

丹皮酚调控 ApoE^{-/-} 小鼠胆汁酸代谢发挥抗动脉粥样硬化作用

何海, 黄翰文, 施晓艳, 刘玲, 刘雅蓉, 吴鸿飞, 戴敏

(安徽中医药大学药学院 中药研究与开发安徽省重点实验室, 安徽省合肥市 230012)

[关键词] 丹皮酚; 胆汁酸; 动脉粥样硬化

[摘要] **目的** 探究丹皮酚通过调控 ApoE^{-/-} 小鼠胆汁酸代谢影响 FXR-FGF15 信号通路, 从而影响脂质代谢发挥抗动脉粥样硬化的作用。**方法** 采用高脂饲料喂养 ApoE^{-/-} 小鼠 20 周建立动脉粥样硬化斑块模型, 造模同时灌胃丹皮酚(200 mg/kg)。油红 O 染色观察主动脉大体和肝脏组织病理形态学变化; 酶法检测血脂和肝脂水平; LC-MS/MS 检测小鼠肠道胆汁酸组分变化; Western blot 检测小鼠肝脏 CYP7A1 及回肠 FXR、FGF15 蛋白的表达。**结果** 丹皮酚显著减轻动脉粥样硬化模型小鼠主动脉斑块面积, 减少肝脏脂质沉积; 明显降低血清和肝脏中甘油三酯、总胆固醇水平及肝脏系数; 升高 FXR 拮抗剂 T α MCA、T β MCA 含量, 降低 FXR 激动剂 CDCA 和 LCA 含量, 抑制肠 FXR-FGF15 信号通路, 诱导肝组织 CYP7A1 蛋白表达, 增加粪便中总胆汁酸外排。**结论** 丹皮酚可能通过影响胆汁酸代谢, 抑制 FXR-FGF15 轴从而促进肝脏胆汁酸合成与排泄, 减少胆固醇蓄积, 进而实现其抗动脉粥样硬化的作用。

[中图分类号] R5;R363

[文献标识码] A

Paeonol regulates bile acid metabolism in ApoE^{-/-} mice and reduces atherosclerosis

HE Hai, HUANG Hanwen, SHI Xiaoyan, LIU Ling, LIU Yarong, WU Hongfei, DAI Min

(College of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine & Anhui Province Key Laboratory of Research and Development of Chinese Medicine, Hefei, Anhui 230012, China)

[KEY WORDS] paeonol; bile acid; atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To explore the effect of paeonol (Pae) on the FXR-FGF15 signaling pathway by regulating the metabolism of bile acids in ApoE^{-/-} mice, thereby affecting lipid metabolism to play an anti-atherosclerotic effect.

Methods ApoE^{-/-} mice were fed high-fat diet for 20 weeks to establish an atherosclerotic plaque model, and the model was created and injected with paeonol (200 mg/kg). Oil red O staining was used to observe the pathomorphological changes of the aorta and liver tissues; Enzymatic method was used to detect the lipid levels of blood and liver; LC-MS/MS was used to detect changes in mouse intestinal bile acid composition; Western blot was used to detect the expression of mouse liver CYP7A1, ileum FXR and FGF15.

Results Paeonol significantly reduced the plaque area of the aorta in atherosclerotic model mice and reduced lipid deposition in the liver; significantly reduced the levels of triglyceride, total cholesterol and liver coefficient in serum and liver; increased the content of FXR antagonists T α MCA and T β MCA, reduced the content of FXR agonists CDCA and LCA, inhibited the intestinal FXR-FGF15 signaling pathway, induced the expression of CYP7A1 protein in liver tissue, and increased the efflux of total bile acid in feces. **Conclusion** Paeonol may affect the metabolism of bile acids and inhibit the FXR-FGF15 axis to promote the synthesis and excretion of bile acids in the liver, reduce cholesterol accumulation, and achieve its anti-atherosclerotic effect.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是心肌梗死和脑梗死等心血管事件发病的共同病理基础,胆固醇代谢异常、动脉内壁脂质斑块沉积是重要诱因^[1-2]。胆汁酸(bile acids, BA)是胆固醇分解代谢

和脑梗死等心血管事件发病的共同病理基础,胆固醇代谢异常、动脉内壁脂质斑块沉积是重要诱因^[1-2]。胆汁酸(bile acids, BA)是胆固醇分解代谢

[收稿日期] 2020-09-29

[修回日期] 2020-11-13

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81773937)

[作者简介] 何海, 硕士研究生, 研究方向为中药有效成分抗动脉粥样硬化作用机制, E-mail 为 1461485628@qq.com。通信作者戴敏, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为中药及其有效成分抗动脉粥样硬化作用及分子机制, E-mail 为 daiminliao@163.com。

