

· 基础研究 ·

龙蛭汤对衣霉素诱导人脐静脉内皮细胞内
GRP78 和 CHOP 的影响

蒙家泉 陈永斌 刘启华 何 泉 邹 玲

摘要 **目的** 探讨龙蛭汤对衣霉素(TM)诱导的人脐静脉内皮细胞(HUVEC)内质网应激及其标志蛋白葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78)和特异性蛋白 C 增强子结合蛋白同源蛋白(CHOP)表达的影响。**方法** 制备龙蛭汤含药血清,体外培养 HUVEC 细胞株,分为对照组(10%空白血清),TM 组(10%空白血清 + 3 $\mu\text{g/mL}$ TM),TM + 龙蛭汤组(10%含药血清 + 3 $\mu\text{g/mL}$ TM),龙蛭汤组(10%含药血清),继续培养 6 h。使用 CCK-8 法比较各组细胞活力,细胞免疫荧光法和 Western Blot 比较各组 GRP78 和 CHOP 蛋白表达,RT-PCR 法比较各组 GRP78 和 CHOP mRNA 表达。**结果** 与对照组比较,TM 组 HUVEC 细胞活力下降,GRP78、CHOP 蛋白及 mRNA 表达增加(均 $P < 0.05$);与 TM 组比较,TM + 龙蛭汤组、龙蛭汤组 HUVEC 细胞活力升高,GRP78、CHOP 蛋白及 mRNA 表达降低(均 $P < 0.05$)。**结论** 龙蛭汤可通过下调 GRP78、CHOP 表达,减轻细胞过度的内质网应激反应,提高 HUVEC 细胞活力。

关键词 龙蛭汤;人脐静脉内皮细胞;内质网应激;葡萄糖调节蛋白 78;特异性蛋白 C 增强子结合蛋白同源蛋白

Effect of Longzhi Decoction on Human Umbilical Endothelial Cells Induced by Tunicamycin Based on GRP78 and CHOP Expression MENG Jia-quan, CHEN Yong-bin, LIU Qi-hua, HE Quan, and ZOU Ling *Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning (530021)*

ABSTRACT **Objective** To investigate the effect of Longzhi Decoction (LZD) on endoplasmic reticulum stress of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) induced by Tunicamycin (TM) and the expression of corresponding marker proteins, glucose regulated protein 78 (GRP78) and C/EBP homologous protein (CHOP). **Methods** LZD containing Serum was prepared. HUVEC were cultured *in vitro* and divided into four groups: control group (10% blank serum), TM group (10% blank serum + 3 $\mu\text{g/mL}$ TM), TM + LZD group (10% LZD serum + 3 $\mu\text{g/mL}$ TM) and LZD group (10% LZD serum). Cells were cultured for 6 hours. The cell viability was assessed by CCK-8 method. The protein expressions of GRP78 and CHOP were evaluated by immunofluorescence and Western Blot. The mRNA expressions of GRP78 and CHOP were detected by RT-PCR. **Results** Compared with the control group, the cell viability was decreased, while the protein and mRNA expressions of GRP78 and CHOP were increased in TM group (all $P < 0.05$). Compared with the TM group, the cell viability was increased, while the protein and mRNA expressions of GRP78 and CHOP were decreased in TM + LZD and LZD groups ($P < 0.05$). **Conclusion** LZD can improve HUVEC cell activity by reducing excessive endoplasmic reticulum stress via down-regulating GRP78 and CHOP expression.

