

葡萄籽多酚降血脂及抗动脉粥样硬化的作用及机制

连冠^{1,2}, 鱼毛毛², 徐璐², 刘国庆², 陈文¹, 祁荣^{1,2}

(1. 石河子大学药学院, 新疆石河子市 832000; 2. 北京大学心血管研究所 分子心血管学教育部重点实验室, 北京市 100191)

[关键词] 葡萄籽多酚; 血脂; 动脉粥样硬化

[摘要] **目的** 研究葡萄籽多酚提取物(GSP)降血脂和抗动脉粥样硬化(As)的作用及机制。**方法** 7-8 周龄雄性低密度脂蛋白受体敲除(LDLR^{-/-})小鼠 32 只, 随机分为 4 组, 每组 8 只。其中一组喂饲普通饲料并予以生理盐水(正常对照组), 其它三组喂饲高脂饲料(含 0.5% 胆固醇和 20% 猪油), 并分别予以生理盐水(高脂模型组)、5 mg/(kg·d) 依折麦布(阳性药物组)和 750 mg/(kg·d) 葡萄籽多酚, 依折麦布和葡萄籽多酚用生理盐水配制成溶液后给予。12 周时取血检测小鼠血浆中总胆固醇(TC)和甘油三酯(TG)水平, 研究 GSP 对小鼠血脂的影响; 小鼠主动脉全长及流出道取材, 油红 O 及苏木精-伊红(HE)染色, 对其斑块面积及斑块负荷进行定量, 研究 GSP 对 AS 病变程度的影响; 对主动脉根部进行 Mac-2 免疫组化染色, 观察巨噬细胞对斑块的浸润情况; 实时定量 PCR 检测肝脏组织中脂质合成、氧化等脂代谢相关基因的 mRNA 表达。**结果** 与高脂模型组相比, GSP 能显著降低小鼠血浆 TC 和 TG 水平; 减少 AS 斑块的形成及斑块中巨噬细胞的浸润; 上调肝脏中 LDLR 相关蛋白 1(LRP1)和线粒体胆固醇 27-羟化酶(CYP27A1)的表达。**结论** GSP 具有降低小鼠血脂水平和改善 As 的作用, GSP 降脂可能与通过胆固醇代谢中的替代途径和中性合成途径增加胆固醇转化成胆汁酸、促进脂质的转运有关; 其抗 As 的机制可能与降低血浆中 TC 和 TG 水平、减少泡沫细胞的形成有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Study on Hypolipidemic and Anti-atherosclerosis Effects and Mechanisms of Grape-seed Polyphenols

LIAN Guan^{1,2}, YU Mao-Mao², XU Lu², LIU Guo-Qing², CHEN Wen¹, and QI Rong^{1,2}

(1. School of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000; 2. Institute of Cardiovascular Sciences, Peking University & Key Laboratory of Molecular Cardiovascular Sciences, Ministry of Education, Beijing 100191, China)

[KEY WORDS] Grape-seed Polyphenols; Plasma Lipid; Atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To study hypolipidemic and anti-atherosclerosis effects and mechanisms of grape-seed polyphenols (GSP) in LDLR^{-/-} mice. **Methods** 7~8 weeks male LDLR^{-/-} mice ($n=32$) were randomly divided into 4 groups with 8 mice in each group. One group was orally administrated with saline and fed with chow diet (normal control). The other three groups were fed with a high fat diet containing 0.5% cholesterol and 20% lard and orally administrated with saline (hyperlipidemia control), 5 mg/(kg·d) ezetimibe (positive drug control), and 750 mg/(kg·d) GSP, respectively. Ezetimibe and GSP were dissolved in saline for administration. After a 12-week regimen, blood samples of the mice were collected by retro-orbital blood drawing for determining plasma TC and TG levels. All mice were then sacrificed and mouse aortas were isolated and dissected under microscope, and atherosclerotic lesions on aortic walls were stained by oil red O. Mouse aortic roots were frozenly sectioned for HE and oil red O staining, and Mac-2 immunohistochemistry staining as well. Besides, gene expression in mouse livers, related to lipid synthesis, oxidation, and metabolism, were measured by RT-PCR. **Results** Compared to saline treated hyperlipidemia control group, treating mice with GSP significantly decreased their TC and TG levels, significantly reduced atherosclerosis lesion area in mouse a-

