DOI:10.16016/j.1000-5404.201510177

6-姜烯酚通过下调 TLR4/NF-κB 通路抑制血管平滑肌细胞增殖

陈 磊,胡子成,周 毅,张明杰,王 旭,皮 燕,龙春燕,孙梦娇,陈 雪,李敬诚,张莉莉 (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所神经内科)

[摘要] **目的** 探讨 6-姜烯酚对血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells,VSMCs)增殖的影响及其可能的分子机制。**方法** 组织贴块法培养野生型(wild type,WT)和 Toll 样受体 4 敲除(Toll-like receptor 4 knockout, TLR4$^{-/-}$)小鼠原代 VSMCs。应用血小板源性生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)诱导 VSMCs 增殖。分别应用 TLR4 配体脂多糖(LPS)和 TLR4 抑制剂(Eritoran,E5564)激活和抑制 TLR4,观察 TLR4 在 VSMCs 增殖中的作用。加入 6-姜烯酚刺激,观察对 VSMCs 增殖以及对 TLR4 表达的影响。**结果** 6-姜烯酚呈浓度依赖性地抑制 PDGF 诱导的 VSMCs 增殖($P<0.05$);PDGF 和 LPS 均可激活 TLR4 并促进野生 VSMCs 的增殖($P<0.05$),TLR4 基因敲除抑制 PDGF 和 LPS 诱导的 VSMCs 增殖($P<0.05$);6-姜烯酚下调 VSMCs 中 TLR4 表达($P<0.05$)。6-姜烯酚下调 VSMCs 中 TLR4 下游蛋白 NF-κB 的表达($P<0.05$)。**结论** 6-姜烯酚通过下调 TLR4/NF-κB 通路抑制血管平滑肌细胞增殖。

[关键词] 血管平滑肌细胞;细胞增殖;6-姜烯酚;TLR4
[中图法分类号] R282.71; R322.12; R329.28 [文献标志码] A

6-shogaol suppresses vascular smooth muscle cells proliferation by inhibiting TLR4/NF-κB signaling pathway

Chen Lei, Hu Zicheng, Zhou Yi, Zhang Mingjie, Wang Xu, Pi Yan, Long Chunyan, Sun Mengjiao, Chen Xue, Li Jingcheng, Zhang Lili (Department of Neurology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the effect of 6-shogaol on the proliferation in vascular smooth muscle cells (VSMCs) and investigate its underlying mechanism. **Methods** VSMCs were isolated from the thoracic aorta of wild-type (WT, C57BL/6J background) and Toll-like receptor 4 knockout (TLR4$^{-/-}$, C57BL/6J background) mice. Platelet derived growth factor (PDGF) was used to induce the proliferation in the obtained VSMCs. In order to observe the effect of TLR4 in VSMCs, LPS was added to the medium of TLR4$^{-/-}$ and WT VSMCs respectively to activate TLR4, while TLR4 inhibitor, E5564 was used to inhibit the expression of TLR4. 6-shogaol was added to observe its effect on the proliferation and TLR4 expression in VSMCs. **Results** 6-shogaol inhibited the proliferation of VSMCs in a dose-dependent manner ($P<0.05$). Both PDGF and LPS activated TLR4 and promoted the cell proliferation ($P<0.05$), but knockout of TLR4 gene suppressed the induced proliferation ($P<0.05$). 6-shogaol also inhabited the expression of TLR4 and its downstream protein, NF-κB ($P<0.05$). **Conclusion** 6-shogaol suppresses the proliferation in VSMCs *via* inhibiting TLR4/NF-κB signaling pathway.

