

“调肝肾,祛痰瘀”复方血压峰值前给药对自发性高血压大鼠心肾组织 TGF- β_1 -Smads 信号通路的影响

吴棕冰^{1,2}, 潘毅^{2*}, 阳涛³, 王志国², 钟婷², 李建平²

(1. 广西中医药大学, 南宁 530001; 2. 广州中医药大学, 广州 510405;
3. 萍乡市人民医院, 江西萍乡 337000)

[摘要] 目的:探讨“调肝肾,祛痰瘀”复方血压峰值前给药对自发性高血压大鼠(SHR)心肾组织转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)-Smads 信号通路的影响。方法:将30只12周龄的自发性高血压大鼠,随机分为复方组(4 g·kg⁻¹),氯沙坦组(30 mg·kg⁻¹)和模型组,另设SD大鼠10只为正常组,12周后,采用RT-qPCR检测心肾组织 Smad2, Smad3 和 Smad7 mRNA 表达,免疫组化法检测肾组织 Smad2, Smad3 和 Smad7 蛋白表达。结果:与正常组比较,模型组肾脏 Smad2, Smad3 和心脏 TGF- β_1 , Smad2, Smad3 的 mRNA 表达明显升高,心脏和肾脏 Smad7 的 mRNA 表达明显降低($P < 0.01$),肾组织 Smad2 和 Smad3 的蛋白表达均明显升高,Smad7 蛋白表达明显降低($P < 0.01$);与模型组比较,复方组能够下调肾脏 Smad2, Smad3 和心脏 TGF- β_1 , Smad3 的 mRNA 表达,上调肾脏和心脏 Smad7 的 mRNA 表达;复方组转化生长因子 β_1 (TGF- β_1) mRNA 表达的下调程度比氯沙坦组明显($P < 0.05$);同时复方组的 Smad2 和 Smad3 的蛋白表达均明显下调($P < 0.01$),Smad7 蛋白表达均明显上调($P < 0.01$),其中,复方组的 Smad7 蛋白表达与正常组无统计学差异。结论:调肝肾祛痰瘀复方血压峰值前给药能够明显减少 ECM 聚积而减少高血压心肾纤维化。其作用机制应是在中医阴阳升降机制协同下,通过下调心肾的 Smad2, Smad3 和上调 Smad7 的表达以阻断 TGF- β_1 -Smads 信号转导通路所致。

[关键词] “调肝肾,祛痰瘀”复方; 血压峰值; 自发性高血压大鼠; Smads 信号

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)14-0092-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015140092

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150527.1039.013.html>

[网络出版时间] 2015-05-27 10:39

Effect of Tiaoganshen Qutanyu-formula on Signal Pathway of TGF- β_1 -Smads of Heart and Kidney in Spontaneous Hypertensive Rats WU Liang-bing^{1,2}, PAN Yi^{2*}, YANG Tao³, WANG Zhi-guo², ZHONG Ting², LI Jian-ping² (1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China; 2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China; 3. Pingxiang People's Hospital, Pingxiang 337000, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Tiaoganshen Qutanyu-formula (TQF) on the pathway of transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) -Smad2/3/7 in the kidney of spontaneous hypertensive rats (SHR) administered before blood pressure peak. **Method:** A total of 30 12-week male SHR were randomly divided into 3 groups: the TQF group (4 g·kg⁻¹), the losartan group (30 mg·kg⁻¹) and the normal group. Another healthy 10 SD rats were taken as the normal group. The mRNA expressions of Smad2, Smad3 and Smad7 in the heart and kidney were detected by RT-PCR, and the protein expressions of Smad2, Smad3 and Smad7 in the kidney were determined by immunohistochemical method after 12 weeks of treatment. **Result:** Compared with the normal group, the mRNA expressions of Smad2, Smad3 in the kidney and TGF- β_1 , Smad2, Smad3 in the heart increased, the mRNA expression of Smad7 in both kidney and heart decreased, the protein expressions of Smad2, Smad3 in the

[收稿日期] 20150131(011)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81173181)

