

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2019.02.003

石榴皮多酚对胆固醇流出及相关蛋白表达的影响

Effects of pomegranate peel polyphenols on cholesterol efflux and related protein expression

赵胜娟^{1,2} 向进乐² 陈树兴²ZHAO Sheng-juan^{1,2} XIANG Jin-le² CHEN Shu-xing²费鹏² 徐云凤² 李建科¹FEI Peng² XU Yun-feng² LI Jian-ke¹

(1. 陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710119;

2. 河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471023)

(1. College of Food Engineering and Nutrition Science, Shaanxi Normal University, Xi'an, Shaanxi 710119, China; 2. College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471023, China)

摘要:利用 Raw264.7 巨噬细胞源性泡沫细胞模型, 阐明石榴皮多酚对高密度脂蛋白 (High density lipoprotein, HDL) 介导 Raw264.7 泡沫细胞胆固醇流出的调控作用, 并采用蛋白质免疫印迹法 (Western blotting, WB), 分析石榴皮多酚对巨噬细胞胆固醇流出相关蛋白清道夫受体 B1 (Scavenger receptor B1, SR-B1)、酰基辅酶 A1: 胆固醇酰基转移酶 (acyl-coenzyme A1: cholesterol acyltransferase, ACAT1) 和胆固醇酯水解酶 (cholesteryl ester hydrolase, nCEH) 表达的影响, 揭示细胞 ACAT1 和 nCEH 活性的变化。结果表明: 石榴皮多酚可促进 HDL 介导的胆固醇流出, 显著上调胆固醇流出相关蛋白 SR-B1 的表达 ($P < 0.05$); 此外, 石榴皮多酚对 nCEH 和 ACAT1 蛋白表达影响不显著 ($P > 0.05$), 但可显著降低 ACAT1 的酶活 ($P < 0.05$), 提高 nCEH 酶活性 ($P < 0.05$), 从而有利于细胞内胆固醇酯向游离胆固醇的转化和流出。

关键词:石榴皮; 多酚; Raw264.7 巨噬细胞; SR-B1 蛋白表达; 胆固醇流出

Abstract: In order to explore the effects of pomegranate peel polyphenols (PPPs) on SR-B1 protein expression and cholesterol efflux, in this study, Raw264.7 macrophages derived from foam

cells were used as the model to illuminate the effects of PPPs on cholesterol efflux mediated by HDL. Western blot method was used to analyze the expression of scavenger receptor B1 (SR-B1), acyl-coenzyme A1: cholesterol acyltransferase (ACAT1) and cholesteryl ester hydrolase (nCEH). Further, the activity changes of ACAT1 and nCEH were revealed. The results showed that PPPs promoted the HDL-mediated cholesterol efflux and up-regulated the expression of SR-B1 significantly ($P < 0.05$). In addition, the PPPs had no significant effects on nCEH and ACAT1 protein expression ($P > 0.05$), but could significantly reduce the enzyme activity of ACAT1 and increase that of nCEH ($P < 0.05$), which facilitated the transformation and outflow of intracellular cholesterol esters to free cholesterol.

Keywords: pomegranate peel; polyphenol; Raw264.7 macrophages; scavenger receptor B1 expression; cholesterol efflux

胆固醇代谢有着严格的调控机制, 在正常情况下, 细胞内的胆固醇代谢保持着动态平衡, 该平衡一旦打破会导致机体病变, 因此维持机体细胞内胆固醇的动态平衡至关重要^[1-2]。当机体内皮细胞受到外界刺激发生损伤时, 巨噬细胞对胆固醇的摄入不受细胞内胆固醇含量负反馈机制的调节, 进而会打破巨噬细胞内胆固醇的平衡, 在细胞内形成大量脂滴, 直至巨噬细胞发生泡沫化, 导致动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 的发生, 严重地危害人们的健康^[3-4]。

石榴皮多酚 (pomegranate peel polyphenols, PPPs) 是石榴中重要的活性成分, 具有抗氧化、抗癌、抗菌、降血脂

基金项目:国家自然科学基金面上项目 (编号: 31871801); 中央高校项目 (编号: GK201706003)

