补阳还五汤含药血清抗同型半胱氨酸致内皮细胞损伤的作用

刘玉晖[1*],杨丹[1],游宇[2],彭杏[1],袁禄根[1]
(1. 江西中医学院,南昌 330004; 2. 南昌大学第一附属医院消化内科,南昌 330006)

［摘要］ **目的:**研究补阳还五汤含药血清对同型半胱氨酸(Hcy)致内皮细胞株(Eahy926)损伤的保护作用及其机制。**方法:**采用体外培养的内皮细胞株(Eahy926),测定不同的补阳还五汤含药血清对 Hcy 致内皮细胞活力的影响,检测细胞中超氧化物歧化酶(SOD)、乳酸脱氢酶(LDH)活力和丙二醛(MDA)含量;ELISA 法检测可溶性细胞间黏附分子(sICAM-1)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)的浓度;荧光显微镜检测核转录因子-κB(NF-κB)的激活及 Western blotting 法测 I-κBα 蛋白表达。**结果:**10%,20%的补阳还五汤含药血清均能明显提高 Hcy 损伤的内皮细胞的存活率、SOD[分别为(15.87±0.46),(16.31±0.96) U·mL^{-1}]活力,与损伤组(11.44±1.00) U·mL^{-1}相比,$P<0.01$;降低 LDH 的释放和 MDA[分别为(1.62±0.06),(1.47±0.18) nmol·L^{-1})的含量,与损伤组(1.89±0.25) nmol·L^{-1})相比,$P<0.05$;以及细胞培养液中 sICAM-1[分别为(0.93±0.11),(1.00±0.14)μg·L^{-1}]和 TNF-α[分别为(63.71±2.64),(66.22±4.43) ng·L^{-1}]浓度,与损伤组(2.32±0.23)μg·L^{-1},(125.67±2.69)ng·L^{-1})相比,$P<0.05$;同时抑制内皮细胞中 NF-κB 的激活,上调 I-κBα 蛋白表达量。**结论:**补阳还五汤含药血清对同型半胱氨酸致内皮细胞损伤具保护作用,其保护作用机制可能与抑制 NF-κB 的活化有关。

［关键词］ 补阳还五汤含药血清; 同型半胱氨酸; 内皮细胞; 核转录因子-κB
［中图分类号］ R285.5 ［文献标识码］ A ［文章编号］ 1005-9903(2012)22-0192-06
［网络出版地址］ http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120926.1527.002.html
［网络出版时间］ 2012-09-26 15:27

Effects and Mechanism of Serum Congtaining Buyang Huanwu Decoction on Endothelial Dysfunction by Homoeysetine

LIU Yu-hui[1*], *YANG Dan*[1], *YOU Yu*[2], *PENG Xing*[1], *YUAN Lu-gen*[1]
(1. *Department of Pharmacology*, *College of Pharmacy*, *Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine*, *Nanchang* 330004, *China*;
2. *The Digestive Department of First Affiliated Hospital of Nanchang University*, *Nanchang* 330006, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To observe the effects and mechanism of the serum containing Buyang Huanwu decoction on endothelial dysfunction induced by homoeysetine (Hcy) in human umbilical vein endothelial cell. **Method**: Human umbilical vein endothelial cells (Eahy926) were incubated with Hcy. Cell viability, the activity of superoxide dismutase (SOD), lactate dehydrogenase (LDH), and the content of malondialdehyde (MDA) in the medium were determined and the concentrations of sICAM-1 (by ELISA), TNF-α (by ELISA) in the conditioned medium. The activity of NF-κB was determined by fluorescence microscopy and the expression of I-κBα protein were measured via Western-blot. **Result**: Incubation of Eahy926 with different concentrations of the serumcontaining Buyang Huanwu decoction (5%, 10%, 20%) enhanced cell viability. Pretreatment with the serum containing Buyang Huanwu decoction 10%, 20% group improved activity of SOD [which was (15.87±0.46), (16.31±0.96) U·mL^{-1}] compared with the model group (11.44±1.00) U·mL^{-1}, $P<0.01$;

