

4-羟基苯乙酸对 M1 型巨噬细胞极化及巨噬细胞泡沫化的影响

Effect of 4-Hydroxyphenylacetic acid on M1 macrophage polarization and the formation of macrophage-derived foam cells

杨宇哲¹ 李桐云¹ 李 武² 杨瑞丽¹

YANG YU-zhe¹ LI Tong-yun¹ LI Wu² YANG Rui-li¹

(1. 华南农业大学食品学院, 广东 广州 510642; 2. 海南大学食品科学与工程学院, 海南 海口 570228)

(1. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China;

2. College of Food Science and Engineering, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

摘要:以多酚肠道菌群代谢物 4-羟基苯乙酸(4-hydroxyphenylacetic acid, 4-HPAA)为试验对象,研究其对 M1 型巨噬细胞极化及巨噬—泡沫细胞形成的影响。结果表明,4-HPAA 能降低巨噬细胞 M1 极化标志基因 $TNF-\alpha$ 、 $IL-6$ 和 $IL-1\beta$ 的 mRNA 表达及分泌水平,抑制 RAW 264.7 巨噬细胞向促炎的 M1 型巨噬细胞极化;油红 O 染色结果显示 4-HPAA 可显著降低 ox-LDL 诱导的巨噬细胞中脂滴蓄积,并显著降低胆固醇酯的含量($P < 0.05$)。RT-PCR 结果显示 4-HPAA 可显著上调 ox-LDL 诱导的泡沫细胞三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 G1(ABCG1),下调白细胞分化抗原 36(CD36)基因的表达水平($P < 0.05$)。说明 4-HPAA 能抑制巨噬细胞 M1 型极化,同时能抑制巨噬细胞泡沫化,表明多酚肠道菌群代谢物 4-HPAA 可能在其改善动脉粥样硬化的过程中发挥重要作用。

关键词:4-羟基苯乙酸;巨噬细胞 M1;极化;泡沫细胞;动脉粥样硬化

Abstract: The aim of the present study is to investigate the potential anti-atherogenic effect of 4-hydroxyphenylacetic acid (4-HPAA), a major microbiota-derived metabolite of polyphenols, on macrophage polarization and the formation of macrophage-derived-foam cells as well as the underlying molecular mechanisms. 4-HPAA treatment could significantly decrease the secretion and mRNA levels of $TNF-\alpha$, $IL-6$ and $IL-1\beta$ of M1 macrophages induced by lipopolysaccharide (LPS) and interferon- γ (IFN- γ), in-

dicating its ability to inhibit the polarization of macrophage cell into pro-inflammatory M1-type macrophage. The results of oil red O staining revealed that 4-HPAA significantly inhibited the accumulation of lipid droplets in a dose-dependent manner compared with the model cells. In addition, 4-HPAA significantly decreased the content of intracellular cholesterol esters. RT-PCR results showed that compared with the model group, 4-HPAA significantly up-regulated ABCG1 and down-regulated CD36 gene expression level ($P < 0.05$), which was associated with macrophage cholesterol efflux. In conclusion, the results showed that the potential role of 4-HPAA in preventing M1 macrophage polarization and foam cell formation, which may play an important role in the anti-atherogenic effect of polyphenols.

Keywords: 4-HPAA; M1 macrophage; polarization; foam cells; atherosclerosis

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是心脑血管疾病的重要病程之一,慢性炎症及胆固醇代谢异常是动脉粥样硬化最危险的因素^[1-2]。巨噬细胞是一类具有高度异质性的细胞群,在促炎的微环境下,巨噬细胞极化成 M1 型,显著上调肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白介素(IL)- 1β 和 $IL-6$ 等细胞因子的基因表达和分泌量,促进炎症及动脉粥样硬化的发生和发展^[3-5]。此外,巨噬细胞转化为泡沫细胞是动脉粥样硬化发展过程中的关键性步骤^[6],而这主要与细胞内脂质代谢异常密切相关。研究^[7]发现,氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)等胆固醇经白细胞分化抗原 36(CD36)摄取,在巨噬细胞内转变成胆固醇酯并大量蓄积,巨噬细胞转化为泡沫细胞。三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 (ABCA1)、三磷酸腺苷结合盒转运体 G1 (ABCG1)等膜转运蛋白介导巨噬细胞内游离胆固醇流出^[8-9],维持细胞内胆固醇平衡,进而抑制泡沫细胞形

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:31471705);广东省自然科学基金项目(编号:2017A030313162)

