

# 抗氧化作用样中药单体抑制 Ox-LDL 生成保护血管内皮细胞作用的研究进展

钱春美 张晓峰

(上海中医药大学附属市中医医院,上海,200071)

**摘要** 氧化低密度脂蛋白(Oxidized Low Density Lipoprotein, Ox-LDL)的形成对动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)的发生发展起到很关键的作用,主要通过刺激相关受体、分泌细胞因子等诱导内皮细胞损伤,加重 AS。近年来国内外对中药单体抗低密度脂蛋白氧化,减少对血管内皮细胞损伤,起到预防治疗动脉粥样硬化,保护心血管作用有很多报道。本文就近年来的中药单体抗 Ox-LDL,保护心血管疾病的相关研究进行综述。

**关键词** 中药单体;氧化低密度脂蛋白;血管内皮细胞;动脉粥样硬化

## Investigation Progress in Chinese Medicine Monomer with Antioxidant Effect Inhibiting Ox-LDL Ggeneration and Protecting Vascular Endothelial Cells

Qian Chunmei, Zhang Xiaofeng

(Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Shanghai TCM University, Shanghai 200071, China)

**Abstract** Oxidized low-density lipoprotein (Ox-LDL) plays an important role in the formation of atherosclerosis (AS). It induces endothelial cell injury and aggravates AS by stimulating the relevant receptors, secreting cytokine and so on. In recent years, there are more and more reports about the antioxidant effect of Chinese medicine monomer in preventing and treating AS by reducing endothelial cell injury. This paper gives a summary review of some researches on the relationship between Ox-LDL and cardiovascular disease in recent years.

**Key Words** Chinese medicine monomer; Ox-LDL; Vascular endothelial cell; AS

中图分类号:R285.5;R543.1+2 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2015.04.040

心血管疾病是目前严重危害人类健康的疾病之一,它的患病率与死亡率也在逐年提高。动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)是心血管疾病的重要病理基础,其发病的过程复杂,血管内皮层作为血管壁的首要防线,其完整性至关重要。近年来大量资料提示 Ox-LDL 是血管内皮损伤、单核细胞黏附、泡沫细胞形成和血栓形成的主要因素,在 AS 的发生、发展中发挥重要作用。抗氧化药物(如丙丁酚、他汀类等)通过抑制 Ox-LDL 生成、进而保护血管内皮细胞已成为治疗 AS 的一种重要方法,并在临床取得良好疗效。多年以来,天然抗氧化药物一直是研究的热点,而中药中具有抗氧化样的单体也得到深入的研究。

### 1 Ox-LDL 与血管内皮损伤

1.1 氧化、抗氧化与 Ox-LDL 天然的 LDL 本身不足以促发动脉粥样硬化,当其被氧化修饰后,方能有致病作用。主要是通过细胞介导、过度金属离子介

导以及一氧化氮氧化、髓过氧化酶氧化等途径,经过迟滞、进展以及分解三个主要阶段形成的。产物 Ox-LDL 是导致血管内皮细胞损伤,AS 发生、发展的关键因素。

根据徐瑞霞综述<sup>[1]</sup>,迄今为止关于 LDL 氧化修饰生成 Ox-LDL 的机制研究主要涉及以下四个方面内容:1)金属离子氧化法:将 LDL(50~100 μg/mL)与 CuSO<sub>4</sub>(1~10 μmol)在 37℃ 条件下孵育 24 h, Ox-LDL 生成;2)过氧化物酶(Myeloperoxidase, MPO)的氧化作用:中性粒细胞在防御微生物侵袭时活化并释放 MPO, MPO/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/氯化物系统能够生成一系列继发自由基或非自由基类氧化剂,从而对 LDL 进行氧化修饰;3)糖化 LDL:主要存在于糖尿病患者中;4)一氧化氮(Nitric Oxide, NO)及其氧化机制:在生理条件 pH 值下 NO 不能氧化 LDL,但当环境中存在 O<sub>2</sub> 时,NO 迅速失活生成潜在的氧化一过氧亚硝酸盐(Peroxynitrite, ONOO<sup>-</sup>),此时的 NO 则起着促

