

柚皮苷抗高糖诱导的心肌细胞损伤作用与抑制 STAT3 通路有关

刘付贞¹, 潘德茂², 陈景福³, 郭润民³, 闫海³, 田丽红³, 吴铿³

(1. 广东医学院附属医院内分泌科, 广东省湛江市 524001; 2. 中山大学附属第一医院黄埔院区内科, 广东省广州市 510700; 3. 广东医学院附属医院心内科, 广东省湛江市 524001)

[关键词] 柚皮苷; 高血糖; 信号转导子和转录激活子 3; 心肌细胞; 活性氧

[摘要] **目的** 探讨柚皮苷是否通过抑制信号转导子和转录激活子 3(STAT3) 通路保护 H9c2 心肌细胞对抗高糖引起的损伤。**方法** 应用 35 mmol/L 的高浓度葡萄糖(高糖, HG) 处理 H9c2 心肌细胞 24 h, 建立 HG 损伤心肌细胞模型; 细胞计数试剂盒 8 测定细胞存活率; Hoechst 33258 核染色荧光显微镜照相法测定细胞凋亡; 双氯荧光素染色/荧光显微镜照相法测定胞内活性氧(ROS) 水平; 罗丹明 123 染色法测定线粒体膜电位(MMP); Western blot 法测定 STAT3 蛋白表达水平。**结果** HG 处理 H9c2 心肌细胞 24 h 能引起明显的损伤, 使细胞存活率降低, 凋亡细胞数量和胞内 ROS 生成增多, MMP 丢失; HG 能增加 STAT3 磷酸化水平; 柚皮苷预处理能明显抑制 HG 上调 STAT3 磷酸化水平这一作用; 柚皮苷和 STAT3 通路抑制剂 AG490 能阻断 HG 对心肌细胞的上述损伤作用, 包括细胞毒性、凋亡、ROS 生成增多及 MMP 丢失等。**结论** 柚皮苷可通过抑制 STAT3 通路保护 H9c2 心肌细胞对抗高糖引起的损伤。

[中图分类号] R96

[文献标识码] A

Naringin Protects H9c2 Cardiac Cells Against High Glucose-induced Injury by Inhibiting STAT3 Pathway

LIU Fu-Zhen¹, PAN De-Mao², CHEN Jing-Fu³, GUO Run-Min³, YAN Hai³, TIAN Li-Hong³, and WU Keng³

(1. Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhanjiang, Guangdong 524001, China; 2. Department of Internal Medicine, Huangpu Division of the First Affiliated Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou, Guangdong 510700, China; 3. Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhanjiang, Guangdong 524001, China)

[KEY WORDS] Naringin; Hyperglycemia; Signal Transducer and Activator of Transcription 3; Cardiomyocyte; Reactive Oxygen Species

[ABSTRACT] **Aim** To explore whether naringin (NRG) protects H9c2 cardiac cells against high glucose (HG)-induced injury by inhibition of signal transducers and activators of transcription 3 (STAT3) pathway. **Methods** H9c2 cardiac cells were treated with 35 mmol/L glucose (HG) for 24 h to establish a model of HG-induced injury; Cell counter kit-8 (CCK-8) was used to measure cell viability; Apoptotic cells were tested by Hoechst 33258 nuclear staining followed by fluorescence imaging; Intracellular levels of reactive oxygen species (ROS) were detected by 2', 7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA) staining, followed by fluorescence imaging; Mitochondrial membrane potential (MMP) was measured by a fluorescent dye, rhodamine 123 (Rh123), followed by fluorescence imaging; The expression levels of STAT3 protein were detected by Western blot assay. **Results** Treatment of H9c2 cardiac cells with HG for 24 h significantly induced injuries, evidenced by a decrease in cell viability, increases in amount of apoptotic cells and intracellular ROS production, as well as a loss of MMP; HG enhanced the expression of phosphorylated (p)-STAT3; Pretreatment with NRG markedly inhibited the up-regulation of expression of p-STAT3 induced by HG; Pretreatment with NRG or AG490, an inhibitor of STAT3 pathway, attenuated the above HG-induced injuries, including cytotoxicity, apoptosis, increase in ROS

[收稿日期] 2013-12-02

[基金项目] 湛江市财政资金科技专项竞争性分配项目(湛科[2011]号); 广东省重大科技专项(2012A080202020)

[作者简介] 刘付贞, 主任医师, 研究方向为糖尿病及其并发症的基础与临床, E-mail 为 13531023236@21cn.com。陈景福, 硕士研究生, 研究方向为心血管疾病的损伤与保护机制, E-mail 为 chenjf_gdmc@163.com。通讯作者吴铿, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为心血管疾病的损伤与保护机制, E-mail 为 wukeng1245@hotmail.com。

production and a loss of MMP, in H9c2 cardiac cells. HG-induced injuries by inhibiting the STAT3 pathway.

