

DOI:10.19296/j.cnki.1008-2409.2024-02-007

· 论 著 ·

· ORIGINAL ARTICLE ·

益母草碱对 ox-LDL 诱导的 THP-1 源性巨噬细胞焦亡的保护作用

杨依壮, 陈旭, 艾锐, 侯新月, 王娟

(桂林医学院药学院, 桂林 541199)

摘要 **目的** 探讨益母草碱(LEO)对氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导的 THP-1 源性巨噬细胞焦亡的保护作用。**方法** 采用 MTT 法检测不同浓度 LEO 对 THP-1 巨噬细胞/THP-1 源性泡沫细胞活力;采用油红 O 染色评估细胞内脂质蓄积的情况,并检测细胞内总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)的含量以及细胞上清液中白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-18(IL-18)和乳酸脱氢酶(LDH)含量;采用 Western blot 检测细胞焦亡相关蛋白的表达水平;采用流式细胞术测定活性氧(ROS)水平。**结果** 随着 LEO 浓度的增加,细胞活性与 LEO 的浓度呈正相关。LEO 干预后,细胞内 TC 和 TG 的含量降低,细胞内脂质积累减少,且 LEO 可下调细胞焦亡相关蛋白 NLRP3、N-GSDMD、Cleaved Caspase-1 的表达,同时经 LEO 处理可逆转 ox-LDL 诱导的 ROS 生成增加。**结论** LEO 可以减缓由 ox-LDL 诱导的 THP-1 巨噬细胞内脂质积累,并且可以抑制 ox-LDL 诱导的 THP-1 巨噬细胞焦亡的发生。

关键词: 益母草碱;巨噬细胞;氧化低密度脂蛋白;细胞焦亡

中图分类号:R285.5

文献标志码:A

文章编号:1008-2409(2024)02-0046-08

Protective effects of epsilonine on ox-LDL-induced pyroptosis of THP-1-derived macrophages

YANG Yizhuang, CHEN Xu, AI Rui, HOU Xinyue, WANG Juan

(College of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin 541199, China)

Abstract **Objective** To investigate the protective effects of leonurine(LEO) on pyroptosis induced by oxidized low-density lipoprotein(ox-LDL) in THP-1-derived macrophages. **Methods** MTT assay was used to detect the viability of THP-1 macrophages/THP-1-derived foam cells after treatment with different concentrations of LEO. Oil Red O staining was used to assess the intracellular lipid accumulation, meanwhile the contents of intracellular total cholesterol(TC), triglycerides(TG), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-18(IL-18), and lactate dehydrogenase

基金项目: 广西科技基地和人才专项(桂科 AD20238024); 广西科技厅中央引导地方科技发展资金项目(桂科 ZY21195024); 广西科技计划基金项目(桂科 ZD20302006); 第四批八桂学者 2017 年专项([2017]143 号)。

第一作者: 杨依壮, 硕士研究生, 研究方向为天然药物药理机制。

通信作者: 王娟, 407271431@qq.com。

(LDH) in the cell supernatant were detected. Western blot was used to detect the expression level of proteins related to cellular pyrolysis. The level of reactive oxygen species (ROS) was determined by flow cytometry. **Results** As the concentration of LEO increased, there was a positive correlation between cell activity and LEO concentration. LEO intervention decreased the intracellular TC and TG levels, and reduced the intracellular lipid accumulation. LEO decreased the expression of cellular pyroptosis-related proteins, including NLRP3, N-GSDMD, Cleaved Caspase-1. At the same time, treatment with LEO reversed the ox-LDL-induced increase in ROS production. **Conclusion** LEO decreases lipid accumulation in THP-1 macrophages induced by ox-LDL and inhibits the pyroptosis induced by ox-LDL in THP-1-derived macrophage.

Keywords: leonurine; macrophages; ox-LDL; pyroptosis

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是一种慢性免疫炎症性疾病, 其主要病理学特征为脂质代谢失衡和巨噬细胞介导的免疫功能失调^[1-2]。在 AS 起始阶段, 积聚的低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 在血管内膜中被氧化修饰, 形成 ox-LDL^[3]。这一过程刺激内皮细胞释放大量黏附因子和趋化因子, 并促使单核细胞在血管内膜大量募集并分化为巨噬细胞^[4-5]。随后, 巨噬细胞吞噬 ox-LDL, 形成泡沫细胞^[6-7]。伴随巨噬细胞不断浸入及泡沫化, NOD 样受体家族 pyrin 结构域蛋白 3 (NOD-like receptor pyrin domain containing 3, NLRP3) 炎症小体及下游焦亡通路被激活, 促进泡沫细胞焦亡的发生^[8]。死亡的泡沫细胞无法被及时清除, 从而构成了血管内斑块的主要成分, 导致斑块更加不稳定, 这也是疾病进展的关键因素^[9]。众多研究^[10-12]表明, 抑制泡沫细胞的形成和细胞焦亡可以减轻 AS 的进程, 其中天然药物抗 AS 的作用受到越来越多的关注。

