

## Toll 样受体 4—核因子 $\kappa$ B 信号通路在血管成形术后 再狭窄过程中的作用

马 林, 丁彦春, 崔晓琼, 姜 华, 王虹艳, 曲 鹏

(大连医科大学附属第二医院心内科, 辽宁省大连市 116023)

[关键词] 内科学; 再狭窄; 大鼠; 阿托伐他汀; 炎症; Toll 样受体 4; 核因子  $\kappa$ B

[摘要] 目的 观察大鼠颈总动脉球囊损伤术后血管中 Toll 样受体 4 及核因子  $\kappa$ B 的表达情况, 并应用阿托伐他汀药物进行干预。探讨 Toll 样受体 4/核因子  $\kappa$ B 通路在再狭窄过程中的作用。方法 雄性 SD 大鼠 56 只, 随机分为阿托伐他汀治疗 7 天组、内膜损伤 7 天组、阿托伐他汀治疗 14 天组、内膜损伤 14 天组, 以同系动物的右颈总动脉作对照。采用大鼠颈总动脉球囊损伤后再狭窄动物模型, 以免疫组织化学染色、逆转录聚合酶链反应、Western blot 法检测 Toll 样受体 4 及核因子  $\kappa$ B 在各组大鼠颈总动脉中的表达情况。结果 大鼠颈总动脉球囊损伤后 7 天新生内膜增加, 在新生内膜平滑肌中核因子  $\kappa$ B (9.8%) 及 Toll 样受体 4 (15.6%) 染色阳性, Toll 样受体 4 mRNA (0.39) 及蛋白水平 (26.18) 均增高。14 天后内膜增生更加明显, 管腔显著狭窄, 核因子  $\kappa$ B (23.2%) 及 Toll 样受体 4 (37.2%) 染色强阳性, Toll 样受体 4 mRNA (0.49) 及蛋白水平 (57.12) 显著增高。与内膜损伤组相比, 阿托伐他汀治疗组内膜增生程度明显减轻, 核因子  $\kappa$ B 及 Toll 样受体 4 水平明显下降。结论 在大鼠颈总动脉球囊损伤后再狭窄模型中, 核因子  $\kappa$ B 活性增加, Toll 样受体 4 mRNA 及蛋白水平均增高, 应用阿托伐他汀后可以抑制 Toll 样受体 4 和核因子  $\kappa$ B 的表达, 同时抑制内膜增生, 表明 Toll 样受体 4/核因子  $\kappa$ B 通路有可能参与了再狭窄形成过程。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### Toll Like Receptor 4/ Nuclear Factor- $\kappa$ B Pathway Play a Potent Role in the Restenosis

MA Lin, DING Yan Chun, CUI Xiao-Qiong, JIANG Hua, WANG Hong-Yan, and QU Peng

(Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116023, China)

[KEY WORDS] Restenosis; Rat; Atorvastatin; Inflammation; Toll Like Receptor 4; Nuclear Factor- $\kappa$ B

[ABSTRACT] **Aim** To observe the expression of Toll like receptor 4 (TLR4) and nuclear factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) in the model of vascular restenosis established by balloon injury, and the effects of atorvastatin on neointimal proliferation and expression of TLR4 and NF- $\kappa$ B. **To explore a possible role for TLR4/NF- $\kappa$ B pathway in the developing of restenosis.** **Methods** 56 male Sprague-Dawley rats were randomly divided into 5 groups: atorvastatin treatment 1 week group, balloon injury 1 week group, atorvastatin treatment 2 weeks group, balloon injury 2 weeks group, and control group. Balloon catheter denudation of the endothelium in the common carotid artery of the rat was routinely used as a model of restenosis. Immunohistochemistry and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), Western blot were used to detect the expression of TLR4 and NF- $\kappa$ B on rat carotid arteries at different groups. **Results** The proliferation of vascular smooth muscle cell (VSMC) existed on the surface of vascular lumen on 1 week after endothelium denudation. TLR4 (15.6%) and NF- $\kappa$ B (9.8%) were stained on SMC of neointimal. The levels of TLR4 mRNA (0.39) and protein (26.18) of carotid arteries were increased compared with those of the control group. After 2 weeks, the neointimal were significantly hyperplasia, the lumen were striking stenosis. Immunostain of TLR4 (37.2%) and NF- $\kappa$ B (23.2%) were mostly positive in the neointimal cells. The level of TLR4 mRNA (0.49) and protein (57.12) of carotid arteries were significantly increased. Treatment of rats with the atorvastatin caused a significant inhibition of the expression of TLR4 and NF- $\kappa$ B as well as neointima form ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** In the model of vascular restenosis by balloon injury, the levels of TLR4 mRNA and protein of carotid arteries were significantly increased and accompanied with activation of NF- $\kappa$ B. Treatment of rats with the atorvastatin caused a significant inhibition of the expression of TLR4 and NF- $\kappa$ B as well as neointima formation. TLR4 and NF- $\kappa$ B played an important role for TLR4/NF- $\kappa$ B pathway in the developing of restenosis.