KEYWORDS Longzhi Decoction; human umbilical vein endothelial cells; endoplasmic reticulum stress; glucose regulated protein 78; C/EBP homologous protein

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 81560790)

作者单位: 广西医科大学第一附属医院中医科(南宁 530021)

通讯作者: 陈永斌, Tel: 0771-5356550, E-mail: cyb56569@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20190107.168

缺血性脑损伤是由于脑内动脉栓塞等因素造成局部供血障碍,以脑循环血流量减少为特征的中枢神经系统疾病,是临床上常见的危重病种之一^[1,2]。近年研究发现,该病可能与血管内皮细胞发生内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)有关,但机制尚未明确^[3]。适度的 ERS 是血管内皮细胞产生的一种自我保护功能,而过激烈或过长时间的 ERS 会诱发内皮细胞凋亡,导致内皮细胞大量坏死^[4]。

龙蛭汤是陈永斌教授治疗缺血性脑损伤的经验方。前期研究表明,可有效改善缺血性脑损伤患者的神经功能及临床症状^[5],具有保护、修复缺血灶受损血管,促进血管新生的作用^[6]。但龙蛭汤治疗缺血性脑损伤疾病的机制是否与调控大脑血管内皮细胞 ERS 有关,目前亦未明确。本研究探讨龙蛭汤含药血清对 ERS 状态下人脐静脉内皮细胞株(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)葡萄糖调节蛋白 78(glucose regulated protein 78, GRP78)及特异性蛋白 C 增强子结合蛋白同源蛋白(C/EBP homologous protein, CHOP)蛋白及 mRNA 表达的作用,为龙蛭汤治疗缺血性脑损伤提供实验依据。

材料与方法

1 细胞 HUVEC 购自上海中亚生物基因研究所,货号:#8000。

2 动物 6 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠(200 ± 20)g, 20 只,用于龙蛭汤含药血清制备。购自广西医科大学实验动物中心[许可证号:SCXK(桂)2014-0002],饲养于广西医科大学实验动物中心 SPF 级实验室[许可证号:SYXK(桂)2014-0003]。本研究严格遵循《赫尔辛基宣言》基本原则。

3 药物 龙蛭汤水煎剂组成:黄芪 120 g 当归 6 g 赤芍 4.5 g 川芎 3 g 红花 3 g 桃仁 3 g 地龙 3 g 水蛭 3 g 川牛膝 6 g,饮片购于广西医科大学第一附属医院中药房,水煎液浓缩至含生药 0.758 g/mL。

4 主要试剂及仪器 DMEM 高糖培养基(美国 HyClone 公司),货号:AAJ207791;0.25%胰蛋白酶溶液(美国 HyClone 公司),货号:NWT1028;胎牛血清(美国 Gibco 公司),货号:1414426;青链霉素混合液(中国北京 Solarbio 公司),货号:20160119;衣霉素(tunicamycin, TM, 中国北京 Solarbio 公司),货号:20160314;Triton X-100(中国北京 Solarbio 公司),货号:714D051;CCK-8 试剂盒(Cell Counting

Kit-8, 上海尚宝生物科技有限公司),货号:150402;总 RNA 提取试剂盒 RNAsimple Total RNA Kit(中国北京 TIANGEN 生化科技公司),货号:DP419;PrimeScript RT reagent Kit(宝日医生物技术大连 Takara 公司),货号:RR047A;FastStart Universal SYBR Green MasterROX(上海罗氏制药有限公司),货号:4913850001;4%多聚甲醛(中国 Boster 公司),货号:11D28C68;DAPI 染色液(中国 Boster 公司),货号:11E31C76;Anti-GRP78 Bip antibody(美国 Abcam 公司),货号:ab108615;CHOP Mouse mAb(美国 cell signaling 公司),货号:L63FT;Anti-mouse IgG(H+L, 美国 cell signaling 公司),货号:5946S;IRDye 800CW Secondary Antibodies(美国 Li-cor Biosciences 公司),货号:925-3211;Goat Anti-rabbit IgG/Cy3(北京 Bioss 公司),货号:bs-0295G-Cy3;Goat Anti-Mouse IgG/FITC(北京 Bioss 公司),货号:bs-0296G-FITC;Rabbit Anti β -actin(北京 Bioss 公司),货号:bs-10966R;RIPA 裂解液(中国 Beyotime 公司),货号:P0013B。连续光谱扫描式酶标仪(香港分子仪器公司),型号:Spectra Max Plus 384;超微量样本分光光度计(美国 Thermo Scientific 公司),型号:NanoDrop 2000;PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司),型号:T100;实时荧光定量 PCR 仪(美国 applied biosystems 公司),型号:ABI 7500 fast;倒置荧光显微镜(德国 Leica 公司),型号:DMIL-RF1;垂直电泳仪(德国 Biometra 公司),型号:ECO-MINI;红外荧光扫描成像系统(美国 Li-cor 公司),型号:Odyssey。

