

柴胡陷胸汤含药血清对高脂血清致人脐静脉内皮细胞损伤的影响及机制^Δ

王建湘^{1*}, 廖 杨², 易 琼¹, 陈新宇^{3#}(1. 湖南中医药大学第一附属医院重症医学科, 长沙 410007; 2. 湖南中医药大学研究生院, 长沙 410208; 3. 湖南中医药大学第一附属医院心血管内科, 长沙 410007)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)20-2493-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.20.12



摘要 目的 探究柴胡陷胸汤含药血清对高脂血清致人脐静脉内皮细胞ECV304损伤的影响及机制。方法 制备高脂血清和柴胡陷胸汤含药血清。以高脂血清诱导ECV304细胞损伤,并以低、中、高浓度(3.47、6.94、13.88 g/kg,以生药量计)的柴胡陷胸汤含药血清进行干预,检测各组细胞增殖率和细胞上清液中相关炎症因子[肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素6(IL-6)]、血管内皮功能指标[内皮型一氧化氮合酶(eNOS)、一氧化氮(NO)、内皮素1(ET-1)]水平,检测细胞中细胞间黏附分子1(ICAM-1)、转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)mRNA的表达水平以及Toll样受体4(TLR4)、核因子 κ B抑制因子 α (I κ B α)、磷酸化I κ B α (p-I κ B α)蛋白的表达水平和磷酸化核因子 κ B p65(p-NF- κ B p65)/NF- κ B p65比值。结果 与对照组比较,模型组细胞增殖率,TNF- α 、IL-6、ET-1水平,ICAM-1 mRNA表达水平,TLR4、p-I κ B α 蛋白表达水平和p-NF- κ B p65/NF- κ B p65比值均显著升高($P < 0.05$),eNOS、NO水平,TGF- β_1 mRNA表达水平和I κ B α 蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$);与模型组比较,柴胡陷胸汤低、中、高浓度组上述指标均显著好转($P < 0.05$),且柴胡陷胸汤高浓度组显著优于柴胡陷胸汤低、中浓度组($P < 0.05$)。结论 柴胡陷胸汤可改善高脂血清诱导的血管内皮细胞损伤,其作用机制可能与降低炎症因子水平、抑制TLR4/NF- κ B通路活化有关。

关键词 柴胡陷胸汤;含药血清;高脂血清;内皮细胞损伤;炎症反应;Toll样受体4/核因子 κ B通路

Effects of Chaihu xianxiong decoction containing serum on HUVEC injury induced by high-fat serum and its mechanism

WANG Jianxiang¹, LIAO Yang², YI Qiong¹, CHEN Xinyu³(1. Dept. of Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China; 2. School of Graduate, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 3. Dept. of Cardiovascular Medicine, the First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To explore the effects of Chaihu xianxiong decoction containing serum on human umbilical vein endothelial cells ECV304 injury induced by high-fat serum and its mechanism. **METHODS** The high-fat serum and Chaihu xianxiong decoction containing serum were prepared. ECV304 injury was induced by high-fat serum, and the intervention experiments were conducted with low-concentration, medium-concentration and high-concentration (3.47, 6.94, 13.88 g/kg, by crude drug) of Chaihu xianxiong decoction containing serum. The proliferation rate, the levels of related inflammatory factors [tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6)] and vascular endothelial function indexes [endothelial nitric oxide synthase (eNOS), nitric oxide (NO) and endothelin-1 (ET-1)] were all detected in each group. mRNA expressions of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) were detected, and the expression of Toll-like receptor 4 (TLR4), nuclear factor- κ B inhibitor α (I κ B α), phosphorylated I κ B α (p-I κ B α) protein and the ratio of phosphorylated nuclear factor- κ B p65(p-NF- κ B p65) to NF- κ B p65 were also detected. **RESULTS** Compared with control group, the proliferation rate of cell, the levels of TNF- α , IL-6 and ET-1, mRNA expression of ICAM-1, protein expressions of TLR4 and p-I κ B α and p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 ratio were significantly increased in the model group ($P < 0.05$); the levels of eNOS and NO, mRNA expression of TGF- β_1 and protein expression of I κ B α were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with model group, above indexes were all reversed significantly in low-concentration, medium-concentration and high-concentration groups of Chaihu xianxiong decoction ($P < 0.05$), while the Chaihu xianxiong decoction high-concentration group were all better than low-concentration and medium-concentration groups ($P < 0.05$). **CONCLUSIONS** Chaihu xianxiong decoction can improve endothelial cell injury induced by high-fat serum. Its mechanism of action may be