的主要下游产物,在调控脂肪、糖、能量代谢等关键途径中发挥重要作用,在众多代谢性疾病包括 As 的发生中扮演重要角色^[3-4]。胆汁酸可作为信号分子进而激活多种核受体,并通过激活核受体产生的下游效应对自身代谢进行调节,主要包括法尼醇 X 受体(farnesoid X receptor, FXR)、G 蛋白偶联受体(G protein-coupled bile acid receptor, TGR5)、维生素 D 受体(vitamin D receptor, VDR),其中 FXR 是调节脂质代谢的关键核受体,可通过调节肝脏脂质生成途径、脂质分泌、血浆脂质清除以及肠道胆固醇吸收来调节脂质代谢^[5-7]。牛磺-β-鼠胆酸(tauro-β-muricholic acid, TβMCA)是天然的 FXR 拮抗剂,肠 FXR 表达被抑制后,进而抑制下游肠成纤维细胞生长因子 15(fibroblast growth factor 15, FGF15)的表达,胆汁酸随后分泌到门静脉并循环到肝脏,与相关受体结合后启动信号级联,激活肝脏胆固醇 7α-羟化酶(cholesterol 7α-hydroxylase, CYP7A1)蛋白表达进而增加胆汁酸的合成,减少肝脏胆固醇含量^[8-10]。

丹皮酚(paeonol, Pae)是毛茛科植物牡丹 *Paeonia Suffruticosa* Andr. 干燥根皮的主要活性成分之一,其化学结构为 2-羟基-4-甲氧基苯乙酮,具有清热凉血、活血化瘀的功效。前期实验表明丹皮酚能够调节脂质代谢和抗 As 等作用^[11-12],本研究旨在探索丹皮酚抗 As 作用是否通过胆汁酸代谢及相关核受体而调节脂质代谢,为进一步揭示丹皮酚抗 As 作用的新途径提供思路。

1 材料和方法

1.1 主要材料

丹皮酚(批号:T1903202)购自宣城百草植物工贸有限公司,纯度 99%;高脂饲料(批号:CI92119)购自常州鼠一鼠二生物科技有限公司;甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、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)试剂盒购自南京建成生物工程研究所;FXR 抗体(ab129089)、FGF15 抗体(ab229630)、CYP7A1 抗体(ab234982)均购自美国 Abcam 公司;甲醇、乙腈、乙酸、乙酸铵、甲酸均购自德国 CNW 公司。

超高效液相(美国 Agilent 公司);高分辨质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);多功能酶标仪 Spectra Max Mze(美国 MD 公司);-80 °C 冰箱(日本 Sanyo 公司);电泳系统(美国 Bio-Rad 公司);化学发

光成像仪(美国 GE 公司);酶标仪(德国 Eppendorf 公司);倒置显微镜(日本 Olympus 公司)。

本实验所用小鼠均由常州卡文斯动物实验中心提供[SCXK(苏)2016-0010],7~8 周龄,雄性 ApoE^{-/-}小鼠和 C57BL/6J 小鼠。小鼠随机分笼,普通饲料适应性喂养 7 天后开始实验。

1.2 动物分组及给药

ApoE^{-/-}小鼠随机分为 2 组:模型组和丹皮酚组,每组 6 只,给予高脂饲料喂养,高脂饲料配方为 20% 蛋白质、50% 碳水化合物、21% 脂肪、0.15% 胆固醇。另取 6 只 C57BL/6J 小鼠为空白组,普通饲料喂养。丹皮酚组灌胃给药剂量为 200 mg/kg,其余两组每天灌胃 0.5% CMC-Na 溶液,给药体积均为 10 mL/kg,连续 20 周。

1.3 主动脉病理学观察

第 20 周末,动物禁食、处死,预冷 PBS 冲洗小鼠心脏及主动脉血管组织,使用纤维剪将心脏去除,在体式显微镜下观察,用显微镊及显微剪将血管外膜上附着的脂肪及其他组织分离去除,用显微剪小心将血管纵向剖开,双蒸水洗 3 次。平铺整根主动脉,用细针固定于黑色培养皿上,油红 O 工作液染 15 min,分别用 100% 和 65% 异丙醇分化 5 min,双蒸水清洗 3 次,于高分辨率相机拍照,以斑块占总血管面积的百分比代表 As 的相对严重程度。

1.4 肝脏组织切片、染色及图像处理

取肝脏组织浸润于 OCT 中,放入-80 °C 冰箱中,待组织冷冻成固体状态时置于冰冻切片机中切片,将组织块切为 7 μm 厚的连续冰冻切片,用预冷的 PBS 清洗 3 次,用 10% 甲醛钙固定切片组织 10 min,再次清洗 3 次,于 65% 异丙醇中浸洗 1 min;油红 O 工作液染色 15 min 后,加入 60% 异丙醇脱色至间质清晰,双蒸水清洗 3 次,于荧光倒置显微镜下观察并拍照。

