

芍药苷对 TNF- α 诱导的内皮细胞 TNFR1/NF- κ B 信号通路的抑制作用

马淑慧¹ 王海芳¹ 刘金连¹ 霍雪萍¹ 赵向绒¹ 曹情雯¹ 刘勤社²

摘要 **目的** 研究芍药苷(paeoniflorin, PAE)对 TNF- α 诱导小鼠肾动脉内皮细胞 TNFR1 介导信号通路的抑制作用,试探讨其作用的分子机制。**方法** 体外培养小鼠动脉内皮细胞。采用 Western blot 方法检测正常组(无血清培养基培养)、TNF- α 组(无血清培养基培养 2 h 加 TNF- α 30ng/mL 6 h)、PAE 低浓度组(PAE 0.8 μ mol/L 培养 2 h 加 TNF- α 30ng/mL 6 h)、PAE 中浓度组(PAE 8 μ mol/L 培养 2 h 加 TNF- α 30ng/mL 6 h)及 PAE 高浓度组(PAE 80 μ mol/L 培养 2 h 加 TNF- α 30ng/mL 6 h)细胞间黏附分子-1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)的蛋白表达;以免疫荧光法检测正常组(无血清培养基培养)、TNF- α 组(无血清培养基培养 2 h 加 TNF- α 30ng/mL 45 min)、PAE 高浓度组(PAE 80 μ mol/L 培养 2 h 加 TNF- α 30ng/mL 45 min)核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)的核转位;以 Western blot 法检测正常组(无血清培养基培养)及 PAE 高浓度组(PAE 80 μ mol/L 培养 2 h)ph-ERK 和 ph-p38 表达;Western blot 法检测正常组(无血清培养基培养)、TNF- α 组(无血清培养基培养 2 h 加 TNF- α 30ng/mL 30 min)、PAE 高浓度组 PAE 80 μ mol/L 培养 2 h 加 TNF- α 30ng/mL 30 min)、p38 抑制剂组(SB 组, p38 抑制剂 SB238025 25 μ mol/L 预处理 30 min, PAE 80 μ mol/L 处理 2 h,最后 TNF- α 30 ng/mL 30 min)及 ERK 抑制剂组(PD 组, ERK 抑制剂 PD98059 50 μ mol/L 处理 30 min, PAE 80 μ mol/L 处理 2 h,最后 TNF- α 30 ng/mL 30 min)I κ B α 蛋白表达。**结果** 与正常组比较, TNF- α 组 ICAM-1 蛋白表达明显升高($P < 0.01$);与 TNF- α 组比较, PAE 高浓度组的 ICAM-1 表达受到显著抑制($P < 0.05$)。PAE 高浓度组 ph-p38 及 ph-ERK 蛋白表达水平明显较正常组升高($P < 0.05$)。与正常组比较, TNF- α 组 I κ B α 表达水平下降($P < 0.01$)。与 TNF- α 组比较, PAE 高浓度组可显著抑制 TNF- α 诱导的 I κ B α 蛋白降解($P < 0.01$), SB 组可显著阻断 PAE 对 I κ B α 蛋白降解的抑制作用($P < 0.05$)。正常组中 NF- κ B/p65 信号主要位于胞浆中, TNF- α 组在 TNF- α 刺激 45 min 可诱导 NF- κ B/p65 由胞浆向细胞核转位,而 PAE 高浓度组可显著抑制 TNF- α 诱导的 NF- κ B/p65 核转位。**结论** PAE 抑制 TNF- α 诱导的 ICAM-1 表达,其作用与抑制 TNFR1/NF- κ B 信号通路有关, p38 参与介导此作用。

关键词 芍药苷;内皮细胞;肿瘤坏死因子- α I 型受体信号通路

Inhibition of Paeoniflorin on TNF- α -induced TNF- α Receptor Type I/Nuclear Factor- κ B Signal Transduction in Endothelial Cells MA Shu-hui¹, WANG Hai-fang¹, LIU Jin-lian¹, HUO Xue-ping¹, ZHAO Xiang-rong¹, CAO Qing-wen¹, and LIU Qin-she² 1 Central Lab, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an (710068); 2 President Office, Shaanxi Academy of Traditional Chinese Medicine, Xi'an (710003)

