

治疗,扩张脑血管,增加大脑供血、供氧,缓解血管痉挛,改善大脑微循环,降低血小板聚集,降低血黏度。这一点在本研究中得到了证实。通过 1 个疗程的治疗后养血清脑颗粒可降低血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-6、MDA、D-D 水平,升高 SOD 水平,而且其改善的程度与剂量成正比。SOD 和 MDA 与自由基有关,D-D 是反映体内高凝状态与继发性纤溶亢进的一个特异性分子标志物<sup>[5]</sup>,而 TNF- $\alpha$ 、IL-6 与炎症反应、细胞凋亡相关。这就提示,用现代医学观点来说,养血清脑颗粒可清除自由基,有助于抗过氧化脂质的生成,降低患者的高凝状态,减少梗死面积,同时有显著的抗炎、抗细胞凋亡的作用,这正是其治疗急性脑梗死的主要机制。

本研究表明,治疗组比对照组具有明显的效果,无论是神经功能缺损评分,还是临床疗效,治疗组都

比对照组疗效显著,两者比较差异显著,进一步的研究表明养血清脑颗粒的效果与剂量成正比。养血清脑颗粒能有效地治疗急性脑梗死,且疗效随着剂量的增加而增加。

#### References:

- [1] Chen X Z. *The Present Condition and Foreground of Brain Blood Vessel Diseases Research* (脑血管疾病研究现状与前景) [M]. Shanghai: The Publishing Unit of the Second Military Medical University, 2001.
- [2] Xu X R, Li W, Sheng H W, et al. The value of the plasma D-dimer level in the thrombosis diagnosis [J]. *J Apoplexy Nerv Dis* (中风与神经疾病杂志), 1998, 15(2): 98-99.
- [3] Zhang D M, Xie J S, Chen Y F. Leptin, TNF- $\alpha$  and brain infarction [J]. *Chin J Neurol* (中华神经科杂志), 2003, 36(4): 287-288.
- [4] Wang X, Barone F C, Aiyar N V, et al. IL-6 and TNF- $\alpha$  level expression after acute stroke [J]. *Stroke*, 2001, 32(1): 156-159.
- [5] Rylatt D B, Blake A S, Cottis L E, et al. An immunoassay for human D-dimer using monoclonal antibodies [J]. *Thrombosis*, 1983, 31(5): 767.

## 三七总皂苷对动脉粥样硬化形成中炎症免疫因子的影响

刘 雅, 李晓辉

(第三军医大学 基础部, 重庆 400038)

**摘 要:**目的 观察兔食饵性动脉粥样硬化(AS)形成过程中血清中白细胞介素-6(IL-6)、C-反应蛋白(CRP)、循环免疫复合物(CIC)水平的变化和三七总皂苷(PNS)对这些免疫因子及动脉粥样斑块面积大小的影响。方法 日本大耳兔随机分为正常对照组、AS 模型组及 PNS 防治组,喂饲高脂饲料制备兔 AS 模型,各组 ig 给药,每天 1 次,连续给药 8 周。分别于实验第 4、6、8 周末经耳缘静脉采血,测定血清中 IL-6、CRP 和 CIC 的水平。结果 AS 模型组 IL-6、CRP 及 CIC 水平明显高于正常对照组( $P<0.01$ );PNS 组各时相点 IL-6、CRP 和 CIC 水平显著低于 AS 模型组( $P<0.05$ );PNS 组主动脉斑块面积较 AS 组明显降低( $P<0.05$ );IL-6、CRP 和 CIC 水平均与 AS 斑块面积呈显著正相关性( $r=0.975, 0.960, 0.968, P<0.01$ )。结论 兔食饵性 AS 形成过程中有炎症免疫因子的参与,PNS 可以通过抗炎和免疫调节的途径发挥抗 AS 的作用。

**关键词:**动脉粥样硬化;三七总皂苷;C-反应蛋白;循环免疫复合物;白细胞介素-6

**中图分类号:**R286.26

**文献标识码:**A

**文章编号:**0253-2670(2005)05-0728-03

## Effect of *Panax notoginseng* total saponin on inflammatory immune factors in atherosclerosis

LIU Ya, LI Xiao-hui

(The Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

**Key words:** atherosclerosis (AS); *Panax notoginseng* total saponin (PNTS); C-reactive protein (CRP); circulation immune complex (CIC); interleukin-6 (IL-6)

