

茯苓杏仁甘草汤调控 HO-1/SIRT1 通路抑制巨噬细胞慢性炎症的作用机制

商亚云¹, 孙恩扬¹, 吴 鸿^{1,2*}

(1. 河南中医药大学第二临床医学院, 河南 郑州 450053;

2. 河南中医药大学, 河南 郑州 450053)

【摘要】目的 利用 RAW264.7 巨噬细胞炎症模型, 进一步探讨茯苓杏仁甘草汤干预动脉粥样硬化慢性炎症的作用机制。方法 LPS 构建 RAW264.7 细胞炎症模型, ELISA 检测 RAW264.7 细胞中炎症因子 MCP-1、IL-6、TNF- α 表达水平; Western blot 检测 RAW264.7 细胞中 HO-1、SIRT1 的表达水平; qRT-PCR 检测 RAW264.7 细胞中炎症因子 HO-1、MCP-1、IL-6、TNF- α mRNA 表达水平。结果 与空白组比较, 模型组 RAW264.7 细胞中 MCP-1、TNF- α 、IL-6 表达升高 ($P < 0.01$); 模型组 RAW264.7 细胞 SIRT1 蛋白表达降低 ($P < 0.01$), HO-1 表达升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 茯苓杏仁甘草汤组和瑞舒伐他汀钙组 RAW264.7 细胞中 MCP-1、TNF- α 、IL-6 的表达降低 ($P < 0.01$), HO-1、SIRT1 表达升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, HO-1 抑制剂(锌原卟啉)组 HO-1 表达降低, SIRT1 水平降低 ($P < 0.05$), MCP-1、TNF- α 、IL-6 表达升高 ($P < 0.05$); 与 HO-1 抑制剂组比较, Znpp + 茯苓杏仁甘草汤组 HO-1 水平升高, SIRT1 水平升高 ($P < 0.05$), MCP-1、TNF- α 、IL-6 蛋白表达水平降低 ($P < 0.05$)。结论 茯苓杏仁甘草汤调控 HO-1/SIRT1 通路抑制动脉粥样硬化慢性炎症, 为临床应用茯苓杏仁甘草汤治疗巨噬细胞炎症相关心血管疾病提供了实验依据。

【关键词】 茯苓杏仁甘草汤; HO-1/SIRT1; 巨噬细胞; 慢性炎症

DOI 标识: doi:10.3969/j.issn.1008-0805.2024.13.05

【中图分类号】R285.5 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1008-0805(2024)13-2932-07

血管中持续的慢性炎症反应为动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 的重要病理状态, 因此抑制 AS 炎症反应一直是 AS 研究的重点。巨噬细胞为 AS 斑块中最丰富的免疫细胞^[1], 炎症环境下或脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 等刺激下巨噬细胞的迁移、活化、浸润和增殖引发的炎症反应也是 AS 斑块形成主要因素^[2]。HO-1 为催化血红素分解代谢起始酶和限速酶, 在生理状态下基本不表达, 在炎症条件下高表达, 发挥抗炎和抗氧化作用。临床研究表明 HO-1 水平可能与动脉粥样硬化水平有关^[3], SIRT1 为炎症过程的调节器, 提高 SIRT1 的表达能抑制炎症反应, 缺乏 HO-1 巨噬细胞中, SIRT1 的表达降低, MCP-1 等炎症因子的表达增强^[4]。课题组前期研究表明茯苓杏仁甘草汤抑制血清中炎症因子的产生, 抑制 ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化斑块的形成^[5]。为了进一步揭示茯苓杏仁甘草汤抑制动脉粥样硬化慢性炎症的作用机制研究, 本研究通过构建单核巨噬细胞炎症模型, 揭示茯苓杏仁甘草汤抑制巨噬细胞炎症的作用机制, 为临床应用茯苓杏仁甘草汤抗 AS 提供更多的实验依据。

1 材料与仪器

1.1 实验细胞

小鼠单核巨噬细胞白血病细胞 (RAW264.7), 购自中国科学院昆明细胞库 (KCB) 批号: KCB200603YJ。

1.2 实验药物

茯苓杏仁甘草汤由四川新绿药科技发展有限公司所产配方颗粒剂配置, 每剂 (成人每天用量) 含茯苓 45 g, 杏仁 15 g, 甘草 15 g。批号为: 茯苓 (NO.21060127), 杏仁 (NO.21060027), 甘草 (NO.21060124)。使用时取一剂配方颗粒剂, 加 PBS 20 mL 溶解, 混匀后置 60℃ 水浴 10 min 使其充分溶解。10000 r/min 离心 5 min, 0.22 μ m 滤膜过滤除菌, -20℃ 备用。

1.3 主要试剂及设备

主要试剂: 内毒素 (lipopolysaccharide, LPS) (美国 Sigma-Aldrich 公司, 批号: L2880); 瑞舒伐他汀钙 (上海源叶生物科技有限公司, 批号: A2907E23856); 锌 (II) 原卟啉 IX (Zinc Protoporphyrin (Zn (II) - protoporphyrin IX), Znpp) (美国 Selleck 生物科技有限公司, 批号: S7880); RAW264.7 巨噬细胞专用培养基 (武汉普诺赛

