

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research仙茅苷抑制 ROS/NLRP3 通路对主动脉夹层
大鼠作用的研究Research on the effects of curculigoside on aortic dissection rats by inhibiting
ROS/NLRP3 pathway李昭阳, 吴恩刚, 王 锋,
李 伟, 董圣军, 杨凯强,
盖 宁(滨州医学院附属医院 心脏大血管外科, 山东
滨州 256600)LI Zhao - yang, WU En - gang,
WANG Feng, LI Wei,
DONG Sheng - jun,
YANG Kai - qiang, GAI Ning(Department of Cardiac and Great
Vascular Surgery, Affiliated Hospital of
Binzhou Medical University, Binzhou
256600, Shandong Province, China)基金项目: 健康中国 - 药学与临床科研基金资
助项目 (HX - JKZG - YXLC - 16);
山东省中医药科技项目基金资助
项目 (2021M166w)作者简介: 李昭阳 (1998 -), 男, 硕士研究生,
主要从事主动脉夹层方面的研究通信作者: 盖宁, 主治医师
MP: 18366870598

E - mail: gaining0920@163.com

摘要:目的 探讨仙茅苷抑制活性氧/NOD 样受体家族含热蛋白结构域蛋白 3 (ROS/NLRP3) 通路对主动脉夹层大鼠的作用。方法 将 60 只大鼠随机分为对照组、模型组、低剂量实验组 ($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 仙茅苷)、高剂量实验组 ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 仙茅苷) 和联合组 ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 仙茅苷 + $1.75 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 三甲胺 N -氧化物), 每组 12 只。除对照组外, 其余组大鼠均通过灌胃 β -氨基丙腈 ($0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 建立主动脉夹层大鼠模型。采集心脏血液, 用酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定白细胞介素-6 (IL-6) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平; 用苏木精-伊红染色法 (HE) 及 Van Gieson 染液检测组织病理变化及弹性纤维断裂的程度; 用双氯荧光素 (DCFH-DA) 染色法检测活性氧 (ROS) 水平; 用实时定量反转录聚合酶链式反应 (qRT-PCR) 法检测主动脉组织中金属基质蛋白酶 9 (MMP-9) 信使核糖核酸 (mRNA) 和金属基质蛋白酶 2 (MMP-2) mRNA 表达; 用蛋白质印迹法检测主动脉组织中凋亡相关斑点样蛋白 (ASC)、NLRP3 和半胱天冬酶-1 (Caspase-1) 蛋白表达。结果 低剂量实验组、高剂量实验组、对照组、模型组和联合组的 IL-6 分别为 (49.06 ± 4.98)、(37.18 ± 3.81)、(35.62 ± 3.63)、(72.34 ± 7.33) 和 (50.03 ± 5.08) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; TNF- α 分别为 (25.63 ± 2.64)、(16.35 ± 1.71)、(15.31 ± 1.62)、(42.06 ± 4.23) 和 (26.15 ± 2.64) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 弹性纤维断裂程度分别为 2.01 ± 0.22 、 0.85 ± 0.09 、 0 ± 0 、 3.22 ± 0.34 和 1.85 ± 0.19 ; ROS 分别为 358.62 ± 36.64 、 203.11 ± 20.15 、 186.34 ± 19.11 、 588.64 ± 60.03 和 361.24 ± 37.24 ; MMP-9 mRNA 相对表达水平分别为 1.67 ± 0.18 、 1.15 ± 0.12 、 1.02 ± 0.11 、 2.45 ± 0.26 和 1.72 ± 0.19 ; MMP-2 mRNA 相对表达水平分别为 1.88 ± 0.19 、 1.24 ± 0.14 、 0.98 ± 0.10 、 2.85 ± 0.30 和 1.91 ± 0.20 ; Caspase-1 蛋白相对表达水平分别为 0.85 ± 0.09 、 0.55 ± 0.06 、 0.44 ± 0.05 、 1.24 ± 0.13 和 0.88 ± 0.10 ; ASC 蛋白相对表达水平 0.97 ± 0.10 、 0.64 ± 0.08 、 0.55 ± 0.06 、 1.48 ± 0.16 和 0.89 ± 0.09 和 NLRP3 蛋白相对表达水平分别为 0.64 ± 0.08 、 0.35 ± 0.05 、 0.25 ± 0.03 、 1.02 ± 0.11 和 0.72 ± 0.09 。模型组的上述指标与对照组比较, 高剂量实验组的上述指标与模型组比较, 联合组的上述指标与高剂量实验组比较, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。结论 仙茅苷能够有效改善 β -氨基丙腈大鼠主动脉损伤, 可能是通过抑制 ROS/NLRP3 通路改善主动脉夹层的发生。

关键词: 仙茅苷; 活性氧/NOD 样受体家族含热蛋白结构域蛋白 3 通路; 主动脉夹层; 炎症反应

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2026.05.010

中图分类号: R543.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2026)05-0650-07

Abstract: Objective To investigate the ameliorative effects of curculigoside on rats with aortic dissection by the inhibition of the

reactive oxygen species /NOD – like receptor thermal protein domain associated protein 3 (ROS/NLRP3) pathway.

