

· 实验研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2017)25-03-0244-06

丹参酮ⅡA通过调节自噬小体对 ox-LDL 诱导内皮细胞氧化应激损伤的保护作用

张妮¹, 曹慧敏¹, 宋囡¹, 杨关林¹, 贾连群¹, 张哲²

(1. 辽宁中医药大学中医脏象理论及应用教育部重点实验室 辽宁省中医转化医学研究中心, 辽宁省沈阳市 110847; 2. 辽宁中医药大学附属医院, 辽宁省沈阳市 110032)

[关键词] 丹参酮ⅡA; 内皮细胞; 动脉粥样硬化; 氧化应激; 自噬小体

[摘要] **目的** 基于自噬小体形成信号通路探讨丹参酮ⅡA对 ox-LDL 诱导内皮细胞氧化应激损伤的保护作用及机制。**方法** 体外培养 EA.hy926 细胞, 随机分为正常组、模型组、丹参酮ⅡA组、丹参酮ⅡA+模型组、3-MA 组、模型+3-MA 组、丹参酮ⅡA+模型+3-MA 组。比色法检测各组细胞氧化应激损伤丙二醛(MDA)含量及超氧化物歧化酶(SOD)活力, Western blot 技术检测细胞自噬小体形成信号通路相关蛋白表达情况。**结果** 与正常组比较, 模型组 MDA 含量增高($P<0.01$), SOD 活力降低($P<0.01$), LC3-I/LC3-II 蛋白含量增多($P<0.01$); 3-MA 组 LC3-I/LC3-II 蛋白含量无明显变化($P>0.05$)。与模型组比较, 丹参酮ⅡA+模型组细胞中 MDA 含量降低($P<0.01$), SOD 活力增高($P<0.01$), LC3-I/LC3-II 蛋白含量增多($P<0.01$); 模型+3-MA 组 MDA 含量增高($P<0.01$), SOD 活力降低($P<0.01$), LC3-I/LC3-II 蛋白含量减少($P<0.01$)。与丹参酮ⅡA+模型组比较, 丹参酮ⅡA+模型+3-MA 组 MDA 含量增高($P<0.01$), SOD 活力降低($P<0.01$), LC3-I/LC3-II 蛋白含量减少($P<0.01$)。与正常组比较, 模型组 Atg3、Atg4b、Atg7 蛋白表达水平明显增高($P<0.05, P<0.01$); 与模型组比较, 丹参酮ⅡA+模型组 Atg3、Atg7、Atg5-Atg12 蛋白表达水平明显增高($P<0.05, P<0.01$); 与丹参酮ⅡA+模型组比较, 丹参酮ⅡA+模型+3-MA 组 Atg3、Atg7、Atg5-Atg12 蛋白表达水平平均明显降低($P<0.05, P<0.01$)。**结论** 丹参酮ⅡA可能通过调节 EA.hy926 细胞自噬小体形成信号通路即 Atg12-Atg5 通路和 LC3-PE 通路相关蛋白, 发挥其保护 EA.hy926 细胞抗氧化应激损伤的生物学活性, 进而防治动脉粥样硬化的发生发展。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The protective effect of Tanshinone II A on ox-LDL induced endothelial cell oxidative stress injury through regulating autophagosome

ZHANG Ni¹, CAO Hui-Min¹, SONG Nan¹, YANG Guan-Lin¹, JIA Lian-Qun¹, ZHANG Zhe²

(1. Key Laboratory of Ministry of Education for TCM Viscera-State Theory and Applications of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Translational Medicine Research Center of Traditional Chinese Medicine of Liaoning Province, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, Liaoning 110847, China; 2. Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, Liaoning 110032, China)

[KEY WORDS] Tanshinone II A; Endothelial cell; Atherosclerosis; Oxidative stress; Autophagosome formation