益母草碱 (leonurine, LEO) 为唇形科植物益母草的主要活性成分^[13], 广泛应用于多种疾病的治疗, 具有活血化瘀、利尿消肿的功效^[14-15]。LEO 可以通过抗氧化^[16]、调节血脂代谢^[17]、抑制血小板聚集和血栓形成^[18]等多种途径在 AS 中发挥作用。最近研究^[19]结果表明, LEO 能够增加纤维帽厚度和胶原含量, 减少巨噬细胞/泡沫细胞积聚, 从而增强 AS 斑块的稳定性。然而, LEO 在 AS 发展中对 ox-LDL 诱导巨噬细胞焦亡作用及机制尚不清楚。本研究以人单核细胞白血病细胞 THP-1 为对象, 旨在探索 LEO 干预对 ox-LDL 诱导 THP-1 巨噬细胞形成泡沫细胞影响, 同时进一步探讨 LEO 在 ox-LDL 诱导的巨

噬细胞焦亡中的调控作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

THP-1 细胞株 (购自中国科学院上海细胞库), 盐酸益母草碱 (购自上海安谱瑾世标准技术服务有限公司), ox-LDL (购自广州奕元生物技术有限公司), 佛波酯 (PMA) (购自美国 Gp bio 公司)。

1640 培养基 (购自美国 Gibco 公司); 胎牛血清 (购自美国 Clark 公司); 噻唑蓝 (MTT) (购自北京索莱宝公司); 二甲基亚砜 (DMSO) (购自广东西陇化工公司); DCFH-DA (购自美国 Sigma 公司); RIPA 强裂解液、油红 O 检测试剂盒 (均购自上海碧云天公司); GSDMD 抗体、N-GSDMD 抗体 (均购自美国 Abcam 公司); NLRP3 抗体、Caspase-1 抗体、乳酸脱氢酶检测试剂盒 (均购自沈阳万类生物公司); β -Actin 抗体、山羊抗兔、小鼠 IgG (均购自北京中杉金桥); ECL 超敏化学发光试剂 (购自合肥 Biosharp 公司); IL-1 β 检测试剂盒、IL-18 检测试剂盒 (均购自杭州联科生物公司)。

CellXpert C170 二氧化碳细胞培养箱 (购自德国 Eppendorf 公司); AC2-4S1 生物安全柜 (购自新加坡 ESCO 公司); Infinite M200 PRO 多功能酶标仪 (购自瑞士 TECAN 公司); 蛋白电泳系统、PowerPac Basic 蛋白转印系统 (均购自新加坡 Bio-Rad 公司); TDZ4-WS 台式低速离心机 (购自湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); Centrifuge 5425 小型高速离心机 (购自德国 Eppendorf 公司); Sorvall Biofuge Stratos Centrifuge

高速冷冻离心机(购自德国 Thermo Fisher Scientific 公司);BD Accuri C6 Plus 流式细胞仪(购自美国 BD 公司)。

1.2 实验方法

①药物配制。LEO 溶解在 DMSO 中,制备成浓度为 10 mmol/L 的母液,根据实验所需浓度,用培养基稀释,现配现用。PMA 溶解在 DMSO 中,制备成浓度为 10 mmol/L 的母液,根据实验所需浓度,用培养基稀释,ox-LDL 无需配制,直接使用。

②细胞培养及模型构建。将 THP-1 细胞置于含有 10%胎牛血清(FBS)、青霉素 100 U/mL 和链霉素 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 1640 培养基中,并在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%二氧化碳的恒温培养箱中进行培养。为了诱导单核细胞分化为巨噬细胞,使用 50 ng/mL 的 PMA 处理 THP-1 细胞,使其分化为 THP-1 巨噬细胞。随后,将构建完成的 THP-1 巨噬细胞转移到含有 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ox-LDL 的 1640 完全培养基中孵育 24 h,成功构建 THP-1 源性泡沫细胞。

③实验分组。根据实验需求,将实验分为 3 组进行处理。PMA 组:将 THP-1 源性巨噬细胞在正常的 1640 完全培养基中培养 24 h。ox-LDL 组:将 THP-1 源性巨噬细胞用浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 ox-LDL 处理,并在 1640 完全培养基中培养 24 h。药物干预(ox-LDL+LEO)组:找出实验中最优的 LEO 浓度,在 THP-1 源性巨噬细胞中进行预处理 1 h,然后加入 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 ox-LDL,并在 1640 完全培养基中培养 24 h。

