

[文章编号] 1007-3949(2019)27-08-0655-06

· 实验研究 ·

芎芩胶囊药物组分协同降低 RAW264.7 源性泡沫细胞胆固醇含量及抗炎作用

梅俊¹, 周庆兵², 徐浩³, 徐凤芹²

(1. 中国中医科学院研究生院, 北京市 100700; 2. 中国中医科学院老年医学研究所, 北京市 100091;

3. 中国中医科学院心血管病研究所, 北京市 100091)

[关键词] 川芎嗪; 芍药苷; 泡沫细胞; 炎症因子

[摘要] 目的 从体外细胞实验的角度, 观察芎芩胶囊药物组分对泡沫细胞内胆固醇及炎症因子的影响作用。方法 以氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导 RAW264.7 细胞泡沫化; 以 CCK-8 试剂检测泡沫细胞增殖活性; 以胆固醇检测试剂盒检测泡沫细胞内总胆固醇(TC)、游离胆固醇(FC)含量, 油红 O 染色结果观察细胞内脂质分布, 以 ELISA 试剂盒检测炎症因子肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 和白细胞介素 1 β (IL-1 β) 的浓度。结果 CCK-8 检测结果提示川芎嗪、芍药苷在 80 mg/L 浓度以下对泡沫细胞增殖活性没有明显影响; 40 mg/L 川芎嗪加载 80 mg/L 芍药苷可以明显降低泡沫细胞内 TC、FC 含量, 减少泡沫细胞内脂质沉积, 抑制泡沫细胞分泌 TNF- α 和 IL-1 β 。结论 芎芩胶囊有效成分(川芎嗪、芍药苷)能够协同降低 RAW264.7 源性泡沫细胞内胆固醇含量, 并减少泡沫化细胞产生的炎症因子 TNF- α 、IL-1 β , 具备一定的抗炎作用。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Synergistic effect of components of Xiongshao capsule on reducing cholesterol content and inflammation in foam cells derived from RAW264.7 cells

MEI Jun¹, ZHOU Qingbing², XU Hao³, XU Fengqin²

(1. Graduate School, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700; 2. Institute of Geriatrics, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091; 3. Institute of Cardiovascular Disease, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091)

[KEY WORDS] ligustrazine; paeoniflorin; foam cells; inflammatory factors

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effects of components of Xiongshao capsule on cholesterol and inflammatory factors on foam cells in vitro. **Methods** Oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL) was used to induce the foaming of RAW264.7 cells. The proliferation activity of foam cells was detected by CCK-8 reagent. The total cholesterol (TC) and free cholesterol (FC) in foam cells were detected by cholesterol test kit, and the lipid distribution in cells was observed by oil red staining. The concentration of inflammatory factors, tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and interleukin 1beta (IL-1 β) was detected by ELISA kit. **Results** The results of CCK-8 showed that ligustrazine and paeoniflorin had no obvious effect on the proliferation of foam cells under 80 mg/L concentration. 40 mg/L ligustrazine plus 80 mg/L paeoniflorin could significantly reduce TC and FC contents in foam cells, reduce lipid deposition in foam cells, and inhibit the secretion of TNF- α and IL-1 β by foam cells. **Conclusion** It is proved that the effective components of Xiongshao capsule, ligustrazine and paeoniflorin, can reduce the cholesterol content in foam cells derived from RAW264.7 cells and reduce the inflammatory factors, TNF- α and IL-1 β produced by foam cells which have an potential ability to inhibit inflammatory reaction.

[收稿日期] 2018-10-11

[修回日期] 2019-02-19

[基金项目] 国家自然科学基金(81473529); 中国中医科学院自主课题项目(220808043)

[作者简介] 梅俊, 博士研究生, 研究方向为中西医结合临床心血管病防治, E-mail 为 mjjc1989@126.com。通信作者徐浩, 博士, 教授, 研究方向为中西医结合临床心血管病防治, E-mail 为 xuhaotcm@hotmail.com。通信作者徐凤芹, 博士, 教授, 研究方向为中西医结合临床心血管病防治, E-mail 为 doctorxu@aliyun.com。