[ABSTRACT] **Aim** Based on the signaling pathway of autophagosome formation to discuss the protective effect and mechanism of Tanshinone II A on endothelial cell oxidative stress injury. **Methods** Culturing EA.hy926 cells in vitro, then randomly dividing these cells into normal group, model group, tanshinone II A group, tanshinone II A and model group, 3-MA group, model and 3-MA group, tanshinone II A, model and 3-MA group. Using colorimetric method to test the cells' MDA content and SOD activity of oxidative stress injury. Western blot detecting the expressions of cells' autophagosome formation signaling pathway related protein. **Results** Compared with normal group, the MDA content

[收稿日期] 2016-07-19

[修回日期] 2017-01-19

[基金项目] 辽宁省自然科学基金项目(2015020394); 辽宁省高等学校优秀人才支持计划(LR2015041); 辽宁中医药大学 2015 年度大学生创新创业训练计划项目(201510162000066)

[作者简介] 张妮, 硕士研究生, 研究方向为中西医结合防治心血管病, E-mail 为 zhang_ni1993@163.com。通讯作者贾连群, 博士, 教授, 研究方向为中医药防治动脉粥样硬化分子生物学机制, E-mail 为 jliq-8@163.com。

is increased ($P<0.01$), the SOD activity is decreased ($P<0.01$), and the content of LC3- I /LC3- II protein is increased ($P<0.01$) in model group. There is no obvious change of LC3- I /LC3- II protein content ($P>0.05$) in 3-MA group compared with normal group. Compared with model group, the MDA content is decreased ($P<0.01$), the SOD activity is increased ($P<0.01$) and the content of LC3- I /LC3- II protein is increased ($P<0.01$) in tanshinone II A and model group.

The MDA content is increased ($P<0.01$), the SOD activity is decreased ($P<0.01$), and the content of LC3- I /LC3- II protein is decreased ($P<0.01$) in model and 3-MA group compared with model group. Compared with tanshinone II A and model group, the MDA content is increased ($P<0.01$), the SOD activity is decreased ($P<0.01$), and the content of LC3- I /LC3- II protein is decreased ($P<0.01$) in tanshinone II A, model and 3-MA group. Compared with normal group, the expression of Atg3, Atg4b, Atg7 are increased significantly in model group ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with model group, the expression of Atg3, Atg7, Atg5-Atg12 are increased significantly in tanshinone II A and model group ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with tanshinone II A and model group, the expression of Atg3, Atg7, Atg5-Atg12 are decreased significantly in tanshinone II A, model and 3-MA group ($P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion** Tanshinone II A may regulate the proteins of signaling pathway of autophagosome formation as well as the Atg12-Atg5 pathway and LC3-PE pathway of EA.hy926 cell to play its protective biological activities for EA.hy926 cells against oxidative stress damage, then prevent and treat the development of As.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是多种心脑血管疾病的病理基础,亦是现代基础与临床药理学研究的热点问题。丹参酮 II A 作为丹参的有效活性成分,具有抗血小板聚集、改善微循环、改善血管平滑肌功能、抗动脉粥样硬化、抗心肌急性缺氧损伤、抗心律失常等药理作用^[1-2]。本课题小组前期研究发现丹参酮 II A 对内皮细胞具有保护作用,其机制主要是通过抗氧化和抗凋亡发挥作用^[3]。自噬作用是基础研究的新兴问题,研究发现基础性或适度自噬是 As 斑块内细胞对抗氧化应激和炎症等损伤的重要自我保护方式,是 As 斑块稳定性的一个重要决定因素^[4],自噬不足或者自噬过度均会影响斑块的发生发展进程。基于以上基础,进一步猜想丹参酮 II A 是否可以通过调节自噬发挥其对内皮细胞氧化应激损伤的保护作用呢?因此,本文拟在前期研究工作的基础上,以自噬小体形成信号通路为切入点,构建氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)诱导血管内皮细胞氧化应激损伤模型,从自噬角度探讨丹参酮 II A 对血管内皮细胞的保护作用及机制,以进一步揭示丹参酮 II A 抗 As 的药理作用机制,丰富其临床应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

丹参酮 II A 标准品(中国食品药品鉴定研究院), ox-LDL(广州奕源生物科技有限公司), 3-甲基腺嘌呤(3-Methyladenine, 3-MA)(Selleckchem Company), DMEM/高糖培养基、胎牛血清、0.25%胰蛋白

