

网络出版时间: 2012-10-29 16:58 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1086.R.20121029.1658.027.html>

# 前胡甲素通过 PPAR $\alpha$ 抑制 LPS 诱导的内皮细胞的炎症反应

王焱<sup>1,2</sup> 杨翠<sup>2</sup> 常贺<sup>1</sup> 李刚<sup>1</sup> 金鑫<sup>2</sup> 邹军<sup>2</sup>

(1. 厦门大学附属中山医院厦门心脏中心 福建 厦门 361004; 2. 厦门大学医学院, 福建 厦门 361005)

doi: 10.3969/j.issn.1001-1978.2012.11.027

文献标志码: A 文章编号: 1001-1978(2012)11-1594-04  
中国图书分类号: R284.1; R329.2; R392.11; R329.12; R364.5

**摘要:**目的 探讨前胡甲素(Pd-Ia)对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的内皮细胞中细胞因子表达的影响及其作用机制。方法 体外培养人脐静脉内皮细胞(HUVECs),用1 mg·L<sup>-1</sup> LPS和不同浓度的Pd-Ia(10, 20, 40  $\mu$ mol·L<sup>-1</sup>)孵育24 h,采用荧光实时定量PCR检测TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、PPARs(过氧化物酶体增殖激活受体)的表达。进一步在HUVECs中采用siRNA干扰PPAR $\alpha$ 后观察Pd-Ia的抗炎效应的变化。结果 ① Pd-Ia可以抑制LPS诱导的内皮细胞中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 的表达。② Pd-Ia选择性上调LPS诱导的内皮细胞中PPAR- $\alpha$ 的表达,而对PPAR- $\beta$ 、PPAR- $\gamma$ 的表达没有影响。③ 采用了siRNA特异性沉默PPAR $\alpha$ 后,Pd-Ia对TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 的下调作用被一定程度的逆转。结论 Pd-Ia对LPS诱导的内皮炎症反应有抑制作用,其机制与激活PPAR $\alpha$ 有关。

**关键词:**前胡甲素; 过氧化物酶体增殖激活受体; 细胞因子; 脂多糖; 内皮细胞; RNA干扰

前胡甲素(dl-praeruptorin A, Pd-Ia)是伞形科植物白花前胡根中提出的吡喃香豆素成分,是一种钙通道阻滞剂和钾通道开放剂<sup>[1-2]</sup>。前期研究表明, Pd-Ia在缺血再灌注心肌损伤中具有抗氧化、抗炎、抗凋亡等作用<sup>[3-8]</sup>。为进一步探讨Pd-Ia在内皮损伤中的作用,本研究以脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)为激动剂,探讨Pd-Ia对LPS诱导的内皮细胞中细胞因子表达的影响及其作用机制。

收稿日期: 2012-06-20 修回日期: 2012-08-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 81270294); 福建省科技计划重点项目(No. 2010Y0053); 福建省自然科学基金资助项目(No. 2012J01415)

**作者简介:**王焱(1967-),男,博士,主任医师,教授,博士生导师,研究方向:心血管疾病介入治疗的临床和基础, Tel: 0592-2292373, Fax: 0592-2993085, E-mail: wy@medmail.com.cn; 常贺(1971-),女,博士,副教授,研究方向:心血管免疫学,共同通讯作者, E-mail: Changhe914@yahoo.com.cn; 邹军(1971-),男,副教授,日本新潟大学博士,日本明治药科大学博士后,通讯作者,研究方向:药理学, E-mail: zoujun@xmu.edu.cn

## 1 材料

**1.1 试剂** 前胡甲素由日本明治大学奥山辙教授惠赠。低糖DMEM培养基和胎牛血清、青霉素-链霉素(新西兰Hyclone公司)。bFGF(美国Pepro-tech公司)胰蛋白酶和LPS(美国Sigma公司)。TRIzol、人PPAR- $\alpha$  stealth select RNAi和Lipofectamine RNAiMax转染试剂(美国Invitrogen公司)。逆转录试剂盒(德国Fermentas公司)。SYBR Green PCR混合液(日本TaKaRa公司)。

