

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.01.008

小檗碱通过抑制经典的 NLRP3 炎症小体活化通路来下调 LPS 诱导的 HUVEC 炎症反应 *

何 敏 杨 菁 蒲铃铃 刘 桦 尹小菲[△]

(成都医学院生物科学与技术学院 四川 成都 610500)

摘要 目的:探讨小檗碱(Berberine, Ber)对脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)诱导的人脐静脉血管内皮细胞(Human Umbilical Vein Endothelial Cells, HUVEC)炎症反应的抑制作用及相关机制。**方法:**MTT 法检测不同浓度的 Ber 对 HUVEC 存活率的影响。以 0.05 $\mu\text{g/mL}$ LPS 刺激 HUVEC 建立炎症反应模型,并分别给予 1.25、2.5、5 μM Ber 干预,Elisa 检测 Ber 对炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 分泌的影响,免疫印迹法检测 Ber 对 NLRP3 炎症小体信号通路中 NLRP3、MyD88、IL-1 β 、TLR4、ASC 和 Caspase-1 蛋白表达的影响。**结果:**不同浓度的 Ber 对 HUVEC 增殖均具有抑制作用,且基本呈现浓度梯度,IC₅₀ 值接近 5 μM ;与 LPS 组相比,不同浓度 Ber(1.25、2.5、5 μM)均可以显著下调 HUVEC 中 TNF- α 、IL-1 β 炎症因子的分泌($P<0.005$ 及 $P<0.01$),并可以显著抑制细胞中 NLRP3、MyD88、IL-1 β 、TLR4、ASC 和 Caspase-1 蛋白的表达($P<0.05$),其抑制作用基本呈剂量关系,以 5 μM Ber 的抑制效果最佳。**结论:**Ber 可以通过抑制经典的 NLRP3 炎症小体活化通路来下调 LPS 诱导的 HUVEC 炎症反应。

关键词:小檗碱;脂多糖;HUVEC;NLRP3 炎症小体

中图分类号:R-33; Q463; R285.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)01-38-05

Berberine Reduces Inflammation induced by Lipopolysaccharide through Suppressing Classical NLRP3 Inflammasome Activation Pathway in HUVEC *

HE Min, YANG Jing, PU Ling-ling, LIU Hua, YIN Xiao-fei[△]

(School of Biological Sciences and Technology, ChengDu Medical College, Chengdu, Sichuan, 610500, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the inhibition and related molecular mechanisms of berberine on inflammation induced by LPS in HUVEC. **Methods:** The viability of different concentrations of berberine on HUVEC cells were determined by MTT. An inflammatory model of HUVEC was induced by 0.05 $\mu\text{g/mL}$ LPS, then 1.25, 2.5, 5 μM berberine were used for intervention. The expressions of TNF- α , IL-1 β in cell supernatants were evaluated by ELISA. The expressions of NLRP3, MyD88, IL-1 β , TLR4, ASC and Caspase-1 proteins associating with Classical NLRP3 signaling pathway were evaluated by Western blot. **Results:** The proliferation of HUVEC were restrained by different concentrations of berberine, and there existed a concentration gradient. The IC₅₀ value of berberine on HUVEC was close to 5 μM . Compared with LPS group, different concentrations of berberine could significantly reduce the secretions of TNF- α , IL-1 β and the expressions of NLRP3, MyD88, IL-1 β , TLR4, ASC and Caspase-1 proteins in HUVEC. The inhibition had a dose dependent manner, and 5 μM berberine showed the greatest effect. **Conclusion:** Berberine could reduce inflammation induced by LPS in HUVEC through suppressing Classical NLRP3 inflammasome activation pathway.