[第一作者] 吴棕冰,博士,从事中医药防治高血压的研究, Tel:13117710622, E-mail:ldhwlb@163.com

[通讯作者] *潘毅,博士生导师,博士,教授,从事中医病因病机与治法研究, Tel:13533718763, E-mail:panyi111111@126.com

kidney increased, the protein expression of Smad7 decreased in the model group ($P < 0.01$). Compared with model group, the mRNA expressions of Smad2, Smad3 in the kidney and TGF- β_1 , Smad2, Smad3 in the heart decreased, the mRNA expression of Smad7 in both kidney and heart increased, the protein expressions of Smad2, Smad3 in the kidney decreased in the TQF group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). There was no statistical difference for protein expression of Smad7 between the TQF group and the normal group. **Conclusion:** TQF taken before blood pressure peak could reduce the hypertensive heart and kidney fibrosis by decreasing the aggregation of extra cellular matrix. The mechanism might be the synergistic effect of Yin-yang theory of the TGF- β_1 -Smads signal pathway interruption by regulating the Smad2, Smad3 and Smad7 in the heart and kidney tissue.

[Key words] Tiaoganshen Qutanyu-formula; blood pressure peak; spontaneous hypertensive rats; Smads signal

“调肝肾,祛痰瘀”复方已证实对大鼠肾脏的转化生长因子- β_1 (TGF- β_1) 基因和蛋白表达有一定程度的下调作用^[1], 本实验基于先前研究确定疗效剂量的基础上^[2], 在 SHR 大鼠血压峰值前 2 h 的 19:00 和 0:00 给药, 主要观察此复方对 SHR 肾脏 Smad2, Smad3 和 Smad7 mRNA 和蛋白表达, 以及 SHR 心脏的 Smad2, Smad3 和 Smad7 mRNA 表达的影响, 从 TGF- β_1 Smads 信号转导通路上探讨调肝肾, 祛痰瘀复方血压峰值前给药对 SHR 大鼠心肾组织纤维化的影响以及作用机制。

1 材料

1.1 动物 30 只 11 周龄雄性自发性高血压大鼠 (SHR), 体重 (220 ± 20) g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司合格证号 SCXK(京)2012-0001, 11 周龄 (SD) 大鼠 10 只, 体重 (220 ± 20) g, 购自广州中医药大学 (大学城) 实验动物中心, 合格证号 SCXK(粤)2013-0020, SPF 级实验室分笼饲养, 适应性饲养 1 周。

1.2 药物及试剂 “调肝肾, 祛痰瘀”复方 (成人 1 日量) 熟地黄 25 g, 龟板 30 g (先煎), 丹参 15 g, 瓜蒌 12 g, 田七 5 g, 钩藤 12 g (广州市药材公司中药饮片厂生产, 批号 13093120)。并经过鉴定符合药典标准。常规煎药 (含生药质量浓度 $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)。药液冷却后, 置于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱内保存备用。生理盐水 (湖北科伦药业有限公司, 批号 B130821C)。氯沙坦 (杭州默沙东制药有限公司, 批号 130101), Smad2 抗体 (美国 CST 公司, 批号 5339p), Smad3 抗体 (美国 ABclonal 公司, 批号 A0427), Smad7 抗体 (北京博奥森公司, 批号 bs-0566R), PCR 逆转录试剂盒 (美国 ABI 公司, 批号 C0210A), GAPDH, Smad2, Smad3 和 Smad7 引物购自上海生物工程公司。

1.3 仪器 2720 型 RT-qPCR 扩增仪, ABI7300 型荧光定量 PCR 序列检测系统 (均购自美国 Applied

Biosystems 公司)。

2 方法

2.1 分组与给药方法 30 只雄性 SHR 大鼠编号后按照随机数字表随机分为 3 组, 分别为复方组, 氯沙坦组和模型组, 每组均 10 只; SD 大鼠 10 只作为正常组。复方组以 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 药量每日于 19:00 和 00:00 *ig*, 氯沙坦组以 $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 清晨 1 次常规 *ig*^[3]; 模型组和正常组给予等量的生理盐水。所有大鼠均饲养在广州中医药大学实验动物中心 SPF 级实验室。实验期间给予酪蛋白大鼠饲料, 自由饮水, 12 h 人工光照交替, 连续给药 12 周。