④MTT 检测益母草碱对 THP-1 巨噬细胞和 THP-1 源性泡沫细胞活力的影响。向对数生长期的细胞中加入 100 ng/mL PMA 刺激 24 h。每孔接种 1×10^4 个细胞于 96 孔板中,24 h 贴壁后,弃去培养基。分别加入不同浓度(0、10、20、40、80 $\mu\text{mol}/\text{L}$)的 LEO 继续培养,并分别于 24 h、48 h 进行观察。THP-1 经 PMA 刺激分化为巨噬细胞后,分别加入不同浓度(0、10、20、40、80 $\mu\text{mol}/\text{L}$)的 LEO 处理 1 h,每组再分别给予 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 ox-LDL,孵育 24 h、48 h 分别进行观察。在培养结束后,向每孔加入

20 μL MTT,并继续培养 4 h,然后弃去上清液,每孔加入 150 μL DMSO 溶液混合均匀。用酶标仪在 490 nm 波长处测量吸光度(OD)。

⑤油红 O 染色观察 THP-1 源性巨噬细胞泡沫化程度。取对数生长期的 THP-1 细胞,按分组给药处理后,缓慢吸去细胞培养液,采用 PBS 洗 1 次,4%多聚甲醛固定 10 min,PBS 漂洗两次。加入适量的染色洗涤液覆盖细胞 20 s,吸除洗涤液,加入 1 mL 油红 O 染色工作液,染色 20 min。去除油红 O 染色工作液,加入适量染色洗涤液,静置 30 s,去除染色洗涤液,用 PBS 洗涤 20 s,更换 PBS,均匀覆盖细胞,在显微镜下观察和拍照。

⑥细胞内 TC、TG 和细胞上清液中 IL-1 β 、IL-18 和 LDH 含量测定。取对数生长期的 THP-1 细胞,按分组给药处理后,按照试剂盒说明书步骤,检测 THP-1 细胞内 TG、TC 水平和细胞上清液中 IL-1 β 、IL-18、LDH 的含量。

⑦ROS 含量测定。取对数生长期的 THP-1 细胞,按分组给药处理后,收集细胞沉淀,PBS 洗涤 3 次,每组加入 2×10^{-6} mol/L 的 ROS 探针 DCFH-DA,避光室温染色 30 min,PBS 洗涤之后,使用流式细胞仪检测 ROS 水平。

⑧Western blot 实验。取对数生长期的 THP-1 细胞,按分组给药处理后,收集细胞沉淀,加入适量裂解液冰上放置 30 min 后,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,以 12 000 r/min 的速度离心 20 min,取上清液,采用 BCA 法定量。之后用 10% SDS-PAGE 电泳分离 120 min,转膜 70 min,5%脱脂牛奶室温封闭 3 h,加入一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,PBST 洗 3 次,每次 10 min,与二抗室温孵育 1 h,PBST 洗 3 次,每次 10 min,加入 ECL 发光液,采用免疫印迹成像系统检测目的蛋白。

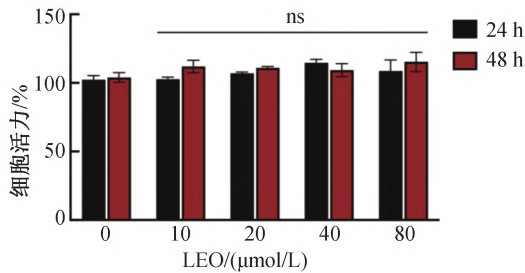
1.3 统计学方法

所得数据采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。采用独立样本 *t* 检验进行两样本间比较,多组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 LEO 对 THP-1 巨噬细胞存活率的影响

在 THP-1 巨噬细胞中,加入不同浓度的 LEO,分别处理 24 h 和 48 h,采用 MTT 法检测细胞活性。如图 1 所示,当 LEO 浓度为 10、20、40 和 80 $\mu\text{mol/L}$ 时,与仅加入 PMA 组相比,LEO 对细胞活性并没有明显的抑制作用。

