

丹酚酸 B 抑制血管紧张素 II 诱导心肌成纤维细胞增殖与分化的作用

黄海烽，王春花，赵玲璐，罗红，徐旖旎，陶玲，张敏*，沈祥春*
(贵州医科大学，贵阳 550025)

[摘要] **目的:**研究丹酚酸 B(salvianolic acid B,Sal-B)对血管紧张素 II(angiotensin II,Ang II)诱导的新生 SD 大鼠心肌成纤维细胞(cardiac fibroblasts,CFs)增殖与分化的影响,探讨 Sal-B 是否具有对抗心肌纤维化的作用。**方法:**胰酶消化,差速贴壁分离纯化 CFs,抗波形蛋白免疫细胞化学法鉴定 CFs。建立 Ang II 诱导的 CFs 增殖分化模型。实验分为空白组(无血清 DMEM),模型组($1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ang II),Sal-B 低剂量组($2.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Sal-B + $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ang II)及 Sal-B 高剂量组($5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Sal-B + $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ang II)共 4 组。Sal-B 预保护 1 h,加入 Ang II 共同作用 24 h 后,采用噻唑蓝(MTT)法分析 Sal-B 对 Ang II 诱导 CFs 增殖的细胞存活率,采用试剂盒(消化法)测定羟脯氨酸含量,蛋白质免疫印迹(Western blot)分析 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA),I 型胶原(collagen I,Col I)的表达情况。**结果:**MTT 结果显示,与空白组比较,模型组 Ang II 显著诱导 CFs 异常增殖($P < 0.01$),与模型组比较,Sal-B 低、高剂量显著抑制 Ang II 诱导的 CFs 增殖($P < 0.01$);羟脯氨酸含量测定结果显示,与空白组比较,模型组羟脯氨酸含量显著升高($P < 0.01$),与模型组比较,Sal-B 低、高剂量组含量均显著降低($P < 0.01$);Western blot 结果显示,与空白组比较,模型组 α -SMA,Col I 蛋白表达显著上调($P < 0.01$),与模型组比较,Sal-B 低、高剂量组 α -SMA,Col I 蛋白表达明显下调($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论:**Sal-B 可抑制 Ang II 诱导的 CFs 增殖,减少 α -SMA,Col I 蛋白的表达,对 Ang II 体外诱导心肌纤维化进程具有抑制作用。

[关键词] 血管紧张素 II; 心肌纤维化; 心肌成纤维细胞; 丹酚酸 B; 增殖; 分化
[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)13-0128-05
[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017130128
[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170420.1111.048.html>
[网络出版时间] 2017-04-20 11:11

Effect of Salvianolic Acid B in Inhibiting Angiotensin II-induced Proliferation and Differentiation of Rat Cardiac Fibroblast

HUANG Hai-feng, WANG Chun-hua, ZHAO Ling-lu, LUO Hong, XU Yi-ni,
TAO Ling, ZHANG Min*, SHEN Xiang-chun*
(Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the inhibitory effect of salvianolic acid B (Sal-B) on proliferation and differentiation of cardiac fibroblasts (CFs) induced by angiotensin II (Ang II) of neonatal Sprague Dawley rats, and clarify the anti-fibrotic mechanism of Sal-B *in vitro*. **Method:** Primary CFs were harvested from 1-3-day-old neonatal rats by 0.08% trypsin digesting, and then separated and purified by differential attachment. The CFs

[收稿日期] 20170124(004)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(81560588);贵州省科学技术研究重点项目(黔科合 JZ 字[2015]2002 号);教育部新世纪优秀人才支持计划项目(NCET-13-0747);贵州省高等学校科技创新人才团队建设项目(黔教合人才团队字[2014]31);贵州省高层次创新型人才百层次人才项目(黔科合人才[2015]4029 号);大学生创新创业项目(201410660017);贵州省科技创新团队项目([2015]4025 号)
[第一作者] 黄海烽,在读硕士,从事天然药物药理学研究,Tel:18798846265,E-mail:615686558@qq.com
[通讯作者] * 张敏,硕士,副教授,从事心血管系统药物药理研究,Tel:0851-88174007,E-mail:1071632869@qq.com;* 沈祥春,博士,教授,从事心血管系统药物药理、功能天然产物化学生物学研究,Tel:0851-88416149,E-mail:shenxiangchun@126.com