［收稿日期］ 20120222(013)
［基金项目］ 国家自然科学基金项目(30960505,81160526)
［通讯作者］ * 刘玉晖,博士,副教授,硕士研究生导师,从事中药药理研究,E-mail:liuyuhui77@126.com

decreased the levels of LDH, MDA (1.62 ±0.06), (1.47 ±0.18) nmol·L^{-1}, compared with the model group (1.89 ±0.25) nmol·L^{-1}, $P<0.01$; down-regulated the content of sICAM-1 (0.93 ±0.11), (1.00 ±0.14) μg·L^{-1} and TNF-α (63.71 ±2.64), (66.22 ±4.43) ng·L^{-1}, compared with the model group (2.32 ±0.23) μg·L^{-1}, (125.67 ±2.69) ng·L^{-1}, $P<0.05$; as well as markedly inhibited the increased activity of NF-κB. **Conclusion**: The serum containing Buyang Huanwu decoction could prevent endothelial dysfunction induced by Hcy and inhibition the activity of NF-κB may be its mechanism of preventing.

[**Key words**] the serum with Buyang Huanwu decoction; Hcy; endothelial cell; NF-κB

高同型半胱氨酸血症(hyperhomocysteinemia, Hhcy)已经成为心血管疾病的独立危险因素,国内外大量的研究证明,Hhcy 可能通过多种机制引起血管内皮细胞(vascular endothelial cell, EC)功能损伤,包括氧化应激,诱导细胞凋亡,影响脂质代谢,促进炎性介质释放等最终导致血管内皮功能的损伤[1]。补阳还五汤是治疗气虚血瘀证的代表方剂。临床表明,补阳还五汤具有补气、活血、通络、促进内皮细胞纤溶功能、减轻血管硬化钙化,改善心脑血管病变的血管损伤,有利于血管内皮细胞的修复,具有重要的血管内皮细胞保护作用[2]。本实验通过建立内皮细胞受 Hcy 损伤的模型,研究补阳还五汤含药血清对 Hcy 损伤内皮细胞的保护作用,并初步探索补阳还五汤含药血清对 Hcy 致内皮细胞的保护作用的机制。

1 材料

1.1 细胞株 人脐静脉内皮细胞株 Eahy926,购自中国科学院。

1.2 动物 健康 SD 大鼠 30 只,购自江西中医学院实验动物科技中心。雄性 SD 大鼠,体重 160 ~ 180 g,动物许可证号 SYXK(赣)2009-0001。

1.3 补阳还五汤水煎浓缩剂的制备 补阳还五汤按原方比例(黄芪 120 g,当归尾 6 g,赤芍 5 g,川芎 3 g,红花 3 g,桃仁 3 g,地龙 3 g)由江西中医学院附属医院提供,加入 10 倍量蒸馏水,浸泡 60 min,回流提取 60 min,倒出药液,残渣再加入 8 倍量的蒸馏水,回流提取 60 min,合并两次药液,用旋转蒸发仪浓缩,制成含生药 1 g·mL^{-1} 的药液冷却后放入 −20 ℃冰箱储存备用。

1.4 药品与试剂 DMEM 培养基(Gibco),胎牛血清(Gibco),同型半胱氨酸(Homocysteine, Sigma, 69453)、胰蛋白酶(1∶250)、噻唑蓝(MTT)、PD98059(ERK 抑制剂,Sigma,P215)、SB203580(p38 MAPK 抑制剂,Sigma,S 8309)、PDTC(NF-κB 阻断剂,Sigma,P8765)、*N*-乙酰半胱氨酸(Sigma,A7250),超氧化物岐化酶(SOD,A001-3)、乳酸脱氢酶(LDH, A020-2)、丙二醛(MDA,A003-4)测试试剂盒(南京建成生物研究所),sICAM-1 ELISA 试剂盒、TNF-α ELISA 试剂盒(上海西唐生物科技有限公司,F3522, F11630),NF-κB 激活-核转运检测试剂盒(碧云天生物技术研究所, SN368), I-κBα 一抗(Cell Signaling)。其余试剂均为国产分析纯。