作者简介: 赵胜娟, 女, 河南科技大学讲师, 博士。

通信作者: 李建科 (1960—), 男, 陕西师范大学教授, 博士生导师, 博士。E-mail: jiankel@snnu.edu.cn

收稿日期: 2018-10-12

等多种生物学功能^[5]。研究^[6-7]表明 PPPs 可以降低巨噬细胞胆固醇和氧化脂质的积累,以抑制泡沫细胞的形成,从而减少 AS 及心血管疾病的发生,然而,石榴多酚抑制泡沫细胞形成的机制尚不完全清楚。促进巨噬细胞胆固醇流出对减少细胞内脂滴形成、防止巨噬细胞泡沫化和 AS 发生具有重要意义,已经成为了研究减缓或防止 AS 发生的一个新靶点^[8]。现有研究^[9-11]表明,清道夫受体 B1(Scavenger receptor B1, SR-B1)、酰基辅酶 A:胆固醇酰基转移酶(acyl-coenzyme A1: cholesterol acyltransferase, ACAT1)和胆固醇酯水解酶(cholesteryl ester hydrolase, nCEH)与机体胆固醇的流出密切相关。SR-B1 是重要的抗 AS 受体,参与胆固醇酯的逆转运,能够有效地促进胆固醇的流出^[12]。ACAT1 和 nCEH 是调节机体内胆固醇平衡代谢的关键蛋白^[10],能够维持细胞中游离胆固醇(free cholesterol, FC)的浓度,促进胆固醇的流出。因此,分析 PPPs 对 SR-B1、ACAT1 和 nCEH 蛋白表达调控作用对解释该物质促进胆固醇流出的作用机制至关重要。

本试验拟以 PPPs 为研究对象,构建 Raw264.7 巨噬细胞源性泡沫细胞模型,探索 PPPs 对 SR-B1 及胆固醇平衡代谢关键蛋白酶(SR-B1、ACAT1 和 nCEH)表达的影响,分析在 PPPs 作用下 ACAT1 和 nCEH 酶活性的变化,为揭示 PPPs 促进胆固醇流出及抑制泡沫细胞形成的机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

PPPs:紫外检测多酚含量为 60%,主要成分为鞣花酸、没食子酸和安石榴苷,在浓度为 0~50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时对巨噬细胞无毒性^[13],陕西天地源生物科技有限公司;

Raw264.7 小鼠巨噬细胞:陕西师范大学食品营养与安全实验室保存;

胆固醇测定试剂盒:北京普利来基因技术有限公司;

ox-LDL、高密度脂蛋白(High density lipoprotein, HDL):广州奕源生物公司;

DMEM 无酚红基础培养基:美国 Hyclone 公司;

胎牛血清:Gibco 10099-141,美国 Gibco | Life Technologies 公司;

ACAT1(BS8471):美国 Bioworld Technology 公司;

nCEH(ab111544)抗体、SR-B1 抗体(ab52629):英国 Abcam 公司;

ACAT1、nCEH 的 ELISA 试剂盒:上海酶联生物技术有限公司。

1.2 仪器

普通倒置显微镜:OLYMPUS CKX41 型,日本 OLYMPUS 公司;

全波长酶标仪:Multiskan GO 型,美国热电公司;

生物柜:ESCO AC2-4S1 型,新加坡 ESCO 有限公司;

脱色摇床:WD-9405A 型,北京六一仪器厂;

暗匣:AX-II 型,广东粤华医疗器械厂有限公司;

电泳仪:DYY-6C 型,北京六一仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 Raw264.7 巨噬细胞源性泡沫细胞模型的建立

