

小檗碱对PM2.5诱导的血管内皮细胞损伤的抑制作用及其p38 MAPK通路机制研究^Δ

万强^{1,2*}, 杨玉萍³, 刘中勇^{1#} (1.江西中医药大学附属医院心血管病科, 南昌 330006; 2.广州医科大学附属第二医院心血管疾病研究所, 广州 510260; 3.江西中医药大学附属医院肺病科, 南昌 330006)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)25-3464-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.25.03

摘要 目的:研究小檗碱对大气中空气动力学直径 $\leq 2.5 \mu\text{m}$ 的细颗粒物(PM2.5)诱导的EA.hy926型人脐静脉内皮细胞(简称EA.hy926细胞)损伤的抑制作用,以及其p38分裂原激活蛋白激酶(p38 MAPK)信号通路机制。方法:采集大气PM2.5并以0(空白对照)、20、200、400 mg/L孵育EA.hy926细胞24 h,测定细胞存活率、凋亡率、细胞中白细胞介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、丙二醛(MDA)含量,超氧化物歧化酶(SOD)、乳酸脱氢酶(LDH)活性,以及磷酸化p38 MAPK(p-p38 MAPK)、B淋巴细胞癌2(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)的蛋白水平。同法测定空白对照组、PM2.5组(200 mg/L PM2.5)、p38 MAPK通路特异性阻滞剂SB203580组(20 $\mu\text{mol/L}$ SB203580+200 mg/L PM2.5)和小檗碱低、中、高浓度组(5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱+200 mg/L PM2.5)EA.hy926细胞的上述指标。结果:与空白对照比较,200、400 mg/L PM2.5孵育细胞后细胞存活率、SOD活性、Bcl-2蛋白表达均明显降低;细胞凋亡率,IL-6、TNF- α 、MDA含量,LDH活性以及p-p38 MAPK、Bax蛋白水平均明显升高($P < 0.05$),效果呈浓度依赖性。与PM2.5组比较,小檗碱中、高浓度组和SB203580组细胞存活率、SOD活性、Bcl-2蛋白表达均明显升高;细胞凋亡率,IL-6、TNF- α 、MDA含量,LDH活性以及p-p38 MAPK、Bax蛋白水平均明显降低($P < 0.05$)。结论:小檗碱可通过抑制p38 MAPK通路,减轻PM2.5对EA.hy926细胞的损伤。

关键词 小檗碱;PM2.5;EA.hy926型人脐静脉内皮细胞;p38分裂原激活蛋白激酶

Study on Inhibitory Effects of Berberine on Vascular Endothelial Cells Injury Induced by PM2.5 and Its p38 MAPK Signal Pathway Mechanism

WAN Qiang^{1,2}, YANG Yuping³, LIU Zhongyong¹ (1.Dept. of Medical Cardiology, the Affiliated Hospital of Jiangxi University of TCM, Nanchang 330006, China; 2.Institute of Cardiovascular Disease, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510260, China; 3.Dept. of Respiratory Medicine, the Affiliated Hospital of Jiangxi University of TCM, Nanchang 330006, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the inhibitory effects of berberine on EA.hy926 human umbilical vein endothelial cells (EA.hy926 cells) injury induced by particulates with no more than 2.5 μm air aerodynamic diameter in atmospheric (PM2.5), and its p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) signal pathway mechanism. **METHODS:** PM2.5 samples were collected and hatched EA.hy926 cells with concentrations of 0 (blank control), 20, 200 and 400 mg/L for 24 h. The survival rate and apoptosis rate of cells, contents of IL-6, TNF- α and MDA, activities of SOD and LDH, protein levels of p-p38 MAPK, Bcl-2 and Bcl-2 associated X protein (Bax) were detected. The above indexes of EA.hy926 cells in blank control group, PM2.5 group (200 mg/L PM2.5), p38 MAPK pathway-specific blocker SB203580 group (20 $\mu\text{mol/L}$ SB203580+200 mg/L PM2.5), berberine low-, medium- and high-concentrations groups (5, 10, 20 $\mu\text{mol/L}$ berberine+200 mg/L PM2.5) were also determined. **RESULTS:** Compared with blank control, survival rate of cells, SOD activity and Bcl protein decreased after 200, 400 mg/L PM2.5 hatched; apoptosis rate of cells, contents of IL-6, TNF- α and MDA, LDH activity, protein levels of p-p38 MAPK and Bax increased ($P < 0.05$), in concentration-dependent manner. Compared with PM2.5 group, survival rate of cells, SOD activity and Bcl-2 protein increased in berberine medium-, high-concentrations groups and SB203580 group; apoptosis rate of cells, contents of IL-6, TNF- α and MDA, LDH activity, protein levels of p-p38 MAPK and Bax decreased ($P < 0.05$). **CONCLUSIONS:** Berberine attenuates PM2.5-induced EA.hy926 cells injury via the inhibition of p38 MAPK pathway.

