

· 基础研究 ·

宁心痛颗粒含药血清及有效组分干预 THP-1 源性巨噬细胞泡沫化的效应与机制

何小丽 顾 宁

摘要 目的 探讨宁心痛颗粒含药血清及主要药物的有效组分(黄芪多糖、藁本内酯)干预 THP-1 源性巨噬细胞泡沫化的效应与机制。**方法** 采用佛波酯诱导人 THP-1 细胞转化为巨噬细胞,再与 oxLDL 共培养建立泡沫细胞模型;分为空白对照组、模型对照组、宁心痛颗粒含药血清(CMS)组、空白血清组、黄芪多糖(APS)组、藁本内酯(LIG)组、黄芪多糖合藁本内酯(APS + LIG)组 7 组,对巨噬细胞泡沫化过程进行干预。运用高效液相色谱法检测泡沫化程度(CE/TC 比值),Western blot 法检测 SRA-I、CD36、ABCA1、LXR- α 、PPAR- γ 的表达。**结果** 与空白对照组比较,模型对照组 CE/TC 值、SRA-I、CD36、ABCA1 及 LXR- α 、PPAR- γ 蛋白表达升高($P < 0.05$);与模型对照组比较,LIG 组、APS + LIG 组、CMS 组 CE/TC 值降低($P < 0.05$),除 APS 组 ABCA1 外,APS 组、LIG 组、APS + LIG 组、CMS 组 SRA-I、CD36 蛋白表达降低,ABCA1、LXR- α 、PPAR- γ 蛋白表达升高($P < 0.05$)。与 APS 组比较,CMS 组 CE/TC 值降低,ABCA1 蛋白表达升高($P < 0.05$)。**结论** 宁心痛颗粒含药血清、主要药物的有效组分(APS、LIG)均可不同程度抑制 THP-1 源性巨噬细胞泡沫化,其机制可能与调节巨噬细胞脂质吞噬-逆转运间的平衡,即下调脂蛋白吞噬受体 SRA-I、CD36 的表达,上调胆固醇逆转运通路中的 ABCA1、PPAR- γ 及 LXR- α 的表达有关。

关键词 宁心痛颗粒;含药血清;有效组分;THP-1 源性巨噬细胞;泡沫细胞

Effect and Mechanism of the Foaming of THP-1 Derived Macrophages Intervened by NingXinTong Granules Containing Medicine Serum and Effective Components HE Xiao-li and GU Ning Department of Cardiology, The Third Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing (210001)

ABSTRACT Objective To explore the effect and mechanism of the foaming of THP-1 derived macrophages intervened by NingXinTong Granules containing medicine serum and effective components. **Methods** THP-1 cells were induced by phorbol-1-myristate-13-acetate (PMA), differentiated into macrophages ($M\phi$), then divided into seven groups: blank group, that was macrophage group ($M\phi$ group); model group, that was foam cell group (FC group); NingXinTong Granules containing medicine serum group (CMS group); blank control serum group (BCS group); astragalus polysaccharide group (APS group); ligustilide group (LIG group); APS combining with LIG group (APS + LIG group). The foam cell formation rates were detected by high performance liquid chromatography (HPLC), and the expressions of SRA-I, CD36, ABCA1, LXR- α and PPAR- γ were measured by Western blot technology. **Results** The levels of CE/ET and the protein expressions of SRA-I, CD36, ABCA1, LXR- α and PPAR- γ of the FC group were obviously higher than the $M\phi$ group ($P < 0.05$). The levels of CE/ET of the LIG, APS + LIG and CMS groups were significantly lower than the FC group ($P < 0.05$). The protein expressions of SRA-I and CD36 of APS, LIG, APS + LIG and CMS groups were remarkably lower than the FC group ($P < 0.05$), and the protein expressions of ABCA1, LXR- α and PPAR- γ were noticeably higher than the FC group ($P < 0.05$), except ABCA1 expression in APS group. The level of CE/ET of CMS group was markedly lower than the APS group ($P < 0.05$). While the pro-

基金项目:国家自然科学基金面上项目(No. 81173399);江苏省研究生科研创新基金项目(No. CXZZ11-0759);江苏省基础研究计划面上项目(江苏省自然科学基金)(No. BK20161115);南京市十三五医学科技创新平台重大项目(No. ZDX16009)

