

基于网络药理学及实验验证探讨丹皮酚抑制血管内皮细胞间质转化的作用机制

杨宇龙¹, 施晓艳¹, 蒋婷婷¹, 周敏¹, 梁玉宁¹, 高梦龙¹, 严津津¹, 刘雅蓉^{1,2}, 吴鸿飞^{1,2}, 戴敏^{1,2*}

1. 安徽中医药大学 药学院, 安徽 合肥 230012

2. 安徽省中药研究与开发重点实验室, 安徽 合肥 230031

摘要: 目的 结合网络药理学与体外实验验证探讨丹皮酚抑制血管内皮细胞间质转化 (EndMT) 的关键靶点及作用机制。方法 通过 PharmMapper、HERB、SymMap、ChEMBL、SwissTargetPrediction 数据库获取丹皮酚的作用靶点; 从 GeneCards 数据库中检索与 EndMT 相关的靶标, 将两者进行交集分析与可视化; 将交集靶点基因上传至 STRING 数据库联用 Cytoscape 3.8.2 软件构建蛋白相互作用 (PPI) 网络并筛选核心靶点基因, 并进行基因本体论 (GO) 功能富集和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 信号通路富集分析。采用 Autodock Vina 软件对丹皮酚与核心靶点基因进行分子对接验证。体外实验将 HUVECs 细胞分为空白组、模型 [转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)] 组、丹皮酚低、中、高剂量组 (30、60、120 $\mu\text{mol/L}$), 通过蛋白质印迹法 (Western blotting) 筛选 TGF- $\beta 1$ 诱导 EndMT 最佳浓度并通过酶联免疫吸附测定 (ELISA) 检测基质金属蛋白酶 2 (MMP-2)、基质金属蛋白酶 9 (MMP-9) 的蛋白表达量。结果 共筛选出丹皮酚作用靶点 414 个, EndMT 相关靶点基因 241 个, 取交集后得到 27 个丹皮酚治疗 EndMT 的潜在作用靶点。核心靶点与京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路分析结果显示, 动脉粥样硬化信号通路是丹皮酚涉及 EndMT 的主要通路。分子对接结果显示, 丹皮酚与 MMP-2 与 MMP-9 的结合能力最强。ELISA 实验证明, 丹皮酚可以减少 MMP-2、MMP-9 蛋白的表达 ($P < 0.01$)。结论 丹皮酚抑制 EndMT 的关键靶点是 MMP-2 与 MMP-9, 为进一步研究丹皮酚抗动脉粥样硬化的作用机制提供依据。

关键词: 丹皮酚; 内皮细胞间质转化; 动脉粥样硬化; 网络药理学; 基质金属蛋白酶 2; 基质金属蛋白酶 9

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2023)03-0512-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.03.004

Mechanism of paeonol inhibiting the interstitial transformation of vascular endothelial cells based on network pharmacology and experimental verification

YANG Yu-long¹, SHI Xiao-yan¹, JIANG Ting-ting¹, ZHOU Min¹, LIANG Yu-ning¹, GAO Meng-long¹, YAN Jin-jin¹, WU Hong-fei^{1,2}, LIU Ya-rong^{1,2}, DAI Min^{1,2}

1. College of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

2. Anhui Key Laboratory for Research and Development of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230031, China

Abstract: Objective To explore the key targets and mechanism of paeonol inhibiting vascular endothelial interstitial transformation (EndMT) by network pharmacology and *in vitro* experiments. **Methods** PharmMapper, HERB, SymMap, ChEMBL, and SwissTargetPrediction were used to predict the target of paeonol. GeneCards was used to search for targets related to EndMT. Paeonol and EndMT targets were used for intersection analysis visualization. The overlapped genes were mapped to the STRING database, and protein-protein interactions (PPI) were built using the STRING database and Cytoscape 3.8.2, and the core target genes were screened. The gene ontology analysis (GO) enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were then performed. AutoDock Vina was used to conduct the molecular docking between paeonol and the core target genes. *In vitro* experiment, HUVECs cells were divided into blank group, model [transforming growth factor $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)] group, paeonol low-dose, medium-dose and high-dose groups (30, 60, 120 $\mu\text{mol/L}$). The optimal concentration of EndMT induced by TGF- $\beta 1$ was screened by Western blotting, and the protein expressions of matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) and matrix metalloproteinase 9

收稿日期: 2022-11-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82174014)

作者简介: 杨宇龙, 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: 804057237@qq.com

*通信作者: 戴敏, 博士生导师, 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: daiminliao@163.com