5 细胞培养 采用含 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培养基(含 100 U/mL 青霉素和 100 μ g/mL 链霉素),于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 细胞培养箱中培养。待培养瓶内细胞贴壁生长面积达 80%时,用 0.25 g/L 含 EDTA 的胰蛋白酶消化传代。选择第 2~8 代对数生长期且生长状态良好的细胞用于实验。PBS 清洗 2 次后分别加入各组相应培养基进行干预,于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 6 h 后进行相关检测实验。

6 含药血清制备 20 只大鼠以随机数字表法分成空白血清组和含药血清组各 10 只。含药血清组大鼠给予龙蛭汤水煎剂灌胃,给药量按人与大鼠体表面积等效剂量^[7],每次给予每克体重 0.01 mg,空白血清组给予等体积量生理盐水。除给药时间外,所有大鼠均 24 h 自由进食、饮水。每日早晚灌胃各 1 次,间隔 12 h,重复给药 3 天,第 4 天上午末次给药前 12 h 禁食不禁水,末次给药后 1 h 采集全部腹主动脉血,室

温静置 2 h 后 3 000 r/min 离心 10 min, 分离血清, 同组间混合, 于 56 ℃ 水浴 30 min 灭活, 0.22 μm 微孔过滤器过滤、分装, -20 ℃ 储存。

6 分组 将 HUVEC 分为 TM 组、TM + 龙蛭汤组、对照组、龙蛭汤组, 分别置于 10% 空白血清 + 3 μg/mL TM、10% 含药血清 + 3 μg/mL TM、10% 空白血清、10% 含药血清培养基培养 6 h。

7 CCK-8 法检测细胞活力 细胞重悬、计数、配制成浓度为 2.5×10^4 个/mL 的细胞悬液, 接种于 96 孔细胞培养板中, 每孔加入 100 μL 细胞悬液, 另设空白组(培养基内接种细胞数为 0), 每组设 5 个复孔, 96 孔板外圈加 100 μL/孔 PBS, 于 37 ℃、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 24 h; 弃去培养基, PBS 清洗 2 次, 每孔按分组分别加入 100 μL 相应培养基, 将 96 孔细胞培养板置于细胞培养箱中培养 6 h; 避光环境下, 96 孔板迅速加入 CCK-8 试剂, 每孔 10 μL, 置于细胞培养箱中避光孵育 3 h; 连续光谱扫描式酶标仪于波长 450 nm 处测定吸光度(OD 值)。细胞活力(%) = (实验组 OD 值 - 空白组 OD 值) / (对照组 OD 值 - 空白组 OD 值) × 100%。

8 细胞免疫荧光法检测 GRP78 及 CHOP 蛋白表达 细胞重悬、计数, 配制成浓度为 1×10^4 个/mL 的细胞悬液, 接种于 24 孔细胞培养板中, 每孔加入 1 mL 细胞悬液, 培养 24 h 后弃去培养基, PBS 清洗 2 次, 每孔按组分别加入 1 mL 相应培养基, 于 37 ℃、5% CO₂ 细胞培养箱中继续培养 6 h, 预冷的 4% 多聚甲醛固定 15 min, 含 4% 胎牛血清、0.1% Triton 的封闭液封闭 10 min, GRP78 组加入兔抗人单克隆抗体(1:200 稀释), 4 ℃ 孵育过夜, 充分洗涤后加入羊抗兔 Cy3 二抗(1:600 稀释), 常温孵育 1 h, DAPI 染核, 荧光显微镜下观察、拍照。CHOP 组加入鼠抗人单克隆抗体(1:1 000 稀释), 4 ℃ 孵育过夜, 充分洗涤后加入羊抗鼠 FITC 二抗(1:500 稀释), 常温孵育 1 h, DAPI 染核, 荧光显微镜(×400)下观察、拍照。

