

实验研究

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2026.11.012

健脾化浊调脂颗粒对动脉粥样硬化模型小鼠主动脉搏管周围脂肪组织褐变和 PI3K/AKT 通路的影响

王珠华¹, 王艳芳¹, 钟鸣书², 陈抒鹏¹, 袁一顺³, 黄珊¹, 刘言薇³, 刘中勇³✉

1. 江西中医药大学, 江西省南昌市新建区梅岭大道 1688 号, 330004; 2. 江西省瑞金市中医院; 3. 江西中医药大学附属医院

[摘要] **目的** 基于磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K/AKT) 信号通路调控血管周围脂肪组织 (PVAT) 褐变探讨健脾化浊调脂颗粒治疗动脉粥样硬化 (AS) 的可能作用机制。**方法** 15 只 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠设为对照组, 76 只 ApoE^{-/-}小鼠先予高脂饲料饲养 16 周建立 AS 小鼠模型, 造模成功后随机分为模型组 16 只, 褐变组及健脾化浊调脂低、中、高剂量组各 15 只。褐变组以 1 mg/(kg·d) 的 β_3 肾上腺素受体激动剂 CL 316243 腹腔注射, 每日 1 次; 健脾化浊调脂低、中、高剂量组分别以 4.3、8.6、17.2 g/(kg·d) 健脾化浊调脂颗粒灌胃, 对照组、模型组以生理盐水 10 ml/(kg·d) 灌胃, 均每日 1 次。各组均连续干预 4 周后, 取主动脉搏进行大体油红 O 染色法检测斑块占比, HE 染色法检测横切面斑块面积, Masson 染色法检测脉斑块中胶原纤维占比, 透射电镜观察脂肪细胞内线粒体和脂滴数量及形态变化; 检测血清甘油三酯 (TG)、总胆固醇 (TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 水平, PVAT 及主动脉搏中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6) 水平, PVAT 中的脂联素、瘦素蛋白水平及 PI3K、磷酸化磷脂酰肌醇 3-激酶 (p-PI3K)、AKT、磷酸化蛋白激酶 B (p-AKT)、解偶联蛋白 1 (UCP1)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子-1 α (PGC-1 α)、PR 结构域锌指蛋白 16 (PRDM16) 蛋白水平, PVAT 中 UCP1、PGC-1 α 、PRDM16 mRNA 表达。**结果** 与对照组比较, 模型组小鼠血清 TG、TC、LDL-C 水平升高, HDL-C 水平降低, PVAT 与主动脉搏中 TNF- α 、IL-6 升高, 脂联素平均荧光强度降低, 瘦素平均荧光强度升高, p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 值和 UCP1、PGC-1 α 、PRDM16 蛋白水平及 mRNA 表达降低 ($P<0.01$)。病理结果显示, 对照组小鼠主动脉搏无明显斑块形成; 模型组小鼠主动脉搏可见多发性斑块, 斑块内可见大量泡沫细胞、胆固醇结晶和炎症细胞聚集, 可见少量蓝色胶原纤维。与模型组比较, 褐变组及健脾化浊调脂高剂量组可显著改善上述指标及主动脉搏病理变化 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。健脾化浊调脂各剂量组在降低 LDL-C、大体油红 O 染色斑块占比, 升高脂联素平均荧光强度、p-AKT/AKT 值、PGC-1 α 蛋白水平、UCP1 及 PRDM16 mRNA 表达方面呈剂量依赖性 ($P<0.05$)。健脾化浊调脂高剂量组与褐变组在改善主动脉搏病理方面疗效相当。**结论** 健脾化浊调脂颗粒可能通过激活 PI3K/AKT 通路促进 AS 模型小鼠 PVAT 褐变, 改善 PVAT 内分泌功能, 抑制主动脉搏炎症, 从而减轻 AS 斑块形成。

[关键词] 动脉粥样硬化; 血管周围脂肪组织; 脂肪褐变; 磷脂酰肌醇 3-激酶; 蛋白激酶 B; 健脾化浊调脂颗粒

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是与脂质代谢和炎症因子有关的多病理因素共同参与的血管

病变, 为心脑血管疾病的发病基础^[1]。我国心脑血管疾病发病率呈上升趋势, 2023 年全年监测发现, 我国 ≥ 18 岁居民心脑血管疾病粗发病率为 620.33/10 万, 并且预测 2020—2030 年持续上升^[2]。血管周围脂肪组织 (perivascular adipose tissue, PVAT) 是血管壁外膜之外的脂肪组织, 近年来研究表明, PVAT 在 AS 的形成和发展中发挥重要作用, PVAT

基金项目: 国家自然科学基金 (82260918); 国家中医药管理局全国名老中医专家传承工作室建设项目 (国中药人教函 [2022] 75 号); 国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目 (zyydxk-2023113); 江西省自然科学基金 (20232BAB206146); 国家中医优势专科建设项目 (国中医药医政函 [2024] 90 号)

✉ 通讯作者: lzyongmail@163.com

可作为动脉粥样硬化性心血管疾病风险预测的生物标志物之一^[3-4]。褐变是指脂肪细胞向棕色样脂肪细胞分化的一种脂肪细胞分化过程,已有研究发现,PVAT褐变是改善AS的重要机制^[5-6]。另外,PVAT被视为内分泌器官,可分泌各种脂肪因子和细胞因子,特别是促炎因子如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6),参与AS的发生发展^[7]。PVAT褐变可以改善PVAT的内分泌功能,减少促炎因子的产生,从而改善AS^[8-9]。

AS可归属于中医学“脉痹”范畴。本团队认为,脾失散精、浊邪内生、痹阻脉道是AS的主要病机^[10-11],据此提出健脾化浊治法,并拟定临床经验方健脾化浊调脂颗粒^[12]。前期研究^[13-14]发现,健脾化浊调脂颗粒可能通过调节肠道菌群紊乱治疗AS,并可显著降低血脂、稳定斑块。网络药理学研究结果^[15]显示,健脾化浊调脂颗粒治疗AS靶点KEGG通路富集主要涉及磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B (PI3K/AKT) 信号通路及其他通路。因此,本研究从PI3K/AKT通路及PVAT褐变角度探讨健脾化浊调脂颗粒治疗AS的可能分子机制,为其临床应用提供依据。本研究经江西中医药大学实验动物伦理委员会批准(批准号:JJZLLSC20250523)。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF级雄性C57BL/6J小鼠15只,同品系ApoE^{-/-}小鼠78只,6周龄,体质量(21.81±0.90)g,购自江苏集萃药康生物科技股份有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(苏)2023-0009。所有小鼠饲养在恒温(24±1)℃、相对湿度(50±10)%、12h光暗循环环境中,自由获得食物和水。

1.2 药物

健脾化浊调脂颗粒组成:党参15g,荷叶10g,白术10g,茯苓15g,陈皮10g,丹参15g,薏苡仁20g,砂仁5g,泽泻10g,山楂10g,木香6g,麦芽10g,丝瓜络10g。颗粒剂由江西中医药大学附属医院生产(国家专利号:ZL201510430075.8,批号:240802),药物经开水冲泡、煎煮浓缩为0.43、0.86、1.72g/ml的溶液。

1.3 主要试剂与仪器

β 3肾上腺素受体激动剂CL 316243(货号:HY-116771A),美国MedChemexpress生物科技公司;戊巴比妥钠(货号:P3761),德国Merck公司;4%多聚甲醛(货号:G1101)、饱和油红O染