[收稿日期] 2014-09-19

[修回日期] 2014-10-28

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81360054)

[作者简介] 连冠, 硕士, 研究方向为药物对脂代谢紊乱及动脉粥样硬化的预防与干预, E-mail 为 lianguan666@163.com。鱼毛毛, 硕士, 研究方向为脂代谢紊乱及动脉粥样硬化相关疾病研究, E-mail 为 momo_yu@126.com。通讯作者陈文, 博士, 教授, 主要从事新疆特种植物药的新药研究与剂型开发, E-mail 为 chen-wen2000@126.com。通讯作者祁荣, 博士, 副教授, 主要从事高脂血症及动脉粥样硬化的预防与干预治疗研究, E-mail 为 ronaqi@bjmu.edu.cn。

ortas and aortic roots, decreased macrophage infiltration in plaques, and up-regulated gene expression of LRP1 and CYP27A1 in mouse livers. **Conclusions** GSP has hypolipidemic effects and ameliorates atherosclerosis in LDLR^{-/-} mice. The hypolipidemic mechanisms of GSP may relate to regulation of alternative and neutral synthetic pathways of cholesterol metabolism, which results in an increase of cholesterol transference into bile acid, and improvement of lipid metabolism. The anti-atherosclerosis effects of GSP can be concluded to decrease of plasma TC and TG levels and reduction of foam cell formation.

高脂血症和动脉粥样硬化是危害人类健康状况的重大心血管疾病,研究疾病的发病机制和防治将对提高人类的健康水平和生活质量提供极大的帮助^[2]。葡萄籽多酚 (grape seed polyphenols, GSP) 主要来源于葡萄酒酿造企业的生产废弃物葡萄籽中,它是一种从葡萄籽中提取的天然植物多酚,主要成分包括表儿茶酸等酚酸类、黄烷醇类、花色苷类等。葡萄籽多酚具有水溶性好、生物利用度高和毒性低、安全性高等特点,是一种理想的天然抗氧化剂和自由基清除剂^[1],近年来广泛应用于食品和保健品领域。研究葡萄籽多酚在心血管疾病中的作用,不仅为开发新的具有心血管疾病防治作用的天然药物提供依据,而且可以将葡萄籽变废为宝,为酿酒企业节约废物处理成本,创造更高的经济收益和社会价值。本研究在 LDLR^{-/-} 小鼠模型上研究葡萄籽多酚的降血脂和抗动脉粥样硬化的作用及机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

健康 7~8 周龄、雄性 LDLR^{-/-} 小鼠,体重 20~25 g,由北京大学医学部心血管研究所基因修饰动物平台提供。小鼠于北京大学医学部 SPF 级动物房饲养,室温 25±2℃,湿度 55%±3%,明暗周期 12 h,每日给予洁净饮水。实验方案经北京大学医学部实验动物伦理管理委员会批准。

1.2 主要试剂

葡萄籽多酚由新疆西部牧业股份有限公司提供;胆固醇和甘油三酯测定试剂盒购自北京中生北控生物科技公司;动物组织总 RNA Trizol 提取液购自北京鼎国昌盛生物科技有限公司,Transcript First-Stand cDNA Synthesis Supermix 购自北京全式金生物技术有限公司;Eva Green qPCR Master Mix 购自美国 ABM 公司;引物由北京奥科鼎盛生物科技有限公司合成;Mac-2 一抗 (rabbit polyclonal IgG) 购自美国 Santa Cruz 公司;兔二步法检测试剂和 DAB 显色液均购自北京中衫金桥生物技术有限公司。

1.3 实验分组和动物模型的制备

LDLR^{-/-} 小鼠在实验条件下适应性饲养 1 周后,测量体重,取血测定血浆总胆固醇 (TC) 和甘油三酯 (TG) 水平。根据体重、TC 和 TG 水平将小鼠平均分为 4 组,每组 8 只,分别设定为正常对照组 (普通饲料 + NS);高脂模型组 (高脂饲料 + NS)、依折麦布组 (高脂饲料 + 依折麦布 5 mg/kg)、葡萄籽多酚组 (高脂饲料 + 750 mg/kg GSP),高脂饲料为含 20% 猪油和 0.5% 胆固醇的饲料。各组动物分笼饲养,以灌胃方式给药。12 周后,处死小鼠,取材,进行相关测定。

