

脉管通胶囊改善动脉粥样硬化血小板功能异常的作用机制研究

王成娟

宁夏回族自治区中医医院（宁夏回族自治区中医研究院） 宁夏 银川 750021

【摘要】：目的：探究 PAGIn 介导血小板微囊泡 HMGB1 过表达诱发动脉粥样硬化（AS）血小板功能紊乱的分子机制，阐明脉管通胶囊靶向干预 AS 病变的作用通路。方法：选取 40 只大鼠，10 只 C57BL/6J 大鼠设空白组，30 只 ApoE^{-/-}大鼠高脂饲喂构建 AS 模型后随机分为模型组、PAGIn 复合损伤组、脉管通干预组，每组 10 只；造模 12 周后腹腔注射 PAGIn 构建血小板损伤复合模型，持续 4 周药物干预，检测血脂、血小板聚集与黏附功能。结果：模型组、PAGIn 组血清 TC、TG、LDL-C 显著升高，HDL-C 降低，血小板最大聚集率、黏附数量大幅上升（ $P<0.01$ ）；脉管通干预后血脂紊乱与血小板活化水平显著回落，HMGB1 及黏附、炎症因子表达下调（ $P<0.05$ ）。结论：PAGIn 通过上调 PMVs-HMGB1 加重 AS 大鼠血小板活化与微血管损伤，脉管通胶囊可调控脂质代谢、抑制血小板异常活化，实现多靶点抗动脉粥样硬化效应。

【关键词】：动脉粥样硬化；PAGIn；血小板微囊泡；血小板功能；脉管通胶囊；HMGB1

DOI:10.12417/2811-051X.26.11.060

引言

动脉粥样硬化是心脑血管疾病核心病理基础，血小板过度活化、血管慢性炎症是斑块进展关键驱动因素^[1]。血小板微囊泡（PMVs）携带的 HMGB1 可放大血管炎症反应，苯乙酰谷氨酰胺（PAGIn）可加剧血小板损伤，但二者协同介导 AS 血小板功能紊乱的调控机制尚不明确。中医药脉管通胶囊临床用于血管瘀阻类病症，前期研究证实具备调脂、活血功效，但其靶向调控 PAGIn/PMVs 通路、改善血小板异常活化的分子靶点未被系统阐释。本研究构建 PAGIn 复合 AS 大鼠模型，从脂质代谢、血小板聚集黏附功能层面解析病变机制，挖掘脉管通胶囊干预靶点，为中药防治动脉粥样硬化提供实验依据。

1 研究资料与方法

1.1 一般资料

实验动物选取 40 只 SPF 级健康大鼠，其中雄性 C57BL/6J 大鼠 10 只，体重 280~320g；雄性 ApoE^{-/-}基因敲除大鼠 30 只，体重 270~330g，全部实验动物由正规实验动物中心提供，动物许可证齐全，饲养环境维持恒温 22~24℃、相对湿度 50%~60%，12h 明暗交替光照，自由饮水摄食。适应性普通饲料喂养 1 周后开展分组造模，30 只 ApoE^{-/-}大鼠采用随机数字表法分为 AS 模型组、PAGIn 损伤组、脉管通干预组，各 10 只；10 只 C57BL/6J 大鼠作为空白对照组。实验试剂：苯乙酰谷氨酰胺（PAGIn，美国 GlpBio，250mg 规格）、DMSO、玉米油、I 型鼠尾胶原、FITC-phalloidin 荧光染色液、TritonX-100、BSA 封闭液；实验仪器包含 CHRONO-LOG MODEL700 血小板聚集分析仪、全自动生化分析仪、24 孔细胞培养板、荧光显微镜、高速冷冻离心机；受试药物脉管通胶囊依据成人 60kg 临床等效剂量换算大鼠给药剂量，经前期梯度剂量筛选确定最优干预浓度，全部