液(货号:G1015)、HE染液(货号:G1005)、苏木素分化液(货号:G1039)、苏木素返蓝液(货号:G1040)、Masson三色染色液(货号:G1006)、BCA蛋白定量检测试剂盒(货号:G2026)、超敏ECL化学发光试剂盒(货号:G2020)、总RNA提取试剂盒(货号:G3689)、电镜固定液(货号:G1102),武汉塞维尔生物科技有限公司;甘油三酯(TG)试剂盒(货号:S03027)、总胆固醇(TC)试剂盒(货号:S03042)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒(货号:S03025)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒(货号:S03029),深圳雷杜生命科学股份有限公司;TNF- α ELISA试剂盒(货号:88-7324-88)、IL-6 ELISA试剂盒(货号:88-7064-88),赛默飞世尔科技公司;RIPA裂解液(货号:CW2333S)、蛋白酶抑制剂混合物(货号:CW2200S)、磷酸酶抑制剂混合物(货号:CW2383S),江苏康为世纪生物科技股份有限公司;瘦素抗体(货号:17436-1-AP)、脂联素抗体(货号:66239-1-Ig)、羊抗鼠荧光二抗(货号:RGAM002)、羊抗兔荧光二抗(货号:RGAR004)、 β -actin抗体(货号:81115-1-RR)、PI3K抗体(货号:60225-1-Ig)、AKT抗体(货号:10176-2-AP)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子-1 α (PGC-1 α)抗体(货号:66369-1-Ig)、PR结构域锌指蛋白16 (PRDM16)抗体(货号:DF13303)、羊抗兔二抗(货号:GRAR001)、羊抗鼠二抗(货号:GRAM001),武汉三鹰生物技术有限公司;磷酸化磷脂酰肌醇3-激酶(p-PI3K)抗体(货号:17366S)、磷酸化蛋白激酶B(p-AKT)抗体(货号:9271S)、解偶联蛋白1(UCP1)抗体(货号:14670S),美国Cell Signaling Technology公司。

全自动生化分析仪(型号:Chemray 420),深圳雷杜生命科学股份有限公司;透射电子显微镜(型号:HT7800),日立科学仪器(北京)有限公司;荧光倒置显微镜(型号:NIB900),上海徕卡显微系统有限公司;低温高速冷冻离心机(型号:Neofuge 13R),上海力申科学仪器有限公司;多功能酶标仪(型号:RT-6100),Thermo Scientific公司;垂直电泳仪(型号:BVE-4)、转印电泳仪(型号:BVT-4),武汉塞维尔生物科技有限公司;超高敏化学发光成像系统(型号:Tanon 5200),德国Analytik Jena公司;实时荧光定量PCR仪(型号:CFX96 Optics Module),美国Bio-Rad公司。

1.4 动物分组及造模

适应性饲养 1 周后, 15 只 C57BL/6J 小鼠予普通饲料饲养作为对照组, 78 只 ApoE^{-/-}小鼠予高脂饲料(批号: D12108C, Research Diets 公司)饲养建立 AS 小鼠模型^[16]。16 周后解剖 2 只造模小鼠, 取主动脉进行油红 O 染色检测显示主动脉斑块形成, 提示造模成功^[17], 之后采用随机数字表法将剩余 76 只小鼠分为模型组 16 只, 褐变组及健脾化浊调脂低、中、高剂量组各 15 只。

1.5 给药方法

造模成功后次日, 对照组小鼠继续予普通饲料饲养, 其余各组小鼠继续予高脂饲料饲养。褐变组以 1 mg/(kg·d) 的 β 3 肾上腺素受体激动剂 CL 316243 腹腔注射, 每日 1 次^[18]; 按照成人与小鼠体重剂量折算系数等效剂量^[19], 设健脾化浊调脂中剂量组为等效剂量, 健脾化浊调脂低、中、高剂量组分别给予 4.3、8.6、17.2 g/(kg·d) 健脾化浊调脂颗粒灌胃, 每日 1 次; 对照组、模型组小鼠以生理盐水 10 ml/(kg·d) 灌胃, 每日 1 次。各组均连续干预 4 周。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 全自动生化分析仪检测小鼠血清血脂水平 采用随机数字表法选取各组小鼠 10 只, 取样前禁食 12 h, 腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 0.3 ml/100 g 麻醉小鼠, 摘眼球取血, 分离血清, 放入 -80 °C 冰箱中冻存。按照试剂盒说明书并使用全自动生化分析仪检测血清中 TG、TC、HDL-C、LDL-C 水平。

1.6.2 主动脉大体油红 O 染色法检测主动脉 AS 斑块 各组小鼠取血后脱颈处死, 生理盐水心脏灌流, 用显微镊小心取主动脉 PVAT, 然后带心脏取出整条主动脉。采用随机数字表法选取 3 只小鼠主动脉进行大体油红 O 染色、HE 染色、Masson 染色。

纵向剖开主动脉, 4% 多聚甲醛固定 48 h。用油红 O 染色液常温避光染色 4 h, 60% 异丙醇漂洗 2 s, 60% 异丙醇浸泡 5 min, 纯水漂洗 2 min。将血管在载玻片上铺开, 拍照, 使用 Image J 1.53 软件分析图片, 以斑块占总血管面积的百分比代表 AS 的相对严重程度。

1.6.3 HE 染色法检测主动脉横切面 AS 斑块面积及病理形态 小鼠主动脉采用 4% 多聚甲醛固定 24 h 后, 组织置入包埋盒中, 轻流水冲洗一夜。次日梯度脱水、透明、石蜡包埋并连续切片, 切片厚度约 4 μ m, 后进行烘烤、脱蜡复水等处理。苏木

精水溶液中染色 10 min, 苏木素分化液分化, 稍水洗, 返蓝液返蓝, 轻流水冲洗, 风干后中性树胶封片。在倒置显微镜下镜检, 用 Image-Pro Plus 6.0 软件分析图像, 圈选出斑块范围, 根据标尺衡量长度, 计算斑块面积。

1.6.4 Masson 染色法评估主动脉斑块中胶原纤维占比 石蜡切片同 HE 染色中切片过程, 染色时将脱蜡复水后的切片采用 Masson 三色染色液进行染色, 中性树胶封片。最后在倒置显微镜下观察并采集图像, 使用 Image-Pro Plus 6.0 软件计算蓝色胶原纤维面积及斑块总面积, 两者面积之比为胶原纤维占比。

1.6.5 ELISA 法检测 PVAT 及主动脉中 TNF- α 、IL-6 水平 随机称取 3 只小鼠的 10 mg PVAT 及主动脉组织, 制备成 10% 的组织匀浆, 稀释 20 倍。使用 ELISA 检测试剂盒检测小鼠 PVAT 及主动脉中 TNF- α 、IL-6 水平, 根据说明书步骤进行操作。

1.6.6 免疫荧光法检测 PVAT 中脂联素、瘦素蛋白水平 随机选取 3 只小鼠 PVAT, 采用 4% 多聚甲醛固定 24 h 后, 梯度脱水、透明、石蜡包埋并连续切片 (4 μ m)。将小鼠胸主动脉 PVAT 石蜡切片脱蜡水化, 抗原修复, PBS 洗涤, 滴加 5% BSA, 室温封闭 30 min, 滴加脂联素抗体 (1 : 200)、瘦素抗体 (1 : 50), 4 °C 孵育过夜, PBST 洗涤, 滴加二抗 (1 : 50), 避光室温孵育 1.5 h, PBST 洗涤, 用含 DAPI 的抗荧光淬灭封片剂进行封片, 于荧光显微镜下观察。脂联素呈绿色, 瘦素呈红色, 使用 Image J 1.53 软件分析图像中脂联素、瘦素平均荧光强度。