^Δ基金项目 湖南省教育厅科学研究项目(No.17C1223)

*第一作者 副主任医师,博士。研究方向:中医药防治心血管病。E-mail:wang_w00@163.com

#通信作者 主任医师,博士生导师,博士。研究方向:中医药防治心脑血管疾病。E-mail:chen_c123@126.com

associated with reducing the levels of inflammatory factors and inhibiting the activation of TLR4/NF- κ B signaling pathway.

KEYWORDS Chaihu xianxiong decoction; containing serum; high-fat serum; endothelial cells; inflammatory reaction; Toll-like receptor 4/nuclear factor- κ B pathway

冠心病心绞痛是一种临床常见疾病,由动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)和冠状动脉功能改变(痉挛)引起,其发病率和病死率呈逐年上升趋势,严重危害人民生命健康^[1-2]。柴胡陷胸汤由小柴胡汤和小陷胸汤二方加减而成,组方药材包括柴胡、法半夏、黄芩、黄连、瓜蒌、木香、九香虫、丹参、甘草。该方可减轻冠心病心绞痛患者疼痛发作次数、程度,并缩短疼痛持续时间^[3],但其作用机制尚不明确。

血管内皮功能障碍与冠心病心绞痛的发生、发展密切相关,炎症和血脂异常则是导致该疾病进展的重要因素^[4-5]。据报道,冠心病心绞痛患者存在明显的血脂高、血管损伤和炎症因子表达异常等症^[6-7],且 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4)/核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 通路被激活^[8];而抑制 TLR4/NF- κ B 炎症通路的过度活化可减轻血管炎症和 AS,并改善血脂水平^[9]。有研究指出,柴胡陷胸汤中的多种中药及其主要成分均具有降血脂、抗炎、保护血管内皮细胞的作用,并可抑制 TLR4/NF- κ B 炎症通路的活化^[10-12],但该方对冠心病心绞痛的保护作用是否与改善血管内皮功能障碍、抑制炎症反应有关尚未见报道。

中药血清药理研究方法是近年来倍受学界关注的中药体外药理实验研究方法,以含药血清进行体外实验可排除中药复方及粗提物成分、电解性能、渗透压、酸碱度等因素的影响,并与药物在体内发挥药理学效应的真实过程较为接近,故可准确、真实地反映中药的整体作用及潜在机制。基于此,本研究拟采用高脂血清诱导内皮细胞损伤,探究柴胡陷胸汤含药血清对血管内皮细胞损伤的影响,旨在为阐明其治疗冠心病心绞痛的作用机制提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括 Modular P800 型全自动生化分析仪(瑞士 Roche 公司),HERAcell 240i 型 CO₂ 细胞培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司),iMark680 型多功能酶标仪、蛋白转膜装置(电泳仪、转膜槽)、Quantity One-v 4.6.2 型凝胶图像分析软件(美国 Bio-Rad 公司),ABI Prism[®] 7300 型荧光定量聚合酶链反应(PCR)仪(美国 ABI 公司)等。