(MMP-9) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** A total of 414 functional targets of paeonol and 241 EndMT-related targets were screened by network pharmacology analysis. By taking the intersection, a total of 27 potential targets of the regulatory effect of paeonol on EndMT were found. The core target and KEGG pathway analyses showed that the atherosclerotic signaling pathway was the key pathway for paeonol in treatment of EndMT. Molecular docking results showed that paeonol had a better binding ability with MMP-2 and MMP-9. ELISA results indicated that paeonol could reduce the expression of MMP-2 and MMP-9 ($P < 0.01$). **Conclusion** The key targets of paeonol inhibiting EndMT are MMP-2 and MMP-9, which provides a basis for further research on the mechanism of paeonol anti-atherosclerosis.

Key word: paeonol; endothelial-to-mesenchymal transition; atherosclerosis; network pharmacology; MMP-2; MMP-9

动脉粥样硬化是一种以内皮功能障碍为始动环节的炎症性疾病^[1]。在炎症因子的驱动下,内皮细胞向间质细胞过渡,细胞间的黏附消失,内皮屏障受到破坏,使其获得了增殖与迁移能力,加快动脉粥样硬化斑块的形成^[2]。内皮细胞间质转化(EndMT)被认为是一种由炎症驱动的内皮功能障碍,过程伴随着细胞形态变化,以及内皮特征蛋白血小板-内皮细胞黏附分子(CD31)的减少与间质标志蛋白 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)的增加。靶向 EndMT 可能会成为防治动脉粥样硬化的关键靶点^[3]。丹皮酚是来源于毛茛科植物牡丹 *Paeonia Suffruticosa* Andr.干燥根皮的活性成分。大量研究证实了丹皮酚能够保护内皮屏障,发挥抗炎、抗动脉粥样硬化的作用^[4-7]。但是丹皮酚影响 EndMT 的具体机制及靶点值得进一步探索。网络药理学是基于系统生物学,利用网络分析疾病发生机制的一种手段^[8],本研究借助该方法筛选出丹皮酚与 EndMT 的共同作用靶点,阐明丹皮酚影响 EndMT 的关键靶点,进一步为丹皮酚保护内皮屏障抗动脉粥样硬化提供依据。

1 材料与方法

1.1 丹皮酚靶点预测

采用 PharmMapper、HERB、SymMap、ChEMBL、SwissTargetPrediction 数据库获得了丹皮酚的目标分子靶点。在 SwissTargetPrediction 数据库中以 probability>0.2 进行筛选。PharmMapper、HERB、SymMap 采用默认靶点,ChEMBL 检索得到的靶点,通过 UniProt 平台进行 Gene symbol 匹配,5 个数据库所获得靶点通过合并及删除重复项,获得潜在分子靶点。

1.2 EndMT 靶点预测

在 GeneCards 数据库中检索 EndMT 相关靶点,得到分子靶点。通过韦恩图在线平台,将丹皮酚与 EndMT 相关潜在靶点进行比较得出共同靶点并制作韦恩图。

1.3 靶点蛋白相互作用(PPI)网络的构建

将共有靶点基因输入 STRING 数据库,选择“homo sapiens”物种,置信度限定大于 0.4,并隐藏离散散点,从而构建 PPI 网络。利用 Cytoscape 3.8.2 软件构建 PPI 拓扑网络,同时选择 cyto Hubba 插件的度(degree)值算法进行筛选,选取 degree 值排序前 10 名的靶点作为核心靶点。

1.4 基因本体论(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析

GO 功能富集分析由生物过程(BP)、分子功能(MF)、细胞组分(CC)3 部分组成。GO 功能富集分析以及 KEGG 通路富集分析采用 DAVID 和 WebGestalt 数据库,并将其结果进行可视化。GO 和 KEGG 的富集条目筛选条件是 $P < 0.05$ 。

1.5 分子对接

为了在分子水平上深入了解核心靶标与配体之间的关系,进行了分子对接以评估丹皮酚与靶标之间相互作用的形式和能力。从 PubChem 上获得丹皮酚的分子结构,从蛋白质数据库 RCSB 上获得靶标蛋白的晶体结构。对丹皮酚与蛋白结构进行预处理,设置参数及其对接盒,最后运行 AutoDock Vina 进行对接。