1.6.7 Western Blot 法检测 PVAT 中 PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT 及 UCP1、PGC-1 α 、PRDM16 蛋白水平 先随机称取 3 只小鼠 15 mg PVAT, 提取 PVAT 总蛋白, BCA 法检测蛋白浓度, 蛋白浓度归一化, 煮蛋白、制胶、上样、电泳、转膜、封闭, TBST 洗 3 次, 5 min/次。 β -actin、PI3K、AKT、p-PI3K、p-AKT、UCP1、PGC-1 α 、PRDM16 一抗 (稀释比例分别为 1 : 5000、1 : 5000、1 : 2000、1 : 1000、1 : 1000、1 : 1000、1 : 5000、1 : 500), 4 °C 孵育过夜, 次日 TBST 洗 3 次, 10 min/次。用对应的羊抗兔和羊抗鼠二抗 (稀释比例 1 : 3000) 室温孵育 2 h, TBST 洗 3 次, 10 min/次, ECL 显影。以 β -actin 为内参, 目的条带与 β -actin 条带之比表示各组目的蛋白相对表达水平。

1.6.8 RT-qPCR 法检测 PVAT 中 *UCP1*、*PGC-1α*、*PRDM16* mRNA 表达 先称取 15 mg 主动脉 PVAT，使用总 RNA 提取试剂盒提取冰冻主动脉 PVAT 总 RNA，用分光光度计进行质控并测定样品浓度。使用逆转录试剂盒从总 RNA（2 μg）合成 cDNA。使用通用型彩色示踪染料法 SYBR Green qPCR 预混液和表 1 中的引物进行实时定量 PCR 反应，以 *GAPDH* 为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 PVAT 中 *UCP1*、*PGC-1α*、*PRDM16* mRNA 表达水平。

表 1 *UCP1*、*PGC-1α*、*PRDM16*、*GAPDH* mRNA 引物序列
Table 1 The mRNA primer sequences of *UCP1*, *PGC-1α*, *PRDM16* and *GAPDH*

基因	序列 (5'->3')	产物长度/bp
<i>UCP1</i>	上游: AAACAGAAGGATTGCCGAAACT	206
	下游: CTCTGTAGGCTGCCCAATGAA	
<i>PGC-1α</i>	上游: GCTTGACTGGCGTCATTTCGG	247
	下游: TGTTTCGACGGCTCATTGTTG	
<i>PRDM16</i>	上游: TGAAGACATTCCAATCCCACC	187
	下游: CACCTCTGTATCCGTCAGCATC	
<i>GAPDH</i>	上游: CCTCGTCCCGTAGACAAAATG	133
	下游: TGAGGTCAATGAAGGGGTCGT	

注：*UCP1*，解偶联蛋白 1；*PGC-1α*，过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子-1 α ；*PRDM16*，PR 结构域锌指蛋白 16；*GAPDH*，甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

1.6.9 透射电子显微镜观察脂肪细胞内线粒体数量及形态变化 取 1 mm×1 mm×1 mm 的主动脉 PVAT 放入电镜固定液中，室温固定 2 h 后转 4℃ 保存。之后用 1% 锇酸避光室温固定 2 h，脱水，渗透包埋，聚合，定位，切片（60~80 nm），染色，透射电子显微镜下观察，HT7800 软件采集图像分析。观察脂肪细胞内线粒体数量、脂滴大小及数量。

1.7 统计学方法

采用 GraphPad Prism 10.1.2 软件对数据进行

统计分析。计量数据均满足正态分布，用均数±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示，两组独立样本比较时方差齐用独立样本 *t* 检验，方差不齐则用 Welch *t* 检验；两组配对样本比较时用配对样本 *t* 检验；三组及以上的组间比较用单因素方差分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠血清 TG、TC、LDL-C、HDL-C 水平比较

表 2 示，与对照组比较，模型组小鼠血清 TG、TC、LDL-C 水平升高，HDL-C 水平降低 ($P<0.01$)。与模型组比较，褐变组和健脾化浊调脂中、高剂量组 TG、TC、LDL-C 水平降低、HDL-C 水平升高；健脾化浊调脂低剂量组 TC、LDL-C 水平降低，HDL-C 升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与褐变组比较，健脾化浊调脂低、中、高剂量组 TG 水平升高，健脾化浊调脂低剂量组 TC 水平升高，健脾化浊调脂低、中剂量组 LDL-C 水平升高 ($P<0.05$)。与健脾化浊调脂低剂量组比较，健脾化浊调脂中剂量组 LDL-C 水平降低，健脾化浊调脂高剂量组 TC、LDL-C 水平降低 ($P<0.05$)。与健脾化浊调脂中剂量组比较，健脾化浊调脂高剂量组 LDL-C 水平降低 ($P<0.05$)。

2.2 各组小鼠主动脉大体油红 O 染色、HE 染色、Masson 染色结果比较

图 1（油红 O 染色）示，对照组小鼠主动脉无明显斑块形成；模型组小鼠主动脉均可见多发性斑块；褐变组及健脾化浊调脂低、中、高剂量组小鼠主动脉斑块面积较模型组减小，其中以健脾化浊调脂中、高剂量组与褐变组减小效果更明显。图 2（HE 染色）示，对照组主动脉血管管腔光滑，未见明显斑块，中膜弹力纤维排列有序，呈波浪状，结

表 2 各组小鼠血清 TG、TC、LDL-C、HDL-C 水平比较
Table 2 Comparison of serum TG, TC, LDL-C, and HDL-C levels among different groups of mice (mmol/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	TG	TC	HDL-C	LDL-C
对照组	10	0.95±0.12	2.34±0.23	2.04±0.24	0.34±0.12
模型组	10	2.08±0.20 ^{a)}	19.15±1.43 ^{a)}	1.39±0.11 ^{a)}	17.37±1.62 ^{a)}
褐变组	10	1.26±0.24 ^{b)}	16.43±1.36 ^{b)}	1.74±0.10 ^{b)}	11.26±1.60 ^{b)}
健脾化浊调脂低剂量组	10	1.81±0.12 ^{d)}	17.41±1.04 ^{b) d)}	1.65±0.15 ^{b)}	15.81±1.59 ^{c) d)}
健脾化浊调脂中剂量组	10	1.73±0.17 ^{c) d)}	16.70±0.81 ^{b)}	1.73±0.21 ^{b)}	13.38±1.04 ^{b) d) e)}
健脾化浊调脂高剂量组	10	1.64±0.15 ^{b) d)}	16.37±0.59 ^{b) e)}	1.83±0.08 ^{b) e)}	11.11±0.78 ^{b) e) f)}

注：TG，甘油三酯；TC，总胆固醇；HDL-C，高密度脂蛋白胆固醇；LDL-C，低密度脂蛋白胆固醇。

a) 与对照组比较， $P<0.01$ ；b) 与模型组比较， $P<0.01$ ；c) 与模型组比较， $P<0.05$ ；d) 与褐变组比较， $P<0.05$ ；e) 与健脾化浊调脂低剂量组比较， $P<0.05$ ；f) 与健脾化浊调脂中剂量组比较， $P<0.05$ 。

