

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.33.001

文章编号: 1005-8982 (2018) 33-0001-06

基础研究 · 论著

## 五味子酚对心肌成纤维细胞增殖和转化生长因子 $\beta_1$ 及 I、III 型胶原蛋白表达的影响\*

刘畅<sup>1</sup>, 洪兰<sup>2</sup>, 金红花<sup>3</sup>

(1. 延边大学药学院 药剂学教研室, 吉林 延吉 133002; 2. 延边大学医学院 生理学教研室, 吉林 延吉 133002; 3. 延边大学附属医院 药学部, 吉林 延吉 133000)

**摘要: 目的** 研究五味子酚 (Sal) 对血管紧张素 II (Ang II) 诱导的心肌成纤维细胞 (CFb) 增殖及转化生长因子  $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) 和 I、III 型胶原蛋白表达的影响, 探讨 Sal 抗心肌纤维化的可能机制。**方法** 采用酶消化法结合差速贴壁法获得纯化的 CFb; 利用免疫荧光法鉴定 CFb; 采用 MTT 法检测 Sal 对 CFb 增殖的影响; 采用 Western blot 检测 CFb 的 TGF- $\beta_1$  及 I、III 型胶原蛋白表达水平。**结果** 在一定浓度范围内, Sal 能抑制 Ang II 诱导的 CFb 增殖且具有剂量依赖性 ( $P < 0.05$ ); Sal 能抑制 TGF- $\beta_1$  及 I、III 型胶原蛋白表达, 与 Ang II 组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 且具有剂量依赖性。**结论** Sal 能抑制 CFb 增殖及降低 I、III 型胶原蛋白表达, 其机制可能与下调 TGF- $\beta_1$  蛋白表达有关。

**关键词:** 心肌纤维化 / 心肌疾病; 五味子酚; 血管紧张素 II; 转化生长因子  $\beta_1$

**中图分类号:** R34

**文献标识码:** A

## Effect of Schisanhenol on proliferation of cardiac fibroblasts and potential mechanisms\*

Chang Liu<sup>1</sup>, Lan Hong<sup>2</sup>, Hong-hua Jin<sup>3</sup>

(1. Department of Pharmacy, Yanbian University, Yanji, Jilin 133002, China; 2. Department of Physiology, Yanbian University School of Medicine, Yanji, Jilin 133002, China; 3. Department of Pharmacy, Yanbian University Affiliated Hospital, Yanji, Jilin 133000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of Schisanhenol (Sal) on proliferation of cardiac fibroblasts (CFb) and potential mechanisms. **Methods** Purified CFb were obtained by standard methods (digestive enzyme and differential adhesion). CFb were induced by angiotensin II (Ang II) and identified by immunofluorescence. Cellular proliferation of CFb was measured by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay. Levels of TGF- $\beta_1$ , collagen I and collagen III proteins were examined by Western blotting. **Results** Sal inhibited proliferation of CFb in a dose-dependent manner ( $P < 0.05$ ). Expression of collagen I, collagen III, and TGF- $\beta_1$  induced by Ang II was downregulated by treatment of Sal in a dose-dependent manner ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Sal inhibits cellular proliferation and expression of collagen through inhibition of the TGF- $\beta_1$ .

**Keywords:** Schisanhenol; angiotensin II; myocardial fibrosis; transforming growth factor- $\beta_1$

收稿日期: 2018-05-12

\* 基金项目: 国家自然科学基金 (No: 81260035); 吉林省教育厅项目 (No: 612016039)

[通信作者] 金红花, E-mail: kimflower1988@163.com; Tel: 04332660788

心肌纤维化是多种心脏相关类疾病病情不断发展所表现的具有共同特性的病理特征,是引起心室重塑的关键因素,其主要病理表现有心肌僵硬增加、心肌收缩力下降、冠状动脉血流储备降低,甚至引起恶性心律失常和猝死<sup>[1]</sup>。近年来,针对心肌纤维化的治疗主要以西药为主,不仅会出现许多不良反应,治疗效果还不理想。对心肌纤维化的治疗,中国传统中药可以通过多种途径抑制心肌成纤维细胞(cardiac-fibroblasts, CFb)增殖及胶原蛋白合成,并且取得了不错的效果,因此中药治疗心肌纤维化已成为国内外研究热点之一。