作者单位:南京中医药大学第三附属医院(南京市中医院)心血管科(南京 210001)

通讯作者:顾 宁, Tel:025-52276242, E-mail:jsguning@163.com

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20171013. 239

tein expression of ABCA1 of the CMS group was statistically higher than the APS group ($P < 0.05$). Conclusion NingXinTong Granules containing medicine serum and effective components might inhibit the foaming of THP-1 derived macrophages, the mechanism of which might be regulating the balance of “intake-reverse transport” cholesterol of the macrophage, that was down-regulating the expressions of SRA-I and CD36, and up-regulating the expressions of ABCA1, LXR- α and PPAR- γ .

KEYWORDS NingXinTong Granules; containing medicine serum; effective components; THP-1 derived macrophage; foam cell

益气活血功效的“宁心痛颗粒”是具有自主知识产权的南京中医药大学第三附属医院的医院制剂(苏药制字 Z04000781),是临床治疗冠心病不稳定性心绞痛的有效中药制剂,本研究以 THP-1 源性巨噬细胞为研究对象,观察宁心痛颗粒含药血清及主要药物的有效组分[黄芪多糖(astragalus polysaccharide, APS)、葎本内酯(ligustilide, LIG)]干预其泡沫化的效应及机制。

材料与方法

1 细胞和动物 人 THP-1 细胞株(中国科学院上海细胞库,来源于美国细胞培养中心 ATCC);3 月龄清洁级健康 SD 大鼠 24 只,体重 200 ± 20 g,由南京中医药大学动物实验中心购于浙江省医学科学院实验动物中心,许可证号:SCXK(浙)20130033。

2 试剂及仪器 试剂:宁心痛颗粒(由黄芪、川芎、葛根、毛冬青、细辛组成,比例为 3:3:2:2:1),南京中医药大学第三附属医院院内自制制剂(批号:120919),规格:10 g/袋;注射用 APS(商品名:伯恩,天津赛诺制药有限公司,批号:091104);LIG(CAS No. 4431-01-0,成都克洛玛生物科技有限公司)。细胞培养基 PRMI1640(澳大利亚, Gibco);胎牛血清(fetal bovine serum, FBS, 澳大利亚 Gibco),佛波酯(phorbol-1-myristate-13-acetate, PMA)、二甲基亚砷(DMSO),美国 Sigma 公司;双抗(1 万 IU/mL 青霉素、1 万 μ g/mL 链霉素, Hy-Clone);氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, oxLDL, 1.8 mg/mL, YB-002, 广州奕源生物),油红 O 染色试剂盒(Cat.No. 0843:0843a + 0843b, ScienCell);胆固醇(cholesterol, $C_{27}H_{46}O$, 分子量 386.65, Sigma);BCA 蛋白定量试剂盒(23227, Pierce, Thermo Scientific, 包含试剂 A、试剂 B 及蛋白标准品);一抗:A 族清道夫受体(antibody of scavenger receptor class A, SRA, 50kD, ab93290, Abcam)、肝 X 受体(antibody of liver X receptor α , LRA α , 50 kD, ab41902, abcam)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (antibody of peroxisome proliferator activated

receptor γ , PPAR γ 58 kD, ab19481, Abcam)、CD36-Ab(85-88kD, ab17044, Abcam)、三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(antibody of ATP binding cassette transporter A1, ABCA1, 54 kD, ab18180, Abcam)、 β -actin(m0001, CMC);二抗:HRP 标记山羊抗小鼠 IgG(JES-2, 巧伊生物)、HRP 标记山羊抗兔 IgG(JES-3, 巧伊生物)。

