·实验研究·

麝香保心丸调控 miR－451 表达抑制 ApoE$^{-/-}$ 小鼠动脉粥样硬化斑块形成*

孙文昊，王肖龙，李益萍

上海中医药大学附属曙光医院，上海 201203

摘要：目的：观察麝香保心丸对 ApoE$^{-/-}$ 小鼠动脉粥样硬化的影响，并探索相关调控机制。方法：24 只雄性 ApoE$^{-/-}$ 小鼠随机分为模型组（AS 组）、可定组（Rosuvastatin 组，1.52 mg·kg^{-1}）、麝香保心丸低剂量组（SXBXP－L 组，4.55 mg·kg^{-1}）及麝香保心丸高剂量组（SXBXP－H 组，9.10 mg·kg^{-1}），每组 6 只，予高脂饲料喂养。另将 6 只 C57BL/6J 小鼠作为空白组（CON 组），灌胃 12 周，每日 1 次。采用 HE、油红 O、Masson 染色检测小鼠主动脉窦斑块面积、脂质面积及胶原纤维含量。采用比色法检测小鼠血清总胆固醇（total cholesterol，TC）、甘油三酯（triglyceride，TG）和低密度脂蛋白胆固醇（low－density lipoprotein cholesterol，LDL－C）水平。采用 qRT－PCR 法检测小鼠主动脉 *miR－451* mRNA 水平，Western blot 法检测小鼠主动脉 α－平滑肌肌动蛋白（α－smooth muscle actin，α－SMA）和增殖细胞核抗原（proliferating cell nuclear antigen，PCNA）蛋白表达水平。结果：与 CON 组比较，AS 组小鼠体质量升高（$P<0.05$）；与 AS 组比较，Rosuvastatin 组和 SXBXP－H 组小鼠体质量降低（$P<0.05$）。与 CON 组比较，AS 组小鼠主动脉窦斑块面积与脂质面积增加（$P<0.05$）；与 AS 组比较，Rosuvastatin 组、SXBXP－L 组、SXBXP－H 组小鼠主动脉窦斑块面积与脂质面积减少（$P<0.05$）。与 CON 组比较，AS 组小鼠血清 TC、TG、LDL－C 水平升高（$P<0.05$）；与 AS 组比较，Rosuvastatin 组、SXBXP－L 组、SXBXP－H 组小鼠血清 TC、TG、LDL－C 水平降低（$P<0.05$）。与 CON 组比较，AS 组小鼠主动脉 *miR－451* mRNA 水平降低（$P<0.05$）；与 AS 组比较，SXBXP－H 组小鼠主动脉 *miR－451* mRNA 水平升高（$P<0.05$）。与 CON 组比较，AS 组小鼠主动脉 α－SMA 蛋白表达水平降低，PCNA 蛋白表达水平升高（$P<0.05$）；与 AS 组比较，SXBXP－L 组、SXBXP－H 组小鼠主动脉 α－SMA 蛋白表达水平升高，PCNA 蛋白表达水平降低（$P<0.05$）。结论：麝香保心丸可抑制 ApoE$^{-/-}$ 小鼠动脉粥样硬化斑块形成和脂质蓄积，其机制可能与调控 miR－451 表达有关。

关键词：麝香保心丸；动脉粥样硬化；miR－451；斑块形成；α－SMA；PCNA；小鼠；苏合香丸

DOI：10.16368/j.issn.1674－8999.2025.10.344

中图分类号：R285.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1674－8999(2025)10－2184－07

Shexiang Baoxin Pill Regulating miR－451 Expression to Inhibit ApoE$^{-/-}$ Atherosclerotic Plaque Formation in Mice

SUN Wenhao，WANG Xiaolong，LI Yiping

Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine，Shanghai China 201203

Abstract：Objective：To observe the effect of Shexiang Baoxin Pill on atherosclerosis in ApoE$^{-/-}$ mice，and to explore the regulatory mechanism. Methods：Twenty－four male ApoE$^{-/-}$ mice were randomly divided into model group（AS group），determinable group（Rosuvastatin group，1.52 mg·kg^{-1}），Shexiang Baoxin Pill low－dose group（SXBXP－L group，4.55 mg·kg^{-1}）and Shexiang Baoxin Pill high－dose group（SXBXP－H group，9.10 mg·kg^{-1}），with 6 mice in each group and fed with high－fat diet. In addition，6 C57BL/6J mice were given as blank group（CON group）and given gavage for 12 weeks，once a day. HE，oil red O and Masson staining were used to detect the plaque area，lipid area and collagen fiber content of mice in the aortic sinus. The serum levels of total cholesterol