CFb是心脏非心肌细胞的主要组成,具有保护和支撑心脏主体结构,协调心肌的舒缩功能,传达心肌细胞内信息等许多重要作用;CFb同时也是心肌纤维化过程中主要的效应细胞,它不仅自身具有较强的增殖分裂的能力,而且还可以合成分泌基质蛋白,因此在心脏发生心肌纤维化的过程中具有重要作用<sup>[2]</sup>。当心脏发生病理性病变时,CFb在多种因素的作用下发生增殖,同时还会分泌细胞外基质蛋白从而引起心脏间质纤维胶原大量合成积聚、胶原组成成分与比例发生改变、空间结构排列顺序发生紊乱,最终导致心肌纤维化。心肌纤维化的主要表现为细胞外基质发生严重失衡,心肌组织结构中胶原纤维大量沉积、胶原蛋白浓度明显升高,其中主要是I、III型胶原蛋白显著增多,因此胶原蛋白过量沉积也是导致心肌纤维化的重要因素之一<sup>[3-5]</sup>。

血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)是一种很强生物活性物质,是已知的最强缩血管的活性物质之一,其可通过中枢和外周机制,促进全身血管收缩、使血压升高,还可刺激肾上腺皮质球状带合成和分泌醛固酮,醛固酮也是肾素-血管紧张素-醛固酮系统中另一重要生物活性物质,主要功能是调节钠水重吸收和钾的排泄。Ang II也是目前较公认的促心肌纤维化重要因素,可以引起CFb的增殖及胶原蛋白合成明显增加导致心肌纤维化。转化生长因子 $\beta_1$ (transforming growth factor- $\beta_1$ , TGF- $\beta_1$ )是人体中重要的致纤维化细胞因子,参与调节成纤维细胞的增殖、分化、迁移和细胞外基质的生成<sup>[6-7]</sup>。

五味子酚(schisanhenol, Sal)是从中药五味子中提取的一类木脂素,是其主要的活性成分之一。具有降血压、抗氧化、保肝护肝和免疫调节的作用<sup>[8-10]</sup>。目前尚未报道sal对AngII诱导的CFb增殖的影响及抗心肌纤维化的研究。因此本实验研究Sal对Ang II

诱导的CFb增殖及TGF- $\beta_1$ 和I、III型胶原蛋白表达的影响,来探讨Sal抗心肌纤维化的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物 出生1~3d的SD乳鼠,雌雄不限,延边大学实验动物中心提供。

1.1.2 主要试剂 Sal(购自上海原叶生物科技有限公司,批号为PJ0607SA13), Ang II(购自浙江嘉兴市雅玛试剂有限公司,批号为MAYA-CR-5721),胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自美国Hyclone公司, Pen-Strep、DMEM培养基、II型胶原酶均购自美国Gibco公司, DAPI、BSA、BCA蛋白浓度测定试剂盒购自美国Sigma公司, Vimentin抗体、TGF- $\beta_1$ 抗体及Collagen I、Collagen III抗体购自英国Abcam公司, FITC的羊抗小鼠IgG抗体、HRP羊抗兔IgG抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司, ECL显色液购自北京康为世纪生物技术有限公司,其他化学试剂为国产分析纯。

1.1.3 主要仪器 全波长酶标仪(美国Biotek公司), 371型二氧化碳CO<sub>2</sub>培养箱(美国Thermo公司), Alpha化学发光凝胶分析成像系统(美国Protein Simple公司), U-RFL-T荧光显微镜和IX50倒置显微镜(日本Olympus公司), X-15离心机(美国Beckman Coulter公司), FD6型生物安全柜(意大利Bioair公司),电泳仪(美国Bio-rad公司),转膜仪(上海天能科技有限公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 CFb的分离与培养 取1~3d新生SD乳鼠10只,用75%酒精消毒,在无菌条件下开胸取出心脏,置入磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered solution, PBS)中,将心脏剪成1mm×1mm×1mm大小的组织碎块,用0.25%胶原蛋白酶在37℃水浴下不断进行消化,每10min收集1次消化悬液,共5次。弃第1次的消化悬液,其余每次收集的消化悬液加入等量的含有20%胎牛血清的培养液终止其消化,离心(1200 r/min, 5 min),弃上清液,收集沉淀。再加入含有20%胎牛血清的培养液制备成细胞悬液,接种培养皿中,差速贴壁60min,去除其他细胞,待细胞成长接近95%时,按1:3传代培养,实验采用2~5代细胞。