ABSTRACT **Objective** To study the inhibitory effect of paeoniflorin (PAE) on TNF- α -induced TNF receptor type I (TNFR1)-mediated signaling pathway in mouse renal arterial endothelial cells (AECs) and to explore its underlying molecular mechanisms. **Methods** Mouse AECs were cultured *in vitro* and then they were treated by different concentrations PAE or TNF- α for various time periods. Expression levels of intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1) were detected in the normal group (cultured by serum-free

基金项目:国家支撑计划(No. 2008BA151B01);康乃尔基金;中央高校基本科研业务费专项资金;陕西省自然科学基金资助项目(No. 2015JM8460)

作者单位:1.陕西省人民医院中心实验室(西安 710068);2.陕西省中医药研究院院长办公室(西安 710003)

通讯作者:刘勤社, Tel: 029-87253052, E-mail: lqsspph@126.com

DOI: 10.7661/CJIM.2016.03.0339

culture media), the TNF- α group (cultured by 2-h serum-free culture media plus 6-h TNF- α 30 ng/mL), the low dose PAE group (cultured by 2-h PAE 0.8 μ mol/L plus 6-h TNF- α 30 ng/mL), the middle dose PAE group (cultured by 2-h PAE 8 μ mol/L plus 6-h TNF- α 30 ng/mL), the high dose PAE group (cultured by 2-h PAE 80 μ mol/L plus 6-h TNF- α 30 ng/mL) with Western blot analysis. Nuclear translocation of transcription factor NF- κ B (NF- κ B) was detected in the normal group (cultured by serum-free culture media), the TNF- α group (cultured by 2-h serum-free culture media plus 45-min TNF- α 30 ng/mL), and the high dose PAE group (cultured by 2-h PAE 80 μ mol/L plus 45-min TNF- α 30 ng/mL) by immunofluorescent staining. Expression levels of the phosphorylation of extracellular signal-regulated (protein) kinase (ph-ERK) and p38 (ph-p38) were detected in the normal group (cultured by serum-free culture media) and the high dose PAE group (2-h PAE 80 μ mol/L culture) by Western blot. NF- κ B inhibitor- α (I κ B α) protein expressions were detected in the normal group (cultured by serum-free culture media), the TNF- α group (cultured by 2-h serum-free culture media plus 30-min TNF- α 30 ng/mL), the high dose PAE group (cultured by 2-h PAE 80 μ mol/L plus 30-min TNF- α 30 ng/mL), the p38 inhibitor group (SB group, pretreatment with SB238025 25 μ mol/L for 30 min, then treated by PAE 80 μ mol/L for 2 h, and finally treated by TNF- α 30 ng/mL for 30 min), the ERK inhibitor group (PD group, treated by PD98059 50 μ mol/L for 30 min, then treated by PAE 80 μ mol/L for 2 h, and finally treated by TNF- α 30 ng/mL for 30 min) by Western blot. Results Compared with the normal group, ICAM-1 protein expression levels obviously increased ($P < 0.01$). Compared with the TNF α group, ICAM-1 protein expression levels were obviously inhibited in the high dose PAE group ($P < 0.05$). Protein expression levels of ph-p38 and ph-ERK were obviously higher in the high dose PAE group ($P < 0.05$). Compared with the normal group, I κ B α protein expression levels obviously decreased in the TNF- α group ($P < 0.01$). Compared with the TNF α group, TNF- α -induced I κ B α degradation could be significantly inhibited in the high dose PAE group ($P < 0.01$); the inhibition of PAE on I κ B α degradation could be significantly inhibited in the SB group ($P < 0.05$). NF- κ B/p65 signal was mainly located in cytoplasm in the normal group. NF- κ B/p65 was translocated from cytoplasm to nucleus after stimulated by 45 min TNF- α in the TNF- α group, while it could be significantly inhibited in the high dose PAE group. Conclusions PAE inhibited TNF- α -induced expression of ICAM-1. Its action might be associated with inhibiting TNFR1/NF- κ B signaling pathway. p38 participated and mediated these actions.