2.2 指标检测 RT-qPCR 法检测心肾组织中 Smad2, Smad3 和 Smad7 的 mRNA 表达 7% 水合氯醛 ($0.35 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 经 *ip* 麻醉, 取各组大鼠肾脏和左心室组织, 置于 1 mL TRIzol 中, 提取总 RNA 并检测其纯度后, 经两步法逆转录 = 聚合酶链反应检测 mRNA 表达。按照逆转录试剂盒方法在 PCR 热循环仪中将其逆转录为 cDNA。PCR 反应条件为: 预变性 $93 \text{ }^\circ\text{C}$, 2 min。变性 $93 \text{ }^\circ\text{C}$, 30 s, 共 40 个循环。退火 $55 \text{ }^\circ\text{C}$, 45 s, 共 40 个循环。延伸 $72 \text{ }^\circ\text{C}$ 30 s, 共 40 个循环。引物序列见表 1。反应完数据保存, 进行分析, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 相对定量分析。

免疫组化法检测肾组织的 Smad2, Smad3 和 Smad7 的蛋白表达 福尔马林固定石蜡包埋的组织, 切片厚 $3 \sim 4 \text{ }\mu\text{m}$, 置 (60 ± 5) $^\circ\text{C}$ 的烤箱中烤干, 二甲苯脱腊, 梯度乙醇水化, EDTA 抗原修复液 (pH 8.0) 抗原修复, 3% H_2O_2 中浸泡取出, DAKO 阻断, 滴加一抗, 孵育 1 h, 滴加二抗, 孵育 30 min, 每步后均 PBS 冲洗, 5 min \times 3。DAB 显色, 盐酸乙醇分化, 苏木素复染, 流水冲洗 10 min, 脱水、透明、封片镜检, 采用 Image-Pro Plus 6.0 软件对图片进行积分吸光度 IA 分析结果。

2.3 统计学分析 采用 SPSS 11.0 统计分析软件

表 1 PCR 检测中引物序列

Table 1 Primer sequences of PCR detection

引物名称	引物	长度 /bp
Smad2	上游 5'-TGTGCAGAGCCCCAACTGTA-3'	121
	下游 5'-CTGAGCCAGAAGAGCAGCAA-3'	
Smad3	上游 5'-ACGCAGAACTGTAACACCAA-3'	108
	下游 5'-CCACAAGCGGCAGTAGATGA-3'	
Smad7	上游 5'-CCAAGAGCCCTCCTGGATA-3'	118
	下游 5'-GCCGATCTTGCTCCTCACTT-3'	
GAPDH	上游 5'-CTCCCATTCTCCACCTTTG-3'	105
	下游 5'-CCACCACCTGTTGCTGTAG-3'	

处理,所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,SNK 法两两比较,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对肾脏组织中 Smad2, Smad3 和 Smad7 的 mRNA 表达的影响 与正常组比较,模型组 Smad2 和 Smad3 的 mRNA 表达均明显上调 ($P < 0.01$), Smad7 的 mRNA 表达相应下调 ($P < 0.01$);与模型组比较,复方组和氯沙坦组 Smad2 和 Smad3 mRNA 的表达均明显下调 ($P < 0.01$), Smad7 mRNA 的表达均明显上调 ($P < 0.05$), 复方组和氯沙坦组 Smad2, Smad3 和 Smad7 mRNA 表达无统计学差异。见表 2。