1.2.2 CFb的鉴定 将CFb放置在倒置显微镜下观察其生长状态。取 $1 \times 10^5$ 个2代CFb接种于放有无

菌盖玻片的 6 孔板中, 2 ~ 3 d 后取出, 用 PBS 洗 3 次, 4% 多聚甲醛固定细胞 20 min, 用 PBS 洗 3 次, 0.5% 聚乙二醇辛基苯基醚破膜 20 min, 用 PBS 洗 3 次, 10% BSA 封闭 2 h, 加入 Vimentin 抗体, 4℃ 过夜。再用 PBS 洗 3 次, 避光条件下加入标记 FITC 的山羊抗鼠 IgG 抗体, 室温放置 1 h, 最后加入 DAPI 染细胞核, 20 min 后置于荧光显微镜下、观察。

**1.2.3 MTT 法测定 CFb 的增殖情况** 将处在对数生长期的 CFb 以每孔  $0.5 \times 10^4$  个接种在 96 孔板中, 培养 24 h 后换无血清培养基, 继续培养 24 h 后使细胞进入生长静止期, 之后给予相应药物继续培养 24 h。实验分组如下: ①对照组, 无血清的 DMEM 培养基; ②模型组, 含 Ang II 100 nmol/L; ③ Sal 组, 含 Ang II 100 nmol/L 的 Sal 3 个剂量组 (100、200 及 400  $\mu\text{mol/L}$ )。之后每孔加 MTT 20  $\mu\text{l}$  (5 mg/ml), 培养 4 h, 弃上清液, 每孔加 150  $\mu\text{l}$  的 DMSO, 用酶联免疫仪在 490 nm 波长处检测光密度值 (OD 值)。细胞抑制率 = (模型组 OD 值 - Sal 组 OD 值) / (模型组 OD 值 - 对照组 OD 值)  $\times$  100%。

**1.2.4 Western blot 检测目的蛋白** 将 CFb 接种于 6 孔板上, 培养 24 h 后按实验要求加入处理因素, Sal 组中 Sal 浓度分别为 200、600 及 1 000  $\mu\text{mol/L}$ , 其他条件不变, 处理时间为 24 h。收集处理后的 CFb, 弃培养液, 用少量 PBS 洗 1 次, 每孔 100  $\mu\text{l}$  加入 RIPA 蛋白裂解液, 冰上裂解, 于 4℃、13 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 目标蛋白按 BCA 蛋白试剂盒的说明书操作进行蛋白定量, 加入 4 $\times$  上样缓冲液, 100℃ 加热 3 min 使蛋白变性。目标蛋白用 10% 十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后转移到 PVDF 膜上, 选取目标条带, 用 5% 脱脂奶粉封闭液进行室温封闭 1 h, 用 PBST 洗膜 3 次, 每次 10 min, 然后分别加入 Collagen I 抗体、Collagen III 抗体、TGF- $\beta_1$  抗体, 4℃ 过夜, 用 PBST 洗涤后加入羊抗兔 IgG 酶标抗体, 室温孵育 2 h。分别进行 Western blot 分析, 用 ECL 化学发光试剂盒显影, Alpha 化学发光凝胶图像系统分析各蛋白条带灰度值, 并以  $\beta$ -actin 为内参标化各样品蛋白电泳条带的灰度值。

### 1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件, 计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组比较采用单因素方差分析, 方差分析中的两两比较采用 LSD- $t$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 CFb 形态学观察