Methods Rats were randomly divided into control group, model group, low – dose experimental group (50 mg · kg⁻¹ curculigoside), high – dose experimental group (100 mg · kg⁻¹ curculigoside) and combination group (100 mg · kg⁻¹ curculigoside and 1.75 mg · mL⁻¹ trimethylamine *N* – oxide), with 12 rats in each group. The rat model of aortic dissection was established by intragastric administration of 0.1 g · kg⁻¹ β – aminopropionitrile (BAPN). Cardiac blood was collected, and the levels of interleukin – 6 (IL – 6) and tumor necrosis factor – α (TNF – α) were determined by enzyme – linked immunosorbent assay (ELISA). hematoxylin – eosin (HE) staining and Van Gieson staining were used to evaluate histopathological changes and the degree of elastic fiber rupture. Reactive oxygen species (ROS) levels were detected using 2',7' – dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFH – DA) staining. The mRNA expression levels of matrix metalloproteinase 9 (MMP – 9) and matrix metalloproteinase 2 (MMP – 2) in aortic tissues were measured by quantitative real – time reverse transcription – polymerase chain reaction (qRT – PCR). The protein expression levels of apoptosis – associated speck – like protein containing a CARD (ASC), NLR family pyrin domain – containing 3 (NLRP3) and caspase – 1 in aortic tissues were detected by Western blotting.

Results The IL – 6 levels in the low – dose experimental group, high – dose experimental group, control group, model group and combination group were (49.06 ± 4.98), (37.18 ± 3.81), (35.62 ± 3.63), (72.34 ± 7.33) and (50.03 ± 5.08) pg · mL⁻¹, respectively; the TNF – α levels were (25.63 ± 2.64), (16.35 ± 1.71), (15.31 ± 1.62), (42.06 ± 4.23) and (26.15 ± 2.64) pg · mL⁻¹, respectively; the degrees of elastic fiber rupture were 2.01 ± 0.22, 0.85 ± 0.09, 0 ± 0, 3.22 ± 0.34 and 1.85 ± 0.19, respectively; the ROS levels were 358.62 ± 36.64, 203.11 ± 20.15, 186.34 ± 19.11, 588.64 ± 60.03 and 361.24 ± 37.24, respectively; the relative mRNA expression levels of MMP – 9 were 1.67 ± 0.18, 1.15 ± 0.12, 1.02 ± 0.11, 2.45 ± 0.26 and 1.72 ± 0.19, respectively; the relative mRNA expression levels of MMP – 2 were 1.88 ± 0.19, 1.24 ± 0.14, 0.98 ± 0.10, 2.85 ± 0.30 and 1.91 ± 0.20, respectively; the relative protein expression levels of Caspase – 1 were 0.85 ± 0.09, 0.55 ± 0.06, 0.44 ± 0.05, 1.24 ± 0.13 and 0.88 ± 0.10, respectively; the relative protein expression levels of ASC were 0.97 ± 0.10, 0.64 ± 0.08, 0.55 ± 0.06, 1.48 ± 0.16 and 0.89 ± 0.09, respectively; and the relative protein expression levels of NLRP3 were 0.64 ± 0.08, 0.35 ± 0.05, 0.25 ± 0.03, 1.02 ± 0.11 and 0.72 ± 0.09, respectively. Compared with the control group, the above indicators in the model group were significantly different (all *P* < 0.05); compared with the model group, the above indicators in the high – dose experimental group were significantly different (all *P* < 0.05); and compared with the high – dose experimental group, the above indicators in the combination group were significantly different (all *P* < 0.05).

Conclusion Curculigoside can effectively ameliorate BAPN – induced aortic injury in rats. Its protective mechanism against the development of aortic dissection may be associated with the inhibition of the ROS/NLRP3 signaling pathway.

Key words: curculigoside; reactive oxygen species / NOD – like receptor thermal protein domain associated protein 3 pathway; aortic dissection; inflammatory reaction

主动脉夹层(aortic dissection, AD)是一种致死率极高的心血管急症,目前尚缺乏有效的药物治疗手段^[1-3]。研究表明,炎症细胞的浸润、主动脉壁中弹性纤维的破坏是主动脉夹层的关键病理特征^[4]。炎症和氧化应激之间息息相关,组织内过量的活性氧(reactive oxygen species, ROS)可以激活 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD – like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3) 炎性小体,从而加速炎症性疾病进展^[5]。已有研究表明,抑制 ROS 介导的 NLRP3 炎性小体激活能有效减缓 AD 的形成并减少释放促炎细胞因子的释放,提示 ROS/NLRP3 通路在 AD 发展中发挥着重要的作用^[6]。仙茅苷作为中药仙茅的主要活性成分,具有显著的抗炎与抗氧化功效^[7],其药理机制已被证实与下调 ROS 介导的 NLRP3 炎性小体密切相关^[8]。鉴于此,本研究通过构建大鼠 AD 模型,旨在探讨仙茅苷对主动脉夹层的改善作用及其潜在的分子机制,以期为该疾病的药物治疗提供新的理论依据。

