DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.03.015

健脾化痰方抑制炎症小体改善小鼠主动脉粥样硬化的体外作用机制

田苗[1,2],贾连群[2],宋囡[2],闵冬雨[1],王洋[1],关乐[1],鞠业涛[1],王凤荣[1]
(1. 辽宁中医药大学附属医院,辽宁 沈阳 110032;2. 辽宁中医药大学,辽宁 沈阳 110847)

摘要:目的 研究通过体外实验观察健脾化痰方对ox-LDL诱导的血管平滑肌细胞活力、增殖、表型转换及炎症因子的影响。方法 C57BL/6J小鼠分离胸主动脉制备平滑肌细胞。6~8周龄SD(Sprague Dawley)大鼠灌胃给药,腹主动脉取血制备含药血清。DMEM培养基培养,ox-LDL:100 μg/mL ox-LDL诱导,Atorvastatin:ox-LDL+阿托伐他汀(0.4 μM)含药血清,JPHTF-L/M/H:ox-LDL+JPHTF含药血清(5%,10%,15%)。免疫荧光染色α-SMA抗体鉴定初代VSMCs。CCK-8法检测细胞活力,Transwell实验观察细胞迁移情况,Western Blot检测细胞中α-SMA、Calponin、SM22α、PCNA、OPN、ASC、NLRP3、cleaved Caspase-1表达,ELISA检测细胞上清中IL-1β、IL-18、TNF-α和IL-6的含量。结果 JPHTF抑制ox-LDL诱导的VSMCs增殖和表型转换,JPHTF处理可降低NLRP3、ASC和cleaved Caspase-1蛋白表达水平,ELISA结果提示JPHTF处理能显著降低IL-1β和IL-18含量,降低TNF-α和IL-6炎症因子的水平。结论 健脾化痰方体外作用可抑制ox-LDL诱导的VSMCs从收缩表型向合成表型转换,降低细胞增殖和细胞迁移能力,减少NLRP3、ASC和cleaved Caspase-1水平,抑制炎症小体的激活,从而延缓动脉粥样硬化发展。

关键词:健脾化痰方;动脉粥样硬化;血管平滑肌细胞;表型转化;NLRP3
中图分类号:R289.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2026)03-0081-06

Jianpi Huatan Formula(健脾化痰方) Alleviates Atherosclerosis via Inhibiting Inflammasome in vitro

TIAN Miao[1,2],JIA Lianqun[2],SONG Nan[2],MIN Dongyu[1],WANG Yang[1],GUAN Le[1],JU Yetao[1],WANG Fengrong[1]
(1. The Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine,Shenyang 110032,Liaoning,China;
2. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine,Shenyang 110847,Liaoning,China)

Abstract:*Objective* This study observed the effects of Jianpi Huatan Formula(健脾化痰方,JPHTF) on oxidized low-density lipoprotein(ox-LDL) induced vascular smooth muscle cell viability,proliferation,phenotype transformation and inflammatory factors in vitro. *Methods* Smooth muscle cells were isolated from the thoracic aorta of C57BL/6J mice. The 6-8 week old Sprague Dawley rats were orally administered,and the blood samples were collected from the abdominal aorta to prepare the drug containing serum. The DMEM medium culture was the control group. The ox-LDL induction(100 μg/mL) was the ox-LDL group. The atorvastatin group were the serum containing ox-LDL and atorvastatin(0.4 μM). JPHTF low,middle and high dose groups were the serum containing ox-LDL and JPHTF(5%,10%,15%). The identification of the first generation vascular smooth muscle cells? (VSMCs) was carried out by using immunofluorescence staining with α-smooth muscle actin(α-SMA) antibody. The cell counting kit-8(CCK-8) method was used to detect the cell viability. Transwell assay was used to observe the cell migration. Western Blot was used to detect the expressions of α-SMA,Calponin,SM22α,proliferating cell nuclear antigen(PCNA),osteopontin(OPN),ASC,NOD-like receptor family pyrin domain containing 3(NLRP3) and cleaved caspase-1 in cells,and enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) was used to detect the levels of interleukin-1β(IL-1β),interleukin-18(IL-18),tumor necrosis factor-α(TNF-α) and interleukin-6(IL-6) in cell supernatant. *Results* JPHTF inhibited ox-LDL induced VSMCs proliferation and phenotype transition. JPHTF reduced the protein expression levels of NLRP3,ASC and cleaved caspase-1. ELISA results showed that JPHTF significantly reduced the levels of IL-1β and IL-18,as well as the levels of TNF-α and IL-6. *Conclusion* The effect of JPHTF in vitro can inhibit the conversion of VSMCs induced by ox-LDL from contractile phenotype to synthetic phenotype,reduce the ability of cell proliferation and migration,lower the levels of NL-

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(81904079);辽宁省科技计划联合计划技术攻关项目(2024JH2/102600194);沈阳市科技局常见多发病医疗技术提升项目(21-173-9-53)
作者简介:田苗(1981-),女,辽宁抚顺人,副主任医师,硕士,研究方向:从脾论治心血管疾病。
通讯作者:王凤荣(1962-),女,辽宁沈阳人,主任医师,博士研究生导师,博士,研究方向:中西医结合心血管疾病。E-mail:wfr925@126.com。

RP3, ASC and cleaved caspase-1, and inhibit the activation of inflammasome, thereby inhibiting the development of atherosclerosis.