倒置显微镜下观察, CFb 的形态独特, 呈长梭形或不规则三角形, 细胞的中央有卵圆核, 细胞胞质向外伸出突起, 有的细胞呈交叉重叠生长, 无自发性搏动。见图 1A、B。

### 2.2 CFb 免疫荧光鉴定情况

在荧光显微镜下观察, 视野中的细胞绿色部分为 Vimentin 抗体的显色, 蓝色部分为 DAPI 染色的非特异细胞核分布情况。Vimentin 抗体表达阳性的细胞数占总细胞数目的 95% 以上。见图 2。

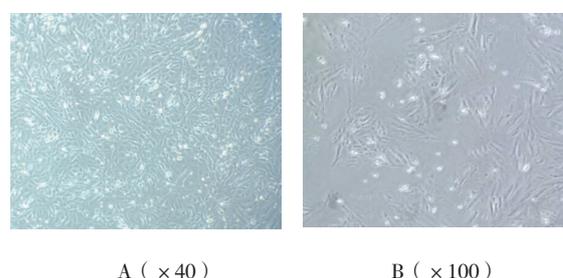


图 1 CFb 的形态观察

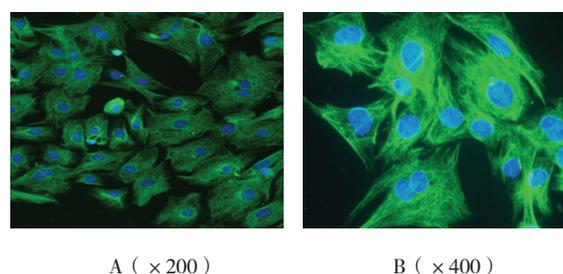


图 2 CFb 免疫荧光鉴定

### 2.3 Sal 对 Ang II 诱导的 CFb 增殖的影响

MTT 法检测 Sal 对 Ang II 诱导 CFb 增殖的影响, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 模型组 OD 值与对照组比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 3 个不同剂量 Sal 组的 OD 值与模型组比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见附表。

### 2.4 Sal 对 Ang II 诱导的 CFb I、III 型胶原蛋白表达的影响

各组的 Collagen I 表达水平, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ( $F = 163.962, P = 0.000$ ), 各组的 Collagen I 表达水平有差异。对照组 Collagen I 条带较细, 与对照组比较, 模型组、Ang II +200  $\mu\text{mol/L}$  Sal 组、Ang II +600  $\mu\text{mol/L}$  Sal 组的 Collagen I 灰度值增加, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); Ang II +1 000  $\mu\text{mol/L}$  Sal

附表 Sal 对 Ang II 诱导的 CFb 增殖的影响 (n=6,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	OD 值	抑制率 /%
对照组	0.225 ± 0.024	-
模型组	0.546 ± 0.029 <sup>1)</sup>	-
Sal 组 100 μmol/L	0.491 ± 0.048 <sup>2)</sup>	17.134
Sal 组 200 μmol/L	0.438 ± 0.029 <sup>2)</sup>	33.644
Sal 组 400 μmol/L	0.345 ± 0.022 <sup>2)</sup>	62.617
F 值	131.365	
P 值	0.000	

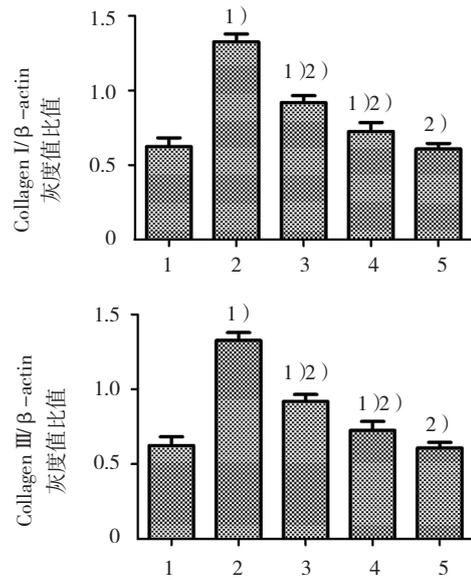
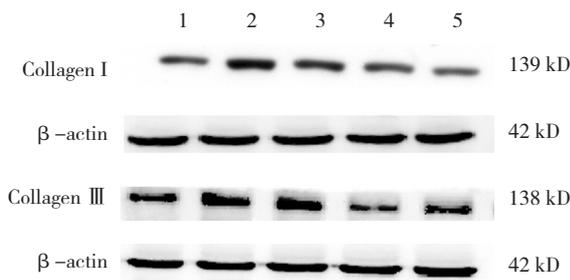
注: 1) 与对照组比较, P < 0.05; 2) 与模型组比较, P < 0.05