[**Key words**] vascular smooth muscle cells; cell proliferation; 6-shogaol; Toll-like receptor 4

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81271282, 81471193, 81400967). Corresponding author: Zhang Lili, Tel: 86-23-68757842, E-mail: zll197312@hotmail.com

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81271282,81471193,81400967)
[通信作者] 张莉莉,电话:(023) 68757842,E-mail: zll197312@hotmail.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20151229.1537.013.html (2015-12-29)

血管内膜增厚是动脉粥样硬化的一个重要特征,同时也是导致血管成形术、血管支架和移植术后血管狭窄的主要病理改变[1]。位于血管壁中膜的血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells,VSMCs)迁移到内膜并大量增殖是引起内膜增厚的主要原因。正常状态下的 VSMCs 呈收缩型,不具有迁移增殖能力,在各种因素如脂质、炎症因子、压力等刺激状态下,发生表型转换并获取迁移、增殖能力,进而迁移到内膜并大量增殖而引起内膜增厚[2]。

Toll 样受体(Toll-like receptors,TLRs)是介导宿主自身免疫过程中的一种高度保守的膜蛋白[3],TLR4 是 TLRs 家族的一员,广泛表达于巨噬细胞、心肌细胞、气道上皮细胞、骨骼肌和血管平滑肌细胞等[4-5]。在自身免疫反应中,TLR4 通过激活 NF-κB 而引起一系列炎症因子(IL-1、IL-6、TNF-α 等)的释放,进而激活炎症反应[6-7]。近年来的研究证明,在 VSMCs 迁移增殖过程中,TLR4 介导的炎症反应占据着重要地位,使用 TLR4 配体 LPS 激活 TLR4 可诱导 VSMCs 迁移、增殖,而使用 TLR4 抑制剂 E5564 抑制 TLR4 则可以明显抑制 VSMCs 的迁移、增殖[8]。

姜是在世界范围内广泛使用的一种调料,而且还作为传统药物用于治疗很多疾病,如风湿、炎症、消化不良、发热等[9-10]。进一步的研究发现,干姜提取物可以抑制动脉粥样硬化的发展[11]。因此,姜还具有抗动脉粥样硬化的重要作用。6-姜烯酚(6-shogaol,6S)是干姜中活性很高的一种提取物。在胰腺癌中,6-姜烯酚通过抑制 TLR4/NF-κB 途径抑制癌细胞的增殖、迁移[12]。我们推测,在动脉粥样硬化过程中,6-姜烯酚可抑制 VSMCs 的增殖,其机制可能与抑制 TLR4 介导的炎症反应有关。本研究检测经 6-姜烯酚处理过的 VSMCs 增殖及 TLR4 表达情况,探讨 6-姜烯酚在 VSMCs 增殖中的作用及分子机制,旨在为临床治疗和预防动脉粥样硬化提供新的策略。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

DMEM 细胞培养液、胎牛血清(FBS)购自美国 HyClone 公司。青链霉素溶液、山羊抗鼠二抗、BCA 蛋白定量试剂盒购自江苏碧云天公司,TLR4 抗体、NF-κB 抗体、β-actin 抗体购自 Santa Gruz 公司,6-姜烯酚购自上海阿拉丁试剂公司,脂多糖(LPS,TLR4 配体)、Eritoran(E5564,TLR4 抑制剂)、PDGF-BB 购自 Sigma 公司。

1.2 实验动物

3~4 周龄雄性 TLR4 基因敲除小鼠(TLR4$^{-/-}$,C57BL/6J 背景)20 只购自美国 Jackson 实验室,雄性野生型 C57BL/6J 小鼠(wild type,WT)20 只购自第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心。实验过程中对动物的处置符合动物伦理学标准。

1.3 细胞培养

分别剪取 WT 和 TLR4$^{-/-}$ 小鼠胸主动脉,剥离外膜和内膜,将中膜剪为 2 mm 左右碎片,贴于培养瓶瓶壁,用含 10% FBS 的 DMEM 培养基,培养于含 5% CO_2 的 37 ℃温箱内,待 VSMCs 爬出后,进行传代培养。用第 2~6 代生长良好的 VSMCs 进行实验。培养的 VSMCs 按照小鼠来源不同分为 WT-VSMCs 和 TLR4$^{-/-}$-VSMCs。

1.4 分组药物干预

在培养的 WT 和 TLR4$^{-/-}$-VSMCs 中分别加入 PDGF(20 ng/mL)诱导细胞增殖。分别应用 TLR4 激动剂 LPS(100 ng/mL)和 TLR4 抑制剂 E5564(10 ng/mL)作用于培养的 VSMCs,观察 TLR4 增强和抑制状态对细胞增殖的影响。应用梯度浓度的 6-姜烯酚(5、10、15、20 μmol/L)作用于 VSMCs,观察 6-姜烯酚对 PDGF 诱导的 VSMCs 增殖的影响,并检测其对 TLR4 和 NF-κB 表达的影响。