KEYWORDS paeoniflorin; endothelial cell; TNF- α receptor type I-mediated signal transduction.

中药赤芍具有清热凉血、散瘀止痛的功效,血瘀证为动脉粥样硬化的最常见证候,赤芍为治疗常见证候的主要药物之一^[1]。药理研究表明赤芍具有抗血栓形成、抗血小板聚集、降血糖、抗动脉粥样硬化等多种作用^[2]。芍药苷(Paeoniflorin, PAE)是赤芍的主要药效成分研究显示其具有显著抗炎作用,其机制与抑制炎性介质的产生及其信号转导有关^[3]。肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)是体内最重要的促炎性细胞因子之一。内源性 TNF- α 可调节免疫细胞功能、介导局部和系统性炎症反应和免疫反应;TNF- α 与其 I 型受体(TNF- α receptor type I, TNFR1)结合后可活化细胞内炎性转录因子核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)而促进动脉壁内皮细胞黏附分子和趋化因子的表达,参与动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)的发病^[4, 5]。

本研究通过研究 PAE 对 TNF- α 诱导小鼠肾动脉内皮细胞 TNFR1 介导信号通路的抑制作用,试探讨

其作用的分子机制,为赤芍在 AS 治疗方面的应用提供更多实验室依据。

材料与方法

1 细胞 小鼠肾动脉内皮细胞通过上海拜力生物科技有限公司从美国密西西比大学医学中心引进,体外培养传代。

2 药物与试剂 PAE 标准品购自中国药品生物制品检定所(批号: MUST-11081801)。RPMI-1640 细胞培养基和胎牛血清购自 Clontech 公司。胰蛋白酶和细胞培养用双抗(青霉素和链霉素)购自碧云天生物技术有限公司。重组小鼠 TNF- α 购自北京义翘神州生物技术有限公司。兔抗小鼠 NF- κ B 抑制蛋白 α (NF- κ B inhibitor- α , I κ B α)、兔抗小鼠细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)抗体购自 Biovision 公司;兔抗小鼠 ph-ERK/ERK、ph-p38/p38、NF- κ B/p65 抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公

司。鼠抗小鼠 β -actin 抗体购自北京康为世纪生物科技公司。

3 仪器 CO_2 细胞培养箱(美国 Napco 公司); Model 680 型酶标仪(美国 Bio-Rad 公司);倒置光学显微镜、荧光显微镜(日本 Olympus 公司);化学发光仪(美国 AlphaInnotech 公司);台式冷冻离心机 Allegre 64R(德国 Beckman 公司)。

4 方法

4.1 细胞培养 复苏后用含 15% 胎牛血清、1% 双抗(青霉素和链霉素)的 RPMI-1640 培养液于 37°C 、5% CO_2 、饱和湿度的培养箱中贴壁培养。0.025% 胰蛋白酶消化传代,每 2~3 天传代 1 次。

4.2 药物处理 PAE 储存浓度为 160 mmol/L,参考文献[6]分别以 0.8、8、80 $\mu\text{mol/L}$ 作为低、中、高浓度(于每毫升培养基中加入 0.5 μL 储存 PAE 液形成 80 $\mu\text{mol/L}$ 药物处理浓度,将 80 $\mu\text{mol/L}$ 稀释 10 倍形成浓度 8 $\mu\text{mol/L}$,将 8 $\mu\text{mol/L}$ 稀释 10 倍形成浓度 0.8 $\mu\text{mol/L}$),以 2 h 作为预处理时间。 $\text{TNF-}\alpha$ 刺激方法及浓度选取根据本课题组前期研究^[7]所采用的浓度 30 ng/mL。参考文献[6]进行各项指标检测。

