

丹皮酚与三七总皂苷配伍应用对血管紧张素 II 诱导增殖的心脏成纤维细胞 I 型和 III 型胶原蛋白表达的影响

孙红丹, 聂丹, 龚明玉, 周晓慧*
(承德医学院, 河北承德 067000)

[摘要] **目的:**探讨丹皮酚与三七总皂苷配伍应用对血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 诱导增殖的心脏成纤维细胞胶原合成的调节作用。**方法:**选取原代培养的乳鼠心脏成纤维细胞, 随机分为 6 组, 分别为空白组, 模型组, 丹皮酚 ($45 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 组, 三七总皂苷 ($50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 组, 丹皮酚与三七总皂苷配伍的高、低剂量 (丹皮酚 $45, 30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 三七总皂苷 $50, 30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 组。药物干预 48 h, 采用逆转录-聚合酶链式反应 (RT-PCR) 法检测 I 型胶原, III 型胶原的 mRNA 表达水平, 蛋白质免疫印迹 (Western blot) 法检测各组细胞的 I 型胶原和 III 型胶原的蛋白表达水平。**结果:**与空白组比较, 模型组 I 型胶原和 III 型胶原的 mRNA 及蛋白表达明显升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, Ang II 可刺激心脏成纤维细胞 (cardiac fibroblasts, CFs) 的增殖, 丹皮酚, 三七总皂苷及其配伍的高、低剂量均可抑制 I 型胶原和 III 型胶原的 mRNA 及蛋白表达 ($P < 0.05$), 其中配伍组的抑制作用较优, 且配伍高剂量作用时抑制效果更佳。**结论:**丹皮酚和三七总皂苷配伍组方可抑制血管紧张素 II 诱导增殖的心脏成纤维细胞 I 型胶原和 III 型胶原蛋白的基因表达, 显示明显的协同效应。

[关键词] 丹皮酚; 三七总皂苷; 心脏成纤维细胞; 胶原

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)09-0122-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2016090122

Effects of Combination of Paeonol and Notoginseng Radix et Rhizoma Saponins on Expressions of Type I and III Collagen in Proliferation of Cardiac Fibroblasts Induced by Angiotensin II

SUN Hong-dan, NIE Dan, GONG Ming-yu, ZHOU Xiao-hui*
(Chengde Medical University, Chengde 067000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of combination of paeonol (Pae) and Notoginseng Radix et Rhizoma saponins (NRS) on expressions of type I and III collagen in proliferation of cardiac fibroblasts induced by angiotensin II (Ang II). **Method:** Primary cultured cardiac fibroblasts (CFs) of neonatal rats were randomly divided into six groups: blank group, model group, Pae group ($45 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), NRS group ($50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), combined Pae and NRS high-dose and low-dose groups (Pae $45, 30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NRS $50, 30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). The mRNA expressions of type I and III collagen were detected by RT-PCR after drug intervention for 48 h. The protein expressions of type I and III collagen were determined by Western blot. **Result:** As compared with the blank group, the mRNA expressions and protein expressions of type I and III collagen were significantly increased in model group ($P < 0.01$). Compared with the model group, the proliferation of CFs were stimulated by Ang II, and the mRNA and protein expressions of type I and III collagen were inhibited by Pae group, NRS group, and the combined Pae and NRS high-dose and low-dose groups ($P < 0.05$). The combined groups had better effect than other groups, and the combined high-dose group had the best inhibitory effect. **Conclusion:** The combination

[收稿日期] 20150627(005)

[基金项目] 河北省自然科学基金项目(C2011406009);河北省教育厅重点项目(ZD20131068);河北省教育厅项目(Q2012015)

[第一作者] 孙红丹, 硕士, 从事心血管药物药理学研究, Tel:18518176625, E-mail:sunhongdan@outlook.com

[通讯作者] *周晓慧, 教授, 从事心血管药理学研究, Tel:0314-2290632, E-mail:zxh5055@sina.com

of Pae and NRS can inhibit the gene expressions of type I and III collagen in cardiac fibroblasts induced by Ang II, and shows significant synergistic effects.