巨噬细胞吞噬氧化型低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, ox-LDL)或胆固醇外流能力下降导致的细胞内脂质蓄积是泡沫细胞形成的主要原因,并加速动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的发展进程;同时,细胞在泡沫化的过程中也会释放一系列细胞因子,其中包括肿瘤坏死因子 α (tumor necrotic factor α , TNF- α)、白细胞介素 1β (interleukin 1 beta, IL- 1β)等促炎因子^[1]。据报道 TNF- α 、IL- 1β 均可损伤血管内皮,并增加动脉粥样硬化斑块大小,其损伤程度与 TNF- α 、IL- 1β 的浓度相关^[2-3]。同时,由泡沫细胞合成分泌的 TNF- α 、IL- 1β 可以下调 ATP 结合盒转运体 A1 (adenosine triphosphate binding cassette transporter A1, ABCA1)、ABCG1 的转录表达,促进巨噬细胞摄取 ox-LDL,诱导巨噬细胞泡沫化,而且 IL- 1β 能够通过自分泌的途径,使自身表达增加,进一步发挥促 As 作用^[4-9]。

课题组前期实验证明芍药胶囊可以促进胆固醇逆转运(reverse cholesterol transport, RCT)相关蛋白 ABCA1、ABCG1、肝 X 受体 α (liver X receptor α , LXR α)表达,防治颈动脉内膜增厚,缩小粥样硬化斑块面积^[10-11],并通过降低 IL-2、IL-8、TNF- α 、髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)等炎症因子表达,发挥抗 As 作用^[10,12-13]。而且有研究发现川芎嗪、氧化芍药苷均可以上调 PPAR γ 、LXR α 和 ABCA1 表达,促进泡沫细胞胆固醇流出^[14-15]。

因此,课题组在芍药胶囊组方药物中选取代表性组分——川芎嗪、芍药苷作为干预药物,但文献对川芎中川芎嗪含量的报道有很大争议,从测不出到占川芎质量的 0.43% 不等,无法根据芍药胶囊配伍剂量固定川芎嗪与芍药苷的比值^[16-20]。因此,我们采取浓度梯度探索川芎嗪、芍药苷不同配伍用药对泡沫细胞胆固醇外流的影响,确定最佳配伍剂量,然后观察其对泡沫细胞胆固醇流出能力和 TNF- α 、IL- 1β 等致 As 细胞因子的作用,以探索芍药胶囊促胆固醇逆转运的物质基础和分子生物学机制。

1 材料和方法

1.1 细胞株

RAW264.7 细胞采购自国家实验细胞资源共享服务平台(北京总部)。

1.2 试剂及药品

细胞培养基(DMEM 高糖培养基+10% 胎牛血清)、DMEM 高糖培养基及胎牛血清(美国 Gibco 公司),ox-LDL(奕源生物科技公司),0.25% 含 EDTA

胰蛋白酶消化液和 Cell Counting Kit-8(CCK-8)试剂盒(南京恩晶生物科技有限公司),油红 O 染料(美国 Sigma 公司),总胆固醇及游离胆固醇检测试剂盒(北京普利莱基因技术有限公司),TNF- α 、IL- 1β ELISA 检测试剂盒(中国台湾 Arigo 公司);盐酸川芎嗪及芍药苷(青岛凯莫思生化科技有限公司)。

1.3 仪器

超净台(哈工联)、恒温 CO₂ 培养箱(日本 SANYO, MCO-15AC)、水浴锅(Heidolph)、低温离心机(德国 Eppendorf 公司, Eppendorf centrifuge 5810R)、倒置相差显微镜(德国 Leica DMIRB)、酶标仪(美国 BioTek, Synergy H1)、全自动细胞计数器(深圳博大博聚科技有限公司)。

1.4 细胞培养

将购得的细胞株分装冻存,剩余 RAW264.7 细胞以含 10% 新生胎牛血清的 DMEM 高糖培养基,于 37.0 °C、5% CO₂ 恒温培养箱中静置培养,视细胞状态更换培养液。当细胞融合成片至视野的 70% ~ 80% 时,移入超净台;吸去培养瓶中残液,每瓶加胰酶 1 mL,置孵箱孵育(37 °C、5% CO₂) 3 min;细胞全部漂浮后,每瓶加 10% 胎牛血清的 DMEM 1 mL 终止,抽吸于离心管中,1 000 r/min 离心 2 min,而后以 1:3 的比例进行细胞传代,平分于 3 个 5 mL 细胞培养瓶中。

