韩金霞,朱亚南,王金文,等. 辛伐他汀纳米粒的构建及对动脉粥样硬化模型大鼠作用的研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(11): 78-83.

Han JX, Zhu YN, Wang JW, et al. Construction of simvastatin nanoparticles and their effect in atherosclerosis model rats [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(11): 78-83.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.11.013

辛伐他汀纳米粒的构建及对动脉粥样硬化模型 大鼠作用的研究

韩金霞*,朱亚南,王金文,王吉佳,李 迪,杨静波

(大庆油田总医院心内科,黑龙江大庆 163000)

【摘要】 目的 构建辛伐他汀纳米给药系统并探讨其对动脉粥样硬化模型大鼠的作用。方法 制备辛伐他 汀纳米粒并通过透射电镜对其进行形态表征;激光共聚焦显微镜检测辛伐他汀纳米粒的细胞摄取能力;构建动脉 粥样硬化大鼠模型,随机分为模型组(Model)、辛伐他汀组(Sim)、辛伐他汀纳米粒组(Sim-LPNs),同时以正常大鼠 设立对照组(Control),每组10只动物;生化仪检测TG、TC、LDL-C、HDL-C水平;HE染色检测动脉血管病理变化; Western blot 检测 p-AMPK 和 p-ACC 蛋白表达变化。结果 Sim-LPNs 的形态较为圆整,外观呈均一的球形,平均动 力学直径为(180±23) nm。与 COU-6 处理相比, COU-6-LPNs 处理的 Caco-2 细胞绿色荧光强度显著增强(P< 0.01)。与 Control 组相比, Model 组大鼠 TC、TG、LDL-C 均显著升高, HDL-C 明显降低(P<0.01);相较于 Model 组, Sim 组 TC 和 LDL-C 显著降低(P<0.05, P<0.01);与 Model 组相比, Sim-LPNs 组 TC、TG、LDL-C 均显著降低, HDL-C 明显升高(P<0.01);与 Sim 相比, Sim-LPNs 大鼠 TC 和 LDL-C 显著降低(P<0.01)。Model 组大鼠动脉血管壁粘膜 变性和水肿,在血管壁中出现典型的动脉粥样硬化斑块,并且脂质核心较厚,泡沫明显;Sim 组出现一定改善,但 Sim-LPNs 组改善更为明显。与 Control 组相比, Model 组动脉血管壁相对斑块面积和相对斑块面积/总面均显著增 加(P<0.01); Sim-LPNs 组相较于 Model 组动脉血管壁相对斑块面积和相对斑块面积/总面明显减小(P<0.01)。 相较于 Control 组, Model 组大鼠肝组织 p-AMPK 和 p-ACC 蛋白表达均显著下调(P<0.01);与模型组相比, Sim 组 p-AMPK 蛋白表达显著上调(P<0.05), Sim-LPNs 组 p-AMPK 和 p-ACC 蛋白表达显著上调(P<0.01, P<0.05); 与 Sim 组相比, Sim-LPNs 组 p-AMPK 蛋白表达上调更明显(P<0.01)。结论 辛伐他汀纳米粒具有较好的抗动脉粥样硬 化效果,该作用可能与其增强小肠细胞吸收和激活肝细胞 AMPK-ACC 信号通路调节血脂水平有关。

【关键词】 辛伐他汀;纳米粒;动脉粥样硬化;血脂;腺苷酸激活蛋白激酶;乙酰辅酶 A 羧化酶 【中图分类号】R-33 【文献标识码】A 【文章编号】1671-7856(2020) 11-0078-06

Construction of simvastatin nanoparticles and their effect in atherosclerosis model rats

HAN Jinxia^{*}, ZHU Yanan, WANG Jinwen, WANG Jijia, LI Di, YANG Jingbo (Department of Cardiology, Daqing Oilfield General Hospital, Daqing 163000, China)