4.3 ICAM-1 蛋白表达的检测 将接种至 6 cm 细胞培养皿中长满(约 80%~90%)的 AEC 血清饥饿过夜。分为 5 组:正常组、 $\text{TNF-}\alpha$ 组、PAE 低浓度组、PAE 中浓度组及 PAE 高浓度组。正常组及 $\text{TNF-}\alpha$ 组予以无血清培养基培养;PAE 低、中、高浓度组予以含 PAE 0.8、8、80 $\mu\text{mol/L}$ 的无血清培养基培养;各组细胞培养 2 h 后。以 $\text{TNF-}\alpha$ 30 ng/mL 诱导除正常组以外的各组细胞 6 h 后检测黏附分子 ICAM-1 的蛋白表达变化,采用 Western blot 法检测。每个 6 cm 培养皿中加入 $2 \times \text{SDS}$ 细胞裂解液 100 μL ,收集细胞裂解液,以氨基黑(Amido Black)法检测蛋白浓度。将 25 μg 总蛋白质上样进行电泳分离并转移至 NC 膜,5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h;适当一抗(兔抗小鼠 ICAM-1)缓慢振摇 4°C 过夜;HRP 标记二抗(羊抗兔 IgG)室温孵育 1 h;ECL 发光,化学发光仪检测信号,采用 Image J 软件分析灰度值,以 β -actin 作为内参,计算目标蛋白与 β -actin 的灰度比值进行统计分析。各实验均重复 3 次。

4.4 免疫荧光法检测 NF- κB 核转位 将生长于盖玻片上细胞分为:正常组、 $\text{TNF-}\alpha$ 组、PAE 高浓度组(结合实验 ICAM-1 蛋白测定结果及实际实验观察,该组观察效果最好,因此后续实验均采用 PAE 高浓度组)。同前处理 ICAM-1 中方法 PAE 预处理细胞 2 h 后, $\text{TNF-}\alpha$ 刺激 45 min 后,分别以 4% 多聚甲醛室温

固定 30 min,0.2% Triton 透化 5 min,5% BSA 室温封闭 30 min。向每张细胞爬片滴加约 100 μL 的 NF- κB 一抗、置湿盒中 4°C 过夜。次日以 PBS 冲洗 3 次,滴加 100 μL 荧光二抗、室温避光孵育 30 min;PBS 冲洗 3 次,向爬片滴加 Hoechst 33258 (5 $\mu\text{g/mL}$) 荧光染料避光孵育 5 min 衬染细胞核。PBS 冲洗后封片,荧光显微镜观察并照相。

4.5 I $\kappa\text{B}\alpha$ 蛋白表达的检测 将接种至 6 cm 细胞培养皿中长满(约 80%~90%)的 AEC 血清饥饿过夜。分为:正常组、 $\text{TNF-}\alpha$ 组及 PAE 高浓度组。同前检测 ICAM-1 中分组与处理方法 PAE 预处理细胞 2 h 后,以 $\text{TNF-}\alpha$ 30 ng/mL 诱导除正常组以外的各组细胞 30 min 后检测 I $\kappa\text{B}\alpha$ 的蛋白降解变化,采用 Western blot 法检测。ECL 发光,化学发光仪检测信号,采用 Image J 软件分析灰度值,以 β -actin 作为内参,计算目标蛋白与 β -actin 的灰度比值进行统计分析。各实验均重复 3 次。

4.6 ph-p38、ph-ERK 蛋白表达检测 将接种至 6 cm 细胞培养皿中长满的 AEC 血清饥饿过夜,分为正常组和 PAE 高浓度组,以 PAE 80 $\mu\text{mol/L}$ 预处理 PAE 高浓度组细胞 2 h,裂解蛋白后采用同 4.3 中 Western blot 法分别检测 ph-p38、ph-ERK 的蛋白表达情况,ph-p38 和 ph-ERK 分别以 p38 和 ERK 作为内参,计算目标蛋白与内参的灰度比值进行统计分析。各实验均重复 3 次。

