

白头翁皂苷 B₄ 对高脂饮食诱导 ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化的治疗作用及机制研究

孙凯丽¹, 何佳², 杨明², 苑仁祎坤^{1*}, 高红伟^{1*}, 杨世林¹

1. 广西中医药大学药学院, 广西 南宁 530020

2. 江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330004

摘要: 目的 研究白头翁皂苷 B₄ 的抗动脉粥样硬化作用及其机制。方法 将雄性的 C57 小鼠设为对照组, 共 6 只, 给予正常饮食; 给予 ApoE^{-/-} 小鼠高脂饮食喂养 9 周后, 随机分为 4 组: 模型组、辛伐他汀(阳性对照, 5 mg·kg⁻¹) 组及白头翁皂苷 B₄ 低、高剂量(5、20 mg·kg⁻¹) 组, 每组 7 只。ig 给药 9 周, C57 对照组和 ApoE^{-/-} 模型组给予等量的 0.9% 的氯化钠溶液。给药的同时造模小鼠仍给予高脂饮食, 每周统计 1 次体质量, 给药 9 周后进行取材。通过兽用血常规分析仪检测全血中血小板(PLT)、白细胞(WBC)、中性粒细胞(Neu)及淋巴细胞(Lym)水平; ELISA 法检测血清中白细胞介素-6 (IL-6) 的水平; 试剂盒法检测血清中总胆固醇(TC)、游离胆固醇(FC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平; 通过全长主动脉油红染色检测主动脉中脂质积累情况; 通过苏木精-伊红染色法、Masson 染色法和油红 O 染色法检测主动脉窦的组织病理变化。结果 与模型组比较, 在白头翁皂苷 B₄ 及辛伐他汀给药后, 体质量呈降低趋势; PLT、WBC、Neu、Lym、IL-6 水平均显著降低($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001); 血清 TC、FC、TG、LDL-C 水平显著降低($P < 0.001$), HDL-C 水平显著升高($P < 0.001$); 全长主动脉被染红区域显著缩小($P < 0.001$); 主动脉窦油红染色区域面积明显减少, 小鼠主动脉斑块减少, 可见少量泡沫细胞, 炎症细胞浸润减少, 中膜层平滑肌及弹性纤维排列增厚不明显, 胶原含量多且分布规律, 胶原间的腔隙减少, 油红染色区域面积明显减少。结论 白头翁皂苷 B₄ 对高脂饮食诱导的 ApoE^{-/-} 基因敲除小鼠动脉粥样硬化具有治疗作用, 其作用机制与减少脂质浸润和炎症反应有关。

关键词: 白头翁皂苷 B₄; 动脉粥样硬化; ApoE^{-/-} 小鼠; 脂质浸润; 炎症反应

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2024) 07-1459-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.07.005

Therapeutic effect and mechanism of *Pulsatilla* saponin B₄ on atherosclerosis of ApoE^{-/-} mice induced by high fat diet

SUN Kaili¹, HE Jia², YANG Ming², YUAN Renyikun¹, GAO Hongwei¹, YANG Shilin¹

1. College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530020, China

2. School of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: **Objective** To study the anti atherosclerosis effect of *Pulsatilla* saponin B₄ and its mechanism. **Methods** Male C57 mice were set as the control group, with a total of six mice, and were given a normal diet. After nine weeks of high-fat diet feeding, ApoE^{-/-} mice were randomly divided into four groups: the model group, the simvastatin (positive control, 5 mg·kg⁻¹) group, and the *Pulsatilla* saponin B₄ low- and high-dose (5 and 20 mg·kg⁻¹) groups, with seven mice in each group. The mice were ig administered with the drugs for nine weeks, and the C57 control group and the ApoE^{-/-} model group were given an equal amount of 0.9% sodium chloride solution. While the treated mice were still given a high-fat diet, their body weights were measured once a week, and tissue samples were collected after nine weeks of treatment. The levels of platelets (PLT), white blood cells (WBC), neutrophils (Neu), lymphocytes (Lym), and interleukin-6 (IL-6) in the whole blood were detected by veterinary hematology analyzer; the level of IL-6

收稿日期: 2024-01-22

基金项目: 中药治疗心血管疾病研究创新创业青年人才培养示范项目(QJJ18066); 广西重点研发计划项目(桂科 AB20025002); 广西科技重大专项(桂科 AA19254024)

第一作者: 孙凯丽, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药治疗心血管疾病研究。E-mail: kellysun16@163.com

