

水蛭对动脉粥样硬化发生的相关细胞作用研究进展

张 娥, 徐黎栩, 赵统德, 高 婧, 宋淑亮, 吉爱国

(山东大学威海海洋学院, 山东省威海市 264209)

[关键词] 水蛭; 动脉粥样硬化; 血管内皮细胞; 巨噬细胞; 血管平滑肌细胞

[摘 要] 心脑血管疾病是严重威胁人类健康的常见疾病, 是全球的头号死因。动脉粥样硬化被认为是众多心脑血管疾病的发病基础。我国传统中药水蛭中包含多种活性物质, 这些活性物质在防治心脑血管疾病等多种复杂疾病过程中发挥着多组分、多靶点的协同作用。近年来, 水蛭及含有水蛭的中成药或复方制剂已广泛应用于心脑血管疾病临床治疗中。本文重点就水蛭对动脉粥样硬化发生中内皮细胞、巨噬细胞和平滑肌细胞三类主要细胞的作用研究进展进行综述。

[中图分类号] R9

[文献标识码] A

The research progress of hirudo on the related cells in the progression of atherosclerosis

ZHANG E, XU Li-Xu, ZHAO Tong-De, GAO Jing, SONG Shu-Liang, JI Ai-Guo

(Weihai Marine College, Shandong University, Weihai, Shandong 264209, China)

[KEY WORDS] Hirudo; Atherosclerosis; Vascular endothelial cell; Macrophage; Vascular smooth muscle cell

[ABSTRACT] Cardiovascular disease is one of the common diseases, and also is a serious threat to human health. Now cardiovascular disease has becoming the world's leading cause of death. Atherosclerosis is considered to be the basis of the onset of cardiovascular diseases. Chinese traditional medicine hirudo contains a variety of active substances which plays a multicomponent, multiple targets in the process of synergy for the prevention and treatment of many complex diseases such as cardiovascular disease. In recent years, hirudo and proprietary Chinese medicine or compound preparations containing hirudo has been widely used in the clinical treatment of cardiovascular disease. This article was mainly about the effect of hirudo on vascular endothelial cell, macrophage, and vascular smooth muscle cell in atherosclerosis.

动脉粥样硬化是由多种细胞及细胞因子共同参与的慢性炎症反应性疾病。由于脂质在动脉血管壁中大量堆积, 导致管壁增厚、变硬, 动脉弹性变差、管腔变窄。它是一种由多种细胞及细胞因子共同参与的慢性炎症性疾病^[1]。动脉粥样硬化引起的心血管疾病对人类健康的危害极大, 其发病率呈逐年增高的趋势, 已成为我国乃至世界首位人口死亡原因。其中我国 75% 以上的致残致死心血管疾病均由动脉粥样硬化引起, 提示动脉粥样硬化已成为危害我国公民健康的最严重因素之一^[2]。因此, 对动脉粥样硬化的早期治疗具有很大的临床意义。水蛭因具有抗凝、抗血栓、抗炎、内皮细胞保护以及抗纤维化等药理作用而对治疗动脉粥样硬化有积

极作用。近年来, 水蛭及含有水蛭的中成药或复方制剂已广泛应用于心脑血管疾病临床治疗中。本文重点综述水蛭对动脉粥样硬化中主要相关细胞的作用, 以期促进水蛭在动脉粥样硬化治疗中的作用。

1 水 蛭

水蛭作为传统中药古代医书中多有记载, 化学成分复杂, 药理作用广泛。《神农本草经》对其功效描述较为详尽, 谓其“水蛭味咸平, 主逐恶血, 瘀血, 月闭, 破血癖积聚。五子, 利水道”。2015 年药典规定, 药用水蛭为水蛭科动物蚂蝗、水蛭或柳叶蚂蝗

[收稿日期] 2017-03-17

[修回日期] 2017-07-04

[基金项目] 山东省自然科学基金项目 (ZR2015PH050)

[作者简介] 张娥, 硕士研究生, 研究方向为生物工程, E-mail 为 ezhang815@126.com。通讯作者吉爱国, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为微生物与生化药学, E-mail 为 jiaiguo@sdu.edu.cn。

的干燥全体。现代中医临床中,以煎剂、胶囊剂、片剂、丸剂、口服液等剂型广泛使用水蛭中成药及其复方制剂。随着对其化学成分、药理作用研究的日益深入,水蛭作为一种相对安全、疗效好、无明显毒副作用的传统中药,在动脉粥样硬化临床治疗中必将具有广阔的医学应用前景。

