

用血清药理学方法观察冬连三七组分调控 TGF- β 1/p38MAPK/CREB 通路改善糖尿病动脉硬化兔平滑肌细胞增殖的机理研究*

靳昭辉¹, 靳冰^{1△}, 高普¹, 宋光熠², 刘征堂¹, 相田园¹

(1. 中国中医科学院西苑医院, 北京 100091; 2. 辽宁省基础医学研究所, 辽宁 沈阳 110005)

摘要: **目的** 采用血清药理学方法观察冬连三七组分(CONR)干预 TGF- β 1/p38MAPK/CREB 通路对糖尿病动脉硬化兔血管平滑肌细胞增殖的影响。**方法** 1. 选择纯种雄性新西兰家兔 5 只, 4 只分别每日给予辛伐他汀 3 mg/kg, CONR 150 mg/kg、450 mg/kg 灌胃, 共 10 d; SB203580 腹腔注射 2 mg/kg, Q12 h, 10 d; 另一只每日给予生理盐水 20 mL 作为对照。制备含药血清。2. 正常雄性新西兰大白兔静脉推注四氧嘧啶并且配合高脂饮食、腹主动脉内膜球囊损伤术诱导糖尿病动脉粥样硬化模型。3. 造模成功后, 分离模型兔腹主动脉 SMC, 并传代培养, 使用 3 代细胞进行实验。4. 分组: 设立正常组、模型组、CONR 高剂量组、CONR 低剂量组、SB203580 组、辛伐他汀组, 实验组予含药血清进行干预, 空白组、模型组予正常血清进行干预。5. 采用 cck-8 法测定相应的吸光度, 计算 50% 抑制率浓度; WB 法检测各组平滑肌 p-CREB、p-p38MAPK、TGF- β 1 蛋白的表达。**结果** 离体实验表明 CONR 对平滑肌细胞增殖具有抑制作用, 其 50% 抑制率浓度(IC₅₀)为 12.53 μ g/mL。CONR 高、低剂量组、SB203580 组及辛伐他汀组对 p-CREB、p-p38MAPK、TGF- β 1 蛋白表达均有抑制作用, 与模型组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 辛伐他汀组及 CONR 2 组优于 SB203580 组对 p-p38MAPK 蛋白的抑制 ($P < 0.01$), 3 组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。实验 4 组对 TGF- β 1、p-CREB 蛋白有抑制作用, 4 组间无显著统计学差异 ($P > 0.05$)。**结论** 冬连三七组分可能部分通过抑制 TGF- β 1/p38MAPK/CREB 通路抑制 DA 兔 VSMC 的增殖。

关键词: 冬连三七组分; 血管平滑肌细胞增殖; p38MAPK; 糖尿病动脉粥样硬化

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1000-2723(2018)03-0006-06

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2018.03.002

Effects of CONR on Proliferation of Vascular Smooth Muscle Cells of Diabetic Atherosclerotic Rabbit Model by Intervening TGF- β 1/p38MAPK/CREB Signal Pathway Using Serum Pharmacology

JIN Zhao-hui¹, JIN Bing¹, GAO Pu¹, SONG Guang-yi², LIU Zheng-tang¹, XIANG Tian-yuan¹

(1. Geriatric Research Center of Xiyuan Hospital of China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100091, China;
2. Liaoning Basic Medical Research Institute, Shenyang 110005, China)

ABSTRACT: **Objective** The purpose of this study was to explore the effects of Composition of Ophiopogon polysaccharide, Notoginseng total saponins and Rhizoma Coptidis alkaloids (CONR) on proliferation of diabetic atherosclerotic rabbit model by intervening TGF- β 1/p38MAPK/CREB signal pathway using Serum pharmacology. **Methods** 1. Select 5 pure male New Zealand rabbits, and 4 of them were respectively given CONR 450 mg/kg, CONR 150 mg/kg each day; Simvastatin 3 mg/kg for 10 days; SB203580 2 mg/kg abdominal injection, 12 h repeated for 10 days; the other one was given 20mL saline solution daily. Preparation of drug containing serum; Another daily saline solution was 20 mL of saline. Drug containing serum was prepared. 2. Normal male New Zealand white rabbit were intravenous injected alloxan and feed high-fat diet, then