动脉粥样硬化(AS)是严重威胁人类健康的疾病,但其发病机制目前仍未阐明。临床流行病学调查显示,50%以上的高血脂患者并不发生 AS。国外临

床研究发现系统性红斑狼疮和类风湿性关节炎患者 AS 发病率大幅度增高<sup>[1,2]</sup>。这些证据都表明 AS 发病过程中可能有炎症免疫因子(IIF)的参与。本实

收稿日期:2004-10-25

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30470465, 30371768)

作者简介:刘 雅(1979—),女,陕西安康人,硕士,助教,主要从事动脉粥样硬化发病机制及药物干预的研究。

Tel: (023) 68753397-83 E-mail: LiuYa1979@hotmail.com

验利用高脂喂饲建立 AS 模型,高脂喂饲和三七总皂苷 ig 给药,动态地观察在 AS 形成发展和三七总皂苷药物防治过程中白细胞介素-6 (IL-6),C-反应蛋白 (CRP),循环免疫复合物 (CIC) 的变化,比较两组动脉粥样斑块面积的大小,探讨 AS 病变过程中 IIF 的参与及三七总皂苷的预防作用,为三七总皂苷防治 AS 开辟更为广阔的应用前景。

## 1 材料

三七总皂苷(质量分数 99%)购自云南植物研究所。IL-6 ELISA 试剂盒购自第四军医大学,CRP 免疫比浊试剂盒购自上海太阳生物技术公司。

## 2 方法

2.1 实验分组及造模:15 只日本大耳兔,( $2.020 \pm 0.057$ ) kg,第三军医大学实验动物中心提供,随机分为 3 组并分笼喂养。正常对照组,基础饲料每只 120~150 g;AS 模型组:基础饲料+10% 鸡蛋+5% 猪油+0.5% 胆固醇;PNS 组:造模饲料喂饲,PNS (120 mg/kg,根据文献[3]及预试验结果确定剂量)溶于双蒸水,ig 给药。实验共 8 周,于第 4、6、8 周末从兔耳缘静脉采血,留取血清,测定 IL-6、CRP 和 CIC 水平。

表 1 PNTS 对兔 AS 形成过程中血清 IL-6、CRP 及 CIC 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )

Table 1 Effect of PNTS on level of IL-6, CRP, and CIC in serum during atherosclerogenesis in rabbits ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )

| 组别    | 剂量/<br>(mg·kg <sup>-1</sup> ) | IL-6/(ng·mL <sup>-1</sup> ) |             |             | CRP/(mg·L <sup>-1</sup> ) |              |              | CIC/(A 值)     |               |               |
|-------|-------------------------------|-----------------------------|-------------|-------------|---------------------------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------|
|       |                               | 第 4 周                       | 第 6 周       | 第 8 周       | 第 4 周                     | 第 6 周        | 第 8 周        | 第 4 周         | 第 6 周         | 第 8 周         |
| 正常    | —                             | 0.01±0.005                  | 0.01±0.006  | 0.01±0.002  | 0.76±0.04                 | 0.72±0.05    | 0.76±0.01    | 0.002±0.001   | 0.002±0.0008  | 0.003±0.001   |
| AS 模型 | —                             | 1.27±0.05△△                 | 1.39±0.10△△ | 1.46±0.13△△ | 29.58±2.09△△              | 39.32±2.36△△ | 49.53±2.53△△ | 0.145±0.032△△ | 0.200±0.034△△ | 0.328±0.081△△ |
| PNTS  | 120                           | 1.21±0.04*                  | 1.26±0.07*  | 1.29±0.10*  | 17.97±3.17*               | 27.00±2.22*  | 34.63±9.60*  | 0.079±0.010*  | 0.148±0.079*  | 0.240±0.040*  |

与正常组比较:△△ $P<0.01$ ; 与 AS 模型组比较: \* $P<0.05$

△△ $P<0.01$  vs model group; \* $P<0.05$  vs AS model group

3.2 主动脉粥样斑块面积测定:正常对照组各实验兔主动脉苏丹 IV 染色均无着色(面积为 0);实验第 8 周末 AS 模型组粥样斑块面积为 ( $39.14 \pm 3.93$ )%, PNS 组粥样斑块面积为 ( $25.05 \pm 1.81$ )%,明显低于 AS 模型组 ( $P<0.05$ )。

