方面入手,但相应的治疗药物大多有肝肾损害等副作用,且价格昂贵。

中医学对此也进行了积极的探索,证候要素分析显示主要有“血瘀”“痰浊”“气虚”,AS 以本虚标实为基本特征,临床以气虚血瘀证型较为常见,益气活血能明显改善高危人群的生活质量,降低发病率、致残率和死亡率<sup>[2-3]</sup>。前期研究发现<sup>[4-6]</sup>益气活血的代表方剂补阳还五汤可以下调血管细胞黏附分子(VCAM-1) mRNA 和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)的表达,降低 C-反应蛋白(CRP)和血脂水平,具有抗 AS 作用。

Rho 激酶(Rho associated coiled-coil forming protein serine/threonine kinase, Rhokinase, ROCK)是一种丝/苏氨酸蛋白激酶,可通过影响纤溶酶原激活物抑制剂 1(plasma tissue plasminogen activator inhibitor, PAI-1),内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)的表达促进 AS 的发生和发展,已成为 AS 研究领域的新热点。本课题旨在通过运用益气活血法的代表方剂补阳还五汤对动脉粥样硬化动物模型的干预,观察主动脉组织 Rho 激酶,PAI-1 及 eNOS 基因的表达、血脂等指标的变化,以揭示益气活血法抗 AS 作用的新靶点和新途径,为中药新药的开发提供理论和实验依据。

## 1 材料

1.1 动物 健康雄性 SD 大鼠 60 只,7~8 周龄,体

重(200 ± 20) g,清洁级,北京海淀兴旺动物养殖厂提供,动物合格证号 SCXK(晋)2012-0004。自由采食和饮水。实验过程中对动物的处置符合医学伦理学标准。

1.2 药物及试剂 补阳还五汤由黄芪 30 g,当归 6 g,川芎 6 g,赤芍 6 g,桃仁 3 g,红花 3 g,地龙 3 g 组成。各药采用免煎颗粒剂(江阴天江药业有限公司)按以上比例配置,蒸馏水溶解,最终调至含药量 2 g·mL<sup>-1</sup>,分装灭菌,100 mL/瓶。放置 4 ℃ 冰箱保存备用。Trizol 提取试剂盒、溴化乙锭、琼脂糖、第一链 cDNA 合成试剂盒(批号 SK2445),定量 PCR 试剂,ABI SybrGreen PCR Master Mix(2 ×)均由生工生物工程(上海)股份有限公司提供,维生素 D<sub>3</sub>(上海通用药业股份有限公司,批号 121142),辛伐他汀[Merck Sharp Dohme (Australia) Pty Ltd,批号 K007474]。

1.3 仪器 GT10-1 型高速低温离心机(德国 Eppendorf 公司),9700 型 PCR 反应扩增仪(美国 ABI 公司),SW-CJ-1D 型洁净工作台(江苏苏净净化设备厂),H6-1 型微型电泳槽(上海精益有机玻璃制品仪器厂),DYY-8 型稳压稳流电泳仪(上海琪特分析仪器有限公司),TU-1901 型紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限公司),LightCycler480 型定量 PCR 仪(瑞士罗氏公司)。

## 2 方法

2.1 动脉粥样硬化模型制作 所有大鼠按 60 万 U·kg<sup>-1</sup>的剂量给予维生素 D<sub>3</sub>(VD<sub>3</sub>) ip,1 次给完,之后每天喂食高脂饲料 20 g(0.5% 胆酸钠,3% 胆固醇,0.2% 丙基硫氧嘧啶,5% 白糖,10% 猪油,81.3% 基础饲料),喂服 45 d。

2.2 分组和干预 所有大鼠适应性喂养 3 d 后,用 SPSS 13.0 软件分组,每组 10 只。分组及干预如下:

正常组:正常大鼠+普通饲料+生理盐水  $ig$ ; 模型组:AS大鼠+普通饲料+生理盐水  $ig$ ; 补阳还五汤低剂量治疗组:AS大鼠+普通饲料+补阳还五汤  $10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$   $ig$ (按临床剂量6倍计算,相当于临床等效量,1次/d); 补阳还五汤高剂量治疗组:AS大鼠+普通饲料+补阳还五汤  $20\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$   $ig$ (按临床剂量12倍计算,相当于临床等效量的2倍,1次/d); 辛伐他汀对照组:AS大鼠+普通饲料+辛伐他汀  $0.6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$   $ig$ (按临床剂量6倍计算,相当于临床等效量,1次/d); 补阳还五汤预防组:正常大鼠+VD<sub>3</sub>+高脂饲料+补阳还五汤  $10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$   $ig$ (按临床剂量6倍计算,相当于临床等效量,1次/d)。