基金项目:上海市卫生局科研项目(编号:20114057)

作者简介:钱春美,女,硕士,中药师,E-mail:qcm\_work@126.com

通信作者:张晓峰(1961.11—),男,学士,主任技师,科室主任,研究方向:心血管疾病方向,E-mail:xfzhang0387@sina.com

进氧化反应的作用,这一机制参与了 LDL 的氧化修饰。抗氧化剂具有抑制 Ox-LDL 的形成作用<sup>[2]</sup>,如抗氧化剂丙丁酚可以进入 LDL 颗粒抑制 LDL 的氧化,从而延缓 AS 的形成,类似作用的药物还有普罗布考等。另外天然抗氧化剂维生素 E 与维生素 C 在胆固醇喂饲的新西兰白兔、高脂血症鼠及灵长类动物实验中也表现出具有促进消退原有损伤的作用。

1.2 Ox-LDL 致血管内皮细胞损伤机制 主要通过:1)激活血管内皮细胞的跨膜表面糖蛋白(Cluster of Differentiation, CD)36 和血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体-1(Lectin-like Oxidized Low Density Lipoprotein receptor-1, LOX-1),引发内皮损伤和炎症反应<sup>[3-5]</sup>;2)刺激内皮细胞分泌具有很强趋化作用的因子促使单核细胞对血管内皮发生黏附、趋化和浸润受损<sup>[6]</sup>;3)LDL 在氧化过程中产生的脂质过氧化物抑制内皮细胞生长、引起骨架破坏、诱导细胞凋亡并抑制吞噬凋亡细胞、阻碍内皮细胞的自我修复作用<sup>[7-8]</sup>。

## 2 抗氧化作用样中药单体抑制 Ox-LDL 生成、保护血管内皮细胞的作用

2.1 三七总皂苷 三七总皂苷(Total Panax Notoginsenosides, TPNS)是中药三七的主要活性成分,具有良好的调脂、抗氧化、抗血小板聚集作用。刘桂林<sup>[9]</sup>等将载脂蛋白 E 基因敲除 apoE-KO 小鼠进行体内实验,应用 ELISA 法测定小鼠血清 Ox-LDL 含量,透射电镜观察小鼠主动脉内皮细胞的超微结构,实时定量 RT-PCR 检测小鼠主动脉细胞分化抗原 40(CD40)血管细胞黏附分子-1(Vascular Cell Adhesion Molecule 1, VCAM-1) mRNA 表达水平。结果显示,apoE-KO 小鼠的主动脉内皮和正常相比明显肿胀,连续性中断,可见细胞凋亡,胞核固缩核,内异染色质明显增多,线粒体空泡化。用药组内皮结构有不同程度的改善。与模型组相比 apoE-KO 小鼠血清 Ox-LDL 水平显著升高。三七总皂苷及辛伐他汀均可显著降低 apoE-KO 小鼠血清 Ox-LDL 水平,下调主动脉 CD40 及 VCAM-1 的基因表达水平,对动脉粥样硬化小鼠血管内皮具有保护作用。

以培养原代人脐静脉内皮细胞(Human Umbilical Vein Endothelial Cell, HUVEC)作为靶细胞,用 Ox-LDL 造成 HUVEC 损伤模型,用三七总皂苷进行干预的体外实验证实<sup>[10]</sup>,三七总皂苷能通过下调内皮细胞表面黏附分子的表达,抑制单核-血管内皮细胞黏附,从而发挥对血管内皮细胞的保护作用。

