

益气滋阴、活血通络方干预动脉粥样硬化 相关炎症因子的表达

李启玉¹, 李芳^{2*}, 徐丽², 杨春英², 高崇于²

(1. 贵阳中医学院, 贵阳 550002; 2. 贵阳中医学院第二附属医院, 贵阳 550003)

[摘要] **目的:**探讨益气滋阴、活血通络方(简称中药复方)防治动脉粥样硬化的临床疗效及作用机制。**方法:**将符合诊断标准的150例患者,随机分为阿托伐他汀对照组(30例),中药复方小、中、高剂量观察组(各40例)。治疗0,4,8周后,观察各组颈动脉中内膜厚度(intima media thickness, IMT),白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6),肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α),基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)的变化情况。**结果:**与阿托伐他汀对照组相比较,中药复方小剂量组IMT, IL-6, TNF- α , MMP-9均显著升高($P < 0.05$),而中药复方中、高剂量组均无显著性差异;中药复方小剂量组组内比较,IMT, IL-6, TNF- α , MMP-9均无显著性差异,中、高剂量组组内比较均有显著性差异($P < 0.05$)。**结论:**中药复方具有防治动脉粥样硬化的作用,可能是通过抗炎来完成,且量效、时效分别呈正相关。

[关键词] 益气滋阴; 活血通络; 白细胞介素-6; 肿瘤坏死因子- α ; 基质金属蛋白酶-9; 动脉粥样硬化

[中图分类号] R287.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)02-0156-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016020156

Yiqi Ziyin Huoxue Tongluo Prescription Intervenes Expressions of Atherosclerosis Related Inflammatory Cytokines

LI Qi-yu¹, LI Fang^{2*}, XU Li², YANG Chun-ying², GAO Chong-yu²

(1. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine (TCM), Guiyang 550002, China;

2. Second Affiliated Hospital Guiyang College of TCM, Guiyang 550003, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the clinical effect and mechanism of Yiqi Ziyin Huoxue Tongluo prescription (referred to as Chinese medicine compound) in treating atherosclerosis. **Method:** One hundred and fifty patients which meet the diagnosis standard were randomly divided into atorvastatin group (30 cases), Chinese medicine compound low (40 cases), middle (40 cases) and high dose groups (40 cases). After treating for 0, 4, 8 weeks, the changes of intima media thickness (IMT), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) were compared among the groups. **Result:** Compared to atorvastatin group, IMT, IL-6, TNF- α , MMP-9 in Chinese medicine compound low dose group were significantly increased ($P < 0.05$), however, there was no significant difference in Chinese medicine compound middle and high dose groups; IMT, IL-6, TNF- α , MMP-9 showed no significant difference within Chinese medicine compound low dose group, but showed significant difference within Chinese medicine compound middle and high dose groups ($P < 0.05$). **Conclusion:** Chinese medicine compound can prevent and treat atherosclerosis, whose mechanism may be related to anti-inflammatory, and its dose-effect relationship and time-effect relationship are positively correlated respectively.

[Key words] Yiqi Ziyin; Huoxue Tongluo; interleukin-6; tumor necrosis factor- α ; matrix metalloproteinase-9; atherosclerosis

[收稿日期] 20150803(003)

[基金项目] 贵州省科技厅项目(黔科合SY字[2012]3110)

[第一作者] 李启玉, 硕士, 从事心血管系统疾病动脉粥样硬化的中医药防治与科学研究, Tel:18786719572, E-mail:liqiyu1985@126.com