9 Western Blot 检测 GRP78 及 CHOP 蛋白表达 分组处理细胞后, 0.25 g/L 含 EDTA 的胰蛋白酶消化, 1 000 r/min 离心收集细胞, RAPI 裂解液抽提总蛋白, 测定蛋白浓度, 加入 5 × 蛋白上样缓冲液于 100 ℃ 水浴 5 min 将蛋白变性。每孔取 20 μg 蛋白上样于 SDS-PAGE 胶电泳, 将蛋白转移到 PDVF 膜上, 室温封闭 1 h, 加入稀释后的一抗, 一抗稀释浓度分别为兔抗人 GRP78(1:1 000)、鼠抗人 CHOP(1:1 000)、兔抗人 β-actin(1:5 000), 4 ℃ 摇床孵育过夜, TBST 洗膜, 加入二抗避光室温孵育 1 h, 红外激光

成像系统扫膜并分析数据, 目标蛋白灰度值与 β-actin 灰度值之比反映蛋白表达情况。

10 RT-PCR 检测 GRP78 及 CHOP mRNA 表达 总 RNA 提取试剂盒(离心柱型)提取各组细胞总 RNA, 并用核酸蛋白分析仪测定 OD₂₆₀/OD₂₈₀, 分析其纯度。逆转录按照 RT reagent Kit 试剂盒操作说明, 20 μL 反应体系下将 RNA 逆转录为 cDNA。RT-PCR 所用引物序列如下(Takara 公司设计并合成): GRP78: F: CCTAGCTGTGTCAGAATCTCCATCC, R: GTTTC AATGTCACCATCCAAGATCC, 80 bp; CHOP: F: AATCAGAGCTGGAACCTGAGGA, R: TGCTTTCA GGTGTGGTGTATG, 74 bp; β-actin: F: TGGCA CCCAGCACAAATGAA, R: CTAGTCATAGTCCGCCTAGAAGCA, 186 bp。荧光定量 PCR 采用 FastStart Universal SYBR Green Master (ROX) 进行操作。扩增体系: 2 × SYBR Green I Master 10 μL, PCR Forward Primer (10 μmol/L) 0.6 μL, PCR Reverse Primer (10 μmol/L) 0.6 μL, DNA 模板 2 μL, ddH₂O 6.8 μL, 总体积为 20 μL; 95 ℃ 10 min, 95 ℃ 15 s, 60 ℃ 1 min, 共 40 个循环。计算 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 反映目的基因的相对表达水平。 $\Delta Ct = Ct_{\text{目的基因}} - Ct_{\beta\text{-actin}}$, $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{处理组}} - \Delta Ct_{\text{对照组}}$ 。

11 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析, 结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异用单因素方差分析, 组间两两比较用 SNK 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组细胞活力比较(表 1) 与对照组比较, TM 组细胞活力下降($P < 0.05$); 与 TM 组比较, TM + 龙蛭汤组、龙蛭汤组细胞活力提高($P < 0.05$)。

表 1 各组细胞活力比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

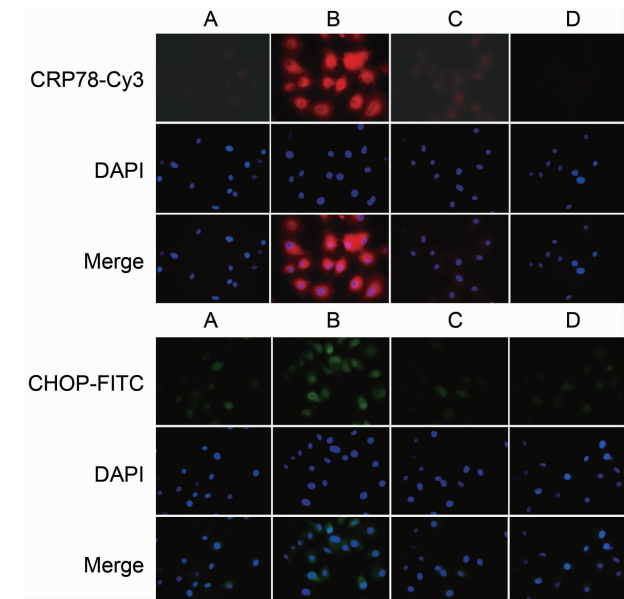
组别	n	细胞活力
对照	5	100.00 ± 0.00
TM	5	61.17 ± 4.16 *
TM + 龙蛭汤	5	75.70 ± 3.40 [△]
龙蛭汤	5	115.62 ± 3.82 [△]