经皮冠状动脉介入治疗 (percutaneous coronary intervention, PCI) 术后再狭窄一直是影响介入治疗疗

效的主要问题, 其发生率高达 20% ~ 40%, 血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 增殖和迁移是其发生的主要机制之一<sup>[1,2]</sup>。虽然目前采用药物洗脱支架来抑制血管平滑肌增殖, 可明显降低再狭窄, 但再狭窄率仍达 5% ~ 12%, 因此对再狭窄的防治需要多种方法综合防治。新近发现的 Toll 样

[收稿日期] 2005-11-22

[修回日期] 2006-06-27

[作者简介] 马林, 硕士研究生, 研究方向为介入心脏病学, E-mail 为 malin79@sina.com。丁彦春, 博士, 研究方向为介入心脏病学。通讯作者曲鹏, 博士后, 博士研究生导师, 研究方向为介入心脏病学。

受体(Toll like receptors, TLR) 家族在病原感染和免疫炎症中起重要作用<sup>[3]</sup>, TLR4/核因子  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B) 信号传导通路的活化介导了众多炎症因子的表达, 而这些炎症因子参与血管损伤炎症反应且在平滑肌细胞增殖、分化和凋亡过程中起重要调节作用, 推测 TLR4/核因子  $\kappa$ B 信号传导通路可能在再狭窄过程中起重要作用。本研究以大鼠颈总动脉狭窄这一经典动物模型, 观察血管内膜增厚过程中 TLR4/核因子  $\kappa$ B 的变化, 并用阿托伐他汀药物干预, 为探讨再狭窄形成机制及防治提供新思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

2F Forgarty 管购自 Edwards Lifescience 公司, 超声波细胞粉碎机由宁波新芝科器研究所生产, 聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 仪 (Mastercycle gradient)、离心机 (centrifuge 5804R)、UV-754F 分光光度计及实验所有枪头、EP 管均为 Eppendorf 公司生产, 兔抗鼠 TLR4 多克隆抗体、兔抗鼠核因子  $\kappa$ B 单克隆抗体为美国 Santa Cruz 公司产品, 购自福建迈新。SP 免疫组织化学试剂盒包括生物素化二抗、过氧化氢、封闭血清、辣根过氧化物酶标记链霉卵白素为美国 Zymed 公司产品, 购自福建迈新, Trizol 提取液购自美国 Invitrogen 公司, 逆转录聚合酶链反应 (reverse transcription-PCR, RT-PCR) 试剂盒及引物购自大连宝生物工程公司。

### 1.2 实验动物及分组

健康雄性 SD 大鼠 56 只, 体重  $300 \pm 20$  g, 由大连医科大学动物实验中心提供。实验前适应性饲养 1 周, 自由摄食水。随机分为阿托伐他汀治疗 7 天组 ( $n=7$ ) 和 14 天组 ( $n=7$ ), 内膜损伤 7 天组 ( $n=7$ ) 和 14 天组 ( $n=7$ ) (简称模型组), 以及对照组 (以同系动物的右颈总动脉作对照)。阿托伐他汀组在手术后 1 天至处死前 1 天给予阿托伐他汀  $2.5 \mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{d})$  溶解后灌胃。由于取材方式不同, 每组大鼠为 14 只, 各 7 只分别用于免疫组织化学标本取材及 RT-PCR、Western blot 标本取材。

