

补阳还五汤对动脉粥样硬化模型大鼠主动脉 Rho 激酶及 NF- κ B p65 mRNA 表达的影响

张红珍¹ 李丽² 焦瑞³ 张英⁴ 钱艳⁴

摘要 **目的** 观察益气活血法代表方剂补阳还五汤对动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)模型大鼠主动脉组织 Rho 激酶及核转录因子- κ B(nuclear transcription factor kappa B, NF- κ B) p65 mRNA 表达及血脂指标的影响。**方法** 采用维生素 D₃ 联合高脂饮食法制备大鼠 AS 模型。将 60 只大鼠随机分为正常对照组、模型组、补阳还五汤低剂量组(10 g/kg)、补阳还五汤高剂量组(20 g/kg)、辛伐他汀组(0.6 mg/kg)及补阳还五汤预防组(10 g/kg)。造模成功后给药干预 28 天,采用 ELISA 法检测氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)水平,酶法测定血清 TG、TC、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)及高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平。光镜下观察主动脉组织 AS 病理变化。采用实时荧光定量 PCR 法检测主动脉 Rho 激酶及 NF- κ B p65 mRNA 表达水平。**结果** 高脂饮食加维生素 D₃ 腹腔注射可诱导大鼠形成 AS 模型,模型组大鼠主动脉有典型的粥样斑块形成。与正常对照组比较,模型组 TC、TG 及 LDL-C 及 ox-LDL 水平明显升高, HDL-C 下降($P < 0.01$);与模型组比较,补阳还五汤高、低剂量组、辛伐他汀组及补阳还五汤预防组 TC、TG、LDL-C 及 ox-LDL 水平均下降, HDL-C 升高($P < 0.05$, $P < 0.01$);补阳还五汤高剂量组、辛伐他汀组及补阳还五汤预防组上述指标均较补阳还五汤低剂量组改善更明显($P < 0.05$)。与正常对照组比较,模型组 Rho 激酶及 NF- κ B p65 mRNA 表达水平明显升高($P < 0.01$);与模型组比较,补阳还五汤高、低剂量组、辛伐他汀组及补阳还五汤预防组 Rho 激酶及 NF- κ B p65 mRNA 表达水平明显降低($P < 0.01$);补阳还五汤高剂量组、辛伐他汀对照组及补阳还五汤预防组两项指标均较补阳还五汤低剂量组降低更明显($P < 0.05$),但 3 组间血脂、Rho 激酶及 NF- κ B p65 mRNA 表达水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 补阳还五汤可下调主动脉 Rho 激酶及 NF- κ B p65 mRNA 表达水平,降低血脂,具有抗 AS 作用,抑制 Rho 激酶通路可能是其作用机制之一。

关键词 益气活血法;补阳还五汤;动脉粥样硬化;Rho 激酶;NF- κ B p65

Effect of Buyang Huanwu Decoction on mRNA Expressions of Aorta Rho Kinase and NF- κ B p65 in Atherosclerosis Model Rats ZHANG Hong-zhen¹, LI Li², JIAO Rui², ZHANG Ying⁴, and QIAN Yan⁴ 1 Clinical College of Integrative Medicine, Shanxi College of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan (030619); 2 Department of Traditional Chinese Medicine, Second Hospital, Shanxi Medical University, Taiyuan (030001); 3 Department of Computer Teaching, Shanxi Medical University, Taiyuan (030001); 4 Public Health College, Shanxi Medical University, Taiyuan (030001)

ABSTRACT **Objective** To observe the effect of Buyang Huanwu Decoction (BYHWD), a representative formula of qi benefiting blood activating method on aorta Rho associated coiled-coil forming protein serine/threonine kinase (Rhokinase, ROCK) and nuclear transcription factor kappa B (NF- κ B) p65 mRNA expressions and levels of blood lipids in atherosclerosis (AS) model rats. **Methods** The AS rat model was prepared by vitamin D₃ and high fat diet. Totally 60 rats were randomly divided into 6 groups, i.e., the normal control group, the model group, the low dose BYHWD group (10 g/kg), the high dose BYHWD group (20 g/kg), the Simvastatin control group (0.6 mg/kg), and the BYHWD prevention group