收稿日期: 2018-05-23

* 基金项目: 国家自然科学基金(81374026); 中国中医科学院名医名家传承项目(05-78)

第一作者简介: 靳昭辉(1984-), 女, 中国中医科学院西苑医院博士后, 主治医师, 研究方向: 老年病的中医药基础与临床研究。

△通信作者: 靳冰, E-mail: lordnec@126.com

abdominal aortic balloon injury was done to induce diabetic atherosclerosis model. 3. The rabbit' aorta abdominalis SMC was isolated and cultured, and the third generations of cells were used for the experiment. 4. Grouping: set up the normal group, model group, CONR high dose group, the CONR low-dose group, SB203580 group, simvastatin group, and the experimental group were given drug-containing serum, the blank group, model group normal serum. 5. CCK 8 method is used to determine the corresponding absorbance, and we calculate 50% inhibition concentration; Western blotting was used to detect the expression of TGF- β 1、p-p38MAPK、p-CREB protein of diabetic arteriosclerosis rabbits. **Results** The experimental results showed that CONR had inhibitory effect on the proliferation of smooth muscle cells, and the concentration of 50% inhibition rate (IC₅₀) was 12.53 g/mL. Simvastatin group, SB203580 group and CONR high, low dose group had inhibitory effect on TGF- β 1、p-p38MAPK、p-CREB protein expression, which was statistically significant compared with the model group ($P<0.01$). The inhibitory effect of CONR high, low dose group and simvastatin group on p-p38MAPK protein was better than that of SB203580 group ($P<0.01$), and there was no statistically significant difference between the three groups ($P<0.01$). Simvastatin group, SB203580 group and CONR high, low dose group had inhibitory effects on TGF- β 1、p-CREB, and there was no statistically significant difference between the four groups ($P>0.05$). **Conclusion** Composition of Ophiopogon polysaccharide, Notoginseng total saponins and Rhizoma Coptidis alkaloids (CONR) may be able to inhibit proliferation of diabetic atherosclerotic rabbit model by intervening TGF- β 1/p38MAPK/CREB signal pathway using Serum pharmacology.

KEY WORDS: composition of ophiopogon polysaccharide, notoginseng total saponins and Rhizoma Coptidis alkaloids; proliferation of vascular smooth muscle cells; TGF- β 1/p38MAPK/CREB signaling pathway; diabetic atherosclerosis

糖尿病性动脉粥样硬化(diabetic atherosclerosis, DA)成为世界各国严重的医疗负担。血管平滑肌细胞(VSMCs)异常增殖在DA发病过程中作用非常关键,VSMCs一般情况下是静止收缩的,在血管受到损伤情况下就会异常增殖,从而引起DA发生^[1-4]。糖尿病动脉硬化的发病机制涉及复杂的细胞因子网络通路,而TGF- β 1-p38MAPK-CREB是其中一条重要的信号转导通路。p38MAPK是调控细胞增殖的重要通路^[5],TGF- β 1可以激活p38MAPK通路,从而引起细胞增殖^[6-7]。CREB作为下游核转录增强因子,是第一个被发现可以通过磷酸化起调控作用的因子,在平滑肌细胞的增殖过程中发挥重要作用^[8]。

在前期研究中,我们应用先进技术将冬连三七组分(Composition of Ophiopogon polysaccharide,Notoginseng total saponins and Rhizoma Coptidis alkaloids,CONR)3味中药主要有效成分达到90%以上的提纯含量^[9],保证其质量和疗效,目前采用实验用药的最佳配伍方案(黄连生物碱30%、麦冬多糖40%、三七总皂甙30%)是经过反复测验优选的配伍比例,在前期研究中发现^[10-15]:CONR能够调控p38MAPK通路,缓解糖尿病大兔炎症反应,有效减轻氧化应激反应及血管内皮损伤;并抑制了糖尿病大兔心肌组织细胞异常增殖、分化等,有效缓解了心肌肥大、间质纤维化进程。本实验探讨了CONR调控TGF- β 1/p38MAPK/CREB通路改善DA大兔VSMCs增殖的机理。

1 材料与方法

1.1 药物 四氧嘧啶(BDH Limited Poole England, 5272460J)、CONR(北京同仁堂药业公司)、SB203580(Calbiochem公司)、辛伐他汀(杭州默沙东制药有限公司,140213)。