材料与方法

1 材料

动物 SD 雄性大鼠 60 只,鼠龄 7 周,体质量为 260 ~ 290 g,购自山东泰安泰安鸿菲尔生物科技有限公司。动物使用许可证号:SCXK(鲁)2024 0006。本研究经滨州医学院附属医院动物伦理委员会批准(伦理批号:20240408)。

试剂与仪器 仙茅苷,规格:20 mg,纯度:>98%,批号:HY-N0705,北京伊塔生物科技有限公司生产; β -氨基丙腈,美国 MedChemExpress 公司生产;三甲胺 *N*-氧化物(ROS/NLRP3 通路激活剂),规格:1 g,纯度:98%,批号:HY-116084,美国 MCE 公司生产;大鼠肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)试剂盒,浙江杭州联科生物技术股份有限公司生产;白细胞介素(interleukin-6, IL-6)试剂盒,江西南昌市江蓝纯生物试剂有限公司生产;苏木精伊红(hematoxylin-Eosin, HE)试剂盒,上海碧云天生物技术有限公司生产;凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)、NLRP3、半胱天冬酶-1(cysteine-aspartic protease 1, Caspase-1)抗体,均由英国 Abcam 公司生产;双氯荧光素(2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, DCFH-DA)染色试剂盒,德国 Rebstock 公司生产;Van Gieson 染液,上海百奥斯生物科技有限公司生产。

仪器 Eclipse Ti-S 倒置显微镜,日本尼康公司产品;Axio Vert 倒置荧光显微镜,德国 CarlZeiss 公司生产。

2 实验方法

2.1 模型构建^[9]

连续 4 w 给大鼠灌胃 $0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ β -氨基丙腈液体,随机选取 2 只,制备主动脉切片,切片显示中膜变薄、内膜增厚,且断裂可见,则表示主动脉夹层大鼠建模成功。

2.2 动物分组与给药方法

将大鼠随机分为对照组、模型组、低、高剂量实验组和联合组,每组 12 只。低、高剂量实验组造模成功第 2 d 分别腹腔注射 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 仙茅苷;联合组造模成功第 2 d 腹腔注射 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 仙茅苷,尾静脉注射 $1.75 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 三甲胺 *N*-氧化物,每只 $35 \mu\text{L}$ (根据大鼠剂量换算得到)^[11];对照组与模型组腹腔注射等量生理盐水,每天 1 次,连续 30 d。

2.3 酶联免疫吸附实验法检测炎症因子^[12]

从大鼠心脏中抽取血液,并在 4°C 下以 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,收获上清液,用酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒测定 IL-6 和 TNF- α 水平。

2.4 HE 染色法观察大鼠主动脉损伤^[13]

将固定的主动脉组织包埋在石蜡中并切成 $4 \mu\text{m}$,组织切片在二甲苯中脱蜡,并在分级乙醇中再水化,将切片完全浸入苏木精染色溶液中并孵育,去离子水洗涤,盐酸-乙醇溶液分化切片,将切片浸入曙红中孵育,切片经脱水、透明化和密封后,用显微镜观察主动脉组织的组织病理学变化。

2.5 Van Gieson 染液染色法观察大鼠主动脉弹性纤维损伤^[14]

组织切片制备见“2.4”,高锰酸钾氧化后,用 Elastin 溶液处理,然后用去离子水冲洗。随后将切片浸入分化溶液中,用 Van Gieson 染液染色,并在显微镜下确认分化程度,中性树脂密封所有切片,用显微镜观察图像。弹性纤维断裂的程度评分如下^[14]:1 分为血管结构轻度断裂 < 25%;2 分为血管结构中度破损 $\geq 25\%$ 和 < 50%;3 分为血管结构重度破损 $\geq 50\%$;4 分为血管结构严重损伤 $\geq 50\%$ 伴有明显破裂或动脉瘤形成。

2.6 荧光显微镜法检测主动脉组织中 ROS 水平^[15]

收集大鼠主动脉组织,制备组织切片,将组织切片按照说明书在避光条件下进行 DCFH-DA ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 染色 2 h,用荧光显微镜拍照,并统计 ROS 荧光强度。

2.7 聚合酶链式反应法检测主动脉组织中金属基质蛋白酶 9(matrix metalloproteinases 9, MMP-9) 和 MMP-2 信使核糖核酸(messenger ribonucleic acid, mRNA) 表达^[16]

