

## 终末期肾病患者血清对内皮细胞凋亡的影响及黄芪总黄酮的干预作用

郭晓超, 苏筠霞, 李侃, 李建华\*  
(兰州大学第一医院, 兰州 730000)

**[摘要]** **目的:**探讨终末期肾病患者血清对内皮细胞凋亡的影响及黄芪总黄酮的干预作用。**方法:**收集22例健康志愿者和25例终末期肾病规律血液透析患者的血清,在体外模拟终末期肾病患者内环境,以人脐静脉血管内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)为对象,分为空白对照组(10%胎牛血清),正常对照组(10%健康人血清),终末期肾病组(10%终末期肾病患者血清),低剂量(TFA1),中剂量(TFA2),高剂量(TFA3)组(在终末期肾病组基础上分别加入0.5, 1.0, 2.0 g·L<sup>-1</sup>黄芪总黄酮),培养24 h后光镜下观察血管内皮细胞形态,MTT法检测细胞生存率,免疫组化法检测C/EBP同源蛋白(CHOP)的表达,ELISA法检测4-羟基壬烯醛(4-HNE)的含量,TUNEL法检测细胞凋亡。**结果:**与正常对照组相比,终末期肾病患者组细胞生存率降低( $P < 0.01$ ),CHOP和4-HNE升高( $P < 0.05$ ),凋亡细胞数增高( $P < 0.01$ )。黄芪总黄酮干预后,各组HUVECs生存率提高( $P < 0.05$ );CHOP的表达降低( $P < 0.05$ ),中剂量组优于低剂量组( $P < 0.01$ ),但高剂量组与中剂量组差异无统计学意义;4-HNE含量降低( $P < 0.05$ ),细胞凋亡减少( $P < 0.05$ ),呈剂量依赖性( $P < 0.05$ )。相关性分析显示:CHOP与4-HNE的含量呈正相关( $P < 0.01$ )。**结论:**终末期肾病患者血清可诱导HUVECs凋亡,其机制部分与内质网应激诱导的细胞凋亡通路相关,黄芪总黄酮可通过减轻内质网应激从而抑制终末期肾病患者血清诱导的内皮细胞凋亡。

**[关键词]** 黄芪总黄酮; 终末期肾病; C/EBP同源蛋白; 4-羟基壬烯醛; 凋亡

**[中图分类号]** R285.5; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)21-0229-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014220229

## Influence of End Stage Renal Disease Serum on Endothelial Cell Apoptosis and Intervention Action of Total Flavonoids of Astragalus

GUO Xiao-chao, SU Jun-xia, LI Kan, LI Jian-hua\*  
(First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the effect of end stage renal disease (ESRD) serum on apoptosis in human umbilical vein endothelial cells and the intervention action by total flavonoids of astragalus in this process. **Method:** The serums of 22 healthy volunteers and 25 patients with ESRD undergoing regular hemodialysis were collected. Simulating ESRD environment *in vitro*, human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) were selected as the subject. Then they were divided into blank control group (including 10% fetal calf serum), normal control group (including 10% healthy serum), ESRD group (including 10% ESRD serum), low dose group, medial dose group and high dose group with total flavonoids of astragalus (0.5, 1.0, 2.0 g·L<sup>-1</sup> total flavonoids of astragalus, respectively). After being culturing for 24 hours, the morphological change of endothelial cells were observed by microscopy, survival rate was detected by MTT test, the expression of C/EBP homologous protein (CHOP) was examined by immunohistochemical staining, the content of 4-hydroxynonenal (HNE) was detected by ELISA, and the morphological change of apoptosis was observed by TUNEL method. **Result:** Comparing with the normal control

