

黄连解毒汤对 apoE 基因敲除小鼠单核细胞发育的影响

陈冰¹ 孔雅娴^{2,3} 李玉梅¹ 薛欣¹ 张剑平^{2,3} 曾辉^{2,3} 胡镜清¹ 马雅奎¹

摘要 **目的** 观察野生型 C57BL/6 小鼠和 apoE 基因敲除 (apoE^{-/-}) 小鼠外周血单核细胞 (monocyte, Mo) 发育情况及黄连解毒汤对 apoE^{-/-} 小鼠外周血 Mo 发育的影响。**方法** 4、8、12、16 周龄雌性 C57BL/6 为不同周龄对照组, 4、8、12、16 周龄雌性 apoE^{-/-} 小鼠为不同周龄高脂血症组。4 周龄 C57BL/6 雌性小鼠为空白组, 4 周龄 apoE^{-/-} 雌性小鼠采用配对比较法随机分为对照组、西药组和中药组, 每组 5 只。给药小鼠根据体重给予临床等效剂量, 西药组灌胃阿托伐他汀 [10 mg/(kg·d)], 中药组灌胃黄连解毒汤 [5 g/(kg·d)]。每周检测体重, 4 周后检测 TG、TC、LDL-C 和 HDL-C 水平、Mo 及其亚型 Ly6c^{hi} 比例变化。**结果** 与同种小鼠 4 周龄组比较, C57BL/6 16 周龄组 Mo 比例降低 ($P < 0.05$), apoE^{-/-} 8 周龄小鼠 TC、TG、Ly6c^{hi} 比例升高 ($P < 0.05$), Mo 比例降低 ($P < 0.05$); 12 周龄小鼠 TC、TG 和 LDL-C 升高 ($P < 0.05$), 16 周龄小鼠 TC、TG、LDL-C 及 HDL-C 升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与同种小鼠 8 周龄组比较, C57BL/6 16 周龄组 Mo 比例降低 ($P < 0.05$); 12 周龄 apoE^{-/-} 小鼠 TC 和 LDL-C 升高 ($P < 0.05$), 16 周龄小鼠 TC 和 HDL-C 升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与同周龄 C57BL/6 组比较, 4、8 周龄 apoE^{-/-} 小鼠 TC、TG 升高 ($P < 0.01$), HDL-C 降低 ($P < 0.01$), 12、16 周龄小鼠 TC、TG、LDL-C 升高, HDL-C 降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); apoE^{-/-} 4 周龄小鼠 Mo 比例升高 ($P < 0.05$), 8 周龄小鼠 Mo、Ly6c^{hi} 比例升高 ($P < 0.05$)。与空白组比较, 对照组小鼠干预后 TC、TG、LDL-C、Mo 及 Ly6c^{hi} 比例升高 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), HDL-C 降低 ($P < 0.01$)。与对照组比较, 西药组和中药组小鼠体重增长降低 ($P < 0.05$), 中药组 Ly6c^{hi} 比例降低 ($P < 0.05$)。**结论** 在发育过程中 apoE^{-/-} 小鼠的血脂水平不仅与周龄相关, 由其引发的天然免疫系统的发育改变也与周龄有关。发育早期用黄连解毒汤干预 apoE^{-/-} 小鼠可纠正这种独特免疫效应。

关键词 apoE 基因敲除; 高脂血症; 单核细胞发育; 黄连解毒汤

Effect of Huanglian Jiedu Decoction on Monocyte Development in apoE Gene Knockout Mice
CHEN Bing¹, KONG Ya-xian^{2,3}, LI Yu-mei¹, XUE Xin¹, ZHANG Jian-ping^{2,3}, ZENG Hui^{2,3}, HU Jing-qing¹, and MA Ya-luan¹ 1 Institute of Basic Medical Theory of Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100700); 2 Institute of Infectious Disease, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing (100015); 3 Beijing Key Laboratory of Emerging Infectious Diseases, Beijing (100015)

