

胸痹通胶囊调节血脂代谢的分子机制研究

孙丽娜 王森林 唐可欣 张俊海 王桂芝

摘要 目的 探讨胸痹通胶囊(XBTC)对高脂血症大鼠血脂代谢的影响及该药降脂作用的分子机制。**方法** ①选取健康成年 Wistar 大鼠 60 只,随机分为正常对照组、高脂对照组和 XBTC 组,每组 20 只。分别饲以基础饲料、高脂饲料和高脂饲料加 XBTC,12 周后取大鼠血清,观察各组大鼠各项血脂指标;②选取健康成年 Wistar 大鼠 40 只,随机分为正常对照组、高脂对照组、XBTC 组、血脂康药物对照组,每组 10 只。正常对照组给予正常饲料喂养;高脂对照组饲以高脂饲料;XBTC 组给予高脂饲料加 XBTC $12\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$;血脂康对照组给予高脂饲料加血脂康 $0.216\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 。连续 30 天后,RT-PCR 法测定大鼠肝低密度脂蛋白受体信使核糖核酸(LDLRmRNA)水平。**结果** ①与正常对照组比较,高脂对照组血清胆固醇、三酰甘油明显升高为 1.83mmol/L 和 1.09mmol/L ,高密度脂蛋白(HDL-C)则明显降低为 2.06mmol/L ($P < 0.05$),经 XBTC 干预后血脂异常得以纠正,血清胆固醇、三酰甘油分别降低为 1.42mmol/L 和 0.70mmol/L ,与高脂对照组比较,均有统计学意义($P < 0.05$);②与高脂对照组比较,XBTC 组能明显提高高脂血症大鼠肝 LDLR mRNA 水平($P < 0.01$);与血脂康组比较无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** XBTC 心肌保护作用的机制可能与降低血脂代谢有关,其机制与明显增加高脂血症大鼠 LDLR 的活性,增强肝 LDLR 基因表达,加快 LDL-C 的清除有关。

关键词 血脂 低密度脂蛋白受体 胸痹通胶囊 大鼠

Study on the Molecular Mechanism of Xiongbotong Capsule in Regulating the Blood Lipid Metabolism. Sun Lina, Wang Senlin, Tang Kexin, Zhang Junhai, Wang Guizhi. Department of Anesthesiology, Weifang Medical College, Shandong 261053, China

Abstract Objective To investigate the effect of xiongbotong capsule on blood lipids metabolism in hyperlipemia rats and study the molecular mechanism of xiongbotong capsule in decreasing serum lipid. **Method** ①60 Wistar rats were divided into three groups randomly: the control group with normal food, hyperlipemia group with rich lipids food and treatment group with rich lipid food plus xiongbotong capsule $12\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$. After 12 weeks, blood sera were taken to observe the effects of xiongbotong capsule. ②40 wistar rats were divided into 4 groups randomly including rats of control group fed with normal diet, rats of high lipid group fed with high fat diet, and rats of xiongbotong capsule group fed with high fat diet and xiongbotong capsule $12\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, and rats of xuezhikang group fed with high fat diet and xuezhikang $0.216\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$. After 30 days, the levels of liver LDLR mRNA were detected by RT-PCR. **Results** ①Compared with the normal control group, there was a significant increase in serum concentration of total cholesterol (TC), triglyceride (TG) (1.83 , 1.09mmol/L) and decrease in HDL (2.06mmol/L , $P < 0.05$). The serum concentration of TC and TG decreased to 1.42 and 0.70mmol/L . ②Compared with the high fat group, the xiongbotong group can significantly increase the gene expression of LDLR mRNA in liver ($P < 0.01$). But there was no significant different between the xiongbotong group and xuezhikang group ($P > 0.05$). **Conclusion** Xiongbotong capsule might have myocardial protective effect by correcting blood lipid. The effect of regulating serum lipid xiongbotong capsule might associate with its increasing the gene expression of liver LDLR and increasing the excretion of serum LDL-C.