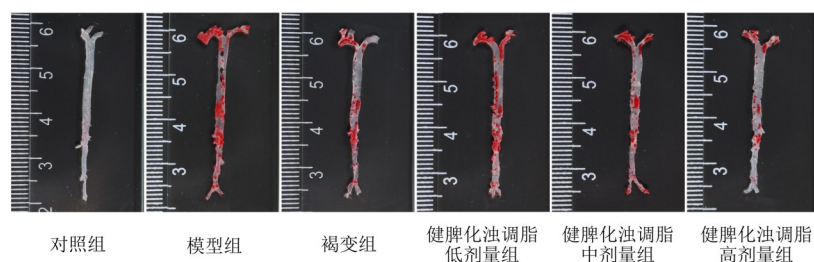
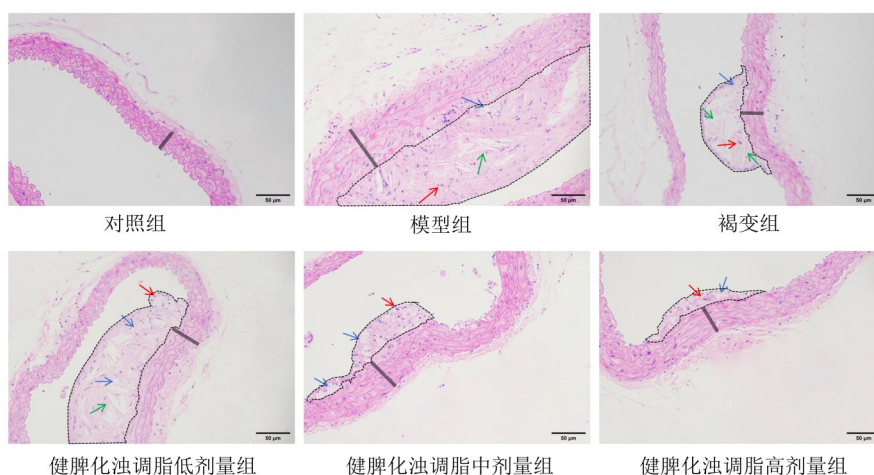


图 1 各组小鼠主动脉大体油红 O 染色图

Figure 1 Gross oil red o staining images of the aorta in mice from each group



注：图中黑色虚线所圈出的为斑块，红色箭头指示炎性细胞，蓝色箭头指示泡沫细胞，绿色箭头指示胆固醇结晶，黑色半透明线段指示中膜厚度。

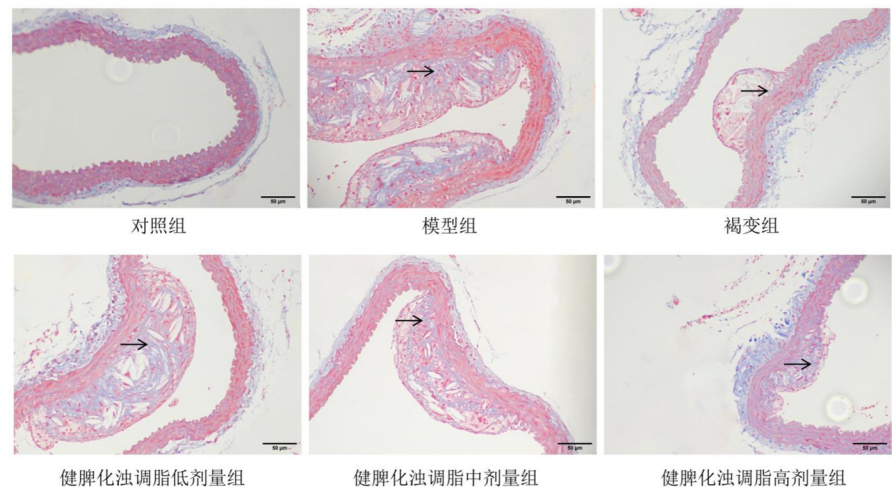
图 2 各组小鼠主动脉横切面 HE 染色病理图 (×200)

Figure 2 HE staining histopathological images of the cross-section of the aorta in mice from each group (×200)

构致密；模型组主动脉内膜向外凸起形成大面积斑块，斑块内可见大量泡沫细胞、胆固醇结晶和炎症细胞聚集，中膜弹力纤维排列疏松紊乱，增厚明显；褐变组可见小面积斑块突起，斑块中可见泡沫细胞和大量胆固醇结晶，中膜轻微增厚；健脾化浊调脂低剂量组可见大面积斑块，斑块内可见炎症细胞浸润、泡沫细胞与大量胆固醇结晶，中膜弹性纤维排列紊乱，中膜增厚；健脾化浊调脂中剂量组可见小面积斑块，斑块内可见炎症细胞浸润、泡沫细胞，中膜弹性纤维排列紊乱，中膜增厚；健脾化浊调脂高剂量组可见小面积斑块，斑块内可见少许泡沫细胞与炎症细胞，中膜弹性纤维排列较为整齐、中膜有轻微增厚。图 3 (Masson 染色) 示，对照组未见斑块形成；模型组小鼠主动脉斑块内可见少量蓝色胶原纤维；褐变组小鼠主动脉斑块内蓝色胶原纤维含量少；健脾化浊调脂低剂量组小鼠主动脉斑块内可见少量蓝色胶原纤维；健脾化浊调脂中剂量

组主动脉斑块内蓝色胶原纤维增多；健脾化浊调脂高剂量组主动脉斑块内蓝色胶原纤维较健脾化浊调脂中剂量组增多。

表 3 示，对照组未见斑块形成。与模型组比较，褐变组与健脾化浊调脂中、高剂量组大体油红 O 染色斑块占比、HE 染色横切面斑块面积均降低，Masson 染色斑块中胶原纤维占比升高，健脾化浊调脂低剂量组仅 HE 染色横切面斑块面积降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与褐变组比较，健脾化浊调脂低剂量组大体油红 O 染色斑块占比升高，健脾化浊调脂高剂量组 HE 染色横切面斑块面积降低、Masson 染色斑块中胶原纤维占比升高 ($P<0.05$)。与健脾化浊调脂低剂量组比较，健脾化浊调脂中、高剂量组大体油红 O 染色斑块占比、HE 染色横切面斑块面积降低，健脾化浊调脂高剂量组 Masson 染色斑块中胶原纤维占比升高 ($P<0.05$)。与健脾化浊调脂中剂量组比较，健脾化浊调脂高剂量组大体油红 O 染色斑块占比降低 ($P<0.05$)。



注：黑色箭头指示蓝色胶原纤维。

图3 各组小鼠主动脉Masson染色图(×200)

Figure 3 Masson staining of the aorta in mice from each group (×200)

表3 各组小鼠主动脉大体油红O染色斑块占比、HE染色横切面斑块面积、Masson染色斑块中胶原纤维占比比较

Table 3 Comparison of plaque ratio by gross oil red o staining, cross-sectional plaque area by HE staining, and collagen fiber proportion in aortic plaques by Masson staining from mice in each group (x̄±s)

组别	鼠数	大体油红O染色斑块占比	HE染色横切面斑块面积/μm ²	Masson染色斑块中胶原纤维占比
对照组	3	0	0	0
模型组	3	0.29±0.01	853 806.00±147 165.72	0.06±0.01
褐变组	3	0.17±0.03 ^{a)}	124 492.33±18 325.35 ^{a)}	0.17±0.08 ^{a)}
健脾化浊调脂低剂量组	3	0.28±0.01 ^{c)}	176 339.33±89 675.63 ^{a)}	0.10±0.00
健脾化浊调脂中剂量组	3	0.22±0.03 ^{a) d)}	29 617.13±9046.22 ^{a) d)}	0.23±0.05 ^{b)}
健脾化浊调脂高剂量组	3	0.14±0.01 ^{a) d) e)}	2813.48±1508.87 ^{a) c) d)}	0.35±0.09 ^{a) c) d)}

注：a) 与模型组比较， $P<0.01$ ；b) 与模型组比较， $P<0.05$ ；c) 与褐变组比较， $P<0.05$ ；d) 与健脾化浊调脂低剂量组比较， $P<0.05$ ；e) 与健脾化浊调脂中剂量组比较， $P<0.05$ 。

