

• 数据挖掘与循证医学 •

基于生物信息学探讨 SARS-CoV-2 介导免疫炎症反应诱发动脉粥样硬化进展的潜在机制与防治中药筛选

高晟玮¹, 薛亚然², 张 焱¹, 杨 继¹, 孙艳君¹, 张露丹¹, 贾福运¹, 王保和³, 谷旭放⁴, 黄宇虹^{4*}

1. 天津中医药大学, 天津 301617

2. 天津医科大学, 天津 300070

3. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300193

4. 天津中医药大学第二附属医院, 天津 300150

摘要: 目的 应用生物信息学技术, 从免疫炎症角度探索严重急性呼吸综合征冠状病毒-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus-2, SARS-CoV-2) 感染诱发动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 进展的核心靶点及重要通路, 进而预测潜在防治中药。方法 从基因表达数据库 (Gene Expression Omnibus, GEO) 中获取新型冠状病毒肺炎患者和动脉粥样硬化患者芯片数据, 利用 “limmar” 包及 “Venn” 包筛选 2 种疾病的共同差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs), 对共同 DEGs 进行基因本体论 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 分析, 注释其功能及重要通路。对 2 组基因集进行免疫细胞和免疫功能打分, 评估免疫细胞浸润水平。利用 STRING 数据库, 构建蛋白-蛋白互作 (protein-protein interaction, PPI) 网络; 通过 Cytoscape 的 CytoHubba 插件识别中枢 (hub) 基因, 引入另外 2 组数据集对 hub 基因进行外部验证得到核心基因, 并对核心基因分别进行免疫浸润分析及基因集富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA), 最后通过 Coremine Medical 数据库预测调控核心基因的潜在中药。结果 得到新型冠状病毒肺炎相关基因 7898 个, AS 进展相关基因 471 个; 共同 DEGs 51 个, 其中高表达基因 32 个, 低表达基因 19 个。GO 与 KEGG 分析结果显示, 共同 DEGs 主要定位在氯霉素-包膜内吞囊、血小板 α 颗粒、吞噬泡膜与小泡, 经由 Toll 样受体信号通路、中性粒细胞胞外陷阱形成、补体和凝血级联反应等信号通路, 参与髓样分化因子 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) 依赖性 Toll 样受体信号通路转导、白细胞介素-8 (interleukin-8, IL-8) 生成与正向调节、IL-6 生成与正向调节等生物途径, 发挥调节烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶活性、Toll 样受体结合、脂肽及糖胺聚糖结合等功能。免疫浸润分析结果展现了新型冠状病毒肺炎与 AS 免疫微环境状态。经筛选共获得 5 个 hub 基因, Toll 样受体 2 (Toll-like receptor 2, *TLR2*)、分化抗原簇 163 (cluster of differentiation 163, *CD163*) 及补体 C1q 亚组分亚单位 B (complement C1q subcomponent subunit B, *CIQB*) 基因通过了外部验证, 成为核心基因。核心基因在免疫浸润分析及 GSEA 富集分析中均显示出与免疫过程和炎症反应具有较强相关性。川芎、桃仁、当归、黄芩、蒲公英、太子参、黄精等 35 味中药可作为潜在防治药物。结论 *TLR2*、*CD163* 及 *CIQB* 是 SARS-CoV-2 介导免疫炎症反应促进 AS 进展的核心分子, 靶向预测的中药是延缓 SARS-CoV-2 感染后 AS 进展的潜在药物。

关键词: 严重急性呼吸综合征冠状病毒-2; 动脉粥样硬化; 免疫炎症反应; 生物信息学; 中药预测; 川芎; 桃仁; 当归; 黄芩

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)08-2523-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.08.020

Exploration of potential mechanism of SARS-CoV-2 induced immune inflammatory response leading to progression of atherosclerosis and prediction of traditional Chinese medicine for preventing and treating based on bioinformatics

GAO Sheng-wei¹, XUE Ya-ran², ZHANG Yao¹, YANG Ji¹, SUN Yan-jun¹, ZHANG Lu-dan¹, JIA Fu-yun¹, WANG Bao-he³, GU Xu-fang⁴, HUANG Yu-hong⁴

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

收稿日期: 2022-11-23

基金项目: 国家重点研发计划 “中医药现代化研究” (2021YFC1712900); 国家自然科学基金项目 (81873149); 国家 “重大新药创制” 科技重大专项资助项目 (2018ZX09734002)

作者简介: 高晟玮, 博士研究生, 主要从事心脑血管疾病中医药防治、中药临床药理研究及中药临床评价工作。E-mail: gaosw0826@sina.com

*通信作者: 黄宇虹, 研究员, 博士生导师, 主要从事临床药理与创新中药临床评价工作。E-mail: hyh101@126.com

2. Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China
3. The First Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China
4. The Second Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300150, China

Abstract: Objective To explore the core targets and important pathways of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) induced atherosclerosis (AS) progression from the perspective of immune inflammation, so as to predict the potential prevention and treatment of traditional Chinese medicine (TCM). **Methods** Microarray data were obtained from the Gene Expression Omnibus (GEO) database for coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients and AS patients, and the “limmar” and “Venn” packages were used to screen out the common differentially expressed genes (DEGs) genes in both diseases. The gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) analyses were performed on the common DEGs to annotate their functions and important pathways. The two gene sets were scored for immune cells and immune function to assess the level of immune cell infiltration. The protein-protein interaction (PPI) network was constructed by STRING database, and the CytoHubba plug-in of Cytoscape was used to identify the hub genes. Two external validation datasets were introduced to validate the hub genes and obtain the core genes. Immuno-infiltration analysis and gene set enrichment analysis (GSEA) were performed on the core genes respectively. Finally the potential TCM regulating the core genes were predicted by Coremine Medical database. **Results** A total of 7898 genes related to COVID-19, 471 genes related to AS progression; And 51 common DEGs, including 32 highly expressed genes and 19 low expressed genes were obtained. GO and KEGG analysis showed that common DEGs, which were mainly localized in cypermethrin-encapsulated vesicles, platelet alpha particles, phagocytic vesicle membranes and vesicles, were involved in many biological processes such as myeloid differentiation factor 88 (MyD88)-dependent Toll-like receptor signaling pathway transduction, interleukin-8 (IL-8) production and positive regulation, IL-6 production and positive regulation to play a role in regulating nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase activity, Toll-like receptor binding and lipopeptide and glycosaminoglycan binding through many biological pathways, including Toll-like receptor signaling pathways, neutrophil extracellular trap formation, complement and coagulation cascade reactions. The results of immune infiltration analysis demonstrated the state of immune microenvironment of COVID-19 and AS. A total of 5 hub genes were obtained after screening, among which Toll-like receptor 2 (*TLR2*), cluster of differentiation 163 (*CD163*) and complement C1q subcomponent subunit B (*CIQB*) genes passed external validation as core genes. The core genes showed strong correlation with immune process and inflammatory response in both immune infiltration analysis and GSEA enrichment analysis. A total of 35 TCMs, including Chuanxiong (*Chuanxiong Rhizoma*), Taoren (*Persicae Semen*), Danggui (*Angelicae Sinensis Radix*), Huangqin (*Scutellariae Radix*), Pugongying (*Taraxaci Herba*), Taizishen (*Pseudostellariae Radix*), Huangjing (*Polygonati Rhizoma*), could be used as potential therapeutic agents. **Conclusion** *TLR2*, *CD163* and *CIQB* were the core molecules of SARS-CoV-2-mediated immune inflammatory response promoting AS progression, and targeting predicted herbs were potential drugs to slow down AS progression in COVID-19 patients.

