

基于 PPAR γ 通路的冠心病痰瘀互结证小鼠发病机制研究

冯 曼, 殷 佳, 王鹏伟, 高树明, 李 琳, 高 杉*, 于春泉*

天津中医药大学, 天津 300193

摘 要: 目的 基于过氧化物酶增殖物激活受体 γ (PPAR γ) 通路探讨冠心病痰瘀互结证小鼠模型的发病机制。方法 健康 C57BL/6J 雄性小鼠随机分为对照组和假手术组, 载脂蛋白 E 基因敲除 (ApoE $^{-/-}$) 雄性小鼠随机分为血瘀组、痰浊组、痰瘀互结组。痰浊组和痰瘀互结组小鼠给予高脂饲料喂养 12 周, 其余各组小鼠给予普通饲料喂养 12 周。在 8 周末时, 对血瘀组和痰瘀互结组小鼠进行冠状动脉左前降支结扎, 假手术组小鼠行穿线不结扎。酶联免疫法测定血清白细胞介素-6 (IL-6)、内皮素 (ET)、血管紧张素 II (Ang II)、PPAR γ 水平, 免疫印迹法检测肝脏组织 PPAR γ 、ATP 结合盒转运蛋白 A1 (ABCA1)、CD36 蛋白表达水平, 免疫组化方法检测主动脉基质金属蛋白酶-9 (MMP-9)、CD40、核转录因子- κ B (NF- κ B) 蛋白表达水平。结果 与假手术组比较, 各组小鼠血清中 IL-6 水平未出现显著变化, 痰瘀互结组小鼠血清 ET 水平显著升高 ($P < 0.01$), 血瘀组小鼠血清中 Ang II 水平显著升高 ($P < 0.05$), 痰浊组和痰瘀互结组小鼠血清中 Ang II 水平显著升高 ($P < 0.01$), PPAR γ 水平降低; 在肝脏组织中, 血瘀组、痰浊组和痰瘀互结组小鼠 PPAR γ 、ABCA1 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$), CD36 蛋白表达水平升高; 主动脉组织中 CD40、MMP-9、NF- κ B 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$)。结论 冠心病痰瘀互结证发病过程中会造成较为严重的动脉粥样硬化斑块, 可能是通过激活 PPAR γ 通路实现的。

关键词: 冠心病; 痰瘀互结证; 过氧化物酶增殖物激活受体 γ ; 内皮素; 血管紧张素 II; 基质金属蛋白酶-9; 核转录因子- κ B

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)05-1273-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.05.025

Study on pathogenesis of mice model of coronary heart disease with phlegm-blood stasis syndrome based on PPAR γ pathway

FENG Man, YIN Jia, WANG Peng-wei, GAO Shu-ming, LI Lin, GAO Shan, YU Chun-quan

Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To explore the pathogenesis of phlegm-blood stasis syndrome in mice model of coronary heart disease based on PPAR gamma pathway. **Methods** Healthy SPF C57BL/6J mice were used in the control group and the sham operation group, and ApoE $^{-/-}$ mice were used in the blood stasis group, phlegm turbid group and phlegm-blood stasis group. The phlegm turbid group and the phlegm-blood stasis group were fed with high-fat diet for 12 weeks, and the other groups were fed with normal feed for 12 weeks. At the end of the 8th week, the left anterior descending coronary artery was ligated in the blood stasis group and the phlegm-blood stasis group. The sham operation group was not ligated. The levels of IL-6, ET, Ang II and PPAR γ in serum were measured by enzyme linked immunosorbent assay, the levels of PPAR γ , ABCA1 and CD36 protein in liver tissue were detected by Western blotting, and the levels of CD40, MMP-9 and NF- κ B protein in aorta were detected by immunohistochemistry. **Results** Compared with sham operation group, there was no significant change in serum IL-6, the content of serum ET in the group of phlegm and blood stasis was increased significantly ($P < 0.01$), the content of Ang II in blood stasis group was increased significantly ($P < 0.05$), the content of serum Ang II in phlegm turbid group and phlegm-blood stasis group was increased significantly ($P < 0.01$), and the content of PPAR γ was decreased. In liver tissue, the expression levels of PPAR γ and ABCA1 protein in blood stasis group, phlegm turbid group and phlegm-blood stasis group were decreased significantly ($P < 0.01$), the expression of CD36 protein was increased. CD40, MMP-9 and NF- κ B levels in aorta tissue were increased significantly ($P < 0.01$). **Conclusion** The phlegm-blood stasis syndrome of coronary heart disease can cause more serious atherosclerotic plaque in the course of its onset. Its mechanism may be through activating PPAR γ pathway.

