

炎症诱导的新型大鼠动脉粥样硬化模型的建立及 Rb1 的防治作用

樊继山¹, 刘丹宁², 何翠瑶¹, 李晓辉³

(1. 重庆医科大学附属儿童医院药学部, 儿童发育疾病研究教育部重点实验室, 儿科学重庆市重点实验室, 重庆 400014; 2. 重庆医科大学附属第二医院, 重庆 400010; 3. 第三军医大学药学院, 重庆 400038)

【摘要】 **目的** 通过激发大鼠炎症反应建立新型动脉粥样硬化(AS)动物模型并观察人参皂苷 Rb1 的抗 AS 作用。**方法** 模型组采用酵母多糖混悬液(20 mg/kg)每隔 3d 腹腔注射一次, 引发大鼠持续性炎症; 相同方法注射无菌石蜡液作为对照组; Rb1 组同时腹腔注射 Rb1(40 mg/kg); 所有大鼠均喂食高脂饲料, 实验共 10 周。分别通过苏丹染色、透射电镜、real time PCR、免疫组化、ELISA 观察大鼠主动脉壁大体标本、超微结构、NFκB、TNFα、IL6 的表达。**结果** 模型组可见红染的脂纹、斑块形成, 电镜显示内膜下层出现吞噬脂滴的泡沫细胞, NFκB/P65 高表达于主动脉壁的内膜层, TNFα、IL6 水平均明显高于对照组, 经 Rb1 干预后大体标本可见 AS 病变明显减轻, 电镜下未见泡沫细胞, NFκB、TNFα、IL6 水平均较模型组显著降低。**结论** 在高脂喂饲的基础上持续炎症刺激能够成功诱导大鼠 AS 模型, 人参皂苷 Rb1 能够通过抑制炎症反应抗 AS。

【关键词】 动脉粥样硬化; 炎症; 动物模型; Rb1

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2014) 06-0060-06

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2014.06.011

A novel rat model of atherosclerosis induced by inflammation and the therapeutic effect of Rb1

FAN Ji-shan¹, LIU Dan-ning², HE Cui-yao¹, LI Xiao-hui³

(1. Department of Pharmacy, Children's Hospital of Chongqing Medical University; Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders; Key Laboratory of Pediatrics in Chongqing; Chongqing 400014, China;
2. the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400010;
3. College of Pharmacy, Third Military Medical University, Chongqing 400038)

【Abstract】 **Objective** To establish a novel atherosclerosis model by inflammation in rats and investigate the anti-atherosclerotic effect of Rb1. **Methods** Healthy male SD rats were randomly divided into three groups, namely the control group, model group (using zymosan A to induce inflammation) and Rb1-treated group (12 rats in each group). The rats were administered liquid paraffin (i. p.), zymosan A (20 mg/kg, i. p., once every 4 days) or zymosan A and Rb1 (40 mg/kg, i. p., once daily), respectively. All animals were fed a high-fat diet for 10 weeks. At scheduled time points, pathological changes in the aorta were observed using Sudan IV staining and transmission electron microscopy. White blood cell count was used to assess the inflammation. The expression of NFκB, TNFα, IL6 was evaluated by real time PCR, immunohistochemistry and ELISA, respectively. **Results** Typical atherosclerotic changes such as fatty streaks, plaque, foam cells in the rats following zymosan A induction were alleviated by Rb1 treatment. In the Rb1-treated group, there was a markedly decreased expression of NFκB, TNFα, and IL6. **Conclusion** The model of atherosclerosis can be established by inflammation based on high-fat diet in rats. Rb1 inhibits atherosclerosis through anti-inflammatory effect.