Key words: severe acute respiratory syndrome coronavirus-2; atherosclerosis; immune inflammatory reaction; bioinformatics; prediction of traditional Chinese medicine; *Chuanxiong Rhizoma*; *Persicae Semen*; *Angelicae Sinensis Radix*; *Scutellariae Radix*

新冠疫情是全球范围内的公共卫生事件，严重威胁世界经济的增长及人民生命健康。大量的研究表明严重急性呼吸综合征冠状病毒-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus-2, SARS-CoV-2) 引起的免疫炎症损伤，尤其是以高水平的外周细胞因子为特征的细胞因子风暴可能是导致新型冠状病毒肺炎（简称新冠肺炎）重症甚至死亡的罪魁祸首^[1]。这种免疫细胞和上皮细胞交互作用所产生的免疫炎症会引起血管稳态失衡而产生一系列血管系统及全身组织器官的病理表现^[2]。

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是心脑血管疾病发展的关键病理基础，对其机制的探索一直是心脑血管领域聚焦的热点。过去的几十年中，脂

质浸润学说一直占据核心地位，以“他汀”为代表的调脂治疗临床获益显著，然仍存在一定的心血管事件残余风险^[3]。随着研究深入，人们逐渐认识到免疫细胞和炎症因子能够启动内皮损伤后修复，诱导氧化应激与炎症反应，广泛参与 AS 进程，甚至引发斑块不稳定或破裂，使得免疫炎症反应逐渐成为关注的焦点。2017 年的 1 项 CANTOS 研究首次证实了 Canakinumab 靶向的单纯抗炎治疗可显著降低 AS 导致的心血管疾病患者临床终点事件发生风险，为“炎症假说”提供了极有力的循证医学证据^[4]。

大量证据证实 SARS-CoV-2 感染会引发或加重心血管疾病，研究发现植入药物洗脱支架的 SARS-CoV-2 感染患者支架内血栓形成数量远高于

预期^[5], 即便是在新冠肺炎康复 1 年后心血管不良事件发生风险仍增加 1.7 倍^[6]。AS 进展作为一种慢性炎症过程, 其特征就在于白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等细胞因子参与的免疫系统失调导致促炎模式的启动^[7], 这与 SARS-CoV-2 感染后机制高度吻合。血管内皮细胞表面丰富的血管紧张素转化酶 2 (angiotensin converting enzyme 2, ACE2) 受体, 能够允许 SARS-CoV-2 附着和渗透, 诱导炎症细胞、促炎介质积累, 同时介导凝血级联反应影响屏障完整性^[8]。高炎症反应导致的血栓性炎症反应将利于和加速 AS 进程, 诱发心血管事件。越来越多证据指向 SARS-CoV-2 感染是 AS 触发或进展的关键因素^[6,9-11]。然而, 目前对 SARS-CoV-2 感染患者 AS 进展的机制尚不明晰, 相应防治策略仍处空白。

本研究基于生物信息学技术, 着眼于 SARS-CoV-2 感染的疾病下游, 从免疫炎症角度探索 SARS-CoV-2 感染诱导 AS 进展的核心靶点及重要通路, 预测潜在防治中药, 并围绕中医药理论探讨药物作用机制, 以期对 SARS-CoV-2 感染的疾病发展机制探索与临床防治提供思路与借鉴。

1 资料与方法

1.1 数据获取和预处理

从基因表达数据库 (Gene Expression Omnibus, GEO) 中获取新冠肺炎患者 (GSE164805) 和动脉粥样硬化患者 (GSE28829) 芯片数据。其中 GSE164805 数据集包含 10 例新冠肺炎患者和 5 例健康受试者外周血样本; GSE28829 数据集包含 13 例早期动脉粥样硬化斑块 (early atherosclerotic plaque, EA) 和 16 例晚期动脉粥样硬化斑块 (advanced atherosclerotic plaque, AA) 组织样本。为了确保数据集的完整性和可比性, 使用 R 软件对以上 2 组芯片数据进行背景校正、标准化和 $\log_2$ 的转换。

1.2 差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs) 的筛选

利用 R 程序中 “limma” 包, 以 $|\log_2FC| \geq 0.5$ [FC 表示差异倍数 (fold change)] 且 $P < 0.05$ 为筛选条件进行 DEGs 分析。“pheatmap” 和 “ggplot2” 软件包分别用于可视化热图和火山图, 以显示重要 DEGs 的表达。以 Venn 图的形式展示 2 种疾病的共同 DEGs。

1.3 共同 DEGs 的功能富集分析

为了进一步探索上述 DEGs 的潜在功能, 用

clusterProfiler R 软件包对 DEGs 进行了基因本体论 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 分析 (筛选标准设定为 $P < 0.05$), 以探究共同 DEGs 的生物过程 (biological processes, BP)、细胞成分 (cell component, CC)、分子功能 (molecular function, MF) 及相关通路。

1.4 免疫浸润分析

对 2 组基因集进行免疫细胞和免疫功能打分, 进而评估与 “新冠肺炎” 和 “AS 进展” 相关的免疫细胞浸润水平, 使用软件包 “ggplot2” 绘制 boxplots 实现结果可视化。

1.5 核心基因的鉴定和验证

将共同的 DEGs 上传到 STRING 数据库 (置信度评分 ≥ 0.4), 构建蛋白-蛋白互作 (protein-protein interaction, PPI) 网络。利用 Cytoscape 软件对该网络进行优化, 并根据最大点击中心度值用 CytoHubba 插件识别中枢 (hub) 基因。引入另外 2 组数据集 GSE183071 (新冠肺炎患者外周血样本 41 例, 健康受试者外周血样本 13 例)、GSE43292 (EA 组织 32 例, AA 组织 32 例) 进一步检验这些基因的表达情况, 通过外部验证的 hub 基因 ($P < 0.05$, 且表达趋势相同) 被定义为核心基因。

1.6 核心基因的免疫浸润分析及富集分析

对核心基因分别进行免疫浸润分析及基因集富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA), 以量化这些基因在 AS 进展中的免疫浸润水平, 探究核心基因富集的显著表型。

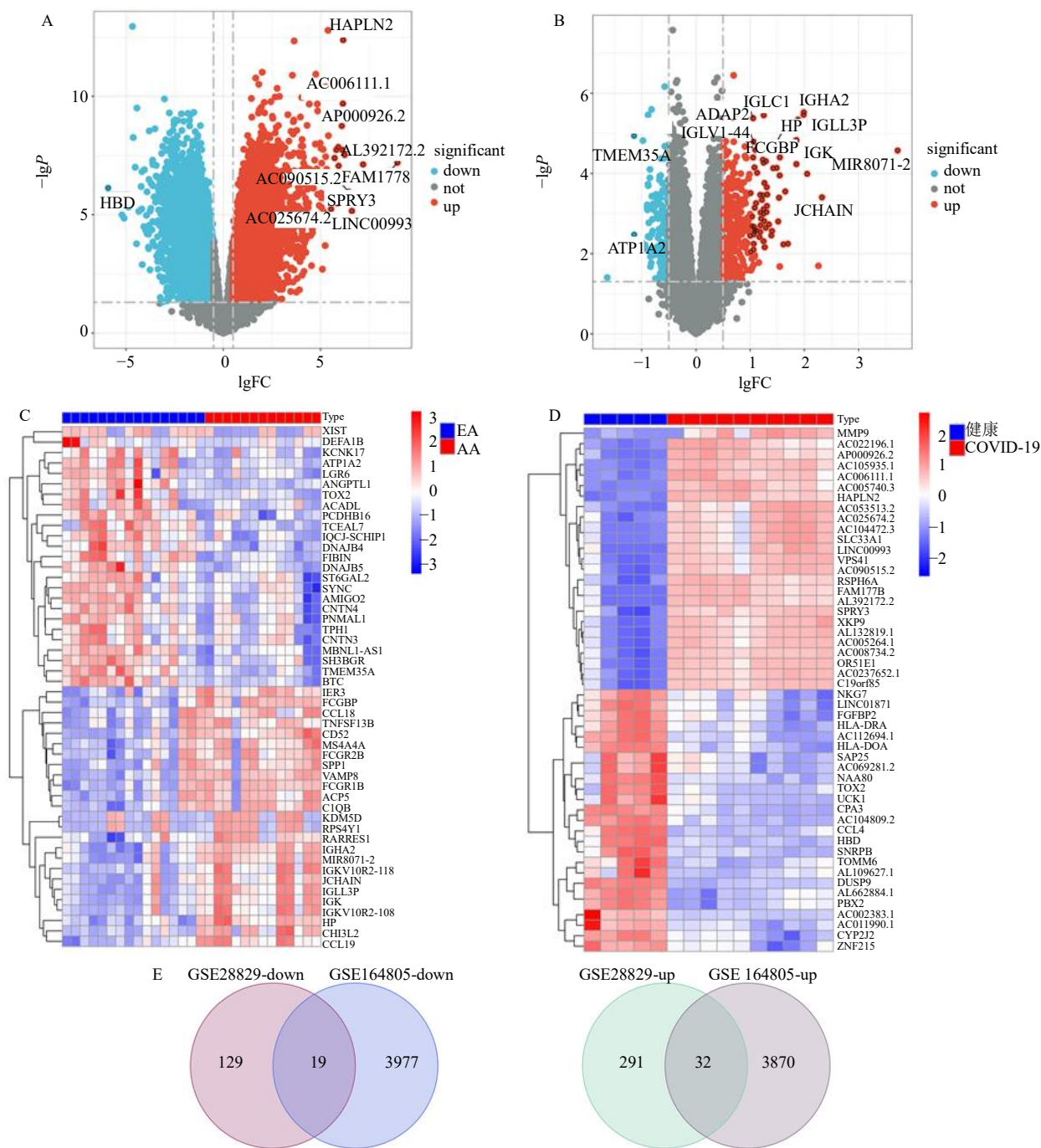
1.7 靶向中药的预测

基于 Coremine Medical 数据库预测调控核心基因的潜在中药, 将 $P < 0.05$ 拟定为筛选标准。

2 结果

2.1 DEGs 的筛选

差异分析结果显示, 与健康组相比, 新冠肺炎组具有 DEGs 7898 个, 其中上调基因 3902 个, 下调基因 3996 个, DEGs 火山图如图 1-A 所示, 上调和下调基因分别用红色和蓝色节点表示, 灰色节点为差异不显著基因。EA 与 AA 之间有 471 个 DEGs, 其中上调基因 323 个, 下调基因 148 个, 相关火山图见图 1-B。基因表达热图分别展示了差异最为显著上、下调基因各 25 个, 如图 1-C、D 所示。新冠肺炎与 AS 进展共同 DEGs 51 个, 共同高表达基因 32 个, 共同低表达基因 19 个, 如图 1-E 所示。