用 TRIzol 试剂从主动脉组织中提取总 RNA。然后用 HiScript III RT SuperMix 将 RNA 样品逆转录为互补脱氧核糖核酸(complementary deoxyribonucleic acid, cDNA),在聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)系统中用 SYBR-Green 实时 PCR 混合物进行实时 PCR 分析。通过将靶基因的循环阈值(cycle threshold, Ct)值以 β -actin 为内参确定 mRNA 相对表达水平,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法分析 MMP-9 mRNA 和 MMP-2 mRNA 表达。 β -actin 正向引物:5'-GAG-GCATCCTGACCCTGAAG-3',反向引物:5'-CATCA-CAATGCCAGTGCTACG-3';MMP-2 正向引物:5'-CAGCCGACTTTTGTGGTCTTC-3',反向引物:5'-CAGTGGACATAGCGGTCTCG-3';MMP-9 正向

引物:5' - CAGCCGACTTTTGTGGTCTTC - 3', 反向引物:5' - GTACAAGTATGCCTCTGCCA - 3'。

2.8 蛋白质印记法检测主动脉组织中 Caspase - 1、含 CARD 结构域的凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis - associated speck - like protein containing a CARD, ASC) 和 NLRP3 蛋白表达^[17]

用放射免疫沉淀分析裂解缓冲液从主动脉组织提取总蛋白后,二喹啉甲酸试剂盒测定蛋白质浓度。通过 SDS - PAGE 分离蛋白质,然后转印到 0.2 μm 聚偏氟乙烯膜上,5% 脱脂牛奶密封,然后与 Caspase - 1、ASC 和 NLRP3 一抗在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下过夜,并与相应的二抗孵育。用增强化学发光试剂对蛋白质条带进行可视化,并用 Fluor Chem 成像系统进行成像。

3 统计学处理

用 SPSS 27.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较用单因素方差分析,2 组间比较用 SNK - q 检验。

结 果

1 仙茅苷对各组大鼠血清 IL - 6 和 TNF - α 的影响

与对照组相比,模型组大鼠的血清 IL - 6 和 TNF - α 水平均显著增加 (均 $P < 0.05$);低、高剂量实验组与模型组比较,大鼠的血清 IL - 6 和 TNF - α 水平均明显降低,在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$);联合组与高剂量实验组相比,大鼠的血清 IL - 6 和 TNF - α 水平均明显升高,在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$),见表 1。

2 仙茅苷对主动脉组织病理学的影响

HE 染色显示:对照组大鼠主动脉壁结构完整,

纤维排列整齐,未见炎性细胞浸润;模型组大鼠主动脉壁结构损伤,纤维排列紊乱,主动脉膜厚度增加,大量炎性细胞浸润,弹性纤维断裂程度加重;低、高剂量实验组大鼠主动脉壁损伤改善,纤维排列有序,炎性细胞减少,弹性纤维断裂程度降低,其中,高剂量实验组改善最明显;联合组相比于高剂量实验组大鼠主动脉壁结构明显损伤,弹性纤维断裂程度增加,见图 1A。

Van Gieson 染色显示:对照组大鼠主动脉壁组织完整,少量蓝色胶原纤维;模型组大鼠组织紊乱,大量蓝色胶原纤维;低、高剂量实验组大鼠主动脉壁组织改善,蓝色胶原纤维减少,其中,高剂量实验组减少最明显;联合组相比于高剂量实验组大鼠蓝色胶原纤维有所增加,见图 1B 及表 2。

表 1 各组大鼠白细胞介素 (IL - 6) 和肿瘤坏死因子 (TNF - α) 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of interleukin - 6 (IL - 6) and tumor necrosis factor - α (TNF - α) levels in each group of rats ($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>n</i>	IL - 6 ($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	TNF - α ($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
Control	10	35.62 $\pm$ 3.63	15.31 $\pm$ 1.62
Model	10	72.34 $\pm$ 7.33 *	42.06 $\pm$ 4.23 *
Experimental - L	10	49.06 $\pm$ 4.98 [#]	25.63 $\pm$ 2.64 [#]
Experimental - H	10	37.18 $\pm$ 3.81 ^{#▲}	16.35 $\pm$ 1.71 ^{#▲}
Combination	10	50.03 $\pm$ 5.08 Δ	26.15 $\pm$ 2.64 Δ

Control group: No special treatment; Model group: 0.1 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ BAPN; Experimental - L group: Modeling and 50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ curculigoside; Experimental - H group: Modeling and 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ curculigoside; Combination group: Modeling, 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ curculigoside and 1.75 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ thrimethylamine - *N* - oxide; Compared with control group, * $P < 0.05$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$; Compared with experimental - L group, [▲] $P < 0.05$; Compared with experimental - H group, Δ $P < 0.05$.