*共同通信作者: 苑仁祎坤, 博士, 副研究员, 研究方向为中药抗肿瘤研究。E-mail: yryk0808@163.com

高红伟, 博士, 研究员, 研究方向为中药抗炎活性研究。E-mail: gaohongwei@126.com

in the serum was detected by ELISA, the levels of total cholesterol (TC), free cholesterol (FC), triglycerides (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) in the serum were detected by kit method, the accumulation of lipid in the aorta was detected by whole aorta oil red staining, the histopathological changes of the aortic sinus were detected by hematoxylin and eosin staining, Masson staining, and oil red O staining. **Results** Compared with the model group, there was a trend of body weight reduction in the *Pulsatilla* saponin B₄ and simvastatin treatment groups, the levels of PLT, WBC, Neu, Lym, and IL-6 were significantly lower ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). The levels of TC, FC, TG, and LDL-C in serum were significantly lower ($P < 0.001$), while the level of HDL-C was significantly higher ($P < 0.001$). The area of the red-stained entire aorta was significantly reduced ($P < 0.001$), the area of the oil-red-stained aortic sinus was significantly reduced, the aortic plaque in mice was reduced, and there were only a few foam cells visible, with a reduction in inflammatory cell infiltration, thickening of the smooth muscle and elastic fibers in the media layer was not obvious, the collagen content was abundant and distributed regularly, the interstitial spaces between collagen were reduced, and the area of the oil-red-stained region was significantly reduced. **Conclusion** *Pulsatilla* saponin B₄ had therapeutic effect on atherosclerosis of ApoE^{-/-} mice induced by high fat diet and its mechanism was related to reducing lipid infiltration and inflammatory response.

Key words: *Pulsatilla* saponin B₄; atherosclerosis; ApoE^{-/-} mice; lipid infiltration; inflammatory response

动脉粥样硬化(AS)是一种慢性炎症疾病,多发生于心血管疾病的早期阶段,主要包括冠心病、缺血性脑卒中和外周动脉粥样硬化性血管病等^[1]。疾病晚期会导致心肌梗死、缺血性卒中等疾病,其发病率和死亡率逐年上升,且呈现年轻化趋势^[2]。AS发病机制复杂,主要与炎症反应、氧化应激、脂质浸润、血栓形成、遗传因素及肠道菌群失调等密切相关^[3]。目前,常用治疗药物为调血脂、降血糖、抗血小板聚集、扩张血管、抗氧化剂及抗凝类药物,其中他汀类药物通常作为特效调脂药被用来治疗AS这一疾病^[4]。然而他汀类药物在使用中有一定的局限性,对肝、肾有一定毒性,患有慢性肝炎、急性肾衰竭等肝肾疾病的患者要慎用或禁用^[5]。因此,寻找一种新型的低毒高效、经济、无副作用或副作用小的抗AS药物具有十分重要的意义。

白头翁是毛茛科植物白头翁 *Pulsatilla chinensis* (Bge.) Regel 的干燥根,具有清热解毒、凉血止痢之效。白头翁皂苷 B₄ 作为白头翁中分离得到的主要活性物质和《中国药典》中规定的质量标志物,具有良好的抗炎、抗肿瘤、免疫调节、抗血管生成的作用^[6-9]。有相关研究表明,白头翁皂苷 B₄ 对于急性的肝、肾损伤以及肾缺血再灌注损伤有一定的治疗作用^[10-12]。本课题组前期研究亦发现,其具有良好的调血脂、降血糖作用。本实验探究白头翁皂苷 B₄ 对于 AS 是否有良好的改善作用,并对其作用机制进行研究,旨在为开发新的抗 AS 的药物提供理论基础。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级的 C57 BL/6J 背景的载脂蛋白 E 基因敲

除(ApoE^{-/-})小鼠和 C57 BL/6J 小鼠,7 周龄,雄性,体质量 18~22 g,均购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产许可证号 SCXK(京)2021-0011。

小鼠均生活在无毒、耐高压、耐高温的 IVC 笼盒中,符合 SPF 级要求,控制室温在 (25±5)°C,相对湿度 40%~70%,明暗交替 (8:00 开灯—20:00 关灯),小鼠喂以 SPF 级饲料和纯净水,自由饮食,每周更换 1 次垫料。动物实验依据《广西中医药大学实验动物护理与使用指南》进行,动物实验伦理审批编号 DW20220526-115,所有动物都得到了人道关怀。

1.2 药物及主要试剂

白头翁皂苷 B₄ (实验室自制,质量分数 >98%); 辛伐他汀 (美国 MedChemExpress 公司,规格 1 g,批号 L2103127); 高脂饲料 (由北京科澳协力饲料有限公司定制,含 21% 的脂肪、0.15% 胆固醇。规格 10 kg); 注射用氯化钠溶液 (四川科伦药业股份有限公司,批号 H21082605); 白细胞介素-6 (IL-6) ELISA 测定试剂盒 (Thermal Fisher 公司,批号 269392-006); 总胆固醇 (TC)、游离胆固醇 (FC)、三酰甘油 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所,批号分别为 20221219、20221219、20221219、20221105、20230222)。