1.2 主要药品与试剂

柴胡、法半夏、黄芩、黄连、瓜蒌、木香、九香虫、丹参、甘草药材均购自北京同仁堂制药有限公司,由湖南

中医药大学第一附属医院药品质量控制小组鉴定均为真品。

MTT 试剂盒(批号 C0009S)购自上海碧云天生物技术有限公司;人肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6)、内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)、一氧化氮(nitric oxide, NO)、内皮素 1 (endothelin-1, ET-1) 酶联免疫吸附测定试剂盒(批号分别为 ml077385、ml028583、ml025095、ml063651、ml025101)均购自上海酶联生物科技有限公司;Trizol 试剂购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;兔源 TLR4、NF- κ B p65、磷酸化 NF- κ B p65 (p-NF- κ B p65)、 β -肌动蛋白(β -actin)抗体和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白 G 二抗(批号分别为 ab13556、ab16502、ab76302、ab8227、ab205718)均购自英国 Abcam 公司;兔源 NF- κ B 抑制因子 α (nuclear factor κ B inhibitor α , I κ B α)、磷酸化 I κ B α (p-I κ B α)抗体(批号分别为 A19714、AP0614)均购自武汉爱博泰克生物科技有限公司;细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、转化生长因子 β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)引物均由广州锐博生物科技有限公司设计、合成(引物序列与产物大小见表 1)。其余试剂均为分析纯,水为双蒸水。

表 1 ICAM-1 等引物序列和产物大小

基因	引物序列	产物大小/pb
ICAM-1	上游引物:5'-TGGCAAGAACCCTACCTACG-3'	128
	下游引物:5'-TTCAGTGCAGCAGAGAAAT-3'	
TGF- β_1	上游引物:5'-TTCCTGGCGATACCTCAGCAACC-3'	150
	下游引物:5'-CGCTAAGCGAAAGCCTCAAT-3'	
GAPDH	上游引物:5'-GAGTCAACGGATTGGTCGT-3'	96
	下游引物:5'-TTGATTTGGAGGGATCTCG-3'	

1.3 实验动物与细胞

12 只 SPF 级雄性新西兰兔,6 月龄,体质量 3.0~3.2 kg,购自山东艾莱克生物科技有限公司,实验动物生产许可证号为 SCXK(鲁)2019-0006;24 只雄性 SD 大鼠,7~8 周龄,体质量(210 \pm 10)g,购自济南朋悦动物繁育有限公司,实验动物生产许可证号为 SCXK(鲁)2019-0003。所有实验动物均饲养在(21 \pm 1) $^{\circ}$ C、每 12 h 昼夜交替的动物房内。动物实验方案经医院伦理委员会批准(批件号 IACUC-G14002)。人脐静脉内皮细胞 ECV304(货号 CC-Y1151)购自上海雅吉生物科技有限公司。

2 方法

2.1 柴胡陷胸汤的制备

分别称取组方药材柴胡 10 g、法半夏 10 g、黄芩 10 g、黄连 4 g、瓜蒌 10 g、木香 6 g、九香虫 6 g、丹参 15 g、甘草 6 g,加 8 倍量的水充分浸泡 30 min,煎煮 1 h×2 次,过滤,合并 2 次提取液,煎煮浓缩得柴胡陷胸汤药液(每 1 mL 相当于生药 2.0 g)。

2.2 正常血清和高脂血清的制备

将 12 只新西兰兔随机分为正常组和高脂血症组,每组 6 只。参考相关文献方法^[3],正常组兔给予普通饲料喂养,高脂血症组兔给予 1% 高脂饲料(含胆固醇 1 g、猪油 5 g、蛋黄粉 15 g,其余为普通饲料)喂养,每天约 100 g,连续喂养 12 周。第 13 周,各组兔经麻醉后,于腹主动脉采血 40 mL,使用全自动生化分析仪检测其血清中三酰甘油(triacylglycerol, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)和高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)水平,若 TC 水平高于正常组 3 倍则表示高脂血症模型复制成功^[4]。检测结果显示,正常组兔血清中 TG、TC、LDL、HDL 水平分别为(1.25±0.13)、(1.67±0.21)、(1.85±0.13)、(1.34±0.15) mmol/L,高脂血症组兔上述指标分别为(2.48±0.19)、(7.14±0.28)、(5.93±0.16)、(0.65±0.11) mmol/L。可见,高脂血症组兔血清 TC 水平约为正常组的 4.3 倍,表明高脂血症模型复制成功。收集兔血清于-80℃冰箱中保存,备用。