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 TM 组比较, [△] $P < 0.05$

2 各组 GRP78 及 CHOP 蛋白表达(图 1、2, 表 2) GRP78 及 CHOP 蛋白在细胞质中表达为主。与对照组比较, TM 组的 GRP78、CHOP 蛋白荧光强度均明显增强。与 TM 组比较, TM + 龙蛭汤组、龙蛭汤组 GRP78、CHOP 蛋白荧光强度均减弱。与对照组比

较, TM 组 GRP78 及 CHOP 蛋白表达量升高 ($P < 0.05$); 与 TM 组比较, TM + 龙蛭汤组、龙蛭汤组 GRP78 及 CHOP 蛋白表达量降低 ($P < 0.05$)。

3 各组 GRP78 及 CHOP mRNA 表达比较(表 3) 与对照组比较, TM 组 GRP78 及 CHOP mRNA 相对表达量升高 ($P < 0.05$); 与 TM 组比较, TM + 龙蛭汤组、龙蛭汤组 GRP78 及 CHOP mRNA 相对表达量降低 ($P < 0.05$)。



注: Cy3 红色荧光标记 GRP78 蛋白, DAPI 蓝色荧光标记细胞核, FITC 绿色荧光标记 CHOP 蛋白, Merge 为叠加组合图像; A 为对照组, B 为 TM 组, C 为 TM + 龙蛭汤组, D 为龙蛭汤组

图 1 各组细胞免疫荧光显微镜观察结果 (×400)

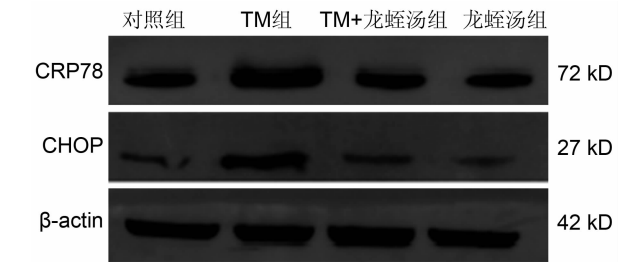


图 2 各组细胞 GRP78 与 CHOP 蛋白电泳图

表 2 各组细胞 GRP78 与 CHOP 蛋白相对表达比较 ($\bar{x} \pm s$)			
组别	n	GRP78	CHOP
对照	5	0.61 ± 0.16	0.13 ± 0.03
TM	5	1.18 ± 0.32	0.42 ± 0.09 *
TM + 龙蛭汤	5	0.71 ± 0.20 [△]	0.15 ± 0.02 [△]
龙蛭汤	5	0.56 ± 0.19 [△]	0.12 ± 0.05 [△]

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 TM 组比较, [△] $P < 0.05$

表 3 各组细胞 GRP78 与 CHOP mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	GRP78	CHOP
对照	6	1.00 ± 0.05	1.00 ± 0.09
TM	6	1.52 ± 0.16 *	1.58 ± 0.06 *
TM + 龙蛭汤	6	1.33 ± 0.08 * [△]	1.11 ± 0.07 [△]
龙蛭汤	6	0.61 ± 0.05 * [△]	0.54 ± 0.07 * [△]