1.5 仪器 Gel Doc 2000 分子成像仪(美国 BIO-RAD 公司),电泳电源(美国 BIO-RAD 公司)DNA 琼脂糖凝胶电泳仪(美国 Bio-Rad 公司),垂直电泳仪(美国 Bio-Rad 公司),转膜仪(美国 Bio-Rad 公司),DNA 分子成像系统(美国 Bio-Rad 公司),高速冷冻离心机(美国 Beckman 公司),台式离心机(德国 Eppendorf 公司),荧光显微镜(德国 Leica 公司)。

2 方法

2.1 补阳还五汤含药血清及含药血清培养液的制备 取 30 只大鼠,每天灌胃补阳还五汤 1 次,连续 1 周灌胃,最后一次灌药前禁食不禁水 12 h。末次灌药后 1 h 乙醚麻醉,腹主动脉取血,采用一次性非抗凝真空采血管收集全血,无菌操作。后 4 ℃静置 4h,3 000 r·min^{-1}离心 15 min,分离血清,经 56 ℃恒温灭活 30 min 处理后,0.22 μm 微孔滤膜除菌,−20 ℃保存备用。含药血清培养液的配置:将收集到的补阳还五汤含药血清,配制成含药血清分别为 5%,10%,20% 的培养液备用。

2.2 人脐静脉内皮细胞株(EAHY926)的培养[3] 将冻存的人脐静脉内皮细胞株(EAHY926)复苏后,用含 10% 灭活的胎牛血清、含 100 U·mL^{-1}青霉素、100 U·mL^{-1}链霉素的 DMEM 培养液,37 ℃ 5% CO_2 饱和湿度条件下传代培养。实验用细胞均处于对数生长期,将对数生长期细胞用 0.25% 胰蛋白酶消化,调细胞密度为 2×10^5/mL,取适量细胞悬液接种于培养板,分组实验。

2.3 补阳还五汤含药血清对 Hcy 损伤后内皮细胞相对活力的影响 取对数生长期细胞,瓶底细胞达 80% 融合时用 0.25% 胰蛋白酶消化制成单细胞悬液,调整密度为 2×10^5/mL,接种于 96 孔板中,每孔

100 μL,96 孔板周围一圈只加 PBS 不加细胞以防止边缘效应。37 ℃,5% CO_2 饱和湿度培养箱中静置培养,待细胞长至融合状态时,按照随机分组,吸干培养液,第 1 组作为空白对照组,吸干培养液后,加入 200 μL 含 20% 血清培养液中连续培养 24 h;第 2 组作为模型组,加入 8 mmol·L^{-1}Hcy 100 μL 作用 24 h(Hcy 浓度及作用时间均为预实验结果);第 2 组为阳性组:加入 5 mmol·L^{-1} NAC 100 μL 预处理细胞 1 h后,加入 8 mmol·L^{-1}的 Hcy 100 μL 作用24 h;第 4 ~6 组分别加入 5%,10%,20% 的补阳还五汤含药血清培养液 100 μL 预处理细胞 1 h 后加入 8 mmol·L^{-1}的 Hcy 100 μL 作用 24 h。将各组细胞放入 37 ℃,5% CO_2 饱和湿度培养箱中静置培养。结束培养后,弃去原有培养液,用 PBS 洗一次,各孔加入 50 μL MTT(5 g·L^{-1}),在培养箱中 37 ℃孵育 4 h。吸去上清,每孔加入 DMSO 150 μL。微孔振荡器上振荡 10 min,使结晶物充分溶解。酶标仪检测 490 nm 波长的吸光度(*A*)。每孔 *A* 减去空白孔 *A* 为测试孔 *A*。活细胞数与 *A* 成正比。每组设 3 个复孔。

2.4 细胞液中 SOD,LDH 活性及 MDA 含量测定 细胞传代培养后随机分为正常组、模型组及各浓度药物作用组, 给药剂量及方法同 **2.3**。实验结束时,收集细胞上清液,按试剂盒方法测定细胞培养液中 SOD,LDH 活性及 MDA 含量。各实验重复 3 次,每次 3 个复孔。