收集对数生长期的小鼠巨噬细胞 Raw264.7,调整到适宜浓度,接种于 12 孔板,正常培养 24 h 后,更换无血清培养基继续培养 12 h,使细胞同步化,然后分为正常对照组,泡沫细胞模型组(Ox-LDL)组,正常对照组更换新鲜培养基,泡沫细胞组加入含 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Ox-LDL 的培养基。继续培养 24 h,弃培养基用 PBS 清洗 2 次,然后对细胞进行油红 O 染色,测定其游离胆固醇和总胆固醇^[14]。

1.3.2 石榴皮多酚对 HDL 介导的巨噬细胞胆固醇流出的影响 收集对数生长期的小鼠巨噬细胞 Raw264.7,调整到适宜浓度,接种于 96 孔板,正常培养 24 h 后,细胞用 PBS 清洗 2 次,更换无血清培养基,并分成 4 组(对照和药物处理组),具体分组情况见表 1,药物组加入各浓度 PPPs 对细胞进行预处理,1 h 后加入 ox-LDL(终浓度为 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$),再继续培养 24 h,之后更换含 HDL(50 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的无血清无酚红培养基继续培养,24 h 后收集细胞液,4 $^{\circ}\text{C}$ 、10 000 r/min 离心 5 min,然后用胆固醇测定试剂盒测定上清胆固醇含量。

表 1 细胞处理分组

Table 1 Cell processing groups

组别	处理
1	Ox-LDL(对照)
2	Ox-LDL+PPPs-5
3	Ox-LDL+PPPs-25
4	Ox-LDL+PPPs-50

1.3.3 Western blotting 法检测 SR-B1、ACAT1 和 nCEH 的蛋白表达 不同浓度 PPPs 预处理 Raw264.7 细胞 1 h 后,加入 Ox-LDL 共同作用泡沫细胞 24 h 后,收集细胞,确定蛋白浓度,然后将相同量的各蛋白样品加入准备好的各电泳孔中进行 10% SDS-PAGE 电泳,然后将胶片转膜至 PVDF 膜,用 5%脱脂乳进行封闭,再用滤纸吸干封闭液,加入稀释好的一抗(ACAT1 抗体,nCEH 抗体,SR-B1 抗体)孵育过夜,然后与二抗孵育,结束后进行 ECL 显色,并用 Quantity-one 软件处理^[15]。

1.3.4 细胞 ACAT1 和 nCEH 酶活性的检测 不同浓度 PPPs 预处理 Raw264.7 细胞 1 h 后,加入 Ox-LDL 共同作

用泡沫细胞 24 h 后,收集细胞,然后采用 ELISA 试剂盒检测 ACAT1 和 nCEH 的酶活力。

1.4 数据处理

所得数据采用均数±标准差表示,用 SPSS13.0 软件分析,差异显著性检验采用单因素方差分析,并用 Duncan 法进行多重比较, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 差异极显著,表示差异具有统计学意义。

2 结果与分析

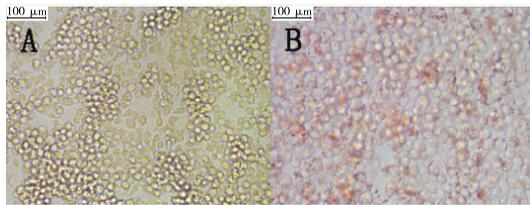
2.1 Raw264.7 巨噬细胞源性泡沫细胞模型的建立

由表 2 和图 1 可知,总胆固醇、游离胆固醇和胆固醇酯含量均明显增加,总胆固醇增加了近 2 倍,细胞内胆固醇酯占总胆固醇的比例(CE/TC) $> 50\%$,表示泡沫细胞模型建立成功^[16]。油红 O 染色结果显示,巨噬细胞内无明显红色脂滴,而泡沫细胞内有大量红色脂滴存在,进一步显示泡沫细胞模型构建成功。

表 2 细胞泡沫化程度

Table 2 Degree of cellular foam ($n=3$)

