

# 绞股蓝总苷对高脂血症大鼠血管平滑肌细胞表型的影响

束 波<sup>1</sup>, 刘志江<sup>2</sup>, 钱民章<sup>1\*</sup><sup>1</sup>遵义医学院生物化学与分子生物学教研室; <sup>2</sup>遵义医学院第一附属医院心内科, 遵义 563003

**摘要:**研究绞股蓝总苷对高脂诱导的大鼠血管平滑肌细胞表型的影响及可能的分子机制。采用高脂饲料喂饲建立高脂大鼠模型, 观察绞股蓝总苷对血脂各成分的影响, 血管平滑肌细胞超微结构及血管表型标志物表达的影响。结果显示, 绞股蓝总苷能降低大鼠血脂水平并抑制血管平滑肌细胞超微结构发生去分化表型改变; 增加高脂大鼠动脉分化标志蛋白 SM-actin 的表达, 降低细胞增殖蛋白 PCNA 的表达。说明绞股蓝总苷能有效抑制高脂诱导的大鼠平滑肌细胞去分化, 机制可能与抑制 MCP1 的表达有关。

**关键词:**绞股蓝总苷; 血管平滑肌细胞; 表型; 单核细胞趋化蛋白-1 诱导蛋白 1

中图分类号: R281.5

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.2.006

## Effects of Gypenosides on Vascular Smooth Muscle Cells Phenotype in Hyperlipidemic Rats

SHU Bo<sup>1</sup>, LIU Zhi-jiang<sup>2</sup>, QIAN Min-zhang<sup>1\*</sup><sup>1</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology of Zunyi Medical College;<sup>2</sup>Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, China

**Abstract:** The aim of this study was to investigate the functions and regulatory pathway of gypenosides (GP) on vascular smooth muscle cells (VSMCs) phenotype in hyperlipidemic rats. Hyperlipidemic rats model were established by feeding rats with high-fat diet. Blood lipid levels were detected in all groups. The ultrastructure of VSMCs was detected by transmission electron microscope. The expression of smooth muscle actin (SM-actin), proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and monocyte chemotactic protein-1 induced protein (MCP1) in VSMCs were determined by using immunohistochemistry staining and Western blot methods. The experimental results showed that GP can decrease the blood lipids levels. GP effectively attenuated dedifferentiated changes of VSMCs ultrastructure and increased the expression of SM-actin. The expressions of PCNA and MCP1 in VSMCs were both decreased in GP group. These results demonstrate a novel protection role of GP in VSMCs dedifferentiation by inhibiting MCP1 expression.

**Key words:** gypenosides; vascular smooth muscle cell; phenotype; monocyte chemotactic protein-1 induced protein 1

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 是一种慢性血管炎症病变。在高脂血症等多种危险因素作用下, 中动脉血管壁发生脂质沉积, 血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs) 从分化收缩表型逐渐过渡到增殖活跃, 迁移力强的去分化合成表型, 参与形成为动脉斑块<sup>[1,2]</sup>。能否在 As 发生早期控制及抑制 VSMCs 的去分化, 抑制其增殖及迁移, 对于防治 As 病变的发生、发展起着关键的作用。绞股蓝主要产在南方, 号称“南方人参”, 具有调整血脂、防治 As, 降血尿酸, 抗癌等作用<sup>[3]</sup>。绞股蓝中发

挥主要作用的是绞股蓝皂苷 (gypenosides, GP)<sup>[4]</sup>。GP 发挥药效的细胞分子机理目前已有一定的研究, 但对在 As 发生发展中起关键作用的 VSMCs 表型的影响报道不多, 有待进一步研究。

## 1 材料与方 法

### 1.1 动物与试剂

SPF 级雄性 SD 大鼠 32 只, 体重 200 ± 10 g, 第三军医大学, 实验动物中心购买 [动物合格证编号: SCXK(渝)2012-0005]。动物饲养、处死均遵守“实验动物管理条例”执行。高脂饲料购自第三军医大学, 除基础饲料外添加 CH、猪油、蔗糖等辅料。

绞股蓝总苷为精细干粉制剂, 纯度 ≥ 98% (西安赛邦医药科技有限公司); 辛伐他汀分散片 (批

收稿日期: 2016-10-10 接受日期: 2016-12-07

基金项目: 贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究课题 (QZY-2015-152); 遵义医学院 2012 招标课题 (F-613)