Conclusion NRG may protect H9c2 cardiac cells against the

柚皮苷(naringin, NRG)是一种双氢黄酮类化合物,主要存在于葡萄柚、酸橙等的果皮及果实中,也是中药骨碎补、枳实等的有效成分。近年,NRG在保护心肌细胞对抗高糖(high glucose, HG)引起的损伤中的作用引起学者的关注。NRG具有抗氧化、抗炎症、抗凋亡、降血糖及心肌保护作用^[1-3]。最近,我们证实NRG可通过抑制p38丝裂素活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38MAPK)通路保护心肌细胞对抗高糖引起的损伤^[4]。但是,NRG能否通过调控信号转导子和转录激活子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)通路对抗高糖引起的心肌细胞损伤,尚未见报道。近年,STAT3通路在糖尿病并发症(如糖尿病肾病^[5]和糖尿病视网膜膜病^[6])中的作用日益受到重视,STAT3是Janus激酶(Janus kinase, JAK)-STAT3信号通路的一个成员,生物功能很广泛。STAT3在细胞增殖、分化、凋亡^[7]、心肌保护^[8]及肿瘤发生发展^[9]中起重要的作用。在链脲霉素(streptozotocin, STZ)诱导的糖尿病大鼠,高血糖可通过激活JAK/STAT通路诱发糖尿病肾病^[5]。但是,STAT3在高血糖引起的心肌细胞损伤中的作用及其作用机制迄今尚未明了。为此,本研究应用35 mmol/L葡萄糖处理H9c2心肌细胞24 h以建立高糖损伤模型,旨在探讨:(1)高糖对心肌细胞p-STAT3表达的影响;(2)STAT3通路在高糖损伤心肌细胞中的作用;(3)NRG能否通过调控STAT3通路保护心肌细胞对抗高糖引起的损伤,以便为深入阐明NRG的心肌保护作用及其机制提供新的实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

NRG、双氯荧光素(2', 7'-dichlorofluorescein-diacetate, DCFH-DA)、Hoechst 33258、罗丹明123(rhodamine 123, Rh123)和AG490购自美国Sigma-Aldrich公司。细胞计数试剂盒8(cell counter kit-8, CCK-8)购自日本Dojindo Lab公司。DMEM-F12培养基购于美国Hyclone公司,特级胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自美国Gibco BRL公司。抗p-STAT3抗体和抗STAT3抗体购自美国Cell Signaling technology公司。H9c2心肌细胞由中山大学实验动物中心提供。

1.2 细胞培养与实验分组

H9c2心肌细胞来源于大鼠胚胎期心脏组织,培养于含10%胎牛血清的DMEM-F12培养基,置于5% CO₂、37℃的温箱中。实验分为6组:①对照组:无血清培养基处理24 h;②高糖组:35 mmol/L葡萄糖处理24 h;③NRG+高糖组:80 μmol/L NRG作用H9c2心肌细胞2 h,撤去,用PBS洗2次,接着35 mmol/L葡萄糖作用24 h;④AG490+高糖组:10 μmol/L AG490作用H9c2心肌细胞30 min,撤去,用PBS洗2次,接着35 mmol/L葡萄糖作用24 h;⑤NRG组:80 μmol/L NRG作用H9c2心肌细胞2 h;⑥AG490组:10 μmol/L AG490作用H9c2心肌细胞30 min。

1.3 细胞存活率的测定

将H9c2心肌细胞接种于96孔培养板中,心肌细胞生长到占培养孔面积大约80%时,上述各实验组经不同的处理因素后,于每孔中加入10 μL CCK-8和90 μL DMEM-F12,轻摇,37℃孵育2.5 h,用酶标仪(λ=450 nm)记录各孔吸光度(absorbance, A)。取5孔A值的平均数,按下列公式计算细胞存活率:细胞存活率(%)=处理组A值/对照组A值×100%。实验重复3次。