[Abstract] Objective To construct a sinvastatin nano drug delivery system and explore its effect on atherosclerosis model rats. Methods Laser confocal microscopy was used to detect the cell uptake capacity of sinvastatin nanoparticles. Rats were randomly divided into a model group (Model), sinvastatin group (Sim), sinvastatin nanoparticle group (Sim-LPNs), and control group (Control, normal rats), with 10 animals per group. A biochemical analyzer was

[[]作者简介]韩金霞(1979—),硕士,副主任医师,从事心血管疾病的基础和临床研究。E-mail:hanjinxia616@ sina.com

used to detect TG, TC, LDL-C, and HDL-C levels. HE staining was used to detect pathological changes in arteries and vessels. Western blot was used to detect changes in p-AMPK and p-ACC protein levels. Results Sim-LPNs had a uniform spherical appearance with a mean dynamic diameter of 180 ± 23 nm. Compared with COU-6 treatment, the green fluorescence intensity of Caco-2 cells treated with COU-6-LPNs was significantly enhanced (P<0.01). Compared with the Control group, the TC, TG and LDL-C levels in the Model group were significantly increased, and HDL-C was significantly decreased (P < 0.01). Compared with the Model group, the Sim group had significantly lower TC and LDL-C levels (P < 0.01). 0.01 or P<0.05). Compared with the Model group, the Sim-LPNs group had significantly reduced TC, TG, and LDL-C levels, as well as significantly increased HDL-C levels (P < 0.01). Compared with the Sim group, TC and LDL-C levels in Sim-LPNs rats were significantly reduced (P < 0.01). In the Model group, mucosal degeneration, edema, and typical atherosclerotic plaques with a thick lipid core and foam cells were observed in the arterial blood vessel walls. The Sim group showed some improvement, but the Sim-LPNs group had a more obvious improvement. Compared with the Control group, the relative plaque area and relative plaque area/total surface of the arterial blood vessel wall of the Model group were significantly increased (P<0.01). Compared with the Model group, the relative plaque area and the relative plaque area/ total surface of the arterial wall of the Sim-LPNs groups were significantly reduced (P < 0.01). Compared with the Control group, the expressions of p-AMPK and p-ACC proteins in the liver tissues of the Model group were significantly downregulated (P < 0.01). Compared with the model group, the expression of p-AMPK protein in the Sim group was significantly increased (P<0.05), and the expressions of p-AMPK and p-ACC proteins in the Sim-LPNs groups were significantly increased (P<0.05 or P<0.01). Compared with the Sim group, p-AMPK protein expression in the Sim-LPNs groups was significantly upregulated (P<0.01). Conclusions Simvastatin nanoparticles have a good anti-atherosclerotic effect, which may be related to the enhanced absorption of small intestinal cells and activation of the liver cell AMPK-ACC signaling pathway to regulate blood lipid levels.

[Keywords] simvastatin; nanoparticles; atherosclerosis; blood lipids; adenylate-activated protein kinase; acetyl-CoA carboxylase

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)指血液内脂 质物未及时排出沉积在动脉内膜,久而久之所形成 的粥糜样坏死病灶^[1-3]。AS 是冠心病、脑梗死及外 周血管病的早期征兆和病理基础,因而有效预防和 治疗 AS 具有重要的临床意义^[4-5]。他汀类药物,是 目前临床应用的有效降脂药物,主要用于治疗高脂 血症。他汀类药物不仅能强效地降低总胆固醇 (TC)和低密度脂蛋白(LDL),而且能一定程度上降 低三酰甘油(TG),还能升高高密度脂蛋白(HDL), 所以被公认为为较全面的调脂药[6-7]。同时,对于 治疗动脉粥样硬化和预防冠心病他汀类药物也能 发挥一定疗效^[6-7]。辛伐他汀(Simvastatin, Sim)为 他汀类药物,是临床上治疗高脂血症的一线用药。 Sim 作为羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂,在体 内主要抑制机体内源性胆固醇的合成以及血液中 胆固醇的含量^[8]。但由于 Sim 水溶性较差,口服生 物利用度有限,因此其临床应用受到一定限制[9]。 脂质聚合物纳米粒 (lipid - polymer hybrid nanoparticles, LPNs),简称纳米粒,是近几年研究较 热的一种新型纳米给药系统,与传统的脂质体和纳 米粒给药载体相比,其具有更优良的生物相容性, 较高的载药量,生物可降解等优势,是一种极具发