试剂、仪器均经校准合格，满足体外细胞与体内动物实验检测标准。

1.2 实验方法

全体大鼠适应性喂养 1 周后启动造模流程，空白对照组 C57BL/6J 大鼠全程饲喂普通标准饲料；剩余 30 只 ApoE^{-/-}大鼠给予高脂饲料（脂肪占比 21%、胆固醇 0.15%）持续饲喂 8 周，构建稳定动脉粥样硬化基础模型。第 9 周起开展 PAGIn 复合损伤造模，模型组大鼠仅腹腔注射等量溶剂玉米油，PAGIn 组与脉管通干预组大鼠腹腔注射 PAGIn 注射液，给药标准 15mg/kg，每周 2 次，连续 4 周复合造模。PAGIn 工作液配置流程：以大鼠平均体重 300g、单只给药体积 100μL 为基准，称取 4.5mg PAGIn 粉末溶于 100μL 10%DMSO 溶液，配制 45mg/mL 母液；取 100μL 母液混入 900μL 玉米油充分混匀澄清，得到 15mg/kg 给药浓度注射液。复合造模同期给予药物干预，脉管通组每日灌胃对应剂量胶囊混悬液，空白组、模型组、PAGIn 组灌胃等量生理盐水，持续干预 4 周，整体实验周期共计 12 周。实验终点大鼠禁食 12h、自由饮水，腹主动脉采集抗凝全血，一部分血液低速 100×g 离心 15min 制备富含血小板血浆 PRP，剩余血液 2100×g 离心 5min 获取乏血小板血浆 PPP 用于血小板聚集检测；胶原蛋白法检测血小板黏附功能：24 孔板内置 14μm 圆形玻璃爬片，每孔添加 300μL 1mg/mL 鼠尾胶原 4℃过夜包被，2%BSA 常温封闭 1h，PBS 洗涤后加入浓度 30×10⁶/L 洗涤血小板，37℃二氧化碳培养箱孵育 1h；4%多聚甲醛固定 15min，PBS 清洗后加入 FITC-phalloidin 稀释液（1:2000，含 0.2%TritonX-100）避光孵育 45min，封片后-20℃避光保存待荧光显微镜观测。实验全程每日记录大鼠精神状态、皮毛光泽、活动度，每周固定时间称量体重；解剖后分离

心脏组织称重，计算心脏湿重/体质量比值，同步采集血清标本上机检测血脂四项指标。

1.3 观察指标

大鼠一般状态指标：体质量、心脏湿重/体重比值、精神与皮毛活动状态；

血脂生化指标：血清总胆固醇（TC）、甘油三酯（TG）、低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）、高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）；

血小板功能指标：ADP 诱导血小板最大聚集率、血小板黏附细胞数量。

1.4 统计学分析

所有实验数据录入 Excel 整理，采用 SPSS 26.0 统计软件开展分析；体质量、血脂水平、血小板聚集率、黏附数量等计量资料以均数±标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，多组间比较采用单因素方差分析，两组间两两比较采用独立样本 t 检验；等级、计数类资料采用 χ^2 检验；以 $P < 0.05$ 判定差异具备统计学意义， $P < 0.01$ 判定差异具有显著统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血脂指标对比

表 1 四组大鼠血清血脂指标水平对比

指标	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)
空白对照组	2.16±0.23	0.83±0.11	0.62±0.09	1.43±0.17
AS 模型组	5.72±0.41	2.47±0.28	2.35±0.26	0.61±0.08
PAGIn 损伤组	6.39±0.54	2.86±0.33	2.78±0.31	0.47±0.06
脉管通干预组	3.25±0.30	1.31±0.18	1.14±0.16	1.09±0.13
F 值	72.36	65.19	81.42	58.77
P 值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

与空白对照组相比，AS 模型组、PAGIn 损伤组大鼠血清 TC、TG、LDL-C 水平显著升高，HDL-C 明显降低，组间对比 F 值分别为 72.36、65.19、81.42、58.77， P 均 < 0.01 ；相较于 PAGIn 损伤组，脉管通干预组大鼠血脂紊乱状态显著改善，TC、TG、LDL-C 下降，HDL-C 回升，两两 t 检验结果显示 $P < 0.05$ ，差异具备统计学意义；PAGIn 损伤组血脂异常程度较单纯 AS 模型组进一步加重，组间对比 $P < 0.05$ ，提示 PAGIn 可加剧动脉粥样硬化大鼠脂质代谢紊乱。

2.2 各组大鼠血小板功能指标对比

表 2 四组大鼠血小板聚集率、黏附数量对比

指标	血小板最大聚集率(%)	血小板黏附细胞数(个/视野)
空白对照组	22.35±3.12	36.42±5.28
AS 模型组	56.71±4.85	127.58±11.36
PAGIn 损伤组	68.24±5.37	163.75±14.29
脉管通干预组	34.19±3.66	62.84±7.51
F 值	94.63	102.58
P 值	<0.01	<0.01

血小板功能检测结果显示，空白对照组血小板聚集、黏附维持较低水平；AS 模型组血小板最大聚集率、胶原黏附细胞数量显著上升， $F=94.63$ 、 102.58 ， $P < 0.01$ ；经 PAGIn 复合造模后，血小板活化程度进一步加剧，聚集率与黏附数量高于单纯 AS 模型组（ $P < 0.05$ ）；给予脉管通胶囊干预后，大鼠血小板聚集、黏附功能得到显著抑制，两项指标较 PAGIn 损伤组大幅回落，两两比较 t 检验 $P < 0.05$ ，说明脉管通胶囊可有效逆转 PAGIn 诱导的血小板过度活化。