酶、硫酸青霉素、硫酸链霉素(Thermo Scientific), 微量丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)(南京建成生物科技有限公司), 蛋白质裂解液、一抗稀释液、ECL 化学发光试剂(碧云天生物技术有限公司), 蛋白测定试剂盒(鼎国生物技术有限公司), 兔抗人 Atg3 多克隆抗体(Abcam Company)、兔抗人 Atg4b 多克隆抗体(Abcam Company)、兔抗人 Atg7 多克隆抗体(Santa Cruz Biotechnology)、兔抗人 Atg5-Atg12 多克隆抗体(Novus Biologicals)、兔抗人 LC3- I /LC3- II 多克隆抗体(Cell Signaling Technology)、兔抗人 β -Actin 多克隆抗体(Santa Cruz Biotechnology), 二抗羊抗兔 HRP-IgG(Santa Cruz Biotechnology)。HER-ACell 150i 细胞培养箱(Thermo Scientific)、TriStar2 LB 942 型多功能酶标仪(Berthold Company)、SHZ-88 型水浴恒温振荡器(其林贝尔仪器制造有限公司)、Mini-Protein tetra 型垂直板电泳装置(Bio-Rad Company)、Trans-Blot SD 型半干转膜仪(Bio-Rad Company)、F3 型全自动荧光与可见光凝胶成像分析系统(Syngene Company)。

1.2 细胞培养

人脐静脉内皮细胞 EA. hy926 购自中国科学院上海细胞库。EA. hy926 细胞接种于含 10%胎牛血清及 1%双抗的 DMEM/高糖培养液中,在 37℃、5% CO₂ 条件下进行培养,平均每 2 天换液 1 次,每 2~3 天进行 1 次传代,传代培养至对数生长期备用。

1.3 细胞分组及干预

培养的 EA. hy926 细胞分为正常组、模型组、丹参酮 II A 组、丹参酮 II A+模型组、3-MA 组、模型+3-MA 组、丹参酮 II A+模型+3-MA 组。正常组仅用

DMEM 完全培养基培养,不加任何药物;模型组予以 100 mg/L ox-LDL 诱导内皮细胞 12 h;丹参酮 II A 组予以 20 μ mol/L 丹参酮 II A 干预 12 h;丹参酮 II A +模型组予以 100 mg/L ox-LDL 和 20 μ mol/L 的丹参酮同时作用 12 h;3-MA 组予以 5 mmol/L 3-MA 作用 12 h;模型+3-MA 组予以 5 mmol/L 3-MA 预处理 2 h,再加入 100 mg/L ox-LDL 连续作用 12 h;丹参酮 II A+模型+3-MA 组予以 5 mmol/L 3-MA 预处理 2 h,再加入 100 mg/L ox-LDL 和 20 μ mol/L 丹参酮同时连续作用 12 h。各组细胞培养结束后进行各项指标测定。

1.4 比色法检测细胞 MDA 含量及 SOD 活力

收集各组 EA. hy926 细胞,采用 TBA 法测定各组细胞内 MDA 含量,每管加入样品 50 μ L,与其他试剂充分混匀,95 $^{\circ}$ C 水浴 40 min,于波长 532 nm 处,酶标仪测定吸光度值,计算各组细胞 MDA 含量。收集各组 EA. hy926 细胞,采用黄嘌呤氧化酶(羟胺法)法测定各组细胞内 SOD 活力,每管加入样品 20 μ L,与其他试剂充分混匀,37 $^{\circ}$ C 恒温孵育 20 min,于波长 450 nm 处,酶标仪测定吸光度值,计算各组细胞 SOD 活力。

