

杨博, 朱宇轩, 缪晓青, 等. 蜂胶乙醇提取物对小鼠主动脉内皮细胞损伤的保护作用 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(15): 332–336. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020100065

YANG Bo, ZHU Yuxuan, MIAO Xiaoqing, et al. Protective Effects of Propolis Ethanol Extract on Mouse Aortic Endothelial Cells Injury[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(15): 332–336. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020100065

· 营养与保健 ·

蜂胶乙醇提取物对小鼠主动脉内皮细胞损伤的保护作用

杨 博¹, 朱宇轩¹, 缪晓青³, 徐晓兰^{2,3,*}, 杨文超^{1,2,3,*}

(1. 福建农林大学食品科学学院, 福建福州 350000;

2. 福建农林大学动物科学学院 (蜂学学院), 福建福州 350000;

3. 蜂产品加工与应用教育部工程中心, 福建福州 350000)

摘要:目的: 探究蜂胶乙醇提取物 (ethanol extracts of propolis, EEP) 对脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的小鼠主动脉内皮细胞 (mouse aortic endothelial cell, MAEC) 炎症因子损伤的保护作用。方法: 将细胞分为对照组, LPS 模型组, 蜂胶低 (2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、中 (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、高 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 剂量组。采用 CCK-8 检测 MAEC 的细胞增殖率, ELISA 酶联免疫吸附实验测定 MAEC 炎症细胞中 TNF- α 、IL-6 的含量, Western Blot 法测定 MAEC 炎症细胞中 ICAM-1、VCAM-1、MCP-1 的表达水平。结果: 与对照组相比, LPS 组 MAEC 的细胞增殖率极其显著降低 ($P < 0.001$), ICAM-1、VCAM-1、MCP-1、TNF- α 以及 IL-6 的水平极其显著升高 ($P < 0.001$)。经不同浓度 EEP 处理后, MAEC 的细胞增殖率显著上升 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), TNF- α 、IL-6 的含量以及 ICAM-1、VCAM-1、MCP-1 表达水平降低, 各蜂胶组与 LPS 组相比均有显著性差异 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。结论: EEP 能够抑制 LPS 诱导的 MAEC 中炎症因子的表达, 对血管内皮细胞具有保护作用。

关键词: 蜂胶, 小鼠主动脉内皮细胞, 脂多糖, 抗炎, 炎症因子

中图分类号: S896.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2021)15-0332-05

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020100065

Protective Effects of Propolis Ethanol Extract on Mouse Aortic Endothelial Cells Injury

YANG Bo¹, ZHU Yuxuan¹, MIAO Xiaoqing³, XU Xiaolan^{2,3,*}, YANG Wenchao^{1,2,3,*}

(1. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350000, China;

2. College of Animal Science (College of Bee Science), Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350000, China;

3. Bee Product Processing and Application Research Center of the Ministry of Education, Fuzhou 350000, China)

Abstract: Objective: The aim of this study was to investigate the protective effects of ethanol extracts of propolis (EEP) on mouse aortic endothelial cells (MAEC) from injury induced by lipopolysaccharide (LPS). Methods: Cell proliferation rate was determined by CCK-8. Then MAEC were divided into the blank group, LPS model group, low-dose (2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$), middle-dose (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$), and high-dose (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) groups of EEP. The TNF- α and IL-6 levels were evaluated by ELISA. The expression levels of ICAM-1, VCAM-1 and MCP-1 were measured by Western Blot. Results: Compared with the control group, the cell proliferation rate of MAEC in the LPS group was extremely significant reduced ($P < 0.001$), and the levels of ICAM-1, VCAM-1, MCP-1, TNF- α and IL-6 were extremely significant increased ($P < 0.001$). The cell proliferation rate of EEP groups increased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and the content of TNF- α , IL-6 and the

收稿日期: 2020-10-12

基金项目: 现代农业蜂产业技术体系岗位科学家 (CARS-45-KXJ20)。

作者简介: 杨博 (1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品工程, E-mail: 15225700066@163.com。

* 通信作者: 徐晓兰 (1980-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 中药资源学, E-mail: xlxfz@126.com。

杨文超 (1980-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 蜂产品贮藏与加工, E-mail: ywenchao13@163.com。

expression levels of ICAM-1, VCAM-1, and MCP-1 decreased compared with these of LPS group. There were significant differences between each propolis group and LPS group ($P < 0.01$ or $P < 0.001$). Conclusion: EEP could effectively inhibit LPS-induced the expression of inflammatory factors in MAEC, and it has the effect of protecting endothelial cells.