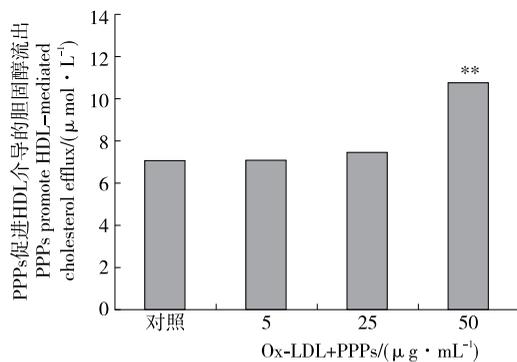
组别	总胆固醇(TC)/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{Prot}$)	游离胆固醇(FC)/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{Prot}$)	胆固醇酯(CE)/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{Prot}$)	CE/TC/%
巨噬细胞	15.82±1.92	11.12±0.52	4.70±1.37	29.7
泡沫细胞	45.35±2.78	21.70±0.57	23.65±2.34	52.1



(a) 巨噬细胞 (b) 泡沫细胞

图 1 巨噬细胞和泡沫细胞油红 O 染色图

Figure 1 Macrophage and foam cell oil red O staining($\times 400$)



** 表示与对照相比差异极显著($P < 0.01$)

图 2 PPPs 对 HDL 介导的胆固醇流出的影响

Figure 2 Effect of PPPs on HDL-mediated cholesterol efflux ($n=3$)

2.2 石榴皮多酚对 HDL 介导的巨噬细胞胆固醇流出的影响

图 2 显示,随着 PPPs 浓度的增加,HDL 介导的总胆固醇流出量也呈递增趋势,呈现一定的剂量效应关系,但 5, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 剂量均未能达到差异显著性,50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 剂量则极显著增加了胆固醇流出量,增加量达 50% 以上。

2.3 石榴皮多酚对 Raw264.7 细胞 SR-B1 蛋白表达的影响

由图 3 可知,Raw264.7 细胞 SR-B1 蛋白的表达受到了 PPPs 影响,且当 PPPs 浓度为 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时调控作用最显著。利用 Quantity-one 软件对 SDS-PAGE 图谱进行量化,如图 4 所示,当 PPPs 的剂量为 25, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,SR-B1 蛋白的表达量显著上调($P < 0.01$),且以 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 剂量对 SR-B1 的上调作用最强。但 PPPs 对 SR-B1 蛋白表达的影响并未呈现良好的剂量关系。

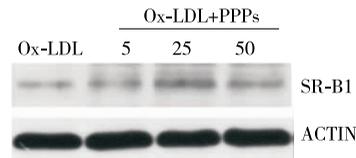
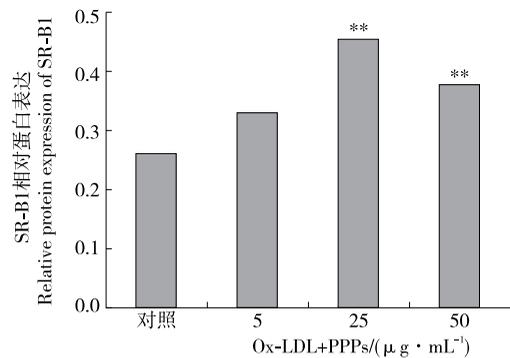


图 3 不同浓度 PPPs 作用下 SR-B1 受体表达图谱

Figure 3 The expression pattern of SR-B1 receptor after treatments with different concentrations of PPPs



** 表示与对照相比差异极显著($P < 0.01$)

图 4 石榴皮多酚对 Raw264.7 细胞 SR-B1 蛋白表达的影响

Figure 4 Effect of PPPs on the protein expression of SR-B1 in Raw264.7 Macrophages ($n=3$)

2.4 石榴皮多酚对 Raw264.7 细胞 ACAT1 和 nCEH 蛋白表达的影响

由图 5 可知, PPPs 处理组对 Raw264.7 细胞 ACAT1 和 nCEH 蛋白的表达无显著影响。利用 Quantity-one 软件量化后的结果(图 6), 表明 PPPs 对 Raw264.7 细胞 ACAT1 和 nCEH 蛋白表达的作用不显著($P>0.05$)。