收稿日期: 2024-03-09; 修订日期: 2024-09-26

基金项目: 国家自然科学基金 (81673800); 河南省科技研发计划联合基金 (222301420088)

作者简介: 商亚云 (1997-), 女 (汉族), 河南驻马店人, 河南中医药大学硕士研究生, 主要从事中医药防治心血管疾病的研究工作。

*通讯作者简介: 吴 鸿 (1974-), 男 (汉族), 河南信阳人, 河南中医药大学第二临床医学院教授, 博士研究生导师, 博士学位, 主要从事中医药防治心血管疾病的研究工作。

生命科技有限公司,批号:CM-0190)小鼠 TNF- α ELISA 试剂盒、小鼠 IL-6 ELISA 试剂盒、小鼠 MCP-1 ELISA 试剂盒(杭州联科生物技术公司,批号分别为:EK282/4-96、EK206/3-96、EK206/2-96);Cell Counting Kit-8 (CCK-8) (Abbkine 生物技术公司,批号:KTA1020);RNA 提取试剂盒(上海生工生物公司,批号:B518651);qRT-PCR 引物(上海生工生物公司合成);反转录试剂(北京宝日医生物技术公司,批号:RR047A);qRT-PCR 试剂(北京宝日医生物技术公司,批号:RR420A);BCA 蛋白定量试剂盒(上海碧云天生物技术公司,批号:P0010);RI-PA 裂解液(武汉博士德生物公司,批号:AR0102);磷酸酶抑制剂(武汉博士德生物公司,批号:AR1183);ECL 发光液(美国赛默飞公司,批号:34580);抗 HO-1 抗体(武汉三鹰生物公司,批号:10701-1-AP);抗 SIRT1 抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司,批号:7475T);抗 β -actin 抗体、酶标羊抗鼠二抗、酶标羊抗兔二抗(美国 Abbkine 公司,批号分别为:A01010、A21010、A21020)。主要仪器:生物安全柜、二氧化碳培养箱、酶标仪、qRT-PCR 仪(美国赛默飞公司,型号分别为:1384-A2、3111、MULTISKANFC、7500Fast);SDS-PAGE 凝胶系统、蛋白湿转仪、Western blot 成像系统(美国伯乐公司,型号分别为:Mimi-PRO-TEAN、Trans-BlotSD、型号 ChemiDocXRS+)。

2 方法

2.1 细胞培养

复苏 RAW 264.7 细胞,接种于 RAW 264.7 巨噬细胞专用培养基的 10 cm³ 培养皿,于 37℃、5% CO₂ 培养箱培养。新鲜培养基轻轻吹打使细胞脱落,收集细胞悬液,进行传代操作,选取生长良好的 3~8 代细胞进行后续实验。

2.2 筛选茯苓杏仁甘草汤最适给药浓度

RAW 264.7 巨噬细胞以 1.0×10^4 个/孔接种于 96 孔板,37℃、5% CO₂ 培养箱中孵育 12 h,分别以质量浓度 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6 mg/mL 加入茯苓杏仁甘草汤,继续培养 24 h。每孔加入 CCK-8 反应液 10 μ L,震荡混匀,37℃避光孵育 4 h,酶标仪 450 nm 测定吸光度值,筛选茯苓杏仁甘草汤质量浓度。然后参考文献^[5]方法,加入 100 ng/mL LPS 诱导 12 h,CCK-8 法检测细胞存活率,确定茯苓杏仁甘草汤最适干预浓度。

2.3 细胞分组

将生长状态良好的细胞按 1×10^5 个/mL 接种于 12 孔细胞板,贴壁生长 12 h 后基于茯苓杏仁甘草汤最适质量浓度进行分组。分为以下组:空白组(CTL)、模型组(MDL)、茯苓杏仁甘草汤组(FXG)、瑞舒伐他汀组(RST)、HO-1 抑制剂组

(Znpp)、茯苓杏仁甘草汤 + Znpp 组(Znpp + FXG);Znpp 组先加入 10 μ mol/L 培养 24 h,瑞舒伐他汀组造模后加入 5 μ mol/mL 瑞舒伐他汀钙培养 4 h。其他组加药同前。

2.4 检测指标

2.4.1 ELISA 检测炎症因子 MCP-1、IL-6、TNF- α 的表达

收集各组细胞培养上清,抽取 100 μ L 细胞培养上清,按说明书加入试剂,检测细胞炎症水平。

2.4.2 Western blot 检测细胞 HO-1、SIRT1 蛋白表达水平

收集细胞,加入 RI-PA 裂解液与磷酸酶抑制剂后震荡 5 min,BCA 法测定蛋白浓度。SDS-PAGE 凝胶电泳。5% 脱脂奶室温封闭 2 h。一抗抗体稀释液 37℃孵育 1.5 h,二抗孵育 1 h,凝胶成像系统成像,ImageJ 分析条带灰度值。