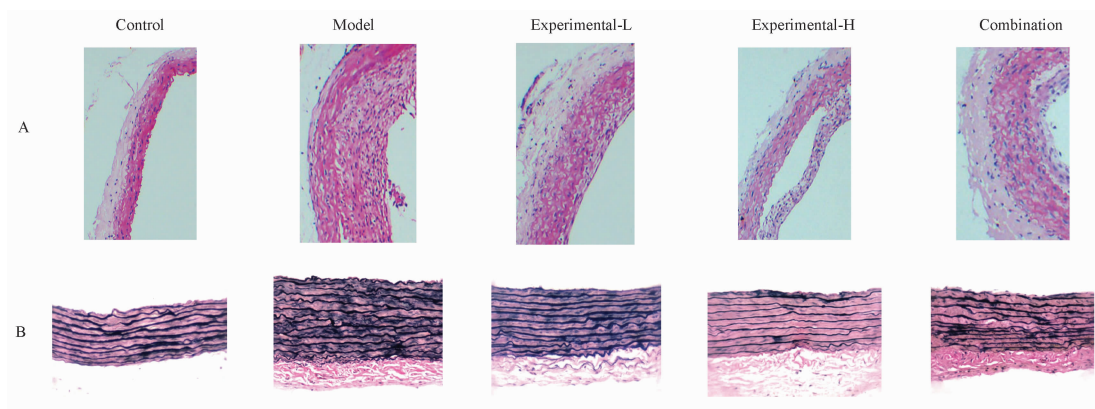


图 1 各组大鼠主动脉组织苏木精 - 伊红 (A) ($\times 100$) 和 Van Gieson (B) 染色图 ($\times 200$)

Figure 1 Stained images of the aortic tissues from each group of rats under hematoxylin - eosin (A) ($\times 100$) and Van Gieson staining (B) ($\times 200$)

3 仙茅苷对主动脉组织 ROS 水平的影响

与对照组相比,模型组大鼠主动脉组织 ROS 显著增加($P<0.05$);与模型组相比,低、高剂量实验组大鼠主动脉组织 ROS 均降低,在统计学上差异有统计意义(均 $P<0.05$);与高剂量实验组相比,联合组大鼠主动脉组织 ROS 显著增加($P<0.05$),见表3。

4 仙茅苷对主动脉组织 MMP-9 和 MMP-2 mRNA 表达的影响

与对照组相比,模型组大鼠主动脉组织MMP-9 和 MMP-2 mRNA 相对表达水平均显著增加(均 $P<0.05$);与模型组相比,低、高剂量实验组大鼠主动脉组织 MMP-9 和 MMP-2 mRNA 相对表达水平均降低,在统计学上差异均有统计意义(均 $P<0.05$);与高剂量实验组相比,联合组大鼠主动脉组织MMP-9 和 MMP-2 mRNA 相对表达水平均显著增加(均 $P<0.05$),见表4。

5 仙茅苷对组织中 Caspase-1、ASC 和 NLRP3 蛋白表达的影响

与对照组相比,模型组的 Caspase-1、ASC 和 NLRP3蛋白相对表达水平均显著增加(均 $P<0.05$);与模型组相比,低、高剂量实验组的 Caspase-1、ASC 和 NLRP3 蛋白相对表达水平均降低,在统计学上差异均有统计意义(均 $P<0.05$);与高剂量实验组相

比,联合组的 Caspase-1、ASC 和 NLRP3 蛋白相对表达水平均显著增加(均 $P<0.05$),见图2和表5。

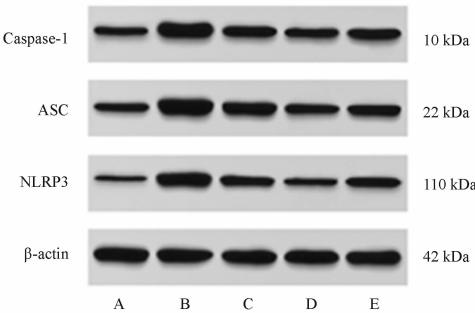


图2 用蛋白质印迹法检测组织中半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶1 (Caspase-1)、含 CARD 结构域的凋亡相关斑点样蛋白(ASC)和含 NOD 亮氨酸重复序列和热蛋白结构域的蛋白3(NLRP3)蛋白相对表达水平

Figure 2 The relative expression levels of cysteine dependent aspartate directed protease 1 (Caspase-1), apoptosis associated speck like protein containing a CARD(ASC), and NOD, LRR and pyrin domaincontaining protein 3 (NLRP3) proteins in the tissue detected by Western blot

A: Control group; B: Model group; C: Experimental-L group; D: Experimental-H group; E: Combination group.

表4 各组中基质金属蛋白酶9(MMP-9)和 MMP-2 信使核糖核酸(mRNA) 相对表达水平的对比($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of matrix metalloproteinase 9(MMP-9) and MMP-2 messenger ribonucleic acid(mRNA) relative expression levels in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	MMP-9 mRNA	MMP-2 mRNA
Control	10	1.02 ± 0.11	0.98 ± 0.10
Model	10	2.45 ± 0.26 *	2.85 ± 0.30 *
Experimental-L	10	1.67 ± 0.18 #	1.88 ± 0.19 #
Experimental-H	10	1.15 ± 0.12 #▲	1.24 ± 0.14 #▲
Combination	10	1.72 ± 0.19 △	1.91 ± 0.20 △

Compared with the control group, * $P<0.05$; Compared with the model group, # $P<0.05$; Compared with the experimental-L group, ▲ $P<0.05$; Compared with the experimental-H group, △ $P<0.05$.