水蛭中的活性物质主要为蛋白质和多肽类大分子,按药理作用大致分为两类:一类为直接作用于凝血系统的活性成分,如水蛭素、类肝素、吻蛭素、组织胺等;另一类是其他蛋白酶抑制剂和纤溶酶等,如血小板聚集抑制剂 LAPP、胰蛋白酶抑制剂 Bdelins、纤溶酶 Hementin 等。除此之外,水蛭中还含有小分子化合物和微量元素。小分子化合物主要包括蝶啶类、糖脂类、羧酸酯类和甾体类等^[3-4]。

2 水蛭在动脉粥样硬化相关疾病中的治疗应用

动脉粥样硬化是不稳定型心绞痛、心肌梗死、脑梗死等疾病的病理基础,大量研究表明水蛭成分对这些疾病有较好的治疗作用。王峰等^[5]将 60 例冠心病不稳定型心绞痛心血瘀阻证患者随机分为水蛭提取物组和常规组,治疗前和治疗后 1 个月分别测定血清一氧化氮、内皮素 1、血栓素 B2 和 6-酮-前列腺素的水平,结果表明水蛭提取物具有改善冠心病不稳定型心绞痛心血瘀阻证患者血管内皮功能的作用。安小军等^[6]通过对心肌梗死 4 周以上、病情稳定后的患者在常规治疗的基础上给予中药免煎颗粒水蛭、葛根口服,监测患者血浆 B 型脑钠肽的变化,探讨中药水蛭、葛根对改善陈旧性心肌梗死患者心脏功能的效果,结果表明长期小剂量服用中药免煎颗粒水蛭、葛根对改善心肌代谢,提高心脏功能有效,可以应用在陈旧性心肌梗死的后续治疗中,能提高治疗心肌梗死的疗效,对预防再发心肌梗死有临床价值,无不良反应发生。蒋家银等^[7]将 100 例急性脑梗死患者随机分为治疗组和对照组各 50 例,对照组采用红花注射液等常规治疗方案,治疗组在对照组的基础上加用水蛭溶栓胶囊治疗。结果表明治疗组在全血黏度、血浆黏滞度、血浆纤维蛋白原水平上与对照组相比差异均具有统计学意义,水蛭溶栓胶囊联合红花注射液治疗急性脑梗死疗效较好,值得临床推广应用。以上结果表明水蛭在动脉粥样硬化为基础的心脑血管疾病的治疗中发挥着重要的作用。

3 动脉粥样硬化发生的相关细胞

动脉粥样硬化的发病过程极其复杂,其基本发展过程是由内皮功能紊乱开始,进而低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)通过细胞间隙进入内皮下层,而发生功能障碍的血管内皮细胞表面表达的黏附因子增加,使血液循环中的单核细胞易黏附于血管内皮表面,进而单核细胞在其释放的趋化因子的作用下迁移至内皮下层。这些单核细胞在集落刺激因子(colony stimulating factor, CSF)的作用下分化为巨噬细胞,然后吞噬内皮下层的氧化或者乙酰化 LDL,成为早期动脉粥样硬化的标志—泡沫细胞,此时即可形成早期的脂质条纹。当巨噬细胞吞噬了过多的 LDL 成为泡沫细胞后会凋亡、裂解使脂质释放,并进一步在内皮下层堆积。泡沫细胞裂解的同时,在多种炎症介质的刺激下分泌大量的促炎性细胞因子如肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 1 β 、白细胞介素 6、白细胞介素 8、转化生长因子 β 及趋化因子单核细胞趋化蛋白 1 等,继而招募更多的巨噬细胞及其他炎症细胞到内皮下层以及放大炎症细胞浸润和基质降解^[8-9]。伴随上述病理发展过程,血管平滑肌细胞会从血管中膜迁移至内皮下,形成覆盖脂质核心的纤维帽结构。复杂斑块可依照其中血管平滑肌细胞构成的纤维帽的厚薄分为稳定性斑块和不稳定性斑块。稳定性斑块纤维帽厚,不容易破裂,在血管内膜下逐渐增大而导致管腔狭窄;不稳定性斑块由于纤维帽较薄,容易发生破裂,释放出内容物,而引起血小板聚集,形成血栓。

目前,参与动脉粥样硬化的主要细胞包括血管内皮细胞、单核/巨噬细胞以及血管平滑肌细胞,此外还有中性粒细胞、肥大细胞、树突细胞以及 T 细胞等^[10]。其中,血管内皮细胞、巨噬细胞和血管平滑肌细胞在动脉粥样硬化的发生发展过程中各自发挥着不同的关键作用。