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81373532)

作者单位:1.山西中医学院中西医结合临床学院(太原 030619);2.山西医科大学第二医院中医科(太原 030001);3.山西医科大学计算机教学部(太原 030001);4.山西医科大学公共卫生学院(太原 030001)

通讯作者:张红珍, Tel: 0351-3179716, E-mail: zhangjieer@sina.com

DOI: 10.7661/CJIM.2015.12.1495

(10 g/kg), 10 in each group. After successful modeling all medication was intervened for 28 days. Expression levels oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) were detected by ELISA. Levels of TG, TC, LDL-C, HDL-C were determined by enzyme method. Pathological changes of aortic tissue were observed under light microscope. mRNA expressions of Rho kinase and NF- κ B p65 in aorta were detected by real time (RT) PCR. Results High fat diet and peritoneal injection of vitamin D₃ could induce AS rat model. Typical atheromatous plaque formed in aorta of AS model rats. Compared with the normal control group, levels of TC, TG, LDL-C, and ox-LDL significantly increased in the model group, but the HDL-C level decreased ($P < 0.01$). Compared with the model group, levels of TC, TG, LDL-C, and ox-LDL all decreased, but HDL-C increased in low and high dose BYHWD groups, the Simvastatin control group, and the BYHWD prevention group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the low dose BYHWD group, above-mentioned indices were more obviously lowered in the high dose BYHWD group, the Simvastatin control group, and the BYHWD prevention group ($P < 0.05$). Compared with the normal control group, mRNA expression levels of Rho kinase and NF- κ B p65 significantly increased in the model group ($P < 0.01$). Compared with the model group, mRNA expressions of Rho kinase and NF- κ B p65 obviously decreased in low and high dose BYHWD groups, the Simvastatin control group, and the BYHWD prevention group ($P < 0.01$). Compared with the low dose BYHWD group, the two indicators were more obviously lowered in the high dose BYHWD group, the Simvastatin control group, and the BYHWD prevention group ($P < 0.05$). But there was no statistical difference in blood lipids levels, mRNA expression levels of Rho kinase or NF- κ B p65 among the high dose BYHWD group, the Simvastatin control group, and the BYHWD prevention group ($P > 0.05$). Conclusions BYHWD could down-regulate mRNA expression levels of Rho kinase and NF- κ B p65, lower levels of blood lipids, and fight against AS. Suppressing Rho kinase pathway might be one of its mechanisms.

KEYWORDS qi benefiting blood activating method; Buyang Huanwu Decoction; atherosclerosis; Rho kinase; NF- κ B p65

随着社会发展和人民生活水平的提高,以动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)为基础的心脑血管疾病的发生率呈逐年增高的趋势,其发病率、致残率、病死率一直居高不下,严重影响人们生活,也造成了沉重的社会经济负担,对 AS 的防治日益受到重视^[1]。中药以多成分、多靶点、多效应、不良反应少、协同作用强和整体调节的特点,在 AS 这种多因素、多病理靶点的复杂性疾病治疗中具有独特优势。中医学认为本病的基本特征为本虚标实,临床以气虚血瘀证型较为常见,益气活血治疗能明显降低该病的发病率、致残率和病死率^[2,3]。本研究通过运用益气活血法的代表方剂补阳还五汤干预 AS 动物模型,观察主动脉组织 Rho 激酶及核转录因子- κ B (nuclear transcription factor kappa B, NF- κ B) p65 mRNA 的表达水平,从 Rho 激酶通路探讨其抗 AS 的作用机制,为中药新药的开发提供实验依据。