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 TM 组比较, [△] $P < 0.05$

讨 论

ERS 是细胞内质网在缺血再灌注损伤、钙代谢紊乱、氧化应激、细胞能量水平下降、异常糖基化反应等各种生理和病理因素刺激下所产生的应激反应,是目前生物学领域研究的热点之一^[8]。血管内皮细胞是血管壁的屏障,具有保持血流通畅、调节血管活性、进行物质交换等多种重要功能,在各种生理病理过程中都发挥着极大作用^[9]。血管内皮细胞对刺激敏感,在缺氧、损伤等因素的刺激下很容易诱导 ERS,而过度的 ERS 则会启动细胞凋亡而造成血管损伤^[10]。在缺血性脑损伤疾病发生发展的过程中,血管内皮细胞的损伤会使局部微循环失调^[11],使局部供血供氧不足^[12],再加上损伤后内皮细胞的变性坏死、各种代谢产物堆积以及炎症因子释放等一系列的反应,进一步加重局部脑组织细胞的损伤^[13]。研究表明,血管的新生可以加速缺血区侧支循环的建立,改善局部供血,提高受累组织细胞的营养供给,改善缺血组织微环境,减少变性坏死和凋亡,加速神经功能修复^[14, 15]。因此,在缺血性脑损伤的治疗过程中,可以通过减少血管内皮细胞的损伤,加速血管内皮细胞的修复,从而促进血管新生,改善症状^[16]。

龙蛭汤是在补阳还五汤的基础上加川牛膝、水蛭而成^[17]。补阳还五汤以补气通络之法,多用于缺血性脑损伤恢复期的治疗。相较于补阳还五汤原方活血药力的不足,加入了破血逐瘀消癥之水蛭与逐瘀通经、引药下行之川牛膝,增强了活血力度,使益气与活血并重,也可用于缺血性脑损伤急性期,扩大了应用范围,在临床治疗中取得良好疗效^[5]。本课题组前期研究表明,龙蛭汤具有保护、修复受损血管,促进血管新生的作用^[6]。HUVEC 是目前最常用、最容易控制的研究血管表型和血管新生机制的细胞模型^[18]。TM 是经典有效的 ERS 诱导剂^[19],主要通过干扰细胞内蛋白质 N-链糖基化,阻碍新合成的蛋白质的糖基化修饰,使细胞内质网上的蛋白质合成与修饰出现异常,大量的异常折叠的蛋白质积聚从而诱导产生 ERS^[20, 21]。因此,本研究中,利用 TM 诱导 HUVEC

作为血管内皮细胞 ERS 模型,以龙蛭汤含药血清作为干预措施。结果显示,在 TM 诱导刺激下,HUVEC 细胞活力下降,经龙蛭汤干预后的细胞活力升高。由此表明,龙蛭汤含药血清可以提高 HUVEC 的细胞活力。

GRP78 是内质网中的分子伴侣^[22]。在非 ERS 状态下,GRP78 与蛋白激酶样 ER 激酶 (protein kinase-1like ER kinase,PERK)、肌醇需求酶 1 (inositolrequiringenzyme 1,IRE1) 以及转录激活因子 6 (activating transcription 6,ATF6) 三种蛋白结合,以复合物的形式存在^[23, 24]。在 ERS 状态时,GRP78 与它们解离并激活^[25]。CHOP 是一种细胞应激相关蛋白,也是 ERS 过程中重要的中间信号分子^[26]。过长时间或过激烈的 ERS 会激活 CHOP 凋亡信号,启动相关细胞凋亡通路。CHOP 的激活可以使细胞内信号由促使细胞生存向促使细胞凋亡转换,诱导细胞凋亡^[27]。本实验研究结果表明,TM 诱导 HUVEC 可上调 GRP78、CHOP 的表达水平;而龙蛭汤含药血清可以有效下调 HUVEC GRP78、CHOP 的蛋白和基因的表达,抑制细胞 ERS 的过度反应,降低细胞损伤,从而保护 HUVEC。