2.4.3 qRT-PCR 检测细胞 HO-1、MCP-1、IL-6、TNF- α mRNA 表达水平

参照 RNA 提取试剂盒方法提取总 RNA,按照逆转录试剂盒操作说明进行逆转录。反应体系为 TB GreenTM Premix Ex TaqTM II 10 μ L,上下游引物各 0.8 μ L,反应体系为 TB GreenTM Premix Ex TaqTM II 10 μ L,上下游引物各 0.8 μ L,反应条件:95℃预变性 30 s,95℃变性 5 s,60℃退火 30 s,扩增 40 个循环。引物序列见表 1。

表 1 引物序列表

Primer	Sequences(5' - 3')
Mouse - IL-6	F: ATGCCAGGAAGACAGCATTC R: TCATCGAAGCCGTCATGAG
Mouse - TNF- α	F: TGCCACCTTTTCACACTGATGA R: TGTGCTGCTGCCGAGATTGA
Mouse - MCP-1	F: CTCAGCCAGATGCCAGTTA R: GCTTCAGATTTACGGGTC
Mouse - HO-1	F: CGAAATCATCCCTTGCACGC R: TGTTTGAACTTGGTGGGGCT
Mouse - β -Actin	F: AGAAGCTGTGCTATGTTGCTCTA R: AAGGCTGGAAGAGCCTCAG

2.5 统计学方法

采用 IBM SPSS 24.0 统计软件进行数据统计分析作图。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据分析多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

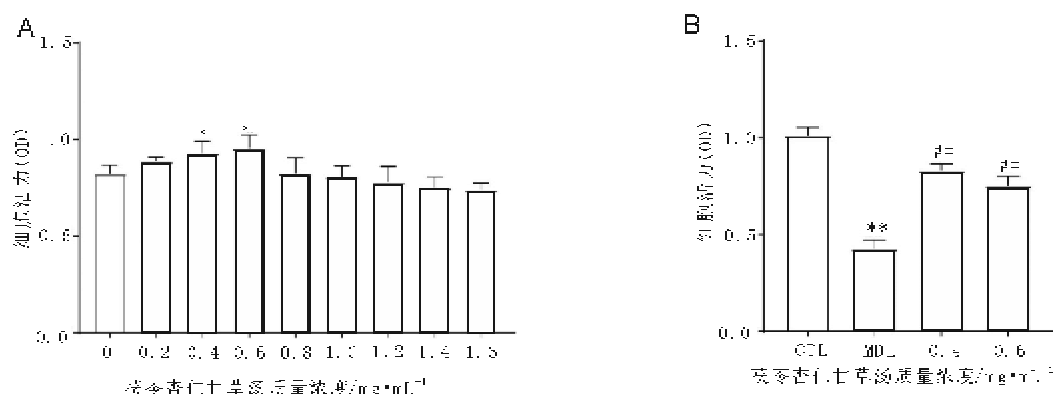
3 结果

3.1 茯苓杏仁甘草汤最适质量浓度

使用不同浓度的茯苓杏仁甘草汤干预 RAW264.7 细胞,与空白对照组比较,0.4 mg/mL、0.6 mg/mL 的

茯苓杏仁甘草汤细胞活力高($P < 0.05$),见图 1A。与空白组对照比较,模型组细胞活性显著下降($P < 0.01$);与模型组比较,茯苓杏仁甘草汤加入后 0.4mg/

mL 组干预后提高细胞活性($P < 0.01$),见图 1B。综合以上实验结果考虑,后续实验将采用 0.4 mg/mL 的茯苓杏仁甘草汤干预 RAW264.7 细胞。



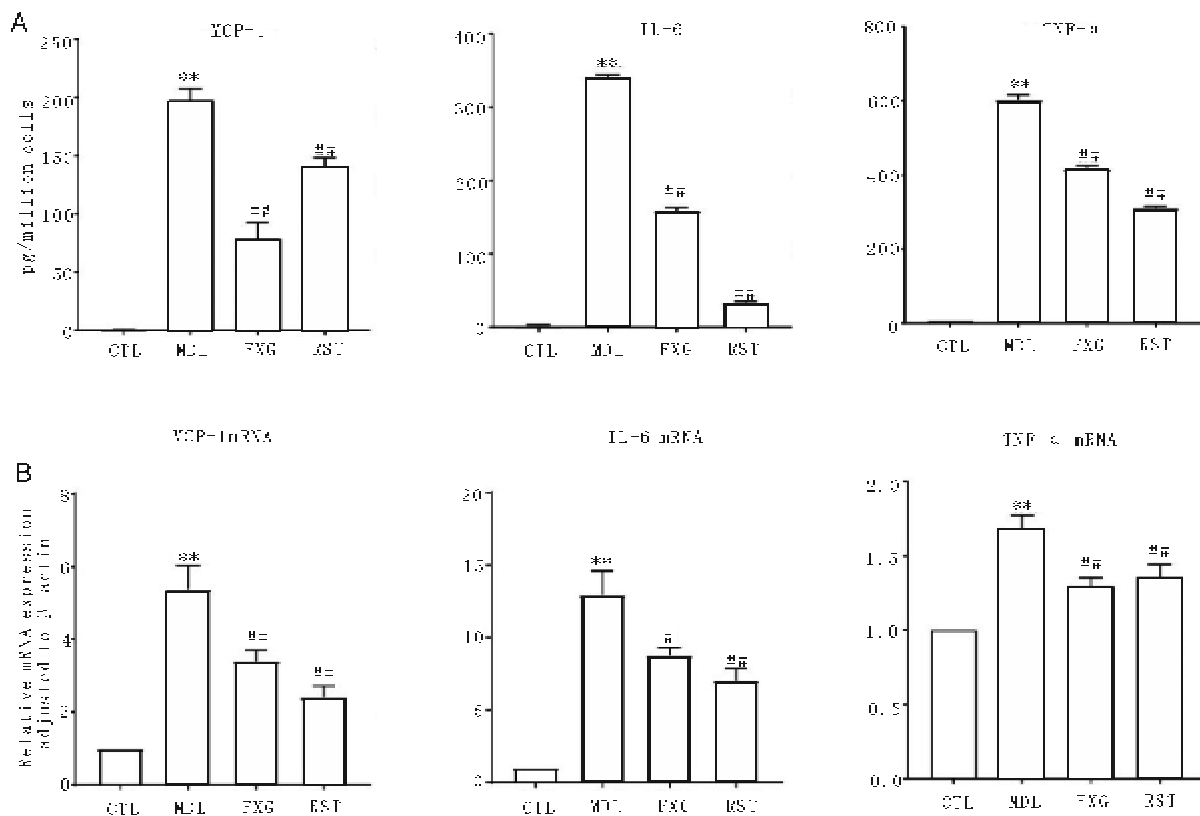
A. 不同浓度茯苓杏仁甘草汤对细胞活力的影响 B. 各实验组对细胞活力影响的比较
与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.01$