1.4 血浆总胆固醇、甘油三酯的测定

各组 LDLR^{-/-} 小鼠禁食 4 h,麻醉后眼眶采血,离心分离血浆。采用酶比色法检测血浆 TC 和 TG,详细操作方法参考试剂盒说明书。

1.5 标本取材和制备

麻醉小鼠经生理盐水灌流后,取心脏及主动脉。剥离血管外附着组织,于心脏始发 1~2 mm 处剪断主动脉,将主动脉浸泡于 4% 多聚甲醛固定;心脏组织包埋于 OCT, -80℃ 保存备用。

1.6 主动脉全长油红 O 染色

小鼠主动脉采用 4% 多聚甲醛固定 10 min 后,于 60% 异丙醇中预处理 5 min;油红 O 染色主动脉 30 min;60% 异丙醇漂洗 2 次脱浮色。将主动脉展开,拍照,利用 Image Pro Plus 6.0 图像分析软件对主动脉粥样硬化斑块面积进行定量分析。

1.7 心脏流出道 HE 染色及病理形态观察

对心脏流出道进行冰冻切片,切片厚度 7 μm,间断均匀切片,显微镜下选择切片,每只小鼠心脏切片约 50 张左右。对小鼠心脏流出道切片进行 HE 染色。细胞核呈蓝色,细胞浆、结缔组织等其他组织呈不同程度的红色。研究流出道斑块大小及病理形态。

1.8 心脏流出道斑块油红 O 染色及斑块定量分析

小鼠心脏流出道冰冻切片自然吹干,4% 多聚甲醛固定 10 min;60% 异丙醇 5 min;油红 O 染色 30 min;洗脱浮色;苏木精复染细胞核 1~3 min;甘油封片,拍照。采用 Image Pro Plus 6.0 图像分析软件对

斑块面积进行定量分析,并计算斑块面积占血管管腔面积的百分比。以组织切片的平均斑块面积和斑块负荷代表小鼠主动脉粥样硬化的发生程度。

1.9 心脏流出道斑块巨噬细胞浸润观察

采用免疫组化法,以 Mac-2 作为巨噬细胞表达的标志分子,检测心脏流出道斑块中巨噬细胞的浸润情况。小鼠心脏流出道切片采用 3% H₂O₂ 封闭内源性过氧化酶;10% 正常羊血清孵育 1 h 封闭;滴加抗 Mac-2 一抗(1:200);切片于 4 ℃ 冰箱中过夜;PBS 缓冲液震荡清洗 3 次;滴加辣根过氧化物酶标记的二抗;DAB 染色;苏木精复染;常规封片。显微镜下观察,棕染的细胞为 Mac-2 阳性细胞。

1.10 RT-PCR 定量分析肝脏脂质代谢相关基因 mRNA 水平

取小鼠肝脏组织 100 mg,于 2 mL RNA Trizol 提取液中匀浆,提取肝脏组织总 RNA。利用 TransScript First-Strand cDNA Synthesis Supermix 试剂盒反转录总 RNA 成 cDNA。实时定量 PCR 仪测定肝脏中与脂质代谢相关的基因 mRNA 的表达水平。每个样品重复 3 次,并以 EVA green 作为荧光剂,结果

以 GAPDH 的表达水平标准化。

1.11 统计学处理

采用 SPSS 软件进行统计学处理。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。数据前后对比采用配对 t 检验,组间对比采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 小鼠血脂水平

各组小鼠食物摄入量、饮水量和体重增加量差异无显著性,表明葡萄籽多酚安全性良好,未对小鼠食欲和生长造成影响。普通饲料喂饲 12 周后,正常对照组小鼠 TC、TG 水平未发生明显升高。高脂饲料喂饲 12 周后,与正常对照组相比,高脂模型组小鼠 TC 和 TG 水平显著升高($P < 0.01$),表明高脂血症造模成功;与高脂模型组比较,依折麦布组小鼠的 TC 水平显著降低($P < 0.01$),葡萄籽多酚组 TC 和 TG 水平均显著下降($P < 0.01$);葡萄籽多酚组 TC 和 TG 水平与依折麦布组比较,两者之间无统计学差异(图 1)。