4 水蛭对血管内皮细胞的作用

血管内皮细胞(vascular endothelial cell, VEC)为覆盖于血管内腔表面的连续单层扁平鳞状细胞,是人体面积最大的旁分泌器官,它可以合成和释放多种血管活性因子:①血管舒张因子如一氧化氮、前列环素 I2、超级化因子;②血管收缩因子如内皮素 1、血栓素 A2;③其他血管活性因子如白细胞介素、粒细胞集落刺激因子、血管紧张素 II 等^[11],这些物质相互拮抗使 VEC 的抗动脉粥样硬化与促动脉

粥样硬化作用保持了动态平衡。VEC 生理功能多样,均通过其合成释放的血管活性因子发挥作用,其生理功能的稳定性对维持机体的稳态极为重要。当血管内皮细胞受到各种危险因子如促炎细胞因子、病毒和细菌产物、糖基化终末产物、高胆固醇血症和氧化修饰的脂蛋白的损伤时,其生理功能发生障碍^[12]。内皮细胞功能障碍是早期动脉粥样硬化过程中重要的病理变化,是动脉粥样硬化起始的第一步。内皮细胞功能障碍可导致血管张力调节障碍和黏附分子的表达异常,即血管内皮依赖性舒张反应减弱甚至消失,血管痉挛、异常收缩、血管增生及动脉粥样硬化形成;异常高黏附性的内皮细胞表面变为促凝表面,血液中单核细胞等更易黏附于血管内皮表面,进一步迁移至动脉内皮下间隙,转化为泡沫细胞^[13]。内皮细胞功能障碍是动脉粥样硬化的发病基础,故改善内皮细胞功能障碍可有效防治动脉粥样硬化。

凝血酶引起的 VEC 中钙离子浓度增加、通透性增强、形态改变是导致血管内皮损伤进而发生血管内皮功能障碍的重要危险因素之一^[14]。新鲜水蛭唾液腺含有水蛭素,它是迄今为止发现的最有效、最安全的凝血酶特异性抑制剂^[15],通过 1:1 的结合方式形成非共价可逆复合物而发挥抗凝作用。水蛭素的氨基酸序列中含有一个由 Pro-Lys-Pro 组成的特殊结构,因为这个特殊结构的存在致使它不仅不能被凝血酶降解,还可以引导水蛭素与凝血酶以正确的方向结合。水蛭素与凝血酶的结合能力强,在很低的浓度下就可以中和凝血酶,结合速度较纤维蛋白原快,抑制凝血酶水解纤维蛋白原的能力,从而使纤维蛋白原不能转变为纤维蛋白,进而阻止了纤维蛋白的凝固。

王敏等^[16]研究发现,内皮细胞与凝血酶共孵育后,细胞形态发生显著改变,呈现细胞间隙明显加宽,细胞皱缩,透光度减低,边缘模糊,部分损伤严重的细胞漂浮脱落,用水蛭素干预后,细胞大体形态基本保持正常。刘良红等^[17]采用水蛭提取液干预体外凝血酶诱导损伤的人脐静脉内皮细胞,结果发现人脐静脉内皮细胞经凝血酶作用后形态有所改变,显微镜下主要表现为细胞间隙略增大,细胞收缩变圆,水蛭活性提取液干预凝血酶所刺激的细胞之后,细胞形态较正常,细胞仍紧密嵌合。

高脂血症所致的血清过氧化脂质(lipid peroxidation, LPO)增加是导致血管内皮损伤的另一重要危险因素。脂肪组织本身可产生炎性脂肪细胞因子,参与动脉粥样硬化的形成,同时 LPO 可以加强

血清和细胞膜脂质的过氧化程度,促进 LDL 的氧化修饰,进而使内皮细胞遭受氧化损伤,导致动脉粥样硬化的进一步发展。另有研究表明高脂血症可造成内皮型一氧化氮合酶合成释放的一氧化氮减少,生物利用度降低。高丽娟等^[18]研究表明,水蛭对大鼠内脏肥胖有一定的减肥作用,可减少体内脂肪沉积,调节血脂、血糖代谢,改善机体代谢紊乱,抑制动脉粥样硬化形成。罗哲荣等^[19]利用高脂饲料造成兔高脂血症模型进行实验,发现低剂量水蛭组抗血脂异常升高的效果最为显著,说明低剂量水蛭就可以达到有效的降血脂功能。