ABSTRACT **Objective** To observe monocyte (Mo) development in wild type C57BL/6 mice and apoE gene knockout (apoE^{-/-}) mice, and to evaluate the immuno-regulatory effect of Huanglian Jiedu Decoction (HJD) on peripheral Mo development in apoE^{-/-} mice. **Methods** Four, 8, 12, and 16 weeks old female C57BL/6 mice were set up as control groups of different ages, while 4, 8, 12, and 16 weeks old female apoE^{-/-} mice were set up as hyperlipidemia groups of different ages. Four-week old female C57BL/6 mice were recruited as a blank group. Four-week old female apoE^{-/-} mice were randomly divided into the control group, the Western medicine group, and the Chinese medicine group by paired comparison, 5 in each group. Equivalent clinical dose was administered to mice according to body weight.

基金项目: 国家重点基础研究计划 (No. 2014CB542903); 国家自然科学基金资助项目 (No. 81072938)

作者单位: 1. 中国中医科学院中医基础理论研究所 (北京 100700); 2. 首都医科大学附属北京地坛医院传染病研究所 (北京 100015); 3. 北京市新发突发病重点实验室 (北京 100015)

通讯作者: 马雅奎, Tel: 010-64089027, E-mail: yaluanma@163.com

DOI: 10.7661/CJIM.2016.01.0099

Mice in the Western medicine group were administered with Atrovastatin at the daily dose of 10 mg/kg by gastrogavage, while those in the Chinese medicine group were administered with HJD at the daily dose of 5 g/kg by gastrogavage. Body weight was detected each week. After 4 weeks blood lipids levels (such as TG, TC, LDL-C, and HDL-C), and the proportions of Mo and Ly6c^{hi} were detected. Results Compared with 4-week-old homogenic mice, the proportion of Mo decreased in 16-week-old C57BL/6 mice ($P < 0.05$). Levels of TC and TG, and the proportion of Ly6c^{hi} subtype increased, but the proportion of Mo decreased in 8-week-old apoE^{-/-} mice ($P < 0.05$). Levels of TC, TG, and LDL-C increased in 12-week-old apoE^{-/-} mice ($P < 0.05$). Levels of TC, TG, LDL-C, and HDL-C increased in 16-week-old apoE^{-/-} mice ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with 8-week-old homogenic mice, the proportion of Mo decreased in 16-week-old C57BL/6 mice ($P < 0.05$); levels of TC and LDL-C increased in 12-week-old apoE^{-/-} mice ($P < 0.05$); levels of TC and HDL-C increased in 16-week-old apoE^{-/-} mice ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with C57BL/6 mice of the same age, TC and TG increased, HDL-C decreased ($P < 0.01$) in 4- and 8-week-old apoE^{-/-} mice ($P < 0.01$); levels of TC, TG, LDL-C increased, and HDL-C level decreased in 12- and 16-week-old apoE^{-/-} mice ($P < 0.05$, $P < 0.01$); the proportion of Mo increased in 4-week-old apoE^{-/-} mice ($P < 0.05$); proportions of Mo and Ly6c^{hi} increased in 8-week-old apoE^{-/-} mice ($P < 0.05$). Compared with the blank control group, levels of TC, TG, and LDL-C, proportions of Mo and Ly6c^{hi} increased ($P < 0.01$, $P < 0.05$), but HDL-C level decreased ($P < 0.01$) in the control group after intervention. Compared with the control group, body weight gained less in the Western medicine group and the Chinese medicine group ($P < 0.05$); the proportion of Ly6c^{hi} subtype decreased in the Chinese medicine group ($P < 0.05$). Conclusions In development process blood lipids levels in apoE^{-/-} mice are not only associated with age. Blood lipids levels induced growth changes in natural immune system are also correlated with age. In early stage of lipids development HJD intervention could correct this special immune disorder in apoE^{-/-} mice.