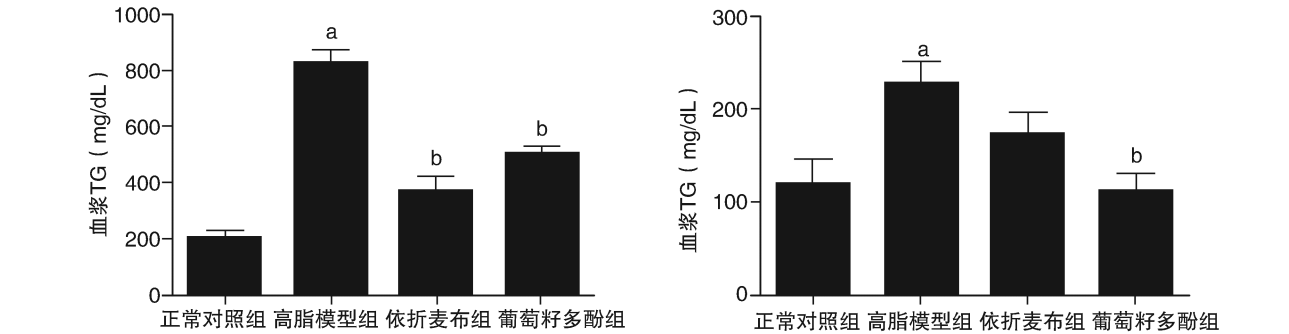


图 1. 各组 LDLR^{-/-} 小鼠血脂数据比较 a 为 $P < 0.01$,与正常对照组比较;b 为 $P < 0.01$,与高脂模型组比较。

Figure1. Plasma TC and TG levels in LDLR^{-/-} mice

2.2 主动脉粥样硬化斑块面积

普通饲料喂饲 12 周后,正常对照组小鼠主动脉未出现明显斑块。三个高脂饲料组小鼠喂饲 12 周后,主动脉弓均有不同程度的斑块形成,其中高脂模型组小鼠最为显著(图 2A)。与高脂模型组比较,依折麦布组和葡萄籽多酚组小鼠主动脉全长斑块面积分别减少了 39% 和 37%,差异均有显著性($P < 0.01$;图 2B)。葡萄籽多酚组与依折麦布组之间差异无统计学意义。

2.3 主动脉根部流出道粥样硬化程度

对小鼠主动脉根部切片进行 HE 及油红 O 染色(图 3),正常对照组主动脉根部没有明显的脂质沉

积;高脂模型组主动脉根部出现大量脂质沉积;依折麦布组和葡萄籽多酚组脂质沉积面积明显减少。与高脂模型组相比,依折麦布组和葡萄籽多酚组小鼠主动脉根部斑块面积分别减少 45% 和 42% (图 4A),差异均有显著性($P < 0.01$)。与高脂模型组相比,葡萄籽多酚组斑块面积及斑块负荷明显减少($P < 0.01$),依折麦布对斑块面积及斑块负荷的减少作用与葡萄籽多酚组相比,差异无统计学意义(图 4B)。

2.4 主动脉根部斑块巨噬细胞浸润情况

对各组小鼠主动脉根部进行 Mac-2 免疫组织化学染色,正常对照组主动脉根部斑块中没有明显的

巨噬细胞浸润;高脂模型组小鼠主动脉根部斑块中有大量巨噬细胞浸润;与高脂模型组相比,依折麦布组和葡萄籽多酚组小鼠主动脉根部斑块中巨噬细胞的浸润明显减少(图3)。

2.5 肝脏组织中脂质代谢相关基因表达

与高脂模型组相比,依折麦布组小鼠肝脏中CYP7A1的表达显著增加($P < 0.01$);葡萄籽多酚

干预能明显增加小鼠肝脏中 LRP1 和 CYP27A1 的表达($P < 0.01$),CYP7A1 的表达也有上升的趋势(图5A)。与脂质合成相关的基因(FAS、SCD-1、ACC、CD36、DGAT2)的表达(图5B)、与脂质代谢相关的基因PPAR α 及其下游的靶基因CPT1、CPT2、ACOT1、COX4的表达在依折麦布组和葡萄籽多酚组均未发现明显改变(图5C)。