仪器:ACB-4A1 垂直流超净工作台(ESCO, Singapore);HERA cell 150i CO₂ 培养箱(Thermo);HWS-26 电热恒温水浴锅(Bluepard 上海一恒科技有限公司);ELX800 酶标仪(BioTek);CKX31 倒置式生物显微镜(Olympus);CKX41 倒置式生物显微镜成像系统(Olympus);5702 常温低速离心机(Eppendorf);5810R 冷冻离心机(Eppendorf);035982 掌上离心机(Eppendorf);5810R 冷冻离心机(Eppendorf);F7AN01446 纯水仪(Millipore);PB-10PH 计(Sartorius);Image Quant LAS4000 mini 检测仪器(化学发光成像系统, GE Healthcare);M333 电子天平(BEL engineering);BT25S 电子天平(Sartorius);00066497 高电流电泳仪(Bio-Rad);170-3974 蛋白半干转印仪(Bio-Rad);蛋白湿转印仪(Power PacTM Basic, Bio-Rad);ZD-9550 脱色摇床(海门其林贝尔)。

3 细胞培养及转化 人单核细胞系 THP-1 细胞于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中用 10% RPMI1640 完全培养液(含 10% 胎牛血清、100 μ g/mL 青霉素、100 μ g/mL 链霉素)培养,每 36 h 换液 1 次,每 72 h 传代 1 次。于传代 3 次后第一天收集细胞,用含 PMA 的 3% RPMI1640 完全培养液(PMA 终浓度为 100 nmol/mL)吹悬,以约 1 600 个/孔接种于 96 孔板,每孔体积 200 μ L,培养 48 h。

4 宁心痛颗粒含药血清的制备 24 只大鼠利用随机数字表分为空白组和宁心痛颗粒组,每组 12 只。根据预实验结果^[1],确定宁心痛颗粒组大鼠最适制备含药血清的剂量为标准给药剂量的 10 倍,将日服量分 2 次给药,连续给药 3 天,第 4 天一次灌服全天剂量;

空白组大鼠灌服等量生理盐水。两组大鼠第 4 天给药或生理盐水前禁食 12 h, 自由饮水, 给药或生理盐水后 2 h 在麻醉状态下颈动脉采血。将收集到的血液 4 ℃, 静置 4 h; 3 000 r/min 4 ℃, 离心 15 min 取上清液, 再次 3 000 r/min 4 ℃, 离心 10 min 取上清, 同组混匀, 56 ℃ 水浴 30 min 灭活, 0.22 μm 滤器抽滤除菌, 分装, -70 ℃ 保存备用。

5 APS 和 LIG 干预剂量及时间的确定 APS 的干预剂量主要参考了文献报道^[2-4]。本实验初期通过 MTT 实验对不同浓度 APS 对 THP-1 源性巨噬细胞活力的影响进行了初步观察, 将 APS 设 5 个浓度组即 25、50、100、200、400 μg/mL, 分别作用 24、48、72 h。结果: 在实验所观察的时间、剂量范围内, 200 μg/mL APS 作用 48 h 时 THP-1 源性巨噬细胞活力最大(组内组间比较差异均有统计学意义, $P < 0.05$), 故本次实验最终选择 APS 的干预剂量为 200 μg/mL, 作用时间为 48 h。

LIG 的干预剂量主要参考了文献所述体外细胞实验所采用的剂量^[5,6], 本实验初期通过 MTT 法对不同浓度 LIG 对 THP-1 源性巨噬细胞活力的影响进行了初步观察, 将 LIG 设 5 个浓度组即 2.5、5.0、10、20、40 μg/mL, 分别作用 24、48、72 h。结果: 在实验所观察的时间、剂量范围内, 20 μg/mL LIG 作用 48 h 时 THP-1 源性巨噬细胞活力最大(组内组间比较差异均有统计学意义, $P < 0.05$), 故本次实验最终选择 LIG 的干预剂量为 20 μg/mL, 作用时间为 48 h。

6 分组及干预方法 共分为 7 组: (1) 空白对照组: 即 THP-1 源性巨噬细胞组; (2) 模型对照组: 即泡沫细胞 (foam cells, FC) 组, THP-1 源性巨噬细胞 + 50 μg/mL ox-LDL; (3) APS 组: 即 FC 组 + 200 μg/mL APS; (4) LIG 组: 即 FC 组 + 20 μg/mL LIG; (5) APS + LIG 组: 即 FC 组 + 200 μg/mL APS + 20 μg/mL LIG; (6) 宁心痛颗粒含药血清 (containing medicine serum, CMS) 组: 即 FC 组 + 3% 宁心痛颗粒含药血清; (7) 空白血清对照 (blank control serum, BCS) 组: 即 FC 组 + 3% 空白血清。各组加相应的干预品培养 48 h。