图 1 茯苓杏仁甘草汤干预 RAW264.7 细胞浓度

3.2 茯苓杏仁甘草汤抑制 RAW264.7 细胞炎症反应

利用 LPS 诱导 RAW264.7 巨噬细胞构建巨噬细胞炎症模型,发现与空白组比较,模型组 MCP-1、IL-6、TNF- α 蛋白表达升高($P < 0.01$);与模型组比较,茯苓杏仁甘草汤组和瑞舒伐他汀组 MCP-1、IL-6、TNF- α 蛋白表达降低($P < 0.01$),见图 2A。同时与空白

组比较,模型组 MCP-1、IL-6、TNF- α mRNA 表达水平升高($P < 0.01$);与模型组比较,茯苓杏仁甘草汤组 MCP-1、IL-6、TNF- α mRNA 表达水平降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),见图 2B。表明茯苓杏仁甘草汤可以降低 RAW264.7 细胞中炎症因子 MCP-1、IL-6、TNF- α 表达水平。



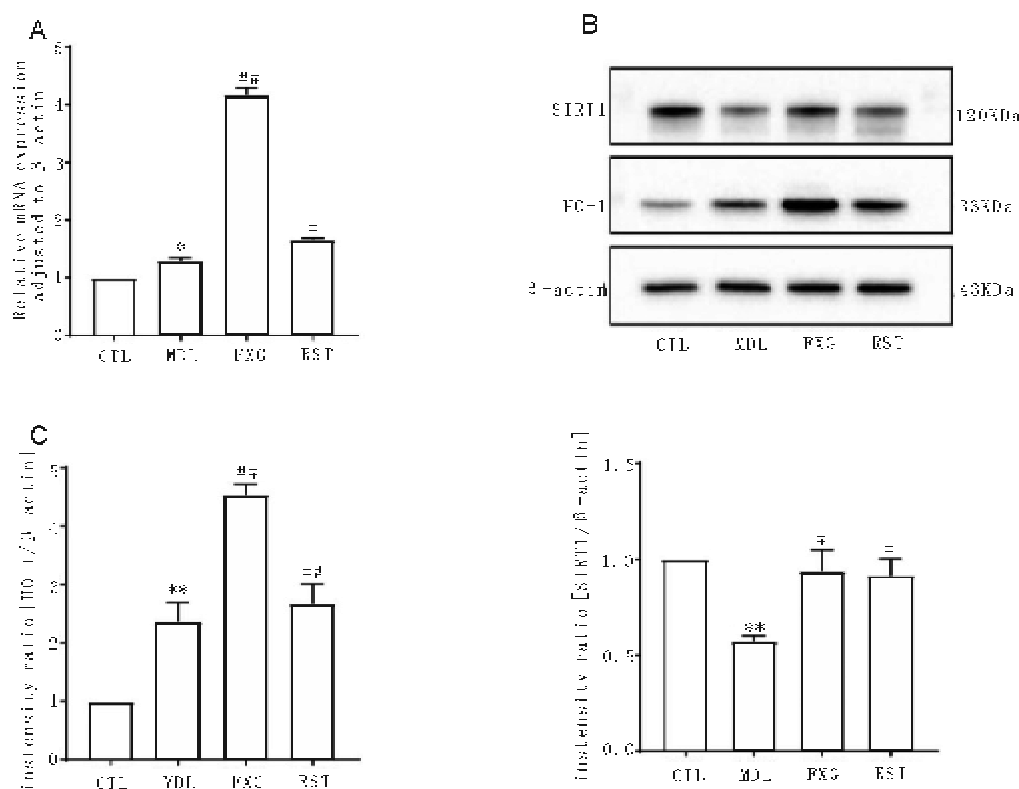
A. MCP-1、IL-6、TNF- α 蛋白表达 B. MCP-1、IL-6、TNF- α mRNA 表达
与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