1.5 细胞增殖活力的检测

将含有 RAW264.7 细胞的(含 10% 胎牛血清)混悬液,分装于 96 孔板中,每孔 100 μ L,置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中适应性培养 24 h。加入含 80 mg/L ox-LDL 的培养液孵育 24 h,诱导巨噬细胞分化为泡沫细胞,其后更换培养液,加入不同浓度川芎嗪(0、5、10、20、40、80 mg/L)、芍药苷(0、5、10、20、40、80 mg/L)及两者不同配伍浓度干预 24 h,每孔加入 10 μ L CCK-8 试剂孵育 2 h 后,在波长 450 nm 处检测吸光度。根据各组的平均吸光度值计算细胞存活率。

1.6 细胞内胆固醇含量测定

先将 RAW264.7 细胞接种于 6 孔板中,分为 7 组,分别为对照组、模型组、川芎嗪(5、10、20、40、80 mg/L)组,每孔 2 mL,适应性培养 24 h 后,吸出培养液,对照组加入 2 mL DMEM 高糖培养液(含 10% 胎牛血清),其余 6 组均加入 2 mL 含 80 mg/L ox-LDL 的培养液进行泡沫细胞造模,孵育 24 h 后吸出培养液,并用 PBS 洗涤 2 次;其后对照组与模型组分别加入 2 mL DMEM 高糖培养液(含 10% 胎牛血清),

川芎嗪组分别加入含有川芎嗪 5、10、20、40、80 mg/L 的培养液,再次孵育 24 h 后,收集各组细胞培养液 1 mL 备用,其余培养液弃置,并用 PBS 洗涤 2 次,用 0.25% 含 EDTA 胰蛋白酶消化液消化后收集细胞,按照脂质测定试剂盒说明书分别检测总胆固醇 (total cholesterol, TC) 及游离胆固醇 (free cholesterol, FC)。

根据上述检测结果确定川芎嗪对泡沫细胞内胆固醇最佳药效浓度后,再重复上述操作,以该川芎嗪浓度加载不同浓度 (5、10、20、40、80 mg/L) 芍药苷干预泡沫细胞,确定川芎嗪与芍药苷最佳配伍浓度。

1.7 各组细胞的油红 O 染色

基于 1.6 部分实验的结果,进行以下操作。将含有 RAW264.7 细胞的细胞悬液分为:对照组、模型组、川芎嗪组、芍药苷组、联合组,接种于 96 孔培养板中贴壁生长,每组 3 个复孔,每孔 100 μ L,适应性培养 24 h 后,吸出培养液,对照组加入 100 μ L DMEM 高糖培养液 (含 10% 胎牛血清),其余 4 组均加入含 80 mg/L ox-LDL 的 100 μ L 培养液进行泡沫细胞造模,孵育 24 h 后吸出培养液,并用 PBS 洗涤 2 次;其后对照组与模型组分别加入 100 μ L DMEM 高糖培养液 (含 10% 胎牛血清),其余 3 组分别加入含有 40 mg/L 川芎嗪的培养液、80 mg/L 芍药苷的培养液、40 mg/L 川芎嗪+80 mg/L 芍药苷的培养液,再次孵育 24 h 后,用 PBS 洗涤 2 次后进行油红 O 染色,显微镜下观察各组之间染色效果。

1.8 炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 的检测

基于 1.6 部分实验的结果,进行以下操作。将收集的各组细胞培养液于室温下 1 000 g 离心 15 min,按照 ELISA 试剂盒说明书分别对各组培养液进行处理,最后用酶标仪于波长 450 nm 处检测吸光度,再根据标准品拟合曲线计算出相应各药物组的 TNF- α 、IL-1 β 浓度。