展前景和应用前景的一种新型纳米给药载体^[10]。 本研究通过构建辛伐他汀纳米粒,主要观察其对大 鼠动脉粥样硬化的治疗效果,并对其作用机制进行 探讨。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

6~7周龄健康 SD 大鼠 40 只,清洁级,雄性,体 重 180~200 g,采购于北京维通利华实验动物有限 公司提供[SCXK(京)2016-0001],本研究获得大庆 油田总医院伦理委员会批准(20191012)。大鼠以 每笼 3~4 只饲养于排风通气笼具内,自由饮水、摄 食,饲养场所为黑龙江中医药大学屏障环境中 [SYXK(黑)2018-007],动物实验严格按实验动物 3R 原则给予实验动物人道主义关怀。

1.1.2 实验细胞

Caco-2 细胞购自中国科学院典型培养物保藏 委员会细胞库/中国科学院上海生命科学研究院细 胞资源中心,细胞以含 20%胎牛血清、1%青-链霉素 的 MEM 培养基培养于 37℃、5% CO₂、95%空气的细 胞培养箱中。

1.2 主要试剂与仪器

辛伐他汀(货号 S6196)和 COU-6(货号 442631)购自美国 Sigma 公司; 总胆固醇(TC)试剂 盒(批号 20180105)、甘油三酯(TG)试剂盒(批号 20180917)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒 (批号 20190106)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试 剂盒(批号 20181224) 均购自南京建成生物工程研 究所有限公司:HE 染色试剂盒购自北京索莱宝公 司;GAPDH 抗体购自武汉博士德公司;AMPK 抗体、 p-AMPK 抗体、Acetyl-CoA Carboxylase (ACC) 抗体 和 p-ACC 抗体购自美国 CST 公司。高速剪切机(德 国艾卡公司);电子天平(德国赛多利斯公司);JEOL JEM-2100F场发射透射电子显微镜(日本日本电子 株式会社公司);高压均质机(德国 APV 公司); CX31 倒置显微镜(日本奥林巴斯公司);64R 高速 低温离心机(美国 Beckman 公司); NanoSight NS300 纳米颗粒跟踪分析仪(英国马尔文公司); SpectraMax 190 酶标仪(美国美谷分子仪器公司); AI600凝胶成像仪(美国通用电气公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 辛伐他丁纳米粒的构建

制备辛伐他汀纳米粒,将 10 mg 辛伐他汀和 50 mg 聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)溶解在 10 mL 乙腈中作为有机相,磷脂 25 mg 溶解在 0.5 mg 无水 乙醇中,然后加入到 20 mL 60℃预热的超纯水中分 散均匀作为水相。将油相在 300 r/min 搅拌条件下 倒入到水相中,继续室温下搅拌 2 h,旋转蒸发除去 乙腈。经 0.8 µm 的滤膜滤过,备用。取制备的辛 伐他汀纳米粒子,超纯水稀释 50 倍,取 5 µL 纳米粒 溶液滴加到铜网上,自然晾干,透射电镜下观察辛 伐他汀纳米粒的形态,同时利用纳米颗粒分析仪测 定其粒径分布。