图 2 茯苓杏仁甘草汤降低 RAW264.7 巨噬细胞炎症因子 MCP-1、IL-6、TNF- α 表达水平

3.3 茯苓杏仁甘草汤可提高 RAW264.7 细胞中 HO-1、SIRT1 的表达

利用 LPS 诱导 RAW264.7 巨噬细胞构建巨噬细胞炎症模型,发现与空白组比较,模型组 HO-1 蛋白表达升高、SIRT1 蛋白表达降低($P < 0.01$);与模型组比较,茯苓杏仁甘草汤组 HO-1、SIRT1 蛋白表达升高(P

< 0.05 , $P < 0.01$),见图 3B、图 3C。同时与空白组比较,模型组 HO-1 mRNA 表达水平升高($P < 0.05$);与模型组比较,茯苓杏仁甘草汤组 HO-1 mRNA 表达水平升高($P < 0.01$),见图 3A。表明茯苓杏仁甘草汤可以提高 RAW264.7 细胞中 HO-1、SIRT1 的表达水平。



A. HO-1 mRNA 表达 B、C. HO-1、SIRT1 蛋白表达

与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

图3 茯苓杏仁甘草汤提高 RAW264.7 细胞 HO-1、SIRT1 表达水平

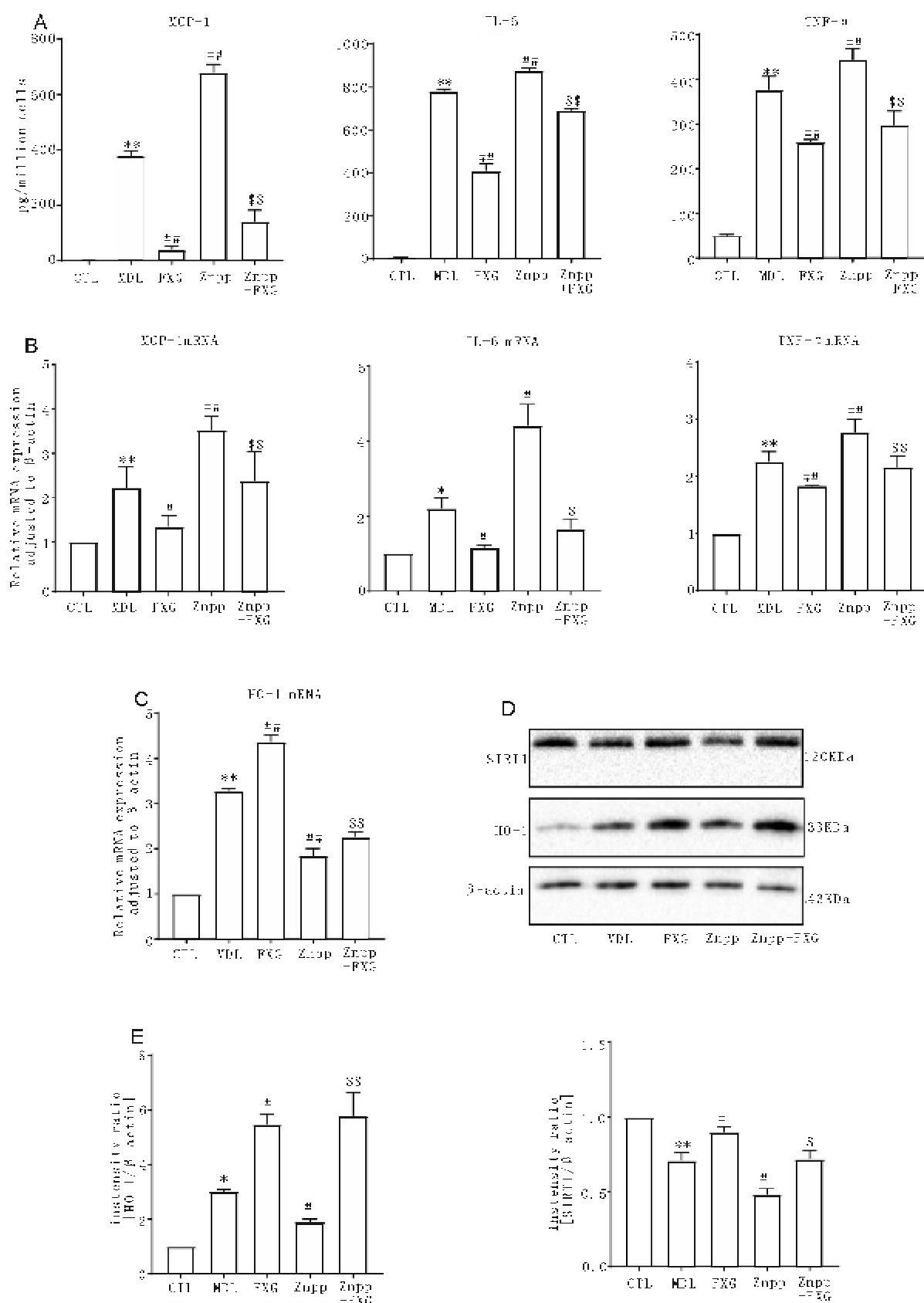
3.4 茯苓杏仁甘草汤调控 HO-1/SIRT1 降低 MCP-1、IL-6、TNF- α 表达水平