1.4 Hoechst 33258核染色法测定细胞凋亡

将H9c2心肌细胞接种于24孔培养板中,在细胞生长到占培养孔面积大约80%时,上述各实验组经不同的处理因素后,弃去培养基,PBS冲洗3次,然后用4%多聚甲醛于4℃环境中固定10 min,PBS冲洗3次,加入含5 mg/L Hoechst 33258试剂,于37℃温箱孵育30 min,然后用PBS冲洗3次。在荧光显微镜(TE-2000型,日本Nikon公司)下摄片,染色质呈均匀分布,核被染成均匀蓝色的细胞被认为是正常的心肌细胞,如细胞核呈浓缩、碎裂的明亮蓝色细胞则被认为是凋亡的心肌细胞;随机选取视野在荧光显微镜下摄片。

1.5 细胞内活性氧的检测

将H9c2心肌细胞接种于24孔培养板中,当细胞生长到培养孔面积大约80%时,上述各实验组经不同的处理因素后,PBS冲洗3次,用10 μmol/L DCFH-DA染液于37℃温箱中孵育30 min,然后用PBS冲洗3次。在荧光显微镜下随机选取5个不重复区摄片,用ImageJ 1.41软件分析5个视野绿色荧光强度的平均值,再对每组的各样本进行统计分析。

1.6 线粒体膜电位的测定

Rh123 是一种能够被线粒体所吸收的荧光染料,线粒体对其摄取能力取决于其跨膜电位。根据荧光强度可以间接反映线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)的高低。将 H9c2 心肌细胞接种于 24 孔培养板中,当细胞生长到培养孔面积大约 80% 时,上述各实验组经不同的处理因素后, PBS 冲洗 3 次,用含 10 $\mu\text{g/L}$ Rh123 的无血清培养基于 37 $^{\circ}\text{C}$ 温箱中孵育 45 min,然后用 PBS 冲洗 3 次。在荧光显微镜下随机选取 5 个不重复区摄片,细胞核周围绿色的亮点即为摄取了 Rh123 的线粒体。用 ImageJ 1.41 软件分析 5 个视野绿色荧光强度的平均值,再对每组的各样本进行统计分析。

1.7 Western blot 法检测 STAT3 蛋白的表达水平

将 H9c2 心肌细胞接种于 35 mm 培养皿中,培养至 80% 满时,各实验组给予不同的处理因素后,用预冷的 PBS 洗 3 次,加入裂解液,4 $^{\circ}\text{C}$ 静置 30 min, 12000 r/min 离心 10 min,取上清,然后采用 BCA 法进行蛋白定量。总蛋白经十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)分离后,转移到二氟化树脂(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上。用 5% 脱脂奶粉封闭 60 min,随后分别加入抗 p-STAT3 抗体(1:1000)、抗 STAT3 抗体(1:1000),4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,然后用 TBST 洗 3 次,每次 5 min。将 PVDF 膜用发光试剂 ECL 显色,暗室曝光到 X 线片上,凝胶成像系统扫描分析结果。

1.8 统计学处理

实验数据用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,所有结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),用 LSD-t 进行均数之间的比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 高糖增加心肌细胞 STAT3 磷酸化水平

应用 35 mmol/L 的高浓度葡萄糖(HG)分别处理 H9c2 心肌细胞 3~24 h 后,观察其对 STAT3 磷酸化表达水平的影响。其中当 HG 作用心肌细胞 6 h, STAT3 磷酸化水平开始明显增多, HG 作用心肌细胞 12 h, STAT3 磷酸化水平达到高峰($P < 0.01$); 作用 24 h 时, STAT3 磷酸化水平有所降低,但与对照组比较,差异仍然显著($P < 0.05$) (图 1)。