Key words: propolis; mouse aortic endothelial cells; lipopolysaccharide; anti-inflammatory; inflammatory factor

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是目前常见的心脑血管疾病发病的主要原因。它的发生机理主要是代谢障碍导致脂质在血管中积累,形成斑块,使得动脉腔隙变窄,进而导致组织或器官的缺血或坏死^[1-2]。血管内皮细胞的损伤是动脉粥样硬化的关键环节,血管内皮细胞的损伤会分泌大量的促炎因子和黏附因子,导致炎症反应的发生,进而加速 AS 进程^[3-4]。

蜂胶是工蜂采集胶源植物的树脂与其上颚腺、蜡腺等分泌物混合而成的具有黏性的固体胶状物^[5]。蜂胶的化学成分因胶源植物的不同而不同,其中,中国蜂胶主要的胶源植物为杨树属,目前已从中国蜂胶中鉴定出 300 多种化学成分,包括酚酸类、黄酮类、萜烯类、醇类、香豆素类和脂类等^[6-8]。课题组前期的实验已分析过中国蜂胶的化学成分,主要有乔松素、短松叶素、高良姜素、白杨素等,含量最多的化学成分为黄酮类化合物,占 71.92%^[9]。现代药理研究表明,蜂胶具有抗微生物,抗肿瘤,调节血糖,抗氧化以及抗炎活性^[10-13]。有研究表明蜂胶具有明显的抗炎作用,可以预防动脉粥样硬化,减少血脂,影响血管生成,并在预防和治疗心血管疾病中发挥重要作用^[14-15]。Kitamura 等^[16]的证明蜂胶可以诱导 M1 型巨噬细胞向髓源性抑制细胞(MDSC)分化,有效减少 M1 细胞,从而抑制 M1 分泌重要的促炎细胞因子,如 TNF- α 和 IL-6,将炎症过程转向消退。蜂胶提取物能降低饲喂高脂饮食的 ApoE-/-小鼠的总胆固醇(TC)、甘油三酸酯(TG)、非高密度脂蛋白胆固醇(non-HDL-C)的水平以及炎症因子 IL-6 和 IL-17 的产生^[17]。蜂胶中的主要成分白杨素也可以减轻内皮细胞间的黏附,并降低 IL-1 β 损伤的人脐静脉内皮细胞中炎症因子的表达^[18]。

本实验用脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激小鼠主动脉内皮细胞构建损伤模型,研究蜂胶乙醇提取物(ethanol extracts of propolis, EEP)对 LPS 诱导的小鼠主动脉内皮细胞内炎症因子的影响,为治疗心脑血管疾病提供新的思路和理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

蜂胶 胶源植物杨树属, -20 °C 保存,福建省神蜂科技开发有限公司; CP-M075 小鼠主动脉内皮细胞、CM-M075 小鼠主动脉细胞完全培养基 普诺赛生命科技有限公司; A3160802 胎牛血清 赛默飞世尔科技有限公司; 胰酶-EDTA、PBS、D-Hanks 吉诺生物医药技术有限公司; 小鼠 IL-6、TNF- α ELISA 试剂盒 欣博盛生物科技有限公司; 一抗 GAPDH、ICAM-1、VCAM-1、MCP-1 兔抗 abcam 公司; 二抗 HRP-Goat anti Rabbit