2.5 ELISA 法检测补阳还五汤含药血清对 Hcy 致内皮细胞培养液中 sICAM-1 和 TNF-α 的含量 取对数生长期细胞,接种于 96 孔板中,随机分组如下:第 1 组作为空白对照组,吸干培养液后,加入含 20% 血清培养液中连续培养 24 h;第 2 组作为模型组,加入 Hcy 作用 24 h;第 3 ~9 组:分别为 5%,10%,20% 含药血清组, 0.1 mmol·L^{-1}PDTC, 0.05 mmol·L^{-1} SB203580, 0.05 mmol·L^{-1} PD98059, 5 mmol·L^{-1}NAC组,将含药血清和各阻断剂预处理细胞 1 h 后加入 Hcy 作用 24 h。培养结束后,取上清作为待测样品。具体操作严格按试剂盒要求进行。

2.6 NF-κB 活性的检测 取处于对数生长期的细胞接种于 6 孔培养板中,适应性培养 12 h 后,分别加入低、中、高剂量中药血清,NAC,PDTC 预处理,1 h 后加入 Hcy,每孔终体积为 2 mL,置 37 ℃, 5% CO_2 培养箱培养 3 h,按照 NF-κB 激活-核转运检测试剂盒说明书要求操作后,荧光显微镜观察,NF-κB 的染色为红色荧光,细胞核的染色为蓝色荧光。

2.7 免疫印迹法检测 I-κB 表达 按照 **2.6** 的分组进行实验,收集结束培养的细胞,用温的 PBS 洗涤细胞 1 次,按照 WB 细胞裂解液说明书,裂解前将 PMSF 加入裂解液中,使其为 1%,置 4 ℃裂解 30 ~60 min,12 000 r·min^{-1}离心 15 min。取上清。按照上样量计算后,加入 5 × 上样缓冲液混匀,煮沸 5 min。将变性后的总蛋白经电泳、转膜后,用含 5% 脱脂奶粉的封闭液封闭 2 h,先后加入对应稀释倍数的一抗,摇床 4 ℃过夜,次日,用 TBST 清洗 3 遍,孵育相应稀释后的二抗,摇床 4 ℃ 4 h,TPST 清洗 3 遍,免疫印迹化学发光剂,于暗室中胶片曝光和显影。

2.8 统计学处理 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,总体比较采用 One-WayANOVA,组间比较采用 LSD,多重比较 *t* 检验分析,以 SPSS 17.0 软件分析。双侧 $P < 0.05$ 为有统计学显著意义。

3 结果

3.1 补阳还五汤含药血清对 Hcy 损伤内皮细胞活力,SOD,LDH 活性和 MDA 含量的影响 如表 1 所示,与空白对照组比较,Hcy 损伤组显著性的降低内皮细胞的活力以及 SOD 活性,提高细胞培养液中 LDH 水平以及 MDA 含量($P < 0.01$),与模型组相比,10%,20% 的补阳还五汤含药血清组能显著性提高内皮细胞的活力以及 SOD 活性,同时降低细胞培养液中 LDH 水平以及 MDA 含量($P < 0.05$),5% 含药血清组无此显著性差异。说明中、高浓度的补阳还五汤含药血清能够不同程度地拮抗 Hcy 诱导的内皮细胞活力和 SOD 活性的下降,降低 LDH 水平以及 MDA 含量,与抗氧化剂 NAC 组具有一致的作用(表 1)。

3.2 对 Hcy 损伤内皮细胞培养液中 sICAM-1 和 TNF-α 含量的影响 如表 2 所示,与空白对照组比较,Hcy 损伤模型组内皮细胞培养液中 sICAM-1 和 TNF-α 含量显著增高($P < 0.01$),不同浓度含药血清和阻断剂组 5% 含药血清组、10% 含药血清组、20% 含药血清组、p38MAPK 抑制剂 SB203580,NF-κB 抑制剂 PDTC,MEK 抑制剂 PD98059 和 NAC 组可明显降低内皮细胞培养液中 sICAM-1 和 TNF-α 含量($P < 0.05$)。

