

霍山石斛对高脂诱导的 LDLR 基因敲除小鼠 动脉粥样硬化和血管钙化的影响

梁英权¹, 韩际宏¹, 余茂耘^{2,3}

(1. 合肥工业大学重大疾病代谢及营养调控安徽普通高校重点实验室, 安徽省合肥市 230601; 2. 皖西学院
生物与制药工程学院, 安徽省六安市 237000; 3. 安徽同济生物生物科技有限公司, 安徽省六安市 237000)

[关键词] 霍山石斛; 高脂食物; 动脉粥样硬化; 血管钙化

[摘要] **目的** 研究霍山石斛(DH)对高脂食物诱导的雄性低密度脂蛋白受体基因敲除(LDLR^{-/-})小鼠动脉粥样硬化(As)和血管钙化的影响,并初步探讨其作用机制。**方法** LDLR^{-/-}小鼠随机分为对照组和霍山石斛组(DH组)。喂养18周后对小鼠处以安乐死,收集血清、主动脉、肝脏等。分析血清中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL)的水平;对全主动脉及其根部切片进行油红O染色,检测动脉粥样硬化斑块面积;主动脉根部切片分别做天狼猩红和茜素红S染色,分析斑块稳定性和血管钙化程度;再对肝脏及其冰冻切片进行检测,分析其脂质积累情况。**结果** 霍山石斛喂食LDLR^{-/-}小鼠18周后,与对照组比较,DH组小鼠血清TG水平下降($P<0.05$),但不影响血清中转氨酶及其他脂质水平。与对照组比较,DH组小鼠全主动脉及主动脉根部的粥样硬化斑块面积均减少约20%($P<0.05$);斑块损伤区域的胶原纤维含量增加约70%($P<0.05$),从而提高斑块的稳定性,且斑块中坏死核心的发生发展也受到明显抑制;对主动脉根部切片的茜素红S染色发现,对照组主动脉根部钙化面积占比1.34%,而DH组主动脉根部钙化面积占比为0.88%,减少了约34%($P<0.01$)。**结论** 霍山石斛可以抑制动脉粥样硬化和血管钙化的发生发展。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Dendrobium Huoshanense C. Z. Tang et S. J. Cheng inhibits the development of atherosclerosis and vascular calcification induced by high-fat diet in LDLR^{-/-} mice

LIANG Yingquan¹, HAN Jihong¹, YU Maoyun^{2,3}

(1. Key Laboratory of Metabolism and Regulation for Major Diseases of Anhui Higher Education Institutes, Hefei University of Technology, Hefei, Anhui 230601, China; 2. School of Biological and Pharmaceutical Engineering, West Anhui University, Lu'an, Anhui 237000, China; 3. Anhui Tongjisheng Biotechnology Company Limited, Lu'an, Anhui 237000, China)

[KEY WORDS] Dendrobium Huoshanense C. Z. Tang et S. J. Cheng; high-fat diet; atherosclerosis; vascular calcification

[ABSTRACT] **Aim** To study the effect of Dendrobium Huoshanense C. Z. Tang et S. J. Cheng (DH) on the development of atherosclerosis and vascular calcification induced by high-fat diet in LDLR^{-/-} mice and the possible mechanisms.

Methods Male LDLR^{-/-} mice were randomly divided into 2 groups and received the following treatment: High-fat diet (control group); HFD containing DH (DH group). The treatment was lasted for 18 weeks. At the end of treatment, all the mice were anesthetized followed by collection of blood, aorta and liver samples. The serum was prepared followed by determination of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL) and low density lipoprotein cholesterol (LDL) levels. Whole aorta and frozen cross sections of aortic root were prepared, and the lesions in en face aorta

[收稿日期] 2020-05-15

[修回日期] 2020-06-15

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81973316);安徽省重点研究和开发计划项目(201904a07020007)