2.2 柚皮苷抑制高糖对 STAT3 磷酸化的上调作用

应用 35 mmol/L 葡萄糖处理 12 h 可使心肌细

胞 STAT3 磷酸化水平显著升高($P < 0.01$)。但是,在 HG 处理心肌细胞前,应用 80 $\mu\text{mol/L}$ 柚皮苷预处理 2 h 可明显抑制 HG 上调 STAT3 磷酸化的作用,与高糖组比较,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。单独 80 $\mu\text{mol/L}$ NRG 处理 H9c2 心肌细胞 2 h 对 STAT3 磷酸化的基础表达水平无明显影响($P > 0.05$) (图 2)。

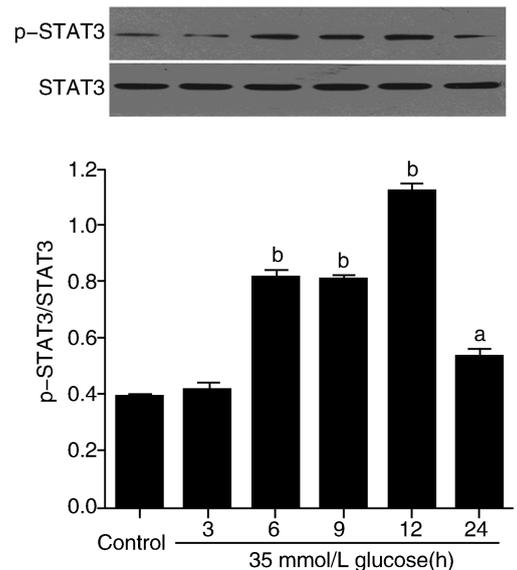


图 1. 高糖促进 H9c2 心肌细胞 STAT3 磷酸化水平 ($n = 3$) a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

Figure 1. High glucose up-regulates the expression of p-STAT3 in H9c2 cardiac cells ($n = 3$)

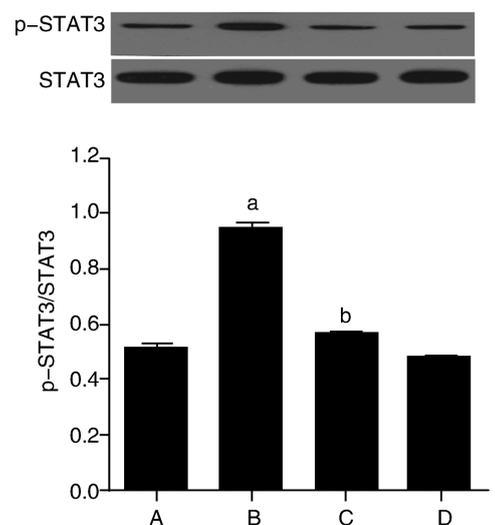


图 2. 柚皮苷抑制高糖上调心肌细胞 STAT3 磷酸化水平的作用 ($n = 3$) A 为对照组, B 为高糖组, C 为 NRG + 高糖组, D 为 NRG 组。a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与高糖组比较。

Figure 2. Naringin attenuates high glucose-induced upregulation of expression of p-STAT3 in H9c2 cardiac cells ($n = 3$)

2.3 柚皮苷和 STAT3 抑制剂抑制高糖引起的心肌细胞毒性

35 mmol/L 葡萄糖处理 H9c2 心肌细胞 24 h 可产生明显的细胞毒性作用,使细胞存活率降低至 $48.5\% \pm 1.1\%$,与对照组比较,差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。但是,在 HG 处理心肌细胞前,应用 80 $\mu\text{mol/L}$ NRG 预处理 2 h 可明显阻断 HG 引起的细胞毒性,使细胞存活率增加至 $70.5\% \pm 1.4\%$,与高糖组比较,有显著差异 ($P < 0.01$)。与 NRG 的抗细胞毒性作用相似,10 $\mu\text{mol/L}$ AG490 (STAT3 抑制剂)预处理 30 min 也能明显抑制 HG 引起的细胞毒性,使细胞存活率增加至 $75.6\% \pm 0.9\%$ ($P < 0.01$)。单独 NRG 或 AG490 预处理本身不引起细胞毒性(图 3)。