^Δ 基金资助:国家自然科学基金资助项目(No.81660770);江西省科技计划项目(No.20135BBG70002, 20161BAB215256);中国博士后科学基金项目(No.2016M592476)

* 医师, 博士。研究方向:心血管疾病的临床及实验研究。电话:0791-86360490。E-mail:waniqiang109559140@163.com

通信作者:主任医师, 教授, 硕士。研究方向:心血管疾病的临床及实验研究。电话:0791-86360490。E-mail:liuzhongyong2014@163.com

KEYWORDS Berberine; PM2.5; EA.hy926 human umbilical vein endothelial cells; p38 mitogen-activated protein kinase

动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)是心脑血管疾病的重要病理基础,血管内皮细胞损伤是AS的起始病理环节^[1]。有研究表明,吸入大气中空气动力学直径 $\leq 2.5 \mu\text{m}$ 的细颗粒物(PM2.5)与AS的形成直接相关^[2]。小檗碱(Berberine)又称黄连素,为小檗科植物中提取的异喹啉生物碱,可通过抑制炎症

反应、调节脂质代谢、抗氧化应激损伤、抑制血小板活性抗血栓形成等多途径发挥抗AS效应^[3-5],但其机制尚未完全阐明。本研究观察PM2.5对EA.hy926型人脐静脉内皮细胞(简称EA.hy926细胞)损伤的影响,加用小檗碱和p38分裂原激活蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)通路特异性阻滞剂SB203580干预,探讨小檗碱对PM2.5诱导的EA.hy926细胞损伤的干预作用及其可能机制。

1 材料

1.1 仪器

IX71型荧光倒置显微镜(日本奥林巴斯公司);165-1801型电泳仪(美国Bio-Rad公司);FACSCalibur型流式细胞仪(美国Becton Dickinson公司);MK3型酶标仪、ST16R型低温高速离心机(美国Thermo公司);MiniVol型便携式PM2.5采样器(美国Airmetrics公司)。

1.2 药品与试剂

盐酸小檗碱原料药(美国Sigma公司,批号:3251,纯度:≥98.0%);SB203580(英国Tocris Bioscience公司,批号:1502,纯度:≥98.0%);二甲基亚砜(DMSO)、MTT(美国Sigma公司);胎牛血清DMEM培养基(美国Gibco公司);兔抗磷酸化p38 MAPK(p-p38 MAPK)抗体、兔抗B淋巴细胞瘤2(Bcl-2)抗体、兔抗Bcl-2相关X蛋白(Bax)抗体、兔抗 β -actin多克隆抗体、人抗兔二抗(美国Cell Signal Technology公司);Annexin V-异硫氰酸荧光素(FITC)试剂盒(美国BioVision公司);白细胞介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒(美国eBioscience公司);超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)及乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.3 细胞

EA.hy926细胞株购自美国ATCC细胞库(批号:2922),增殖周期约为31 h。

2 方法

2.1 PM2.5的采集与制备

根据空气质量指数和PM2.5监测数据,于空气质量指数5级及以上的PM2.5严重超标的雾霾天气当天,在南昌市区中心距离地面约50 m高层建筑顶用PM2.5采样器以流量5 L/min进行24 h/d采样,连续采样3 d。将采样器中石英纤维滤膜剪成1 cm \times 3 cm大小置于去离子水中,超声振荡30 min \times 3次,再用6层无菌纱布过滤,4 $^{\circ}$ C下10 000 r/min(离心半径为4 cm)离心20 min,收集提取物真空冷冻干燥成干粉,称质量,于-20 $^{\circ}$ C避光保存;临用时用灭菌磷酸盐缓冲液(PBS)配制成质量浓度分别为0、20、200、400 mg/L的PM2.5混悬液。