3.3 对内皮细胞中 NF-κB 活性的影响 Hcy (8 mmol·L^{-1})作用 3,6,12 h 后均能增加内皮细胞中 NF-κB 的激活,其中以 3 h 最明显,因此用 Hcy (8 mmol·L^{-1})作用 3 h 作为实验浓度与时间。如图

表 1　各处理因素下补阳还五汤含药血清对 Hcy 损伤内皮细胞活力、SOD、LDH 活性和 MDA 含量的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

分组	剂量	内皮细胞活力 A_{490}	SOD 活性/U·mL^{-1}	LDH 活性/U·L^{-1}	MDA 含量/nmol·L^{-1}
空白对照	-	0.43 ± 0.04	20.21 ± 0.76	72.75 ± 3.97	1.10 ± 0.00
模型组(Hcy)	8 mmol·L^{-1}	0.01 ± 0.01[1)]	11.44 ± 1.00[1)]	111.59 ± 4.74[1)]	1.89 ± 0.25[1)]
含药血清	5%	0.13 ± 0.01	12.21 ± 0.62	103.55 ± 4.40	1.77 ± 0.10
	10%	0.18 ± 0.02[2)]	15.87 ± 0.46[2)]	96.12 ± 7.53[2)]	1.62 ± 0.06[2)]
	20%	0.24 ± 0.04[2)]	16.31 ± 0.96[2)]	93.03 ± 8.34[2)]	1.47 ± 0.18[2)]
NAC	5 mmol· L^{-1}	0.32 ± 0.03[2)]	17.29 ± 0.47[2)]	87.19 ± 4.80[2)]	1.54 ± 0.07[2)]

注:与正常组比较[1)] $P<0.01$;与模型组比较[2)] $P<0.01$。

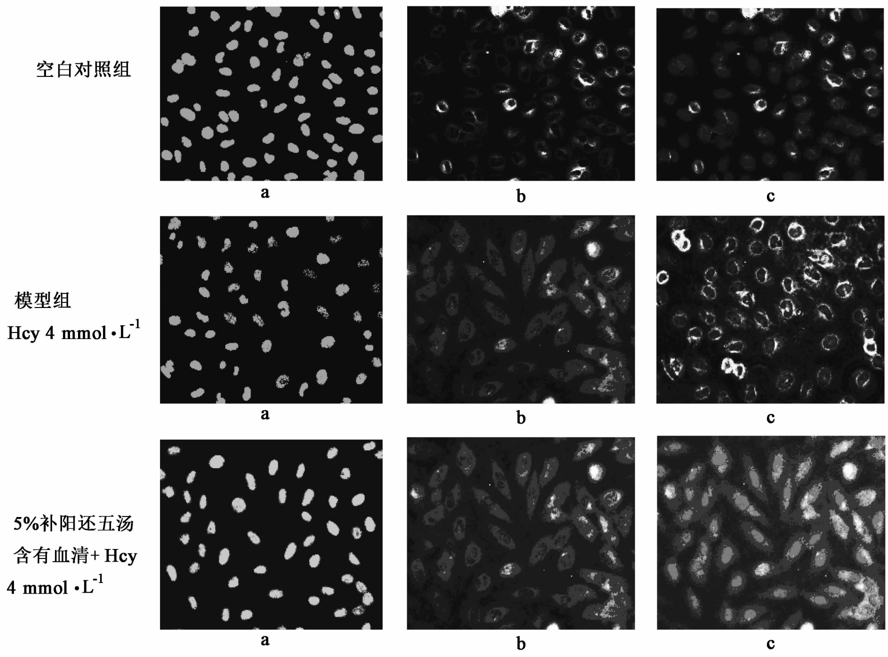
表 2　补阳还五汤含药血清对 Hcy 损伤内皮细胞培养液中 sICAM-1 和 TNF-α 含量($\bar{x} \pm s, n=3$)