表5 各组组织中 Caspase-1、ASC 和 NLRP3 蛋白相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of the relative expression levels of Caspase-1, ASC and NLRP3 protein in each group of tissues ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Caspase-1	ASC	NLRP3
Control	10	0.44 ± 0.05	0.55 ± 0.06	0.25 ± 0.03
Model	10	1.24 ± 0.13 *	1.48 ± 0.16 *	1.02 ± 0.11 *
Experimental-L	10	0.85 ± 0.09 #	0.97 ± 0.10 #	0.64 ± 0.08 #
Experimental-H	10	0.55 ± 0.06 #▲	0.64 ± 0.08 #▲	0.35 ± 0.05 #▲
Combination	10	0.88 ± 0.10 △	0.89 ± 0.09 △	0.72 ± 0.09 △

Compared with the control group, * $P<0.05$; Compared with the model group, # $P<0.05$; Compared with the experimental-L group, ▲ $P<0.05$; Compared with the experimental-H group, △ $P<0.05$.

表2 各组弹性纤维断裂程度的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the degree of elastic fiber rupture in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Degree of elastic fiber fracture
Control	10	0 ± 0
Model	10	3.22 ± 0.34 *
Experimental-L	10	2.01 ± 0.22 #
Experimental-H	10	0.85 ± 0.09 #▲
Combination	10	1.85 ± 0.19 △

Compared with the control group, * $P<0.05$; Compared with the model group, # $P<0.05$; Compared with the experimental-L group, ▲ $P<0.05$; Compared with the experimental-H group, △ $P<0.05$.

表3 各组活性氧(ROS) 荧光强度对比($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of reactive oxygen species (ROS) fluorescence intensities in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	ROS fluorescence intensity
Control	10	186.34 ± 19.11
Model	10	588.64 ± 60.03 *
Experimental-L	10	358.62 ± 36.64 #
Experimental-H	10	203.11 ± 20.15 #▲
Combination	10	361.24 ± 37.24 △

Compared with the control group, * $P<0.05$; Compared with the model group, # $P<0.05$; Compared with the experimental-L, ▲ $P<0.05$; Compared with the experimental-H group, △ $P<0.05$.

讨 论

主动脉夹层是一种罕见但危及生命的心血管疾病之一,发病后主动脉夹层通过撕裂内层导致主动脉壁进一步被破坏,致使心脏和远端器官恶化^[18]。治愈主动脉夹层的方法仍然以外科手术为主,但这种手术成本高昂,即使在治疗后,死亡率仍然很高^[19]。因此迫切需要对主动脉夹层发病机制进行深入研究以寻求有效治疗方案。

研究表明,皮下注射 β -氨基丙腈是构建主动脉夹层模型的有效途径, β -氨基丙腈通过抑制赖氨酰氧化酶活性,不可逆地阻碍血管壁中胶原和弹性纤维交联,最终破坏血管中膜,导致主动脉夹层发生,其与人类发病机制高度相似^[20]。本研究用皮下注射 β -氨基丙腈法构建大鼠主动脉夹层模型,病理显示,有明显的动脉壁裂口,主动脉夹层形成显著,表明 β -氨基丙腈对大鼠主动脉结构有明显影响。关于主动脉夹层发病机制的基础研究表明,炎症反应在其发展中起关键作用,主动脉夹层发生可导致炎症细胞浸润,并释放大炎症因子,如TNF- α 和IL-6,炎症因子可以激活不同的炎症信号通路并促进炎症细胞迁移,减少TNF- α 和IL-6水平,可延迟主动脉夹层发作^[21]。本研究显示,IL-6和TNF- α 在 β -氨基丙腈诱导的主动脉夹层大鼠中明显增加,提示炎症反应参与主动脉夹层发作。主动脉夹层中的内膜撕裂会触发炎症性过度激活和细胞外基质降解,导致血管重塑和主动脉壁变,而MMP几乎能降解细胞外基质中的各种蛋白成分,破坏肿瘤细胞侵袭的组织学屏障,在肿瘤侵袭转移中起关键性作用,对主动脉壁有同样具有侵蚀破坏作用^[22]。本文显示,MMP-2和MMP-9 mRNA相对表达水平在主动脉夹层中增加,提示主动脉夹层发生伴随着主动脉细胞外基质变性和扩增。仙茅苷作为抗炎及抗氧化作用显著的酚苷,在心肌损伤中发挥作用,但在动脉夹层中仍需进一步研究。但经仙茅苷干预后,主动脉夹层大鼠炎症反应降低,MMP-2和MMP-9 mRNA相对表达水平均降低,弹性纤维断裂程度得到缓解,提示仙茅苷具有改善主动脉夹层形成的潜力。