2.3 柴胡陷胸汤含药血清的制备

将 24 只大鼠随机分为空白组和柴胡陷胸汤低、中、高剂量组,每组 6 只。按照人(体质量 70 kg)与大鼠体表面积换算公式,以人等效剂量的 6.3 倍换算得柴胡陷胸汤中剂量为 6.94 g/kg(以生药量计,下同),同时设置该方低、高剂量分别为 3.47、13.88 g/kg。各组大鼠每天早、晚灌胃相应剂量的药液 1 次,空白组灌胃等量生理盐水,连续给药 7 d。末次给药 1 h 后,大鼠经戊巴比妥钠麻醉后,于腹主动脉取血,分离血清,于 56℃水浴灭活 30 min,再于-80℃冰箱中保存,备用。

2.4 细胞分组与处理

将 ECV304 细胞接种于 DMEM 培养基中,分为对照组、模型组和柴胡陷胸汤低、中、高浓度组,每组设 3 个复孔。在预实验结果的基础上,对照组细胞用含 20% 正常兔血清的 DMEM 培养基培养,其余各组细胞用含 20% 高脂兔血清的 DMEM 培养基培养;24 h 后,对照组和模型组细胞用含 20% 正常大鼠血清的 DMEM 培养基继续培养 24 h,柴胡陷胸汤低、中、高浓度组细胞用含 20% 含药大鼠血清的 DMEM 培养基继续培养 24 h。

2.5 细胞增殖能力的检测

采用 MTT 法进行检测。将 ECV304 细胞以 5 000 个/孔接种在 96 孔板中,按照“2.3”项下方法分组、处理、培养。24 h 后,每孔加入 5 mg/mL 的 MTT 溶液 10 μL,继续孵育 4 h;然后,弃去上清液,每孔加入二甲基亚砷 150 μL,使用酶标仪在 490 nm 波长处检测各孔的光密度(optical density, OD)值。以培养基为空白孔,按下式计算细胞增殖率:细胞增殖率=(实验组 OD 值-空白孔 OD 值)/(对照组 OD 值-空白孔 OD 值)×100%。

2.6 细胞中炎症因子和血管内皮功能指标的检测

采用酶联免疫吸附测定法进行检测。收集“2.5”项下各组细胞的上清液,按相应试剂盒说明书操作,使用酶标仪检测各组细胞上清液中炎症因子(TNF-α、IL-6)和血管内皮功能指标(eNOS、NO、ET-1)水平。

2.7 细胞中 ICAM-1、TGF-β₁ mRNA 表达的检测

采用荧光定量 PCR 法进行检测。收集“2.5”项下各组细胞,采用 Trizol 试剂提取其总 RNA,并反转录为 cDNA,以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。反应体系(20 μL)包含:SYBR Green Mix(10 μL)、无菌双蒸水(7.4 μL)、上游引物(0.8 μL)、下游引物(0.8 μL)和 cDNA 模板(1.0 μL)。反应条件如下:95℃预变性 5 min;95℃变性 15 s,60℃退火 20 s,72℃延伸 20 s,共 40 个循环。以 GAPDH 为内参,采用 2^{-ΔΔCt}法计算目标 mRNA 表达水平,以各组细胞中 ICAM-1、TGF-β₁ mRNA 的表达水平与对照组的比值作为评价结果。