1.3.2 纳米粒载药系统细胞摄取研究

香豆素 6(COU-6)作为有机荧光染料可模拟细胞对药物的摄取行为。取对数期 Caco-2 细胞接种 于两个 13 mm 无菌玻璃底细胞培养皿中,培养过 夜,次日取制备好的 COU-6 和 COU-6 纳米粒(COU-6-LPNs)溶液各 100 μL 加入 1.5 mL 培养基中混勾 备用,取出细胞,PBS 洗 2 遍,各加入配备好的培养 基,于培养箱中继续孵育 0.5 h,后弃去细胞上层液 体,用 PBS 轻柔洗细胞 3 遍,4% 多聚甲醛固定 20 min,PBS 洗 3 遍,加入浸没细胞量的 DAPI 荧光染 料(10 μg/mL)染色 20 min,PBS 洗 3 遍,封片,铝箔 纸避光 4℃保存。荧光显微镜拍照,记录荧光强度。 1.3.3 动脉粥样硬化模型构建、分组及给药 构建动脉粥样硬化大鼠模型,设立模型组 (Model)、辛伐他汀组(Sim)、辛伐他汀纳米粒组 (Sim-LPNs)和对照组(Control)。Model 组、Sim 组 和Sim-LPNs 组大鼠腹腔注射 60 万 IU/kg 维生素 D3,后以高脂饲料饲养 8 周建立动脉粥样硬化模 型;Control 组腹腔注射等体积生理盐水,以正常饲 料饲养 8 周。造模完成后 Control 组和 Model 组每 天灌胃给予生理盐水,Sim 组给予 Sim 8 mg/(kg・d),连续 给药 3 周。

1.3.4 大鼠血清 TC、TG、LDL-C、HDL-C 检测

给药最后 1 d,动物禁食过夜,各组大鼠以异氟 烷持续麻醉,开腹后于腹主动脉取血约 3 mL,室温 下静置至凝固,3000 r/min 离心 10 min,上清液即 为血清,将血清转移至新的 EP 管中,参照 TC、TG、 LDL-C、HDL-C 检测试剂盒说明书进行检测。

1.3.5 HE 染色和动脉粥样硬化斑块面积统计

取血后迅速处死大鼠,并进行解剖,取出肝样本,将样本左中叶剪下,置入10%甲醛溶液中固定。 组织样本在固定18h后,流水冲洗12h,常规梯度 乙醇脱水,石蜡浸泡,包埋,制成4mm石蜡切片。 经二甲苯脱蜡及梯度乙醇复水后,进行苏木素-伊 红(HE)染色,梯度乙醇脱水,二甲苯脱乙醇,最后 中性树胶封片,显微镜下观察肝组织切片的病理变 化并拍照。采用 Photoshop(软件)计算动脉粥样硬 化斑块面积。

1.3.6 蛋白印记实验检测肝组织 p-AMPK 和 p-ACC 蛋白表达变化

解剖各组大鼠,各取肝组织 0.5 g 左右,眼科剪 剪碎后置于管中,加入 1 mL 细胞组织裂解液,均质 仪研碎并于冰上静置 5 min,参考文献^[1]方法提取 蛋白,按每孔 30 μg 蛋白进行 SDS-PAGE 电泳,将蛋 白转印至 PVDF 膜上,封闭。按需求加入 AMPK 抗 体(1:2000)、p-AMPK 抗体(1:500)、ACC 抗体(1: 2000)、p-ACC 抗体(1:1000)或 GAPDH 抗体(1: 5000)4℃孵育过夜。次日,TBST 洗膜后加入相应的 抗兔 IgG-HRP 二抗(1:2000),室温孵育 1 h,PVDF 膜以 ECL 发光试剂盒进行显色并于 AI600 凝胶成 像仪中成像,对蛋白印迹条带进行处理和分析。磷 酸化蛋白相对蛋白表达量 = 磷酸化蛋白灰度值/ (总蛋白灰度值/GAPDH 灰度值)。

1.4 统计学方法

统计学分析方法采用 SPSS 17.0 软件,数据以 平均数±标准差(x̄ ± s)表示。所有数据经正态性 检验符合正态分布,两组间比较采用 t 检验,多组间 比较采用单因素方差分析,两两多重比较方法用 LSD-t 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Sim-LPNs 的体外表征