1.9 统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计软件分析数据。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用 one-way ANOVA 检验,组间两两比较采用 SNK 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 川芎嗪、芍药苷对泡沫细胞增殖活力的影响

不同浓度 (5、10、20、40、80 mg/L) 川芎嗪、不同浓度 (5、10、20、40、80 mg/L) 芍药苷与 RAW264.7

细胞源性泡沫细胞共同培养 24 h 后,用 CCK-8 法测定细胞的增殖活性,结果表明,川芎嗪、芍药苷在 ≤ 80 mg/L 时对泡沫细胞增殖活性均无明显影响 (图 1)。

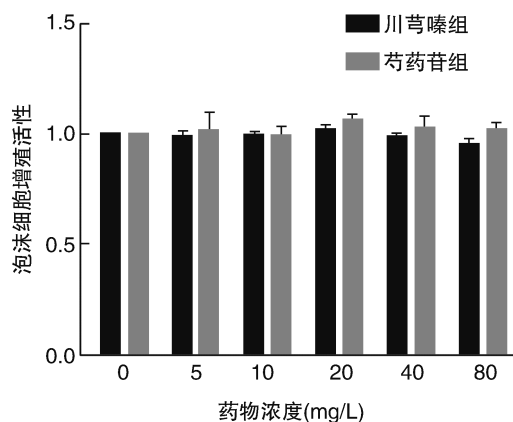


图 1. 不同浓度川芎嗪、芍药苷对泡沫细胞增殖活性的影响 ($n=3$)

Figure 1. Effects of different concentrations of ligustrazine and paeoniflorin on proliferation of foam cells ($n=3$)

2.2 芍药胶囊有效组分对泡沫细胞内 TC、FC 含量的影响

与对照组相比,模型组在 80 mg/L ox-LDL 作用下细胞内胆固醇含量明显升高 ($P < 0.05$);与模型组相比,不同浓度 (5、10、20、40、80 mg/L) 川芎嗪组 TC、FC 含量显著降低 ($P < 0.05$),40 mg/L 川芎嗪降低泡沫细胞内 TC、FC 含量效果更好 (表 1)。基于此,以 40 mg/L 川芎嗪加载不同浓度 (5、10、20、40、80 mg/L) 芍药苷,确定对泡沫细胞内 TC、FC 含量影响最佳的配伍浓度。

与模型组相比,40 mg/L 川芎嗪加载不同浓度 (5、10、20、40、80 mg/L) 芍药苷组 TC 含量显著下降 ($P < 0.01$),FC 含量有所下降 ($P < 0.05$;表 1)。

根据统计分析结果,在 80 mg/L ox-LDL 时泡沫细胞内 TC、FC 最高,相比其他浓度,40 mg/L 川芎嗪可明显降低泡沫细胞内 TC、FC 含量,40 mg/L 川芎嗪加载 80 mg/L 芍药苷组可以更进一步降低泡沫细胞内 TC、FC 含量 (表 1),因此,40 mg/L 川芎嗪加载 80 mg/L 芍药苷组为观察芍药胶囊有效组分促进胆固醇外流的最佳配伍浓度。

2.3 各组细胞的油红 O 染色结果

基于上述研究结果,以 40 mg/L 川芎嗪加载 80 mg/L 芍药苷 (联合组) 为干预药物,观察其对泡沫细胞干预 24 h 后油红 O 染色结果。

对照组细胞无着色;模型组细胞形态呈类圆形,细胞形态呈空泡样,胞内可见大量红色脂滴,符合泡沫细胞标准;与模型组比较,川芎嗪组、芍药苷组、联合组细胞内脂质沉积明显减少,川芎嗪组、芍药苷组可见少量红色脂滴,联合组未见明显脂质着色(图2)。

表 1. 芎芍胶囊有效组分对泡沫细胞内胆固醇含量的影响 ($n=6$)

Table 1. Effect of effective components of Xiongshao capsule on cholesterol content in foam cells ($n=6$)