1.6 细胞与试剂、仪器

人脐静脉内皮细胞(HUVECs)购于中国科学院上海生命科学研究院细胞库。丹皮酚(质量分数 99%,批号 T2012218)购自宣城百草药业有限公司;转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$,批号 100-21)购自美国 Peprotech 公司;胎牛血清(批号 10270106)购自美国 GIBCO 公司。高糖培养基 DMEM(批号 CA0002)购自山东思科捷生物技术有限公司。CD31 一抗(批号 sc18916)购自 Santa Cruz 公司, α -SMA 一抗(批号 ABM0052)购自 Abbkine 公司。基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9 ELISA 试剂盒(批号 RX105775H、RX105770H)购自睿信生物科技有限公司。

Spectra Max M5 多功能酶标仪(美国 MD 公

司), Western blotting 电泳装置 (德国 Biometra Eco-Mini 公司), YC-260L 美菱医用冷藏箱 (中科美菱低温科技股份有限公司), YJ-1450 超净工作台 (苏净集团安泰公司)。

1.7 细胞培养及分组

用含 20% FBS 的 DMEM 高糖培养基培养 HUVECs 细胞, 培养条件为 37 °C、5% CO₂, 每 2 天更换 1 次培养液, 待细胞密度达到 80%~90%时, 用胰酶消化, 进行后续实验。将细胞分为空白组, 模型组: 10 ng/mL TGFβ1 刺激 48 h, 丹皮酚低、中、高剂量组: 分别加入 30、60、120 μmol/L 丹皮酚预处理 24 h, 再加入 10 ng/mL TGFβ1 刺激 48 h。

1.8 Western blotting 检测 CD31、α-SMA 蛋白的表达

弃去细胞培养液, 并用 PBS 洗 3 次。加入适量含有 PMSF 的 RIPA 蛋白裂解液, 冰上裂解 30 min。将裂解液与细胞碎片转移至 1.5 mL 离心管中, 以 12 000 r/min 离心 10 min 后取上清液, 部分上清液用于 BCA 蛋白定量。最后加入上样缓冲液高温使蛋白变性。将样品进行注入十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶孔内进行电泳, 转膜, 封闭, 将蛋白条带置于一抗内 CD31(1:500)、α-SMA(1:50 000), 4 °C 孵化过夜, 次日, 用相应二抗孵化, PBS 洗 3 次, 每次 10 min, 最后用化学发光法进行曝光, 用 Image J 软件分析目的蛋白 CD31、α-SMA 灰度值。

1.9 ELISA 检测 MMP-2、MMP-9 水平

根据试剂盒说明, 取各组细胞上清液, 并于 4 °C、2 000 r/min 离心 20 min 去除颗粒和聚合物。在 450 nm 波长下测量各孔的吸光度 (A) 值, 计算 MMP-2、MMP-9 蛋白水平。

1.10 统计学分析

采用 SPSS 23.0 软件进行统计分析, 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间数据采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 进一步作两两组间比较时, 采用 SNK-*q* 检验。

2 结果

2.1 丹皮酚作用于 EndMT 的靶标预测

为了确定丹皮酚潜在靶标, 使用 PharmMapper、HERB、SymMap、ChEMBL、Swiss TargetPrediction 等数据库进行筛选, 通过去除重复项后, 获得 414 个潜在靶点。同时在 GeneCards 数据库中搜索作用于 EndMT 的靶点, 共 241 个。利用韦恩图在线平台得到丹皮酚与 EndMT 共同靶点 27 个, 见图 1。

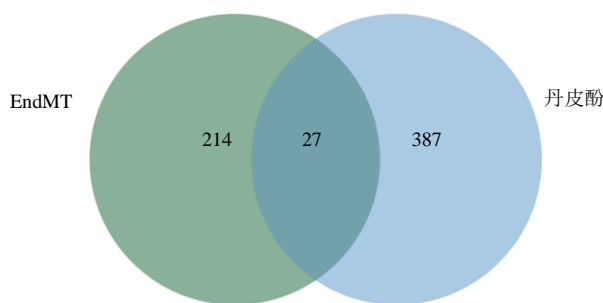


图 1 丹皮酚 - EndMT 交集靶点

Fig. 1 Intersection targets of paeonol - EndMT

2.2 PPI 网络分析

将共有的 27 个靶点基因输入 STRING 数据库, 构建 PPI 网络。网中包含有 27 个节点, 以及 165 条边。利用 Cyto Hubba 插件分析, 根据 degree 值降序排列, 筛选出 10 个核心靶点蛋白, 分别为肿瘤坏死因子 (TNF)、MMP-2、MMP-9、蛋白激酶 B (Akt1)、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)3、MAPK14、Ras 同源蛋白 A (RhoA)、血管内皮生长因子受体 2 (KDR)、细胞间黏附分子-1 (ICAM1)、一氧化氮合酶 3 (NOS3), 见图 2。

