

基于 NLRP3 炎症小体探讨黄芪赤风汤改善内皮细胞损伤的作用机制

梁玉琴¹, 刘洁¹, 张驰¹, 卢芳², 陈平平², 刘树民^{2*}

1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040

2. 黑龙江中医药大学 中医药研究院, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要: **目的** 基于 NLRP3 炎症小体探讨黄芪赤风汤 (HQCF) 通过改善动脉粥样硬化 (AS) 内皮损伤的分子机制。方法 氧化低密度脂蛋白 (ox-LDL) 诱导 bEnd.3 细胞构建内皮细胞损伤模型, 结合 si-激活 NOD 样受体家族含 pyrin 结构域蛋白 3 (NLRP3) 基因敲低技术及 HQCF (50、100、200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 干预。乳酸脱氢酶 (LDH) 试剂盒检测 bEnd.3 细胞受损伤程度; 试剂盒法检测 bEnd.3 细胞内总胆固醇 (TC)、游离胆固醇 (FC)、胆固醇酯 (CE) 水平和 CE/TC; 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测 bEnd.3 细胞炎症因子白细胞介素-1 β (*IL-1 β*)、*IL-6*、*IL-18* 和肿瘤坏死因子- α (*TNF- α*) 和黏附分子细胞间黏附分子-1 (*ICAM-1*)、血管细胞黏附分子-1 (*VCAM-1*) 基因表达水平; DCFH-DA 探针通过流式细胞仪检测 bEnd.3 细胞内活性氧 (ROS) 含量; Western blotting 检测 bEnd.3 细胞中 Toll 样受体 4 (TLR4)、p-核因子 κB (NF- κB) /NF- κB 、核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NLRP3)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-1 (Caspase-1) 和凋亡相关斑点样蛋白 (ASC) 蛋白表达水平; qRT-PCR 评估 si-NLRP3 序列的转染效率; 油红 O 染色评估 bEnd.3 细胞内脂质聚积情况。**结果** 与模型组相比, HQCF 组 LDH 释放量显著减少 ($P<0.05$ 、 0.01), TC、FC、CE 水平及 CE/TC 显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01), ROS 水平显著下调 ($P<0.01$), *IL-1 β* 、*IL-6*、*IL-18*、*TNF- α* mRNA 表达水平显著下调 ($P<0.01$), TLR4、p-NF- κB /NF- κB 、NLRP3、Caspase-1 和 ASC 蛋白表达水平显著下调 ($P<0.01$)。与 ox-LDL+si-NC 组相比, ox-LDL+si-NLRP3 组和 ox-LDL+si-NLRP3+HQCF 组细胞脂质蓄积情况明显改善, 且以 ox-LDL+si-NLRP3+HQCF 组改善效果最佳; ox-LDL+si-NLRP3 组细胞 TC 和 CE 水平显著下调 ($P<0.01$), FC 和 CE/TC 有下调趋势但无统计学意义, ox-LDL+si-NLRP3+HQCF 组细胞 TC、FC、CE、CE/TC 的水平显著下调 ($P<0.01$); ox-LDL+si-NLRP3 组与 ox-LDL+si-NLRP3+HQCF 组 bEnd.3 细胞 *ICAM-1* 和 *VCAM-1* mRNA 表达水平显著下调 ($P<0.01$)。**结论** HQCF 通过抑制 NLRP3 炎症小体通路激活, 减轻 ox-LDL 诱导的内皮细胞脂质蓄积及炎症, 从而发挥抗 AS 内皮细胞损伤的作用。

关键词: 黄芪赤风汤; 动脉粥样硬化; 内皮细胞损伤; NLRP3 炎症小体; 脂质蓄积

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2025)10-2744-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.10.003

Exploring mechanism of Huangqi Chifeng Tang in improving endothelial cell injury based on NLRP3 inflammasome

LIANG Yuqin¹, LIU Jie¹, ZHANG Chi¹, LU Fang², CHEN Pingping², LIU Shumin²

1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

2. Institute of Traditional Chinese Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: Objective To explore the molecular mechanism of Huangqi Chifeng Tang (HQCF) in improving endothelial damage of atherosclerosis (AS) based on NLRP3 inflammatory inflammasome. **Methods** ox-LDL-induced bEnd.3 cells were used to construct an endothelial cell injury model, combined with si-NLRP3 gene knockdown technology and HQCF (50, 100, 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) intervention. Lactate dehydrogenase (LDH) assay kit was used to detect bEnd.3 cell viability; The assay kit was used to detect the levels of total cholesterol (TC), free cholesterol (FC), cholesterol esters (CE), and CE/TC in bEnd.3 cells; Real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) was used to detect the gene expression levels of inflammatory factors interleukin-1 β (*IL-1 β*), *IL-6*, *IL-18*, tumor necrosis factor- α (*TNF- α*), intercellular adhesion molecule-1 (*ICAM-1*), and vascular cell adhesion molecule-1 (*VCAM-1*) in

收稿日期: 2025-04-07

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目 (PL2024H239)

作者简介: 梁玉琴 (2000—), 女, 博士研究生, 从事中药药性理论及药效物质基础研究。E-mail: K18089718076@163.com

*通信作者: 刘树民 (1963—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药药性理论及药效物质基础研究。E-mail: keji-liu@163.com

bEnd.3 cells; DCFH-DA probe was used to detect the intracellular reactive oxygen species (ROS) content in bEnd.3 cells by flow cytometry; Western blotting was used to detect the protein expression levels of Toll like receptor 4 (TLR4), p-nuclear factor kappa B (p-NF- κ B)/NF- κ B, NOD-, LRR- and pyrin domain-containing protein 3 (NLRP3), Cysteinyl aspartate specific proteinase-1 (Caspase-1), and Apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain (ASC) in bEnd.3 cells; transfection efficiency of the si-NLRP3 sequence was evaluated by qRT-PCR; Oil red O staining was used to evaluate the intracellular lipid accumulation in bEnd.3 cells. **Results** Compared with model group, the LDH release in the HQCF group was significantly reduced ($P < 0.05, 0.01$), the levels of TC, FC, CE and CE/TC were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$), the ROS level was significantly down-regulated ($P < 0.01$), the mRNA expression levels of *IL-1 β* , *IL-6*, *IL-18* and *TNF- α* were significantly down-regulated ($P < 0.01$), and the protein expression levels of TLR4, p-NF- κ B/NF- κ B, NLRP3, Caspase-1 and ASC were significantly down-regulated ($P < 0.01$). Compared with the ox-LDL + si-NC group, the lipid accumulation in cells of the ox-LDL + si-NLRP3 group and the ox-LDL + si-NLRP3 + HQCF group was significantly improved, and the improvement effect was the best in the ox-LDL + si-NLRP3 + HQCF group; the levels of TC and CE in cells of the ox-LDL + si-NLRP3 group were significantly down-regulated ($P < 0.01$), FC and CE/TC showed a downward trend but without statistical significance, and the levels of TC, FC, CE and CE/TC in cells of the ox-LDL + si-NLRP3 + HQCF group were significantly down-regulated ($P < 0.01$); the mRNA expression levels of *ICAM-1* and *VCAM-1* in bEnd.3 cells of the ox-LDL + si-NLRP3 group and the ox-LDL + si-NLRP3 + HQCF group were significantly down-regulated ($P < 0.01$). **Conclusion** HQCF exerts an anti-AS endothelial cell injury effect by inhibiting the activation of NLRP3 inflammasome pathway, reducing ox-LDL induced lipid accumulation and inflammation in endothelial cells.