Key words: coronary heart disease; phlegm-blood stasis syndrome; PPAR γ ; ET; Ang II; MMP-9; NF- κ B

收稿日期: 2019-09-10

基金项目: 国家重点基础研究计划项目 (2014CB542902); 国家自然科学基金资助项目 (81403198)

作者简介: 冯 曼, 女, 硕士研究生, 主要研究方向为中医药治疗心血管疾病。

*通信作者 高 杉, 女, 博士, 研究方向为中药治疗心脑血管疾病。E-mail: bianjibugs@163.com

于春泉, 男, 博士, 研究员, 博士研究生导师, 研究方向为中医药治疗心脑血管疾病。E-mail: ycq-4@163.com

《中国心血管病报告 2018》概要显示, 中国心血管病患者率及死亡率仍处于上升阶段, 其中冠心病患者有 1 100 万, 死亡率继续呈上升趋势, 且男性冠心病死亡率高于女性^[1-2]。冠心病有动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 与心肌缺血的双重病理特征, 中医将 AS 与血脂的升高作为“痰”的表现, 将心肌缺血和血液流变学的变化作为“瘀”的表现, 故冠心病易表现出痰瘀等病理症状^[3]。研究发现, 冠心病心血瘀阻证及痰浊内阻证所占比例呈逐步增高趋势, 特别是痰浊内阻证。冠心病已成为中国乃至全世界的主要致死原因, 阐明其发生机制已经成为研究热点。

本实验采用冠状动脉左前降支结扎联合高脂饲料喂养载脂蛋白 E 基因敲除 (ApoE^{-/-}) 小鼠建立冠心病痰瘀互结证模型, 通过多种实验方法检测小鼠血清、肝脏、主动脉组织相关指标的变化, 探讨冠心病痰瘀互结证发展机制, 为开展方证对应关系的相关研究及中药作用机制研究提供可参考的动物模型。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 6 周龄 ApoE^{-/-}小鼠 40 只、同龄具有相同遗传背景的 C57BL/6J 小鼠 30 只由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 实验动物许可证号为 SCXK (京) 2016-0011, 饲养于天津市南开医院实验动物中心, 饲养期间保持环境温度 (22 ± 2) °C, 湿度 (50 ± 10) %, 自由进食和饮水。

1.2 试剂与仪器

白细胞介素-6 (IL-6)、内皮素 (ET)、血管紧张素 II (Ang II)、过氧化物酶增殖物激活受体 γ (PPAR γ) ELISA 试剂盒购自武汉优尔生商贸有限公司; PPAR γ 一抗购自美国 CST 公司; ATP 结合盒转运体 A1 (ABCA1)、CD36、CD40、基质金属蛋白酶-9 (MMP-9)、核转录因子- κ B (NF- κ B) 一抗购自 Abcam 公司; BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自沈阳碧云天生物技术研究所以。

多功能微孔板分析仪 (Molecular Devices 公司); 低温高速离心机 (Eppendorf 公司); 电泳仪、转膜仪 (美国 GE 公司)。

2 方法

2.1 实验分组及模型建立

将 40 只 ApoE^{-/-}小鼠随机分成血瘀组 (15 只)、痰浊组 (10 只) 和痰瘀互结组 (15 只), 将 30 只 C57BL/6J 小鼠随机分成对照组 (15 只) 和假手术

组 (15 只)。实验期间痰浊组和痰瘀互结组小鼠喂高脂饲料 12 周, 其余各组小鼠全程给予普通饲料喂养 12 周。痰浊组小鼠采用高脂饲料喂养 12 周, 期间死亡 2 只。血瘀组小鼠采用普通饲料喂养, 在冠状动脉左前降支进行结扎, 剔除死亡小鼠 5 只, 继续饲养至 12 周。痰瘀互结组小鼠手术方法同血瘀组, 同时给予高脂饲料喂养, 造模过程中死亡 6 只, 后期饲养过程中死亡 2 只。假手术组小鼠手术方法同血瘀组, 但只进行穿线不结扎。

