

本文引用: 蔡晓东, 刘树迎, 林 宁, 等. 盐酸小檗碱通过抑制 PKC α 磷酸化抑制机械牵张力诱导的血管平滑肌细胞增殖和凋亡[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(6): 466-472. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2023.06.002.

· 实验研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2023)31-06-0466-07

盐酸小檗碱通过抑制 PKC α 磷酸化抑制机械牵张力诱导的血管平滑肌细胞增殖和凋亡

蔡晓东, 刘树迎, 林 宁, 杨浩澜, 李朝红

(中山大学中山医学院组织学与胚胎学教研室, 广东省广州市 510080)

[摘要] **[目的]** 观察机械牵张力(SS)是否通过激活 PKC α 诱导小鼠血管平滑肌细胞(VSMC)增殖和凋亡,并探讨盐酸小檗碱(BBR)对它的作用及机制。**[方法]** 实验共分6组:正常对照组、BBR组、PKC α 抑制剂(Go6976)组、SS组、SS+BBR组、SS+Go6976组。静息培养的细胞给予BBR或Go6976预处理1 h,继而予10%强度的SS刺激15 min后收集细胞,Western blot检测PKC α 和MAPK(ERK、JNK、p38)磷酸化水平。BBR或Go6976预处理1 h,牵拉时间为1 h,继续培养23 h,免疫荧光法检测细胞增殖(Ki67)和凋亡(TUNEL)。**[结果]** Western blot与免疫荧光结果显示,与正常对照组相比较,SS可升高PKC α 和MAPK(ERK、JNK和p38)磷酸化水平($P<0.05$),并增加VSMC的增殖和凋亡水平($P<0.05$)。BBR可抑制PKC α 和ERK、JNK、p38磷酸化水平($P<0.05$),同时抑制VSMC增殖和凋亡($P<0.05$);Go6976可抑制PKC α 和ERK、JNK磷酸化水平($P<0.05$),但对p38磷酸化的增加没有影响,同时抑制VSMC增殖和凋亡($P<0.05$)。**[结论]** BBR通过抑制SS诱导的VSMC的PKC α 和MAPK磷酸化,抑制VSMC增殖和凋亡。

[关键词] 血管平滑肌细胞; 盐酸小檗碱; 机械牵张力; PKC α ; 细胞增殖; 细胞凋亡

[中图分类号] R363;R5

[文献标识码] A

Berberine inhibits proliferation and apoptosis of vascular smooth muscle cell induced by mechanical stretch stress via inhibition of PKC α phosphorylation

CAI Xiaodong, LIU Shuying, LIN Ning, YANG Haolan, LI Chaohong

(Department of Histology and Embryology, Zhongshan Medical College, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong 510080, China)

[ABSTRACT] **Aim** To observe whether the proliferation and apoptosis of mouse vascular smooth muscle cells (VSMC) were induced by stretch stress (SS) via PKC α phosphorylation and to investigate the role of berberine (BBR) and related mechanism on the process. **Methods** The experiment was divided into six groups: normal control (NC) group, BBR group, PKC α inhibitor (Go6976) group, SS group, SS+BBR group and SS+Go6976 group. VSMC were pretreated with BBR or Go6976 for 1 h, and stimulated for 15 min with SS at 10% amplitude. PKC α and MAPK (ERK, JNK, p38) phosphorylation were measured by Western blot. After pretreated by BBR or Go6976, and SS stimulation for 1 h, the proliferation (Ki67) and apoptosis (TUNEL) of VSMC were measured by immunofluorescence. **Results** Compared with the NC group, SS could increase the phosphorylation levels of PKC α and MAPK (ERK, JNK, p38) ($P<0.05$), and increase the levels of VSMC proliferation and apoptosis ($P<0.05$). BBR could inhibit the phosphorylation levels of PKC α and MAPK ($P<0.05$), while inhibiting VSMC proliferation and apoptosis ($P<0.05$); Go6976 could inhibit PKC α , ERK and JNK phosphorylation ($P<0.05$), but had no effect on the phosphorylation increase of p38, while

[收稿日期] 2022-11-29

[修回日期] 2023-02-06

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81870219、81500337);广东省自然科学基金项目(2017A030313574);中央高校基本科研业务费专项资金项目(19ykpy171)

[作者简介] 蔡晓东,硕士研究生,研究方向为心血管重构分子机制与防治,E-mail:514104360@qq.com。通信作者李朝红,博士,教授,博士研究生导师,研究方向为心血管重构分子机制与防治,E-mail:lichao@ mail.sysu.edu.cn。

inhibiting VSMC proliferation and apoptosis ($P < 0.05$). **Conclusion** BBR inhibits the phosphorylation of PKC α and MAPK (ERK, JNK, p38) induced by SS, and further inhibits the proliferation and apoptosis of VSMC.