\* 通讯作者 E-mail: qian\_mzh@hotmail.com

号:3136568,广州南新制药有限公司); $\beta$ -actin 抗体、平滑肌肌动蛋白(smooth muscle actin, SM-actin)、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)单克隆抗体,小鼠抗兔二抗(北京博奥森公司);单核细胞趋化蛋白-1 诱导蛋白 1(monocyte chemotactic protein-1 induced protein, MCP1)单克隆抗体(上海 Abgent 公司);GTVision™ 通用二抗检测试剂盒(基因科技(上海)有限公司);苏木素、伊红(北京索莱宝生物科技公司);30% 丙烯酰胺/甲叉双丙烯酰胺、Tris、SDS(上海碧云天生物技术公司)。

## 1.2 设备

倒置显微镜(日本 Olympus 公司莱卡数字图像分析系统);德国 Leica 仪器公司凝胶成像分析仪(美国 BIO-RAD 公司);高速冷冻离心机、蛋白质核酸自动分析仪(德国 Eppendorf 公司);电子分析天平(日本 Tokyo 公司);恒温干燥箱、水浴恒温箱(江苏医疗仪器厂)。

## 1.3 实验模型建立与分组

大鼠适应性喂养(喂食普通饲料)1 周后,分为正常对照组(Control 组)、高脂模型组(Model 组)、绞股蓝总苷组(GP 组)、辛伐他汀组(Simvastatin 组)。Control 组喂饲基础饲料;Model、GP 以及 Simvastatin 组喂饲高脂饲料。根据人体实验剂量和成人与大鼠的体重折算系数折算成大鼠用药量,将 GP 溶于 0.3% 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)中,以灌胃方式给药。Control、Model 组灌服 0.3% CMC-Na 30 mg/kg/d;Simvastatin 组灌辛伐他汀 5 mg/kg/d;GP 组灌 GP 160 mg/kg/d,连续给药 8 周。

## 1.4 样本采集

末次给药后,禁食不禁水 12 h。麻醉后,腹主动脉取血检测血脂水平。小心分离胸主动脉,所有血管组织分三部分保存:1)血管组织置 4% 多聚甲醛,免疫组化检测蛋白表达;2)3% 戊二醛固定,透射电镜制样观察。3)组织置液氮中,免疫印迹法检测蛋白表达。

## 1.5 检测指标及方法

### 1.5.1 大鼠血脂的测定

收集大鼠血液后,3000 rpm,4 °C 离心 15 min。检测血胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)及高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平。

### 1.5.2 大鼠胸主动脉平滑肌细胞透射电镜观察

将固定样本取出,切割 0.5 mm × 1 mm × 3 mm 大小。磷酸盐缓冲液漂洗 30 min,1% 锇酸固定 1 h 左右,磷酸盐缓冲液润洗 3 次,每次 15 min,丙酮进行逐级脱水,37 °C 烘箱过夜。包埋液 45 °C 放置 2 h,包埋聚合。切割超薄组织切片,染色后透射电子显微镜观察动脉壁平滑肌细胞超微结构变化。

### 1.5.3 免疫组织化学法检测大鼠胸主动脉壁 SM-actin、PCNA、MCP1 表达

血管组织石蜡切片,乙醇逐级脱蜡,3% 过氧化氢覆盖 10 ~ 20 min,PBS 洗 3 次。微波修复抗原后 5% 山羊血清封闭,室温孵育 5 min,滴加相应一抗,37 °C 作用 2 h。PBS 冲洗 3 次。二抗覆盖,室温放置 1 h。苏木素、伊红分别作用,乙醇脱水,中性树脂胶封片待干,Leica 图像分析系统观察结果。PCNA 阳性表现为以组织细胞核染色为主;SM-actin 阳性表现为细胞浆黄染。MCP1 阳性表现组织细胞浆内出现棕黄色或褐色颗粒。每组选取 3 张切片,随机选取多个视野(×400),IPP6.0 软件拍照,并检测棕黄褐色性产物的积分光密度值。

### 1.5.4 免疫印迹法(Western blot)检测血管组织 SM-actin、PCNA、MCP1 蛋白表达

取适量血管,加预冷 PBS,0 °C 匀浆,冰浴 10 min,加入裂解液(组织 1 mg 加 10  $\mu$ L)0.5 ~ 1 h 裂解组织。4 °C,12000 rpm 离心 30 min,取上清。BCA 法检测蛋白浓度后平衡蛋白浓度。12% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,转至硝酸纤维素膜上,5% 脱脂牛奶封闭 1 h,加入 SM-actin(1:1000)、PCNA(1:1000)、MCP1(1:500)和  $\beta$ -actin(1:2000)一抗,4 °C 过夜,洗膜三次。加入相应稀释二抗室温孵育 1h,洗膜三次,ECL 化学发光法显色,在凝胶成像系统上曝光、扫描。以  $\beta$ -actin 为对照,Quantity One 2.0 分析蛋白相对表达量。