NLRP3-Caspase-1炎性小体级联反应是炎症反应的重要调节因子,活化后的NLRP3通过ASC招募Caspase-1进而活化IL-1 β 参与炎症调控,其在 β -氨基丙腈诱导大鼠血管炎症和主动脉夹层形成中起重要作用^[10,23]。NLRP3-Caspase-1炎性小体级联反应参与MMP激活,可能导致主动脉破坏和夹层形成^[24]。本研究显示,主动脉夹层大鼠组织中

Caspase-1、ASC和NLRP3蛋白相对表达水平均增加,炎症反应显著,MMP-2和MMP-9 mRNA相对表达水平均上调,提示激活NLRP3炎性小体可能促进动脉夹层形成。NLRP3炎性小体可以通过多种细胞信号通路包括ROS产生等外部刺激激活,过高的ROS水平对身体稳态有害,导致炎症发展^[25]。本研究显示,主动脉夹层大鼠ROS增加,NLRP3炎性小体被激活,促进了主动脉夹层形成。经仙茅苷干预后,ROS介导的NLRP3-Caspase-1炎性小体被抑制,炎症反应降低,MMP-2和MMP-9 mRNA均下调,提示仙茅苷可以减缓主动脉夹层形成,其机制可能与抑制ROS/NLRP3通路有关。最后,实验通过ROS/NLRP3通路激活剂-三甲胺N-氧化物进行验证,显示三甲胺N-氧化物逆转了仙茅苷对主动脉夹层形成的改善作用,表明仙茅苷通过抑制ROS/NLRP3通路在主动脉夹层中发挥作用。

本研究提示:仙茅苷可以抑制主动脉夹层大鼠炎症反应及弹性纤维的破坏,其机制可能与抑制ROS/NLRP3通路有关,但是否涉及其他通路仍需核实验。

参考文献:

- [1] YIN Z Q, HAN H, YAN X, *et al.* Research progress on the pathogenesis of aortic dissection[J]. *Curr Probl Cardiol*, 2023, 48(8):101249—101258.
- [2] SHI J, YU W, LIANG C, *et al.* S100A4 is a key facilitator of thoracic aortic dissection[J]. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(1):29—46.
- [3] YANG M, ZHOU X, PEARCE SWA, *et al.* Causal role for neutrophil elastase in thoracic aortic dissection in mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2023, 43(10):1900—1920.
- [4] WANG A, DONG S, LIU B, *et al.* The role of RUNX1/NF- κ B in regulating PVAT inflammation in aortic dissection[J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1):9960—9972.
- [5] SHEN C, LUO Z, MA S, *et al.* Microbe-derived antioxidants protect IPEC-1 cells from H₂O₂-induced oxidative stress, inflammation and tight junction protein disruption *via* activating the Nrf2 pathway to inhibit the ROS/NLRP3/IL-1 β signaling pathway[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2024, 13(5):533—542.
- [6] WANG D, WU J, LE S, *et al.* Oltipraz, the activator of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), protects against the formation of BAPN-induced aneurysms and dissection of the thoracic aorta in mice by inhibiting activation of the ROS-mediated NLRP3 inflammasome[J]. *Eur J Pharmacol*, 2022, 936(1):175361—175372.
- [7] LI F, HUANG H, ZHAO P, *et al.* Curculigoside mitigates dextran sulfate sodium-induced colitis by activation of KEAP1/NRF2 interaction to inhibit oxidative damage and autophagy of intestinal epithelium barrier[J]. *Int J Mol Med*, 2023, 52(5):107—116.
- [8] 王瑛, 胡婷婷, 付燕, 等. 仙茅苷下调ROS/NLRP3途径对大鼠骨髓单核细胞增殖及向破骨细胞分化的影响[J]. *中华骨质*