分 组	TC ($\mu\text{mol/L}$)	FC ($\mu\text{mol/L}$)
对照组	25.45 \pm 3.15	20.0 \pm 3.72
模型组	50.27 \pm 4.18 ^b	41.06 \pm 4.19 ^b
5 mg/L 川芎嗪组	44.63 \pm 1.60 ^{bc}	41.06 \pm 4.53 ^b
10 mg/L 川芎嗪组	41.91 \pm 1.79 ^{bd}	39.24 \pm 1.75 ^b
20 mg/L 川芎嗪组	41.01 \pm 1.79 ^{bd}	38.37 \pm 2.01 ^b
40 mg/L 川芎嗪组	38.37 \pm 2.05 ^{bd}	33.08 \pm 3.01 ^{bc}
80 mg/L 川芎嗪组	44.65 \pm 3.02 ^{bc}	34.08 \pm 1.69 ^{bc}
40 mg/L 川芎嗪+5 mg/L 芍药苷组	40.14 \pm 2.89 ^{bd}	25.19 \pm 1.80 ^{ac}
40 mg/L 川芎嗪+10 mg/L 芍药苷组	40.24 \pm 6.46 ^{bd}	26.13 \pm 7.14 ^{bc}
40 mg/L 川芎嗪+20 mg/L 芍药苷组	40.19 \pm 5.07 ^{bd}	27.54 \pm 1.60 ^{bc}
40 mg/L 川芎嗪+40 mg/L 芍药苷组	38.37 \pm 2.01 ^{bd}	24.41 \pm 1.55 ^{bc}
40 mg/L 川芎嗪+80 mg/L 芍药苷组	31.25 \pm 2.30 ^{bd}	22.13 \pm 1.73 ^c

a 为 $P<0.05$, b 为 $P<0.01$, 与对照组比较; c 为 $P<0.05$, d 为 $P<0.01$, 与模型组比较。

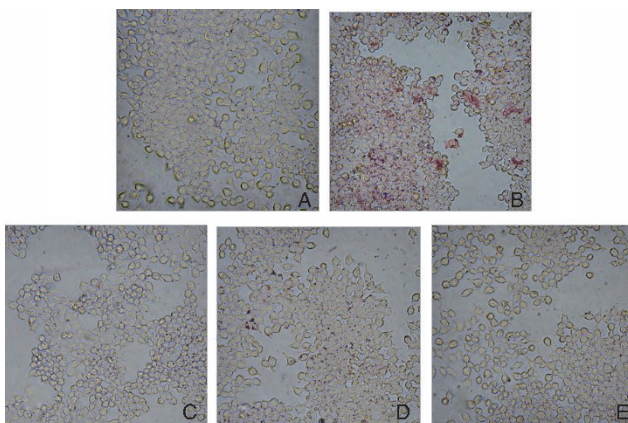


图 2. 各组细胞的油红 O 染色效果 (200 \times) A 为对照组, B 为模型组, C 为川芎嗪组 (40 mg/L 川芎嗪), D 为芍药苷组 (80 mg/L 芍药苷), E 为联合组 (40 mg/L 川芎嗪+80 mg/L 芍药苷)。

Figure 2. Oil red O staining of cells in every group (200 \times)

2.4 芎芍胶囊有效组分对炎症因子 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 的影响

与对照组相比,模型组 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 浓度明显升高;与模型组比较,川芎嗪组 $\text{TNF-}\alpha$ 浓度变化无统计学差异 ($P>0.05$), $\text{IL-1}\beta$ 浓度明显下降 ($P<0.01$);与模型组比较,芍药苷组 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 浓度变化无统计学差异 ($P>0.05$), 联合组 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 浓度明显下降 ($P<0.05$; 图3)。