[Key words] paeonol; Notoginseng Radix et Rhizoma saponins; cardiac fibroblasts; collagen

心肌组织纤维化(myocardial fibrosis, MF)是心肌梗死后心室重构的主要病理表现,心脏成纤维细胞的增殖在 MF 中起着关键作用^[1]。I 型胶原(collagen I, Col-I)和 III 型胶原(collagen III, Col-III)主要由心脏成纤维细胞(CFs)分泌,是构成心肌间质网络的基本结构蛋白。I, III 型胶原含量及其比例的变化是心肌纤维化的主要病理基础^[2]。丹皮酚(paeonol, Pae)是从毛茛科植物牡丹皮中提取的有效成分,具有保肝护肾、降血糖、抗菌消炎、抗过敏、抗心律失常、保护心血管、增强免疫力等多种药理作用^[3]。三七总皂苷(Notoginseng Radix et Rhizoma saponins, NRS)是从五加科植物三七的根中按一定工艺提取得到的总皂苷,具有止血、活血,保护心肌,抗心肌缺血,抗心律失常,抗炎、镇痛,抗衰老,抗氧化等作用^[4]。丹皮酚和三七总皂苷均具有逆转心室重构,抑制心脏成纤维细胞增殖的作用^[5],但其二者合用是否具备协同作用目前尚不明确,相关研究也尚未见报道,本实验旨在探讨丹皮酚和三七总皂苷配伍应用与单独使用各味药在抑制心肌纤维化程度上的不同及其病理基础。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠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。

1.2 药物及试剂 丹皮酚注射液(宁波天真制药有限公司,批号 20110603),三七总皂苷注射液(血塞通注射液,络泰,昆明制药集团股份有限公司,批号 13CJ27),胎牛血清(浙江天杭生物科技有限公司,批号 130415),胰蛋白酶(北京奥博星生物技术责任有限公司,批号 80060813),DMEM 培养基(美国 Gibco 公司),第一链 cDNA 合成试剂盒(美国 Invitrogen 公司),逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)扩增试剂盒(大连宝生物有限公司),血管紧张素 II(Ang II,美国 Sigma 公司),Col-I 和 Col-III 单克隆抗体(美国 Abcam 公司), β -肌动蛋白(β -actin)抗体(美国 Santa cruze 公司),辣根过氧化酶标记的二抗(北京中衫金桥生物技术有限公司)。

1.3 仪器 CKX41 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司),HERAcell150i 型 CO₂ 培养箱(美国 Thermo 公司),SWCJ-2FD 型净化工作台(上海博讯实业有限公司医疗设备厂),iCycle7 Thermal Cycler 型 PCR

仪(美国 Bio-Rad 公司),DNM-9602 型酶标分析仪(北京普朗新技术有限公司),DYY-BC 型电泳仪(北京市六一仪器厂)。

2 方法

2.1 乳鼠心脏成纤维细胞原代及传代培养 取出生 1~3 d 的 SD 大鼠置于体积分数为 75% 乙醇中浸泡处死,用眼科虹膜剪由剑突处正中线稍偏左上开胸,用组织镊压住胸骨右缘,使心脏自然跳出后剪下心脏,置于含有 10% 血清的 DMEM 培养液中,转移至超净台。用 D-hanks 洗心脏 2~3 次,以去掉组织中的血管。加入是组织 20~30 倍体积的胰蛋白酶消化液后置于磁力搅拌器上 37 °C 水浴,消化 8 min。然后用吸管取出消化液到离心管内,加 4~5 滴胎牛血清使胰酶灭活。重复消化 3~4 次。将收集的所有细胞悬液过 200 目筛网后,1 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,弃上清,反复 2 次,用 D-hanks 冲洗细胞。再用含 10% 胎牛血清的培养基将细胞接种在培养瓶内,放入体积分数 5% CO₂,37 °C 培养箱中培养。采用差速贴壁法分离培养心脏成纤维细胞,当细胞生长至 80% 汇合状态时,用 0.125% 胰蛋白酶进行传代培养。实验采用培养的第 3 代细胞。