1.2 动物 纯种雄性新西兰大白兔(许可证号:SCXK(辽)2012-0001),体质量(2.5 ± 0.3)kg,实验前适应性单笼喂养一周,温度(22 ± 2)℃、湿度(70 ± 5)%,自由饮食^[9]。

1.3 试剂与仪器

1.3.1 主要试剂 Smooth Muscle Actin (SMA)(sigma, 150209);DMEM/F12培养基;新生牛血清和胎牛血清;鼠抗兔TGF- β 1抗体;鼠抗兔p-p38MAPK抗体(Sigma);鼠抗兔p-CREB抗体(Santa Cruz);蛋白抽提试剂;磷酸酶抑制剂;Millipore 2 mg/mL;GAPDH羊抗兔(北京天德悦);BCA蛋白定量试剂盒(Pierce);10×TBST PH 8.0;湿转缓冲液(赛诺博);NC膜(Millipore);中分子量预染蛋白Marker;TEMED(Pierce);PMSF Acrylamide;丽春红染色液;DTT;Stripping Buffer;NP-40、 α -actinin、Glycine、Trizma base(Sigma);蛋白酶抑制剂(Roche);HPR(北京天德悦);BSA标准品(Sigma);羊抗鼠IgG。

1.3.2 主要仪器 超净工作台;CO₂培养箱;超低温冰箱;Fresco低温离心机;全自动生化分析仪;湿盒;紫外/可见分光光度计;微量加样器;倒置相差显微镜;MiniP-4电泳槽(Cavoy);激光共聚焦扫描显微

镜;凝胶成像系统;MultiSkan3 酶标仪;电动组织匀浆仪(上海琪特);酸度计(Hanna);水平脱色摇床;37℃温箱;半干槽;酶标分析仪;湿转电泳槽;优普超纯水机。

1.4 实验方法 这项研究得到了辽宁省基础医学研究所动物护理与使用委员会的批准。

1.4.1 含药血清的制备 选择 5 只纯种雄性新西兰大白兔,4 只分别每日给予辛伐他汀 3 mg/kg CONR 150 mg/kg,450 mg/kg 灌胃;SB203580 腹腔注射,12 h 重复给药,2 mg/kg;1 只给予生理盐水 20 mL/日作对照^[9,11]。10 d 后腹主动脉采血,无菌分离血清,经 56℃,30 min 灭活处理后,-20℃保存备用。

1.4.2 DA 兔模型制备及平滑肌细胞培养 设立模型组和正常组,正常组 1 只,其余 7 只模型组大兔,从耳缘静推 5%四氧嘧啶(100 mg/kg·bw)^[16-17],为了防止严重低血糖发生,腹腔注射 10%葡萄糖 10 mL(16 h 和 12 h 时),72 h 后选取 FBG 在 16.7 mmol/L~23.5 mmol/L 兔^[9,12]。模型组喂高脂饲料(含 2%胆固醇、0.5%胆酸和 5%猪油)30 g/(kg·d);正常组喂食普通饲料 30 g/(kg·d),每日分四餐喂养。一周后正常组及模型组均予戊巴比妥钠(40 mg/kg·bw)麻醉^[16,18],并行腹主动脉内膜球囊损伤术,术后继续喂养以上饲料 10 周。处死 1 只正常兔、2 只模型兔,取腹主动脉。模型组腹主动脉内膜有许多条纹凸起,呈橙红色或黄白色,更严重的斑块覆盖大部分主动脉^[9-12]。正常组腹主动脉无病变。说明造模成功。

取各组兔腹主动脉平滑肌组织备用^[9]。采用组织贴块法培养各组平滑肌细胞,静置培养 3 d。待细胞生长成致密单层时,用胰蛋白酶消化液进行消化,并传代。取第 3 代细胞用于实验。