* **基金项目**：国家自然科学基金项目（82074222，81803887）；上海市中医临床重点实验项目（14DZ2273200）

(TC), triglyceride (TG) and low - density lipoprotein cholesterol (LDL - C) were detected by colorimetric method. qRT - PCR was used to detect the mRNA levels of aortic miR - 451 in mice, and Western blot was used to detect the expression levels of α - smooth muscle actin (α - SMA) and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) proteins in mice. Results: Compared with the CON group, the body weight of the mice in the AS group increased ($P < 0.05$). Compared with the AS group, the body weight of the mice in the Rosuvastatin group and SXBXP - H group decreased ($P < 0.05$). Compared with the CON group, the aortic sinus plaque area and lipid area of the mice in the AS group increased ($P < 0.05$). Compared with the AS group, the aortic sinus plaque area and lipid area of the mice in the rosuvastatin group, SXBXP - L group, and SXBXP - H group were reduced ($P < 0.05$). Compared with the CON group, the serum levels of TC, TG and LDL - C in the AS group were increased ($P < 0.05$). Compared with the AS group, the serum levels of TC, TG and LDL - C in the rosuvastatin group, SXBXP - L group and SXBXP - H group were decreased ($P < 0.05$). Compared with the CON group, the aortic *miR - 451* mRNA level of mice in the AS group was decreased ($P < 0.05$). Compared with the AS group, the mice in the SXBXP - H group had an increased level of aortic miR - 451 ($P < 0.05$). Compared with the CON group, the expression level of aortic α - SMA protein in the AS group was decreased, and the expression level of PCNA protein was increased ($P < 0.05$). Compared with the AS group, the expression level of aortic α - SMA protein in the SXBXP - L group and SXBXP - H group was increased, and the expression level of PCNA protein decreased ($P < 0.05$). Conclusion: Shexiang Baoxin Pill can inhibit atherosclerotic plaque formation and lipid accumulation in ApoE$^{-/-}$ mice, and its mechanism may be related to the regulation of miR - 451 expression.

Key words: Shexiang Baoxin Pill; atherosclerosis; miR - 451; plaque formation; α - SMA; PCNA; mouse; Suhexiang Pill

全球范围内，心血管疾病的患病人数高达 6.1 亿，其中 1 860 万人因此丧生，占所有死亡人数的 31%。心血管疾病同样是我国居民死亡的主要原因，尤其是冠状动脉粥样硬化心脏病（简称冠心病）和脑梗死这两种类型[1]。尽管心血管疾病的防治工作已引起广泛关注，但其发病率的增长趋势仍未得到有效遏制。据估计，中国心血管病患者已超过 3.3 亿例，其中约 2/3 的患者病理生理基础为动脉粥样硬化（atherosclerosis，AS）[2]。

研究显示，血管平滑肌细胞（vascular smooth muscle cell，VSMC）在 AS 的发生发展过程中发挥重要作用。VSMC 是血管中层的关键细胞组成部分，在生理状态下维持着静止的“收缩”状态，表现出有限的增殖、迁移及自噬活动。血管受损会触发 VSMC 的表型转换，即从以收缩功能为主、维持静止的分化状态，转变为具备合成特性、诱导生长和重塑的去分化状态。这种表型转变赋予 VSMC 高度增殖与迁移的能力，从而有助于血管壁的修复[3-4]。研究表明，VSMC 的异常增殖和凋亡失衡与 AS 的进展密切相关，这种异常可导致血管壁增厚和斑块破裂[5-6]。通过抑制 VSMC 的增殖和迁移，可有效减缓或防止 AS 发展。因此，探索如何精准调控 VSMC 的生物学行为已成为抗 AS 研究的重要方向[7-8]。其中，microRNA 的作用值得关注[9]。本课题组前期对冠心病患者进行了 miRNA 微阵列分析，筛选参与内膜增生的 miRNA，发现大量 miRNA 的表达发生显著失调，其中 miR - 451 是下调最为明显的 miRNA 之一[10]。研究显示，miR - 451 通过调控酪氨酸 3/色氨酸 5 单加氧酶激活蛋白 ζ/p38 MAPK 通路，保护内膜增生并抑制血小板衍化生长因子 BB（platelet - derived growth factor BB，PDGF - BB）诱导的 VSMC 损伤[11]。因此，miR - 451 可能是治疗 AS 的潜在靶点。

麝香保心丸源自传统中药方剂苏合香丸，在治疗心血管疾病上展现出潜力。方药组成中，麝香为君药，功效活血化瘀止痛，可有效清除络脉阻塞；人参、肉桂、蟾酥、苏合香为臣药，共同发挥益气温阳、开窍通脉的作用；牛黄和冰片为佐药，具有醒神开窍、止痛之效[12]。诸药合用，共奏益气强心、改善血液循环、保护心脏的作用。研究发现，麝香保心丸抑制 AS 的作用机制可能涉及抑制炎症反应和脂质积累[13-14]，并与降低胆固醇摄取有关[15]。本课题组前期研究发现，麝香保心丸通过 miR - 451 抑制 PDGF - BB 诱导的 VSMC 表型转换、增殖及迁移，且具有浓度依赖性[16]。基于此，本研究拟采用 ApoE$^{-/-}$ 小鼠模型，评估麝香保心丸对 AS 斑块形成的影响，并基于 miR - 451 表达探讨相关作用机制。

