

复方冬虫夏草口服液对载脂蛋白E基因敲除小鼠动脉粥样硬化的影响^Δ

胡抗远^{1,2*}, 王全兴³, 鲍蕾蕾^{2,3}, 曹志伟³, 卞俊^{2#}(1.蚌埠医学院药学院,安徽蚌埠 233030;2.解放军第411医院药学科,上海 200434;3.海军军医大学基础部免疫学教研室,上海 200433)

中图分类号 R972;R543.5;R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)14-1912-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.14.10

摘要 目的:观察复方冬虫夏草口服液对载脂蛋白E基因敲除(*ApoE*^{-/-})小鼠动脉粥样硬化(AS)的影响,并探讨其作用机制。方法:将45只雄性*ApoE*^{-/-}小鼠随机分为模型组(生理盐水)、阳性对照组(阿托伐他汀,5 mg/kg)和复方冬虫夏草口服液低、中、高剂量组(0.4、1.2、3.6 g/kg,以生药量计),每组9只;另取9只雄性C57BL/6J小鼠作为空白对照组(生理盐水)。除空白对照组小鼠给予普通饲料外,其余各组小鼠均给予高脂饲料以复制AS模型,并于造模同时每天灌胃给药1次,连续8周。末次给药后,分离血清,检测各组小鼠血清中总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平;分离胸主动脉及主动脉窦,以油红O染色,检测胸主动脉斑块损伤面积比(即胸主动脉斑块面积与胸主动脉总面积的比值)和主动脉窦脂质损伤面积比(即主动脉窦脂质沉积面积与主动脉窦管腔总面积的比值);采用免疫组化法测定主动脉窦巨噬细胞表达量(即巨噬细胞阳性表达面积与斑块面积的比值)。结果:与空白对照组比较,模型组小鼠血清TC、TG、LDL-C水平显著升高,HDL-C水平显著下降($P<0.01$);胸主动脉斑块形成明显,主动脉窦脂质沉积明显增多,其斑块损伤面积比和脂质损伤面积比均显著升高($P<0.01$);主动脉窦巨噬细胞阳性表达明显增加,其表达量显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,各给药组小鼠血清TC、TG、LDL-C水平均显著降低,HDL-C水平均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);胸主动脉斑块面积及主动脉窦脂质沉积明显减少,其斑块损伤面积比和脂质损伤面积比均显著下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$);主动脉窦巨噬细胞浸润明显减少,其表达量显著下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论:复方冬虫夏草口服液可抑制AS斑块形成,其机制可能与降低血清TC、TG、LDL-C水平,缩小胸主动脉斑块面积,减少主动脉窦脂质沉积和巨噬细胞浸润有关。

关键词 复方冬虫夏草口服液;载脂蛋白E基因敲除小鼠;动脉粥样硬化;血脂;斑块;脂质沉积;巨噬细胞

Effects of Compound Dongchong Xiacao Oral Liquid on Atherosclerosis in *ApoE* Knock-out Mice

HU Kangyuan^{1,2}, WANG Quanxing³, BAO Leilei^{2,3}, CAO Zhiwei³, BIAN Jun¹(1. School of Pharmacy, Bengbu Medical College, Anhui Bengbu 233030, China; 2. Dept. of Pharmacy, No. 411 Hospital of PLA, Shanghai 200434, China; 3. Dept. of Immunology, Basic Medicine Section, Navy Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To observe the effects of Compound dongchong xiacao oral liquid on atherosclerosis (AS) in *ApoE* knock-out (*ApoE*^{-/-}) mice, and to investigate its mechanism. **METHODS:** Totally of 45 male *ApoE*^{-/-} mice were randomly divided into model group (normal saline), positive group (atorvastatin, 5 mg/kg) and Compound dongchong xiacao oral liquid