作者简介:杨宇哲,女,华南农业大学在读硕士研究生。

通信作者:杨瑞丽(1977—),女,华南农业大学副教授,博士。

E-mail: rlyang77@scau.edu.cn

收稿日期:2020-06-07

成。抑制 M1 型巨噬细胞的大量聚集和泡沫细胞的形成,对于预防 AS 的发生和发展具有重要意义。

多酚类物质具有抗氧化、降血脂、改善心脑血管疾病等活性^[10-11],但是多酚的生物利用率极低,超过 95% 的膳食多酚不能被小肠吸收^[12-13],而通过结肠微生物代谢转化成其他小分子物质再吸收入人体发挥生物活性作用,例如鞣花酸和鞣花单宁被肠道菌群转化生成的尿石素类物质^[14],大豆异黄酮被肠道菌群转化生成雌马酚^[15]。已有研究证明,4-羟基苯乙酸(4-hydroxyphenylacetic acid, 4-HPAA)是原花青素、山奈酚等多酚类物质的主要肠道菌群代谢物^[16-18],且 4-HPAA 能提高小鼠抗氧化酶和肝脏Ⅱ相代谢酶活力进而预防肝损伤^[19]。目前,尚未见 4-HPAA 对 M1 型巨噬细胞极化以及对巨噬细胞泡沫样化的研究报道。试验拟探究 4-HPAA 对 M1 型巨噬细胞极化过程的作用,并初步研究其对巨噬—泡沫细胞形成的影响,从而探讨多酚肠道菌群代谢物 4-HPAA 抗动脉硬化作用,以期对多酚预防和改善动脉粥样硬化作用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

RAW264.7 小鼠巨噬细胞系:广州中医药大学;

4-羟基苯乙酸、脂多糖、干扰素:美国 Sigma 公司;

氧化低密度脂蛋白:广州奔元生物技术有限公司;

油红 O:美国 Gibico 公司;

TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β ELISA 试剂盒:美国 R&D System 公司;

总胆固醇、游离胆固醇试剂盒:北京普利莱生物技术有限公司;

DMEM 培养基:美国 Gibico 公司;

细胞总 RNA 提取试剂盒、Synthesis Super Mix for qPCR、Trans Start Tip Green qPCR Super Mix:北京全金生物技术有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

多功能酶标仪:MultiskanMk3 型,美国 ThermoFisher 公司;

荧光定量 PCR 仪:CFX96 型,美国 Bio Rad 公司;

CO₂细胞培养箱:TC-2323 型,美国 Shldon 公司;

光学显微镜:IX71 型,日本 Olympus 公司。

1.2 方法

1.2.1 4-羟基苯乙酸对 RAW264.7 细胞活力的影响 采用 CCK-8 法。收集对数生长期的 RAW264.7 细胞并制成细胞悬液,调整细胞密度为 $5 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$,以 $100 \mu\text{L}$ /孔接种于 96 孔板,待细胞完全贴壁后,弃去培养液。细胞分为空白组(0.1% DMSO 无血清培养液),不含细胞的培养液为对照组,以及 6.25, 12.50, 25.00, 50.00 $\mu\text{g/mL}$ 4-HPAA 的试验组,每组设置 4 个复孔,继续培养 24 h

后,分别加入 $10 \mu\text{L}$ 的 CCK-8 溶液,37 °C 孵育 1 h。于微量振荡器上振荡 5 min,用酶联免疫检测仪检测各孔 OD_{450 nm} 值,记录数值。按式(1)计算细胞存活的百分数。

$$C = \frac{A_1 - A_0}{A_2 - A_0} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

C——细胞存活率,%;

A₁——试验组吸光度;

A₀——空白组吸光度;

A₂——对照组吸光度。

1.2.2 RAW264.7 细胞 M1 极化模型的建立与试验分组

将对数生长期的 RAW264.7 以 1×10^5 个/mL 接种于 6 孔板中,待细胞密度达到 35%~50% 时分为以下 3 组:空白对照组加入无血清培养液;模型组加入 LPS (100 ng/mL) 和 IFN- γ (20 ng/mL),诱导 M1 型巨噬细胞的形成;干预组加入 LPS (100 ng/mL) 和 IFN- γ (20 ng/mL),同时加入终质量浓度为 6.25 或 12.50 $\mu\text{g/mL}$ 的 4-HPAA 干预,于 37 °C,5% CO₂ 的培养箱中孵育 24 h 后进行后续检测。