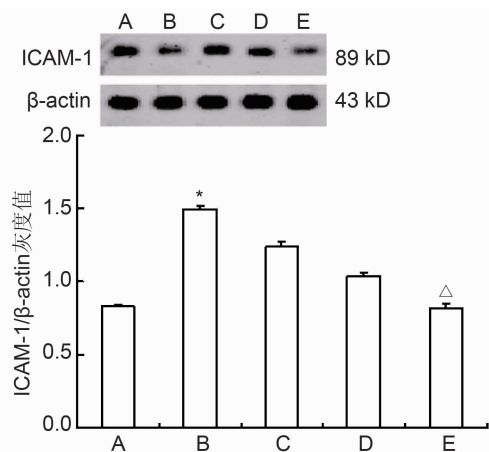
4.7 ph-p38 抑制剂干预后 I $\kappa\text{B}\alpha$ 蛋白表达检测 将接种至 6 cm 细胞培养皿中长满的 AEC 血清饥饿过夜后,分为正常组、 $\text{TNF-}\alpha$ 组、PAE 高浓度组、p38 抑制剂组(SB 组)及 ERK 抑制剂组(PD 组)。正常组采用无血清培养基培养; $\text{TNF-}\alpha$ 组采用无血清培养基培养 2 h 后 $\text{TNF-}\alpha$ (30 ng/mL) 诱导细胞 30 min;PAE 高浓度组予以 PAE 80 $\mu\text{mol/L}$ 预处理细胞 2 h 后, $\text{TNF-}\alpha$ (30 ng/mL) 诱导细胞 30 min;SB 组先以 p38 抑制剂 SB238025 25 $\mu\text{mol/L}$ 预处理细胞 30 min,再以 PAE 80 $\mu\text{mol/L}$ 预处理细胞 2 h,最后以 $\text{TNF-}\alpha$ (30 ng/mL) 诱导细胞 30 min;PD 组先以 ERK 抑制剂 PD98059 50 $\mu\text{mol/L}$ 预处理细胞 30 min,再以 PAE 80 $\mu\text{mol/L}$ 预处理细胞 2 h,最后以 $\text{TNF-}\alpha$ (30 ng/mL) 诱导细胞 30 min;处理结束后裂解蛋白,同前以 Western blot 法检测蛋白 I $\kappa\text{B}\alpha$ 的表达。ECL 发光,化学发光仪检测信号,采用 Image J 软件分析灰度值,以 β -actin 作为内参,计算目标蛋白与 β -actin 的灰度比值进行统计分析。各实验均重复 3 次。

4.8 统计学方法 采用 SPSS 18.0 统计软件

包进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 方差齐性检验后, 组内多组计量资料采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 *Bonferroni* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组 ICAM-1 蛋白表达比较(图 1) 与正常组比较, TNF- α 组 ICAM-1 蛋白表达明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。与 TNF- α 组比较, PAE 高浓度组 ICAM-1 表达受到显著抑制($P < 0.05$), PAE 低、中浓度组也表现出一定的抑制作用, 但差异无统计



注: A 为正常组; B 为 TNF- α 组; C 为 PAE 低浓度组; D 为 PAE 中浓度; E 为 PAE 高浓度组; 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与 TNF- α 组比较, $^{\Delta}P < 0.05$

图 1 各组 ICAM-1 蛋白表达

学意义($P > 0.05$)。

2 各组 NF- κ B 核转位结果比较(图 2) 正常组 AEC 中 NF- κ B/p65 信号主要位于胞浆中, TNF- α 组在 TNF- α 刺激 45 min 可诱导 NF- κ B/p65 由胞浆向细胞核转位, 而 PAE 高浓度组可显著抑制 TNF- α 诱导的 NF- κ B/p65 核转位。