7 油红 O 染色法观察 THP-1 源性巨噬细胞泡沫化 油红 O 染色法参照油红 O 染色试剂盒使用说明书进行操作。处理过的样本置显微镜下观察 (×400); 细胞内脂质颗粒呈红色, 细胞核呈蓝色。

8 高效液相色谱法 (HPLC) 检测 THP-1 源性巨噬细胞泡沫化程度

8.1 色谱条件 色谱柱: Hypersil C₁₈ 柱 (2.1 mm × 150 mm, 3 μm); 流动相: 甲醇-水 (90:

10); 流速: 0.5 mL/min; 柱温: 室温; 进样量: 10 μL。

8.2 绘制标准曲线 将质量浓度为 0.1385, 0.279, 0.558, 0.837, 1.116, 1.395, 2.790 μg/mL 的胆固醇对照品系列溶液, 分别注入 HPLC 仪, 按上述色谱条件记录图谱。以胆固醇的质量浓度为横坐标 (X), 其峰面积与内标峰面积的比值为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线。

8.3 提取细胞裂解液 按上述分组进行细胞培养及干预结束后, 吸去上清液, 冰冻 PBS 洗 3 次, 用细胞刮刀刮取细胞, 加 1 mL 冰冻生理盐水重悬细胞, 反复冻融 3 次, 冰浴中超声破碎细胞 (600 W, 持续 4 s, 间歇 8 s, 6 次) 得细胞裂解液, 取 10 μL BCA 法蛋白定量, 余分装, -70 ℃ 贮存。

8.4 提取总胆固醇 (TC) 取 160 μL 上述细胞裂解液, 加 300 μL 15% KOH 乙醇溶液, 50 ℃ 水解 2 h; 加正己烷-异丙醇 (4:1) 500 μL 涡旋 50 s; 4 ℃, 3 600 r/min 离心 5 min, 取上层。继用正己烷-异丙醇 (4:1) 如上法抽提 2 次, 合并 3 次抽提的有机相, 减压真空干燥, 加 20 μL 内标储备液, 用甲醇溶解并定容至 2 mL, 摇匀, 作为 TC 供试品溶液。

8.5 提取游离胆固醇 (free cholesterol, FC) 取 160 μL 上述细胞裂解液, 加 300 μL 乙醇, 加正己烷-异丙醇 (4:1) 500 μL 涡旋 30 s; 4 ℃, 3 600 r/min 离心 5 min, 取上层。继用正己烷-异丙醇 (4:1) 如上法抽提 2 次, 合并 3 次抽提的有机相, 减压真空干燥, 加 20 μL 内标储备液, 用甲醇溶解并定容至 2 mL, 摇匀, 作为 FC 供试品溶液。

8.6 HPLC 分析细胞内胆固醇与胆固醇酯 (cholesterol ester, CE) 的含量 按上述色谱条件, 记录胆固醇的峰面积, 按外标法代入回归方程, 计算 TC 和 FC。CE = TC - FC。以 mg/g 细胞蛋白为单位表示。CE/TC > 50% 提示形成泡沫细胞, CE/TC 比值与泡沫化程度成正比。

9 Western blot 法检测 THP-1 源性巨噬细胞 SRA-I、CD36、ABCA1 及 LXR-α、PPARγ 的表达 按上述分组进行细胞培养及干预结束后, 收集细胞用 PBS 清洗 2 次, 将 RIPA 裂解液、PMSF 与蛋白酶抑制剂以 100:1:1 的比例混合后裂解细胞提取总蛋白。使用 BCA 试剂盒进行蛋白定量, 调整蛋白浓度后, 加入上样缓冲液, 99 ℃ 变性 5 min, -20 ℃ 保存。经 SDS-PAGE 电泳后转膜; 5% 脱脂奶粉 TBST 室温封闭 PVDF 膜 2 h; 将 PVDF 膜分别与 SRA-I (1:1 000)、CD36 (1:500)、ABCA1 (1:1 000)、LXR-α (1:1 000)、PPARγ (1:400)、β-actin (1:2 000) 一抗