1　材料

1.1　动物　6 只雄性 C57BL/6 小鼠与 24 只雄性 ApoE$^{-/-}$ 小鼠，8 周龄，体质量（18.59 ± 0.13）g，由北京维通利华实验动物技术有限公司提供，动物许可证号：SCXK（京）2023 - 0009。所有小鼠在上海中医药大学动物实验中心 SPF 级实验环境内饲养，温度 20 ~ 24 ℃，湿度 40% ~ 60%，12 h/12 h 明暗循环，自由进食和饮水。本研究经上海中医药大学实

验动物伦理委员会审查批准，伦理审查编号：PZSHUTCM2304240001。

1.2　药物与试剂　麝香保心丸（上海和黄药业有限公司，批准文号：国药准字 Z31020068，每粒 22.5 mg）；可定（美国阿斯利康制药有限公司，批准文号：国药准字 J20120006，每片 10 mg）；α－平滑肌肌动蛋白（α－smooth muscle actin，α－SMA）抗体、增殖细胞核抗原（proliferating cell nuclear antigen，PCNA）抗体、β－actin 抗体、HRP－山羊抗兔二抗、HRP－山羊抗小鼠二抗（武汉赛维尔生物科技有限公司，货号：GB11364、GB12010、GB15003、GB23303、GB23301）；Trizol、DEPC 水（Invitrogen，货号：15596－026、750024）；总 RNA 提取试剂盒（南京诺唯赞生物科技股份有限公司，货号：RC202－01）；Bulge－Loop™ miRNA qRT－PCR Primer 试剂盒（广州市锐博生物科技有限公司，货号：R11067.4）。

1.3　仪器　HFsafe 1200 A2 生物安全柜（Heal Force）；CFX96TM 荧光定量 PCR 仪、Gel Doc2000 成像系统、垂直电泳系统（Bio Rad 公司）；Allegra 21R 台式高速冷冻离心机（美国 BECKMAN 公司）；AR5120 电子天平（美国 AHOMS 公司）；MultiTemp Ⅲ恒温水浴锅、雪花状制冰机（日本 SANYO 公司）；超薄切片机（德国徕卡公司）；StepOnePlus REAL－TIME PCR 仪（美国 ThermoFisher Scientific 公司）。

2　方法

2.1　分组、造模及给药　适应性喂养 1 周后，24 只 ApoE$^{-/-}$ 小鼠随机分为模型组、可定组（1.52 mg·kg^{-1}）、麝香保心丸低剂量组（4.55 mg·kg^{-1}）及麝香保心丸高剂量组（9.10 mg·kg^{-1}），每组 6 只，予高脂饲料（含 40% 脂肪、1.25% 胆固醇）喂养；另将 6 只 C57BL/6J 小鼠作为空白组，以普通饲料喂养。模型组和空白组小鼠以蒸馏水（10 mL·kg^{-1}）灌胃，其余各组小鼠以相应剂量药物灌胃，每日 1 次，连续 12 周。

2.2　样本制备　末次灌胃后，小鼠禁食不禁水 24 h，麻醉后腹主动脉取血，用于检测血脂水平；在体视显微镜下用眼科镊和眼科剪剔除主动脉周围脂肪，取整根主动脉连带心脏放入液氮速冻，用于 qRT－PCR 和 Western blot 检测；再取带有主动脉弓 2 mm，包含主动脉窦瓣膜位置的心脏切面，去除多余组织后切除心尖，使切口处与主动脉弓切面平行，用 OCT 包埋液包埋，放入－80 ℃冰箱或液氮速冻，用于病理染色。

2.3　小鼠主动脉窦病理染色　取小鼠主动脉窦组织，制备冰冻切片，迅速恢复至室温后，进行 HE 染色、Masson 染色及油红 O 染色。在显微镜下观察并使用组织切片数字化扫描仪拍照，使用 Image J 软件测量小鼠主动脉窦的斑块面积、胶原纤维含量及脂质蓄积面积。

2.4　小鼠血脂水平检测　取小鼠外周血，置于冰上 2 h，随后 4 ℃、3 000 r·min^{-1} 离心 15 min 分离血清，采用比色法检测总胆固醇（total cholesterol，TC）、甘油三酯（triglyceride，TG）及低密度脂蛋白胆固醇（low－density lipoprotein cholesterol，LDL－C）水平。使用血清原液直接测定，若超过线性范围则用生理盐水稀释后测定。