[作者简介] 梁英权,博士研究生,研究方向为心血管生物学,E-mail为 liangyingquan0564@126.com。通信作者余茂耘,硕士,高级实验师,研究方向为中药学,E-mail为 yumaoyuntjs@163.com。通信作者韩际宏,博士,教授,博士研究生导师,研究方向为心血管生物学,E-mail为 hanjihong2015@hfut.edu.cn。

and aortic root cross sections were determined by oil red O staining. Frozen cross sections of aortic root were also stained by Sirius Red and Alizarin Red S to determine the plaque stability and vascular calcification. Liver frozen sections were prepared and used to determine hepatic lipid content by oil red O staining. **Results** After 18 weeks, DH lowered serum TG to (2.31 ± 0.16) mmol/L compared to the control group (3.76 ± 0.47) mmol/L ($P < 0.05$), but had no effect on transaminase level and other lipid profiles in serum. Meanwhile, DH significantly reduced lesions in en face aorta and sinus lesion of aortic root by 20% ($P < 0.05$). It also increased collagen content by 70% in plaques ($P < 0.05$), promoted lesion stability and reduced necrotic cores in arterial wall. At last, Alizarin Red S staining showed that the development of vascular calcified area, which was 0.88% in DH group while 1.34% in control group, was attenuated by 34% ($P < 0.01$). **Conclusion** DH inhibits the development of atherosclerosis and vascular calcification.

在全球范围内,心血管疾病现已成为威胁健康的“头号杀手”。动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是心血管疾病的主要病理变化之一,血管钙化在 As 中非常普遍^[1],血管钙化降低动脉粥样硬化斑块稳定性,诱发斑块破裂与血管急性事件发生^[2-3]。As 和血管钙化的形成过程及其机理极为复杂,目前认为炎症、脂质沉积、氧化应激等过程都参与其中并促进 As 和血管钙化的发生发展。虽然他汀类、抗炎或抗氧化类药物被用于治疗 As 或血管钙化,但因其不良反应或疗效不佳而使其应用受到限制^[4-5]。

霍山石斛(*Dendrobium Huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng, DH)是兰科石斛,属多年生草本植物,俗称霍斛或米斛^[6],为常用名贵中药材,被誉为“中华九大仙草之首”、“救命仙草”。霍山石斛主产于大别山安徽霍山、金寨等地,具有滋阴清热、润肺止咳、保肝明目、养颜驻容、抗肿瘤等功效^[7]。近年研究表明霍山石斛具有改善血脂成分、抑制炎症、抗氧化等作用^[8-10],这些预示着霍山石斛可能有抗动脉粥样硬化及血管钙化的作用。本研究旨在确定霍山石斛对高脂食物喂食诱发的 As 和血管钙化的影响,并初步探求其作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

高脂食物(high-fat diet, HFD)含有 21% 甘油三酯和 0.5% 胆固醇,实验室配制;霍山石斛鲜品由安徽同济生生物科技有限公司(六安)提供;油红 O(Sigma-Aldrich 公司,美国);茜素红 S(中国医药集团有限公司);伊红、天狼猩红染液(北京索莱宝科技有限公司);苏木精、4% 多聚甲醛通用组织固定液(Biosharp, 合肥);OCT 冰冻切片包埋剂(SAKURA, 美国)。其余试剂为市售分析纯产品。

1.2 LDLR^{-/-}小鼠动脉粥样硬化与血管钙化模型的制备

17 只雄性约 6 周龄低密度脂蛋白受体基因敲除(low density lipoprotein receptor deficiency, LDLR^{-/-})小鼠购于江苏集萃药康生物科技有限公司,约 22 g,经 1 周适应性喂养,随机分为 2 组。对照组 8 只小鼠,高脂食物喂食;霍山石斛组(DH 组)9 只小鼠,按照《中国药典》(第一部)^[11]推荐的方法,霍山石斛鲜品用量并放大 10 倍,即以每天 5 g/kg(小鼠体重)的霍山石斛鲜品经粉碎与高脂食物混合均匀后喂食。所有小鼠均自由进食饮水,喂养 18 周后小鼠安乐死,收集小鼠血清进行血脂、转氨酶等检测,取肝脏、主动脉等组织和器官进行相关研究。

1.3 全主动脉油红 O 染色

小鼠全主动脉经剔除附着的脂肪组织和肌肉组织后,置于 4% 多聚甲醛通用组织固定液中固定 48 h。固定后的全主动脉以 PBS 漂洗 2 次,每次 5 min。然后将全主动脉置于油红 O 工作液(异丙醇配制油红 O 工作液,其体积分数比为 0.5% 油红 O 原液:水=3:2)中染色 1 h,再用 60% 异丙醇快速洗去多余的染液,蒸馏水反复洗涤去浮色,最后在体式显微镜下观察染色后的全主动脉并拍照保存,统计动脉粥样硬化斑块面积和全主动脉总面积,计算斑块面积与全主动脉总面积比例,并进行分析。