1.5 Western Blot 技术检测细胞自噬小体形成信号通路相关蛋白表达情况

分别收集各组细胞,加入蛋白裂解液提取总蛋白,利用蛋白质测定试剂盒检测蛋白含量。以 60 μ g 蛋白/泳道上样,经 SDS-PAGE 电泳后,半干转膜至 PVDF 膜,按比例配制 LC3- I/LC3- II、Atg3、Atg4b、Atg7、Atg5-Atg12 及 β -Actin 一抗,4 $^{\circ}$ C 封闭过夜,TBST 洗涤 3 次,每次 10 min,加入 HRP 标记的羊抗兔二抗。按 1:1 比例配制化学发光液,将膜放在曝光板上,膜上滴适量的发光液,应用全自动荧光与可见光凝胶成像分析系统曝光分析图片。

1.6 统计学方法

采用 SPSS16.0 软件处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 One-Way ANOVA 进行分析,组间比较采用 F 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 EA. hy926 细胞 MDA 含量及 SOD 活力变化

与正常组比较,模型组 MDA 含量增高($P < 0.01$),SOD 活力降低($P < 0.01$);与模型组比较,丹参酮 II A+模型组细胞中 MDA 含量降低($P < 0.01$),SOD 活力增高($P < 0.01$),模型+3-MA 组 MDA 含量增高

($P < 0.01$),SOD 活力降低($P < 0.01$);与丹参酮 II A+模型组比较,丹参酮 II A+模型+3-MA 组 MDA 含量增高($P < 0.01$),SOD 活力降低($P < 0.01$)(图 1)。

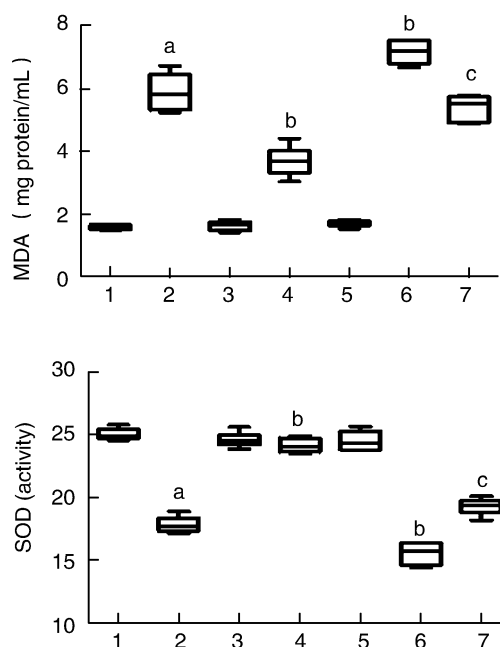


图 1. 各组细胞 MDA 含量及 SOD 活力的比较 ($n=6$) 1 为正常组,2 为模型组,3 为丹参酮 II A 组,4 为丹参酮 II A+模型组,5 为 3-MA 组,6 为模型+3-MA 组,7 为丹参酮 II A+模型+3-MA 组。a: $P < 0.01$,与正常组比较;b: $P < 0.01$,与模型组比较;c: $P < 0.01$,与丹参酮 II A+模型组比较。

Figure 1. Comparison of MDA content and SOD activity in each group ($n=6$)

2.2 各组 EA. hy926 细胞自噬小体相关蛋白表达情况

2.2.1 各组 EA. hy926 细胞自噬小体 LC3- I/LC3- II 蛋白表达情况 与正常组比较,模型组 LC3- I/LC3- II 蛋白含量增多($P < 0.01$),3-MA 组 LC3- I/LC3- II 蛋白含量无明显变化($P > 0.05$),丹参酮 II A 组 LC3- I/LC3- II 蛋白含量无明显变化($P > 0.05$);与模型组比较,丹参酮 II A+模型组 LC3- I/LC3- II 蛋白含量增多($P < 0.01$),模型+3-MA 组 LC3- I/LC3- II 蛋白含量减少($P < 0.01$);与丹参酮 II A+模型组比较,丹参酮 II A+模型+3-MA 组 LC3- I/LC3- II 蛋白含量减少($P < 0.01$)(图 2)。

2.2.2 丹参酮 II A 对 ox-LDL 诱导 EA. hy926 细胞自噬的干预机制 与正常组比较,模型组 Atg3、Atg4b、Atg7 蛋白表达水平明显增高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),Atg5-Atg12 蛋白表达水平呈增高趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$);与模型组比较,丹参酮