A-新冠肺炎相关 DEGs 火山图 B-AS 进展相关 DEGs 火山图 C-新冠肺炎相关 DEGs 热图 D-AS 进展相关 DEGs 热图 E-新冠肺炎与 AS 进展共同 DEGs

A-COVID-19 related DEGs volcano map B-AS progression related DEGs volcano map C-COVID-19 related DEGs heat map D-AS progression DEGs heat map E-common DEGs of COVID-19 and AS progression

图 1 DEGs 的筛选

Fig. 1 Screening of DEGs

2.2 GO 及 KEGG 富集分析

通过富集分析发现共同 DEGs 与免疫炎症反应具有紧密关联, GO 分析结果如图 2-A 所示, 其 BP

主要涉及髓样分化因子 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) 依赖性 Toll 样受体信号通路转导、白细胞介素-8 (interleukin-8, IL-8) 生成与正

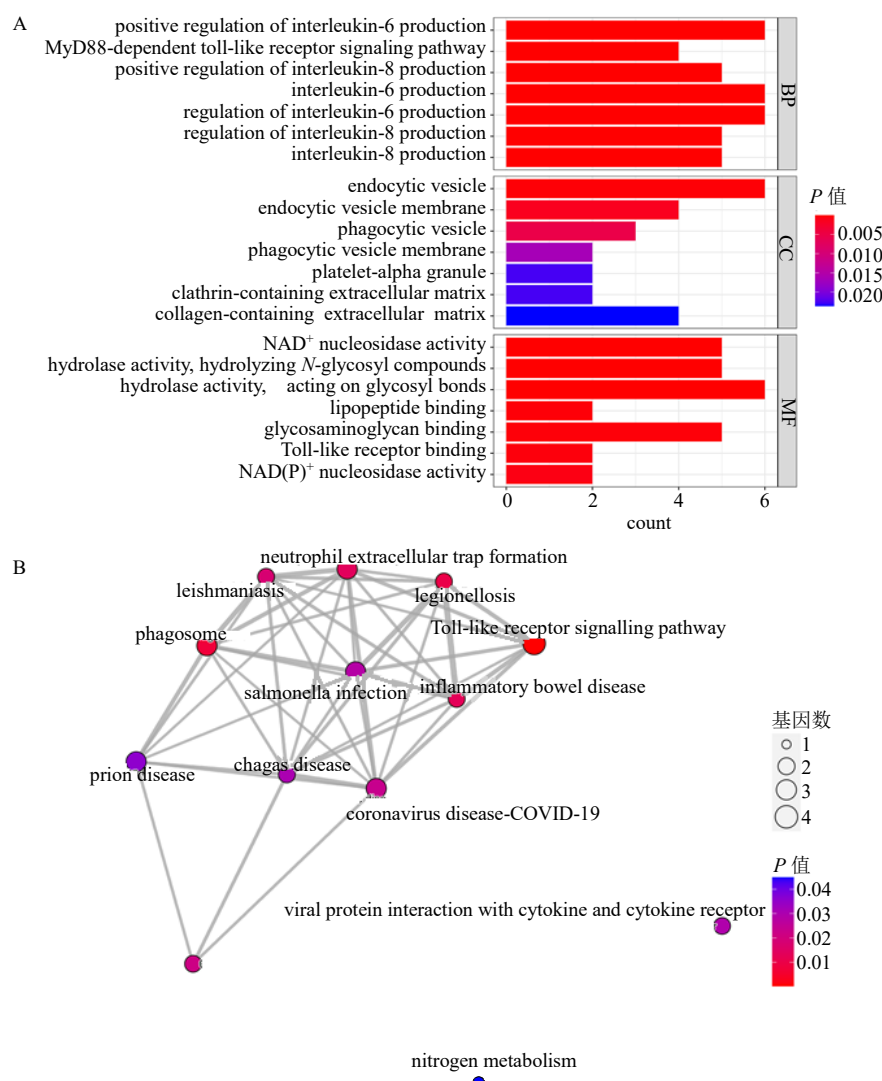


图 2 GO (A) 及 KEGG (B) 富集分析
Fig. 2 GO (A) and KEGG (B) enrichment analysis

向调节、IL-6 生成与正向调节等；CC 主要定位在氯霉素酯-包膜内吞囊、血小板 α 颗粒、吞噬泡膜与小泡等；主要发挥调节烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶活性、Toll 样受体结合、脂肽及糖胺聚糖结合等 MF。KEGG 分析主要富集到 Toll 样受体信号通路、中性粒细胞胞外陷阱形成、病毒蛋白与细胞因子和细胞因子受体的相互作用、新冠肺炎、补体和凝血级联反应等信号通路，如图 2-B 所示。

2.3 免疫浸润分析

如图 3-A 所示，新冠肺炎组外周血中树突状细胞、辅助性 T 细胞、巨噬细胞数量增加，而肥大细胞、自然杀伤细胞、浆细胞样树突状细胞、辅助性 T 淋巴细胞 1 (T helper cell 1, Th1)、Th2 等免疫细胞的含量低于健康组。免疫功能分析显示，新冠肺

炎相关基因与主要组织相容性复合体、副炎症、I 型干扰素反应呈正相关，而抗原呈递细胞共同刺激、免疫检查点、细胞溶解活性等功能下降，见图 3-B。AS 方面，与 EA 相比除未成熟树突状细胞、肥大细胞、自然杀伤细胞、Th2 外，其他先天性和适应性免疫细胞在 AA 阶段均表现出更高的浸润水平，如图 3-C 所示。同时，AA 阶段 13 个免疫功能均呈现显著上调，见图 3-D。

2.4 核心基因的筛选和验证

将 51 个 DEGs 上传到 STRING 数据库，构建 PPI 网络，以度 (degree) 值为依据定义节点大小及颜色，将最大点击中心度值前 5 的基因 [Toll 样受体 2 (Toll-like receptor 2, *TLR2*)、Toll 样受体 8 (Toll-like receptor 8, *TLR8*)、分化抗原簇 163 (cluster of

differentiation 163, *CD163*)、C1q 亚组分亚单位 B (complement C1q subcomponent subunit B, *CIQB*)、同种异体移植炎症因子 1 (allograft inflammatory factor 1, *AIF1*) 定义为 hub 基因, 以上 5 个基因均为上调基因, 如图 4 所示。验证集 GSE183071 中 (该芯片数据集无 *AIF1* 基因) 除 *TLR8* 基因 2 组无统计学差异外, 新冠肺炎组 *TLR2*、*CD163* 及 *CIQB*

基因均显著上调; 验证集 GSE43292 中, 所有 hub 基因在 AA 组均显著上调。因此, 将 *TLR2*、*CD163* 及 *CIQB* 基因确立为核心基因, 核心基因在的表达结果如图 5-A (GSE183071) 和 5-B (GSE43292) 所示。