【基金项目】 重庆市基础与前沿研究项目(cstc2013jcyjA10027); 重庆医科大学预研基金项目(NSFY201302)。

【作者简介】 樊继山(1972-), 男, 主管药师, 博士, 研究方向: 动脉粥样硬化发病机制及药物干预。E-mail: river080@163.com。

【通讯作者】 刘丹宁(1976-), E-mail: ldning216@163.com。

【Key words】 Atherosclerosis; Inflammation; Zymosan; Animal model; Rb1; Rat

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)的发病是多因素的,并且各因素之间的相互作用极其复杂。除了高脂血症以外,越来越多的证据提示慢性持续的炎症反应在 AS 发生发展中起到重要作用^[1]。既往的资料显示,在相同的血胆固醇水平下,不同患者动脉粥样硬化病变程度可以差异很大^[2];炎症敏感性指标 C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)的升高与 AS 的发生发展及预后有密切的关系^[3];动脉壁的慢性炎症可以造成动脉斑块进而促进局部血栓形成而堵塞血管^[4],我们以往的体外实验也证实炎症刺激可以明显促进泡沫细胞的生成,且传统中药三七总皂苷可通过其抗炎活性干预这一过程^[5],此外,我们通过正交试验还发现,三七总皂苷主要成分之一 Rb1 在其中发挥了重要作用^[6]。因此我们在喂饲高脂饲料的基础上采用酵母多糖诱发持续性炎症的方法诱导大鼠 AS 的形成,为深入探索炎症反应与 AS 之间的关系及其相关研究提供稳定有效的动物模型,并进一步在此模型中观察 Rb1 在体内的抗 AS 作用及其可能的机制。

1 材料和方法

1.1 实验材料

酵母多糖(zymosan A, Zym)粉剂购于 Sigma 公司。酵母多醣混悬液的配制:酵母多糖 A 粉剂与医用液体石蜡按 5 mg/mL 比例混和,高频电磁力搅拌器搅拌 15 min 制成悬浊液,置 100℃ 水浴消毒 80 min,冷却后,放入 4℃ 冰箱备用。给动物注射前需将酵母多糖-液体石蜡混悬液加热至 40℃,高频电磁力搅拌器振荡摇匀后方可使用。Rb1(中国药品生物制品检定所,批号 110704-200420,纯度:98%),苏丹 IV(中国医药上海化学试剂公司),核因子 κ B(NF κ B/P65)鼠单克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司),SP 免疫组化试剂盒(北京中杉公司),肿瘤坏死因子 α (TNF α)、白细胞介素 6(IL6)ELISA 试剂盒(上海森雄公司),其他试剂均为国产分析纯。

1.2 动物分组、模型制备及取材

雄性 SPF 级 SD 大鼠,6~7 周龄,体重 230~250 g,来源于第三军医大学实验动物中心【SCXK(军)2007-0015】,动物饲养及实验操作在第三军医大学实验动物中心进行【SYXK(军)2007-0037】,并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。大鼠分为 3 组:对照组、模型组及 Rb1 干预组,每组 12

只,均喂食高脂饲料(高脂饲料配方:3% 胆固醇、0.5% 胆酸钠、0.2% 丙基硫氧嘧啶、5% 白糖、10% 猪油、81.3% 基础饲料),自由饮水;实验共 10 周。

对照组:腹腔注射等量灭菌液体石蜡;模型组:在无茵条件下腹腔注射酵母多糖-液体石蜡混悬液 20 mg/kg 体重,注射后轻柔腹壁片刻,间隔 3 d 注射一次。Rb1 干预组:在模型组基础上每日腹腔注射 Rb1(40 mg/kg),若当日需注射酵母多糖则在注射酵母多糖之前 6h 进行。模型组动物经尾静脉取血 20 μ L 行白细胞计数,此后每 24 h 尾静脉取血行白细胞计数,监测炎症反应,记录 2 次给药期间的白细胞计数情况。所用器械、试剂和操作均注意无茵处理。

1.3 样品的准备

各组大鼠从腹腔注入 1% 戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉,各组大鼠从左心室取血 2 mL 备用,继之插管入升主动脉。以 120 cmH₂O 压力灌注含 1% 多聚甲醛及 1.25% 戊二醛的 0.1 mol/L 磷酸缓冲液 200 mL (pH7.4)。解剖后取下整段主动脉,自升主动脉、主动脉弓、胸段、腹段,在 3% 的戊二醛中沿动脉纵轴修剪为 1.0 mm \times 1.0 mm \times 2.0 mm 大小,继续用 3% 戊二醛固定过夜用于透射电镜检测。另大鼠麻醉后处死,立即取主动脉并以冷 PBS 清洗,用于苏丹染色及切片进行免疫组化检测;DEPC 水清洗用于提取 RNA。