2.2 细胞分组与处理

EA.hy926细胞置于含10%胎牛血清的DMEM培养液中培养。取EA.hy926细胞分为PM2.5不同质量浓度组,分别以0(空白对照)、20、200、400 mg/L的PM2.5混悬液孵育EA.hy926细胞24 h^[6]。药物干预试验设6组,即空白对照组、PM2.5组(200 mg/L PM2.5孵育24 h)、SB203580组(20 μ mol/L SB203580孵育30 min^[7]+200 mg/L PM2.5孵育24 h)和小檗碱低、中、高浓度组(5、10、20 μ mol/L小檗碱孵育1 h^[8]+200 mg/L PM2.5孵育24 h)。小檗碱和SB203580均用DMSO溶解。

育30 min^[7]+200 mg/L PM2.5孵育24 h)和小檗碱低、中、高浓度组(5、10、20 μ mol/L小檗碱孵育1 h^[8]+200 mg/L PM2.5孵育24 h)。小檗碱和SB203580均用DMSO溶解。

2.3 MTT法检测细胞存活率

将“2.2”项下处理后的EA.hy926细胞调至每孔 1×10^4 个,接种至96孔培养板,每组设6个复孔,培养24 h后撤去血清。PM2.5混悬液毒染后加入20 μ l MTT溶液(PBS溶解,质量浓度为5 g/L)室温培养4 h,每孔加150 μ l DMSO使还原产物完全溶解,低速振荡10 min。酶标仪测定570 nm波长处吸光度(A),计算细胞存活率 $[(A_{\text{试验孔}} - A_{\text{空白孔}}) / (A_{\text{空白对照孔}} - A_{\text{空白孔}}) \times 100\%]$ 。其中空白对照孔加EA.hy926细胞和培养液,不加药物;空白孔只加培养液,不加细胞和药物。

2.4 流式细胞术检测细胞凋亡率

将“2.2”项下处理后的EA.hy926细胞调至每孔 2×10^5 个,接种至12孔培养板24 h,每组设6个复孔,加不含血清的培养液培养24 h。收集细胞,PBS洗涤5 min \times 2次,加Annexin V-FITC及碘化丙啶(PI)双染,流式细胞术检测细胞凋亡率。以Annexin V⁺/PI⁻为早期凋亡,以Annexin V⁺/PI⁺为晚期凋亡,计算凋亡率(早期凋亡率+晚期凋亡率)。

2.5 IL-6、TNF- α 、MDA含量与SOD、LDH活性的测定

取“2.2”项下处理后的对数生长期的EA.hy926细胞以 1×10^5 ml⁻¹接种于培养皿。收集细胞,以1 000 r/min(离心半径为8 cm)离心10 min,去除培养液,以2 ml PBS洗1次后加PBS 500 μ l混悬,超声5 s \times 5次,使细胞破碎,黄嘌呤氧化酶法检测细胞裂解液中SOD活性。收集细胞上清液,ELISA法检测细胞中IL-6及TNF- α 含量,硫代巴比妥法检测细胞中MDA含量,比色法检测细胞中LDH活性,操作步骤参照试剂盒说明书进行。

2.6 Western blot法检测Bcl-2、Bax、p-p38 MAPK蛋白水平

提取“2.2”项下处理后的EA.hy926细胞总蛋白,二喹啉甲酸(BCA)法检测蛋白浓度。煮沸5 min蛋白变性后进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),半干转印,5%脱脂牛奶封闭2 h;加一抗(兔抗Bcl-2抗体、兔抗Bax抗体、兔抗p-p38 MAPK抗体、兔抗 β -actin多克隆抗体,稀释比例:1:1 000)于4 $^{\circ}$ C反应过夜,TBST缓冲液洗膜3次;加人抗兔二抗(稀释比例:1:2 000)于室温结合,TBST洗膜3次,化学发光法检测。以 β -actin为内参蛋白,采用Quantity One软件分析Bcl-2、Bax、p-p38 MAPK蛋白的相对表达量。

2.7 统计学方法

采用SPSS 13.0软件进行分析。数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较用t检验,组间比较用单因素方差分析,多重比较采用LSD法。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 PM2.5对EA.hy926细胞的影响