were identified by anti-vimentin immunocytochemistry. Proliferation and differentiation of the CFs model were reproduced by Ang II. The CFs was randomly divided into 4 groups as follows: normal group (serum-free DMEM), model group ($1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ang II), Sal-B low-dose group ($2.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Sal-B + $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ang II) and high-dose group ($5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Sal-B + $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ang II). The CFs were pretreated with Sal-B for 1 h, and then co-cultured with Ang II for 24 hours. The inhibition of Sal-B on CFs proliferation was measured by 3-(4, 5-dimethyl-2-thiazolyl)-2, 5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay. The content of hydroxyproline was detected by commercial kit. The expressions of alpha-smooth muscle actin (α -SMA) and collagen I (Col I) were detected by Western blot. **Result:** The results of MTT assay suggested that compared with the normal group, Ang II in model group significantly induced abnormal CF proliferation ($P < 0.01$); Compared with model group, both low and high-dose Sal-B significantly inhibited Ang II-induced CFs proliferation ($P < 0.01$). The content of hydroxyproline increased in model group ($P < 0.01$) compared with the normal group, but decreased ($P < 0.01$) after being co-cultured with Sal-B compared with model group. Western blot revealed that the expressions of α -SMA and Col I significantly increased in the model group ($P < 0.01$), low-dose and high-dose Sal-B suppressed Ang II-induced up-regulation of α -SMA and Col I ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Sal-B could significantly inhibit Ang II-induced cardiac fibroblasts proliferation and expressions of α -SMA and Col I, and plays an important role in the process of anti-fibrosis induced by Ang II *in vitro*.

[**Key words**] angiotensin II; myocardial fibrosis; cardiac fibroblast; salvianolic acid B; proliferation; differentiation

心肌成纤维细胞(cardiac fibroblasts, CFs)约占心脏组织的60%~70%^[1],对维持心脏结构与正常功能具有重要作用。CFs是心肌纤维化(myocardial fibrosis, MF)的主要效应细胞^[2],其异常增殖和病理性肌成纤维细胞(myofibroblasts, MyoFbs)转化是心肌重塑的重要病理过程之一^[3-4],主要表现为 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)表达水平上调,胶原沉积,基质重构,瘢痕形成^[5]。

丹酚酸 B(salvianolic acid B, Sal-B)为唇形科植物丹参中水溶性酚酸类化合物,也是丹参药理作用的重要物质基础之一^[6]。Sal-B 在治疗心血管疾病方面发挥重要作用^[7],研究证实,Sal-B 促进人脐静脉内皮细胞增殖,迁移和管腔形成^[8],对去甲肾上腺素预收缩的大鼠离体胸主动脉具有明显的舒张作用^[9],对急性心肌梗死具有心脏保护作用^[10]。Sal-B 对实验性肝^[11]、肺^[12]、肾^[13]纤维化均有一定的改善。研究证实,Sal-B 能显著抑制转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)诱导的心肌成纤维细胞增殖^[14]。血管紧张素 II(angiotensin II, Ang II)是肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)的重要组成部分,病理情况下,局部 RAS 系统激活后,Ang II 可以直接作用于 CFs,诱导其增殖和分化^[15],促进心肌纤维化的发生。本实验采用 Ang II 诱导体外培养的 CFs 增殖与分化模型,观察 Sal-B 对 Ang II 诱导 CFs 增殖与分化的抑制作用。

1 材料

1.1 动物 1~3 d SD 大鼠乳鼠,雌雄不限,由贵州医科大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(黔)2012-0001。本研究所涉及的动物相关操作均在贵州医科大学动物伦理委员会的批准下进行(编号 1603151)。

1.2 药物及试剂 Sal-B(上海晶纯生化科技股份有限公司,纯度 >98%,批号 D1516060);血管紧张素 II(美国 Sigma 公司,批号 SLBM2823V);胎牛血清(杭州四季青公司,批号 150129);噻唑蓝(MTT,索莱宝公司,批号 321E0512);二甲基亚砷(美国 Amresco 公司,批号 320A0323);SP 检测试剂盒及二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒(中杉金桥公司,批号分别为 PV-6002, ZLI-9032);抗波形蛋白抗体及抗 I 型胶原(CdI)抗体(博士德生物公司,批号分别为 BM0135, 13B113);抗 α -SMA 多克隆抗体(美国 Immunoway 公司,批号 B2101);羟脯氨酸含量测定试剂盒(南京建成公司,批号 20160108)。