[**KEY WORDS**] vascular smooth muscle cell; berberine; stretch stress; PKC α ; cell proliferation; cell apoptosis

高血压、高血脂和高血糖是动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的重要危险因素, As 是引起心脑血管疾病, 导致临床死亡的主要原因之一^[1]。血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)在 As 的发生发展中至关重要^[2]。血压升高引起的异常机械牵张力(stretch stress, SS)在促进 As 的发生发展中具有至关重要的作用, 但其机制尚不清楚。本实验室前期研究发现, 高血压、高血糖和高血脂单独或联合作用可以诱导 VSMC 表型改变、异常增殖和凋亡等, 而血压升高导致 SS 升高可改变 VSMC 跨膜蛋白的构型, 非特异激活细胞内多种信号通路, 包括肾上腺素信号通路^[3]、氧化还原通路^[4]和内质网应激相关通路。SS 可以激活丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路^[5], 引起 VSMC 增殖和凋亡同时增加。蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)有多种亚型, 对 VSMC 的收缩、增殖、凋亡和迁移等具有重要作用。有研究表明, SS 可以激活 VSMC 的 PKC δ ^[6]、PKC ζ 和 PKC θ ^[7], 调节 VSMC 增殖和凋亡。本研究团队近期研究发现, SS 可激活 PKC δ , 促进 VSMC 增殖和迁移^[8]。盐酸小檗碱(berberine, BBR)在临床用于消化系统疾病的治疗, 近年来发现它具有调节血压^[9]、血糖和血脂^[10]的效应, 对 As 的防治^[11]具有重要作用。但是, SS 和 BBR 是否调控 VSMC 中的 PKC α 目前没有报道。因此, 本研究旨在观察 SS 对 VSMC 中 PKC α 磷酸化的影响, 探究 BBR 对 PKC α 的影响及 VSMC 增殖和凋亡的作用, 为 BBR 防治 As 血管重构提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 细胞系与主要试剂

小鼠 VSMC 来源于野生型 C57BL/6 雄鼠胸主动脉体外贴块法培养; 高糖 DME 培养基购自 Gibco 公司; 青-链霉素双抗购自 Biosharp 公司; 标准胎牛血清购自 TBD 公司; 胰酶购自 BioFroxx 公司; BBR 购自成都曼思特公司; Go6976 购自 Selleck Chemicals 公司; TUNEL 凋亡检测试剂盒购自 Roche 公司; Ki67、p-ERK、ERK、p-p38、p38、p-JNK、JNK 抗体均购自 Cell Signal Technology 公司; p-PKC α 和

PKC α 抗体购自 Abcam 公司。

1.2 细胞培养

取 8 周龄野生型 C57BL/6 雄鼠胸主动脉中膜, 在培养瓶中用组织贴块法培养得到原代 VSMC。细胞于含有体积比 10% 的标准胎牛血清和 1% 青-链霉素双抗的高糖 DMEM 培养基中, 在 37 °C、5% CO₂ 条件下培养。实验所用 VSMC 为第 3~10 代, 每间隔 24~48 h 更换培养基一次, 待细胞长至 80% 融合, 按照实验所需, 以相应比例传代或种板。

1.3 细胞机械牵拉处理

VSMC 以一定比例接种于 6 孔硅胶弹性膜板(BioFlex Plate)中, 待细胞生长至 80% 融合, 更换含 1% 双抗无血清培养基同步化 24 h, 使用真空牵拉仪施加机械牵拉力。真空牵拉仪可形成 15~20 kPa、60 次/min 的循环牵拉力, 通常介于 5%~30% 牵拉强度(5% 牵拉强度相当于正常血压)。依据实验室前期实验结果, 选取 10% 牵拉强度。牵拉板固定于真空牵拉台, 于 37 °C、5% CO₂ 培养箱进行相应时间的牵拉处理。

1.4 Western blot 检测细胞 PKC α 和 MAPK 磷酸化

细胞以 1×10^9 个/L 种板, 待细胞长至 80% 融合, 更换含 1% 双抗无血清培养基同步化 24 h。不同时间的牵拉力对 PKC α 磷酸化影响的分组: 正常对照组(0 min)、5 min、10 min、15 min、20 min、30 min、60 min 和 120 min; BBR 对 PKC α 磷酸化的作用: 选择 100 μ mol/L 的 BBR 预处理 1 h, 阳性对照组用 5 μ mol/L 的 Go6976 预处理 1 h, 然后用 10% 牵拉力处理 15 min。对于 MAPK(ERK、JNK、p38), 依据实验室前期工作选择 10% 牵拉强度作用 15 min, 用 100 μ mol/L 的 BBR 和 5 μ mol/L 的 Go6976 预处理 1 h。