2.2 分组及给药 将培养的心脏成纤维共分为 6 组,空白组不加任何干预因素,模型组加入 Ang II (1×10^{-7} mol·L⁻¹),Pae 干预组加入 Pae (45 mg·L⁻¹) + Ang II (1×10^{-7} mol·L⁻¹),NRS 干预组加入 NRS (50 mg·L⁻¹) + Ang II (1×10^{-7} mol·L⁻¹),配伍高剂量干预组加入 Pae (45 mg·L⁻¹) + NRS (50 mg·L⁻¹) + Ang II (1×10^{-7} mol·L⁻¹),配伍低剂量干预组加入 Pae (30 mg·L⁻¹) + NRS (30 mg·L⁻¹) + Ang II (1×10^{-7} mol·L⁻¹)。

2.3 RT-PCR 法检测 Col-I, Col-III 的 mRNA 的表达水平 将含 10% 胎牛血清培养基的细胞悬液以 5×10^5 个/孔接种于 6 孔板中培养,经药物干预 48 h 后采用 Trizol 一步法提取细胞的总 RNA,用 β -actin 为内参。引物由上海生工合成,Col-I 上游引物 5'-TGCCGTGACCTCAAGATGTG-3',下游引物 5'-CACAAGCGTGCTGTAGGTGA-3',片段长度 462 bp; Col-III 上游引物:5'-GATGCTGGTCTGAGAAGA-3',下游引物 5'-CAATGTCATAGGGTCCGATA-3',片段长度 397 bp; β -actin 上游引物 5'-CACCCGCGAG

TACAACCTTC-3', 下游引物 5'-CCCATACCCACCA TCACACC-3', 片段长度 207 bp。严格按试剂盒说明书反转录合成 cDNA, 再以 cDNA 产物为模板对目的片段进行 PCR 扩增, 按以下反应条件: 94 °C 预变性 2 min, 94 °C 变性 30 s, 58 °C (Col-I, Col-III) 或 60.4 °C (β -actin) 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 共 30 个循环, 末次循环后 10 °C 延伸 10 min。对 PCR 扩增产物结果进行灰度扫描, 应用 Quantity One 软件进行定量分析, 以目的条带的光密度与 β -actin 条带光密度的比值作为各目的基因蛋白表达的相对水平。

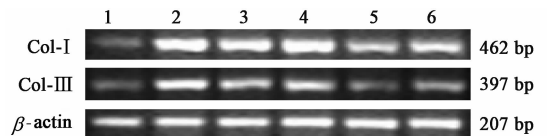
2.4 蛋白质免疫印迹 (Western blot) 检测 Col-I, Col-III 的蛋白表达 将含 10% 胎牛血清培养基的细胞悬液以 5×10^5 每孔接种于培养瓶中培养 24 h 后换液, 加入含 0.4% 胎牛血清的培养基, 使细胞处于同一生长状态, 即“同步化”^[7]。同步化处理 24 h 后, 药物干预 48 h, 弃去培养液, 每瓶加入 500 μ L RIPA 裂解液提取细胞总蛋白, 蛋白提取过程在冰上操作, 用 BCA 蛋白定量法测定蛋白浓度。取 50 μ g 总蛋白加入上样缓冲液, 95 °C 煮 5 min 变性, 然后经 SDS-PAGE 进行凝胶电泳, 将电泳分离的蛋白转移至 PVDF 膜上, 封闭过夜后加入 1:3 000 稀释的 β -actin, Col-I 一抗及 1:200 稀释的 Col-III 一抗室温孵育 2 h, TBST 洗 3 次, 每次洗 15 min。然后加入 1:3 000 稀释的二抗, 室温孵育 1 h, 滴加 ECL 化学发光剂 4 min 后曝光, 显影并定影。对结果进行灰度值扫描, 应用 Quantity One 软件进行定量分析, 以目的条带的积分吸光度与 β -actin 条带积分吸光度的比值作为各目的基因蛋白表达的相对水平。