Ⅱ A+模型组 Atg3、Atg7、Atg5-Atg12 蛋白表达水平明显增高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),Atg4b 蛋白表达水平呈增高趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$);与丹参酮Ⅱ A+模型组比较,丹参酮Ⅱ A+模型+3-MA 组

Atg3、Atg7、Atg5-Atg12 蛋白表达水平均明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),Atg4b 蛋白表达水平呈下降趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$)(图 2)。

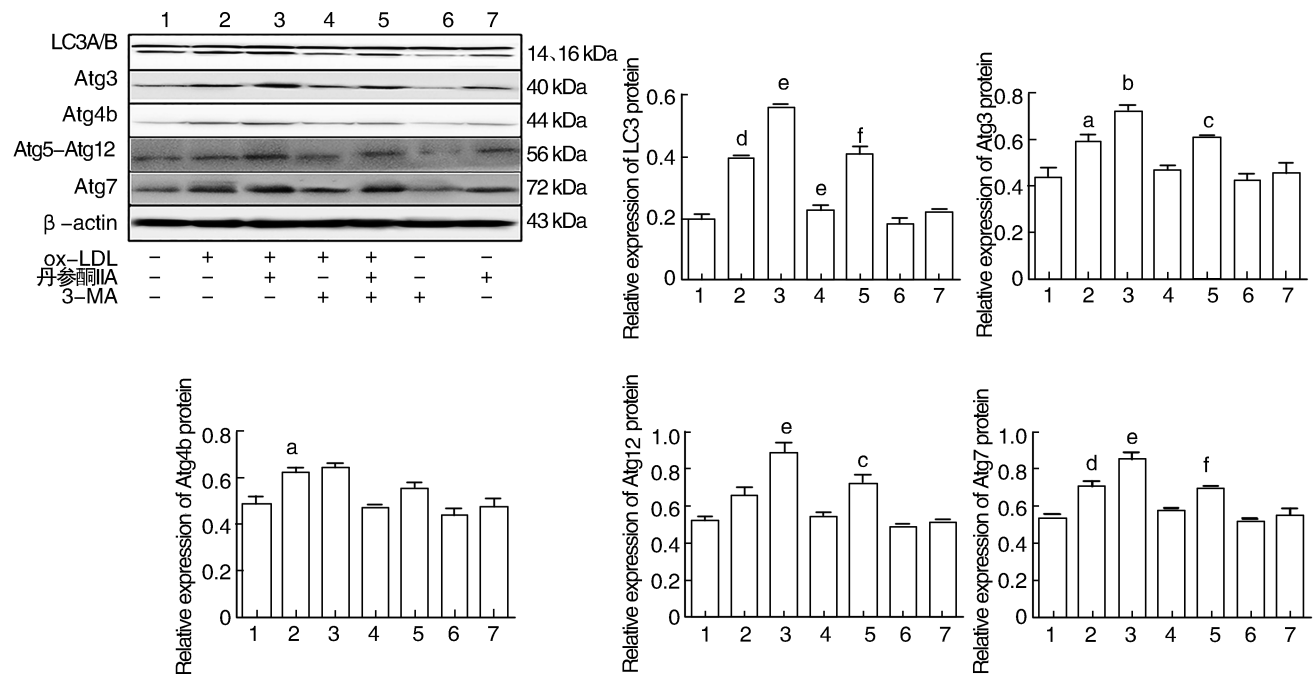


图 2. 各组细胞自噬小体相关蛋白表达情况($n=3$) 1 为正常组,2 为模型组,3 为丹参酮Ⅱ A+模型组,4 为模型+3-MA 组,5 为丹参酮Ⅱ A+模型+3-MA 组,6 为 3-MA 组,7 为丹参酮Ⅱ A 组。 a: $P<0.05$, d: $P<0.01$, 与正常组比较; b: $P<0.05$, e: $P<0.01$, 与模型组比较; c: $P<0.05$, f: $P<0.01$, 与丹参酮Ⅱ A+模型组比较。