2.2 ELISA 法检测血清中 IL-6、ET、Ang II、PPAR γ 表达水平

在第 12 周末, 剪去小鼠胡须, 采用摘眼球取血法, 从小鼠眼眶静脉丛采集血液标本, 收集于离心管中, 室温静置 30 min 后, 在 4 °C 以 3 500 r/min 离心 15 min, 分离血清后, 放置于 -80 °C 冰箱保存, 用于检测血清 IL-6、ET、Ang II、PPAR γ 水平, 具体操作严格按照试剂盒说明书进行。

2.3 Western blotting 法检测肝脏组织 PPAR γ 、ABCA1、CD36 蛋白表达水平

末次给药取血后, 取小鼠肝脏组织, 放于 -80 °C 保存。提取肝脏组织总蛋白后, 用二喹啉甲酸 (BCA) 进行蛋白定量。每泳道上样蛋白 40 μ g, SDS-PAGE 电泳、凝胶湿法转膜后, 加入兔抗小鼠 PPAR γ 、ABCA1、CD36 抗体 (1 : 5 000), 4 °C 封闭过夜, 加入山羊抗兔 IgG (1 : 5 000) 反应后, 使用发光成像系统进行曝光。

2.4 免疫组化法检测主动脉组织 CD40、MMP-9、NF- κ B 蛋白表达水平

末次给药取血及肝脏组织后, 剥离小鼠主动脉组织。主动脉组织切片后浸入 0.01 mol/L 的枸橼酸盐缓冲液 (pH=6.0), 反复加热至沸腾, 冷却后 PBS 洗涤, 滴加 5% BSA 封闭液, 室温 20 min, 滴加一抗 (1 : 3 000) 后 4 °C 孵育过夜。洗涤后滴加生物素标记二抗, 20~37 °C 孵育 30 min, 洗涤后滴加试剂 SABC, 使用 DAB 显色试剂盒复染。常规脱水、透明、封片备用。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较使用单因素方差齐性分析 (One-way ANOVA)。

3 结果

3.1 小鼠血清 IL-6、ET、Ang II、PPAR γ 水平变化与对照组比较, 假手术组小鼠血清中 IL-6、ET、

Ang II、PPAR γ 水平未出现明显变化；血瘀组、痰浊组和痰瘀互结组小鼠血清中 IL-6 水平均未出现显著变化；血瘀组、痰浊组和痰瘀互结组小鼠血清中 ET、Ang II 水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01)；血瘀组、痰浊组和痰瘀互结组小鼠血清中 PPAR γ 水平降低，但差异不显著。与假手术组比较，血瘀组、痰浊组和痰瘀互结组小鼠血清中 IL-6 水平均未出现显著变化；痰瘀互结组小鼠血清 ET 水平显著升

高 ($P<0.01$)；血瘀组、痰浊组和痰瘀互结组小鼠血清中 Ang II 水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01)；血瘀组、痰浊组和痰瘀互结组小鼠血清中 PPAR γ 水平降低，但差异不显著。与血瘀组比较，痰瘀互结组小鼠血清中 ET 水平显著升高 ($P<0.05$)；痰瘀互结组小鼠血清中 Ang II 水平显著升高 ($P<0.01$)。与痰浊组比较，痰瘀互结组小鼠血清中 Ang II 水平显著升高 ($P<0.05$)。见表 1。

表 1 冠心病痰瘀互结证对血清相关指标水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 1 Effect of coronary heart disease with phlegm-blood stasis syndrome on levels of serum related indexes ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	ET/(pg·mL ⁻¹)	Ang II/(pg·mL ⁻¹)	PPAR γ /(pg·mL ⁻¹)
对照	6.43 $\pm$ 1.82	20.85 $\pm$ 4.43	118.94 $\pm$ 53.31	0.43 $\pm$ 0.28
假手术	8.78 $\pm$ 0.76	22.90 $\pm$ 5.24	147.88 $\pm$ 46.68	0.55 $\pm$ 0.28
血瘀	7.05 $\pm$ 1.78	27.96 $\pm$ 3.25 [#]	469.40 $\pm$ 148.20 ^{**}	0.23 $\pm$ 0.07
痰浊	6.78 $\pm$ 2.71	30.38 $\pm$ 4.59 ^{##}	542.12 $\pm$ 186.60 ^{###}	0.20 $\pm$ 0.18
痰瘀互结	6.00 $\pm$ 2.82	35.43 $\pm$ 5.01 ^{###Δ}	792.02 $\pm$ 252.06 ^{###$\Delta$$\blacktriangle$}	0.22 $\pm$ 0.07