Key words: Huangqi Chifeng Tang; atherosclerosis; endothelial cell injury; NLRP3 inflammasome; lipid accumulation

动脉粥样硬化(AS)是以脂质代谢异常为病理基础的慢性炎症性疾病,其病理进程始于血脂紊乱引发的脂质在内膜下沉积,形成弥漫性增厚的动脉内膜及脂质条纹^[1-2]。AS相关性心血管疾病是全球心血管死亡的主要原因,其患病率的快速增长已成为全球心血管疾病负担加剧的核心驱动因素^[3]。在2022年,心血管疾病就导致全球约1980万人死亡,其中超过34%的患者在70岁之前死亡^[4-5]。当前AS的临床药物治疗体系主要涵盖以他汀类药物为核心的调脂药物、以阿司匹林/氯吡格雷为代表的抗血小板药物和新型抗炎制剂3大类药物。尽管大规模临床研究证明他汀类药物的单独干预或联合干预可通过改善血脂紊乱和增强抗炎活性双重机制有效延缓AS进展,但长期服用的患者可能引起他汀类药物相关肌肉症状和肝、肾损伤等不良反应^[6-7]。因此,迫切需要开发更安全、更有效的治疗药物,以扩大AS临床治疗策略的选择。

慢性炎症介导的内皮功能损伤被认为是驱动AS发展的核心病理机制。内皮功能损伤会增加血管通透性,导致血管屏障功能减弱,促使血液中低密度脂蛋白(LDL)和单核细胞向血管内膜浸润^[8]。在促AS的病理条件下,沉积在内皮细胞中的LDL很容易被氧化修饰为氧化低密度脂蛋白(ox-LDL),经血管内皮细胞吞噬后,进而导致内皮部位脂肪条纹的形成^[9]。ox-LDL经吞噬作用进入胞内

后,通过激活NOD样受体家族含pyrin结构域蛋白3(NLRP3)炎症小体等关键炎症信号通路,促进白细胞介素(IL)-1 β 、血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)等炎症因子和内皮黏附因子的分泌和释放,招募更多单核细胞黏附浸润,最终加速脂质蓄积与斑块进展^[10]。黄芪赤风汤(HQCF)是清代王清任所著的经典医学著作《医林改错》中的经典中药方剂,由黄芪、赤芍、防风3味药组成,功在益气补虚、活血化瘀,符合AS益气活血、化瘀通滞的中医施治理念。前期研究发现HQCF改善AS大鼠血管损伤的作用机制与抑制NLRP3炎症小体的激活密切相关^[11-12]。鉴于其对内皮细胞的保护作用,本研究利用小干扰RNA(siRNA)技术敲低小鼠脑微血管内皮(bEnd.3)细胞中NLRP3水平,探讨HQCF对内皮细胞的保护作用是否与其对NLRP3炎症小体的调控有关。

1 材料

1.1 细胞

bEnd.3细胞购自赛百慷生物技术有限公司(i Cell-m009)。

1.2 药物与主要试剂

黄芪、赤芍、防风中药饮片(黑龙江修生堂药业有限公司,批号20220527、20220520、20220515),由黑龙江中医药大学药学院药用植物教研室南洋副教授鉴定,黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus*

membranaceus (Fisch) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根, 赤芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根, 防风为伞形科植物防风 *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) 的干燥根; ox-LDL (广州奕源生物科技有限公司, 货号 YB-002); 总胆固醇 (TC)、游离胆固醇 (FC)、胆固醇酯 (CE) 测定试剂盒 (上海酶联生物科技有限公司, 货号 ml037202、ml037374、ml037158); RNA 提取试剂盒、PrimeScript™ RT 反转录试剂盒、TB Green® Premix Ex Taq™ II (北京宝日医生物技术有限公司, 货号 AL61137A、AN70490A、AN71060A); 油红 O 染色试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司, 货号 G1261); DMEM 培养基、胎牛血清、磷酸盐缓冲液 (PBS) (上海 VivaCell 公司, 货号 C3110-0500、04-002-1A、C3580-0500); 0.25% 胰酶 (美国赛默飞世尔科技公司, 货号 C3530-0500); RNAiso Plus (宝日医生物技术有限公司, 货号 9108); GoScript™ 逆转录试剂盒、SystemGoTaq® qPCR Master Mix (美国 Promega 公司, 货号 A5001、A6001); 乳酸脱氢酶 (LDH) 释放检测试剂盒 (货号 C0019S)、活性氧 (ROS) 检测试剂盒 (货号 S0033S)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (货号 P0011)、RIPA 裂解液 (货号 P0013C)、NLRP3 抗体 (货号 AF2155)、半胱氨酸蛋白酶 (Caspase)-1 抗体 (货号 AF1681), 均购自碧云天生物技术有限公司; Toll 样受体 4 (TLR4)、凋亡相关颗粒样蛋白 (ASC)、p-核因子 κ B (NF- κ B)、NF- κ B、GAPDH 抗体 (武汉赛维尔生物科技有限公司, 货号分别为 GB11519、GB115270、GB113882、GB11997、GB15004)。

1.3 主要仪器

BB150 型 CO₂ 培养箱、QuantStudio™ 5 型实时荧光定量 PCR 仪 (美国赛默飞世尔科技公司); ETC811 型聚合酶链式反应 (PCR) 扩增仪 (北京东胜创新生物科技有限公司); EC201827C1 型流式细胞仪 (美国 Luminex 公司); SVT-2 型转印电泳仪 (武汉赛维尔生物科技有限公司); 6100 型化学发光成像系统 (上海勤翔科学仪器有限公司); LC-10N 型冷冻真空干燥机 (上海力辰仪器科技有限公司); M200 pro 型酶标仪 (瑞士 Tecan 公司); 0002559-08 型冷冻高速离心机 (德国 Hettich 有限公司)。

2 方法

2.1 HQCF 溶液的制备^[13]

按照 10 : 3 : 2 的质量比称取黄芪、赤芍、防

风药材饮片, 加入 10 倍体积蒸馏水, 浸泡 1 h 后进行 3 阶段热回流提取, 每个提取周期 1.5 h, 收集合并 3 次提取液。提取液经旋转蒸发仪浓缩后通过真空冷冻干燥系统进行冷冻干燥, 所得 HQCF 冻干粉储存在 -20 °C 备用。无菌环境下, 精密称取灭菌处理的 HQCF 冻干粉, 使用 DMEM 完全培养基进行溶解。经冰浴超声 10 min 后, 采用 0.22 μ m 无菌滤膜滤过, 最终制备成梯度质量浓度 (50、100、200 μ g·mL⁻¹) 的 HQCF 溶液。通过指纹图谱的建立, 并检测芍药内酯苷、芍药苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素、黄芪甲苷等关键成分含量, 以实现 HQCF 的质量控制^[14]。