**[收稿日期]** 20131111(004)

**[基金项目]** 甘肃省自然科学基金项目(1208RJZA226)

**[第一作者]** 郭晓超, 硕士在读, 从事慢性肾脏病的一体化治疗研究, Tel:18293164430, E-mail:870522753@qq.com

**[通讯作者]** \*李建华, 主任医师, 从事慢性肾脏病的诊疗研究, Tel:0931-8625200, 18509313625, E-mail:ldyyljianhua@163.com

group, HUVECs survival rate was lower in ESRD group ( $P < 0.01$ ), CHOP, 4-HNE ( $P < 0.05$ ) and apoptosis index ( $P < 0.01$ ) were increased. The total flavonoids of astragalus could significantly increase the survival rate of HUVECs ( $P < 0.05$ ), and decrease the expression of CHOP ( $P < 0.05$ ). Besides, better results were found in medial dose group than low dose group ( $P < 0.01$ ), but no statistically significant difference were found between high dose group and middle does group. Moreover, the total flavonoids of astragalus could decrease 4-HNE and the apoptosis index ( $P < 0.05$ ), and the effect is dose-dependent ( $P < 0.05$ ). Positive correlation were found between CHOP and 4-HNE ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** ESRD serum could induce HUVECs apoptosis, and the mechanism may be related to endoplasmic reticulum stress. Total flavonoids of astragalus could inhibit endothelial cell apoptosis induced by ESRD serum through alleviating endoplasmic reticulum stress.

[**Key words**] total flavonoids of astragalus; end stage renal disease; C/EBP homologous protein; 4-hydroxynonenal; apoptosis

约 80% 的终末期肾病(end stage renal disease, ESRD)患者都有轻重不同程度的心血管系统并发症,心血管系统并发症为终末期肾病患者的主要死因<sup>[1]</sup>。动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是 ESRD 患者最常见的心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)之一,血管内皮细胞(vascular endothelial cell, VEC)损伤是动脉粥样硬化的重要发病机制<sup>[2]</sup>。维持血管内皮细胞结构的完整性和功能的稳定性对于减少 ESRD 患者心血管并发症的发生具有重要的意义。近年研究表明,内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)在终末期肾病患者心血管系统并发症的病理生理进程中发挥重要作用<sup>[3]</sup>,减少内质网应激可能成为预防和治疗心血管系统并发症的有效途径。本研究通过体外建立终末期肾病内环境模型,观察 ERS 信号分子 C/EBP 同源蛋白(CHOP)的表达变化,以及应用黄芪总黄酮干预后其表达的变化,进一步探讨黄芪总黄酮降低终末期肾病患者血清诱导的血管内皮细胞凋亡的分子机制,为防治终末期肾病患者的心血管并发症提供新的理论依据和治疗的新靶点。

## 1 材料

**1.1 血清学制备** 选取 2012 年 10 月至 2013 年 10 月期间在兰州大学第一医院血液净化中心规律血液透析的患者 25 例。其中男 10 例,女 15 例,年龄( $66.83 \pm 7.97$ )岁,其中糖尿病肾病 12 例,高血压肾损害 6 例,慢性肾小球肾炎 5 例,多囊肾 1 例,梗阻性肾病 1 例。透析时间 8~70 个月,平均 26 个月,每周透析 3 次(12 h)。受试期间病情稳定,排除心力衰竭、恶性肿瘤、肝脏疾患和家族性高脂血症,1 个月内未服用抗凝药物、降脂药物及抗氧化剂类药物。于透析开始前静脉无菌采血 5 mL,  $3\ 000\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min 分离血清,  $56\ ^\circ\text{C}$ , 30 min 灭活补体,  $-80\ ^\circ\text{C}$  保

存备用。同时选取兰州大学第一医院体检中心,体检确定健康志愿者 22 例,其中男 8 例,女 14 例,年龄( $63.58 \pm 6.35$ )岁,空腹静脉无菌采血 5 mL,  $3\ 000\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min 分离血清,  $56\ ^\circ\text{C}$ , 30 min 灭活补体,  $-80\ ^\circ\text{C}$  保存备用。符合条件入选人员均签署知情同意书,两组在年龄、性别方面无差异,具有可比性。