KEYWORDS apoE gene knockout; hyperlipidemia; monocyte development; Huanglian Jiedu Decoction

高脂血症 (hyperlipidemia) 是一种慢性的炎症^[1,2], 可导致全身免疫异常, 触发和加速动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 发生和发展。在由高脂血症向 AS 发展的过程中, 外周血单核细胞 (monocyte, Mo) 首先被激活, 启动天然免疫应答, 随后不断进入损伤的血管壁组织中, 分化为巨噬细胞, 在 AS 的发生、发展中发挥了重要作用。因此, 研究高脂血症不同发展阶段免疫应答机制, 对于指导临床用药, 改善和治疗高脂血症和 AS 有重要意义。

本课题组既往对高脂饮食如何影响 apoE^{-/-} 小鼠的免疫应答进行了研究, 证实长期的高脂饮食不仅加剧高脂血症, 还加重了系统性炎症反应和血管局部炎症反应^[3,4]。本研究观察在普通饲料喂养的条件下, apoE^{-/-} 小鼠从幼年鼠到成年鼠发育过程中血脂水平变化和 Mo 及亚型比例变化, 研究高血脂引发的 Mo 及亚型的改变情况, 并通过发育早期黄连解毒汤干预观察其对 Mo 及亚型的影响, 探讨该方能否缓解高脂所致的免疫压力。

材料与方法

1 动物 雌性 4、8、12、16 周龄 C57BL/6 及 apoE^{-/-} 小鼠, 4 周龄小鼠体重 (12 ± 2) g, 其余周龄小鼠体重 (20 ± 2) g。所有实验用鼠均购于北京大学实验动物中心, 动物许可证号: SCXK (京) 2011-0012, 实验干预小鼠饲养于北京大学实验动物中心, SPF 条件。

2 药物 黄连解毒汤由黄连、黄芩、黄柏、栀子按 3:2:2:3 比例组成, 饮片购于北京同仁堂药店, 药材均经鉴定, 按常规方法煎煮取汁, 浓缩成相当于黄连解毒汤生药 0.5 g/mL。阿托伐他汀, 20 mg/片, 爱尔兰辉瑞制药有限公司, 批号: J20070061。

3 试剂及仪器 抗小鼠 CD11b-PerCPy5.5 和 Gr1-PE 抗体, 美国 BD Pharmingen 公司; 抗小鼠 CD48-APC 和 Ly6c-FITC 抗体, 美国 eBioscience 公司; TC、TG、LDL-C、HDL-C 试剂盒, 日本和光公司; FACS Callibur 流式细胞仪, 美国 BD 公司; Beckman

CX4 全自动生化分析仪,美国 Beckman Coulter 公司。

4 动物分组及干预方法 4、8、12、16 周龄雌性 C57BL/6 为不同周龄对照组,4、8、12、16 周龄雌性 apoE^{-/-} 小鼠为不同周龄高脂血症组。4 周龄 C57BL/6 雌性小鼠为空白组,4 周龄 apoE^{-/-} 雌性小鼠采用配对比较法随机分为对照组、西药组和中药组,每组 5 只。给药小鼠根据体重给予临床等效剂量,西药组灌胃阿托伐他汀[10 mg/(kg·d)],中药组灌胃黄连解毒汤[5 g/(kg·d)],干预 4 周。

5 检测指标及方法 4、8、12、16 周龄以及干预 4 周的 C57BL/6 及 apoE^{-/-} 小鼠,异戊烷吸入麻醉,小鼠摘眼球采 EDTA 抗凝血,离心(800×g, 10 min)后取血浆,用于血脂检测;血细胞用于流式细胞仪检测;剥离胸腹主动脉,用于病理检测。

5.1 血脂水平测定 4、8、12、16 周龄以及干预 4 周的 C57BL/6 及 apoE^{-/-} 小鼠血浆采用过氧化酶法测定 TC;脂肪酶/甘油磷酸酯氧化酶-过氧化物酶比色法测定 TG;直接法测定 LDL-C 和 HDL-C。