1.2.3 巨噬细胞源性泡沫细胞模型的建立与试验分组

收集对数生长期的 RAW264.7 细胞,制成细胞悬液,调整细胞密度为 $5 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$,以 2 mL/孔接种于放有无菌细胞爬片的 6 孔板中。待细胞完全贴壁后,弃去培养液,用无血清培养基饥饿培养 24 h 后分为以下 3 组:对照组加入无血清培养液;模型组加入 80 $\mu\text{g/mL}$ 的 ox-LDL,诱导细胞摄入脂质形成泡沫细胞;干预组加入 80 $\mu\text{g/mL}$ 的 ox-LDL,同时加入终质量浓度为 6.25 或 12.50 $\mu\text{g/mL}$ 的 4-HPAA 干预,孵育 24 h 后进行后续检测。

1.2.4 炎症因子的分泌检测 采用 ELISA 法。干预结束后收集细胞上清液,5 000 r/min 离心 20 min,吸取上清液,使用相应的 ELISA 检测试剂盒检测 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 蛋白的水平。

1.2.5 油红 O 染色 将细胞接种于铺有盖玻片的 6 孔板中,给药 24 h 后,移除培养基,PBS 冲洗 3 次,10% 甲醛溶液固定 3 h,PBS 清洗一次,60% 异丙醇放置 30 s。吸去异丙醇溶液,加入 2 mL 0.5% 油红 O 异丙醇溶液并于 60 °C 烘箱中染色 30 min。60% 异丙醇清洗 30 s,蒸馏水清洗 3 次。苏木素染色 5 min,蒸馏水洗 5 min。1% 盐酸—乙醇分色 30 s,PBS 返蓝 10~15 min。用 $10 \mu\text{L}$ 50% 甘油水溶液封片,光学显微镜下观察。

1.2.6 巨噬细胞源性泡沫细胞胆固醇酯含量的测定 弃去培养液的细胞用 PBS 清洗 2 遍,每孔加入 $100 \mu\text{L}$ 1% TritonX-100 裂解液,4 °C 裂解 30 min,参照试剂盒步骤测定总胆固醇和游离胆固醇含量,胆固醇酯含量为总胆固醇和游离胆固醇的差值。采用 BCA 试剂盒测定细胞内蛋白含量。

1.2.7 基因表达水平测定 RAW264.7 巨噬细胞按 1.2.2

和 1.2.3 造模和分组作用 24 h 后,倾去培养液,用预冷的 PBS 洗 3 次,Trizol 试剂提取细胞总 RNA,用 Takara 逆转录试剂盒进行逆转录反应 cDNA,并采用实时荧光定量 PCR 仪检测基因 (*IL-6*、*TNF- α* 、*IL-1 β* 、*ABCA1*、*ABCG1* 和 *CD36*) 的表达量。实时荧光定量 PCR 条件为 95.0 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min;95.0 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,60.0 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,72.0 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min,30 个循环,每个循环结束前系统自动检测荧光产物的量,所有循环结束后,绘制溶解曲线以判断扩增产物的特异性。以 β -actin 作为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析基因的相对表达量。引物由广州锐博生物科技有限公司设计并合成(见表 1)。

1.3 数据分析

结果以 mean $\pm$ SD 表示($n=4$)。采用 SPSS 22.0 软件,单因素分析方法(ANOVA)进行显著性分析,字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 4-HPAA 对 RAW264.7 细胞活力的影响

由图 1 可知,当 4-HPAA 和细胞共同培养 24 h 时,浓度为 6.25~100.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 4-HPAA 对细胞活性无显著影响,巨噬细胞存活率均在 95%以上。

2.2 4-HPAA 对 M1 型极化巨噬细胞分泌炎症细胞因子的影响

巨噬细胞向 M1 型极化后会分泌大量炎症细胞因子。由表 2 可知,与对照组相比,M1 型极化巨噬细胞模型组炎症细胞因子 *TNF- α* 、*IL-6* 和 *IL-1 β* 的分泌量均显著升高($P<0.05$),表明 M1 型极化模型建立成功。与模型组相比,4-HPAA 显著降低了炎症细胞因子的分泌水平($P<0.05$),其中当浓度为 12.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,4-HPAA 组

的 *TNF- α* 、*IL-6* 和 *IL-1 β* 分泌量分别降低为 M1 型极化巨噬细胞模型组的 60.78%,38.03%,39.35%($P<0.05$)。原花青素^[20]、山奈酚^[21]、榴莲壳多酚^[22]等多酚类化合物具有抗炎作用,其肠道菌群代谢物 4-HPAA 可能在其中发挥了重要作用。