2.8 细胞中 TLR4/NF-κB 通路相关蛋白表达的检测

采用 Western blot 法进行检测。收集“2.5”项下各组细胞,采用 RIPA 裂解液提取其总蛋白,测定浓度后,加热变性。取变性蛋白,经电泳分离后转移至聚偏二氟乙烯膜上,用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h,分别加入兔源 TLR4、NF-κB p65、p-NF-κB p65、IκBα、p-IκBα、β-actin 一抗(除 β-actin 的稀释比例为 1:2 000 外,其余均为 1:1 000),4℃孵育过夜;洗涤 3 次后,加入二抗(稀释比例为 1:5 000),室温孵育 1 h;洗涤后,使用化学发光试剂显影,并采用 Image J V1.8.0 软件分析各条带的灰度值,以 β-actin 为内参,计算目标蛋白的相对表达量,并计算 p-NF-κB p65/NF-κB p65 比值。

2.9 统计学分析

采用 GraphPad Prism 8.0 软件对数据进行统计分析。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 SNK-*q* 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 各组细胞增殖能力

对照组、模型组和柴胡陷胸汤低、中、高浓度组细胞增殖率分别为100.00%、(234.25±13.63)%、(168.84±11.44)%、(153.83±10.57)%、(117.02±12.61)% (n=3)。与对照组比较,模型组细胞增殖率显著升高(P<0.05)。与模型组比较,柴胡陷胸汤低、中、高浓度组细胞增殖率均显著降低(P<0.05),且柴胡陷胸汤高浓度组细胞增殖率显著低于柴胡陷胸汤低、中浓度组(P<0.05)。

3.2 各组细胞上清液中炎症因子水平

与对照组比较,模型组细胞上清液中TNF-α、IL-6水平均显著升高(P<0.05)。与模型组比较,柴胡陷胸汤低、中、高浓度组细胞上清液中TNF-α、IL-6水平均显著降低(P<0.05);此外,柴胡陷胸汤高浓度组上述指标均显著低于柴胡陷胸汤低、中浓度组,且中剂量组IL-6显著低于低剂量组(P<0.05)。结果见表2。

表2 各组细胞上清液中TNF-α、IL-6水平的检测结果($\bar{x} \pm s, n=3, \text{pg/mL}$)

组别	TNF-α	IL-6
对照组	0.52±0.08	0.66±0.11
模型组	1.97±0.16 ^a	2.42±0.17 ^a
柴胡陷胸汤低浓度组	1.55±0.14 ^b	1.87±0.15 ^b
柴胡陷胸汤中浓度组	1.27±0.15 ^c	1.35±0.12 ^c
柴胡陷胸汤高浓度组	0.84±0.12 ^{bcd}	0.98±0.10 ^{bcd}

a: 与对照组比较, P<0.05; b: 与模型组比较, P<0.05; c: 与柴胡陷胸汤低浓度组比较, P<0.05; d: 与柴胡陷胸汤中浓度组比较, P<0.05

3.3 各组细胞上清液中血管内皮功能指标水平

与对照组比较,模型组细胞上清液中ET-1水平显著升高,eNOS、NO水平均显著降低(P<0.05)。与模型组比较,柴胡陷胸汤低、中、高浓度组细胞上清液中ET-1水平均显著降低,eNOS、NO水平均显著升高(P<0.05),且柴胡陷胸汤高浓度组上述指标均显著优于柴胡陷胸汤低、中浓度组(P<0.05)。结果见表3。

表3 各组细胞上清液中eNOS、NO、ET-1水平的检测结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	eNOS(ng/mL)	NO(μmol/L)	ET-1(ng/L)
对照组	4.79±0.45	57.29±3.84	8.74±1.15
模型组	2.03±0.26 ^a	21.78±2.31 ^a	25.56±2.26 ^a
柴胡陷胸汤低剂量组	2.96±0.27 ^b	33.23±3.62 ^b	20.02±2.05 ^b
柴胡陷胸汤中剂量组	3.25±0.31 ^b	38.15±5.64 ^b	18.47±1.78 ^b
柴胡陷胸汤高剂量组	4.17±0.34 ^{bcd}	49.88±4.58 ^{bcd}	12.74±1.69 ^{bcd}

a: 与对照组比较, P<0.05; b: 与模型组比较, P<0.05; c: 与柴胡陷胸汤低浓度组比较, P<0.05; d: 与柴胡陷胸汤中浓度组比较, P<0.05