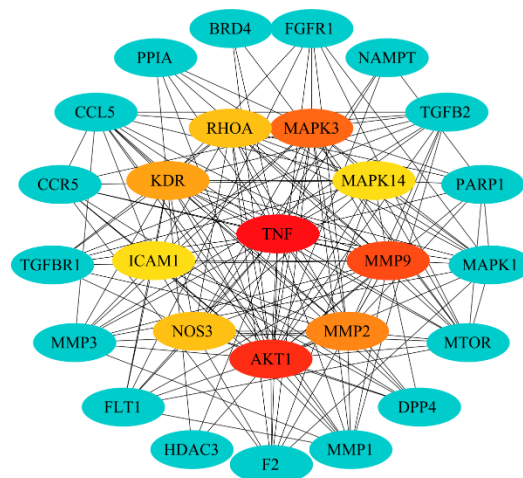


图 2 丹皮酚抗 EndMT 靶点 PPI 网络

Fig. 2 PPI network of paeonol in treatment of EndMT.

2.3 GO 功能及 KEGG 通路富集分析

通过 GO 功能及 KEGG 通路富集分析, BP 主要富集在平滑肌细胞增殖的正向调控 (positive regulation of cell proliferation)、蛋白磷酸化正向调控 (positive regulation of protein phosphorylation)、细胞迁移的正向调节 (positive regulation of cell migration)、基因表达的正向调节 (positive regulation of gene expression) 等。CC 主要富集在质膜 (plasma

membrane)、细胞间隙 (extracellular region)、黏着 (focal adhesion)、膜 (membrane) 等。MF 主要富集在蛋白质结合 (protein binding)、ATP 结合 (ATP binding)、蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性 (protein serine/threonine kinase activity)、蛋白激酶活性 (protein kinase activity) 等, 见图 3。同时根据 $P <$

0.05 筛选出排名前 10 名的 KEGG 通路。KEGG 通路主要富集在脂质和动脉粥样硬化通路 (lipid and atherosclerosis)、TNF 信号通路 (TNF signaling pathway)、流体剪切应力与动脉粥样硬化 (Fluid shear stress and atherosclerosis)、MAPK 信号通路 (MAPK signaling pathway) 等, 见图 4。