Sim-LPNs 粒径分布如图 1A 所示, Sim-LPNs 的 平均动力学直径为(180±23) nm。如图 1B 所示,在 透射电镜下, Sim-LPNs 形态较为圆整, 外观呈均一 的球形。

2.2 纳米粒载药系统细胞摄取水平

COU-6 为绿色荧光染料,如图 2 所示,荧光显微 镜下观察发现, COU-6 和 COU-6-LPNs 处理后的 Caco-2 细胞均可发出绿色荧光,但与 COU-6 相比, COU-6-LPNs 呈现高荧光水平。结果如图 3 所示, COU-6 和 COU-6-LPNs 细胞的平均荧光强度值分别 为(221.3±34.5)和(756.8±78.4),后者荧光强度 显著增强(P<0.01)。

2.3 各组大鼠血清 TC、TG、LDL-C、HDL-C 水平 比较

检测各组大鼠血清 TC、TG、LDL-C、HDL-C 水 平,结果显示,与对照组(Control)相比,模型组 (Model)大鼠 TC、TG、LDL-C 均显著升高,HDL-C 明 显降低(P < 0.01);相较于 Model,辛伐他汀组(Sim) TG 和 HDL-C 变化不明显,TC 和 LDL-C 显著降低 (P < 0.05 或P < 0.01);与 Model 相比,辛伐他汀纳米 粒组(Sim-LPNs)TC、TG、LDL-C 均显著降低,HDL-C 明显升高(P < 0.01);与 Sim 相比,Sim-LPNs 大鼠 TC 和 LDL-C 显著降低(P < 0.01)(见表 1)。

2.4 各组大鼠主动脉 HE 染色和粥样硬化斑块 面积

如图 4 所示, HE 染色结果发现, Model 组大鼠 动脉血管壁粘膜变性和水肿, 在血管壁中出现典型 的动脉粥样硬化斑块, 并且脂质核心较厚, 泡沫明 显; Sim 组出现一定改善, 但 Sim-LPNs 组改善更为 明显。计算各组斑块面积, 结果如表 2 所示, 与



图 1 辛伐他汀纳米粒径分布和透射电镜图 Figure 1 The size distribution and transmission electron micrograph of S-LPNs

Control 组相比, Model 组动脉血管壁相对斑块面积 和相对斑块面积/总面均显著增加(P<0.01); Control 组和 Sim 组未见明显差异; Sim-LPNs 组相较 于 Model 组动脉血管壁相对斑块面积和相对斑块面 积/总面明显减小(P<0.01)。

2.5 各组大鼠肝组织中 p-AMPK 和 p-ACC 蛋白 表达变化

Western blot 结果显示,相较于 Control 组, Model 组大鼠肝组织 p-AMPK 和 p-ACC 蛋白表达均显著 下调(P<0.01);与模型组相比, Sim 组 p-AMPK 蛋 白表达显著上调(P<0.05), Sim-LPNs 组 p-AMPK 和 p-ACC 蛋白表达显著上调(P<0.05 或 P<0.01); 与 Sim 组相比, Sim-LPNs 组 p-AMPK 蛋白表达上调 更明显(P<0.01), 见表 3 和图 5。



注:A:Caco-2 细对 COU-6 的摄取;B:Caco-2 细对 COU-6-LPNs 的摄取。

图 2 Caco-2 细对 COU-6 和 COU-6-LPNs 的摄取

Note. A, Caco-2 fine intake of COU-6. B, Caco-2 fine intake of COU-6-LPNs.