2.5　qRT－PCR 法检测小鼠主动脉 *miR－451* mRNA 水平　取小鼠主动脉组织，使用 Trizol 试剂提取总 RNA，紫外分光光度计检测 RNA 含量和纯度。采用 SYBR Green qPCR 试剂盒进行扩增，以 *miR－16* 为内参基因，扩增条件：预变性 95 ℃ 30 s，变性 95 ℃ 15 s，退火 60 ℃ 60 s，持续 40 个循环。反应结束后得出各组 CT 值，采用 $2^{-\triangle\triangle CT}$ 公式计算 *miR－451* mRNA 相对表达水平。引物序列见表 1。

表 1　引物序列

基因	上游引物（5′－3′）	下游引物（5′－3′）
miR－451	ACACTCCAGCTGGGTTTGGGAATGGCGAGG	TGGTGTCGTGGAGTCG
miR－16	ACACTCCAGCTGGGTAGCAGCACGTAAATA	TGGTGTCGTGGAGTCG

2.6　Western blot 法检测小鼠主动脉 α－SMA、PCNA 蛋白表达水平　取小鼠主动脉组织，加入 RIPA 裂解液和研磨珠后进行组织研磨和细胞裂解，离心收集上清液。采用 BCA 法测定蛋白浓度后进行蛋白变性，电泳后将蛋白转移至 PVDF 膜，使用快速封闭液封闭 1 h。随后加入一抗（α－SMA 1∶1 000、PCNA 1∶1 000、β－actin 1∶5 000）4 ℃摇床孵育过夜，洗涤后加入二抗（1∶5 000）常温孵育 2 h。蛋白条带加入 ECL 曝光液，使用自动蛋白印迹成像分析仪检测并进行成像，用 Image J 软件分析蛋白条带的灰度值。

2.7　统计学方法　采用 SPSS 18.0 软件进行统计分析，计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示。若数据符合正态分布，多组间比较采用单因素方差分析，

组间两两比较采用 *LSD* 检验；若数据不符合正态分布，采用非参数秩和检验。$P<0.05$ 为差异具有统计学意义，所有检验均为双侧检验。

3　结果

3.1　麝香保心丸对小鼠体质量的影响　各组小鼠的初始体质量比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）。灌胃结束后，与空白组比较，模型组小鼠体质量升高（$P<0.05$）；与模型组比较，可定组和麝香保心丸高剂量组小鼠体质量降低（$P<0.05$）；与可定组比较，麝香保心丸低剂量和高剂量组小鼠体质量升高（$P<0.05$）；与麝香保心丸低剂量组比较，麝香保心丸高剂量组小鼠体质量降低（$P<0.05$），见表 2。

表 2　各组小鼠灌胃前后体质量比较　（$\bar{x}\pm s$，g）

组别	n	灌胃前	灌胃后
空白组	6	18.56 ± 0.13	26.63 ± 0.30
模型组	6	18.66 ± 0.12	29.19 ± 0.15*
可定组	6	18.58 ± 0.12	25.21 ± 0.48$^{\#}$
麝香保心丸低剂量组	6	18.49 ± 0.11	28.68 ± 0.21$^{\wedge}$
麝香保心丸高剂量组	6	18.65 ± 0.03	26.12 ± 0.36$^{\#\&}$
F 值		0.393	29.112
P 值		>0.05	<0.001

注：与空白组比较，$^{*}P<0.05$；与模型组比较，$^{\#}P<0.05$；与可定组比较，$^{\wedge}P<0.05$；与麝香保心丸低剂量组比较，$^{\&}P<0.05$。

3.2　麝香保心丸对小鼠主动脉窦斑块形成的影响　HE 染色显示，空白组小鼠主动脉窦基本未见斑块；模型组小鼠主动脉窦结构呈显著不规则；可定组与麝香保心丸组小鼠主动脉窦内斑块明显减少，见图 1。与空白组比较，模型组小鼠主动脉窦斑块面积增加（$P<0.05$）；与模型组比较，可定组、麝香保心丸低剂量组及高剂量组小鼠主动脉窦斑块面积减少（$P<0.05$）；与可定组比较，麝香保心丸低剂量组及高剂量组小鼠主动脉窦斑块面积增加（$P<0.05$），见表 3。

3.3　麝香保心丸对小鼠主动脉窦斑块中胶原纤维的影响　小鼠主动脉窦处斑块中胶原纤维含量增加，有利于增强斑块的稳定性。Masson 染色显示，空白组小鼠主动脉窦结构完整，无明显胶原纤维沉积；模型组、可定组、麝香保心丸低剂量组及高剂量组小鼠主动脉窦斑块中可见大量胶原纤维沉积，见图 1。各组小鼠主动脉窦斑块中胶原纤维含量比较，差异无统计学意义（$P>0.05$），见表 3。