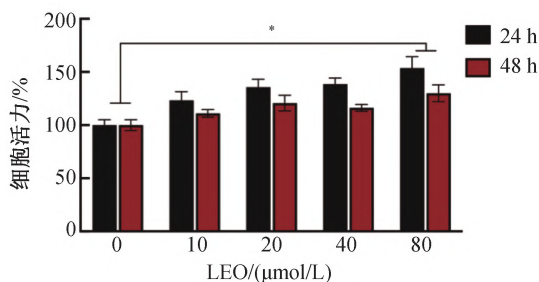


注:与 0 $\mu\text{mol/L}$ LEO 相比,ns 表示 $P>0.05$ 。

图 1 不同浓度 LEO 对 THP-1 巨噬细胞存活率的影响

2.2 LEO 可减少 ox-LDL 对 THP-1 巨噬细胞活性的影响

THP-1 细胞经 PMA 刺激为巨噬细胞,在 ox-LDL 诱导为泡沫细胞前 1 h,加入不同浓度的 LEO 分别处理 24 h 和 48 h,使用 MTT 法检测细胞活性。如图 2 所示,随着 LEO 浓度的递增,细胞活性呈现浓度依赖性上升。在 80 $\mu\text{mol/L}$ 的 LEO 浓度下,与仅接受 ox-LDL 处理组相比较,THP-1 源性泡沫细胞的活性增强。基于以上结果,本研究选择 80 $\mu\text{mol/L}$ 的 LEO 为后续实验的药物浓度。



注:与 0 $\mu\text{mol/L}$ LEO 相比,* $P<0.05$ 。

图 2 不同浓度 LEO 对 THP-1 源性泡沫细胞存活率的影响

2.3 LEO 对 ox-LDL 诱导的 THP-1 巨噬细胞损伤的改善效果

显微镜下,PMA 组细胞生长正常,而 ox-LDL 组细胞数量减少,生长受抑制,表现为细胞圆润、透明、膜胀大和内容物溢出,加入 LEO 后,这些现象减轻,结果如图 3 所示。此结果提示,LEO 对 ox-LDL 诱导的巨噬细胞死亡具有一定的逆转作用。

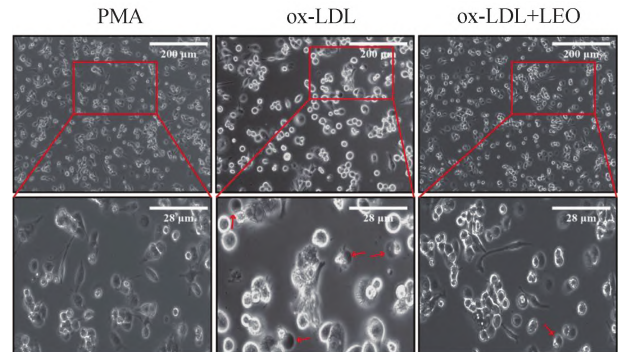
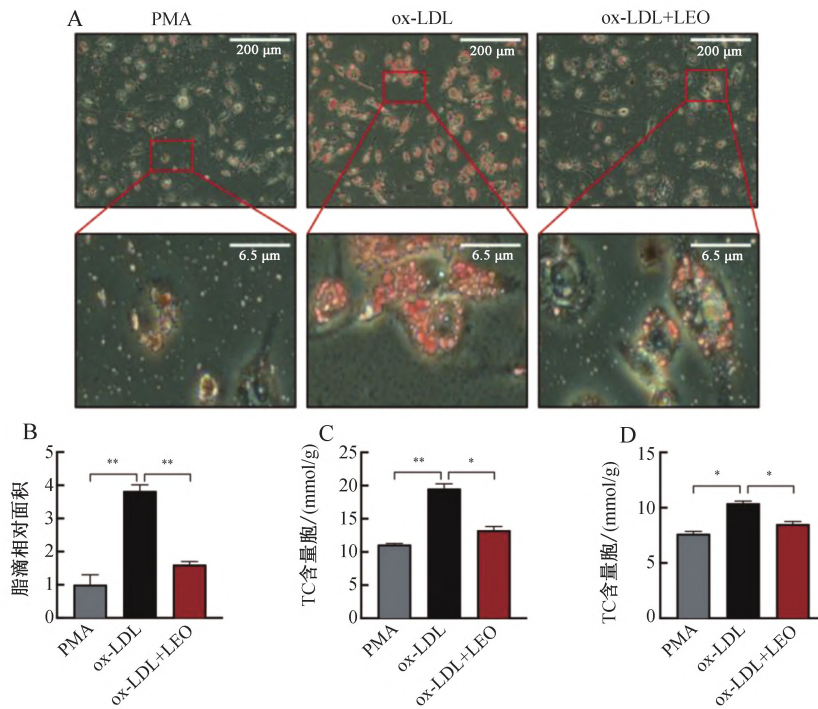