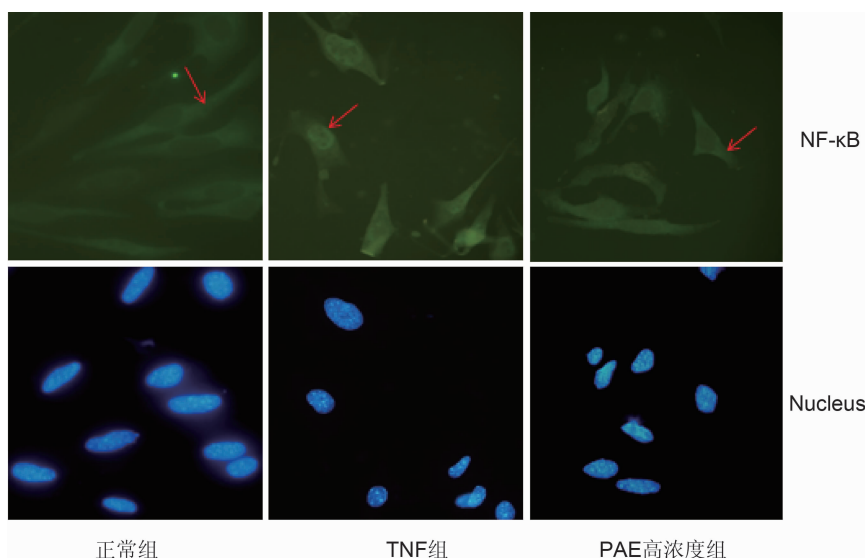
3 各组 I κ B α 蛋白表达水平比较(图 3) 与正常组比较, TNF- α 组 I κ B α 表达水平下降, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。PAE 高浓度组可显著抑制 TNF- α 诱导的 I κ B α 蛋白降解($P < 0.01$)。

4 各组 ph-p38 及 ph-ERK 蛋白表达水平比较(图 4) 与正常组比较, PAE 高浓度组可诱导细胞中 ph-p38 及 ph-ERK 蛋白表达水平明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

5 各组 ph-p38 抑制剂干预后 I κ B α 蛋白表达水平比较(图 5) 与正常组比较, TNF- α 组 I κ B α 表达水平下降, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。与 TNF- α 组比较, PAE 高浓度组 TNF- α 诱导的 I κ B α 蛋白降解显著抑制($P < 0.01$), SB 组 PAE 对 I κ B α 蛋白降解的抑制作用显著阻断($P < 0.05$), 而 PD 组则无抑制。

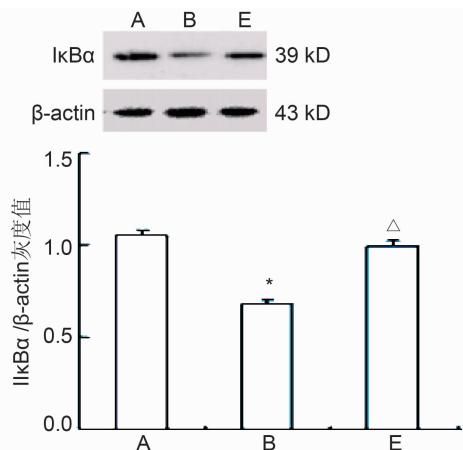
讨 论

近年来的研究结果显示, AS 的发生、发展和转归与机体的慢性炎症性疾病和免疫失调存在密切关系^[8]。TNF- α 是由单核细胞和血管内皮细胞分泌的体内最



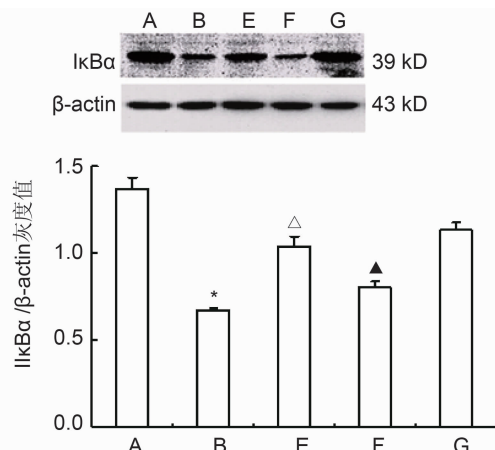
注: 箭头所指为 NF- κ B/p65 信号

图 2 PAE 抑制 TNF- α 诱导的 NF- κ B 核转位 (免疫荧光法, $\times 200$)