**1.2 仪器与试剂** 人脐静脉血管内皮细胞株 HUVECs(北京 301 医院吴镛博士友情赠送), DMEM 细胞培养基(Gibco 公司,批号 1320158), 胎牛血清(杭州四季青生物工程有限公司), 胰蛋白酶(华美生物制品公司), 黄芪总黄酮(上海圻明生物科技有限公司,批号 201210241), MTT(Sigma 公司,批号 84N10240), CHOP 兔抗人一抗、人 4-羟基壬烯醛(4-HNE) ELISA 检测试剂盒(武汉博士德公司), TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒(北京中杉金桥公司)。

## 2 方法

### 2.1 细胞培养和分组干预

**2.1.1 细胞培养** 将原代 HUVECs 置于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中,置于  $37\ ^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  饱和湿度条件的培养箱中培养。贴壁生长至融合状态,用 0.25% 胰蛋白酶消化,选择生长状态良好的细胞进行传代,选取 3~5 代细胞,细胞贴壁融合达 70%~80% 时,更换为无血清的 DMEM 培养液培养过夜同步化后用于试验。

**2.1.2 分组干预** 细胞同步化后,吸弃原 DMEM 培养液,分别加入含 10% 的胎牛血清(空白组)、健康志愿者血清(正常组)、终末期肾病患者血清(ESRD 组)、低剂量(TFA1)、中剂量(TFA2)、高剂量(TFA3)黄芪总黄酮组(在 ESRD 组基础上分别加入 0.5, 1.0, 2.0  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  黄芪总黄酮)的 DMEM 培养基培养 24 h。黄芪总黄酮干预组于细胞同步化结束

前 6 h 加入低、中、高剂量黄芪总黄酮。

## 2.2 检测目标与方法

**2.2.1 观察人脐静脉血管内皮细胞形态** 各组细胞加入干预措施后于 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 条件下培养 24 h, 倒置相差显微镜下观察细胞的形态。

**2.2.2 MTT 法检测细胞生存率** HUVECs 以每孔 3 000 个接种于 96 孔板, 按上述分组加入干预条件后培养 24 h, 每组设 5 个复孔。于实验终止前 4 h 加入 MTT(每孔 10 μL), 实验终止时, 弃除培养液, 加入 DMSO(每孔 100 μL), 充分震荡 10 min 后, 用酶标仪测定 490 nm 处的吸光度(A), 空白调零(只加试验所需试剂, 不加细胞及干预条件)。

$$\text{细胞生存率} = (A_{\text{实验组}} - A_{\text{空白调零}}) / (A_{\text{空白组}} - A_{\text{空白调零}}) \times 100\%$$

**2.2.3 免疫组化法检测 CHOP 的表达水平** 采用 SP 法行免疫细胞化学染色, CHOP-抗稀释浓度为 1:50。光学显微镜观察 CHOP 的表达情况, 胞浆染成棕黄色者为阳性。每张切片随机选取 5 个高倍视野(×200), 运用 image-proplus 6.0 图像分析系统进行半定量检测, 用平均吸光度(A)表示 CHOP 的相对含量。

**2.2.4 ELISA 法检测 4-羟基壬烯醛** 吸取细胞培养上清液 3 000 r·min<sup>-1</sup>, 离心 10 min, 去除颗粒和聚合物。采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验(ELISA)。往预先包被 4-HNE 抗体的包被微孔中, 依次加入标本、对照品、HRP 标记的检测抗体, 经过温育并彻底洗涤, 用 TMB 显色, 用酶标仪在 450 nm 波长下测定 A, 计算样品浓度。

**2.2.5 TUNEL 法检测细胞凋亡** 将 HUVECs 以 3 000 个/孔接种于 96 孔板, 培养 24 h 后用 4% 的多聚甲醛固定 30 min。用 0.3% 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 封闭内源性过氧化物酶 10 min, 加入 0.3% 的 Triton X-100 20 min, 用以增加抗体对细胞膜的通透性, 每孔加 100 μL TUNEL 反应混合液, 37 °C 避光孵育 1 h, 封闭 POD, 浸入 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 15 min, DAB 显色。光学显微镜下观察, 细胞核浓染成棕褐色者为阳性。每张切片随机计数 5 个高倍视野(×200)中的凋亡细胞核数, 计算细胞凋亡率(AI)。