表4 各组小鼠主动脉及PVAT中TNF-α、IL-6水平比较

Table 4 Comparison of TNF-α and IL-6 levels in aorta and PVAT among different groups of mice (pg/ml, x̄±s)

组别	鼠数	TNF-α		IL-6	
		PVAT	主动脉	PVAT	主动脉
对照组	3	153.27±10.14	106.50±21.49	111.82±3.56	80.05±3.92
模型组	3	1321.49±194.61 ^{a)}	595.14±80.47 ^{a)}	1148.83±282.48 ^{a)}	765.82±78.11 ^{a)}
褐变组	3	755.25±209.48 ^{b)}	390.81±60.40 ^{b) d)}	519.64±179.01 ^{b)}	283.61±89.35 ^{b)}
健脾化浊调脂低剂量组	3	825.35±137.55 ^{b)}	440.80±47.79 ^{c) d)}	587.04±175.70 ^{b)}	381.11±137.26 ^{b) d)}
健脾化浊调脂中剂量组	3	714.31±105.87 ^{b)}	345.02±44.80 ^{b) d)}	528.33±39.26 ^{b)}	217.03±5.73 ^{b)}
健脾化浊调脂高剂量组	3	602.97±50.91 ^{b)}	155.02±20.48 ^{b)}	325.09±13.02 ^{b)}	169.45±53.27 ^{b)}

注：PVAT，血管周围脂肪组织；TNF-α，肿瘤坏死因子-α；IL-6，白细胞介素-6。

a) 与对照组比较， $P<0.01$ ；b) 与模型组比较， $P<0.01$ ；c) 与模型组比较， $P<0.05$ ；d) 与健脾化浊调脂高剂量组比较， $P<0.05$ 。

2.3 各组小鼠主动脉及PVAT中TNF-α、IL-6水平比较

表4示，与对照组比较，模型组PVAT与主动脉中的TNF-α、IL-6均升高（ $P<0.01$ ）。与模型组比较，褐变组和健脾化浊调脂各剂量组PVAT与主

动脉中的TNF-α、IL-6均降低（ $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ）。与健脾化浊调脂高剂量组比较，褐变组及健脾化浊调脂中、低剂量组主动脉TNF-α水平升高，健脾化浊调脂低剂量组主动脉中IL-6升高（ $P<0.05$ ）。

2.4 各组小鼠 PVAT 中脂联素、瘦素蛋白水平比较

表 5 示, 与对照组比较, 模型组脂联素平均荧光强度降低, 瘦素平均荧光强度升高 ($P<0.01$)。与模型组比较, 褐变组和健脾化浊调脂中、高剂量组脂联素平均荧光强度升高, 瘦素平均荧光强度降低 ($P<0.01$), 健脾化浊调脂低剂量组瘦素平均荧光强度降低 ($P<0.05$)。与褐变组比较, 健脾化浊调脂中、低剂量组脂联素平均荧光强度降低, 健脾化浊调脂高剂量组脂联素平均荧光强度升高, 健脾化浊调脂低剂量组瘦素平均荧光强度升高, 健脾化浊调脂高剂量组瘦素平均荧光强度降低 ($P<0.05$)。健脾化浊调脂各剂量组脂联素平均荧光强度呈剂量依赖性升高, 健脾化浊调脂高剂量组瘦素平均荧光强度低于健脾化浊调脂中、低剂量组 ($P<0.05$)。

表 5 各组小鼠 PVAT 中脂联素、瘦素蛋白平均荧光强度比较

Table 5 Comparison of immunofluorescence density of adiponectin and leptin proteins in PVAT among different groups of mice ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	脂联素	瘦素
对照组	3	18.02±0.38	5.74±0.21
模型组	3	11.37±0.11 ^{a)}	8.47±0.61 ^{a)}
褐变组	3	15.88±0.80 ^{b)}	6.59±0.30 ^{b)}
健脾化浊调脂低剂量组	3	11.64±0.16 ^{d)}	7.50±0.28 ^{c)d)}
健脾化浊调脂中剂量组	3	13.84±0.79 ^{b)d)e)}	6.80±0.49 ^{b)}
健脾化浊调脂高剂量组	3	17.84±0.66 ^{b)d)e)f)}	5.79±0.23 ^{b)d)e)f)}

注: PVAT, 血管周围脂肪组织。

a) 与对照组比较, $P<0.01$; b) 与模型组比较, $P<0.01$; c) 与模型组比较, $P<0.05$; d) 与褐变组比较, $P<0.05$; e) 与健脾化浊调脂低剂量组比较, $P<0.05$; f) 与健脾化浊调脂中剂量组比较, $P<0.05$ 。

表 6 各组小鼠 PVAT 中 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 值及 UCP1、PGC-1 α 、PRDM16 蛋白水平比较

Table 6 Comparison of p-PI3K/PI3K and p-AKT/AKT values and the protein levels of UCP1, PGC-1 α and PRDM16 in PVAT among different groups of mice ($\bar{x}\pm s$)

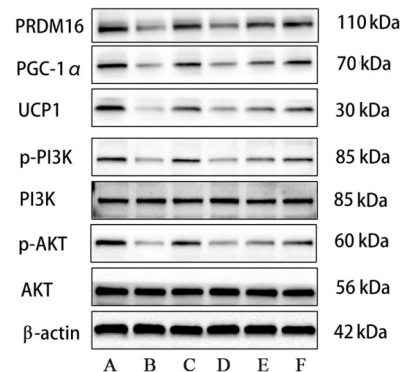
组别	鼠数	p-PI3K/PI3K	p-AKT/AKT	UCP1	PGC-1 α	PRDM16
对照组	3	0.98±0.03	0.94±0.03	0.96±0.09	0.93±0.05	0.88±0.10
模型组	3	0.35±0.05 ^{a)}	0.30±0.05 ^{a)}	0.38±0.12 ^{a)}	0.31±0.05 ^{a)}	0.42±0.07 ^{a)}
褐变组	3	0.83±0.12 ^{b)}	0.77±0.06 ^{b)}	0.81±0.20 ^{b)}	0.69±0.06 ^{b)}	0.78±0.06 ^{b)}
健脾化浊调脂低剂量组	3	0.43±0.04 ^{d)}	0.34±0.05 ^{d)}	0.47±0.11	0.31±0.06 ^{d)}	0.39±0.10 ^{d)}
健脾化浊调脂中剂量组	3	0.56±0.13 ^{d)}	0.56±0.04 ^{b)d)e)}	0.71±0.17 ^{c)}	0.55±0.02 ^{b)d)e)}	0.70±0.10 ^{c)e)}
健脾化浊调脂高剂量组	3	0.87±0.11 ^{b)e)f)}	0.82±0.04 ^{b)e)f)}	0.82±0.14 ^{b)}	0.72±0.06 ^{b)e)f)}	0.85±0.05 ^{b)e)}

注: PVAT, 血管周围脂肪组织; p-PI3K, 磷酸化磷脂酰肌醇 3-激酶; PI3K, 磷脂酰肌醇 3-激酶; p-AKT, 磷酸化蛋白激酶 B; AKT, 蛋白激酶 B; UCP1, 解偶联蛋白 1; PGC-1 α , 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子-1 α ; PRDM16, PR 结构域锌指蛋白 16。

a) 与对照组比较, $P<0.01$; b) 与模型组比较, $P<0.01$; c) 与模型组比较, $P<0.05$; d) 与褐变组比较, $P<0.05$; e) 与健脾化浊调脂低剂量组比较, $P<0.05$; f) 与健脾化浊调脂中剂量组比较, $P<0.05$ 。

2.5 各组小鼠 PVAT 中 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 值及 UCP1、PGC-1 α 、PRDM16 蛋白水平比较

