

# 莱菔子水溶性生物碱对载脂蛋白 E 基因缺陷小鼠胸主动脉内皮型一氧化氮合酶、核因子- $\kappa$ B 的影响

张国侠 盖国忠

**【摘要】 目的** 探讨莱菔子水溶性生物碱对载脂蛋白 E 基因缺陷小鼠胸主动脉内皮型一氧化氮合酶、核因子- $\kappa$ B 的影响。**方法** 将载脂蛋白 E 基因敲除小鼠(高脂饮食)随机分为 5 组,为莱菔子水溶性生物碱高、中、低剂量组,血脂康组,模型组,每组 6 只。另设 C57BL/6J 小鼠组,6 只。给药时间为 8 周。**结果** 内皮型一氧化氮合酶:模型组 140.67, C57BL/6J 102.33, 高剂量组 110.83, 中剂量组 119.33, 低剂量组 128.83, 血脂康组 110.5; 核因子- $\kappa$ B: 模型组 46.99, C57BL/6J 132.17, 高剂量组 95.99, 中剂量组 119.33, 低剂量组 128.83, 血脂康组 110.5。**结论** 莱菔子水溶性生物碱具有抗动脉粥样硬化作用。

**【关键词】** 莱菔子水溶性生物碱; 载脂蛋白 E 基因缺陷小鼠; 动脉粥样硬化

**【中图分类号】** R 285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2013.08.003

**Experimental study of thoracic aorta eNOS, NF- $\kappa$ B effect of soluble Semen Raphani alkaloids in ApoE<sup>-/-</sup> Rats** ZHANG Guo-xia, GAI Guo-zhong. Research institute of Traditional Chinese Medicine, Jilin 130021, China  
Corresponding author: GAI Guo-zhong, E-mail: gaigzh@126.com

**【Abstract】 Objective** To explore the effects of the soluble Semen Raphani alkaloids on ApoE<sup>-/-</sup> Rats, about thoracic aorta eNOS, NF- $\kappa$ B. **Method** ApoE knockout mice (high fat diet) were randomly divided into 5 groups, each group of six; Semen Raphani soluble alkaloid high, medium and low dose group, Xuezhikang group, model group. C57BL / 6 j mice group; xuezhikang group. Delivery time for eight weeks. **Result** eNOS: model group 140.67, C57BL / 6 j 102.33, high dose group 110.83, mild dose group 119.33, low dose group 128.83, Xuezhikang group 110.5; nuclear factor kappa B: model group 46.99, C57BL / 6 j 132.17, high dose group 95.99, mild dose group 119.33, low dose group 128.83, Xuezhikang group 110.5 g. **Conclusion** Soluble Semen Raphani alkaloids can anti-atherosclerosis.

**【Key words】** Soluble Semen Raphani alkaloids; ApoE<sup>-/-</sup>-rat; Atherosclerosis

动脉粥样硬化的中医学病因可归结为痰浊、血瘀范畴。其中尤以痰浊型常见。西医在治疗本病的时候多用他汀类药物,虽疗效确切但是对肝肾功能影响较大。中药复方制剂常常因服用不方便而导致患者依从性差,因此,探寻单味中药治疗本病,发挥简、效、便、廉的优势,有较高的社会价值。本

研究提取了莱菔子有效成分水溶性生物碱,并以载脂蛋白 E 基因缺陷(ApoE<sup>-/-</sup>)小鼠为研究对象,从血管内皮保护机制方面着手,进行了实验研究。

## 1 材料与方

### 1.1 药品

莱菔子水溶性生物碱。生莱菔子采用水提醇沉方法提取而成。由吉林省中医中药研究院新药中心制备(实验专用)。

### 1.2 动物

雄性 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠 30 只,雄性 C57BL/6J 小鼠 6 只,13 周龄,体重(22±2)g,清洁级,北京维通利华公司提供。

作者单位:130212 吉林省中医药科学院脾胃科(张国侠);中国中医药科学院基础医学研究所(盖国忠)

作者简介:张国侠(1980-),博士,主治医师。研究方向:老年病的防治。E-mail: guoxia.1980@163.com

通讯作者:盖国忠(1962-),博士,主任医师,教授。研究方向:慢病的中医药防治研究。E-mail: gaigzh@126.com

### 1.3 主要实验仪器及试剂

电子记重秤 AWH(SI) - 2.5 kg; 国产; BD/BC - 518 - 20℃ 冰箱: 国产; 4℃ 冰箱: 国产; Q/IF-GM018 - 2000 低温高速离心机: 德国; HH · W21 · 600 电热恒温水浴箱; 小型台式离心机, 上海医疗器械厂; PERLONG; pus - 2018 半自动生化分析仪: 北京普朗新技术有限公司。

### 1.4 基础饲料

玉米粉 26.0%, 面粉 29.0%, 豆粕 28.0%, 磷酸氢钙 1.4%, 石粉 1.6%, 鱼粉 5.0%, 骨粉 5.0%, 盐 1.0%, 多种维生素 1.5%, 多种微量元素 1.5%。