1.5 肝脏系数检测

动物处死前先准确称取小鼠体质量并记录,取出完整肝脏并剔除周围结缔组织,滤纸吸干肝脏表面水分,再准确称取小鼠肝脏,按照公式计算肝脏系数。肝脏系数=肝质量(g)/体质量(100 g)。

1.6 酶法检测血脂及肝脂水平

血液样本于 4 °C、3 000 r/min 离心 10 min,收集小鼠血清于 EP 管,按照操作盒说明和流程加入相应试剂反应进行血脂 TC、TG、LDLC、HDLC 含量测定。精密称取各组肝脏 100 mg,研磨醇提制备成匀浆,4 °C、13 000 r/min 离心 12 min 取上清,按照

操作盒说明和流程加入相应试剂反应进行肝脏 TC、TG 含量测定。

1.7 酶法检测粪便总胆汁酸水平

粪便收集后储存样本于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱,检测前按体质量与体积比为 1:9 的比例加入 0.9% 盐水。冰水浴中均匀破碎,于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $3\ 500\ \text{r}/\text{min}$ 离心 10 min,收集上清按照操作盒说明和流程加入相应试剂反应,采用酶法对粪便总胆汁酸含量进行测定。

1.8 LC-MS/MS 检测小鼠回肠中各胆汁酸含量变化

精密称取 25 mg 样品,各加入 1 000 μL 含 0.1% 甲酸提取液($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}}=2:2:1$), $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $12\ 000\ \text{r}/\text{min}$ 离心 15 min;取上清液至 LC 进样瓶中,用于 LC-MS/MS 分析。色谱条件使用 Agilent 1290 Infinity series(Agilent Technologies)超高效液相色谱仪,通过 Waters ACQUITY UPLC BEH C18($150\times 2.1\ \text{mm},1.7\ \mu\text{m}$,Waters)液相色谱柱对目标化合物进行色谱分离。流动相 A 相为 1 mmol/L 的乙酸和 1 mmol/L 的乙酸铵水溶液,B 相为乙腈。流速 0.4 mL/min,进样体积为 1 μL 。

1.9 Western blot 检测小鼠肝脏 CYP7A1 及回肠 FXR、FGF15 蛋白的表达

将各组小鼠肝脏和回肠组织分别在研钵中充分研磨,加入裂解液置于冰上 30 min 以充分裂解组织细胞, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $12\ 000\ \text{r}/\text{min}$ 离心 15 min,吸取上清液

即为待测蛋白质提取物。采用 BCA 试剂盒测量蛋白质含量,取等量蛋白质用上样缓冲液进行处理, $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灭活 5 min, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。调整蛋白浓度后上样,取 10 μg 蛋白样品经 SDS-PAGE 凝胶,通电转至 PVDF 膜,放入封闭液中 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 封闭 1 h;一抗 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 过夜,TBST 清洗,加入二抗,TBST 清洗后用 ELC 化学发光液显色曝光,进行蛋白表达分析。

1.10 统计学处理方法

实验数据采用 SPSS 23.0 软件进行统计分析。计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析及 LSD-*t* 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 丹皮酚对 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化斑块形成的影响

主动脉油红 O 染色结果显示:高脂饲料喂养 20 周,模型组小鼠主动脉及主动脉弓处的阳性区域斑块面积明显增多,与空白组相比差异有显著性($P<0.01$);丹皮酚组小鼠主动脉及主动脉弓处的阳性区域斑块面积与模型组比较显著减少($P<0.01$);上述结果表明高脂饲料喂养 ApoE^{-/-}小鼠 20 周,动脉粥样硬化模型复制成功,丹皮酚给药可显著减少 As 小鼠主动脉斑块形成(图 1)。