1.5 Western blot 检测蛋白表达

将 VSMCs 铺于 6 孔板,加药培养 48 h 后,收集细胞,用蛋白裂解液提取蛋白,用 BCA 试剂盒测量蛋白质浓度。按照所测蛋白浓度,将蛋白样品经聚丙烯酰胺凝胶电泳后,电转至 PVDF 膜,4% 脱脂奶粉 37 ℃封闭 4 h,加入对应的 TLR4(1∶800 稀释)、β-actin(1∶2 000 稀释)或 NF-κB(1∶500 稀释)一抗,4℃孵育过夜。TBST 洗膜后加入相应二抗,孵育 2 h,TBST 洗膜后,在暗室用胶片曝光,Image Lab 软件进行图像分析。

1.6 MTT 法测定细胞增殖率

将 WT 小鼠 VSMCs(3×10^4/mL)用含有 10% FBS 的 DMEM 培养基,培养于 96 孔板,细胞贴壁后,加药培养 3 d,然后向每孔加入 5 mg/mL 的 MTT 溶液 20 μL,室温培养 3 h,倒掉孔内溶液,加入 200 μL DMSO 溶液,静置 1 h,用酶标仪读取 570 nm 处光密度值[D(570)]。

1.7 统计学分析

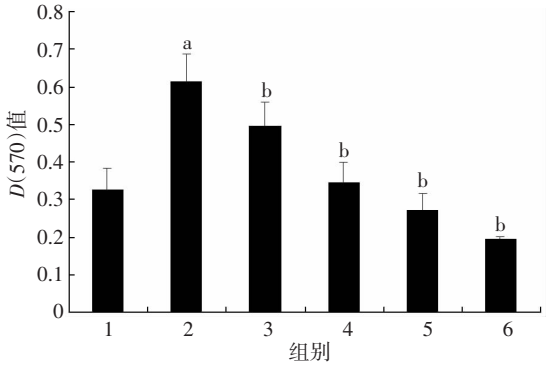
数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,使用 SPSS 16.0 统计软件进行分析,两组间均数比较采用 t 检验,多组间样本均数比较采用单因素方差分析,两两比较采用 q 检验,检验水准 $\alpha=0.05$。

2 结果

2.1 6-姜烯酚抑制 VSMCs 增殖

在 WT-VSMCs 中加入 PDGF 可显著诱导细胞增

殖,MTT 法检测显示细胞的光密度明显升高,与对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$);低浓度的 6-姜烯酚(5 μmol/L)即可明显抑制 PDGF 诱导的 WT-VSMCs 增殖;随着浓度的增加,6-姜烯酚对 WT-VSMCs 增殖的抑制作用增强,在 20 μmol/L 浓度时仍可显著抑制 PDGF 诱导的 WT-VSMCs 增殖($P<0.05$,图 1)。



1:WT-VSMCs-对照组;2:WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL)组;3:WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL) + 6S(5 μmol/L)组;4:WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL) + 6S(10 μmol/L)组;5:WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL) + 6S(15μmol/L)组;6:WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL) + 6S(20 μmol/L)组

a:$P<0.05$,与 WT-VSMCs-对照组比较;b:$P<0.05$,与 WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL)组比较