2.2 细胞培养

bEnd.3 细胞采用含 10% 胎牛血清 (FBS) 及 1% 青霉素-链霉素的 DMEM 完全培养基, 于 37 °C、5% CO₂ 恒温培养箱中贴壁培养。待 bEnd.3 细胞融合度达到 85%~90% 时进行传代处理。

2.3 模型构建与分组

将 bEnd.3 细胞分为对照组、模型组和 HQCF 低、中、高剂量 (50、100、200 μ g·mL⁻¹) 组^[12]。将对数生长期细胞以每孔 1×10^6 个接种于 6 孔板, 适应性培养 24 h 后。对照组仅更换培养基, 其余组均用 50 μ g·mL⁻¹ ox-LDL 刺激以诱导内皮细胞损伤模型的建立^[15], HQCF 组在加入 ox-LDL 的同时分别加入 50、100、200 μ g·mL⁻¹ 的 HQCF 溶液。各组孵育 24 h 后进行后续实验。

通过 Lipofectamine™ 2000 转染 si-NLRP3 构建 bEnd.3 细胞 NLRP3 敲低模型。将 bEnd.3 细胞分为 si-NC 组、si-NC+ox-LDL 组、si-NLRP3+ox-LDL 组、si-NLRP3+ox-LDL+HQCF (200 μ g·mL⁻¹) 组。si-NC 组转染无靶向作用的空载 siRNA, si-NC+ox-LDL 组转染空载 siRNA 后加入 50 μ g·mL⁻¹ ox-LDL 诱导损伤, si-NLRP3+ox-LDL 组转染 si-NLRP3 敲低 NLRP3 表达, 转染后加入 50 μ g·mL⁻¹ ox-LDL 诱导损伤, si-NLRP3+ox-LDL+HQCF 组转染 si-NLRP3 后, 同时施加 50 μ g·mL⁻¹ ox-LDL 诱导损伤与 200 μ g·mL⁻¹ HQCF 干预。ox-LDL 和 HQCF 干预时间 24 h。

2.4 细胞转染

si-NLRP3 序列由广州锐博生物技术有限公司设计和合成, si-NLRP3-1、si-NLRP3-2、si-NLRP3-3 序列见表 1。收集对数生长期的 bEnd.3 细胞均匀

表 1 siRNA 序列
Table 1 siRNA sequence

siRNA	序列 (5'→3')
si-NLRP3-1	GTACTTAAATCGTGAAACA
si-NLRP3-2	CAGCCAGAGTGGAATGACA
si-NLRP3-3	GGATGGCTTTGATGAGCTA

接种到 6 孔板中，更换无血清、无双抗培养基，细胞汇合率为 70% 时，每孔加入 1.5 μL LipofectamineTM 2000 及 1.25 μL 相应 siRNA 进行转染操作，转染 6 h 后将培养基更换为完全培养基，温箱继续培养 48 h。转染成功的细胞按分组进行 ox-LDL 及 HQCF 干预处理。

2.5 LDH 活性测定

药物干预结束后，收集 bEnd.3 细胞上清液，每孔加入 LDH 检测工作液 60 μL。在培养箱中 37 ℃ 孵育 30 min，孵育结束后每个孔中加入 20 μL 终止液，在 450 nm 处测定吸光度值，计算 LDH 活性。

2.6 细胞内脂质含量测定

药物干预结束后，弃掉培养基后收集细胞沉淀，通过冰浴超声波破碎细胞，以 4 ℃、1 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 去除颗粒和聚合物收集上清液置于冰上待测。采用 ELISA 试剂盒定量检测 bEnd.3 细胞内 TC、CE、FC 水平及 CE/TC。

2.7 细胞内 ROS 检测

药物干预结束后，用 PBS 清洗 bEnd.3 细胞 2 次。将 DCFH-DA 探针以 1：1 000 的比例稀释于无血清培养基中。每孔加入 DCFH-DA 探针 1 mL，37 ℃ 孵育 20 min。然后取出培养基，用无血清细胞培养液洗涤细胞 3 次，充分去除未进入细胞内的 DCFH-DA。使用流式细胞仪检测 FITC 通道中的荧光强度。

2.8 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 分析

RNAiso Plus 试剂提取 bEnd.3 细胞总 RNA，按照逆转录试剂盒说明书逆转录 RNA 合成 cDNA，逆转录程序条件：25 ℃：5 min；42 ℃：1 h；70 ℃：15 min。qRT-PCR 采用 2×GoTaq® qPCR Master Mix 进行，反应体系为 20 μL。PCR 扩增条件如下：在 95 ℃ 下预变性 10 min，在 95 ℃ 下变性 15 s，化合物在 60 ℃ 下退火延伸 60 s，共 40 个扩增周期。采用 2^{-ΔΔCt} 法测定 mRNA 相对表达水平，引物序列见表 2。

2.9 Western blotting 分析

使用 RIPA 裂解液从细胞中提取总蛋白，使用 BCA 测定试剂盒测定蛋白浓度。使用 SDS-PAGE 分

表 2 引物序列
Table 2 Primer sequence

引物	序列 (5'→3')
IL-1β	F: TCCAGCTGTAGAGTGGGCTT
	R: GCTGAGGAAGATGCTGGTTC
IL-6	F: ACTTCCAGCCAGTTGCCTTCTTG
	R: TGGTCTGTTGTGGGTGGTATCCTC
TNF-α	F: ATGGGCTCCCTCTCATCAGTTCC
	R: CCTCCGCTTGGTGGTTTGCTAC
IL-18	F: GACTCTTGCCTCAACTTCAAGG
	R: CAGGCTGTCTTTTGTCAACGA
ICAM-1	F: ATGCCCAGACATCTGTGTCC
	R: GGGGTCTCTATGCCCAACAA
VCAM-1	F: GGGAAGATGGTCGTGATCCTT
	R: TCTGGGGTGGTCTCGATTTTA
GAPDH	F: TGGTGAAGGTCGGTGTGAAC
	R: ACTGTGCCGTTGAATTTGCC

离蛋白质，随后转移到 PVDF 膜上。一抗 TLR4 (1：1 000)、NLRP3 (1：1 000)、Caspase-1 (1：1 000)、ASC (1：600)、p-NF-κB (1：600)、NF-κB (1：1 000)、GAPDH (1：3 000) 稀释液 4 ℃ 孵育过夜，TBST 溶液洗膜，二抗稀释液孵育 2 h。最后，使用 ECL 显影液，借助化学发光成像仪采集化学发光图像。

2.10 油红 O 染色

药物干预结束后弃去细胞培养基，用 PBS 清洗 2 次，加入 4% 多聚甲醛室温固定 20 min。弃掉固定液，用 PBS 清洗 2 次，加入 Triton-100，静置 20 min。弃掉，用 PBS 清洗。加入异丙醇浸洗 20 s。加入新配制好的油红 O 染色液，静置染色 15 min。弃去染色液，入 60% 的异丙醇稍洗以去除余下染色液。最后加入 PBS 清洗，显微镜下镜检拍照。