Key words: Berberine; Lipopolysaccharide; HUVEC; NLRP3 inflammasome

Chinese Library Classification(CLC): R-33; Q463; R285.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)01-38-05

前言

血管内膜完整性对于机体维持循环系统和局部内环境稳定有着至关重要的作用^[1,2]。脂多糖是革兰氏阴性菌细胞壁的一种特有成分,可引起血管内皮的炎症反应,进一步导致内皮细胞的损伤,是引起糖尿病、心脑血管疾病等发生发展的主要病理因素^[3]。

小檗碱又称黄连素,是一种重要的季胺型异喹啉类生物碱,广泛存在于如小檗科、粟科、毛茛科和芸香科的多种植物中,是一种传统的中医消炎药及抗菌药,在临床上主要用于胃肠道疾病的治疗^[4,5]。目前已有研究报道 Ber 可以通过抑制 HUVEC 炎症反应来减轻血管内皮损伤,如万强等于 2015 年发现 Ber 可以通过抑制 p38 丝裂原活化蛋白激酶通路来降低内脏脂肪素诱导的 HUVEC 炎症反应^[6],但至今尚无研究报道 Ber 对 LPS 引

* 基金项目:四川省大学生创新创业训练计划项目(201413705036)

作者简介:何敏(1994-),本科,主要研究方向:生物化学与分子生物学, E-mail: 798644028@qq.com

[△] 通讯作者:尹小菲(1986-),硕士研究生,实验员,主要研究方向:生物化学与分子生物学, E-mail: 919327296@qq.com, 电话: 18190871235

(收稿日期:2018-03-06 接受日期:2018-03-28)

起的 HUVEC 炎症反应的影响。本研究通过体外 LPS 刺激 HUVEC 细胞构建炎症反应模型,主要在经典的 NLRP3 炎症小体信号通路下探讨 Ber 能否抑制 LPS 诱导的炎症反应。

1 材料与方法

1.1 材料

Ber(纯度 98%)购自天津海光药厂;HUVEC 细胞株为实验室自存;LPS 为 sigma 产品;RPMI-1640 培养基及胎牛血清均为 Hyclone 产品;MTT 及 ELISA 检测试剂盒均购自碧云天生物技术有限公司;Western blot 所用抗体均购自 Novus Biologicals 科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 小檗碱对 HUVEC 细胞增殖的影响 将 Ber 用二甲亚砜配制成 50 mM 的母液,分装后放置于 -20℃ 中保存备用。采用含 10%胎牛血清的 RPMI-1640 培养基在 37℃、5% CO₂ 的条件下进行 HUVEC 细胞的培养,倒置显微镜下观察其生长状态,取对数生长期且状态良好的细胞用于 MTT 实验。以 0.25% 胰酶消化 HUVEC 细胞,用培养基调整细胞浓度为 1.0×10^4 个/mL,将调整后的细胞接种于 96 孔板中,每孔 200 μ L。将接种后的细胞置于培养箱中培养 12 h 后,实验组中分别加入不同浓度的 Ber (250、125、62.5、31.25、15.625、7.8125、3.90625、1.953125、0.9765 μ M),空白组中加入相应体积的磷酸缓冲液,每组均设 3 个复孔,继续培养 48 h 后,弃上清,每孔加入 20 μ L MTT 溶液(5 mg/mL),继续培养 4 h 后,弃上清,每孔加入 DMSO 150 μ L,充分溶解后于酶标仪 570 nm 处测定其 OD 值。

1.2.2 小檗碱作用于 LPS 诱导的 HUVEC 细胞 将 LPS 用蒸馏水配制成 10 mg/mL 的母液,并置于 -20℃ 冰箱中保存备用。取对数生长期且状态良好的细胞,经胰酶消化后调整其浓度为 1×10^4 个/mL。将调整后的细胞接种于 24 孔板中,每孔加入细胞混悬液 800 μ L,培养 12 h 后处理。将细胞分为空白组(细胞+磷酸缓冲液)、LPS 组(细胞+0.05 μ g/mL LPS)、LPS+Ber 组(细胞+0.05 μ g/mL LPS+Ber),其中根据前期实验结果,Ber 选取 1.25、2.5、5 μ M 三个浓度梯度,每组均设三个复孔,处理后继续培养 48 h,离心,分别收集上清液和细胞于 -20℃ 保存备用。