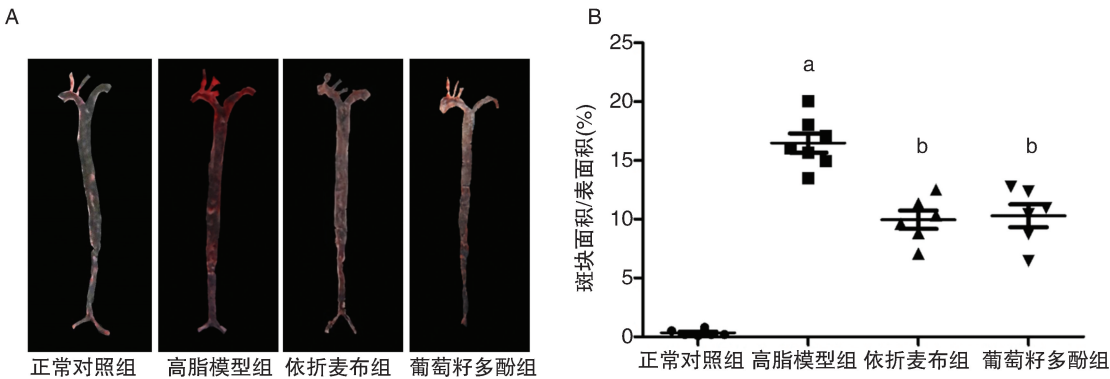


图 2. 各组 LDLR^{-/-} 小鼠主动脉粥样硬化程度 (A) 及定量结果 (B)

a 为 $P < 0.001$, 与正常对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与高脂模型组比较。

Figure 2. Aortic atherosclerosis lesions (A) and plaque areas (B) in LDLR^{-/-} mice

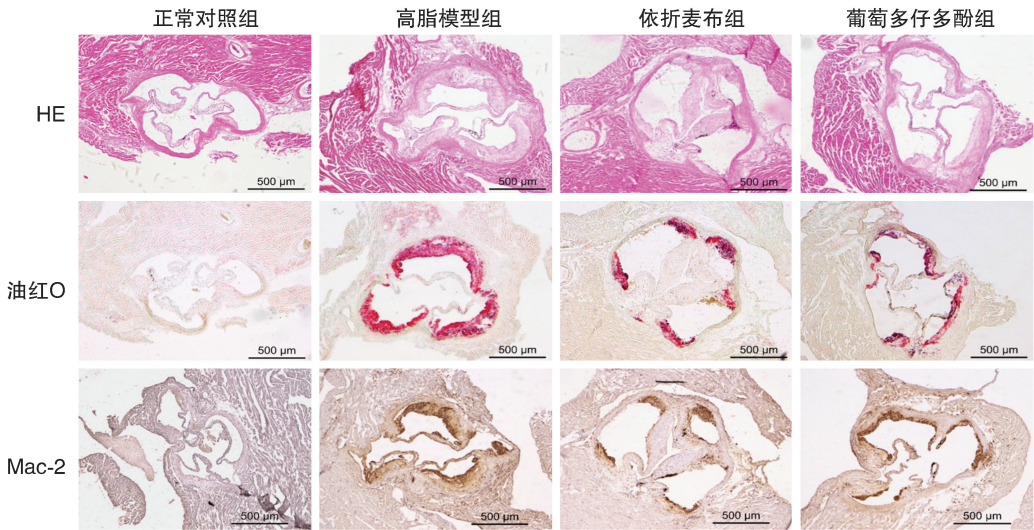


图 3. 各组 LDLR^{-/-} 小鼠主动脉根部粥样硬化程度及巨噬细胞的免疫组织化学染色

Figure 3. Aortic roots atherosclerosis lesions and Immunohistochemical staining of Mac-2 in LDLR^{-/-} mice

3 讨论

高脂血症是 As 和冠心病等心血管疾病发生的重要危险因素^[4]。本实验首次选用了 As 易感的 LDLR^{-/-} 小鼠为模型,研究葡萄籽多酚对其血脂代谢及动脉粥样硬化的作用。与其他动脉粥样硬化小鼠的血浆 TC 和 TG 明显升高,给予葡萄籽多酚干