与对照组比较：[#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ ；与假手术组比较：^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ ；与血瘀组比较： ^{Δ} $P<0.05$ ^{$\Delta\Delta$} $P<0.01$ ；与痰浊组比较： ^{$\blacktriangle$} $P<0.05$ ^{$\blacktriangle\blacktriangle$} $P<0.01$ vs control group；^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs Sham group； ^{Δ} $P<0.05$ ^{$\Delta\Delta$} $P<0.01$ vs blood stasis group； ^{$\blacktriangle$} $P<0.05$ vs phlegm turbid group

3.2 小鼠肝脏组织 PPAR γ 、ABCA1、CD36 蛋白水平变化

与对照组比较，假手术组小鼠肝脏组织 PPAR γ 、ABCA1 蛋白表达水平降低，CD36 蛋白表达水平升高，但差异不显著；血瘀组、痰浊组和痰瘀互结组小鼠肝脏组织中 PPAR γ 、ABCA1 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.01$)，CD36 蛋白表达水平升高，但差异不显著。与假手术组比较，血瘀组、痰浊组和痰

瘀互结组小鼠肝脏组织 PPAR γ 、ABCA1 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.01$)，CD36 蛋白表达水平升高，但差异不显著。与血瘀组比较，痰浊组和痰瘀互结组小鼠肝脏组织 PPAR γ 、ABCA1 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01)，CD36 蛋白表达水平有明显的上调趋势，但差异不显著。与痰浊组比较，痰瘀互结组小鼠肝脏组织 ABCA1 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.05$)，见图 1。

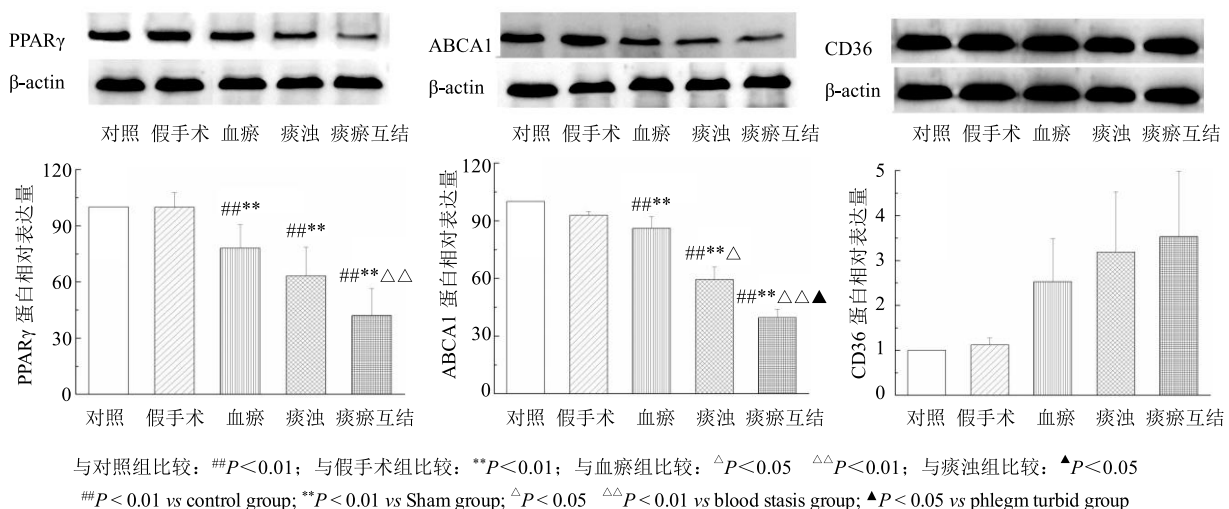


图 1 冠心病痰瘀互结证对肝脏 PPAR γ 、ABCA1、CD36 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 1 Effect of coronary heart disease with phlegm-blood stasis syndrome on protein expression of PPAR γ , ABCA1 and CD36 in liver ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