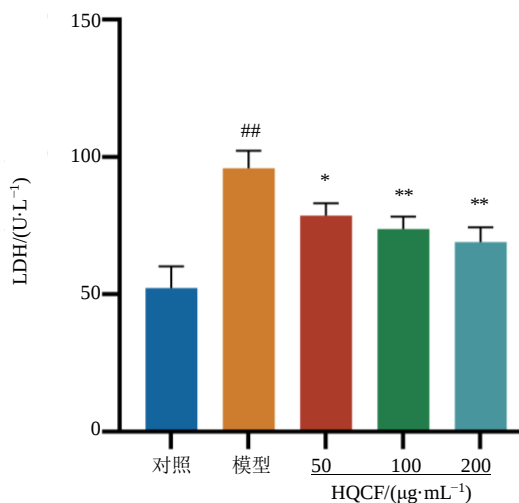
2.11 统计分析

使用 Graph Pad Prism 9.5.0 软件进行统计分析，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用单因素方差分析评估对照组与实验组之间的差异，双因素方差分析用于分析双因素变量的数据差异。

3 结果

3.1 HQCF 对 LDH 活性的影响

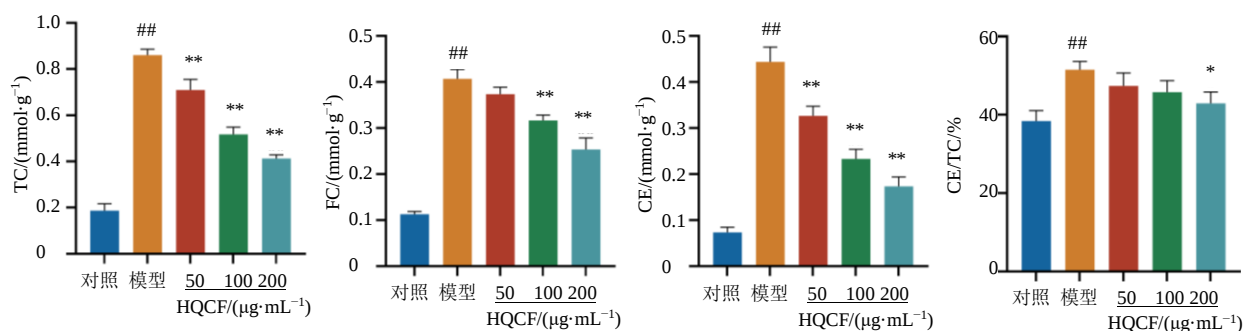
通过 LDH 释放实验评估 HQCF 对 ox-LDL 诱导的 bEnd.3 细胞活力的影响。结果显示，与对照组相比，模型组 LDH 释放量显著增加 ($P < 0.01$)；与模型组相比，HQCF 组 LDH 释放量显著减少 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结果表明，HQCF 可有效抑制 ox-LDL 诱导的 bEnd.3 细胞毒性。结果见图 1。



与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$.
^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

图 1 HQCF 对 bEnd.3 细胞 LDH 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

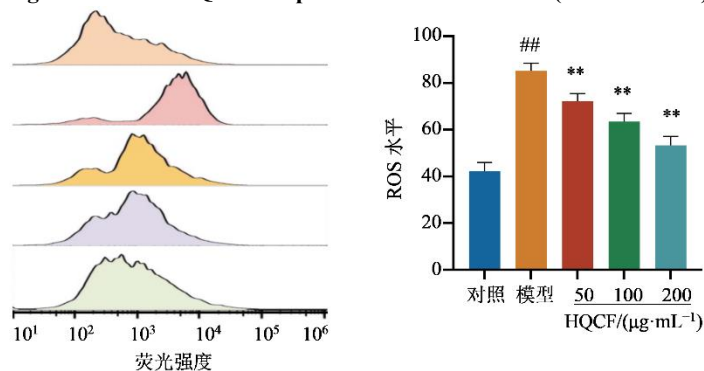
Fig. 1 Effect of HQCF on LDH activity in bEnd.3 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)



与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$.
^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

图 2 HQCF 对 bEnd.3 细胞内脂质水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 2 Effect of HQCF on lipid levels in bEnd.3 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)



与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$.
^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

图 3 HQCF 对 bEnd.3 细胞内 ROS 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 3 Effect of HQCF on ROS levels in bEnd.3 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3.2 HQCF 对 bEnd.3 细胞内脂质水平的影响

与对照组相比, 模型组细胞内 TC、FC、CE、CE/TC 水平显著升高 ($P < 0.01$), 且 CE/TC $> 50\%$; 与模型组相比, HQCF 低剂量组 TC、CE 水平显著降低 ($P < 0.01$), HQCF 中剂量组 TC、FC 及 CE 水平显著降低 ($P < 0.01$), HQCF 高剂量组 TC、FC、CE 水平及 CE/TC 显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且 CE/TC $< 50\%$ 。结果表明, HQCF 可有效抑制 ox-LDL 诱导的 bEnd.3 细胞脂质蓄积。结果见图 2。

3.3 HQCF 对 bEnd.3 细胞内 ROS 水平的影响

使用 DCFH-DA 探针通过流式细胞仪检测 bEnd.3 细胞中 ROS 的水平。结果显示, 与对照组相比, 模型组 bEnd.3 细胞内的 ROS 水平显著上调 ($P < 0.01$); 与模型组相比, HQCF 干预组 bEnd.3 细胞内 ROS 水平呈现不同程度的下调, 其中高剂量下调效果最佳 ($P < 0.01$)。提示 HQCF 改善内皮损伤的作用机制可能与降低细胞内 ROS 水平相关。结果见图 3。

3.4 HQCF 对 bEnd.3 细胞内炎症细胞因子 mRNA 水平的影响

qRT-PCR 结果显示,与对照组相比,模型组 bEnd.3 细胞内 *IL-1 β* 、*IL-6*、*IL-18*、*TNF- α* mRNA 表达水平显著上调 ($P<0.01$);与模型组相比,HQCF

低剂量组 *IL-18* mRNA 表达水平显著下调 ($P<0.01$),HQCF 中剂量组 *IL-1 β* 、*TNF- α* 、*IL-18* mRNA 表达水平显著下调 ($P<0.05$ 、 0.01),HQCF 高剂量组 *IL-1 β* 、*IL-6*、*IL-18*、*TNF- α* mRNA 表达水平显著下调 ($P<0.01$)。结果见图 4。