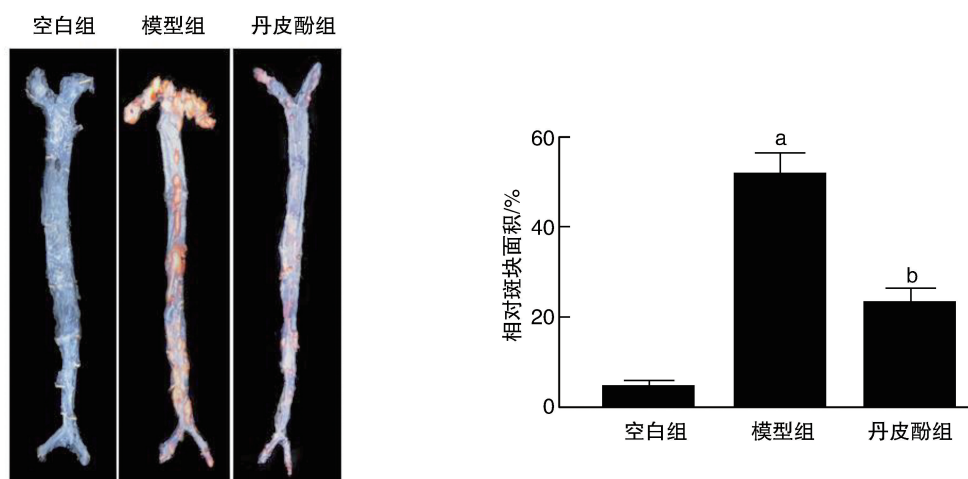


图 1. 丹皮酚对 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化斑块形成的影响($n=3$)

a 为 $P<0.01$,与空白组比较;b 为 $P<0.01$,与模型组比较。

Figure 1. The effect of Pae on atherosclerotic plaque formation in ApoE^{-/-} mice ($n=3$)

2.2 丹皮酚对 ApoE^{-/-}小鼠肝脏中脂肪分布的影响

肝脏组织冰冻切片油红 O 染色显示:空白组小鼠肝脏无红色脂滴,模型组小鼠肝脏胞质可见大量

红色脂滴,高脂饮食小鼠肝脏脂质沉积显著增加($P<0.01$);灌胃丹皮酚后,小鼠肝脏的脂质沉积明显减少($P<0.01$;图 2)。

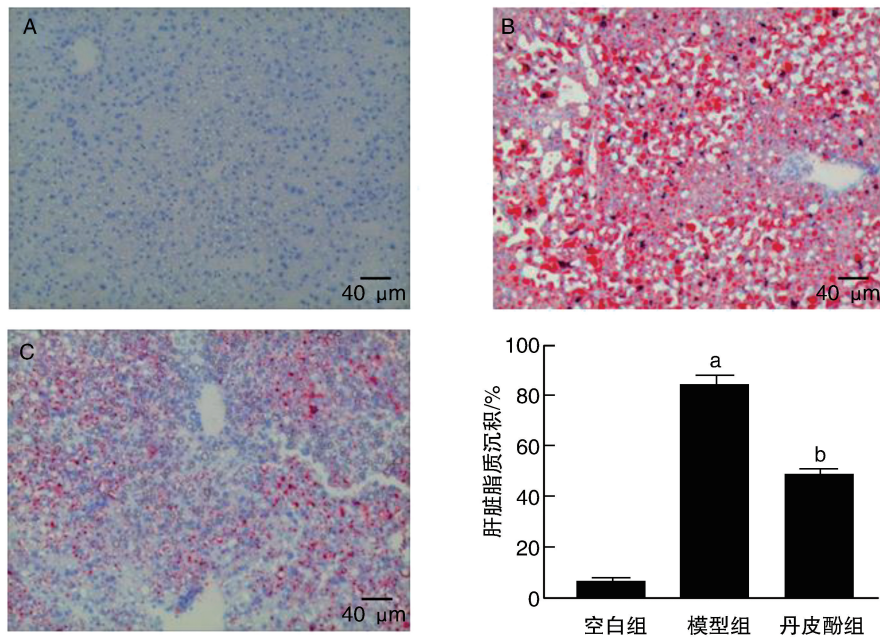


图 2. 丹皮酚对 ApoE^{-/-}小鼠肝脏脂肪分布的影响 (n=3)
A 为空白组, B 为模型组, C 为丹皮酚组。a 为 P<0.01, 与空白组比较; b 为 P<0.01, 与模型组比较。

Figure 2. Effects of Pae on the liver tissue morphology of ApoE^{-/-} mice (n=3)

2.3 丹皮酚对 ApoE^{-/-}小鼠肝脏系数的影响

与空白组相比,模型组小鼠肝脏系数明显增加 (P<0.05),丹皮酚给药小鼠肝脏系数较模型组显著降低 (P<0.05;表 1)。

表 1. 丹皮酚对 ApoE^{-/-}小鼠肝脏系数的影响

Table 1. Effect of Pae on liver coefficient of ApoE^{-/-} mice

分组	n	肝脏系数/%
空白组	6	4.45±0.21
模型组	6	5.44±0.17 ^a
丹皮酚组	6	4.77±0.17 ^b

注:a 为 P<0.05, 与空白组比较; b 为 P<0.05, 与模型组比较。

2.4 丹皮酚对 ApoE^{-/-}小鼠血清和肝脏中脂质水平的影响

为了探究小鼠体内血脂及肝脏脂质水平的变化以及丹皮酚给药后的干预作用,采用酶标仪检测小鼠血清 TG、TC、HDLC 和 LDLC 及肝脏 TC、TG 的含量水平。结果显示,模型组小鼠血清 TG、TC、LDLC 水平明显升高,肝脏 TG、TC 水平同样显著升高;丹皮酚组血清 TG、TC 和 LDLC 水平及肝脏 TC、TG 水平明显降低,与模型组小鼠比较差异有显著性,丹皮酚同样可以逆转高脂饲养引起的 HDLC 水平降低。以上结果表明:高脂饲养造成小鼠体内脂质水平紊乱,丹皮酚对 As 小鼠具有明显的降脂作用(表 2)。