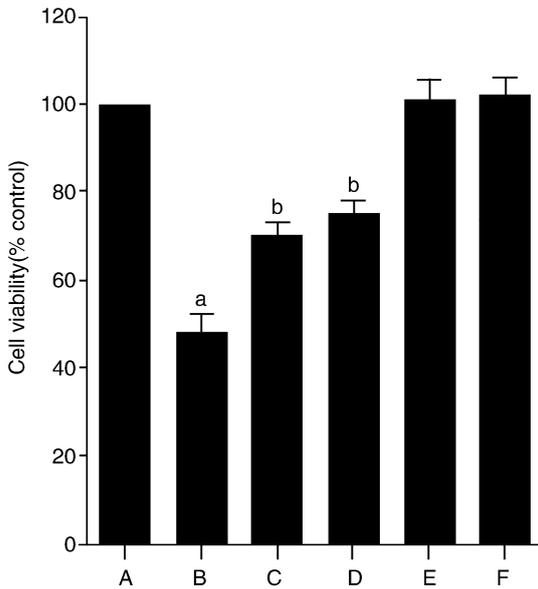


图 3. 柚皮苷和 STAT3 抑制剂对抗高糖引起的心肌细胞毒性 ($n=6$) A 为对照组, B 为高糖组, C 为 NRG + 高糖组, D 为 AG490 + 高糖组, E 为 NRG 组, F 为 AG490 组。a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与高糖组比较。

Figure 3. Naringin and STAT3 inhibitor alleviate the high glucose-induced cytotoxicity in H9c2 cardiac cells ($n=6$)

2.4 柚皮苷和 STAT3 抑制剂减轻高糖引起的心肌细胞凋亡

Hoechst 33258 染色的结果显示,应用 35 mmol/L 葡萄糖处理 H9c2 心肌细胞 24 h 使凋亡细胞明显增多,细胞凋亡率从 $7.3\% \pm 1.1\%$ (对照组)增加至 $48.7\% \pm 0.6\%$ ($P < 0.01$)。但是,在 HG 处理心肌细胞前,应用 80 $\mu\text{mol/L}$ NRG 预处理 2 h 可显著减轻 HG 的致凋亡作用,使细胞凋亡率降低至 $21.0\% \pm 1.5\%$,与高糖组比较,差异具有统计学意义 ($P <$

0.01)。与 NRG 的作用相似,10 $\mu\text{mol/L}$ AG490 预处理 30 min 也使细胞凋亡率降低至 $20.7\% \pm 1.3\%$ ($P < 0.01$)。单独 NRG 或 AG490 预处理本身不引起细胞凋亡(图 4)。

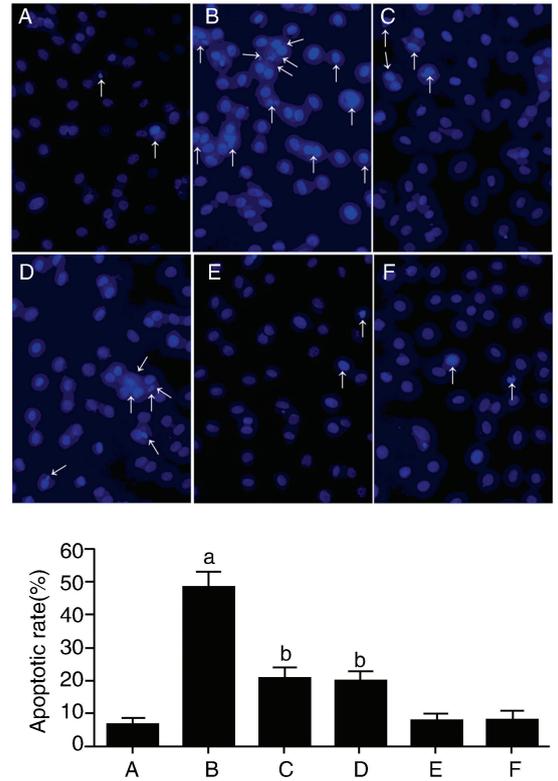


图 4. 柚皮苷和 STAT3 抑制剂减轻高糖引起的心肌细胞凋亡 ($n=6$) A 为对照组, B 为高糖组, C 为 NRG + 高糖组, D 为 AG490 + 高糖组, E 为 NRG 组, F 为 AG490 组。箭头所指为凋亡心肌细胞。a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与高糖组比较。

Figure 4. Naringin and STAT3 inhibitor ameliorate the high glucose-induced apoptosis in H9c2 cardiac cells ($n=6$)