材料与方药

1 动物 60 只雄性 SD 大鼠,7~8 周龄,体重(200 \pm 20)g,北京海淀兴旺动物养殖厂提供,合格证

号:SCXK(京)-2012-0004。饲养环境:温度为 20~23 $^{\circ}$ C;湿度 60%;面积约 20 m²;环境安静,通风良好。

2 药物、试剂及仪器 补阳还五汤由黄芪 30 g 川芎 6 g 当归 6 g 赤芍 6 g 地龙 3 g 桃仁 3 g 红花 3 g 组成(江阴天江药业有限公司)。各药按以上比例煎煮后过滤,浓缩,最终调至每毫升含生药 2 g/mL,分装灭菌,100 mL/瓶。放置 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用。辛伐他汀片(40 mg),Merck Sharp Dohme (Australia) Pty Ltd.,批号:K007474。琼脂糖、溴化乙锭、Trizol 提取试剂盒、第一链 cDNA 合成试剂盒(AMV First Strand cDNA Synthesis Kit)(SK2445)、定量 PCR 试剂 ABI SybrGreen PCR Master Mix (2X)均由生工生物工程(上海)股份有限公司提供;维生素 D3(上海通用药业股份有限公司,批号:121142)。-20 $^{\circ}$ C 医用低温冰箱(青岛海尔公司);高速低温离心机(德国 Eppendorf 公司);Olympus 光学显微镜及显微镜成像设备由山西医科大学第一医院生理教研室提供。SW-CJ-1D 洁净工作台(江苏苏洁净化设备厂);DYY-8 型稳压稳流电泳

仪(上海琪特分析仪器有限公司);H6-1 微型电泳槽(上海精益有机玻璃制品仪器厂);PCR 反应扩增仪(美国 ABI 公司);凝胶成像系统(上海复日科技有限公司);TU-1901 紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限公司);实时定量 PCR 仪(LightCycler480 Software Setup, Roche 罗氏)。

3 模型制备及分组给药 60 只大鼠适应性喂养 3 天后,采用 SPSS 13.0 软件随机分组,每组 10 只。参照文献[4],50 只大鼠制备动脉粥样硬化模型:按 60 万 U/kg 的剂量一次性给予维生素 D3 腹腔注射,后每日喂服高脂饲料 20 g(3%胆固醇、0.5%胆酸钠、0.2%丙基硫氧嘧啶、10%猪油、5%白糖、81.3%基础饲料),喂服 45 天。随机抽取 3 只,取主动脉组织光镜观察,有粥样斑块形成提示造模成功。分组及干预方法如下:正常对照组:正常大鼠以生理盐水(NS)灌胃;模型组:AS 大鼠以 NS 灌胃;补阳还五汤低剂量治疗组:AS 大鼠以补阳还五汤 10 g/kg 灌胃(临床等效量,每日 1 次);补阳还五汤高剂量治疗组:AS 大鼠以补阳还五汤 20 g/kg 灌胃(临床等效量的 2 倍);辛伐他汀组:AS 大鼠以辛伐他汀 0.6 mg/kg 灌胃(相当于临床等效量),以上大鼠均喂饲普通饲料;补阳还五汤预防组:正常大鼠以维生素 D3 加高脂饲料喂养以补阳还五汤 10 g/kg 灌胃(相当于临床等效量)。均每日 1 次,干预 28 天。

4 样本采集 4 周后,大鼠麻醉后腹主动脉采血,离心制备血清,-20℃保存,待测血脂。取全主动脉,剥净外膜的脂肪组织,将腹主动脉置入福尔马林液中,进行 HE 染色。胸主动脉立即放入液氮中保存,随后再转入-80℃冰箱中保存,待测 Rho 激酶及 NF-κB p65 mRNA 表达。

5 观察指标及检测方法

5.1 血脂测定 动物造模成功干预 4 周后,麻醉后腹主动脉采血 2 mL,3 000 r/min 离心 20 min,取 0.5 mL 血清,ELISA 法检测氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)水平,应用全自动生化分析仪测定血清 TG、TC、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)及高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平。