收集各组细胞, 于 4 °C、13 000 r/min 离心后弃上清, 细胞沉淀加入 2 倍体积含有蛋白酶抑制剂和磷酸化酶抑制剂的细胞裂解液裂解细胞, 4 °C、13 000 r/min 离心 20 min 后转移上清液, 使用 BCA 蛋白浓度测定法和酶标仪检测蛋白浓度并定量。50 μ g 蛋白经热变性后, 用 10% SDS-PAGE 凝胶电泳和整张转膜, 5% 脱脂奶粉封闭 2 h 后, 依照顺序孵育一抗: p-PKC α 、PKC α 、p-ERK、ERK、p-p38、p38、p-JNK、JNK, 最后孵育 GAPDH。一抗 4 °C 下孵育过

夜。然后用 TBS 溶液洗膜,孵育抗一抗种属来源的二抗进行标记,使用 ECL 化学发光试剂,用 Image Quant Las4000mini 化学发光成像分析系统获得结果图。每当进行下一个抗体孵育时,使用洗脱液洗去原有一抗和二抗,并重复由脱脂奶粉封闭至显影的过程。所得到的结果图使用 Image J 进行灰度分析得到数据,所有组的数据与正常对照组均一化后,进行统计学分析。

1.5 免疫荧光法和 TUNEL 染色检测细胞增殖和凋亡

细胞以 5×10^7 个/L 种板,生长至 50% ~ 60% 融合时更换含 1% 双抗无血清培养基同步化 24 h。使用 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 BBR 和 5 $\mu\text{mol/L}$ 的 Go6976 预处理 1 h, 10% 牵拉强度牵拉 1 h, 继续培养 23 h 后进行免疫荧光法检测增殖信号 Ki67, TUNEL 试剂盒检测凋亡信号。

预冷的 4% 多聚甲醛/PBS 溶液室温固定细胞 30 min, 0.5% PBST 破膜 10 min, 5% BSA 溶液室温封闭 1 h, 用细胞增殖标志物 Ki67 抗体以 1:500 稀释, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜孵育, 室温复温 10 min, 用 PBS 溶液洗涤后, 加入相应种属二抗以 1:200 稀释, 室温避光孵育 2 h 后, 依照 TUNEL 染色试剂盒说明书进行

染色, 最后用 DAPI 标记细胞核, 使用 Leica DMI8 荧光显微镜拍照获得结果。经 Image J 统计阳性细胞数比例, 进行统计学分析。

1.6 统计学分析

所有检测经 3 次独立重复实验后, 用 SPSS 26 软件分析结果, 定量资料采用均一化处理, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示。实验数据若符合方差齐性, 采用单因素方差分析单一变量数据, 两两比较采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 被认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BBR 和 Go6976 抑制机械牵拉力诱导的 PKC α 磷酸化增加

与正常对照组比较, 非 SS 组中, 单独给予 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 BBR 或 5 $\mu\text{mol/L}$ 的 Go6976 对 PKC α 磷酸化没有影响 ($P > 0.05$), 10% 牵拉强度的 SS 可激活 PKC α , 刺激 10 min 可使 PKC α 磷酸化升高 68%, 刺激 15 min 升高 1.4 倍 ($P < 0.05$); 而与 SS 组相比, BBR 和 Go6976 使 PKC α 磷酸化水平分别降低 55% 和 61% (图 1)。