图 3 ox-LDL 和 LEO 处理后的 THP-1 细胞形态

2.4 LEO 对 ox-LDL 诱导的 THP-1 巨噬细胞脂质积累的影响

油红 O 染色显示,与 PMA 组相比,ox-LDL 组的泡沫细胞和红色脂滴显著增加,经 80 $\mu\text{mol/L}$ LEO 处理后,这些脂滴明显减少,泡沫细胞数量降低,结果如图 4A、图 4B 所示。ELISA 检测结果表明,ox-LDL 处理的 THP-1 巨噬细胞中的总胆固醇和甘油三酯比 PMA 组高,而 LEO 可抑制总胆固醇和甘油三酯的增加,结果如图 4C、图 4D 所示。此结果说明,LEO 能减少 THP-1 源性泡沫细胞脂质沉积。



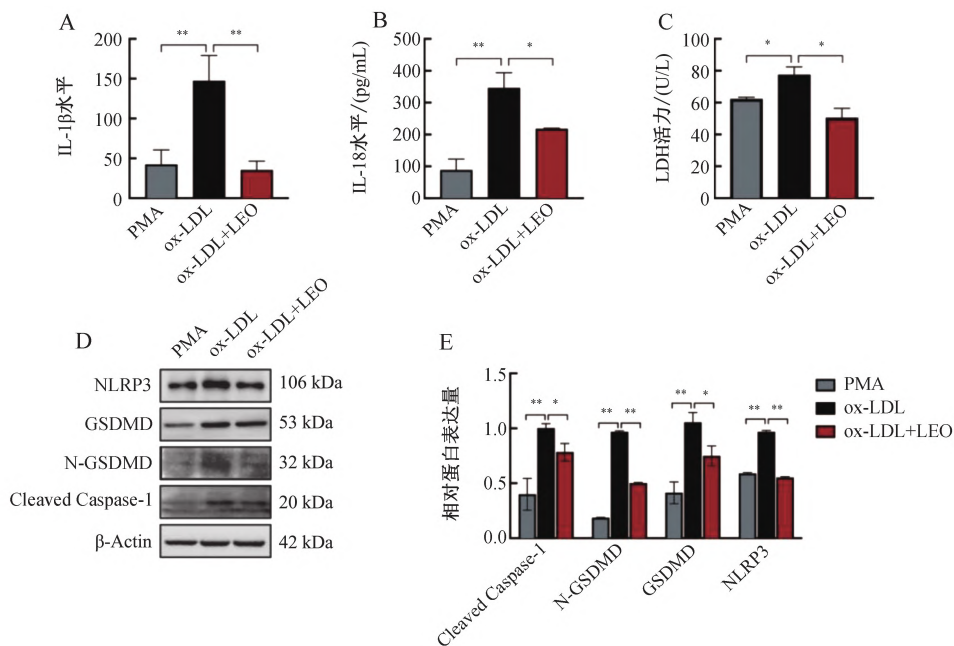
注:A.油红 O 染色;B.脂滴相对面积;C.TC 含量(以蛋白质计);D.TG 含量(以蛋白质计)。与 ox-LDL 组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

图 4 LEO 对 ox-LDL 诱导的 THP-1 巨噬细胞脂质积累的影响

2.5 LEO 对 ox-LDL 诱导的 THP-1 巨噬细胞焦亡的影响

如图 5A、图 5B、图 5C 所示, ox-LDL 增加了 THP-1 巨噬细胞中 IL-1 β 、IL-18 和 LDH 的释放。然而,LEO 的应用可有效降低这些指标。如图 5D、图

5E 所示, LEO 还能抑制 ox-LDL 引起的 Cleaved Caspase-1 和 N-GSDMD 表达增加,减少细胞焦亡。这表明 LEO 可能通过减少细胞焦亡蛋白来阻止 ox-LDL 诱导的 THP-1 巨噬细胞焦亡。



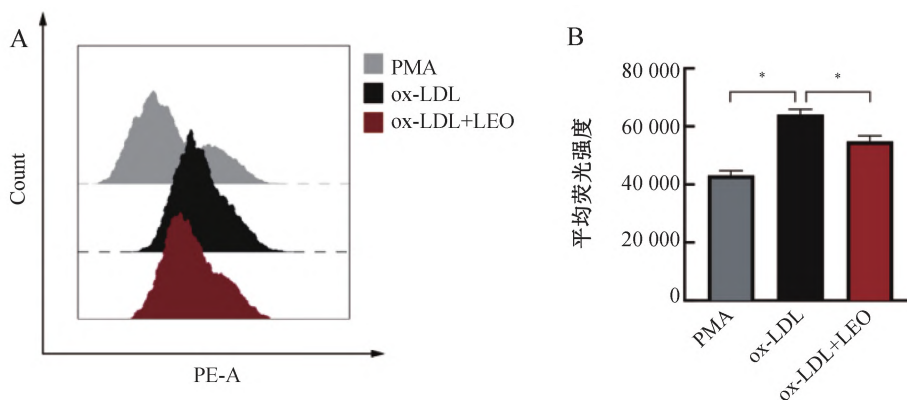
注:A.IL-1 β 含量;B.IL-18 含量;C.LDH 活力;D.目的条带;E.灰度值定量分析。与 ox-LDL 组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