2.5 石榴皮多酚对 Raw264.7 细胞 ACAT1 和 nCEH 活性的影响

PPPs 对 Raw264.7 细胞 ACAT1 和 nCEH 活性的影

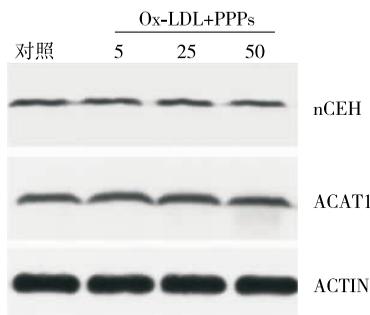


图 5 不同浓度 PPPs 作用下 ACAT1 和 nCEH 蛋白表达图谱

Figure 5 The proteins expression pattern of ACAT1 and nCEH after treatments with different concentrations of PPPs

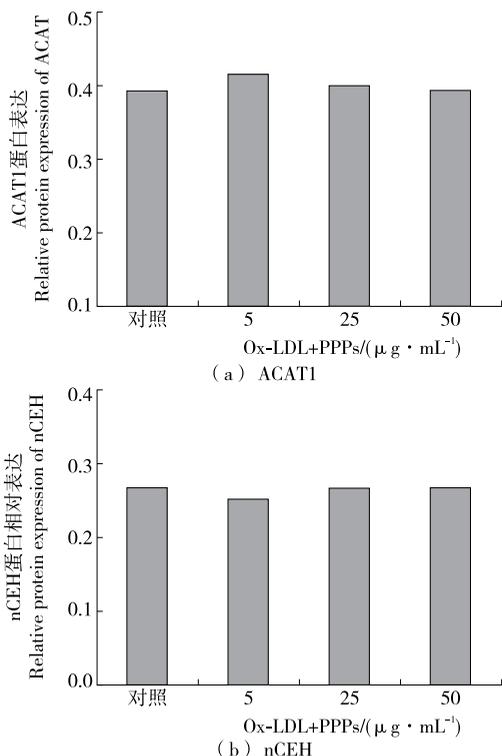


图 6 石榴皮多酚对 Raw264.7 细胞 ACAT1 和 nCEH 蛋白表达的影响

Figure 6 Effect of PPPs on ACAT1 and nCEH protein expression in Raw264.7 macrophages ($n=3$)

响见表 3。在不同剂量 PPPs 受试物处理下, PPPs 各剂量组显著降低了 ACAT1 活性($P<0.01$), 而显著升高了 nCEH 活性($P<0.01$)。说明 PPPs 可以减少胆固醇酯化, 减少泡沫细胞内的脂滴。同时 PPPs 可以促进胆固醇酯水解, 使胆固醇变为游离胆固醇, 对促进胆固醇的流出具有积极意义。

表 3 石榴皮多酚对 Raw264.7 细胞 ACAT1 和 nCEH 活性的影响[†]

Table 3 Effect of PPPs on the ACAT1 and nCEH activities in Raw264.7 macrophages ($n=3$)

组别	ACAT1/ ($\text{mU} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{Prot}$)	nCEH/ ($\text{IU} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{Prot}$)
Ox-LDL(对照)	2.25 ± 0.37	56.17 ± 4.51
Ox-LDL+PPPs-5	$1.32 \pm 0.14^{**}$	$299.33 \pm 22.34^{**}$
Ox-LDL+PPPs-25	$0.79 \pm 0.21^{**}$	$284.44 \pm 26.08^{**}$
Ox-LDL+PPPs-50	$0.58 \pm 0.02^{**}$	$438.77 \pm 28.74^{**}$