3.1.1 细胞存活率与凋亡率 与空白对照比较,200、400 mg/L的PM2.5孵育EA.hy926细胞后细胞存活率降低、凋亡率升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),结果见表1。

表1 不同质量浓度PM2.5对EA.hy926细胞存活率、凋亡率,IL-6、TNF- α 、MDA含量及SOD、LDH活性的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 1 Effects of different mass concentration of PM2.5 on survival rate and apoptosis rate of cells, contents of IL-6, TNF- α and MDA, activities of SOD and LDH in the EA.hy926 cells($\bar{x} \pm s, n=6$)

PM2.5质量浓度,mg/L	细胞存活率,%	细胞凋亡率,%	IL-6,ng/L	TNF- α ,ng/L	MDA, μ mol/L	SOD,U/ml	LDH,U/L
0(空白对照)	100	2.25 \pm 0.21	338.64 \pm 11.72	158.78 \pm 6.73	1.22 \pm 0.16	18.76 \pm 0.35	625.99 \pm 43.54
20	97.95 \pm 0.24	2.41 \pm 0.17	342.39 \pm 13.54	161.23 \pm 7.39	1.25 \pm 0.18	18.49 \pm 0.31	632.68 \pm 44.74
200	84.69 \pm 1.51*	24.16 \pm 1.58*	542.59 \pm 15.92*	368.29 \pm 8.83*	4.17 \pm 0.20*	11.29 \pm 0.35*	1 109.41 \pm 62.67*
400	63.27 \pm 1.48*	41.49 \pm 1.67*	583.42 \pm 14.26*	418.48 \pm 10.63*	5.56 \pm 0.23*	7.85 \pm 0.29*	1 496.52 \pm 53.75*

注:与空白对照比较,* $P < 0.05$

Note: vs. blank control,* $P < 0.05$

3.1.2 IL-6、TNF- α 、MDA 含量和 SOD、LDH 活性 与空白对照比较,200、400 mg/L 的 PM2.5 孵育 EA.hy926 细胞后细胞中 SOD 活性降低,IL-6、TNF- α 、MDA 含量增加及 LDH 活性增强,差异有统计学意义($P < 0.05$),结果见表 1。

3.1.3 Bcl-2、Bax、p-p38 MAPK 蛋白 与空白对照比较,200、400 mg/L 的 PM2.5 孵育 EA.hy926 细胞后细胞中 Bax、p-p38 MAPK 蛋白表达增强、Bcl-2 蛋白表达减弱,差异有统计学意义($P < 0.05$)。电泳图见图 1,蛋白表达结果见图 2。

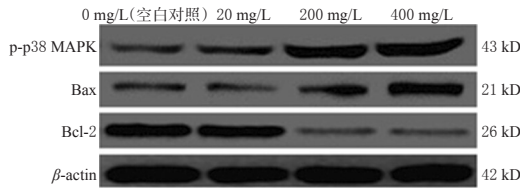


图 1 不同质量浓度 PM2.5 对 EA.hy926 细胞内 p-p38 MAPK、Bax、Bcl-2 蛋白表达影响的电泳图

Fig 1 Electropherogram of the effects of different mass concentration of PM2.5 on the protein expressions of p-p38 MAPK, Bax and Bcl-2 in the EA.hy926 cells

表 2 各组 EA.hy926 细胞存活率、凋亡率,IL-6、TNF- α 、MDA 含量及 SOD、LDH 活性的测定结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 2 Determination results of survival rate and apoptosis rate of cells, contents of IL-6, TNF- α and MDA, activities of SOD and LDH in the EA.hy926 cells in each group($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	细胞存活率, %	细胞凋亡率, %	IL-6, ng/L	TNF- α , ng/L	MDA, μ mol/L	SOD, U/ml	LDH, U/L
空白对照组	100	2.28 \pm 0.14	335.36 \pm 12.49	156.73 \pm 6.12	1.24 \pm 0.13	18.41 \pm 0.25	621.53 \pm 47.42
PM2.5 组	84.46 \pm 1.58*	25.31 \pm 1.27*	547.56 \pm 14.63*	364.05 \pm 8.62*	4.12 \pm 0.11*	11.38 \pm 0.33*	1 123.52 \pm 55.47*
小檗碱低浓度组	85.41 \pm 1.49*	24.82 \pm 1.48*	540.65 \pm 13.68*	358.53 \pm 8.94*	4.09 \pm 0.15*	11.46 \pm 0.23*	1 116.54 \pm 62.35*
小檗碱中浓度组	89.63 \pm 1.38**	18.27 \pm 1.53**	472.62 \pm 14.56**	310.58 \pm 9.22**	3.37 \pm 0.24**	13.56 \pm 0.46**	912.36 \pm 58.63**
小檗碱高浓度组	92.64 \pm 1.25**	12.49 \pm 1.04**	432.34 \pm 15.86**	265.85 \pm 7.03**	2.49 \pm 0.23**	15.54 \pm 0.31**	739.42 \pm 61.22**
SB203580 组	88.93 \pm 1.42**	16.58 \pm 1.12**	489.56 \pm 17.32**	326.53 \pm 9.40**	3.49 \pm 0.27**	13.93 \pm 0.48**	953.93 \pm 55.90**