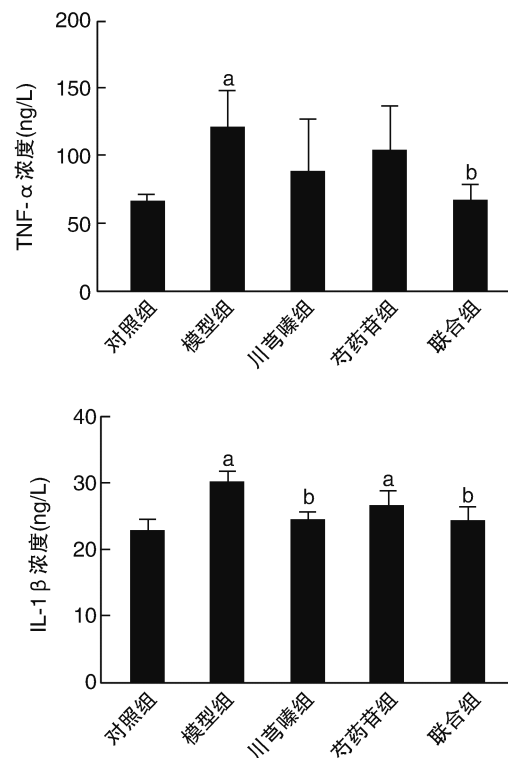


图 3. 芎芍胶囊有效组分对培养液中炎症因子的影响 ($n=4$) a 为 $P<0.05$, 与对照组比较; b 为 $P<0.05$, 与模型组比较。

Figure 3. Effect of effective components of Xiongshao capsule on inflammatory factors in culture medium ($n=4$)

3 讨论

巨噬细胞胆固醇流出能力与颈动脉内膜中膜厚度和冠心病发病的可能性呈显著负相关^[21]。过氧化脂质的摄取和巨噬细胞胆固醇外流能力下降可以导致细胞内胆固醇蓄积和泡沫细胞形成,并在 As 发展中参与形成脂质条纹和斑块^[22]。同时 As 也被视为一种慢性炎症过程,炎症因子贯穿了 As 发生发展的全部过程,其中在 As 起始阶段——血管内皮损伤和泡沫细胞形成过程中就有许多细胞因子分泌,如 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 等^[8],有研究发现 As 斑块内 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 表达水平明显增加^[23],而泡沫细胞形

成过程中也可以大量分泌 TNF- α 、IL-1 β 。此外 TNF- α 、IL-1 β 可增加 ox-LDL 的摄取,诱导巨噬细胞向泡沫细胞转化,促进泡沫细胞凋亡,促进动脉粥样硬化斑块形成^[7-8],而且有研究显示 TNF- α 和 IL-1 β 还可以降低 ABCA1 和 ABCG1 的转录水平,降低细胞外排胆固醇的能力^[4]。

芎芍胶囊由血府逐瘀汤简化而来,前期的动物试验和临床研究发现其具有抗 As、降脂、抗炎作用,对冠心病疗效确切,能够降低 PCI 术后再次狭窄等作用^[5]。然而,潜在的分子生物学机制尚需体外细胞实验进行验证。然而在前期的实验研究中,课题组发现动物血清自身会导致 RAW264.7 细胞泡沫化(待发表),因此芎芍胶囊含药血清法不适用于本研究。通过检索文献发现,我们发现陈竺院士团队^[24]曾以复方黄黛片组方药物的三种有效组分作为干预药物,探索中药复方黄黛片治疗早幼粒白血病的作用机制,并证明四硫化二砷是黄黛片药效的主要物质基础,而靛玉红、丹参酮 II A 可增强其疗效。而且有研究发现川芎嗪、氧化芍药苷均可以上调 PPAR γ 、LXR α 、ABCA1 表达,具有促进泡沫细胞胆固醇流出能力^[14-15]。因此,课题组在芎芍胶囊组方药物中选取代表性组分——川芎嗪、芍药苷作为干预药物,但文献对川芎中川芎嗪含量的报道有很大争议,从测不出到占川芎质量的 0.43% 不等,无法根据芎芍胶囊配伍剂量固定川芎嗪与芍药苷的比值^[16-20]。因此,我们采取浓度梯度探索川芎嗪、芍药苷不同配伍用药对泡沫细胞胆固醇外流的影响,以确定最佳配伍剂量,其后观察其对泡沫细胞内 TC、FC 含量及 TNF- α 、IL-1 β 等致 As 细胞因子的作用,以探索芎芍胶囊促胆固醇逆转运的物质基础和分子生物学机制。