Keywords: Jianpi Huatan Formula(健脾化痰方); atherosclerosis; vascular smooth muscle cell; phenotype transformation; NLRP3

动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)是血管内膜内包含各种细胞、脂质和碎片组织在内的斑块形成过程[1],被认为是一种由危险因素介导的慢性血管炎症。动脉粥样硬化斑块是由血管细胞和免疫细胞组成的复杂结构[2]。发生在AS的免疫炎症反应机制已在体外和动物实验中得到广泛验证,血管平滑肌细胞(Vascular Smooth Muscle Cell, VSMC)通过产生不同的细胞因子,如IL-18、IL-6,和各种黏附分子参与AS慢性炎症过程。VSMC的表型转换、增殖、迁移可以加速AS的发展[3]。因此,抑制AS的炎症过程,抑制VSMC的表型转换、增殖和迁移可有效缓解AS。鉴于炎症与动脉粥样硬化之间的关系,从炎症角度治疗动脉粥样硬化可能成为一种有效抗动脉粥样硬化的方式[4]。

健脾化痰方(JianPiHuaTan Formula, JPHTF)是国家973项目研究成果,以四君子汤为主方,结合瓜蒌薤白半夏汤化裁,有化痰宽胸、健脾益气之功效,课题组前期实验研究证明JPHTF对小鼠脂质水平改善、延缓大鼠动脉粥样硬化进展方面有明确疗效。本研究旨在通过体外研究从炎症角度探讨JPHTF抑制小鼠动脉硬化发展的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验药物 健脾化痰方(JPHTF)免煎颗粒由江阴天江药业有限公司(中国江苏)生产,辽宁中医药大学附属医院中药房配药,包含黄芪颗粒10 g,党参颗粒10 g,生白术颗粒10 g,茯苓颗粒10 g,清半夏颗粒6 g,瓜蒌颗粒10 g,丹参颗粒10 g,炙甘草颗粒3 g。

1.1.2 实验动物 6~8周龄SD大鼠及C57BL/6小鼠购于斯贝福(北京)生物技术有限公司,许可证号:SCXK(京)2019-0010。实验动物伦理审查批件号:2020CS(DW)-002-01。

1.1.3 主要仪器及试剂 Triton X-100(美国Amresco,货号1596-026);α-SMA抗体(武汉Proteintech,货号14395-1-AP);羊抗兔IgG抗体(武汉Invitrogen,货号A10520)、RIPA裂解液(上海碧云天,货号R0010)、NLRP3抗体(美国Abcam,货号ab263899)、ASC抗体(武汉爱博泰克,货号A1170)、cleaved Caspase-1抗体、OPN抗体、PCNA抗体(美国Proteintech,22915-1-AP、22952-1-AP、10205-2-AP);ELISA试剂盒(上海酶联生物技术公司,货号S100);荧光显微镜(日本OLYMPUS);Transwell小室(上海格瑞纳生物科技,型号655641);倒置显微镜(厦门Motic,型号AE31);凝胶图像处理系统(赛默飞中国,型号iBright CL1500)。

1.2 实验方法

1.2.1 药物血清的制备 将6~8周龄的SD大鼠30只,适应性饲养1周,30只大鼠随机分为对照组、西药组、中药组,每组10只,笼饲。将JPHTF溶解在40 ℃蒸馏水中。参考人与动物之间药理实验等效剂量,按照小鼠体表面积比例k值9.1给药,西药组使用阿托伐他汀钙2.29 mg·kg^{-1},中药组JPHTF5.9 g·kg^{-1},对照组使用等量蒸馏水灌胃,每日给药1次,连续给药9 d。末次给药2 h后腹主动脉取血,4 ℃条件下3000 r/min离心血清,56 ℃水浴30 min灭菌,过滤上清(滤膜0.22 μm)分离获得含药血清备用。

1.2.2 血管平滑肌细胞的分离与制备 C57BL/6小鼠(雄性,6~8周龄)麻醉后处死,暴露并取出胸主动脉,置于含青霉素(100 μ/L)、链霉素(100 μ/L)无菌DMEM培养液中。在细胞培养室超净台上,PBS反复冲洗血管,使用眼科剪去除外膜。将主动脉剪成小块(1.0 mm×1.0 mm)置入含有胰蛋白酶-EDTA消化液中,37 ℃、5% CO_2培养箱中消化20~30 min后,加入10% FBS的DMEM培养基终止消化。将消化后的细胞悬液过滤、离心、弃上清,VSMCs置于10%胎牛血清的DMEM培养基培养瓶中,温度37 ℃和浓度5% CO_2条件培养箱中培养[5]。3~5 d换液1次。采用上述方法从C57BL/6小鼠的主动脉中分离出血管平滑肌细胞(VSMCs)。