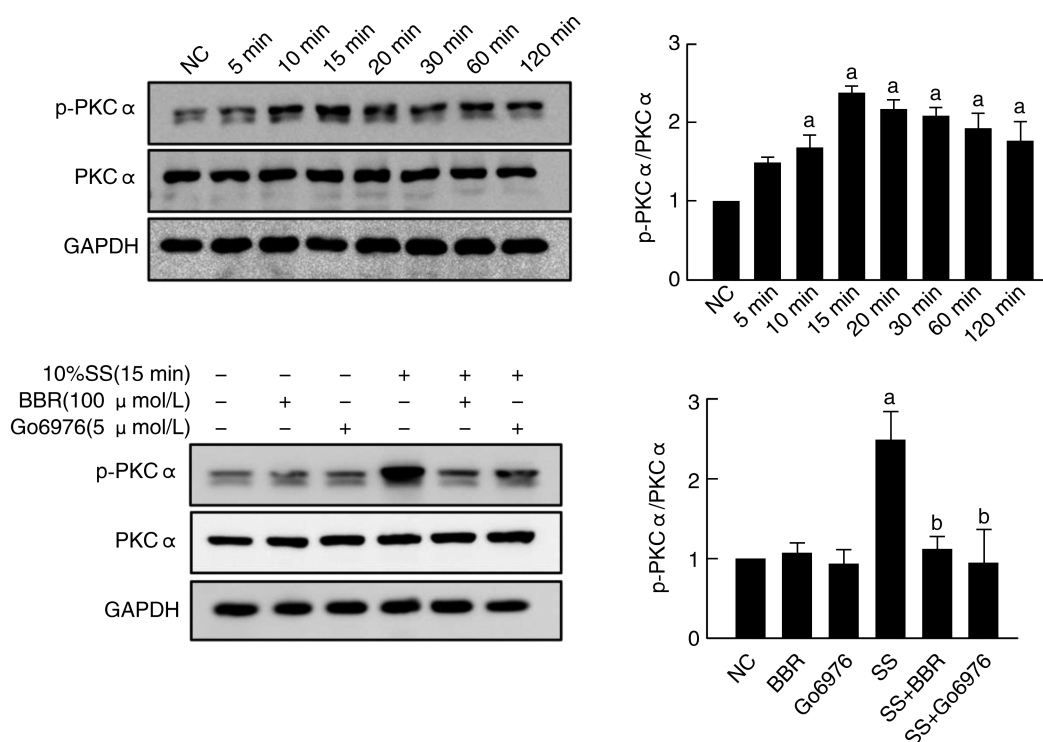


图 1. BBR 和 Go6976 抑制机械牵张力诱导的 PKC α 激活

a 为 $P < 0.05$, 与正常对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 SS 组比较。

Figure 1. The inhibition of BBR and Go6976 on mechanical stretch stress-induced PKC α activation

2.2 BBR 和 PKC α 抑制剂 Go6976 抑制机械牵拉力诱导的 MAPK 磷酸化增加

与正常对照组比较,在非 SS 组中,单独给予 BBR 和 Go6976 对 MAPK(ERK、JNK 和 p38)磷酸化没有影响($P>0.05$);SS 可以分别升高 ERK、JNK 和 p38 磷酸化水平 23.8 倍、3.7 倍和 16.0 倍($P<0.05$)。

与 SS 组相比,BBR 使 ERK、JNK 和 p38 磷酸化水平分别降低 88%、61% 和 61% ($P<0.05$);Go6976 可使 ERK 和 JNK 磷酸化水平分别降低 55% 和 60% ($P<0.05$),但对 p38 磷酸化水平升高的影响不显著($P>0.05$;图 2)。