2.5 柚皮苷和 STAT3 抑制剂抑制高糖引起的心肌细胞活性氧生成增多

35 mmol/L 葡萄糖处理 H9c2 心肌细胞 24 h 可使胞内 DCFH 的平均荧光强度 (mean fluorescence intensity, MFI) [MFI 间接反映活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平] 明显增多,与对照组比较,差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。然而,在 HG 处理心肌细胞前,应用 80 $\mu\text{mol/L}$ NRG 预处理 2 h 可使胞内 ROS 生成减少, MFI 从 $40.4\% \pm 1.2\%$ (高糖组)降低至 $22.9\% \pm 1.0\%$ ($P < 0.01$)。与 NRG 的作用相似,10 $\mu\text{mol/L}$ AG490 预处理 30 min 也能使 MFI 降低至 $22.7\% \pm 0.9\%$,与高糖组比较,差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。单独 NRG 或 AG490 预处理本身对胞内 ROS 生成无明显影响(图 5)。

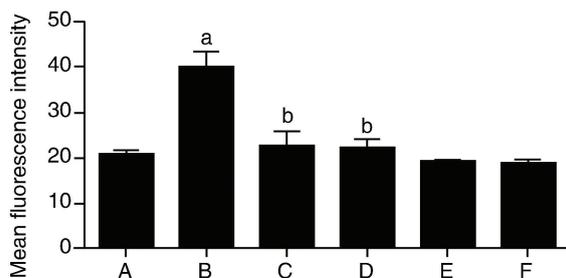
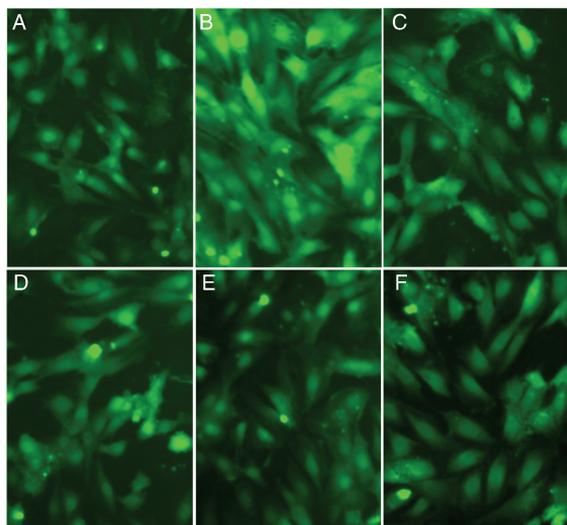


图 5. 柚皮苷和 STAT3 抑制剂抑制高糖引起的心肌细胞活性氧生成增多 ($n=6$) A 为对照组, B 为高糖组, C 为 NRG + 高糖组, D 为 AG490 + 高糖组, E 为 NRG 组, F 为 AG490 组。a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与高糖组比较。

Figure 5. Naringin and STAT3 inhibitor antagonize high glucose-induced increase in reactive oxygen species production in H9c2 cardiac cells ($n=6$)

2.6 柚皮苷和 STAT3 抑制剂减轻高糖诱导的心肌细胞线粒体膜电位丢失

35 mmol/L 葡萄糖处理 H9c2 心肌细胞 24 h 可使胞内 Rh123 的平均荧光强度 (MFI 也是反映线粒体膜电位大小的指标) 从 $11.5\% \pm 0.8\%$ (对照组) 降低至 $4.2\% \pm 0.5\%$, 与对照组比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。然而, 在 HG 处理心肌细胞前, 应用 $80 \mu\text{mol/L}$ NRG 预处理 2 h 可减轻线粒体损伤, Rh123 的 MFI 升高至 $9.2\% \pm 1.3\%$, 与高糖组比较, 有显著差异 ($P < 0.01$)。与 NRG 的作用相似, $10 \mu\text{mol/L}$ AG490 预处理 30 min 也使 Rh123 的 MFI 增加至 $8.3\% \pm 1.1\%$ ($P < 0.01$)。单独 NRG 或 AG490 预处理本身对心肌细胞的 MMP 大小无明显影响 (图 6)。