### 1.3 大鼠颈动脉内膜损伤模型的建立

常规麻醉颈部剃毛消毒, 剥离颈外动脉, 远端用丝线结扎, 近端用动脉夹夹闭, 用 2F Fogarty 球囊导管从左颈外动脉插入左颈总动脉, 导管插入感到遇一定阻力后提示已到主动脉弓部位,  $0.1 \text{ mL}$  生理盐水充盈球囊, 拉回到近切口部位时抽出生理盐水。重复上述操作 3 次后拉出球囊, 结扎动脉切口部位。

### 1.4 病理形态学检查

石蜡包埋, 间断均匀切片, 切片厚  $5 \mu\text{m}$ , HE 染色光镜下观察 VSMC 移行、增殖和内膜增厚情况, 以及颈总动脉内膜增生情况。按组织学划分, 内弹力膜以内为血管内膜, 内、外弹力膜之间为中膜。5 倍物镜下将完整的血管横切面 HE 染色图像摄入计算机图像分析系统中, 首先进行图像编辑, 用鼠标准确地勾出外弹力膜、内弹力膜以及管腔的轮廓, 逐步测算内膜、中膜厚度及面积, 随机选取 10 个点分析, 取平均值。计算机图像分析系统 Image-pro plus 4.5 测量血管内膜—中膜厚度比 (intima-media thickness ratio, IT/MT)、内膜—中膜面积比 (intima-media area ratio, IA/MA) 及管腔面积 (luminal area, LA)。

### 1.5 免疫组织化学法检测血管组织中核因子 $\kappa$ B 和 Toll 样受体 4 的表达

术后 7 天、14 天处死动物后左心室插管, 生理盐水冲洗血管后改多聚甲醛原位灌注 20 min 后, 取出左颈总动脉于 4% 多聚甲醛中固定, 以右颈总动脉作对照。常规脱蜡至水, 置入 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  15 min, 以封阻内源性过氧化物酶, PBS 洗涤。用  $0.01 \text{ mol/L}$  柠檬酸盐缓冲液抗原微波修复。滴加动物血清封阻 10 min。滴加核因子  $\kappa$ B 一抗 (1:250) 或 TLR4 一抗 (1:100) 稀释过夜。滴加二抗 10 min。滴加辣根过氧化物酶标记链霉卵白素 10 min。DAB 显色 1 min, 苏木精复染 30 s, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树脂封片。在阴性对照片中, 滴加 PBS 替代单克隆抗体, 其余步骤不变。光镜下随机取 3 个视野, 计算细胞核或细胞质染色阳性率, 取平均数。

### 1.6 半定量逆转录聚合酶链反应法检测血管 Toll 样受体 4 mRNA 的变化

动物处死后取出左颈总动脉,  $-70^\circ\text{C}$  冰箱保存。取不同组血管标本, 剪碎后加入  $1 \text{ mL}$  Trizol, 用组织棒充分匀浆至组织完全裂解。提取总 RNA 后, 各样品取  $1 \mu\text{g}$  RNA, 按试剂盒说明书进行 cDNA 合成及 PCR 扩增。PCR 引物及内参由大连宝生物工程有限公司合成。引物序列: TLR4 (555 bp) F 5'-CGC TTT CAG CTT TGC CTT GCC TTC ATT AG-3', RF 5'-TGC TAC TTC CTT GTG CCC TGT GAG-3',  $\beta$ -actin (241 bp) F 5'-AAC CCT AAG GCC AAC CGT GAA AAG-3', RF 5'-TCA TGA GGT AGT CTG TCA G-3'。反应条件为  $94^\circ\text{C}$  预变性 2 min 后,  $94^\circ\text{C}$  变性 30 s  $\rightarrow 60^\circ\text{C}$  退火 60 s  $\rightarrow 72^\circ\text{C}$  延伸 90 s, 共 30 个循环,  $72^\circ\text{C}$  再延伸 10 min。取  $5 \mu\text{L}$  扩增产物于琼脂糖凝胶电泳, 照相于凝胶图像分析系统进行扫描分析, 计算 TLR4 mRNA 与  $\beta$ -actin mRNA 比值。