**2.3 血清及主动脉标本的制备及初步处理** 造模成功后治疗4周,麻醉后腹主动脉采血,离心制备血清,  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存待测(供检测常规血生化指标)。取全主动脉,剥净外膜的脂肪组织,将腹主动脉置入福尔马林液中,以行HE染色。胸主动脉立即放入液氮中保存,随后再转入  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存,准备做Rho激酶mRNA表达的研究。

**2.4 血脂测定** 动物造模成功后治疗4周,麻醉后腹主动脉采血  $2\text{ mL}$ ,  $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心  $20\text{ min}$ , 取  $0.5\text{ mL}$  血清,用酶法在全自动生化分析仪上测定血清总胆固醇(TC),甘油三酯(TG),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平,ELISA法检测氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)水平。

**2.5 主动脉组织的形态学观察** 常规HE染色,光镜下观察主动脉组织动脉粥样硬化的病理变化。

**2.6 Rho激酶mRNA, PAI-1 mRNA及eNOS mRNA表达的测定** 采用实时荧光定量PCR方法检测。

**2.6.1 总RNA提取** 称取大鼠主动脉组织标本  $50\text{ mg}$ , 加入  $1\text{ mL}$  Total RNA Extractor, 用匀浆器匀浆处理, 移入  $1.5\text{ mL}$  EP管, 按Trizol试剂盒说明操作。测定样品在  $260, 280\text{ nm}$  的吸收值确定RNA的质量浓度, 并进行甲醛变性琼脂糖电泳, 确定RNA的完整性, 并加DEPC处理水调节标本总RNA质量浓度至  $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存样本RNA。

**2.6.2 RNA逆转录** cDNA第一链合成, 在  $0.2\text{ mL}$  PCR管中加入以下试剂: total RNA  $5\text{ }\mu\text{L}$ ; Random Primer p(dN)<sub>6</sub> ( $0.2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ )  $1\text{ }\mu\text{L}$ ; Rnase-free ddH<sub>2</sub>O  $5\text{ }\mu\text{L}$ 。  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  温浴  $5\text{ min}$ ; 冰浴  $10\text{ s}$ , 离心加入下列试剂:  $5\times$  Reaction Buffer  $4.0\text{ }\mu\text{L}$ ; dNTP Mix ( $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )  $2.0\text{ }\mu\text{L}$ ; Rnase inhibitor ( $20\text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ )  $1.0\text{ }\mu\text{L}$ ; AMV Reverse Transcriptase ( $10\text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ )

$2.0\text{ }\mu\text{L}$ ; 总反应体系  $20.0\text{ }\mu\text{L}$ 。  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  温浴  $5\text{ min}$ ,  $42\text{ }^{\circ}\text{C}$  温浴  $60\text{ min}$ ,  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  温浴  $10\text{ min}$ , 终止反应。将上述溶液  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。

**2.6.3 RT-qPCR反应** 将cDNA样品稀释8倍作为模板上机检测。PCR反应步骤: 配制反应混合液, 总反应体系  $20\text{ }\mu\text{L}$ : Master Mix  $10\text{ }\mu\text{L}$ ; Rho激酶上、下游引物 ( $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 各  $1\text{ }\mu\text{L}$ ; GAPDH上、下游引物 ( $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 各  $1\text{ }\mu\text{L}$ ; ddH<sub>2</sub>O  $206\text{ }\mu\text{L}$ ; Template (cDNA)  $2\text{ }\mu\text{L}$ 。Rho激酶的引物序列上游:  $5'-\text{AACTTTTGGACCTTTCGGATTC}-3'$ ; 下游:  $5'-\text{TTGCTGCTCACCACAACATACT}-3'$ ; PAI-1的引物序列上游:  $5'-\text{TCCAACCTCATCACTCATAGCA}-3'$ ; 下游:  $5'-\text{GAAGACGAAGGGGAATAACCA}-3'$ ; eNOS的引物序列上游:  $5'-\text{GCACAGGCATCACCAGGAA}-3'$ ; 下游:  $5'-\text{AGTCTCAGAGCCATACAGGATAGTC}-3'$ ; GAPDH的引物序列上游:  $5'-\text{CAAGTTCAACGGCA-CAGTCAA}-3'$ ; 下游:  $5'-\text{CGCCAGTAGACTCCACGA-CA}-3'$ 。反应条件:  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$   $3\text{ min}$ , 再按照  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$   $15\text{ s}$ ,  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$   $40\text{ s}$  循环反应  $40$  次, 完成上述步骤后, 把加好样品的  $96/384$  孔板放在定量PCR仪中进行反应。反应结束后获取循环阈值( $\Delta C_t$ 值), 采用Excel软件绘制标准曲线, 进行实验数据分析。