3.3 相关性分析结果:血清中 IL-6、CRP 及 CIC 水平均与动脉粥样斑块面积呈显著正相关性。( $r=0.975, 0.960, 0.968, P<0.01$ )

## 3 讨论

在对 AS 的研究中,IIF 的参与逐渐引起学者们的关注,但是目前的研究多局限于临床患者血液中个别 IIF 的检出,缺少全面的观测,而且临床病例的筛选局限性大,可比性差。本实验建立 AS 动物模型,克服了临床病例的不足,而且动态观察了 IIF 的变化及其与 AS 之间的相关性,从而更全面深入地

2.2 血清 IL-6 和 CRP 测定:按照试剂盒说明操作。

2.3 血清 CIC 测定采用聚乙二醇沉淀比浊法。

2.4 兔主动脉粥样斑块面积的测定:于第 8 周末,耳缘 iv 空气处死所有实验兔并行主动脉粥样斑块面积测定。取自降主动脉起始处至髂总动脉分叉处主动脉,剥出外膜脂肪及结缔组织,纵向剖开血管,生理盐水冲洗残血,10% 福尔马林固定 40~60 min 后,将血管取出,生理盐水冲洗,放入苏丹 IV 染液中染色 10 min,生理盐水冲洗。将血管展平,数码相机拍摄后,利用 Image Pro plus 4.5 软件分析,求出动脉粥样斑块占整条动脉的面积比。

2.5 统计学处理:所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 10.0 对各组数据进行方差和相关性分析。

## 3 结果

3.1 血清中 IL-6、CRP 及 CIC 水平的变化:实验过程中正常对照组 IL-6、CRP 及 CIC 水平无变化,随实验进程,AS 模型组 IL-6、CRP 及 CIC 水平逐渐增高,与正常对照组相比差异显著 ( $P<0.01$ ),实验第 4、6、8 周末各时相点 PNS 组 IL-6、CRP 及 CIC 水平明显低于 AS 组 ( $P<0.05$ )。见表 1。

揭示了 IIF 在 AS 病变过程中的作用。

IL-6、CRP 和 CIC 是重要的 IIF。IL-6 在急性反应期的主要功效是刺激肝细胞产生急性期反应蛋白,主要是 CRP;诱导 B 淋巴细胞终末期的分化;刺激 T 淋巴细胞等<sup>[4]</sup>,CRP 是重要的急性期反应蛋白,也是炎症反应重要的下游标记物。在正常情况下水平甚低,在炎症刺激下,血浆中 CRP 水平迅速升高至正常时的几百乃至上千倍,是前炎症反应最灵敏的标志物。既往的研究表明 IL-6 和 CRP 是 AS 以及其他心血管疾病重要的预测因子,IL-6 和 CRP 水平的高低与疾病的预后及心血管事件的再发生紧密相关<sup>[5]</sup>。目前的研究进一步证明 IL-6 及 CRP 促使单核细胞趋化蛋白 (MCP-1) 和组织因子 (TF) 的释放;使黏附分子表达增加;促进血管平滑肌细胞的增殖和迁移;在动脉粥样斑块的损伤中 IL-6 及

CRP 均有表达<sup>[6]</sup>。本实验结果显示 AS 模型组 IL-6 和 CRP 随着 AS 病变的发展逐渐增高,与此同时, CIC 水平也随着病程增加,提示在慢性炎症疾病中免疫系统即原发性和继发性免疫反应发挥了重要的作用。这与已有的临床结论相一致。IL-6 及 CRP 可以直接参与原发性免疫反应<sup>[7,8]</sup>。免疫荧光法和免疫组化法发现在 AS 病人主动脉中有沉积的 IgG 及 IgM、补体、OX-LDL 抗体复合物。目前明了的 AS 抗原有氧化型低密度脂蛋白 (OX-LDL),热休克蛋白 (HSP),B<sub>2</sub>-糖蛋白<sup>[8]</sup>。抗原与其特异性抗体形成 CIC 激活局部的补体系统,发生Ⅲ型变态反应,从而集聚更多的单核细胞和巨噬细胞,加重血管壁的炎症反应。