组的 Collagen I 蛋白表达无变化, 差异无统计学意义 (P > 0.05); 与模型组比较, Ang II +200 μmol/L Sal 组、Ang II +600 μmol/L Sal 组、Ang II +1 000 μmol/L Sal 组 Collagen I 灰度均降低, 差异有统计学意义 (P < 0.05)。见图 3。

各组的 Collagen III 表达水平, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 (F = 159.517, P = 0.000), 各组的 Collagen III 表达水平有差异。对照组 Collagen III 条带较细, 与对照组比较, 模型组、Ang II +200 μmol/L Sal 组、Ang II +600 μmol/L Sal 组的 Collagen III 灰度值增加, 差异有统计学意义 (P < 0.05); Ang II +1 000 μmol/L Sal 组的 Collagen III 蛋白表达无变化, 差异无统计学意义 (P > 0.05); 与模型组比较, Ang II +200 μmol/L Sal 组、Ang II +600 μmol/L Sal 组、Ang II +1 000 μmol/L Sal 组的 Collagen III 灰度均降低, 差异有统计学意义 (P < 0.05)。见图 3。

### 2.5 Sal 对 Ang II 诱导的 CFb TGF-β<sub>1</sub> 蛋白表达的影响

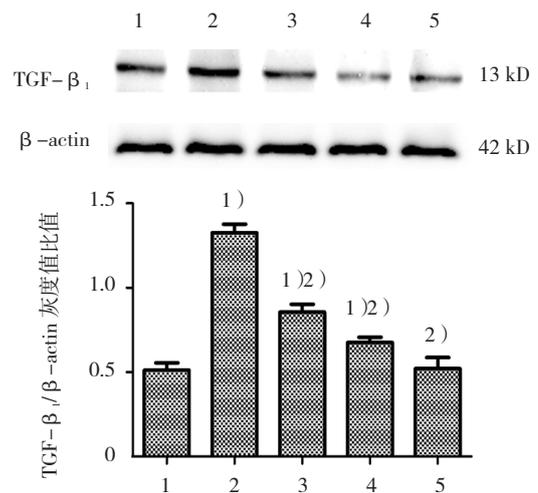
各组的 TGF-β<sub>1</sub> 表达水平, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 (F = 241.489, P = 0.000), 各组的 TGF-β<sub>1</sub> 表达水平有差异。对照组 TGF-β<sub>1</sub> 条带较细, 与对照组比较, Ang II +200 μmol/L Sal 组、Ang II +600 μmol/L Sal 组、Ang II +1 000 μmol/L Sal



1: 对照组; 2: 模型组; 3: Ang II +200 μmol/L Sal 组; 4: Ang II +600 μmol/L Sal 组; 5: Ang II +1 000 μmol/L Sal 组。1) 与对照组比较, P < 0.05; 2) 与模型组比较, P < 0.05

图 3 Sal 对 Ang II 诱导的 Collagen I、Collagen III 蛋白表达的影响 (n=6,  $\bar{x} \pm s$ )

组的 TGF-β<sub>1</sub> 灰度值增加, 差异有统计学意义 (P < 0.05); Ang II +1 000 μmol/L Sal 组中 TGF-β<sub>1</sub> 蛋白表达无变化, 差异无统计学意义 (P > 0.05); 与模型组比较, Ang II +200 μmol/L Sal 组、Ang II +600 μmol/L Sal 组、Ang II +1 000 μmol/L Sal 组 TGF-β<sub>1</sub> 灰度均降低, 差异有统计学意义 (P < 0.05)。见图 4。