1.4 主动脉标本苏丹染色

纵形剖开血管,生理盐水冲洗,4% 甲醛固定 40~60min 后,将血管取出生理盐水冲洗,放入苏丹 IV 染液中染色 10 min(染液量是组织体积的 5~6 倍),生理盐水冲洗后将血管展平拍照观察。

1.5 电镜检测

经戊二醛固定后的标本置于 2% 锇酸进行后固定,环氧树脂包埋,超薄切片机切片,载膜铜网捞片,铅铀双染,在 TECNA-10 透射电镜(Philips, Holland)下观察摄片。

1.6 RNA 提取及 real time PCR 检测

参照文献进行^[7],Trizol 法提取总 RNA,取 2 μ g 总 RNA 经 DNase I 处理后逆转录为 cDNA,引物为上海生工生物公司合成(NF κ B/P65:上游引物:5'-GGAAATGTATGTTCCCTAAGCTCGACAG-3',下游引物:5'-CGTGTCCGCCCGCCGACCGAATCGACGGC-3',扩增片段长度:172 bp; GAPDH:上游引物:5'-TG-

GTGAAGGTCGCTGTGTGAACC-3', 下游引物: 5'-TTCCCATTTCTCAGAATTGAC-3', 扩增片段长度: 190 bp)。NF- κ B mRNA 表达水平以其与 GAPDH 的相对表达量来计算。

1.7 免疫组织化学

取主动脉全长, 清除外膜结缔组织后纵向剖开, 经 4% 甲醛固定后, 石蜡包埋, 延动脉的纵轴方向常规切片。按照试剂盒说明书操作, 显微镜下拍照后用“Image Pro Plus”图象处理软件进行图像分析, 测定阳性物质表达面积和积分吸光度 (IOD)。

1.8 TNF α 、IL6 水平测定

取血后静置半小时, 1500 r/min 离心 5min, 分离出血清, 按照 ELISA 试剂盒说明书步骤进行操作。

1.9 统计处理

所有数据以均数 \pm 标准差表示, 组间比较采用单因素方差分析处理, $P < 0.05$ 为差异具有显著性。

2 结果

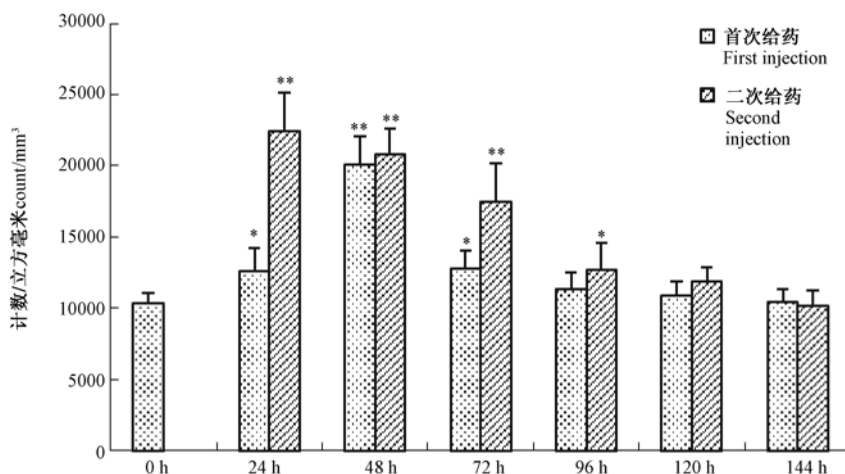
2.1 白细胞计数结果

模型组大鼠与实验前 $[(10.4 \pm 0.069) \times 10^3 / \text{mm}^3]$ 比较, 首次腹腔注射酵母多糖液后 24 h $[(12.6 \pm 0.17) \times 10^3 / \text{mm}^3]$ ($P < 0.05$) 白细胞即开始升高, 48h $[(20.1 \pm 0.21) \times 10^3 / \text{mm}^3]$ ($P < 0.01$) 达到高峰并持续处于高水平至 72 h $[(12.8 \pm 0.12) \times 10^3 / \text{mm}^3]$ ($P < 0.05$), 96 h $[(11.3 \pm$