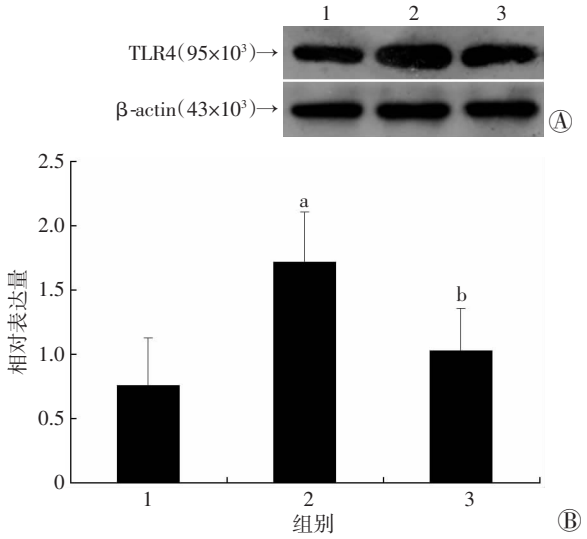
图 1 姜烯酚呈浓度依赖性地抑制 PDGF 诱导的 WT-VSMCs 增殖

2.2 TLR4 介导的炎症反应在 VSMCs 增殖中的作用

应用 TLR4 激动剂 LPS 和抑制剂 E5564 作用于培养的 WT-VSMCs。结果发现,LPS 和 E5564 可分别上调和下调 WT-VSMCs 中 TLR4 的表达(图 2)。对于 WT-VSMCs,LPS(100 ng/mL)和 PDGF(20 μg/L)均可显著增加细胞的增殖能力,MTT 法检测发现培养细胞的光密度升高,与 WT-VSMCs-对照组相比均有统计学差异($P<0.05$)。而 TLR4 抑制剂 E5564 则可显著抑制 LPS 和 PDGF 诱导的 WT-VSMCs 细胞的增殖($P<0.05$)。对于 $TLR4^{-/-}$-VSMCs,PDGF 和 LPS 刺激均未能明显诱导细胞的增殖能力升高,与 $TLR4^{-/-}$-VSMCs-对照组相比差异无统计学意义($P>0.05$,图 3)。提示 TLR4 活化可促进 VSMCs 的增殖,而 TLR4 缺陷则使得 PDGF 和 LPS 诱导的细胞增殖均受到抑制。

2.3 6-姜烯酚抑制 TLR4 表达

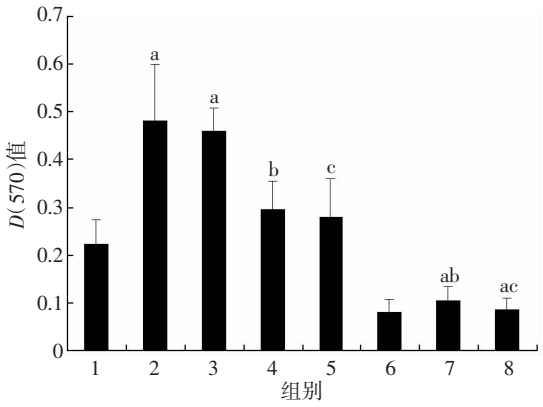
PDGF 刺激培养的 WT-VSMCs 可显著上调细胞中 TLR4 的表达;而 6-姜烯酚则呈浓度依赖性地抑制 PDGF 诱导的 TLR4 表达,5 μmol/L 浓度的 6-姜烯酚即可显著下调 TLR4 表达,20 μmol/L 时仍有显著的抑制作用($P<0.05$,图 4)。此外,20 μmol/L 的姜烯酚还可显著抑制 LPS 诱导的 WT-VSMCs 中 TLR4 的表达水平($P<0.05$)。即使对于正常培养条件下的 WT-VSMCs(对照组),20 μmol/L 的姜烯酚都可明显下调细胞中的 TLR4 水平($P<0.05$,图 5)。



1:WT-VSMCs-对照组;2:WT-VSMCs-LPS(100 ng/mL)组;3:WT-VSMCs-LPS(100 ng/mL) + E5564(10 ng/mL)组

A:Western blot 检测结果;B:半定量分析结果 a:$P<0.05$,与 WT-VSMCs-对照组比较;b:$P<0.05$,与 WT-VSMCs-LPS(100 ng/mL)组比较

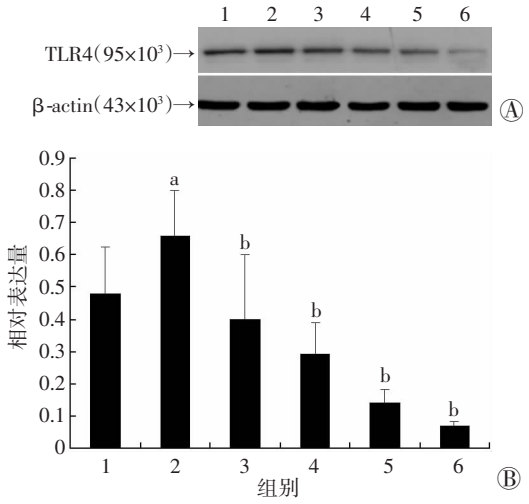
图 2 Western blot 检测 LPS 以及 E5564 对 TLR4 表达的影响