2.5 核心基因的免疫浸润分析及 GSEA 富集分析

进一步分析每个核心基因的免疫浸润情况及相

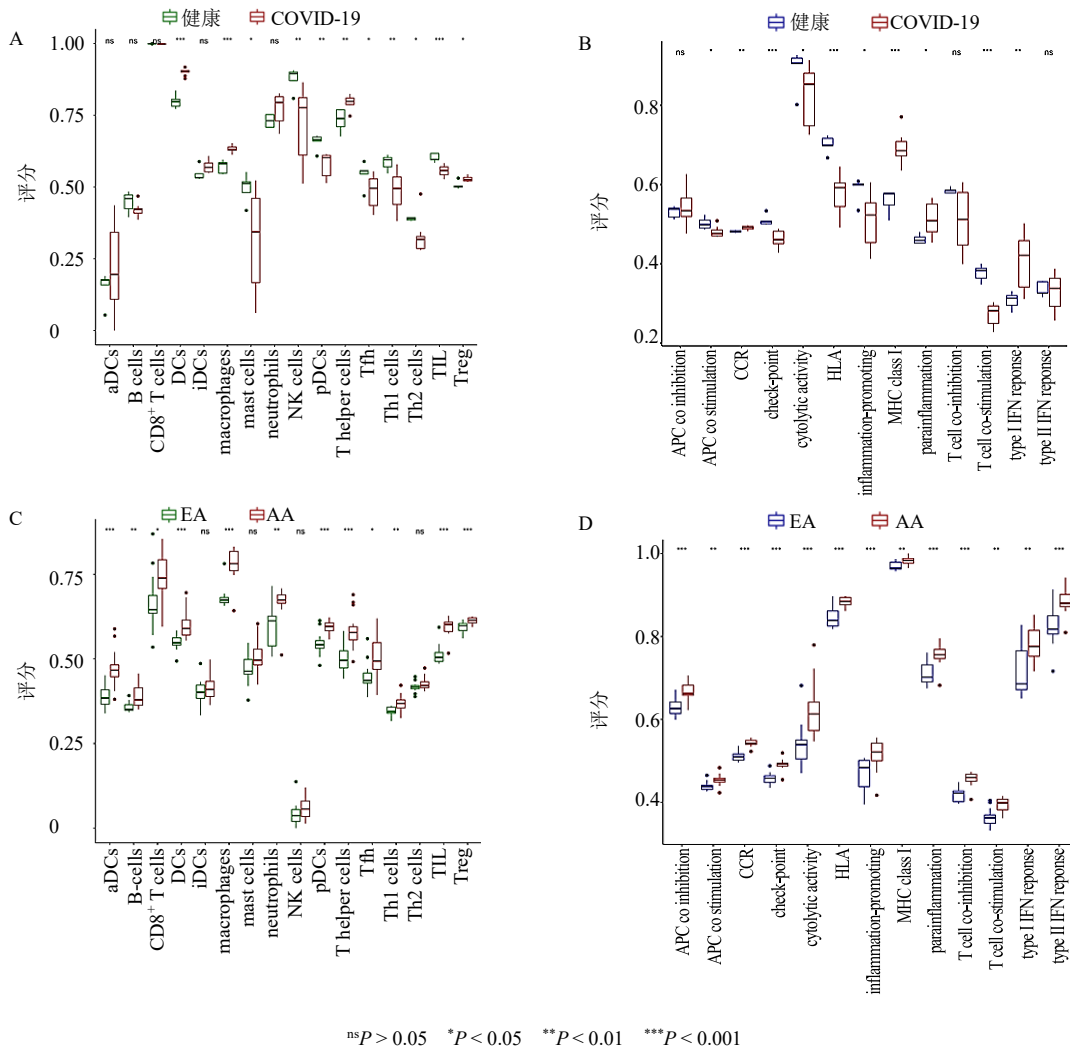


图 3 免疫浸润分析

Fig. 3 Immune infiltration analysis

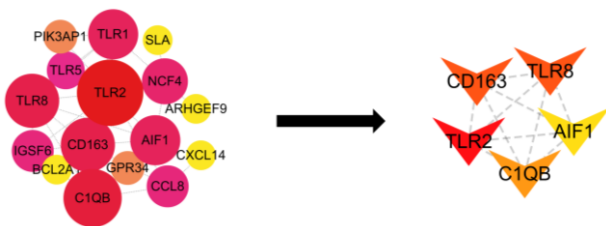


图 4 PPI 网络与 hub 基因

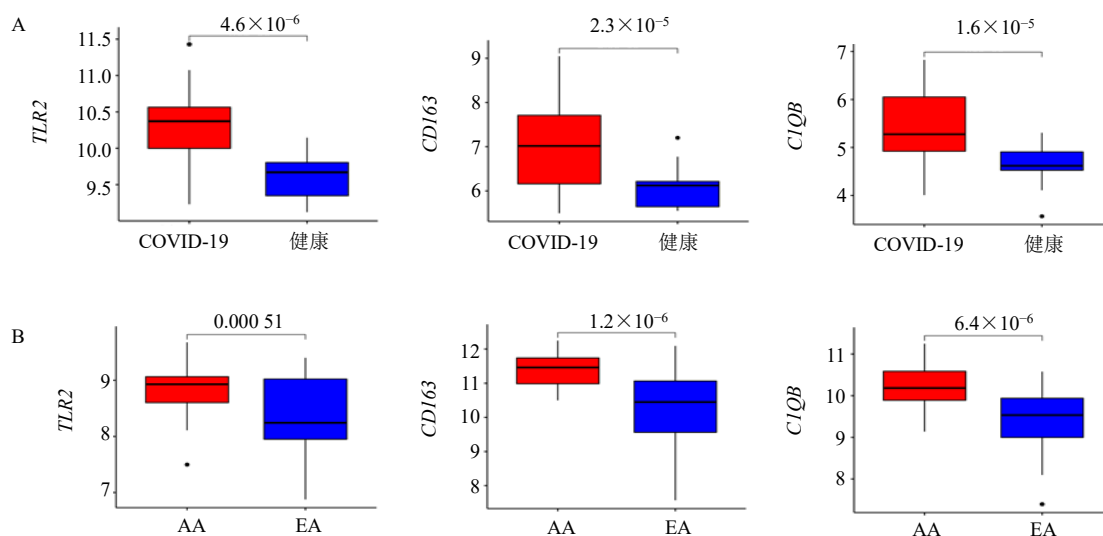
Fig. 4 PPI network and hub genes

关表型, 免疫浸润结果表明 3 个核心基因均通过激活多种免疫细胞及功能的方式参与 AS 进展, 其中 *TLR2* 的高表达主要与趋化因子受体、巨噬细胞、人类白细胞抗原、辅助性 T 细胞、调节性 T 细胞等丰度增加有关; *CD163* 的上调伴随着中心粒细胞、T 细胞共抑制受体, 调节性 T 细胞、肿瘤浸润淋巴细胞含量的增加; *CIQB* 的上调与人类白细胞抗原、巨噬细胞、中心粒细胞、浆细胞样树突状细胞、T 细胞共

抑制受体、辅助性 T 细胞、调节性 T 细胞等细胞的浸润及 II 型干扰素反应、细胞溶解活性、免疫检查点、副炎症等功能和表型上调相关，具体见图 6。

GSEA 富集结果显示，TLR2 主要与免疫炎症及感染相关，包括同种异体移植排斥反应、类风湿性

关节炎、金黄色葡萄球菌感染等，见图 7-A；CD163 与细胞铁死亡、金黄色葡萄球菌感染、系统性红斑狼疮高度关联，见图 7-B；CIQB 则主要参与胆固醇代谢、类固醇生物合成、维生素消化吸收等生物过程，见图 7-C。



A-数据集 GSE183071 B-数据集 GSE43292

A-data set GSE183071 B-data set GSE43292

图 5 核心基因的验证

Fig. 5 Verification of core genes

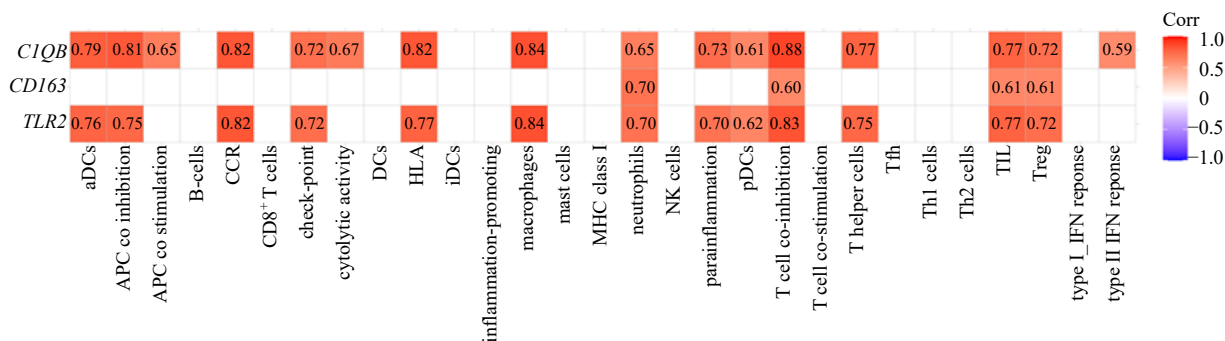


图 6 核心基因的免疫浸润分析

Fig. 6 Immune infiltration analysis of core genes

2.6 靶向中药预测

对 Coremine Medical 数据库预测结果进行梳理归纳，核心基因靶向的中药主要可以分为 5 类，包括以川芎、桃仁、当归、红花、三棱、川牛膝为代表的活血化瘀药；以钩藤、蒲公英、水牛角、黄芩、云芝、半枝莲为代表的清热解毒药；以小叶海藻、昆布、泽泻、前胡为代表的化痰泄浊药；以太子参、黄精、生地黄为代表的益气养阴药；以藁本、防风、