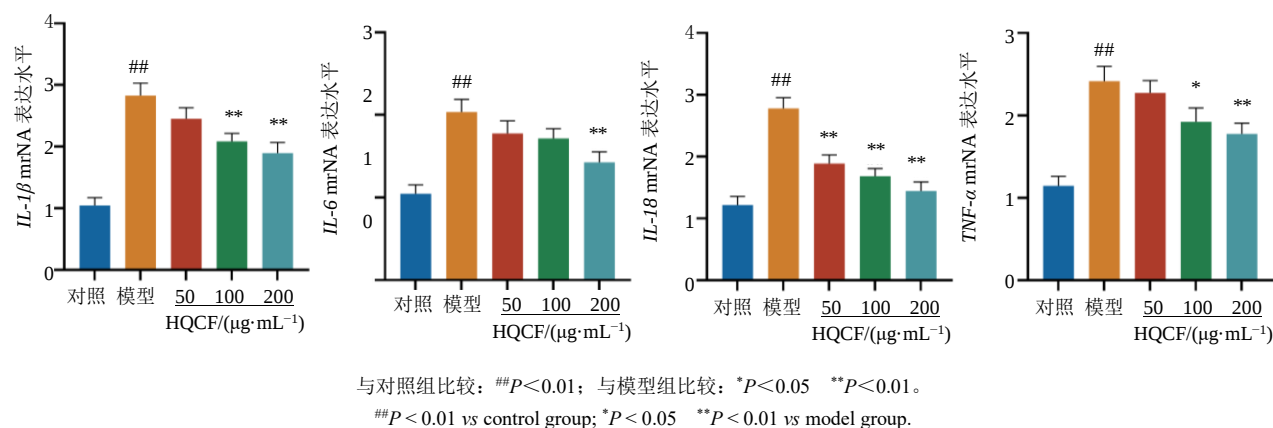


图 4 HQCF 对 bEnd.3 细胞内炎症因子 mRNA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 4 Effect of HQCF on mRNA levels of inflammatory factors in bEnd.3 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3.5 HQCF 对 bEnd.3 细胞内 NLRP3 炎症小体相关蛋白表达的影响

与对照组相比,模型组 bEnd.3 细胞内的 TLR4、p-NF- κ B/NF- κ B、NLRP3、Caspase-1 和 ASC 蛋白表达水平显著上调 ($P<0.01$);与模型组相比,HQCF 低剂量组 NLRP3 蛋白表达水平显著下调 ($P<0.01$),HQCF 中剂量组 TLR4、NLRP3 和 ASC 蛋白表达水平显著下调 ($P<0.01$),HQCF 高剂量组

TLR4、p-NF- κ B/NF- κ B、NLRP3、Caspase-1 和 ASC 蛋白表达水平显著下调 ($P<0.01$)。结果见图 5。

3.6 转染序列确定

为验证 NLRP3 炎症小体的激活与内皮细胞损伤机制之间的联系,本研究在 bEnd.3 细胞中构建了 NLRP3 敲低模型。用 si-NLRP3 转染 bEnd.3 细胞以敲低 NLRP3 表达,首先通过检测 *NLRP3* 的 mRNA 水平表达以评估靶向 NLRP3 的 3 种 siRNA 序列的

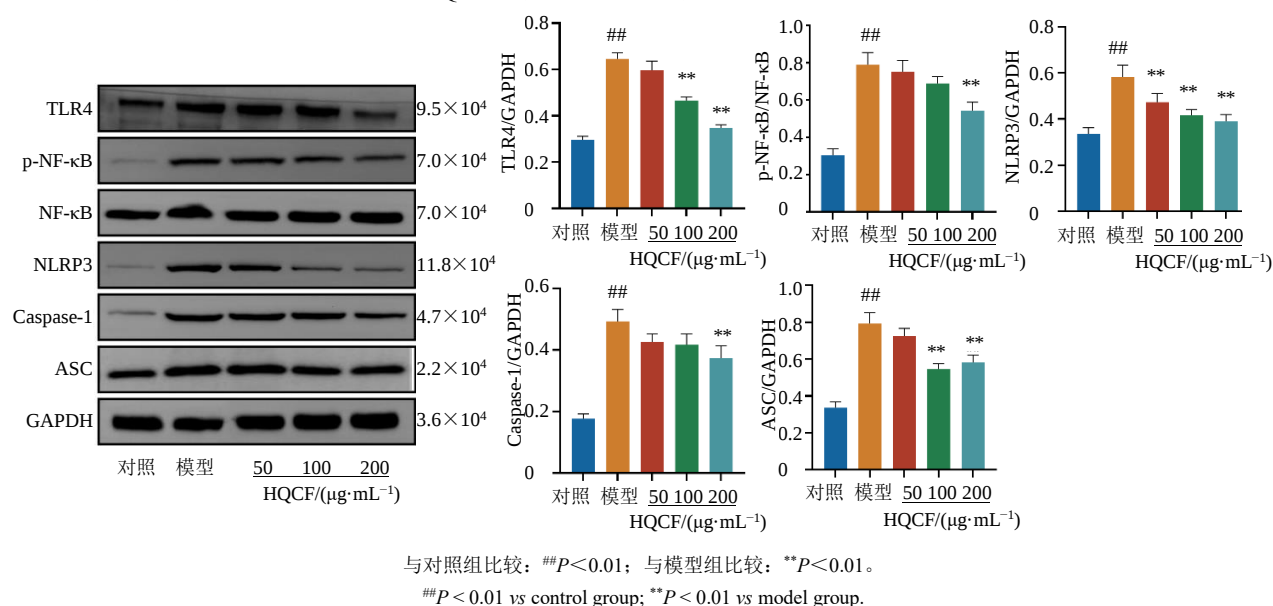


图 5 bEnd.3 细胞内 NLRP3 炎症小体相关蛋白相对表达水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

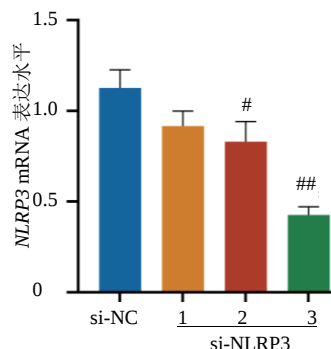
Fig. 5 Relative expression levels of NLRP3 inflammasome-related proteins in bEnd.3 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

敲低效率。qRT-PCR 结果显示, 与 si-NC 相比, si-NLRP3-1 转染后 *NLRP3* mRNA 水平有下降趋势, 但无统计学意义, si-NLRP3-2 和 si-NLRP3-3 转染后 *NLRP3* mRNA 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 其中以 si-NLRP3-3 转染效率最高, 因此后续实验确定 si-NLRP3-3 为最终转染序列。见图 6。

3.7 油红 O 染色

与 si-NC 组相比, ox-LDL+si-NC 组出现大量红色脂滴蓄积; 与 ox-LDL+si-NC 组相比, ox-LDL+si-NLRP3 组和 ox-LDL+si-NLRP3+HQCF 组细胞脂质蓄积情况明显改善, 且以 ox-LDL+si-NLRP3+HQCF 组改善效果最佳。提示敲低 NLRP3 的表达会减轻 ox-LDL 诱导的 bEnd.3 内的脂质蓄

积, 并且在 HQCF 的作用下, 细胞内脂质积累的情况进一步改善。结果见图 7。



与对照组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。
$P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs control group.