1.7 Western blot 法检测血管组织中 Toll 样受体 4 的表达

动物处死后取出左颈总动脉, - 70℃冰箱保存。取不同组血管标本, 取蛋白样品, 稀释一定倍数(400倍)。上样、电泳、转膜后于封闭液(5%脱脂奶粉)中37℃封闭2 h。封闭后加 TLR4 一抗(1: 400)4℃过夜。与生物素标记的二抗结合, 37℃静置30 min, 与辣根过氧化物酶标记的链酶卵白素结合, 37℃静置20 min, DAB 显色液中, 有清晰的特异条带出现时, 用大量的水冲洗NC膜以终止反应。用 Western blot 印迹分析软件, 测出各条带的光密度(OD)值。

1.8 统计学分析

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较用单因素方差分析(ANOVA),  $P < 0.05$  为差异有显著性。

2 结果

2.1 血管形态学动态变化

光镜下, 正常大鼠颈动脉内膜仅见单层内皮细

胞, 无平滑肌细胞侵入。球囊损伤后血管可见明显内膜损伤及增生。内皮剥脱后即刻动脉血管壁内皮细胞消失, 动脉弹力层结构尚清楚。术后7天内膜增生, 新生内膜中可见局灶性细胞增殖。术后14天内膜呈进行性弥漫性增厚, 增厚的内膜中以VSMC为主, 说明内皮剥脱后14天已形成典型的血管再狭窄动物模型。与内膜损伤组相比, 阿托伐他汀组在术后7天时内膜未出现明显增生, 在14天时, 内膜虽有增生但程度较内膜损伤组明显减轻(表1和图1)。

表 1. 各组大鼠颈总动脉病理切片图像分析结果

分 组	IT/MT	IA/MA	LA (mm <sup>2</sup> )
阿托伐他汀治疗 7 天组	0.150 ± 0.008 <sup>a</sup>	0.108 ± 0.009 <sup>a</sup>	0.428 ± 0.021 <sup>a</sup>
内膜损伤 7 天组	0.268 ± 0.012	0.202 ± 0.016	0.348 ± 0.014
阿托伐他汀治疗 14 天组	0.358 ± 0.009 <sup>b</sup>	0.297 ± 0.010 <sup>b</sup>	0.304 ± 0.010 <sup>b</sup>
内膜损伤 14 天组	0.890 ± 0.082 <sup>a</sup>	0.601 ± 0.028 <sup>a</sup>	0.212 ± 0.020 <sup>a</sup>

a 为  $P < 0.01$ , 与内膜损伤 7 天组比; b 为  $P < 0.01$ , 与内膜损伤 14 天组比。

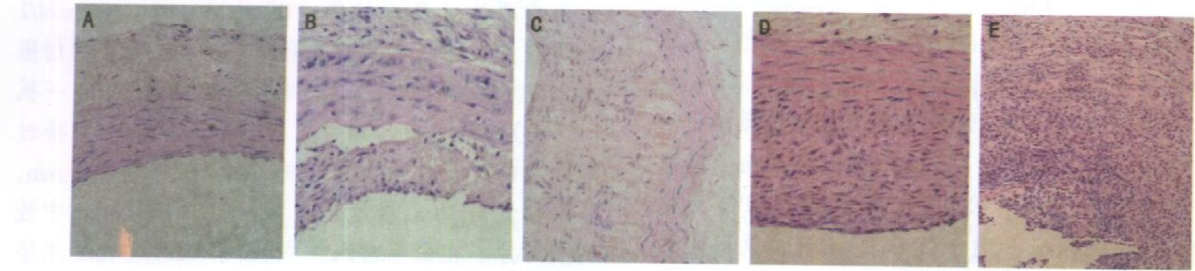


图 1. 各组大鼠血管 HE 染色结果(×200) A 为对照组, B 为阿托伐他汀治疗 7 天组, C 为内膜损伤 7 天组, D 为阿托伐他汀治疗 14 天组, E 为内膜损伤 14 天组。