Key words Blood lipid; Lower density lipoprotein receptor; Xiongbotong capsule; Rat

随着生活水平的提高,中国冠心病发病率有逐年上升之势,而且年龄也有所提前,青壮年发病率明显增多,且病死率高,是当今社会的常见病和多发病,严重地危害着人类健康。大量流行病学研究证实高血脂是冠心病发生的重要危险因素,通过降低血脂防治

心脑血管疾病的发生已成为共识^[1]。多年来人们都在不断地积极探索着调节血脂的药物,XBTC 是知名老中医王宝光先生以化痰祛瘀、益气养阴、宁心安神为组方原则,经过反复筛选,经正规加工浓缩制成的胶囊。前期的研究表明 XBTC 可通过调节血管活性

基金项目:山东省潍坊市科技局计划课题(2006-2-47)

作者单位:261053 潍坊医学院麻醉学系(孙丽娜、唐可欣、王桂芝);261300 山东省昌邑市人民医院(王森林);261041 山东省潍坊市第二人民医院(张俊海)

物质的失衡而改善心肌血液供应,本研究在观察 XBTC 对脂质代谢的影响基础上,在进一步探讨该药的分子机制。

材料与方法

1. 药品及试剂:XBTC 组方:太子参、云苓、瓜蒌、清夏、橘红、石菖蒲、郁金、炙复花、降香、当归、麦冬、五味子等,以一定比例混合,经水煎、浓缩、烘干、研末制成每粒重 0.5 g,含生药 2.2 g 的胶囊(潍坊市中医院制剂中心加工制作);血脂康胶囊由北京北大维信生物科技有限公司生产;主要试剂 DEPC 为上海生工生物工程有限公司产品;反转录试剂盒为 Promga 公司生产。引物设计及合成由上海生物工程有限公司完成,余为分子生物学常用设备。

2. 实验动物分组及造模:(1)雄性 Wistar 大鼠 60 只(潍坊医学院实验动物中心提供),重量 $220 \pm 22\text{g}$,基础饲料喂养 10 天后,随机分为 3 组,即正常对照组、高脂对照组和 XBTC 组,每组 20 只。正常对照组:进食基础颗粒饲料,普通饮水,基础饲料由潍坊医学院实验动物中心配制。高脂对照组进食高脂饲料,普通饮水。XBTC 组进食高脂饲料加 XBTC12g/(kg·d),普通饮水。实验动物分笼饲养,定量摄食,自由饮水。实验周期为 12 周,实验终期苯巴比妥钠麻醉,腹主动脉取血按要求分离血清进行血脂等各项生化指标的测定,血脂试剂盒由潍坊 3V 生物工程有限公司提供。(2)雄性 Wistar 大鼠 46 只(潍坊医学院实验动物中心提供),体重 $160 \pm 20\text{g}$,普通饲

料喂养 2 周后,采尾血测定血清总胆固醇和三酰甘油,剔除血脂异常动物 6 只后,随机分为正常对照组、高脂对照组、XBTC 组和血脂康药物对照组,每组 10 只。①正常对照组:进食基础颗粒饲料,普通饮水,基础饲料由潍坊医学院实验动物中心配制,组成:面粉 25%、麸皮 10%、玉米面 25%、豆粕 22%、鱼骨粉 10%、草粉 7%、食盐 1%;②高脂对照组(HL):进食高脂饲料(%)基础饲料 90%、胆固醇 1.5%、猪油 8%、猪胆盐 0.5%、普通饮水;③XBTC 组(HL + XBTC):进食高脂饲料添加 XBTC12g/(kg·d),普通饮水;④血脂康药物对照组(HL + XZK):给予高脂饲料添加血脂康 0.21g/(kg·d)。

3. 观察指标:①分别观察测定实验干预前后各组动物血清总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白(HDL - C)、HDL - C/TC 的变化;②各组动物连续给药 30 天后,禁食 12h,20% 氨基甲酸乙酯腹腔麻醉后,腹部正中切口分离肝脏,取部分肝左叶放入液氮中保存备用。按文献[2]的方法进行常规 PCR 实验,测定各组大鼠肝 LDLRmRNA 的表达情况。

4. 统计学处理:采用 SPSS13.0 统计软件包进行分析,计量资料以均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,并进行 *t* 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