## 1.6 统计分析

SPSS18.0 软件包进行分析,结果以均值  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。主要统计指标均行正态性分布,方差齐性检验,多组间分析采用单因素方差, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 各组大鼠血脂水平的比较

经正常及高脂饲料喂食 8 周后,各组大鼠血脂水平结果如表 1。与正常对照组大鼠相比,高脂模

型组血 TC、TG、LDL-C 升高 ( $P < 0.01$ ), HDLC 水平下降 ( $P < 0.05$ )。与高脂模型组相比, GP 组及辛伐他汀组血 TG、TC、LDLC 水平有所下降 ( $P < 0.05$ ),

而 HDLC 水平升高 ( $P < 0.05$ )。表明高脂模型构建成功, GP 能有效降低高脂大鼠的血脂水平, 实验所用剂量药效与辛伐他汀组相似。

表 1 各组大鼠血脂水平的比较 (mmol/L,  $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Effect of GP on the blood lipids level in hyperlipidemia rat model (mmol/L,  $\bar{x} \pm s$ )

组别 Group	例数 N	甘油三酯 TG	胆固醇 TC	低密度脂蛋白胆固醇 LDLC	高密度脂蛋白胆固醇 HDLC
正常对照 Control	8	0.48 ± 0.15	2.29 ± 0.26	0.56 ± 0.10	1.69 ± 0.14
模型对照 Model	6	1.38 ± 0.06**	14.05 ± 2.31**	10.73 ± 1.49**	1.42 ± 0.36*
绞股蓝总苷 GP	7	0.86 ± 0.17 <sup>#</sup>	7.06 ± 2.66 <sup>#</sup>	5.24 ± 2.10 <sup>#</sup>	1.60 ± 0.23 <sup>#</sup>
辛伐他汀 Simvastatin	7	0.64 ± 0.26 <sup>#</sup>	6.64 ± 2.01 <sup>#</sup>	4.42 ± 1.92 <sup>#</sup>	1.68 ± 0.31 <sup>#</sup>

注: 与正常对照组相比, \*\*  $P < 0.01$ , \*  $P < 0.05$ ; 与模型组相比, <sup>#</sup>  $P < 0.05$ 。

Note: Compared with control, \*\*  $P < 0.01$ , \*  $P < 0.05$ ; Compared with model, <sup>#</sup>  $P < 0.05$ .

## 2.2 各组大鼠胸主动脉平滑肌细胞超微结构变化

VSMCs 超微结果显示, 正常组平滑肌胞浆内可见肌纤维, 而线粒体、内质网等细胞器较少, 细胞呈分化表型 (图 1A); 高脂模型组 VSMCs 肌丝较少, 高尔基体、内质网等细胞器合成增加, 线粒体损伤呈空泡化, 嵴消融 (见图 1B 白色箭头所示), 细胞为去分

化表型, 呈合成状态; GP 组、辛伐他汀组与高脂模型组相比, 胞内线粒体、粗面内质网等细胞器数量有所减少, 线粒体损伤减轻, 表明高血脂会导致主动脉平滑肌细胞去分化, 而喂饲 GP 或辛伐他汀的干预组, 胸主动脉平滑肌细胞的去分化表现减轻, 向分化表型转变 (见图 1C、D 白色箭头所示)。

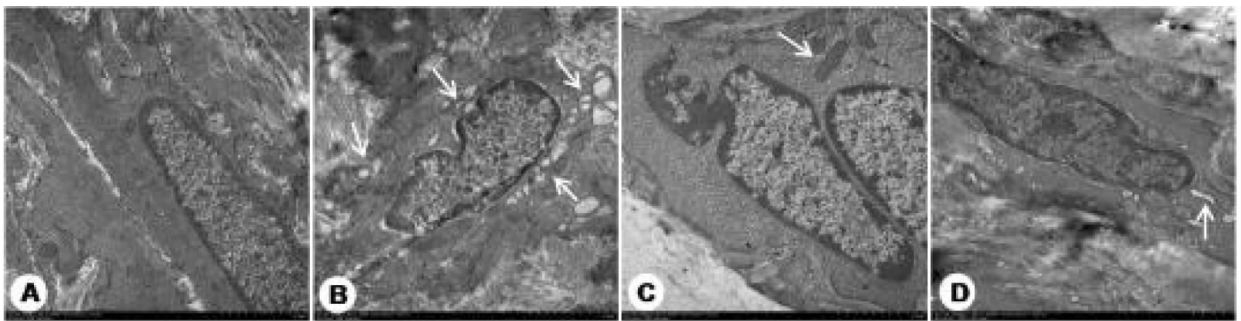


图 1 正常对照组 (A)、模型对照组 (B)、GP 处理组 (C) 及辛伐他汀处理组 (D) 大鼠胸主动脉平滑肌细胞超微结构变化 ( $\times 25000$ )