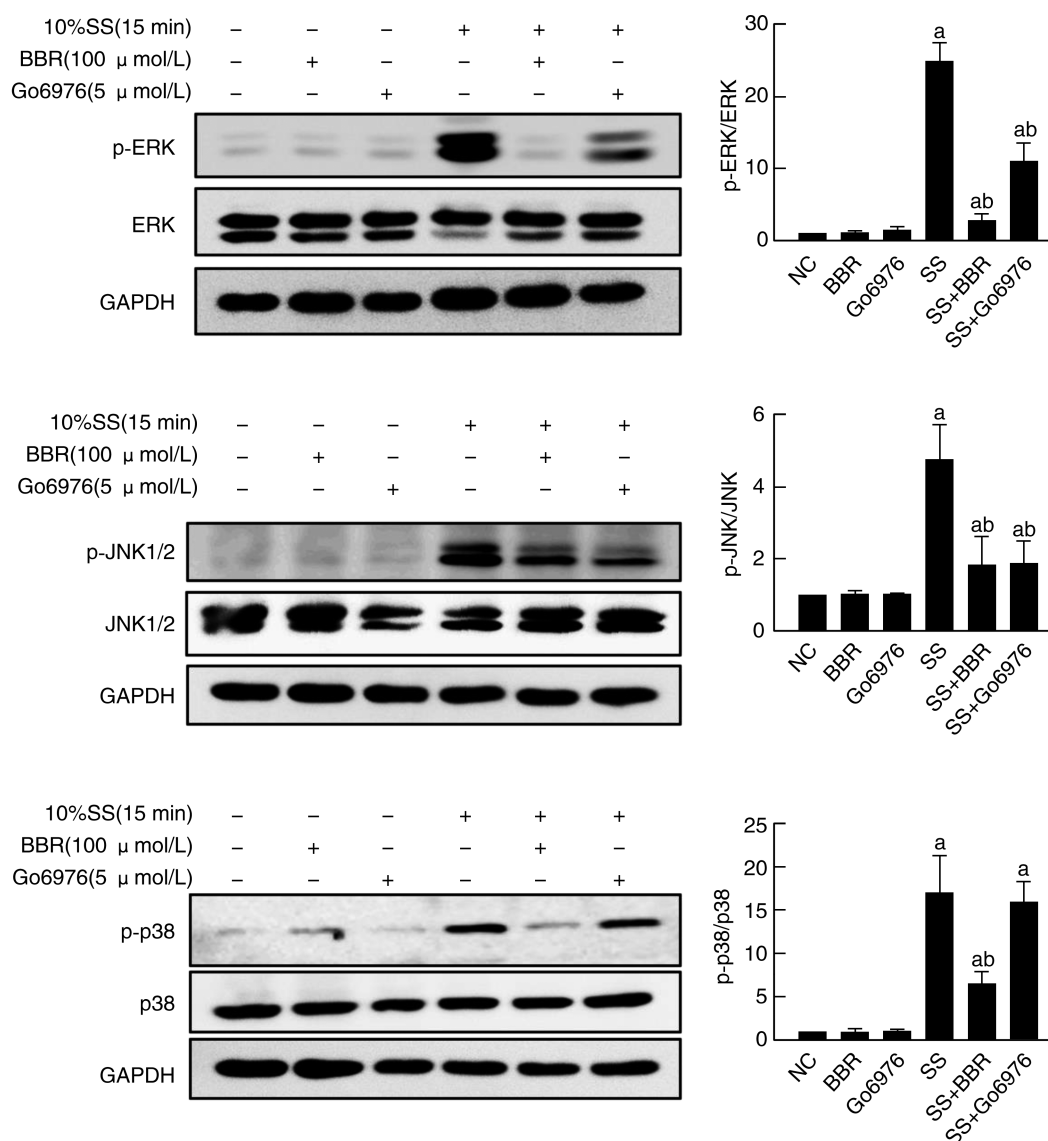


图 2. BBR 和 Go6976 降低机械牵张力诱导的 MAPK(ERK、JNK 和 p38)激活

a 为 $P<0.05$,与正常对照组比较;b 为 $P<0.05$,与 SS 组比较。

Figure 2. The inhibition of BBR and Go6976 on mechanical stretch stress-induced MAPK (ERK, JNK and p38) activation

2.3 BBR 和 PKC α 抑制剂 Go6976 抑制机械牵拉力诱导的 VSMC 增殖和凋亡

与正常对照组比较,在非 SS 组中,单独给予药物处理对 Ki67 和 TUNEL 阳性细胞率无显著影响($P>0.05$);而 SS 可使 Ki67 和 TUNEL 阳性率分别

增加 1.8 倍和 9.1 倍($P<0.05$)。与 SS 组比较, BBR 和 Go6976 均能明显降低 Ki67 和 TUNEL 阳性率,其中 BBR 使 Ki67 和 TUNEL 阳性率分别降低 64% 和 80%,Go6976 使 Ki67 和 TUNEL 阳性率分别降低 59% 和 80% ($P<0.05$;图 3)。