[通讯作者] *李芳, 主任医师, 从事心血管系统的中医药治疗研究, Tel:13518504799, E-mail:564494959@qq.com

目前,大量研究已经证实动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是一种慢性炎症反应性疾病,炎症贯穿了AS发生和发展的全过程,各个阶段都有炎症细胞及炎症因子的参与^[1]。近年来炎症致AS的机制得到进一步阐明,现已确定白细胞介素家族, C-反应蛋白, 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α), 基质金属蛋白酶家族, TOLL样受体(TLR)等^[2-3]相关炎症因子贯穿了其整个发病过程。人们也认识到合理调节这些炎症因子能够有效减轻炎症,对于延缓甚至逆转AS具有重要意义。然而循证医学显示,针对AS炎症治疗方面的化学合成药临床疗效并不确切且有肝损害、出血、横纹肌溶解等副作用,不适合预防用药及长期应用。针对西药治疗AS炎症方面的种种缺憾,众多学者将眼光投向了具有全面调节机体机能并多途径、多环节、多靶点干预的优势且副作用小的中医药,并取得了可喜的成就。但临床上尚缺乏系统的大规模的实验研究及有力的分子生物学诠释,故而利用中药抗炎治疗是否能作为AS疾病治疗的新策略尚有待进一步研究。基于此,课题组在多年临床实践及研究基础上,选择原发性高血压患者(AS的独立危险因素)为对象,以有效预测粥样硬化性改变的“窗口”-颈动脉中内膜厚度(intima media thickness, IMT)^[4]为切入点,进行了旨在探讨益气滋阴、活血通络中药(以下简称中药复方)对炎症相关因子白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6), TNF- α , 基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)表达水平的影响,初步探讨中药防治AS的作用及机制,并期为中医中药防治AS的科学性和有效性提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取贵阳中医学院第二附属医院心血管内科2013年6月—2014年12月门诊及住院原发性高血压患者150例,随机分为中药复方小剂量观察组40例,男21例,女19例,平均年龄(3.75±9.43)岁,平均病程(6.99±4.84)年,平均IMT(0.96±0.07) mm, IL-6(0.86±0.10) ng·L⁻¹, TNF- α (1.14±0.13) μ g·L⁻¹, MMP-9(138.60±8.72) μ g·L⁻¹, 平均动脉压(111.23±6.66) mmHg(1 mmHg=0.133 kPa), 中剂量观察组40例,男21例,女19例,平均年龄(60.55±11.40)岁,平均病程(6.68±5.27)年,平均IMT(0.97±0.05) mm, IL-6(0.91±0.17) ng·L⁻¹, TNF- α (1.15±0.22) μ g·L⁻¹, MMP-9(144.63±12.86) μ g·L⁻¹, 平均动脉压(110.13±7.34) mmHg;高剂量观察组40例,男20

例,女20例,平均年龄(62.70±9.18)岁,平均病程(7.08±4.84)年,平均IMT(0.97±0.07) mm, IL-6(0.90±0.11) ng·L⁻¹, TNF- α (1.17±0.11) μ g·L⁻¹, MMP-9(143.56±13.60) μ g·L⁻¹, 平均动脉压(109.36±8.74) mmHg;阿托伐他汀对照组30例,男16例,女14例,平均年龄(63.30±9.52)岁,平均病程(7.07±4.16)年,平均IMT(0.96±0.07) mm, IL-6(0.88±0.09) ng·L⁻¹, TNF- α (1.12±0.13) μ g·L⁻¹, MMP-9(145.45±13.05) μ g·L⁻¹, 平均动脉压(109.65±9.12) mmHg。4组患者的一般资料差异均无统计学意义,具有可比性。该项临床观察已通过医学伦理委员会审批。

1.2 诊断标准 高血压病的诊断标准按照《中国高血压防治指南2010》执行即非同日3次测量血压,收缩压 \geq 140 mmHg和(或)舒张压 \geq 90 mmHg,或既往有高血压病史,血压虽低于140/90 mmHg,但目前正在使用降压药物;根据中国高血压防治指南2010^[5],以颈动脉超声IMT \geq 0.9 mm作为颈动脉内膜增厚或动脉粥样斑块指标;参照《中药新药治疗高血压病、冠心病的临床研究指导原则》,中医辨证为气阴两虚、瘀血阻络证候,患者临床表现为:头痛、眩晕、胸闷、心悸、耳鸣、气短乏力、腰膝酸软、失眠、口干、舌质红少苔、脉细数等。

1.3 纳入标准 符合上述西医诊断标准及中医证候气阴两虚、瘀血阻络诊断标准;参照《中药新药治疗高血压病临床研究指导原则》以II期高血压合并IMT \geq 0.9 mm为主要观察对象;年龄43~84岁;了解本项课题的目的,并同意参与本课题研究,积极配合治疗,签署知情同意书;治疗前停用影响疗效判断的相关治疗药物,时间达3周及以上。

1.4 排除标准 不符合上述西医诊断标准及中医证候气阴两虚、瘀血阻络诊断标准;重度性休克、严重性心律失常、梗阻性心肌病、未修补的瓣膜病、肺栓塞、有明显感染者及没有控制的高血压等严重并发症者,均不入选。

1.5 治疗 在运用钙离子拮抗剂苯磺酸氨氯地平(辉瑞制药有限公司,国药准字H10950224)5 mg,每日1次(据血压调整剂量),控制血压基础上随机分为4组,阿托伐他汀对照组:给予阿托伐他汀20 mg(辉瑞制药有限公司,国药准字H20051408),每日1次,治疗8周;益气滋阴、活血通络复方小剂量组给予黄芪30 g,当归3 g,赤芍3 g,地龙3 g,川芎3 g,红花3 g,桃仁3 g,牡丹皮3 g,地黄5 g,山茱萸5 g,山药5 g,茯苓5 g,泽泻5 g,黄精5 g,葛根5 g;益气滋