3 讨论

在高糖处理 H9c2 心肌细胞模型, 本研究观察

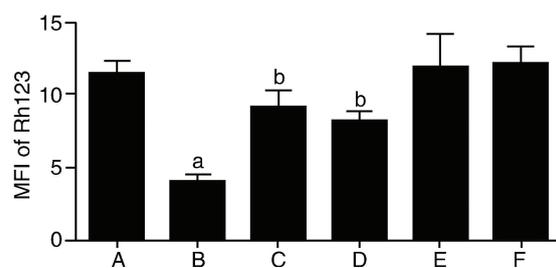
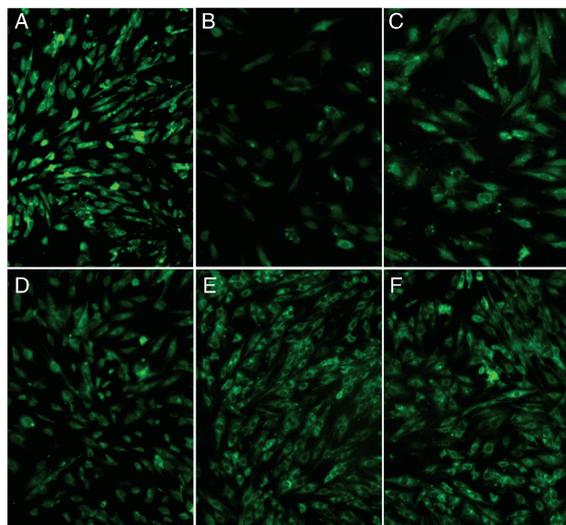


图 6. 柚皮苷和 STAT3 抑制剂减轻高糖诱导的心肌细胞线粒体膜电位丢失 ($n=6$) A 为对照组, B 为高糖组, C 为 NRG + 高糖组, D 为 AG490 + 高糖组, E 为 NRG 组, F 为 AG490 组。a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与高糖组比较。

Figure 6. Naringin and STAT3 inhibitor reduce the high glucose-induced mitochondrial membrane potential dissipation in H9c2 cardiac cells ($n=6$)

到高糖对心肌细胞具有多方面的损伤作用, 表现为细胞毒性 (使细胞存活率降低)、致细胞凋亡、损伤线粒体 (引起 MMP 降低) 及氧化应激 (胞内 ROS 生成增多), 这与之前的报道^[4,10-13] 相一致。

重要的是, 本文证实高糖能激活心肌细胞 STAT3 通路。STAT3 是具有重要信号转录调节功能的 STAT 家族的一个成员, 具有多种生物学功能, 如参与细胞增殖、分化与细胞凋亡^[7]。近年, 有报道指出, 在视网膜毛细血管内皮细胞^[6] 和肾小球细胞^[5], 高血糖能激活 STAT3 通路。因此, 结合本研究的结果, 我们推测高血糖是一个能激活 STAT3 的重要因素 (刺激物)。

为了进一步探讨 STAT3 通路在高糖引起的心肌细胞损伤中的作用, 本研究观察了 STAT3 通路抑制剂 AG490 对高糖诱导的心肌细胞损伤的影响。研究表明, AG490 能抑制高糖引起的心肌细胞损伤作用, 使细胞存活率升高, 凋亡细胞数量减少, MMP 丢失及胞内 ROS 生成减少, 提示 STAT3 通路

参与了高糖对心肌细胞的细胞毒性及致细胞凋亡、线粒体损伤及氧化应激作用。Banes 等^[5]报道,在 STZ 诱导的糖尿病大鼠模型,AG490 能抑制 STAT3 磷酸化,并减轻糖尿病肾病;本研究结果与此一致。另一方面,Zhang 等^[14]指出,STAT3 通路参与肝细胞胰岛素耐受的发生,可能与老年性痴呆患者出现 2 型糖尿病高发生率有关。因此,高血糖与 STAT 通路可能存在相互作用。至于激活的 STAT3 通路能否引起心肌细胞出现胰岛素耐受值得进一步研究。