Elabscience 公司。

SCO6WE CO₂ 恒温培养箱 SHEL LAB 实验器材有限公司; SW-CJ-1FD 洁净工作台 苏净安泰公司; IX51 倒置显微镜 OLYMPUS 有限公司; DR-200Bs 酶标检测仪 无锡华卫德朗仪器有限公司; TD6 低速离心机 湖南平凡科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 EEP 的制备 参照 Xu 等^[9]的方法进行 EEP 的制备:蜂胶溶于 70% 乙醇(v/v),室温浸泡 2 d, 60 °C, 20 min, 40 kHz 超声提取 3 次,得到的混合液离心,弃上清,真空浓缩至溶剂蒸发,储于 4 °C 备用。

1.2.2 细胞复苏与培养 将冻有 MAEC 的细胞冻存管从液氮中拿出, 37 °C 水浴中快速解冻后迅速转移至装有 3 mL 培养液的 5 mL 离心管中, 1400 r/min 离心 4 min。离心后倒掉上清液,加 1 mL 培养基重悬细胞,转移至含有 3 mL 培养基的细胞培养瓶中进行细胞培养,培养条件为 5% 的 CO₂, 37 °C。

1.2.3 药物配制及细胞分组 用小鼠主动脉细胞完全培养基溶解 LPS, 配制成终浓度为 10 μ g/mL 的 LPS 药液;用小鼠主动脉细胞完全培养基溶解 EEP, 根据后续实验配制成相应浓度的 EEP 药液。使用处于生长对数期(细胞状态好)的细胞进行实验,浓度调整为 1×10^5 个/mL,接种于 96 孔板中,分为五组,空白组、LPS 模型组,蜂胶低剂量组(LPS+2.5 μ g/mL EEP)、中剂量组(LPS+5 μ g/mL EEP)、高剂量组(LPS+10 μ g/mL EEP),每组设置 5 个复孔。空白组给予 100 μ L 的完全培养基,LPS 模型组给予 10 μ g/mL 的 LPS 药液,蜂胶低、中、高剂量组给予 10 μ g/mL 的 LPS 和 2.5、5、10 μ g/mL 的 EEP 药液共培养,培养条件 37 °C, 5% 的 CO₂。

1.2.4 细胞增殖率检测 采用 CCK-8 检测 MAEC 的增殖活性:按照 1.2.3 的方式培养细胞, 24 h 后将 10 μ L CCK-8 溶液添加到每个孔中,并在 37 °C 的 5% CO₂ 中培养 4 h。然后,在 450 nm 处测量吸光度。通过以下公式计算细胞增殖率:

细胞增殖率=实验孔的吸光度/对照孔的吸光度

1.2.5 ELISA 实验测定 TNF- α 、IL-6 的含量 将处理后的各组细胞样品和 ELISA 试剂盒取出平衡至室温。配制标准品溶液并绘制标准曲线。随后进行蛋白测定。空白孔中加入标准品,其余孔中加入待测样品(100 μ L/孔),封板, 37 °C 孵育 90 min。洗板 5 次。依次加入生物素化抗体工作液,封孔, 37 °C 孵育 60 min。洗板 5 次。加入酶结合物工作液,封板, 37 °C 避光孵育 30 min。洗板,加入显色底物 37 °C 孵育 15 min。加入终止液 100 μ L/孔,混匀后立即

在 3 min 内用酶标仪测量 OD₄₅₀ 值, 每组三个平行。随后将 OD 值带入标准曲线中, 计算得到相对含量。

1.2.6 Western Blot 法测定 ICAM-1、VCAM-1、MCP-1 的表达水平 经处理后的各组细胞用 TBS 缓冲液洗涤 3 次, 加入总蛋白提取试剂裂解 3~5 min。收集细胞于离心管冰浴 30min 后 4 ℃12000g 离心 5 min。总蛋白浓度用 BCA 试剂盒测定, 每组三个平行。处理好的样品以每组上样量 10 μL 开始电泳, 浓缩胶电压 80 V, 分离胶电压 130 V, 待条带到玻璃板底部时结束电泳。随后将样品转移至 PVDF 膜上, 放入适量 5% 脱脂奶粉中, 振荡封闭 1 h。然后与一抗封闭 4 ℃ 孵育过夜。TBST 洗涤 5 次, 每次 5 min。再于二抗中孵育 1 h, TBST 洗涤 5 次, 每次 5 min。随后进行发光检测, Alpha Ease FC 软件处理系统分析目标带的光密度值。结果以与上样对照甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)^[18] 的光密度值的比值表示。