**2.7 统计学分析** 采用SPSS 13.0数据处理应用统计软件分析, 所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间计量资料采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对大鼠血管的形态学影响** 正常组腹主动脉内膜光滑平坦, 层次清晰, 中膜平滑肌细胞排列整齐, 细胞排列致密, 弹力板无断裂。模型组中膜平滑肌萎缩变薄, 大量钙盐沉积于坏死灶及纤维帽内, 外周可见少许淋巴细胞浸润。补阳还五汤低剂量治疗组内膜增生, 中膜平滑肌及纤维组织增生, 内弹力板结构破坏, 大量脂质、无定型坏死物质及少许钙盐沉积。补阳还五汤高剂量治疗组内皮下间隙内脂质聚集, 中膜平滑肌增生穿插于巨噬细胞源性泡沫细胞之间。辛伐他汀组内皮下间隙内脂质聚集, 中膜平滑肌细胞增生, 排列不规整, 穿插于巨噬细胞源性泡沫细胞之间。补阳还五汤预防组内膜增生, 中膜平滑肌增生, 排列紊乱, 有向内膜迁徙的趋势, 内弹力板结构破坏。见图1。

**3.2 对大鼠血清脂质的影响** 与正常组比较, 模型组TC, TG, LDL, ox-LDL含量明显升高, HDL含量明显降低 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 补阳还五汤高、

低剂量组、辛伐他汀组、补阳还五汤预防组均能明显降低 TC, TG, LDL, ox-LDL 含量, 明显升高 HDL 含量

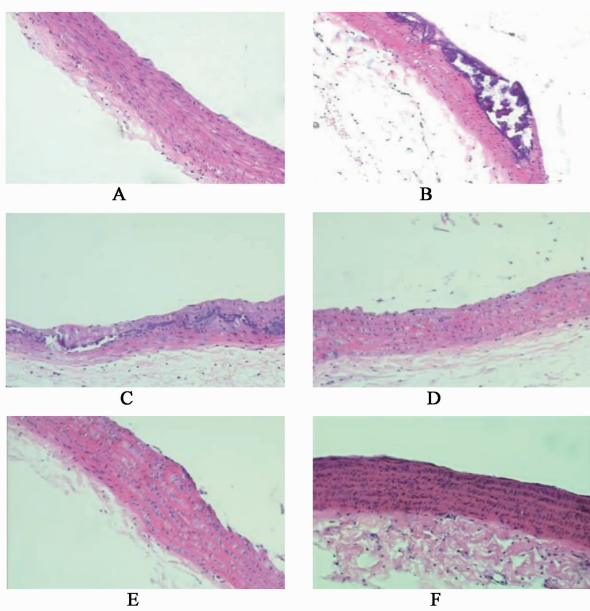
( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 补阳还五汤预防组优于补阳还五汤低剂量治疗组。见表 1。

表 1 补阳还五汤对大鼠血清脂质的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Effects of Buyang Huanwu Tang on level of serum lipid in rats ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	n	TC/ $mmol \cdot L^{-1}$	TG/ $mmol \cdot L^{-1}$	HDL/ $mmol \cdot L^{-1}$	LDL/ $mmol \cdot L^{-1}$	ox-LDL/ $\mu g \cdot L^{-1}$
正常	-	9	1.94 ± 0.21 <sup>2)</sup>	0.76 ± 0.08 <sup>2)</sup>	2.47 ± 0.14 <sup>2)</sup>	0.47 ± 0.04 <sup>2)</sup>	49.56 ± 2.53 <sup>2)</sup>
模型	-	10	5.82 ± 0.22	1.68 ± 0.10	0.75 ± 0.05	2.02 ± 0.10	69.93 ± 4.65
补阳还五汤	10	10	2.93 ± 0.07 <sup>1)</sup>	1.47 ± 0.15 <sup>1)</sup>	0.88 ± 0.01 <sup>1)</sup>	0.80 ± 0.06 <sup>1)</sup>	59.10 ± 2.61 <sup>1)</sup>
	20	8	2.41 ± 0.12 <sup>2)</sup>	1.01 ± 0.03 <sup>2)</sup>	1.02 ± 0.07 <sup>2)</sup>	0.60 ± 0.02 <sup>2)</sup>	52.70 ± 2.02 <sup>2)</sup>
辛伐他汀	0.000 6	7	2.49 ± 0.26 <sup>2)</sup>	0.99 ± 0.06 <sup>2)</sup>	1.06 ± 0.03 <sup>2)</sup>	0.57 ± 0.03 <sup>2)</sup>	53.61 ± 3.76 <sup>2)</sup>
补阳还五汤预防	10	8	2.56 ± 0.29 <sup>2)</sup>	1.04 ± 0.09 <sup>2)</sup>	1.12 ± 0.03 <sup>2)</sup>	0.60 ± 0.04 <sup>2)</sup>	53.31 ± 1.85 <sup>2)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ (表 2~3 同)。