3.4　麝香保心丸对小鼠主动脉窦斑块中脂质蓄积的影响　油红 O 染色显示，空白组小鼠主动脉窦无明显脂质蓄积；模型组小鼠主动脉内膜层可见明显脂质蓄积；可定组、麝香保心丸低剂量组及高剂量组小鼠主动脉窦脂质蓄积较少，见图 1。与空白组比较，模型组小鼠主动脉窦斑块中脂质面积增加（$P<0.05$）；与模型组比较，可定组、麝香保心丸低剂量组及高剂量组小鼠主动脉窦斑块中脂质面积减少（$P<0.05$）；与可定组比较，麝香保心丸低剂量组及高剂量组小鼠主动脉窦斑块中脂质面积增加（$P<0.05$），见表 3。

表 3　各组小鼠主动脉窦斑块面积、胶原纤维含量及脂质面积比较　（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	斑块面积	胶原纤维含量	脂质面积
空白组	6	26.16 ± 2.51	39.68 ± 9.94	0.24 ± 0.18
模型组	6	61.83 ± 1.53*	48.21 ± 3.28	38.81 ± 8.67*
可定组	6	45.41 ± 3.18$^{\#}$	49.93 ± 6.89	11.67 ± 1.14$^{\#}$
麝香保心丸低剂量组	6	55.11 ± 0.81$^{\#\wedge}$	56.92 ± 8.71	20.18 ± 5.64$^{\#\wedge}$
麝香保心丸高剂量组	6	52.37 ± 0.51$^{\#\wedge}$	56.91 ± 7.83	16.59 ± 1.60$^{\#\wedge}$
F 值		60.824	2.221	19.055
P 值		<0.001	0.090	<0.001

注：与空白组比较，$^{*}P<0.05$；与模型组比较，$^{\#}P<0.05$；与可定组比较，$^{\wedge}P<0.05$。

3.5　麝香保心丸对小鼠血脂水平的影响　与空白组比较，模型组小鼠血清 TC、TG、LDL－C 水平升高（$P<0.05$）；与模型组比较，可定组、麝香保心丸低剂量组及高剂量组小鼠血清 TC、TG、LDL－C 水平降低（$P<0.05$）；与可定组比较，麝香保心丸低剂量组及高剂量组小鼠血清 TC、LDL－C 水平升高（$P<0.05$）；与麝香保心丸低剂量组比较，麝香保心丸高剂量组小鼠血清 TC、LDL－C 水平降低（$P<0.05$），见表 4。

3.6　麝香保心丸对小鼠主动脉 *miR－451* mRNA 表达的影响　与空白组比较，模型组小鼠主动脉 *miR－451* mRNA 水平降低（$P<0.05$）；与模型组比较，麝香保心丸高剂量组小鼠主动脉 *miR－451* mRNA 水平升高（$P<0.05$），见表 5。