1.3 主要仪器

MPR-440 型医用冷藏冷冻箱 (松下冷链有限公司); BC-5000vet 型血常规检测仪 (深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司); SYNERGYH1 型多功能微孔检测仪 (美国 Bio Tek 公司); 涡旋机 (海门市其林

贝尔仪器制造有限公司); ME204E 电子天平(Mettler Toledo 公司); 高压蒸汽灭菌锅(松下健康医疗器械有限公司); 5425R 型低温高速离心机(Eppendorf 公司); BX-60 病理图像分析仪(日本 Olympus 公司)。

2 方法

2.1 AS 模型的建立及给药

将雄性的 C57 小鼠设为对照组, 共 6 只, 给予正常饮食。给予 ApoE^{-/-} 小鼠高脂饮食喂养 9 周^[13]后, 随机分为 4 组: 模型组、辛伐他汀(阳性对照, 5 mg·kg⁻¹) 组及白头翁皂苷 B₄ 低、高剂量(5、20 mg·kg⁻¹) 组, 每组 7 只。ig 给药 9 周, C57 对照组和 ApoE^{-/-} 模型组给予等量的 0.9% 注射用氯化钠溶液。给药的同时造模小鼠仍给予高脂饮食, 每周统计 1 次体质量, 给药 9 周后进行取材。

2.2 血液分析

通过摘眼球取血的方式采血, 血液用兽用血常规分析仪进行检测分析, 检测小鼠全血中血小板(PLT)、白细胞(WBC)、中性粒细胞(Neu)及淋巴细胞(Lym)水平。

2.3 组织病理学观察

将小鼠体内的主动脉连同心脏部分取出, 0.9% 氯化钠溶液冲洗后固定于 4% 多聚甲醛中 24 h。将位于心脏的主动脉根部切下, 主动脉用于全长主动脉油红染色。位于心脏的主动脉根部用于组织切片, 进行苏木精-伊红(HE)染色、Masson 染色和油红 O 染色。

2.4 血清中 TC、FC、TG、LDL-C、HDL-C 及 IL-6 水平的测定

小鼠采血后将血液装入离心管中, 静置一段时间至血清析出。4 °C、3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 将

上清吸出, 按照试剂盒说明书进行操作检测。

2.5 统计学处理

数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 GraphPad Prism 6.0 软件进行统计学分析, 通过单因素方差分析进行组间比较。

3 结果

3.1 白头翁皂苷 B₄ 对喂养高脂饲料的 ApoE^{-/-} 小鼠体质量的影响

如图 1 所示, 给药 9 周后, 与对照组比较, 在给予高脂饮食后, ApoE^{-/-} 模型小鼠的体质量显著增加($P < 0.01$); 与模型组比较, 在白头翁皂苷 B₄ 及阳性药辛伐他汀给药后, 体质量呈降低趋势。

3.2 白头翁皂苷 B₄ 对喂养高脂饲料的 ApoE^{-/-} 小鼠血常规及炎症因子 IL-6 水平的影响

如图 2 所示, 与对照组相比, 给予高脂饮食的 ApoE^{-/-} 小鼠血液中的 PLT、WBC、Neu、Lym 水平显著升高($P < 0.05$), 血清中 IL-6 水平显著升高($P < 0.001$); 与模型组比较, 在给予白头翁皂苷 B₄ 药物后, PLT、WBC、Neu、Lym、IL-6 水平均显著降低($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。结果表明, 给予高脂饮食的 ApoE^{-/-} 小鼠体内发生炎症及血小板增多的症状, 这可能会导致小鼠体内血栓形成及发生 AS, 而白头翁皂苷 B₄ 具有抗炎及抗血小板增多的作用, 可改善 ApoE^{-/-} 小鼠血小板增多及炎症的症状。

3.3 白头翁皂苷 B₄ 对喂养高脂饲料的 ApoE^{-/-} 小鼠血清中 TC、FC、TG、LDL-C、HDL-C 含量的影响

如图 3 所示, 与对照组相比, 给予高脂饮食的 ApoE^{-/-} 小鼠血清中的 TC、FC、TG、LDL-C 水平显著升高($P < 0.001$), HDL-C 水平显著降低($P < 0.001$); 与模型组比较, 在给予白头翁皂苷 B₄ 后, TC、FC、TG、LDL-C 显著降低($P < 0.05$ 、 0.001), 而 HDL-C 水