1.4.3 DA 大兔腹主动脉 SMC 分组及血清干预 将 96 孔细胞培养板分为设立正常组(培养皿+正常平滑肌细胞+正常血清)、模型组(培养皿+模型平滑肌细胞+正常血清)、CONR 高剂量组(培养皿+模型平滑肌细胞+含药血清)、CONR 低剂量组(培养皿+模型平滑肌细胞+含药血清)、SB203580 组(培养皿+模型平滑肌细胞+含药血清)、辛伐他汀组(培养皿+模型平滑肌细胞+含药血清)。取培养良好的 VSMC 细胞^[20],调浓度至 $1 \times 10^5/L$,接种至 96 孔板,各组加入对应血清培养 48 h,血清添加量为 25%。

1.4.4 DA 大兔腹主动脉 SMC 增殖检测 cck-8 法测定相应的吸光度(A)值,计算各组不同浓度抑制率,计算 50%抑制率浓度(IC₅₀)^[20]。

1.4.5 Western-blotting 法测定各组 TGF-β1、p-p38MAPK、p-CREB 蛋白含量 组织蛋白提取:正常组取组织蛋白 9 份;模型组取 8 份;其余各实验组各取 10 份;提取方法如下:预冷 RIPA 蛋白抽提试剂,加入蛋白酶抑制剂。称取平滑肌组织重量,加入裂解液,15 000 rpm 转速匀浆,进行匀浆 3 次。在冰上孵育 20 min,4℃离心,13 000 rpm,20 min。离心完成后取上清液,BCA 法定量,-20℃保存。

取各组平滑肌细胞样本 70 μg,应用凝胶电泳,转膜,PVDF 膜上加显影液,用 ODYSSEY 红外凝胶扫描系统定量分析各条带的总灰度值,以 α-肌动蛋白为内参^[9,11]。

1.5 统计方法 用统计软件 SPSS22.0 统计,实验数据采用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 LSD 法分析,多组间比较应用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义^[9,11]。

2 结果

2.1 CONR 对 DA 兔主动脉平滑肌细胞增殖的抑制作用 离体实验表明 CONR 对平滑肌细胞增殖具有抑制作用,其 50%抑制率浓度(IC₅₀)为 12.53 μg/mL。详见表 1。

表 1 CONR 对平滑肌细胞增殖的抑制作用($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	实验吸光度	对照吸光度	抑制率/%
模型组	3.46±0.12	4.61±0.16	24.89±4.12
正常组	4.36±0.18	4.60±0.15	5.24±2.09
CONR 高剂量组	0.92±0.03	4.59±0.16	79.9±0.28
CONR 低剂量组	1.97±0.18	4.62±0.18	57.45±3.34
SB203580 组	3.36±0.13	4.62±0.17	27.26±2.56
辛伐他汀组	2.95±0.18	4.55±0.12	35.17±4.44

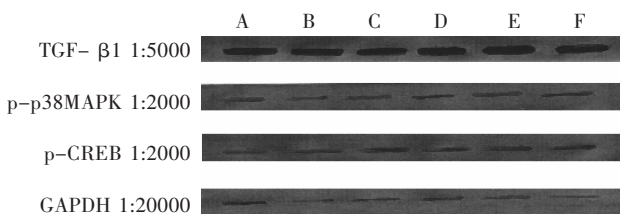
2.2 western blotting 法测 DA 兔平滑肌细胞 TGF-β1、p-p38MAPK、p-CREB 蛋白含量的表达 结果显示:辛伐他汀组及 CONR 两组对 p-CREB、p-p38MAPK、TGF-β1 蛋白高表达有抑制作用,与模型组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。辛伐他汀组及 CONR 两组对 p-p38MAPK 蛋白的抑制作用优于 SB203580 组($P < 0.01$),辛伐他汀组及 CONR 两组之间无显著统计学差异($P > 0.05$)。CONR 高、CONR 低

剂量组、SB203580 组及辛伐他汀组对 TGF-β1、p-CREB 蛋白有抑制作用,4 组间无显著统计学差异 ($P>0.05$)。详见表 2、图 1。

表 2 CONR 对 DA 兔主动脉平滑肌 TGF-β1、p-p38MAPK、p-CREB 蛋白的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	n	TGF-β1	p-p38MAPK	p-CREB
模型组	8	1.08±0.22■	1.45±0.07■	1.11±0.21■
正常组	9	0.68±0.21*	0.51±0.03*	0.67±0.23*
CONR 高剂量组	10	0.75±0.10*	0.79±0.07*□■	0.73±0.22*
CONR 低剂量组	10	0.80±0.14*	0.91±0.12*□■	0.79±0.19*
SB203580 组	10	0.90±0.16*	1.12±0.13*▲■	0.83±0.19*
辛伐他汀对照组	10	0.79±0.16*	0.89±0.06*□■	0.77±0.22*