表 2. 丹皮酚对 ApoE^{-/-}小鼠血清和肝脏脂质水平的影响

Table 2. Effects of Pae on lipid level in serum and liver of ApoE^{-/-} mice

分组	n	血清/(mmol/L)				肝脏/(mmol/100 g)	
		TC	TG	LDLC	HDLC	TC	TG
正常组	6	11.97±1.17	1.48±0.31	5.98±2.58	4.04±0.67	0.57±0.14	0.97±0.29
模型组	6	67.50±3.26 ^a	13.85±1.54 ^a	23.41±4.49 ^a	2.21±0.60 ^a	1.41±0.10 ^a	2.25±0.20 ^a
丹皮酚组	6	37.91±3.92 ^b	5.19±1.31 ^c	13.19±3.87 ^c	3.63±1.24 ^b	0.93±0.21 ^c	1.52±0.15 ^b

注:a 为 P<0.01, 与空白组比较; b 为 P<0.05, c 为 P<0.01, 与模型组比较。

2.5 丹皮酚对 ApoE^{-/-}小鼠粪便总胆汁酸含量的影响

采用酶标仪检测小鼠粪便总胆汁酸的含量,结

果显示,与空白组比较,模型组小鼠粪便总胆汁酸水平显著升高 (P<0.05),丹皮酚干预后可显著增加小鼠粪便中胆汁酸的含量 (P<0.05;图 3)。

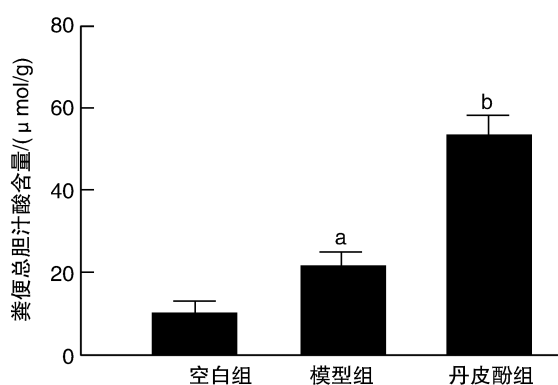


图 3. 丹皮酚对 ApoE^{-/-}小鼠粪便总胆汁酸含量的影响 (n=6)

a 为 $P < 0.05$, 与空白组比较; b 为 $P < 0.05$, 与模型组比较。

Figure 3. Effect of Pae on the total bile acid content in feces of ApoE^{-/-} mice (n=6)

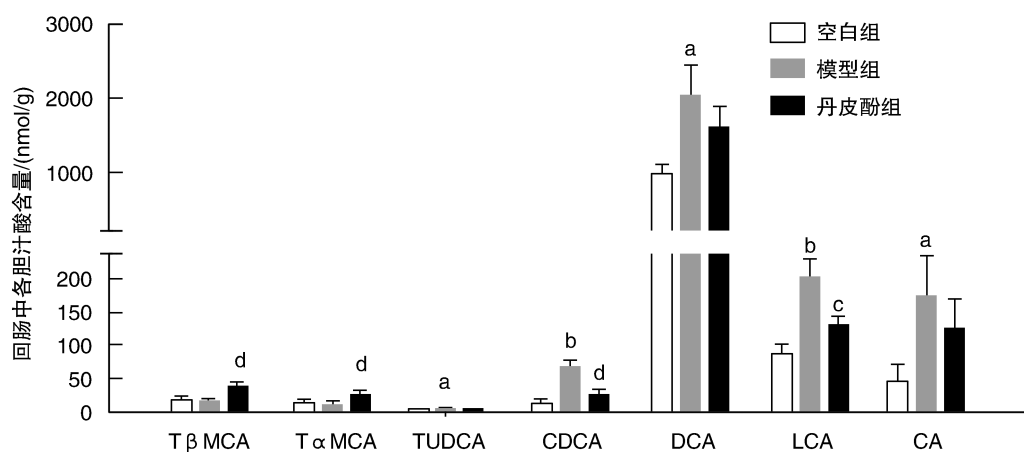


图 4. 丹皮酚对 ApoE^{-/-}小鼠回肠胆汁酸含量变化的影响 (n=6)

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与空白组比较; c 为 $P < 0.05$, d 为 $P < 0.01$, 与模型组比较。