2.5 统计学分析 采用 SPSS 19.0 软件进行统计

分析, 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 ANOVA 方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 Col-I, Col-III mRNA 的表达水平的影响 与空白组比较, 给予 Ang II 诱导后, CFs 内 Col-I, Col-III 的 mRNA 表达量及其比值明显增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各组药物作用 CFs 后, Col-I, Col-III 的 mRNA 表达量及配伍组的 Col-I/Col-III 有不同程度的降低 ($P < 0.01$); 与 Pae 组或 NRS 组比较, 配伍组 Col-I, Col-III 的 mRNA 表达量明显降低 ($P < 0.01, P < 0.05$), 其中配伍低剂量组与 Pae 组的 Col-I/Col-III 值比较 ($P < 0.05$); 与配伍低剂量组比较, 配伍高剂量组 Col-I, Col-III 的 mRNA 表达量降低的更明显 ($P < 0.05$)。但 Pae 组与 NRS 组的 Col-I/Col-III 与模型组比较无显著性差异。配伍组与 NRS 组比较, Col-I/Col-III 无显著性差异。配伍高剂量组与 Pae 组比较, Col-I/Col-III 的差异无统计学意义。配伍高剂量组与配伍低剂量组比较, Col-I/Col-III 的差异也无统计学意义。见图 1, 表 1。



1. 空白组; 2. 模型组; 3. NRS 组; 4. Pae 组; 5. 配伍高剂量组; 6. 配伍低剂量组 (图 2 同)

图 1 NRS 和 Pae 及其配伍方对 CFs 中 Col-I, Col-III 的 mRNA 表达水平的影响

Fig.1 Effects NRS, Pae and combinations of side on CFs of mRNA expression levels of Col-I and Col-III

表 1 NRS 和 Pae 及其配伍方对 CFs 中 Col-I, Col-III 的 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 1 Effects NRS, Pae and combinations of side on CFs of mRNA expression levels of Col-I and Col-III ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	Col-I	Col-III	Col-I/Col-III
空白	-	0.74 \pm 0.00	0.72 \pm 0.10	1.04 \pm 0.17
模型	-	2.89 \pm 0.06 ¹⁾	2.10 \pm 0.19 ¹⁾	1.38 \pm 0.13 ¹⁾
NRS	50	1.58 \pm 0.01 ²⁾	1.36 \pm 0.22 ²⁾	1.18 \pm 0.21
Pae	45	1.95 \pm 0.04 ²⁾	1.60 \pm 0.25 ²⁾	1.25 \pm 0.21
配伍	50 + 45	0.92 \pm 0.01 ^{2,3,5,7)}	0.88 \pm 0.13 ^{2,3,5,7)}	1.06 \pm 0.18 ²⁾
	30 + 30	1.13 \pm 0.02 ^{2,3,5)}	1.12 \pm 0.12 ^{2,4,5)}	1.02 \pm 0.20 ^{2,6)}

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.05$; 与 NRS 组比较³⁾ $P < 0.01$, ⁴⁾ $P < 0.05$; 与 Pae 组比较⁵⁾ $P < 0.01$, ⁶⁾ $P < 0.05$; 与配伍低剂量组比较⁷⁾ $P < 0.05$ 。

3.2 Western blot 检测 Col-I, Col-III 的蛋白表达情况 与空白组比较给予 Ang II 诱导后, CFs 内

Col-I, Col-III 的蛋白表达量及其比值明显增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各组药物干预 CFs 后,

Col-I, Col-III 的蛋白表达量及其比值有不同程度的降低 ($P < 0.01$); 与 Pae 组或 NRS 组比较, 配伍组 Col-I, Col-III 的蛋白表达量及其比值显著降低 ($P < 0.01, P < 0.05$); 与配伍低剂量组比较, 配伍高剂量组 Col-I, Col-III 的蛋白表达量降低的更明显 ($P < 0.01$)。但配伍高剂量组与配伍低剂量组比较, Col-I/Col-III 的差异无统计学意义。见图 2, 表 2。

表 2 NRS 和 Pae 及其配伍方对 CFs 中 Col-I, Col-III 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 2 Effects of NRS, Pae and combinations of side on CFs of protein expression levels of Col-I and Col-III ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	Col-I	Col-III	Col-I/Col-III
空白	-	0.70 ± 0.03	0.41 ± 0.02	1.71 ± 0.10
模型	-	1.88 ± 0.07 ¹⁾	1.00 ± 0.01 ¹⁾	1.88 ± 0.08 ¹⁾
NRS	50	1.04 ± 0.02 ²⁾	0.68 ± 0.01 ²⁾	1.53 ± 0.04 ²⁾
Pae	45	1.20 ± 0.02 ²⁾	0.78 ± 0.01 ²⁾	1.54 ± 0.03 ²⁾
配伍	50 + 45	0.89 ± 0.03 ^{2,3,5,6)}	0.54 ± 0.02 ^{2,3,5,6)}	1.64 ± 0.06 ^{2,3,5)}
	30 + 30	0.99 ± 0.02 ^{2,4,5)}	0.60 ± 0.01 ^{2,3,5)}	1.65 ± 0.04 ^{2,3,5)}