在本次研究中,根据前期实验基础以 80 mg/L ox-LDL 成功诱导 RAW264.7 细胞泡沫化^[25],CCK-8 检测结果提示川芎嗪、芍药苷在 80 mg/L 浓度以下对泡沫细胞增殖活性没有明显影响;其后探索川芎嗪与芍药苷不同配伍浓度对泡沫化细胞胆固醇外流的影响,并结合油红 O 染色结果,最终确定 40 mg/L 川芎嗪加载 80 mg/L 芍药苷为最佳干预浓度。其后观察两单药及联合用药各自对炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 的影响,结果提示 40 mg/L 川芎嗪加载 80 mg/L 芍药苷较单药有更好的抗炎作用。

体外实验证实以 ox-LDL 诱导的泡沫细胞在去除诱因后可以通过激活过氧化体增殖物激活型受体 γ (PPAR γ),调节肝 X 受体 α (LXR α) 促进 ABCA1、ABCG1 表达,使胞内胆固醇外流;将 PPAR γ

基因敲除小鼠的骨髓移植到 LDLR^{-/-} 小鼠体内后, LXR α 、ABCA1 表达会明显下降,因此,PPAR γ -LXR α -ABCA1/ABCG1 是调节细胞内脂质跨膜转运的主要途径^[26-27]。据报道,通过 PPAR γ 增加 LXR α 的表达可以抑制 IL-1 β 和 TNF- α 的分泌,但抑制 LXR α 的表达后,相关炎症因子的抑制作用消失^[28]。反过来,IL-1 β 和 TNF- α 也可以降低 PPAR γ 和 LXR α 的激活^[29]。

本实验初步证明了芎芍胶囊有效成分(川芎嗪、芍药苷)能够协同促进 RAW264.7 源性泡沫细胞胆固醇外流,并减少泡沫化细胞产生的炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β ,具备一定的抗炎作用。因此,芎芍胶囊有效组分可能通过激活 PPAR γ /LXR α 通路,上调 ABCA1、ABCG1 表达,进而促进泡沫细胞胆固醇外流。在后续的研究中,我们将进一步检测相关指标,对这一假设进行验证。

[参考文献]

- [1] Cichon N, Lach D, Dziedzic A, et al. The inflammatory processes in atherogenesis [J]. Pol Merkur Lekarski, 2017, 42(249): 125-128.
- [2] Galea J, Armstrong J, Gadsdon P, et al. Interleukin-1 beta in coronary arteries of patients with ischemic heart disease [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1996, 16(8): 1000-1006.
- [3] Skoog T, Dichtl W, Boquist S, et al. Plasma tumour necrosis factor-alpha and early carotid atherosclerosis in healthy middle-aged men [J]. Eur Heart J, 2002, 23(5): 376-383.
- [4] Khovidhunkit W, Moser AH, Shigenaga JK, et al. Endotoxin down-regulates ABCG5 and ABCG8 in mouse liver and ABCA1 and ABCG1 in J774 murine macrophages: differential role of LXR [J]. J Lipid Res, 2003, 44(9): 1728-1736.
- [5] Ridker PM. From C-reactive protein to interleukin-6 to interleukin-1: moving upstream to identify novel targets for atheroprotection [J]. Circ Res, 2016, 118(1): 145-156.
- [6] Kirii H, Niwa T, Yamada Y, et al. Lack of interleukin-1beta decreases the severity of atherosclerosis in ApoE-deficient mice [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, 23(4): 656-660.
- [7] Andrés V, Pello OM, Silvestre-Roig C. Macrophage proliferation and apoptosis in atherosclerosis [J]. Curr Opin Lipidol, 2012, 23(5): 429-438.
- [8] Ramji DP, Davies TS. Cytokines in atherosclerosis: key players in all stages of disease and promising therapeutic targets [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2015, 26(6):