1. XBTC 对血清 TC、TG、HDL - C 含量及 HDL - C/TC 的影响(表 1)。XBTC 组血清 TC、TG 明显降低,而 HDL 含量升高,较高脂对照组比较, $P < 0.05$ 。

表 1 XBTC 对大鼠血脂含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL - C (mmol/L)	HDL - C/TC
正常对照组	20	1.45 ± 0.39	0.65 ± 0.29	2.84 ± 0.67	1.89 ± 0.66
高脂对照组	20	$1.83 \pm 0.49^{\#}$	$1.09 \pm 0.35^{\#}$	$2.06 \pm 0.45^{\#}$	$1.13 \pm 0.42^{\#}$
XBTC 组	20	$1.42 \pm 0.41^{*}$	$0.70 \pm 0.36^{*}$	$2.89 \pm 0.73^{*}$	$2.03 \pm 0.59^{*}$

与正常对照组比较, $^{\#}P < 0.05$;与高脂对照组比较, $^{*}P < 0.05$

2. XBTC 对高脂血症大鼠肝 LDLR mRNA 的影响(表 2):高脂对照组 LDLRmRNA 表达明显低于正常对照组($P < 0.01$);XBTC 组 LDLRmRNA 表达明显好于高脂对照组($P < 0.01$);与血脂康组比较无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 XBTC 对大鼠肝 LDLR mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	剂量(g/kg)	LDLR/ β - actin mRNA
正常对照组	10	-	0.9889 ± 0.0350
高脂对照组	10	-	0.5289 ± 0.1796
XBTC 组	10	12	$0.8817 \pm 0.0476^{*}\star$
血脂康组	10	0.216	$0.8769 \pm 0.0444^{*}$

与高脂对照组比较, $^{*}P < 0.01$;与血脂康组比较, $\star P > 0.05$

讨 论

高脂血症是由于脂肪代谢或运转异常使 TC、TG、和(或)低密度脂蛋白(LDL)过高和(或)HDL 过低而引发的一种病症^[3]。其发生多由于外源性脂质摄入过多,或体内脂质代谢紊乱所致。高脂血症的危害在于过多的脂质在动脉内壁沉积,形成粥样硬化斑块,造成动脉狭窄,血流受阻,靶器官供血减少进而损伤,形成冠状动脉粥样硬化性心脏病、高血压病等多种疾病^[4]。通过药物干预降低循环血液中的 LDL,能有效降低脂质代谢水平从而降低冠心病发病危险性。

XBTC 是根据祖国医学辨证施治原则组方,经正规加工浓缩制成。在临床冠心病治疗过程中显示心肌血液供应得到良好改善,总有效率达 90% 以上。本实验结果表明 XBTC 可明显降低血清中 TC、TG 含

量并升高 HDL - C 及 HDL - C/TC 水平,证明该药具有明显的降脂作用。血清 TC 的量受到合成和吸收两方面的影响,其生成来源于由肝脏生成的 VLDL。VLDL 代谢转化为 LDL,LDL 是人血液中运输胆固醇的主要脂蛋白,引起动脉粥样硬化及冠心病的原因有很多,血清 LDL 浓度升高是其中一个最重要的因素^[5,6]。

LDL 在组织中的清除主要通过两条途径:一是依赖细胞表面受体(LDLR)介导的内吞作用,然后在溶酶体代谢^[7,8]。二是非依赖受体的液相内吞作用,其中 LDLR 途径占总 LDL 清除的 70% ~ 80%,因此 LDLR 对调节体内胆固醇平衡,调节血浆 TC 含量起着关键作用,而肝脏 LDLR 表达的变化能够决定并反映血中胆固醇的代谢^[9]。而 LDLR 表达低下是引起高脂血症的主要原因之一,高脂血症的病因主要是转录水平的调控异常,而基因表达大多是在转录水平上进行的,因此 mRNA 水平有很大的变化。本研究结果表明,高脂血症组 LDLR mRNA 表达明显低于正常对照组,提示高脂血症时,由于抑制了 LDLR 的转录,LDLR mRNA 表达低下。