阴、活血通络复方中剂量组予黄芪 60 g, 当归 6 g, 赤芍 6 g, 地龙 6 g, 川芎 6 g, 红花 6 g, 桃仁 6 g, 牡丹皮 6 g, 地黄 10 g, 山茱萸 10 g, 山药 10 g, 茯苓 10 g, 泽泻 10 g, 黄精 10 g, 葛根 10 g; 益气滋阴、活血通络复方大剂量组予黄芪 12 g, 当归 12 g, 赤芍 12 g, 地龙 12 g, 川芎 12 g, 红花 12 g, 桃仁 12 g, 地黄 20 g, 山茱萸 20 g, 牡丹皮 20 g, 山药 20 g, 茯苓 20 g, 泽泻 20 g, 黄精 20 g, 葛根 20 g。每日 1 剂, 水煎为 150 mL, 平均分为 3 次饭后温服。治疗 8 周。上述药物由贵阳中医学院第二附属医院药房提供, 其中中药由中药房代煎, 分批包装发送给患者, 以保证质量并提高患者依从性。用药过程中各组均禁止使用其他治疗 AS 的中药和西药, 以及与该病治疗相关的其他治疗手段, 力戒烟酒, 调畅情志。

1.6 观察指标 分别于治疗 0, 4, 8 周检测 IMT, IL-6, TNF- α , MMP-9 变化情况。

1.7 统计学处理 采用统计学软件 SPSS 19.0 对数据进行分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$, 组内、组间比较用单组、多组重复测量设计资料的方差分析, 若资料满足 Huynh-Feldt 条件, 则用一元方差分析, 若不满足 Huynh-Feldt 条件, 则用多元方差分析或混合模型来分析, 并用 LSD 法进行多重比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组患者 IMT 治疗 0, 4, 8 周变化比较 与

表 2 4 组患者 IL-6, TNF- α , MMP-9 治疗 0, 4, 8 周变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of IL-6, TNF- α , MMP-9 in 4 groups after treatment for 0, 4, 8 weeks ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | IL-6/ng·L ⁻¹ | | | TNF- α / μ g·L ⁻¹ | | | MMP-9/ μ g·L ⁻¹ | | |
|---------|----|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| | | 0 周 | 4 周 | 8 周 | 0 周 | 4 周 | 8 周 | 0 周 | 4 周 | 8 周 |
| 对照 | 30 | 0.88 ± 0.09 | 0.70 ± 0.09 ^{1,2)} | 0.41 ± 0.05 ^{1,2)} | 1.12 ± 0.13 | 0.79 ± 0.11 ^{1,2)} | 0.49 ± 0.09 ^{1,2)} | 145.45 ± 13.05 | 114.70 ± 10.11 ^{1,2)} | 89.55 ± 8.14 ^{1,2)} |
| 中药复方小剂量 | 40 | 0.86 ± 0.10 | 0.88 ± 0.16 | 0.91 ± 0.19 | 1.14 ± 0.13 | 1.16 ± 0.14 | 1.19 ± 0.18 | 138.60 ± 8.72 | 138.12 ± 7.94 | 139.85 ± 8.19 |
| 中药复方中剂量 | 40 | 0.91 ± 0.17 | 0.71 ± 0.16 ^{1,2)} | 0.44 ± 0.07 ^{1,2)} | 1.15 ± 0.22 | 0.88 ± 0.14 ^{1,2)} | 0.56 ± 0.11 ^{1,2)} | 144.63 ± 12.86 | 114.90 ± 10.13 ^{1,2)} | 93.42 ± 7.66 ^{1,2)} |
| 中药复方高剂量 | 40 | 0.90 ± 0.11 | 0.55 ± 0.20 ^{1,2)} | 0.41 ± 0.05 ^{1,2)} | 1.17 ± 0.11 | 0.74 ± 0.06 ^{1,2)} | 0.50 ± 0.08 ^{1,2)} | 143.56 ± 13.60 | 111.15 ± 13.17 ^{1,2)} | 89.37 ± 9.90 ^{1,2)} |