Figure 2. The expressions of autophagosome related proteins of every group's cell($n=3$)

3 讨论

As 的发生是由于血管内皮细胞和平滑肌细胞受到各种危险因子如(机械损伤、免疫复合物),特别是 ox-LDL 损伤,使血管局部产生一种过度慢性炎症增生反应,而在该生物学改变过程中,内皮细胞功能障碍是 As 发生发展的重要基础病理改变,当内皮细胞出现形态结构受损和功能改变,血管屏障功能遭到破坏,血液中的脂质和单核细胞等则更容易沉积在内皮下间隙,进而形成泡沫细胞,导致 As 等一系列病理损伤^[5-7]。ox-LDL 作为导致血管内皮损伤的主要原因,可以通过直接损伤内皮细胞和与血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体-1(lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1, LOX-1)结合两种途径诱导内皮细胞氧化应激损伤,进而促使白细胞黏附迁移、泡沫细胞形成、脂质沉积、平滑肌细胞增殖、血管收缩性改变、粥样斑块脆性增加及破裂等病理性损伤的发生,加速 As 发展^[8-9]。因此,

本研究选用 ox-LDL 诱导 EA. hy926 细胞形成氧化应激损伤模型,结果发现,与正常组比较,模型组 MDA 含量增高, SOD 活力降低,说明模型组 EA. hy926 细胞发生了氧化应激损伤;而与模型组比较,丹参酮Ⅱ A+模型组 MDA 含量降低, SOD 活力增高,说明丹参酮Ⅱ A 对 EA. hy926 细胞具有抗氧化应激损伤的保护性作用。

自噬(autophagy)是真核细胞特有的一种不同于凋亡的生命方式,是细胞通过溶酶体降解内源性底物的重要生物学过程,具有高度的进化保守性,对维持细胞结构、代谢和功能的平衡发挥着重要生物学作用^[10]。自噬与多种疾病的发生发展有着密切关系,在疾病进展的不同阶段对细胞所产生的影响是不同的,不同程度自噬对机体的作用亦是不同的^[11-13]。研究发现,适度自噬对动脉粥样硬化具有保护作用,过度自噬却会导致细胞死亡,不利于斑块的稳定性^[14]。ox-LDL、内质网应激、炎症等与 As 发生相关的因素均可促进斑块内细胞发生自噬^[15]。其中,有研究发现

ox-LDL 可以影响氧化应激,改变细胞内的钙离子浓度,激活内质网应激,诱导细胞凋亡,而在此过程中自噬也被激活,其机制可能是通过 Ca^{2+} /钙依赖蛋白激酶抑制 mTOR 的激活,进而激活自噬^[16]。本研究利用 Western blot 技术检测 EA. hy926 细胞 LC3-I/LC3-II 自噬小体蛋白表达情况,结果发现:与正常组比较,模型组自噬增强,自噬抑制剂 3-MA 组自噬减弱;与模型组比较,3-MA 能够抑制模型组自噬水平。检测各组 EA. hy926 细胞 MDA 含量和 SOD 活力,结果发现:与模型组比较,模型+3-MA 组 MDA 含量增高, SOD 活力降低,说明抑制自噬可导致 EA. hy926 细胞氧化应激损伤增强,在本过程中模型组 EA. hy926 细胞因受到 ox-LDL 诱导而影响氧化应激,发生氧化应激损伤,反馈性的促使自噬激活,但被激活的自噬程度较低,尚未能够逆转其本身的氧化应激损伤,因此仍表现为氧化损伤;当于模型组加入自噬抑制剂 3-MA 时,EA. hy926 细胞自噬明显受到抑制,氧化应激损伤增强。从以上结果可以看出,内皮细胞氧化应激损伤与自噬关系非常密切,那么丹参酮ⅡA 是否会通过影响内皮细胞自噬水平发挥其抗氧化损伤的作用呢?