Figure 2 Absorption capacity of Caco-2 to COU-6 and COU-6-LPNs



Figure 3 Fluorescence intensity of Caco-2 after fine uptake of COU-6 and COU-6-LPNs

3 讨论

LPNs 作为近几年大家比较关注的新型给药系统,兼具传统脂质体和聚合物纳米粒两种纳米药物载体的优点,在增加水不溶性药物生物利用度和控制药物释放等方面显示出了独特的优势^[11]。PLGA是一种生物可降解的材料、磷脂层为纳米载体的外壳,对于疏水性药物有更好的包载,而磷脂层外壳与细胞膜的表面具有类似的生理功能,因此可增加纳米粒子的生物相容性,同时也能够减缓药物的释放^[12-14]。此外,纳米粒子表面也可以进行功能基团的修饰,可进一步促进细胞的摄取,增强药效^[15-16]。

Т

本研究制备辛伐他汀纳米粒,验证发现其形态 圆整,外观呈均一的球形,更有利于增加对生物膜 的穿透性及增强细胞内的药效发挥。本研究发现 LPNs 可增强 Caco-2 细胞对 COU-6 的摄取。研究显 示,Caco-2 细胞可形成与小肠上皮细胞相同的细胞 极性和致密的单细胞层结构,分化出绒毛面 A 和基 底面 B,可做为研究药物吸收和转运的有效工 具^[17-18]。提示,LPNs 能提高药物的小肠吸收。观 察血清 TC、TG、LDL-C、HDL-C 水平发现,实验终点 时,Sim 可显著降低 TC 和 LDL-C 水平; 而 Sim-LPNs 不仅可更为显著的降低 TC 和 LDL-C 水平,还能显 著降低 TG 水平和升高 HDL-C 水平。提示,LPNs 可

表 1	谷组大国	 虱血清 T	C''LC''TC''TD	L-C、HDL-C 水	.半(x	$\pm s$, $n =$	10)
able 1	Serum	TC. TG	LDL-C.	HDL-C levels	of rats	in each	group

	, ,	,	0 1	
	TC	TG	LDL-C	HDL-C
Groups	(mmol/L)	(mmol/L)	(mmol/L)	(mmol/L)
对照组 Control group	1.54±0.23	0. 51±0. 14	0.39±0.05	3.23±0.12
模型组 Model group	4. 53±0. 36 **	1.16±0.18**	9.84±0.11 **	2.46±0.28**
辛伐他汀组 Sim group	3.85±0.31 [#]	0.86±0.09	6.62±0.107 ^{##}	2.49±0.19
辛伐他汀纳米粒组 Sim-LPNs group	2. 56±0. 20 ^{##△△}	0.63±0.07 ^{##}	4. 02±0. 387 ^{##∆∆}	3.09±0.22 [#]

注:与 Control 组相比,** P<0.01;与 Model 组相比, \$P<0.05, \$P<0.01;与 Sim 组相比, △△P<0.01。

Note. Compared with the Control group, ** P < 0.01. Compared with the model group, ##P < 0.01. Compared with the Sim group, $\triangle P < 0.01$.



图4 各组主动脉 HE 染色

Figure 4 HE staining of aorta in each group

表 2 各组大鼠动脉血管壁相对斑块面积(x ± s, n=10)
 Table 2 Relative plaque area of arterial wall of rats in each group

8P					
组别 Groups	相对斑块面积 (mm ²) Relative plaque area	相对斑块面积 /总面(%) Relative plaque area/total surface			
对照组 Control group	0	0			
模型组 Model group	0.67±0.12**	65. 65±8. 33 **			
辛伐他汀组 Sim group	0.50±0.07	53.24±5.96			
辛伐他汀纳米粒组 Sim-LPNs group	0.28±0.03##	33.51±5.17##			

注:与Control组相比,** P<0.01;与模型组相比,#P<0.01。

Note. Compared with the Control group, ** P < 0.01. Compared with the model group, $^{##}P < 0.01$.