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$;与 PM2.5 组比较,** $P < 0.05$

Note: vs. blank control group,* $P < 0.05$; vs. PM2.5 group,** $P < 0.05$

3.2.2 IL-6、TNF- α 、MDA 含量和 SOD、LDH 活性 与 PM2.5 组比较,小檗碱中、高浓度组和 SB203580 组 EA.hy926 细胞中 SOD 活性增强,IL-6、TNF- α 、MDA 含量减少及 LDH 活性降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),结果见表 2。

3.2.3 Bax、Bcl-2、p-p38 MAPK 蛋白 与 PM2.5 组比较,小檗碱中、高浓度组和 SB203580 组 EA.hy926 细胞中 Bax、p-p38 MAPK 蛋白表达减弱、Bcl-2 蛋白表达增强,差异有统计学意义($P < 0.05$)。电泳图见图 3,蛋白表达结果见图 4。

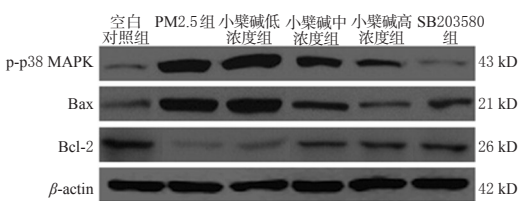


图 3 各组 EA.hy926 细胞内 p-p38 MAPK、Bax、Bcl-2 蛋白表达的电泳图

Fig 3 Electropherogram of protein expressions of p-p38 MAPK, Bax and Bcl-2 in the EA.hy926 cells in each group

4 讨论

血管内皮细胞功能损伤被认为是 AS 的起始改变,受损的内皮细胞在氧化应激和炎症刺激下可吸附单核细胞,吞噬脂质成为泡沫细胞,形成脂质斑块,使动脉管腔狭窄、管壁失去

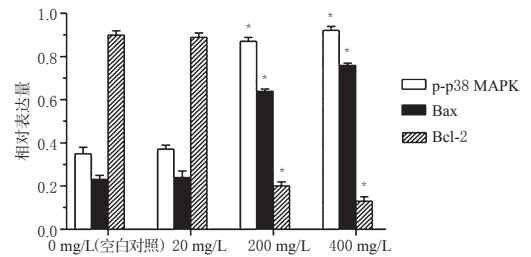


图 2 不同质量浓度 PM2.5 对 EA.hy926 细胞内 p-p38 MAPK、Bax、Bcl-2 蛋白表达影响的检测结果

注:与空白对照比较,* $P < 0.05$

Fig 2 Detection results of the effects of different mass concentration of berberine on the protein expressions of p-p38 MAPK, Bax and Bcl-2 in the EA.hy926 cells

Note: vs. blank control,* $P < 0.05$

3.2 小檗碱对 PM2.5 诱导 EA.hy926 细胞损伤的抑制作用

3.2.1 细胞存活率与凋亡率 与 PM2.5 组比较,小檗碱中、高浓度组和 SB203580 组 EA.hy926 细胞存活率升高、凋亡率降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),结果见表 2。

