

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2017.15.013

实验研究

护心方含药血清对 THP-1 源性泡沫细胞自噬相关蛋白的影响

叶焕文¹, 陈仁华², 曹海明¹, 江巍^{1*}

(1. 广东省中医院, 广东省广州市越秀区大德路 111 号, 510120; 2. 中山大学药学院)

摘要 目的 探讨护心方抗动脉粥样硬化的可能作用机制。方法 用 160 nmol/L 佛波醇酯类多克隆刺激剂孵育 THP-1 细胞 24 h 后诱导分化成巨噬细胞, 加入 50 mg/L 氧化低密度脂蛋白 (ox-LDL) 培养 48 h, 使其转化为泡沫细胞。以 40% 护心方含药血清作用 12 h。采用蛋白质印迹检测自噬相关蛋白微管相关蛋白轻链 3II (LC3-II)、微管相关蛋白轻链 3I (LC3-I)、Beclin-1 及 p62 表达, 激光共聚焦显微镜观察自噬蛋白指标 LC3B 在细胞内分布及含量。结果 与空白组比较, 模型组 LC3-II/LC3-I 和 Beclin-1 表达显著增加, p62 表达显著降低, LC3B 表达平均荧光强度显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 护心方组 LC3-II/LC3-I 和 Beclin-1 表达显著降低, p62 表达显著升高, LC3B 表达平均荧光强度降低 ($P < 0.05$)。结论 护心方能够逆转 ox-LDL 诱导的细胞自噬相关蛋白的表达, 从而抵抗动脉硬化过程中过度自噬。这可能是其抗动脉粥样硬化的机制之一。

关键词 动脉粥样硬化; 护心方; 氧化低密度脂蛋白; 泡沫细胞; 自噬

在传统研究中认为, 自噬作为细胞处理多余及有缺陷细胞器回收细胞质的过程, 是细胞的一种保护机制。但近年来多方研究表明, 自噬也在疾病产生机制中发挥作用^[1]。过度自噬能促使内皮细胞损伤或死亡, 诱发动脉粥样硬化, 促进皮损的血栓形成, 是急性临床事件的主要机制^[2]。氧化低密度脂蛋白 (ox-LDL) 通过相应受体进入细胞后能够通过上调脯氨酸氧化酶诱发活性氧依赖性自噬^[3], 使细胞更易损伤^[4-5], 因此, 抑制 ox-LDL 诱导的细胞自噬是抗动脉粥样硬化的可能途径。护心方是由名老中医邓铁涛教授治疗冠心病的经验方化裁而来, 具有益气化痰、活血通络的功效。前期研究表明, 护心方可通过小凹蛋白 1、清道夫受体 BI 等多个途径促进 ApoE (-/-) 小鼠细胞胆固醇逆转过程^[6]。本研究通过检测自噬相关蛋白微管相关蛋白轻链 3 (LC3)、Beclin-1 以及 p62 表达水平, 探讨护心方抗动脉粥样硬化的可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 细胞及动物

THP-1 细胞株为人急性单核细胞白血病细胞

株, 购自上海中国医学科学院研究所细胞中心。清洁级 SD 雄性大鼠 20 只, 4 月龄, 体重 120 ~ 150 g, 购自广东省实验动物中心, 实验动物合格证号: 4407203545。

1.2 药物

护心方组成: 人参 10 g (产地吉林, 批号 121212251), 三七 15 g (产地云南, 批号 130112391), 法半夏 15 g (产地四川, 批号 130101), 红花 10 g (产地四川, 批号 130303821) 等, 药物均购自康美药业。采用常规方法制备水煎剂浓度为 3 g/ml, 4℃ 保存。

1.3 主要试剂及仪器

RPMT-4640 培养基 (批号: SH30809.01)、胎牛血清 (批号: 10270-406) 及牛血清白蛋白 (批号: 42F2362K) 均为 Gibco 公司产品; 佛波醇酯类多克隆刺激剂 (美国 Sigma 公司, 批号: ICA1042); ox-LDL (广州奕源生物科技有限公司, 批号: YB-002); 油红 O 粉末 (Sigma 公司, 批号: 77K0123); 50% 乙醇 (天津永大化学试剂有限公司, 批号 20130521); 明矾苏木素染液 (中杉金桥生物技术有限公司, 批号: ZLI-9040150425); GAPDH 内参抗体 (Santacruz 公司, 货号:

基金项目: 国家自然科学基金 (81102584)

* 通讯作者: drjiangwei@126.com, (020) 81887233 转 38201

sC-47724); LC3 抗体 (货号: 12741)、Beclin-1 抗体 (货号: 3738) 以及 p62 抗体 (货号: 88588) 均为 CST 公司产品; 二抗 Alexa Fluor 594 标记 LC3B (Abcam 公司, 货号: ab63817); CytoPainter Phalloidin-iFluor 488 试剂 (Abcam 公司, 货号: ab176753); 0.1% Triton x-100 (西宝生物科技有限公司, 批号 184081)。

IX73 型倒置显微镜 (奥林巴斯公司); G-Box 凝胶成像系统 (Syngene 公司); Mini Trans-Blot 1703811 型蛋白转膜仪 (Bio-Rad 公司); Mini PROTEAN 3 Cell 552BR094870 型垂直电泳仪 (Bio-Rad 公司); Cofocal LSM780 型激光共聚焦显微镜 (Zeiss 公司)。

1.4 泡沫细胞模型的建立^[8]

人单核细胞株 THP-1 细胞呈类圆形在 RPMI-1640 培养液中悬浮生长, 加 10% 胎牛血清, 接种于 6 孔培养板, 每孔 2 ml, 经 160 nmol/L 佛波醇酯类多克隆刺激剂诱导细胞形态逐渐变不规则, 胞体增大、包浆出现空泡、细胞表面伸出伪足, 24 h 后完全贴壁生长成巨噬细胞。换液后加入 50 mg/L ox-LDL 共同孵育 48 h, 经固定后使用 10% 油红 O 鉴定模型。改良的油红 O 染色液配制: 油红 O 粉末 0.5 g, 50% 乙醇 100 ml。将油红 O 溶于乙醇内, 且不断搅拌至完全溶解即可, 配制好的染液置磨口瓶内保存备用。稀释油红 O 储存液, 染色 15 min 左右, 经 60% 异丙醇分化数秒钟, 水洗 1~2 min, 用稀释 1 倍的明矾苏木素染液淡染细胞核 30 s, 水洗返蓝, 显微镜下观察并摄像。

1.5 护心方含药血清制备

20 只 SD 大鼠适应性喂养 7 天后开始给药。根据《药理实验方法学》^[9] 中动物与人体的每千克体重剂量折算系数表, 以成人推荐日用量的 2 倍剂量即每次 1.5 ml/100 g 体重灌胃, 每日 1 次, 连续 7 天。最后一次给药前 12 h 禁食不禁水, 于最后一次给药 2 h 后, 腹主动脉采血, 常温静置 4 h 后 3000 r/min 离心 10 min, 收集上清并混合, 过滤除菌, -20℃ 保存备用。

1.6 Western Blot 法测定细胞自噬相关蛋白 LC3-II、LC3-I、Beclin-1 及 p62 表达

收集对数期细胞, 调节细胞悬液浓度为 1×10^6 /ml, 细胞悬液 50 μ l (即 5×10^4 细胞/孔) 加入到 96 孔板, 每组 5 孔。空白组: RPMI-1640 培养液孵育 48 h; 模型组: RPMI-1640 培养液加

50 mg/L ox-LDL 共同孵育 48 h; 护心方空白组: RPMI-1640 培养液孵育 48 h, 同时加 40% 护心方含药血清干预 12 h; 护心方组: RPMI-1640 培养液、50 mg/L ox-LDL 孵育 48 h, 同时施加 40% 护心方含药血清干预 12 h。PBS 洗脱终止刺激, 分别收集各组细胞。经 SDS-PAGE 电泳后将蛋白转至 PVDF 膜上, 5% 脱脂牛奶封闭后, 将相应的一抗 (LC3、Beclin-1、p62 均 1:1000 比例稀释, GAPDH: 1:20000 比例稀释) 4℃ 孵育过夜, 然后用 TBST 每次 7 min 洗 2 次, 用相应的稀释好的二抗室温下孵育 1~2 h, 用 TBST 每次 7 min 洗 3 次, 进行化学发光显影。用 Gel-Pro analyzer 4.0 分析目标条带的光密度值。以 GAPDH 作为内参照, 以目的蛋白的 OD 值除以内参条带的 OD 值作为目的蛋白的相对 OD 值, 每个蛋白至少取 3 组条带进行统计分析。