刺五加皮为代表的祛风除湿药，具体基因与药物对应关系见图 8。

3 讨论

3.1 免疫炎症反应是 SARS-CoV-2 诱导 AS 进展的重要机制

GO 与 KEGG 富集分析显示新冠肺炎和 AS 共同 DEGs 主要通过 Toll 样受体、病毒蛋白与细胞因子和细胞因子受体的相互作用、补体和凝血级联反

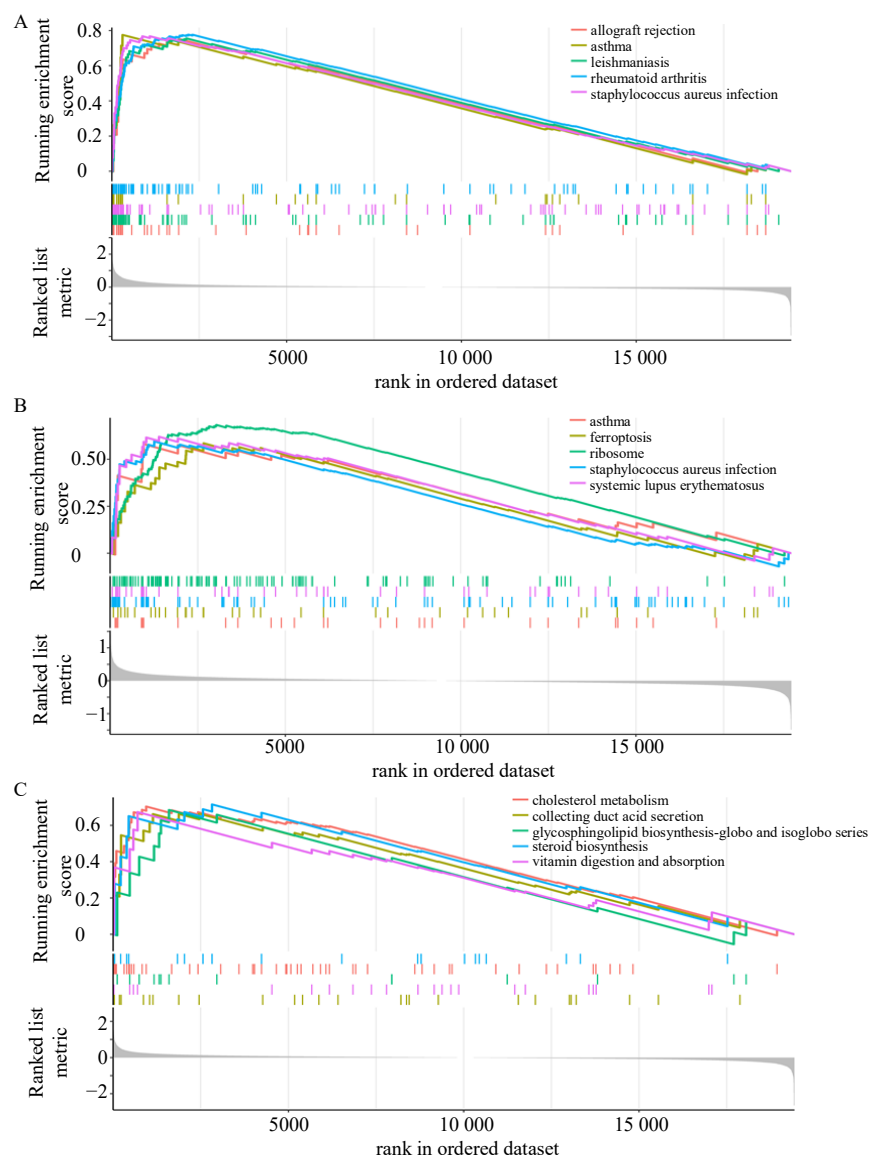


图 7 核心基因的 GSEA 富集分析

Fig. 7 GSEA enrichment analysis of core genes

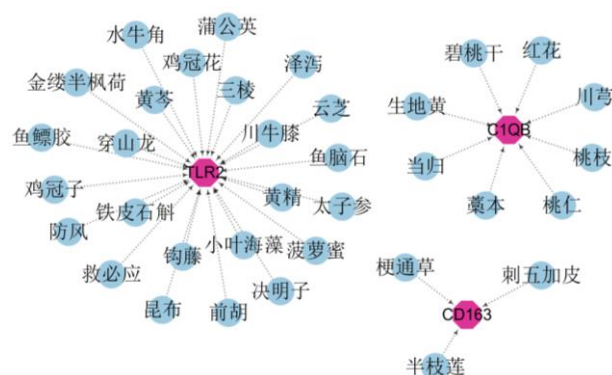


图 8 靶向预测的中药

Fig. 8 Traditional Chinese medicine with targeted prediction

应等信号通路, 参与 MyD88 依赖性 Toll 样受体信号通路转导、IL-8 生成与正向调节、IL-6 生成与正向调节等生物过程, 发挥调节烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶活性、Toll 样受体结合、脂肽及糖胺聚糖结合等功能。Toll 样受体信号通路有通过 MyD88 或 β 干扰素 TIR 结构域衔接蛋白 (TIR-domain containing adaptor inducing interferon- β , TRIF) 介导下游信号的 2 种转导方式, 新冠肺炎和 AS 主要通过 MyD88 依赖性 Toll 样受体通路激活下游核因子- κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 介导免疫失衡与促炎信号级联。活化的 NF- κ B 能够诱导趋化因子、促炎介质、生长因子 (IL-6、IL-8 等) 激增, 放

大炎症反应,破坏免疫稳态,诱导炎症风暴或 AS 进展^[12-13]。补体和凝血级联反应是一组与由炎症反应、免疫应答和血栓形成状态相关的生物学过程。哥伦比亚大学研究人员将其与新冠肺炎严重程度和易感性联系起来,这项纳入 11 116 名受试者的研究显示,SARS-CoV-2 感染会诱导补体和凝血级联的强效激活,过度活跃的补体和凝血状态会进一步增加不良结局的风险^[14]。而补体和凝血系统稳态失衡对 AS 的影响同样是显而易见的,这种影响多反映在补体 3a (complement 3a, C3a)、补体 5a (complement 5a, C5a)、膜攻击复合物 (membrane attack complex, MAC) 等补体激活的产物对炎症因子的释放与招募、凝血因子积累及血小板通过炎性介质与内皮细胞的相互作用^[15]。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶的过度活性能够促进炎症小体活性,启动氧化应激介导端粒缩短,诱导内皮功能障碍与血管重构^[16-18],这可能是新冠肺炎和 AS 进展的共同机制。

免疫浸润分析结果展示了新冠肺炎与 AS 的免疫微环境状态,在被 SARS-CoV-2 感染后患者出现明显的免疫应答紊乱,作为机体免疫应答的第 1 道防线,巨噬细胞迅速活化并分泌大量趋化因子和炎性介质;同时伴随着外周血中经典突状细胞激增及浆细胞样树突状细胞锐减,这种失衡状态会诱发炎性介质失控性释放;辅助性 T 细胞则通过释放 γ 干扰素、 α 干扰素及 IL-2 发挥抗病毒免疫效用,然而新冠肺炎重症患者常表现出 Th17 等辅助细胞极化,而 Th1、Th2 细胞活化抑制现象,这种适应性免疫应答紊乱可能往往伴随着不良预后与多系统并发症的产生^[19-21]。参与 AS 进展的免疫细胞则更为丰富,无论是单核细胞、巨噬细胞、中心粒细胞等先天性免疫细胞,还是 Th1 细胞、Th2 细胞为代表的适应性免疫细胞均高度聚集在炎症斑块附近,参与 AS 进程。

3.2 TLR2、CD163 及 C1QB 是 SARS-CoV-2 诱导 AS 进展的核心分子

经过筛选与验证,TLR2、CD163 和 C1QB 被最终确立为核心基因,以上核心基因在新冠肺炎和 AS 进展中均呈现稳定而显著高表达状态,对其功能与相关表型的深入探索有助于对疾病发展的理解及药物干预的把握。