注:与模型组,* $P<0.01$;与辛伐他汀组比较,△ $P<0.01$;与 CONR 低剂量组比较,▲ $P<0.01$;与 SB203580 组比较,□ $P<0.01$ 。蛋白质内参 GAPDH。



注:A. 正常组, B. 模型组, C. CONR 高剂量组, D. CONR 低剂量组, E. SB203580 组, F. 辛伐他汀组

图 1 Western blot 法测 CONR 对 DA 兔主动脉平滑肌细胞转导通路 TGF-β1、p-p38MAPK、p-CREB 蛋白的表达图

3 讨论

随着社会的发展,DA 将成为世界各国严重的医疗负担。VSMCs 是 DA 斑块中最主要的细胞成分,位于血管中膜,在正常状态时保持收缩型,在 DA 发生时转变成合成型,起着关键作用^[21]。

TGF-β1-p38MAPK-CREB 在导致 DA 平滑肌细胞增殖的过程中起到重要的作用。p38MAPK 通路激活 VSMCs 增殖和迁移的共同途径,抑制 p38MAPK 蛋白激活能够有效阻止 VSMCs 增殖和迁移^[22-26]。TGF-β1 是一种具有调节生长作用的多功能通道蛋白,是最重要的致平滑肌增殖细胞因子之一^[27],有促进 VSMCs 增殖的作用,使其从静止、收缩状态转变到增殖状态^[28],因此抑制平滑肌中 TGF-β1 的高表达成为 DA 治疗的靶标^[29]。TGF-β1 可以激活 p38MAPK 而发挥生理学效应。CREB 是核转录增强因子,可以通过磷酸化调节细胞增殖、分化、生存等^[30]。磷酸化的

p38MAPK 可以激活 CREB 导致其磷酸化,介导目的基因的表达^[31]。高血糖、氧化应激、炎症反应等状态下,短时间内可以激活 p38MAPK-CREB 通路,参与了平滑肌细胞增殖的过程,阻断 p38MAPK-CREB 通路有助于阻断 DA 平滑肌细胞增殖的进展。

消渴病血管病变的最主要病机是阴虚燥热兼有血瘀,根据这一病机,我们以养阴清热,益气活血法为治则,创制 CONR。我们前期研究发现麦冬多糖^[32]能够降低血糖,促胰岛细胞恢复,促进抗体、补体、溶菌酶等的产生等。黄连生物碱^[33]能够改善葡萄糖代谢、抗氧化,调整脂质代谢紊乱,缓解炎症反应进展,减轻氧化应激等。三七总皂甙^[34]可扩张冠状动脉,预防血栓及抗炎症、抗辐射,增加超氧化物歧化酶活性;抑制动脉损伤后的 VSMC 增生。

SB203580 是 p38MAPK 的特异性抑制剂,可抑制 p38MAPK 发挥生物学效应。SB203580 组及 CONR 各组部分抑制 p-p38MAPK 蛋白的异常高表达^[9,11]。p38MAPK 通路激活确实参与了 DA 平滑肌增殖过程。除了 p38MAPK 信号传导系统激活外,尚有其他通路参与 DA 平滑肌增殖过程;亦可能与 450mg/kg CONR 每天灌胃 DA 大兔模型及 450mg/kg CONR 每天灌胃 DA 大兔模型不能完全阻断 p38MAPK 通路有关。

本实验通过高脂饲料饲养及腹主动脉球囊损伤术建立 DA 大兔模型,予 CONR 高、低剂量、SB203580 及辛伐他汀含药血清干预 DA 模型平滑肌细胞,各组对其增殖有抑制作用,而 CONR 高、低剂量组大兔的平滑肌细胞增殖的状况较 SB203580 组及辛伐他汀组得到明显的改善。DA 兔平滑肌中的 TGF-β1、p-p38MAPK、p-CREB 蛋白出现异常的高表达状态,CONR 高、低剂量组、p38MAPK 抑制剂组及辛伐他汀组各组含药血清对 TGF-β1、p-p38MAPK、p-CREB 蛋白表达均有抑制作用,而 CONR 高、低剂量组及辛伐他汀组较 SB203580 组蛋白抑制作用明显;CONR 高剂量组疗效优于 CONR 低剂量组。由此推断,CONR 可能部分通过调控 TGF-β1-p38MAPK-CREB 信号通路发挥其治疗 DA 平滑肌细胞增殖作用。