1.7 LC3B 在细胞内的分布及含量

实验分为空白组、模型组和护心方组, 每组 10 孔。各组细胞培养和干预方法同上。使用二抗 Alexa Fluor 594 标记 LC-3B (红色), DAPI 标记细胞核 (蓝色), phalloidin 标记细胞骨架 F-actin (绿色), 根据不同分组培养细胞后用 4% 多聚甲醛 4℃ 固定 15 min, 0.1% Triton x-100 4℃ 通透 10 min, PBS 洗涤 3 次后, DAPI 室温染色 3 min, 双蒸水洗涤 2 次后封片, 激光共聚焦显微镜下观察并拍摄记录, Image J 1.48v 图像分析软件测量荧光强度, 结果以目的蛋白 LC3B 平均荧光强度值分析。

1.8 统计学方法

采用 Graphpad PRISM 6 软件进行统计学处理, 计量数据以均数 $\pm$ 标准差表示, 若满足正态分布且方差齐性两组间比较采用 *t* 检验, 3 组间比较采用单因素方差分析; 否则用非参数 Wilcoxon 秩和检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 泡沫细胞模型的鉴定

THP-1 单核细胞用佛波醇酯类多克隆刺激剂诱导 24 h 后可见细胞呈梭形贴壁生长, 多数细胞伸出伪足, 说明细胞已分化成为巨噬细胞。再用 50 mg/ml ox-LDL 共同孵育 48 h 后, 油红 O 染色, 显微镜下观察, 细胞质内有大量红色脂质颗粒存在, 符合泡沫细胞的形态特点, 见图 1。

2.2 各组细胞自噬相关蛋白表达比较

表 1 示, 与空白组比较, 模型组 LC3-II/LC3-I

表 1 各组细胞自噬相关蛋白表达比较 (/GAPDH, $\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	LC3-II /LC3-I	p62	Beclin-1
空白组	5	1.056 ± 0.075	1.131 ± 0.048	0.362 ± 0.030
模型组	5	2.605 ± 0.082*	0.869 ± 0.062*	1.231 ± 0.049*
护心方空白组	5	1.153 ± 0.071 [△]	1.193 ± 0.060 [△]	0.188 ± 0.011 [△]
护心方组	5	1.272 ± 0.120 ^{△▲}	1.017 ± 0.077 ^{△▲}	0.457 ± 0.022 ^{△▲}

注: LC3-II /LC3-I 为 LC3-II 条带与 LC3-I 条带的 OD 比值; 与空白组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$; 与护心方空白组比较, $\Delta P < 0.05$

和 Beclin-1 表达显著增加, p62 表达显著降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 护心方组和护心方空白组 LC3-II /LC3-I 和 Beclin-1 表达显著降低, p62 表达显著升高 ($P < 0.05$)。护心方空白组较护心方组在降低 LC3-II /LC3-I 及 Beclin-1 表达, 升高 p62 表达更明显 ($P < 0.05$)。各组细胞自噬相关蛋白电泳图见图 2。

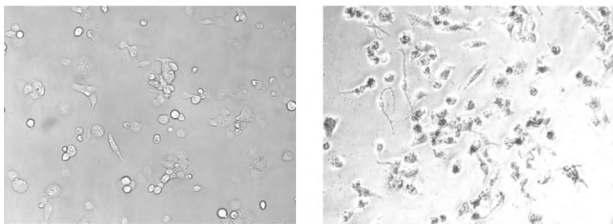
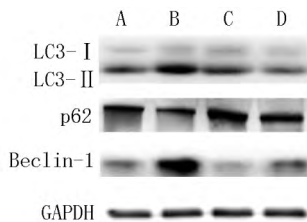


图 1 显微镜下观察泡沫化的 THP-1 巨噬细胞 ($\times 200$)