- comparison of membrane properties and composition between cell lines selected and transfected for multi-drug resistance[J].*Br J Cancer*, 1992, 66(5): 781-786.
- [6] 杨彩云, 曹长乾, 蔡垚, 等. 铁蛋白表面修饰及应用[J]. 化学进展, 2016, 28(1): 91-102.
- [7] 刘书环. T7修饰的脑胶质瘤靶向共输送纳米递释系统的研究[D]. 上海: 复旦大学, 2012.
- [8] 宫贤阁. α -螺旋抗癌肽L-K6对人乳腺癌MCF-7细胞的内化机制研究[D]. 大连: 辽宁师范大学, 2015.
- [9] 崔福德. 药剂学[M]. 7版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 400.
- [10] OH S, KIM BJ, SINGH NP, et al. Synthesis and anti-cancer activity of covalent conjugates of artemisinin and a transferrin-receptor targeting peptide[J]. *Cancer Lett*, 2009, 274(1): 33-39.
- [11] ILLUM L, HUNNEYBALL IA, DAVIS SS. The effect of hydrophilic coatings on the uptake of colloidal particles by the liver and by peritoneal macrophages[J]. *Int J Pharm*, 1986, 29(1): 53-65.
- [12] 王雪女. 基于去铁蛋白对道诺霉素药物输送体系的构建及其作用于肺癌细胞的研究[D]. 武汉: 华中师范大学, 2014.

^Δ 基金项目: 上海市卫生和计划生育委员会中医药科研专项课题 (No.2016YP002)

* 硕士研究生。研究方向: 中药药理学。电话: 021-65280289。E-mail: hky70890@163.com

通信作者: 主任药师, 教授, 硕士生导师。研究方向: 新药制剂研发。电话: 021-65280289。E-mail: bianjun411@163.com

(收稿日期: 2017-11-09 修回日期: 2018-05-02)

(编辑: 段思怡)

low-dose, medium-dose and high-dose groups (0.4, 1.2, 3.6 g/kg, by crude drug), with 9 mice in each group. Another 9 male C57BL/6J mice were included in blank control group (normal saline). Except blank control group was given common diet, other groups were given high lipid diet to induce AS model and given relevant medicine intragastrically once a day, for consecutive 8 weeks. After last medication, serum was isolated, and the levels of TC, TG, LDL-C and HDL-C were determined. Thoracic aorta and aortic sinus were separated and then stained with oil red O. The ratio of thoracic aortic plaque area (i.e. the ratio of thoracic aortic plaque area to total thoracic aorta area) and the ratio of aortic sinus lipid lesion area (i.e. the ratio of aortic sinus lipid deposition to total area of aortic sinus lumen) were determined. The expression of aortic sinus macrophage (i.e. the ratio of positive expression area of macrophage in plaque area) was determined by immunohistochemical method. RESULTS: Compared with blank control group, the serum levels of TC, TG and LDL-C were increased significantly in model group, while the level of HDL-C was decreased significantly ($P < 0.01$). There were obvious plaque in thoracic aorta and obvious increase of sinus lipid deposition in aortic sinus; the ratio of aortic plaque area and the ratio of aortic sinus lipid lesion area were all increased significantly ($P < 0.01$). The positive expression of aortic sinus macrophage was increased significantly, and its amount was also increased significantly ($P < 0.01$). Compared with model group, the serum levels of TC, TG and LDL-C in administration groups were all decreased significantly, while the level of HDL-C was increased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The plaque area in thoracic aorta and sinus lipid deposition in aortic sinus were decreased, and the ratio of aortic plaque area and the ratio of aortic sinus lipid lesion area were also decreased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The macrophage infiltration of aortic sinus was decreased significantly, and its amount was also decreased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). CONCLUSIONS: Compound dongchong xiacao oral liquid can inhibit the generation of AS plaque, the mechanism of which may be associated with the decrease of TC, TG and LDL-C levels in serum, the decrease of thoracic aorta plaque area, the reduce of aortic sinus lipid deposition and the macrophage infiltration.

KEYWORDS Compound dongchong xiacao oral liquid; *ApoE* knock-out mice; Atherosclerosis; Blood lipid; Plaque; Lipid deposition; Macrophage

血脂代谢异常、炎症细胞浸润是动脉粥样硬化 (Atherosclerosis, AS) 发生、发展的重要原因^[1]。有研究报告,冬虫夏草提取物可降低高脂饲料诱导的肥胖小鼠血清中总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的含量^[2]。复方冬虫夏草口服液是由解放军第411医院自行研制开发的院内制剂,已获得军队非标准制剂批文。该制剂含冬虫夏草、西洋参等药材,经现代提取工艺处理,药材中的虫草素、核苷酸、氨基酸及肽类、虫草多糖、甘露醇、维生素等多种活性成分均被有效保留^[3]。本课题组预实验以高脂饲料喂养的载脂蛋白E基因敲除(*ApoE*^{-/-})小鼠(经高脂饲料持续喂养8周,与同背景下的C57BL/6J普通小鼠相比,*ApoE*^{-/-}小鼠主动脉可形成明显斑块,且病理过程与人相似^[4])为研究对象,采用复方冬虫夏草口服液(0.4 g/kg)连续灌胃8周,结果发现,给药组小鼠血清中TC、TG、LDL-C水平均显著低于模型组,提示复方冬虫夏草口服液可降低其血脂水平;同时有研究发现,冬虫夏草提取物中的虫草素可抑制急性肝损伤中的巨噬细胞、中性粒细胞浸润^[5]。鉴于此,本研究通过高脂饮食诱导复制*ApoE*^{-/-}小鼠AS模型,进一步考察复方冬虫夏草口服液对其AS斑块的影响及其可能的作用机制,以期为该制剂的临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