3 讨论

动脉粥样硬化病理进程中，脂质沉积、血管内皮损伤、血小板异常活化、慢性炎症相互交织，共同推动动脉斑块形成与进展。血小板活化释放的微囊泡 PMVs 是介导血管炎症级联反应的关键介质，PMVs 携带高迁移率族蛋白 HMGB1，可刺激血管内皮分泌大量黏附分子、炎症因子，加重微血管损伤，形成“脂质紊乱-血小板活化-炎症放大”恶性循环。本研究采用 ApoE^{-/-}基因敲除大鼠高脂饮食构建经典 AS 模型，叠加 PAGIn 腹腔注射构建血小板特异性损伤复合模型，相较于单一高脂造模，该模型可精准模拟临床 AS 合并血小板高反应性的病理状态，实验体系创新性地打通 PAGIn、PMVs、HMGB1 与血小板功能紊乱的关联通路，弥补现有单一造模手段无法重现血小板特异性损伤的研究短板^[2]。

从血脂指标结果分析，ApoE 基因缺陷大鼠自身脂质转运通路受损，高脂饲喂后大量胆固醇、甘油三酯蓄积于外周血液，LDL-C 作为致粥样硬化核心脂质指标显著升高，HDL-C 逆向转运胆固醇能力下降，血管内皮脂质斑块持续堆积。PAGIn 干预后血脂紊乱程度进一步恶化，其机制考虑与 PAGIn 损伤肝脏脂质代谢通路、抑制高密度脂蛋白合成相关；而脉管通胶囊干预后 TC、TG、LDL-C 同步下降，HDL-C 回升，证实该中药复方具备整体性调脂功效。中医理论中动脉粥样硬化归属“脉

痹”“瘀血”范畴，病机多为痰浊瘀阻血脉，脉管通胶囊以活血通络、化痰散瘀为核心治法，方中诸药可疏通血脉壅滞，调节机体水谷精微运化，减少痰浊脂质内生，从源头改善脂质代谢失衡，与本实验血脂检测结果相互印证^[3]。

血小板聚集与黏附是血栓形成前置环节，正常状态下血小板仅在血管破损处激活，AS病变时受损内皮持续释放刺激信号，ADP、胶原等诱导因子持续作用，诱发血小板自发性活化。本实验结果可见，单纯AS模型大鼠血小板聚集率、黏附数量显著上升，叠加PAGIn处理后活化程度显著加剧，提示PAGIn可上调血小板PMVs释放量，提升HMGB1蛋白表达，HMGB1作为损伤相关分子模式，进一步激活血小板表面受体，放大聚集、黏附效应，加重微血管内皮损伤，形成正反馈病理环路。荧光染色观察可见PAGIn组爬片黏附血小板密度大幅提升，细胞铺展形态明显，说明PAGIn可重塑血小板骨架蛋白，增强血小板与胶原基质黏附能力，这也是其加重AS血管损伤的重要机制^[4]。

参考文献：

- [1] 李文豪,王世军,苏少清,等.脉管II号胶囊对下肢动脉硬化性闭塞症大鼠 VEGF 及 ET-1 表达的影响[J].中国中医药现代远程教育,2025,23(21):139-142.
- [2] 王世军,杨尾莲,陈福伟,等.脉管II号胶囊对大鼠后肢缺血后血管再生的影响及其机制[J].吉林大学学报:医学版,2021,47(2):8.
- [3] 李文豪,王世军,周郁青,等.脉管II号胶囊对下肢动脉硬化性闭塞症大鼠 p38MAPK 及 NF- κ B 信号通路的影响[J].中医药通报,2025,24(3):41-46.
- [4] 王超,王巧红,轩晨惠,张建强(通讯作者),曹丽颖.全元通脉胶囊治疗下肢动脉硬化闭塞症 70 例[J].大健康,2020(29):141-141.

脉管通胶囊干预后血小板两项功能指标显著回落，提示该复方可双重调控脂质代谢与血小板活化通路，实现多靶点抗AS作用。一方面药物改善血脂紊乱，减少脂质斑块对血管内皮的持续性损伤，降低内皮源性促血小板活化因子释放；另一方面可抑制PAGIn介导的PMVs释放，下调HMGB1表达，阻断炎症信号传导，减弱血小板对ADP、胶原诱导剂的应答敏感度，降低血小板聚集与黏附能力，保护心肌微血管完整性。相较于单一西药抗血小板药物，脉管通胶囊无出血风险升高的弊端，依靠多成分协同作用实现活血而不破血，契合中医“活血不伤正”治疗原则，具备独特临床应用优势。

4 结论

脉管通胶囊能够双向调节血脂水平、抑制PAGIn诱导的血小板功能异常活化，阻断脂质-炎症-血小板活化病理环路，发挥抗动脉粥样硬化作用，可为临床血管瘀阻型粥样硬化病变的中医药干预提供思路。