1:WT-VSMCs-对照组;2:WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL)组;3:WT-VSMCs-LPS(100 ng/mL)组;4:WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL) + E5564(10 ng/mL)组;5:WT-VSMCs-LPS(100 ng/mL) + E5564(10 ng/mL)组;6:$TLR4^{-/-}$-VSMCs-对照组;7:$TLR4^{-/-}$-VSMCs-PDGF(20 ng/mL)组;8:$TLR4^{-/-}$-VSMCs-LPS(100 ng/mL)组

a:$P<0.05$,与 WT-VSMCs-对照组比较;b:$P<0.05$,与 WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL)组比较;c:$P<0.05$,与 WT-VSMCs-LPS(100 ng/mL)组比较

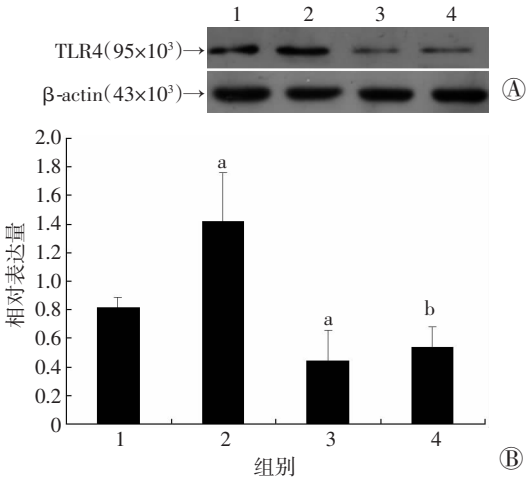
图 3 MTT 法检测 TLR4 对 VSMCs 增殖能力的调控



1:WT-VSMCs-对照组;2:WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL)组;3:WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL) + 6S(5 μmol/L)组;4:WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL) + 6S(10 μmol/L)组;5:WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL) + 6S(15 μmol/L)组;6:WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL) + 6S(20 μmol/L)组

A:Western blot 检测结果;B:半定量分析结果 a:$P<0.05$,与 WT-VSMCs-对照组比较;b:$P<0.05$,与 WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL)组比较

图 4 6-姜烯酚呈浓度依赖性地抑制 PDGF 诱导的 TLR4 表达



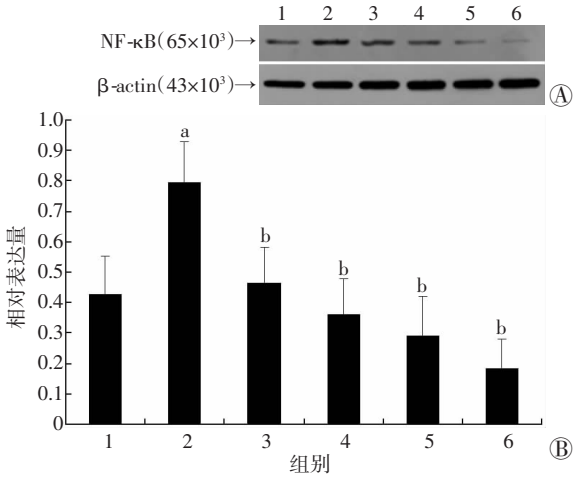
1:WT-VSMCs-对照组;2:WT-VSMCs-LPS(100 ng/mL)组;3:WT-VSMCs-6S(20 μmol/L)组;4:WT-VSMCs-LPS(100 ng/mL) + 6S(20 μmol/L)组

A:Western blot 检测结果;B:半定量分析结果 a:$P<0.05$,与 WT-VSMCs-对照组比较;b:$P<0.05$,与 WT-VSMCs-LPS(100 ng/mL)组比较