1.3 数据处理

采用 SPSS 26.0 统计软件进行统计分析, Graph Pad Prism 8.0.2 作图, 所有数据以均数±标准差($\bar{X} \pm s$) 的形式表示, 各组间采用单因素方差分析(one-way ANOVA), $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 EEP 对 MAEC 细胞增殖的影响

结果如图 1 所示, LPS 模型组 MAEC 的细胞增殖率下降 21%, 与空白组相比差异极其显著($P < 0.001$), 经不同浓度的 EEP 处理后 MAEC 的增殖率均有上升, 与 LPS 组相比, 10 μg/mL EEP 组差异显著($P < 0.05$), 2.5 μg/mL 和 5 μg/mL EEP 差异极显著($P < 0.01$)。

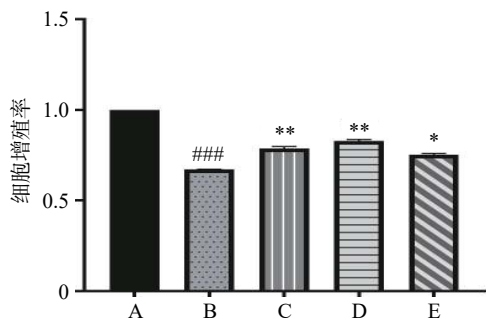


图 1 EEP 对 LPS 处理的 MAEC 细胞增殖率的影响 (n=5)

Fig.1 Effects of EEP on LPS-stimulated MACE proliferation rate (n=5)

注: A: 空白对照; B: LPS 组; C: LPS+2.5 μg/mL EEP; D: LPS+5 μg/mL EEP; E: LPS+10 μg/mL EEP; LPS 模型组与空白组相比, ###表示 $P < 0.001$ (差异极其显著); EEP 各组与 LPS 模型组相比, *表示 $P < 0.05$ (差异显著), **表示 $P < 0.01$ (差异极显著), ***表示 $P < 0.001$ (差异极其显著); 图 2、图 3 同。

2.2 EEP 对 MAEC 细胞中 IL-6、TNF-α 的影响

结果如图 2 所示, 空白对照组中, IL-6、TNF-α 有极少量的表达, 经 LPS 刺激后的 MAEC 中 IL-6、TNF-α 的表达明显升高, 其中 IL-6 由空白组的

29.950 pg/mL 升高到 126.437 pg/mL 升高至原来的 4.22 倍, TNF-α 由空白组的 37.407 pg/mL 升高到 123.613 pg/mL, 升高至原来的 3.3 倍, 与空白对照组相比差异极其显著($P < 0.001$), EEP 的处理极其显著降低了 IL-6、TNF-α 的表达($P < 0.001$), 且呈剂量依赖性。

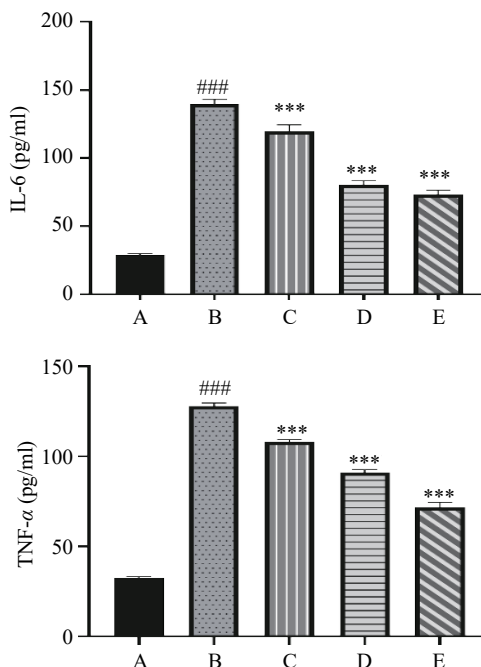


图 2 EEP 对小鼠主动脉内皮细胞 IL-6、TNF-α 表达的影响 (n=3)