**1.2 仪器** CO<sub>2</sub>细胞培养箱(美国Thermo公司)。倒置荧光显微镜(日本NiRon公司)。7300型荧光实时定量PCR仪(美国Applied Biosystems公司)。

## 2 方法

### 2.1 人脐静脉内皮细胞(HUVECs)的分离和培养

取健康剖腹分娩的新生儿脐带,置于PBS中4℃保存不超过6 h。用PBS冲洗脐带表面至无血迹,剪去脐带两端有钳痕的部分,用无夹痕、无扭曲、无凝血阻塞、长约30 cm的脐带进行实验。用注射器向脐静脉管腔内注入PBS,冲洗脐静脉内残血,直至流出的PBS清亮为止。再向脐静脉内注入50 g·L<sup>-1</sup>胰蛋白酶溶液冲出脐带内的PBS,排空脐静脉内的液体后,注入适量50 g·L<sup>-1</sup>胰蛋白酶溶液使脐静脉管腔充盈,用止血钳夹闭出口端。置于37℃的二氧化碳培养箱中消化5 min,取出轻轻揉搓约1 min使胰酶充分与脐静脉管腔接触,再继续置于37℃的二氧化碳培养箱中消化4 min。收集消化液于15 ml离心管中,室温1 000 r·min<sup>-1</sup>离心5 min。弃上清,加入完全培养液(完全培养液为含有体积分数为0.15的胎牛血清、青霉素100 KU·L<sup>-1</sup>、链霉素100 mg·L<sup>-1</sup>、5  $\mu$ g·L<sup>-1</sup> bFGF的低糖DMEM培养液)重新悬浮细胞后,接种在预先铺有200 g·L<sup>-1</sup>明胶包被的培养板中,置于37℃的二氧化碳培养箱中培养。6 h后更换培养液,以除去红细胞等未贴壁细胞。以后每24 h换液1次,待细胞生长至融合状态时,进行传代培养。实验采用3-6代细胞。

**2.2 荧光实时定量PCR** 细胞计数后,按1×10<sup>6</sup> cells·well<sup>-1</sup>的密度接种于6孔细胞培养板中,继续培养24 h,待细胞融合至80%后进行实验。实验分

组: ① 空白对照组: 加入体积分数为 0.001 的 DM-SO; ② LPS 诱导组: 加入  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  LPS; ③ LPS + 低浓度药物组: 加入  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  LPS +  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Pd-Ia; ④ LPS + 中浓度药物组: 加入  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  LPS +  $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Pd-Ia; ⑤ LPS + 高浓度药物组: 加入  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  LPS +  $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Pd-Ia。各组设 3 个复孔。继续孵育 24 h, 收集细胞, 提取总 RNA。按照反转录试剂盒说明将提取的总 RNA 进行反转录。荧光实时定量 PCR 采用  $20 \mu\text{l}$  反应体系, 其中含有 SYBR® Premix Ex Taq™ II ( $2 \times$ )  $10 \mu\text{l}$ , ROX Reference Dye II ( $50 \times$ )  $0.4 \mu\text{l}$ , 反转录产物  $0.5 \mu\text{l}$ , 上下游引物(终浓度为  $400 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 各  $0.8 \mu\text{l}$ ,  $\text{dH}_2\text{O}$   $7.5 \mu\text{l}$ 。反应条件为:  $95^\circ\text{C}$  30 s 进行预变性, 然后两步法进行扩增  $95^\circ\text{C}$  5 s  $\rightarrow$   $60^\circ\text{C}$  31 s 40 个循环。结果将目的基因的 Ct 用 GAPDH 的 Ct 值进行标准化, 根据比较法计算基因表达相对量, 采用公式  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  计算基因表达的相对倍数变化。引物序列见 Tab 1。