Toll 样受体是最具特征的先天免疫受体,也是连接非特异性免疫和特异性免疫的桥梁,其能够募集 MYD88 和 TRIF 相关接头分子 (TRIF-related

adaptor molecule, TRAM) 等接头分子介导丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 和 NF- κ B 通路的激活,引发促炎细胞因子释放、脂质摄取和泡沫细胞形成,与冠状动脉疾病在内的炎症性疾病紧密关联^[22]。作为 TLRs 家族成员之一的 TLR2 分子在新冠肺炎和 AS 疾病进程中均起着关键作用。研究表明,SARS-CoV-2 刺突蛋白依赖 TLR2 激活 NF- κ B 信号通路诱导炎症介质在先天免疫细胞和上皮细胞中表达,引发过度炎症和细胞因子风暴^[23]。同时,TLR2 也被证明高度参与 AS 进程中的炎症发生、基质降解、动脉重塑以及斑块不稳定和破裂等病变过程^[24]。动物实验发现,阻断 TLR2 和趋化因子受体 (C-X-C motif chemokine receptor 4, CXCR4) 间的分子串扰能够显著抑制血管平滑肌细胞迁移,进而延缓甚至几乎逆转了肺炎衣原体感染诱导的 AS 发生^[25]。本研究的免疫浸润结果显示,TLR2 的高表达与大量免疫细胞浸润相关,其中以巨噬细胞为代表的先天免疫细胞尤为显著,其能释放多种炎性因子、趋化因子及活性氧 (reactive oxygen species, ROS),加速斑块扩张与失稳^[26]。而人类白细胞抗原、辅助性 T 细胞、调节性 T 细胞等适应性免疫相关细胞同样与 TLR2 表达量呈正向相关,趋化因子受体则大量附着于这些免疫细胞表面,诱导其迁移和聚集,参与斑块形成、进展甚至破裂的全过程^[27]。GSEA 富集分析提示,TLR2 分子同样参与同种异体移植排斥反应、类风湿性关节炎、金黄色葡萄球菌感染等过程,这可能与其病原体识别和免疫激活的功能有关。

CD163 是一种由巨噬细胞谱系表达的膜受体,常作为炎症标志物。研究发现,SARS-CoV-2 感染患者的血清 CD163 水平显著上调,可以此来表征炎症状态^[28]。AS 同样会伴随着 CD163 水平增加,这种增加之前被认为是一种保护因素^[29]。然而,2 项研究颠覆了这一观点,研究发现 1 种非脂质驱动机制,证实了 CD163/缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)/血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGFA) 信号通路的上调促进斑块血管生成,诱发炎症反应和斑块活动,并建议使用 CD163 拮抗剂以抑制斑块内新生血管形成及斑块进展^[30-31]。本研究的免疫浸润结果显示,CD163 表达的上调伴随着中心粒细胞与淋巴细胞相关细胞的浸润,包括中心粒细胞、T 细胞共抑制受体、调节性 T 细胞、肿瘤浸润淋巴细胞。

中性粒细胞是哺乳动物固有免疫中最丰富的粒细胞类型,作为机体抵御病原体的第 1 道防线,具有强大且高效迁移和吞噬功能,然而其在 AS 中的效用未得到充分关注。事实上,中心粒细胞能够通过损伤血管内皮功能^[32]、加速泡沫细胞浸润^[33]、促进炎症反应^[34]、参与斑块内坏死核形成^[35]、诱导纤维帽变薄^[36]、激活血小板^[37]等方式高度参与 AS 形成、进展、斑块破裂甚至继发血栓形成的全过程。而调节性 T 细胞和 T 细胞共抑制受体是调节体内自身免疫平衡的 T 细胞亚群,其数量与功能的失衡与 AS 进展紧密关联^[38]。此外,1 项纳入了 6 万多例患者的最新研究显示,中性粒细胞与淋巴细胞比值(neutrophil-lymphocyte ratio, NLR)是一种重要的炎症生物标志物,可独立预测 AS 和心血管事件风险及全因死亡率^[39]。GSEA 分析富集到了金黄色葡萄球菌感染与系统性红斑狼疮,这也支持了 CD163 与免疫和炎症性疾病的紧密关联。此外, GSEA 分析显示 CD163 还与细胞铁死亡相关,这种铁依赖性细胞程序性死亡常伴随着脂质过氧化与 ROS 升高^[40],以及 IL-1 β 、IL-18 等炎症细胞因子高表达^[41],这可能是其推动 AS 进展的潜在机制。

C1QB 是编码补体 C1q 中 B 链的基因^[42], C1q 补体因子大量沉积在新冠肺炎重症患者体内,且过度的补体激活与更高的死亡风险密切相关^[43],这与 SARS-CoV-2 病理生理学特征的高炎症环境一致。作为炎症补体级联反应的识别成分和诱发因子^[44], C1q 广泛参与 AS 的进展,特别是在急性冠脉综合征患者罪犯斑块中表达量显著增加。同时, C1q 的表达量与血清低密度脂蛋白(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)水平及住院时间长关联^[45]。免疫浸润分析结果同样指出 C1QB 的免疫炎症相关的特性,大量的先天免疫和适应性细胞伴随该分子的表达而显著聚集。GSEA 分析显示, C1QB 同样参与胆固醇代谢、类固醇生物合成、维生素消化吸收等生物过程,提示该分子还可能通过脂质代谢、内分泌调节等方面影响 AS 进程。

3.3 靶向预测的中药是防治 SARS-CoV-2 感染 AS 进展的潜在药物

AS 属中医“脉痹”的范畴,是脉道功能失司的一种病理变化,属本虚标实之病。“瘀”是 AS 公认的核心证候要素,其与凝血与纤溶系统失衡、血小板过度活化、炎症反应增强及脂质代谢紊乱紧密关联^[46]。“毒”可表现为炎性介质与代谢物质过度堆

积、钙离子超载和氧化应激损伤,陈可冀院士提出“瘀毒致变”,认为毒瘀搏结、壅塞脉道是导致 AS 进展的关键^[47]。此外,与胆固醇逆向转运、游离脂肪酸堆积、泡沫细胞聚集相关的“痰浊”亦是 AS 的致病关键^[48],血瘀津停,痰浊从生,胶结脉管,以致脉络癥积。浊、瘀、毒等病理产物集结脉道,生热化火,加速病程进展。现代研究发现内含大量免疫细胞与炎性介质的斑块表面温度高于正常组织^[49],为从“热”立论 AS 提供佐证。硬化的斑块虽为有形的实邪,然而其本在虚。《灵枢·百病始生》有言:“是故虚邪之中人也……留着于脉,稽留而不去,息而成积”,故而虚证特别是气虚和阴虚是 AS 这类慢性炎症疾病的始动因素与病程缠绵的重要基础。综上,AS 不离虚实两端,虚以气虚、阴虚为主;实则主要责之痰、热、毒、瘀。而基于本研究所获得的免疫炎症相关核心基因靶向预测的中药功效与上述理论不谋而合。

基于核心基因预测到的活血化瘀类药主要包括川芎、红花、桃仁、当归、三棱、川牛膝等,其中川芎内酯能够对抗单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)、细胞间黏附分子-1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)、血小板-内皮细胞黏附分子-1(platelet endothelial cell adhesion molecule-1, PECAM-1)等分子,抑制炎症通路 NF- κ B 的过度激活,延缓 AS 进展^[50];红花提取物红花黄色素可有效降低 AS 大鼠 IL-6、IL-8、TNF- α 等促炎因子水平,减轻氧化应激反应,清除氧自由基^[51];经典名方桃仁红花煎对抗 AS 的机制主要与减少 T 细胞含量、抑制促炎因子表达及调节血脂水平有关^[52];当归多糖对 Toll 样受体有确切的抑制作用^[53],因而能有效减少 AS 进展中的炎细胞因子释放、脂质摄取及泡沫细胞形成;三棱含药血清对内皮细胞氧化损伤和炎症有良好的保护作用,同时还可以有效对抗凝血级联反应^[54]。预测到的清热解毒类药物同样能够通过降低炎症反应,平衡机体免疫环境防治 AS 进展,黄芩活性成分黄芩苷可抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路激活,降低 TNF- α 水平,在上游对抗炎症级联反应,修复免疫失衡^[55];体外实验发现,云芝多糖 B 可抑制泡沫细胞生成,维持巨噬细胞功能和形态^[56];半枝莲总黄酮能够有效提升 Apo E 基因缺陷小鼠维生素 E 水平,改善血液流变学指标,抑制法尼酯衍生物 X 受体及 LDL 过氧化,发挥抗 AS 的作用^[57];而小剂量的蒲公英