Fig.2 Effect of EEP on the expression levels of IL-6、TNF-α in MAEC (n=3)

2.3 EEP 对 MAEC 细胞中 ICAM-1、VCAM-1、MCP-1 表达的影响

结果如图 3 所示, 空白对照组的 MAEC 中 ICAM-1、VCAM-1、MCP-1 均有少量表达, 当 LPS 刺激细胞后 ICAM-1、VCAM-1、MCP-1 的表达均有极其显著的上升($P < 0.001$)。经不同浓度的 EEP 处理后, ICAM-1、VCAM-1、MCP-1 均有明显下降, 且它们的表达量随着 EEP 浓度的增加而降低, 各蜂胶给药组与 LPS 组均有不同程度的显著差异 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。

3 讨论

LPS 是革兰氏阴性菌细胞壁的主要成分, 进入血液的 LPS 可与单核巨噬细胞、内皮细胞等的细胞膜的受体相结合, 通过胞内的信号转导刺激机体细胞合成和释放多种炎症因子, 从而诱导内皮细胞的损伤^[19]。当内皮细胞受到 LPS、ox-LDL 等刺激时, 可释放多种细胞因子刺激平滑肌细胞增殖, 内皮细胞与平滑肌细胞相互作用推动血管损伤和动脉粥样硬化的发展^[20]。

肿瘤坏死因子 TNF-α 是一种由巨噬细胞和单核细胞产生的促炎因子, 在机体的炎症反应和免疫反应中起重要的作用^[21]。之前的研究构建了 LPS 损伤

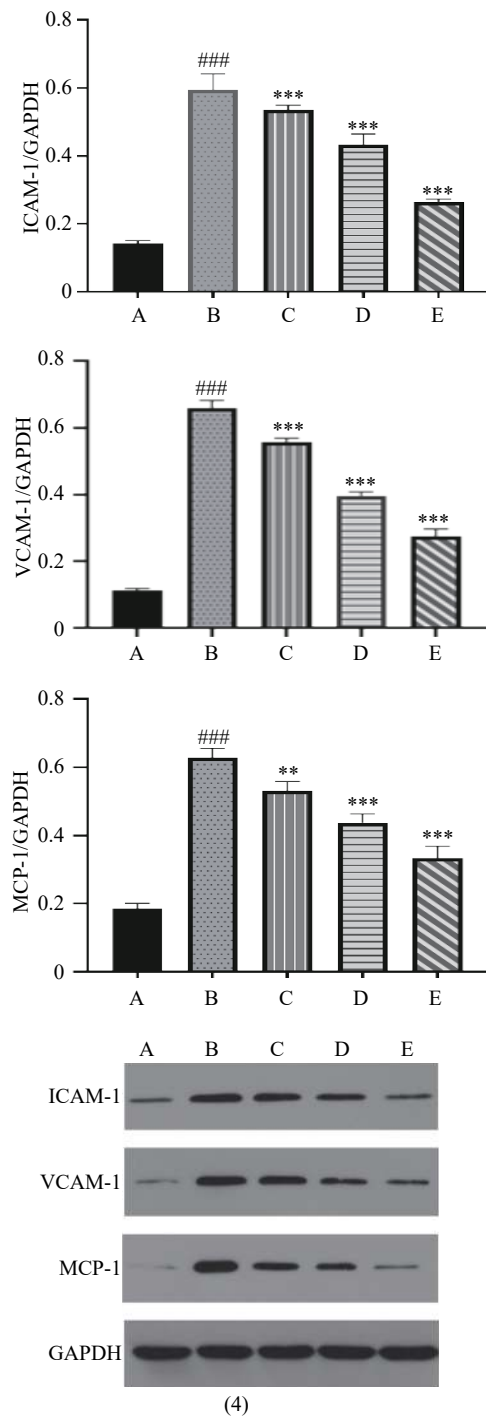


图3 EEP对小鼠主动脉内皮细胞ICAM-1、VCAM-1、MCP-1表达的影响(n=3)