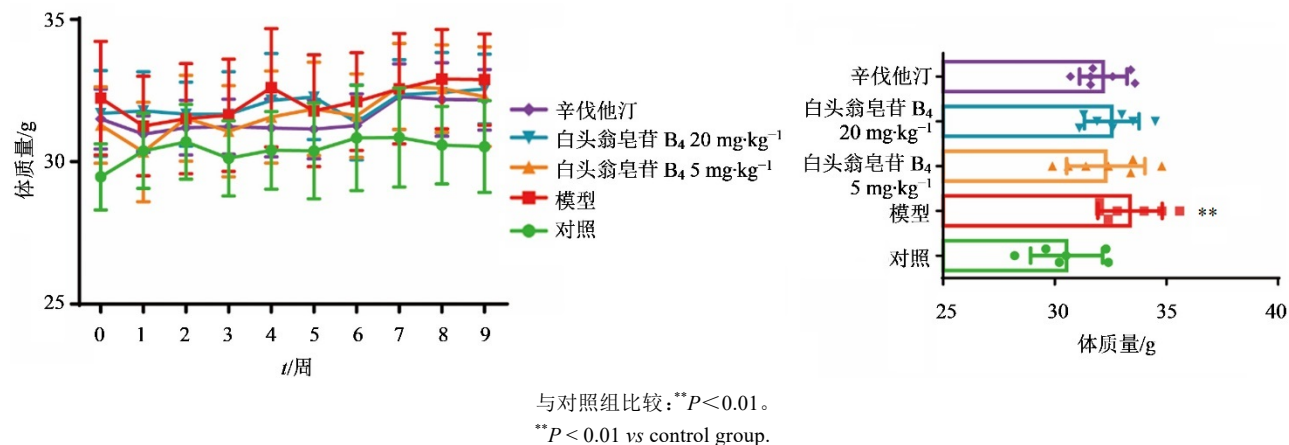


图1 白头翁皂苷 B₄ 对喂养高脂饲料的 ApoE^{-/-} 小鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6 \sim 7$)

Fig. 1 Effect of Pulsatilla saponin B₄ on body weight of ApoE^{-/-} mice fed with high-fat diet ($\bar{x} \pm s$, $n=6 \sim 7$)

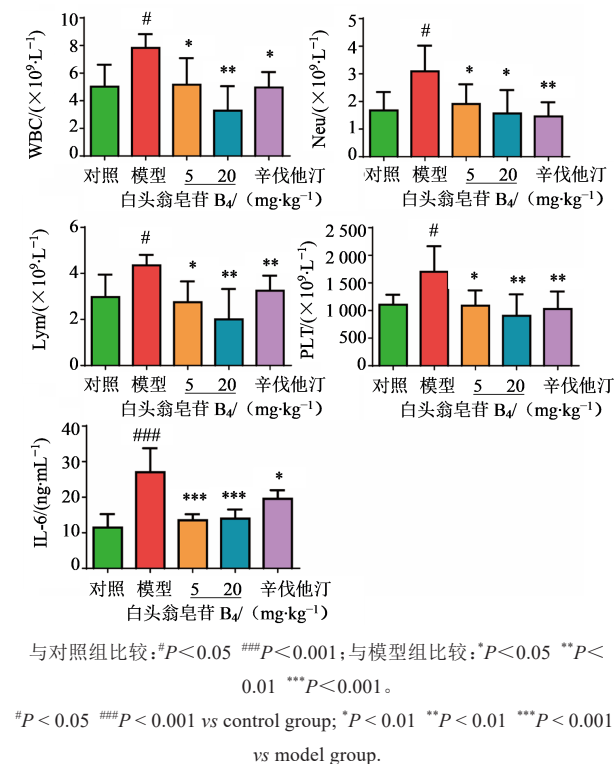


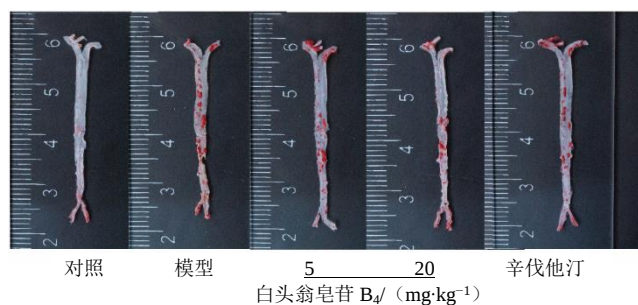
图2 白头翁皂苷 B_4 对喂养高脂饲料的 $ApoE^{-/-}$ 小鼠血常规及炎症因子IL-6水平的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