1: 对照组; 2: 模型组; 3: Ang II +200 μmol/L Sal 组; 4: Ang II +600 μmol/L Sal 组; 5: Ang II +1 000 μmol/L Sal 组。1) 与对照组比较, P < 0.05; 2) 与模型组比较, P < 0.05

图 4 Sal 对 Ang II 诱导的 TGF-β<sub>1</sub> 蛋白表达的影响 (n=6,  $\bar{x} \pm s$ )

### 3 讨论

心肌纤维化是心脏发生病理性病变时, 心脏间质中的 CFb 过度增殖分化, 细胞外基质胶原过度聚积及胶原蛋白比例失衡为特征的心脏间质重构。其中 CFb 对心肌纤维化有重要作用, 主要通过其增殖分化成为肌成纤维细胞、分泌多种生物活性因子及细胞外基质而引起心肌纤维化。在此过程中, 多种因素参与了 CFb 功能的调节。

在倒置显微镜下笔者发现, 细胞呈长梭形或不规则三角形, 中央有卵圆核, 此形态为 CFb 特有形态。Vimentin 是鉴定成纤维细胞的主要生物标志物; Vimentin 抗体的阳性表达在图中显色成绿色, 非特异性细胞核染色为蓝色, 经观察 CFb 细胞数占总细胞数的 95% 以上, 证实本实验分离的细胞为纯化的 CFb。

本 MMT 实验结果显示, 与对照组比较, 模型组平均 OD 值增加, 差异有统计学意义。说明 Ang II 作为公认的促心肌纤维化生物因子, 浓度为 100 nmol/L 时可以促进 CFb 增殖。Sal 各剂量组对 Ang II 所致的 CFb 增殖均有一定的抑制作用, 且呈剂量依赖性。

CFb 分泌的细胞外基质主要由胶原、糖蛋白、蛋白酶、细胞因子及生长因子等构成。其中的胶原主要是 I 型和 III 型, 分别约占 80% 和 10%, 主要功能是支撑心脏整体骨架、传递信号到心肌细胞、调节心脏有规律收缩<sup>[1]</sup>。本结果显示, 与对照组比较, 药物处理 24 h 后, 模型组的 Collagen I、Collagen III 蛋白表达量增加。说明 100 nmol/L 的 Ang II 不仅可以促进 CFb 的增殖, 还可以促进由 CFb 分泌的细胞外基质中的 I、III 型胶原蛋白合成。在 Sal 组中, 不同浓度的 Sal 能抑制 Ang II 诱导后的 CFb 中 Collagen I、Collagen III 蛋白的表达; 此外还发现, Collagen I、Collagen III 蛋白表达的变化趋势与其有一定的相关性。说明 Sal 可以抑制 Ang II 诱导后 CFb 分泌的细胞外基质中的胶原蛋白合成。

TGF- $\beta_1$  是一组调节细胞生长和分化的细胞因子, 它不仅参与正常机体组织代谢和功能维持, 还在多种疾病病理生理过程中发挥重要作用。同时 TGF- $\beta_1$  又是一类多效应的细胞因子, 可以促进心脏成纤维细胞的增殖、分化; 促进合成胶原蛋白的合成; 抑制胶原的降解, 同时对胶原酶原、基质酶原等产生抑制作用<sup>[12-13]</sup>。本研究发现, 在药物处理 24 h 后, 模型组中 TGF- $\beta_1$  蛋白表达升高。说明在 CFb 中 Ang II 可以促进 TGF- $\beta_1$  蛋白表达, 而且 TGF- $\beta_1$  蛋白量增加与 CFb 的增殖及胶原蛋白合成有关。初步

证实 TGF- $\beta_1$  相关信号通路参与了 Ang II 诱导新生大鼠心脏纤维化的过程。Sal 可以下调 Ang II 诱导后 CFb 中 TGF- $\beta_1$  蛋白表达且呈一定的剂量依赖性。