$0.14) \times 10^3 / \text{mm}^3]$ ($P > 0.05$) 后恢复正常水平, 二次给药后 24h $[(22.4 \pm 0.27) \times 10^3 / \text{mm}^3]$ ($P < 0.01$) 即明显升高达高峰, 48h $[(20.8 \pm 0.18) \times 10^3 / \text{mm}^3]$ ($P < 0.01$)、72h $[(17.5 \pm 0.27) \times 10^3 / \text{mm}^3]$ ($P < 0.01$)、96h $[(12.7 \pm 0.19) \times 10^3 / \text{mm}^3]$ ($P < 0.05$) 虽逐渐下降但与给药前比较差异有显著性, 120h $[(11.9 \pm 0.10) \times 10^3 / \text{mm}^3]$ ($P > 0.05$)、144h $[(10.2 \pm 0.10) \times 10^3 / \text{mm}^3]$ ($P > 0.05$) 后即二次给药后 5d 时降至正常水平 (见图 1)。

2.2 动物一般情况、体重、血脂及大体标本形态学结果

AS 模型组在实验第二周前后, 腹腔注射 Zym 后精神状态及饮食欠佳, 表现为不活泼, 毛发不顺, 少动, 摄食、饮水相对减少, 体重有所减轻; 三周后动物精神状态和进食有所恢复, 随着实验周期的延长, 逐渐好转, 体重与其他组大鼠无显著差别。实验周期结束时模型组大鼠血清总胆固醇及低密度脂蛋白水平明显高于对照组, 而甘油三酯水平差异无显著性 (见表 1)。大体标本形态学观察发现对照组大鼠主动脉表面光滑有光泽; 模型组动物主动脉肉眼观察见较多红染的斑片状及与纵轴垂直的红染脂纹突起于动脉表面; Rb1 干预组见动脉壁毛糙不平, 但仅见少量点片状红染改变, 较模型组改变明显减轻 (图 2 见彩插 7)。



注: 与对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 1 酵母多糖对大鼠 WBC 计数的影响

Note. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. control group.

Fig. 1 Effect of zymosan A on white blood cell counts in the rats.

表 1 AS 模型大鼠血清中 TG、TC、LDL 水平的变化 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Tab.1 Changes of the levels of serum TG, TC, LDL in the AS model rats

组别 Groups	TG/mmol/L	TC/mmol/L	LDL/mmol/L
对照组 Control	5.54 ± 1.66	15.26 ± 3.82	9.18 ± 2.77
模型组 Model	6.78 ± 2.11	25.24 ± 5.47*	16.79 ± 3.88#

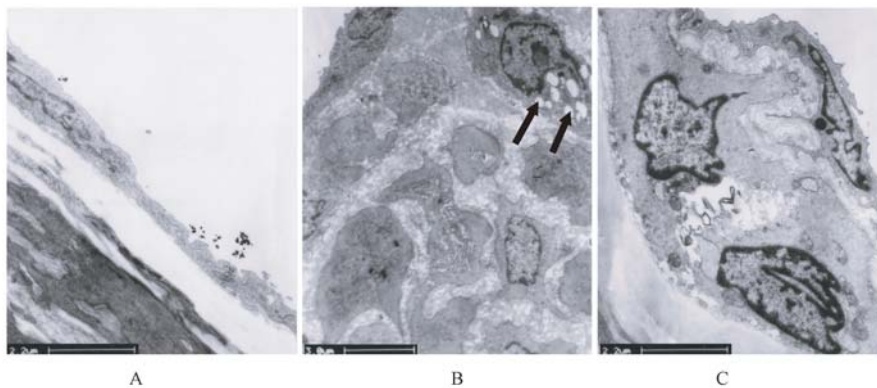
注:与对照组比较 * $P < 0.01$, # $P < 0.01$
 Note. * $P < 0.01$, # $P < 0.01$, vs. control group.