1.2.3 免疫荧光染色α-SMA鉴定初代VSMCs VSMCs在4%甲醛中固定15 min,PBS洗涤3次。用3%的Triton X-100处理细胞10 min,山羊血清在室温下封闭细胞20 min,加入α-SMA抗体4 ℃孵育过夜,加入cy3-羊抗兔IgG二抗(1∶500稀释)37 ℃孵育60 min。采用DAPI进行核染色,用荧光显微镜观察α-SMA阳性细胞。

1.2.4 细胞分组与处理 Control:10%胎牛血清的DMEM培养基培养。ox-LDL:100 μg/mL氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)按相应时间处理。Atorvastatin:ox-LDL+西药组含药血清(0.4 μM)。JPHTF-L/M/H组:ox-LDL+中药组含药血清(5%、10%、20%)。

1.2.5 细胞增殖能力检测 采用CCK-8法检测细胞增殖。将VSMCs(每孔1×10^{4}个细胞)接种于96孔板中,置于37 ℃、5% CO_2下孵育0、24、48、72、96 h,加入CCK-8溶液37 ℃孵育1 h。采用酶标仪于450 nm下测定各孔吸光度。

1.2.6 细胞迁移实验 将细胞Transwell跨孔室置于24孔板中,在下室加入含有20%胎牛血清的培养液800 μL。细胞在37 ℃和5% CO_2条件下培养24 h,用PBS洗涤。室温下用10%多聚甲醛固定20 min,苏木精染色5 min。使用200倍AE31倒置显微镜观察细胞迁移,计算细胞迁移率。

1.2.7 蛋白免疫印记法(Western Blot)检测细胞中α-SMA、Calponin、SM22α、PCNA、OPN、ASC、NLRP3、cleaved Caspase-1表达 VSMCs样本加入RIPA裂解液裂解,采用BCA蛋白检测试剂盒测定蛋白浓度。各蛋白质组分别在10%的SDS-PAGE进行蛋白电泳,并转移到PVDF膜上。采用5%脱脂奶粉室温封闭60 min,一抗4 ℃孵育过夜。一抗分别为:NLRP3(1∶1000)、ASC(1∶1000)、cleaved Caspase-1(1∶1000)、α-SMA(1∶1000)、Calponin(1∶2000)、SM22α(1∶1000)、OPN(1∶1000)和PCNA(1∶1000)。洗膜后用HRP偶联羊抗兔IgG二

抗 37 ℃孵育 45 min。ECL 底物发光液室温孵育 2 min 后，采用凝胶图像处理系统分析目标条带的灰度值。

1.2.8 ELISA 检测 IL－1β、IL－18、TNF－α 和 IL－6 的分泌 使用 ELISA 试剂盒测定细胞上清液中 TNF－α、IL－6、IL－1β 和 IL－18 的含量，按照说明书要求进行。

1.2.9 统计分析 使用 GraphPad 7.0 软件进行数据分析，结果以平均数 ± 标准差表示。多组比较采用单因素方差分析，两组之间的比较采用 Tukey 检验。$P<0.05$ 定义为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 JPHTF 抑制 ox－LDL 诱导的 VSMCs 增殖

用免疫荧光法鉴定 C57BL/6 小鼠胸主动脉分离出的 VSMCs，采用 DAPI 核染色，倒置荧光显微镜观察（插页ⅩⅩⅢ图 1A）。用 100 μg/mL ox－LDL 处理 VSMCs 24 h 后，通过CCK－8 检测细胞增殖情况，说明 JPHTF 对 VSMCs 增殖的影响。如插页ⅩⅩⅢ图 1B 所示，在 ox－LDL 作用下，VSMCs 的增殖能力显著增强，而 JPHTF－L、JPHTF－M、JPHTF－H 及 Atorvastatin 干预明显抑制了 ox－LDL 对 VSMCs 增殖的影响。从各时间点的平均值上来看，JPHTF－H 组表现出了最好的效果（96 h：$P<0.01$ vs. ox－LDL，$P<0.001$ vs. Atorvastatin）。

2.2 JPHTF 抑制 ox－LDL 诱导的 VSMCs 增殖相关蛋白表达

Western Blot 实验结果显示，ox－LDL 增加了 OPN 和 PCNA 蛋白表达水平，而 JPHTF 和阿托伐他汀降低 OPN 和 PCNA 蛋白表达水平（插页ⅩⅩⅢ图 2）。

2.3 JPHTF 抑制 ox－LDL 诱导的 VSMCs 迁移

Transwell 检测结果显示（插页ⅩⅩⅢ图 3），ox－LDL 作用 24 h 后，VSMCs 迁移能力显著增强（$P<0.001$ vs. control），而阿托伐他汀则表现出对 ox－LDL 作用显著抑制的效果（$P<0.001$ vs. ox－LDL）。相比之下，JPHTF 不仅在高剂量组表现出好于阿托伐他汀的抑制作用（$P<0.001$ vs. ox－LDL，$P<0.001$ vs Atorvastatin），而且有明显的剂量依赖关系。