2.3 4-HPAA 对 M1 型极化巨噬细胞相关标志基因表达的影响

由图 2 可知,与空白组相比,M1 型极化巨噬细胞模型组的 *TNF- α* 、*IL-6* 和 *IL-1 β* 3 种极化相关标志基因 mRNA 的表达量显著升高($P<0.05$);加入 4-羟基苯乙酸干预后,与 M1 型极化组相比,*TNF- α* 、*IL-6* 和 *IL-1 β* mRNA 的表达量均显著降低($P<0.05$),其降低程度与 4-HPAA 浓度呈正相关。说明 4-HPAA 干预后可抑制 LPS 和 IFN- γ 诱导的巨噬细胞向 M1 型极化。韩淇安等^[23]发现鞣花酸的肠道菌群代谢产物尿石素 A 能抑制 LPS 诱导的巨噬细胞向 M1 型极化。表明肠道菌群代谢物抑制巨噬细胞向促炎的 M1 型极化可能在多酚预防和改善动脉粥样硬化发生发展的过程中起到了重要作用。

2.4 4-HPAA 对 RAW264.7 细胞内脂质蓄积的影响

由图 3 可知,对照组细胞内未见染红的脂滴,巨噬细胞被 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 ox-LDL 孵育 24 h 后,细胞数量减少,胞体内有大量的脂滴排列在细胞膜内侧,有少量细胞破

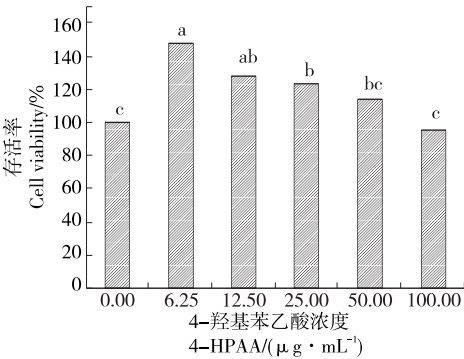


图 1 4-HPAA 对细胞活力的影响
Figure 1 Effect of 4-HPAA on RAW264.7 viability

表 2 4-HPAA 对 M1 型极化巨噬细胞分泌的炎症因子的影响

Table 2 Effect of 4-HPAA on inflammatory factors secreted by M1 type polarized macrophages			
			pg/mL
组别	TNF- α	IL-6	IL-1 β
对照组	172.00 $\pm$ 10.32 ^c	12.18 $\pm$ 1.07 ^c	7.05 $\pm$ 0.51 ^c
M1 型极化巨噬细胞模型组	357.00 $\pm$ 17.52 ^a	39.68 $\pm$ 5.91 ^a	21.73 $\pm$ 1.78 ^a
M1 + 6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 4-HPAA 组	231.00 $\pm$ 15.18 ^b	21.19 $\pm$ 1.15 ^b	12.34 $\pm$ 0.71 ^b
M1 + 12.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 4-HPAA 组	217.00 $\pm$ 9.70 ^b	15.09 $\pm$ 2.01 ^c	8.55 $\pm$ 0.57 ^c

表 1 RT-PCR 检测引物
Table 1 Primer name and sequence

基因	引物序列
β -actin	F: 5'-GTCCCTCACCTCCAAAAAG-3'
	R: 5'-GCTGCCTCAACACCTCAACCC-3'
IL-1 β	F: 5'-TGGGATAGGGCTCTCTTG-3'
	R: 5'-CCATGGAATCCGTGTCTTCCT-3'
TNF- α	F: 5'-TTTGGAGTGGTAGTAAAAAGGGC-3'
	R: 5'-CGGGCCGATTGATCTCAGC-3'
IL-6	F: 5'-ACTCACCTCTTCAGAACGAATTG-3'
	R: 5'-CCATCTTTGGAAGGTTCAAGTTG-3'
ABCA1	F: 5'-CCCAGAGCAAAAAGCGACTC-3'
	R: 5'-GGTCATCATCACTTTGGTCCTTG-3'
ABCG1	F: 5'-AATGTCTGCTTTGCCTCGTT-3'
	R: 5'-GCAGCTACTGCATGTGATCAAGA-3'
CD36	F: 5'-GTGCTCTCCCTTGATTCTGC-3'
	R: 5'-CTCCAAACACAGCCAGGAC-3'

裂且脂滴外溢, 细胞泡沫化现象严重。与泡沫细胞模型组比较, 不同浓度的 4-HPAA 干预均能显著降低细胞染红程度, 高浓度组抑制细胞内脂质蓄积的效果显著高于低浓度组。原花青素^[24]、山奈酚^[25]、石榴皮多酚^[26]等多酚类化合物具有抑制 ox-LDL 诱导的巨噬细胞脂质蓄积的作用, 改善脂质代谢异常是多酚防治动脉粥样硬化的机制之一。