参考文献:

- [1] JOJIMA T, UCHIDA K, AKIMOTO K, et al. Liraglutide, a GLP-1 receptor agonist, inhibits vascular smooth

- muscle cell proliferation by enhancing AMP-activated protein kinase and cell cycle regulation, and delays atherosclerosis in ApoE deficient mice[J]. *Atherosclerosis*, 2017, 261:44-51.
- [2] XIN YU, ZHENG LI. MicroRNAs regulate vascular smooth muscle cell functions in atherosclerosis (review) [J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2014, 34 (4):923-933.
- [3] PING S, LI Y, LIU S, et al. Simultaneous increases in proliferation and apoptosis of vascular smooth muscle cells accelerate diabetic mouse venous atherosclerosis[J]. *PLoS ONE*, 2015, 10(10):e0141375.
- [4] STARY H C, CHANDLER A B, DINSMORE R E, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. [J]. *Circulation*, 1995, 92(5):1355-1374.
- [5] ALCANTARA E H, SHIN M Y, FELDMANN J, et al. Long-term zinc deprivation accelerates rat vascular smooth muscle cell proliferation involving the down-regulation of JNK1/2 expression in MAPK signaling [J]. *Atherosclerosis*, 2013, 228(1):46-52.
- [6] ZHU S B, ZHU J, ZHOU Z Z, et al. TGF- β 1 induces human aortic vascular smooth muscle cell phenotype switch through PI3K/ AKT/ID2 signaling [J]. *Am J Transl Res*, 2015, 7(12):2764-2774.
- [7] PING S, LI Y, LIU S, et al. Simultaneous increases in proliferation and apoptosis of vascular smooth muscle cells accelerate diabetic mouse venous atherosclerosis[J]. *PLoS ONE*, 2015, 10(10):e0141375.
- [8] GE J, ZHANG Y, ZHENG Z Z. Research progress on CREB and the signal transduction pathway of its phosphorylation [J]. *Journal of Anhui Agri Sci*, 2010; 38(30): 16769-16771.
- [9] 靳昭辉, 高普, 宋光熠, 等. 冬连三七组分调控 AGEs/p38MAPK 改善糖尿病动脉粥样硬化兔血管内皮损伤的机理研究[J]. *中医药信息*, 2018, 35(3):1-5.
- [10] 靳昭辉, 高普, 宋光熠, 等. 中药有效组分调控 p38MAPK 改善糖尿病动脉粥样硬化兔炎症反应的机理研究[J]. *云南中医学院学报*, 2017, 40(5):1-5.
- [11] 靳昭辉, 靳冰, 高普, 等. 冬连三七组分调控 AGEs/p38MAPK 改善糖尿病动脉粥样硬化兔氧化应激的机理研究[J]. *云南中医学院学报*, 2018, 41(2):1-5.
- [12] 靳昭辉, 高普, 宋光熠, 等. 冬连三七组分改善糖尿病动脉粥样硬化兔心肌病理的机理研究 [J]. *中医药学报*, 2018, 46(4):9-13.
- [13] 蒋可, 高普, 刘剑刚, 等. 麦冬和黄连组分配伍对糖尿病大鼠心肌组织的保护作用[J]. *中医杂志*, 2011(2):144-146.
- [14] 相田园, 高普, 宋光熠, 等. 中药配伍组分改善糖尿病大血管病变的作用机制 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2017, 23(1):68-70.
- [15] 相田园, 靳冰, 宋芊, 等. 中药配伍组分改善糖尿病血管病变兔氧化应激损伤的机理研究 [J]. *环球中医药*, 2016, 9(3):287-291.
- [16] 陈剑峰. 糖尿病动脉粥样硬化兔模型的建立 [J]. *畜牧兽医科技信息*, 2009(10):36.
- [17] 高玲, 陈琴, 康丽娜, 等. 糖尿病和非糖尿病动脉粥样硬化兔模型的建立 [J]. *中国实验动物学报*, 2007, 15(3): 179-182.
- [18] 高玲, 陈琴, 康丽娜, 等. 糖尿病和球囊损伤对兔食饵性动脉粥样硬化形成的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007, 15(8):591-594.
- [19] 韦倩, 盖国忠, 伊鹏菲, 等. 牛膝药理血清对血管内皮细胞影响的实验研究 [J]. *长春中医药大学学报*, 2008, 24(3):244-245.
- [20] 杨静, 罗岷, 刘萍, 等. 小檗碱对糖尿病大鼠血管平滑肌细胞增殖影响研究[J]. *四川生理科学杂志*, 2011, 33(4): 147-150.
- [21] LEE K Y, LEE D H, CHOI H C. Mesogly can attenuates VSMC proliferation through activation of AMP-activated protein kinase and mTOR [J]. *Clin Hypertens*, 2016, 22(1):1-9.
- [22] HA Y M, NAM J O, KANG Y J. Pitavastatin Regulates Ang II Induced Proliferation and Migration via IGFBP-5 in VSMC [J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2015, 19(6): 499-506.
- [23] CUI Y, SUN YW, LIN H S, et al. Platelet-derived growth factor-BB induces matrix metalloproteinase-2 expression and rat vascular smooth muscle cell migration via ROCK and ERK/p38MAPK pathways [J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 393(1-2):255-263.
- [24] WANG X H, HONG X, ZHU L, et al. Tumor necrosis factor- α promotes the proliferation of human nucleus pulposus cells via nuclear factor- κ B, c-Jun N-terminal kinase, and p38 mitogen-activated protein kinase [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2015, 240(4):411-