3 讨论

高血压作为 AS 的独立危险因素, 越来越多的证据表明^[6-7], 其主要通过炎症机制促进和加速 AS 的发生与发展。高血压患者肾素-血管紧张素-醛固酮系统过度激活, 致多种缩血管活性物质分泌增多, 血管发生炎症反应, 单核-巨噬细胞被激活, 产生大量 IL-6, TNF- α , MMP-9, 升高的血管紧张素 II 刺激平滑肌细胞上血小板源性生长因子的生成增加, 促进 IL-6, TNF- α , MMP-9 的释放^[8-9], 致高血压患者 IL-6, TNF- α , MMP-9 显著升高, 而它们对于 AS 的发生、发展起着重要作用。研究证明, TNF- α 是与 AS 的发

阿托伐他汀对照组同期相比较, 中药复方小剂量组 IMT 显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而中药复方中剂量组、高剂量组 IMT 差异均无统计学意义; 中药复方小剂量组组内不同期依次相比较, IMT 差异均无统计学意义; 中药复方中、高剂量组组内不同期依次比较, IMT 降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 4 组患者 IL-6, TNF- α , MMP-9 不同时间水平变化比较 与阿托伐他汀对照组同期相比较, 中药复方小剂量组 IL-6, TNF- α , MMP-9 均升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 而中药复方中剂量组、高剂量组 IL-6, TNF- α , MMP-9 差异无统计学意义; 中药复方小剂量组组内不同期依次比较, IL-6, TNF- α , MMP-9 差异无统计学意义; 中药复方中、高剂量组组内不同期依次相比较, IL-6, TNF- α , MMP-9 均下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 4 组患者 IMT 治疗 0, 4, 8 周变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of IMT in 4 groups after treatment for 0, 4, 8 weeks ($\bar{x} \pm s$) mm

| 组别 | 例数 | 0 周 | 4 周 | 8 周 |
|---------|----|-------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 对照 | 30 | 0.96 ± 0.07 | 0.87 ± 0.07 ^{1,2)} | 0.81 ± 0.06 ^{1,2)} |
| 中药复方小剂量 | 40 | 0.96 ± 0.07 | 0.96 ± 0.10 | 0.96 ± 0.10 |
| 中药复方中剂量 | 40 | 0.97 ± 0.05 | 0.88 ± 0.10 ^{1,2)} | 0.79 ± 0.09 ^{1,2)} |
| 中药复方高剂量 | 40 | 0.97 ± 0.07 | 0.85 ± 0.07 ^{1,2)} | 0.76 ± 0.10 ^{1,2)} |

注: 与本组不同期比较¹⁾ $P < 0.05$; 与小剂量组治疗 4, 8 周比较²⁾ $P < 0.05$ (表 2 同)。

生发展、血栓的形成和斑块的破裂密切相关的前炎症细胞因子, 能够加快低密度脂蛋白 (LDL) 的胞转作用^[10], 抑制一氧化氮合酶的生成、刺激内皮细胞表达黏附分子等导致血管内皮功能紊乱^[11-12], 促进 AS 的发生, TNF- α 又刺激 AS 发病机制和临床进程中关键性致炎性细胞因子 IL-6 的产生, IL-6 释放增加, 协同 TNF- α 可形成免疫复合物沉积于血管内皮导致血栓形成, 使内皮功能进一步损伤^[13-14], 两者又同时刺激巨噬细胞分泌 MMP-9, MMP-9 导致细胞外基质的降解, 使斑块表面纤维帽变薄, 同时在斑块肩部易损区大量分泌降低斑块抗应力的作用^[15], 使

斑块易于破裂,造成临床事件。

辨证论治是中医的精髓和原则,课题组经过多年临床实践,融汇众多专家学者观点,认为本病病起于正气亏虚,累及肝、脾、肾,随着病情进展,终演变为气阴两虚、瘀血阻络,故治疗以益气滋阴、活血通络之法贯穿其始终。笔者以上述认识为依据,以补阳还五汤为基础进行加减,总结出治疗 AS 的有效方剂一益气养阴、活血通络方,验之临床效果显著。方中黄芪是补阳还五汤的君药,具有补气升阳功效,以使气旺则血行;赤芍为臣药,具有清热凉血、通经功效;归尾为佐药,具有补血活血而不伤血的作用;川芎、地龙、桃仁、红花这 4 味药物为使药,川芎具有活血行气功效;地龙有活血化瘀、平肝息风、通经活络的功效。同时辅以六味地黄丸药物成分以滋补肝肾,加用葛根、黄精养阴生津、补脾益气。全方共奏益气滋阴、活血通络之功效。