图 6 si-NLRP3 转染效率 ($\bar{X} \pm s$, $n=3$)

Fig. 6 si-NLRP3 transfection efficiency ($\bar{X} \pm s$, $n=3$)

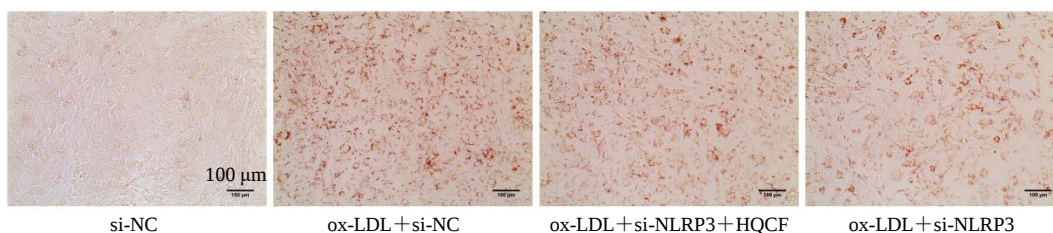


图 7 油红 O 染色

Fig. 7 Oil red O staining

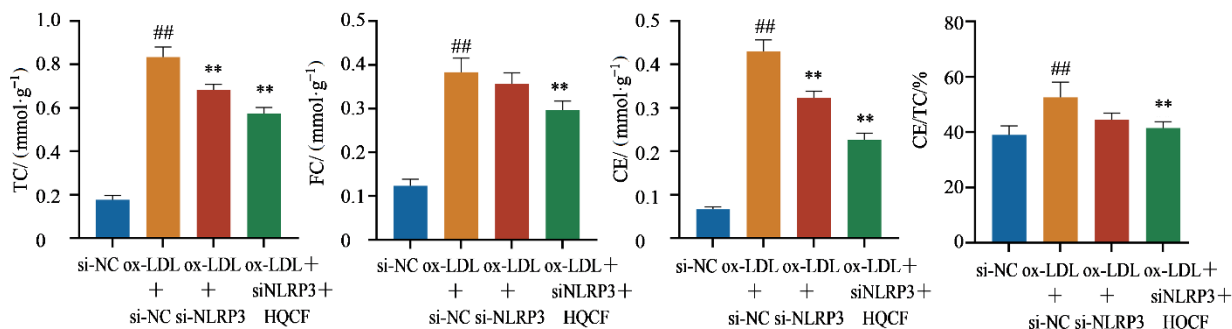
3.8 敲除 NLRP3 对 bEnd.3 细胞脂质水平的影响

结果显示, 与 si-NC 组相比, ox-LDL+si-NC 组 TC、FC 与 CE 的水平显著上调 ($P < 0.01$), 且 CE/TC 大于 50%; 与 ox-LDL+si-NC 组相比, ox-LDL+si-NLRP3 组细胞 TC 和 CE 水平显著下调 ($P < 0.01$), FC 和 CE/TC 有下调趋势但无统计学意义; ox-LDL+si-NLRP3+HQCF 组细胞 TC、FC、CE、CE/TC 的水平显著下调 ($P < 0.01$), 且 CE/TC 低于 50%, 提示敲低 NLRP3 的表达会减轻 ox-LDL

诱导的 bEnd.3 内的脂质代谢紊乱, 降低胆固醇水平, 并且 HQCF 干预可进一步减轻细胞内脂质代谢紊乱。见图 8。

3.9 敲除 NLRP3 对 bEnd.3 细胞黏附分子 mRNA 表达水平的影响

在炎症激活期间, 内皮细胞 ICAM-1 和 VCAM-1 的过表达促进白细胞黏附。qRT-PCR 结果显示, 与 si-NC 组相比, ox-LDL+si-NC 组 *ICAM-1* 和 *VCAM-1* mRNA 表达水平显著上调 ($P < 0.01$); 与



与 si-NC 组比较: ## $P < 0.01$; 与 ox-LDL+si-NC 组比较: ** $P < 0.01$ 。

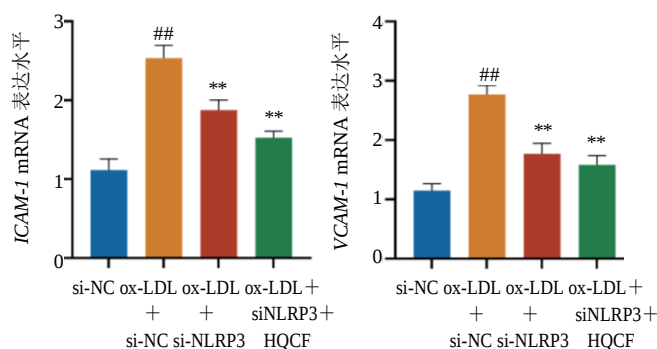
$P < 0.01$ vs si-NC group; ** $P < 0.01$ vs ox-LDL+si-NC group.

图 8 细胞内脂质含量测定 ($\bar{X} \pm s$, $n=3$)

Fig. 8 Measurement of intracellular lipid content ($\bar{X} \pm s$, $n=3$)

ox-LDL+si-NC 组相比, ox-LDL+si-NLRP3 组与 ox-LDL+si-NLRP3+HQCF 组 bEnd.3 细胞 *ICAM-1* 和 *VCAM-1* mRNA 表达水平显著下调 ($P <$

0.01), 提示 HQCF 改善 ox-LDL 诱导的内皮细胞损伤的机制与抑制 NLRP3 炎症小体的激活密切相关。见图 9。



与 si-NC 组比较: ### $P < 0.01$; 与 ox-LDL+si-NC 组比较: ** $P < 0.01$ 。

$P < 0.01$ vs si-NC group; ** $P < 0.01$ vs ox-LDL+si-NC group.

图 9 细胞黏附分子 *ICAM-1* 和 *VCAM-1* mRNA 表达水平测定 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 9 Measurement of mRNA expression levels of cell adhesion molecules *ICAM-1* and *VCAM-1* ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

4 讨论

AS 发病机制可概述为在高脂血症病理状态下, 内皮细胞功能损伤和血管炎症形成协同致病^[16-18]。内皮细胞定位于循环血液和血管组织之间的重要界面中, 不仅是血液循环中的分子、细胞或病原体的首要屏障, 更是调控血管稳态和维持正常血液循环的核心调控者^[19]。内皮损伤被认为是 AS 形成的初始病理环节, 其典型分子特征是黏附分子 *ICAM-1* 和 *VCAM-1* 的过度表达^[20]。*ICAM-1* 和 *VCAM-1* 属于免疫球蛋白超家族的成员, 可介导炎症并促进炎症期间循环单核细胞募集到血管壁^[21]。在血脂代谢紊乱的影响下, 内皮细胞摄取和转吞 ox-LDL 的作用增强, 促使细胞内脂滴异常积聚并表型转化为 *VCAM-1* 高表达的内皮细胞源泡沫细胞^[22-23]。ox-LDL 的异常摄取、胆固醇酯化过度或胆固醇外排障碍均可导致 CE 过量蓄积, 进而以脂滴形式储存并驱动脂质条纹形成^[24]。这一过程不仅直接破坏内皮屏障完整性, 其释放的炎症介质更可激活内皮炎症反应。

近年来, 炎症小体激活在 AS 中的作用受到广泛关注, 其中 NLRP3 炎症小体研究最为广泛且深入。NLRP3 炎症小体是人体先天免疫系统的重要组成部分, 其激活募集衔接蛋白 ASC 并促进 Caspase-1 活化, 将前体炎性细胞因子 (pro-IL-1 β 、pro-IL-18) 加工转化为成熟形式 (IL-1 β 、IL-18), 此过程与局部及全身炎症激活密切相关, 是内皮损伤及 AS 发生发展的重要机制^[25-26]。从机制层面分