为了明确 HO-1、SIRT1 在 RAW264.7 巨噬细胞炎症中的作用,利用 HO-1 抑制剂干预 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞炎症模型,发现与模型组比较,抑制剂组 MCP-1、IL-6、TNF- α 蛋白表达升高($P < 0.01$),而加入茯苓杏仁甘草汤后,MCP-1、IL-6、TNF- α 蛋白表达降低($P < 0.01$),见图 4A。与模型组比较,抑制剂组 MCP-1、IL-6、TNF- α mRNA 表达水平升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),加入茯苓杏仁甘草汤后,MCP-1、IL-6、TNF- α mRNA 表达降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见图 4B。与模型组比较,抑制剂组 HO-1 mRNA 表达降低($P < 0.01$),见图 4C, HO-1、SIRT1 蛋白表达降低($P < 0.05$),见图 4D、图 4E。与抑制剂组比较,抑制剂加茯苓杏仁甘草汤组 HO-1 mRNA 的表达升高($P < 0.05$),见图 4C。HO-1、SIRT1 蛋白表达水平升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),见图 4D、图 4E。表

明茯苓杏仁甘草汤可以调控 HO-1/SIRT1 降低巨噬细胞中 MCP-1、IL-6、TNF- α 的表达水平。

4 讨论

AS 可归于中医学“脉痹”的范畴,《四圣心源》言:“脉络者,心火之所生也”,《黄帝内经·素问·痿论》亦提出“心主身之血脉”,故血脉与心密不可分。《说文解字》提出:“痹,湿病也”,言明湿邪是脉痹的关键因素。湿聚为饮,饮留成痰,痰湿之邪阻于血脉,血脉不利,形成瘀血,久之成毒,发为脉痹^[6]。《黄帝内经·素问·痹论》中提出:“脉痹不已,复感于邪,内舍于心。”《灵枢·五邪》言:“邪在心,则病心痛”,脉痹日久传于心可发为“胸痹”^[7]。可见饮停湿阻是胸痹发生发展过程中的重要因素。本研究所用茯苓杏仁甘草汤功在利水化饮、理气宽胸,临床用于病机属饮停湿阻气滞的胸痹心痛患者疗效显著^[8],为茯苓杏仁甘草汤治疗与胸痹心痛相应的 AS 相关疾病提供了中医学理论依据。



A. MCP-1, IL-6, TNF- α 蛋白表达 B. MCP-1, IL-6, TNF- α mRNA 表达

C. HO-1 mRNA 表达 D、E. HO-1, SIRT1 蛋白表达

与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 Znpp 组比较, ± $P < 0.05$, ±± $P < 0.01$

图4 茯苓杏仁甘草汤调控 HO-1/SIRT1 降低 MCP-1、IL-6、TNF- α 表达水平

AS 的主要病理因素为持续的血管壁的慢性炎症。巨噬细胞为 AS 发生发展的主要免疫细胞,也在慢性炎症持续的过程中发挥关键作用^[9]。MCP-1 为炎症趋化因子,在动脉粥样硬化性心脏病患者中可促使单核细胞迁入内皮下结缔组织,调节炎症反应,造成血管重塑和纤维化,促进 AS 的发展^[10]。IL-6 作为具有免疫调节的促炎症细胞因子,可以协调炎症细胞的进出,影响 AS 进程^[11]。TNF- α 是经典的促炎症细胞因子,局部斑块中及血液 TNF- α 的增加促进 AS 的进展^[12,13],在 AS 进展中占有重要地位。课题组前期研究结果发现,使用茯苓杏仁甘草汤治疗的 ApoE^{-/-} 小鼠血清中 TNF- α 、IL-6 蛋白表达水平降低;本研究结果也显示,茯苓杏仁甘草汤干预后巨噬细胞中观察到 MCP-1、TNF- α 、IL-6 表达降低,提示茯苓杏仁甘草汤能通过抑制巨噬细胞炎症反应发挥抗 AS 的作用。

HO-1 生理状态下基本不表达,在炎症条件下高表达,发挥抗炎和抗氧化作用。临床研究表明 HO-1 水平可能与动脉粥样硬化水平有关^[3],在慢性冠状动脉综合征患者中,较高的血浆 HO-1 水平与非梗阻性冠状动脉粥样硬化相关,证实了 HO-1 的保护性作用^[14]。同样 ApoE^{-/-} 小鼠体内提高巨噬细胞中 HO-1 的表达,对动脉粥样硬化的发展起到保护作用^[15]。敲除 HO-1 基因加重脂多糖诱导的小鼠巨噬细胞炎症损伤^[16]。临床常用治疗 AS 的药物如抗血小板类 aspirin、调节脂质及稳定斑块的他汀类药物以及贝特类药物均表明可以提高 HO-1 的表达发挥抑制炎症反应^[15-18],进而抗 AS 的作用。SIRT1 为炎症过程的调节器,提高 SIRT1 的表达能抑制炎症反应,动物实验和细胞实验显示在小鼠体内提高 HO-1 的表达,能增强 SIRT1 的表达,而在缺乏 HO-1 巨噬细胞中,SIRT1 的表达降低,MCP-1 等炎症因子的表达增强^[4]。课题组前期研究证实茯苓杏仁甘草汤能提高 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉中 SIRT1 的表达,抑制炎症反应。