血管活性因子是调节血管内皮功能的重要活性物质。VEC 分泌的血管活性因子中,内皮素是目前已知作用最强的长效血管收缩剂,NO 是主要的舒血管物质,NO/内皮素是一对维持血管壁基础张力的细胞因子^[20],血管紧张素 II 能强烈收缩外周小动脉,调节血压作用强。梁桂文等^[21]采用水蛭粉喂养大耳白兔,发现水蛭粉组 NO、前列腺环素水平明显升高。郭光业等^[22]研究发现复方水蛭胶囊可以显著降低内皮素并升高 NO 含量,从而调节 NO/内皮素的平衡,恢复血管内皮功能,使机体内环境的失调状态趋于正常。

由以上研究表明,水蛭可以逆转血管内皮功能障碍,对血管内皮具有保护作用。

5 水蛭对巨噬细胞的作用

巨噬细胞是第一个被认为与动脉粥样硬化相关的炎症细胞,也是推动动脉粥样硬化发展的主要细胞,随着研究的不断深入,巨噬细胞在炎症条件下的可塑性和异质性成为目前研究者关注的焦点^[23]。

动脉粥样硬化斑块中含有单核细胞、单核细胞来源的巨噬细胞、氧化型低密度脂蛋白(oxidized LDL, ox-LDL)负载的巨噬细胞和 T 淋巴细胞等炎症反应细胞。单核细胞迁移至内皮下层后,在粒细胞集落刺激因子作用下分化为巨噬细胞,然后吞噬内皮下层中的 ox-LDL 成为泡沫细胞,此时即可形成早期的脂质条纹。当巨噬细胞吞噬了过多的 ox-LDL 之后,其会死亡然后使脂质进一步堆积在内皮下层,同时释放各种趋化因子,招募更多的巨噬细胞以及平滑肌细胞到内皮下层。随着这个过程的持续,动脉粥样斑块就会进一步发展。

在整个过程中,动脉粥样硬化与 ox-LDL 密切相关。当机体内胆固醇和脂质的积累不断增加时,氧

自由基的产生和消除失衡,导致活性氧(reactive oxygen species, ROS)蓄积。蓄积的 ROS 能使内皮下间隙的 LDL 氧化修饰生成 ox-LDL。ox-LDL 不仅不能被巨噬细胞上的清道夫受体识别和接受,形成泡沫细胞,而且对形成的泡沫细胞产生氧化损伤,同时促进血液循环中的单核细胞黏附于内皮并向内皮下间隙趋化,进一步形成巨噬细胞。巨噬细胞吞噬 ox-LDL 后,明显升高胞内胆固醇含量,氧化损伤细胞器,包括线粒体膜电位下降,细胞核内 DNA 断裂,严重时导致细胞死亡。泡沫细胞死亡后胞膜进一步破裂,脂质释放形成脂质核心。水蛭酶解物依赖胞内自噬过程,通过上调自噬作用降低泡沫细胞内脂质含量,使其形成受到抑制,并具有抗 ox-LDL 氧化损伤的作用。近年来有许多的研究表明自噬过程可以调节胞内脂质代谢,其中 Mei 等^[24]发现 p38 丝裂原活化蛋白激酶通过上调自噬活性,增强脂滴通过自噬方式产生游离胆固醇并排除细胞外,使胞内积聚的胆固醇减少,泡沫细胞形成受到抑制。

刘东泽等^[25]的研究中,通过体外建立泡沫细胞,观察水蛭酶解物对泡沫细胞的作用,选定低(75 mg/L)、中(150 mg/L)、高(300 mg/L)三个给药浓度,结果发现随着给药浓度的增加,降低胆固醇的能力逐渐增强,并表现出剂量依赖性。进一步研究表明,水蛭酶解物不能影响胆固醇的外排作用,但可以上调 ACAT1 的转录水平,水蛭酶解物通过自噬过程抑制泡沫细胞形成和对抗 ox-LDL 的氧化损伤作用。杨洪雁等^[26]通过复合多因素制备家兔血瘀证模型,结果发现水蛭能显著降低血清中的总胆固醇、血清甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇水平,对于动脉粥样硬化中的泡沫细胞形成具有抑制作用。