3.4 各组细胞中ICAM-1、TGF-β₁ mRNA表达

与对照组比较,模型组细胞中ICAM-1 mRNA的表达水平显著升高,TGF-β₁ mRNA的表达水平显著降低(P<0.05)。与模型组比较,柴胡陷胸汤低、中、高浓度组细胞中ICAM-1 mRNA的表达水平均显著降低,TGF-β₁ mRNA的表达水平均显著升高(P<0.05);此外,柴胡陷

胸汤高浓度组上述指标均显著优于柴胡陷胸汤低、中浓度组,且中剂量组TGF-β₁显著高于低剂量组(P<0.05)。结果见表4。

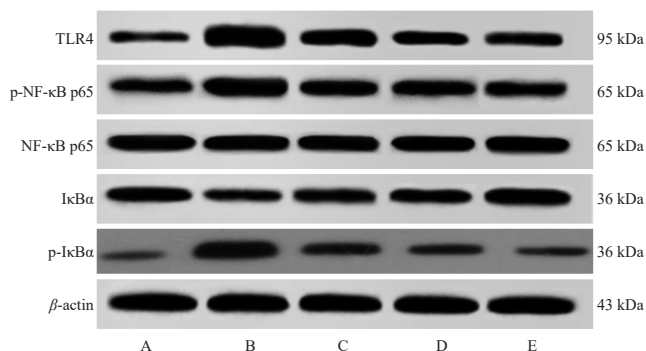
表4 各组细胞中ICAM-1、TGF-β₁ mRNA表达水平的检测结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	ICAM-1	TGF-β ₁
对照组	1.00	1.00
模型组	3.85±0.57 ^a	0.32±0.05 ^a
柴胡陷胸汤低浓度组	2.62±0.31 ^b	0.50±0.06 ^b
柴胡陷胸汤中浓度组	2.33±0.35 ^b	0.68±0.08 ^{bc}
柴胡陷胸汤高浓度组	1.37±0.21 ^{bcd}	0.89±0.09 ^{bcd}

a: 与对照组比较, P<0.05; b: 与模型组比较, P<0.05; c: 与柴胡陷胸汤低浓度组比较, P<0.05; d: 与柴胡陷胸汤中浓度组比较, P<0.05

3.5 各组细胞中TLR4/NF-κB通路相关蛋白表达

与对照组比较,模型组细胞中IκBα蛋白的相对表达量显著降低,TLR4、p-IκBα蛋白的相对表达量和p-NF-κB p65/NF-κB p65比值均显著升高(P<0.05)。与模型组比较,柴胡陷胸汤低、中、高浓度组细胞中IκBα蛋白的相对表达量均显著升高,TLR4、p-IκBα蛋白的相对表达量和p-NF-κB p65/NF-κB p65比值均显著降低(P<0.05),且柴胡陷胸汤高浓度组上述指标均显著优于柴胡陷胸汤低、中浓度组(P<0.05)。结果见图1、表5。