5.2 外周血 Mo 及 Ly6c^{hi}亚型比例检测(图 1) 4、8、12、16 周龄以及干预 4 周的 C57BL/6 及 apoE^{-/-} 小鼠血细胞加入获取血浆等量 PBS,裂解红细胞后应用抗小鼠 CD11b-PercpCy5.5、Gr1-PE、CD48-APC 和 Ly6c-FITC 抗体直接法标记。Mo 根据 CD11b、Gr1 和 CD48 表达分为 CD11b⁺ Gr1^{lo}和 CD48^{hi}(图 1C),根据 Ly6c 表达高低分为 Ly6c^{lo}、

Ly6c^{mi}和 Ly6c^{hi} 3 个亚型(图 1D)。

6 统计学方法 应用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,并进行单因素方差分析,组间比较采用 SNK 检验,实验重复 3 次。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组小鼠 TC、TG、LDL-C 及 HDL-C 比较(表 1) 与同种小鼠 4 周龄组比较, apoE^{-/-} 8 周龄组 TC、TG 升高($P < 0.05$), 12 周龄组 TC、TG 及 LDL-C 升高($P < 0.05$), 16 周龄组 TC、TG、LDL-C 及 HDL-C 升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与同种小鼠 8 周龄组比较, apoE^{-/-} 12 周龄组 TC 及 LDL-C 升高($P < 0.05$), 16 周龄组 TC 和 HDL-C 升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与同周龄 C57BL/6 组比较, apoE^{-/-} 4、8 周龄组 TC、TG 升高($P < 0.01$), HDL-C 降低($P < 0.01$); 12、16 周龄组 TC、TG、LDL-C 升高, HDL-C 降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

2 各组各周龄组 Mo 及 Ly6c^{hi}比例比较(表 2) 与同种小鼠 4 周龄组比较, C57BL/6 16 周龄组 Mo 比例降低($P < 0.05$); apoE^{-/-} 8 周龄组 Mo 比例降低 ($P < 0.05$), Ly6c^{hi}比例升高($P < 0.05$)。与同种小鼠 8 周龄组比较, C57BL/6 16 周龄组 Mo 比例降低 ($P < 0.05$)。与同周龄组 C57BL/6 组比较, apoE^{-/-} 4 周龄组 Mo 比例升高 ($P < 0.05$), 8 周龄组 Mo、Ly6c^{hi}比例升高($P < 0.05$)。