笔者通过以上研究发现, 在 Ang II 诱导下, CFb 中的 TGF- $\beta_1$ 、Collage I、Collagen III 蛋白表达升高, 其作用机制可能是 Ang II 诱导 CFb 合成 TGF- $\beta_1$ , 生成的 TGF- $\beta_1$  反过来刺激 CFb 合成 I、III 型胶原蛋白, 大量的 CFb 增殖及细胞外基质堆积导致心肌纤维化。在 Sal 干预的蛋白表达中, TGF- $\beta_1$ 、Collage I、Collagen III 蛋白降低且表达呈正相关。因此 TGF- $\beta_1$  与 Collage I、Collagen III 蛋白之间存在着相互调节关系。提示 Sal 对 Ang II 诱导 CFb 的增殖及 I、III 型胶原合成的抑制作用部分是通过下调 TGF- $\beta_1$  蛋白表达而实现的。

综上所述, Sal 能抑制 CFb 增殖及降低 I、III 型胶原蛋白表达, 而起到了抗心肌纤维化的作用, 其机制可能与下调 TGF- $\beta_1$  蛋白表达有关。阻断 TGF- $\beta_1$  有可能成为预防和逆转心肌纤维化的一个重要靶点。

#### 参 考 文 献:

- [1] PICHLER M, RAINER P P, SCHAUER S, et al. Cardiac fibrosis in human transplanted hearts is mainly driven by cells of intracardiac origin[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2012, 59(11): 1008-1016.
- [2] LIE-VENEMA H, VAN DEN AKKER N M, BAX N A, et al. Origin, fate, and function of epicardium-derived cells (EPDCs) in normal and abnormal cardiac development[J]. *Scientific World Journal*, 2007, 12(7): 1777-1798.
- [3] ZENG Q C, GUO Y, LIU L, et al. Cardiac fibroblast-derived extracellular matrix produced in vitro stimulates growth and metabolism of cultured ventricular cells[J]. *Int Heart J*, 2013, 54(1): 40-44.
- [4] DANIEIS A, VAN BILSEN M, GOLDSCHMEDING R, et al. Connective tissue growth factor and cardiac fibrosis acta physiologica[J]. *Oxford England*, 2009, 195(3): 321-338.
- [5] CHEN W, FRANGOIANNIS N G. Fibroblasts in post-in-farction inflammation and cardiac repair[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833(4): 945-953.
- [6] TEEKAKIRIKUL P, EMINAGA S, TOKA O, et al. Cardiac fibrosis in mice with hypertrophic cardiomyopathy is mediated by non-myocyte proliferation and requires TGF- $\beta$ [J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(10): 3520.
- [7] MEYER A, WANG W, QU J, et al. Platelet TGF- $\beta_1$  contributions to plasma TGF- $\beta_1$ , cardiac fibrosis, and systolic dysfunction in a mouse model of pressure overload[J]. *Blood*, 2012, 119(4): 1064-1074.
- [8] YU L H, LIU G T. Schisanhenol attenuated ox-LDL-induced apoptosis and reactive oxygen species generation in bovine aorta

- endothelial cells in vitro[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2008, 10(7/8): 799-806.
- [9] 周世月, 邓之荣, 谭琳, 等. 五味子酚对东莨菪碱诱导的痴呆小鼠学习记忆损伤的保护作用[J]. *中国药学杂志*, 2014, 49(23): 2088-2091.
- [10] 李宜轩, 陈建光, 李凤, 等. 北五味子提取物对实验性肝纤维化大鼠肝损伤的保护作用[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2014, 40(2): 285-288.
- [11] XIE J, ZHANG Q, ZHU T, et al. Substrate stiffness-regulated matrix metalloproteinase output in myocardial cells and cardiac fibroblasts: implications for myocardial fibrosis[J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(6): 2463-2472.
- [12] JIANG F, LIU G S, DUSTING G J, et al. NADPH Oxidase-dependent redox signaling in TGF- $\beta$ -mediated fibrotic responses[J]. *Redox Biol*, 2014, 20(2): 267-272.
- [13] SAMARAKOON R, OVERSTREET J M, HIGGINS P J. TGF- $\beta$  signaling in tissue fibrosis: redox controls, target genes and therapeutic opportunities[J]. *Cell Signalling*, 2013, 25(1): 264-268.

(王荣兵 编辑)