A: 对照组; B: 模型组; C: 柴胡陷胸汤低浓度组; D: 柴胡陷胸汤中浓度组; E: 柴胡陷胸汤高浓度组

图1 各组细胞中TLR4/NF-κB通路相关蛋白表达的电泳图

表5 各组细胞中TLR4/NF-κB通路相关蛋白表达的检测结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	TLR4	p-NF-κB p65/NF-κB p65	IκBα	p-IκBα
对照组	0.43±0.07	0.66±0.06	0.85±0.07	0.10±0.01
模型组	1.28±0.08 ^a	1.32±0.09 ^a	0.40±0.06 ^a	0.83±0.09 ^a
柴胡陷胸汤低浓度组	0.92±0.09 ^b	1.07±0.08 ^b	0.58±0.06 ^b	0.47±0.06 ^b
柴胡陷胸汤中浓度组	0.76±0.08 ^b	0.93±0.05 ^b	0.62±0.05 ^b	0.35±0.05 ^b
柴胡陷胸汤高浓度组	0.54±0.06 ^{bcd}	0.73±0.07 ^{bcd}	0.79±0.07 ^{bcd}	0.20±0.03 ^{bcd}

a: 与对照组比较, P<0.05; b: 与模型组比较, P<0.05; c: 与柴胡陷胸汤低浓度组比较, P<0.05; d: 与柴胡陷胸汤中浓度组比较, P<0.05

4 讨论

冠心病心绞痛属于中医“胸痹”“心悸”范畴,基本病机为气滞、血瘀、痰浊。虽病位在心,但与肝密切相关。肝主疏泄,肝气郁结可导致气滞,继而引发血瘀和痰浊,

阻滞心脉,最终诱发胸痹心痛。因此,冠心病心绞痛的治疗应以疏肝理气化痰为主^[9]。柴胡陷胸汤中柴胡疏肝解郁、调达肝气,法半夏辛开散结、化痰消痞,共为君药;丹参活血祛瘀、除烦安神,为臣药;黄芩、黄连清泻肝郁之火,瓜蒌清热化痰、宽胸散结,木香、九香虫均为行气止痛之要药,并能疏解肝气之郁滞,共为佐药;甘草补益心气,调和诸药,作为使药入方。诸药合用,共奏疏肝理气化痰、宽胸活血止痛之功。药理研究显示,柴胡皂苷可降低高脂血症大鼠血液中TG、TC、LDL水平^[10];在高脂血症大鼠中,半夏与黄连配伍具有降血脂、下调NF- κ B表达的作用^[11];黄连素可抑制NF- κ B通路,降低血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平,增加NO水平,保护冠心病模型大鼠的血管内皮细胞^[12]。以上研究表明,柴胡陷胸汤对冠心病心绞痛的改善作用可能与降血脂、抗炎、保护血管内皮细胞有关。

据报道,冠心病患者的血清可促进人脐静脉血管内皮细胞增殖,这可能是由于血清中含有与促进血管内皮细胞生长相关的蛋白组分,可促进血管侧支循环的建立,并恢复组织血流^[13]。本研究结果显示,柴胡陷胸汤含药血清可抑制高脂血清诱导的ECV304细胞的增殖,与上述研究的结果并不一致。笔者推测造成这种现象的原因是柴胡陷胸汤为中药复方,所含成分多样,其中部分成分可能具有抑制内皮细胞增殖的作用,至于具体原因和柴胡陷胸汤对血管内皮细胞增殖的抑制作用是否与其防治冠心病心绞痛的机制有关尚有待进一步研究。

内皮功能障碍是AS形成和冠心病心绞痛发病的第一步^[16]。在冠状动脉血栓形成时,内皮细胞会分泌大量ET-1,后者可加重心肌缺血损伤^[17]。NO主要是由内皮源性eNOS催化合成的血管舒张活性因子。当血管受到损伤时,eNOS表达减少,从而导致NO合成减少^[18]。ICAM-1的过量表达会使白细胞与内皮黏附,促进AS的进展^[19]。TGF- β 是血管修复过程中的主要协调者,对稳定颈动脉易损斑块和延缓AS起到积极作用^[20]。在本研究中,笔者使用高脂血清诱导内皮细胞损伤,结果显示,内皮细胞中eNOS、NO、TGF- β 分泌减少,ET-1和ICAM-1分泌增加,说明内皮细胞功能出现异常;给予柴胡陷胸汤干预后,上述指标的改变被显著逆转,提示柴胡陷胸汤可改善内皮细胞功能异常。