6 水蛭对血管平滑肌细胞的作用

血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)的增殖、凋亡、迁移是动脉粥样硬化形成过程中的关键因素之一。VSMC 是构成血管壁的重要组成部分,也是动脉粥样硬化斑块主要的细胞成分。生理条件下,VSMC 的增殖和凋亡保持平衡,而在动脉粥样硬化斑块发展的中、后期,巨噬细胞释放的炎症趋化因子如白细胞介素 1 β 、转化生长因子 β 、肿瘤坏死因子 α 等促使 VSMC 从中膜向内膜下迁移、增殖,且 VSMC 的形态结构发生改变,肌丝成分减少,粗面内质网和高尔基体发达,VSMC 的表型由收缩型转变为合成型。合成型的 VSMC 能够合成和分泌多种细胞外基质,改变细胞周围的微环

境,故又可影响 VSMC 的增殖、黏附和迁移过程。大量增殖的 VSMC 吞噬 ox-LDL 形成泡沫细胞,进而形成覆盖脂质核心的纤维帽结构。因此,通过抑制炎症状态有利于抗动脉粥样硬化治疗。水蛭在实验以及临床中都表现出具有抗炎作用。凝血酶是炎症反应的诱导物之一,诱导炎症发生。水蛭素作为凝血酶的特异性抑制剂,可以有效地抵抗炎症反应的发生。对动物慢性前列腺炎模型研究发现,水蛭能够降低动物模型的前列腺指数,改善病理组织学上的改变,说明水蛭具有抗炎作用^[27]。

陈国伟等^[28]以载脂蛋白 E^{-/-}小鼠为动物模型,通过实验观察到水蛭素可以有效降低动脉粥样硬化进程中由单核-巨噬细胞分泌的重要炎症因子肿瘤坏死因子 α 的水平,并抑制血管平滑肌细胞增殖,证实水蛭的抗炎作用。因此推测水蛭通过抗炎进一步抑制血管平滑肌细胞增殖是其抑制动脉粥样硬化斑块的可能机制之一。

有研究表明,水蛭素可以抑制凝血酶诱导的血管平滑肌细胞增殖,可能是通过抑制血小板源性生长因子及增殖细胞核抗原实现。王敏等^[29]的实验结果证明凝血酶是促进血管平滑肌细胞增殖的重要因子,体外培养的血管平滑肌细胞经凝血酶诱导后,表现为生长活性增强,细胞周期中处于增殖期的细胞增多,血小板源性生长因子及增殖细胞核抗原表达增强,加入水蛭素后能显著抑制上述一系列反应。李洋洋等^[30]观察水蛭粉对动脉粥样硬化大鼠血管平滑肌细胞影响及其可能机制,结果表明水蛭粉可能通过调节血脂减少脂质浸润,抑制平滑肌细胞表型转化、增殖和迁移等环节,抑制内膜增厚,减缓动脉粥样硬化的进展。此外,体外实验表明,低浓度水蛭素对体外培养的兔血管平滑肌细胞生长无明显抑制作用,中、高浓度水蛭素可抑制兔血管平滑肌细胞的生长,亦证明水蛭素可以抑制血管平滑肌细胞增殖^[31]。

7 结 语

水蛭的化学成分复杂,每种成分不仅仅作用于单一细胞,并且细胞与细胞之间存在相互作用。因此针对动脉粥样硬化形成和发展主要涉及的内皮细胞、巨噬细胞和平滑肌细胞等三类细胞及多种细胞因子,在细胞水平和动物水平上进行多细胞、多因素的系统性研究,对于阐明水蛭在防治动脉粥样硬化中多组分、多靶点药理作用机制以及研制防治动脉粥样硬化形成和发展的药物都具有重要的理

论和现实意义。

[参考文献]