Fig. 2 Effects of *Pulsatilla* saponin B_4 on blood routine and inflammatory cytokine IL-6 levels in $ApoE^{-/-}$ mice fed with high-fat diet ($\bar{x} \pm s, n=5$)

平显著升高($P < 0.05$)。实验结果表明,给予高脂饮食的 $ApoE^{-/-}$ 小鼠体内血脂水平升高,这与AS的发生有关,而白头翁皂苷 B_4 可改善 $ApoE^{-/-}$ 小鼠血脂升高的症状。

3.4 白头翁皂苷 B_4 对喂养高脂饲料的 $ApoE^{-/-}$ 小鼠脂质累积的影响

AS通常发生在主动脉处,因此将小鼠主动脉完全取出,进行大体油红染色^[14]。如图4所示,与对照组相比,模型组被染红的区域显著增加($P < 0.001$),



与对照组比较: $^{###}P < 0.001$; 与模型组比较: $^{***}P < 0.001$ 。

$^{###}P < 0.001$ vs control group; $^{***}P < 0.001$ vs model group.

图4 白头翁皂苷 B_4 对喂养高脂饲料的 $ApoE^{-/-}$ 小鼠脂质累积的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

Fig. 4 Effect of *Pulsatilla* saponin B_4 on lipid accumulation in $ApoE^{-/-}$ mice fed with high-fat diet ($\bar{x} \pm s, n=5$)

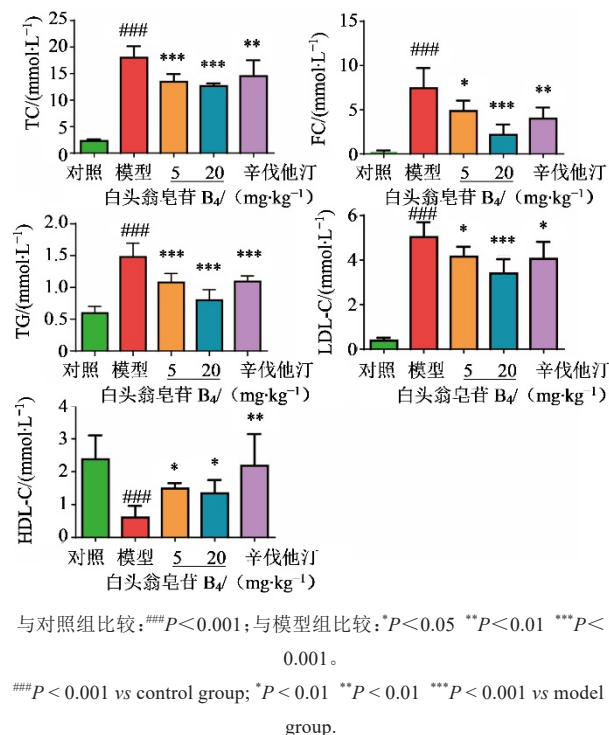


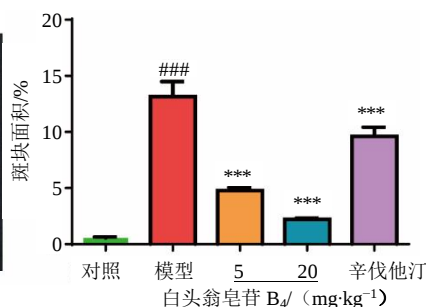
图3 白头翁皂苷 B_4 对喂养高脂饲料的 $ApoE^{-/-}$ 小鼠TC、FC、TG、LDL-C、HDL-C含量的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

Fig. 3 Effects of *Pulsatilla* saponin B_4 on TC, FC, TG, LDL-C, and HDL-C content in $ApoE^{-/-}$ mice fed with high-fat diet ($\bar{x} \pm s, n=5$)

脂质累积;而各给药组与模型组相比,被染红区域显著缩小($P < 0.001$)。结果表明,给予高脂饮食的 $ApoE^{-/-}$ 小鼠主动脉处发生了脂质累积,而白头翁皂苷 B_4 可改善这一情况。

3.5 白头翁皂苷 B_4 对喂养高脂饲料的 $ApoE^{-/-}$ 小鼠主动脉窦的病理组织形态改变及胶原、脂质含量的影响

为了进一步验证白头翁皂苷 B_4 能够抑制AS斑块的形成及炎症浸润,对各组小鼠主动脉窦切片分别进行了HE染色、Masson染色和油红O染色。分



与对照组比较: $^{###}P < 0.001$; 与模型组比较: $^{***}P < 0.001$ 。

$^{###}P < 0.001$ vs control group; $^{***}P < 0.001$ vs model group.