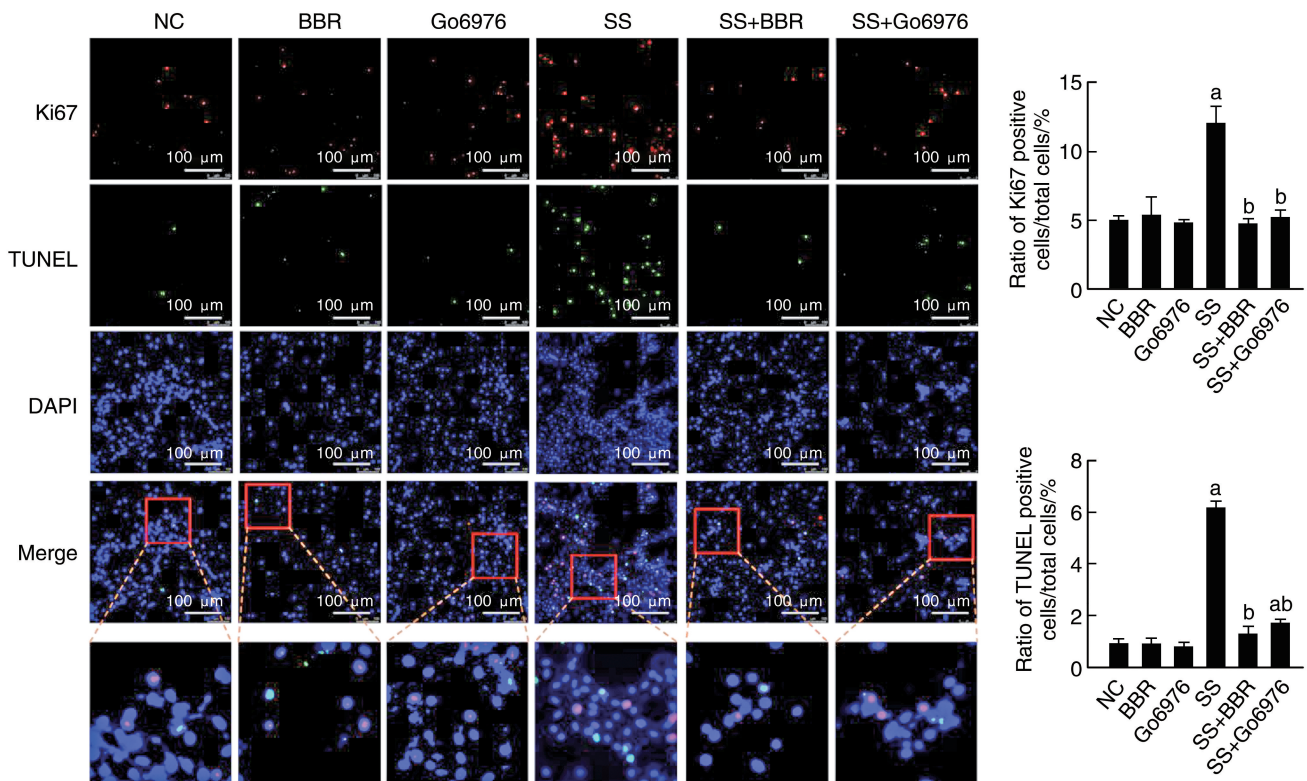


图 3. BBR 和 Go6976 抑制机械牵张力诱导的 VSMC 同时增殖和凋亡

a 为 $P < 0.05$, 与正常对照组比较, b 为 $P < 0.05$, 与 SS 组比较。

Figure 3. The inhibition of BBR and Go6976 on the simultaneous increase in proliferation and apoptosis of VSMC induced by mechanical stretch stress

3 讨论

本研究观察了 BBR 对机械牵张力诱导的血管平滑肌细胞增殖与凋亡的作用, 并进一步探讨 PKC α 与细胞增殖、凋亡的关系。研究发现, SS 可以激活 PKC α 和 MAPK (ERK、JNK 和 p38) 磷酸化, 促进 VSMC 增殖和凋亡同时增加; BBR 和 Go6976 可以抑制 PKC α 和 MAPK (ERK 和 JNK) 磷酸化, 而 BBR 也可以抑制 p38 磷酸化, 进一步抑制 VSMC 的增殖和凋亡。

高血压产生的异常 SS 所诱导的 VSMC 增殖和凋亡在 As 发生发展中具有重要影响。本实验室前期研究发现, SS 改变细胞膜蛋白晚期糖基化终末产物 (advanced glycation end products, AGE) 构型, 激活 MAPK (ERK、JNK 和 p38) 信号通路, 促进 VSMC 同时增殖和凋亡^[12]。近期研究发现, SS 通过激活蛋白质二硫键异构酶 (protein disulfide isomerase, PDI) 及 MAPK 信号通路, 进一步激活下游内质网应激通路 (PERK、IRE1 α 、ATF6), 促进 VSMC 增殖和凋亡^[5]。本研究结果也显示 SS 促进 VSMC 增殖和凋亡, 与前期研究结果一致。依据实验结果, SS 激活

PKC α 磷酸化增加, 促进下游 MAPK (ERK、JNK) 磷酸化增加, 促进 VSMC 增殖和凋亡。PKC 包括多种亚型, 多数研究表明, PKC 与细胞的收缩、增殖、凋亡和迁移密切相关, 而 SS 可以激活 PKC 信号通路。本实验室前期研究发现, SS 激活 PKC β II, 促进 VSMC 增殖^[13]。近期研究显示, SS 通过激活 PKC δ , 促进 VSMC 增殖和迁移^[6]。近年来也有文献显示 PKC α 调节细胞增殖和凋亡。甲氧基胆酸 (taurooursodeoxycholate, TUDCA) 可以通过 PKC α 介导的丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶 1 (mitogen-activated protein kinase phosphatase-1, MKP-1) 抑制人血管平滑肌 ERK 磷酸化, 阻止新生内膜增生^[14]。在 As 中, 内皮祖细胞 PKC α 激活可进一步激活 MAPK, 诱导活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 及其下游激活, 进而激活基质金属蛋白酶 2 (matrix metalloproteinases-2, MMP-2) 和 MMP-9, 促进血管重构^[15]。肝素衍生的低聚糖 (heparin-derived oligosaccharide, HDO) 可以激活 PKC α 进而激活 ERK, 诱导 VSMC 增殖^[16]。内质网应激可以通过 PKC α /JNK/c-Jun 途径, 诱导活化蛋白 1 (activating protein 1, AP1) 激活和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)

分泌,促进胰腺细胞凋亡^[17]。心肌细胞经血管紧张素 II 灌注,明显诱导 PKC α 和 MAPK 磷酸化,促进心肌细胞增殖和凋亡增加,导致心肌紊乱^[18]。有文献指出,血管的钙化与 PKC α 激活的 ERK 和 JNK 有关,这是由于钙化的结晶刺激巨噬细胞 PKC α 激活,进而激活 MAPK(ERK 和 JNK),导致血管炎症和钙化的恶性循环^[19]。这些研究均证实 PKC α 是通过激活 MAPK,导致细胞发生增殖和凋亡。