综上所述,龙蛭汤治疗缺血性脑损伤的理论依据可能与其保护大脑血管内皮细胞、提高血管内皮细胞的活力有关。龙蛭汤可能通过下调血管内皮细胞 GRP78、CHOP 的表达来调控 ERS,从而降低细胞损伤,保护血管及局部神经组织。但哪些中药成分起效以及体内研究结果是否与体外研究结果一致? 尚待进一步研究探索。

利益冲突:无。

参 考 文 献

- [1] Hemphill JC 3rd, Greenberg SM, Anderson CS, et al. Guidelines for the management of spontaneous intracerebral hemorrhage: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association [J]. *Stroke*, 2015, 46(7): 2032–2060.
- [2] Fann DY, Lee SY, Manzanero S, et al. Pathogenesis of acute stroke and the role of inflammasomes[J]. *Ageing Res Rev*, 2013, 12(4): 941–966.
- [3] Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease [J]. *Cell*, 2010, 140(6): 900–917.
- [4] Sano R, Reed JC. ER stress-induced cell death mechanisms [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833(12): 3460–3470.
- [5] 冯容, 张欣, 陈永斌. 龙蛭汤对气虚血瘀证急性脑梗死患者的临床疗效及作用机制研究[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2016, 23(3): 225–227.
- [6] 姜薇, 李若林, 陈永斌. 龙蛭汤对大鼠脑梗死模型梗死灶周围组织 VEGF 及 Flk-1 mRNA 表达的影响[J]. *广西医科大学学报*, 2014, 31(2): 192–196.
- [7] 张宏, 王旭昀, 刘美奇, 等. 中药含药血清实验动物灌胃给药剂量探讨[J]. *吉林中医药*, 2015, 35(6): 623–625.
- [8] Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(7): 519–529.
- [9] Heusschen R, Schulkens IA, van Beijnum J, et al. Endothelial LGALS9 splice variant expression in endothelial cell biology and angiogenesis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842(2): 284–292.
- [10] Tabas I, Ron D. Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress[J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(3): 184–190.
- [11] Dalkara T, Alarcon-Martinez L. Cerebral microvascular pericytes and neuroglial vascular signaling in health and disease[J]. *Brain Res*, 2015, 1623: 3–17.
- [12] Christoph M, Ibrahim K, Hesse K, et al. Local inhibition of hypoxia-inducible factor reduces neointima formation after arterial injury in ApoE-/- mice[J]. *Atherosclerosis*, 2014, 233(2): 641–647.
- [13] An C, Shi Y, Li P, et al. Molecular dialogs between the ischemic brain and the peripheral immune system: dualistic roles in injury and repair [J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 115: 6–24.
- [14] Liu J, Wang Y, Akamatsu Y, et al. Vascular remodeling after ischemic stroke: mechanisms and therapeutic potentials[J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 115: 138–156.
- [15] Yang Y, Thompson J F, Taheri S, et al. Early inhibition of MMP activity in ischemic rat brain promotes expression of tight junction proteins and angiogenesis during recovery[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, 33(7): 1104–1114.
- [16] Zeng L, He X, Wang Y, et al. MicroRNA-210 overexpression induces angiogenesis and neurogenesis in the normal adult mouse brain [J]. *Gene Ther*, 2014, 21(1): 37–43.
- [17] 蒙家泉, 陈永斌, 刘启华. 龙蛭汤方治疗缺血性中风的理论探源[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2017, 24(1): 104–106.
- [18] Wang J, Li G, Wang Y, et al. Suppression of tumor angiogenesis by metformin treatment via a mechanism linked to targeting of HER2/HIF-1 α /VEGF secretion axis [J]. *Oncotarget*,