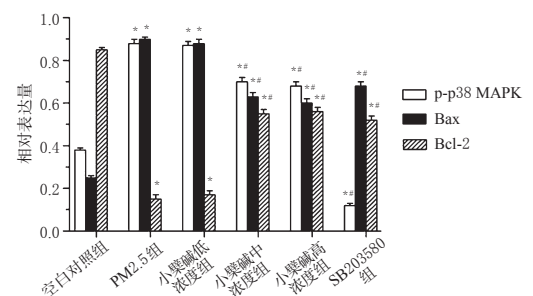


图 4 各组 EA.hy926 细胞内 p-p38 MAPK、Bax、Bcl-2 蛋白表达的检测结果

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$;与 PM2.5 组比较,** $P < 0.05$

Fig 4 Detection results of protein expressions of p-p38 MAPK, Bax and Bcl-2 in the EA.hy926 cells in each group

Note: vs. blank control group,* $P < 0.05$; vs. PM2.5 group,** $P < 0.05$

弹性而形成 AS^[1]。大量有毒、有害物质吸附于 PM2.5 表面经呼吸从肺泡上皮进入肺组织间隙,扩散至微血管,作用于血管内皮,损伤心血管系统结构及功能而形成 AS。多中心、多种族临床对照试验证实,长期慢性暴露在高浓度 PM2.5 环境中可通过炎症反应、氧化应激、交感神经兴奋性增加等机制,增加动脉内膜中层厚度、降低 AS 斑块稳定性,促进此人群 AS 的形成及发展^[9-10]。动物研究亦发现,接触高浓度 PM2.5 可上调清道夫受体 CD-36 的表达,诱导粥样斑块内巨噬细胞中胆固醇堆积;

增加内脏脂肪素表达,促进炎症及氧化应激反应,加速易损斑块的不稳定及破裂等而促进AS形成^[11-12]。

氧化和抗氧化系统之间的平衡是维持内皮细胞功能的关键因素。SOD是细胞内的抗氧化酶,通过清除超氧阴离子减轻活性氧(ROS)损害而保护内皮细胞,其活性的高低可反映机体抗氧化损伤能力。MDA为脂质在自由基作用下发生过氧化反应的不饱和脂肪酸氧化终产物,可引起核酸及蛋白质等生命大分子交联聚合而产生细胞毒性,其含量的高低可反映内皮细胞氧化损伤的严重程度。LDH存在于内皮细胞,当细胞受损时细胞膜通透性增加,细胞外液LDH漏出量相应增加,其含量的高低可反映内皮细胞损伤程度。IL-6及TNF- α 可调控巨噬、单核细胞的迁移,并能促进血管平滑肌细胞增殖从而参与AS形成^[13]。在Bcl-2基因家族蛋白中的促凋亡基因蛋白Bax与抑凋亡基因蛋白Bcl-2,能形成二聚体以促进或抑制细胞凋亡,Bax/Bcl-2比值的高低可直接调控细胞凋亡^[14]。本研究结果显示,PM2.5孵育EA.hy926细胞后,可显著降低细胞内SOD活性,增加IL-6、TNF- α 、MDA含量及增强LDH活性,显著降低EA.hy926细胞存活率、增加细胞内Bax/Bcl-2蛋白比值以促进细胞凋亡,证实PM2.5可通过氧化应激损伤及炎症反应途径诱导EA.hy926细胞损伤。

氧化应激及炎症均可激活细胞内的细胞凋亡信号级联通路以诱导细胞凋亡。p38 MAPK信号通路是MAPKs超家族分支之一,介导了调控炎症、细胞应激、生长、发育、凋亡等多种生理及病理进程,该通路的激活可通过上调肌球蛋白轻链激酶的表达促进血管平滑肌细胞的异常增殖及内皮细胞凋亡,吞噬脂质形成泡沫细胞等促进AS形成^[15]。本研究结果显示,PM2.5孵育可显著增加EA.hy926细胞内p-p38 MAPK蛋白水平,证实PM2.5诱导EA.hy926细胞损伤,可能与激活p38 MAPK通路有关。