本实验室前期研究表明,BBR 抑制 SS 激活的 PDI-Nox1 内质网应激信号通路和 MAPK 信号通路,抑制 VSMC 增殖和凋亡^[5,20],并通过抑制 PKC δ 激活抑制 VSMC 增殖和迁移^[6]。本研究结果显示,BBR 和 PKC 抑制剂 Go6976 可以抑制 PKC α 和 MAPK 磷酸化,从而抑制 VSMC 增殖和凋亡的增加。有文献报道,BBR 通过抑制 VSMC 中的 PKC α 激活,逆转硝酸甘油耐受,保护心血管^[21]。BBR 通过抑制 MAPK 和 NADPH 氧化酶 4(NADPH oxidase 4, NOX4)等信号,进一步抑制缺氧诱导的 VSMC 增殖和迁移^[22]。有研究表明,BBR 通过抑制 Akt/mTOR/HIF-1 通路,抑制 VSMC 增殖^[23]。BBR 具有抗凋亡作用,可以抑制氧化应激和凋亡蛋白,抑制心肌细胞凋亡,保护心血管稳定性^[24]。此外,BBR 可抑制 ROS 产生、MAPK 磷酸化和内质网应激,抑制川崎病导致的血管炎症诱导的血管内皮细胞凋亡^[25]。虽然大量研究证明 BBR 可以改善心血管疾病,但是关于哪些信号通路可以同时调节 VSMC 的增殖和凋亡尚不清楚。因此本研究可以为 BBR 广泛应用于心血管疾病的防治提供资料。

综上,本研究证明 BBR 能抑制机械牵张力诱导的 VSMC 增殖和凋亡,其机制与抑制 PKC α /ERK 和 PKC α /JNK 信号通路有关。本研究为 BBR 预防高血压引起的心血管疾病提供了理论基础。

[参考文献]

- [1] LIBBY P, BURING J E, BADIMON L, et al. Atherosclerosis[J]. Nat Rev Dis Primers, 2019, 5(1): 56.
- [2] VERGALLO R, CREA F. Atherosclerotic plaque healing[J]. N Engl J Med, 2020, 383(9): 846-857.
- [3] LIU S Y, LI Y H, ZHANG Z Y, et al. α 1-Adrenergic receptors mediate combined signals initiated by mechanical stretch stress and norepinephrine leading to accelerated mouse vein graft atherosclerosis[J]. J Vasc Surg, 2013, 57(6): 1645-1656.
- [4] PING S N, LIU S Y, ZHOU Y H, et al. Protein disulfide isomerase-mediated apoptosis and proliferation of vascular smooth muscle cells induced by mechanical stress and advanced glycosylation end products result in diabetic mouse vein graft atherosclerosis[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(5): e2818.
- [5] WANG L L, DENG L, LIN N, et al. Berberine inhibits proliferation and apoptosis of vascular smooth muscle cells induced by mechanical stretch via the PDI/ERS and MAPK pathways[J]. Life Sci, 2020, 259: 118253.
- [6] ZAMPETAKI A, ZHANG Z Y, HU Y H, et al. Biomechanical stress induces IL-6 expression in smooth muscle cells via Ras/Rac1-p38 MAPK-NF-kappaB signaling pathways[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005, 288(6): H2946-H2954.
- [7] YANG Y C, WANG X D, HUANG K, et al. Temporal phosphoproteomics to investigate the mechanotransduction of vascular smooth muscle cells in response to cyclic stretch[J]. J Biomech, 2014, 47(15): 3622-3629.
- [8] 林宁, 刘树迎, 蔡晓东, 等. 小檗碱抑制机械牵张力诱导的小鼠血管平滑肌细胞 PKC δ 磷酸化及增殖/迁移[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(3): 211-218.
- [9] LIN N, LIU S Y, CAI X D, et al. Berberine inhibited the proliferation/migration of mouse vascular smooth muscle cells induced by mechanical stretch stress via inhibition of PKC δ phosphorylation[J]. Chin J Arterioscler, 2022, 30(3): 211-218.
- [10] WANG Z C, WU F, ZHOU Q B, et al. Berberine improves vascular dysfunction by inhibiting trimethylamine-N-oxide via regulating the gut microbiota in angiotensin II-induced hypertensive mice[J]. Front Microbiol, 2022, 13: 814855.
- [11] MAN B, HU C L, YANG G Y, et al. Berberine attenuates diabetic atherosclerosis via enhancing the interplay between KLF16 and PPAR α in ApoE^{-/-} mice[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2022, 624: 59-67.
- [12] 张金霞, 王玉涛, 孙岩. 颈动脉粥样硬化差异基因筛选及小檗碱干预颈动脉粥样硬化机制的生物信息学研究[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(2): 117-124.
- [13] ZHANG J X, WANG Y T, SUN Y. The bioinformatics research of differential gene expression in carotid atherosclerosis and potential mechanism of berberine intervening carotid atherosclerosis[J]. Chin J Arterioscler, 2022, 30(2): 117-124.
- [14] PING S N, LI Y H, LIU S Y, et al. Simultaneous increases in proliferation and apoptosis of vascular smooth muscle cells accelerate diabetic mouse venous atherosclerosis[J]. PLoS One, 2015, 10(10): e0141375.
- [15] 李朝红, 谢富康, 徐清波. 生物机械力诱导蛋白激酶 C β II 活化促进血管平滑肌细胞增殖[J]. 中国动脉硬化杂志, 2005, 13(5): 553-556.
- [16] LI C H, XIE F K, XU Q B. Biomechanical stretch stress induces vascular smooth muscle cell proliferation via