Fig.3 Effects of EEP on the expression levels of ICAM-1, VCAM-1 and MCP-1 in MAEC (n=3)

的 MAEC 模型,证实了 LPS 可以刺激 MAEC 产生 TNF- α 引发炎症, TNF- α 还可以诱导黏附分子的表达与 IL-6、IL-8 等细胞因子的激活,使损伤的内皮细胞通透性增加、脂质更容易穿过血管膜造成脂质堆积,形成斑块,在炎症反应和 AS 的发展过程中起关键性作用^[22-24]。IL-6 也属于促炎因子,它可以通过激活免疫系统,募集单核细胞,刺激内皮细胞和平滑肌细胞表达,抑制调节性 T 细胞分化和凋亡,起到促炎作用^[25-26]。本研究中 Elisa 的检测结果表明 LPS

的刺激可以大量增加 MAEC 中 TNF- α 和 IL-6 的释放,经 EEP 处理后 MAEC 中的 TNF- α 和 IL-6 的表达量与 LPS 模型组相比均有明显下降。由此可见,EEP 可以减少血管内皮细胞中炎症因子的分泌,起到抗炎作用保护内皮细胞免受损伤。

ICAM-1 和 VCAM-1 是免疫球蛋白超家族中的黏附分子,在受损部位介导白细胞与血管内皮细胞的黏附^[27]。正常生理状况下,ICAM-1 在血管内皮细胞中的表达水平极低,在细胞损伤或肿瘤坏死因子 TNF- α 、IL-6 等炎症介质的刺激下其表达水平上调,使白细胞和单核细胞不断附着于内皮细胞于^[28-29], VCAM-1 也能在炎症刺激的内皮细胞中过量表达,与其配体 VLA-4 共同作用,将炎性细胞更牢固地附着于血管内皮细胞上^[30]。之前的研究表明去除 ICAM-1 后,高脂喂养的小鼠 AS 斑块总量与对照组相比减少了 50% 左右^[31],研究证明 ApoE 小鼠的 VCAM-1 基因沉默会减少 AS 斑块的体积及斑块内脂质的含量^[32]。两者的高表达是内皮细胞损伤的重要标志,在动脉粥样硬化的发展的过程中也起着重要作用。本实验中 LPS 的刺激下 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达显著增加,而 EEP 处理能有效降低受损 MAEC 中 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达,说明 EEP 可以减少炎性细胞的黏附,从而减轻内皮细胞的损伤。

细胞单核细胞趋化蛋白 MCP-1 是化学趋化因子 β 亚组代表,主要在炎症细胞和内皮细胞表达,具有募集和活化特定蛋白细胞的功能^[33]。LPS 对 MCP-1 的影响主要通过激活 Pyk2 活化 p38 MAPK 激酶, P38MAPK 激酶进而激活转录因子 NF- κ B 来驱动的^[34]。受损的内皮细胞中 MCP-1 与其受体结合可以引导单核细胞的聚集并在黏附因子的作用下黏附于损伤部位,导致炎症反应加重^[35-36]。本实验 Western Blot 结果表明 LPS 的刺激可引起 MAEC 中 MCP-1 的表达明显增加,经 EEP 处理后可以有效降低 MCP-1 的表达,说明 EEP 有抑制炎症处单核细胞的聚集,减轻血管内皮细胞的炎症反应。

4 结论

综上所述, LPS 的刺激可以诱导 MAEC 炎症的发生并降低其细胞活性。EEP 能降低促炎因子 IL-6、TNF- α 的含量,抑制黏附因子 ICAM-1、VCAM-1 和趋化因子 MCP-1 的表达,抑制炎性细胞在血管内膜的迁移及其在病变部位的趋化作用,减少单核细胞的黏附,缓解血管内膜的炎性损伤,发挥了良好的抗炎作用。