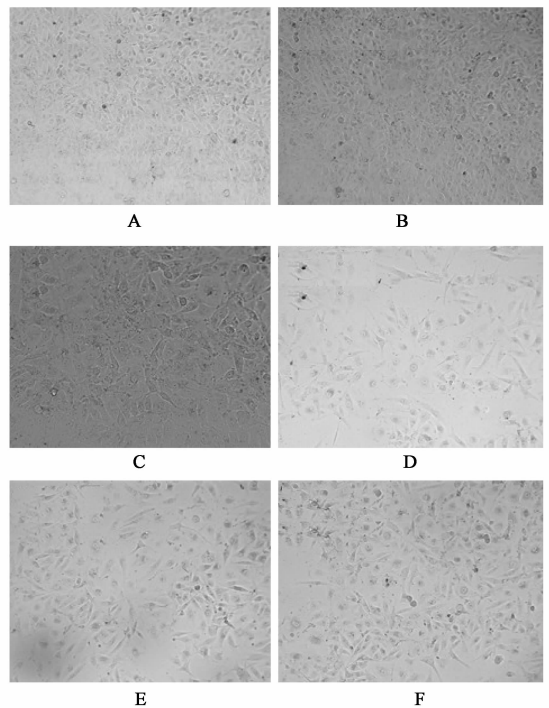
$$\text{计算细胞凋亡率(AI)} = \text{凋亡细胞核数} / \text{总细胞核数} \times 100\%$$

**2.3 统计分析** 采用 SPSS 16.0 统计软件进行统计分析。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。样本均数的多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 检验, 两变量相关性分析采用 Pearson 相关分析,  $P < 0.05$

为差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 各组细胞形态学改变** 空白组 HUVECs 贴壁生长致密, 呈铺路石样, 多角形, 胞体上突起向四周伸展, 细胞核大, 胞浆丰富。正常血清组 HUVECs 中的正常细胞数量较多, 大部分细胞形态与空白组 HUVECs 基本一致。ESRD 组 HUVECs 数量明显减少, 细胞间连接消失, 与周围的细胞脱离、核固缩、边缘化, 胞质浓缩, 黄芪总黄酮干预组, 细胞数量较 ESRD 组增多, 可见部分细胞核固缩, 胞质浓缩, 上述改变随浓度增加呈好转变化, 见图 1。



A. 空白组; B. 正常组; C. ESRD 组; D. TFA1 组; E. TFA2 组; F. TFA3 组(图 2 同)

图 1 黄芪总黄酮对细胞生长情况的影响(×200)

**3.2 各组细胞生存率的变化** 培养 24 h 后, ESRD 组 HUVECs 生存率较正常对照组及空白组明显下降( $P < 0.01$ )。黄芪总黄酮干预组细胞生存率提高, 在试验浓度范围内, 呈浓度依赖性( $P < 0.05$ ), 见表 1。

**3.3 各组细胞 CHOP 表达的影响** 空白组及正常对照组胞浆中没有或仅有少量淡黄色颗粒状 CHOP 表达。ESRD 组 CHOP 表达明显增加( $P < 0.05$ ), 胞浆中可见大量棕黄色颗粒。黄芪总黄酮干预后, CHOP 表达减少( $P < 0.05$ ), 中剂量组优于低剂量组( $P < 0.01$ ), 但高剂量组与中剂量组差异无统计学意义, 见表 1, 图 2。