析, NLRP3 炎症小体的激活信号因子主要包括模式识别受体诱导的 NF- κ B 转录激活、病原相关分子模式 (PAMP) 及损伤相关分子模式 (DAMP) 诱导的钾外排或钙内流、ROS 产生、溶酶体破裂和线粒体功能障碍^[27-28]。其中 TLR4/NF- κ B 信号通路和 ROS 生成在 NLRP3 激活起始阶段发挥核心调控作用^[29]。ROS 生成不仅是 PAMP 和 DAMP 识别后的常见下游事件, 同时可作为激活 NLRP3 炎症小体的常见上游信号^[30]。持续的线粒体损伤和功能障碍在 NLRP3 的激活中起着关键作用, 主要表现为线粒体衍生的 ROS 的过度产生, 这反过来又加剧内皮细胞损伤并促进 AS 进展^[31]。有研究报道, 通过下调 NF- κ B 或 ROS 的表达水平可有效抑制 NLRP3 炎症小体的激活, 凸显二者在 NLRP3 基因表达调控中的重要地位^[32-33]。此外, 当内皮细胞受损或受到代谢应激时, ROS 的过度产生不仅通过激活 NLRP3 炎症小体诱导内皮焦亡, 还能有助于氧化内皮聚积的 LDL 生成 ox-LDL, 形成“ROS-内皮损伤-AS”的病理级联反应。因此, 内皮细胞损伤通常以 ROS 产生增加、细胞凋亡、局部炎症持续活化和单核细胞黏附增强为典型特征。

值得注意的是, ox-LDL 的主要成分磷脂溶血磷脂酰胆碱可通过调控内皮细胞中 NLRP3 炎症小体的激活, 介导内皮细胞源泡沫细胞形成和焦亡进程^[34]。临床前研究表明, ox-LDL 干扰内皮细胞胆固醇正常外排的机制可能为其通过激活 NLRP3 导致的内皮炎症相关, 抑制 NLRP3 炎症小体激活及

IL-1 β 释放可显著减少 AS 内膜中趋化因子和黏附分子的分泌^[35-36]。本研究前期通过 AS 动物模型证实, HQCF 改善 AS 血管病理损伤的分子机制与抑制主动脉中 NLRP3 炎症小体的激活和内皮细胞稳定因子 CD31 的过表达密切相关^[11,37]。此外, 通过构建体外内皮细胞损伤模型, 明确了 HQCF 改善受损内皮细胞脂质蓄积与炎症的药理作用, 但其具体分子机制尚未明确^[12]。基于 NLRP3 炎症小体在内皮损伤与 AS 中的关键作用, 本研究采用 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ox-LDL 诱导 bEnd.3 细胞建立内皮细胞损伤模型, 旨在探讨 HQCF 的内皮细胞保护作用是否通过调控 NLRP3 炎症小体实现。

研究结果显示, HQCF 可显著抑制 ox-LDL 诱导的 bEnd.3 细胞内 TC、FC、CE 含量及 CE/TC 比值的异常升高, 表明其具有抑制脂质蓄积的作用。通过 DCFH-DA 探针检测发现, HQCF 剂量相关性降低模型组细胞内 ROS 水平, 提示其可能通过调控 ROS-NLRP3 轴发挥内皮保护效应。同时, HQCF 可显著降低 ox-LDL 诱导的促炎因子 IL-1 β 、IL-6、IL-18 及 TNF- α 的 mRNA 异常高表达, 并抑制 TLR4/NF- κ B 信号下游的 NLRP3 炎症小体关键蛋白 NLRP3、ASC、Caspase-1 及 p-NF- κ B/NF- κ B 的表达。以上结果共同证实, HQCF 通过干预 NLRP3 炎症小体抑制内皮炎症的激活。

研究进一步通过 si-NLRP3 转染构建 NLRP3 敲低的 bEnd.3 细胞模型, 在 ox-LDL 诱导 24 h 的内皮细胞损伤过程中联合给予 HQCF 干预, 以验证 NLRP3 炎症小体在内皮细胞损伤中的核心作用, NLRP3 在 ox-LDL 诱导的 bEnd.3 细胞损伤中的作用。结果显示, NLRP3 敲低可显著抑制 ox-LDL 诱导的脂滴的生成、脂质蓄积和黏附分子 mRNA 表达的异常上调, 证实 NLRP3 在 ox-LDL 诱导的内皮细胞损伤过程中具有关键作用。此外, 在 NLRP3 敲低的基础上进行 HQCF 干预, 研究结果发现内皮细胞内脂质蓄积、黏附分子分泌被进一步抑制。以上结果共同表明, NLRP3 炎症小体在 ox-LDL 诱导的内皮细胞脂质蓄积和黏附分子分泌中发挥关键作用, HQCF 对 bEnd.3 细胞中脂质摄取、释放和酯化的调控作用与 NLRP3 通路抑制密切相关。

本研究证实 HQCF 改善内皮功能损伤的机制与调控 NLRP3 炎症小体激活密切相关。其通过抑制 ROS 过量生成及 NF- κ B 异常活化, 阻断 NLRP3 炎症小体激活信号, 最终改善内皮损伤。通过聚焦

“内皮细胞-NLRP3 炎症小体-炎症激活”这一关键病理过程, 本研究不仅进一步阐明 NLRP3 在 AS 中的调控机制, 更为解析 HQCF 防治 AS 的分子机制提供了实验依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Jebari-Benslaiman S, Galicia-García U, Larrea-Sebal A, et al. Pathophysiology of atherosclerosis [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(6): 3346.
- [2] Björkegren J L M, Lusis A J. Atherosclerosis: Recent developments [J]. Cell, 2022, 185(10): 1630-1645.
- [3] Frostegård J. Immunity, atherosclerosis and cardiovascular disease [J]. BMC Med, 2013, 11: 117.
- [4] Mensah G A, Fuster V, Roth G A. A heart-healthy and stroke-free world: Using data to inform global action [J]. J Am Coll Cardiol, 2023, 82(25): 2343-2349.
- [5] Mensah G A, Fuster V, Murray C J L, et al. Global burden of cardiovascular diseases and risks, 1990-2022 [J]. J Am Coll Cardiol, 2023, 82(25): 2350-2473.
- [6] Weber C, Noels H. Atherosclerosis: Current pathogenesis and therapeutic options [J]. Nat Med, 2011, 17(11): 1410-1422.
- [7] Ward N C, Watts G F, Eckel R H. Statin toxicity [J]. Circ Res, 2019, 124(2): 328-350.
- [8] Tamargo I A, Baek K I, Kim Y, et al. Flow-induced reprogramming of endothelial cells in atherosclerosis [J]. Nat Rev Cardiol, 2023, 20(11): 738-753.
- [9] Jing L, Shu-Xu D, Yong-Xin R. A review: Pathological and molecular biological study on atherosclerosis [J]. Clin Chim Acta, 2022, 531: 217-222.
- [10] Liu C, Wu J, Jia H Y, et al. Oncostatin M promotes the ox-LDL-induced activation of NLRP3 inflammasomes via the NF- κ B pathway in THP-1 macrophages and promotes the progression of atherosclerosis [J]. Ann Transl Med, 2022, 10(8): 456.
- [11] 梁玉琴, 付佳琪, 石云鹤, 等. 基于 16S rRNA 测序技术和代谢组学探讨黄芪赤风汤抗动脉粥样硬化的作用机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(13): 94-103.
- [12] Liang Y Q, Fu J Q, Shi Y H, et al. Mechanism of Huangqi Chifengtang in treating atherosclerosis based on 16S rRNA sequencing and metabolomics [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(13): 94-103.
- [12] 陈平平, 梁玉琴, 付佳琪, 等. 黄芪赤风汤对小鼠脑微血管内皮损伤细胞脂质及炎性因子损伤的影响和