Epoch型微孔板分光光度计(美国Bio-Tek公司);5424R型离心机(德国Eppendorf公司);HM525型冰冻切片机(美国Thermo Fisher Scientific公司);BX41型荧

光显微镜(日本Olympus公司);Ariol型扫描仪(德国Leica公司);V370型扫描仪(日本Epson公司);9160N型隔水式恒温培养箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

复方冬虫夏草口服液[解放军第411医院药学科提供,批准文号:总制字(2015)F57029,批号:20170110,规格:10 mL(含冬虫夏草、西洋参生药总量160 mg)];阿托伐他汀钙片(商品名:立普妥,辉瑞制药有限公司,批准文号:国药准字H20051408,批号:S36977,规格:20 mg);血脂4项[TC、TG、LDL-C、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)]检测试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号:20170329);油红O(美国Sigma公司);聚乙二醇和聚乙烯醇的水溶性混合物(OCT)冷冻切片包埋剂(美国Sakura公司);小鼠巨噬细胞F4/80抗体(美国Santa Cruz公司);小鼠免疫球蛋白G(IgG)即用型链霉亲和素-生物素复合物(SABC)免疫组织化学试剂盒、二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒(武汉谷歌生物科技有限公司,批号:17125、17163);异丙醇等试剂均为分析纯,水为蒸馏水。

1.3 实验动物及饲料

健康SPF级雄性*ApoE*^{-/-}小鼠,8周龄,体质量20~22 g,由常州卡文斯实验动物有限公司提供[动物使用许可证号:SCXK(苏)2016-0010];健康SPF级雄性C57BL/6J小鼠,8周龄,体质量20~22 g,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供[动物使用许可证号:SYXK(沪)2013-0058]。所有动物均于第二军医大学SPF级动物实验中心饲养,环境温度为21~25℃,每日光照时间为12

h. 高脂饲料[批号:17042003,含40 kcal脂肪(主要为可脂)+1.25%胆固醇,1 kcal=4.19 kJ]购自常州鼠一鼠二生物科技有限公司;普通饲料由第二军医大学SPF级动物实验中心提供。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

45只雄性ApoE^{-/-}小鼠适应性喂养1周后,采用随机数字表法分为模型组、阳性对照组(阿托伐他汀钙片,5 mg/kg^[6])和复方冬虫夏草口服液低、中、高剂量组[0.4、1.2、3.6 g/kg,以冬虫夏草、西洋参生药总量计;根据成人临床推荐剂量的1、3、9倍换算而得],每组9只;另取9只雄性C57BL/6J小鼠作为空白对照组。除空白对照组小鼠给予普通饲料外,其余5组小鼠均给予高脂饲料以复制AS模型。造模同时,各给药组小鼠均灌胃相应药物(均以生理盐水为溶剂),空白对照组和模型组小鼠灌胃等容生理盐水,每天1次,连续8周。

2.2 血脂指标检测

末次给药后,以1%戊巴比妥钠按10 mL/kg的剂量麻醉小鼠,取颈动脉血适量,于4℃下以转速3 000 r/min离心5 min,分离上层血清,备用。分别采用胆固醇氧化酶-过氧化物酶偶联法和甘油磷酸氧化酶-过氧化物酶偶联法(检测波长:510 nm)检测TC、TG水平,采用紫外分光光度法(检测波长:546 nm)检测LDL-C、HDL-C水平。上述指标均使用微孔板分光光度计检测,并严格按照试剂盒说明书操作。