- 疏松和骨矿盐疾病杂志, 2023, 16(6):568—578.
- [9] LUO B Y, ZHOU J, GUO D, *et al.* Methamphetamine induces thoracic aortic aneurysm/dissection through C/EBP β [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2022, 1868(9):166447—166456.
- [10] 李红英, 刘佳, 张会军, 等. 基于 miR-155/JAK2/STAT3 信号通路探讨仙茅苷减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤作用机制[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2024, 53(2):190—195.
- [11] 田新磊, 朱珊, 赵文锦, 等. 橙皮苷抑制 ROS/NLRP3 通路改善小鼠急性支气管炎的作用机制研究[J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(4):501—508.
- [12] 张德德, 张栋, 周芳, 等. 梓醇调节 TXNIP/NLRP3 信号通路对脓毒症大鼠肺组织炎症损伤的影响[J]. 河北医药, 2026, 48(3):367—371.
- [13] 刘周, 梁嘉俊, 刘瑞飞, 等. 甲基巴多索龙在 BAPN 诱导小鼠主动脉夹层模型中的作用评估[J]. 首都医科大学学报, 2026, 47(1):143—149.
- [14] ZHANG K, LI R, MATNIYAZ Y, *et al.* Liraglutide attenuates angiotensin II-induced aortic dissection and aortic aneurysm via inhibiting M1 macrophage polarization in APOE^{-/-} mice [J]. *Biochem Pharmacol*, 2024, 223(1):116170—116182.
- [15] 彭祥燕, 张彬, 乔喜楠, 等. 四氢姜黄素通过激活 SIRT3 信号通路抵抗小鼠胸主动脉瘤和夹层的形成[J]. 中国实验动物学报, 2025, 33(03):311—323.
- [16] 李盈盈. 痰瘀同治优化方调节 STING/NF- κ B 信号通路抑制 TMAO 诱导的巨噬细胞 M1 极化稳定动脉粥样硬化斑块作用研究[D]. 北京:中国中医科学院, 2025.
- [17] 陈红瑾, 雒娇娇, 庞敏, 等. 基于 SIRT1/NLRP3/Caspase-1 信号通路探讨心脑脉康对动脉粥样硬化小鼠的影响[J]. 中成药, 2026, 48(1):250—254.
- [18] HAYASHI - HORI M, AOKI H, MATSUKUMA M, *et al.* Therapeutic effect of rapamycin on aortic dissection in mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(9):3341—3352.
- [19] YANG Z, CUI Y, XU S, *et al.* LncRNA HCG18 affects aortic dissection through the miR-103a-3p/HMGA2 axis by modulating proliferation and apoptosis of vascular smoothing muscle cells [J]. *Clinics (Sao Paulo)*, 2024, 79(1):100400—100411.
- [20] XIONG J, LING J, YAN J, *et al.* LILRB4 knockdown inhibits aortic dissection development by regulating pyroptosis and the JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1):15564—15573.
- [21] HAN T, TANG H, LIN C, *et al.* Costunolide mitigates inflammation and promotes extracellular matrix integrity of thoracic aortic dissection by inhibiting NF- κ B signaling [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 131(1):111784—111793.
- [22] LI B, YAO BC, GUO ZG, *et al.* Mechanism of action of resolvin D1 in inhibiting the progression of aortic dissection in mice [J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(19):1498—1507.
- [23] YANG H, YANG F, LUO M, *et al.* Metabolomic profile reveals that ceramide metabolic disturbance plays an important role in thoracic aortic dissection [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9(1):826861—826872.
- [24] REN P, WU D, APPEL R, *et al.* Targeting the NLRP3 inflammasome with inhibitor MCC950 prevents aortic aneurysms and dissections in mice [J/OL]. *J Am Heart Assoc*, 2020, 9(7):e014044. 2020-03-30 [2025-12-10]. <http://www.ahajournals.org/doi/10.1161/JAHA.119.014044n>.
- [25] TAN J J, DAI Y F, WANG F, *et al.* Pepsin-mediated inflammation in laryngopharyngeal reflux via the ROS/NLRP3/IL-1 β signaling pathway [J]. *Cytokine*, 2024, 178(1):156568—156577. (本文编辑:王珊 收稿日期 2025-12-18)

· 科学文摘 ·

依洛尤单抗在无心肌梗死或中风病史患者中的临床研究

引自:BOHULA E A, MARSTON N A, BHATIA A K, *et al.* Evolocumab in patients without a previous myocardial infarction or stroke [J]. *N Engl J Med*, 2026, 394(2):117—127.

本研究为一项在动脉粥样硬化或糖尿病患者中进行的国际性、双盲、随机、安慰剂对照试验,纳入的患者均无心肌梗死或中风病史,低密度脂蛋白胆固醇水平至少为每分升 90 mg。患者以 1:1 随机分为依洛尤单抗组(140 mg,每 2 周 1 次)和安慰剂组。主要终点是冠心病、心肌梗死或缺血性卒中(3 点 MACE)导致的死亡和 3 点 MACE 情况或缺血驱动动脉血运重建的复合终点(4 点 MACE)。将 12 257 例患者随机分为依洛尤单抗组(6 129 例)和安慰剂组(6 128 例),并纳入疗效分析。患者的中位年龄为 66 岁,43% 为女性,93% 为白人。中位随访时间为 4.6 年。依洛尤单抗组有 336 例患者发生了 3 点 MACE 事件(5 年 Kaplan-Meier 估计为 6.2%),而安慰剂组为 443 例(8.0%) [风险比为 0.75;95% 置信区间(CI)为 0.65~0.86; $P < 0.001$]。依洛尤单抗组 747 例患者发生了 4 点 MACE 事件(5 年 Kaplan-Meier 估计为 13.4%),而安慰剂组为 907 例(16.2%) (风险比为 0.81;95% CI, 0.73~0.89; $P < 0.001$)。2 组安全事件的发生率在统计学上差异无统计学意义。在既往无心肌梗死或中风病史动脉粥样硬化或糖尿病患者中,与安慰剂相比,依洛尤单抗抑制前蛋白转化酶枯草菌素 9 (PCSK9)可以降低首次心血管事件的风险。