1.2.3 ELISA 检测炎症因子的分泌 取收集的细胞上清,按 ELISA 检测试剂盒操作说明分别检测上清中 TNF- α 、IL-1 β 的含量。

1.2.4 免疫印迹法检测 NLRP3 炎症小体活化通路相关蛋白的表达

取收集的细胞,以含蛋白酶抑制剂的裂解液将其充分裂解,然后离心收集上清并以 BCA 法测定其总蛋白含量。取等量蛋白质样品,加入 SDS 上样缓冲液,混合后置沸水中煮 5 min,上样,以 SDS-PAGE 电泳分离蛋白质,转膜,以 5% BSA 封闭 2 h,一抗 4℃ 孵育过夜,TBST 洗膜,二抗室温孵育 2 h,洗膜后曝光显影。扫描存档,蛋白条带用 Image J 软件进行灰度分析。

1.3 统计学分析

本研究采用软件 GraphPad Prism 5 进行数据统计分析。实验数据采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,经 t 检验,以 $P < 0.05$ 判断数据具有统计学差异。

2 结果

2.1 小檗碱对 HUVEC 细胞增殖的影响

不同浓度的小檗碱对 HUVEC 细胞增殖均具有抑制作用,且基本呈现浓度梯度,其 IC₅₀ 值接近 5 μ M,后续实验选用 5 μ M 及以下浓度进行。见图 1。

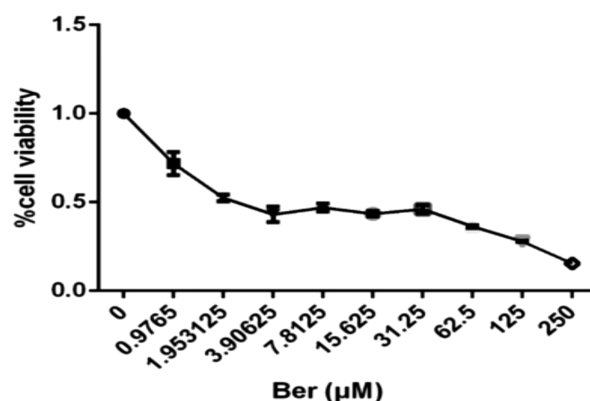


图 1 小檗碱对 HUVEC 细胞增殖的影响

Fig.1 Effects of berberine on the proliferation of HUVEC cells

2.2 小檗碱对 LPS 诱导 HUVEC 细胞分泌 TNF- α 、IL-1 β 的影响

与空白组比较,LPS(0.05 μ g/mL)组 TNF- α 、IL-1 β 的分泌量均显著增加($P < 0.005$),说明已成功构建 HUVEC 细胞的炎症反应模型;而 Ber(5 μ M)干预 48 h 后,与 LPS 炎症模型组相比,TNF- α 、IL-1 β 的分泌量均显著降低($P < 0.005$ 及 $P < 0.01$),表明 Ber 成功抑制了 LPS 诱导的炎症因子表达。见图 2。

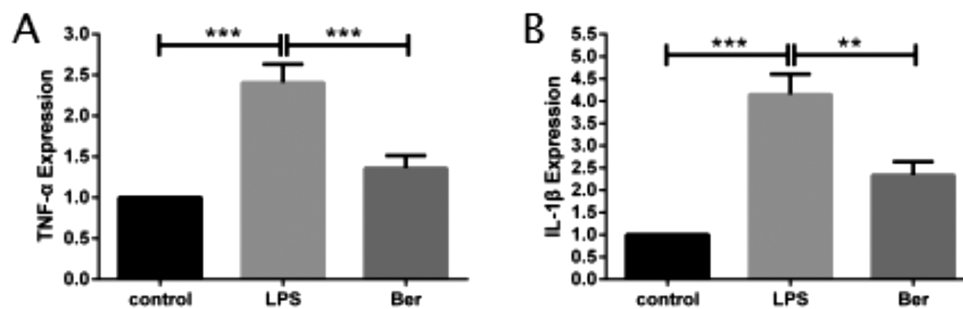


图 2 小檗碱对 LPS 诱导 HUVEC 细胞分泌 TNF- α 、IL-1 β 的影响

Fig.2 Effects of berberine on the expressions of TNF- α 、IL-1 β induced by LPS in HUVEC cells

注: *、**、***、**** 分别代表 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.005$ 、 $P < 0.001$ 。

Note: *, **, ***, **** represent $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.005$, $P < 0.001$.