3.3 小鼠主动脉组织 CD40、MMP-9、NF- κ B 蛋白表达水平变化

与对照组比较, 假手术组小鼠主动脉组织 CD40 蛋白表达水平降低, MMP-9、NF- κ B 蛋白表达水平升高, 但差异不显著。与假手术组比较, 血瘀组、痰浊组和痰瘀互结组小鼠主动脉组织 CD40、MMP-9、NF- κ B 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$)。与血瘀组比较, 痰瘀互结组小鼠主动脉组织 CD40、MMP-9、NF- κ B 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$)。与痰浊组比较, 痰瘀互结组小鼠主动脉组织 CD40 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$), MMP-9 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$)。见表 2、图 2。

4 讨论

血瘀指机体内有血液停滞, 离经之血蓄积体内,

表 2 冠心病痰瘀互结证对小鼠主动脉 CD40、MMP-9、NF- κ B 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effect of coronary heart disease with phlegm-blood stasis syndrome on protein expression of CD40, MMP-9 and NF- κ B in aorta of mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	蛋白相对表达量		
	CD40	MMP-9	NF- κ B
对照	0.22 $\pm$ 0.03	0.19 $\pm$ 0.02	0.24 $\pm$ 0.04
假手术	0.16 $\pm$ 0.04	0.20 $\pm$ 0.04	0.31 $\pm$ 0.06
血瘀	0.40 $\pm$ 0.03 ^{###}	0.33 $\pm$ 0.01 ^{###}	0.47 $\pm$ 0.07 ^{###}
痰浊	0.37 $\pm$ 0.04 ^{###}	0.60 $\pm$ 0.05 ^{###$\Delta\Delta$}	0.57 $\pm$ 0.02 ^{###}
痰瘀互结	0.49 $\pm$ 0.02 ^{###$\Delta\Delta$}	0.69 $\pm$ 0.05 ^{###$\Delta\Delta$}	0.65 $\pm$ 0.05 ^{###$\Delta\Delta$}

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与假手术组比较: ^{**} $P < 0.01$; 与血瘀组比较: ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$; 与痰浊组比较: ^{Δ} $P < 0.05$ ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{**} $P < 0.01$ vs Sham group; ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$ vs blood stasis group; ^{Δ} $P < 0.05$ ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$ vs phlegm turbid group

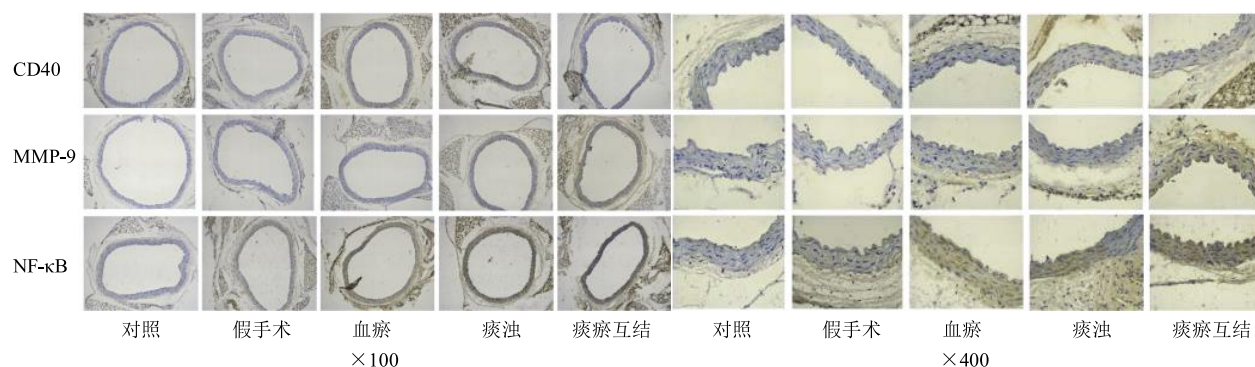


图 2 冠心病痰瘀互结证对小鼠主动脉 CD40、MMP-9、NF- κ B 蛋白表达的影响

Fig. 2 Effect of coronary heart disease with phlegm-blood stasis syndrome on protein expression of CD40, MMP-9, and NF- κ B in aorta of mice