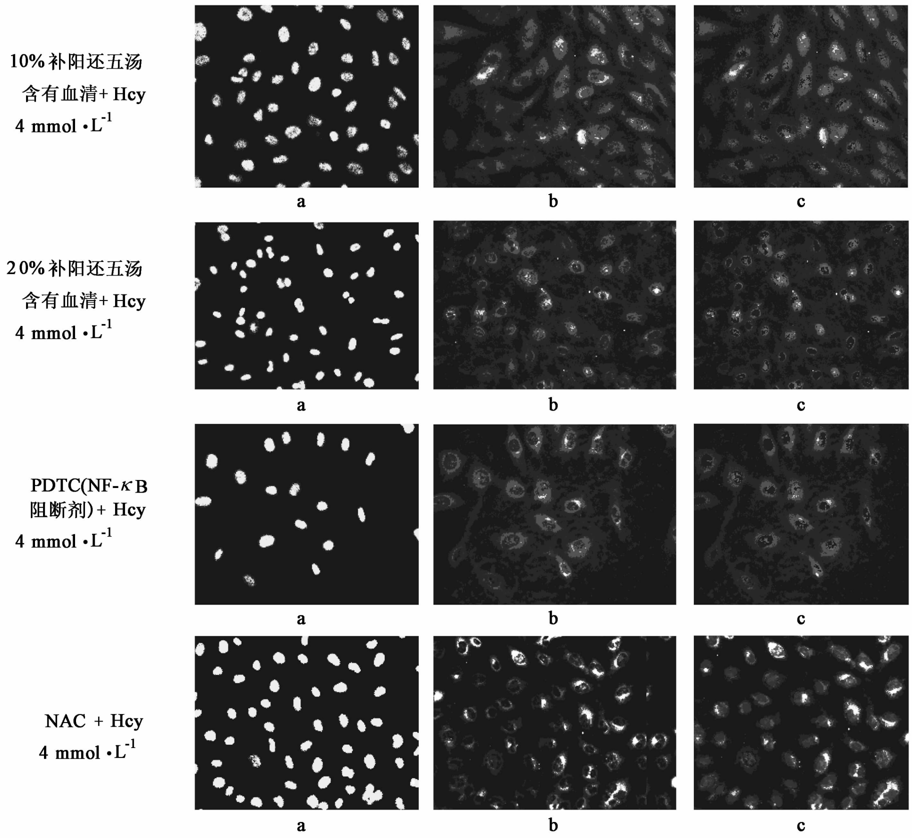
组别	剂量	sICAM-1 含量/μg·mL^{-1}	TNF-α 含量/ng·L^{-1}
空白对照	-	0.80 ± 0.03	55.98 ± 1.02
模型组	8 mmol·L^{-1}	2.32 ± 0.23[1)]	125.67 ± 2.69[1)]
含药血清	5%	1.20 ± 0.08[2)]	115.74 ± 1.11[2)]
	10%	0.93 ± 0.11[2)]	63.71 ± 2.64[2)]
	20%	1.00 ± 0.14[2)]	66.22 ± 4.43[2)]
PDTC	0.1 mmol·L^{-1}	1.24 ± 0.14[2)]	79.51 ± 0.67[2)]
SB203580	0.05 mmol·L^{-1}	1.29 ± 0.23[2)]	102.57 ± 1.30[2)]
PD98059	0.05 mmol·L^{-1}	1.49 ± 0.05[2)]	96.45 ± 2.03[2)]
NAC	5 mmol·L^{-1}	0.91 ± 0.03[2)]	66.62 ± 9.11[2)]

注:与正常组比较[1)] $P<0.01$,与模型组比较[2)] $P<0.01$。

1 所示,与对照组相比,Hcy 损伤组细胞中 NF-κB 明显被激活,与 Hcy 损伤组相比,10%,20% 的补阳还五汤含药血清组、NF-κB 阻断剂组以及 NAC 组均能显著抑制内皮细胞中 NF-κB 的激活。