2.3 胸主动脉斑块及主动脉窦脂质沉积检查

采血结束后,从小鼠下腹部向上剖胸,以生理盐水经左心室灌注主动脉,分离胸主动脉,纵向剖开,以油红O染色,胸主动脉组织上的斑块呈红色。用扫描仪扫描,观察胸主动脉斑块形成情况。采用Image-pro Plus 6.0软件测定胸主动脉斑块面积,并计算主动脉斑块损伤面积比(即胸主动脉斑块面积与胸主动脉总面积的比值)。去除心脏及主动脉根部的多余组织,经OCT包埋、液氮冷冻,从主动脉近心端处切片(厚度约10 μm),切片以油红O染色,主动脉窦管腔内的脂质沉积呈深红色。于荧光显微镜下拍照,观察主动脉窦脂质沉积情况。采用Image-pro Plus 6.0软件测定主动脉窦脂质沉积面积,并计算主动脉窦脂质损伤面积比(即主动脉窦脂质沉积面积与主动脉窦管腔总面积的比值)。

2.4 主动脉窦巨噬细胞浸润情况检查

采用免疫组化法定量分析主动脉窦巨噬细胞的浸润情况。取各组小鼠主动脉近心端,置于4%多聚甲醛液中固定,常规石蜡包埋,连续切片(厚度约5 μm)。切片经脱蜡、水化、组织抗原修复后,用磷酸盐缓冲液(PBS, pH为7.2~7.4)清洗,滴加F4/80抗体(1:200),于37℃下孵育2 h。采用免疫组化SABC法,以DAB显色后,用扫描仪扫描并观察巨噬细胞的表达情况(细胞浆中黄色颗粒者为阳性表达)。采用Image-pro Plus 6.0软

件分析主动脉窦巨噬细胞的表达量(即巨噬细胞阳性表达面积与斑块面积的比值)^[7]。

2.5 统计学方法

采用SPSS 16.0软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组小鼠血脂水平检测结果

与空白对照组比较,模型组小鼠血清TC、TG、LDL-C水平显著升高,HDL-C水平显著下降($P < 0.01$);与模型组比较,阳性对照组和复方冬虫夏草口服液低、中、高剂量组小鼠血清TC、TG、LDL-C水平显著下降,HDL-C水平显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),详见表1。

表1 各组小鼠血清TC、TG、LDL-C、HDL-C水平检测结果($\bar{x} \pm s, n=9, \text{mmol/L}$)

Tab 1 Determination results of the serum levels of TC, TG, LDL-C and HDL-C of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=9, \text{mmol/L}$)

组别	TC	TG	LDL-C	HDL-C
空白对照组	3.41±0.41	0.61±0.22	0.35±0.09	2.99±0.50
模型组	25.62±1.10	1.70±0.20*	8.84±1.26*	1.48±0.58*
阳性对照组	19.65±3.46*	1.14±0.33**	6.17±0.97**	2.58±0.32**
复方冬虫夏草口服液低剂量组	23.00±2.04*	1.39±0.16*	7.37±0.93*	2.30±0.66*
复方冬虫夏草口服液中剂量组	21.80±3.68*	1.42±0.21*	6.92±1.13*	2.25±0.56*
复方冬虫夏草口服液高剂量组	20.68±3.98*	1.40±0.14*	6.59±2.02*	2.36±0.57*

注:与空白对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,** $P < 0.05$,*** $P < 0.01$

Note: vs. blank control group, * $P < 0.01$; vs. model group, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$

3.2 各组小鼠胸主动脉斑块损伤面积比检测结果

与空白对照组比较,模型组小鼠胸主动脉斑块形成明显;与模型组比较,阳性对照组和复方冬虫夏草口服液低、中、高剂量组小鼠胸主动脉斑块面积均有所减小,详见图1。统计学分析结果显示,与空白对照组比较,模型组小鼠胸主动脉斑块损伤面积比显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,阳性对照组和复方冬虫夏草口服液低、中、高剂量组小鼠胸主动脉斑块损伤面积比均显著下降,分别下降了34.7%、14.3%、20.7%、22.9% ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),详见表2。

3.3 各组小鼠主动脉窦脂质损伤面积比检测结果

与空白对照组比较,模型组小鼠主动脉窦脂质沉积严重,斑块形成明显;与模型组比较,阳性对照组和复方冬虫夏草口服液低、中、高剂量组小鼠主动脉窦脂质沉积均明显减少,详见图2。统计学分析结果显示,与空白对照组比较,模型组小鼠主动脉窦脂质损伤面积比显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,阳性对照组和复方冬虫夏草口服液低、中、高剂量组小鼠主动脉窦脂质损伤面积比均显著下降,分别下降了39.9%、23.3%、31.8%、32.4% ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),详见表2。