注: A, PMA 诱导 24 h 后的巨噬细胞; B, ox-LDL 诱导 48 h 后的泡沫细胞

图 1 显微镜下观察泡沫化的 THP-1 巨噬细胞 ($\times 200$)



注: A, 空白组; B, 模型组; C, 护心方空白组; D, 护心方组

图 2 各组细胞自噬相关蛋白电泳图

2.3 各组细胞中 LC3B 分布及含量比较

空白组 LC3B 呈阴性或弱阳性表达; 模型组 LC3B 表达丰富, 于细胞质内分布; 护心方组抑制 LC3B 向细胞浆内周围聚集, 且标记的自噬小体明显减少。表 2 示, 与空白组比较, 模型组和护心方组 LC3B 表达平均荧光强度显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 护心方组 LC3B 表达平均荧光强度显著降低 ($P < 0.05$)。

3 讨论

动脉粥样硬化是指动脉的一种非炎症性、退行

表 2 各组细胞中 LC3B 平均荧光强度值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	LC3B
空白组	10	5.61 ± 0.21
模型组	10	10.21 ± 0.86*
护心方组	10	6.88 ± 0.21* [△]

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

性和增殖性疾病, 导致管壁增厚变硬、弹性消失和管腔变小甚至闭塞, 是引发心脑血管疾病的最主要的因素之一。根据其相关病因、病机特点, 可将其归属于中医学“瘀证”“痰证”“脉痹”等范畴。邓铁涛教授认为, 气虚是形成动脉粥样硬化的基本病机, 瘀血痰凝是基本病理改变。由于肺气亏虚, 气血失和, 导致血瘀、痰浊内生, 脉络闭塞, 进而形成动脉粥样硬化, 故在治疗上确立了益气活血、化痰通络的治疗大法。护心方以人参甘温益气为君, 以补五脏元气, 如《本草分经》云“其性主气, 凡脏腑之有气者皆能补之”。法半夏辛温性燥, 善燥湿化痰; 三七甘温, 具有活血通脉之功, 二者共为臣药, 配合君药以达益气除痰祛瘀之效。红花活血通络, 为佐使药。全方攻补兼施, 共奏益气除痰祛瘀通脉之功, 正气旺则津血运行流畅, 痰瘀去则血脉畅, 而达到防治动脉粥样硬化的目的。临床研究表明, 护心方可缓解冠心病患者的临床症状、提高临床疗效, 改善患者的生活质量^[8]。

自噬是细胞通过吞噬单层或双层脂质膜内待降解物或排出物形成自噬体, 然后运输到溶酶体形成自噬溶酶体并进行降解, 实现细胞内大分子物质及某些细胞器的代谢更新以及细胞稳态的维持^[9]。研究发现, 血管中平滑肌细胞、巨噬细胞、内皮细胞等与促进动脉粥样硬化的因素作用时均表现出自噬的特征, 动脉粥样硬化斑块中亦存在血管细胞自噬, 说明自噬参与并调节动脉粥样硬化的发生发展过程^[11-13]。一旦细胞处于缺血或缺氧状态时, 自噬活性被激活上调, 以通过降解作用维持缺血或缺氧的细胞功能, 有利于细胞存活; 但过度激活自噬会带给细胞伤害, 导致启动 2 型程序性细胞死

亡^[4]。这种因自噬而引发的细胞死亡能释放大炎症因子,如肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 6 等,继而引发一系列严重危害细胞生理功能的反应^[5]。在自噬形成过程中,LC3 前体经过加工成为胞浆可溶性 LC3-I,再经泛素样加工修饰过程成为 LC3-II,LC3-II 的表达量与自噬泡的数量呈正相关,已成为检测自噬的常用指标之一^[6]。在此过程中,p62 蛋白作为连接自噬小体和泛素化底物的桥梁,可以使泛素化的底物在自噬溶酶体中降解^[7]。Beclin-1 基因是第一个经过研究公认的在哺乳动物身上发现的自噬基因,其参与自噬的诱导、自噬体的生成及成熟的过程,对自噬体的形成至关重要^[8]。研究发现,ox-LDL 能够诱导血管内皮细胞,导致 LC3 和 Beclin-1 表达增强^[9]。