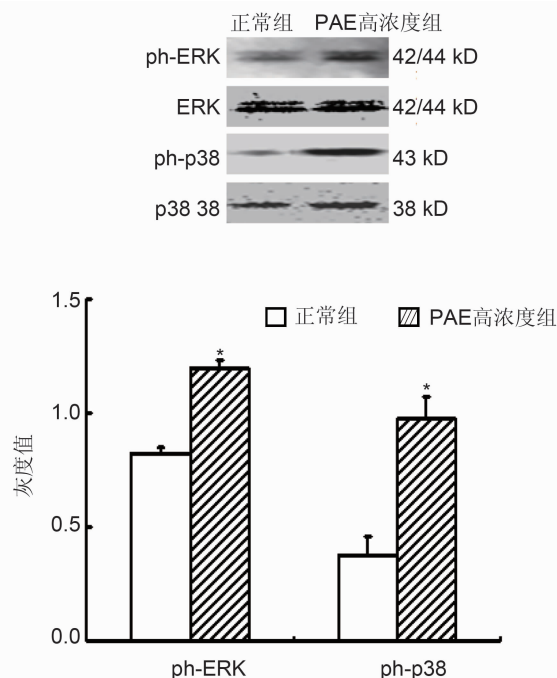
注:A 为正常组;B 为 TNF-α 组;E 为 PAE 高浓度组;与正常组比较,* $P < 0.01$,与 TNF-α 组比较,[△] $P < 0.01$

图 3 PAE 抑制 TNF-α 诱导的 IκBα 蛋白降解



注:A 为正常组;B 为 TNF-α 组;E 为 PAE 高浓度组;F 为 SB 组;G 为 PD 组;与正常组比较,* $P < 0.01$;与 TNF-α 组比较,[△] $P < 0.01$;与 PAE 高浓度比较,[▲] $P < 0.05$

图 5 磷酸化 p38 抑制剂对 PAE 干预后 IκBα 蛋白表达水平比较



注:与正常组比较,* $P < 0.05$

图 4 PAE 对 ph-p38 和 ph-ERK 的磷酸化激活作用

因子诱导的神经毒性小胶质细胞炎症反应及脂多糖诱导的 NO、TNF-α、IL-1 在小胶质细胞中的产生,指出芍药苷的神经保护作用源于其能够抑制神经细胞中炎症因子的产生。

本实验发现,在离体培养的内皮细胞中,PAE 能够显著抑制 TNF-α 诱导、TNFR1 介导的 IκBα 降解、NF-κB 核转位和 ICAM-1 的表达,从而抑制 TNFR1/NF-κB 信号通路。这些结果与之前 Guo RB 等^[13]报告的 PAE 对神经系统炎症的保护作用和 Jin L 等^[6]报告的 PAE 对 TNF-α 诱导人单个核细胞中黏附分子表达的抑制作用相一致。由此提示抑制 TNFR1/NF-κB 信号通路可能是 PAE 发挥抗炎作用和内皮保护作用,进而干预 AS 发生、发展的重要靶环节。同时,研究结果表明 PAE 可诱导细胞中 p38 磷酸化激活,采用 p38 抑制剂可有效阻断 PAE 对 IκBα 蛋白降解的抑制作用,表明 PAE 可能通过激活 p38 而介导对 TNFR1/NF-κB 信号转导过程的抑制,其具体的分子机制仍有待进一步阐明。

本研究通过探讨 PAE 对 AEC 中 TNFR1/NF-κB 信号通路的抑制作用和分子机制,为活血化瘀中药赤芍在动脉粥样硬化治疗方面的应用提供了明确的实验室依据。同时本团队研究发现,活血化瘀中药红花的主要药效成分羟基红花黄色素 A 预处理 AEC 细胞与 PAE 有相同的抑制 TNFR1/NF-κB 信号通路作用^[14]。提示活血化瘀类中药在治疗动脉粥样硬化方面有着一致的作用机制,这将为活血化瘀类中药的药理研究开辟新的思路。