Fig. 1 Ultrastructures of rat thoracic aorta VSMCs from control group (A), model group (B), GP group (C) and Simvastatin group (D) ( $\times 25000$ )

## 2.3 各组大鼠血管组织中 SM-actin、PCNA 表达的比较

与正常对照组相比, 高脂模型组胸主动脉胞浆染色较浅, 表明分化表型标志蛋白 SM-actin 表达减少; 而高脂模型组内皮下出现细胞核黄染较多, 说明 PCNA 染色阳性, 表达明显增多 ( $P < 0.05$ )。与高脂模型组相比, GP 或辛伐他汀的两个组胞浆棕黄染明显加深, 表明 SM-actin 表达增高; 而胞核黄染减少, 说明阳性 PCNA 表达明显减少 (图 2A), 染色积分光密度值统计结果见图 2 B ( $P < 0.05$ )

## 2.4 各组大鼠血管 SM-actin、PCNA 蛋白表达水平比较

Western blot 法检测 GP 干预后上述两种蛋白表

达量。与正常对照组相比, 高脂模型组血管 SM-actin 表达明显减少, PCNA 表达增高; 与高脂模型组相比, GP 或辛伐他汀处理后血管 SM-actin 表达增高, PCNA 表达减少 (图 3A), 结果与免疫组化结果一致, 统计结果见图 3 B ( $P < 0.05$ )。

## 2.5 各组大鼠血管组织 MCP1 表达的比较

高脂模型组在动脉壁均可见细胞棕黄染色, 表明高脂能诱导血管组织中 MCP1 表达明显增加; 与高脂模型组相比, GP 或辛伐他汀处理后黄染明显减低, 表明这两种药物均能有效降低高脂诱导的血管组织中 MCP1 表达 (图 4A)。染色积分光密度值统计结果见图 4 B ( $P < 0.05$ )。

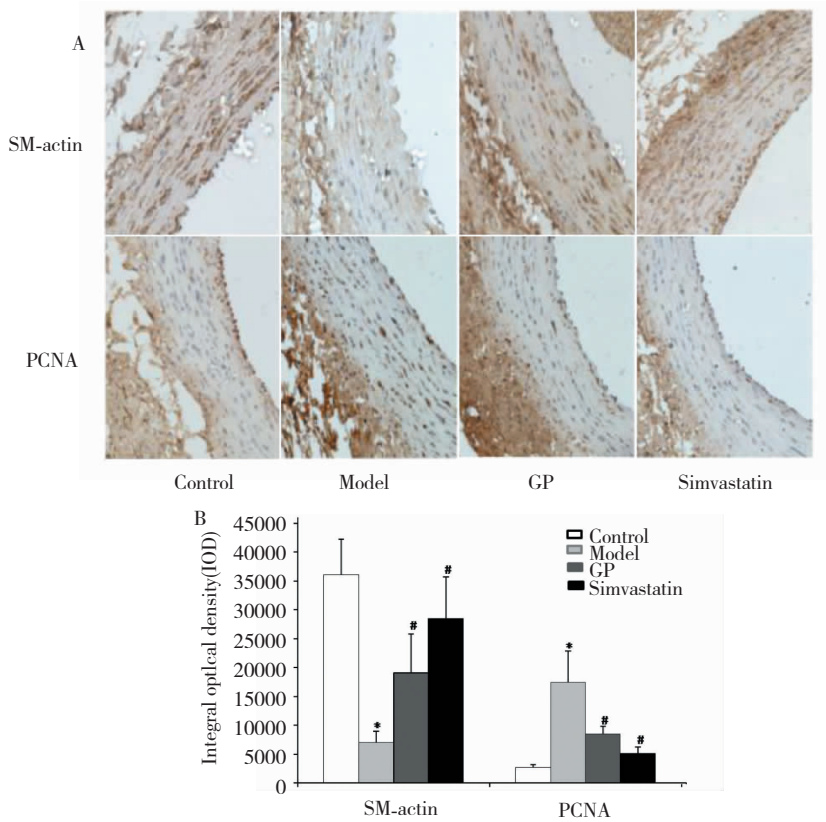


图2 各组大鼠血管组织中 SM-actin、PCNA 表达的比较(免疫组织化学法染色  $\times 400$ )