茯苓杏仁甘草汤源自《金匮要略》,原方由茯苓三两、杏仁五十个、甘草一两组成。现代药理研究表明茯苓主要的活性成分是茯苓多糖和茯苓三萜类成分。茯苓多糖能以浓度依赖的方式刺激小鼠巨噬细胞释放 NO 发挥抗炎的作用^[20]。茯苓多糖可改善血脂代谢,降低低密度脂蛋白、胆固醇、甘油三酯、总胆固醇等指标水平,改善主动脉的病理改变,改善 ApoE^{-/-} 小鼠 AS 水平,进而发挥防治 AS 作用^[21]。茯苓酸和去氢土莫酸均能抑制急性慢性炎症^[22]。茯苓酸抑制大鼠血清 IL-6、TNF- α 水平抑制炎症反应^[23]。茯苓酸能提高小鼠体内 HO-1 水平^[24]。杏仁中的苦杏仁苷可以调节大鼠冠状动脉血管炎症,降低体内 IL-6、TNF- α 的表达。对 LPS 诱导的腹腔巨噬细胞 RAW264.7 炎症模型能抑制炎症因子和趋化因子 MCP-1 的表达,

发挥抗炎的作用^[25]。苦杏仁苷抑制 LDLR^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化模型血清炎症因子 IL-6 和 TNF- α 的表达,发挥抗 AS 抗炎的作用^[26]。且苦杏仁苷能提高 HO-1 的表达,发挥血管保护作用^[27]。甘草能抑制 LPS 诱导的巨噬细胞炎症水平^[28]。甘草酸能抑制 LPS 诱导的巨噬细胞中 IL-6、TNF- α 的表达,发挥抗炎的作用;抑制糖尿病 AS 大鼠血清中 IL-6 和 TNF- α 的表达和抑制颈动脉的内膜厚度和斑块的形成,发挥抗 AS 的作用^[29]。甘草苷能降低 RAW264.7 巨噬细胞炎症模型中 TNF- α 、IL-6 等炎症因子的表达^[30];提高小鼠血清中 HO-1 的表达,降低炎症因子 IL-6、TNF- α 水平发挥抗炎的作用^[31],提示茯苓杏仁甘草汤中含有多种有效成分能够调节 HO-1 的水平,抑制 AS 巨噬细胞慢性炎症。

因此我们使用 HO-1 抑制剂进行实验验证茯苓杏仁甘草汤是否通过调节 HO-1/SIRT1 抑制 AS 慢性炎症。结果显示:经 LPS 诱导构建巨噬细胞炎症模型,观察巨噬细胞中 HO-1 的表达提高,SIRT1 的表达降低。茯苓杏仁甘草汤干预后,HO-1 的表达提高,SIRT1 的表达提高,炎症因子表达降低;使用 HO-1 的抑制剂 Znpp 能够逆转 HO-1 的保护作用,加重炎症反应。而茯苓杏仁甘草汤能逆转 Znpp 的抑制作用,缓解炎症反应。提示茯苓杏仁甘草汤可能通过调控 HO-1/SIRT1 发挥抑制 AS 慢性炎症的作用。

综上所述,茯苓杏仁甘草汤可能通过调控 HO-1/SIRT1 发挥抑制 AS 慢性炎症的作用,为 AS 慢性炎症的防治提供一定的理论依据。

参考文献:

- [1] Abdolmaleki F, Gheibi Hayat SM, Bianconi V, et al. Atherosclerosis and immunity: A perspective[J]. Trends Cardiovasc Med, 2019, 29(6): 363.
- [2] Xu H, Jiang J, Chen W, et al. Vascular Macrophages in Atherosclerosis[J]. J Immunol Res, 2019, 2019(1): 4354786.
- [3] 彭定天, 崔伟, 韦艳花, 等. 急性脑梗死患者血清血红素氧合酶 1 水平及其与颈动脉粥样硬化斑块的关系[J]. 广西医学, 2021, 43(5): 541.
- [4] Nakamura K, Zhang M, Kageyama S, et al. Macrophage heme oxygenase-1-SIRT1-p53 axis regulates sterile inflammation in liver ischemia-reperfusion injury[J]. J Hepatol, 2017, 67(6): 1232.
- [5] 葛鸾蝶. 茯苓杏仁甘草汤通过调控 SIRT1/NF- κ B 信号通路干预动脉粥样硬化炎症反应的作用[D]. 河南中医药大学硕士学位论文, 2022.
- [6] 赵雪, 杜文婷, 顾标. 从“以补为通”理论探讨补益药治疗老年动脉粥样硬化[J]. 中医学报, 2024, 39(1): 22.
- [7] 邓晨阳, 毛竹青, 李庆海. 李庆海从痰瘀论治脉痹经验[J]. 中国民间疗法, 2021, 29(12): 44.
- [8] 王捷丞, 葛鸾蝶, 曹盼夏, 等. 吴鸿教授应用茯苓杏仁甘草汤治疗胸痹的临床心得[J]. 中国医药导报, 2022, 19(20): 144.
- [9] Li M, Hou Q, Zhong L, et al. Macrophage Related Chronic Inflammation in Non-Healing Wounds[J]. Front Immunol, 2021, 12