2.4 JPHTF 抑制 ox－LDL 诱导的 VSMCs 表型转换

Western Blot 实验结果显示，ox－LDL 显著升高 α－SMA、Calponin 和 SM22α 蛋白表达水平，但阿托伐他汀在本实验中未表现出对以上蛋白明显的抑制作用，JPHTF 不同剂量则表现出不同的抑制作用（插页ⅩⅩⅣ图 4）。低剂量显著降低了 α－SMA 表达，中高剂量没有明显效果；3 个剂量对 calponin 表达的抑制作用相似，对 SM22α 则表现出明显的剂量依赖效果。

2.5 JPHTF 抑制 ox－LDL 诱导的 VSMCs 炎症过程

本研究探讨了 JPHTF 对 ox－LDL 诱导的炎症反应过程的影响，用 Western Blot 法检测 NLRP3、ASC 和 cleaved Caspase－1 的蛋白表达水平。结果显示，ox－LDL 可显著提高 NLRP3、ASC 和 cleaved Caspase－1 水平，而 JPHTF 和阿托伐他汀治疗均可降低以上蛋白表达水平（插页ⅩⅩⅣ图 5），表明 JPHTF 抑制了 NLRP3 炎症小体的激活。

采用 ELISA 法检测细胞上清炎症因子的含量，结果显示，ox－LDL 可引起 VSMCs 炎症反应增强，表现为 IL－1β、IL－18、IL－6 和 TNF－α 分泌上调，而 JPHTF 或阿托伐他汀处理能显著降低这些炎症因子水平（插页ⅩⅩⅣ图 6）。JPHTF 中高剂量组表现出比阿托伐他汀更好降低 TNF－α 分泌的效果（$P<0.001$ vs. Atorvastatin）。综上所述，体外实验结果显示，JPHTF 可抑制 ox－LDL 诱导的 VSMCs 炎症反应。

3 讨论

VSMCs 表型转换在包括 AS 在内的一系列血管闭塞性疾病的发生和发展中起着关键作用[6]。VSMCs 的迁移是发生 AS 的标志[7]。VSMCs 从收缩表型向合成表型的转换伴随着平滑肌收缩蛋白表达缺失及增殖诱导，最终导致 AS 的发展[8－9]。α－SMA、Calponin 和 SM22α 是 VSMCs 收缩表型标志物，Vimentin 是 VSMCs 的合成表型标志物[10－11]。OPN 和 PCNA 被认为是细胞增殖的重要调控因子[12]。本研究中，体外实验证实 JPHTF 抑制 ox－LDL 诱导的 VSMCs 从收缩表型向合成表型转换，降低细胞活力，减少细胞迁移，抑制细胞增殖。结果显示，ox－LDL 诱导的 VSMCs 收缩表型标记物表达降低，提示在 AS 期间 VSMCs 从收缩表型向合成表型转换，JPHTF 含药血清抑制了此过程，这可能有助于其发挥抗动脉硬化作用。

炎症是动脉粥样硬化斑块发展的驱动因素，也是动脉粥样硬化事件的危险因素[13]。动脉粥样硬化斑块中脂质的积累可以激活 NLRP3 炎症小体[14]。NLRP3 炎症小体由先天免疫受体蛋白 NLRP3、适配器蛋白 ASC 和炎症蛋白酶 Caspase－1 组成[15]。被激活后，NLRP3 与 ASC 形成炎症小体复合物，导致 procaspase－1 转化为 active Caspase－1，随后引起 IL－1β 和 IL－18 的分泌[16]。在本研究中，我们发现 ox－LDL 诱导的 VSMCs 中 NLRP3 阳性细胞增加，而 JPHTF 含药血清组 NLRP3 水平降低，提示 NLRP3 炎症小体的激活受到抑制。此外，CD68 在单核细胞和巨噬细胞中表达，其显著上调可引发 AS 期间的炎症反应[17]。我们的研究结果证实，HFD 增加了 CD68 阳性细胞数量，而 JPHTF 则可减少 CD68 阳性细胞，提示 JPHTF 抑制了炎症细胞的浸润。同样，研究结果还表明，JPHTF 治疗显著降低了炎症细胞因子 IL－1β、IL－18、TNF－α 和 IL－6 的水平。

异常的 NLRP3 激活是 AS 慢性炎症发生和发展的核心，其激活后促进 IL－1β 和 IL－18 的释放，参与 AS 的内皮损伤、泡沫细胞形成和焦亡[18]。由于 AS 是一种慢性炎症性疾病，靶向 NLRP3 炎性小体为 AS 提供了一种新的治疗策略[19]。针对 NLRP3 炎症小体的药物研究很多正在进行，目前还没有此类治疗 AS 的上市药物[20]。相关研究发现，秋水仙碱可通过抑制 NLRP3 炎症小体发挥对急性心肌梗死后患者的心肌保护作用[21]，也有研究表明，多种中药成分能够抑制 NLRP3，发挥抑制炎症反应的作用[22]。中医理论中对炎症的研究观点多集中在瘀血和痰浊的影响[23]，JPHTF 药物组成以四君子汤及化痰祛浊的瓜蒌半夏薤白汤化裁而成，共同发挥健脾益气化痰的功效。健脾祛痰中药复方有改善 AS 动物的血脂代谢水平、抗炎作用[24]，吕回等人的研究[25]证实四君子汤可抑制 AD 小鼠 NLRP3 表达。