Tab 1 Primer sequence used for RT-PCR and Real-time PCR analysis

Gene name		Primer sequence
TNF- $\alpha$	Forward	5' GTG ACA AGC CTG TAG CCC ATG TT3'
	Reverse	5' TTA TCT CTC AGC TCC ACG CCA TT3'
IL-1 $\beta$	Forward	5' TGA TGG CTT ATT ACA GTG GCA ATG3'
	Reverse	5' GTA CTG GTC GTC GGA GAT TCG3'
PPAR $\alpha$	Forward	5' CCA TCG GCG AGG ATAG TTC TG3'
	Reverse	5' TCT ACA TTC GAT GTT CAA TGC TCC A3'
PPAR $\beta$	Forward	5' AAG GCA TCG GGC TTC CAC TA3'
	Reverse	5' GCA CTT CTG GAA GCG GCA GTA3'
PPAR $\gamma$	Forward	5' TGG AAT TAG ATG ACA GCG ACT TGG3'
	Reverse	5' CTG GAG CAG CTT GGC AAA CA3'
GAPDH	Forward	5' GCA CCG TCA AGG CTG AGA AC3'
	Reverse	5' TGG TGA AGA GCG CAG TGG A3'

2.3 RNA 干扰 细胞计数后, 按  $1 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{well}^{-1}$  的密度接种于 6 孔细胞培养板中, 每孔 2 ml 无青霉素-链霉素的完全培养基中继续培养 24 h, 待细胞融合至占板面积的 0.70~0.80 进行实验。2  $\mu\text{l}$  PPAR- $\alpha$  siRNA(终浓度  $20 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和 5  $\mu\text{l}$  Lipofectamine RNAiMax 分别混合于 250  $\mu\text{l}$  Opti-MEM, 室温放置 5 min。将上述两种培养液混合 轻轻混匀后 室温下孵育 20 min。将 PPAR $\alpha$  siRNA 与 Lipofectamine RNAiMax 的混合液加入含有细胞的 6 孔

板中, 加入低糖 DMEM 培养液补充至 2 ml, 置于  $37^\circ\text{C}$  的二氧化碳培养箱中培养。培养 6 h 后, 弃培养液 更换为完全培养基继续培养。

2.4 数据处理 各实验数据为实验重复 3 次的结果, 以  $\bar{x} \pm s$  表示, 用 SPSS 统计软件, 以 One-way ANOVA 分析各组别之间的差异, 各组间的比较采用  $q$  检验。

### 3 结果

3.1 Pd-Ia 对 LPS 诱导的 HUVECs 中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  mRNA 表达的影响 与空白对照组相比, 用 LPS 诱导 24 h 后, TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  mRNA 表达均明显增加 ( $P < 0.01$ )。加入不同浓度的 Pd-Ia ( $10$ 、 $20$ 、 $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 组, 可不同程度地下调 LPS 诱导的 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  mRNA 表达 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 且呈剂量依赖性 相对于 LPS 诱导组, Pd-Ia 高浓度组对 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  mRNA 表达的抑制率分别为 0.817 0.598。如 Tab 2 所示。

Tab 2 mRNA expression of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  by Real time PCR

Group	Drug concentration / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	mRNA expression	
		TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$
Blank control	-	0.8802 $\pm$ 0.107 <sup>2</sup>	0.9652 $\pm$ 0.01738 <sup>2</sup>
LPS-induced	-	24.26 $\pm$ 1.632	225.0 $\pm$ 3.575
LPS-induced + low level Pd-Ia	10	16.29 $\pm$ 1.4191*	192.2 $\pm$ 6.537*
LPS-induced + medium level Pd-Ia	20	6.536 $\pm$ 0.3536**	128.4 $\pm$ 7.540**
LPS-induced + high level Pd-Ia	40	4.444 $\pm$ 0.7267**	90.41 $\pm$ 11.81**