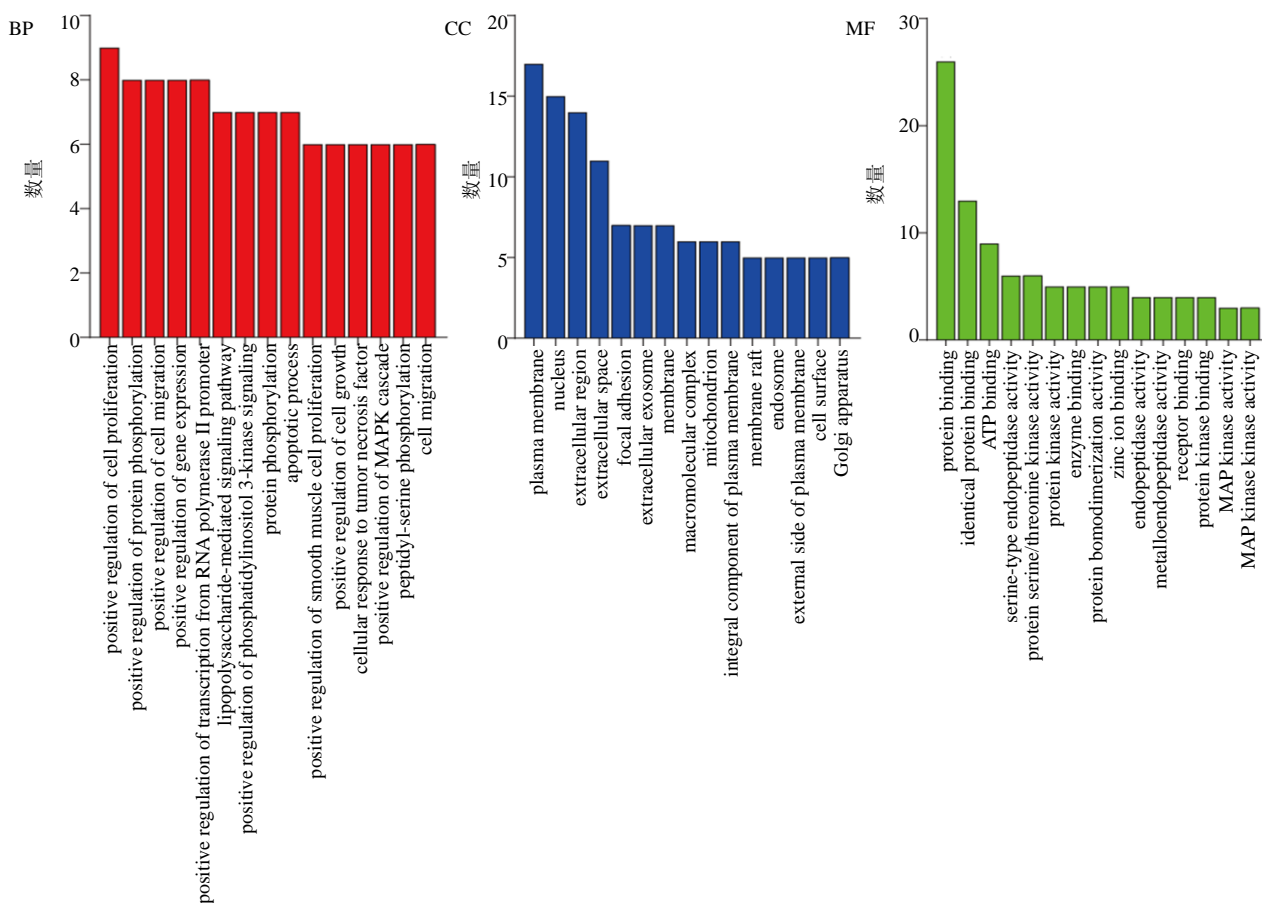


图 3 GO 富集分析

Fig. 3 GO enrichment analysis

2.4 分子对接结果

将丹皮酚与筛选出的 10 个核心靶点蛋白 TNF、MMP-2、MMP-9、AKT1、MAPK3、MAPK14、RHOA、NOS3、ICAM1、KDR 进行分子对接。一般认为结合能低于 -1.2 kcal/mol (1 cal = 4.2 J) 具有较强的亲和力, 因此丹皮酚与 10 个核心靶点蛋白有较强的结合能力, 见表 1。其中 MMP-2、MMP-9 的结合能最大, 分别为 -6.9 、 -7.7 kcal/mol, 分子对接图见图 5。

2.5 体外实验验证

2.5.1 TGF- β 1 最佳刺激浓度筛选 为了探寻 TGF- β 1 最佳刺激浓度, 在 48 h 内使用 0、5、10、20 ng/mL TGF- β 1 刺激 HUVECs 细胞, 观察与 EndMT 相关

蛋白的表达, 见图 6。与空白组相比, HUVECs 细胞被 5~20 ng/mL TGF- β 1 刺激 48 h 后, CD31 蛋白表达降低, α -SMA 表达显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。因此选择 10 ng/mL TGF- β 1 刺激 HUVECs 细胞 48 h 建立 EndMT 模型用于后续实验。

2.5.2 丹皮酚对 MMP-2、MMP-9 蛋白的影响 与空白组相比, 模型组 MMP-2 和 MMP-9 的水平明显上升 ($P < 0.01$)。与模型组相比, 丹皮酚 (30、60、120 μ mol/L) 能逆转 MMP-2 和 MMP-9 的异常表达 ($P < 0.01$)。表明丹皮酚可以减少由 TGF- β 1 刺激后 MMP-2 和 MMP-9 的异常表达, 见图 7。