5.2 主动脉组织的形态学观察 常规 HE 染色,光镜下观察主动脉组织动脉粥样硬化病理变化。

5.3 血管细胞黏附分子 mRNA 表达水平测定 采用实时荧光定量 PCR 方法检测 Rho 激酶及 NF-κB p65 mRNA 的表达。

5.3.1 总 RNA 提取 称取大鼠主动脉组织标本 50 mg,加入 1 mL total RNA Extractor,用匀浆

器匀浆处理,移入 1.5 mL EP 管中,按 Trizol 试剂盒说明操作。测定样品在 260 nm 和 280 nm 的吸收值确定 RNA 的质量,并进行甲醛变性琼脂糖电泳,确定 RNA 的完整性,并加 DEPC 处理水调节标本总 RNA 浓度至 50 mg/L,-70℃冰箱中保存样本 RNA。

5.3.2 RNA 逆转录 cDNA 第一链合成;在 0.2 mL PCR 管中加入以下试剂:total RNA 5 μL;Random Primer p(dN)₆(0.2 μg/μL)1 μL;RNase-free ddH₂O 5 μL。70℃温浴 5 min;冰浴 10 s,离心加入下列试剂:5×Reaction Buffer 4.0 μL;dNTP Mix(10 mmol/L)2.0 μL;RNase inhibitor(20 U/μL)1.0 μL;AMV Reverse Transcriptase(10 U/μL)2.0 μL;总反应体系 20.0 μL 37℃温浴 5 min,42℃温浴 60 min,70℃温浴 10 min。终止反应。将上述溶液-20℃保存。

5.3.3 PCR 反应 将 cDNA 样品稀释 8 倍作为模板上机检测。PCR 反应步骤:配制反应混合液,总反应体系 20 μL:SybrGreen qPCR Master Mix(2X)10 μL;Rho 激酶及 GAPDH 上、下游引物(10 μmol/L)各 1 μL;ddH₂O 6 μL;Template(cDNA)2 μL。Rho 激酶引物序列:上游:5'-AACTTTTGGACCTTTCGGATTC-3';下游:5'-TTGCTGCTCACCACAACATACT-3',211 bp。NF-κB p65 引物序列:上游:5'-AACGCAAAGGACCTACGAGA-3';下游:5'-GGATGTTGAAAAGGCATAGGG-3',161 bp。GAPDH 引物序列:上游:5'-CAAGTCAACGGCACAGTCAA-3';下游:5'-CGCCAGTAGACTCCACGACA-3',140 bp。反应条件:95℃3 min,再按照 95℃15 s,60℃40 s 循环反应 40 次,完成上述步骤后,将加好样品的 96/384 深孔板放于实时定量 PCR 仪 LightCycler480 Software Setup(Roche 罗氏)中进行反应。反应结束后获取循环阈值(ΔCt 值),采用 Excel 软件绘制标准曲线并进行数据分析。

6 统计学方法 应用 SPSS 13.0 统计软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间计量资料采用单因素方差分析,组间两两比较采用 SNK-q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 大鼠一般情况 各组大鼠造模前后一般情况良好,补阳还五汤高剂量组、辛伐他汀组、补阳还五汤预防组大鼠由于灌胃不慎死亡只数分别为 2、3、2 只,

正常对照组意外死亡 1 只。造模成功率为 92.3%。

2 造模后各组大鼠血管形态学改变(图 1) HE 染色光镜下可见:正常对照组大鼠腹主动脉内膜光滑平坦,层次清晰,中膜平滑肌细胞排列整齐,细胞排列致密,弹力板无断裂(图 1A)。模型组中膜平滑肌萎缩变薄,大量钙盐沉积于坏死灶及纤维帽内,外周可见少许淋巴细胞浸润(图 1B)。补阳还五汤低剂量组内膜增生,中膜平滑肌及纤维组织增生,内弹力板结构破坏,大量脂质、无定型坏死物质及少许钙盐沉积(图 1C)。补阳还五汤高剂量组内皮下间隙内脂质聚集,中膜平滑肌增生穿插于巨噬细胞源性泡沫细胞之间(图 1D)。辛伐他汀组内皮下间隙内脂质聚集,中膜平滑肌细胞增生,排列不规整,穿插于巨噬细胞源性泡沫细胞之间(图 1E)。补阳还五汤预防组内膜增生,中膜平滑肌增生,排列紊乱,有向内膜迁徙的趋势,内弹力板结构破坏(图 1F)。