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.001$  vs LPS-induced

3.2 Pd-Ia 对 LPS 诱导的 HUVECs 中 PPARs mRNA 表达的影响 与空白对照组相比, 用 LPS 诱导 24 h 后, HUVECs 中 PPAR $\alpha$  和 PPAR $\gamma$  mRNA 表达降低 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.01$ ) 而 PPAR $\beta$  mRNA 的表达则无明显改变 ( $P > 0.05$ )。加入不同浓度的 Pd-Ia ( $10$ 、 $20$ 、 $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 组, 可以不同程度地上调 LPS 诱导的 PPAR $\alpha$  mRNA 表达 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.01$ ) 3 个浓度 Pd-Ia 诱导的 PPAR $\alpha$  mRNA 表达分别为 LPS 诱导组的 3.1 倍、3.5 倍、4.2 倍。加入 Pd-Ia 后 对 LPS 诱导的 PPAR $\gamma$ 、PPAR $\beta$  mRNA 的表达无影响 ( $P > 0.05$ )。如 Tab 3 所示。

Tab 3 mRNA expression of PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  and PPAR $\gamma$  by Real time PCR

Group	Drug concentration/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	mRNA expression		
		PPAR $\alpha$	PPAR $\beta$	PPAR $\gamma$
Blank control	-	0.7634 $\pm$ 0.107**	0.8952 $\pm$ 0.03557	0.8504 $\pm$ 0.05789**
LPS-induced	-	0.3264 $\pm$ 0.027	0.8169 $\pm$ 0.1738	0.2138 $\pm$ 0.02731
LPS-induced + low level Pd-Ia	10	1.008 $\pm$ 0.1402*	0.9267 $\pm$ 0.06938	0.2719 $\pm$ 0.03105
LPS-induced + medium level Pd-Ia	20	1.136 $\pm$ 0.1629**	0.9821 $\pm$ 0.1451	0.2814 $\pm$ 0.03965
LPS-induced + high level Pd-Ia	40	1.381 $\pm$ 0.1727**	0.8510 $\pm$ 0.06028	0.244 $\pm$ 0.03334

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs LPS-induced

**3.3 沉默 PPAR $\alpha$  siRNA 对 LPS 诱导的 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  mRNA 表达的影响** 购买的 PPAR $\alpha$  siRNA 共有 3 种,分别为 PPAR $\alpha$  siRNA 005、006、007。首先对 RNAi 条件进行优化,实验分为 5 组:①空白对照组:加入转染试剂;②阴性对照组:加入 20 nmol  $\cdot$  L $^{-1}$  Negative Control siRNA;③实验组 1:加入 20 nmol  $\cdot$  L $^{-1}$  PPAR $\alpha$  siRNA005;④实验组 2:加入 20 nmol  $\cdot$  L $^{-1}$  PPAR $\alpha$  siRNA 006 ⑤实验组 3:加入 20 nmol  $\cdot$  L $^{-1}$  PPAR $\alpha$  siRNA 007。各组设 3 个复孔。HUVECs 转染 24 h 后,收集细胞,提取 RNA,检测 PPAR $\alpha$  mRNA 的表达。如 Tab 4 所示,PPAR $\alpha$  siRNA006 和 007 均能下调 PPAR $\alpha$  mRNA 的表达,其中 PPAR $\alpha$  siRNA006 沉默效率更高,其相对于空白对照组的沉默率为 0.523 ( $P < 0.01$ )。而 PPAR $\alpha$  siRNA005 未能沉默 PPAR $\alpha$  mRNA 的表达 ( $P > 0.05$ )。

Tab 4 Effect of PPAR $\alpha$  siRNA on expression of PPAR $\alpha$

Group	PPAR $\alpha$ mRNA expression
Blank control	0.978 $\pm$ 0.01812
Negative control	1.065 $\pm$ 0.02859
PPAR $\alpha$ siRNA005	0.8816 $\pm$ 0.03123
PPAR $\alpha$ siRNA006	0.4669 $\pm$ 0.02357 **
PPAR $\alpha$ siRNA007	0.7352 $\pm$ 0.03643 **