图 5 6-姜烯酚抑制 LPS 引起的 TLR4 表达

2.4 6-姜烯酚抑制 TLR4 下游蛋白 NF-κB 的表达

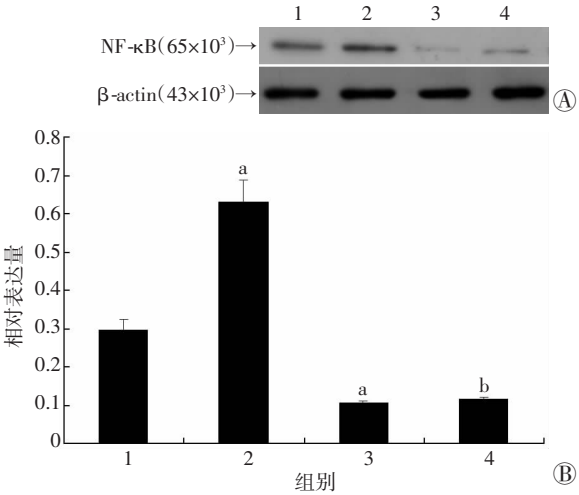
结果显示,PDGF 刺激可显著上调培养的 WT-VSMCs 中 NF-κB 的表达;而 6-姜烯酚呈浓度依赖性地抑制 PDGF 诱导的 NF-κB 表达(图 6)。此外,20 μmol/L 的 6-姜烯酚可显著抑制 LPS 诱导的 NF-κB 的表达($P<0.05$);即使对于正常培养条件下的 WT-VSMCs(6S 组),姜烯酚也显著降低 NF-κB 的表达($P<0.05$,图 7)。



1:WT-VSMCs-对照组;2:WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL)组;3:WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL) + 6S(5 μmol/L)组;4:WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL) + 6S(10 μmol/L)组;5:WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL) + 6S(15 μmol/L)组;6:WT-VSMCs-PDGF(20 ng/mL) + 6S(20 μmol/L)组

A:Western blot 检测结果;B:半定量分析结果 a:$P<0.05$,与 WT-VSMCs-对照组比较;b:$P<0.05$,与 WT-VSMCs-PDGF(20ng/mL)组比较

图 6 6-姜烯酚抑制 PDGF 诱导的 NF-κB 表达



1:WT-VSMCs-对照组;2:WT-VSMCs-LPS(100 ng/mL)组;3:WT-VSMCs-6S(20 μmol/L)组;4:WT-VSMCs-LPS(100 ng/mL) + 6S(20 μmol/L)组

A:Western blot 检测结果;B:半定量分析结果 a:$P<0.05$,与 WT-VSMCs-对照组比较;b:$P<0.05$,与 WT-VSMCs-LPS(100 ng/mL)组比较

图 7 6-姜烯酚抑制 LPS 诱导的 NF-κB 表达

3 讨论

内膜增厚是动脉粥样硬化早期的重要病理过程,同时也参与多种原因引起的管腔狭窄性的血管疾病,如动脉成形后再狭窄、移植性血管病等。VSMCs 从血管壁中膜迁移到内膜并增殖是导致内膜增厚的最主要的一个细胞机制[13]。因此,通过抑制 VSMCs 增殖进而抑制内膜增厚,对预防动脉粥样硬化和其他血管狭窄性疾病具有重要意义。

TLR4 是人体自身免疫过程中重要的膜受体,在炎症反应过程中,TLR4 激活 MyD88,引起 NF-κB 发生核转位,导致促炎症细胞因子如 IL-6、IL-1、TNF-α 的释放,加重炎症进程和局部炎症反应[14]。在动脉粥样硬化病变中的 VSMCs,其 TLR4 表达明显升高[15];抑制 TLR4 的表达或 TLR4 基因敲除可以抑制 VSMCs 迁移、增殖以及泡沫化过程,并抑制动脉粥样硬化的病理进程[8,16-17]。提示 TLR4 介导的 VSMCs 炎症反应参与了动脉粥样硬化的过程。