3 讨论

动脉粥样硬化是许多心血管疾病的病理学基

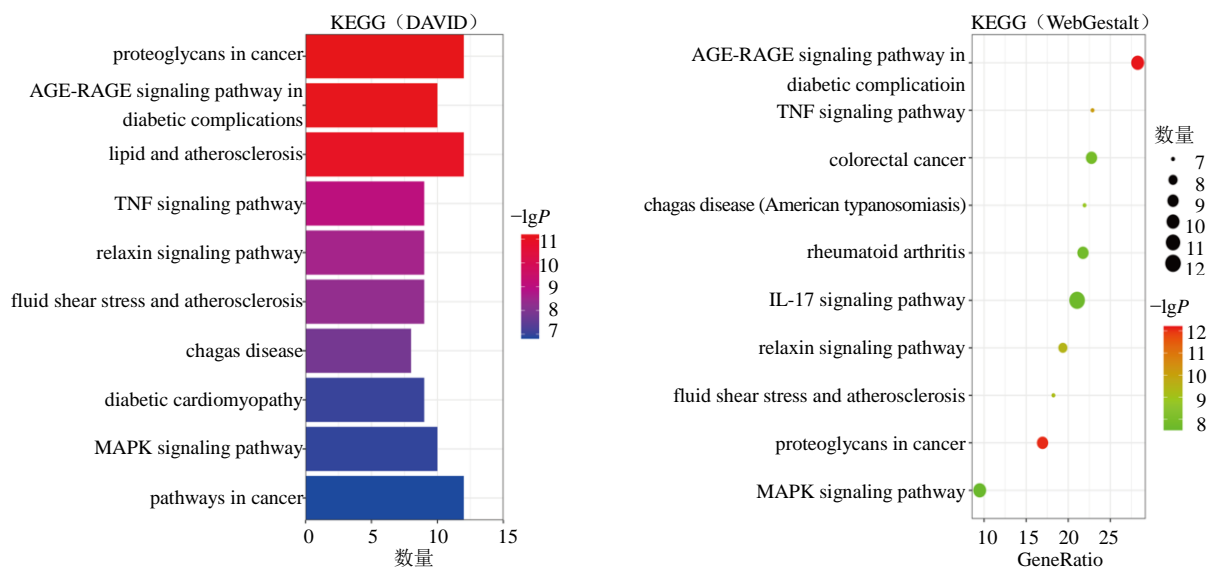


图 4 KEGG 通路富集分析

Fig. 4 KEGG pathway enrichment analysis

表 1 丹皮酚和核心靶点的结合能

Table 1 Binding energies of paeonol and core targets

靶点	与丹皮酚结合能/(kcal·mol ⁻¹)
MMP-9	-7.7
MMP-2	-6.9
Akt1	-6.8
NOS3	-6.5
KDR	-6.0
RHOA	-5.8
MAPK14	-5.6
MAPK3	-5.5
TNF	-5.0
ICAM1	-4.9

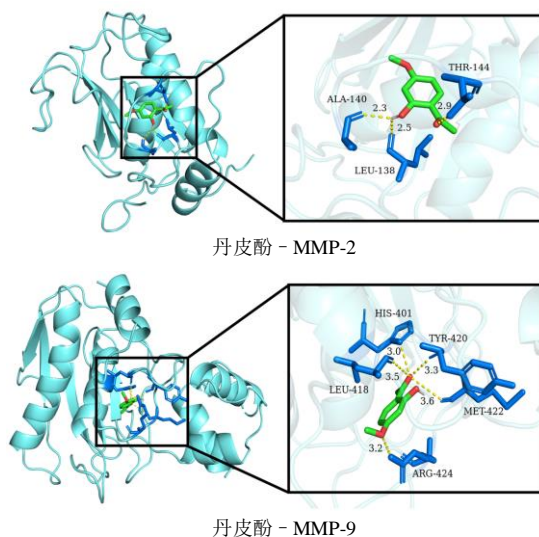


图 5 分子对接结果

Fig. 5 Molecular docking results

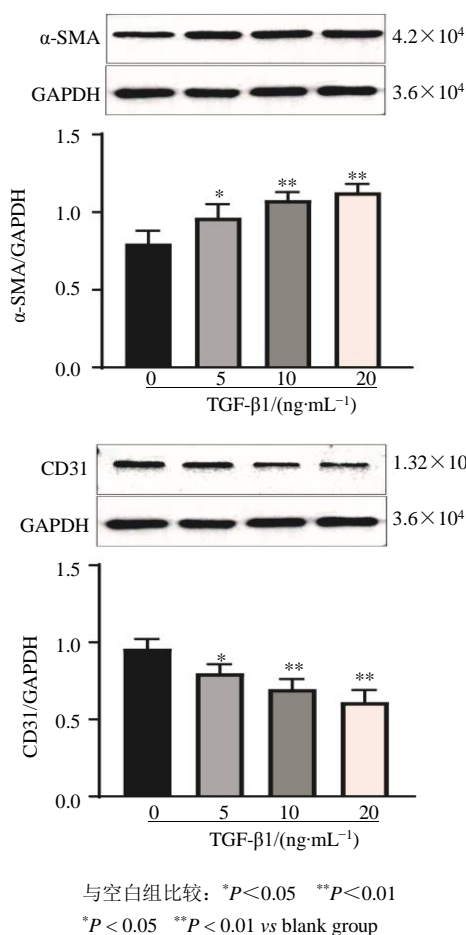


图 6 不同浓度 TGF-β1 刺激 HUVECs 细胞后 CD31、α-SMA 蛋白表达 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 6 Expression of CD31 and α-SMA protein in HUVECs cells stimulated by TGF-β1 at different concentrations ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