于 4 ℃ 孵育过夜;移除一抗工作液,在低速摇床上用 0.01%TBST 洗膜 3 次,每次 5 min;将 PVDF 膜与对应蛋白的二抗在室温下孵育 2 h;0.01%TBST 洗膜 3 次,每次 5 min。加入 ECL 化学发光显色剂,化学发光成像仪进行曝光、保存图像。用 Image J 软件测定蛋白条带灰度值,将目的蛋白与内参 β -actin 灰度值的比值进行蛋白表达半定量分析。

10 统计学方法 数据分析使用 SPSS 17.0 软件。数值数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,有线性趋势的数据用方差分析检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 THP-1 细胞的培养与诱导转化(图 1) 显微镜下观察细胞由悬浮状态变为贴壁状态,形态发生明显改变,由圆形变为梭形、椭圆形或者不规则形,并有伪足伸出,提示细胞已分化为 THP-1 源性巨噬细胞,其功能与巨噬细胞相似。

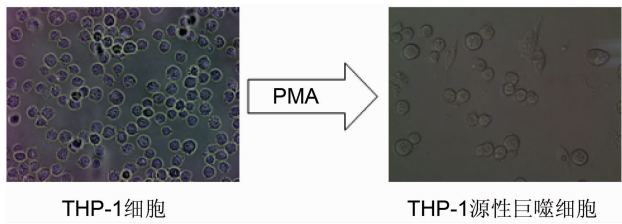
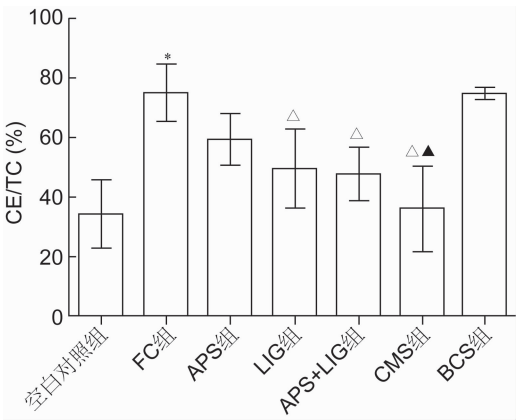


图 1 THP-1 细胞经 PMA 诱导转化为巨噬细胞 (×200)

2 各组 THP-1 源性巨噬细胞泡沫化比较(图 2) 经油红 O 染色后,除空白对照组外,其余各组细胞均不同程度吞噬了红色脂质颗粒,CMS 组细胞内红色颗粒相对较少。

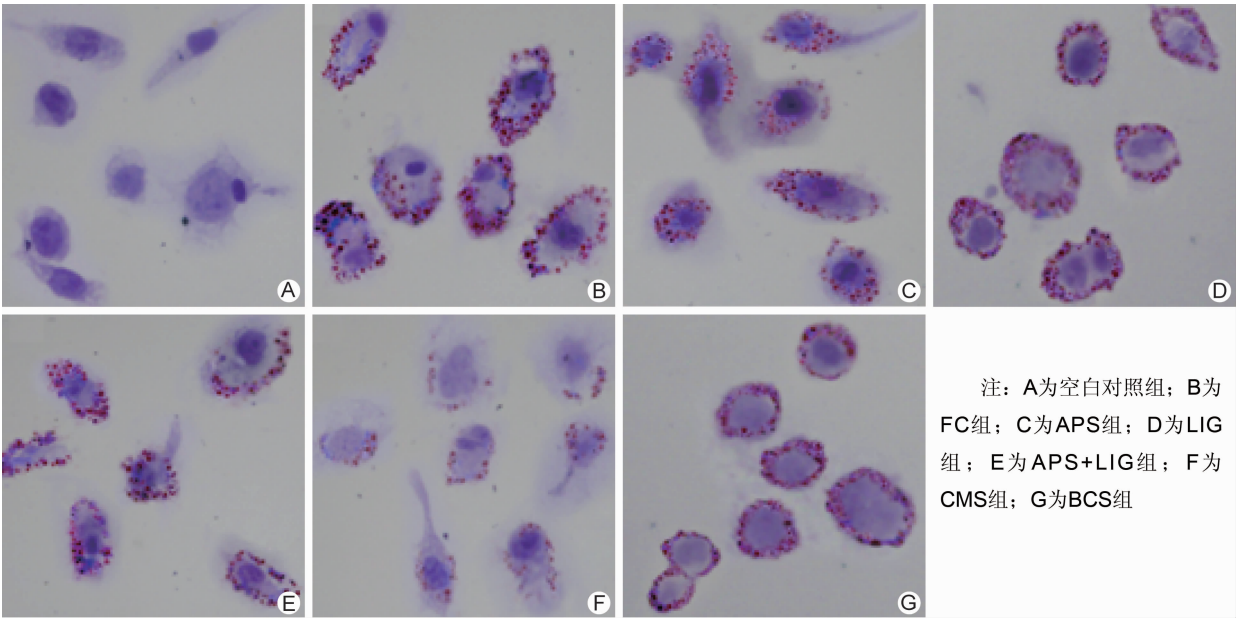
3 各组细胞的 CE/TC 比值比较(图 3) 与空白对照组比较,FC 组 CE/TC 值升高($P < 0.05$);与 FC 组比较,LIG 组、APS + LIG 组、CMS 组 CE/TC 值降低($P < 0.05$),且 CMS 组 CE/TC 值低于 APS 组($P < 0.05$)。其余各组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