Fig. 2 Effect of GP on SM-actin, PCNA expressions of rat vessel (immunohistochemistry  $\times 400$ )

注: A 为免疫组化检测各组血管 SM-actin、PCNA 表达; B 为统计结果。与对照组相比,  $* P < 0.05$ ; 与模型组相比,  $\# P < 0.05$

Note: A: The expression of SM-actin and PCNA were detected by immunohistochemistry; B: Statistical results, Compared with control,  $* P < 0.05$ , compared with model,  $\# P < 0.05$

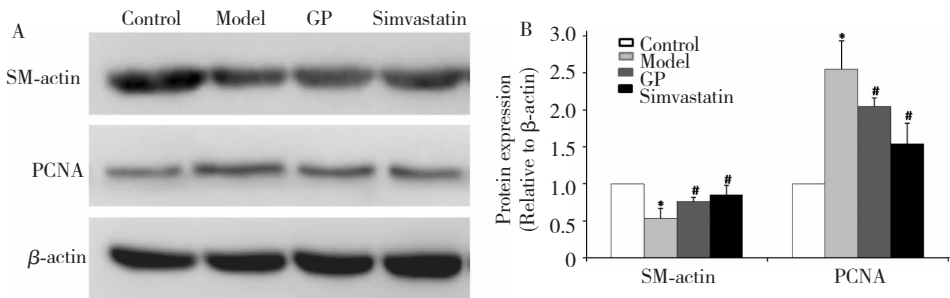


图3 各组大鼠血管 SM-actin、PCNA 蛋白表达水平比较(蛋白质印迹法)

Fig. 3 Effect of GP on SM-actin, PCNA expressions of rat thoracic aorta (Western blot)

注: A 为各组血管 SM-actin、PCNA 蛋白表达图; B 为蛋白表达相对比值。与对照组相比,  $* P < 0.05$ ; 与模型组相比,  $\# P < 0.05$

Note: A: Protein expression of VEGF, bFGF and actin; B: The relative ratio of protein electrophoresis. Compared with control,  $* P < 0.05$ ; Compared with model,  $\# P < 0.05$

## 2.6 各组大鼠血管 MCP1 蛋白水平表达的比较

高脂模型组与正常对照组相比, 血管组织中 MCP1 表达明显增多; 与高脂模型组相比, GP 或辛伐他汀处理后, 血管组织中 MCP1 表达减低(图 5A), 统计结果见图 5B ( $P < 0.05$ ), 与免疫组化结果

一致。

## 3 讨论与结论

绞股蓝可用于防治高脂血症、As 等疾病。GP 是从绞股蓝中提取的有效成分群, 从绞股蓝中可分

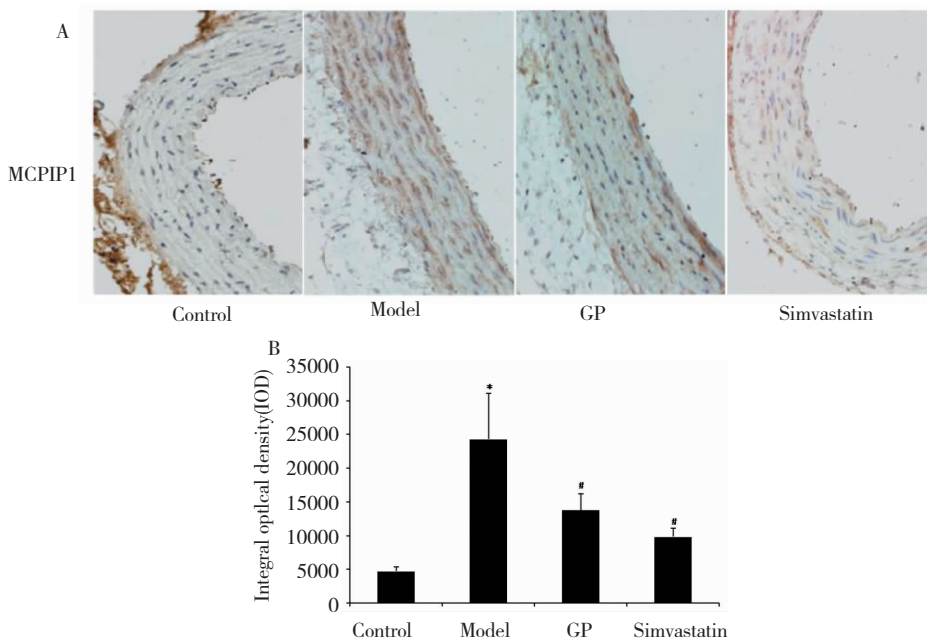


图4 GP对高脂大鼠胸主动脉血管MCPIPI蛋白表达的影响(免疫组化法染色 $\times 400$ )