3.4　补阳还五汤含药血清对内皮细胞中 I-κBα 表达的影响　与对照组相比,Hcy 损伤组细胞中 I-κBα 蛋白表达量显著降低,与 Hcy 损伤组相比,10%,20% 的补阳还五汤含药血清组、NF-κB 阻断剂组以

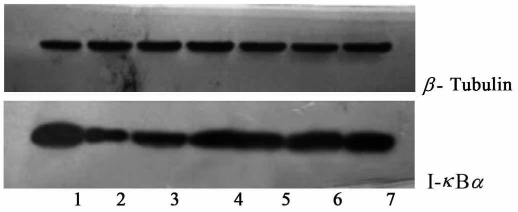




a 图为 b 和 c 的合成图片，c 图代表活化的 NF-κB，蓝色荧光表示细胞核，红色荧光表示 NF-κB

图 1　各处理因素对 Hcy 致内皮细胞中 NF-κB 活性的影响(3 h，×400)

及 NF-κB 阻断剂 + 20% 补阳还五汤组均能上调 I-κBα蛋白表达量，且 NF-κB 阻断剂 + 20% 补阳还五汤组更为明显。见图 2。



1. 正常对照组；2. Hcy 处理组 8 $mmol \cdot L^{-1}$的 Hcy1 h；
3. 5% 补阳还五汤含药血清 + Hcy；
4. 10% 补阳还五汤含药血清 + Hcy；
5. 20% 补阳还五汤含药血清 + Hcy；
6. PDTC(0.1 $mmol \cdot L^{-1}$) + Hcy；
7. PDTC(0.1 $mmol \cdot L^{-1}$) + 20% 补阳还五汤含药血清 + Hcy

图 2　各处理因素对 Hcy 致内皮细胞中 I-κBα 蛋白表达的影响

4　讨论

内皮功能受损时，内皮细胞的活性下降。SOD 是一种自由基清除酶，其活性可以反映机体的抗氧化功能[4]。氧自由基增多，LDH 增多。MDA 是脂质过氧化的主要终产物，其高低间接反映了机体细胞受自由基攻击的严重程度，从而间接反映细胞的损伤程度。研究表明，Hcy 即可明显的促进氧化损伤，促使细胞内 MDA 含量增加和细胞内活性氧(ROS)的产生，并显著降低细胞内除过氧化氢酶以外的其他抗氧化酶(超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶)的活性[5]。补阳还五汤由黄芪、当归、赤芍、地龙、川芎、红花、桃仁等 7 味中药组成，是益气活血化瘀的经典复方。近来研究证明，补阳还五汤具有扩张血管、改善微循环、降低血小板聚集率、抗炎、抗氧化和保护血管内皮细胞之功能。研究证实，补阳还五汤通过提高 NO 的合成，发挥抗缺血性脑损伤的作用，该方可显著抑制再灌注后脑组织丙二醛含量的升高，提高谷胱甘肽过氧化物酶的活性，抑制自由基的脂质过氧化损伤反应[6]，补阳还五汤能够减少炎症因子的含量从而达到防治脑缺血损伤的作用[7]。前期实验证实，补阳还五汤能够明显抑制 Hcy 引起的 $ApoE^{-/-}$动脉粥样硬化病变与抑制氧化应激有关[8]。本实验运用血清药理学的方法，采用不同浓度的补阳还五汤含药血清与 Hcy 损伤的

Eahy926 内皮细胞共培养,发现补阳还五汤含药血清具有显著性提高内皮细胞活力和 SOD 活性,降低 LDH 水平和 MDA 的含量的作用,对内皮细胞有保护作用。