参考文献

- [1] 胡钟亮, 王杰. 动脉粥样硬化形成机制及影响因素研究概况[J]. 临床医药文献电子杂志, 2020, 50(7): 197-198.
- [2] Taleb Soraya. Inflammation in atherosclerosis[J]. *Archives of Cardiovascular Diseases*, 2016, 109(12): 708-715.
- [3] Small D M. Cellular mechanisms for lipid deposition in atherosclerosis (first of two parts)[J]. *The New England Journal of Medicine*, 1977, 297(16): 873-877.

- [4] 刘俊田. 动脉粥样硬化发病的炎症机制的研究进展[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2015, 36(2): 141-152.
- [5] 全国蜂产品标准化工作组(SAC/SWG 2). GB/T 24283-2018 蜂胶[S]. 国家市场监督管理总局, 中国国家标准化委员会, 2018.
- [6] Huang Y L, Huang Z Q, Watanabe C, et al. Combined direct analysis in real-time mass spectrometry (DART-MS) with analytical pyrolysis for characterization of Chinese crude propolis[J]. *Journal of analytical and applied pyrolysis*, 2019, 137: 227-236.
- [7] 张婷婷. GC-MS和紫外光谱法分析中国蜂胶乙醇提取物[D]. 南昌: 南昌大学, 2017.
- [8] Santos L M, Fonseca M S, Sokolonski Ana R, et al. Propolis: Types, composition, biological activities, and veterinary product patent prospecting[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2020, 100(4): 1369-1382.
- [9] Xu X L, Pu R X, Li Y J, et al. Chemical compositions of propolis from china and the united states and their antimicrobial activities against *Penicillium notatum*[J]. *Molecules*, 2019, 24(19): 3576.
- [10] Okińczyc P, Paluch E, Franciczek R, et al. Antimicrobial activity of *Apis mellifera* L. and *Trigona* sp. propolis from Nepal and its phytochemical analysis[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020, 129: 110435.
- [11] Zhang H, Fu Y Y, Niu F G, et al. Enhanced antioxidant activity and *in vitro* release of propolis by acid-induced aggregation using heat-denatured zein and carboxymethyl chitosan[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 81: 104-112.
- [12] Annie R P, Mikhael H F, Rodrigues T, et al. Green propolis increases myeloid suppressor cells and CD4 + Foxp3 + cells and reduces Th2 inflammation in the lungs after allergen exposure[J]. *Journal of Ethno Pharmacology*, 2020, 252: 112496.
- [13] Shi Y Z, Liu Y C, Zheng Y F, et al. Ethanol extract of chinese propolis attenuates early diabetic retinopathy by protecting the blood retinal barrier in streptozotocin induced diabetic rats[J]. *Journal of Food Science*, 2019, 84(2): 358-369.
- [14] Lima L D C, Andrade S P, Campos P P, et al. Brazilian green propolis modulates inflammation, angiogenesis and fibrogenesis in intraperitoneal implant in mice[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2014, 14: 177.
- [15] Franchin M, Freires I A, Lazarini J G, et al. The use of Brazilian propolis for discovery and development of novel anti-inflammatory drugs[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2018, 153: 49-55.
- [16] Kitamura H, Saito K, Fujimoto J, et al. Brazilian propolis ethanol extract and its component kaempferol induce myeloid-derived suppressor cells from macrophages of mice *in vivo* and *in vitro*[J]. *BMC complementary medicine and therapies*, 2018, 18(1): 138.
- [17] Fang Y, Sang H, Yuan N, et al. Ethanol extract of propolis inhibits atherosclerosis in Apo E-knockout mice[J]. *Lipids in Health and Disease*, 2013, 12: 123.