2.2 川芎嗪 川芎嗪(Ligustazine)具有活血化瘀等心血管系统的保护作用,其作用机制复杂。王国峰<sup>[11]</sup>等通过体外培养人冠状动脉内皮细胞,并随机分为对照组、Ox-LDL 组、不同浓度川芎嗪为 1  $\mu\text{mol/L}$ 组、10  $\mu\text{mol/L}$ 组、100  $\mu\text{mol/L}$ 组。用 RT-PCR 及 Western Blot 法检测单核细胞趋化蛋白 1(Monocyte Chemotactic Protein-1, MCP-1)和细胞间黏附分子 1(Intercellular Adhesion Molecule-1, ICAM-1)基因和蛋白表达;采用免疫荧光法观察 NF- $\kappa$ B p65 蛋白的核转位。结果显示,不同浓度的川芎嗪能下调 MCP-1、ICAM-1 基因表达,保护对 Ox-LDL 诱导的血管内皮细胞损伤。

阮秋蓉等<sup>[12]</sup>通过体外培养人脐静脉内皮细胞和大鼠胸主动脉平滑肌细胞实验,证实川芎嗪通过抑制或阻断 AS 危险因素 Ox-LDL、Ox-vLDL 和血管紧张素 II 诱导的核因子  $\kappa$ B 活化及核内移位,抑制血管壁细胞血管细胞黏附分子 1 和单核细胞趋化蛋白 1 表达,抑制单核细胞黏附于内皮,而发挥其抗 AS 作用。人内皮细胞 ECVV304 的体外实验<sup>[13]</sup>同样证实,川芎嗪能提高血管内皮细胞超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione Peroxidase, GSH-Px)的活性,抑制 Ox-LDL 导致的内皮细胞损伤。

2.3 白藜芦醇 白藜芦醇是一种生物性很强的天然多酚类物,是降低血小板聚集,预防和治疗 AS、心脑血管疾病的化学预防剂。李国洪<sup>[14]</sup>等在铜离子诱发 LDL 氧化修饰的基础上,建立内皮细胞脂质过氧化损伤模型,通过不同剂量的白藜芦醇进行干预。白藜芦醇的干预可减轻 Ox-LDL 对抗超氧化物歧化酶 SOD,谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px 的影响,降低 MDA 含量,并显著减少凋亡细胞数量,保护和修复 Ox-LDL 引起的血管内皮细胞损伤。

2.4 丹参多酚酸盐 丹参多酚酸盐(Salvianolate)是以丹酚酸 B 镁(或称丹参乙酸镁)为主要成分的有效活性部位,具有很强的抗氧化和清除自由基作用。熊涛<sup>[15]</sup>等证实其对  $\text{Cu}^{2+}$ 、内皮细胞介导 LDL 的氧化有显著的抑制作用,达到治疗 AS 的作用。吴兴利<sup>[16]</sup>等通过兔血管平滑肌细胞(Vascular Smooth Muscle Cell, VSMC)体外实验,研究证实一定浓度的 Ox-LDL 可促进 VSMC 分泌白介素 IL-18、IL-1 和 ICAM-1,丹参多酚酸盐可浓度依赖地抑制 Ox-LDL 刺激产生的 IL-1 和 ICAM-1 分泌作用,发挥其对 VSMC 免疫学功能的调控。

2.5 银杏黄酮苷元 银杏叶提取物中的黄酮苷元

(Ginkgo Flavone Aglycone, GA) 具有较强的抗氧化活性,何艳<sup>[17]</sup>等通过前期实验证实黄酮苷元可抑制 Ox-LDL 诱导内皮细胞表达 LOX-1。且进一步实验采用银杏黄酮苷元对兔颈总动脉内皮损伤的干预,4 周后检测各组血脂水平,观察各组右颈总动脉形态,用免疫组织化学法和 RT-PCR 检测 LOX-1 蛋白和 mRNA 表达。结果证实模型组术后 4 周内膜增生明显,有粥样斑块形成,LOX-1 表达明显增加。黄酮苷元灌胃后右颈总动脉内膜增生较轻,内膜面积、LOX-1 阳性细胞数和其基因表达水平均低于模型组。提示银杏黄酮苷元可通过抑制兔颈总动脉内皮损伤后 LOX-1 的表达,减轻新生内膜增生及 AS 的形成。