1.4 主动脉根部及肝脏油红 O 染色

主动脉根部、肝脏组织经修剪后,置于 4% 多聚甲醛通用组织固定液中固定 48 h,然后以 30% 蔗糖溶液脱水 24 h。将脱水后的组织置于 OCT 中包埋,冰冻切片切片,切片厚度为 5 μ m。染色前将冰冻切片室温晾干,PBS 浸泡 5 min 去除 OCT。切片以油红 O 工作液染色 50 min,结束后用 60% 异丙醇快速脱色,蒸馏水洗涤去浮色。使用苏木精染液将切片染色 30 s 左右(该步骤仅用于肝脏的冰冻切片),蒸馏水洗 3 次,每次 5 min。最后在显微镜下观察拍照,保存照片并进行分析。

1.5 主动脉根部天狼猩红染色

主动脉根部冰冻切片经室温晾干后, PBS 浸泡 5 min, 再以天狼猩红染液染色 30 min, 使用流水稍加冲洗, 去除样品表面染液。用苏木精复染细胞核, 水洗返蓝后使用显微镜观察拍照, 统计分析样品中胶原纤维情况。

1.6 主动脉根部茜素红 S 染色

主动脉根部冰冻切片经室温晾干后, PBS 浸泡 5 min, 再以 1% 茜素红 S 染液染色 30 min, 使用酸性 PBS (pH 值为 4.1 ~ 4.3) 漂洗两次洗去浮色, 在显微镜下观察拍照, 统计分析样品中钙沉积情况。

1.7 转氨酶与血脂水平检测

小鼠经眼球取血, 室温静置 2 h 后, 2 000 g 离心 20 min, 收集上层血清。血清以 PBS 稀释 4 倍, 用日立 3100 全自动生化分析仪检测谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST)、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDLC) 和低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC), 并分析数据。

1.8 统计学分析

数据统计分析用 GraphPad Prism 7, 图像分析用 Image J。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 至少由 3 个独立实验产生, 分析方法为 Dunnett 的多重比较检验和方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 霍山石斛抑制 LDLR^{-/-} 小鼠全主动脉粥样硬化斑块发展

LDLR^{-/-} 小鼠喂食 18 周后处死, 小鼠全主动脉剥离染色后观察其动脉粥样硬化斑块情况。结果

发现与对照组比较, DH 组小鼠主动脉粥样硬化斑块面积减少约 20%, 说明霍山石斛鲜品对高脂饲料喂食导致的 LDLR^{-/-} 小鼠主动脉斑块发生发展的抑制效果明显 (图 1)。

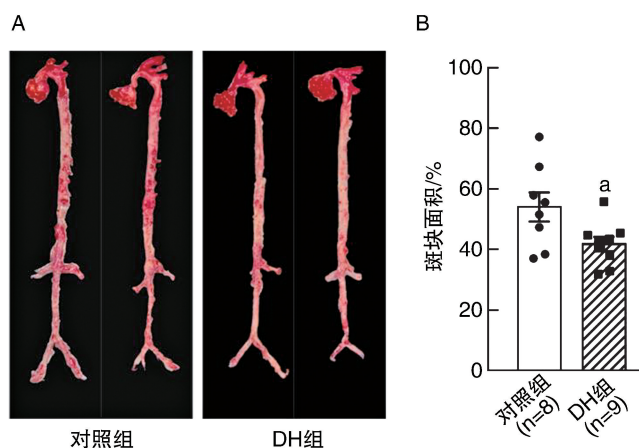


图 1. 霍山石斛抑制 LDLR^{-/-} 小鼠主动脉粥样硬化斑块的发展 A 为 LDLR^{-/-} 小鼠全主动脉油红 O 染色结果; B 为 LDLR^{-/-} 小鼠全主动脉油红 O 染色表面斑块面积统计结果。a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

Figure 1. DH inhibits the development of lesions in en face aortas of LDLR^{-/-} mice

2.2 霍山石斛抑制 LDLR^{-/-} 小鼠主动脉根部粥样硬化斑块发展

主动脉根部是动脉粥样硬化的高发区域。为进一步检验霍山石斛对 LDLR^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化发展的影响, 用油红 O 工作液对小鼠的主动脉根部切片进行了染色。结果显示 (图 2), 对照组主动脉根部斑块面积为 $(8.00 \times 10^5) \mu\text{m}^2$, 而 DH 组主动脉根部斑块面积为 $(6.24 \times 10^5) \mu\text{m}^2$, 与对照组比较减少了约 20%, 这与霍山石斛对全主动脉斑块面积减少的情况一致, 也进一步证明霍山石斛对 LDLR^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化发生发展具有明显的抑制效果。