2.2 各组大鼠增生内膜中核因子 κB 蛋白的表达

核因子 κB 正常情况下呈棕黄色颗粒, 胞核几乎无染色; 活化后进入核内, 表现为核染色。模型组术后14天可见较多棕黄色胞核(23.2% ± 0.7%), 高于术后7天组(9.8% ± 0.5%) ( $P < 0.01$ )。阿托伐他汀治疗7天组和14天组胞核阳性率(分别为5.7% ± 0.4%和15.0% ± 0.8%)明显低于模型组( $P < 0.01$ , 图2)。

2.3 各组大鼠增生内膜中 Toll 样受体 4 的表达

2.3.1 Toll 样受体 4 的定位表达 对照组仅少量表达 TLR4(1.5% ± 0.4%)。TLR4 着色部位主要在血管增生内膜平滑肌细胞质和细胞膜上, 呈棕褐色。其细胞质染色阳性率模型组随时间延长而增加(7天组与14天组分别为15.6% ± 0.9%和37.2% ± 2.1%,  $P < 0.01$ ), 阿托伐他汀治疗组 TLR4 染色阳性率(7天组与14天组分别为9.3% ± 0.6%和22.

4% ± 1.4%) 比相应模型组下降( $P < 0.01$ , 图3)。

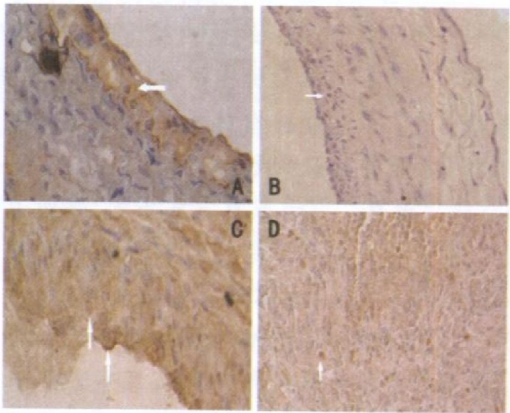


图 2. 血管核因子 κB 免疫组织化学结果(×200) A 为阿托伐他汀治疗 7 天组, B 为内膜损伤 7 天组, C 为阿托伐他汀治疗 14 天组, D 为内膜损伤 14 天组。



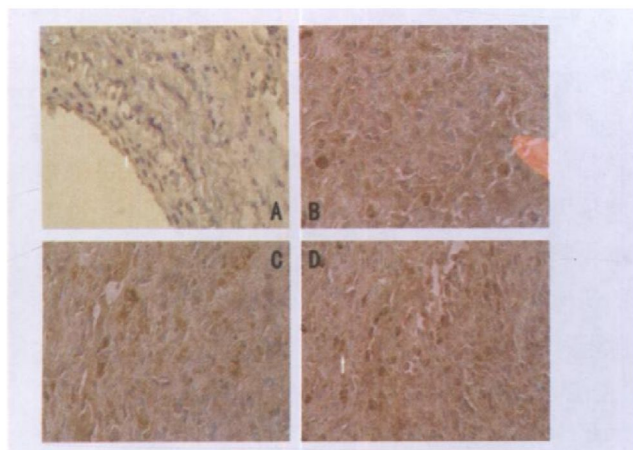


图 3. 血管 Toll 样受体 4 免疫组织化学结果( $\times 200$ ) A 为阿托伐他汀治疗 7 天组, B 为内膜损伤 7 天组, C 为阿托伐他汀治疗 14 天组, D 为内膜损伤 14 天组。

**2.3.2 血管组织中 Toll 样受体 4 的表达** TLR4 蛋白表达随损伤时间延长而增加, 内膜损伤 14 天组 OD 值( $57.1 \pm 2.2$ )为内膜损伤 7 天组( $26.2 \pm 0.9$ )的 2 倍( $P < 0.01$ ), 且明显高于对照组( $12.0 \pm 0.5$ ,  $P < 0.01$ )。而阿托伐他汀治疗 14 天组 TLR4( $28.6 \pm 0.9$ )虽然高于对照组且高于阿托伐他汀治疗 7 天组( $15.6 \pm 0.9$ ), 但明显低于内膜损伤 14 天组( $P < 0.01$ , 图 4)。