在 GA 对 Ox-LDL 诱导的人主动脉内皮细胞 (Humanaorticendothelial Cells, HAECs) 氧化应激损伤的保护作用<sup>[18]</sup>实验证实,GA 可明显抑制 Ox-LDL 诱导的活性氧 (Reactive Oxygen Species, ROS) 合成,降低丙二醛 (Minimum Descent Altitude, MDA) 水平,升高 NO 其作用机制可能与 SOD 活性增加及内皮细胞 NADPH (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase, NADPH) 氧化酶活性降低有关。

**2.6 葡萄籽原花青素** 葡萄籽原花青素 (Grape Seed Proanthocyanidin Extract, GSPE) 是从葡萄籽中分离出来的一类多酚类化合物,是一张强抗氧化剂,对 AS、大肠肿瘤、胃溃疡等多种疾病有预防作用。刘相菊<sup>[19]</sup>等通过 GSPE 作用兔 AS 模型,进行 MDA、Ox-LDL 检测及形态学观察。结果显示经 GSPE 干预治疗后,形态学观察可见局部破坏减轻,小栓子形成受抑。Ox-LDL 含量降低,抑制 AS 的形成。沈琳<sup>[20]</sup>等通过含胆固醇颗粒饲料建立 AS 模型,探讨 GSPE 对实验性 AS 兔基质金属蛋白酶 2,9 (Matrix Metallo Preteinases-2,9, MMP-2,9) 和 Ox-LDL 的影响,结果进一步显示 GSPE 干预后, MMP-2、MMP-9 和 Ox-LDL 水平明显下降,证实了 GSPE 有明显的抗 AS 效应,且效应与其抗氧化、抑制细胞分泌因子有关。

**2.7 桔梗皂苷 D** 桔梗 (Platycodon Grandiflorum A. DC.), 桔梗科桔梗属植物,主要活性成分桔梗皂苷 D (Platycodin D, PD)。王茂山<sup>[21]</sup>等利用 Ox-LDL 诱导 HUVECs, 建立细胞氧化损伤模型,测定 NO、MDA 水平和 VCAM-1、ICAM-1 的表达。结果证实,PD 能显著增大细胞培养液 NO 浓度,显著降低 MDA 水平。通过减少 VCAM-1 和 ICAM-1 分子的表达及单核细胞与内皮细胞的黏附作用来抑制 Ox-LDL 诱

导的内皮细胞氧化损伤,起到治疗 AS 早期反应。

**2.8 西红花酸** 西红花酸来源于茜草科植物栀子 (Gardenia Jasminoides) 果实,为天然类胡萝卜素类化合物。郑书国<sup>[22]</sup>等人用高脂饲料建立兔高脂血症模型,用西红花酸伴饲料,测定其血清总抗氧化能力及相关活性因子。结果发现,高脂血症能诱导机体的氧化应激状态,损伤机体抗氧化能力,引起 LDL 氧化修饰。西红花酸能显著降低高脂血症家兔 LDL 氧化易感性和血清 Ox-LDL 水平,且有剂量依赖性。

**2.9 其他** 刘瑞<sup>[23-24]</sup>等人对天然黄酮类化合物槲皮素、芦丁、葛根素、异鼠李素及橙皮苷对  $\text{Cu}^{2+}$  介导 LDL 体外氧化修饰作用的影响。按一次性密度梯度超速离心法分离人血清 LDL,分别加入药物与 LDL 温育 3 h,然后利用  $\text{Cu}^{2+}$  介导体外氧化修饰脂蛋白的方法,观察发现 LDL 氧化修饰不同时间,这五种黄酮类化合物均具有降低相对电泳迁移率 (Relative Electrophoretic Mobility, REM),硫代巴比妥酸反应物质 (Thiobarbituric Acid Reactive Substance, TBARS) 及载脂蛋白羰基含量,抑制  $\text{Cu}^{2+}$  介导 LDL 氧化修饰的作用。