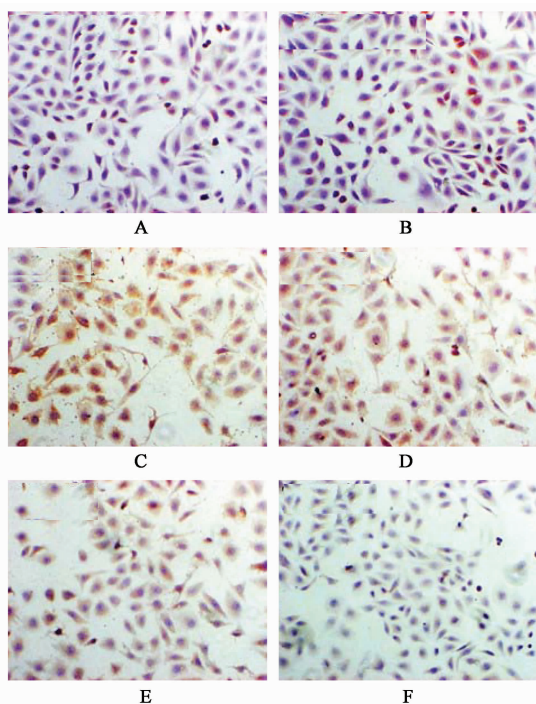


图2 黄芪总黄酮对细胞CHOP表达情况的影响  
(免疫细胞化学法×200)

3.4 各组细胞4-HNE含量的影响 ESRD组4-HNE含量明显高于空白组和正常组( $P < 0.05$ ),黄

芪总黄酮干预各组4-HNE的含量降低,并且黄芪总黄酮呈浓度依赖性减少4-HNE的含量( $P < 0.05$ ),见表1。

3.5 各组细胞AI的变化 凋亡细胞细胞浆浓缩,细胞体积缩小,结构更加紧密,细胞核固缩呈均一的致密物。空白组及正常对照组未见明显凋亡细胞。ESRD组凋亡细胞呈弥漫性分布,黄芪总黄酮干预各组散在分布凋亡细胞。计数AI发现,ESRD组AI高于空白组及正常组( $P < 0.05$ ),黄芪总黄酮干预各组AI明显低于ESRD组,并随黄芪总黄酮浓度的增高AI逐渐降低( $P < 0.05$ )。见表1。

3.6 CHOP相对含量与4-HNE含量的相关性分析 ESRD组CHOP浓度较正常组及空白组明显增加( $P < 0.05$ ),4-HNE也升高明显( $P < 0.05$ )。黄芪总黄酮干预后各组CHOP及4-HNE呈同方向性降低( $P$ 均 $< 0.05$ )。低、中剂量组CHOP蛋白浓度较ESRD组呈剂量依赖性减少,而高剂量组CHOP蛋白表达与中剂量组比较,虽然表达有增高趋势,但差异无统计学意义;4-HNE含量降低呈剂量依赖性。相关性分析发现,CHOP相对表达量与4-HNE呈正相关( $P < 0.01$ )。

表1 各组HUVECs细胞生存率,CHOP,4-HNE和AI的变化( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	细胞生存率/%	A	4-HNE/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	细胞凋亡率/%
空白	100.00 ± 0.00	0.118 ± 0.031	2.35 ± 0.67	4.54 ± 1.25
正常	94.35 ± 2.83	0.118 ± 0.052	2.70 ± 0.60	4.62 ± 1.64
ESRD	69.15 ± 2.58 <sup>2)</sup>	0.714 ± 0.066 <sup>1)</sup>	20.71 ± 2.31 <sup>1)</sup>	28.74 ± 2.64 <sup>2)</sup>
TFA1	76.13 ± 4.03 <sup>3)</sup>	0.572 ± 0.048 <sup>3)</sup>	13.02 ± 2.30 <sup>3)</sup>	20.24 ± 3.04 <sup>3)</sup>
TFA2	80.90 ± 2.65 <sup>3,4)</sup>	0.430 ± 0.058 <sup>3,5)</sup>	9.44 ± 1.50 <sup>3,4)</sup>	14.76 ± 3.28 <sup>3,4)</sup>
TFA3	85.63 ± 3.86 <sup>3,4,6)</sup>	0.458 ± 0.073 <sup>3,4)</sup>	6.53 ± 0.87 <sup>3,4,6)</sup>	10.80 ± 2.44 <sup>3,4,6)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ ;与ESRD组比较<sup>3)</sup> $P < 0.05$ ;与TFA1组比较<sup>4)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>5)</sup> $P < 0.01$ ;与TFA2组比较<sup>6)</sup> $P < 0.05$ 。