本研究进一步研究发现,与正常组比较,模型组和丹参酮ⅡA 组自噬小体 LC3-I/LC3-II 蛋白表达增强,说明丹参酮ⅡA 能够促进内皮细胞自噬;与模型组比较,丹参酮ⅡA+模型组自噬小体 LC3-I/LC3-II 蛋白表达进一步增强,说明丹参酮ⅡA 能够促进氧化损伤的内皮细胞自噬活性。为进一步证实自噬增强在丹参酮ⅡA 保护 ox-LDL 诱导 EA. hy926 细胞氧化应激损伤中的作用,结果发现:自噬抑制剂 3-MA 预处理后丹参酮ⅡA 对 ox-LDL 诱导 EA. hy926 细胞氧化应激损伤的保护作用明显降低。然而丹参酮ⅡA 增强 ox-LDL 诱导 EA. hy926 细胞自噬水平的机制可能是什么呢?

自噬是多阶段连续进行的生物学过程,主要分为自噬的诱导阶段、独立膜样结构形成阶段、自噬小体形成阶段以及自噬小体成熟降解阶段^[10]。在自噬过程中自噬小体形成阶段对于自噬的发生是十分重要的。参与自噬小体形成最主要的两类蛋白是泛素样蛋白 LC3 家族和自噬相关蛋白 (autophagy related protein, Atg) 家族,其生物学过程涉及到两条泛素样结合通路 Atg12-Atg5 通路和 LC3-PE 通路^[17-18]。Atg 是一类自噬组成蛋白,参与调节自噬启动和自噬小体的形成等过程^[19]。其中 Atg12、Atg5、Atg7 是参与 Atg12-Atg5 通路的关键蛋白,LC3、LC3-I、LC3-II、Atg4、Atg7、Atg3 是参与 LC3-PE 通路的相关基因。在 Atg12-Atg5 结合的生物学过程中,Atg7 与 Atg12 的 C-末端结合,水解 ATP 活化 Atg12。活化的 Atg12 与 Atg10 分离,Atg12 与 Atg5 共价结合,然后再与 Atg16 非共价结合形成三聚体,参与 LC3 的募集和分离膜的延伸过程^[13]。在 LC3-PE 结合的生物学过程中,Atg4 切断 LC3 羧基末端暴露甘氨酸残基,转化为活性 LC3-I 型。LC3-I 型被 Atg7 活化,然后 LC3-I 型被转移给 Atg3;Atg3 催化 LC3-I 与脑磷脂 (phosphatidyl ethanolamine, PE) 共价聚合,形成 LC3-PE (LC3-II 型);LC3-II 型以 Atg5 依赖性的方式被转运到自噬体外膜中^[18],进而参与自噬小体的形成(图 3)。本研究以自噬小体形成过程为切入点,利用 Western blot 技术检测各组 EA. hy926 细胞自噬小体形成信号通路相关蛋白 Atg3、Atg4b、Atg7、Atg5-Atg12、LC3-I/LC3-II 表达水平,结果显示:丹参酮ⅡA 能够增强氧化应激损伤 EA. hy926 细胞自噬相关蛋白 Atg3、Atg7、Atg5-Atg12、LC3-I/LC3-II 的表达水平,说明丹参酮ⅡA 能够促进氧化损伤内皮细胞自噬小体的形成;加入自噬抑制剂后,丹参酮ⅡA 促进氧化损伤 EA. hy926 细胞自噬小体的形成过程受到抑制。

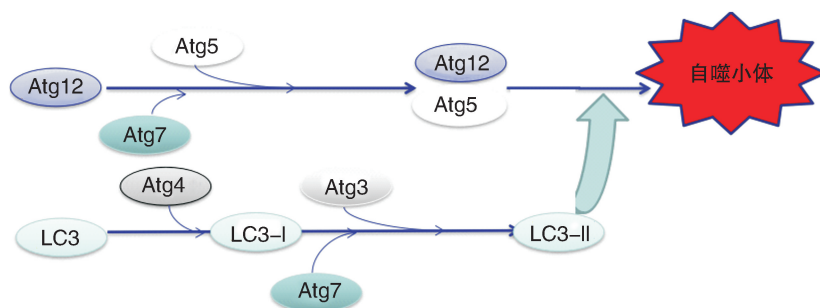


图 3. 自噬小体形成信号通路相关蛋白机制图

Figure 3. The mechanism diagram of autophagosome formation related proteins signaling pathway