4 各组 THP-1 源性巨噬细胞 SRA-I、CD36、ABCA1 及 LXR- α 、PPAR γ 的表达比较(图 4,表 1)



注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$;与 FC 组比较, $\Delta P < 0.05$;与 APS 组比较, $\blacktriangle P < 0.05$

图 3 各组 CE/TC 比值比较



注: A为空白对照组; B为 FC组; C为 APS组; D为 LIG组; E为 APS+LIG组; F为 CMS组; G为 BCS组

图 2 各组 THP-1 源性巨噬细胞泡沫化 (油红 O 染色, ×400)

表 1 各组细胞 SRA-I、CD36、ABCA1、LXR-α、PPAR-γ 的表达 (灰度值, $\bar{x} \pm s$)

组别	SRA-I	CD36	ABCA1	LXR-α	PPAR-γ
空白对照	0.43 ± 0.03	0.44 ± 0.05	0.10 ± 0.02	0.77 ± 0.06	0.61 ± 0.02
FC	0.66 ± 0.00 *	0.65 ± 0.01 *	0.35 ± 0.03 *	1.07 ± 0.03 *	1.09 ± 0.02 *
APS	0.54 ± 0.03 Δ	0.57 ± 0.02 Δ	0.41 ± 0.04	1.42 ± 0.07 Δ	1.91 ± 0.06 Δ
LIG	0.57 ± 0.00 Δ	0.56 ± 0.01 Δ	0.45 ± 0.01 Δ	1.43 ± 0.05 Δ	1.93 ± 0.03 Δ
APS + LIG	0.54 ± 0.02 Δ	0.54 ± 0.02 Δ	0.47 ± 0.02 Δ	1.46 ± 0.03 Δ	1.95 ± 0.01 Δ
CMS	0.52 ± 0.01 Δ	0.52 ± 0.02 Δ	0.48 ± 0.02 Δ^{Δ}	1.49 ± 0.03 Δ	1.96 ± 0.03 Δ
BCS	0.66 ± 0.01	0.65 ± 0.01	0.35 ± 0.02	1.06 ± 0.06	1.06 ± 0.02

注:与空白对照组比较, * $P < 0.05$;与 FC 组比较, $\Delta P < 0.05$;与 APS 组比较, $\Delta^{\Delta} P < 0.05$

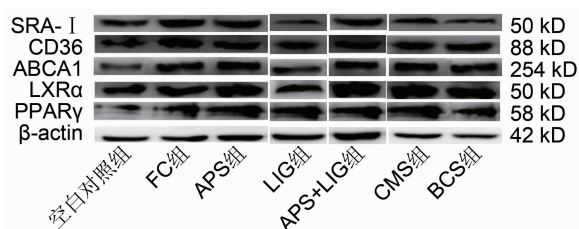


图 4 各组细胞 SRA-I、CD36、ABCA1、LXR-α、PPAR-γ 蛋白电泳图

与空白对照组比较, FC 组 SRA-I、CD36、ABCA1、LXR-α 及 PPAR γ 蛋白表达升高($P < 0.05$);与 FC 组比较,除 APS 组 ABCA1 外,APS 组、LIG 组、APS + LIG 组、CMS 组 SRA-I、CD36 蛋白表达降低,ABCA1、LXR-α、PPAR γ 蛋白表达升高($P < 0.05$)。与 APS 组比较,CMS 组 ABCA1 蛋白表达升高($P < 0.05$)。