#### 4 讨论

心血管系统并发症是终末期肾病患者最常见并发症之一,同时也是直接危及终末期肾病患者生命的危险并发症。心血管系统损害是尿毒症毒素最重要的毒性作用之一,主要表现为动脉粥样硬化、冠心病、心律失常、心力衰竭、高血压及心包疾患等。尿毒症患者AS发病率升高的原因尚未完全阐明,除了普遍存在高血压、高脂血症、微炎症状态、氧化应激等因素外,近年来内质网应激受到大家广泛的关注。ESRD患者的VEC长期暴露于尿毒症内环境,尿毒症毒素可能是诱发VEC凋亡重要因素,目前国内外的相关研究主要是针对某一具体的尿毒症毒素(如同型半胱氨酸血症、晚期糖基化终末产物、瘦素

等)<sup>[4-6]</sup>。然而,ESRD患者内环境相当复杂,单独对具体某一尿毒症毒素进行研究,与ESRD患者内环境有很大差异。本研究以HUVECs为研究对象,选取ESRD血液透析患者血清于体外建立终末期肾病患者内环境模型来观察终末期肾病患者血清对内皮细胞凋亡的影响及黄芪总黄酮的干预作用。

内皮细胞损伤是动脉粥样硬化的重要发病机制,内皮细胞凋亡是动脉粥样硬化进程中一个关键环节<sup>[7]</sup>,多种原因均可引起内皮细胞的损伤。本研究发现在终末期肾病患者血清的刺激下,HUVECs细胞形态发生改变,核固缩,胞质浓缩,细胞生存率降低,凋亡率升高。

黄芪的药用迄今已有2 000多年的历史,其有增

强机体免疫功能、保肝、利尿、抗衰老、抗氧化应激等广泛的药理作用<sup>[8]</sup>。黄芪总黄酮是黄芪的有效提取成分,有显著的心血管保护作用。大量研究表明,黄芪总黄酮对心脏有增加冠状血管血流量,保护心肌细胞,改善心血管功能的作用<sup>[9]</sup>。黄芪总黄酮对冠心病患者具有降低免疫反应、减轻斑块、炎症反应的作用<sup>[10-11]</sup>。本研究发现,黄芪总黄酮可使细胞终末期肾病患者血清诱导的细胞生存率提高,凋亡减少,减轻血管内皮细胞损伤,进而发挥抗动脉粥样硬化的作用。

CHOP 也被称为 DNA 损伤诱导基因 153,是内质网应激介导的细胞凋亡途径的关键分子,CHOP 表达升高是内质网应激的标志<sup>[12-13]</sup>。既往研究证实,CHOP 蛋白及 GRP78 蛋白水平在冠心病中显著增高,提示内质网应激在动脉粥样硬化及斑块破裂中发挥了重要的作用<sup>[14]</sup>。降低内质网应激水平可以延缓或减少 AS 的发生,阻止斑块破裂和血栓形成,降低 ESRD 患者 CVD 发生率<sup>[14]</sup>。4-羟基壬烯醛(4-HNE)是氧化应激脂质过氧化的最稳定的终末代表产物之一,比自由基更稳定,并且与氧化应激引起的多种病理生理过程相关联<sup>[15]</sup>。本研究发现,与 ESRD 组比较,黄芪总黄酮干预组,内皮细胞生存率升高,凋亡率降低,低、中剂量组内质网应激指标 CHOP 的表达,氧化应激水平 4-HNE 的含量呈浓度依赖性降低,CHOP 与 4-HNE 发生同方向改变,相关性分析提示二者呈正相关,推测氧化应激可能是内质网应激介导的凋亡通路的下游事件。而高剂量组,CHOP 降低与中剂量组比较差异无统计学意义,4-HNE 仍降低明显,提示黄芪总黄酮可能通过直接抑制氧化应激作用来保护血管内皮细胞。由此说明黄芪总黄酮不仅从共同初始通路阻断内质网应激水平,而且还具有一定的抗氧化作用,从而减少细胞凋亡,保护血管内皮,起到防治动脉粥样硬化的作用。