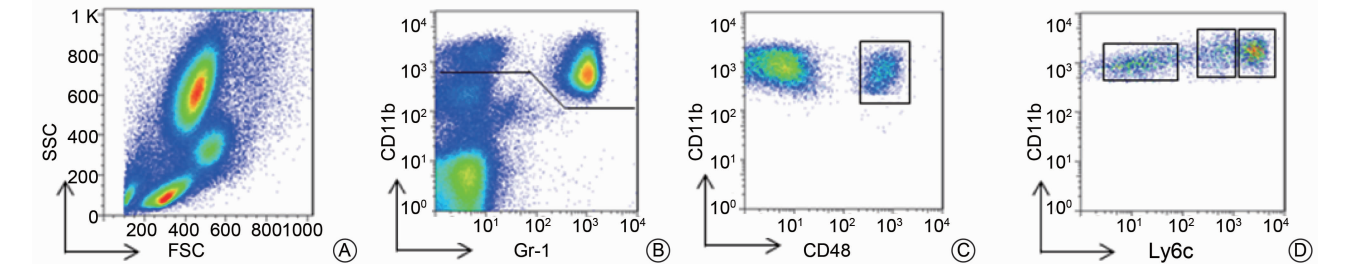


图 1 流式细胞仪鉴定小鼠外周血 Mo 及其亚型

表 1 各组小鼠 TC、TG、LDL-C 及 HDL-C 比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别		n	TC	TG	LDL-C	HDL-C
C57BL/6	4 周龄	5	1.96 ± 0.24	0.72 ± 0.08	0.26 ± 0.04	0.99 ± 0.11
	8 周龄	5	1.90 ± 0.29	1.02 ± 0.36	0.23 ± 0.03	0.95 ± 0.23
	12 周龄	5	1.77 ± 0.29	0.81 ± 0.11	0.20 ± 0.09	0.95 ± 0.19
	16 周龄	5	1.65 ± 0.21	0.71 ± 0.15	0.28 ± 0.07	1.08 ± 0.08 *
apoE ^{-/-}	4 周龄	5	7.57 ± 1.12 ▲▲	0.78 ± 0.16	1.51 ± 0.31 ▲▲	0.40 ± 0.09 ▲▲
	8 周龄	5	10.84 ± 1.21 *▲▲	1.24 ± 0.25 *	1.90 ± 0.37 ▲▲	0.41 ± 0.07 ▲▲
	12 周龄	5	13.75 ± 1.62 **▲▲▲	1.46 ± 0.27 *▲	2.53 ± 0.36 *▲▲▲	0.58 ± 0.21 ▲▲
	16 周龄	5	12.93 ± 1.20 **▲▲▲	1.26 ± 0.16 *▲	2.15 ± 0.25 *▲▲	0.68 ± 0.08 **▲▲▲

注:与同种小鼠 4 周龄组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; 与同种小鼠 8 周龄组比较, Δ $P < 0.05$; $\Delta\Delta$ $P < 0.01$; 与同周龄 C57BL/6 组比较, $\blacktriangle$ $P < 0.05$; $\blacktriangle\blacktriangle$ $P < 0.01$

表 2 各组小鼠 Mo 及 Ly6c ^{hi} 比例比较 (%, $\bar{x} \pm s$)				
组别		n	Mo	Ly6c ^{hi}
C57BL/6	4 周龄	5	3.7 ± 0.8	16.6 ± 0.9
	8 周龄	5	3.3 ± 0.5	15.5 ± 2.7
	12 周龄	5	2.3 ± 1.4	14.6 ± 4.9
	16 周龄	5	2.4 ± 0.6 ^{*△}	13.4 ± 4.1
apoE ^{-/-}	4 周龄	5	5.1 ± 0.6 [▲]	16.8 ± 1.9
	8 周龄	5	4.0 ± 0.5 ^{*▲}	22.1 ± 3.9 ^{*▲}
	12 周龄	5	3.4 ± 1.6	15.7 ± 5.3
	16 周龄	5	3.9 ± 1.6	17.9 ± 4.9

注:与同种小鼠 4 周龄组比较, **P* < 0.05; 与同种小鼠 8 周龄组比较, △*P* < 0.05; 与同周龄 C57BL/6 组比较, ▲*P* < 0.05

3 各组 4 周龄小鼠体重比较(图 2, 表 3) 与对照组比较, 西药组及中药组小鼠体重增长降低(*P* < 0.05)。

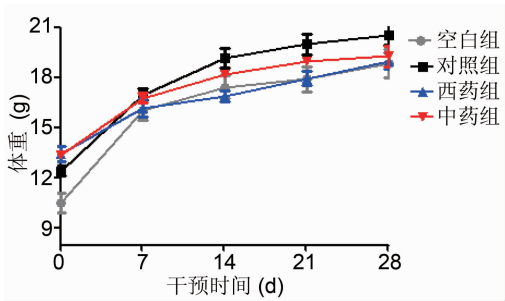


图 2 各组 4 周龄小鼠干预期间体重变化

表 3 各组 4 周龄小鼠干预后体重增长比较 (g, $\bar{x} \pm s$)		
组别	n	体重增长
空白	5	8.3 ± 1.7
对照	5	8.1 ± 1.1
西药	5	5.5 ± 1.7 [*]
中药	5	5.9 ± 1.8 [*]

注:与对照组比较, **P* < 0.05

4 各组 4 周龄小鼠干预后 TC、TG、LDL-C 及 HDL-C 比较(表 4) 与空白组比较, 对照组小鼠干预后 TC、TG、LDL-C 升高(*P* < 0.01, *P* < 0.05), HDL-C 降低(*P* < 0.01)。

5 各组 4 周龄小鼠干预后 Mo 及 Ly6c^{hi} 比例比较(表 5) 与空白组比较, 对照组小鼠 Mo 及 Ly6c^{hi} 比例升高(*P* < 0.05)。与对照组比较, 中药组干预后 Ly6c^{hi} 比例降低(*P* < 0.05)。