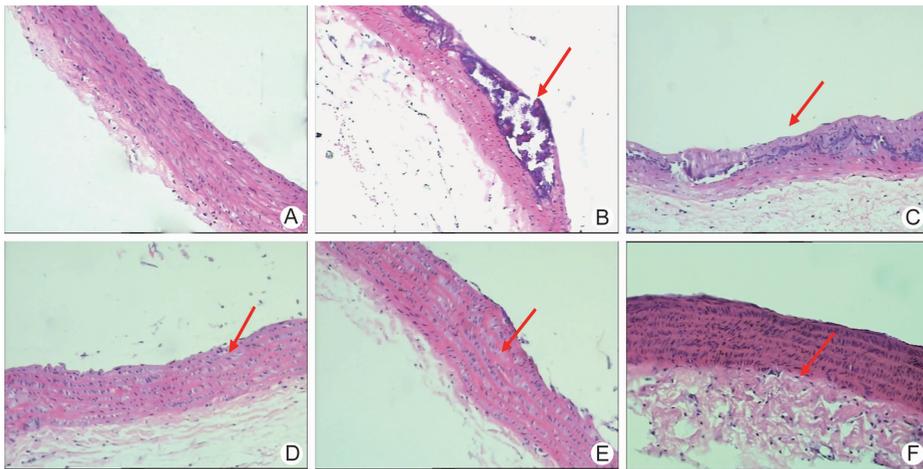
3 各组血脂水平比较(表 1) 与正常对照组比较,模型组 TC、TG 及 LDL-C 及 ox-LDL 水平明显升高, HDL-C 下降($P < 0.01$);与模型组比较,补阳还五汤高、低剂量组、辛伐他汀组及补阳还五汤预防组

TC、TG、LDL-C 及 ox-LDL 水平均下降, HDL-C 升高($P < 0.05$, $P < 0.01$);且补阳还五汤高剂量组、辛伐他汀组及补阳还五汤预防组上述指标较补阳还五汤低剂量组改善更明显($P < 0.05$)。

4 各组主动脉 Rho 激酶及 NF- κ B p65 mRNA 表达水平比较(表 2) 与正常对照组比较,模型组 Rho 激酶及 NF- κ B p65 mRNA 表达水平明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,补阳还五汤高、低剂量组、辛伐他汀组、补阳还五汤预防组 Rho 激酶及 NF- κ B p65 mRNA 表达水平明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$);补阳还五汤高剂量组、辛伐他汀组及补阳还五汤预防组两项指标均较补阳还五汤低剂量组改善更明显($P < 0.05$)。

讨 论

AS 的形成是一个复杂的动态变化病理过程,主要包括:内皮细胞受损,黏附分子异常表达,白细胞黏附及迁移, ox-LDL 被巨噬细胞摄取、泡沫细胞形成,平滑肌细胞的增殖和迁移,继而纤维组织增生,最终形成粥样斑块^[5,6]。



注:A 为正常对照组;B 为模型组;C 为补阳还五汤低剂量组;D 为补阳还五汤高剂量组;E 为辛伐他汀组;F 为补阳还五汤预防组;箭头所示为病变部位

图 1 各组大鼠血管形态学改变(HE 染色, $\times 100$)