表 3 “调肝肾,祛痰瘀”复方对大鼠左心室组织 TGF- β_1 , Smad2, Smad3 和 Smad7 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effects of Tiaoganshen Qutanyu formula on expression of TGF- β_1 , Smad2, Smad3, Smad7 mRNA in left ventricular tissue of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	2 ^{-$\Delta\Delta C_t$}			
		TGF- β_1	Smad2	Smad3	Smad7
正常	-	5.04 ± 0.46	0.85 ± 0.45	2.39 ± 0.89	14.43 ± 0.92
模型	-	22.72 ± 2.46 ²⁾	4.79 ± 2.09 ¹⁾	14.11 ± 1.75 ²⁾	1.37 ± 0.45 ²⁾
复方	4	7.39 ± 0.63 ⁴⁾	2.00 ± 0.59	7.38 ± 2.69 ³⁾	9.49 ± 2.08 ⁴⁾
氯沙坦	0.03	12.56 ± 2.40 ⁴⁾	1.29 ± 0.44 ³⁾	4.20 ± 1.65 ⁴⁾	6.82 ± 1.06 ⁴⁾

3.3 对肾组织中 Smad2, Smad3 和 Smad7 蛋白表达的影响 正常组有少量 Smad2 和 Smad3 蛋白的表达,主要在肾小管上皮内有少量棕黄色物质沉积,着色浅且面积小;模型组肾小管上皮内有大量棕黄色物质沉积,着色深且着色面积大,表达量显著增多,与模型组比较,复方组和氯沙坦组肾小管上皮内棕黄色物质减少,着色变浅且着色面积变小,表达量减少;复方组比氯沙坦组着色变浅较明显。见图 1, 2。正常组有 Smad7 蛋白的表达,在肾小球上皮内有大量棕黄色物质沉积,着色深且着色面积大;模型组肾小球上皮内棕黄色物质明显减少,着色非常浅,表达量非常少;与模型组比,复方组和氯沙坦组肾小球上

表 2 “调肝肾,祛痰瘀”复方对大鼠肾组织 Smad2, Smad3 和 Smad7 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of Tiaoganshen Qutanyu formula on expression of Smad2, Smad3, Smad7 mRNA in kidney tissue of rat ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	2 ^{-$\Delta\Delta C_t$}		
		Smad2	Smad3	Smad7
正常	-	1.05 ± 0.25	3.34 ± 1.11	3.06 ± 0.11 ¹⁾
模型	-	8.91 ± 0.54 ²⁾	16.92 ± 1.17 ²⁾	0.75 ± 0.06 ²⁾
复方	4	5.99 ± 0.50 ⁴⁾	5.25 ± 3.63 ⁴⁾	1.74 ± 0.31 ³⁾
氯沙坦	0.03	4.71 ± 0.62 ⁴⁾	5.14 ± 2.39 ⁴⁾	1.86 ± 0.50 ³⁾

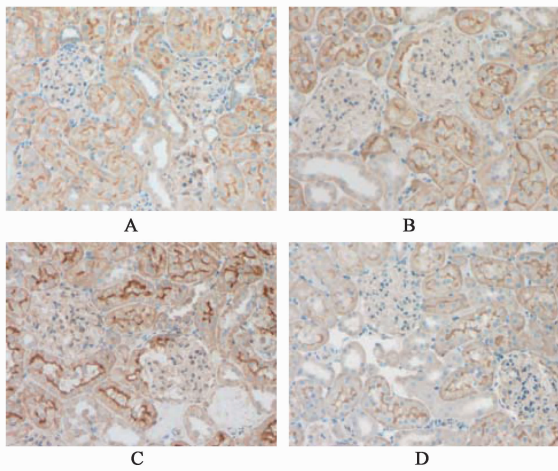
注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 3~4 同)。

3.2 对左心室组织中 Smad2, Smad3 和 Smad7 mRNA 表达的影响 与正常组比较,模型组 TGF- β_1 , Smad2 和 Smad3 mRNA 表达均明显上调 ($P < 0.01, P < 0.05$), Smad7 mRNA 表达相应下调 ($P < 0.01$);与模型组比较,复方组 TGF- β_1 和 Smad3 mRNA 的表达均明显下调 ($P < 0.05, P < 0.01$), Smad7 mRNA 的表达均明显上调 ($P < 0.01$);氯沙坦组 TGF- β_1 , Smad2 和 Smad3 mRNA 的表达均明显下调 ($P < 0.05, P < 0.01$), Smad7 mRNA 的表达均明显上调 ($P < 0.01$);与氯沙坦组比较,复方组 TGF- β_1 mRNA 表达明显下调 ($P < 0.05$)。见表 3。