- [1] Tousoulis D, Oikonomou E, Economou EK, et al. Inflammatory cytokines in atherosclerosis: current therapeutic approaches[J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(22): 1723.
- [2] Lusis AJ. Atherosclerosis[J]. *Nature*, 2000, 407(6801): 233-241.
- [3] 刘璇, 高美凤, 孔毅. 水蛭化学成分及药理作用的研究进展[J]. *药物生物技术*, 2017, 24(1): 76-80.
- [4] 郭晓庆, 孙佳明, 张辉. 水蛭的化学成分与药理作用[J]. *吉林中医药*, 2015, 35(1): 47-50.
- [5] 王峰, 王植荣, 陈建业, 等. 水蛭提取物对冠心病不稳定型心绞痛患者血管内皮功能的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2013, 11(10): 1188-189.
- [6] 安小军, 杨文明, 李静亚, 等. 长期小剂量服用中药免煎颗粒水蛭、葛根对陈旧性心肌梗死患者血浆BNP的影响[J]. *河北医药*, 2016, 38(11): 1691-693.
- [7] 蒋家银. 水蛭溶栓胶囊合红花注射液治疗急性脑梗死50例临床疗效观察[J]. *中国民族民间医药*, 2014, 23(1): 81.
- [8] Tabas I, Glass CK. Anti-inflammatory therapy in chronic disease: challenges and opportunities[J]. *Science*, 2013, 339: 166-172.
- [9] Swirski FK, Nahrendorf M. Leukocyte behavior in atherosclerosis, myocardial infarction, and heart failure[J]. *Science*, 2013, 339: 161-166.
- [10] Libby P. Inflammation in atherosclerosis[J]. *Nature*, 2002, 420: 868-874.
- [11] 周涛, 范忠才. 血管内皮细胞与动脉粥样硬化的关系[J]. *现代医药卫生*, 2016, 32(5): 708-710.
- [12] Gimbrone MA Jr, García-Cardena G. Vascular endothelium, hemodynamics, and the pathobiology of atherosclerosis[J]. *Cardiovasc Pathol*, 2013, 22(1): 9-15.
- [13] 饶璇, 李元建. 内皮细胞损伤与修复的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25(5): 531-535.
- [14] Li J, Tan M, Xiang Q, et al. Thrombin-activated platelet-derived exosomes regulate endothelial cell expression of ICAM-1 via microRNA-223 during the thrombosis-inflammation response[J]. *Thromb Res*, 2017, 154: 96-105.
- [15] 黄胜, 熊伟, 姚俊杰, 等. 水蛭素提取纯化研究进展[J]. *中国生化药物杂志*, 2017, 37(2): 313-315.
- [16] 王敏, 崔连群, 张承俊, 等. 凝血酶诱导血管内皮细胞生长因子的表达及水蛭素的抑制作用[J]. *中国新药杂志*, 2004, 13: 226-230.
- [17] 刘良红. 水蛭活性提取液对凝血酶诱导的血管内皮细胞释放作用的影响[D]. 湖南中医药大学, 2014.
- [18] 高丽娟. 水蛭对动脉粥样硬化大鼠防治作用及其机制的研究[D]. 天津医科大学, 2013.
- [19] 罗哲荣. 水蛭对血脂的调节作用及其机制的初步研究[D]. 东北农业大学, 2014.
- [20] 方以群, 刘长云, 周颖奇, 等. 高压氧对急性脑创伤后皮层一氧化氮合酶 mRNA 表达的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2012, 28: 38-41.
- [21] 梁桂文, 姜敏辉. 水蛭素对动脉内皮保护作用的实验研究[J]. *天津医药*, 2012, 40: 1234-236.
- [22] 郭光业, 郑彩华, 赵剑峰, 等. 复方水蛭胶囊防治动脉粥样硬化单因素效应分析[J]. *时珍国医国药*, 2007, 18(3): 531-532.
- [23] Murray PJ, Allen JE, Biswas SK, et al. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines[J]. *Immunity*, 2014, 41: 14-20.
- [24] Mei S, Gu H, Ward A, et al. p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) promotes cholesterol ester accumulation in macrophages through inhibition of macroautophagy[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287: 11761-768.
- [25] 刘东泽. 水蛭酶解物对动脉粥样硬化中泡沫细胞的作用及机制研究[D]. 山东大学, 2014.
- [26] 杨洪雁, 张香东, 刘可圆, 等. 水蛭对血瘀证家兔血脂代谢及相关基因表达的影响[J]. *中国现代应用药学*, 2013, 30: 959-963.
- [27] Philip J, Armitage DW, Phillips KR, et al. Whitmanian therapy for penoscrotal oedema in patients with hormone-refractory prostate carcinoma[J]. *BJU Int*, 2003, 91: 579-580.
- [28] 陈国伟, 潘阳, 商亮, 等. 水蛭对载脂蛋白E基因敲除鼠动脉粥样硬化斑块的影响[J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2013, 34: 344-347.
- [29] 王敏. 水蛭素抑制血管平滑肌细胞增殖和内皮细胞损伤及其机理的研究[D]. 山东大学, 2004.
- [30] 李洋洋, 杨乔, 胡耀红. 水蛭粉对动脉粥样硬化大鼠血管平滑肌细胞的影响[J]. *中成药*, 2016, 38(4): 894-898.
- [31] 任晓霞, 王显, 庞兴学, 等. 水蛭素对体外培养的兔血管内皮细胞及平滑肌细胞生长的影响[J]. *医学综述*, 2011, 17: 1570-573.

(此文编辑 文玉珊)