- protein kinase C beta-II activation[J]. Chin J Arterioscler, 2005, 13(5): 553-556.
- [14] KIM S Y, KWON Y W, JUNG I L, et al. Tauroursodeoxycholate (TUDCA) inhibits neointimal hyperplasia by suppression of ERK via PKC α -mediated MKP-1 induction[J]. Cardiovasc Res, 2011, 92(2): 307-316.
- [15] WU T C, CHANG C C, LEU H B, et al. Phorbol ester-induced angiogenesis of endothelial progenitor cells: the role of NADPH oxidase-mediated, redox-related matrix metalloproteinase pathways[J]. PLoS One, 2019, 14(1): e0209426.
- [16] LI L, RUI X, LIU T F, et al. Effect of heparin-derived oligosaccharide on vascular smooth muscle cell proliferation and the signal transduction mechanisms involved[J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2012, 26(6): 479-488.
- [17] HAN X, LI B, BAO J P, et al. Endoplasmic reticulum stress promoted acinar cell necroptosis in acute pancreatitis through cathepsinB-mediated AP-1 activation[J]. Front Immunol, 2022, 13: 968639.
- [18] WU G J, WANG Z X, SHAN P R, et al. Suppression of netrin-1 attenuates angiotension II-induced cardiac remodeling through the PKC/MAPK signaling pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 130: 110495.
- [19] NADRA I, MASON J C, PHILIPPIDIS P, et al. Proinflammatory activation of macrophages by basic calcium phosphate crystals via protein kinase C and MAP kinase pathways[J]. Circ Res, 2005, 96(12): 1248-1256.
- [20] 邓烈, 王林丽, 刘树迎, 等. 黄连素抑制机械牵张力诱导的血管平滑肌细胞 MAPK 磷酸化以及细胞增殖和迁移[J]. 中山大学学报(医学版), 2020, 41(1): 44-52.
- [21] DENG L, WANG L L, LIU S Y, et al. Berberine inhibits mechanical stretch stress induced MAPK phosphorylation, proliferation and migration of vascular smooth muscle cells[J]. J Sun Yat-sen Univ (Med Sci), 2020, 41(1): 44-52.
- [22] ZHANG H N, DONG J H, LAU C W, et al. Berberine reverses nitroglycerin tolerance through suppressing protein kinase C alpha activity in vascular smooth muscle cells[J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2022, 36(4): 633-643.
- [23] TAN L H, WANG Y F, AI G X, et al. Dihydroberberine, a hydrogenated derivative of berberine firstly identified in Phellodendri Chinese Cortex, exerts anti-inflammatory effect via dual modulation of NF- κ B and MAPK signaling pathways[J]. Int Immunopharmacol, 2019, 75: 105802.
- [24] LIU P F, GU Y, LUO J, et al. Inhibition of Src activation reverses pulmonary vascular remodeling in experimental pulmonary arterial hypertension via Akt/mTOR/HIF-1 signaling pathway[J]. Exp Cell Res, 2019, 380(1): 36-46.
- [25] RAJABI S, NAJAFIPOUR H, JAFARINEJAD-FARSANGI S, et al. Quercetin, perillyl alcohol, and berberine ameliorate right ventricular disorders in experimental pulmonary arterial hypertension: effects on miR-204, miR-27a, fibrotic, apoptotic, and inflammatory factors[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2021, 77(6): 777-786.
- [26] XU M G, QI Q, MEN L N, et al. Berberine protects Kawasaki disease-induced human coronary artery endothelial cells dysfunction by inhibiting of oxidative and endoplasmic reticulum stress[J]. Vascu Pharmacol, 2020, 127: 106660.
- (此文编辑 许雪梅)