[†] ** 表示与对照相比差异极显著($P<0.01$)。

3 结论

本试验研究了 PPPs 对 HDL 介导的胆固醇流出及相关蛋白 SR-B1 的调控作用, 并揭示了 PPPs 对胆固醇在细胞内转化的 2 个关键酶 ACAT1 和 nCEH 的影响。结果表明 PPPs 可以通过上调 SR-B1 蛋白促进胆固醇流出, 同时, PPPs 虽然未能显著影响 nCEH 和 ACAT1 蛋白的表达, 但是降低了 ACAT1 的活性, 提高了 nCEH 的活性, 有助于减少巨噬细胞内脂滴的蓄积, 催化泡沫细胞脂滴中的胆固醇酯水解成游离胆固醇, 并通过细胞膜上胆固醇载体 ABCA1, SR-B1 将游离胆固醇转运到外源性受体。本研究的结果完善了 PPPs 促进 Raw264.7 巨噬细胞胆固醇流出的机理, 解释了泡沫细胞被 PPPs 抑制的机制, 为利用 PPPs 防治动脉粥样硬化等心血管疾病提供了理论依据。

此外, 本研究并未揭示 PPPs 对胆固醇流出关键酶 ACAT1 和 nCEH 酶活作用的机理, 需要进一步深入探索 PPPs 对 ACAT1, nCEH 酶活影响的途径, 从而更加全面地解释 PPPs 促进胆固醇流出的机制。

参考文献

[1] YU Xiao-hua, FU Yu-chang, ZHANG Da-wei, et al. Foam cells in atherosclerosis[J]. Clinica Chimica Acta, 2013, 424: 245-252.
 [2] MOORE K J, SHEEDY F J, FISHER E A. Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance[J]. Nature Reviews Immunology, 2013, 13: 709-721.
 [3] GLASS C K, WITZTUM J L. Atherosclerosis: the road ahead[J]. Cell, 2001, 104(4): 503-516.

(下转第 91 页)

5.16%。本试验所用银溶胶为生物合成,较常用的化学合成对环境无污染。因此该检测方法简单,环保,成本低,耗时短,灵敏度高,具有可行性。后续试验可以建立食品中其它兽药的 SERS 检测方法。

参考文献

- [1] EID M A, YUSOF N A, FARUQ M, et al. Quantitative measurement of amoxicillin in ibuprofen tablets using UPLC[J]. *Measurement*, 2016, 93: 465-472.
- [2] LEFEUVRE S, BOIS-MAUBLANC J, HOCQUELOUX L, et al. A simple ultra-high-performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry assay for the simultaneous quantification of 15 antibiotics in plasma[J]. *Journal of Chromatography B*, 2017, 1 065/1 066: 50-58.
- [3] FREITAS A, BARBOSA J, RAMOS F. Determination of amoxicillin stability in chicken meat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Analytical Methods*, 2012, 5(3): 471-479.
- [4] WANG Bo, PANG Mao-da, XIE Xing, et al. Quantitative analysis of amoxicillin, amoxicillin major metabolites, and ampicillin in chicken tissues via ultra-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Food Analytical Methods*, 2017, 10(10): 3 292-3 305.
- [5] 陈瑞春, 贾海涛, 艾连峰, 等. 高效液相色谱—串联质谱法测定牛奶和奶粉中 9 种青霉素类药物残留量[J]. *食品科学*, 2011, 32(18): 249-252.
- [6] 樊玉霞, 赖克强, 黄铁群. 表面增强拉曼光谱技术在食品痕

量化学危害检测中的应用[J]. *光谱学与光谱分析*, 2014, 34(7): 1 859-1 864.