或血运不畅, 阻滞于经脉及脏腑内的血液。冠状动脉左前降支结扎术可以直接有效地阻断冠状动脉, 常被用于冠心病心肌缺血和梗死模型的制备, 孙娟等^[4]、石洪涛等^[5]和郭淑贞等^[6]采用该方法成功在大鼠、小鼠、猪冠状动脉左前降支结扎, 建立心肌缺血和梗死模型, 实验结果显示左心室射血分数 (EF)、左心室短轴收缩率 (FS) 显著降低。高脂血症及高血糖等 AS 致病因素皆可称之“血中之痰浊”, 其中总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 的升高是痰浊的主要特征和生化物质基础^[7-8]。沈伟等^[9]通过冠状动脉左前降支结扎联合高脂饲料喂养成功建立小鼠 AS 和心肌梗死双模型, 更接近临床疾病状态。课题组前期在高脂饲料喂养的基础上联合冠状动脉左前降支结扎的方法成功建立冠心病痰瘀互结证小鼠模型^[10], 结果表明痰瘀互结组小鼠的 EF、FS 显著降低, 血

清中 TC、TG、HDL-C、LDL-C 显著升高, 主动脉窦处有明显的粥样斑块, 主动脉管腔显著狭窄, 主动脉大体油红 O 染色斑块面积显著, 具有明显的心肌缺血和 AS 的特点。本实验以前期实验模型为基础, 通过检测 PPAR γ 通路相关指标, 进一步探讨冠心病痰瘀互结证发病机制。

AS 斑块的形成是平滑肌细胞的迁移过程, 此过程和基质金属蛋白酶 (MMPs) 密切相关, 尤其是与 MMP-2 和 MMP-9, 其通过降解平滑肌细胞周围的胶原破坏斑块的稳定性^[11]。在 AS 不稳定性斑块中会出现巨噬细胞数量增多、基质减少、胶原降解、MMP-9 表达过量, 证明 AS 斑块的稳定性和 MMP-9 的高表达相关^[12-13]。CD40 与 CD40L 为一对互补的跨膜糖蛋白, 二者结合则成为炎症信号转导通路的重要成分, 参与 AS 形成、斑块的不稳定性和血栓的形成过程。CD40L 的高表达会刺激免疫

反应,引起炎症瀑布效应,导致 AS 斑块形成和血小板活化。研究表明 AS 斑块中巨噬细胞、内皮细胞和平滑肌细胞均可表达 CD40 和 CD40L,从而通过调节 MMPs 的表达降低斑块稳定性^[14-15]。核转录因子 NF- κ B 一般情况下与 NF- κ B 抑制蛋白(I κ B)相结合,以 p65 和 p50 构成的不活跃的二聚体形式存在。当细胞被激活,I κ B 磷酸化,NF- κ B 与 I κ B 解离,NF- κ B 二聚体活化,迁移进入细胞核,激活细胞因子、白细胞介素等相关因子表达,从而加剧局部的炎症反应和 AS 斑块的不稳定性。研究显示 AS 斑块中 NF- κ B 的表达增加,并且发现 NF- κ B 的激活和冠状动脉的损伤程度有直接联系^[16-17]。在正常动脉壁中巨噬细胞上的 CD36 表达水平较低,而 CD36 在斑块中泡沫细胞的表达则明显升高,表明 CD36 在 AS 斑块形成过程的巨噬细胞泡沫化中有重要作用。研究结果显示在肝脏中 CD36 的基础表达水平较低,但在高脂饮食的诱导下 CD36 的表达水平显著升高^[18-20]。

ABCA1 属于大分子跨膜蛋白,参与胆固醇的逆向转运,在肝、肠和巨噬细胞中高度表达。ABCA1 能够把过量的胆固醇从细胞内向细胞外运输,输送到载脂蛋白并将其包装成 HDL-C。细胞内的胆固醇流出增多,会减轻细胞的泡沫化程度,进而延缓 AS 的发生发展,成为 AS 治疗的一个重要目标^[21-22]。PPAR γ 属于一类配体调控的核转录因子,研究结果显示 PPAR γ 既能调节 LDL-C 的摄取,又能调节胆固醇的流出,进而影响 AS 的形成过程^[23]。激活的 PPAR γ 通过激活蛋白、信号转导和转录活化因子信号通路,抑制与 AS 斑块发生和发展相关的多种黏附分子和炎症因子的基因表达,通过抑制促炎因子的表达,减轻炎症反应,减少 MMPs 的产生,抑制巨噬细胞转化为泡沫细胞等,从而延缓 AS 的发展,发挥稳定 AS 斑块的作用^[24-25]。此外 PPAR γ 还能减少单核细胞黏附在血管壁上,以减轻 AS,表明 PPAR γ 有心血管保护作用^[26]。