表 1 各组大鼠血脂水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	ox-LDL(μ g/L)
正常对照	9	1.94 \pm 0.21	0.76 \pm 0.08	2.47 \pm 0.14	0.47 \pm 0.04	49.56 \pm 2.53
模型	10	5.82 \pm 0.22 *	1.68 \pm 0.10 *	0.75 \pm 0.05 *	2.02 \pm 0.10 *	69.93 \pm 4.65 *
补阳还五汤低剂量	10	2.93 \pm 0.07 Δ	1.47 \pm 0.15 Δ	0.88 \pm 0.01 Δ	0.80 \pm 0.06 Δ	59.10 \pm 2.61 Δ
补阳还五汤高剂量	8	2.41 \pm 0.12 $\Delta\Delta\Delta$	1.01 \pm 0.03 $\Delta\Delta\Delta$	1.02 \pm 0.07 $\Delta\Delta\Delta$	0.60 \pm 0.02 $\Delta\Delta\Delta$	52.70 \pm 2.02 $\Delta\Delta\Delta$
辛伐他汀	7	2.49 \pm 0.26 $\Delta\Delta\Delta$	0.99 \pm 0.06 $\Delta\Delta\Delta$	1.06 \pm 0.03 $\Delta\Delta\Delta$	0.57 \pm 0.00 $\Delta\Delta\Delta$	53.61 \pm 3.76 $\Delta\Delta\Delta$
补阳还五汤预防	8	2.56 \pm 0.29 $\Delta\Delta\Delta$	1.04 \pm 0.09 $\Delta\Delta\Delta$	1.12 \pm 0.03 $\Delta\Delta\Delta$	0.60 \pm 0.04 $\Delta\Delta\Delta$	53.31 \pm 1.85 $\Delta\Delta\Delta$

注:与正常对照组比较, * $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与补阳还五汤低剂量组比较, $\Delta P < 0.05$

表 2 各组主动脉 Rho 激酶 mRNA 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Rho 激酶 mRNA	NF- κ B p65 mRNA
		拷贝数/ GAPDH 拷贝数	拷贝数/ GAPDH 拷贝数
正常对照	9	0.23 \pm 0.03	1.55 \pm 0.07
模型	10	2.89 \pm 0.03 [*]	2.92 \pm 0.10 [*]
补阳还五汤低剂量	10	2.11 \pm 0.02 ^{Δ}	2.50 \pm 0.20 ^{Δ}
补阳还五汤高剂量	8	1.39 \pm 0.01 ^{$\Delta\Delta$}	1.80 \pm 0.04 ^{$\Delta\Delta$}
辛伐他汀	7	1.49 \pm 0.05 ^{$\Delta\Delta$}	1.99 \pm 0.07 ^{$\Delta\Delta$}
补阳还五汤预防	8	1.64 \pm 0.05 ^{$\Delta\Delta$}	1.93 \pm 0.06 ^{$\Delta\Delta$}

注:与正常对照组比较,^{*} $P < 0.01$;与模型组比较, ^{Δ} $P < 0.05$, ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$;与补阳还五汤低剂量组比较, ^{Δ} $P < 0.05$

Rho 激酶是一种丝/苏氨酸蛋白激酶,在体内广泛表达,其表达本身由主动脉 NF- κ B 途径所介导^[7]。研究表明,Rho 激酶的激活可导致内皮细胞通透性增加,有利于氧化的低密度脂蛋白、单核/巨噬细胞、炎症因子等通过内皮细胞(EC),促进血管平滑肌细胞的增殖和迁移^[8-10];在细胞水平,Rho 激酶还通过与内皮素-1(endothelin-1,ET-1)、血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ,Ang Ⅱ)和血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor,PDGF)等血管活性物质的相互作用,参与调节许多细胞功能,如细胞增殖、分裂、细胞迁移和黏附及基因表达等^[11,12];在分子水平可促进与炎症、氧化应激、血栓形成和纤维化有关的多种细胞因子的上调^[13-16]。这些生物学效应与 AS 的发生、发展密切相关。因此,Rho 激酶已成为 AS 研究领域的新热点。

NF- κ B 是具有多向转录调节作用的蛋白质,分布非常广泛,参与多种基因的转录调控作用,而且与免疫应答、炎症反应及细胞的增生、转化和凋亡等病理生理过程紧密相关^[17]。研究发现,活化的 NF- κ B 存在于 AS 病灶的平滑肌细胞、EC 及巨噬细胞等多种细胞中。此通路激活后可以调节编码促炎细胞因子、黏附分子、生长因子、趋化因子等基因的表达,Rho 激酶表达也通过 NF- κ B 途径所介导^[9,18]。临床研究表明,在 NF- κ B 高度表达的主动脉 AS 患者中,主动脉处于超炎症状态。因此,NF- κ B 高度表达可能导致 AS^[19]。