Figure 4. Effect of Pae on the changes of bile acid content in the ileum of ApoE^{-/-} mice (n=6)

2.7 丹皮酚对 ApoE^{-/-}小鼠肝脏 CYP7A1 和回肠 FXR、FGF15 蛋白表达的影响

Western blot 结果显示,与空白组比较,模型组小鼠肝脏 CYP7A1 蛋白表达水平显著减少 ($P < 0.01$),回肠 FXR 和 FGF15 蛋白表达水平显著增加 ($P < 0.01$);与模型组比较,丹皮酚组小鼠肝脏 CYP7A1 蛋白表达水平显著增加 ($P < 0.01$),回肠 FXR 和 FGF15 蛋白表达水平显著减少 ($P < 0.01$);图 5)。以上结果表明:丹皮酚可降低回肠 FXR 和 FGF15 蛋白表达,升高肝脏 CYP7A1 蛋白表达,进而促进肝脏中胆固醇向胆汁酸转化。

2.6 丹皮酚对 ApoE^{-/-}小鼠回肠中各胆汁酸含量变化的影响

进一步利用 LC-MS/MS 检测回肠中各胆汁酸含量的变化,鹅脱氧胆酸 (chenodeoxycholic acid, CDCA)、脱氧胆酸 (deoxycholic acid, DCA)、石胆酸 (lithocholic acid, LCA) 和胆酸 (cholic acid, CA) 均为 FXR 受体激动剂,牛磺- α -鼠胆酸 (tauro α -muricholic acid, T α MCA) 与 T β MCA 和牛磺熊脱氧胆酸 (taurooursodeoxycholic acid, TUDCA) 为 FXR 受体拮抗剂^[13-14]。与空白组相比,模型组小鼠 TUDCA、CDCA、DCA、LCA 和 CA 含量均显著升高 ($P < 0.05$ 或 0.01),T α MCA 和 T β MCA 含量差异无显著性 ($P > 0.05$);与模型组相比,丹皮酚给药后可显著升高回肠中 T α MCA 和 T β MCA 含量 ($P < 0.01$),显著降低 CDCA 和 LCA 含量 ($P < 0.05$ 或 0.01);图 4)。

3 讨论

高脂饮食诱导的胆固醇积聚是脂质代谢紊乱的常见致病因素之一,是心血管疾病的高危因素^[15]。ApoE^{-/-}小鼠是当前用于复制 As 模型的经典动物,高脂饲料造成小鼠体内胆固醇和脂质大量累积,由于 ApoE 基因缺陷,小鼠血液循环中脂质代谢受阻,更容易导致 As 发生,其病理及组织学形态与人类疾病极为相近^[16],故本研究采用 ApoE^{-/-}小鼠高脂饲料喂养 20 周建立 As 模型,血脂和肝脂水平明显升高,通过肉眼观察和油红 O 染色肝脏组织均显示模型组小鼠肝内大量的脂质沉积,脂肪变性严重,这些结果说明长期喂食高脂饮食导致小鼠体

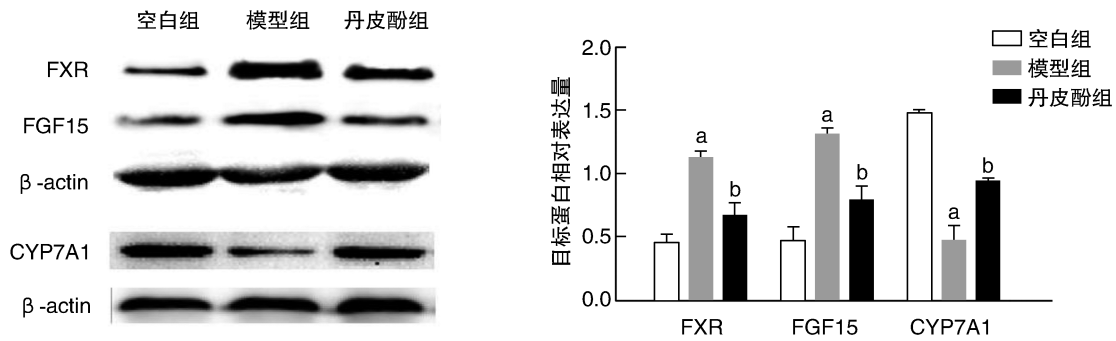


图 5. 丹皮酚对 ApoE^{-/-}小鼠回肠 FXR、FGF15 及肝脏 CYP7A1 蛋白表达的影响 (n=6)

a 为 $P < 0.01$, 与空白组比较; b 为 $P < 0.01$, 与模型组比较。

Figure 5. The effect of Pae on the expression of FXR, FGF15 and CYP7A1 in ApoE^{-/-} mice (n=6)