原儿茶醛是从活血化瘀药物 (如丹参、四季青叶、鼠尾草) 中提取的水溶性单体,具有扩张动脉、降低心肌耗氧量、抑制血小板聚集、抗脂质过氧化和清除自由基等作用。韩纯洁<sup>[25]</sup>等人 Ox-LDL 诱导人血管内皮细胞损伤,并以不同剂量的原儿茶醛干预 24 h,用四甲基偶氮唑蓝比色法检测细胞存活数量,比色法测定细胞培养液中 NO 含量和 NOS 活性,流式细胞术测定细胞内 CD40 蛋白表达。检测结果显示,原儿茶醛抑制 Ox-LDL 诱导的血管内皮细胞损伤,保护血管内皮细胞。

### 3 讨论

AS 是以血管炎症反应为主的慢性血管性疾病,发病原因涉及许多因素。血脂代谢异常导致的高脂血症以及脂质氧化是动脉粥样硬化发生发展过程中起关键作用的致病原因。Ox-LDL 通过多种机制诱导血管内皮损伤,是其发生、发展的重要因素。目前,除了一些抗炎药物外,具有抗氧化作用的中药单体通过抑制 LDL 的氧化,减少 Ox-LDL 的生成,从而降低内皮细胞损伤和细胞凋亡,并对 AS 具有明显的防治作用。综上所述,天然中草药植物中存在着有效活性物质抑制 Ox-LDL 刺激内皮细胞产生的损伤,达到保护心血管作用。因此,具有抗氧化作用的中药提取物有望成为抗 AS 治疗及预防其进一步发展的的重要手段。

参考文献

[1]徐瑞霞,李建军. 氧化型低密度脂蛋白胆固醇与动脉粥样硬化[J]. 中国医学前沿杂志:电子版,2012,4(8):33-37.

[2]王友明,王拥军. 抗氧化剂与动脉粥样硬化形成的研究进展[J]. 中国卒中杂志,2007,2(2):139-145.

[3]陈伟强,程义勇. 氧化型低密度脂蛋白[J]. 医学检验与临床,2009,20(2):1-3.

[4]许斌,张静生. LOX-1介导 OX-LDL 诱导血管内皮细胞 P65 的表达[J]. 辽宁中医杂志,2006,33(3):667-669.

[5]Inoue K, Arai Y, Kurihara H, et al. Overexpression of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 induces intramyocardial vasculopathy in apolipoprotein E-null mice[J]. Circ Res,2005,97(2):176-184.

[6]Yang YY, Hu CJ, Chang SM, et al. Aspirin inhibits monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 expression in TNF-alpha stimulated human umbilical vein endothelial cells[J]. Atherosclerosis,2004(174):207-213.

[7]乔春霞,徐贵发,赵秀兰. 茶多酚对 Ox-LDL 诱导人脐静脉内皮细胞凋亡的抑制作用[J]. 营养学报,2006,28(6):490-493.

[8]丛晓强,孟晓萍,李颖. 基质金属蛋白酶在动脉粥样硬化中的作用研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志,2007,15(5):397-399.

[9]刘桂林,窦迎春,乔云. 三七皂苷对动脉粥样硬化血管内皮的保护作用[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2013,11(9):1094-1096.

[10]王楚彬,蔡培伟,伦镜盛. 羟苯磺酸钙对去甲斑蝥素致血管内皮细胞毒性拮抗作用的研究[J]. 中国医药,2012,7(6):737-738.

[11]王国峰,陆峰,赵霞. 川芎嗪对氧化型低密度脂蛋白诱导的血管内皮细胞损伤的保护作用[J]. 中华老年心脑血管病杂志,2012,14(3):298-301.

[12]阮秋蓉,瞿智玲,朱敏. 川芎嗪对血管壁细胞血管细胞粘附分子 1 和单核细胞趋化蛋白 1 表达的作用及可能机制[J]. 中国动脉硬化杂志,2006,14(7):560-564.

[13]彭小春,马红莺,尹刚. 川芎嗪抗动脉粥样硬化机制的研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(5):1130-1131.

[14]李国洪,金美娟,王新鸣. 白藜芦醇对氧化型 LDL 所致血管内皮细胞损伤的保护作用[J]. 解放军医学杂志,2008,33(6):719-721.