剂量依赖的呈现是药理研究中需观察的重要现象。本研究中我们发现，给予不同浓度的 JPHTF 含药血清后，对 ox－LDL 诱导的迁移的抑制、SM22α 蛋白表达、NLRP3 蛋白表达、IL－1β 分泌等几个指标有明显的剂量依赖关系，但在其他指标中却没有。与单一分子、靶点明确的西药不同，作为中药复方，JPHTF 中成分复杂、分子靶点众多，没有明确的剂量依赖关

系可能是这一特点的表现,详细的药理机制仍有待阐明。但是,JPHTF 在抑制 VSMCs 的异常迁移中表现出了明确的剂量依赖性,这一特点对该药物的临床应用有重要的指导意义。

中药可作为潜在有效的抗动脉粥样硬化药物[26],中药活性成分的提取和鉴定可能是未来研究任务主要面临的挑战。研究表明[27],包括黄芪、丹参、人参及甘草等中药对动脉粥样硬化具有治疗作用,这些中药抗动脉粥样硬化的药理学作用涉及细胞增殖和迁移、炎症、凋亡、自噬、脂质代谢等。

我们的体外研究证实 JPHTF 对 AS 有良好的抑制作用,而抑制 NLRP3 炎症小体可能与 JPHTF 这种抗 AS 的作用有关。在未来,我们将进一步深入 JPHTF 对 AS 的靶向作用,如提取和鉴定药物活性成分,开发抑制 NLRP3 炎症小体抗 AS 的新药,为冠状动脉粥样硬化性疾病治疗提供新方法。

参考文献

[1] GROOTAERT M O J, BENNETT M R. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis: Time for a reassessment[J]. Cardiovascular research, 2021, 117(11): 2326-2339.

[2] KONG P, CUI Z Y, HUANG X F, et al. Inflammation and atherosclerosis: signaling pathways and therapeutic intervention[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2022, 7(1): 131.

[3] SOROKIN V, VICKNESON K, KOFIDIS T, et al. Role of vascular smooth muscle cell plasticity and interactions in vessel wall inflammation[J]. Frontiers in Immunology, 2020, 11: 599415.

[4] LIBBY P. Inflammation in atherosclerosis—no longer a theory[J]. Clinical Chemistry, 2021, 67(1): 131-142.

[5] MU Y P, HUANG Q H, ZHU J L, et al. Magnesium attenuates endothelin-1-induced vasoreactivity and enhances vasodilatation in mouse pulmonary arteries: Modulation by chronic hypoxic pulmonary hypertension[J]. Experimental physiology, 2018, 103(4): 604-616.

[6] ZHANG F, GUO X Q, XIA Y P, et al. An update on the phenotypic switching of vascular smooth muscle cells in the pathogenesis of atherosclerosis[J]. Cellular and molecular life sciences: CMLS, 2021, 79(1): 6.

[7] LIBBY P, RIDKER P M, HANSSON G K. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis[J]. Nature, 2011, 473(7347): 317-325.

[8] GROOTAERT M O J, MOULIS M, ROTH L, et al. Vascular smooth muscle cell death, autophagy and senescence in atherosclerosis[J]. Cardiovascular research, 2018, 114(4): 622-634.

[9] CAO G M, XUAN X Z, HU J, et al. How vascular smooth muscle cell phenotype switching contributes to vascular disease[J]. Cell Communication and Signaling, 2022, 20(1): 180.

[10] CAI Y Y, YAO H P, SUN Z, et al. Role of NFAT in the progression of diabetic atherosclerosis[J]. Frontiers in Cardiovascular Medicine, 2021, 8: 635172.

[11] LIU Z H, ZHANG M Q, ZHOU T F, et al. Exendin-4 promotes the vascular smooth muscle cell re-differentiation through AMPK/SIRT1/FOXO3a signaling pathways[J]. Atherosclerosis, 2018, 276: 58-66.

[12] GAO R J, ZHANG A M, JIA Q H, et al. The promoting role of Cx43 on the proliferation and migration of arterial smooth muscle cells for angiotensin II-dependent hypertension[J]. Pulmonary pharmacology & therapeutics, 2021, 70: 102072.

[13] GEOVANINI G R, LIBBY P. Atherosclerosis and inflammation: overview and updates[J]. Clinical science (London, England: 1979), 2018, 132(12): 1243-1252.

[14] GUO H T, CALLAWAY J B, TING J P. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics[J]. Nature medicine, 2015, 21(7): 677-687.

[15] HUANG Y, XU W, ZHOU R B. NLRP3 inflammasome activation and cell death[J]. Cellular & molecular immunology, 2021, 18(9): 2114-2127.

[16] KELLEY N, JELTEMA D, DUAN Y H, et al. The NLRP3 inflammasome: an overview of mechanisms of activation and regulation[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(13): 3328.