综上可以初步看出,丹参酮 II A 可通过调节 EA. hy926 细胞自噬小体形成信号通路即 Atg12-Atg5 通路和 LC3-PE 通路相关蛋白,发挥其保护 EA. hy926 细胞抗氧化应激损伤的生物学活性,进而防治 As 的发生发展。然而,自噬是动态的发展过程,氧化应激与自噬的关系十分复杂,有关丹参酮 II A 与自噬及自噬与内皮细胞氧化应激损伤的时效关系,课题组将在以后的研究中对其进行更深入的探讨。

[参考文献]

- [1] 张萌涛,钱亦华,唐安琪. 丹参酮 II A 药理作用的研究进展[J]. 医学综述, 2010, 16(17): 2 661-664.
- [2] 杨征,邱敏. 丹参酮 II A 的心血管作用及机制研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19(4): 372-374.
- [3] Jia LQ, Yang GL, Ren L, et al. Tanshinone II A reduces apoptosis induced by hydrogen peroxide in the human endothelium-derived EA. hy926 cells[J]. J Ethnopharm, 2012, 143(1): 100-108.
- [4] 彭楠,苗俊英,张尚立. 氧化性低密度脂蛋白与细胞自噬[J]. 生命的化学, 2011, 31(5): 647-650.
- [5] 邱雅慧. 血管内皮细胞的功能以及损伤修复与动脉粥样硬化[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(10): 1927-1929,1933.
- [6] 白小涓. 内皮祖细胞在动脉粥样硬化易损斑块中的作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19(7): 543-546.
- [7] 李靓,谢巍,姜志胜,等. 我国动脉粥样硬化基础研究近三年进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2015, 23(11): 1 182-188.
- [8] 黄琛,钱海凌,李丽. 中医药保护动脉粥样硬化血管内皮功能研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2013, 11(01): 69-71.
- [9] 杨慧宇. LOX-1 介导氧化应激致动脉粥样硬化的实验研究[D]. 山西:山西医科大学, 2010: 1-93.
- [10] 刘虹,邵荣光. 自噬在肿瘤发生与发展过程中的调节作用[J]. 药学报, 2016, 51(1): 23-28.
- [11] 叶青,郑民华. 自噬的分子机制与病理生理意义[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2007, 27(4): 358-362.
- [12] 丁渭,张玉林,陈德喜. 自噬—凋亡之后的新理念[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2012, 28(5): 419-423.
- [13] 李冬,刘秀华,史大卓. 细胞自噬与心血管疾病[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2013, 33(5): 431-436.
- [14] 于红红,吴玛莉,冷冷,等. 自噬与动脉粥样硬化的关系及中药的干预作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2014, 22(7): 736-740.
- [15] 丁晶,曾超美,金红芳,等. 杜军保氧化型低密度脂蛋白对人巨噬细胞超微结构的影响[J]. 实用儿科临床杂志, 2010, 25(1): 11-13.
- [16] Muller C, Salvayre R, Nègre-Salvayre A, et al. HDLs inhibit endoplasmic reticulum stress and autophagic response induced by oxidized LDLs [J]. Cell Death Differ, 2011, 18(5): 817-828.
- [17] Otomo C, Metlagel Z, Takaesu G, et al. Structure of the human ATG12-ATG5 conjugate required for LC3 lipidation in autophagy [J]. Nat Struct Mol Biol, 2013, 20(1): 59-66.
- [18] Martinez J, Malireddi RK, Lu Q, et al. Molecular characterization of LC3-associated phagocytosis reveals distinct roles for Rubicon, NOX2 and autophagy proteins[J]. Nat Cell Biol, 2015, 17(7): 893-906.
- [19] Rabinowitz JD, White E. Autophagy and metabolism[J]. Science, 2010, 330(6009): 1 344-348.

(此文编辑 朱雯霞)