图 4、表 6 示, 与对照组比较, 模型组 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 值及 UCP1、PGC-1 α 、PRDM16 蛋白水平平均降低 ($P<0.01$)。与模型组比较, 褐变组、健脾化浊调脂高剂量组 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 值及 UCP1、PGC-1 α 、PRDM16 蛋白水平升高, 健脾化浊调脂中剂量组 p-AKT/AKT 值及 UCP1、PGC-1 α 、PRDM16 蛋白水平亦升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与褐变组比较, 健脾化浊调脂低、中剂量组 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 值及 PGC-1 α 蛋白水平降低, 健脾化浊调脂低剂量组 PRDM16 蛋白水平降



注: PVAT, 血管周围脂肪组织; A, 对照组; B, 模型组; C, 褐变组; D, 健脾化浊调脂低剂量组; E, 健脾化浊调脂中剂量组; F, 健脾化浊调脂高剂量组; PRDM16, PR 结构域锌指蛋白 16; PGC-1 α , 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子-1 α ; UCP1, 解偶联蛋白 1; p-PI3K, 磷酸化磷脂酰肌醇 3-激酶; PI3K, 磷脂酰肌醇 3-激酶; p-AKT, 磷酸化蛋白激酶 B; AKT, 蛋白激酶 B; β -actin, β -肌动蛋白。

图 4 各组小鼠 PVAT 中 PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT 及 UCP1、PGC-1 α 、PRDM16 蛋白电泳图

Figure 4 Protein electrophoresis of PI3K, p-PI3K, AKT, p-AKT, UCP1, PGC-1 α , and PRDM16 in PVAT from mice in each group

低 ($P<0.05$)。与健脾化浊调脂低剂量组比较,健脾化浊调脂中剂量组 p-AKT/AKT 值及 PGC-1 α 、PRDM16 蛋白水平升高,健脾化浊调脂高剂量组 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 值及 PGC-1 α 、PRDM16 蛋白水平升高 ($P<0.05$)。与健脾化浊调脂中剂量组比较,健脾化浊调脂高剂量组 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 值及 PGC-1 α 蛋白水平升高 ($P<0.05$)。

2.6 各组小鼠 PVAT 中 *UCP1*、*PGC-1 α* 、*PRDM16* mRNA 表达比较

表7示,与对照组比较,模型组 *UCP1*、*PGC-1 α* 、*PRDM16* mRNA 表达降低 ($P<0.01$)。与模型组比较,褐变组和健脾化浊调脂中、高剂量组 *UCP1*、*PGC-1 α* 、*PRDM16* mRNA 表达均升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与褐变组比较,健脾化浊调脂各剂量组 *UCP1* mRNA 表达降低,健脾化浊调脂低剂量组

PGC-1 α 、*PRDM16* mRNA 表达降低 ($P<0.05$)。与健脾化浊调脂低剂量组比较,健脾化浊调脂中、高剂量组 *UCP1*、*PGC-1 α* 、*PRDM16* mRNA 表达均升高 ($P<0.05$)。与健脾化浊调脂中剂量组比较,健脾化浊调脂高剂量组 *UCP1*、*PGC-1 α* mRNA 表达均升高 ($P<0.05$)。

2.7 各组小鼠 PVAT 中脂肪细胞的线粒体数量与脂滴大小比较

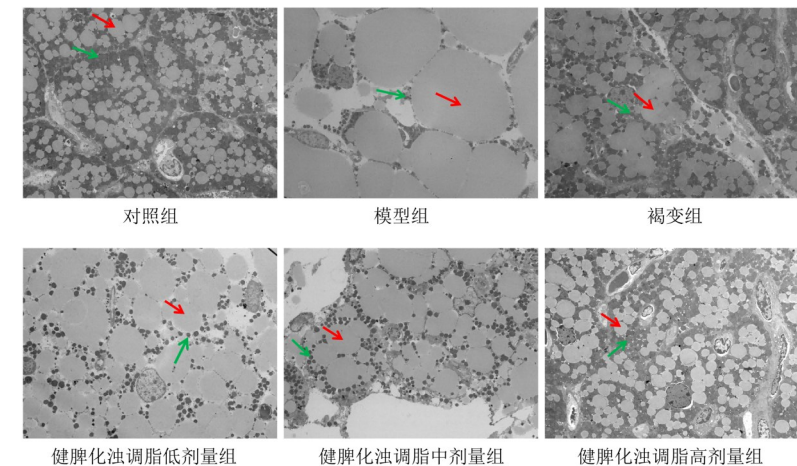
图5示,对照组脂滴小而多,脂滴间隙大,间隙中被大量密集分布的线粒体填满,线粒体数量丰富且分布密集。模型组脂滴极大,脂滴间隙较小,线粒体稀疏地环布在脂滴间隙中,线粒体数量极少。与模型组比较,褐变组和健脾化浊调脂各剂量组脂滴更小、线粒体数量更多,尤其是褐变组和健脾化浊调脂高剂量组脂滴很小、线粒体多而密集,与对照组相似。

表7 各组小鼠PVAT中*UCP1*、*PGC-1 α* 、*PRDM16* mRNA 表达比较
Table 7 Comparison of *UCP1*, *PGC-1 α* and *PRDM16* mRNA expression levels in PVAT among different groups of mice ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	<i>UCP1</i>	<i>PGC-1α</i>	<i>PRDM16</i>
对照组	3	1.01 $\pm$ 0.14	1.05 $\pm$ 0.42	1.25 $\pm$ 0.61
模型组	3	0.12 $\pm$ 0.11 ^{a)}	0.10 $\pm$ 0.09 ^{a)}	0.21 $\pm$ 0.04 ^{a)}
褐变组	3	1.27 $\pm$ 0.09 ^{b)}	1.01 $\pm$ 0.05 ^{b)}	1.37 $\pm$ 0.30 ^{b)}
健脾化浊调脂低剂量组	3	0.13 $\pm$ 0.02 ^{d)}	0.15 $\pm$ 0.11 ^{d)}	0.23 $\pm$ 0.09 ^{d)}
健脾化浊调脂中剂量组	3	0.43 $\pm$ 0.20 ^{c) d) e)}	0.72 $\pm$ 0.13 ^{c) e)}	1.02 $\pm$ 0.10 ^{c) e)}
健脾化浊调脂高剂量组	3	0.99 $\pm$ 0.08 ^{b) d) e) f)}	1.23 $\pm$ 0.33 ^{b) e) f)}	1.36 $\pm$ 0.40 ^{b) e)}

注: PVAT, 血管周围脂肪组织; *UCP1*, 解偶联蛋白1; *PGC-1 α* , 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子-1 α ; *PRDM16*, PR结构域锌指蛋白16。

a) 与对照组比较, $P<0.01$; b) 与模型组比较, $P<0.01$; c) 与模型组比较, $P<0.05$; d) 与褐变组比较, $P<0.05$; e) 与健脾化浊调脂低剂量组比较, $P<0.05$; f) 与健脾化浊调脂中剂量组比较, $P<0.05$ 。



注: PVAT, 血管周围脂肪组织; 红色箭头指向的浅灰色圆形为脂滴, 绿色箭头指向的灰黑色圆形为线粒体。

图5 各组小鼠主动脉PVAT透射电镜超微图 (×1000)
Figure 5 Transmission electron microscopy (TEM) ultramicrographs of aortic PVAT in mice of each group (×1000)