值得注意的是,本研究小组近年证实 NRG 可通过抗氧化^[15]及抑制 p38MAPK 通路^[4]对抗高糖引起的心肌细胞损伤。本研究进一步证实,NRG 可抑制高糖引起的心肌细胞 p-STAT3 表达的上调作用,提示 NRG 可抑制心肌细胞 STAT3 通路。另一方面,我们也观察到 NRG 能明显抑制高糖引起的心肌细胞损伤,使细胞存活率升高,细胞凋亡率降低,ROS 生成减少及 MMP 丢失减轻,表明 NRG 的心肌保护机制可能是多方面的,如抗细胞毒性、抗凋亡、抗氧化应激及线粒体保护等。结合 STAT3 抑制剂 AG490 可产生类似于 NRG 的心肌保护作用,提示通过抑制 STAT3 通路可能是 NRG 对抗高糖引起心肌细胞损伤的一个重要机制。但是,NRG 对 STAT3 通路的上游信号分子(如瘦素)及下游靶点的作用如何,值得今后进一步探讨。

[参考文献]

[1] Jagetia GC, Reddy TK. The grapefruit flavanone naringin protects against the radiation-induced genomic instability in the mice bone marrow: a micronucleus study [J]. *Mutat Res*, 2002, 519(1-2): 37-48.

[2] Kanno S, Shouji A, Hirata R, et al. Effects of naringin on cytosine arabinoside (Ara-C)-induced cytotoxicity and apoptosis in P388 cells [J]. *Life Sci*, 2004, 75(3): 353-365.

[3] Rajadurai M, Stanely Mainzen Prince P. Preventive effect of naringin on cardiac markers electrocardiographic patterns and lysosomal hydrolases in normal and isoproterenol-induced myocardial infarction in Wistar rats [J]. *Toxicology*, 2007, 230(2-3): 178-188.

[4] Huang H, Wu K, You Q, et al. Naringin inhibits high glucose-induced cardiomyocyte apoptosis by attenuating mitochondrial dysfunction and modulating the activation of the p38 signaling pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 32(2):

396-402.

[5] Banes AK, Shaw S, Jenkins J, et al. Angiotensin II blockade prevents hyperglycemia-induced activation of JAK and STAT proteins in diabetic rat kidney glomeruli [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2004, 286(4): F653-F659.

[6] Zheng Z, Chen H, Zhao H, et al. Inhibition of JAK2/STAT3-mediated VEGF upregulation under high glucose conditions by PEDF through a mitochondrial ROS pathway in vitro [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51(1): 64-71.

[7] Huang S. Regulation of metastases by signal transducer and activator of transcription 3 signaling pathway: clinical implications [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(5): 1362-366.

[8] 沈诚, 范士志, 陈建明, 等. JAK/STAT 通路对培养小鼠心肌细胞模拟缺血/再灌注损伤的作用 [J]. *中国医师杂志*, 2006, 8(2): 145-147.

[9] 刘礼伟, 黎岳南, 郑晖. STAT3 的活化对霍奇金淋巴瘤细胞凋亡的调控作用 [J]. *中国医师杂志*, 2002, 4(9): 969-971.

[10] Kumar G, Murugesan AG, Rajasekara Pandian M. Effect of *Helicteres isora* bark extract on blood glucose and hepatic enzymes in experimental diabetes [J]. *Pharmazie*, 2006, 61(4): 353-355.

[11] 林春喜, 林建聪, 郭润民, 等. 硫化氢通过调控 JNK 通路对抗高糖诱导的心肌细胞氧化应激损伤 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2013, 21(1): 1-5.

[12] Mahmoud AM, Ashour MB, Abdel-Moneim A, et al. Hesperidin and naringin attenuate hyperglycemia-mediated oxidative stress and proinflammatory cytokine production in high fat fed/streptozotocin-induced type 2 diabetic rats [J]. *J Diabetes Complicat*, 2012, 26(6): 483-490.

[13] Xu W, Wu W, Chen J, et al. Exogenous hydrogen sulfide protects H9c2 cardiac cells against high glucose-induced injury by inhibiting the activities of the p38MAPK and ERK1/2 pathways [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 32(4): 917-925.

[14] Zhang Y, Zhou B, Zhang F, et al. Amyloid- β induces hepatic insulin resistance by activating JAK2/STAT3/SOCS-1 signaling pathway [J]. *Diabetes*, 2012, 61(6): 1434-443.

[15] 吴铿, 游琼, 黄瑞娜, 等. 柚皮苷调控心肌 PPAR γ 表达对实验性 2 型糖尿病心肌病大鼠模型心肌损伤的防治作用 [J]. *中国药理学通报*, 2012, 28(4): 526-530.

(此文编辑 曾学清)