2.3 小檗碱对 LPS 诱导 HUVEC 细胞表达 NLRP3、MyD88、IL-1 β 、TLR4、ASC 和 Caspase-1 蛋白的影响

Western blot 结果显示,0.05 $\mu\text{g/mL}$ 的 LPS 作用于 HUVEC 细胞后,与空白组相比,显著地提高了经典的 NLRP3 炎症小体信号通路中关键蛋白 NLRP3、MyD88、IL-1 β 、TLR4、ASC 和 Caspase-1 的表达($P<0.05$),说明 LPS 可以通过激活经典的 NLRP3 炎症小体信号通路来引起细胞炎症反应;而 Ber

(1.25、2.5、5 μM)干预 48 h 后,与 LPS 炎症模型组相比较,不同浓度的 Ber 均能显著地降低 NLRP3、MyD88、IL-1 β 、TLR4、ASC 和 Caspase-1 蛋白的表达量($P<0.05$),其抑制作用基本呈剂量关系,以 5 μM Ber 的抑制效果最佳。此结果说明 Ber 能有效地抑制 LPS 诱导的与经典的 NLRP3 炎症小体活化通路相关的蛋白表达。见图 3。

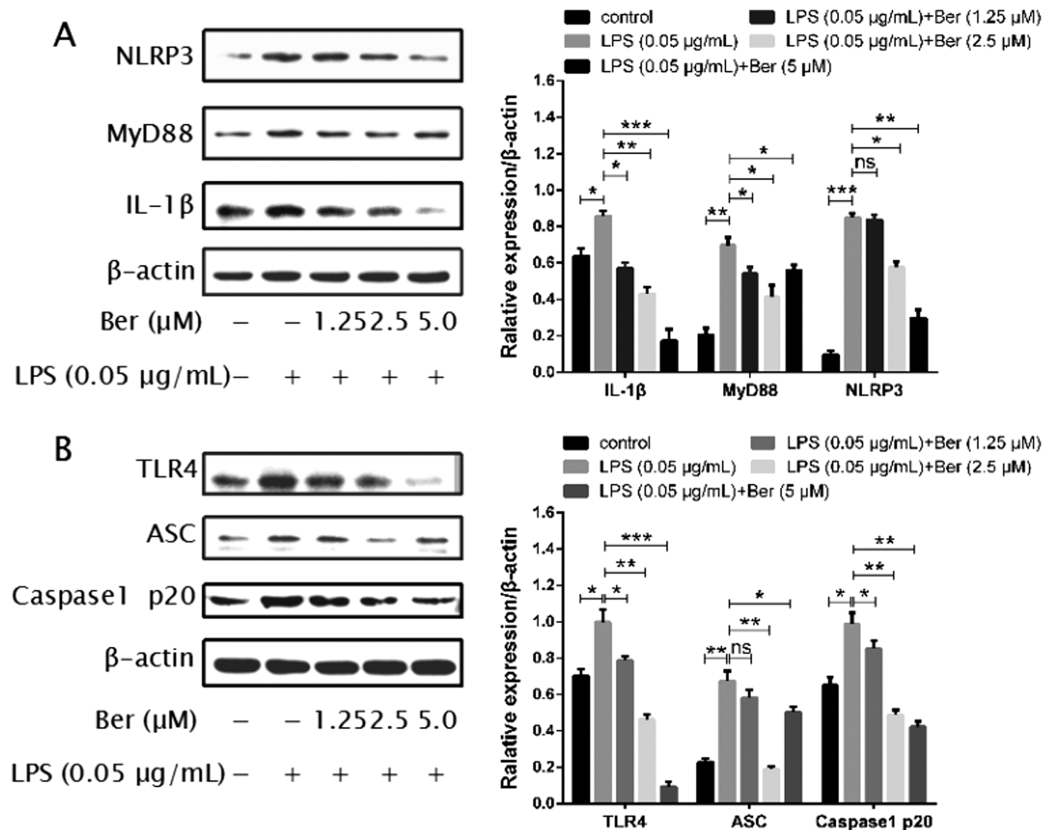


图3 小檗碱对 LPS 诱导 HUVEC 细胞表达 NLRP3、MyD88、IL-1 β 、TLR4、ASC 和 Caspase-1 的影响

Fig.3 Effects of berberine on the expressions of NLRP3、MyD88、IL-1 β 、TLR4、ASC and Caspase-1 proteins induced by LPS in HUVEC cells

注:ns、*、**、***、**** 分别代表无显著差异、 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 、 $P<0.005$ 、 $P<0.001$ 。

Note: ns, *, **, ***, **** represent not significant, $P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.005$, $P<0.001$.