3 讨论

现代人多饮食厚味、精神压力大,而厚味碍脾,忧思郁脾,易致脾虚失运,浊邪内生,痹阻脉道,形成脉痹,导致 AS。健脾化浊调脂颗粒全方以健运脾胃之异功散加减化裁而成,方中党参健脾益气以固脾虚之本,荷叶升发清阳,二者合用健脾益气升清,使脾得健运,清阳得升,浊阴得降,共为君药。白术、茯苓健脾利水逐浊,陈皮燥湿祛痰化浊,丹参祛瘀浊,共为臣药。薏苡仁健脾利水,砂仁醒脾化湿,泽泻渗湿利水,山楂疏脾气、消瘀血,木香畅行三焦之气,健脾的同时增强水浊、湿浊、痰浊、瘀浊之运散,共为佐药。麦芽一则取其升发向上、升清阳之意,二则引诸药入脾胃直达中焦,与丝瓜络共畅脾络,引药入脾,共为使药。全方共奏健脾益气、散精化浊之功。 $\beta 3$ 肾上腺素受体激动剂 CL 316243 是诱导脂肪组织褐变的经典试剂,故用作本研究的阳性对照药^[18]。

PVAT 褐变实质为 PVAT 中的脂肪细胞向棕色细胞分化。PVAT 褐变的形态特点在于脂肪细胞中线粒体数量更多,脂滴房数虽多但形态更小,总体脂肪酸含量更低^[9]。UCP1 位于线粒体内膜,是一种跨膜蛋白,可促进氧化呼吸链与电子传递链解偶联,耗能产热,其表达量直接反映脂肪细胞的产热能力和褐变程度^[20]。PRDM16 是脂肪细胞褐变的核心转录因子,双向作用促进 PVAT 褐变,一方面通过与 C 末端结合蛋白 1 和 2 结合,抑制白色脂肪细胞基因表达;另一方面激活 PGC-1 α ^[21-22],从而介导线粒体氧化,促进线粒体生成,上调脂肪细胞中 UCP1 的表达^[23]。因此,UCP1、PGC-1 α 和 PRDM16 皆为 PVAT 褐变的生物标志物。脂联素、瘦素均是 PVAT 分泌的脂肪因子,脂联素是一种抗炎类脂肪因子,可改善高脂饮食诱发的 AS^[24];而瘦素是一种促炎类脂肪因子,能加重 AS^[25]。PI3K 是一类特异性磷酸酰肌醇磷脂 3 位羟基激酶,具有脂类激酶和蛋白激酶的活性,检测其 p-PI3K 是判断 PI3K/AKT 信号通路是否被激活的第一步;AKT 是 PI3K 信号转导途径中一个重要的下游靶激酶,具有丝/苏氨酸激酶活性,其在 Ser473 和 Thr308 位点的磷酸化 (p-AKT) 是 PI3K/AKT 信号通路激活的关键标志^[26]。因此,PI3K/AKT 通路的活化程度主要依据磷酸化蛋白与总蛋白的比值,即 p-PI3K/PI3K 和 p-AKT/AKT 值。

本研究结果显示,经健脾化浊调脂颗粒中、高

剂量干预后小鼠 PVAT 脂滴小而多,线粒体多而密集,效果与阳性对照药物相似,相对模型组都有很大改善,从微观形态上说明健脾化浊调脂颗粒可有效促进 PVAT 褐变。褐变组及健脾化浊调脂中、高剂量组 UCP1 蛋白及其 mRNA 相对模型组升高,且 HE 染色示主动脉斑块中的炎症细胞相对模型组减少,主动脉中炎症因子 TNF- α 、IL-6 水平降低,提示健脾化浊调脂颗粒可通过上调 UCP1 蛋白水平发挥降低主动脉炎症水平的作用。经健脾化浊调脂颗粒高剂量干预后,PGC-1 α 、PRDM16 蛋白及其 mRNA 表达均升高,与褐变组效果相当,从生物分子水平上说明健脾化浊调脂颗粒可有效促进 PVAT 褐变,降低主动脉炎症水平。另外,经健脾化浊调脂颗粒中、高剂量干预后,PVAT 中脂联素升高,TNF- α 、IL-6、瘦素降低,PVAT 的内分泌功能得到改善,提示健脾化浊调脂颗粒亦可改善 PVAT 的内分泌功能;且 PVAT 与主动脉的 TNF- α 、IL-6 水平均下降,这与既往研究指出 PVAT 分泌的生物活性因子经旁分泌方式作用于主动脉的研究结果^[27]相吻合。结合病理染色结果示,使用健脾化浊调脂颗粒和 $\beta 3$ 肾上腺素受体激动剂干预后,AS 疾病模型小鼠的主动脉斑块占比、斑块形态、斑块稳定性和血脂水平都得到改善,提示健脾化浊调脂颗粒可通过改善 PVAT 内分泌功能,分泌的炎症因子经旁分泌方式作用于主动脉,影响主动脉炎症水平,进而改善 AS。另外,经健脾化浊调脂颗粒干预后,PVAT 中的 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 值升高,说明健脾化浊调脂颗粒可激活 PI3K/AKT 信号通路,进而促进 PVAT 褐变,改善 PVAT 内分泌功能,从而达到改善 AS 的功效,且以高剂量效果为佳。

综上所述,健脾化浊调脂颗粒可促进 PVAT 褐变,改善 PVAT 内分泌功能,降低主动脉炎症水平,调节血脂水平,改善 AS,其作用机制可能是通过上调 PI3K/AKT 信号通路实现的。本研究尚未采用基因敲除、基因敲低或抑制剂等方法进行通路反向验证,通路关键节点仅基于蛋白表达结果间接推断,缺乏直接的实验证据支撑。后续研究可整合基因编辑技术或通路抑制剂,借助体外实验进一步验证相关干预效果,并对其具体作用机制展开更深入的探索。

参考文献

- [1] LIBBY P. The changing landscape of atherosclerosis [J]. Nature, 2021, 592(7855): 524-533.