3.4 各组小鼠主动脉窦巨噬细胞浸润情况检查结果

与空白对照组比较,模型组小鼠主动脉窦巨噬细胞阳性表达明显增加;与模型组比较,阳性对照组和复方冬虫夏草口服液低、中、高剂量组小鼠主动脉窦巨噬细胞

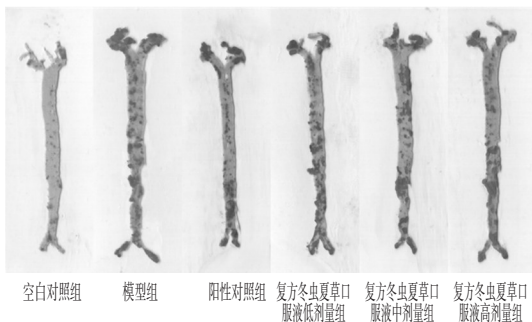


图1 各组小鼠胸主动脉斑块的扫描图($\times 10$)

Fig 1 Scanning diagrams of thoracic aorta plaque of mice in each group ($\times 10$)

表2 各组小鼠胸主动脉斑块损伤面积比、主动脉窦脂质损伤面积比、巨噬细胞表达量的检测结果($\bar{x} \pm s, n=9$)

Tab 2 Determination results of the ratio of thoracic aortic plaque area, the ratio of aortic sinus lipid lesion area and the expression of macrophage of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=9$)

组别	胸主动脉斑块损伤面积比	主动脉窦脂质损伤面积比	巨噬细胞表达量
空白对照组	0.03 \pm 0.01	0.002 \pm 0.001	0.002 \pm 0.002
模型组	0.35 \pm 0.05*	0.30 \pm 0.09*	0.37 \pm 0.07*
阳性对照组	0.23 \pm 0.06**	0.18 \pm 0.05**	0.23 \pm 0.07**
复方冬虫夏草口服液低剂量组	0.30 \pm 0.05*	0.23 \pm 0.06*	0.31 \pm 0.06*
复方冬虫夏草口服液中剂量组	0.28 \pm 0.05*	0.21 \pm 0.07*	0.28 \pm 0.06*
复方冬虫夏草口服液高剂量组	0.27 \pm 0.07*	0.20 \pm 0.04*	0.27 \pm 0.05*

注:与空白对照组比较,* $P<0.01$;与模型组比较,** $P<0.05$,*** $P<0.01$

Note: vs. blank control group, * $P<0.01$; vs. model group, ** $P<0.05$, *** $P<0.01$

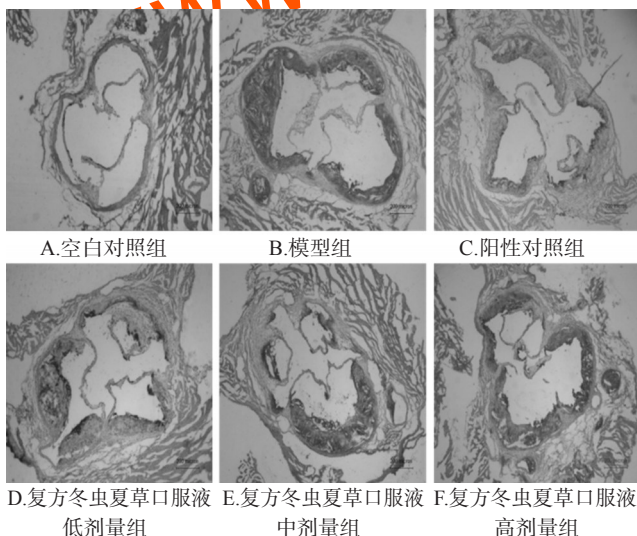


图2 各组小鼠主动脉窦脂质沉积的显微图($\times 20$)

Fig 2 Micrographs of aortic sinus lipid deposition of mice in each group ($\times 20$)

阳性表达均明显减少,详见图3。统计学分析结果显示,与空白对照组比较,模型组小鼠主动脉窦巨噬细胞表达量显著升高($P<0.01$);与模型组比较,阳性对照组和复方冬虫夏草口服液低、中、高剂量组小鼠主动脉窦巨噬细胞表达量均显著下降,分别下降了37.7%、16.2%、23.2%、26.3% ($P<0.05$ 或 $P<0.01$),详见表2。