中医学认为本虚标实是 AS 的基本特征,气虚血瘀是 AS 的临床常见证型,益气活血能明显改善临床症状。补阳还五汤为益气活血的代表方剂,能提高组织耐氧的能力,改善微循环;改变血液流变学的性质,降低血脂;扩张血管;降低纤维蛋白原、抗血小板聚集;抗血栓形成及预防血栓再发,具有多靶点抗 AS 作用^[20,21]。本研究通过检测大鼠主动脉 Rho 激酶及 NF- κ B p65 mRNA 水平及血脂水平,发现用补阳还

五汤高剂量干预及低剂量预防后均可显著降低高脂饲料诱导的大鼠主动脉 Rho 激酶及 NF- κ B p65 mRNA 水平,同时可调节血脂水平,作用优于补阳还五汤低剂量组,同降血脂药物辛伐他汀效果相仿。

本实验证实,益气活血方剂补阳还五汤具有抗 AS 作用,可下调 Rho 激酶及 NF- κ B p65 mRNA 表达,抑制 Rho 激酶通路可能是其机制之一,从而为中医药防治 AS 提供微观依据及临床药理佐证。

参 考 文 献

- [1] 王鹏,修春红,王岚峰. 颈动脉粥样硬化与心脑血管疾病的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2014, 22(11): 1175-1178.
- [2] 张风芹,葛向党,张艳,等. 益气活血中药和辛伐他汀西药对球囊损伤后动脉粥样硬化家兔血管内皮功能的影响[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(5): 1033-1036.
- [3] 王承龙,史大卓,王强,等. 运用 Markov 模型评价益气活血中药干预不稳定性心绞痛远期疗效的探索[J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(4): 406-411.
- [4] 周永刚,蓝小红,李祥,等. 动脉粥样硬化大鼠实验模型的建立与评价[J]. 解放军药理学学报, 2011, 27(5): 399-403.
- [5] 蔡光先,赵玉庸主编. 中西医结合内科学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2010:192-198.
- [6] 吴先杰,王永霞. 动脉粥样硬化发生机制研究现状及思路[J]. 中国实用诊断与治疗杂志, 2012, 26(7): 629-631.
- [7] 王志,曹秉振. Rho/Rho 激酶信号通路与缺血性脑血管病[J]. 国际脑血管病杂志, 2008, 16(5): 375-379.
- [8] Loirand G, Guerin P, Pacaud P. Rho kinase in cardiovascular physiology and pathophysiology[J]. Circ Res, 2006, 98(3): 322-334.
- [9] Guilluy C, Eddahibi S, Agard C, et al. RhoA and Rho-kinase activation in human pulmonary hypertension: role of 5-HT signaling[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2009, 179(12): 1151-1158.
- [10] Vucevic D, Radak D, Milovanovic I, et al. Pathophysiological mechanisms of angiogenesis in atherosclerosis[J]. Med Pregl, 2013, 66(7-8): 297-306.
- [11] 孙由静,张闻多,汪芳. Rho 激酶:他汀类药物抗动脉粥样硬化的重要靶点[J]. 中国动脉硬化杂志, 2013, 21(1): 84-88.
- [12] Nakakuki T, Ito M, Wasaki H, et al. Rho/Rho-kinase pathway contributes to C-reactive protein-induced plasminogen activator inhibitor-1 expression in endothelial cells[J]. Arterioscler Thromb