2.3 电镜观察

模型组可见内膜下层的动脉硬化性病变的典型特征性细胞 - 泡沫细胞。对照组动脉壁内皮细胞连续完好,内膜下无泡沫细胞形成。Rb1 组可见内膜下浸润的单核细胞,但未发现泡沫细胞(见图 3)。

2.4 Real time PCR 结果

与对照组比较模型组 NFκB/p65 mRNA 的表达明显增高,Rb1 干预后能显著降低 NFκB/p65 mRNA 的表达量(见图 4)。

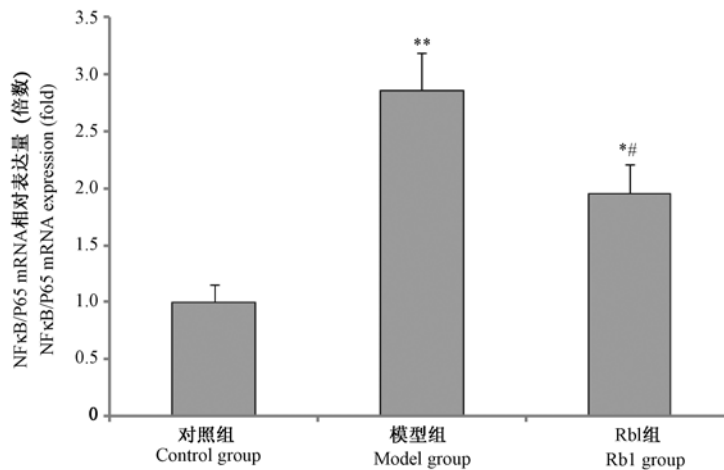


注:A. 对照组; B. 模型组,箭头所指为细胞内吞噬的脂滴; C. Rb1 组。

图 3 透射电镜观察各组大鼠主动脉超微结构变化

Note. A. Control group; B. Model group. The arrows indicate lipid droplets. C. Rb1 group.

Fig.3 Ultrastructural changes in the rat aortas



注:与对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较# $P < 0.05$ 。

图 4 各组大鼠 NFκB/p65 mRNA 的表达

Note. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, vs. control group. # $P < 0.05$, vs. model group.

Fig.4 NFκB/p65 mRNA expression in the rats of each group

2.5 免疫组化结果

阳性细胞主要位于内膜和内膜下层,阳性棕色颗粒主要位于阳性细胞的胞核。与对照组相比,模

型组动物 NFκB/p65 的表达明显升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较 Rb1 组中 NFκB/p65 的表达明显降低 ($P < 0.01$)(图 5 见彩插 7、表 2)。

表 2 大鼠主动脉 NFκB 表达的吸光度值及阳性表达面积($\bar{x} \pm s, n = 6$)

分组 Groups	吸光度 IOD ($\times 10^3$)	面积 Area ($\times 10^3$)
对照组 Control	4.62 ± 1.36	10.19 ± 1.85
模型组 Model	15.59 ± 2.60**	33.45 ± 2.81**
Rb1 组 Rb1	8.40 ± 1.45 #	17.29 ± 1.91#

注:与对照组比较** $P < 0.01$; 与模型组比较# $P < 0.05$ 。

Note. ** $P < 0.01$, vs. control group; # $P < 0.05$, vs. model group.

2.6 ELISA 法测定大鼠血清 TNFα、IL6 结果

各组大鼠血清炎症因子 TNFα、IL6 水平的变化结果见表 3,由表可见模型组大鼠血清中 TNFα、IL6 水平与对照组相比显著升高,Rb1 能抑制这两种炎症因子的增高。

表 3 大鼠血清 TNFα、IL6 表达水平的变化($\bar{x} \pm s, n = 6, \text{pg/mL}$)

分组 Groups	IL6	TNFα
对照组 Control	95.7 ± 10.7	20.1 ± 3.8
模型组 Model	195.7 ± 16.4**	75.3 ± 11.2**
Rb1 组 Rb1	138.3 ± 11.0#	40.5 ± 7.1#

注:与对照组比较** $P < 0.01$; 与模型组比较# $P < 0.05$ 。

Note. ** $P < 0.01$, vs. control group; # $P < 0.05$, vs. model group.