- (1); 681710.
- [10] 侯欣, 李飞, 杨祖尉, 等. 血清单核细胞趋化蛋白与下肢动脉粥样硬化风险及预后的关系[J]. 心肺血管病杂志, 2023, 42(7): 713.
- [11] Harris TB, Ferrucci L, Tracy RP, et al. Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly[J]. *Am J Med*, 1999, 106(5): 506.
- [12] Kalliolias GD, Iyashkiv LB. TNF biology, pathogenic mechanisms and emerging therapeutic strategies[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2016, 12(1): 49.
- [13] Fatkhullina AR, Peshkova IO, Koltsova EK. The Role of Cytokines in the Development of Atherosclerosis[J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2016, 81(11): 1358.
- [14] Caselli C, De Caterina R, Ragusa R, et al. Association of Circulating Heme Oxygenase-1, Lipid Profile and Coronary Disease Phenotype in Patients with Chronic Coronary Syndrome[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(12): 2002.
- [15] 朱颖超, 鲜雪梅, 王珍珍, 等. 血红素加氧酶 1 调控巨噬细胞极化对动脉粥样硬化的影响[J]. 徐州医科大学学报, 2020, 40(4): 255.
- [16] 杨静, 史佳, 关鑫, 等. 血红素加氧酶 1 (HO-1) 基因敲除影响小鼠肺脏免疫细胞组成平衡并加重脂多糖诱导的急性肺损伤[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2024, 40(4): 296.
- [17] Pischota-Polanczyk A, Jozkowicz A. The Role of Statins in the Activation of Heme Oxygenase-1 in Cardiovascular Diseases[J]. *Curr Drug Targets*, 2017, 18(6): 674.
- [18] Hahlfeld T, Schmitt K. Antinflammatory effects of aspirin in ACS: relevant to its cardiocoronary actions[J]. *Thromb Haemost*, 2015, 114(3): 469.
- [19] Hetzel S, Demets D, Schneider R, et al. Aspirin increases nitric oxide formation in chronic stable coronary disease[J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2013, 18(3): 217.
- [20] 肖颖, 吴梦琪, 张文清, 等. 茯苓多糖 HPLC 指纹图谱与免疫活性的相关分析[J]. 华东理工大学学报(自然科学版), 2020, 46(5): 672.
- [21] 王琪格, 曹媛, 宋因, 等. 茯苓多糖对 ApoE^{-/-} AS 小鼠肝脂质沉积及胆固醇逆向转运相关蛋白表达的影响[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2022, 24(7): 2637.
- [22] Giner EM, M6niz S, Recio MC, et al. In vivo studies on the anti-inflammatory activity of pachymic and dehydratannulosic acids[J]. *Planta Med*, 2000, 66(3): 221.
- [23] 石明亮, 王晓磊, 申洋, 等. 茯苓酸调节 Hippo 信号通路对二乙基亚硝胺诱导的肝癌大鼠的治疗作用研究[J]. 天津中医药, 2024, 41(1): 99.
- [24] Jiang GP, Liao YJ, Huang LL, et al. Effects and molecular mechanism of pachymic acid on ferroptosis in renal ischemia reperfusion injury[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(1): 63.
- [25] 钟晓琴, 李冷, 卢传坚, 等. 苦杏仁苷对脂多糖诱导的 RAW264.7 巨噬细胞炎症模型的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2018, 29(3): 257.
- [26] 霍珊珊. 苦杏仁苷抑制 LDLR^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化的作用及机制研究[D]. 电子科技大学硕士学位论文, 2020.
- [27] Li S, Lu S, Wang L, et al. Effects of amygdalin on ferroptosis and oxidative stress in diabetic retinopathy progression via the NRF2/ARE signaling pathway[J]. *Exp Eye Res*, 2023, 234: 109569.
- [28] Wang K, Zhang Y, Gao Y, et al. Glycyrrhetic acid alleviates acute lung injury by PI3K/AKT suppressing macrophagic Nlrp3 inflammasome activation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 532(4): 555.
- [29] Zhao Y, Li W, Zhang D. Glycyrrhizic acid alleviates atherosclerotic lesions in rats with diabetes mellitus[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 24(5): 755.
- [30] 惠玉晶, 于金高, 樊修和, 等. 基于小分子-蛋白质相互作用的甘草质量标志物筛选及活性验证[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(20): 5498.
- [31] 程波, 李锦剑, 张岩, 等. 甘草酸通过激活核因子 E2 相关因子 2/血红素加氧酶 1 通路减轻急性胰腺炎氧化应激[J]. 中国急救医学, 2022, 42(9): 785.

(责任编辑:肖璜)