内过量胆固醇沉积;模型组小鼠主动脉大体油红 O 染色后,主动脉弓处的阳性区域斑块面积明显增多,这些结果均表明 As 模型复制成功。

课题组前期已有研究不同剂量丹皮酚抗 As 的作用,丹皮酚有效剂量有充足依据,其中以丹皮酚 200 mg/kg 作用最为明显^[17],故本研究选用 200 mg/kg 作为有效给药剂量。与模型组相比,丹皮酚给药后可逆转高脂饮食引起的血清及肝脏脂质代谢紊乱,降低 ApoE^{-/-}小鼠肝脏脂质的积聚和主动脉大体斑块面积,提示丹皮酚具有调控体内脂质代谢、抗 As 的作用。

肝脏中胆固醇的摄取、合成、代谢和排泄直接影响肝脏胆固醇水平^[18],加强胆固醇逆向转运和增加其转化为胆汁酸是胆固醇代谢的主要途径^[19]。胆汁酸是胆固醇分解代谢的主要下游产物,它的产生和排泄对维持胆固醇稳态至关重要,由此,调控胆汁酸代谢是抗 As 研究的有效路径。FXR 是脂质代谢的一个重要组成部分^[5],在无菌处理的动物体内已有研究证实胆汁酸的合成受 FXR-FGF15 信号通路调控^[20]。FXR 拮抗剂可以显著改善高胆固醇血症、高脂血症和糖尿病,已有研究表明,T α MCA 和 T β MCA 是鼠胆酸在小鼠体内的主要存在形式,是 FXR 受体的天然拮抗剂,CDCA 和 LCA 均为内源性 FXR 激动剂,且药理活性 CDCA > LCA^[9-10,21]。在本研究中,通过酶法检测粪便中总胆汁酸含量变化,LC-MS/MS 检测回肠单个胆汁酸含量,Western blot 检测小鼠肝脏 CYP7A1 及回肠 FXR、FGF15 蛋白的表达,结果表明丹皮酚可升高回肠 FXR 拮抗剂 T α MCA 和 T β MCA 含量,降低 FXR 激动剂 CDCA 和 LCA 含量,抑制肠 FXR-FGF15 信号通路,促进肝 CYP7A1 的表达,提高粪便中胆汁酸的排出。提示

丹皮酚可能通过胆汁酸代谢途径,减少高脂饮食诱导的 ApoE^{-/-}小鼠肝脏胆固醇积聚,发挥抗 As 作用。

本研究在建立 As 模型基础上,首次探讨丹皮酚对胆汁酸代谢的调节作用,进而抑制高脂饮食诱导的 As 发生发展。但丹皮酚对胆汁酸代谢更深入的分子机制研究尚需进一步完善,本课题组将在后续研究中作更深入的探讨。

[参考文献]

- [1] 杨金芝,孙晓东,丁芳芳,等. 脂肪细胞胆固醇稳态与动脉粥样硬化[J]. 中国动脉硬化杂志, 2018, 26(9): 953-960.
- [2] Rahman MS, Woollard K. Atherosclerosis[J]. Adv Exp Med Biol, 2017, 1003: 121-144.
- [3] Zhou H, Hylemon PB. Bile acids are nutrient signaling hormones[J]. Steroids, 2014, 86: 62-68.
- [4] 刘笑,王琰. 胆汁酸的合成调控及其在生理与病理中的功能机制[J]. 遗传, 2019, 41(5): 365-374.
- [5] Xu Y, Li F, Zalzal M, et al. Farnesoid X receptor activation increases reverse cholesterol transport by modulating bile acid composition and cholesterol absorption in mice[J]. Hepatology, 2016, 64(4): 1072-1085.
- [6] Chávez-Talavera O, Tailleux A, Lefebvre P, et al. Bile acid control of metabolism and inflammation in obesity, type 2 diabetes, dyslipidemia, and nonalcoholic fatty liver disease[J]. Gastroenterology, 2017, 152(7): 1679-1694. e3.
- [7] Sun L, Pang Y, Wang X, et al. Ablation of gut microbiota alleviates obesity-induced hepatic steatosis and glucose intolerance by modulating bile acid metabolism in hamsters[J]. Acta Pharm Sin B, 2019, 9(4): 702-710.