图 5 LEO 对 ox-LDL 诱导的 THP-1 巨噬细胞焦亡的影响

2.6 LEO 对 ox-LDL 诱导的 THP-1 巨噬细胞 ROS 的影响

根据前面结果,观察到 THP-1 源性泡沫细胞的形成,并且可能发生了细胞焦亡,细胞焦亡的发生通常伴随着细胞内 ROS 的累积。流式细胞术检测 ROS 水平显示,经过 ox-LDL 处理后的巨噬细胞与

PMA 组相比,细胞内 ROS 生成显著增加,结果如图 6 所示。然而,在 ox-LDL+LEO 组中,与 ox-LDL 组相比,细胞内升高的 ROS 水平得到有效抑制。这表明 LEO 能够显著抑制 ox-LDL 诱导的 THP-1 巨噬细胞内 ROS 生成增加。



注:与 ox-LDL 组相比,* $P < 0.05$ 。

图 6 LEO 对 THP-1 源性泡沫细胞 ROS 的影响

3 讨论

AS 是由大中型动脉内的脂质沉积和斑块累积引起的疾病,是心脑血管疾病发生的主要原因^[20]。巨噬细胞是 AS 中关键的参与者,是动脉壁内主要的免疫细胞,能产生促炎因子并广泛参与脂质蓄积及血管内皮重塑等过程^[21]。其中,ox-LDL 在促进巨噬细胞向泡沫细胞转化的过程中发挥着关键作用,这一过程对于动脉粥样硬化的发展至关重要,并且一直是研究焦点^[22-23]。巨噬细胞持续吞噬大量的 ox-LDL,细胞内脂质输入和输出不平衡,导致细胞内脂质代谢的紊乱,大量的脂质蓄积致使巨噬细胞的迁移能力减弱,形成泡沫细胞,最终演变为粥样斑块^[24]。本研究采用油红 O 染色研究 LEO 对 ox-LDL 诱导的泡沫细胞生成的影响。结果显示,在 PMA 组细胞内有较少的红色脂滴,ox-LDL 组细胞内红色脂滴显著增多,LEO 干预后,红色脂滴明显减少,说明 LEO 可有效抑制 THP-1 源性泡沫细胞的脂质蓄积。同时对细胞中的 TC、TG 进行检测,发现经过 ox-LDL 处理的 THP-1 巨噬细胞中,TC 和 TG 的含量明显增加,使用 LEO 干预后,这种增加趋势被有效抑制。

本研究结果显示,LEO 可以抑制 THP-1 源性泡沫细胞内脂质沉积,降低泡沫化水平。这些观察结果揭示了 LEO 参与影响 THP-1 源性泡沫细胞的形成,而具体的调控机制有待进一步研究。

除脂质代谢紊乱外,慢性炎症也在 AS 的发展中起着至关重要的作用^[25]。脂质蓄积进一步加重时,会引起粥样斑块中的巨噬细胞/泡沫细胞发生死亡,并释放大促炎因子,导致斑块失稳,引起继发性病变^[26]。有研究^[27-29]表明,AS 会出现多种类型巨噬细胞死亡,如凋亡、坏死、焦亡、铁死亡等。细胞焦亡又称为炎症相关性死亡^[30],其形态特征为光镜下细胞体积增大、质膜破裂、细胞内容物和促炎因子(如 IL-1 β 、IL-18 和 LDH)迅速释放。本研究中,LEO 可逆转 ox-LDL 导致的细胞生长抑制以及细胞死亡,并且可降低 ox-LDL 导致的 THP-1 巨噬细胞中炎症因子及 LDH 表达水平的升高。细胞焦亡所致的促炎性细胞程序性死亡与 NLRP3 密切相关,它的激活受多种因素的调控^[26,31]。被激活后的 NLRP3 炎症小体,会活化 Caspase1 和 GSDMD,从而诱导细胞焦亡^[32-33]。本研究中,LEO 处理会下调 NLRP3 的蛋白