3 讨论

动脉粥样硬化是一种慢性持续性炎症反应性疾病的观点已被广泛认同^[1,8,9],为了能够深入探索持续性炎症反应与动脉粥样硬化之间的关系及相关的机制等研究,建立一种稳定的由持续性炎症反应促发的 AS 动物模型是非常必要的。目前的 AS 动物模型主要包括鼠、兔、猪及灵长类动物等^[10],其中由于良好的遗传背景,容易饲养及成本低廉,应用最广泛的是鼠类动物模型,尤其是基因敲除小鼠,如 apoE 和 LDLR 敲除小鼠,为研究 AS 的发病机制作出了突出贡献^[11],但是 apoE 和 LDLR 敲除小鼠均是从机体脂代谢的关键节点对脂代谢过程进行干预,与之相比,本研究中的动物模型更充分考虑到炎症反应作为诱发因素在 AS 发病中的作用;此外相比于小鼠,大鼠的体积大小适中,标本取材量及取材方法更适于动物实验研究;而且我们在实验过程中发现,相同情况下大鼠在各种干预措施的影响下较小鼠的生存率明显更高,利于在实验结束时收集更多的检测标本。因此,本研究采用大鼠作为模型动物,在喂饲高脂饲料的基础上给予酵母多糖 A 激发持续性炎症反应,诱发大鼠主动脉脂纹及斑块病变的产生,并且通过透射电镜观察超微结构发现,模型

组大鼠主动脉内膜下出现典型的泡沫细胞。

在实验过程中进行腹腔注射时所用的针筒和针头必须灭菌消毒,并注意严格无菌操作,避免细菌性感染,否则不但严重干扰无菌性炎症诱发 AS 的形成,甚至导致实验动物的死亡。配制的高脂饲料最好不要一次大量配制,如果配制的量较大要注意低温保存,避免其中的猪油成分变质,不但影响动物的食欲,而且会对其机体造成不必要的损害。模型制备两到三周时是大鼠状态较差的时期,要注意勤观察及时剔除不健康的大鼠。此外,Rb1 和酵母多糖腹腔注射最好分别安排在上、下午进行,即可避免相互影响,又便于观察实验动物的状态。主动脉标本取材时注意取主动脉弓至髂动脉分叉处全长,并要将与外膜相连的结缔组织和脂肪组织清除干净,以免免影响观察。

酵母多糖是酵母细胞壁的提取物,包含大约 73% 的多糖,15% 的蛋白质,7% 的脂类及无机物成分,腹腔注射 Zym 能触发多种炎症介质的释放,包括白介素、肿瘤坏死因子、脂质中间代谢产物及环氧化酶代谢产物等,可以造成机体严重的炎症反应,Zym 致腹腔过度炎症已被广泛用于多器官衰竭模型(MOF)的制备^[12-14]。因此我们根据白细胞计数结果,以 20 mg/kg 的剂量,每隔 3 日腹腔注射一次,引起大鼠可控制的持续性炎症,即保证了持续性炎症反应的存在,又避免动物由于过度炎症刺激而死亡。炎症刺激激活的白细胞以及循环中的白细胞数量增加均可损伤血管,中性粒细胞产物(如氧自由基等)可以直接或间接作用于内皮或血管壁的其他成分(如细胞膜的多糖蛋白质复合物、基底膜)而损伤血管壁的完整性,损伤的内皮细胞又可以促进白细胞黏附聚集到内皮加剧炎症反应,单核细胞吸附侵入时,内皮细胞功能紊乱、自身调节作用减弱也是造成内膜损伤的关键性因素^[14-16]。此时,在与炎症相关因子的相互作用下,迁移的单核巨噬细胞吞噬变性脂蛋白形成泡沫细胞^[17],这可能是炎症反应促发 AS 的机制之一。本实验结果显示,在模型组动物主动脉壁出现典型的 AS 样病变,同时,定量 PCR 和免疫组织化学染色均显示炎症过程中的关键转录因子 NFκB/p65 表达显著升高,包括与其密切关联的炎症因子 TNFα、IL6,表明炎症反应在 AS 病变发生过程中的重要作用。

众多的文献报道,中药三七总皂苷具有显著的抗 AS 效应^[18],人参皂苷 Rb1 是三七总皂苷中的主

要成分之一,如前所述,我们在细胞模型中发现其能有效抑制泡沫细胞的形成,因此本研究进一步在炎症反应诱发的大鼠 AS 模型中观察了 Rb1 的抗 AS 效应,结果显示 Rb1 能有效的抑制 AS 病变的进展程度,同时显著降低 NF κ B/p65 及相关炎性因子 TNF α 、IL6 的表达,表明了 Rb1 不但在体外细胞实验中能抑制泡沫细胞的形成,而且在体内亦能通过抑制炎症反应发挥抗 AS 作用。