[15]熊涛,吴兴军,王逸平. 丹参多酚酸盐抑制低密度脂蛋白氧化修饰[J]. 中药药理与临床,2004,20(4):7-10.

[16]吴兴利,高玉玲,李金珉. 丹参多酚酸盐对氧化低密度脂蛋白促血管平滑肌细胞分泌作用的影响[J]. 东南大学学报:医学版,2010,29(2):169-172.

[17]何艳,谢清平,吴立荣. 银杏黄酮苷元干预兔颈总动脉损伤后内膜增生及凝血素样氧化低密度脂蛋白受体 1 的表达[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2010,14(28):5228-5232.

[18]王伟玮,何艳,刘兴德. 银杏黄酮苷元对氧化型低密度脂蛋白诱导的人主动脉内皮细胞氧化损伤的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2013,33(3):392-396.

[19]刘相菊,高海青,邱洁. 葡萄籽原花青素对兔动脉粥样硬化氧化应激的影响[J]. 山东大学学报:医学版,2010,48(8):25-31.

[20]沈琳,高海青,邱洁. 葡萄籽原花青素对实验性动脉粥样硬化兔基质金属蛋白酶和氧化低密度脂蛋白的影响[J]. 中国心血管杂志,2006,11(5):331-334.

[21]王茂山,吴敬涛. 桔梗皂苷 D 对氧化型低密度脂蛋白诱导的内皮细胞氧化损伤的作用[J]. 食品科学,2013,34(13):293-296.

[22]郑书国,钱之玉,王宏婷. 西红花酸对高脂血症家兔 LDL 氧化易感性及血清 Ox-LDL 水平的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(6):50-53.

[23]刘瑞,孟芳,刘宇. 异鼠李素及橙皮甙抑制 LDL 氧化修饰作用的研究[J]. 中药材,2007,30(6):677-684.

[24]刘瑞,孟芳,白怀. 槲皮素、芦丁及葛根素抑制 LDL 氧化修饰作用的研究[J]. 中国中药杂志,2007,32(19):2058-2062.

[25]韩纯洁,林蓉,刘俊田. 原儿茶醛对 OX-LDL 损伤的血管内皮细胞保护作用[J]. 中药材,2007,30(12):1541-1544.

(2014-09-23 收稿 责任编辑:张文婷)

(上接第 632 页)

[37]王开富,徐丽君,邹欣. 九味头痛片镇痛效果及机制的实验研究[J]. 华中科技大学学报,2013,42(2):200-202.

[38]李金学,刘秀芹,向昌菊. 痹痛消治疗颈痛的镇痛机理研究[J]. 医学研究通讯,2001,30(9):16-17.

[39]雷洁莹. 中药灌肠结合调情志治疗盆腔炎性慢性盆腔痛的临床研究[J]. 新中医,2011,44(11):71-74.

[40]胡一冰,张元,潘惠娟. 复方天麻制剂外周镇痛机理研究[J]. 成都大学学报:自然科学版,2009,28(4):302-304.

[41]韩笑,刘文,邱德文. 都梁丸提取液镇痛作用及对外周组织 c-fos 基因表达影响的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2003,9(4):34-36.

[42]王学勇,张元,许建阳. 金铁锁皂苷镇痛作用及其对佐剂性关节炎大鼠 c-fos 基因的表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(3):94-96.

[43]战祥毅. 中药止痛巴布贴镇痛药效及毒副作用的实验研究[D]. 沈阳:辽宁中医药大学,2011.

[44]马兆润. 中医药治疗癌症疼痛的应用概况[J]. 内蒙古中医药,2009,17(9):34-36.

[45]周春阳,张翔,蔡春燕. 中药复方制剂的镇痛作用研究[J]. 川北医学院学报,2002,17(4):5-7.

[46]张林,罗容,鲁艺. 中药镇痛新药开发的中西医结合研究进展[J]. 世界中西医结合杂志,2012,7(6):543-545.

(2014-07-07 收稿 责任编辑:张文婷)