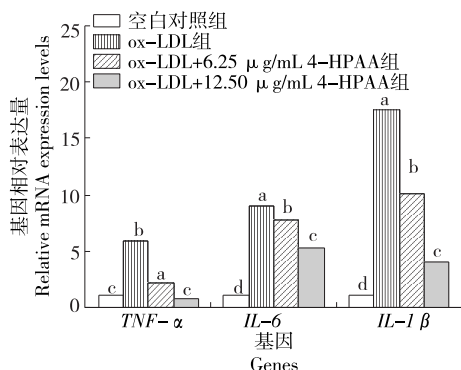
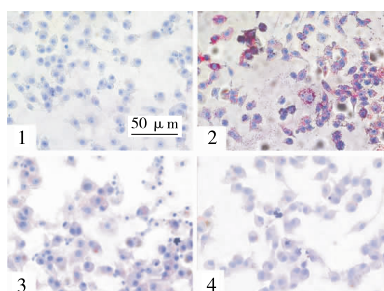
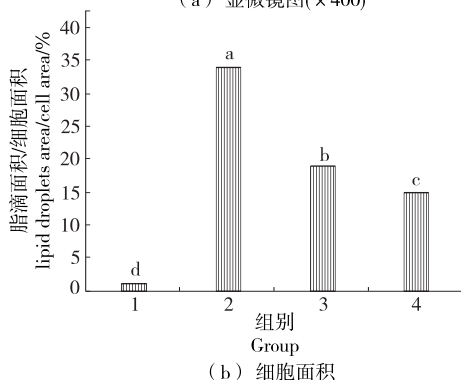


图2 4-HPAA 对 M1 型极化巨噬细胞相关标志基因表达的影响

Figure 2 Effect of 4-HPAA on M1 macrophage signature gene expression



(a) 显微镜图(×400)



(b) 细胞面积

1. 对照组 2. ox-LDL 泡沫细胞模型组 3. ox-LDL + 6.25 μg/mL 4-HPAA 组 4. ox-LDL + 12.50 μg/mL 4-HPAA 组

图3 4-HPAA 对 RAW264.7 细胞脂质蓄积的影响(油红 O 染色)

Figure 3 Effects of 4-HPAA on lipid accumulation in macrophage (oil red O staining)

2.5 4-HPAA 对 RAW264.7 细胞胆固醇含量的影响

由图4可知, 与对照组相比, 80 μg/mL 的 ox-LDL 处理巨噬细胞 24 h 后, 巨噬细胞内胆固醇酯含量显著升高 ($P < 0.05$); 与空白对照组相比, 泡沫细胞模型组胆固醇酯含量显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 4-HPAA 显著降低了巨噬细胞内胆固醇酯含量, 且随着 4-HPAA 浓度的增加, 其降低作用更明显 ($P < 0.05$), 其中 12.50 μg/mL 4-HPAA 组的胆固醇酯含量降低至泡沫细胞模型组 47.30%。与模型组相比, 4-HPAA 组细胞内游离胆固醇含量有所降低, 但无显著性差异, 表明巨噬细胞源性泡沫细胞中聚集的脂质以胆固醇酯为主, 当胆固醇酯含量超过 50% 时, 巨噬细胞成为泡沫细胞^[27], 4-HPAA 主要通过降低细胞内胆固醇酯的聚集进而抑制泡沫细胞的形成。

2.6 4-HPAA 对 RAW264.7 细胞胆固醇代谢相关基因表达的影响

由图5可知, 各组 ABCA1 表达无显著变化, 与泡沫

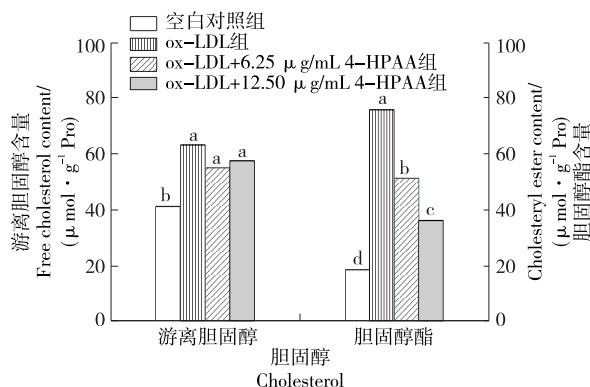


图4 4-HPAA 对 ox-LDL 诱导的巨噬细胞胆固醇含量的影响

Figure 4 Effect of 4-HPAA on ox-LDL-induced cholesterol accumulation in macrophage