总黄酮则可通过提升超氧化物歧化酶、过氧化氢酶及谷胱甘肽过氧化物酶等抗氧化酶的含量对大鼠 AS 起到预防作用^[58]。

化痰泄浊药主要包括小叶海藻、昆布、泽泻、前胡等，其中海藻酸能通过平衡脂质水平，改善内皮细胞功能，减少氧化应激的损伤发挥抗 AS 作用^[59]；昆布多糖的抗炎作用则通过降低诱导型一氧化氮合酶（inducible nitric oxide synthase, iNOS）和 IL-6 水平和促进 IL-10 的表达来实现^[60]；而由泽泻和白术组成的泽泻汤同样可抑制 iNOS 和 IL-6 表达，此外还能够通过降低 IL-1 β 与 TNF- α 含量阻碍巨噬细胞泡沫化，减轻局部炎症反应^[61]。

太子参、黄精、生地黄是本研究预测的益气养阴类药物的代表，太子参醇/水萃取物具有较好的 DNA 保护效应，同时能够显著降低脂氧合酶活性，促进炎症损伤修复^[62]；李友元等^[63]研究证实黄精的活性成分黄精多糖展现出良好的调血脂、对抗 AS 的作用，推测其机制可能与抑制炎症因子分泌、清除氧自由基和免疫调节有关；地黄苷 D 能够平衡促炎因子与抑炎因子比例，改善细胞形态^[64]。

此外，本研究预测的以藁本、防风、刺五加皮为代表的祛风除湿类药物与王显教授提出的 AS“络风内动”理论相契合^[65]。其中，藁本能够经由调控脂质代谢、降低炎症反应、调节血液流变学等多途径对抗 AS 进展^[66]；防风抗 AS 炎症反应主要通过升麻苷和 5-O-甲基维斯阿米醇苷实现的，这 2 种活性成分能够减少氧化低密度脂蛋白（oxidized low density protein, ox-LDL）对血管内皮细胞刺激引发的炎性物质释放，同时降低内皮细胞黏附性及平滑肌细胞过度增殖^[67]；刺五加醋酸乙酯则能通过重塑肠道菌群结构、抗氧化应激、修复肠黏膜屏障、降低炎症刺激发挥抗 AS 作用^[68]。当前从“风”论治 AS 应用较少，本研究结果有望为中医药防治 AS 提供启发和借鉴。

随着 SARS-CoV-2 病毒的不断变异，其致死率和致死率在逐渐下降，而 SARS-CoV-2 感染带来的呼吸系统以外的影响却逐渐显露，除了对 SARS-CoV-2 感染本身的防控和治疗外，相应的合并症、并发症、后遗症同样值得关注和思考。本研究着眼于 SARS-CoV-2 感染的疾病下游，从免疫炎症角度探讨 SARS-CoV-2 感染诱导 AS 进展的相关机制。同时，鉴于化学药的单一靶向药物对多系统复杂疾病应对乏力，新药研发繁琐、缓慢的现状，兼顾个

体逻辑与全局思维的中医药有望提供更为优质的解决方案^[69]，而基于生物信息学^[70]预测的候选中药将在中医辨证基础上强化对于核心基因的靶向干预作用，进一步提升临床疗效。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Song P P, Li W, Xie J Q, *et al.* Cytokine storm induced by SARS-CoV-2 [J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 509: 280-287.
- [2] Huang C L, Wang Y M, Li X W, *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 497-506.
- [3] Mora S, Wenger N K, Demicco D A, *et al.* Determinants of residual risk in secondary prevention patients treated with high- versus low-dose statin therapy: The treating to new targets (TNT) study [J]. *Circulation*, 2012, 125(16): 1979-1987.
- [4] Ridker P M, Everett B M, Thuren T, *et al.* Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(12): 1119-1131.
- [5] Samidurai A, Das A. Cardiovascular complications associated with COVID-19 and potential therapeutic strategies [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(18): 6790.
- [6] Xie Y, Xu E, Bowe B, *et al.* Long-term cardiovascular outcomes of COVID-19 [J]. *Nat Med*, 2022, 28(3): 583-590.
- [7] Libby P, Hansson G K. From focal lipid storage to systemic inflammation: JACC review topic of the week [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 74(12): 1594-1607.
- [8] Dalrymple N A, Mackow E R. Virus interactions with endothelial cell receptors: Implications for viral pathogenesis [J]. *Curr Opin Virol*, 2014, 7: 134-140.
- [9] Liu Y, Zhang H G. Vigilance on new-onset atherosclerosis following SARS-CoV-2 infection [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2021, 7: 629413.
- [10] Vinciguerra M, Romiti S, Sangiorgi G M, *et al.* SARS-CoV-2 and atherosclerosis: Should COVID-19 be recognized as a new predisposing cardiovascular risk factor? [J]. *J Cardiovasc Dev Dis*, 2021, 8(10): 130.
- [11] Ogeng'o J, Karau P B, Misiani M, *et al.* Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) set to increase burden of atherosclerotic cardiovascular disease in Kenya [J]. *Pan Afr Med J*, 2020, 35(Suppl 2): 120.
- [12] Manik M, Singh R K. Role of toll-like receptors in modulation of cytokine storm signaling in SARS-CoV-2-induced COVID-19 [J]. *J Med Virol*, 2022, 94(3): 869-877.
- [13] Falck-Hansen M, Kassiteridi C, Monaco C. Toll-like receptors in atherosclerosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(7): 14008-14023.
- [14] Ramlall V, Thangaraj P M, Meydan C, *et al.* Immune complement and coagulation dysfunction in adverse

- outcomes of SARS-CoV-2 infection [J]. *Nat Med*, 2020, 26(10): 1609-1615.
- [15] Patzelt J, Verschoor A, Langer H F. Platelets and the complement cascade in atherosclerosis [J]. *Front Physiol*, 2015, 6: 49.
- [16] Pejenaute Á, Cortés A, Marqués J, *et al*. NADPH oxidase overactivity underlies telomere shortening in human atherosclerosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(4): 1434.
- [17] Poznyak A V, Grechko A V, Orekhova V A, *et al*. NADPH oxidases and their role in atherosclerosis [J]. *Biomedicines*, 2020, 8(7): 206.
- [18] Taylor J P, Tse H M. The role of NADPH oxidases in infectious and inflammatory diseases [J]. *Redox Biol*, 2021, 48: 102159.
- [19] Liu T, Feng M, Wen Z X, *et al*. Comparison of the characteristics of cytokine storm and immune response induced by SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2 infections [J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 5475-5487.
- [20] Rébillard R M, Charabati M, Grasmuck C, *et al*. Identification of SARS-CoV-2-specific immune alterations in acutely ill patients [J]. *J Clin Invest*, 2021, 131(8): e145853.
- [21] Alamri A, Fisk D, Upreti D, *et al*. A missing link: Engagements of dendritic cells in the pathogenesis of SARS-CoV-2 infections [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(3): 1118.
- [22] Cole J E, Georgiou E, Monaco C. The expression and functions of toll-like receptors in atherosclerosis [J]. *Mediators Inflamm*, 2010, 2010: 393946.
- [23] Khan S, Shafiei M S, Longoria C, *et al*. SARS-CoV-2 spike protein induces inflammation via TLR2-dependent activation of the NF- κ B pathway [J]. *Elife*, 2021, 10: e68563.
- [24] Malgor R, Bhatt P M, Connolly B A, *et al*. Wnt5a, TLR2 and TLR4 are elevated in advanced human atherosclerotic lesions [J]. *Inflamm Res*, 2014, 63(4): 277-285.
- [25] Miao G L, Zhao X, Wang B B, *et al*. TLR2/CXCR4 coassociation facilitates *Chlamydia pneumoniae* infection-induced atherosclerosis [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2020, 318(6): H1420-H1435.
- [26] Parks B W, Lusis A J. Macrophage accumulation in atherosclerosis [J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(24): 2352-2353.
- [27] Liu Y J, Woodard P K. Chemokine receptors: Key for molecular imaging of inflammation in atherosclerosis [J]. *J Nucl Cardiol*, 2019, 26(4): 1179-1181.
- [28] Mostafa G A, Ibrahim H M, Al Sayed Shehab A, *et al*. Up-regulated serum levels of soluble CD25 and soluble CD163 in pediatric patients with SARS-CoV-2 [J]. *Eur J Pediatr*, 2022, 181(6): 2299-2309.
- [29] Boyle J J, Johns M, Kampfer T, *et al*. Activating transcription factor 1 directs Mhem atheroprotective macrophages through coordinated iron handling and foam cell protection [J]. *Circ Res*, 2012, 110(1): 20-33.
- [30] Guo L, Akahori H, Harari E, *et al*. CD163+ macrophages promote angiogenesis and vascular permeability accompanied by inflammation in atherosclerosis [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(3): 1106-1124.
- [31] Pourcet B, Staels B. Alternative macrophages in atherosclerosis: Not always protective! [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(3): 910-912.
- [32] Chistiakov D A, Bobryshev Y V, Orekhov A N. Neutrophil's weapons in atherosclerosis [J]. *Exp Mol Pathol*, 2015, 99(3): 663-671.
- [33] Quinn K L, Henriques M, Tabuchi A, *et al*. Human neutrophil peptides mediate endothelial-monocyte interaction, foam cell formation, and platelet activation [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(9): 2070-2079.
- [34] Borregaard N, Sørensen O E, Theilgaard-Mönch K. Neutrophil Granules: A library of innate immunity proteins [J]. *Trends Immunol*, 2007, 28(8): 340-345.
- [35] Driscoll W S, Vaisar T, Tang J J, *et al*. Macrophage ADAM17 deficiency augments CD36-dependent apoptotic cell uptake and the linked anti-inflammatory phenotype [J]. *Circ Res*, 2013, 113(1): 52-61.
- [36] Li X F, de Boer O J, Ploegmaker H, *et al*. Granulocytes in coronary thrombus evolution after myocardial infarction: Time-dependent changes in expression of matrix metalloproteinases [J]. *Cardiovasc Pathol*, 2016, 25(1): 40-46.
- [37] Gremmel T, Durstberger M, Eichelberger B, *et al*. Human neutrophil α -defensins are associated with adenosine diphosphate-inducible neutrophil-platelet aggregate formation and response to clopidogrel in patients with atherosclerosis [J]. *Transl Res*, 2014, 164(3): 202-208.
- [38] Potekhina A V, Pylaeva E, Provatorov S, *et al*. Treg/Th17 balance in stable CAD patients with different stages of coronary atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis*, 2015, 238(1): 17-21.
- [39] Adamstein N H, MacFadyen J G, Rose L M, *et al*. The neutrophil-lymphocyte ratio and incident atherosclerotic events: Analyses from five contemporary randomized trials [J]. *Eur Heart J*, 2021, 42(9): 896-903.
- [40] Bosseboeuf E, Raimondi C. Signalling, metabolic pathways and iron homeostasis in endothelial cells in health, atherosclerosis and Alzheimer's disease [J]. *Cells*, 2020, 9(9): 2055.
- [41] Su G M, Yang W, Wang S J, *et al*. SIRT1-autophagy axis inhibits excess iron-induced ferroptosis of foam cells and subsequently increases IL-1B and IL-18 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 561: 33-39.
- [42] Lu J H, Teh B K, Wang L D, *et al*. The classical and regulatory functions of C1q in immunity and autoimmunity [J]. *Cell Mol Immunol*, 2008, 5(1): 9-21.