\*\*  $P < 0.01$  vs blank control

观察 PPAR $\alpha$  RNA 干扰后 Pd-Ia 对 LPS 诱导的内皮细胞中 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  mRNA 的影响,实验分为 4 组:①空白对照组;②LPS 诱导组:加入 1 mg  $\cdot$  L $^{-1}$  LPS;③LPS + Pd-Ia 组:加入 1 mg  $\cdot$  L $^{-1}$  LPS + 40  $\mu$ mol  $\cdot$  L $^{-1}$  Pd-Ia;④LPS + Pd-Ia + PPAR $\alpha$  RNAi 组:HUVECs 转染 6 h 后加入 1 mg  $\cdot$  L $^{-1}$  LPS + 20  $\mu$ mol  $\cdot$  L $^{-1}$  Pd-Ia。各组设 3 个复孔。继续孵育 24 h 后,收集细胞,提取 RNA,检测 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  mRNA 的表达。如 Tab 5 所示,PPAR $\alpha$  RNA 干扰后, Pd-Ia 对 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  下调作用被一定程度的逆转 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.01$ ) 其中对 TNF- $\alpha$  表达的影响更明显。LPS + Pd-Ia + PPAR $\alpha$  RNAi 组 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  mRNA 表达分别为 LPS + Pd-Ia 组的 2.6 倍、1.3 倍。

Tab 5 Effect of PPAR $\alpha$  siRNA on anti-inflammatory action of Pd-Ia in LPS induced HUVECs

Group	mRNA expression	
	TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$
Blank control	0.8388 $\pm$ 0.08237	0.8955 $\pm$ 0.03405
LPS-induced	23.52 $\pm$ 0.7292	164.3 $\pm$ 7.942
LPS-induced + 40 $\mu$ mol $\cdot$ L $^{-1}$ Pd-Ia	5.565 $\pm$ 0.2050	73.02 $\pm$ 3.964
LPS-induced + 40 $\mu$ mol $\cdot$ L $^{-1}$ Pd-Ia + PPAR $\alpha$ RNAi	14.29 $\pm$ 0.3167 ***	96.98 $\pm$ 8.200 ***

\*\*  $P < 0.01$  vs LPS-induced; \*\*\*  $P < 0.01$  vs LPS + PD-Ia

#### 4 讨论

前胡甲素(Pd-Ia)是白花前胡根的提取物,具有保护缺血/再灌注心肌的作用。研究证实, Pd-Ia 可以通过抑制 NF- $\kappa$ B 的激活和下调 TNF- $\alpha$ 、IL-6 等炎症介质的表达而起到抗炎作用<sup>[3,7]</sup>。目前, Pd-Ia 在内皮损伤过程的作用还尚不清楚。本研究通过检测 Pd-Ia 对 LPS 诱导的内皮细胞中细胞因子表达的影响,阐述了 Pd-Ia 具有减轻内皮损伤过程中的炎症反应的作用。我们的结果显示,给予 1 mg  $\cdot$  L $^{-1}$  LPS 诱导 24h 后可明显上调 HUVECs 中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  的表达。加入不同浓度的 Pd-Ia(10、20、40  $\mu$ mol  $\cdot$  L $^{-1}$ )可不同程度地下调 LPS 诱导的 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  表达,且呈剂量依赖性。上述结果表明 Pd-Ia 可以抑制内皮损伤后炎症相关细胞因子的产生,这说明 Pd-Ia 在内皮损伤过程中发挥了抗炎作用。