肥甘饲料: 参见文献<sup>[1]</sup>。

### 1.5 分组及给药

将 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠(高脂饮食)随机分为 5 组, 每组 6 只。C57BL/6J(同种同系): 每日灌服饮用水; 莱菔子水溶性生物碱高剂量组: 90 mg/(kg · d), 溶于 1 ml 蒸馏水, 灌胃。中剂量组: 60 mg/(kg · d), 溶于 1 ml 蒸馏水, 灌胃。低剂量组: 30 mg/(kg · d), 溶于 1 ml 蒸馏水, 灌胃。血脂康组: 0.2 g/(kg · d), 溶于 1 ml 蒸馏水, 灌胃。模型组给以等体积蒸馏水灌胃。给药时间为 8 周。

### 1.6 标本

每组取 6 只小鼠, 小鼠经摘除眼球采血后, 立即拉椎处死, 快速切取主动脉弓组织 1 cm, 将其迅速放置 4% 多聚甲醛固定液中固定。每只小鼠的主动脉弓切片在 400 倍镜下选取 3 个不同的视野。

### 1.7 统计学处理

实验数据均采用均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )来表示, 运用 SPSS 13.0 软件进行计算, 组间比较采用方差分析。

## 2 结果

实验结果表明, 莱菔子水溶性生物碱各给药组均能抑制小鼠胸主动脉核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)蛋白表达, 并且随着剂量的增加, 抑制的作用增强; 均能提高小鼠胸主动脉内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)蛋白表达, 并且随着剂量的增加, 作用增强。并且莱菔子水溶性生物碱高剂量组的作用与血脂康组相比无统计学意义。见表 1。

## 3 讨论

1999 年 Ross 在总结“内皮损伤反应学说”<sup>[2-3]</sup>的基础上提出了炎症学说。其提出动脉粥样硬化是一

种炎症反应性疾病, 因为动脉粥样硬化有同慢性炎症反应一样的基本特征, 即: 变质、渗出、增生<sup>[4]</sup>。

目前中药研究抗动脉粥样硬化作用的研究主要

表 1 各组治疗 8 周后胸主动脉壁 eNOS、NF-κB 蛋白表达比较( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	eNOS	NF-κB
模型组	140.67 ± 5.65	46.99 ± 4.33
C57BL/6J	102.33 ± 5.01 <sup>a</sup>	132.17 ± 9.22 <sup>a</sup>
高剂量组	110.83 ± 5.23 <sup>ac</sup>	95.99 ± 2.27 <sup>ab</sup>
中剂量组	119.33 ± 4.59 <sup>abe</sup>	86.21 ± 4.28 <sup>abd</sup>
低剂量组	128.83 ± 3.66 <sup>abd</sup>	75.62 ± 1.07 <sup>abd</sup>
血脂康组	110.5 ± 5.58 <sup>ac</sup>	98.39 ± 5.86 <sup>ab</sup>

注: 与模型组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; 与 C57BL/6J 比较, <sup>b</sup> $P < 0.01$ , <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与血脂康组比较, <sup>d</sup> $P < 0.01$ , <sup>e</sup> $P < 0.05$ ;  $n$  代表视野。

集中在降血脂、抗过氧化、血管内皮保护、抑制平滑肌细胞增殖迁移等方面。经过文献检索发现中药抗动脉粥样硬化研究从炎症细胞浸润、细胞因子表达方面入手的较少。此外, 进行试验所选药物大多为复方且以个人经验方为主, 对于单味药、单体有效成分的研究较少。

综上, 课题组在对莱菔子单味药有效成分提取的基础上进行试验, 从保护血管内皮, 抗炎的机制方面进行研究。本试验结果表明莱菔子水溶性生物碱能够提高 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠主动脉内皮型一氧化氮合酶的表达, 抑制核因子-κB 的表达。由于在动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)的进程中, NF-κB 是多种炎症因子的启动因子, 在 AS 的发展过程中发挥着关键作用。而 NO 有抗炎作用。已有研究证实, 由于 NO 能够作用于 NF-κB 的抑制因子, 减少各种致炎症因素刺激内皮细胞达到抗 AS 的作用<sup>[5]</sup>。可见, 莱菔子水溶性生物碱通过增加 NO 的合成, 发挥 NO 的生理作用, 进而达到抗 AS 的目的。由于, 本实验选用的动物模型为基因缺陷小鼠, 课题组发现中医学先天禀赋因素在 AS 的发病中有重大作用, 并且, 莱菔子水溶性生物碱具有干预作用。

### 参考文献

- [1] Prediman K, Nilsson J, Kaul S, et al. Effects of recombinant Apolipoprotein A-IMilano on aortic atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice[J]. Circulation, 1998, 97: 780-785.
- [2] Ross R, Glomset J A. The pathophysiology of atherosclerosis[J]. N Engl J Med, 1976, 295(8): 420-425.
- [3] de Boer OJ, van der Wal AC, Becker AE. Atherosclerosis, inflammation, and infection[J]. Pathol, 2000, 190(3): 237-243.
- [4] Ross R. Atherosclerosis an inflammatory disease[J]. N Engl J Med, 1999, 340(2): 115-126.
- [5] Fleming I, Bauersachs J, Busse R. Paracrine functions of the coronary vascular endothelium[J]. Mol Cell Biochem, 1996, 157: 137.

(收稿日期: 2013-04-11)

(本文编辑: 秦楠)