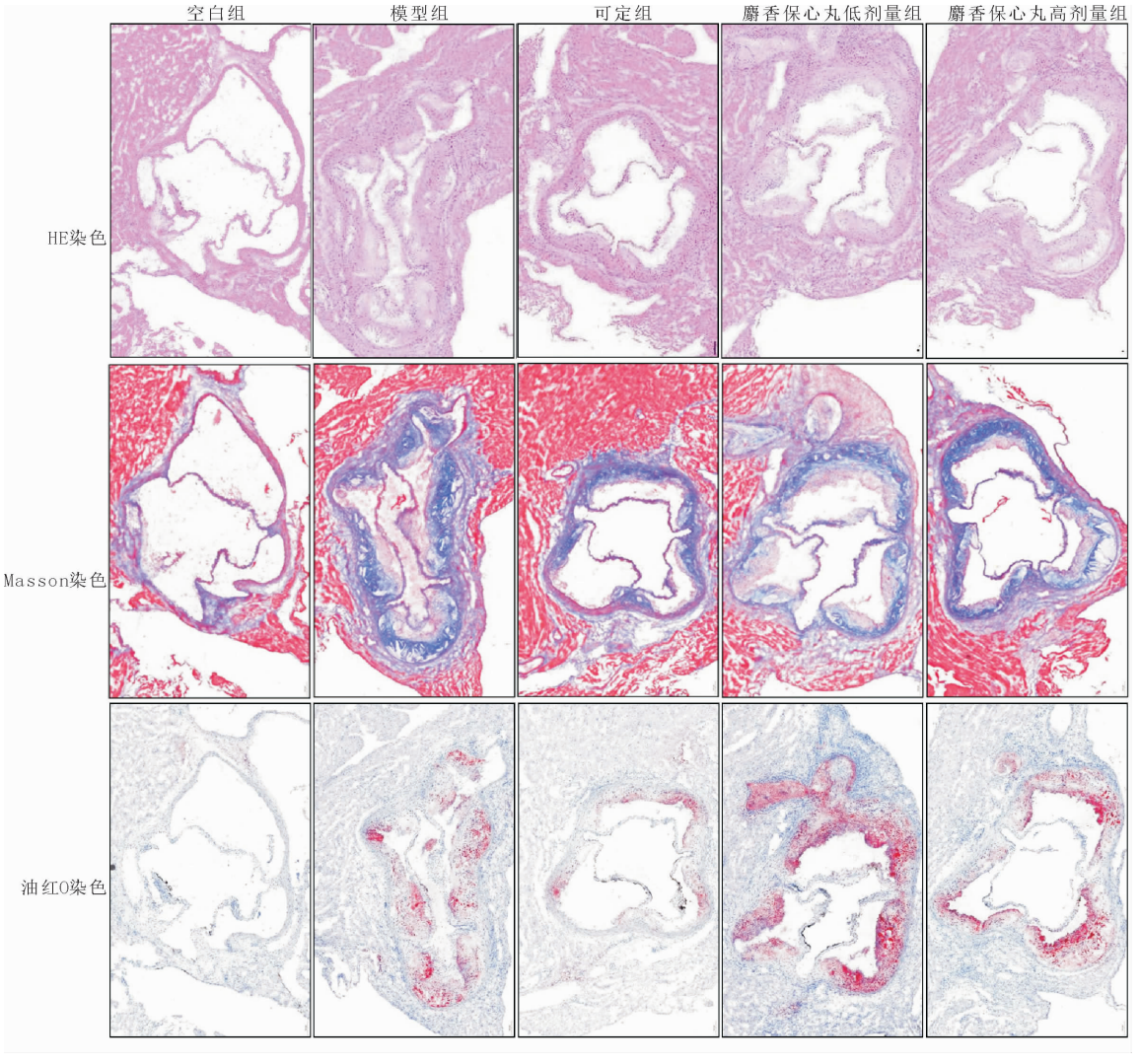


图 1　各组小鼠主动脉窦 HE 染色、Masson 染色及油红 O 染色图(500 ×)

表 4　各组小鼠血清血脂水平比较　($\bar{x} \pm s$, mmol · L^{-1})

组别	n	TC	TG	LDL－C
空白组	6	3.19 ± 0.04	1.01 ± 0.04	0.30 ± 0.02
模型组	6	26.97 ± 0.41*	1.48 ± 0.24*	17.72 ± 0.91*
可定组	6	20.54 ± 0.18$^{\#}$	0.91 ± 0.01$^{\#}$	10.53 ± 0.31$^{\#}$
麝香保心丸低剂量组	6	23.22 ± 0.27$^{\#\wedge}$	1.05 ± 0.06$^{\#}$	12.36 ± 0.31$^{\#\wedge}$
麝香保心丸高剂量组	6	21.64 ± 0.22$^{\#\wedge\&}$	0.94 ± 0.04$^{\#}$	11.46 ± 0.19$^{\#\wedge\&}$
F 值		3981.860	12.329	574.553
P 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001

注：与空白组比较，$*P < 0.05$；与模型组比较，$\#P < 0.05$；与可定组比较，$\wedge P < 0.05$；与麝香保心丸低剂量组比较，$\&P < 0.05$。

表 5　各组小鼠主动脉 *miR－451* mRNA 水平比较　($\bar{x} \pm s$)

组别	n	*miR－451* mRNA 水平
空白组	6	1.01 ± 0.02
模型组	6	0.84 ± 0.01*
麝香保心丸高剂量组	6	1.07 ± 0.02$^{\#}$
F 值		163.967
P 值		< 0.001

注：与空白组比较，$*P < 0.05$；与模型组比较，$\#P < 0.05$。

3.7　麝香保心丸对小鼠主动脉 α－SMA、PCNA 表达的影响　与空白组比较，模型组小鼠主动脉 α－SMA 蛋白表达水平降低，PCNA 蛋白表达水平升高($P < 0.05$)；与模型组比较，麝香保心丸低剂量组及高剂量组小鼠主动脉 α－SMA 蛋白表达水平升高，PCNA 蛋白表达水平降低($P < 0.05$)；与麝香保心丸低剂量组比较，麝香保心丸高剂量组小鼠主动脉 α－SMA 蛋白表达水平升高，PCNA 蛋白表达水平降

低($P<0.05$),见图 2、表 6。

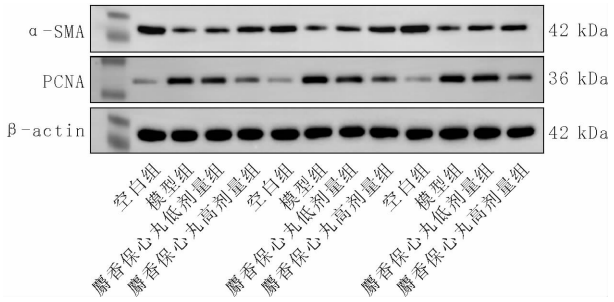


图 2　各组小鼠主动脉 α-SMA、PCNA、β-actin 蛋白条带图

表 6　各组小鼠主动脉 α-SMA、PCNA 蛋白表达水平比较　($\bar{x}\pm s$)