Fig. 4 Effect of GP on MCPIPI expression in rat thoracic aorta (immunohistochemistry  $\times 400$ )

注:A为免疫组化检测各组血管MCPIPI表达;B为统计结果。与对照组相比,\* $P < 0.05$ ;与模型组相比,# $P < 0.05$

Note:A;The expression of MCPIPI was detected by immunohistochemistry;B;Statistical results. Compared with control,\* $P < 0.05$ ; Compared with model,# $P < 0.05$

离160多种皂苷,总皂苷含量超过人参。本课题组前期研究显示GP可发挥抗氧化作用抑制高脂大鼠体内炎症分子的表达,从而抑制实验性大鼠AS病变的形成<sup>[5]</sup>。体外细胞水平实验也证实GP可抑制胆固醇所致的人VSMCs表型转化<sup>[6]</sup>。由于VSMCs表型转化在As病变早期斑块尚未形成时即有发生,因此本实验建立了大鼠高脂模型,模拟As早期病程来观察高脂对大鼠动脉SMCs去分化的影响和GP的干预效应,并初步探讨相关的分子机制。

脂质代谢异常所致的高脂血症被认为是As形成的首要独立危险因素<sup>[7]</sup>。本实验通过喂食高脂饮食成功建立大鼠高脂模型,采用GP与阳性对照药辛伐他汀干预后,能明显降低大鼠血清TC、TG、LDLC水平,升高HDL水平,进一步验证了GP降血脂的功效。脂质、脂质过氧化作用的产物等因素可刺激诱导VSMCs发生去分化。因此本实验进一步观察了高脂诱导下,大鼠VSMCs超微结构的变化。高脂模型组的平滑肌细胞与正常分化型细胞不同,胞浆内肌丝减少,线粒体出现空泡,内质网、高尔基体等细胞器增多,这些形态学上的改变均表明细胞处于去分化状态。SM-actin在分化的VSMCs中

表达丰富,是应用最多的VSMCs分化标志物,可用于VSMCs的表型鉴定<sup>[8]</sup>。实验结果表明,高脂组中动脉壁上SM-actin表达减少,而代表细胞增殖能力的PCNA表达较正常组增高,表明脂质诱导细胞发生去分化。当GP或者药物对照辛伐他汀干预后,胸主动脉SMCs的超微结构出现了再分化的改变,肌丝增多,细胞器减少。并且分化标志SM-actin蛋白表达增加,PCNA表达减少。说明GP不仅可以降低高脂大鼠的血脂水平,还能抑制高脂诱导的动脉SMCs去分化。在正常成年血管中SMCs发生表型转换,变为去分化表型是SMCs在血管病变状态下发生增殖和迁移等生物学行为改变的前提和基础,是As、心肌梗死支架植入术后再狭窄等血管疾病的重要病理改变。而这种表型转化在细胞微环境改变及某些药物干预条件下可发生逆转。本实验证实了GP可抑制大鼠动脉SMCs增殖并发生去分化,促进细胞的再分化,进而抑制内膜增生减轻As。这说明GP的作用不仅只限于通过改善高血脂对大鼠血管内皮损伤相关的因素,减缓As的进展,我们还可从GP抑制平滑肌细胞去分化这个角度更全面的认识GP抗As的分子作用机制。平滑肌细胞这种表型的



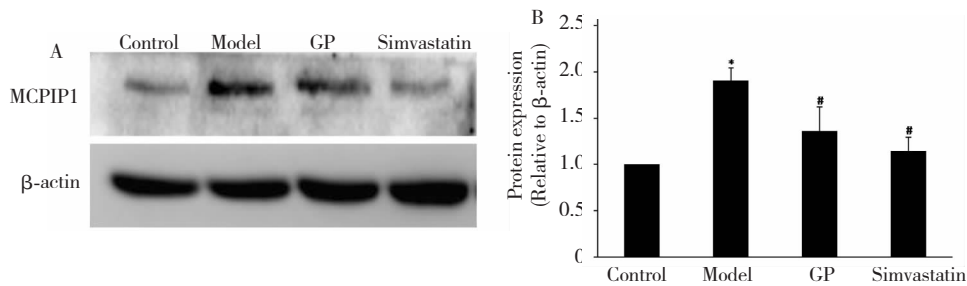


图5 GP对大鼠胸主动脉MCPIPI蛋白表达的影响(蛋白质印迹法)