综上所述,在终末期肾病患者血清诱导的血管内皮细胞凋亡的过程中,内质网应激引发的凋亡途径发挥重要作用。黄芪总黄酮能够抑制内质网应激水平,减少细胞凋亡数,可能与其减少 CHOP 蛋白的表达及对下游凋亡通路的影响有关。此外,黄芪总黄酮还可以通过抑制氧化应激起到部分抗凋亡的作用,由于内质网应激分支及其信号转导后效应复杂多样,其具体机制有待于进一步研究。

#### [参考文献]

[1] Moody W E, Edwards N C, Madhani M, et al.

Endothelial dysfunction and cardiovascular disease in early-stage chronic kidney disease: cause or association? [J]. *Atherosclerosis*, 2012, 223(1): 86.

[2] Buraczynska M, Zaluska W, Baranowicz-Gaszczyk I, et al. The intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) gene polymorphism K469E in end-stage renal disease patients with cardiovascular disease [J]. *Hum Immunol*, 2012, 73(8): 824.

[3] Mcalpine C S, Bowes A J, Khan M I, et al. Endoplasmic reticulum stress and glycogen synthase kinase-3 $\beta$  activation in apolipoprotein E-deficient mouse models of accelerated atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(1): 82.

[4] Perna A F, Luciano M G, Pulzella P, et al. Is homocysteine toxic in uremia? [J] *J Ren Nutr*, 2008, 18(1): 12.

[5] Nishizawa Y, Koyama H, Inaba M. AGEs and cardiovascular diseases in patients with end-stage renal diseases [J]. *J Ren Nutr*, 2012, 22(1): 128.

[6] Cohen G, Raupachova J, Ilic D, et al. Effect of leptin on polymorphonuclear leucocyte functions in healthy subjects and haemodialysis patients [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26(7): 2271.

[7] Andrés V, Pello O M, Silvestre-Roig C. Macrophage proliferation and apoptosis in atherosclerosis [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2012, 23(5): 429.

[8] 王玉敏, 马琰岩, 高俊虹, 等. 黄芪总提取物及其有效成分改善阿霉素致心衰的研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(7): 208.

[9] 全欣. 黄芪主要活性成分的药理作用 [J]. *时珍国医国药*, 2011, 22(5): 1246.

[10] 汪德清, 丁保国, Tomas G N, 等. 黄芪总黄酮对动脉粥样硬化早期形成的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2003, 19(6): 637.

[11] 张冬青, 汪德清. 黄芪总黄酮生物学活性作用研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(2): 253.

[12] Rasheva V I, Domingos P M. Cellular responses to endoplasmic reticulum stress and apoptosis [J]. *Apoptosis*, 2009, 14(8): 996.

[13] Chikka M R, Mc Cabe D D, Tyra H M, et al. C/EBP homologous protein (CHOP) contributes to suppression of metabolic genes during endoplasmic reticulum stress in the liver [J]. *Biol Chem*, 2013, 288(6): 4405.

[14] Fu H Y, Okada K, Liao Y, et al. Ablation of C/EBP homologous protein attenuates endoplasmic reticulum-mediated apoptosis and cardiac dysfunction induced by pressure overload [J]. *Circulation*, 2010, 122(4): 361.

[15] Sinha-Hikim I, Shen R, Paul Lee W N. Effects of a novel cystine-based glutathione precursor on oxidative stress in vascular smooth muscle cells [J]. *Am Physiol Cell Physiol*, 2010, 299(3): 638.

[责任编辑 邹晓翠]