PPARs 属于核受体超家族成员。PPARs 参与调节过氧化物酶体增殖、能量代谢、细胞分化以及炎症反应等。研究表明, PPARs 3 种亚型 PPAR $\alpha$ 、PPAR $\beta$ / $\delta$  和 PPAR $\gamma$  均可在内皮细胞中表达,且与 AS 关系密切<sup>[8,10]</sup>。为进一步阐述 Pd-Ia 抗 LPS 诱导的内皮炎症反应的机制,我们检测了 Pd-Ia 对 LPS 诱导的内皮细胞中 PPAR $\alpha$ 、PPAR $\beta$ 、PPAR $\gamma$  表达的影响。结果显示 1 mg  $\cdot$  L $^{-1}$  LPS 诱导 24 h 后可明显抑制 HUVECs 中 PPAR $\alpha$  和 PPAR $\gamma$  mRNA 的表达,而对 PPAR $\beta$  的表达则无明显影响。PPAR $\alpha$  和 PPAR $\gamma$  可以下调活化的内皮细胞分泌炎症因子,从而抑制炎症细胞的激活和粘附,减缓 AS 斑块的发展。本研究中 LPS 明显抑制 HUVECs 中 PPAR $\alpha$  和 PPAR $\gamma$  的表达,这说明 LPS 诱导内皮损伤可能与 PPAR $\alpha$  和 PPAR $\gamma$  有关。加入不同浓度的 Pd-Ia(10、20、40  $\mu$ mol  $\cdot$  L $^{-1}$ )可以呈剂量依赖性地上调 LPS 诱导的 PPAR $\alpha$  的表达,而对 LPS 诱导的 PPAR $\gamma$  和 PPAR $\beta$  的表达无影响。Pd-Ia 可选择性上调 LPS 诱导的 PPAR $\alpha$  的表达,因此我们推测 Pd-Ia 可能是通过 PPAR $\alpha$  抑制 LPS 诱导的内皮细胞中细胞因子的表达。

既往研究表明 PPAR $\alpha$  在内皮损伤中发挥了重要的作用<sup>[10-11]</sup>。为了明确 PPAR $\alpha$  与 Pd-Ia 抗 LPS 诱导的内皮炎症反应的关联,我们采用 PPAR $\alpha$  siRNA 特异性沉默 HUVECs 中 PPAR $\alpha$  的表达,再来观察 Pd-Ia 对 LPS 诱导的 HUVECs 中细胞因子表达的抑制作用的变化。结果显示 PPAR $\alpha$  siRNA 干扰后, Pd-Ia 对 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  下调作用被一定程度的逆转。这进一步说明 Pd-Ia 通过 PPAR $\alpha$  发挥抗 LPS 诱导的内皮损伤的作用。