重要的促炎性细胞因子之一,显著存在于动脉粥样硬化患者的病灶中^[9]。在 AS 的发生、发展过程中 TNF-α 可参与血管内皮细胞的损伤、促进炎症细胞的聚集及炎性介质的释放,在动脉硬化斑块的形成和破裂中起重要的促进作用^[10]。Bransen L 等^[11]的研究显示,抑制 apoE^{-/-} 小鼠体内 TNF-α 的表达可显著降低早期 AS 的发生率。国内外研究显示芍药苷具有显著的抗炎作用,其机制与抑制炎性介质的产生及其信号转导有关^[3]。Nam KN 等^[12]报告芍药苷能够抑制炎症

参 考 文 献

- [1] 高铸焯, 张京春, 徐浩, 等. 用复杂网络挖掘分析冠心病证候-治法-中药关系[J]. 中西医结合学报, 2010, 8(3): 238-243.
- [2] 段文娟, 姜艳, 靳鑫, 等. 赤芍的化学成分研究[J]. 中国药物化学杂志, 2009, 19(1): 55-58.
- [3] Zhang W, Dai SM. Mechanisms involved in the therapeutic effects of *Paeonia lactiflora* Pallas in rheumatoid arthritis [J]. Int Immunopharmacol, 2012, 14(1): 27-31.
- [4] Zhang L, Connelly JJ, Peppel K, et al. Aging-related atherosclerosis is exacerbated by arterial expression of tumor necrosis factor receptor-1: evidence from mouse models and human association studies[J]. Hum Mol Genet, 2010, 19(14): 2754-2766.
- [5] Zhang L, Peppel K, Sivashanmugam P, et al. Expression of tumor necrosis factor receptor-1 in arterial wall cells promotes atherosclerosis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2007, 27(5): 1087-1094.
- [6] Jin L, Zhang LM, Xie KQ, et al. Paeoniflorin suppresses the expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in endotoxin treated human monocytic cells[J]. Br J Pharmacol, 2011, 164(2b): 694-703.
- [7] Liu QS, Wang HF, Sun AK, et al. A comparative study on inhibition of total astragalus saponins and astragaloside IV on TNFR1-mediated signaling pathways in arterial endothelial cells [J]. PLoS One, 2014, 9(7): e101504.
- [8] Libby P, Ridker PM, Hansson GK, et al. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice[J]. J Am Coll Cardiol, 2009, 54(23): 2129-2138.
- [9] Tedgui A, Mallat Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways [J]. Physiol Rev, 2006, 86(2): 515-581.
- [10] Kablak-Ziembicka A, Przewlocki T, Sokolowski A, et al. Carotid intima-media thickness, hs-CRP and TNF-alpha are independently associated with cardiovascular event risk in patients with atherosclerotic occlusive disease[J]. Atherosclerosis, 2011, 214(1): 185-190.
- [11] Branen L, Hovgaard L, Nitulescu M, et al. Inhibition of tumor necrosis factor- α reduces atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2004, 24(11): 2137-2142.
- [12] Nam KN, Yae CG, Hong JW, et al. Paeoniflorin, a monoterpene glycoside, attenuates lipopolysaccharide-induced neuronal injury and brain microglial inflammatory response [J]. Biotechnol Lett, 2013, 35(8): 1183-1189.
- [13] Guo RB, Wang GF, Zhao AP, et al. Paeoniflorin protects against ischemia-induced brain damage in rats via inhibiting MAPKs/NF κ B-mediated inflammatory responses [J]. PLoS One, 2012, 7(11): e49701.
- [14] 刘金连, 王海芳, 马淑慧, 等. 羟基红花黄色素 A 通过抑制动脉血管内皮细胞中 TNFR1/NF- κ B 信号通路而发挥抗炎作用[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2015, 31(7): 945-948.

(收稿:2014-05-20 修回:2015-07-10)