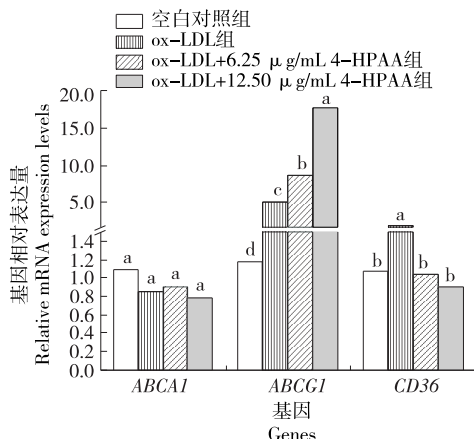


图5 4-HPAA 对巨噬—泡沫细胞胆固醇转运相关基因表达的影响

Figure 5 Effect of 4-HPAA on cholesterol efflux/influx-related genes in Raw264.7 foam cells

细胞模型组相比,4-HPAA 显著上调 *ABCG1* 基因表达水平,显著下调 *CD36* 基因表达水平。4-羟基苯乙酸通过下调巨噬细胞的 *CD36* 和上调 *ABCG1* 基因表达,降低细胞内胆固醇摄入并增加胆固醇的流出,减少巨噬细胞内脂质的蓄积,抑制巨噬细胞向泡沫细胞的转化^[28]。石榴皮等多酚提取物^[29]通过提高 *ABCA1* 和/或 *ABCG1* 的表达引起的胆固醇流出增加,进而抑制 ox-LDL 诱导的巨噬细胞泡沫化。

3 结论

试验以多酚肠道菌群代谢物 4-羟基苯乙酸为对象,探讨其对 M1 型巨噬细胞极化及巨噬细胞泡沫化的影响及相关机制。结果表明,4-羟基苯乙酸通过下调 M1 型巨噬细胞标志基因 *TNF- α* 、*IL-6* 和 *IL-1 β* 的表达,降低炎症细胞因子 *TNF- α* 、*IL-6* 和 *IL-1 β* 的分泌,抑制 RAW264.7 小鼠巨噬细胞向促炎的 M1 型巨噬细胞极化;油红 O 染色发现 4-HPAA 能显著抑制 ox-LDL 诱导巨噬—泡沫细胞形成,并显著降低胆固醇酯含量($P < 0.05$);实时荧光定量聚合酶链式反应检测表明 4-HPAA 能显著上调三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 G1、下调 *CD36* 基因的表达。说明 4-羟基苯乙酸能抑制巨噬细胞向 M1 型极化,同时能够抑制巨噬—泡沫细胞形成。由于多酚具有相对较低的生物利用度,说明其肠道菌群代谢物可能在其改善动脉粥样硬化的过程中发挥着重要的作用,肠道菌群代谢物 4-羟基苯乙酸的生物利用度、效应部位和分子机制等还有待于进一步研究。

参考文献

- [1] YUAN Yuan, LI Peng, YE Jing. Lipid homeostasis and the formation of macrophage-derived foam cells in atherosclerosis[J]. *Protein & Cell*, 2012, 3(3): 173-181.
- [2] ZALARR D M, POP C, BUZDUGAN E, et al. The atherosclerosis-inflammation relationship-A pathophysiological approach[J]. *Framacia*, 2019, 67(6): 941-947.
- [3] YANG Sai, YUAN Hou-qin, HAO Ya-meng, et al. Macrophage polarization in atherosclerosis [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2020, 501: 142-146.
- [4] 白瑞娜, 郝瑞席, 冯志博, 等. 巨噬细胞与动脉粥样硬化-亚型及功能[J]. *中国循环杂志*, 2014, 29(5): 393-395.
- [5] 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.
- [6] MAGUIRE E M, PEARCE S W, XIAO Qing-zhong. Foam cell formation: A new target for fighting atherosclerosis and cardiovascular disease [J]. *Vascular Pharmacology*, 2019, 112(S1): 54-71.
- [7] KOTLA S, SINGH N K, RAO GN. ROS via BTK-p300-STAT1-PPAR gamma signaling activation mediates cholesterol crystals-induced CD36 expression and foam cell