LDL - C 与肝细胞表面的 LDLR 结合后被细胞内吞分解成脂肪酸和游离胆固醇;游离胆固醇可以抑制羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(HMGCR)的活性,而 HMGCR 是 TC 合成的限速酶,从而减少细胞内合成胆固醇^[10];固醇调节元件结合蛋白(SREBP)是存在于内质网的核转录因子,SREBP 主要调控 TC 合成通路相关基因的表达,其靶基因包括 HMGCR 以及羟甲基戊二酰辅酶 A 合成酶、法尼酰焦磷酸合成酶和鲨烯合成酶,还介导外源性 TC 摄取受体 LDLR 转录^[11]。游离胆固醇抑制了 SREBP 前体切割位点 1 的活性,SREBP 前体不能被切割,不能与内质网膜解离进入核内,与 LDLR 基因 5'端固醇调节元件结合,从而抑制了 SP1 转录因子的活性,使肝脏细胞 LDL-RmRNA 水平降低^[12]。

本研究结果表明,XBTC 可以解除高脂血症时对 LDLR 转录的抑制作用,此作用与中药血脂康的作用相近($P > 0.05$),提示二者在分子水平上对增强 LDLR 基因表达的作用相似。现代药理学研究表明,半

夏、瓜蒌、石菖蒲均有降血脂作用,能降低血清总胆固醇和 β 脂蛋白。相关研究表明,XBTC 可明显提高缺血心肌组织内 ATP 酶及血浆内总过氧化物歧化酶的活性;纠正体内重要的血管活性物质 ANF、TXB₂、6 - Keto - PGF_{1 α} 、ET、CGRP 的失衡,改善心肌代谢,增加心肌能量供应,说明 XBTC 通过多种途径对冠心病发挥治疗作用^[13]。通过增加肝脏 LDLR 基因表达,增加 LDLR 的活性,加快 VLDL、LDL - C 经 LDLR 途径吸收,限制内源性胆固醇合成,加快血中 LDL - C 的清除,使血中 VLDL、LDL 水平降低,可能是 XBTC 调节血脂代谢保护心肌作用的机制之一。

参考文献

- 雷晓林,刘伟,王瑞丞. 灵芝三七降脂片对高脂血症大鼠降血脂作用的实验研究. 中国实用医药,2009,6(16):24 - 25
- 刘萍,张静生. 冠心康对高脂血症大鼠肝低密度脂蛋白受体基因表达的影响. 中医杂志,2003,44(10):777 - 779
- 王霞,刘学华. 高脂血症的中医药临床治疗研究浅识. 中医药学刊,2004,1(22):130 - 135
- 杨继军,余廷芬,张瑞娟,等. 加味青麟丸对高脂血症小鼠血脂代谢的影响. 河北中医,2009,2(2):281 - 283
- Havel RJ. The formation of LDL: mechanisms and regulation. J Lipid Res,1984,25:1570 - 1576
- NIH Consensus Development Conference. Lowering blood cholesterol to prevent heart disease. Wis Med J,1985,84:18 - 19
- Goldstein JL,Anderson RG,Brown MS. Coated pits,coated vesicles, and receptor - mediated endocytosis. Nature,1979,279:679 - 685
- Brown MS,Goldstein JL. A receptor - mediated pathway for cholesterol homeostasis. Science,1986,232:34 - 47
- Schorschmidt BF,Lake JR,ReFiner EL,*et al.* Fluid phase endocytosis by cultured rat hepatocytes and perfused rat liver;implications for plasma membrane turnover and vesicular trafficking of fluid phase markers. Proc Natl Acad Sci USA,1986,83:9488 - 9492
- 田艳,范竹萍,邱德凯,等. 脂肪变性对肝细胞胆固醇代谢的影响. 世界华人消化杂志,2008,16(10):1031 - 1036
- Roglans N,Vaquez - Carrera M,Alegret M,*et al.* Fibrates modify the expression of key factors involved in bile - acid synthesis and biliary - lipid secretion in gallstone pafien. Eur J Clin Pharmacol,2004,59:855 - 861
- 林秋实,陈吉棣. 山楂及山楂黄酮预防大鼠脂质代谢紊乱的分子机制研究. 营养学报,2000,22(2):131 - 136
- 张太国,唐可欣,王金光,等. 胸痹通胶囊对大鼠缺血心肌保护作用研究. 医学研究通讯,2005,34(2):47 - 48

(收稿:2010 - 04 - 08)