4 结论

炎症反应是诱发 AS 的重要原因之一,在高脂喂食的基础上通过 Zmy 腹腔注射引发持续性炎症可以促发大鼠主动脉壁泡沫细胞的形成,人参皂苷 Rb1 在模型动物体内具有较好的抗 AS 作用。

(本文图 2,5 见彩插 7)。

参 考 文 献

- [1] Charakida M, O'Neil F, Stefano Masi S, et al. Inflammatory disorders and atherosclerosis: new therapeutic approaches [J]. *Curr Pharmaceuti Design*, 2012, 17(37): 4111 - 4120.
- [2] Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis: the road ahead [J]. *Cell*, 2001, 104(4): 503 - 16.
- [3] Ishwarlal J, Sridevi D. C-reactive protein: risk mark or mediator in atherosclerosis [J]. *Hypertension*, 2004;44(1): 6 - 11.
- [4] Shashkin SP, Dragulev B, Ley K. Macrophage differentiation to foam cells [J]. *Curr Pharm Des*, 2005, 11(23): 3061 - 3072.
- [5] 贾乙, 李晓辉. 炎症因素在泡沫细胞形成中的作用及三七皂苷对其影响 [J]. *第三军医大学学报*, 2005, 27(10): 972 - 974.
- [6] 贾乙, 李晓辉, 邢茂, 等. 三七总皂苷中 3 种单体不同配伍对小鼠巨噬细胞源性泡沫细胞形成的影响研究 [J]. *中国药房*, 2008, 19(12): 881 - 883.
- [7] 李微, 张涛, 李瑞生, 等. n-3, n-6PUFA 高脂饮食对 SD 大鼠肝脏胆固醇合成相关基因表达影响 [J]. *中国实验动物学*, 2013, 21(4): 26 - 29.
- [8] Getz GS, Reardon CA. Animal models of atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(5): 1104 - 1115.
- [9] Paoletti R, Gotto Jr AM, Hajjar DP. Inflammation in atherosclerosis and implications for therapy [J]. *Circulation*, 2004, 109 (Suppl. 1): III20 - 26.
- [10] Kapourchali FR, Surendiran G, Chen L, et al. Animal models of atherosclerosis [J]. *World J Clin Cases*, 2014, 2(5): 126 - 132.
- [11] Bentzon JF, Falk E. Atherosclerotic lesions in mouse and man: is it the same disease? [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2010, 21(5): 434 - 440.
- [12] 刘茜, 吕艺, 赵敏, 等. 阻断 PD-L1/PD-1 途径改善酵母多糖致伤小鼠脾脏树突状细胞的免疫耐受状态 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2014, 30(6): 653 - 657.
- [13] Jia W, Cao L, Yang S, et al. Regulatory T cells are protective in systemic inflammation response syndrome induced by zymosan in mice [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8(5): e64397.
- [14] Volman TJ, Hendriks T, Goris RJ. Zymosan-induced generalized inflammation: experimental studies into mechanisms leading to multiple organ dysfunction syndrome [J]. *Shock*, 2005, 23(4): 291 - 297.
- [15] DiStasi MR, Ley K. Opening the flood-gates: how neutrophil-endothelial interactions regulate permeability [J]. *Trends Immunol*, 2009, 30(11): 547 - 556.
- [16] Soehnlein O, Zernecke A, Weber C. Neutrophils launch monocyte extravasation by release of granule proteins [J]. *Thromb Haemost*. 2009, 102(2): 198 - 205.
- [17] 李厚轩, 雷浪, 闫福华. 氧化低密度脂蛋白诱导泡沫细胞形成过程中细胞因子水平的变化 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2010, 26(8): 742 - 745.
- [18] 陈剑梅, 郭洁文. 三七总皂苷对心脑血管作用的药理研究新进展 [J]. *今日药学*, 2011, 21(7): 389 - 392.

[收稿日期] 2014-06-13