表达,它的下调提示 NLRP3 炎症小体的活性降低,同时发现其下游被激活的 Caspase-1 和 GSDMD 也被 LEO 抑制。以上结果说明,LEO 抗 AS 的作用可能与其抑制 ox-LDL 诱导的巨噬细胞焦亡有关。

众多研究^[34-36]表明,细胞焦亡的发生常常伴随着细胞内氧化水平过度,即 ROS 的水平上调。当使用 N-乙酰半胱氨酸等抗氧化剂清除胞内过高 ROS 水平时,NLRP3 的蛋白表达也呈现下降趋势,细胞焦亡被抑制,因此异常 ROS 水平被认为是下游 NLRP3 炎症小体激活的信号^[37]。本实验检测了细胞内 ROS 含量,结果表明,LEO 预先干预可以有效抑制 ox-LDL 引起细胞内 ROS 水平的升高。以上体外实验结果表明,LEO 可抑制 ox-LDL 诱导的 THP-1 源性泡沫细胞的脂质沉积、ROS 生成和细胞焦亡。

4 结论

LEO 能够降低 ox-LDL 诱导的 THP-1 源性泡沫细胞的脂质沉积和泡沫化程度,同时减少 THP-1 源性巨噬细胞中 ROS 的生成和抑制细胞焦亡的发生,这些结果为 LEO 在心脑血管疾病中的抗动脉粥样硬化作用提供了新的理论支持。

参考文献

- [1] ZHANG S, HONG F F, MA C, et al. Hepatic lipid metabolism disorder and atherosclerosis[J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2022, 22(6): 590-600.
- [2] LACY M, ATZLER D, LIU R Q, et al. Interactions between dyslipidemia and the immune system and their relevance as putative therapeutic targets in atherosclerosis[J]. *Pharmacol Ther*, 2019, 193: 50-62.
- [3] TIAN K M, XU Y, SAHEBKAR A, et al. CD36 in atherosclerosis: pathophysiological mechanisms and therapeutic implications[J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2020, 22(10): 59.
- [4] JIA M P, LI Q H, GUO J Y, et al. Deletion of BACH1 attenuates atherosclerosis by reducing endothelial inflammation[J]. *Circ Res*, 2022, 130(7): 1038-1055.
- [5] SUN Z W, CHEN W J, WANG Z, et al. Matr3 reshapes m6A modification complex to alleviate macrophage inflammation during atherosclerosis[J]. *Clin Immunol*, 2022, 245: 109176.
- [6] OUYANG Z, ZHONG J, SHEN J Y, et al. The cell origins of foam cell and lipid metabolism regulated by mechanical stress in atherosclerosis [J]. *Front Physiol*, 2023, 14: 1179828.
- [7] BECK-JOSEPH J, LEHOUX S. Molecular interactions between vascular smooth muscle cells and macrophages in atherosclerosis[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 737934.
- [8] ZHENG L, XU H B, ZHENG F F, et al. Intervention time decides the status of autophagy, NLRP3 activity and apoptosis in macrophages induced by ox-LDL[J]. *Lipids Health Dis*, 2022, 21(1): 107.
- [9] ZHANG X, SESSA W C, FERNÁNDEZ-HERNANDO C. Endothelial transcytosis of lipoproteins in atherosclerosis [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2018, 5: 130.
- [10] SUN J H, FAN J R, YANG F, et al. Effect and possible mechanisms of saponins in Chinese herbal medicine exerts for the treatment of myocardial ischemia-reperfusion injury in experimental animal: a systematic review and meta-analysis[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2023, 10: 1147740.
- [11] ZHANG Q, LIU J, DUAN H, et al. Activation of Nrf2/HO-1 signaling: an important molecular mechanism of herbal medicine in the treatment of atherosclerosis via the protection of vascular endothelial cells from oxidative stress[J]. *J Adv Res*, 2021, 34: 43-63.
- [12] MENG T W, LI X H, LI C J, et al. Natural products of traditional Chinese medicine treat atherosclerosis by regulating inflammatory and oxidative stress pathways[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 997598.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [14] 李艳, 苗明三. 益母草药理作用研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2023, 41(5): 102-106.
- [15] 乔晶晶, 吴啟南, 薛敏, 等. 益母草化学成分与药理作用研究进展[J]. *中草药*, 2018, 49(23): 5691-5704.
- [16] HU J Q, GU W J, MA N, et al. LEO urine alleviates ferroptosis in cisplatin-induced acute kidney injury by activating the Nrf2 signalling pathway [J]. *Br J Pharmacol*, 2022, 179(15): 3991-4009.
- [17] JIANG T, REN K, CHEN Q, et al. LEO urine prevents atherosclerosis via promoting the expression of ABCA1 and ABCG1 in a ppar γ /lxr α signaling pathway-dependent manner[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(4): 1703-1717.
- [18] LIAO L, ZHOU M T, WANG J, et al. Identification of the