三七总皂苷 (PNTS) 是五加科人参属植物三七根部提取的有效成分。近年来 PNTS 预防 AS 引起了人们的重视。已有的研究表明 PNTS 通过以下途径发挥抗 AS 作用:调节脂质代谢;抗自由基作用;抑制血小板聚集<sup>[9]</sup>。本实验在高脂喂饲形成 AS 模型同时 ig 给予 PNTS,发现 PNTS 对 AS 有很好的防治作用,和 AS 模型组比较,PNTS 防治组斑块面积明显降低,血清 CRP、IL-6 及 CIC 水平显著降低。结合前期对 PNTS 抗炎作用的研究<sup>[10]</sup>,说明抗

炎和免疫调节也可能是 PNTS 防治 AS 的形成发展的重要机制。

#### References:

- [1] Abusamieh M, Ash G. Atherosclerosis and systemic lupus erythematosus [J]. *Cardiology*, 2004, 12(5): 267-275.
- [2] Vaudo G, Marchsi S, Gerli R, *et al.* Endothelial dysfunction in young patients with rheumatoid arthritis and low disease activity [J]. *Ann Rheum Dis*, 2004, 63(1): 31-35.
- [3] Li S H, Li X H, Chu Y. Anti-inflammation mechanisms of *Panax notoginseng* total saponins [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(9): 676-678.
- [4] Asia S, Taga T, Kishimoto T. Interleukin-6 in biology and medicine [J]. *Adv Immunol*, 1993, 54: 1-78.
- [5] Bermadez E A, Rifai N, Buring J, *et al.* Interrelationships among in circulating interleukin-6, C-reactive protein, and traditional cardiovascular risk factors in women [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, 22: 1668-1673.
- [6] Rattazzi M P. C-reactive protein and interleukin-6 in vascular disease: sculpts or passive bystanders? [J]. *J Hypertension*, 2003, 21: 1787-1830.
- [7] Mortensen R F. C-reactive protein, inflammation, and innate immunity [J]. *Immunol Res*, 2002, 24: 163-176.
- [8] Hasson G K, Libby p, Schonobe U, *et al.* Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2002, 91: 281-291.
- [9] Zhou X H, Zhou X X, Yang H M. Advances in study on *Panax Notoginseng* total saponin in preventing and treating atherosclerosis [J]. *J Chengde Med Coll* (承德医学院学报), 2002, 20(4): 350-352.
- [10] Li S H, Chu Y. Anti-inflammation of *Panax notoginseng* total saponin [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1999, 20(6): 551-554.

## 黄芩苷对化学性肝损伤的保护作用

王超云,傅风华,田京伟,张太平,孙芳,刘珂

(烟台大学药学院,山东省天然药物工程技术研究中心,山东 烟台 264005)

黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 为常用中药,其有效成分为黄酮类,其中含量较高的是黄芩苷及其苷元。研究表明黄芩苷具有清除羟自由基、超氧自由基、烷自由基的功能,在抗氧化及抗炎等方面具有显著的作用<sup>[1]</sup>,本实验进一步研究其对化学性肝损伤的保护作用。

### 1 材料

1.1 动物:清洁级昆明种小鼠,雄性,体重 18~22 g,由山东省天然药物工程技术研究中心实验动物中心提供,合格证号:鲁动质字 200106003 号。

1.2 药品:黄芩苷注射液(黄芩苷纯度>90%),山东省天然药物工程技术研究中心制剂室提供,批号 020826。超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、

谷胱甘肽(GSH)试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。联苯双脂滴丸为北京协和药厂产品,批号 001104;CCl<sub>4</sub>为烟台三和化学试剂有限公司产品,批号 990918;丙氨酸氨基转移酶(ALT)试剂盒(批号 021120)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)试剂盒(批号 021120)均为中生北控生物科技股份有限公司产品。

1.3 仪器:Autolab 18 全自动生化分析仪,Vastec Medical Ltd.

### 2 方法

2.1 对 CCl<sub>4</sub>致肝损伤的影响<sup>[2,3]</sup>:取雄性健康小鼠 50 只,随机分为 5 组,每组 10 只。正常对照组、模型组尾 iv 生理盐水;黄芩苷高、低剂量(90、10 mg/