- formation[J]. *Redox Biology*, 2017, 11: 350-364.
- [8] DERGUNOV A D, SAVUSHKIN E V, DERGUNOVA L V, et al. Significance of cholesterol-binding motifs in ABCA1, ABCG1, and SR-B1 structure[J]. *Journal of Membrane Biology*, 2018, 252(1): 1-20.
- [9] RUBIC T, LORENZ R L. Downregulated CD36 and ox-LDL uptake and stimulated ABCA1/G1 and cholesterol efflux as anti-atherosclerotic mechanisms of interleukin-10[J]. *Cardiovascular Research*, 2006, 69(2): 527-535.
- [10] BAHRAMSOLTAN R, EBRAHIMI F, FARZAEIM H. Dietary polyphenols for atherosclerosis: A comprehensive review and future perspectives[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2019, 59(1): 114-132.
- [11] CHOI Dong-young, LEE Young-jung, HONG Jin-tae, et al. Antioxidant properties of natural polyphenols and their therapeutic potentials for Alzheimer's disease[J]. *Brain Research Bulletin*, 2012, 87(2/3): 144-153.
- [12] SANTHAKUMAR A B, BATTINO M, ALVAREZ-SUAREZ J M. Dietary polyphenols: Structures, bioavailability and protective effects against atherosclerosis[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2018, 113: 49-65.
- [13] TENG Hui, CHEN Lei. Polyphenols and bioavailability: An update[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2019, 59(13): 2 040-2 051.
- [14] PIWOWARSKII J P, KISS A K, GRANICA S. Urolithins, gut microbiota-derived metabolites of ellagitannins, inhibit LPS-induced inflammation in RAW 264.7 murine macrophages[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2015, 59(11): 2 168-2 177.
- [15] GUADAMURO L, DOHRMANN A B, TEBBE C C. Bacterial communities and metabolic activity of faecal cultures from equol producer and non-producer menopausal women under treatment with soy isoflavones [J]. *BMC Microbiology*, 2017, 93: 17.
- [16] DEPREZ S, BREZILLON C, RABOT S. Polymeric proanthocyanidins are catabolized by human colonic microflora into low-molecular-weight phenolic acids[J]. *Journal of Nutrition*, 2000, 130(11): 2 733-2 738.
- [17] MORADI-AFRAPOLI F, OUFIR M, WALTER F R, et al. Validation of UHPLC-MS/MS methods for the determination of kaempferol and its metabolite 4-hydroxyphenyl acetic acid, and application to in vitro blood-brain barrier and intestinal drug permeability studies[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2016, 128: 264-274.
- [18] ZABELA V, SAMPATH C, OUFIR M, et al. Pharmacokinetics of dietary kaempferol and its metabolite 4-hydroxyphenylacetic acid in rats [J]. *Fitoterapia*, 2016, 115: 189-197.

(下转第 89 页)

则顶置蓄冷板冷库融霜能耗降低了 1.81%。

4 结论

基于连续融霜的冷库,研究了增加顶置蓄冷板对冷库融霜时库温波动、融霜能耗的影响。结果表明:制冷风机有霜时,顶置蓄冷板冷库比空库在 0.0,0.7,1.4,2.0 m 4 个截面处的温度波动分别降低了 31.0%,31.5%,30.5%,78.6%,库温波动减小了 2.52 °C,融霜能耗减小了 1.36%;制冷风机无霜时,顶置蓄冷板冷库比空库在 4 个截面处的温度波动分别降低了 49.0%,47.8%,48.1%,78.7%,库温波动减小了 2.94 °C,融霜能耗减小了 1.81%。说明顶置蓄冷板在融霜过程中可以有效降低融霜热对库温波动的影响;制冷风机在无霜状态下进行融霜可以更好地减小库温波动且降低融霜耗能,对保证冷库贮藏食品品质有重要意义。后续可以研究风机翅片侧安装蓄冷板对库温波动的影响,探究蓄冷板最佳安装方式以最大程度降低冷库融霜时的库温波动。

参考文献

- [1] 刘恩海, 南晓红, 何媛. 低温冷风机结霜特性的研究及其融霜方法的改进[J]. 制冷学报, 2007(2): 56-60.
- [2] 李振华, 李征涛, 王芳, 等. 冷库热气融霜与电热融霜的对比分析[J]. 制冷与空调, 2011, 25(6): 577-579.
- [3] 王猛. 部分结霜下的液体冷媒除霜性能研究[D]. 天津: 天津

商业大学, 2019: 1-2.