动脉粥样硬化斑块的主要组成细胞为单核细胞、血管内皮细胞及血管平滑肌细胞,甚至动脉粥样硬化斑块中存在核因子-κB 的激活。静息细胞中 NF-κB 的 p65 亚基与 IκB 蛋白结合,覆盖 p50 蛋白的核定位信号,使 NF-κB 与 IκB 形成三聚体以非活性形式存在于细胞浆。许多免疫刺激因子如细胞因子、生长因子、丝裂源激活酶系(p38MAPK,ERK 等)和脂多糖等作用于细胞后,通过一个或多个信号转导途径激活蛋白激酶,致胞浆 NF-κB 三聚体复合物中的 IκB 磷酸化而解离, p50 亚单位上的核定位信号得以暴露,NF-κB 活化,迅速发生核易位,与特异性 κB 序列结合而启动靶基因 TNF-α, ICAM-1, VCAM-1 等转录[9-11]。前期实验结果提示,补阳还五汤能够明显抑制 Hcy 引起的 $ApoE^{-/-}$ 动脉粥样硬化病变与抑制 NF-κB 的活化有关[12]。本实验发现 10%,20% 的补阳还五汤含药血清组、NAC 和 NF-κB 抑制剂(PDTC)、ERK 抑制剂(PD98059)、p38 MAPK 抑制剂(SB203580)组均能显著抑制内皮细胞中 NF-κB 的激活同时提高 I-κBα 蛋白表达水平,明显降低内皮细胞培养液中 sICAM-1 和 TNF-α 含量。

综上所述,本研究证实不同浓度尤其中,高浓度的含药血清对 Hcy 所致内皮细胞损伤具有保护作用,其机制与抑制 NF-κB 进入细胞核内造成炎症因子 sICAM-1 和 TNF-α 的增多有关。

[参考文献]

[1] Liao D, Tan H, Hui R, et al. Hyperhomocysteinemia decreases circulating high-density lipoprotein by inhibiting apolipoprotein A-I Protein synthesis and enhancing HDL cholesterol clearance[J]. Circ Res, 2006, 99:598.

[2] 张淑萍, 梁燕, 邓常青. 补阳还五汤及其有效部位对大鼠脑缺血再灌注后 caspase 表达的影响[J]. 中草药,2006,37(7):1041.

[3] 薛庆善. 体外培养的原理与技术[M]. 北京: 科学出版社,2001:18.

[4] Kin H, Zatta A J, Lofye M T, et al. Pos tconditioning reduces infarct size via adenosine receptor activation by endogenous adenosine[J]. Cardiovasc Res, 2005, 67(1):124.

[5] Jiang Y, Jiang J, Xiong J, et al. Homocysteine-induced extracellular superoxide dismutase and its epigenetic mechanisms in monocytes[J]. J Exp Biol, 2008, 211:911.

[6] 刘志龙,宋含平,邓常青,等. 补阳还五汤对沙土鼠脑缺血损伤能量代谢的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志,2001,8(1):36.

[7] 张林, 孙宏伟, 马贤德,等. 不同黄芪剂量的补阳还五汤对局灶性脑缺血大鼠血清 IL-1, IL-6, IL-10 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(10):62.

[8] 邱顺辉,章常华,高书亮,等. 补阳还五汤抗动脉粥样硬化与间隙连接蛋白关系的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(18):161.

[9] 廖新学,孙胜楠,郭瑞鲜,等. JAK-STAT 通路调制 NF-κB 介导 H2O2 预处理的细胞保护作用[J]. 中国病理生理杂志,2008,24(7):142.

[10] Ahn K S, Sethi G, Aggarwal B B. Simvastatin potentiates TNF-αlpha-induced apoptosis through the down-regulation of NF-kappa B-dependent antiapoptotic gene products: role of Ikappa B alpha kinase and TGF-beta-activated kinase-1[J]. J Immunol, 2007, 178(4):2507.

[11] Monaco C, Andreakos E, Kiriakidis S, et al. Canonical pathway of nuelear factor kappa B activation selectively regulates proinflammatory and prothrombotic responses in human atheroselerosis[J]. Proc Natl Acad Sci U5A, 2004,13:101(15):5634.

[12] 刘玉晖,邱顺辉,游宇,等. 补阳还五汤抗 Hcy 致动脉粥样硬化作用于调控核因子-κB 活性相关性研究[J]. 中国药学杂志,2012,47(2):104.

[责任编辑 聂淑琴]