表 4 各组 4 周龄小鼠干预后 TC、TG、LDL-C 及 HDL-C 比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)					
组别	n	TC	TG	LDL-C	HDL-C
空白	5	1.90 ± 0.17	0.82 ± 0.27	0.19 ± 0.07	0.95 ± 0.19
对照	5	11.10 ± 2.00 ^{**}	1.34 ± 0.41 [*]	1.40 ± 0.19 ^{**}	0.48 ± 0.04 ^{**}
西药	5	9.93 ± 4.21	1.08 ± 0.48	1.36 ± 0.61	0.38 ± 0.16
中药	5	11.08 ± 1.26	1.16 ± 0.18	1.44 ± 0.25	0.50 ± 0.10

注:与空白组比较, **P* < 0.05, ***P* < 0.01

表 5 各组 4 周龄小鼠 Mo 及 Ly6c ^{hi} 比例比较 (%, $\bar{x} \pm s$)			
组别	n	Mo	Ly6c ^{hi}
空白	5	3.1 ± 0.7 [*]	17.1 ± 6.5 [*]
对照	5	4.5 ± 1.1	27.3 ± 6.6
西药	5	4.1 ± 2.1	20.8 ± 9.8
中药	5	4.4 ± 2.2	16.5 ± 2.5 [*]

注:与对照组比较, **P* < 0.05

讨 论

长期高血脂引发了 Mo 的数量和功能的异常, 导致脂质清除障碍, 异常炎症介质的产生, 进一步发展形成 AS 和系统性炎症反应^[1-4]。Mo 根据表面标志, 可分为炎症型(inflammatory monocytes)和定居型(resident monocytes)两个亚群。炎症型又称经典型, 表型(人 CD14⁺CD16⁻, 小鼠 Ly6c^{hi})与骨髓 Mo 相似, 此型细胞表面高表达单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)受体 CCR2(C-C chemokine receptor type 2, CCR2), 可分泌大量的炎症细胞因子, 如 TNF-α 和 IL-6; 而定居型 Mo 表型(人 CD14⁺CD16⁺, 小鼠 Ly6c^{lo})与组织巨噬细胞更为接近, 细胞表面高表达巨噬细胞炎症蛋白 1(macrophage-inflammatory protein-1, MIP-1)受体 CCR5(C-C chemokine receptor type 5, CCR5), 但不表达 CCR2, 是具有免疫调节功能的 Mo^[5,6]。Mo 分化异常是 AS 及冠心病的一个独立的危险因子^[6-8]。研究发现高脂血症患者和高脂血症模型小鼠外周血中炎症型 Mo 占有核细胞比例显著升高^[9,10], 证实 Ly6c^{hi} 在高脂血症向 AS 发展的过程发挥重要作用。

临床研究发现家族性高脂血症的血脂水平与年龄相关^[11]。许多家族性高脂血症患者出生时血脂水平正常, 2~3 岁即达到成人血脂水平, 儿童时期发生高脂血症^[12]。apoE^{-/-} 小鼠 4~8 周龄, 相当于家族性高脂血症儿童至青少年发病时期, 研究发现 apoE^{-/-} 小鼠 TC、TG 和 LDL-C 水平也与周龄相关。但在 4 周龄 apoE^{-/-} 小鼠中, 观察到外周血 Mo 总数增高, 并且持续至 16 周龄, 提示这一变化是高脂血症引发的天然免疫系统的早期改变; 而 Ly6c^{hi} 比例增高仅在 8 周龄

apoE^{-/-}小鼠中发生,提示这一变化在特定生长发育阶段发生,而在 16 周时,机体可能通过某种反馈机制进行了调控。与本研究不同,在本前期实验发现高脂饮食可导致 apoE^{-/-}小鼠在 16 周龄炎症 Mo 亚型比例增高^[10],提示外源高脂饮食摄入可加重机体炎症反应。