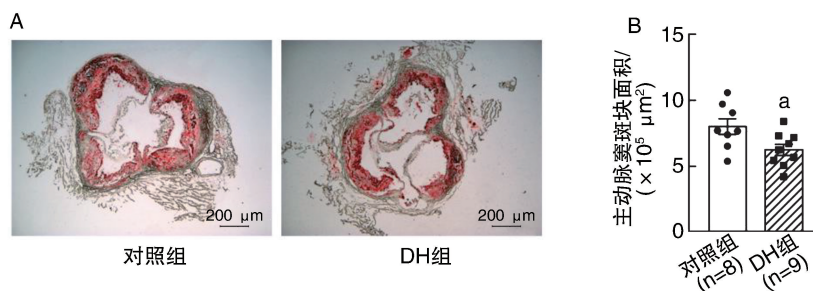


图 2. 霍山石斛抑制 LDLR^{-/-} 小鼠主动脉根部粥样硬化斑块的发展 A 为 LDLR^{-/-} 小鼠主动脉根部切片的油红 O 染色结果; B 为油红 O 染色斑块面积统计结果。a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

Figure 2. DH inhibits the development of sinus lesions of aortic root in LDLR^{-/-} mice

2.3 霍山石斛增强 LDLR^{-/-} 小鼠主动脉根部粥样硬化斑块稳定性

用天狼星红染液对 LDLR^{-/-} 小鼠主动脉根部切片进行染色,根部组织中的胶原纤维被染色后呈猩红色。从染色结果发现,与对照组比较,DH 组斑块

坏死核心(图 3A,蓝色箭头所指处)明显缩小;霍山石斛显著增加了斑块处的胶原蛋白含量(约 70%,图 3B),表明霍山石斛对动脉粥样硬化斑块稳定性有增强作用。

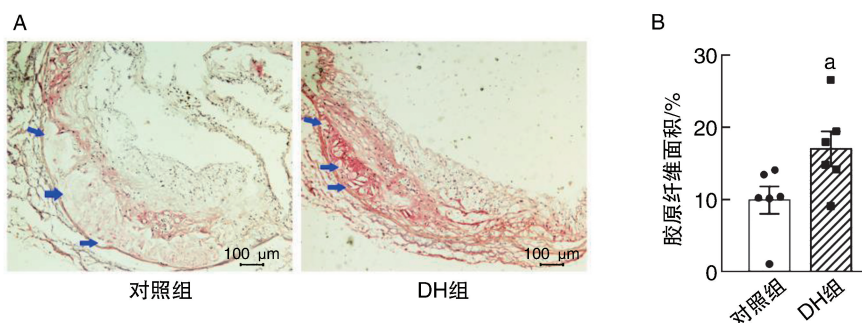


图 3. 霍山石斛增加 LDLR^{-/-} 小鼠主动脉根部斑块的稳定性 ($n=6$) A 为 LDLR^{-/-} 小鼠主动脉根部切片的天狼猩红染色结果,箭头所示为斑块坏死核心;B 为天狼猩红染色胶原纤维面积统计结果。a 为 $P<0.05$,与对照组比较。

Figure 3. DH increases the stability of lesions in aortic root of LDLR^{-/-} mice ($n=6$)

2.4 霍山石斛抑制 LDLR^{-/-} 小鼠主动脉根部血管钙化的发展

为验证霍山石斛对 LDLR^{-/-} 小鼠血管钙化发生发展的影响,用茜素红 S 染色液对小鼠的主动脉根部切片进行了染色。结果显示(图 4),对照组主动

脉根部钙化面积占比 1.34%,而 DH 组主动脉根部钙化面积占比为 0.88%,减少了约 34%。在对照组还能观察到大的钙化晶体,但这一现象也被 DH 所封闭。这些结果说明霍山石斛对 LDLR^{-/-} 小鼠血管钙化的发展具有极为显著的抑制作用。