- [43] Zhao Y, Nie H X, Hu K, *et al.* Abnormal immunity of non-survivors with COVID-19: Predictors for mortality [J]. *Infect Dis Poverty*, 2020, 9(1): 108.
- [44] Suzanne S, Bohlson, Tenner A J. Complement proteins C1q and MBL are pattern recognition molecules that signal immediate and long-term protective immune functions [J]. *Mol Immunol*, 2007, 44(1/2/3): 33-43.
- [45] Sasaki S, Nishihira K, Yamashita A, *et al.* Involvement of enhanced expression of classical complement C1q in atherosclerosis progression and plaque instability: C1q as an indicator of clinical outcome [J]. *PLoS One*, 2022, 17(1): e0262413.
- [46] 尹章杰, 王侠, 徐丹苹. 基于“肠道菌群-代谢-免疫”轴从瘀毒论治冠心病 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(13): 2175-2178.
- [47] 刘龙涛, 陈可冀, 付长庚, 等. 从“因瘀致毒”谈冠心病的病因病机 [J]. 中国中西医结合杂志, 2015, 35(11): 1378-1380.
- [48] 刘继东, 张哲, 贾连群, 等. 从现代生物学角度探讨动脉粥样硬化“痰浊-痰结-痰瘀”病机演变规律 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(2): 109-112.
- [49] Madjid M, Willerson J T, Casscells S W. Intracoronary thermography for detection of high-risk vulnerable plaques [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 47(8 Suppl): C80-C85.
- [50] Xiao Y, Wang Y C, Li L L, *et al.* Lactones from *Ligusticum chuanxiong* Hort. reduces atherosclerotic lesions in apoE-deficient mice via inhibiting over expression of NF- κ B-dependent adhesion molecules [J]. *Fitoterapia*, 2014, 95: 240-246.
- [51] 刘淑玲, 蔡海荣, 陈燕虹, 等. 红花黄色素对动脉粥样硬化大鼠内皮功能、炎症反应、氧化应激的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(18): 4585-4588.
- [52] 王怡茹, 张一凡, 韦婧, 等. 桃仁红花煎通过抑制淋巴管增生改善 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化的炎症反应 [J]. 暨南大学学报: 自然科学与医学版, 2021, 42(1): 62-70.
- [53] 闫安, 谢云亮. 当归多糖对脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织氧化应激水平及炎症因子表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(2): 123-127.
- [54] 时海燕, 孙蓉, 徐男. 三棱含药血清对脂多糖诱导人脐静脉内皮细胞损伤的保护作用研究 [J]. 中草药, 2022, 53(7): 2064-2070.
- [55] 李岩, 李明, 李建婷, 等. 黄芩苷对脂多糖诱导的巨噬细胞 Toll 样受体 4 表达的影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2009, 17(12): 985-988.
- [56] 娄宁, 汪道峰, 方翼, 等. 云芝多糖 B 对巨噬细胞膜硫酸软骨素-蛋白聚糖结合氧化修饰低密度脂蛋白的影响 [J]. 中国药理学通报, 2009, 25(9): 1181-1184.
- [57] 祝娉婷, 孙云, 刘兆国, 等. 半枝莲总黄酮对 ApoE 基因缺陷小鼠动脉粥样硬化及磷脂转运蛋白表达的影响 [J]. 中国药理学通报, 2015, 31(6): 833-838.
- [58] 王水英, 丁伟, 乔华, 等. 蒲公英总黄酮对大鼠动脉粥样硬化的预防作用 [J]. 中国药物与临床, 2019, 19(23): 4021-4023.
- [59] 赵东生, 应辰骏, 赵文元. 海藻酸抗动脉粥样硬化实验研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2011, 18(10): 32-34.
- [60] 王英娟, 李迎侠, 苏乐. 昆布多糖对新生小鼠病毒性心肌炎的影响 [J]. 中医学报, 2021, 36(6): 1278-1284.
- [61] 吴嘉翔, 常晓燕, 李壮壮, 等. 泽泻汤降脂及抗炎作用分子机制研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(2): 224-232.
- [62] 庞海月, 黄立森, 吴黄坦, 等. 太子参萃取物抗应激损伤所致炎症反应机制研究 [J]. 药物分析杂志, 2017, 37(9): 1675-1679.
- [63] 李友元, 邓洪波, 向大雄, 等. 黄精多糖的降血脂及抗动脉粥样硬化作用 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2005, 13(4): 429-431.
- [64] 王慧慧, 卢仁睿, 张莉, 等. 地黄中地黄苷 D 通过调控小胶质细胞 M1/M2 极化抑制神经炎症 [J]. 中药材, 2021, 44(11): 2683-2687.
- [65] 王显. 有关冠心病诊疗及研究的思考: 动脉粥样硬化“络风内动”假说与实践 [J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(3): 310-312.
- [66] 张昭华, 庞敏, 刘晶, 等. 辽藁本抗动脉粥样硬化的实验研究 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(3): 78-80.
- [67] 曹莹. 防风有效成份抗动脉粥样硬化炎症反应的实验研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2007.
- [68] 贾艾玲, 张宇航, 刁元元, 等. 刺五加乙酸乙酯部位对 ApoE^{-/-}动脉粥样硬化小鼠肠道菌群的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(5): 108-115.
- [69] 郭琴, 王颖, 王欢欢, 等. 基于方证对应探讨中药复方分期治疗新型冠状病毒肺炎的网络药理学机制 [J]. 中草药, 2021, 52(5): 1393-1401.
- [70] 张道平, 刘起立, 姚昆鹏, 等. 基于生物信息学分析肝癌差异基因及潜在的中药干预 [J]. 中草药, 2022, 53(3): 788-798.

[责任编辑 潘明佳]