3 讨论

LPS 是由多糖和脂质构成的复合物,它是革兰氏阴性菌细胞壁的主要成分,由类脂 A、O-特异侧链、内核心和外核心构成。在细菌感染性疾病中,LPS 起着重要的作用,可诱导多种炎症因子的激活和释放,引发全身炎症反应。研究发现,LPS 主要通过诱导白介素、氧自由基、单核细胞趋化蛋白等炎症因子大量表达,从而导致促炎系统和抗炎系统产生失衡,最终引起炎症的发生^[7]。当机体受到革兰氏阴性细菌感染时,LPS 主要作用于细胞膜受体,然后通过细胞内信号级联传递来调控下游基因的表达^[8]。

炎症是机体针对内外环境的致病因素及其损害作用所产生的一种复杂的生理和病理反应,其既是机体的一种保护性防御反应,也是引起机体众多疾病的共同因素^[9]。固有免疫是机体抵御病原微生物入侵的第一道屏障,免疫细胞通过自身特有的模式识别受体(Pattern recognition receptor, PRR)来识别病原微

生物的高度保守结构--病原体相关分子模式(Pathogen associated molecular pattern, PAMP),从而激活下游信号通路,引起快速的免疫反应。NOD 样受体(NOD like receptor, NLR)是一类非常重要的细胞内 PRR,可以识别细胞内感染性和非感染性信号,某些 NLR 被激活后可形成巨大的炎症小体^[10,11]。炎症小体是一种大分子多蛋白复合物,位于细胞胞浆中,是机体固有免疫的重要组成部分^[12]。目前已发现的炎症小体主要有 NLRP1、NLRP3、NLRP6、IPAF、RIG-I 和 AIM2,其中 NLRP3 炎症小体在心脑血管疾病、II 型糖尿病等多种疾病发生发展中发挥了重要的作用,它是机体炎症反应的核心^[13,14]。NLRP3 炎症小体能够通过自身的 PRR 来识别病原微生物的 PAMP,常见的 PAMP 包括 LPS、鞭毛蛋白、肽聚糖等^[15,16]。典型的 NLRP3 炎症小体由三种蛋白组成,分别为 NLRP3、ASC 及 pro-caspase-1^[17,18]。一般认为,NLRP3 炎症小体可以被经典和非经典两条不同的信号通路激活。经典的 NLRP3 炎症小体激活需要双重信号刺激:第一信号又称为预刺激信号,通过激活 NF- κ B 信号