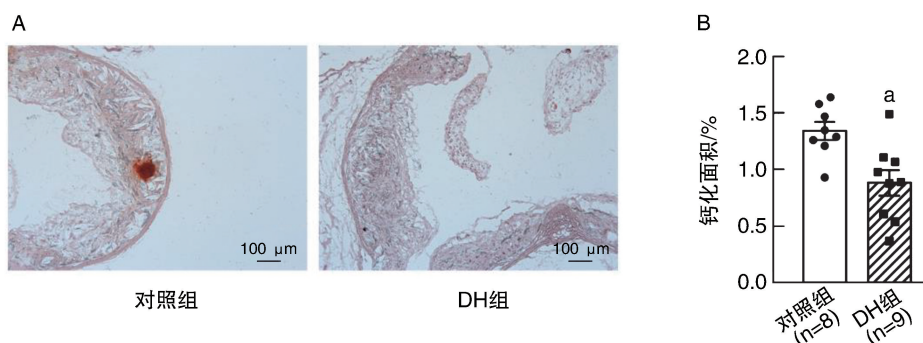


图 4. 霍山石斛抑制 LDLR^{-/-} 小鼠主动脉根部血管钙化的发展 A 为 LDLR^{-/-} 小鼠主动脉根部切片的茜素红 S 染色结果;B 为茜素红 S 染色钙化面积占比统计结果。a 为 $P<0.01$,与对照组比较。

Figure 4. DH inhibits the development of calcification in aortic root of LDLR^{-/-} mice

2.5 霍山石斛不影响 LDLR^{-/-} 小鼠肝脏脂质积累水平

定期测定小鼠进食量和体质量增长情况发现,与对照组比较,霍山石斛的长期喂食不影响小鼠进食量和体质量增长。对肝脏分离进行整体观察记录,发现肝质量、肝质量/体质量在 DH 虽有所下降,但差异无显著性(表 1)。肝脏颜色也没有明显变化(图 5A);油红 O 染色发现,霍山石斛不影响

LDLR^{-/-} 小鼠肝脏脂质积累水平(图 5B)。

2.6 霍山石斛对 LDLR^{-/-} 小鼠血清中转氨酶和脂质水平的影响

从表 1 可见,两组小鼠血清 ALT 水平基本相同;ALP 和 AST 水平在 DH 组血清中有所降低,但差异没有显著性。DH 组血清 TG 水平明显降低($P<0.05$),而 TC、HDL 和 LDL 水平均降低却无统计学意义。可见霍山石斛不影响高脂食物喂食下

的 LDLR^{-/-}小鼠血清转氨酶及除 TG 外的脂质水平。

表 1. 霍山石斛对 LDLR^{-/-}小鼠血清中转氨酶、脂质、肝脏及体质量的影响 (n=5)

Table 1. Effect of DH on serum lipid, aminopherase, liver and body weight in LDLR^{-/-} mice (n=5)

指标	对照组	DH 组
ALT/(U/L)	42.72±10.19	41.92±6.49
AST/(U/L)	169.00±16.84	134.90±5.62
ALP/(U/L)	45.36±3.41	43.12±3.48
TC/(mmol/L)	48.16±6.49	41.58±3.79
TG/(mmol/L)	3.76±0.47	2.31±0.16 ^a
HDLc/(mmol/L)	1.26±0.15	0.75±0.31
LDLC/(mmol/L)	19.61±3.11	15.90±1.63
肝质量/g	1.49±0.08	1.27±0.08
体质量/g	30.08±0.69	28.24±0.91
肝质量/体质量/%	4.84±0.19	4.49±0.15

a 为 $P<0.05$, 与对照组比较。

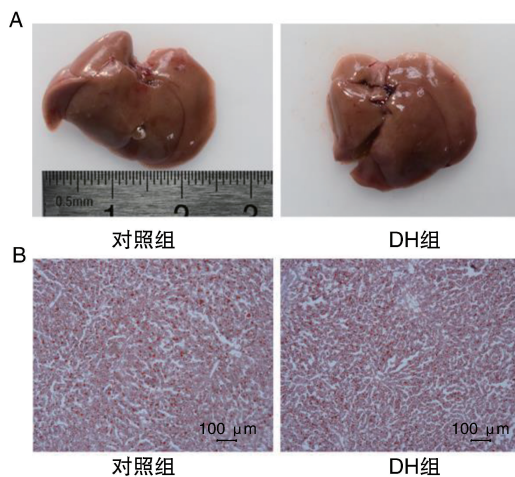


图 5. 霍山石斛对 LDLR^{-/-}小鼠肝脏脂质积累无影响

A 为 LDLR^{-/-}小鼠肝脏整体外观; B 为肝脏切片油红 O 染色。

Figure 5. DH has no effect on liver lipid accumulation

3 讨论

本研究以 LDLR^{-/-}小鼠为研究对象,发现霍山石斛鲜品能够显著地抑制高脂饲料喂食小鼠动脉粥样硬化的发生和发展,其对血管钙化的发生发展也有明显抑制作用,对小鼠肝脏也有一定的保护作用。本研究中,霍山石斛抑制动脉粥样硬化的机制体现在能够抑制坏死核心的发生发展,增加斑块区域胶原纤维含量,从而提高血管斑块的稳定性。