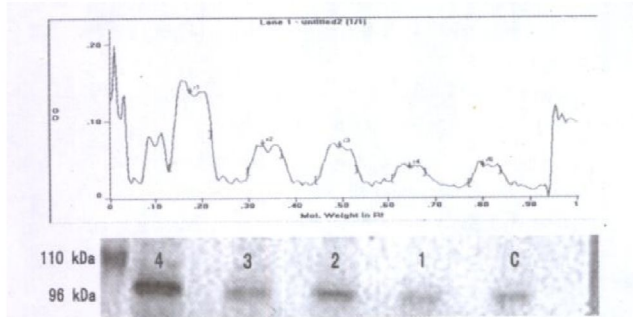


图 4. Western blot 法检测血管组织中 Toll 样受体 4 的表达 C 为对照组, 1 为阿托伐他汀治疗 7 天组, 2 为内膜损伤 7 天组, 3 为阿托伐他汀治疗 14 天组, 4 为内膜损伤 14 天组。

**2.3.3 血管 Toll 样受体 4 mRNA 的变化** 内膜损伤 14 天后, 其血管中 TLR4 mRNA 水平( $0.49 \pm 0.02$ )较对照组( $0.18 \pm 0.01$ )显著升高( $P < 0.01$ ), 与内膜损伤 7 天组( $0.39 \pm 0.01$ )相比差异有显著性( $P < 0.01$ )。而经阿托伐他汀(14 天组和 7 天组分别为  $0.39 \pm 0.01$  和  $0.29 \pm 0.01$ ) 治疗后, 其 mRNA 水平有明显下降( $P < 0.01$ , 图 5)。

### 3 讨论

研究认为血管内皮细胞损伤, 中膜平滑肌细胞

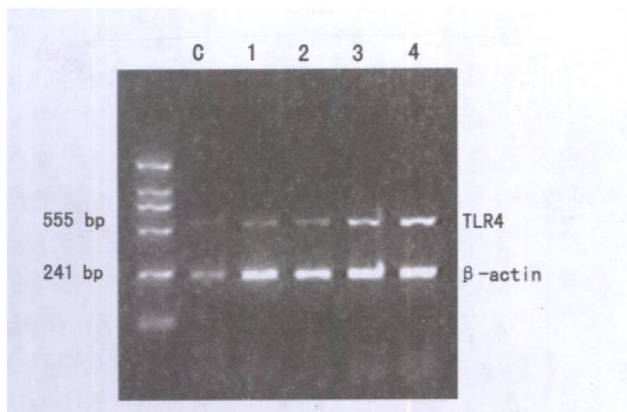


图 5. 半定量逆转录聚合酶链反应结果 C 为对照组, 1 为阿托伐他汀治疗 7 天组, 2 为内膜损伤 7 天组, 3 为阿托伐他汀治疗 14 天组, 4 为内膜损伤 14 天组。

增殖、迁移及细胞外基质大量积聚引起的内膜增厚和血管重构是再狭窄发生的主要原因。而其中内皮细胞损伤、炎症反应的发生是始动因素, 如何有效抑制炎症反应, 减少平滑肌细胞迁移和增殖是降低再狭窄发生的关键。TLR4 是一种先天性免疫识别受体, 在机体对抗革兰氏阴性杆菌感染中发挥重要作用。另外, 在非感染情况下反映组织损伤的成纤维连接蛋白和热休克蛋白 60(heat shock protein 60, HSP60), 均可激活 TLR4 表达<sup>[3]</sup>, TLR4 被激活后通过一系列的跨膜信号传导最终可激活核因子  $\kappa B$ , 后者通过对多种基因表达的调控, 介导众多炎症因子的表达, 从而影响平滑肌细胞增殖。他汀类药物不仅是强力调血脂药物, 同时还具有直接改善内皮功能、抑制血小板聚集、抗炎症反应等作用。