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.05$; 与 NRS 组比较³⁾ $P < 0.01$, ⁴⁾ $P < 0.05$; 与 Pae 组比较⁵⁾ $P < 0.01$; 与配伍低剂量组比较⁶⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

CFs 过度增殖导致心肌胶原异常沉积, 胶原合成增多, 空间结构排列紊乱, 而形成 MF^[8]。心肌梗死后心室重构的主要病理表现是心肌细胞的代偿性肥大和 MF^[9]。MF 与肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (RAS) 有着密切的关系, Ang II 在局部 RAS 系统中起着重要作用。有研究表明, Ang II 可参与诱导心脏成纤维细胞增殖, 且通过对 JAK2/STAT3 通路的激活来促进 Col-I 的沉积^[10]。而 Col-I 和 Col-III 的表达在 MF 中起着重要的作用, 在病理状态下, CFs 通过增殖、分泌细胞外基质蛋白等引起 Col-I 和 Col-III 沉积增加, Col-I/Col-III 比值的改变。Col-I 和 Col-III 是心脏间质的主要组成成分, 其中 Col-I 约占 80%, 胶原纤维粗大且较 Col-III 纤维伸展回弹力小。Col-III 纤维则呈细网状, 约占 11%。在修复纤维化阶段时, 由于 Col-I 增多, 使心肌僵硬程度增大而影响了心脏的顺应性, 导致心输出量下降, 而当 Col-I/Col-III 下降时, 则可改善心肌的僵硬程度, 因此原恒定的 Col-I/Col-III 对心脏正常构型和功能具有重要意义^[11]。

报道指出丹皮酚可抑制病理状态下成纤维细胞的增殖, 还可通过上调 Bcl-2 及下调 Bax, Caspase-3 的蛋白表达来减轻心肌组织的损伤, 促进心肌细胞功能的恢复^[12]。丹皮酚与丹参素配伍应用又可激活 Nrf2 信号通路进而抑制心肌细胞凋亡、增强心肌

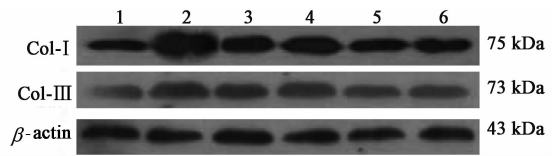


图 2 NRS 和 Pae 及其配伍方对 CFs 中 Col-I, Col-III 的蛋白表达水平的影响

Fig. 2 Effects of NRS, Pae and combinations of side on CFs of protein expression levels of Col-I and Col-III

抗氧化能力来保护心脏, 且二者存在显著的协同作用^[13-14]。三七总皂苷的主要活性成分为三七皂苷 R₁, 人参皂苷 Rg₁ 以及人参皂苷 Rb₁, 其中人参皂苷 Rg₁ 可降低细胞内 ROS, 抑制 Ca²⁺ 表达水平达到保护心肌的作用, 其次, NRS 还可上调 ACE2, 下调 TNF-α 的表达来逆转心室重构, 又可通过激活 P13K/Akt 信号通路来修复由于局部缺血所造成的心肌细胞的损伤, 还可经 ERK 信号通路抑制细胞增殖^[15]。大量研究表明 NRS 在改善心功能方面确有作用。

基于丹皮酚与三七总皂苷在保护心脏、抑制心脏成纤维细胞增殖作用上的相似性, 本研究采用 Ang II 诱导建立大鼠 CFs 增殖模型, 模拟临床心室重构的心肌纤维化, 通过检测两药配伍后对 Col-I 和 Col-III 的抑制程度, 以观察两药配伍后在抑制心肌纤维化所呈现的协同作用。研究结果显示经丹皮酚和三七总皂苷作用增殖的 CFs 后, Col-I, Col-III 的 mRNA 及蛋白的表达水平显著下降, Western blot 结果显示 Col-I 和 Col-III 蛋白表达也明显降低, 而以上结果中配伍组的抑制效果均比单独使用丹皮酚和三七总皂苷时的效果好, 差异具有显著性。由此可见, 两药在抑制 MF 时可发挥重要作用, 值得注意的是, 二者配伍使用后的抑制效果明显强于单味药物作用组, 体现了丹皮酚与三七总皂苷配伍应用后