Fig. 5 Effect of GP on MCPIPI expressions of rat thoracic aorta (Western blot)

注:A为各组血管SM-actin、PCNA蛋白表达图;B为蛋白表达相对比值。与对照组相比,\* $P < 0.05$ ;与模型组相比,# $P < 0.05$

Note:A:Protein expression of VEGF,bFGF and actin;B:The relative ratio of protein electrophoresis. Compared with control,\* $P < 0.05$ ;Compared with model,# $P < 0.05$

可塑性也为生物体更好的生存提供了有力的保证。

MCPIPI 是由 MCP-1 与其受体结合后,激活下游基因生成的蛋白<sup>[9]</sup>,兼有 RNA 酶活性和泛素化酶活性<sup>[10]</sup>。多种炎症因子均能诱导 MCPIPI 的表达。研究证实,MCPIPI 与 As 的发生、发展关系密切。已报道在高脂喂养的模型鼠及人 As 斑块中,MCPIPI 表达增高,并主要集中在 VSMCs<sup>[11]</sup>。MCPIPI 缺陷的造血干细胞移植高 CH 喂养的 LDLR<sup>-/-</sup>小鼠后,发现 As 病变减轻<sup>[12]</sup>。本课题组前期研究发现在 VSMCs 中,敲除 MCPIPI 基因后可减轻 VSMCs 的增殖<sup>[13]</sup>。表明 MCPIPI 可正调控 VSMCs 增殖,调节其功能。因此,本实验选择了 MCPIPI 为靶标,作为研究 GP 抑制高脂所致 VSMCs 去分化效应可能的分子靶点。结果显示,高脂可明显诱导血管组织中 MCPIPI 的高表达,而 GP 与辛伐他汀干预均能有效降低高脂诱导的 MCPIPI 表达。提示 GP 的保护效应与其抑制 MCPIPI 表达有关。有研究指出<sup>[14]</sup>,他汀类药物可抑制 VSMCs 增殖及去分化,可通过抑制 NF-κB 与 MCPIPI 基因增强子的结合,从而减少血管 MCPIPI 水平,减轻内皮功能失调从而抗 As。说明作为预防治疗 As 的他汀类药物,其作用靶点也包含了抑制 MCPIPI 表达。研究还指出,在机体内皮细胞处于炎症微环境的条件下,分泌的 MCPIPI 作用于心血管系统其他细胞,外周血中的 MCPIPI 水平有可能成为 As 预后不良的临床标志物。这些研究结果均说明抑制 MCPIPI 的表达,对于控制 As 的发生、发展有着重要的意义。

综上所述,本实验证实 GP 可降低血脂水平,从而减轻脂质和脂质过氧化物产物对大鼠胸主动脉血管的损伤,抑制平滑肌细胞增殖、去分化作用;并且

GP 可通过抑制促 As 发生因子 MCPIPI 的表达从而减轻 VSMCs 去分化程度,发挥其抗 As 的作用。但 GP 通过抑制 MCPIPI 表达减轻细胞去分化的具体分子调控机制有待进一步深入研究。

#### 参考文献

- Shi N, Chen SY. Smooth muscle cell differentiation: model systems, regulatory mechanisms, and vascular diseases. *J Cell Physiol*, 2016, 231: 777-787.
- Perisic Matic L, Rykaczewska U, Razuvaev A, et al. Phenotypic modulation of smooth muscle cells in atherosclerosis is associated with downregulation of LMOD1, SYNPO2, PD-LIM7, PLN, and SYN. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016, 36: 1947-1961.
- Li L (李露), Fan HL (范红艳), Dai T (戴婷), et al. Advances in pharmacological effects of Gypenosides. *J Jilin Med Coll* (吉林医药学院学报), 2015, 36: 147-150.
- Xu ZL (许泽龙), Yang FQ (杨丰庆), Xia ZN (夏之宁). Chemical constituents of *Gynostemma pentaphyllum*. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2013, 25: 1067-1069.
- Quan Y (权媛), Qian MZ (钱民章). Effect and mechanism of Gypenosides on the inflammatory molecular expression in high fat induced atherosclerosis in rats. *Chin J Integr Tradit Chin Western Med* (中国中西医结合杂志), 2010, 4: 403-411.
- Shu B (束波), Yang YJ (杨一峻), Qian MZ (钱民章). Protective effect of Gypenosides on phenotypic switching of VSMC induced by cholesterol *in vitro*. *Mod Tradit Chin Med Mater Mater-World Sci Technol* (世界科学技术-中医药现代化), 2015, 17(1): 66-71.
- Zelicoff AP. Multifactorial risk assessment for atherosclerotic cardiovascular disease. *J Am Med Assoc*, 2015, 313: 971-972.
- Fan Z, Li C, Qin C, et al. Role of the PI3K/AKT pathway in