#### 3.1 Toll 样受体 4/核因子 $\kappa B$ 通路在增殖血管平滑肌细胞中的变化

研究发现在 VSMC 中存在核因子  $\kappa B$  激活通路, 且是平滑肌细胞增殖时必经的激活通路, 是调节细胞基因转录的关键因子之一, 但有关其结构、功能及激活途径目前尚未完全明了。研究认为当细胞处于静息状态时, 核因子  $\kappa B$  位于细胞质中, 核因子  $\kappa B$  得以激活, 并移位进入细胞核, 启动基因转录<sup>[4]</sup>。本实验结果发现在颈总动脉再狭窄模型大鼠增殖血管平滑肌中核因子  $\kappa B$  表达增强, 并随时间延长(7、14 天)表达增强。Ialenti 等<sup>[5]</sup>在颈动脉球囊扩张模型大鼠实验中发现, 经球囊扩张 14 天后损伤的颈动脉血管内膜增厚, 与对照组比较, 其 p50 和 p65 水平增高, 这意味着核因子  $\kappa B$  活性增高与新生内膜过度增生密切相关。以上研究结果均支持本实验结果, 并充分证实核因子  $\kappa B$  与血管成形后再狭窄密切相关, 但核因子  $\kappa B$  被激活的确切机制仍未探讨清楚。

Toll 样受体(TLR4)的发现对这一领域带来新的学说,研究表明 TLR4 主要在内皮细胞、单核细胞、中性粒细胞和树突状细胞表达。我们在再狭窄模型中发现,TLR4 主要表达在血管增生内膜的平滑肌细胞质中,TLR4 mRNA 和蛋白水平较对照组显著增加,且随时间延长(7天和14天)而表达增强。Sasu 等<sup>[6]</sup>用衣原体肺炎球菌和衣原体 HSP60 刺激 VSMC,结果发现 TLR4 介导 p44/p42 丝裂原活化蛋白激酶/应激激活蛋白激酶通路可导致人血管平滑肌的增生。我们的实验证实再狭窄模型新生内膜中 TLR4/核因子  $\kappa$ B 表达增高。除了新生内膜参与再狭窄形成外,晚期血管的重塑、管腔面积的丢失也是再狭窄形成的重要因素。Saskia 等<sup>[7]</sup>分别在载脂蛋白 E3 缺乏的转基因小鼠和野生型小鼠做股动脉环模型和在 BALB/C 和 C. C3H-Tlr4 缺陷鼠做颈总动脉结扎模型,结果发现在载脂蛋白 E3 缺乏的转基因小鼠中脂多糖刺激形成了大斑块并导致动脉重塑,而在 C. C3H-Tlr4 缺陷鼠中,并没有发现上述变化。这一发现证实 TLR4 参与了动脉重塑的过程,并可能扮演了一个重要的角色。我们推测 TLR4/核因子  $\kappa$ B 信号通路在再狭窄过程中起重要作用。

本研究结果表明,TLR4/核因子  $\kappa$ B 表达在血管增生内膜的平滑肌上,并随着时间延长(7天和14天)而表达增强,其 mRNA 和蛋白水平与血管壁 VSMC 增殖程度呈正相关。那么,是什么原因导致 TLR4 在血管平滑肌表达增多,从而介导平滑肌向内膜迁移和增殖? Okamura 等<sup>[8]</sup>报道,损伤组织释放的一种分子—纤维连接蛋白中的 EDA 片段可以激活 TLR4,细胞在应激状态下产生的 HSP60 也可激活 TLR4。而再狭窄发生的始动因素是内皮细胞的损伤、炎症反应的发生。

### 3.2 阿托伐他汀抑制再狭窄及 Toll 样受体 4/核因子 $\kappa$ B 信号通路的表达

大量临床研究证明炎症反应参与了血管再狭窄的过程,所以如何有效抑制炎症反应,减少平滑肌细胞的迁移和增殖是降低再狭窄发生率的关键。阿托伐他汀能抑制平滑肌细胞的增殖移动、改善血管内皮功能及抑制血小板功能、血栓形成、新生血管形成和氧化应激等。Eschert 等<sup>[9]</sup>报道他汀类药物能阻断小 G 蛋白 Ras 的法呢酰化和 Ras 中介的促有丝分裂活化蛋白激酶的活化,抑制 VSMC 合成的促有丝分裂剂碱性成纤维细胞生长因子的内源性表达,提