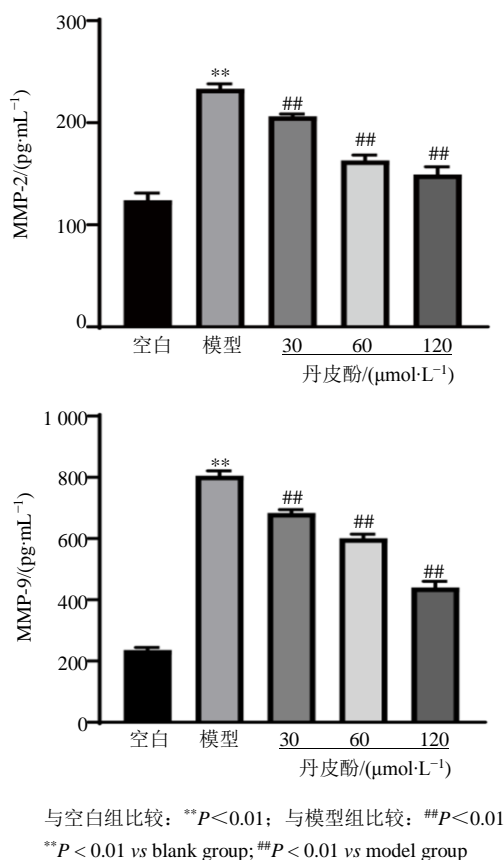


图 7 丹皮酚对 MMP-2 和 MMP-9 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 7 Effect of paeonol on levels of MMP-2 and MMP-9 in HUVECs ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

础, 影响疾病的进程。在炎症环境中, 内皮细胞经历 EndMT 后, 会破坏血管内皮屏障, 使细胞获得增殖迁移能力, 加快了动脉粥样硬化斑块的形成。而丹皮酚能减少炎症因子的产生保护内皮细胞, 发挥抗动脉粥样硬化作用。本研究共发现的 27 个靶点基因, 基于 STRING 交互作用数据库构建交集靶点的 PPI 网络, degree 值排名前 10 名的靶点有 TNF、MMP-2、MMP-9、AKT1、MAPK3、MAPK14、RHOA、NOS3、ICAM1、KDR, 将其分别与丹皮酚进行分子对接, 发现丹皮酚与 MMP-2、MMP-9 的结合能最大, 进一步验证了丹皮酚与 MMP-2、MMP-9 的相互作用关系。MMP-2 与 MMP-9 是反映细胞迁移能力的重要基质金属蛋白酶, 检测丹皮酚干预后, MMP-2 和 MMP-9 蛋白分泌水平, 利于阐明丹皮酚对 EndMT 细胞迁移能力的影响。通过 GO 与 KEGG 分析丹皮酚与 EndMT 的 27 个交集靶点基因, 发现脂质和动脉粥样硬化通路、流体剪切应力与动脉粥样硬化通路在 KEGG 信号富集分析

中排名靠前, 脂质以及流体剪切应力是动脉粥样硬化较为重要的 2 个诱导因素, 同时在动脉粥样硬化患者以及采用高脂饲养法复制动脉粥样硬化模型的 ApoE^{-/-}小鼠主动脉斑块中都能发现 EndMT 的发生^[9-11], 脂质以及流体剪切应力可能通过破坏血管内皮屏障而加剧动脉粥样硬化的发生, 因此靶向 EndMT 可能会成为丹皮酚防治动脉粥样硬化的新靶点。

课题组一直致力于丹皮酚抗炎及抗动脉粥样硬化研究, 已有研究证明丹皮酚可以减少动脉粥样硬化动物模型 (鹤鹑、兔、大鼠、ApoE^{-/-}小鼠) 斑块的形成^[12-15]; 丹皮酚能调控动脉粥样硬化相关细胞生物功能, 如单核细胞黏附、内皮功能障碍、巨噬细胞炎症、泡沫细胞炎症、平滑肌细胞增殖迁移等^[16-20]。基于课题组前期的研究, 确定丹皮酚保护内皮细胞的最佳浓度为 30、60、120 $\mu\text{mol/L}$ 。同时, 在 EndMT 发生过程中, 内皮细胞逐渐失去其内皮标志蛋白 CD31, 并获得了间质标志蛋白 α -SMA, HUVECs 细胞在 10 ng/mL TGF- β 1 作用 48 h 后, 内皮标志蛋白 CD31 减少, 间质标志蛋白 α -SMA 增加 ($P < 0.01$), 说明在该条件下能成功构建 EndMT 模型。因此本次实验采用丹皮酚 30、60、120 $\mu\text{mol/L}$ 预处理 HUVECs 24 h, 再给予 10 ng/mL TGF- β 1 刺激 48 h, 检测丹皮酚对 TGF- β 1 刺激 HUVECs 细胞建立 EndMT 模型后 MMP-2 与 MMP-9 的表达, 阐明丹皮酚可以减少 EndMT 细胞 MMP-2 与 MMP-9 的分泌。本次研究初步探索了丹皮酚作用于 EndMT 的关键靶点, 丹皮酚对 EndMT 细胞迁移能力的具体机制值得进一步阐明。