图4 白头翁皂苷 B_4 对喂养高脂饲料的 $ApoE^{-/-}$ 小鼠脂质累积的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

Fig. 4 Effect of *Pulsatilla* saponin B_4 on lipid accumulation in $ApoE^{-/-}$ mice fed with high-fat diet ($\bar{x} \pm s, n=5$)

析染色结果(图5)发现,对照组小鼠主动脉内膜层完整,无明显AS斑块形成,中膜层平滑肌以及弹性纤维完整,走行一致,排列整齐;蓝色胶原排列整齐、分布均匀、致密。与对照组小鼠相比,模型组小鼠主动脉窦AS斑块明显增多,周围可见炎症细胞聚集,部分中膜层增厚斑块中的细胞结构排列紊乱,部分纤维出现排列紊乱、损伤、中断的现象;胶原成分减少,排列不规则,胶原之间的腔隙较多,呈疏松网状分布;油红O染色区域较明显增多。与模

型组小鼠相比,各给药组小鼠主动脉窦油红O染色区域面积明显减少,小鼠主动脉窦斑块减少,可见少量泡沫细胞,炎症细胞浸润减少,中膜层平滑肌及弹性纤维排列增厚不明显;胶原含量多且分布规律,胶原间的腔隙减少;油红O染色区域面积明显减少。结果进一步说明,白头翁皂苷B₄可以改善AS斑块及脂质累积,改善AS血管结构,起到减轻斑块组织周围炎症浸润及稳定斑块的作用。

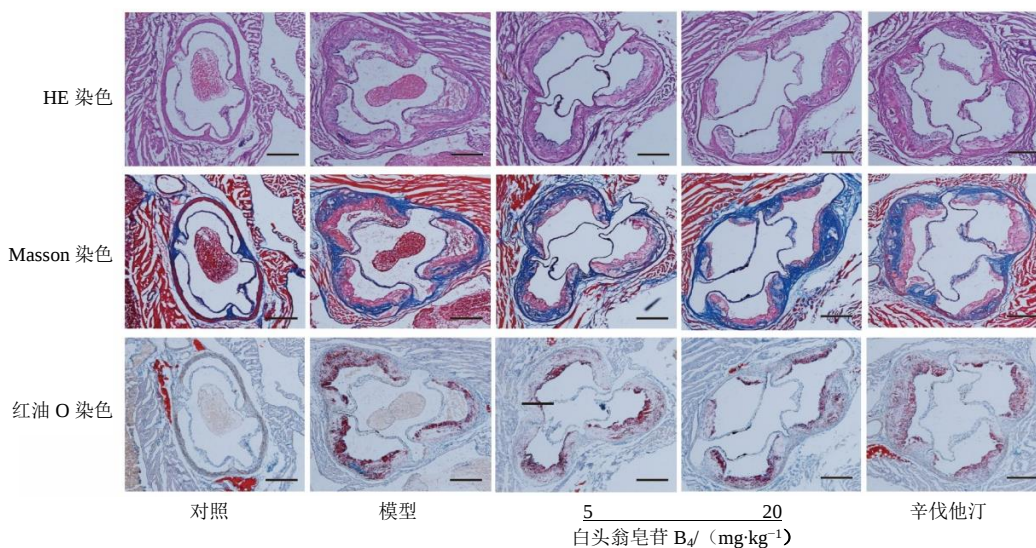


图5 白头翁皂苷B₄对喂养高脂饲料的ApoE^{-/-}小鼠主动脉窦的病理组织形态改变及胶原、脂质含量的影响(标尺=100 μm)
Fig. 5 Effects of *Pulsatilla* saponin B₄ on pathological tissue morphology, collagen content, and lipid content in aortic sinus of ApoE^{-/-} mice fed with high-fat diet (scale=100 μm)

4 讨论

心血管疾病作为全球的头号死因,其发病率呈上升和年轻化趋势^[15]。中药作为不良反应少、安全且具有广泛生物活性的药物,在心血管疾病治疗领域的研究逐渐深入,而天然五环三萜及其衍生物近年来逐渐成为心血管疾病的研究热点^[16]。白头翁皂苷B₄作为中药白头翁中提取分离得到的五环三萜皂苷类单体成分,具有抗炎和免疫调节等作用,经研究表明可以抑制血管平滑肌细胞增殖、迁移和新内膜增生,为AS的预防起到一定作用^[17]。除此之外,白头翁皂苷B₄对肾动静脉缺血再灌注也具有一定疗效^[12]。但其对于AS体内方面的研究还尚未开展。因此,本实验研究旨在初步阐明白头翁皂苷B₄对AS的治疗作用及机制,为白头翁皂苷B₄开发为抗AS的中药提供理论依据。