- 非靶向代谢组学研究 [J]. 现代药物与临床, 2025, 40(1): 44-54.
- Chen P P, Liang Y Q, Fu J Q, et al. Effects of Huangqi Chifeng Tang on lipid and inflammatory factor damage in mouse brain microvascular endothelial injury cells and study on non-targeted metabolomics [J]. *Drugs Clin*, 2025, 40(1): 44-54.
- [13] 袁晋, 王秋月, 刘树民. 黄芪赤风汤指纹图谱建立及主要成分含量测定 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(1): 69-73.
- Yuan J, Wang Q Y, Liu S M. Establishment of fingerprint and determination of main components of Huangqi Chifeng Decoction (黄芪赤风汤) [J]. *J Liaoning Univ Tradit Chin Med*, 2024, 26(1): 69-73.
- [14] 刘秋月, 梁玉琴, 张弛, 等. 基于代谢组学方法探讨黄芪赤风汤对颈动脉粥样硬化大鼠肝脏脂质代谢的影响 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(5): 1091-1102.
- Liu Q Y, Liang Y Q, Zhang C, et al. Effect of Huangqi Chifeng Tang on liver lipid metabolism in carotid atherosclerosis rats based on metabolomics [J]. *Drug Res Eval*, 2025, 48(5): 1091-1102.
- [15] Zhang G, He C, Wu Q, et al. Impaired autophagy induced by oxLDL/beta2GPI/anti-beta2GPI complex through PI3K/Akt/mTOR and eNOS signaling pathways contributes to endothelial cell dysfunction [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 6662225.
- [16] Wouters K, Shiri-Sverdlov R, van Gorp P J, et al. Understanding hyperlipidemia and atherosclerosis: Lessons from genetically modified apoe and ldlr mice [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2005, 43(5): 470-479.
- [17] Botts S R, Fish J E, Howe K L. Dysfunctional vascular endothelium as a driver of atherosclerosis: Emerging insights into pathogenesis and treatment [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 787541.
- [18] 张匣, 邵欣欣, 刘青芝, 等. 泽泻-白术药对及其活性成分防治动脉粥样硬化研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(16): 5735-5746.
- Zhang X, Shao X X, Liu Q Z, et al. Research progress of *Alisma orientale*-*Atractylodes macrocephala* herb pair and its active ingredients in prevention and treatment of atherosclerosis [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2024, 55(16): 5735-5746.
- [19] Eckers A, Haendeler J. Endothelial cells in health and disease [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 22(14): 1209-1211.
- [20] Cao X Y, Wu Y L, Hong H L, et al. Sirtuin 3 dependent and independent effects of NAD⁺ to suppress vascular inflammation and improve endothelial function in mice [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(4): 706.
- [21] Nakashima Y, Raines E W, Plump A S, et al. Upregulation of VCAM-1 and ICAM-1 at atherosclerosis-prone sites on the endothelium in the ApoE-deficient mouse [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998, 18(5): 842-851.
- [22] Puddu A, Montecucco F, Maggi D. Caveolin-1 and atherosclerosis: Regulation of LDLs fate in endothelial cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(10): 8869.
- [23] Zhang X B, Ramírez C M, Aryal B, et al. Cav-1 (caveolin-1) deficiency increases autophagy in the endothelium and attenuates vascular inflammation and atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40(6): 1510-1522.
- [24] Kattoor A J, Kanuri S H, Mehta J L. Role of ox-LDL and LOX-1 in atherogenesis [J]. *Curr Med Chem*, 2019, 26(9): 1693-1700.
- [25] Abais J M, Xia M, Zhang Y, et al. Redox regulation of NLRP3 inflammasomes: ROS as trigger or effector?[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 22(13): 1111-1129.
- [26] Tanase D M, Valasciuc E, Gosav E M, et al. Portrayal of NLRP3 inflammasome in atherosclerosis: Current knowledge and therapeutic targets [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(9): 8162.
- [27] Christgen S, Place D E, Kanneganti T D. Toward targeting inflammasomes: Insights into their regulation and activation [J]. *Cell Res*, 2020, 30(4): 315-327.
- [28] Yu H B, Finlay B B. The caspase-1 inflammasome: A pilot of innate immune responses [J]. *Cell Host Microbe*, 2008, 4(3): 198-208.
- [29] Kelley N, Jeltema D, Duan Y H, et al. The NLRP3 inflammasome: An overview of mechanisms of activation and regulation [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(13): 3328.
- [30] Zhang Y, Qin W, Zhang L Y, et al. microRNA-26a prevents endothelial cell apoptosis by directly targeting TRPC6 in the setting of atherosclerosis [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 9401.
- [31] Li Q, Tan Y, Chen S N, et al. Irisin alleviates LPS-induced liver injury and inflammation through inhibition of NLRP3 inflammasome and NF- κ B signaling [J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2021, 41(3): 294-303.
- [32] Zhao W M, Ma L, Cai C, et al. Caffeine inhibits NLRP3 inflammasome activation by suppressing MAPK/NF- κ B and A2aR signaling in LPS-induced THP-1 macrophages

- [J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(8): 1571-1581.
- [33] Jiang C T, Jiang L P, Li Q N, et al. Acrolein induces NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis and suppresses migration via ROS-dependent autophagy in vascular endothelial cells [J]. *Toxicology*, 2018, 410: 26-40.
- [34] Corrêa R, Silva L F F, Ribeiro D J S, et al. Lysophosphatidylcholine induces NLRP3 inflammasome-mediated foam cell formation and pyroptosis in human monocytes and endothelial cells [J]. *Front Immunol*, 2020, 10: 2927.
- [35] Hang L W, Peng Y, Xiang R, et al. Ox-LDL causes endothelial cell injury through ASK1/NLRP3-mediated inflammasome activation via endoplasmic reticulum stress [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 731-744.
- [36] Li B W, Liu Y, Zhang L, et al. Cytotoxin-associated gene A (CagA) promotes aortic endothelial inflammation and accelerates atherosclerosis through the NLRP3/caspase-1/IL-1 β axis [J]. *FASEB J*, 2021, 35(11): e21942.
- [37] Fu J Q, Liu H Y, Liang Y Q, et al. Study on the mechanism of Huangqi Chifeng Decoction regulating ferroptosis inhibiting smooth muscle cells derived foam cell formation [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 344: 119507.

[责任编辑 兰新新]