- [4] 王猛, 臧润清, 冯海. 液体冷媒除霜系统的冷风机结霜性能研究[J]. 低温与超导, 2018, 46(5): 78-82.
- [5] 赵松松, 杨昭, 陈爱强, 等. 微型冷库复合加热循环除霜系统的研制与试验[J]. 农业工程学报, 2015, 31(2): 306-311.
- [6] TAN Hai-hui, ZHANG Xiao-feng, ZHANG Li, et al. Ultrasonic influence mechanism of a cold surface frosting process and an optimised defrosting technique[J]. Elsevier Ltd, 2019, 153: 113-127.
- [7] WANG Dong, JIANG Jing-de, TAO Le-ren, et al. Experimental investigation on a novel cold storage defrosting device based on electric heater and reverse cycle[J]. Elsevier Ltd, 2017, 127: 1 267-1 273.
- [8] 刘清江. 冷库空气冷却器融霜节能的研究[J]. 制冷, 2005(4): 12-15.
- [9] 申江, 路坤仑, 李慧杰, 等. 附加保温融霜装置的冷风机融霜实验研究[J]. 制冷学报, 2014, 35(4): 104-107.
- [10] 王栋, 陶乐仁, 刘训海. 隔断装置对冷风机电热融霜影响的实验研究[J]. 制冷学报, 2014, 35(6): 81-84, 95.
- [11] 董立桥, 谈向东, 厉建国, 等. 附加回风隔断装置的冷风机融霜试验[J]. 食品与机械, 2018, 34(4): 99-102, 174.
- [12] 么宇, 闫淑晴, 付健, 等. 蓄冷型冷藏陈列柜温度场及速度场的数值模拟研究[J]. 冷藏技术, 2019, 42(3): 16-19.
- [13] 黄荣鹏, 李晓燕, 苗馨月, 等. PCM 蓄冷板式冷藏车温度场数值模拟研究[J]. 冷藏技术, 2018, 41(1): 23-26, 37.

(上接第 6 页)

- [19] ZHA Hong-qiong, JIANG Zhi-hui, CHANG Xue-mei, et al. Hydroxyphenylacetic acid prevents acute APAP-induced liver injury by increasing phase II and antioxidant enzymes in mice[J]. Frontiers in Pharmacology, 2018, 9: 653.
- [20] LIU Jian-tao, HU Song-li, ZHU Bing-qing, et al. Grape seed procyanidin suppresses inflammation in cigarette smoke-exposed pulmonary arterial hypertension rats by the PPAR-gamma/COX-2 pathway[J]. Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases, 2020, 30(2): 347-354.
- [21] YEON Min-ji, LEE Min-ho, KIM Do-hyun, et al. Anti-inflammatory effects of kaempferol on helicobacter pylori-induced inflammation[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2019, 83(1): 166-173.
- [22] 刘文强, 张懿玲, 熊华, 等. 基于 LPS 诱导 RAW264.7 巨噬细胞炎症模型的榴莲壳多酚抗炎作用及其分子机制[J]. 食品与机械, 2020, 36(4): 15-20.
- [23] 韩淇安, 刘红燕, 闫春红, 等. 尿石素 A 对巨噬细胞极化及巨噬-泡沫细胞形成的作用[J]. 食品科学, 2017, 38(13): 182-189.
- [24] CHEN Dong-mei, CAI Xin, KWIK-URIBE C L, et al. Inhibitory effects of procyanidin B-2 dimer on lipid-laden mac-

rophage formation[J]. Journal of Cardiovascular Pharmacology, 2006, 48(2): 54-70.

- [25] LI Xiu-Ying, KONG Ling-Xi, LI Juan, et al. Kaempferol suppresses lipid accumulation in macrophages through the downregulation of cluster of differentiation 36 and the up-regulation of scavenger receptor class B type I and ATP-binding cassette transporters A1 and G1[J]. International Journal Molecular Medicine, 2013, 31(2): 331-338.
- [26] CHISTIAYKOY D A, MELNICHENKO A A, MYSOEDOVA V A. Mechanisms of foam cell formation in atherosclerosis[J]. Journal of Molecular Medicine-JMM, 2017, 95(11): 1 153-1 165.
- [27] 赵胜娟, 向进乐, 陈树兴, 等. 石榴皮多酚对胆固醇流出及相关蛋白表达的影响[J]. 食品与机械, 2019, 35(2): 11-14.
- [28] HE Xuan, CHEN Xiu-fang, WANG Lei, et al. Metformin ameliorates Ox-LDL-induced foam cell formation in raw264.7 cells by promoting ABCG-1 mediated cholesterol efflux[J]. Life sciences, 2019, 216: 67-74.
- [29] 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.