- antithrombotic mechanism of LEOnurine in Adrenalin hydrochloride-induced thrombosis in zebrafish via regulating oxidative stress and coagulation cascade [J]. *Front Pharmacol* 2021,12;742954.
- [19] NING K, WANG M J, LIN G, et al. eNOS-nitric oxide system contributes to a novel antiatherogenic effect of LEOnurine via inflammation inhibition and plaque stabilization[J]. *J Pharmacol Exp Ther*,2020,373(3):463-475.
- [20] PALOMBO C, KOZAKOVA M. Arterial stiffness, atherosclerosis and cardiovascular risk; pathophysiologic mechanisms and emerging clinical indications [J]. *Vascul Pharmacol*,2016,77:1-7.
- [21] OREKHOV A N. LDL and foam cell formation as the basis of atherogenesis [J]. *Curr Opin Lipidol*,2018,29(4):279-284.
- [22] ZHANG Z B, QIN X T, LIU J Y, et al. Role and mechanism of the zinc finger protein ZNF₈₀ in foam-cell formation [J]. *Exp Ther Med*,2022,24(3):579.
- [23] GUI Y, ZHENG H, CAO R Y. Foam cells in atherosclerosis: novel insights into its origins, consequences, and molecular mechanisms [J]. *Front Cardiovasc Med*,2022,9:845942.
- [24] WANG B Q, TANG X N, YAO L, et al. Disruption of USP9X in macrophages promotes foam cell formation and atherosclerosis [J]. *J Clin Invest*, 2022, 132 (10): e154217.
- [25] DORAN A C. Inflammation resolution: implications for atherosclerosis [J]. *Circ Res*,2022,130(1):130-148.
- [26] SCHWARZ N, FERNANDO S, CHEN Y C, et al. Colchicine exerts anti-atherosclerotic and-plaque-stabilizing effects targeting foam cell formation [J]. *FASEB J*,2023,37(4):e22846.
- [27] LIN X Y, OUYANG S Y, ZHI C X, et al. Focus on ferroptosis, pyroptosis, apoptosis and autophagy of vascular endothelial cells to the strategic targets for the treatment of atherosclerosis [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2022, 715: 109098.
- [28] LIN L, ZHANG M X, ZHANG L, et al. Autophagy, pyroptosis, and ferroptosis: new regulatory mechanisms for atherosclerosis [J]. *Front Cell Dev Biol*,2021,9:809955.
- [29] FARAHI L, SINHA S K, LUSIS A J. Roles of macrophages in atherogenesis [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 785220.
- [30] LIU C, JIANG Z C, PAN Z J, et al. The function, regulation and mechanism of programmed cell death of macrophages in atherosclerosis [J]. *Front Cell Dev Biol*,2021,9:809516.
- [31] LU N, CHENG W J, LIU D L, et al. NLRP3-mediated inflammation in atherosclerosis and associated therapeutics [J]. *Front Cell Dev Biol*,2022,10:823387.
- [32] COLL R C, SCHRODER K, PELEGRÍN P. NLRP3 and pyroptosis blockers for treating inflammatory diseases [J]. *Trends Pharmacol Sci*,2022,43(8):653-668.
- [33] RAN Y Y, SU W, GAO F H, et al. Curcumin ameliorates white matter injury after ischemic stroke by inhibiting microglia/macrophage pyroptosis through NF- κ B suppression and NLRP3 inflammasome inhibition [J]. *Oxid Med Cell Longev*,2021,2021:1552127.
- [34] TIAN K, YANG Y, ZHOU K, et al. The role of ROS-induced pyroptosis in CVD [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2023,10:1116509.
- [35] WEINDEL C G, MARTINEZ E L, ZHAO X, et al. Mitochondrial ROS promotes susceptibility to infection via gasdermin D-mediated necroptosis [J]. *Cell*,2022,185(17):3214-3231.
- [36] XIE W, PENG M, LIU Y, et al. Simvastatin induces pyroptosis via ROS/caspase-1/GSDMD pathway in colon cancer [J]. *Cell Commun Signal*,2023,21(1):329.
- [37] BILLINGHAM L K, STOOLMAN J S, VASAN K, et al. Mitochondrial electron transport chain is necessary for NLRP3 inflammasome activation [J]. *Nat Immunol*, 2022, 23(5):692-704.

[收稿日期:2023-10-12]

[责任编辑:郭海婷 英文编辑:李佳睿]