A. 正常组; B. 模型组; C. 补阳还五汤  $10 g \cdot kg^{-1}$  组; D. 补阳还五汤  $20 g \cdot kg^{-1}$  组; E. 辛伐他汀  $0.6 mg \cdot kg^{-1}$  组; F. 补阳还五汤  $10 g \cdot kg^{-1}$  预防组

图 1 补阳还五汤对大鼠血管形态学的影响(HE,  $\times 100$ )

Fig. 1 Effects of Buyang Huanwu Tang on neovascular morphologic in rats (HE,  $\times 100$ )

**3.3 对大鼠主动脉 Rho 激酶及 PAI-1 mRNA 表达的影响** 与正常组比较, 模型组大鼠主动脉 Rho 激酶 mRNA 及 PAI-1 mRNA 表达明显升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 补阳还五汤高、低剂量组、辛伐他汀组、补阳还五汤预防组均能明显降低大鼠主动脉 Rho 激酶 mRNA 及 PAI-1 mRNA 表达 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 补阳还五汤预防组优于补阳还五汤低剂量治疗组。见表 2。

表 2 补阳还五汤对大鼠主动脉 Rho 激酶及 PAI-1 mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Effects of Buyang Huanwu Tang on Rho kinase and PAI-1 mRNA in rat aortic ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	n	Rho 激酶/ /GAPDH	PAI-1/ /GAPDH
正常	-	9	0.23 ± 0.03 <sup>2)</sup>	0.90 ± 0.01 <sup>2)</sup>
模型	-	10	2.89 ± 0.03	2.65 ± 0.05
补阳还五汤	10	10	2.11 ± 0.02 <sup>1)</sup>	1.79 ± 0.02 <sup>1)</sup>
	20	8	1.40 ± 0.01 <sup>2)</sup>	0.95 ± 0.01 <sup>2)</sup>
辛伐他汀	0.000 6	7	1.49 ± 0.05 <sup>2)</sup>	1.02 ± 0.03 <sup>2)</sup>
补阳还五汤预防	10	8	1.64 ± 0.05 <sup>2)</sup>	1.06 ± 0.01 <sup>2)</sup>

**3.4 对大鼠主动脉 eNOS mRNA 表达的影响** 与正常组比较, 大鼠主动脉 eNOS mRNA 表达明显升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 补阳还五汤高、低剂量组、辛伐他汀组、补阳还五汤预防组均能明显降低大鼠主动脉 Rho 激酶 mRNA 及 PAI-1 mRNA 表达 ( $P < 0.01$ ), 补阳还五汤预防组优于补阳还五汤低剂量治疗组。见表 3。

#### 4 讨论

AS 的形成包括一系列复杂的病理变化: 内皮细胞功能不良与损伤, 黏附分子的异常表达, 单核细胞聚集, 白细胞黏附及迁移, ox-LDL 被巨噬细胞摄取、泡沫细胞形成, 平滑肌细胞的迁移和增殖, 最终形成粥样斑块。其中, 内皮细胞 (EC) 受损是 AS 发生的始动因素, 血管平滑肌细胞 (VSMC) 的增殖和迁移在 AS 中起到重要的作用<sup>[7]</sup>。

PAI-1 不仅参与纤维蛋白的溶解, 而且也能促进 AS 的形成。在鼠离体平滑肌细胞实验中, 抑制

表 3 补阳还五汤对大鼠主动脉 eNOS mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 3 Effects of Buyang Huanwu Tang on eNOS mRNA in rat aortic ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	n	eNOS/GAPDH
正常	-	9	2.52 ± 0.07 <sup>2)</sup>
模型	-	10	0.85 ± 0.04
补阳还五汤	10	10	1.15 ± 0.10 <sup>1)</sup>
	20	8	1.69 ± 0.05 <sup>2)</sup>
辛伐他汀	0.000 6	7	1.60 ± 0.02 <sup>2)</sup>
补阳还五汤预防	10	8	1.70 ± 0.03 <sup>2)</sup>