TLR4 介导的炎症反应不仅参与了动脉粥样硬化这一炎性病理过程,而且在促进 VSMCs 增殖中起到重要作用。我们的研究发现,TLR4 特异性配体 LPS 可上调 TLR4 的蛋白表达,并促进 VSMCs 的增殖,而 TLR4 抑制剂 E5564 在下调 TLR4 表达的同时,还显著抑制 LPS 引起的细胞增殖。我们应用 PDGF 诱导 VSMCs 增殖的同时,发现细胞中的 TLR4 水平也明显升高。而在 $TLR4^{-/-}$ 小鼠中,LPS 和 PDGF 均未能明显诱导 VSMCs 的增殖。以上结果提示 VSMCs 增殖过程中伴随着 TLR4 的上调和活化,而 TLR4 活化则可促进 VSMCs 的增殖,TLR4 在 VSMCs 的增殖过程中起到重要的作用。

姜作为一种调味品在世界范围内广泛应用,而在中国,姜还作为一种中药方剂来治疗很多疾病如:发热、瘀血、肠炎等[18]。近年来由于姜的一些新的生物活性,使它引起了越来越多的关注[19-20]。姜辣素是生姜中含量最丰富的生物活性成分,但是姜辣素很不稳定,在生姜的储存过程中,会脱水产生大量的姜烯酚,在干姜中,6-姜烯酚与姜辣素的比例约为 1∶1[20]。6-姜烯酚具有抗炎、抗动脉粥样硬化等作用,有研究发现,在人脐静脉内皮细胞中,6-姜烯酚可以通过抑制氧化低密度脂蛋白引起的 LOX-1 释放而保护内皮细胞不受损伤[21]。本研究表明,6-姜烯酚可呈剂量依赖性地抑制 PDGF 诱导的 VSMCs 增殖,低至 5 μmol/L 浓度的 6-姜烯酚即可明显抑制 PDGF 诱导的 VSMCs 增殖,其抑制作用随着浓度的增加而不断增强,在 20 μmol/L 浓度时仍可显著抑制 VSMCs 的增殖。

同时,本研究还发现,6-姜烯酚可呈剂量依赖性地下调 PDGF 诱导的 TLR4 表达,对 LPS 诱导的 TLR4 表达也有显著的抑制作用,提示 6-姜烯酚具有对抗 VMSC 炎症反应的重要作用。核转录因子 NF-κB 是 TLR4 下游介导炎症反应的关键因子,我们的研究发现,PDGF 诱导增殖以及单纯应用 LPS 活化 TLR4,均可显著上调 VSMCs 中 NF-κB 的表达。而 6-姜烯酚呈剂量依赖性地抑制 PDGF 诱导的 NF-κB 表达,并降低 LPS 诱导的 NF-κB 的表达,提示 6-姜烯酚对 VSMCs 增殖过程中的 TLR4/NF-κB 炎性信号的活化具有抑制作用。

总之,本研究发现 6-姜烯酚可显著抑制 VSMCs 的增殖,可能是其抗动脉粥样硬化的一个重要机制。6-姜烯酚可能通过下调 VSMCs 中 TLR4/NF-κB 炎性信号通路,进而抑制 TLR4 介导的炎症反应,最终抑制 VSMCs 的增殖能力。6-姜烯酚这一新的分子机制有望为临床治疗和预防动脉粥样硬化提供新的干预策略。

参考文献:

[1] Zhang L N, Parkinson J F, Haskell C, *et al*. Mechanisms of intimal hyperplasia learned from a murine carotid artery ligation model[J]. Curr Vasc Pharmacol, 2008, 6(1): 37-43.

[2] Newby A C, Zaltsman A B. Molecular mechanisms in intimal hyperplasia[J]. J Pathol, 2000, 190(3): 300-309.

[3] Creagh E M, O'Neill L A. TLRs, NLRs and RLRs: a trinity of pathogen sensors that co-operate in innate immunity[J]. Trends Immunol, 2006, 27(8): 352-357. DOI: 10.1016/j.it.2006.06.003

[4] Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling[J]. Nat Rev Immunol, 2004, 4(7): 499-511. DOI: 10.1038/nri1391

[5] Zarember K A, Godowski P J. Tissue expression of human Toll-like receptors and differential regulation of Toll-like receptor mRNAs in leukocytes in response to microbes, their products, and cytokines[J]. J Immunol, 2002, 168(2): 554-561.