- 417.
- [25] JIANG F, JIANG R, ZHU X, et al. Genipin inhibits TNF- α -induced vascular smooth muscle cell proliferation and migration via induction of HO-1 [J]. PLoS ONE, 2013, 8(8):e74826.
- [26] KWON I S, YIM J H, LEE H K, et al. Lobaric Acid Inhibits VCAM-1 Expression in TNF- α -Stimulated Vascular Smooth Muscle Cells via Modulation of NF- κ B and MAPK Signaling Pathways [J]. Biomol Ther (Seoul), 2016, 24(1):25-32.
- [27] LIU Y, HU C N. Effects of Maher Bbe Chatain on the expression of transforming growth factor -1 and connective tissue growth factor in diabetic rats [J]. Chinese Journal of geriatric medicine, 2014, 34 (23):6691-6693.
- [28] JOSHUA D STONE, ANDREW W HOLT, JACKSON R VUNCANNON, et al. AMP-activated protein kinase inhibits transforming growth factor - β -mediated vascular smooth muscle cell growth: implications for a Smad-3-dependent mechanism [J]. AJP: Heart and Circulatory Physiology, 2015, 309(8):H1251-H1259.
- [29] LEE C I, GUH J Y, CHEN H C, et al. Advanced glycation end-product-induced mitogenesis and collagen production are dependent on angiotensin II and connective tissue growth factor in NRK-49F cells [J]. Cell Biochem, 2005, 95(2):281-292.
- [30] GE J, ZHANG Y, ZHENG Z Z. Research progress on CREB and the signal transduction pathway of its phosphorylation [J]. Journal of Anhui Agri Sci, 2010, 38(30):16769-16771.
- [31] GONZALEZ G A, MONTMINY M R. Cyclic AMPs timulates somatostatin in gene transcription by phosphorylation of CREB at serine 133 [J]. Cell, 2009, 59 (4):675-680.
- [32] 范俊, 张旭. 麦冬多糖药理研究进展 [J]. 中医药学刊, 2006, 24(4):626-627
- [33] 邹晨辉, 申竹芳. 黄连生物碱抗糖尿病机制的研究进展 [J]. 中草药, 2004, 35(11):4.
- [34] 甘雨, 徐惠波, 孙晓波. 三七总皂苷的药理作用研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(5):1251-1252.

《云南中医学院学报》欢迎网上投稿

网址: <http://www.xb.ynutcm.edu.cn>