组别	n	α-SMA	PCNA
空白组	6	0.79±0.05	0.17±0.01
模型组	6	0.35±0.02*	0.58±0.03*
麝香保心丸低剂量组	6	0.46±0.04#	0.42±0.04#
麝香保心丸高剂量组	6	0.59±0.01#^	0.27±0.02#^
F 值		59.105	98.667
P 值		<0.001	<0.001

注:与空白组比较,*$P<0.05$;与模型组比较,#$P<0.05$;与麝香保心丸低剂量组比较,^$P<0.05$。

4　讨论

AS 在亚临床阶段已具有显著的流行病学特征,45~65 岁无症状人群的检出率为 20%~63%[17]。在此阶段,斑块的持续进展是引发急性缺血事件的核心病理基础,也是慢性冠脉综合征患者发生急性冠脉综合征的独立预测因子。研究表明,缩小斑块体积并降低负荷,可有效减少心血管不良事件发生率[17]。

中医古籍虽无 AS 这一病名,但基于“气血瘀滞”“痰浊闭阻”等理论,并结合其临床表现,可将其归于胸痹、中风、脉痹等范畴进行辨证论治。麝香保心丸是由宋代经典方剂制成的现代中成药,在 AS 的防治中展现出多靶点的作用机制。既往研究显示,麝香保心丸可通过调控 VSMC 的增殖、迁移及凋亡,从而抑制内膜增生,而 miR-451 可能是此机制的关键调控靶点[16]。这些发现为传统中药方剂的现代化应用提供了分子生物学依据。

载脂蛋白 E 是参与脂代谢的关键蛋白,其基因敲除小鼠可通过高脂饮食自发形成 AS,因此成为研究 AS 的理想模型[18]。本研究通过高脂饲料喂养 ApoE$^{-/-}$小鼠构建 AS 模型,采用 HE 染色、油红 O 染色和 Masson 染色评估麝香保心丸的干预效果。结果显示,模型组小鼠主动脉窦出现明显的粥样斑块(HE 染色)和脂质蓄积(油红 O 染色),而麝香保心丸与可定均能显著缩小斑块面积并抑制脂质沉积。Masson 染色显示,麝香保心丸组小鼠主动脉窦斑块中胶原纤维含量增加,这有助于增强斑块的稳定性,减少斑块破裂的风险。

研究表明,AS 斑块形成与 miR-451 呈负相关关系[19-20]。VSMC 的表型转换是 AS 进程中细胞异常增殖和迁移的核心机制。正常生理状态下,VSMC 以收缩型为主,高表达 α-SMA 等标志蛋白,通过其收缩功能维持血管稳态。在病理刺激下,VSMC 转化为合成型,表现为增殖活性增强、收缩蛋白丢失及分泌功能亢进,这种表型失衡可加速斑块形成[21-24]。临床前证据提示,麝香保心丸可能通过调控 miR-451 表达,抑制 VSMC 的病理性转化[16,25]。本研究中,麝香保心丸显著升高主动脉 α-SMA 表达水平,同时降低增殖标志物 PCNA 的表达水平,提示其能维持 VSMC 的收缩表型,并抑制 VSMC 向合成型转化及 DNA 合成活性,阻断异常增殖过程。

综上,ApoE$^{-/-}$小鼠喂养 12 周高脂饲料可成功建立 AS 模型。麝香保心丸可减少小鼠主动脉 AS 斑块形成和脂质蓄积,同时增加斑块中胶原纤维含量从而提高斑块稳定性。此外,麝香保心丸可抑制 ApoE$^{-/-}$小鼠主动脉 VSMC 表型转换及细胞增殖,其机制可能与促进 miR-451 表达有关。

参考文献:

[1] TSAO C W, ADAY A W, ALMARZOOQ Z I, et al. Heart disease and stroke statistics-2023 update: a report from the American heart association[J]. Circulation, 2023, 147(8): e93-e621.

[2] 中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告 2022 概要[J]. 中国循环杂志, 2023, 38(6): 583-612.

[3] CHEN R J, MCVEY D G, SHEN D F, et al. Phenotypic switching of vascular smooth muscle cells in atherosclerosis[J]. J Am Heart Assoc, 2023, 12(20): e031121.

[4] TANG H Y, CHEN A Q, ZHANG H, et al. Vascular smooth muscle cells phenotypic switching in cardiovascular diseases[J]. Cells, 2022, 11(24): 4060.

[5] TANG H X, QIN X P, LI J. Role of the signal transducer and activator of transcription 3 protein in the proliferation of vascular smooth muscle cells[J]. Vascular, 2020, 28(6): 821-828.