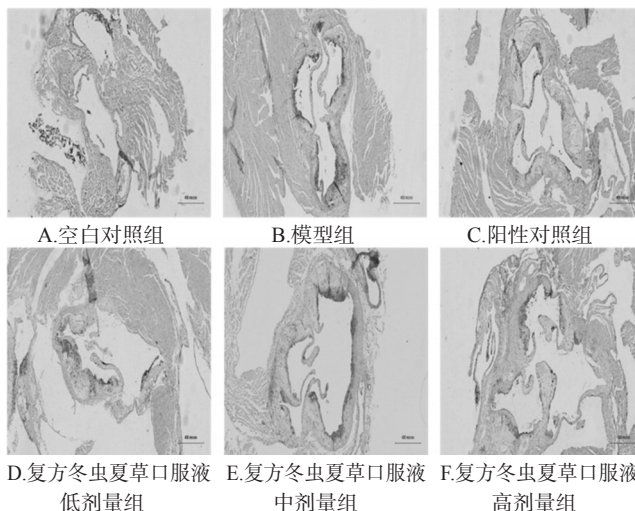


图3 各组小鼠主动脉窦巨噬细胞浸润的扫描图($\times 20$)

Fig 3 Scanning diagrams of aortic sinus macrophage infiltration of mice in each group ($\times 20$)

4 讨论

AS是多因素参与的慢性疾病,典型病变为脂质代谢异常导致的大中动脉脂质沉积、斑块形成、内膜增厚、管腔狭窄^[8]。已有研究证实,调节血脂水平,降低胆固醇水平,尤其是LDL-C的水平,可以减少动脉脂质沉积及斑块形成,改善管腔狭窄,从而降低心脑血管疾病的发病率和病死率^[9]。阿托伐他汀作为一线他汀类调脂药,可改善机体TC、TG、LDL-C水平,已在临床上广泛应用^[10],故本研究将其作为阳性对照药物。复方冬虫夏草口服液由冬虫夏草、西洋参等药材组成。有研究指出,冬虫夏草提取物具有一定的降脂作用^[3],且其中的虫草素可抑制AS斑块的形成^[11];此外,冬虫夏草中含有的大豆脑苷脂可抑制白细胞介素1 β 诱导的炎症模型大鼠的软骨退化及单核细胞浸润^[12]。但有关复方冬虫夏草口服液对AS影响的研究尚少,故本课题组对其进行了相关考察。

本研究结果显示,与空白对照组比较,模型组小鼠血清中TC、TG、LDL-C水平显著上升,HDL-C水平显著降低,提示血脂水平的异常与AS的发生发展有关。经药物干预后,阳性对照组和复方冬虫夏草口服液低、中、高剂量组小鼠血清中TC、TG、LDL-C水平均显著降低,提示复方冬虫夏草口服液可调节小鼠体内的血脂水平,具有一定的抗AS作用,这种作用可能与虫草素、大豆脑苷脂等活性成分有关。同时本研究结果还显示,阳性对照组和复方冬虫夏草口服液低、中、高剂量组小鼠血清中HDL-C水平均显著上升。HDL-C除具抗炎、抗氧化作用

外,还可逆向运输胆固醇至肝脏,降低血清中胆固醇水平,从而发挥抗AS的作用,虽然其不能单独作为治疗AS的靶点,但提高体循环中HDL-C的水平可有助于延缓AS病情进展^[13]。

本研究对小鼠的胸主动脉及主动脉窦进行了油红O染色,并进行了显微观察。结果显示,与空白对照组比较,模型组小鼠胸主动脉斑块形成明显,主动脉窦脂质沉积严重;经药物干预后,阳性对照组和复方冬虫夏草口服液低、中、高剂量组小鼠胸主动脉斑块损伤面积比和主动脉窦脂质损伤面积比均显著下降,提示复方冬虫夏草口服液可缩小胸主动脉斑块面积,并减少主动脉窦脂质沉积。