[17] DUAN L W, ZHAO Y C, JIA J, et al. Myeloid-restricted CD68 deficiency attenuates atherosclerosis via inhibition of ROS-MAPK-apoptosis axis[J]. Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease, 2023, 1869(5): 166698.

[18] CHEN P F, LI X. NLRP3 inflammasome in atherosclerosis: Mechanisms and targeted therapies[J]. Frontiers in Pharmacology, 2024, 15: 1430236.

[19] XUE X F, LI F L, XU M K, et al. Gastrodin ameliorates atherosclerosis by inhibiting foam cells formation and inflammation through down-regulating NF-κB pathway[J]. Nutrition & metabolism, 2023, 20(1): 9.

[20] SHARIF H, WANG L, WANG W L, et al. Structural mechanism for NEK7-licensed activation of NLRP3 inflammasome[J]. Nature, 2019, 570(7761): 338-343.

[21] VAIDYA K, TUCKER B, KURUP R, et al. Colchicine inhibits neutrophil extracellular trap formation in patients with acute coronary syndrome after percutaneous coronary intervention[J]. Journal of the American Heart Association, 2020, 10(1): e018993.

[22] 王旭勇,徐晓东,李应东,等. NLRP3 炎症小体在心肌纤维化中的作用及中药干预进展[J/OL]. 中药药理与临床, 1-22 [2025-10-15]. https://doi.org/10.13412/j.cnki.zyyl.20250303.001.

[23] 郭婉容,刘维,黄莉吉,等. 中医药基于炎症信号通路调控防治2型糖尿病的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(22): 249-256.

[24] 杨薏,姜钧文. 健脾祛痰中药复方治疗动脉粥样硬化动物实验的 Meta 分析[J]. 实用中医内科杂志, 2022, 36(6): 135-139, 154.

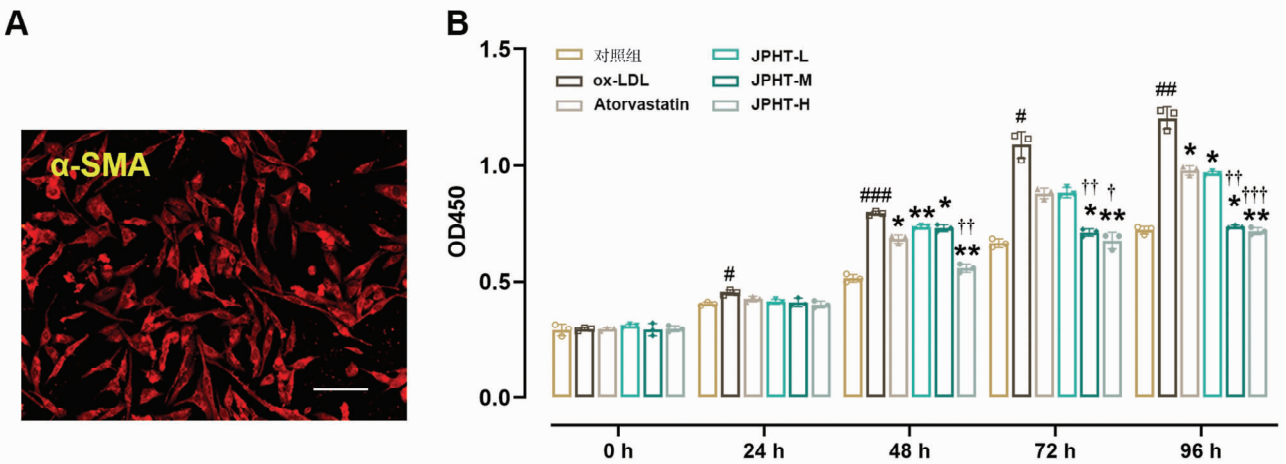
[25] 吕回,刘旭东. 四君子汤对阿尔茨海默病大鼠中枢海马炎症因子及 NLRP3 小体的影响[J]. 免疫学杂志, 2022, 38(3): 257-262.

[26] IZZO A A, TEIXEIRA M, ALEXANDER S P H, et al. A practical guide for transparent reporting of research on natural products in the British Journal of Pharmacology: Reproducibility of natural product research[J]. British journal of pharmacology, 2020, 177(10): 2169-2178.

[27] LIU H M, ZHU L, CHEN L X, et al. Therapeutic potential of traditional Chinese medicine in atherosclerosis: A review[J]. Phytotherapy research: PTR, 2022, 36(11): 4080-4100.