- [2]刘明波,何新叶,杨晓红,等.《中国心血管健康与疾病报告 2024》要点解读[J]. 中国心血管杂志, 2025, 30(4): 384-399.
- [3]CHEN L L, QIN Z Z. Carotid artery perivascular adipose tissue density as a novel biomarker for prognosis [J]. *Angiology*, 2024, 75(5): 494-495.
- [4]TAN N, DEY D, MARWICK T H, et al. Pericoronary adipose tissue as a marker of cardiovascular risk: JACC review topic of the week[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2023, 81(9): 913-923.
- [5]CHEN J, WANG L, WANG Y, et al. Effects of banxia baizhu tianma decoction in alleviating atherosclerosis based on the regulation of perivascular adipose [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 322: 117575. doi: 10.1016/j.jep.2023.117575.
- [6]LI R M, CHEN S Q, ZENG N X, et al. Browning of abdominal aorta perivascular adipose tissue inhibits adipose tissue inflammation[J]. *Metab Syndr Relat Disord*, 2017, 15(9): 450-457.
- [7]ANTONIADES C, TOUSOULIS D, VAVLUKIS M, et al. Perivascular adipose tissue as a source of therapeutic targets and clinical biomarkers [J]. *Eur Heart J*, 2023, 44(38): 3827-3844.
- [8]NOSALSKI R, GUZIK T J. Perivascular adipose tissue inflammation in vascular disease [J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174(20): 3496.
- [9]陈叶飞,吴旦斌,杨正飞,等. 血管周围脂肪组织中脂肪细胞不同亚型的转化与动脉粥样硬化关系的研究进展[J]. *四川医学*, 2019, 40(12): 1285-1289.
- [10]刘言薇,刘中勇. 基于浊邪理论论治动脉粥样硬化 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2018, 16(21): 3216-3217.
- [11]唐娜娜,邹国辉,黄小燕,等. 从浊论治动脉粥样硬化的学术思想与临床运用探讨[J]. *中医药通报*, 2015, 14(2): 39-41.
- [12]刘中勇. 一种健脾化浊调脂颗粒及其制备方法: ZL201510430075. 8[P]. 2018-06-05.
- [13]徐驹,李毅然,黄浪浪,等. 健脾化浊调脂颗粒调节肠道菌群紊乱治疗动脉粥样硬化的临床研究[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2023, 21(18): 47-49.
- [14]张梦颖. 健脾化浊调脂颗粒治疗动脉粥样硬化的临床研究[D]. 南昌:江西中医药大学,2021.
- [15]黄浪浪. 基于 tiao 介导的 ros/txnip/nlrp3 信号通路探讨健脾化浊调脂颗粒治疗动脉粥样硬化的作用机制 [D]. 南昌:江西中医药大学, 2023.
- [16]马薇,姜慧敏,周一帆,等. 动脉粥样硬化小鼠模型研究进展[J]. *首都医科大学学报*, 2025, 46(5): 924-933.
- [17]王紫昕,盛红专,马兰. 动脉粥样硬化研究模型的多维审视与创新探索[J/OL]. *中国动脉硬化杂志*. [2026-02-02] (2026-03-20). <https://link.cnki.net/urlid/43.1262.R.20260130.1703.022>.
- [18]贾如,黄佳琪,魏晓静,等. β_3 肾上腺素能受体激动剂诱导小鼠脂肪组织棕色化的时效性[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2019, 44(10): 1099-1106.
- [19]刘玉林,张琰,胡玉珍. 基础医学动物实验技术[M]. 西安:第四军医大学出版社,2008:116.
- [20]QIAN L, ZHU Y, DENG C, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 (PGC-1) family in physiological and pathophysiological process and diseases[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 50.
- [21]KAJIMURA S, SEALE P, TOMARU T, et al. Regulation of the brown and white fat gene programs through a PRDM16/CtBP transcriptional complex [J]. *Genes Dev*, 2008, 22(10): 1397-1409.
- [22]CHENG C F, KU H C, LIN H. PGC-1 α as a pivotal factor in lipid and metabolic regulation [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11): 3447.
- [23]SHI K, ANMIN R, CAI J, et al. Ascending aortic perivascular adipose tissue inflammation associates with aortic valve disease[J]. *J Cardiol*, 2022, 80(3): 240-248.
- [24]SANTOS-ALVAREZ J, GOBERNA R, SÁNCHEZ-MARGALET V. Human leptin stimulates proliferation and activation of human circulating monocytes [J]. *Cell Immunol*, 1999, 194(1): 6-11.
- [25]杜丰禾,刘暴. 血管周围脂肪组织炎症反应促进动脉粥样硬化作用机制的研究进展[J]. *基础医学与临床*, 2023, 43(4): 685-689.
- [26]WANG Z, YIN H, WU Q, et al. Upregulation of PRSS27 driven by super-enhancers attenuates oxidative stress and apoptosis via activating PI3K/AKT pathway in lung adenocarcinoma [J]. *Life Sci*, 2025, 379: 123903. doi: 10.1016/j.lfs.2025.123903.
- [27]王超楠. 血管周围脂肪组织在尼古丁诱导血管内皮细胞炎症反应中的作用[D]. 张家口:河北北方学院, 2015.

Effect of *Jianpi Huazhuo Tiaozhi Granule* (健脾化浊调脂颗粒) on Perivascular Adipose Tissue Browning and PI3K/AKT Pathway in the Aorta of Atherosclerosis Model Mice

WANG Zhuhua¹, WANG Yanfang¹, ZHONG Mingshu², CHEN Shupeng¹, YUAN Yishun³, HUANG Shan¹, LIU Yanwei³, LIU Zhongyong³

1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang, 330004; 2. Ruijin Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiangxi Province; 3. Affiliated Hospital of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine

ABSTRACT **Objective** To explore the possible mechanism of *Jianpi Huazhuo Tiaozhi Granule* (健脾化浊调脂颗粒, JHTG) in treating atherosclerosis (AS) based on the regulation of perivascular adipose tissue (PVAT) browning via the phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B (PI3K/AKT) signaling pathway. **Methods** Fifteen SPF male C57BL/6J mice served as control group, while 76 ApoE^{-/-} mice were first fed a high-fat diet for 16 weeks to establish AS model. After successful modeling, they were randomly divided into model group (n=16), as well as the browning group, the low-, medium- and high-dose JHTG group, with 15 mice in each group. The browning group was intraperitoneally injected with β 3-adrenergic receptor agonist CL 316243 at 1 mg/(kg·d) once daily. The low-, medium- and high-dose JHTG groups were treated with 4.3 g/(kg·d), 8.6 g/(kg·d), and 17.2 g/(kg·d) of JHTG by gavage, respectively, while the control group and the model group were given normal saline at 10 ml/(kg·d) by intragastric administration, once daily. All groups received continuous intervention for 4 weeks. The aorta was collected to assess the plaque ratio by gross oil red O staining. HE staining was used to measure the plaque area in cross-sections. Masson staining was employed to detect the proportion of collagen fibers in plaque. Transmission electron microscopy was used to observe the quantity and morphological changes of mitochondria and lipid droplets in adipocytes. The levels of serum triglycerides (TG), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were detected, as well as tumor necrosis factor α (TNF- α) and interleukin 6 (IL-6) levels in the PVAT and aorta. The protein levels of adiponectin and leptin in PVAT, and protein expression levels of phosphoinositide 3-kinase (PI3K), phosphorylated phosphoinositide 3-kinase (p-PI3K), protein kinase B (AKT), phosphorylated protein kinase B (p-AKT), uncoupling protein 1 (UCP1), peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 α (PGC-1 α), and PR domain containing 16 (PRDM16) were measured. The mRNA expression levels of *UCP1*, *PGC-1 α* and *PRDM16* in PVAT were detected. **Results** Compared to the control group, the model group showed increased serum TG, TC, and LDL-C levels and decreased HDL-C level, elevated TNF- α and IL-6 levels in PVAT and aorta, decreased average fluorescence intensity of adiponectin, increased average fluorescence intensity of leptin, reduced p-PI3K/PI3K and p-AKT/AKT values as well as protein levels and mRNA expression levels of *UCP1*, *PGC-1 α* and *PRDM16* ($P < 0.01$). The pathological results showed that no significant plaque formation was observed in the aortas of mice in the control group. In the model group, multiple plaques were observed in the aortas, with large numbers of foam cells, cholesterol crystals, and inflammatory cell aggregation in the plaques. Compared to the model group, the browning group and the high-dose JHTG group significantly improved the above indicators and aortic pathological changes ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Three JHTG groups showed a dose-dependent effect in reducing LDL-C level and plaque ratio by gross oil red O staining, elevating the average fluorescence intensity of adiponectin, the p-AKT/AKT value, the protein level of PGC-1 α , and the mRNA expression levels of *UCP1* and *PRDM16* ($P < 0.05$). The high-dose JHTG group and the browning group showed similar efficacy in improving the pathology of the aorta. **Conclusion** JHTG may promote PVAT browning in AS model mice through the PI3K/AKT pathway, improve the endocrine function of PVAT, inhibit aortic inflammation, and thereby ameliorate the formation of AS plaques.

Keywords atherosclerosis; perivascular adipose tissue; lipid browning; phosphoinositide 3-Kinase; protein kinase B; *Jianpi Huazhuo Tiaozhi Granule* (健脾化浊调脂颗粒)

(收稿日期: 2025-11-22; 录用日期: 2026-01-14; 修回日期: 2026-03-24)

[编辑: 邓媛]