通路来引起 NLRP3、IL-1 β 前体及 IL-18 前体表达的上调,由 TLR4 或其他受体介导,其中 TLR4 信号通路又可以通过包括抗原介导的 MyD88 依赖型和 TRIF 依赖型两条通路进行传导^[19,20]。第二信号又称为活化信号,其诱导 NLRP3 寡聚化,进而募集 ASC,活化 caspase-1。活化后的 caspase-1 将诱发 IL-18、IL-1 β 等炎症因子前体的剪切及炎症细胞的焦亡,最终具有生物活性的炎症因子 IL-18、IL-1 β 将从焦亡的细胞中释放出来并发挥多种生物学功能^[21,22]。此外,LPS 还可以通过非经典的信号通路来激活 NLRP3 炎症小体。当革兰氏阴性菌感染细胞时,LPS 能够直接被细胞受体 TLR4 识别,进一步引起 INF 和 Caspase11 表达的上调。此外,LPS 还可以通过 GBPs 蛋白的介导直接进入细胞质,结合并激活 Caspase11。激活后的 Caspase11 一方面将特异性地对 gasderminD 进行切割,切割后产生 N 端 30kDa 左右的蛋白是引发细胞焦亡的活性元件;另一方面将直接激活 NLRP3 炎症小体,并最终诱发 IL-18、IL-1 β 等炎症因子前体的剪切及释放^[23,24]。

Ber 是一种传统的中医消炎药及抗菌药,近年相关研究表明,Ber 在抗炎、抗癌、抗高血压高血脂、抗抑郁、抗糖尿病等方面都具有潜在药用价值,但具体的作用机制尚未阐明。目前,已有研究报道 Ber 能够降低 LPS 诱导的巨噬细胞、脂肪细胞、THP-1 等细胞的炎症反应,但尚无研究报道其对 LPS 损伤血管内皮后引起的炎症反应的影响^[25-27]。本研究通过体外 LPS 刺激 HUVEC 细胞建立炎症反应模型,主要在经典的 NLRP3 炎症小体信号通路下探讨 Ber 能否抑制 LPS 诱导的血管内皮炎症反应。

本研究 ELISA 结果显示,LPS 可以显著增加 HUVEC 细胞中 TNF- α 、IL-1 β 的分泌量,说明 HUVEC 细胞的炎症反应模型成功建立;此外,ELISA 结果还表明 Ber 可以抑制 HUVEC 细胞中 LPS 诱导的 TNF- α 、IL-1 β 炎症因子的分泌,说明 Ber 能够抑制 LPS 损伤血管内皮细胞后引起的炎症反应,提高血管细胞对 LPS 的耐受能力。此外为进一步探索相关的分子机制,我们检测了细胞中经典的 NLRP3 炎症小体活化通路中相关蛋白的表达,WB 结果显示:1、Ber 可以显著下调 LPS 诱导的 HUVEC 细胞中 TLR4 和 MyD88、NLRP3 蛋白的表达,表明 Ber 可以通过抑制细胞中 TLR4/MyD88 依赖型信号通路,从而影响下游 NF- κ B 信号的激活,最终导致 NLRP3 表达量下调,此为 Ber 对经典的 NLRP3 炎症小体活化的第一信号通路的抑制作用;2、Ber 可以显著下调 LPS 诱导的 HUVEC 细胞中 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 的表达量,表明 Ber 可以通过抑制 NLRP3 募集 ASC,进一步阻止 pro-caspase-1 活化为 caspase-1,最终导致 IL-1 β 前体不能成功剪切成具有生物活性的 IL-1 β ,此为 Ber 对经典的 NLRP3 炎症小体活化的第二信号通路的抑制。

综上所述,Ber 可以通过抑制经典的 NLRP3 炎症小体活化通路来降低 LPS 诱导的 HUVEC 细胞炎症反应,从而对 LPS 引起的血管内皮细胞损伤起到一定的保护作用,但其是否可以通过抑制非经典的 NLRP3 炎症小体活化通路来下调 HUVEC 细胞炎症反应仍待进一步研究。

参考文献(References)