本研究结果显示在钙离子拮抗剂苯磺酸氨氯地平控制血压基础上,中药复方中剂量组、高剂量组降低 IL-6, TNF- α , MMP-9 方面无显著性差异,与阿托伐他汀对照组疗效相当,但优于同期小剂量组,表明该中药复方防治 AS 在量效关系方面呈正相关;中剂量组、高剂量组组内不同期相比较,随着疗程的延长,IL-6, TNF- α , MMP-9 降低愈明显,表明该中药复方防治 AS 在时效方面呈正相关。

高血压时,血压升高可导致血管壁张力及切应力发生改变,使得动脉内膜易损伤,易于形成动脉粥样斑块,而早期动脉粥样硬化的病理改变主要累及动脉内膜,表现为 IMT 的改变而并非管腔的狭窄。故而,早期粥样硬化病变(脂纹阶段)可表现出能被超声检出的 IMT 增加,此外,IMT 的改变除与高血压因素外,与炎症相关因子密切相关。本研究结果显示在联用钙离子拮抗剂苯磺酸氨氯地平控制血压基础上,中药复方中、高剂量组能够有效改善 IMT,与阿托伐他汀对照组疗效相当,并在量效、时效方面呈正相关,对早期粥样硬化病变具有治疗效果。

综上所述,上述研究结果是在钙离子拮抗剂控制血压基础上得出的,虽钙离子拮抗剂有相应的抗 AS 作用,但联用中药复方后,能够显著降低炎症因子,改善 IMT,表明该中药复方有抗 AS 作用,可能是通过抗炎来完成,且量效、时效分别呈正相关关系,并与阿托伐他汀对照组疗效相当,但没有他汀类相关的肝肾功能损害、横纹肌溶解等副作用,值得在临床上推广应用。

[参考文献]

- [1] Ileana M, Maya S. Inflammation in atherosclerosis; a cause or a result of vascular disorders? [J]. *J Cell Mol Med*, 2012, 16(9):1981-1987.
- [2] Dereck S, Ulf B. Inflammation and immune system contribution to the etiology of atherosclerosis [J]. *Nursing Research*, 2014, 63(5):375-379.
- [3] Anthony S, Jaipersad B A, Gregory Y H, et al. The role of monocytes in angiogenesis and atherosclerosis [J]. *J A Coll Cardiol*, 2014, 63(1):5-7.
- [4] Lorenz M W, Markus H S, Bots M L, et al. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima thickness: a systematic review and meta-analysis [J]. *Circulation*, 2007, 115(4):459-467.
- [5] 中国高血压防治指南修订委员会. 中国高血压防治指南, 2010 [J]. *中华高血压杂志*, 2011, 19(8):709-710.
- [6] Grundy S M. Inflammation, hypertension, and the metabolic syndrome [J]. *JAMA*, 2003, 290(22):3000-3002.
- [7] Madhu V S, Mark W C, Sailesh C H, et al. The immune system and hypertension [J]. *Immunologic Research*, 2014, 29(1/3):243-253.
- [8] Shandelya S M, Kuppusamy P, Weisfeldt M L, et al. Evaluation of the role of polymorphonuclear leukocytes on contractile function in myocardial reperfusion injury evidence for plasma-mediated leukocyte activation [J]. *Circulation*, 2001, 106(10):536-538.
- [9] 丁东新, 薛冰, 沈琪, 等. 老年原发性高血压患者 IL-6, TNF- α 水平与血压、颈动脉粥样硬化的关系 [J]. *同济大学学报:医学版*, 2013, 34(5):61-64.
- [10] Zhang Y Z, Yang X Y, Bian F, et al. TNF- α promotes early atherosclerosis by increasing transcytosis of LDL across endothelial cells: Crosstalk between NF-KB and PPAR-r [J]. *J Mol Cell Card*, 2014(72):92-94.
- [11] Kleemann R, Zadelara S, Kooistra T. Cytokines and atherosclerosis: a comprehensive review of studies in mice [J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 79(3):360-376.
- [12] Zhang H, Park Y, Wu J, et al. Role of TNF-alpha in vascular dysfunction [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2009, 116(3):219-230.
- [13] 李婕, 方祝元, 蒋卫民. 炎症因子与原发高血压的关系及中药干预研究进展 [J]. *江苏中医药*, 2013, 45(2):76-79.
- [14] 牟永成, 侯秀丽. 炎症因子与动脉粥样硬化 [J]. *新疆医学*, 2013, 43(2):82-84.
- [15] 李丹, 姜一农. 基质金属蛋白酶在动脉粥样硬化斑块中的表达 [J]. *中国基层医药*, 2010, 17(3):289-290.

[责任编辑 邹晓翠]