1.3 仪器 HF90 型二氧化碳培养箱(中国上海力申科学仪器有限公司),JB-CJ-1FXS 型洁净工作台(中国苏州佳宝净化工程设备有限公司),80-2 型离心机(中国上海手术器械厂),DMi1 型倒置显微镜(德国 Leica 公司),ELx800 型酶标仪(美国 Bio-Tek 公司),GelDoc 2000 型凝胶成像系统仪(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 原代 CFs 分离与纯化 取新生 SD 大鼠乳鼠 10 只,75% 乙醇消毒皮肤,固定四肢,胸部向上,眼科剪剪开胸部皮肤,取下正在搏动心脏的心尖部分于预冷磷酸盐缓冲液(PBS)的培养皿中洗净残血,转入盛有预冷 PBS 的青霉素小瓶中,用眼科剪将其剪成约 1 mm³ 大小的组织块,PBS 反复冲洗至液体部分清亮,加入 5 mL 含有 0.02% EDTA,0.08% 的胰酶,封口后置于 37 ℃ 水浴中手摇消化 6 min,自然沉淀,弃去前 2 次上清,加入胰酶消化 6 min,超净台内吹打 20 次左右,组织块自然沉淀后,将上清液移至另一无菌离心管中,加入等量含 10% 胎牛血清的 DMEM 以终止消化,以 1 000 r·min⁻¹ 离心 6 min,弃上清,加入适量 DMEM 重悬,收集细胞悬液。在沉淀的组织块中加入胰酶 6 mL 消化,吹打,沉淀,如此循环重复操作,直至组织块被充分消化^[16]。所有收集的细胞悬液接种于 25 mm² 培养瓶内,于 37 ℃ 5% CO₂ 饱和湿度的培养箱中孵育 90 min,利用差速贴壁法分离掉其他细胞,待其长满瓶底后进行原代 CFs 的传代培养,实验用第 2~3 代 CFs 完成后续实验。

2.2 原代 CFs 鉴定 实验分 2 组,分别为波形蛋白组及空白组(PBS 代替一抗),细胞爬片后,采用 DAB 显色法联合免疫细胞化学染色 SP 法鉴定 CFs 中波形蛋白。抗波形蛋白抗体以 1:400 比例稀释用于此实验,苏木素复染,倒置显微镜下观察拍照。

2.3 Sal-B 对 CFs 增殖的影响及 Sal-B 对 Ang II 诱导 CFs 增殖的影响

2.3.1 Sal-B 对 CFs 增殖的影响 实验给予 3 个剂量测定细胞的存活率,Sal-B 各浓度组(0,2.5 × 10⁻⁵,5 × 10⁻⁵,1 × 10⁻⁴ mol·L⁻¹)。将 CFs 按 4 × 10⁴ 个/mL 每孔接种于 96 孔板中,以 10% 胎牛血清 DMEM 培养,待 CFs 长至约 75% 后,将培养基换成无血清 DMEM,于 37 ℃ 5% CO₂ 饱和湿度培养箱培养 24 h,加入不同浓度 Sal-B(2.5 × 10⁻⁵,5 × 10⁻⁵,1 × 10⁻⁴ mol·L⁻¹)孵育,24 h 后小心吸弃培养液,PBS 洗 3 遍,采用 MTT 法检测各组 490 nm 处吸光度 A。

2.3.2 Sal-B 对 Ang II 诱导 CFs 增殖的影响 实验分 4 组,即空白组,模型组,Sal-B 高、低浓度组(5 × 10⁻⁵,2.5 × 10⁻⁵ mol·L⁻¹)。如 2.3.1 项操作,待 CFs 长至约 75% 后,将培养基换成无血清 DMEM,于 37 ℃ 5% CO₂ 饱和湿度培养箱培养 24 h,加入 Sal-B 高、低浓度(5 × 10⁻⁵,2.5 × 10⁻⁵ mol·L⁻¹)孵育,1 h