- 2015, 6(42): 44579–44592.
- [19] Cheang WS, Tian XY, Wong WT, et al. Metformin protects endothelial function in diet-induced obese mice by inhibition of endoplasmic reticulum stress through 5' adenosine monophosphate-activated protein kinase-peroxisome proliferator-activated receptor delta pathway[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(4): 830–836.
- [20] Luo B, Lee A S. The critical roles of endoplasmic reticulum chaperones and unfolded protein response in tumorigenesis and anticancer therapies[J]. *Oncogene*, 2013, 32(7): 805–818.
- [21] Han J, Back SH, Hur J, et al. ER-stress-induced transcriptional regulation increases protein synthesis leading to cell death[J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(5): 481–490.
- [22] Cao SS, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in cell fate decision and human disease[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 21(3): 396–413.
- [23] Atkins C, Liu Q, Minthorn E, et al. Characterization of a novel PERK kinase inhibitor with antitumor and antiangiogenic activity[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(6): 1993–2002.
- [24] Binet F, Mawambo G, Sitaras N, et al. Neuronal ER stress impedes myeloid-cell-induced vascular regeneration through IRE1alpha degradation of netrin-1[J]. *Cell Metab*, 2013, 17(3): 353–571.
- [25] Yin J, Gu L, Wang Y, et al. Rapamycin improves palmitate-induced ER stress/NF kappa B pathways associated with stimulating autophagy in adipocytes [J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015: 272313.
- [26] Yao C, Zhang J, Liu G, et al. Neuroprotection by (–)-epigallocatechin-3-gallate in a rat model of stroke is mediated through inhibition of endoplasmic reticulum stress [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 9(1): 69–76.
- [27] Liu D, Zhang M, Yin H. Signaling pathways involved in endoplasmic reticulum stress-induced neuronal apoptosis [J]. *Int J Neurosci*, 2013, 123(3): 155–162.

(收稿: 2017–10–28 在线: 2019–04–07)

责任编辑: 邱 禹

欢迎订阅 2019 年《中国中西医结合杂志》

《中国中西医结合杂志》是由中国科学技术协会主管、中国中西医结合学会和中国中医科学院主办的中西医结合综合性学术期刊。1981 年创刊,由中国科学院院士陈可冀教授担任总编辑。设有述评、专家论坛、专题笔谈、临床论著、基础研究、临床报道、综述、学术探讨、思路与方法学、临床试验方法学、病例报告、中医英译、会议纪要等栏目。本刊多次获国家科委、中宣部、新闻出版署及国家中医药管理局颁发的全国优秀期刊奖;2001 年被新闻出版署评为“双效期刊”,列入中国期刊方阵;2002—2017 年 15 次被评为“百种中国杰出学术期刊”;2012—2017 年连续评为“中国最具国际影响力学术期刊”;3 次获中国科协择优支持基础性和高科技学术期刊专项资助;4 次获“国家自然科学基金重点学术期刊专项基金”资助;4 次获“中国科协精品科技期刊工程项目期刊”,2018 年共计 22 篇论文入选“F5000 中国精品科技期刊顶尖学术论文”;2015 年 5 月荣获中国科协精品科技期刊 TOP 50 项目;2018 年入选“中文科技期刊精品建设计划”。本刊被多种国内外知名检索系统收录,如:中国科学引文数据库、中国生物医学文献数据库、美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、日本《科学技术文献速报》(JST)、美国《乌利希期刊指南》(Ulrich's PD)、波兰《哥白尼索引》(IC)、英国《国际农业与生物科学研究中心》(CABI)、WHO 西太平洋地区医学索引(WPRIM)等;为中国科技论文统计源期刊、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊,被编入北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》,每年影响因子及总被引频次在中西医结合期刊中均名列前茅。

《中国中西医结合杂志》为大 16 开本,月刊,128 页;铜版纸印刷,彩色插图。国内定价:30.00 元/期。全年定价:360.00 元。国际标准刊号:ISSN 1003–5370,国内统一刊号:CN 11–2787/R,国内邮发代号:2–52,国外代号:M640。国内外公开发售,在各地邮局均可订阅,也可直接汇款至本社邮购。

地址:北京市海淀区西苑操场 1 号,中国中西医结合杂志社,邮政编码:100091;电话:010–62886827,62876547,62876548;传真:010–62876547–815;E-mail: cjim@cjim.cn;网址: <http://www.cjim.cn>。