## 参考文献:

- [1] Li J M, Chang T H, Sun X D, et al. Effect of dl-praeruptorin A on calcium current in ventricular cells of guinea pig [J]. *Zhong-guo Yao Li Xue Bao*, 1994, **15**: 525-7.
- [2] 王丽娟, 李金鸣, 常天辉, 等. 白花前胡甲素对豚鼠单一心室肌细胞 I<sub>k</sub> 通道作用机制的初步探讨 [J]. *中国药理学通报*, 1997, **13**(5): 450-2.
- [2] Wang L J, Li J M, Chang T H, et al. The preliminary research of dl-praeruptorin A in mechanism of action on delayed outward potassium current [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 1997, **13**(5): 450-2.
- [3] Wang C, Chang T H. Comparative research between Bai-hua Qian-hu, a Chinese traditional plant, and its active ingredient on nuclear factor- $\kappa$ B and tumor necrosis factor- $\alpha$  in isolated ischemia-reperfusion heart of rat [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2004, **117**: 461-3.
- [4] 张鹏, 杨秀伟. 紫花前胡苷在大鼠体内的药代动力学研究 [J]. *中国药理学通报* 2008, **24**(9): 1240-4.
- [4] Zhang P, Yang X W. Pharmacokinetics of nodakenin in rats [J]. *Chin Pharmacol Bull* 2008, **24**(9): 1240-4.
- [5] 蒋明燕, 徐亚杰, 杜震, 等. 大鼠急性心肌缺血/再灌注损伤时心肌超微结构的变化与白花前胡及前胡甲素的保护作用 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2004, **21**(1): 59-63.
- [5] Jiang M Y, Xu Y J, Du Z, et al. Change of myocardial ultrastructure and the protective effect of Peucedanum praeruptorum Dunn and its effective component (praeruptorin A, Pd-Ia) against acute myocardial ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *J Shenyang Pharm Univ*, 2004, **21**(1): 59-63.
- [6] Chang H, Chu X Y, Zou J, et al. Effect of dl-praeruptorin A on desmin and vimentin content in rat ischemia/reperfusion myocytes [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2007, **120**: 2256-9.
- [7] Chang T H, Liu X Y, Zhang X H, et al. Effects of dl-praeruptorin A on interleukin-6 level and Fas, bax, bcl-2 protein expression in ischemia-reperfusion myocardium [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2002, **23**: 769-74.
- [8] 罗文艳, 韩春光, 李庶心, 等. 甘氨酸类化合物对 PPAR $\alpha$  及  $\gamma$  亚型的激活作用 [J]. *中国药理学通报* 2008, **24**(6): 787-91.
- [8] Luo W Y, Han C G, Li S X, et al. Activation of series of chemical Glycine compounds to PPAR $\alpha$  and or PPAR $\gamma$  [J]. *Chin Pharmacol Bull* 2008, **24**(5): 787-91.
- [9] Hamblin M, Chang L, Fan Y, et al. PPARs and the cardiovascular system [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2009, **11**: 1415-52.
- [10] Ricote M and Glass C K. PPARs and molecular mechanisms of transrepression [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, **1771**: 926-35.
- [11] Liu J, Lu C, Li F, et al. PPAR- $\alpha$  agonist fenofibrate upregulates tetrahydrobiopterin level through increasing the expression of guanosine 5'-triphosphate cyclohydrolase-I in human umbilical vein endothelial cells [J]. *PPAR Res* 2011, **2011**: 523520.
- [12] Delerive P, De Bosscher K, Besnard S, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha negatively regulates the vascular inflammatory gene response by negative cross-talk with transcription factors NF- $\kappa$ B and AP-1 [J]. *J Biol Chem*, 1999, **274**(5): 32048-54.

Pd-Ia inhibited inflammation in LPS-induced HUVECs via PPAR $\alpha$ WANG Yan<sup>1,2</sup>, Yang Cui<sup>2</sup>, Chang He<sup>1</sup>, LI Gang<sup>1</sup>, JIN Xin<sup>2</sup>, ZOU Jun<sup>2</sup>

(1. Division of Cardiology, the Affiliated Zhongshan Hospital of Xiamen University, Xiamen Heart Center, Xiamen Fujian 361004, China; 2. Medical School of Xiamen University, Xiamen Fujian 361005, China)

**Abstract: Aim** To investigate the effect of Pd-Ia on the expression of cytokines in LPS-induced HUVECs and its mechanisms. **Methods** HUVECs were treated with 1 mg · L<sup>-1</sup> LPS and different concentrations of Pd-Ia (10, 20, 40  $\mu$ mol · L<sup>-1</sup>) for 24h, the expression of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$ , PPAR $\gamma$  was detected by Real-time PCR. To investigate the mechanism of the anti-inflammation of Pd-Ia, siRNA was added to knockdown PPAR $\alpha$ . **Results** Pd-Ia down-regulated TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  mRNA expression and selectively up-regulated PPAR $\alpha$ , but it had no effect on

PPAR $\beta$  and PPAR $\gamma$  mRNA expression in LPS-activated HUVECs. PPAR $\alpha$  knockdown could attenuate the anti-inflammatory effect of Pd-Ia. **Conclusions** Pd-Ia inhibits the inflammatory response of endothelial cells to the stimulation of LPS, which is related to the activation of PPAR $\alpha$ . It suggests that Pd-Ia exerts potential anti-inflammatory effect on the modulation of various inflammatory processes such as atherosclerosis.

**Key words:** dl-praeruptorin; peroxisome proliferator-activated receptors; cytokine; lipopolysaccharide; HUVECs; siRNA