小檗碱可通过抑制核转录因子(NF- κ B)信号通路活化,减少炎症因子细胞间黏附分子1(ICAM-1)及C反应蛋白(CRP)的释放而抑制炎症反应;上调低密度脂蛋白受体(LDLR)的mRNA表达,促进肝细胞对LDL的吸收而调节血脂;减少富含血小板的凝块收缩,抑制血小板的活化和聚集而抗血栓形成等途径发挥抗AS作用^[3-5]。SB203580是应用最广泛的p38 MAPK通路抑制剂,其占据催化位点但不阻碍上游激酶,不抑制p38 MAPK自身磷酸化作用,仅抑制p38 MAPK下游磷酸化过程,可特异性阻断p38 MAPK信号通路。本研究结果显示,与PM2.5组比较,小檗碱及SB203580均可不同程度拮抗PM2.5,升高EA.hy926细胞存活率,降低Bax/Bcl-2蛋白比值以抑制EA.hy926细胞凋亡,降低EA.hy926细胞内p-p38 MAPK蛋白水平,增强EA.hy926细胞内SOD活性,降低细胞上清液中IL-6、TNF- α 、MDA含量及LDH活性。这提示小檗碱抗AS机制之一可能是通过抑制p38 MAPK通路,减轻PM2.5诱导的氧化应激损伤及炎症反应,从而保护血管内皮细胞。这一发现有望为小檗碱在AS防治中的临床应用提供新的理论依据。

参考文献

[1] Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: the first step toward coronary arteriosclerosis[J]. *Circ J*, 2009, 73(4): 595.
[2] Perez L, Wolf K, Hennig F, et al. Air pollution and atherosclerosis: a cross-sectional analysis of four european cohort studies in the ESCAPE study[J]. *Environ Health*

Perspect, 2015, 123(6): 597.

- [3] Meng S, Wang LS, Huang ZQ, et al. Berberine ameliorates inflammation in patients with acute coronary syndrome following percutaneous coronary intervention[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2012, 39(5): 406.
[4] Li Z, Jiang JD, Kong WJ. Berberine up-regulates hepatic low-density lipoprotein receptor through Ras-independent but AMP-activated protein kinase-dependent Raf-1 activation[J]. *Biol Pharm Bull*, 2014, 37(11): 1766.
[5] Pirillo A, Catapano AL. Berberine, a plant alkaloid with lipid- and glucose-lowering properties: from in vitro evidence to clinical studies[J]. *Atherosclerosis*, 2015, 243(2): 449.
[6] Davel AP, Lemos M, Pastro LM, et al. Endothelial dysfunction in the pulmonary artery induced by concentrated fine particulate matter exposure is associated with local but not systemic inflammation[J]. *Toxicology*, 2012, 295(1/2/3): 39.
[7] Wang J, Dong S. ICAM-1 and IL-8 are expressed by DEHP suppressed by curcumin through and ERK and p38 MAPK in human umbilical vein endothelial cells[J]. *Inflammation*, 2012, 35(3): 859.
[8] Cheng F, Wang Y, Li J, et al. Berberine improves endothelial function by reducing endothelial microparticles-mediated oxidative stress in humans[J]. *Int J Cardiol*, 2013, 167(3): 936.
[9] Painschab MS, Davila-Roman VG, Gilman RH, et al. Chronic exposure to biomass fuel is associated with increased carotid artery intima-media thickness and a higher prevalence of atherosclerotic plaque[J]. *Heart*, 2013, 99(14): 984.
[10] Kalsch H, Hennig F, Moebus S, et al. Are air pollution and traffic noise independently associated with atherosclerosis: the heinz nixdorf recall study[J]. *Eur Heart J*, 2014, 35(13): 853.
[11] Wan Q, Cui X, Shao J, et al. Beijing ambient particle exposure accelerates atherosclerosis in apoE knockout mice by upregulating visfatin expression[J]. *Cell Stress Chaperones*, 2014, 19(5): 715.
[12] Rao X, Zhong J, Maiseyeu A, et al. CD36-dependent 7-ketocholesterol accumulation in macrophages mediates progression of atherosclerosis in response to chronic air pollution exposure[J]. *Circ Res*, 2014, 115(9): 770.
[13] Lu H, Daugherty A. Atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(3): 485.
[14] 李峥,高项羽,刘喆,等.丙泊酚通过MAPK/ERK信号通路对谷氨酸诱导的神经PC12细胞损伤的抑制作用[J]. *中国药房*, 2016, 27(1): 61.
[15] Zimmer S, Grebe A, Latz E. Danger signaling in atherosclerosis[J]. *Circ Res*, 2015, 116(2): 323.

(收稿日期:2016-03-15 修回日期:2016-04-11)

(编辑:邹丽娟)