综上所述, 本研究发现了丹皮酚治疗动脉粥样硬化的新策略, 发现了 MMP-2 与 MMP-9 为丹皮酚作用于 EndMT 的关键蛋白, 为新药抗动脉粥样硬化的研究与开发提供了新思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Libby P. Inflammation in atherosclerosis [J]. *Nature*, 2002, 420(6917): 868-874.
- [2] Mehta V, Pang K L, Givens C S, *et al.* Mechanical forces regulate endothelial-to-mesenchymal transition and atherosclerosis via an Alk5-Shc mechanotransduction pathway [J]. *Sci Adv*, 2021, 7(28): eabg5060.
- [3] Srivastava S P, Zhou H, Setia O, *et al.* Loss of endothelial glucocorticoid receptor accelerates diabetic nephropathy

- [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 2368.
- [4] Shi X, Wu H, Liu Y, *et al.* Inhibiting vascular smooth muscle cell proliferation mediated by osteopontin via regulating gut microbial lipopolysaccharide: A novel mechanism for paeonol in atherosclerosis treatment [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 936677.
- [5] Liu Y, Li C, Wu H, *et al.* Paeonol attenuated inflammatory response of endothelial cells via stimulating monocytes-derived exosomal microRNA-223 [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1105.
- [6] Li C, Yang L, Wu H, *et al.* Paeonol inhibits oxidized low-density lipoprotein-induced vascular endothelial cells autophagy by upregulating the expression of miRNA-30a [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 95.
- [7] 吴桂莹, 亓玉玲, 郝宝燕, 等. 丹皮酚衍生物及其药理活性研究进展 [J]. *中草药*, 2019, 50(4): 1001-1006.
- [8] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. *中草药*, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [9] Liang G, Wang S P, Shao J, *et al.* Tenascin-X mediates flow-induced suppression of EndMT and atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2022, 130(11): 1647-1659.
- [10] Evrard S M, Lecce L, Michelis K C, *et al.* Endothelial to mesenchymal transition is common in atherosclerotic lesions and is associated with plaque instability [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11853.
- [11] Zhao G, Lu H, Liu Y, *et al.* Single-cell transcriptomics reveals endothelial plasticity during diabetic atherogenesis [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 689469.
- [12] 戴敏, 晷晓梅, 彭代银, 等. 丹皮酚抗鹌鹑实验性动脉粥样硬化作用 [J]. *中国中药杂志*, 1999, 8: 40-42.
- [13] Li H, Dai M, Jia W. Paeonol attenuates high-fat-diet-induced atherosclerosis in rabbits by anti-inflammatory activity [J]. *Planta Med*, 2009, 75(1): 7-11.
- [14] 戴敏, 刘青云, 晷晓梅. 丹皮酚对高脂血症大鼠动脉内皮细胞的保护作用 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2001(2): 38-40.
- [15] Shi X, Huang H, Zhou M, *et al.* Paeonol attenuated vascular fibrosis through regulating Treg/Th17 balance in a gut microbiota-dependent manner [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 765482.
- [16] Yuan X, Chen J, Dai M. Paeonol promotes microRNA-126 expression to inhibit monocyte adhesion to ox-LDL-injured vascular endothelial cells and block the activation of the PI3K/Akt/NF- κ B pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(6): 1871-1878.
- [17] Liu Y R, Chen J J, Dai M. Paeonol protects rat vascular endothelial cells from ox-LDL-induced injury *in vitro* via downregulating microRNA-21 expression and TNF- α release [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2014, 35(4): 483-488.
- [18] 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*, 2017, 8: 948.
- [19] 孙颖, 刘玲, 施晓艳, 等. 丹皮酚通过下调 miR-155/JAK1-STAT1 通路抑制巨噬细胞 M1 极化 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(9): 2158-2164.
- [20] 刘玲, 蒋婷婷, 杨宇龙, 等. 基于 CD40/NF- κ B 通路丹皮酚调控 miR-145 抑制小鼠动脉粥样硬化泡沫细胞炎症反应 [J]. *安徽中医药大学学报*, 2022, 41(2): 68-74.

【责任编辑 高源】