本实验中,小鼠血清中 ET 和 Ang II 水平升高,表明冠心病痰瘀互结证会对血管内皮细胞造成损伤,利于脂质在血管内膜沉积,形成 AS 斑块。小鼠主动脉组织中 CD40、MMP-9 和 NF- κ B 蛋白表达水平均明显升高,表明冠心病痰瘀互结证发病过程中会造成较为严重的 AS 斑块。痰瘀互结组小鼠肝脏组织中 CD36 蛋白表达水明显升高,说明冠心病痰瘀互结证增加组织对脂肪酸和胆固醇摄入、储存

和利用,同时抑制 ABCA1 的表达,使机体胆固醇逆向转运功能下降,从而造成体内胆固醇蓄积和 AS 病变,此外还通过下调 PPAR γ 的表达促进炎症反应的发展,加速 AS 病变,这为探索冠心病痰瘀互结证的发病机制提供了实验依据。

中医在治疗冠心病痰瘀互结证时采用益肾健脾、涤痰散结、清热化痰、活血通络、益气养阴、化痰活血等辨证论治的方法,佐以活血化瘀药、理气药、化痰药、补虚药等。任得志等^[27]将痰瘀互结型冠心病不稳定型心绞痛患者 68 例分为对照组和治疗组,对照组给予常规化学药治疗,治疗组在常规化学药基础上加服丹莪片,连续治疗 4 周后,临床结果显示丹莪片能明显改善患者临床症状,调节血脂,具有一定的稳定斑块作用。肖志文^[28]采用自拟益气逐瘀降浊汤治疗 60 例痰瘀互结兼气虚患者,该汤所含方药为党参、瓜蒌、白术、半夏、陈皮、丹参、桃仁、川芎、炙甘草、桂枝,结果显示益气逐瘀降浊汤能有效地改善胸痹的主要症状。谭延文^[29]在小陷胸汤中加入丹参组成丹参陷胸汤,用于治疗冠心病痰瘀互结证时疗效良好。本实验的模型和结果为中药治疗痰瘀互结证研究提供了可靠的模型和实验依据。本课题组将以此模型为基础,进一步研究中药治疗冠心病痰瘀互结证的作用机制。

参考文献

- [1] 胡盛寿,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2018》概要[J].中国循环杂志,2019,34(3):209-220.
- [2] 国家卫生和计划生育委员会.中国卫生和计划生育统计年鉴 2017[M].北京:中国协和医科大学出版社,2017.
- [3] 袁蓉,王阶,郭丽丽.冠心病痰瘀互结证的近代研究及中医治疗进展[J].中国中药杂志,2016,41(1):35-37.
- [4] 孙娟,赵启韬,黄臻辉,等.瓜蒌皮对急性心肌缺血大鼠的保护作用[J].中药药理与临床,2013,29(3):114-116.
- [5] 石洪涛,王颖,张俊蒙,等.一种快捷小鼠心肌梗死模型的建立[J].中国动脉硬化杂志,2012,20(3):212-216.
- [6] 郭淑贞,王伟,刘涛,等.小型猪冠心病(心肌缺血)血瘀证模型血液流变学及超声评价[J].中华中医药学刊,2007,25(4):702-705.
- [7] 宋剑南,刘东远,牛晓红,等.高脂血症与中医痰浊关系的实验研究[J].中国中医基础医学杂志,1995,1(1):49-51.
- [8] 王中平,刘凡,王玲,等.血脂异常与冠心病研究