- [1] 孙玉红,张卓,李晓冰,等.白藜芦醇通过影响炎症因子保护 LPS 刺激后 HUVEC 细胞[J].四川生理科学杂志,2013,35(1): 10-12
- [2] 吴佳蕾,许惠琴,谭真,等.生地黄-山茱萸对 AGEs 致 HUVEC 细胞损伤的保护作用[J].南京中医药大学学报,2013,29(3): 243-246
- [3] 郝钰,赵斌,郭钰琪,等.脂多糖诱导小鼠内皮损伤早期 T 细胞亚群的变化[J].中国免疫学杂志,2011,27(6): 488-492
- [4] 毛秋娟,龙启才.盐酸小檗碱对 LPS 诱导的小鼠 RAW 264.7 细胞 PGE2、COX-2 表达的影响[J].现代医院,2008,8(12): 7-9
- [5] 吴阳阳,董燕,易浪,等.小檗碱对 LPS、IL-4 诱导的小鼠 RAW 264.7 细胞分泌 TNF- α 、IL-10 的影响[J].中药新药与临床药理,2014,25(3): 268-272
- [6] 万强,周凤华,贾钰华,等.小檗碱抑制 p38 MAPK 通路降低 visfatin 诱导 HUVEC 损伤的研究[J].中药新药与临床药理,2015,26(5): 586-590
- [7] 牟娜娜,姜晓盈,王仁庆,等.LPS 激活巨噬细胞 NLRP3 炎症小体的作用研究[J].热带医学杂志,2015,15(4): 441-466
- [8] Xiao HB, Wang CR, Liu ZK, et al. LPS induces pro-inflammatory response in mastitis mice and mammary epithelial cells: Possible involvement of NF- κ B signaling and OPN [J]. Pathol Biol, 2015, 63 (1): 11-16
- [9] Wang ZH, Mong MC, Yang YC, et al. Asiatic acid and maslinic acid attenuated kainic acid-induced seizure through decreasing hippocampal inflammatory and oxidative stress[J]. Epilepsy Res, 139: 28-34
- [10] Strowig T, Henao-Mejia J, Elinav E, et al. Inflammasomes in health and disease[J]. Nature, 2012, 481(7381): 278-286
- [11] Yadav N, Chandra H. Suppression of inflammatory and infection responses in lung macrophages by eucalyptus oil and its constituent 1,8-cineole: Role of pattern recognition receptors TREM-1 and

- NLRP3, the MAP kinase regulator MKP-1, and NF- κ B [J]. *PLoS One*, 2017, 12(11): e0188232
- [12] 毛开睿, 孙兵. NLRP3 炎症小体研究进展[J]. *现代免疫学*, 2011, 31(1): 1-3
- Mao Kai-rui, Sun Bing. The progress of NLRP3 inflammasome[J]. *Current Immunology*, 2011, 31(1): 1-3
- [13] Zhu Y, Zhu H, Wang Z, et al. Wogonoside alleviates inflammation induced by traumatic spinal cord injury by suppressing NF- κ B and NLRP3 inflammasome activation [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(4): 3304-3308
- [14] Song N, Liu ZS, Xue W, et al. NLRP3 Phosphorylation Is an Essential Priming Event for Inflammasome Activation [J]. *Mol Cell*, 2017, 68(1): 185-197
- [15] Evavold C, Kagan JC. How inflammasomes inform adaptive immunity[J]. *J Mol Biol*, 2017, 36(17): 30470-30479
- [16] Subramanian N, Natarajan K, Clatworthy MR, et al. The adaptor MAVS promotes NLRP3 mitochondrial localization and inflammasome activation[J]. *Cell*, 2013, 153(2): 348-361
- [17] Freeman L, Guo H, David CN, et al. NLR members NLRC4 and NLRP3 mediate sterile inflammasome activation in microglia and astrocytes[J]. *J Exp Med*, 2017, 214(5): 1351-1370
- [18] Liston A, Masters SL. Homeostasis-altering molecular processes as mechanisms of inflammasome activation [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(3): 208-214
- [19] Negash AA, Ramos HJ, Crochet N, et al. IL-1 β production through the NLRP3 inflammasome by hepatic macrophages links hepatitis C virus infection with liver inflammation and disease [J]. *PLoS Pathog*, 2013, 9(4): e1003330
- [20] Broz P, Dixit VM. Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signaling[J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16(7): 407-420
- [21] Liston A, Masters SL. Homeostasis-altering molecular processes as mechanisms of inflammasome activation[J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(3): 208-214
- [22] Wang X, Gong P, Zhang X, et al. NLRP3 inflammasome activation in murine macrophages caused by *Neospora caninum* infection [J]. *Parasit Vectors*, 2017, 10(1): 266
- [23] Kayagaki N, Wong MT, Stowe IB, et al. Noncanonical inflammasome activation by intracellular LPS independent of TLR4 [J]. *Science*, 2013, 341(6151): 1246-1249
- [24] Man SM, Karki R, Sasai M, et al. IRGB10 Liberates Bacterial Ligands for Sensing by the AIM2 and Caspase-11-NLRP3 Inflammasomes[J]. *Cell*, 2016, 167(2): 382-396
- [25] Zhang H, Shan Y, Wu Y, et al. Berberine suppresses LPS-induced inflammation through modulating Sirt1/NF- κ B signaling pathway in RAW264.7 cells[J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 52: 93-100
- [26] 张红霞, 赵娟, 于希忠, 等. 小檗碱和人参皂苷 Rb1 合用对脂肪细胞炎症因子表达和炎症信号通路的影响[J]. *食品与生物技术学报*, 2014, 33(6): 597-603
- Zhang Hong-xia, Zhao Juan, Yu Xi-zhong, et al. Effect of Combination of Berberin and Ginsenosides Rb1 on Inflammatory Adipocytokines and Inflammatory Signaling Pathways in Adipocytes [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2014, 33(6): 597-603
- [27] 刘司璇. 小檗碱对脂多糖诱导的 THP-1 细胞相关炎症因子的影响[D]. 太原: 山西医科大学, 2014
- Liu Si-xuan. Effect of Berberine on Inflammatory Cytokines Induced by Lipopolysaccharide in THP-1 Cells[D]. Tai Yuan: Shanxi medical university, 2014