本研究结果显示,ox-LDL 可诱导泡沫细胞自噬相关蛋白 LC3-II、Beclin-1 表达明显增加,p62 蛋白表达减少,LC3B 表达平均荧光强度显著升高;而护心方可降低 LC3-II/LC3-I 和 Beclin-1 表达,增加 p62 表达,降低 LC3B 表达平均荧光强度,说明护心方可减轻泡沫细胞自噬过程,减轻自噬对细胞的损害,提示护心方可能具有调控泡沫细胞自噬的作用,并由此发挥其抗动脉粥样硬化作用。

参考文献

- [1] SHINTANI T, KLIONSKY DJ. Autophagy in health and disease: a double-edged sword [J]. Science, 2004, 306 (5698): 990-995.
- [2] SCHRIJVERS DM, DE MEYER GR, MARTINET W. Autophagy in atherosclerosis: a potential drug target for plaque stabilization [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31(12): 2787-2791.
- [3] ZABIRNYK O, LIU W, KHALIL S, et al. Oxidized low-density lipoproteins upregulate proline oxidase to initiate ROS-dependent autophagy [J]. Carcinogenesis, 2010, 31 (3): 446-454.
- [4] NOWICKI M, ZABIRNYK O, DUERRSCHMIDT N, et al. No upregulation of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 in serum-deprived EA.hy926 endothelial cells under oxLDL exposure, but increase in autophagy [J]. Eur J Cell Biol, 2007, 86(10): 605-616.
- [5] GRÄFE M, AUCH-SCHWELK W, HERTEL H, et al. Human cardiac microvascular and macrovascular endothelial cells respond differently to oxidatively modified LDL. Atherosclerosis [J]. Atherosclerosis, 137(1): 87-95.
- [6] JIANG W, LI S, MAO W, et al. Effect of Huxin Formula on reverse cholesterol transport in ApoE-gene knockout mice [J]. Chin J Integr Med, 2012, 18(6): 451-456.
- [7] GU HF, LI HZ, TANG Y, et al. Nicotinate-Curcumin Impedes Foam Cell Formation from THP-1 Cells through Restoring Autophagy Flux [J]. PLoS One, 2016, 11(4): e0154820.
- [8] 魏伟, 吴希美, 李元建, 等. 药理实验方法学 [M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 71.
- [9] WU HL, WANG YF, LI JZ, et al. A multicentre randomized clinical trial on efficacy and safety of huxin formula in patients undergoing percutaneous coronary intervention [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2014; 14306.
- [10] LEVINE B, KLIONSKY DJ. Development by self-digestion: Molecular mechanisms and biological functions of autophagy [J]. Dev Cell, 2010, 6(4): 463-477.
- [11] 李靓, 谢巍, 姜志胜, 等. 我国动脉粥样硬化基础研究近三年进展 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2015, 23(11): 1182-1188.
- [12] LIAO X, SLUIMER JC, WANG Y, et al. Macrophage autophagy plays a protective role in advanced atherosclerosis [J]. Cell Metab, 2012, 15(4): 545-553.
- [13] 翟纯刚, 季晓平. 自体吞噬在动脉粥样硬化斑块中的作用 [J]. 国际心血管病杂志, 2013, 40(3): 142-144.
- [14] KROEMER G, LEVINE B. Autophagic cell death: the story of a misnomer [J]. Nat Mol Cell Biol, 2008, 9 (12): 1004-1010.
- [15] PETROVSKI G, AYNA G, MAJAI G, et al. Phagocytosis of cells dying through autophagy induces inflammasome activation and IL-1 β release in human macrophages [J]. Autophagy, 2011, 7(3): 321-330.
- [16] TANIDA I, UENO T, KOMINAMI E. LC3 conjugation system in mammalian autophagy [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2004, 36(12): 2503-2518.
- [17] GEISLER SI, HOLMSTROM KM, SKUJAT D, et al. PINK1/Parkin mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1 [J]. Nat Cell Biol, 2010, 12 (2): 119-131.
- [18] DJAVAHERI-MERGNY M, MAIURI MC, KROEMER G. Cross talk between apoptosis and autophagy by caspase-mediated cleavage of Beclin 1 [J]. Oncogene, 2010, 29(12): 1717-1719.
- [19] XU K, YANG Y, YAN M, et al. Autophagy plays a protective role in free cholesterol overload-induced death of smooth muscle cells [J]. Lipid Res, 2010, 51(9): 2581-2590.