模型相比,LDLR^{-/-} 小鼠的脂蛋白谱与人类更为接近,而且很好地模拟了人类家族型高胆固醇血症病人的基因和病理特点。因此,本实验中得出的结果对于临床家族性高胆固醇血症(FH)病人的动脉粥样硬化疾病的治疗具有非常重要的意义^[5-7]。

本研究发现,给予高脂饮食诱导后,高脂模型组干预后,小鼠血浆 TC、TG 呈现明显的降低;在高脂饮

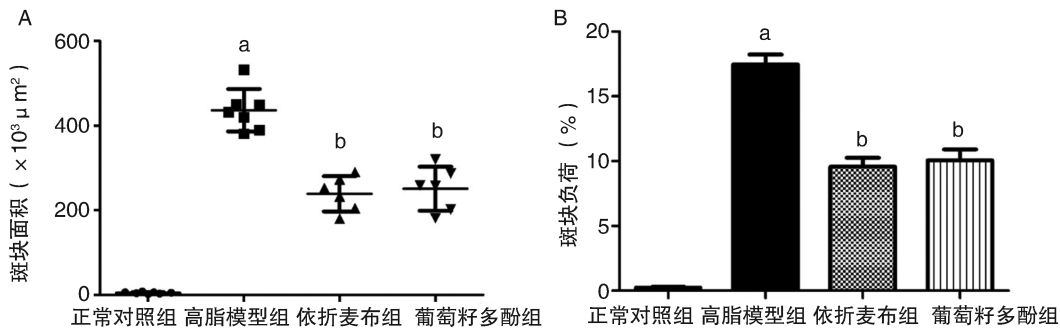


图 4. 各组 $LDLR^{-/-}$ 小鼠主动脉根部斑块面积及斑块负荷 A 为主动脉根部斑块面积定量结果,B 为斑块负荷定量结果。a 为 $P < 0.001$,与正常对照组比较;b 为 $P < 0.01$,与高脂模型组比较。

Figure 4. Atherosclerosis plaque areas in aortic roots (A) and plaque percentages (B) in $LDLR^{-/-}$ mice

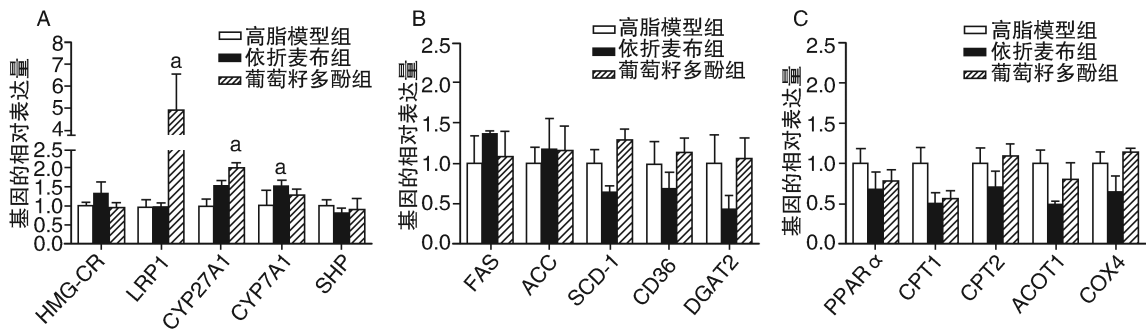


图 5. 各组 $LDLR^{-/-}$ 小鼠肝脏中脂质代谢相关基因的表达水平 A 为肝脏中与脂质氧化相关的基因,B 为脂质合成相关的基因,C 为其它与脂质代谢相关的基因的表达。a 为 $P < 0.01$,与高脂模型组比较。

Figure 5. Liver mRNA level of the genes related to lipid metabolism in $LDLR^{-/-}$ mice