(上接第 82 页)

- [21] Zhang G, Chen Z. Medical and Interventional Therapy for Spontaneous Vertebral Artery Dissection in the Craniocervical Segment[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 7859719
- [22] Hernández-Durán S, Ogilvy CS. Clinical outcomes of patients with vertebral artery dissection treated endovascularly: a meta-analysis[J]. *Neurosurg Rev*, 2014, 37(4): 569-577
- [23] Xu R, Liu W, Li JL, et al. Endovascular intervention of intradural hemorrhage from ruptured spontaneous vertebral artery dissection[J]. *Neurosciences*, 2013, 18(1): 46-51
- [24] Kim BM, Shin YS, Kim SH, et al. Incidence and risk factors of recurrence after endovascular treatment of intracranial vertebrobasilar dissecting aneurysms[J]. *Stroke*, 2011, 42(9): 2425-2430
- [25] Sönmez Ö, Brinjikji W, Murad MH, et al. Deconstructive and Reconstructive Techniques in Treatment of Vertebrobasilar Dissecting Aneurysms: A Systematic Review and Meta-Analysis[J]. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2015, 36(7): 1293-1298
- [26] Hernandez-Duran S, Ogilvy CS. Clinical outcomes of patients with vertebral artery dissection treated endovascularly: a meta-analysis[J]. *Neurosurg Rev*, 2014, 37: 569-577
- [27] Shin DH, Hong JM, Lee JS, et al. Comparison of potential risks between intracranial and extracranial vertebral artery dissections[J]. *Eur Neurol*, 2014, 71(5-6): 305-312
- [28] Huang R, Niu L, Wang Y, et al. Endovascular versus Non-interventional Therapy for cervicocranial artery dissection in east Asian and non-east Asian patients: a systematic review and meta-analysis[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 10474
- [29] Ota N, Tanikawa R, Kamiyama H, et al. Discrepancy between preoperative imaging and postoperative pathological finding of ruptured intracranial dissecting aneurysm, and its surgical treatment: case report[J]. *Neurol Med Chir(Tokyo)*, 2014, 54(3): 219-226
- [30] Kim BM, Kim SH, Kim DI, et al. Outcomes and prognostic factors of intracranial unruptured vertebrobasilar artery dissection [J]. *Neurology*, 2011, 76(20): 1735-1741