表 3 各组大鼠肝组织中 p-AMPK 和 p-ACC 相对 蛋白表达量(*x*±*s*, *n*=3)

 Table 3
 Relative protein expression of p-AMPK and p-ACC

in liver tissues of rats in each group					
组别 Groups	p-AMPK	p-ACC			
对照组 Control group	0.66±0.05	1.79±0.19			
模型组 Model group	0.13±0.02**	0.32±0.02**			
辛伐他汀组 Sim group	0.27±0.04 [#]	0.37±0.03			
E代他汀纳米粒组 Sim-LPNs group	0 71+0 08##^^	$0.67\pm0.08^{\#}$			

注:与 Control 组相比,** P<0.01;与模型组相比,*P<0.05,**P<0.01; 与 Sim 组相比,^{△△}P<0.01。

Note. Compared with the Control group, ** P < 0.01. Compared with the model group, ${}^{\#}P < 0.05$, ${}^{\#}P < 0.01$. Compared with the Sim-LPNs group, ${}^{\triangle \triangle}P < 0.01$.



图 5 各组大鼠肝组织中 p-AMPK 和 p-ACC 蛋白表达水平 Figure 5 Expression levels of p-AMPK and p-ACC protein in liver tissues of rats in each group

增强 Sim 的降脂效果。观察各组大鼠主动脉粥样硬 化程度发现,模型组大鼠动脉血管壁粘膜变性和水 肿,在血管壁中出现典型的动脉粥样硬化斑块,并 且脂质核心较厚,泡沫明显。Sim 治疗后病理变化 得到一定改善,而 Sim-LPNs 治疗后的改善效果更为 明显。计算各组粥样硬化斑块面积发现, Sim-LPNs 治疗后模型大鼠动脉血管壁相对斑块面积和相对 斑块面积/总面均明显减小。这些提示, LPNs 可显 著增强 Sim 对大鼠动脉粥样硬化的治疗效果。

业已证明, AMPK-ACC 信号通路在参与机体能 量代谢和脂肪合成中发挥重要生理作用。文献报 道,AMPK 可通过直接磷酸化脂质代谢相关的酶类, 从而改变脂质的代谢方向。ACC 是 AMPK 的下游 靶点之一,由于 ACC 是脂肪酸代谢的限速酶,当机 体处于应激状态时,组织细胞内 AMPK 被激活,而 活化的 AMPK 可磷酸化 ACC 的 79 位点苏氨酸位点 而使后者失活^[19-20]。ACC 失活后,脂肪酸氧化加 剧,血清游离脂肪酸水平降低,脂肪在组织中的沉 积减少[19-21]。肝是人体重要的代谢器官,参与糖 类、脂类和蛋白质的代谢。本研究观察了肝 AMPK 和 ACC 蛋白表达变化,结果发现,动脉粥样硬化模 型大鼠 AMPK 和 ACC 磷酸化蛋白均显著下调, Sim 治疗后模型大鼠肝 p-AMPK 明显上调,但 ACC 变化 不明显。而 Sim-LPNs 治疗后模型大鼠肝 p-AMPK 和 p-ACC 均显著上调。这些提示,相较于 Sim, Sim-LPNs 可明显激活肝细胞 AMPK-ACC 信号通路,从 而参与促进脂质代谢调节。

综上所述,相较于 Sim, Sim-LPNs 对动脉粥样硬 化大鼠具有较好的治疗作用,而该作用可能与增强 小肠对药物的吸收和激活肝细胞 AMPK-ACC 信号 通路增强脂质代谢有关。

参考文献:

- [1] Li Q, Wang H, Zhang C, et al. Ethyl acetate extract of sappanwood alleviates experimental atherosclerosis in rats through changes in FGF21 and SREBP-2 expression [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2020, 13(2): 220-229.
- [2] 刘军平,潘永明,陈民利,等.白毛黑眼兔与日本大耳白兔 胰岛素抵抗动脉粥样硬化模型的比较 [J].中国实验动物学 报,2019,27(3):339-346.
- [3] 董鹏,李小红,王俊红,等.利拉鲁肽对动脉粥样硬化过程 中糖尿病大鼠血管平滑肌 KCa3.1 表达的影响 [J].临床和 实验医学杂志,2019,18(4):353-357.
- Boudoulas KD, Triposciadis F, Geleris P, et al. Coronary atherosclerosis: pathophysiologic basis for diagnosis and management
 [J]. Prog Cardiovasc Dis, 2016, 58(6): 676–692.
- [5] Xia WQ, Niu GZ, Yin CG, et al. Effects of lncRNA gm4419 on rats

with hypertensive cerebral atherosclerosis through NF- κ B pathway [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(24): 10976-10981.