动脉粥样硬化斑块的形成主要是由脂质代谢

异常和慢性炎症所致^[12]。脂蛋白是胆固醇在血液循环中的主要存在形式,在体内循环系统中的胆固醇,特别是 LDLC 被认为是导致 As 的主要因素^[13]。而 LDLC 在体内的代谢需要 LDL 的特异性受体 (LDL receptor, LDLR) 参与并介导 LDLC 进入肝脏,进一步代谢成为胆汁酸,排出体外^[14-15]。同时高密度脂蛋白 (HDL) 能够接受细胞中的胆固醇,并运转至肝脏中代谢,促进胆固醇的逆转运,从而发挥抑制 As 的作用^[15-16]。本研究中,以 LDLR^{-/-}小鼠为研究模型,小鼠体内 LDLR 不表达,影响 LDLC 代谢,且霍山石斛对小鼠血清中 HDLC 水平没有影响。所以霍山石斛抑制动脉粥样硬化的分子机理与促进 LDLC 代谢的关联性小。本研究发现 DH 组小鼠血清 TG 水平显著降低,LDLC 水平也有一定程度的下降,这与文献^[17-18]研究结果相似。因此,本文推测霍山石斛可能影响了小鼠体内 TG 的代谢,从而减少 LDLC 的合成底物供应,降低体内 LDLC 水平。TG 和 LDLC 水平的降低可能参与霍山石斛抑制动脉粥样硬化的发生发展。本研究还发现 DH 组小鼠主动脉斑块坏死核心的面积明显缩小,而由细胞凋亡参与形成的坏死核心在动脉粥样硬化发展过程有着重要的促进作用^[12]。Zha 等^[19]研究显示,霍山石斛多糖可以明显抑制血管内皮细胞的凋亡。因此,霍山石斛抑制动脉粥样硬化也可能与其抑制细胞凋亡有关。此外,霍山石斛抑制炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 表达^[9,20],同时减少肝脏中 MDA,增加 SOD 和 GSH 表达^[20-21]。这些都预示着霍山石斛可通过减少氧化应激、抑制炎症等方面发挥抗动脉粥样硬化的作用。但霍山石斛抑制动脉粥样硬化的具体分子机制及其信号通路还需要进一步研究阐明。

血管钙化常见于衰老、动脉粥样硬化、慢性肾病、糖尿病、血脂异常等疾病中,与心血管疾病的发病率和死亡率密切相关^[22-23]。本研究发现 DH 组小鼠血清 ALP 水平有所降低,而血清 ALP 主要来自骨骼和肝脏组织分泌的非组织特异性碱性磷酸酶^[24],能水解钙化抑制剂焦磷酸 (pyrophosphoric acid, PPi)^[24-25],Panh 等^[26]研究也证实血清中 ALP 与血管钙化呈独立正相关。因此,本文认为血清中 ALP 水平的降低可能参与霍山石斛抑制血管钙化的作用。此外,在其他疾病的模型中,也有发现霍山石斛处理后小鼠血清 ALP 水平降低^[18]。

最后,本研究证明了霍山石斛能够显著抑制小鼠主动脉的动脉粥样硬化和血管钙化的发生和发展,为动脉粥样硬化及血管钙化防治和霍山石斛的功能定位及产品开发提供新的参考。

[参考文献]