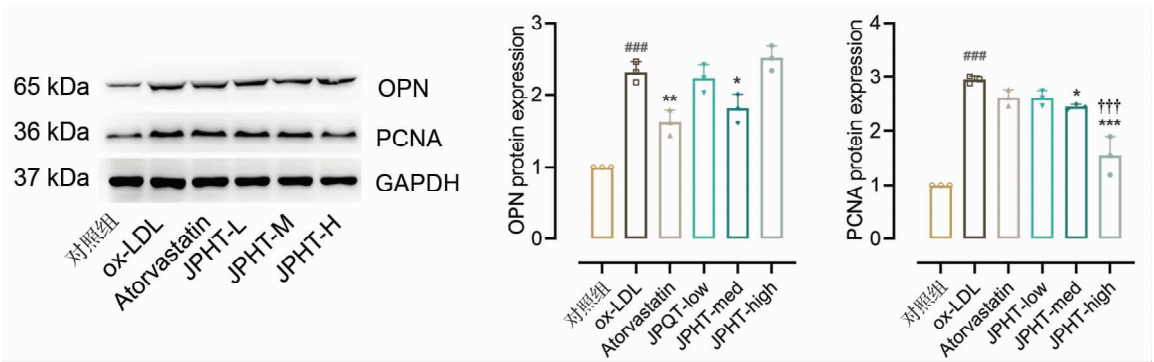
健脾化痰方抑制炎症小体改善小鼠主动脉粥样硬化的体外作用机制

（正文见 81－84 页）



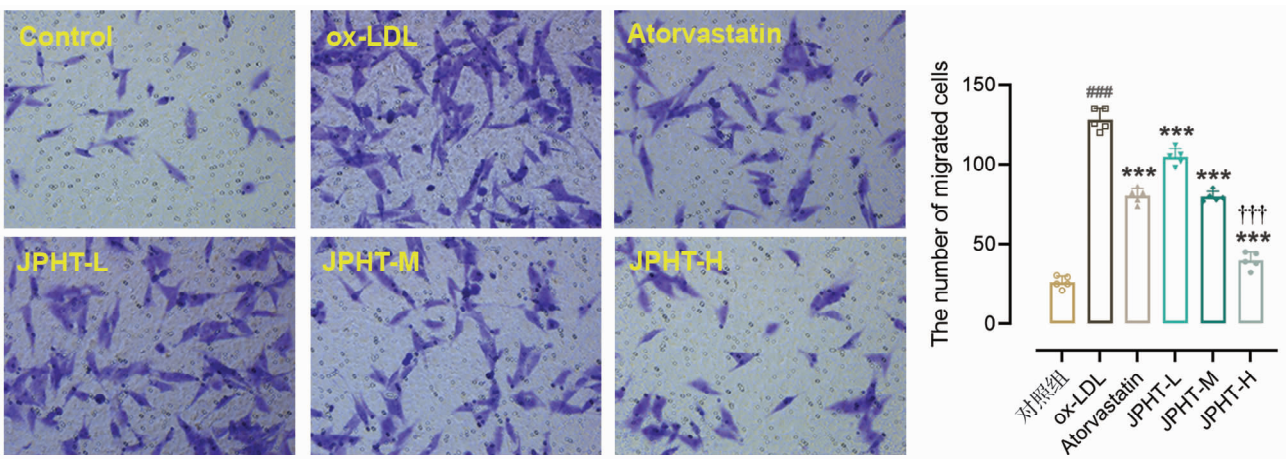
注：#与对照组比较，$P<0.05$；##与对照组比较，$P<0.01$；###与对照组比较，$P<0.001$；＊与 ox－LDL 组比较，$P<0.05$；＊＊与 ox－LDL 组比较，$P<0.01$；† 与 Atorvastatin 组比较，$P<0.05$；††与 Atorvastatin 组比较 $P<0.01$；†††与 Atorvastatin 组比较 $P<0.001$。

图 1　（A）免疫荧光法鉴定 VSMC（比例尺为 1000 μm）（B）CCK－8 检测细胞增殖能力



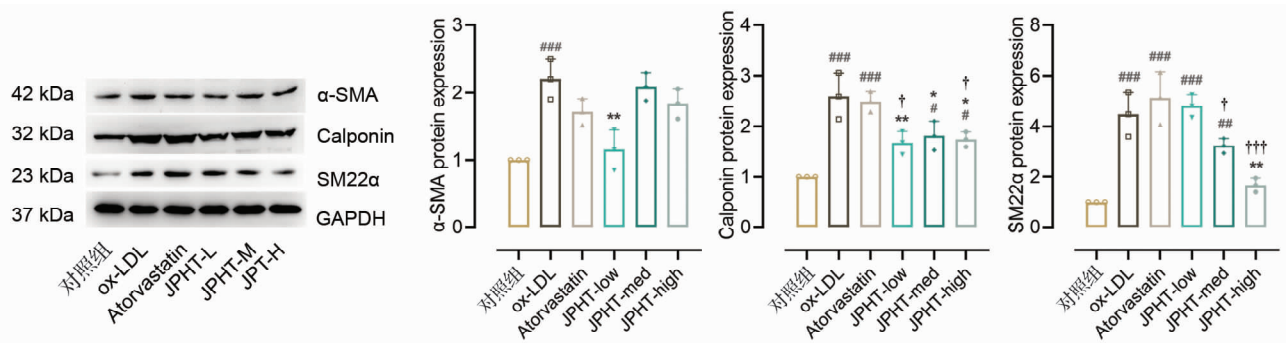
注：###与对照组比较，$P<0.001$；＊与 ox－LDL 组比较，$P<0.05$；＊＊与 ox－LDL 组比较，$P<0.01$；＊＊＊与 ox－LDL 组比较，$P<0.001$；†††与 Atorvastatin 组比较 $P<0.001$。