ApoE^{-/-}小鼠是一种自发的AS模型,与人的AS进程更为相似,是目前研究AS的经典模型^[13]。ApoE是1种能够结合和转运脂质的特殊蛋白,同时

也参与着体内TC的逆向转运,与个体血脂水平和AS发生发展有密切联系。通过对小鼠ApoE^{-/-}的敲除,使小鼠体内LDL-C含量升高,HDL-C含量降低,从而引发了AS疾病^[18]。

AS是多因素共同作用引起,发病机制复杂^[19]。其中脂质浸润和炎症学说是AS的重要研究方向。脂质浸润学说认为血液中脂质水平过高从而渗透血管内膜,导致脂质沉积而形成斑块。血脂水平过高是导致AS的重要因素^[20]。在AS初期,主动脉血管处会发生粥样斑块的积聚,其斑块的主要成分为脂质^[21]。因此本研究通过检测血清中TC、FC、TG、LDL-C、HDL-C水平以及对主动脉的组织染色判断其病变情况。实验结果表明,白头翁皂苷B₄可以通过减少脂质浸润来治疗喂养了高脂饮食的ApoE^{-/-}小鼠所模拟的AS疾病,其效果优于辛伐他汀。

AS作为一种慢性炎症疾病,其发病机制与炎症息息相关,具有慢性炎症反应特征的病理过程,其发展始终伴随炎症反应,是对不同损害的过度的炎

症-纤维增生反应的结果^[22]。因此可通过对其血液分析及IL-6水平的检测观察其炎症反应情况^[23-24]。实验结果表明,白头翁皂苷B₄降低了血液中的炎症细胞数目及炎症因子IL-6表达,减轻了炎症浸润。这表明白头翁皂苷B₄可以通过减少炎症反应的发生来治疗AS。

本实验研究表明,白头翁皂苷B₄对于高脂饮食诱导的ApoE^{-/-}小鼠AS具有治疗作用,其作用机制与减少脂质浸润和炎症反应有关。本研究为白头翁皂苷B₄开发成为抗AS新药的提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 陈伟伟, 高润霖, 刘力生, 等. «中国心血管病报告 2017» 概要 [J]. 中国循环杂志, 2018, 33(1): 1-8.
Chen W W, Gao R L, Liu L S, et al. Summary of China cardiovascular disease report 2017 [J]. Chin Circ J, 2018, 33(1): 1-8.
- [2] Visseren F L J, Mach F, Smulders Y M, et al. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: Developed by the Task Force for cardiovascular disease prevention in clinical practice with representatives of the European Society of Cardiology and 12 medical societies with the special contribution of the European Association of Preventive Cardiology (EAPC) [J]. Rev Esp Cardiol, 2022, 75(5): 429.
- [3] 张昭华, 庞敏. 动脉粥样硬化的发病机制综述 [J]. 基层医学论坛, 2018, 22(34): 4918-4919.
Zhang Z H, Pang M. A review of the pathogenesis of atherosclerosis [J]. Med Forum, 2018, 22(34): 4918-4919.
- [4] Konstantinov I E, Mejevoi N, Anichkov N M, Nikolai N. Anichkov and his theory of atherosclerosis [J]. Tex Heart Inst J, 2006, 33(4): 417-423.
- [5] Duerrschmidt N, Stielow C, Muller G, et al. NO-mediated regulation of NAD(P)H oxidase by laminar shear stress in human endothelial cells [J]. J Physiol, 2006, 576(Pt 2): 557-567.
- [6] Marventano S, Kolacz P, Castellano S, et al. A review of recent evidence in human studies of n-3 and n-6 PUFA intake on cardiovascular disease, cancer, and depressive disorders: Does the ratio really matter? [J]. Int J Food Sci Nutr, 2015, 66(6): 611-622.
- [7] Witztum J L, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis [J]. J Clin Invest, 1991, 88(6): 1785-1792.
- [8] Santos A C, Alves M J N N, Rondon M U P B, et al. Sympathetic activation restrains endothelium-mediated muscle vasodilatation in heart failure patients [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005, 289(2): H593-H599.
- [9] 官紫祎, 陈兰英, 罗颖颖, 等. 基于糖酵解机制的白头翁皂苷多成分协同抑制人肺癌NCI-H460细胞增殖作用研究 [J]. 中草药, 2019, 50(21): 5289-5297.
Guan Z Y, Chen L Y, Luo Y Y, et al. Multi-components from *Pulsatilla Chinensis* saponins synergistically inhibit proliferation of NCI-H460 cells based on tumor glycolysis mechanism [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2019, 50(21): 5289-5297.
- [10] 李俊, 左沙沙, 邱小萱, 等. 炎性和凋亡因子在小鼠急性肾损伤中的表达特点及白头翁皂苷B₄的调节作用 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(1): 157-162.
Li J, Zuo S S, Qiu X X, et al. Expression characteristics of inflammatory and apoptosis factors and regulatory effect of anemoside B4 in mice with acute kidney injury [J]. China J Chin Mater Med, 2020, 45(1): 157-162.
- [11] 杨帆, 魏小果, 赵鑫, 等. 白头翁皂苷B₄对四氯化碳致急性肝损伤模型小鼠的保护作用及机制研究 [J]. 中药材, 2021, 44(12): 2938-2942.
Yang F, Wei X G, Zhao X, et al. Protective effect and mechanism of *Pulsatilla* saponin B4 on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in mice [J]. J Chin Med Mater, 2021, 44(12): 2938-2942.
- [12] 李俊, 左沙沙, 邱小萱, 等. 白头翁皂苷B₄对结扎大鼠肾动静脉所致缺血再灌注损伤的治疗作用及相关机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(3): 617-622.
Li J, Zuo S S, Qiu X X, et al. Study on therapeutic effect and its related mechanism of anemoside B₄ on ischemia reperfusion injury induced by renal artery and vein ligation in rats [J]. China J Chin Mater Med, 2020, 45(3): 617-622.
- [13] 李建华. ApoE^{-/-}小鼠自发形成动脉粥样硬化钙化斑块的消退及其机制研究 [D]. 北京: 中国人民解放军医学院, 2014.
Li J H. Study on the regression of atherosclerotic calcified plaque in ApoE^{-/-} mice and its mechanism [D]. Beijing: Chinese People's Liberation Army Medical College, 2014.
- [14] Kumar S, Kang D W, Rezvan A, et al. Accelerated atherosclerosis development in C57Bl6 mice by overexpressing AAV-mediated PCSK9 and partial carotid ligation [J]. Lab Invest, 2017, 97(8): 935-945.
- [15] «中国心血管健康与疾病报告»2021(冠心病部分内容) [J]. 心肺血管病杂志, 2022, 41(12): 1205-1211.
China Cardiovascular Health and Disease Report 2021 (part of coronary heart disease) [J]. J Cardiovasc Pulm Dis, 2022, 41(12): 1205-1211.
- [16] 白雪, 王雪, 南敏伦, 等. 天然五环三萜及其衍生物抗心