- [7] 房晓倩, 彭彦昆, 王文秀, 等. 基于表面增强拉曼的鸡尾酒中苯甲酸钠和山梨酸钾的同时快速检测[J]. *光谱学与光谱分析*, 2018, 38(9): 2 794-2 799.
- [8] 李韦, 范贤光, 王昕, 等. 基于 SERS 的食品中乌洛托品快速检测系统设计[J]. *光谱学与光谱分析*, 2017, 37(6): 1 778-1 783.
- [9] 李言, 谢云飞, 钱和, 等. 表面增强拉曼光谱快速检测赤藓红[J]. *食品工业科技*, 2013(11): 307-309.
- [10] 许丽梅, 康靖, 曾勇明, 等. SERS 技术应用于食品中罗丹明 B 的快速检测[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(24): 238-242.
- [11] 陈思, 郭平, 骆鹏杰, 等. 拉曼光谱法快速检测硬糖中的诱惑红[J]. *食品与机械*, 2016, 32(4): 76-79.
- [12] 陈思, 郭平, 万建春, 等. 白酒中糖精钠添加剂表面增强拉曼光谱快速检测研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2017, 37(5): 1 412-1 417.
- [13] JI Wei, WANG Li, QIAN He, et al. Quantitative analysis of amoxicillin residues in foods by surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. *Spectroscopy Letters*, 2014, 47(6): 451-457.
- [14] PENG Yi-jie, LIU Mu-hua, CHEN Xiong-fei, et al. Surface-enhanced Raman spectroscopy coupled with gold nanoparticles for rapid detection of amoxicillin residues in duck meat[J]. *Spectroscopy Letters*, 2017, 50(10): 579-584.
- [15] 赵进辉, 李耀, 袁海超, 等. 鸭肉中环丙沙星残留的表面增强拉曼光谱测定[J]. *分析测试学报*, 2017(5): 701-704.
- (本文系 2018 年湖南省研究生创新论坛二等奖论文)

(上接第 14 页)

- [4] 徐留建, 杨小东, 张剑梅, 等. 细胞胆固醇流出通路研究进展[J]. *中国心血管病研究*, 2012, 10(4): 309-312.
- [5] 梁俊. 石榴皮多酚对脂质过氧化及肝细胞 HMG-CoA 还原酶活性及表达的影响[D]. 西安: 陕西师范大学, 2012: 1-3.
- [6] ROM O, AVIRAM M. Paraoxonase2 (PON2) and oxidative stress involvement in pomegranate juice protection against cigarette smoke-induced macrophage cholesterol accumulation[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2016, 259 (Pt B): 394-400.
- [7] 马倩倩. 石榴皮多酚对肝细胞胆固醇合成影响及其分子机制研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2013: 21-26.
- [8] QIN Li, YANG Yun-bo, YANG Yi-xin, et al. Inhibition of macrophage-derived foam cell formation by ezetimibe via the caveolin-1/MAPK pathway[J]. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2016, 43(2): 182-192.
- [9] JAMES R W, BRULHART-MEYNET M C, SINGH A K, et al. The scavenger receptor class B, type I is a primary determinant of paraoxonase-1 association with high-density lipoproteins[J]. *Arteriosclerosis Thrombosis & Vascular Biology*, 2010, 30(11): 2 121-2 127.
- [10] 弓伊宁, 李芙蓉, 姚伟娟. 巨噬细胞的胆固醇代谢及其影响

因素[J]. *生理科学进展*, 2016, 47(4): 291-294.

- [11] SEKIYA M, OSUGA J, IGARASHI M, et al. The role of neutral cholesterol ester hydrolysis in macrophage foam cells[J]. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 2011, 18(5): 359-364.
- [12] DURHAM K K, CHATHELY K M, MAK K C, et al. HDL protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity in a scavenger receptor class B type 1-, PI3K-, and Akt-dependent manner[J]. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 2018, 314(1): H31-H44.
- [13] ZHAO Sheng-juan, LI Jian-ke, WANG Li-fang, et al. Pomegranate peel polyphenols inhibit lipid accumulation and enhance cholesterol efflux in raw264.7 macrophages[J]. *Food & Function*, 2016, 7(7): 3 201-3 210.
- [14] 周云, 沃兴德, 卢德赵. RAW264.7 巨噬细胞源性泡沫细胞模型的建立及鉴定[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2010, 18(9): 687-690.
- [15] 刘庆艳, 白静, 赵宇, 等. 白细胞介素 34 对巨噬细胞泡沫化过程中细胞内胆固醇水平的影响[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2017, 19(1): 16-19.
- [16] 何雪峰, 李晓辉, 李淑慧, 等. 三七总皂苷对小鼠巨噬细胞源性泡沫细胞形成的影响[J]. *中国药房*, 2007, 18(30): 2 323-2 325.