图 2　WB 检测 ox－LDL 诱导的 VSMCs 中 OPN、PCNA 的蛋白表达水平



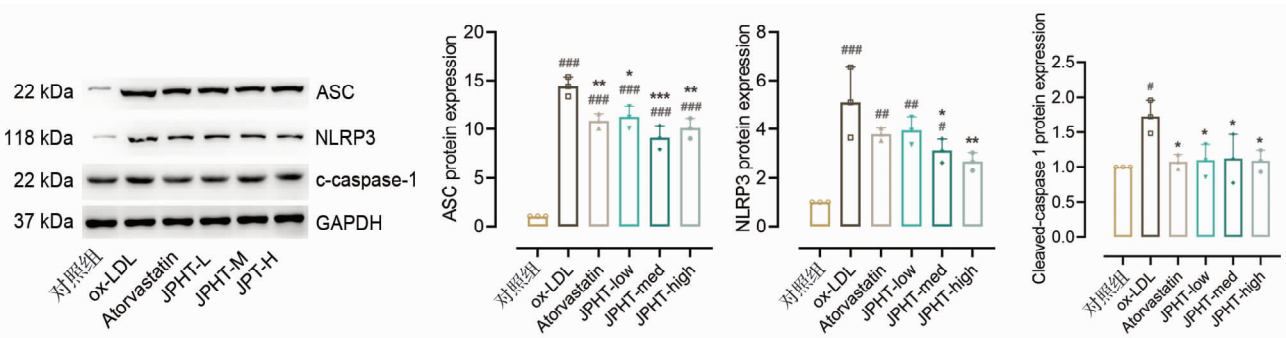
注：###与对照组比较，$P<0.001$；＊＊＊与 ox－LDL 组比较，$P<0.001$；†††与 Atorvastatin 组比较 $P<0.001$。

图 3　Transwell 法测定细胞迁移情况



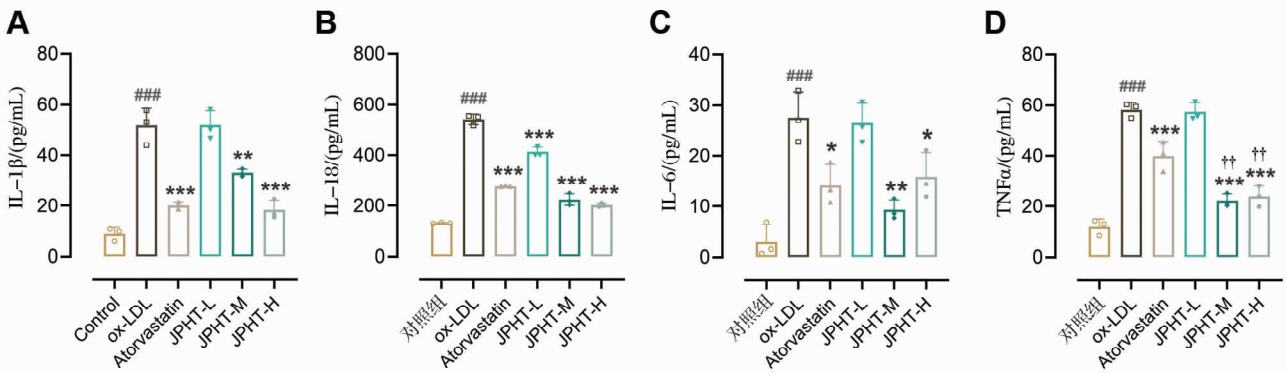
注：#与对照组比较，$P<0.05$；##与对照组比较，$P<0.01$；###与对照组比较，$P<0.001$；＊与 ox－LDL 组比较，$P<0.05$；＊＊与 ox－LDL 组比较，$P<0.01$；† 与 Atorvastatin 组比较，$P<0.05$；†††与 Atorvastatin 组比较 $P<0.001$。

图 4　Western Blot 检测 ox－LDL 诱导的 VSMC 中 α－SMA、calponin、SM22α 的蛋白表达水平



注：#与对照组比较，$P<0.05$；##与对照组比较，$P<0.01$；###与对照组比较，$P<0.001$；＊与 ox－LDL 组比较，$P<0.05$；＊＊与 ox－LDL 组比较，$P<0.01$；＊＊＊与 ox－LDL 组比较，$P<0.001$。

图 5　WB 检测 NLRP3、ASC 和 cleaved Caspase－1 的蛋白表达水平



注：###与对照组比较，$P<0.001$；＊与 ox－LDL 组比较，$P<0.05$；＊＊与 ox－LDL 组比较，$P<0.01$；＊＊＊与 ox－LDL 组比较，$P<0.001$；††与 Atorvastatin 组比较 $P<0.01$。

图 6　ELISA 法检测 IL－1β、IL－18、TNF－α 和 IL－6 的含量