Rho 激酶的活性可完全抑制血管紧张素 II 诱导的平滑肌细胞 PAI-1 mRNA 的向上调节, Rho 激酶可能通过向上调节 PAI-1 的表达, 促进动脉粥样硬化的发生和发展<sup>[8]</sup>。ROCK 还可通过多种机制使内皮细胞来源的一氧化氮(NO)生成减少。NO 在调节血管张力、抑制平滑肌细胞增殖、血小板聚集和防止白细胞向血管壁的黏附等促进 AS 形成的过程中发挥重要作用。eNOS 的表达增多或活性增强, 可促使 NO 产生增多。ROCK 激活可通过减弱 eNOS mRNA 的稳定性而使 eNOS 表达减少, 从而减少 NO<sup>[9]</sup>。

中医认为动脉粥样硬化的基本特征是本虚标实, 气虚血瘀是动脉粥样硬化的临床常见证型, 益气活血能明显改善临床症状。补阳还五汤为益气活血的代表方剂, 能够提高组织耐氧的能力, 改善微循环; 降低血脂, 改变血液流变学的性质; 降低纤维蛋白原、抗血小板聚集; 扩张血管; 抗血栓形成及预防血栓再发, 具有多靶点抗动脉粥样硬化作用<sup>[10-11]</sup>。本研究通过检测大鼠主动脉 Rho 激酶 mRNA, PAI-1, eNOS mRNA 水平及血脂水平, 发现用补阳还五汤高剂量干预及低剂量预防后均可显著降低高脂饲料诱导的大鼠主动脉 Rho 激酶 mRNA 及 PAI-1 mRNA 表达水平, 上调 eNOS mRNA 表达水平, 同时可调节优化血脂水平, 作用优于补阳还五汤低剂量治疗组, 同降血脂药物辛伐他汀效果相仿。

本实验证实, 益气活血方剂补阳还五汤具有抗动脉粥样硬化作用, 抑制 Rho 激酶 mRNA, PAI-1 mRNA 表达及上调 eNOS mRNA 表达水平可能是其机制之一, 从而为中医药防治动脉粥样硬化提供客观微观依据及临床药理佐证。

[参考文献]

[1] 王鹏, 修春红, 王岚峰. 颈动脉粥样硬化与心脑血管疾病的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2014, 22(11): 1175-1178.

[2] 骆丽娟. 益气补肾活血方治疗颈动脉粥样硬化的临床观察[J]. 辽宁中医杂志, 2011, 38(2): 311-312.

[3] 王椿野, 赵振武, 李新龙, 等. 基于现代文献的动脉粥样硬化中医病机研究[J]. 环球中医药, 2013, 6(2): 92-95.

[4] 张红珍, 陈燕清, 耿艳军. 动脉粥样硬化大鼠主动脉血管细胞黏附分子 1mRNA 表达与补阳还五汤的干预[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(15): 2776-2779.

[5] 陈燕清, 张红珍. 补阳还五汤对动脉粥样硬化大鼠模型 C 反应蛋白的影响[J]. 中国中医急症, 2011, 20(4): 592-593.

[6] 张红珍, 李丽. 补阳还五汤对动脉粥样硬化模型基质金属蛋白酶表达量的影响[J]. 中国中医急症, 2008, 14(4): 649-651.

[7] 吴先杰, 王永霞. 动脉粥样硬化发生机制研究现状及思路[J]. 中国实用诊断与治疗杂志, 2012, 26(7): 629-631.

[8] 席静, 张玉东. Rho/Rho 激酶与动脉粥样硬化的研究进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2010, 12(10): 955-956.

[9] 马志红. Rho 信号通路对大鼠动脉粥样硬化形成的影响及法舒地尔的心血管保护作用[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2011: 80.

[10] 翟丽莉, 吕建华. 补阳还五汤的药理研究与临床新用[J]. 中国中医药现代远程教育, 2009, 7(2): 9-10.

[11] 李军, 王朝阳. 补阳还五汤对急性脑缺血大鼠血管新生影响的实验研究[J]. 中国中医急症, 2011, 20(2): 273-274.

[责任编辑 周冰冰]