Effects of *Huxin Fang* (护心方) Drug-Containing Serum on Autophagy-Related Protein of THP-1 Derived Foam Cells

YE Huanwen¹, CHEN Renhua², CAO Haiming¹, JIANG Wei¹

(1. Guangdong Provincial Hospital of Chinese Medicine, Guangzhou, 510120; 2. School of Pharmacy, Sun Yat-sen University)

ABSTRACT Objective To explore the potential anti-atherosclerosis mechanism of *Huxin Fang* (护心方, HF). **Methods** THP-1 cells were incubated with 160nmol/L phorbol esters polyclonal stimulants for 48 hours to differentiate into macrophages, and then 50mg/L oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL) were added for another 48 hours to make them transfer into foam cells. After that, serum containing 40% HF were added for 12 hours. Autophagy-associated proteins microtubule-associated protein light chain 3II (LC3-II), microtubule-associated protein light chain 3I (LC3-I), Beclin and p62 expressions were detected by Western blotting, while the distribution and content of autophagic protein index LC3B were observed by laser confocal microscopy. **Results** Compared with the blank group, the expression of LC3-II/LC3-I and Beclin-1 in the model group significantly increased, the expression of p62 decreased and the average fluorescence intensity of LC3B significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the expression of LC3-II/LC3-I and Beclin-1 in the HF group significantly decreased, the expression of p62 significantly increased and the average fluorescence intensity of LC3B decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** HF could reverse the expression of the autophagy-related proteins induced by ox-LDL, thereby resisting excessive autophagy during arteriosclerosis. This might be one of the possible anti-atherosclerosis mechanism of HF.

Keywords arteriosclerosis; *Huxin Fang* (护心方); oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL); foam cell; autophagy
(收稿日期: 2017-02-04; 修回日期: 2017-04-22)

编辑: 邓 媛

(上接第 1310 页)

Clinical Observation on *Yanshi Jiangzhi Formula* (颜氏降脂方) in Treating 40 Cases of Hyperlipemia

LIU Jun¹, WANG Bo², YAN Qiongzhi¹, HAN Tianxiong¹, XIA Yun¹, YAN Qianlin¹

(1. The Tenth People's Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai, 2000721; 2. Central Hospital of Yangpu District Affiliated to Tongji University)

ABSTRACT Objective To observe the clinic effect and safety of *Yanshi Jiangzhi Formula* (颜氏降脂方) in treating hyperlipemia. **Methods** Randomly divided 80 patients with hyperlipemia into a treatment and a control group, with 40 cases in each. Patients in both groups were all intervened with exercise and diet. The treatment group took *Yanshi Jiangzhi Formula*, one dose per day. The control group took simvastatin pills 20mg, once every night. Both groups took medicine for 12 weeks. Measured blood lipids including total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), blood routine test, urine routine test, stool routine test plus occult blood test, liver and kidney function test, and electrocardiogram before and after treatment. After treatment, evaluated the clinical efficacy and recorded the adverse reactions. **Results** The total effective rate in the treatment group was 82.5% while that in the control group was 77.5%. The difference had no statistical significance ($P > 0.05$). TC, TG, LDL-C and HDL-C levels of the two groups after treatment all remarkably improved ($P < 0.01$). But there was no statistically significant difference in each index between two groups ($P > 0.05$). There were 4 cases in the control group with ALT increase after treatment, but the increase was not 2 times more than upper limit of normal value. There were 5 cases of abdominal distension, 2 cases of dry mouth. There was no remarkable adverse reaction in the treatment group. **Conclusion** The effect of *Yanshi Jiangzhi Formula* on lowering blood lipids was similar to simvastatin pills and the safety of *Yanshi Jiangzhi Formula* was superior to simvastatin pills.

Keywords hyperlipemia; *Yanshi Jiangzhi Formula*; simvastatin pills; blood lipids

(收稿日期: 2017-01-03; 修回日期: 2017-03-24)

编辑: 王利芬