- [1] Gade PS, Tulamo R, Lee KW, et al. Calcification in human intracranial aneurysms is highly prevalent and displays both atherosclerotic and nonatherosclerotic types [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39(10): 2157-2167.
- [2] Johnson RC, Leopold JA, Loscalzo J. Vascular calcification: pathobiological mechanisms and clinical implications [J]. *Circ Res*, 2006, 99(10): 1044-1059.
- [3] London GM, Guérin AP, Marchais SJ, et al. Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2003, 18(9): 1731-1740.
- [4] Wang C, Niimi M, Watanabe T, et al. Treatment of atherosclerosis by traditional Chinese medicine: questions and quandaries [J]. *Atherosclerosis*, 2018, 277: 136-144.
- [5] Fang J, Zhang YJ. Icarin, an anti-atherosclerotic drug from Chinese medicinal herb horny goat weed [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 734.
- [6] 唐振缙, 程式君. 中药“霍山石斛”原植物的研究[J]. *植物研究*, 1984, 4(3): 141-146.
- [7] 吴胡琦, 罗建平. 霍山石斛的研究进展[J]. *时珍国医国药*, 2010, 21(1): 208-211.
- [8] Tian CC, Zha XQ, Luo JP. A polysaccharide from *Dendrobium huoshanense* prevents hepatic inflammatory response caused by carbon tetrachloride [J]. *Biotechnol Biotechnol Equip*, 2015, 29(1): 132-138.
- [9] 戴玮, 罗建平. 霍山石斛多糖的半仿生提取工艺优化与抗炎活性评价[J]. *安徽农业科学*, 2018, 46(23): 151-154.
- [10] Li F, Cui SH, Zha XQ, et al. Structure and bioactivity of a polysaccharide extracted from protocorm-like bodies of *Dendrobium huoshanense* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 72: 664-672.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(第一部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 93.
- [12] Blasi C. The autoimmune origin of atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis*, 2008, 201(1): 17-32.
- [13] Libby P, Buring JE, Badimon L, et al. Atherosclerosis [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 5(1): 56.
- [14] Gu HM, Zhang DW. Hypercholesterolemia, low density lipoprotein receptor and proprotein convertase subtilisin/kexin-type 9 [J]. *J Biomed Res*, 2015, 29(5): 356-361.
- [15] Badimon L, Vilahur G. LDL cholesterol versus HDL cholesterol in the atherosclerotic plaque: inflammatory resolution versus thrombotic chaos [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2012, 1254: 18-32.
- [16] Feig JE, Hewing B, Smith JD, et al. High density lipoprotein and atherosclerosis regression: evidence from preclinical and clinical studies [J]. *Circ Res*, 2014, 114(1): 205-213.
- [17] Wang XY, Luo JP, Chen R, et al. The effects of daily supplementation of *Dendrobium huoshanense* polysaccharide on ethanol-induced subacute liver injury in mice by proteomic analysis [J]. *Food Funct*, 2020, 5: 2020-2035.
- [18] 孟海涛, 汪鹤, 查学强, 等. 霍山石斛不同提取物抗小鼠亚急性酒精性肝损伤活性的比较研究[J]. *食品科学*, 2015, 36(13): 255-260.
- [19] Zha XQ, Deng YY, Li XL, et al. The core structure of a *Dendrobium huoshanense* polysaccharide required for the inhibition of human lens epithelial cell apoptosis [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 155: 252-260.
- [20] Tian CC, Zha XQ, Pan LH, et al. Structural characterization and antioxidant activity of a low-molecular polysaccharide from *Dendrobium huoshanense* [J]. *Fitoterapia*, 2013, 91: 247-255.
- [21] Pan LH, Lu J, Luo JP, et al. Preventive effect of a galactoglucomannan (GGM) from *Dendrobium huoshanense* on selenium-induced liver injury and fibrosis in rats [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2012, 64(7-8): 899-904.
- [22] Shanahan CM, Crouthamel MH, Kapustin A, et al. Arterial calcification in chronic kidney disease: key roles for calcium and phosphate [J]. *Circ Res*, 2011, 109(6): 697-711.
- [23] Shao JS, Cheng SL, Pingsterhaus JM, et al. Mx2 promotes cardiovascular calcification by activating paracrine Wnt signals [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(5): 1210-1220.
- [24] Whyte MP. Physiological role of alkaline phosphatase explored in hypophosphatasia. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1192: 190-200.
- [25] Lomashvili KA, Garg P, Narisawa S, et al. Upregulation of alkaline phosphatase and pyrophosphate hydrolysis: potential mechanism for uremic vascular calcification [J]. *Kidney Int*, 2008, 73(9): 1024-1030.
- [26] Panh L, Ruidavets JB, Rousseau H, et al. Association between serum alkaline phosphatase and coronary artery calcification in a sample of primary cardiovascular prevention patients [J]. *Atherosclerosis*, 2017, 260: 81-86.

(此文编辑 朱雯霞)