LDL-C沉积于血管内膜,可刺激内皮细胞分泌黏附分子和趋化因子,在巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)的作用下,单核细胞演变为巨噬细胞;巨噬细胞吞噬体内被氧化的低密度脂蛋白成为充满脂肪的泡沫细胞,后者可促进脂肪存储,从而加快斑块形成^[14]。聚集在AS损伤区域的巨噬细胞迁移能力下降,并可释放过氧化氢和超氧化物羟自由基促进LDL-C氧化;同时,巨噬细胞还可分泌促炎细胞因子和趋化因子,从而导致并维持局部炎症反应^[15]。因此,可通过抑制巨噬细胞聚集至损伤部位来减少其对AS的促进作用。此外,F4/80是巨噬细胞的特异性表面抗原,F4/80抗体的应用为标记主动脉窦中的巨噬细胞提供了理想手段^[14]。本研究结果显示,与空白对照组比较,模型组小鼠主动脉窦巨噬细胞明显增多,其表达量显著升高,提示巨噬细胞参与了AS的进展;经药物干预后,阳性对照组和复方冬虫夏草口服液低、中、高剂量组小鼠主动脉窦巨噬细胞明显减少,其表达量显著下降,提示复方冬虫夏草口服液可通过减轻主动脉窦巨噬细胞浸润来改善AS。

综上所述,本研究初步证明复方冬虫夏草口服液可抑制ApoE-/-小鼠AS斑块的形成,其机制可能与降低其血清中TC、TG、LDL-C水平,缩小胸主动脉斑块面积,减少主动脉窦脂质沉积和巨噬细胞浸润有关。该研究为复方冬虫夏草口服液的临床应用提供了基础药理学依据,但该制剂的具体活性成分及其作用机制仍有待进一步研究。

参考文献

[1] 王新,李春阳,苏立平,等. 动脉粥样硬化发病机制及治疗的研究进展[J]. 实用心脑血管病杂志,2017,25(2): 1-4.

[2] KIM SB, AHN B, KIM M, et al. Effect of Cordyceps militaris extract and active constituents on metabolic parame-

ters of obesity induced by high-fat diet in C58BL/6J mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151(1): 478-484.

- [3] 万朋,高俊涛,吕世杰. 蛹虫草化学成分及药理作用研究进展[J]. 上海中医药杂志,2015,49(6):95-97.
- [4] JAWIEN J, NASTALEK P, KORBUT R. Mouse models of experimental atherosclerosis[J]. *J Physiol Pharmacol*, 2004, 55(3): 503-517.
- [5] LI J, ZHONG L, ZHU H, et al. The protective effect of cordycepin on D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced acute liver injury[J]. *Mediators Inflamm*, 2017. DOI: 10.1155/2017/3946706.
- [6] LIU C, ZHAO J, LIU YX, et al. A novel pentacyclic triterpenoid, lilexgenin A, shows reduction of atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2016. DOI:10.1616/j.intimp.2016.08.024.
- [7] LIM H, NOH JR, KIM YH, et al. Anti-atherogenic effect of *Humulus japonicus* in apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(4): 1101-1110.
- [8] RAFIEIAN-KOPEI M, SETORKI M, DOUDI M, et al. Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes[J]. *Int J Prev Med*, 2014, 5(8): 927-946.
- [9] 杨絮,张勇刚. 低密度脂蛋白C、非高密度脂蛋白C、动脉硬化指数与冠心病严重程度的相关性分析[J]. 汕头大学医学院学报,2016,29(1):27-29.
- [10] 马彩香. 阿托伐他汀钙片对冠心病合并高脂血症调脂疗效观察[J]. 中国实用医药,2015,10(1):79-80.
- [11] LI X, ZHOU Y, ZHANG X, et al. Cordycepin stimulates autophagy in macrophages and prevents atherosclerotic plaque formation in ApoE-/- mice[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(55): 94726-94737.
- [12] LIU SC, CHIU CP, TSAI CH, et al. Soya-cerebroside, an extract of *Cordyceps militaris*, suppresses monocyte migration and prevents cartilage degradation in inflammatory animal models[J]. *Sci Rep*, 2017. DOI:10.1038/srep43205.
- [13] 谭迎,田迪,刘挺榕,等. 高密度脂蛋白亚组分促胆固醇逆转运及抗氧化功能研究[J]. 中国循环杂志,2013,28(1):25-28.
- [14] MOORE KJ, SHEEDY FJ, FISHER EA. Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance[J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(10): 709-721.
- [15] OREKHOV AN, BOBRYSEV YV, CHISTIYAKOV DA. The complexity of cell composition of the intima of large arteries: focus on pericyte-like cells[J]. *Cardiovasc Res*, 2014, 103(4): 438-451.

(收稿日期:2017-12-07 修回日期:2018-05-15)

(编辑:张元媛)