- [18] 赵胜男. 白杨素通过抑制NF- κ B信号通路缓解血管内皮炎症[D]. 武汉: 华中科技大学, 2019.
- [19] Dauphinee S M, Karsan A. Lipopolysaccharide signaling in endothelial cells[J]. *Laboratory Investigation*, 2006, 86(1): 9-22.
- [20] 任德成. 内皮细胞损伤的机制及保护药物的筛选研究[D]. 北京: 中国协和医科大学, 2002.
- [21] Zhong Y, Liu C, Feng J, et al. Curcumin affects ox-LDL-induced IL-6, TNF- α , MCP-1 secretion and cholesterol efflux in THP-1 cells by suppressing the TLR4/NF- κ B/miR33a signaling pathway[J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2020, 20(3): 1856-1870.
- [22] 周信, 张小荣, 张秋燕, 等. 生半夏及其炮制品对小鼠主动脉内皮细胞炎症因子分泌的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(10): 261-265.
- [23] Klinghammer L, Urschel K, Cicha K, et al. Impact of telmisartan on the inflammatory state in patients with coronary atherosclerosis Influence on IP-10, TNF- α and MCP-1[J]. *Cytokine*, 2013, 62(2): 290-296.
- [24] Zhang Y, Yang X, Bian F, et al. TNF- α promotes early atherosclerosis by increasing transcytosis of LDL across endothelial cells: crosstalk between NF- κ B and PPAR- γ [J]. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2014, 72: 85-94.
- [25] 张伟洁, 郑宏. IL-6介导免疫炎症反应作用及其与疾病关系的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2017, 33(5): 699-703.
- [26] 解慧梅, 胡格, 索占伟, 等. 人参皂甙Rb1和黄芪多糖对微血管内皮细胞分泌NO、IL-6和TNF- α 的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2006(9): 903-907.
- [27] 郭建恩, 高飞, 胡亚涛, 等. 瓜蒌薤白半夏汤对动脉粥样硬化小鼠炎症因子、ICAM-1、VCAM-1表达的影响[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2017, 38(3): 234-239.
- [28] 黄志广. 重组SAK-HV对小鼠主动脉内皮细胞的作用及机制研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2016.
- [29] Kan I, Takeshi K, Hiroyuki I, et al. Induction of ICAM-1 and VCAM-1 on the mouse lingual lymphatic endothelium with TNF- α [J]. *Acta Histochemica et Cytochemica*, 2008, 41(5): 115-120.
- [30] Liang C J, Lee C W, Sung H C, et al. Magnolol reduced TNF- α -induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in endothelial cells via JNK/p38 and NF- κ B signaling pathways[J]. *The American Journal of Chinese Medicine: An International Journal of Comparative Medicine East and West*, 2014, 42(3): 619-37.
- [31] Nageh M F, Sandberg E T, Marotti K R, et al. Deficiency of inflammatory cell adhesion molecules protects against atherosclerosis in mice[J]. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 1997, 17(8): 1517-1520.
- [32] 穆伟. 动脉粥样硬化中血管细胞粘附分子-1的表达与基因干预研究[D]. 济南: 山东大学, 2015.
- [33] Lin J T, Kakkar V, Lu X J. Impact of MCP-1 in atherosclerosis[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2014, 20(28): 4580-4588.
- [34] Appakkudal R A, Bradley R, Ganju R K. LPS-induced MCP-1 expression in human microvascular endothelial cells is mediated by the tyrosine kinase, Pyk2 via the p38 MAPK/NF- κ B-dependent pathway[J]. *Molecular immunology*, 2009, 46(5): 962-968.
- [35] Zhang Y J, Catherine A E, Barrett J R. MCP-1: Structure/Activity Analysis[J]. *Methods*, 1996, 10(1): 93-103.
- [36] Chang M L, Guo F, Zhou Z D, et al. HBP induces the expression of monocyte chemoattractant protein-1 via the FAK/PI3K/AKT and p38 MAPK/NF- κ B pathways in vascular endothelial cells[J]. *Cellular Signaling*, 2018, 43: 85-94.