在冠心病的形成、发展过程中始终都有各种炎症细胞和炎症因子的参与^[7]。异常的内皮功能可增加炎症因子TNF- α 、IL-6的释放。TLR4可促使NF- κ B/I κ B α 复合物的解离,使I κ B α 磷酸化并降解,促进NF- κ B进入胞核活化,调节促炎性细胞因子的表达。在本研究中,柴胡陷胸汤可降低高脂血清诱导的内皮细胞中TNF- α 、IL-6水平和TLR4表达,抑制I κ B α 磷酸化降解和NF- κ B p65活化,提示柴胡陷胸汤对内皮细胞损伤的保护作用可能与降低炎症因子水平和抑制TLR4/NF- κ B通路有关。

综上所述,柴胡陷胸汤可改善高脂血清诱导的血管内皮细胞损伤,其作用机制可能与降低炎症因子水平、抑制TLR4/NF- κ B通路活化有关。本研究为冠心病心绞痛的治疗及柴胡陷胸汤的应用提供了实验依据,但由于体内外环境存在差异,该方能否在体内发挥同样的作用,还有待进一步研究。

参考文献

- [1] KNYAZEVA T A, BADTIEVA V A, NIKIFOROVA T I. Physical training integration with physiotherapeutic methods of myocardial metabolism recovery in the rehabilitation of patients after acute coronary syndrome and cardiosurgical myocardial revascularization[J]. Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult, 2020, 97(5): 5-12.
- [2] SUDA A, TAKAHASHI J, HAO K, et al. Coronary functional abnormalities in patients with angina and nonobstructive coronary artery disease[J]. J Am Coll Cardiol, 2019, 74(19): 2350-2360.
- [3] 王建湘,程丑夫,邓满霞. 柴胡陷胸汤治疗冠心病心绞痛气滞痰阻证的临床研究[J]. 中医临床研究, 2010, 2(14): 5-6.
- [4] CORBAN M T, TOYA T, ALBERS D, et al. IMPROVED trial: intracoronary autologous CD34⁺ cell therapy for treatment of coronary endothelial dysfunction in patients with angina and nonobstructive coronary arteries[J]. Circ Res, 2022, 130(3): 326-338.
- [5] WANG L, CHENG C K, YI M, et al. Targeting endothelial dysfunction and inflammation[J]. J Mol Cell Cardiol, 2022, 168: 58-67.
- [6] DE BACKER G, JANKOWSKI P, KOTSEVA K, et al. Management of dyslipidaemia in patients with coronary heart disease: results from the ESC-EORP EUROASPIRE V survey in 27 countries[J]. Atherosclerosis, 2019, 285: 135-146.
- [7] ALI M, GIRGIS S, HASSAN A, et al. Inflammation and coronary artery disease: from pathophysiology to canakinumab anti-inflammatory thrombosis outcomes study (CANTOS) [J]. Coron Artery Dis, 2018, 29(5): 429-437.
- [8] 周淑妮,于颖. 清心解瘀方治疗冠心病心绞痛疗效观察及对患者心功能、CXC型趋化因子和外周血单核细胞Toll样受体/髓样分化因子88/核转录因子 κ B信号通路的影响[J]. 河北中医, 2020, 42(6): 853-857, 861.
- [9] LIANG X, XIU C H, LIU M H, et al. Platelet-neutrophil interaction aggravates vascular inflammation and promotes the progression of atherosclerosis by activating the TLR4/NF- κ B pathway[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(4): 5612-5619.
- [10] 王少平,于盈盈,宋晓光,等. 柴胡总皂苷降血脂作用及机制研究[J]. 中国新药杂志, 2020, 29(4): 437-442.

(下转第2502页)