所呈现的显著的协同效应,研究还发现配伍高剂量组增效作用较配伍低剂量组更为明显。这种配伍增效的作用可能与抑制 Col-I, Col-III 的 mRNA 及蛋白的表达有关。而丹皮酚与三七总皂苷配伍后所呈现的协同作用对指导临床用药及治疗心肌梗死后的心室重构可能具有重要意义。

[参考文献]

[1] Puntmann V O, Arroyo Ucar E, Hinojar Baydes R, et al. Aortic stiffness and interstitial myocardial fibrosis by native T1 are independently associated with left ventricular remodeling in patients with dilated cardiomyopathy [J]. Hypertension, 2014, 62(4): 762-768.

[2] Hu C P, Dandapat A, Sun L Q, et al. Regulation of TGFbeta1-mediated collagen formation by LOX-1: studies based on forced overexpression of TGFbeta1 in wild-type and lox-1 knock-out mouse cardiac fibroblasts [J]. J Biol Chem, 2008, 283(16): 10226-10231.

[3] 胡云飞, 徐国兵. 牡丹皮及其主要成分丹皮酚的药理作用研究进展[J]. 安徽医药, 2014, 18(4): 589-592.

[4] 杨琳, 林万程, 施家乐. 三七总皂苷药理作用的研究进展[J]. 安徽医药, 2014, 18(5): 963-964.

[5] 周晓慧, 赵静怡, 张树峰, 等. 丹皮酚通过抑制 NF- κ B 信号通路下调 MMP-9 的表达改善心梗后大鼠的心室重构[J]. 中成药, 2014, 36(12): 2599-2602.

[6] Zhang J S, He Q Y, Huang T, et al. Effects of *Panax notoginseng* saponins on homing of C-kit⁺ bone mesenchymal stem cells to the infarction heart in rats [J]. J Tradit Chin Med, 2011, 31(3): 203-208.

[7] 马文东, 张丽娟, 罗玲, 等. 抗纤维化短肽对血清诱导的心脏成纤维细胞增殖和胶原合成与 I、III 型胶原表达抑制作用的实验研究[J]. 华北煤炭医学院学

报, 2008, 10(3): 291-293.

[8] 李霞, 谭元生. 中医药防治心肌纤维化作用的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2014, 12(2): 229-231.

[9] Chaturvedi R R, Herron T, Simmons R, et al. Passive stiffness of myocardium from congenital heart disease and implications for diastole [J]. Circulation, 2010, 121(8): 979-988.

[10] Fiaschi T, Magherini F, Gamberi T, et al. Hyperglycemia and angiotensin II cooperate to enhance collagen I deposition by cardiac fibroblasts through a ROS-STAT3-dependent mechanism [J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1843(11): 2603-2610.

[11] de Souza R R. Aging of myocardial collagen [J]. Biogerontology, 2002, 3(6): 325-335.

[12] 张保刚, 王晓晔, 董亮, 等. 丹皮酚体外抑制 TGF- β 诱导的成纤维细胞增殖的研究[J]. 天津医药, 2008, 36(9): 704-705.

[13] Nizamutdinova I T, Jin Y C, Kim J S, et al. Paeonol and paeoniflorin, the main active principles of paeonia albiflora, protect the heart from myocardial ischemia/reperfusion injury in rats [J]. Planta Med, 2008, 74(1): 14-18.

[14] Li H, Xie Y H, Yang Q, et al. Cardioprotective effect of paeonol and danshensu combination on isoproterenol-induced myocardial injury in rats [J]. PLoS One, 2012, 7(11): 1-13.

[15] Yang X, Xiong X, Wang H, et al. Protective effects of *Panax notoginseng* saponins on cardiovascular diseases: a comprehensive overview of experimental studies [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2014, doi: 10.1155/2014/204840.

[责任编辑 周冰冰]