讨 论

巨噬细胞转变为泡沫细胞是动脉粥样硬化进程中的重要标志,是吞噬和转运脂蛋白失调(吞噬 > 转运)的表现^[7]。巨噬细胞吞噬脂蛋白主要由清道夫受体介导,SR-A I 和 B 族清道夫受体(SR-B)亚型 CD36 均无限制地摄取 oxLDL 中的 CE(即不受负反馈抑制),促进泡沫化^[8];巨噬细胞转运脂蛋白(胆固醇逆转运)受体介导途径主要参与的受体有 ABCA1、ABCG1 及 SR-B I^[9],ABCA1 介导胆固醇由巨噬细胞外流至贫脂的载脂蛋白 A-I(apolipoprotein A-I, apoA-I)及前 β -HDL,形成 HDL,进而启动胆固醇逆转运^[10],抑制泡沫化。LXR 亚型 LXR α 主要通过上调巨噬细胞 ABCA1 的表达^[11],增加其对脂蛋白的逆转运,抑制巨噬细胞泡沫化;PPAR γ 与视黄醇受体(retinoid X receptor, RXR)形成的二聚体是 CD36 受体的启动因子,在转录水平上调 CD36 的表达^[12];PPAR γ 同时也能显著下调 SR-A 的表达^[13],抑制巨噬细胞吞噬脂蛋白;PPAR γ 配体通过诱导 LXR 活化以上调 ABCA1,从而促进胆固醇从巨噬细胞中外流^[14]。

宁心痛颗粒由黄芪、川芎、葛根、毛冬青、细辛组成,本方黄芪为君药,乃“补气之要药”;川芎乃“血中之气药”,兼有活血、行气双重功效,与葛根共为臣药;同时佐以毛冬青、细辛以活血通脉止痛。“有效组分”及“有效组分配伍”是现代中药研究的重要内容,是中药复方机制研究的重要途径,越来越得到关注。宁心痛颗粒君药黄芪的主要药理成分 APS 可抑制轻度氧化修饰低密度脂蛋白(minimally modified low density lipoprotein, mmLDL)诱发的 TLR4、Syk、Erk、Paxillin 蛋白磷酸化水平的升高及细胞吞噬功能的增强,从而可以减少脂质在细胞内的积聚,减少泡沫细胞的产生^[15];另有研究发现 APS 能通过增加 ABCA1 的表达,促进 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞(吞噬乙酰化低密度脂蛋白)胆固醇的流出^[4]。臣药川芎的有效活性成分 LIG 在体外对亚油酸、线粒体和组织匀浆的脂质过氧化均有明显抑制作用,且呈剂量依赖性^[5];还可下调 THP-1 源性巨噬细胞 TNF- α 、IL-1 α 、IL-6、IL-8 等炎性细胞因子的表达^[16]。LIG 抗脂质氧化和抑制巨噬细胞活化的作用具有抗 AS 潜能。

在本实验中观察到宁心痛颗粒含药血清以及 APS、LIG、APS + LIG 均可不同程度抑制 oxLDL 诱导的 THP-1 源性巨噬细胞泡沫化,主要机制为下调脂蛋白吞噬受体 SR-A I、CD36 的表达,上调胆固醇逆转运通路中的 ABCA1、PPAR γ 及 LXR α 的表达;其中以 CMS 组泡沫化程度最轻,优于单用 APS、单用 LIG 及 APS + LIG 组,在一定意义上说明宁心痛颗粒复方对本作用途径的干预作用更有效、更合理,体现了中医药传统理论与组方配伍特色,中药复方多途径、多靶点、多环节的作用特点及不同有效组分的作用效应,值得进一步深入探研。