采用黄连解毒汤干预高脂饲料喂养的 apoE^{-/-}小鼠,可降低高脂导致的 apoE^{-/-}小鼠外周血炎症性 Mo 亚群比例^[10]。本研究采用阿托伐他汀和黄连解毒汤在 4 周龄时干预 apoE^{-/-}小鼠, Ly6c^{hi} 比例均降低,但黄连解毒汤纠正这种独特免疫效应效果更为显著 ($P < 0.05$)。而且,实验 4 周内,阿托伐他汀和黄连解毒汤干预对于 apoE^{-/-}小鼠 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 的影响差异无统计学意义,因此,阿托伐他汀和黄连解毒汤对于高脂血症防治作用并不依赖于降脂,而是通过调节免疫发挥作用。并且治疗过程中,还发现阿托伐他汀和黄连解毒汤抑制 apoE^{-/-}小鼠体重增长。

综上所述,在普通饮食的情况下, apoE^{-/-}小鼠血脂水平不仅与年龄相关,由其引发的天然免疫系统的发育改变也与年龄有关。早期用黄连解毒汤干预,可通过独立于降脂的免疫调节作用,显著降低 Ly6c^{hi} 比例。今后,应进一步研究黄连解毒汤的信号调节通路,探讨其独特的免疫调节机制,特别是黄连解毒汤干预对 Mo 分化的影响,将为进一步研究中药治疗高脂血症导致的免疫损伤提供参考。

参 考 文 献

- [1] Siasos G, Tousoulis D, Oikonomou E, et al. Inflammatory markers in hyperlipidemia: from experimental models to clinical practice [J]. *Curr Pharm Des*, 2011, 17(37): 4132–4146.
- [2] Bäck M, Hansson GK. Anti-inflammatory therapies for atherosclerosis [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2015, 12(4): 199–211.
- [3] 马雅鑫, 王蓓蓓, 韩俊燕, 等. 黄连解毒汤对高脂饮食 apoE^{-/-}小鼠全身和主动脉血管局部免疫反应影响的研究

[J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(11): 1551–1556.

- [4] 马雅鑫, 王蓓蓓, 韩俊燕, 等. 高脂血症对炎症免疫应答的影响 [J]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2013, 7(4): 7–10.
- [5] Robbins CS, Swirski FK. The multiple roles of monocyte subsets in steady state and inflammation [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2010, 67(16): 2685–2693.
- [6] Zawada AM, Rogacev KS, Schirmer SH, et al. Monocyte heterogeneity in human cardiovascular disease [J]. *Immunobiology*, 2012, 217(12): 1273–1284.
- [7] Swirski FK, Libby P, Aikawa E, et al. Ly6c^{hi} monocytes dominate hypercholesterolemia-associated monocytosis and give rise to macrophages in atherosclerosis [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(1): 195–205.
- [8] Mosig S, Rennert K, Krause S, et al. Different functions of monocyte subsets in familial hypercholesterolemia: potential function of CD14 + CD16 + monocytes in detoxification of oxidized LDL [J]. *FASEB J*, 2009, 23(3): 866–874.
- [9] 马雅鑫, 王亚红, 韩俊燕, 等. 祛痰化瘀解毒方药对高脂血症痰瘀互阻证患者单核细胞亚群异常的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2011, 31(1): 26–30.
- [10] 李彤, 韩俊燕, 王蓓蓓, 等. 黄连解毒汤调控单核、巨噬细胞及泡沫细胞分化的实验研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2014, 34(9): 1096–1102.
- [11] Klose G, Laufs U, März W, et al. Familial hypercholesterolemia: developments in diagnosis and treatment [J]. *Dtsch Arztebl Int*, 2014, 111(31–32): 523–529.
- [12] Haney EM, Huffman LH, Bougatsos C, et al. Screening for lipid disorders in children and adolescents Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2007 Jul. Report No.: 07–0598-EF-1. U.S. Preventive Services Task Force Evidence Syntheses, formerly Systematic Evidence Reviews.

(收稿: 2015–05–08 修回: 2015–10–22)