[6] Schroder N W, Schumann R R. Single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptors and susceptibility to infectious disease[J]. Lancet Infect Dis, 2005, 5(3): 156-164. DOI: 10.1016/S1473-3099(05)01308-3

[7] Candore G, Colonna-Romano G, Balistreri C R, *et al*. Biology of longevity: role of the innate immune system[J]. Reju-

venation Res, 2006, 9(1): 143 – 148. DOI: 10.1089/rej.2006.9.143

[8] Zhang L L, Gao C Y, Fang C Q, *et al*. PPARγ attenuates intimal hyperplasia by inhibiting TLR4-mediated inflammation in vascular smooth muscle cells[J]. Cardiovasc Res, 2011, 92(3): 484 – 493. DOI: 10.1093/cvr/cvr238

[9] Kubra I R, Rao L J. An impression on current developments in the technology, chemistry, and biological activities of ginger (Zingiber officinale Roscoe)[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2012, 52(8): 651 – 688. DOI: 10.1080/10408398.2010.505689

[10] Afzal M, Al-Hadidi D, Menon M, *et al*. Ginger: an ethnomedical, chemical and pharmacological review[J]. Drug Metabol Drug Interact, 2001, 18(3/4): 159 – 190.

[11] Verma S K, Singh M, Jain P, *et al*. Protective effect of ginger, Zingiber officinale Rosc on experimental atherosclerosis in rabbits[J]. Indian J Exp Biol, 2004, 42(7): 736 – 738.

[12] Zhou L, Qi L, Jiang L, *et al*. Antitumor activity of gemcitabine can be potentiated in pancreatic cancer through modulation of TLR4/NF-κB signaling by 6-shogaol[J]. AAPS J, 2014, 16(2): 246 – 257. DOI: 10.1208/s12248-013-9558-3

[13] Hlawaty H, Suffee N, Sutton A, *et al*. Low molecular weight fucoidan prevents intimal hyperplasia in rat injured thoracic aorta through the modulation of matrix metalloproteinase-2 expression[J]. Biochem Pharmacol, 2011, 81(2): 233 – 243. DOI: 10.1016/j.bcp.2010.09.021

[14] Kawai T, Akira S. Signaling to NF-kappa B by Toll-like receptors[J]. Trends Mol Med, 2007, 13(11): 460 – 469. DOI: 10.1016/j.molmed.2007.09.002

[15] Xu X H, Shah P K, Faure E, *et al*. Toll-like receptor-4 is expressed by macrophages in murine and human lipid-rich atherosclerotic plaques and upregulated by oxidized LDL[J]. Circulation, 2001, 104(25): 3103 – 3108.

[16] Pi Y, Zhang L L, Li B H, *et al*. Inhibition of reactive oxygen species generation attenuates TLR4-mediated proinflammatory and proliferative phenotype of vascular smooth muscle cells[J]. Lab Invest, 2013, 93(8): 880 – 887. DOI: 10.1038/labinvest.2013.79

[17] Zhang M J, Yin Y W, Li B H, *et al*. The role of TRPV1 in improving VSMC function and attenuating hypertension[J]. Prog Biophys Mol Biol, 2015, 117(2/3): 212 – 216. DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2015.03.004

[18] 韩云祥. 仲景寒热并用方临床应用心得[J]. 包头医学院学报, 2014, 30(5): 78 – 79.

[19] Ali B H, Blunden G, Tanira M O, *et al*. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (Zingiber officinale Roscoe): a review of recent research[J]. Food Chem Toxicol, 2008, 46(2): 409 – 420. DOI: 10.1016/j.fct.2007.09.085

[20] Baliga M S, Haniadka R, Pereira M M, *et al*. Update on the chemopreventive effects of ginger and its phytochemicals[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2011, 51(6): 499 – 523. DOI: 10.1080/10408391003698669

[21] Wang Y K, Hong Y J, Yao Y H, *et al*. 6-shogaol protects against oxidized LDL-induced endothelial injruries by inhibiting oxidized LDL-evoked LOX-1 signaling[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, 2013: 1 – 13. DOI: 10.1155/2013/503521

(**收稿**:2015-10-30;**修回**:2015-12-01)

(编辑 张 维)