示他汀类药物在抑制 VSMC 增殖起重要作用。体内外动物试验证明阿托伐他汀能抑制由肿瘤坏死因子及血管紧张素所触发的核因子  $\kappa$ B 的活性及单核化学趋化因子活性,体外试验<sup>[10]</sup>表明阿托伐他汀能抑制核因子  $\kappa$ B 的表达。本实验结果证实阿托伐他汀不仅能有效减少内膜增生,还能有效抑制核因子  $\kappa$ B 的活性。最近,Boekholdt 等<sup>[11]</sup>在对经血管造影有动脉粥样硬化的 655 位具有两种 TLR4 基因多态性(Asp299Gly 和 Thr399Ile)人群实验中发现,服用他汀类药物,Asp299Gly 携带者较非携带者心血管疾病发生率显著减少( $P < 0.05$ ),在非携带者中,药物组能明显减少心血管疾病的发生,而在携带者中,这一比例则大大增加。此结果证明:一方面 TLR4 可能在血管疾病中扮演重要的角色,另一方面他汀类药物可能是其拮抗剂。本实验结果发现,阿托伐他汀可有效抑制 TLR4 mRNA 和蛋白的表达水平。综上所述,阿托伐他汀可有效减少新生内膜的形成从而降低血管内支架再狭窄的发生,这一过程可能是通过抑制 TLR4/核因子  $\kappa$ B 通路而实现的。

### [参考文献]

- [1] Topol EJ, Serruys PW, Iris Goldberg, Gad Keren. Frontiers in interventional cardiology [J]. *Circulation*, 1998, **98**: 1 802-820
- [2] Welt FG, Rogers C, Oparil S, White CR, Kandarpa, Krishna, et al. Inflammation and restenosis in the stent era [J]. *Arterioscl Thromb Vasc Biol*, 2002, **22**: 1 769-776
- [3] Charles A, Janeway Jr, Medzhitov R. Innate immune recognition [J]. *Annu Rev Immunol*, 2002, **20**: 197-216
- [4] Gimpease ME, Whisler RL, Redox. Signals and NF- $\kappa$ B activation in T cells [J]. *Free Radical*, 1998, **25**: 346-361
- [5] Ialenti A, Inaaro A, Maffia P, Capasso F, Pinto A, Kareda Y, et al. Role of nuclear factor kappa B in a rat model of vascular injury [J]. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 2001, **364** (4): 343
- [6] Sasu S, LaVerda D, Qureshi N, David, Nilofer, Golenbock, et al. Chlamydia pneumoniae and chlamydial heat shock protein 60 stimulate proliferation of human vascular smooth muscle cells via toll-like receptor4 and p44/p42 mitogen-activated protein kinase activation [J]. *Circ Res*, 2001, **89**: 244-250
- [7] Saskia CG, Hollestelle, Magreet, Vries, Aryan H, Ben J, et al. Toll-like receptor 4 is involved in outward arterial remodeling [J]. *Circulation*, 2004, **109**: 393-398
- [8] Okamura Y, Watari M, Jerud ES, Sally T, Ishizaka, Jeffrey Rose, et al. The extra domain A of filronectin activates Toll-like receptor 4 [J]. *J Biol Chem*, 2001, **276**: 10 229-233
- [9] Eschert H, Pawlus E, Carnuccio R, D'Acquisto F, Maiello FM. Molecular effects of HMG-CoA reductase inhibitors on smooth muscle cell proliferation [J]. *J AM Coll Cardiol*, 2001, **37**: 337
- [10] Monica, Ortego, CarmenBustors, Miguel A, Heep A, Tempel K, et al. Atorvastatin in reduces NF- $\kappa$ B activation and chemokine expression in vascular smooth cells and mononuclear cells [J]. *Atherosclerosis*, 1999, **147**: 253-261
- [11] Boekholdt SM, Agema WR, Peters RJ, Aeilko H, Emdst E, Pieter H, et al. Variants of toll-like receptor4 modify the efficacy of statin therapy and the risk of cardiovascular events [J]. *Circulation*, 2003, **107**: 2 416-421

(此文编辑 许雪梅)