食诱导下,高脂模型组小鼠主动脉发生明显的 As 病变,葡萄籽多酚明显减少小鼠 As 的斑块面积;葡萄籽多酚降脂及抗动脉粥样硬化效果与阳性药物依折麦布相当。

为进一步研究葡萄籽多酚降脂作用的机制,本实验检测了肝脏脂质代谢通路相关基因的表达。PPAR α 对线粒体和过氧化物酶体脂肪酸氧化具有重要的调控作用。肝组织中的 PPAR α 主要功能是促进游离脂肪酸氧化,减少肝脏中脂质的沉积,促进肝脏对外周组织脂肪酸的摄取,CPT1、CPT2、ACOT1、COX4 均为其下游的靶基因^[8]。结果发现与高脂模型组相比,葡萄籽多酚组的脂肪酸氧化的基因的表达均未发生明显的变化,说明葡萄籽多酚不能促进游离脂肪酸氧化并增加肝脏对外周组织中脂肪酸的摄取。CD36 是 PPAR γ 的靶基因,它的主要作用是将从外周循环中的游离脂肪酸逆转运至肝脏,再在肝细胞中进一步合成 TG。SREBP-1c 是脂肪酸和 TG 合成相关酶的关键转录因子,SREBP-1c 下游的靶基因主要有 FAS、ACC 和 SCD-1,在脂肪酸和 TG 合成过程中具有重要的作用^[9]。DGAT2

是催化甘油三酯合成反应最后一步的关键酶,主要参与肝脏中 TG 的合成和血液中 TG 水平的调节。我们发现与高脂模型组相比,葡萄籽多酚与 TG 合成相关的基因的表达均未发生明显的变化,说明葡萄籽多酚不是通过减少甘油三酯的合成来降低血浆中的 TG 水平。LRP1 是一种内吞性的多功能受体,可与极低密度脂蛋白(VLDL)和乳糜微粒(CM)的形成的残粒脂蛋白结合,促进其被肝细胞的摄取代谢,尤其在 LDLR 缺陷的情况下,对于肝脏中脂质的清除发挥着极其重要的作用^[10,11]。研究中我们发现,葡萄籽多酚药物干预可以显著升高肝脏中 LRP1 mRNA 的表达,这一结果提示葡萄籽多酚降低血浆中的 TG 和 TC 水平可能是通过促进血浆中脂质的转运来实现的。

人体内胆固醇来源主要包括肠道吸收和内生性合成。肝脏是胆固醇内生性合成的主要场所,合成过程以乙酰辅酶 A(HMG-CR)为直接原料经过一系列酶促反应完成。HMG-CR 是胆固醇合成的关键酶,其活性大小直接影响着胆固醇合成的速度,影响着体内胆固醇含量的高低。体内的胆固醇除少部分转

化性激素等化合物外,大部分通过高密度脂蛋白(HDL)等逆转运回肝脏,经过胆固醇 CYP7A1 和 CYP27A1 等酶的催化转化成胆汁酸;胆汁酸排泄进入肠道,经肠肝循环重吸收回肝脏,小部分随粪便排出体外^[12]。胆汁酸是胆固醇主要的代谢去路,人体内约有 50% 左右的胆固醇在肝内转化为胆汁酸,而胆汁酸的合成主要有两条途径,一条为中性合成途径,该通路的限速酶为 CYP7A1,催化胆固醇合成 7 α 羟化胆固醇,进而通过一系列的酶催化反应生成胆汁酸;另一条为替代途径,该通路的限速酶为 CYP27A1,是催化胆汁酸生物合成酸性物质的第一步。CYP27A1 不仅影响胆汁酸的生物合成,肝外组织中 CYP27A1 催化的胆固醇 27 位代谢产物,亦可以流入肝脏代谢成胆汁酸^[13]。研究结果表明,葡萄籽多酚显著上调了肝脏中 CYP27A1 的 mRNA 表达,CYP7A1 的 mRNA 表达水平也有增加趋势。提示葡萄籽多酚可能通过中性合成途径及替代途径增加胆固醇转化成胆汁酸降低血浆中胆固醇的水平。阳性药物依折麦布降血脂的主要作用机制是抑制肠道胆固醇的吸收,在本实验中我们发现依折麦布也可能通过上调肝脏中 CYP7A1 的表达,作用于中性合成途径促进胆固醇代谢为胆汁酸。

与降低血脂效果一致,葡萄籽多酚能够显著降低动物模型的动脉粥样硬化斑块面积。As 是一种多因素参与的疾病,而巨噬细胞内胆固醇的聚集和泡沫细胞的形成在 As 形成过程中始终起着重要作用^[14,15]。本研究发现,与高脂模型组相比,葡萄籽多酚药物干预组小鼠主动脉根部斑块中巨噬细胞浸润明显减少,这一结果提示葡萄籽多酚可能通过减少巨噬细胞来源的泡沫细胞的形成进而减轻 As 斑块病变。