- 脑血管疾病的研究进展 [J]. 中草药, 2019, 50(3): 745-752.
- Bai X, Wang X, Nan M L, et al. Research progress on natural pentacyclic triterpenoids and derivatives in anti-cardiovascular and cerebrovascular diseases [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2019, 50(3): 745-752.
- [17] Shan D, Qu P, Zhong C, et al. Anemoside B4 inhibits vascular smooth muscle cell proliferation, migration, and neointimal hyperplasia [J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 9: 907490.
- [18] Hofker M H, van Vlijmen B J, Havekes L M. Transgenic mouse models to study the role of APOE in hyperlipidemia and atherosclerosis [J]. Atherosclerosis, 1998, 137(1): 1-11.
- [19] Tiwari R L, Singh V, Barthwal M K. Macrophages: An elusive yet emerging therapeutic target of atherosclerosis [J]. Med Res Rev, 2008, 28(4): 483-544.
- [20] 杨永宗. 动脉粥样硬化性心血管病基础与临床 [M]. 北京: 科学出版社, 2004.
- Yang Y Z. *Basic and clinical characteristics of atherosclerotic cardiovascular disease* [M]. Beijing: Science Press, 2004.
- [21] Ramasamy I. Recent advances in physiological lipoprotein metabolism [J]. Clin Chem Lab Med, 2014, 52(12): 1695-1727.
- [22] Ross R. Atherosclerosis: An inflammatory disease [J]. N Engl J Med, 1999, 340(2): 115-126.
- [23] Shuvalova Y A, Kaminaya V, Kaminnyi A I. Contribution of interleukin-6 system genes polymorphisms to the development of coronary atherosclerosis [J]. Gene, 2023, 861: 147253.
- [24] 赵坤, 吴玲玲, 杨少玲, 等. 中老年2型糖尿病患者中性粒细胞/淋巴细胞比值与颈动脉粥样硬化相关性的研究 [J]. 中国糖尿病杂志, 2023, 31(4): 255-259.
- Zhao K, Wu L L, Yang S L, et al. The relationship between neutrophil/lymphocyte ratio and carotid atherosclerosis in middle-aged and elderly patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Chin J Diabetes, 2023, 31(4): 255-259.

[责任编辑 兰新新]