- Vasc Biol, 2005, 25(10): 2088-2093.
- [13] Li S, Gao YT, Lei Y, et al. Roles of myosin light chain kinase and Rho-kinase in migration of rabbit intracranial vascular smooth muscle cells[J]. Chin Stroke, 2008, 3(3): 566-571.
- [14] Ley K, Miller YI, Hedrick CC. Monocyte and macrophage dynamics during atherogenesis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31(7): 1506-1516.
- [15] 席静, 张玉东. Rho/Rho 激酶与动脉粥样硬化的研究进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2010, 12(10): 955-956.
- [16] 马志红. Rho 信号通路对大鼠动脉粥样硬化形成的影响及法舒地尔的心血管保护作用[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2011.
- [17] 薛剑, 周忠光, 姜波, 等. 补阳还五汤对 AD 大鼠海马区 NF- κ B p65 mRNA 基因表达的影响[J]. 中医药学报, 2014, 42(3): 36-38.
- [18] 黄皓章. NF- κ B 与 MMP-9 在香烟吸入并高脂大鼠动脉粥样硬化中的作用及辛伐他汀干预研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2013.
- [19] 杨雪佳, 王高频. 细胞信号转导通路 with 动脉粥样硬化的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2011, 2(31): 544-547.
- [20] 李军, 王朝阳. 补阳还五汤对急性脑缺血大鼠血管新生影响的实验研究[J]. 中国中医急症, 2011, 20(2): 273-274.
- [21] 翟丽莉, 吕建华. 补阳还五汤的药理研究与临床新用[J]. 中国中医药现代远程教育, 2009, 7(2): 9-10.

(收稿: 2015-03-18 修回: 2015-08-13)

2015 中医药科研设计与 SCI 论文写作班会议纪要

2015 年 9 月 19—20 日, 由中国中西医结合杂志社主办, 广东省中医院重症医学科和广州市心肌梗死中医药防治重点实验室联合承办的“2015 中医药科研设计与 SCI 论文写作班”在广州成功举办。本次培训班特邀中国中医科学院院士陈可冀教授、香港浸会大学中医药学院卞兆祥教授、常青藤中国区编辑主任张科宏博士、广东省中医院卢传坚副院长、广东省中医院重症医学科主任张敏州教授、中国中医科学院心血管病研究所副所长徐浩教授、*Chinese Journal of Integrative Medicine* 副编审郭艳博士等介绍科研设计及论文发表经验, 围绕中医药科研设计与 SCI 论文的写作及发表进行深入交流, 分享科研思维和经验。

陈可冀院士作了“畅谈中西医结合与 SCI 的那些事”的主题演讲, 畅谈了关于中西医结合的认识, 结合国家政策, 鼓励积极推进中西医结合工作, 倡导融合东西医学优势, 建立中国现代医学体系。同时, 陈院士提出要辩证看待 SCI 论文和 IF 值, 从循证医学到价值医学进行了深入剖析, 指出目前中医循证指南存在的问题并结合实例给出了自己的建议。陈院士指出要严肃看待各种学术不端行为, 并督促临床工作者实事求是, 脚踏实地进行临床和科研工作, 敢于担当, 为中医药传承和走向国际贡献力量。

作为一名专业杂志主编, 徐浩教授分别从医生及编辑的不同视角解读了临床科研设计的选题方法。他提出对“临床诊疗难点”、“特殊临床现象”进行合理把握, 提倡“小题大做”、“从独特视角提出新问题”、“大胆质疑常规疗法”、“采取逆向思维”等, 鼓励学员们进行学术交流, 在学科交叉领域寻求研究亮点, 学会“移植”思维与“二次创新”, 注重病例的积累, 拓宽了学员们的临床科研思路。

广东省中医院卢传坚副院长的讲题为“*How to conduct a good clinical trial*”, 她通过介绍一项中药治疗银屑病的临床研究, 向学员们系统详尽地展现了临床试验研究从设计到成果提炼的过程, 让学员们对临床试验设计与实施乃至论文的发表有了更为直观的认识。张敏州教授作了“*Case Report: From Bedside to Paper*”的主题授课, 结合实例深入浅出地介绍了 Case Report 的基本特点及其带领的团队发表多篇高质量 Case Report 的宝贵经验。广东省中医院心肌梗死研究团队的王磊博士、齐建勇博士和马世玉博士分别从临床研究、病例报道及实验研究角度, 对历来该团队及个人发表 SCI 论文的经历和经验进行简要介绍。

来自全国各地的学员共 200 余人全程参加了此次会议, 会程中学员们竞相提问, 互相交流, 气氛十分热烈。培训班的举办不仅为中医药医疗从业人员带来科研思路和方法的启迪, 更有益于促进我国中医药科研水平的不断提高。

(广东省中医院重症医学科 郭力恒 王磊整理)