- modulating cytoskeleton rearrangements and phenotype switching in rat pulmonary arterial vascular smooth muscle cells. *DNA Cell Biol*, 2014, 33(1):12-19.
- 9 Liu X, Fang S, Liu H, *et al.* Role of human pulmonary fibroblast-derived MCP-1 in cell activation and migration in experimental silicosis. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2015, 288:152-160.
- 10 Xu J, Fu S, Peng W, *et al.* MCP-1-induced protein-1, an immune regulator. *Protein Cell*, 2012, 12:903-910.
- 11 Qi Y, Liang J, She ZG, *et al.* MCP induced protein 1 suppresses TNF $\alpha$ -induced VCAM-1 expression in human endothelial cells. *FEBS J*, 2010, 284:3065-3072.
- 12 Fang Y, Fen D, Wang YZ, *et al.* Bone marrow deficiency of MCP1P1 results in severe multi-Organ inflammation but diminishes atherogenesis in hyperlipidemic mice. *PLoS One*, 2013, 8:80089-80099.
- 13 Yang YJ (杨一峻), Wu LS (吴柳松), Shu B (束波), *et al.* MCP1P1 mediates MCP-1-induced vascular smooth muscle cell proliferation. *Acta Physiol Sin (生理学报)*, 2013, 65:616-622.
- 14 He M, Liang X, He L, *et al.* Endothelial dysfunction in rheumatoid arthritis: the role of monocyte chemoattractant protein-1-induced protein. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33:1384-1391.

(上接第 356 页)

- 59 Ma XY (马晓宁), *et al.* Screening of fungal polysaccharide elicitors and optimization of elicitation conditions for polysaccharide from *Cordyceps militaris*. *Sci Sericul (蚕业科学)*, 2012, 38:734-739.
- 60 Xu YN (徐轶宁). Impacts of calcineurin signal transduction on production of antitumor ganoderic acids in mycelia fermentation of medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. Shanghai: Shanghai Jiaotong University (上海交通大学), PhD. 2013.
- 61 Ma XK, *et al.* Influence of rutin, FeSO<sub>4</sub>, Tween80, aspartate and complex vitamins on synthesis of fungal exopolysaccharide. *Carbohydr Polym*, 2013, 92:1188-1196.
- 62 Zhou HB, *et al.* Improved polysaccharide production in submerged culture of *Ganoderma lucidum* by the addition of coixinolide. *Appl Biochem Biotechnol*, 2014, 172:1497-1505.
- 63 He ZY (贺宗毅), *et al.* Effect of rhizoma gastrodiae on key enzyme activities involved in the biosynthesis of exopolysaccharides from *Grifola frondosa* in submerged culture. *Food Sci (食品科学)*, 2013, 34:199-202.
- 64 Li HJ, *et al.* Improved polysaccharide production in a submerged culture of *Ganoderma lucidum* by the heterologous expression of *Vitreoscilla hemoglobin* gene. *J Biotechnol*, 2016, 217:132-137.
- 65 Xu YN, *et al.* Impacts of calcium signal transduction on the fermentation production of antitumor ganoderic acids by medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. *Biotechnol Advances*, 2012, 30:1301-1308.
- 66 Fan DD, *et al.* Enhancement of cordycepin production in submerged cultures of *Cordyceps militaris* by addition of ferrous sulfate. *Biochem Eng J*, 2012, 60(15):30-35.
- 67 Torino MI, *et al.* Exopolysaccharide biosynthesis by *Lacobacillus helveticus* ATCC 15807. *Appl Microbiol Cell Physiol*, 2005, 68:259-265.
- 68 Grobden GJ, *et al.* Influence of fructose and glucose on the Production of exopolysaccharides and the activities of sugar nucleotides in *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* NCFB2772. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1996, 46:279-284.