综上所述,葡萄籽多酚抗动脉粥样硬化作用涉及降低血浆中 TC 和 TG 水平,减少巨噬细胞来源的泡沫细胞的形成,进而抑制和减缓 As 的发生和发展;其降脂机制可能通过胆固醇代谢中的替代途径和中性合成途径增加胆固醇转化成胆汁酸,促进脂质的转运来实现的。葡萄籽多酚作为一种天然、经济和安全的膳食性多酚^[16,17],研究其在降血脂及抗动脉粥样硬化方面的应用,对开发新的、天然的心血管疾病的治疗药物具有十分重要的意义。

[参考文献]

- [1] Sakurai T, Kitadate K, Nishioka H, et al. Oligomerized grape seed polyphenols attenuate inflammatory changes due to antioxidative

properties in coculture of adipocytes and macrophages[J]. J Nutr Biochem, 2010, 21(1): 47-54.

- [2] Belleville J. The French paradox: possible involvement of ethanol in the protective effect against cardiovascular diseases[J]. Nutrition, 2002, 18(2): 173-177.
- [3] 何培源, 李静, 蒋立新. 依折麦布临床研究最新进展[J]. 心血管病学进展, 2012, 3(2): 168-171.
- [4] Auger C, Caporiccio B, Landrault N, et al. Red wine phenolic compounds reduce plasma lipids and apolipoprotein B and prevent early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic golden Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*) [J]. J Nutr, 2002, 132(6): 1207-213.
- [5] 欧海龙, 严忠海. LDLR^{-/-}小鼠中脂代谢相关基因的表达[J]. 中国动脉硬化杂志, 2012, 20(12): 1088-092.
- [6] 翟小亚, 郭航远. 黄酒多酚对 LDLR^{-/-}小鼠 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 表达和动脉粥样硬化斑块的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2013, 21(12): 1069-074.
- [7] Agouni A, Lagrue-Lak-Hal AH, Mostefai HA, et al. Red wine polyphenols prevent metabolic and cardiovascular alterations associated with obesity in Zucker fatty rats (Fa/Fa) [J]. PLoS One, 2009, 4(5): e5557.
- [8] Yuan ZY, Liu Y, Liu Y, et al. PPAR-gamma ligands inhibit the expression of inflammatory cytokines and attenuate autoimmune myocarditis[J]. Chin Med J (Engl), 2004, 117(8): 1253-255.
- [9] Watanabe M, Houten S M, Wang L, et al. Bile acids lower triglyceride levels via a pathway involving FXR, SHP, and SREBP-1c [J]. J Clin Invest, 2004, 113(10): 1408-418.
- [10] 冯浩, 史洪恩. 低密度脂蛋白受体相关蛋白-1: 一种多重黏附调节因子调节肿瘤细胞的侵袭[J]. 转化医学杂志, 2013, 8(4): 232-235.
- [11] 颖莉, 赵炳让, 秦勤. 低密度脂蛋白受体相关蛋白与动脉粥样硬化的关系[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2003, 6(3): 167-172.
- [12] 范辉, 郭姣. 以调节胆固醇 7 α -羟化酶为靶标的生物活性成分研究进展[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(8): 692-695.
- [13] Redinger RN. Nuclear receptors in cholesterol catabolism: molecular biology of the enterohepatic circulation of bile salts and its role in cholesterol homeostasis[J]. J Lab Clin. Med, 2003, 142(1): 7-20.
- [14] Vinson J A, Teufel K, Wu N. Red wine, dealcoholized red wine, and especially grape juice, inhibit atherosclerosis in a hamster model[J]. Atherosclerosis, 2001, 156(1): 67-72.
- [15] Aviram M, Fuhrman B. Wine flavonoids protect against LDL oxidation and atherosclerosis[J]. NY Acad Sci, 2002, 957: 146-161.
- [16] Mennen L I, Walker R, Bennetau-Pelissier C, et al. Risks and safety of polyphenol consumption[J]. Am J Clin Nutr, 2005, 81(1): 326S-329S.
- [17] Bagchi D, Sen C K, Ray S D, et al. Molecular mechanisms of cardio protection by a novel grape seed proanthocyanidin extract[J]. Mutat Res, 2003, 523-524: 87-97.

(此文编辑 李小玲)