巨噬细胞的胆固醇逆转运需要贫脂的 apoA I、前 β -HDL 以及成熟 HDL 等转运载体的参与,本实验未能加入这些载体与巨噬细胞共培养,与体内状态有一定差别,有待进一步改进。

参 考 文 献

- [1] 都基莎, 顾宁. 宁心痛颗粒对人类单核细胞株源性巨噬细胞泡沫化的影响[J]. 中医杂志, 2015, 56(15): 1322-1325.
- [2] 魏毅, 张贵平. 黄芪多糖与白芍总苷对 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞内脂质的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2007, 18(3): 189-191.
- [3] 朱杰, 肖震, 沈月爽, 等. 黄芪多糖通过 NF- κ B 诱导巨噬细胞产生 NO 和 TNF- α [J]. 中华微生物和免疫学杂志, 2010, 30(6): 511-515.
- [4] 杨志红, 龚伟, 陈凤玲, 等. 黄芪多糖对 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞胆固醇流出的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2008, 24(10): 2029-2032.
- [5] 龙锐, 杜俊蓉, 王蓓. 藁本内酯抑制脂质过氧化作用的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22(2): 206-208, 267.
- [6] Lu Q, Qiu TQ, Yang H, et al. Ligustilide inhibits vascular smooth muscle cells proliferation [J]. Eur J Pharmacol, 2006, 542(1-3): 136-140.
- [7] 何小丽, 顾宁. DAMP-PRR-巨噬细胞途径与动脉粥样硬化斑块的易损性[J]. 中国动脉硬化杂志, 2014, 22(7): 741-746.
- [8] Kunjathoor VV, Febbraio M, Podrez EA, et al. Scavenger receptors class A - I /II and CD36 are the principal receptors responsible for the uptake of modified low density lipoprotein leading to lipid loading in macrophages [J]. J Biol Chem, 2002, 277(51): 49982-49988.
- [9] Jessup W, Gelissen IC, Gaus K, et al. Roles of ATP binding cassette transporters A1 and G1, scavenger receptor B I and membrane lipid domains in cholesterol export from macrophages [J]. Curr Opin Lipidol, 2006, 17(3): 247-257.
- [10] Chang YC, Lee TS, Chiang AN. Quercetin enhances ABCA1 expression and cholesterol efflux through a p38-dependent pathway in macrophages [J]. J Lip Res, 2012, 53(9): 1840-1850.
- [11] Whitney KD, Watson MA, Goodwin B, et al. Liver X receptor regulation of the LXR α gene in human macrophages [J]. J Biol Chem, 2001, 276(47): 43509-43515.
- [12] Silverstein RL, Febbraio M. CD36, a scavenger receptor involved in immunity, metabolism, angiogenesis, and behavior [J]. Sci Signal, 2009, 2(72): re3.
- [13] Chinetti G, Gbaguidi FG, Griglio S, et al. CLS /SR-B I is expressed in atherosclerotic lesion macrophages and regulated by activators of peroxisome proliferator-activated receptors [J]. Circulation, 2000, 101(20): 2411-2417.
- [14] Chawla A, Boisvert WA, Lee CH, et al. A PPAR gamma-LXR-ABCA1 pathway in macrophages is involved in cholesterol efflux and atherosclerosis [J]. Mol Cell, 2001, 7(1): 161-171.
- [15] 陈蕊, 高颖, 顾宁. 黄芪多糖对 THP-1 源性巨噬细胞 TLR4、Syk、Erk 及 Paxillin 蛋白磷酸化水平与细胞吞噬功能的影响[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(5): 1679-1683.
- [16] 安·福勒, 丹尼尔·雷德尔斯多夫, 高德·斯查勒, 等. 用于治疗炎性失调的藁本内酯衍生物[Z]. CN101184484, 2008.

(收稿: 2016-08-08 修回: 2017-08-25)

责任编辑: 汤 静

中国中西医结合杂志社微信公共账号已开通

中国中西医结合杂志社已经开通微信公共账号, 可通过扫描右方二维码或者搜索微信订阅号“中国中西医结合杂志社”加关注。本杂志社将通过微信不定期发送《中国中西医结合杂志》、*Chinese Journal of Integrative Medicine* 的热点文章信息, 同时可查看两本期刊的全文信息, 欢迎广大读者订阅。