- 673-685.
- [9] Ohta H, Wada H, Niwa T, et al. Disruption of tumor necrosis factor- α gene diminishes the development of atherosclerosis in ApoE-deficient mice [J]. *Atherosclerosis*, 2005, 180(1): 11-17.
- [10] 张艳虹, 徐凤芹. 芎苈胶囊对动脉粥样硬化兔主动脉 NF- κ B 及相关炎症因子的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2014, 29(7): 2334-2337.
- [11] Zhang YH, Zhang Y, Li J, et al. Protective effects of Xiongshao capsule on anti-inflammatory function of high-density lipoprotein in an atherosclerosis rabbit model [J]. *Chin J Integr Med*, 2017, 23(5): 357-361.
- [12] 张大武, 张蕾, 刘剑刚, 等. 芎苈胶囊联合缺血后适应对大鼠缺血/再灌注心肌 MCP-1 及 TNF- α 的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2010, 30(12): 1279-1283.
- [13] 刘倩. 白细胞介素-8 对动脉粥样硬化斑块稳定性的影响及芎苈胶囊的干预效应研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2012: 53-60.
- [14] 祝骥, 滕耀红, 王萍儿, 等. 川芎嗪对泡沫细胞胆固醇逆转运的影响[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(7): 1255-1259.
- [15] 唐菟泽, 马卫列, 丁航, 等. 氧化芎苈药苷对泡沫细胞胆固醇流出的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2017, 27(16): 6-11.
- [16] 雷志丹, 雷志钧, 戴玲. HPLC 同时测定川芎中川芎嗪和阿魏酸的含量[J]. *中国医药导报*, 2011, 8(9): 57-59.
- [17] 肖为蓉, 曹贤燮. 裂解色谱法对川芎中川芎嗪的分析[J]. *华西药学杂志*, 1987, 2(3): 158-160.
- [18] 尹丹丹, 杨沫, 王运来, 等. 基于川芎内生枯草杆菌初步研究川芎中川芎嗪的来源[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(19): 3893-3898.
- [19] 朱承科, 胡夏逢, 周诚. Box-Behnken 效应面法优化川芎中川芎嗪的提取工艺[J]. *中药材*, 2016, 39(9): 2078-2080.
- [20] 朱美晓, 黄志芳, 肖红斌, 等. HPLC 法测定川产道地药材川芎中川芎嗪的含量[J]. *药物分析杂志*, 2011, 31(1): 103-106.
- [21] Khera AV, Cuchel M, de la Llera-Moya M, et al. Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis [J]. *N Engl J Med*, 2011, 364(2): 127-135.
- [22] Chistiakov DA, Melnichenko AA, Myasoedova VA, et al. Mechanisms of foam cell formation in atherosclerosis [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2017, 95(11): 1153-1165.
- [23] Persson J, Nilsson J, Lindholm MW. Interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α impede neutral lipid turnover in macrophage-derived foam cells [J]. *BMC Immunol*, 2008, 11(9): E70.
- [24] Wang L, Zhou GB, Liu P, et al. Dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula Realgar-Indigo naturalis as an effective treatment for promyelocytic leukemia [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(12): 4826-4831.
- [25] 周庆兵, 吴立旗, 徐凤芹. 梔子苷对 ox-LDL 诱导的 RAW264.7 来源泡沫细胞 DNA 异常甲基化的双向调节作用 [J/OL]. *中国中西医结合杂志*, 2019: 1-6 [2019-04-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2787.R.20190213.1003.002.html>.
- [26] Ozasa H, Ayaori M, Iizuka M, et al. Pioglitazone enhances cholesterol efflux from macrophages by increasing ABCA1/ABCG1 expressions via PPAR γ /LXR α pathway: findings from in vitro and ex vivo studies [J]. *Atherosclerosis*, 2011, 219(1): 141-150.
- [27] Chawla A, Boisvert WA, Lee CH, et al. A PPAR γ -LXR-ABCA1 pathway in macrophages is involved in cholesterol efflux and atherogenesis [J]. *Mol Cell*, 2001, 7(1): 161-171.
- [28] Tang J, Luo K, Li Y, et al. Capsaicin attenuates LPS-induced inflammatory cytokine production by upregulation of LXR α [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28(1): 264-269.
- [29] Kim MS, Sweeney TR, Shigenaga JK, et al. Tumor necrosis factor and interleukin 1 decrease RXR α , PPAR α , PPAR γ , LXR α , and the coactivators SRC-1, PGC-1 α , and PGC-1 β in liver cells [J]. *Metabolism*, 2007, 56(2): 267-279.
- (此文编辑 许雪梅)