(下转第 165 页)

- reperfusion injury: looking beyond primary PCI[J]. *Eur Heart J*, 2013, 34(23): 1714-1722.
- [19] Signori LU, Quadros AS, Sbruzzi G, et al. Endothelial function in patients with slow coronary flow and normal coronary angiography[J]. *Clinics (Sao Paulo)*, 2012, 67(6): 677-680.
- [20] You Q, Wang J, Dong W, et al. Protective effect of Danhong injection in patients with acute myocardial infarction at a high risk of no-reflow during primary percutaneous coronary intervention [J]. *J Geriatr Cardio*, 2019, 16(5): 406-413.
- [21] Zhang XY, Sun Y, Yang XY, et al. Effect of Chinese medicine on no or slow reflow after percutaneous coronary intervention in myocardial infarction patients: a systematic review and Meta-analysis[J]. *Chin J Integr Med*, 2020, 26(3): 227-234.
- [22] Ji Z, Zhang R, Lu W, et al. The effect of nicorandil in patients with acute myocardial infarction undergoing percutaneous coronary intervention: a systematic review and Meta-analysis[J]. *Ir J Med Sci*, 2020, 189(1): 119-131.
- [23] 张丽, 丁世芳, 蒋桔泉, 等. 经桡动脉入径直接经皮冠状动脉介入治疗术联合替罗非班治疗急性 ST 段抬高型心肌梗死的临床疗效研究[J]. *中国全科医学*, 2016, 19(10): 1156-1160.
- [24] Guo ZT, Liu W, Xin S, et al. Follow-up observation of one year's treatment of acute ST-elevated myocardial infarction via reverse thrombolysis combined PCI surgery [J]. *J Xinjiang Med Univ*, 2017, 40(7): 902-905.
- [25] Liu JN, Liu JX, Liu Bf BF, et al. Prourokinase mutant that induces highly effective clot lysis without interfering with hemostasis[J]. *Circ Res*, 2002, 90(7): 757-763.
- [26] Novakovic RL, Toth G, Narayanan S, et al. Retrievable stents, "stentrievors," for endovascular acute ischemic stroke therapy[J]. *Neurology*, 2012, 79(13 Suppl 1): S148-S157.
- [27] Gibson CM, Maehara A, Lansky AJ, et al. Rationale and design of the infuse-AMI study: a 2x2 factorial, randomized, multicenter, single-blind evaluation of intracoronary abciximab infusion and aspiration thrombectomy in patients undergoing percutaneous coronary intervention for anterior ST-segment elevation myocardial infarction[J]. *Am Heart J*, 2011, 161(3): 478-486.
- (此文编辑 许雪梅)

(上接第 128 页)

- [8] Kuipers F, Bloks VW, Groen AK. Beyond intestinal soap-bile acids in metabolic control[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2014, 10(8): 488-498.
- [9] Parséus A, Sommer N, Sommer F, et al. Microbiota-induced obesity requires farnesoid X receptor[J]. *Gut*, 2017, 66(3): 429-437.
- [10] Huang F, Zheng X, Ma X, et al. Theabrownin from Pu-erh tea attenuates hypercholesterolemia via modulation of gut microbiota and bile acid metabolism[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 4971.
- [11] 刘雅蓉, 邵倩, 张慧慧, 等. 丹皮酚上调小凹蛋白-1 抑制 NF-κB 通路减轻动脉粥样硬化模型大鼠主动脉血管内皮炎症的作用[J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(11): 2578-2585.
- [12] 董兆旻, 谢先梅, 孙颖, 等. 丹皮酚对高脂血症大鼠肝脏脂质代谢及自噬的影响[J]. *安徽中医药大学学报*, 2018, 37(5): 50-54.
- [13] Trabelsi MS, Lestavel S, Staels B, et al. Intestinal bile acid receptors are key regulators of glucose homeostasis [J]. *Proc Nutr Soc*, 2017, 76(3): 192-202.
- [14] Song P, Rockwell CE, Jy C, et al. Individual bile acids have differential effects on bile acid signaling in mice[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2015, 283(1): 57-64.
- [15] Sugiyama D, Okamura T, Watanabe M, et al. Risk of hypercholesterolemia for cardiovascular disease and the population attributable fraction in a 24-year Japanese cohort study[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2015, 22(1): 95-107.
- [16] 宋珂, 侯彦宏, 杨会, 等. ApoE 基因敲除小鼠疾病模型的研究进展[J]. *中国医药导报*, 2019, 16(18): 42-44.
- [17] Wu H, Song A, Hu W, et al. The anti-atherosclerotic effect of paeonol against vascular smooth muscle cell proliferation by up-regulation of autophagy via the AMPK/mTOR signaling pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 8: 948.
- [18] Luo J, Yang H, Song BL. Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(4): 225-245.
- [19] Liu J, Li Y, Sun C, et al. Geniposide reduces cholesterol accumulation and increases its excretion by regulating the FXR-mediated liver-gut crosstalk of bile acids[J]. *Pharmacol Res*, 2020, 152: 104631.
- [20] Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, et al. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota[J]. *Microbiology*, 2010, 156(Pt 11): 3216-3223.
- [21] Martinot E, Sèdes L, Baptissart M, et al. Bile acids and their receptors[J]. *Mol Aspects Med*, 2017, 56: 2-9.
- (此文编辑 许雪梅)