- 进展 [J]. 四川解剖学杂志, 2010, 18(3): 45-48.
- [9] 沈伟, 刘湘绪, 施海明, 等. 一种新型 apoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化和心肌梗死双模型的建立 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2018, 16(17): 2473-2478.
- [10] 王朔, 梁如, 冯曼, 等. 冠心病痰瘀互结证小鼠模型的建立与评价研究 [J]. 天津中医药, 2018, 35(9): 649-654.
- [11] Wang X, Khalil R A. Matrix metalloproteinases, vascular remodeling, and vascular disease [J]. *Adv Pharmacol*, 2018, doi: 10.1016/bs.apha.2017.08.002.
- [12] Williams A R, Hatzistergos K E, Addicott B, *et al*. Enhanced effect of human cardiac stem cells and bone marrow mesenchymal stem cells to reduce infarct size and restore cardiac function after myocardial infarction [J]. *Circulation*, 2013, 127(2): 213-223.
- [13] 朱杰, 汪茜, 张旭, 等. MMP-9 在 ApoE 基因敲除小鼠主动脉粥样硬化斑块的表达及高脂饮食影响 [J]. 中国医科大学学报, 2008, 37(6): 750-753.
- [14] El-Makrema M A A, Mahmouda Y Z, Sayedb D, *et al*. The role of platelets CD40 ligand (CD154) in acute coronary syndromes [J]. *Thromb Res*, 2009, 124(6): 683-688.
- [15] Lutgens E, Lievens D, Beckers L, *et al*. CD40 and its ligand in atherosclerosis [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2007, 17(4): 118-123.
- [16] Kaski C. Inflammation, infection and coronary artery disease: Myths and realities. Special XXXV conference of the national congress 13 of the Spanish society of cardiology [J]. *Rev Esp Cardiol*, 2000, 53(10): 1311-1317.
- [17] Baeuerle P. Function and activation of NF-kappa B in the immune system [J]. *Ann Rev Immunol*, 1994, 12(1): 141-179.
- [18] Knouff C, Auwerx J. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma calls for activation in moderation: Lessons from genetics and pharmacology [J]. *Endocr Rev*, 2004, 25(6): 899-918.
- [19] Chinetti G, Lestavel S, Bocher V, *et al*. PPAR-alpha and PPAR-gamma activators induce cholesterol removal from human macrophage foam cells through stimulation of the ABCA1 pathway [J]. *Nat Med*, 2001, 7(1): 53-58.
- [20] Koonen D P, Jacobs R L, Febbraio M, *et al*. Increased hepatic CD36 expression contributes to dyslipidemia associated with diet-induced obesity [J]. *Diabetes*, 2007, 56(12): 2863-2871.
- [21] Aiello R J, Bress D, Francone O L. ABCA1-deficient mice: Insights into the role of monocyte lipid efflux in HDL formation and inflammation [J]. *Arterioscl Thromb Vasc Biol*, 2003, 23(6): 972-980.
- [22] Tang C, Oram J F. The cell cholesterol exporter ABCA1 as a protector from cardiovascular disease and diabetes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1791(7): 563-572.
- [23] Tontonoz P, Nagy L, Alvarez J G, *et al*. PPAR gamma promotes monocyte/macrophage differentiation and uptake of oxidized LDL [J]. *Cell*, 1998, 93(3): 241-252.
- [24] Bardelli C, Amoruso A, Canova D F, *et al*. Autocrine activation of human monocyte/macrophages by monocyte-derived microparticles and modulation by PPAR γ ligands [J]. *Brit J Pharmacol*, 2012, 165(3): 716-728.
- [25] 吴圣贤, 聂波, 潘美香, 等. 解毒活血法对 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化斑块 PPAR- γ 和炎症因子的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2014, 41(5): 1046-1048.
- [26] 安毅, 宫丽鸿, 魏伟超. 搜风祛痰法对 ApoE 基因敲除小鼠主动脉粥样硬化斑块炎症反应及 PPAR γ 基因表达的影响 [J]. 中国中医急症, 2014, 23(9): 1591-1593.
- [27] 任得志, 张军茹, 申仙利. 丹蒺片治疗痰瘀互结型冠心病不稳定型心绞痛的临床观察 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2014, 12(8): 1022-1023.
- [28] 肖志文. 益气逐瘀降浊汤治疗气虚兼痰瘀互结型胸痹的临床观察 [J]. 中医临床研究, 2011, 3(4): 26-27.
- [29] 谭延文. 丹参陷胸汤治疗痰瘀互结型冠心病 45 例 [J]. 山东中医杂志, 2010, 29(9): 613-614.