皮内棕黄色物质增多,着色增强且着色面积变大,表达量增多,复方组比氯沙坦组着色增强较明显。见图 3。与正常组比较,模型组 Smad2 和 Smad3 的蛋白表达均明显上调 ($P < 0.01$), Smad7 的蛋白表达相应下调 ($P < 0.01$);与模型组比较,复方组和氯沙坦组 Smad2 和 Smad3 的蛋白表达均明显下调 ($P < 0.01$), Smad7 表达均明显上调 ($P < 0.01$), 复方组和氯沙坦组的 Smad2, Smad3 和 Smad7 蛋白表达无统计学差异,其中,复方组的 Smad7 蛋白表达与正常组没有统计学意义。见表 4。

4 讨论

SHR 大约在 20 周龄时,能形成较为明显的高



A. 复方组; B. 氯沙坦组; C. 模型组; D. 正常组(图 2~3 同)
图 1 “调肝肾,祛痰瘀”复方对大鼠肾组织 Smad2 蛋白的影响(免疫组化, ×400)
Fig.1 Effects of Tiaoganshen Qutanyu formula on Smad2 protein in kidney tissue of rat(IHC, ×400)

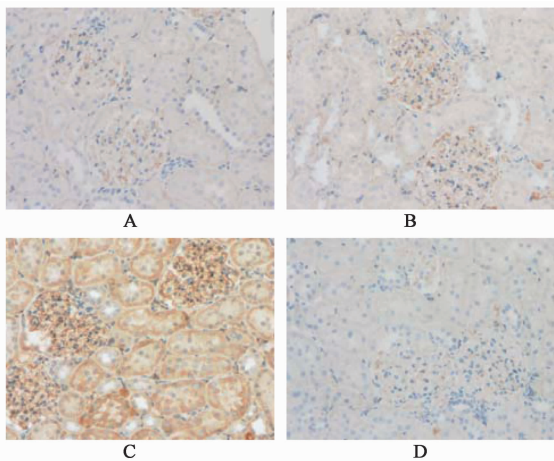


图 2 “调肝肾,祛痰瘀”复方对大鼠肾组织 Smad3 蛋白的影响(免疫组化, ×400)
Fig.2 Effects of Tiaoganshen Qutanyu formula on Smad3 protein in kidney tissue of rat (IHC, ×400)

血压肾损害的体征,符合临床报道的高血压肾损害大约在未控制的高血压病形成 5~10 年后出现^[4]。而 24 周龄的 SHR 则出现了明显的肾间质纤维化^[5]。肾间质纤维化是肾脏疾病发展和预后的重要因素,也是导致肾单位进行性损伤的病理机制,其本质是细胞外基质(extracellular matrix, ECM)异常沉积,ECM 过度合成和降解受抑是 ECM 积聚的直接原因^[6]。高血压状态下血流动力学异常等因素均可诱导转化生长因子 TGF- β_1 及其受体表达增加。作为重要的促纤维化细胞因子,TGF- β_1 具有促纤维化效应,抗增生,抗炎症等作用。当其被合成并分泌到细胞外时会结合到靶器官相应的受体上,通过激

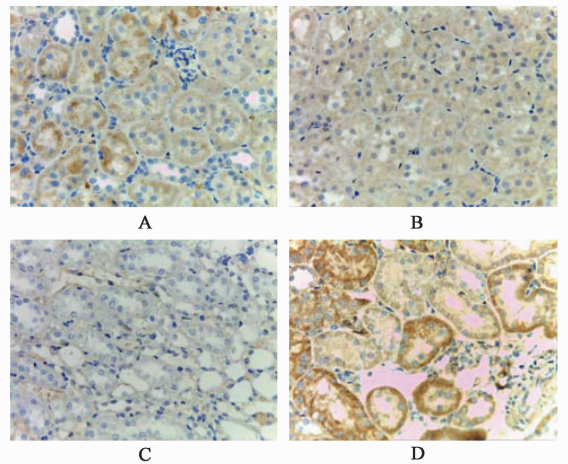


图 3 “调肝肾,祛痰瘀”复方对大鼠肾组织 Smad7 蛋白的影响(免疫组化, ×400)
Fig.3 Effects of Tiaoganshen Qutanyu formula on Smad7 protein in kidney tissue of rat (IHC, ×400)