[6] WANG H J, WEI Z, LI H L, et al. miR-377-3p inhibits atherosclerosis-associated vascular smooth muscle cell pro-

liferation and migration via targeting neuropilin2[J]. Biosci Rep,2020,40(6):BSR20193425.
[7]CAO G M,XUAN X Z,HU J,et al. How vascular smooth muscle cell phenotype switching contributes to vascular disease[J]. Cell Commun Signal,2022,20(1):180.
[8]PAN H Z,XUE C Y,AUERBACH B J,et al. Single - cell genomics reveals a novel cell state during smooth muscle cell phenotypic switching and potential therapeutic targets for atherosclerosis in mouse and human[J]. Circulation,2020,142(21):2060 - 2075.
[9]ROBINSON H C,BAKER A H. How do microRNAs affect vascular smooth muscle cell biology? [J]. Curr Opin Lipidol,2012,23(5):405 - 411.
[10]张海涛,林文勇,解曼曼,等. 冠心病患者外周血外泌体中 microRNA 基因芯片的差异性表达[J]. 临床心血管病杂志,2019,35(6):501 - 505.
[11]ZHANG W G,LIU D M,HAN X W,et al. microRNA - 451 inhibits vascular smooth muscle cell migration and intimal hyperplasia after vascular injury via Ywhaz/p38 MAPK pathway[J]. Exp Cell Res,2019,379(2):214 - 224.
[12]张蕾,胡波,彭奇彪. 麝香保心丸联合氯吡格雷片治疗急性冠状动脉综合征的临床效果[J]. 临床合理用药,2024,17(1):39 - 42.
[13]LU L,QIN Y T,ZHANG X X,et al. Shexiang Baoxin pill alleviates the atherosclerotic lesions in mice via improving inflammation response and inhibiting lipid accumulation in the arterial wall[J]. Mediators Inflamm,2019,2019:6710759.
[14]ZHANG K J,ZHU J Z,BAO X Y,et al. Shexiang Baoxin pills for coronary heart disease in animal models:preclinical evidence and promoting angiogenesis mechanism[J]. Front Pharmacol,2017,8:404.
[15]WANG Z C,WAN Q Q,XIE B,et al. Integrated network pharmacology and fecal metabolomic analysis of the combinational mechanisms of Shexiang Baoxin Pill against atherosclerosis[J]. Mol Omics,2023,19(8):653 - 667.
[16]LI Y P,QIANG T T,WANG K Y,et al. Shexiang Baoxin pill regulates intimal hyperplasia,migration,and apoptosis after platelet - derived growth factor - BB - stimulation of vascular smooth muscle cells via miR - 451[J]. Chin J Integr Med,2022,28(9):785 - 793.
[17]AHMADI A,ARGULIAN E,LEIPSIC J,et al. From subclinical atherosclerosis to plaque progression and acute coronary events:JACC state - of - the - art review[J]. J Am Coll Cardiol,2019,74(12):1608 - 1617.
[18]ZHANG S H,REDDICK R L,BURKEY B,et al. Diet - induced atherosclerosis in mice heterozygous and homozygous for apolipoprotein E gene disruption[J]. J Clin Invest,1994,94(3):937 - 945.
[19]WANG B Z,DUAN X L,XU Q,et al. Diagnostic and prognostic significance of miR - 451a in patients with atherosclerosis[J]. Vascular,2023,31(1):47 - 53.
[20]胥怡帆,唐爱华,冯晓桃. 基于瘀毒理论与血管平滑肌细胞表型转换的关系探讨动脉粥样硬化易损斑块的病机[J]. 中医学报,2024,39(11):2294 - 2298.
[21]REGAN C P,ADAM P J,MADSEN C S,et al. Molecular mechanisms of decreased smooth muscle differentiation marker expression after vascular injury[J]. J Clin Invest,2000,106(9):1139 - 1147.
[22]BENNETT M R,SINHA S,OWENS G K. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis[J]. Circ Res,2016,118(4):692 - 702.
[23]LIN J J,CHEN R,YANG L Y,et al. Hsa_circ_0001402 alleviates vascular neointimal hyperplasia through a miR - 183 - 5p - dependent regulation of vascular smooth muscle cell proliferation,migration,and autophagy[J]. J Adv Res,2024,60:93 - 110.
[24]SHI N,CHEN S Y. Mechanisms simultaneously regulate smooth muscle proliferation and differentiation[J]. J Biomed Res,2014,28(1):40 - 46.
[25]黄菲菲,王辉,高翔,等. 基于 Wnt/β - catenin 通路研究麝香保心丸对冠心病心力衰竭大鼠的作用[J]. 中医学报,2021,36(8):1697 - 1703.

收稿日期:2025 - 05 - 16
作者简介:孙文昊(1994 -),男,广西南宁人,医学硕士,研究方向:中西医结合治疗心系疾病。
通信作者:李益萍(1990 -),女,江苏盐城人,医学博士,研究方向:中西医结合治疗心系疾病。E - mail:15214362410@163.com

编辑:刘凯歌