- [6] Nakamura M, Fukukawa T, Kitagawa K, et al. Ten-year standardization of lipids and high-sensitivity C-reactive protein in a randomized controlled trial to assess the effects of statins on secondary stroke prevention: Japan statin treatment against recurrent stroke [J]. Ann Clin Biochem, 2018, 55(1): 128–135.
- [7] Jose MA, Anandkumar S, Narmadha MP, et al. A comparative effect of atorvastatin with other statins in patients of hyperlipidemia [J]. Indian J Pharmacol, 2012, 44(2): 261–263.
- [8] 汪宝军,张莉蓉,付润芳.高脂血症患者细胞色素 P4503A4 * 18B 基因多态性对辛伐他汀稳态血药浓度及其对降脂疗效的影响 [J].中国临床药理学杂志,2018,34(3):269-271.
- [9] Schachter M. Chemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of statins; an update [J]. Fundam Clin pharmacol, 2005, 19 (1): 117-125.
- [10] 孙钲, 许焕, 卫一丹, 等. 表面疏水性可调控型载药聚合物-脂质 纳米粒的制备与表征 [J]. 药学学报, 2019, 54(8): 1509-1514.
- [11] Zhang L, Chan JM, Gu FX, et al. Self-assembled lipid polymer hybrid nanoparticles: a robust drug delivery platform [J]. ACS Nano, 2008, 2(8): 1696–1702.
- Mandal B, Bhattacharjee H, Mittal N, et al. Core shell-type lipid
 polymer hybrid nanoparticles as a drug delivery platform [J]. Nanomedicine, 2013, 9 (4): 474-491.
- [13] Chan JM, Zhang L, Yuet KP, et al. PLGA-lecithin-PEG core-shell nanoparticles for controlled drug delivery [J]. Biomaterials, 2009, 30(8): 1627–1634.
- [14] Cheow WS, Hadinoto K. Factors affecting drug encapsulation and stability of lipid-polymer hybrid nanoparticles [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2011, 85(2): 214–220.
- [15] Liu Y, Zhao YQ, Liu JG, et al. Wheat germ agglutinin modification of lipid-polymer hybrid nanoparticles: enhanced cellular uptake and bioadhesion [J]. RSC Adv, 2016, 6(42): 36125–36135.
- [16] Yuan BO, Zhao Y, Dong S, et al. Cell-penetrating peptide-coated liposomes for drug delivery across the blood-brain barrier [J]. Anticancer Res, 2019, 39(1): 237–243.
- [17] 马雁,徐绍辉,于坤宏,等.利用 Caco-2 细胞模型研究新型 Pim-1 激酶抑制剂 KY-C002 的表观渗透系数 [J]. 安徽医科大学学报, 2018, 53(2): 236-240.
- [18] 欧静,徐珍妮,刘登群,等. 3D 培养体系中不同肠上皮细胞株形成肠类器官潜能的比较及应用[J]. 第三军医大学学报, 2020, 42(1): 31-38.
- [19] Zhang YP, Deng YJ, Tang KR, et al. Berberine ameliorates high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in rats via activation of SIRT3/AMPK/ACC pathway [J]. Curr Med Sci, 2019, 39(1): 37 -43.
- [20] Yang H, Feng A, Lin S, et al. Fibroblast growth factor-21 prevents diabetic cardiomyopathy via AMPK-mediated antioxidation and lipidlowering effects in the heart [J]. Cell Death Dis, 2018, 9(2): 227.
- [21] 吴宁, 罗杰, 孙见飞, 等. 青苹果对高脂模型雄性大鼠 AMPK-ACC 信号通路的作用 [J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37 (7): 3177-3183.

[收稿日期]2020-05-07