表 4 “调肝肾,祛痰瘀”复方对大鼠肾组织 Smad2,Smad3 和 Smad7 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effects of Tiaoganshen Qutanyu formula on Smad2, Smad3, Smad7 protein in kidney tissue of rat ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	IA		
		Smad2	Smad3	Smad7
正常	-	2.64 ± 0.18	0.99 ± 0.39	7.94 ± 0.37
模型	-	8.13 ± 0.23 ²⁾	6.64 ± 0.60 ²⁾	0.45 ± 0.22 ²⁾
复方	4	3.91 ± 0.83 ⁴⁾	2.99 ± 0.11 ⁴⁾	5.75 ± 1.11 ⁴⁾
氯沙坦	0.03	5.42 ± 0.44 ⁴⁾	3.62 ± 0.67 ⁴⁾	4.32 ± 1.14 ⁴⁾

活一系列的细胞内信号传导通路,引起靶基因的转录^[7]。在心脏,心肌成纤维细胞是 TGF- β_1 分泌的主要来源之一^[8];TGF- β_1 参与调节成纤维细胞的增殖、转化、迁移、凋亡以及以胶原蛋白为主的 ECM 的合成^[9],并同时诱导心肌成纤维细胞分化为更强组织连接功能的肌成纤维细胞,后者刺激产生间质胶原纤维的能力是前者的两倍^[10]。

Smads 通路作为 TGF- β_1 的下游,是一条经典的转导途径^[11-12]。Smads 是一类高度保守的蛋白家族,Smad2 和 Smad3 是受体调节型 Smad (Receptor activated Smad, R-Smad),在信号转导中可以与被激活的 I 型激酶受体短暂结合,被磷酸化而激活,是各种疾病的正调控因子,多种疾病的发生发展与 Smad2 和 Smad3 的表达密切相关^[13]。以 Smad7 为代表的抑制型(I-Smads)是血管重构的负调控因子,Smad7 通过与活化的 T β R-I 牢固结合,从而阻止 R-Smads 的磷酸化,另外 Smad7 还能通过与 Smad 效应

元件结合,分解 TGF- β_1 诱导的 Smad-DNA 复合物^[14]等方式,抑制信号通路。前期试验采用 RT-PCR 和 Western blot 法分别检测肾组织中 TGF- β_1 , 已证实与模型组比较,复方组 TGF- β_1 的 mRNA 和蛋白表达均明显下调($P < 0.01$),且优于氯沙坦组($P < 0.05$)。本实验结果显示,复方组能够下调肾脏 Smad2, Smad3 和心脏 TGF- β_1 , Smad3 的 mRNA 表达,上调肾脏和心脏 Smad7 的 mRNA 表达;复方组 TGF- β_1 mRNA 表达的下调程度比氯沙坦组明显;同时复方组的 Smad2 和 Smad3 的蛋白表达均明显下调,Smad7 蛋白表达均明显上调,其中,复方组的 Smad7 蛋白表达与正常组没有统计学差异。表明经过调肝肾祛、痰瘀复方的干预,肾间质纤维化得到一定程度的修复且与 TGF- β_1 , Smad2 和 Smad3 的表达下调,以及 Smad7 表达上调相关,调肝肾、祛痰瘀复方有可能是通过这条信号通路来减少 ECM 积聚,从而达到延缓 SHR 大鼠肾脏损害的目的。

于中医而言高血压靶器官的损害多归结于以肝肾亏虚为之本虚,痰凝和瘀结为之邪实。调肝肾、祛痰瘀复方的功效不但蕴含中医针对高血压及靶器官保护的病机综合调治和阴阳升降调节的思想,方中各药的现代药理学研究也表明可针对高血压的病理多环节^[15-16]。笔者认为高血压是气血升降异常之病,可借助时间因素来调控机体气机升降之势,从而提高药效。本研究在 SHR 大鼠峰值前(19:00 和 00:00)给药,正是为了能有效地抑制气血上升之势,从而减轻高血压的高峰现象,进而减少高血压对靶器官的损害。故在临床上治疗高血压病人时,也可以本研究结果为参考,在人类的血压峰值前给药,使能有效地抑其气血上升之势,减轻高血压的高峰现象,保持血压节律稳定,从而减少高血压危险事件^[17]。

[参考文献]

[1] 吴棕冰,潘毅,王志国,等.“调肝肾,祛痰瘀”复方血压峰值前给药对自发性高血压大鼠 TGF- β_1 , CTGF 和 FN 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(14): 87-91.

[2] 阳涛. 中药复方择时给药对 SHR 血压节律调控及节和靶器官保护及其机制研究[D]. 广州:广州中医药大学,2013.

[3] 敖翔,孙明,周宏研. 自发性高血压大鼠血、尿 III 型前胶原水平变化及氯沙坦的干预作用[J]. 中国医师杂志,2004,6(8):1064-1067.

[4] 严冬,唐蜀华,陈晓虎,等. 降压益肾颗粒对 SHR 早期肾脏损害组织形态学影响[J]. 中国中医基础医学杂志,2004,10(11):40-42.

[5] 王敏莲,刘淑华,闫晗,等. 缬沙坦对自发性高血压大鼠肾间质纤维化及转化生长因子- β_1 表达的影响[J]. 武汉大学学报:医学版,2009,30(6):746-748.

[6] Zeiberg M, Neilson E G. Mechanisms of tubulointerstitial fibrosis [J]. J Am Soc Nephrol, 2010, 21(11):1819-1834.

[7] 陈爱兰,陈敏生. TGF- β_1 , Ang II 与心肌肥大关系的研究进展[J]. 热带医学杂志,2005,5(3):411-413.

[8] Lijnen P, Petrov V. Transforming growth factor-beta 1-induced collagen production in cultures of cardiac fibroblasts is the result of the appearance of myofibroblasts [J]. Meth Find Exp Clin Pharmacol, 2002,24:333-344.

[9] 张琳. TGF- β_1 /Smad 信号通路在糖尿病大鼠心肌组织中的表达变化及干预措施[D]. 天津:天津医科大学,2009:32.

[10] Petrov V V, Fagard R H, Lijnen P J, et al. Stimulation of collagen production by transforming growth factor-beta1 during differentiation of cardiac fibroblasts to myofibroblasts[J]. Hypertension, 2002,39:258-263.

[11] Heldin C H, Miyazono K, ten Dijke P. TGF-beta signaling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins[J]. Nature,1997,390(6659):465-471.

[12] Moustakas A, Souchelnytskyi S, Heldin C H. Smad regulation in TGF-beta signal transduction[J]. J Cell Sci,2001,114(24):4359-4369

[13] 黄文林,朱孝峰. 信号转导[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:203-218.

[14] Zhang S, Fei T, Zhang L, et al. Smad7 antagonizes transforming growth factor beta signaling in the nucleus by interfering with functional Smad-DNA complex formation [J]. Mol Cell Biol, 2007, 27(12): 4488-4499.

[15] 潘毅,蔡三郎,柳琳. 调肝肾祛痰瘀复方含药血清对 SHR 血管平滑肌细胞肾素-血管紧张素系统的影响[J]. 中华中医药学刊,2009,27(6):1138-1140.

[16] 潘毅,王文靖,阳涛,等. 血畅宁对两种高血压大鼠模型的血压及左室重构的影响[J]. 时珍国医国药, 2013,24(6):1306-1309.

[16] 熊兴江,王阶. 经典名方治疗高血压病临床实践[J]. 中国中药杂志,2014,39(5):929-933.

[17] 阳涛,潘毅. 高血压当从气机升降运化论治[J]. 四川中医,2013,31(3):37-40.

[责任编辑 周冰冰]