后加入 Ang II,使其终浓度为 1 × 10⁻⁶ mol·L⁻¹ 共同孵育 24 h,各 Sal-B 预保护组 Ang II 浓度与模型组浓度一致,培养 24 h 后小心吸弃培养液,PBS 洗 3 遍,采用 MTT 法检测各组 490 nm 处测 A。

2.4 羟脯氨酸测定试剂盒检测培养上清羟脯氨酸含量 将 CFs 接种于 6 孔板中,待 CFs 长至约 75% 后如 2.3.2 项操作,培养 24 h 后取各组培养上清 500 μL,按照羟脯氨酸含量测定试剂盒说明书操作。

2.5 蛋白质免疫印迹(Western blot)检测 Col I, α-SMA 蛋白表达 将 CFs 接种于 25 mm² 培养瓶中,待 CFs 长至约 75% 后如 2.3.2 项操作,培养 24 h 后提取各组蛋白,BCA 法进行蛋白定量,蛋白变性,以 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离总蛋白,转移至聚偏氟乙烯膜上,5% 脱脂牛奶封闭 1 h,Col I 抗体(1:400),α-SMA 抗体(1:1 000)室温孵育 1 h,4 ℃ 孵育过夜;HRP 标记的二抗(1:1 万)孵育 1 h,ECL 化学发光液处理,凝胶图像系统成像,Image LabTM 软件分析各蛋白条带灰度值。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参,计算蛋白相对表达量。

2.6 统计学分析 采用 SPSS 10.0 统计软件,计量结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 CFs 形态学观察 刚分离的原代 CFs 呈圆形,显微镜下观察,其折光性好,悬浮于 DMEM 中。贴壁的 CFs 呈三角形或梭形,散在生长,不聚集成团。CFs 生长迅速,约 2~3 d 生长至融合状态,细胞排列紧密,平坦,胞体较大,无自发搏动,有的交叉重叠生长。见图 1。

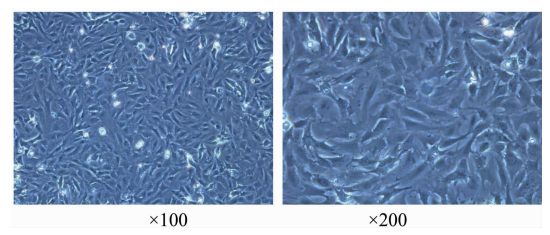


图 1 心肌成纤维细胞的形态(倒置显微镜)
Fig.1 Morphology of cardiac fibroblasts(inverted microscope)

3.2 心肌成纤维细胞鉴定 Vimentin 是胰酶法分离的 CFs 鉴定的主要生物标记物,在 CFs 胞浆表达,免疫细胞化学 DAB 显色呈棕黄色丝状物,蓝色部分为细胞核。该细胞鉴定为 CFs,纯度 >99%。见图 2。

3.3 对 CFs 增殖的影响及对 Ang II 诱导 CFs 增殖的抑制作用 不同浓度 Sal-B 单独作用 24 h 后,各

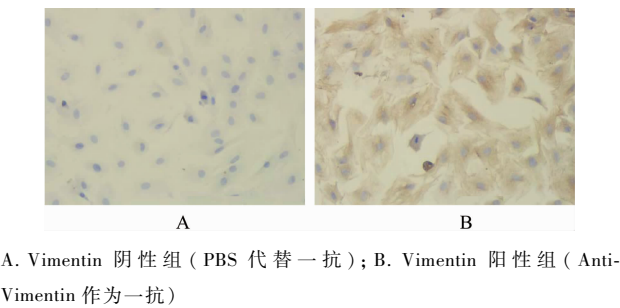


图 2 心肌成纤维细胞的鉴定(免疫细胞化学, ×200)

Fig. 2 Identification of CFs(immunocytochemistry, ×200)

组 A 与空白组比较无明显差异,Sal-B 对 CFs 增殖无明显影响。见表 1。选择 $5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 及 $2.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 作为高、低浓度组进行后续实验。与空白组比较,模型组 CFs 异常增殖 A 显著升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,Sal-B 高、低浓度组 A 显著降低 ($P < 0.01$)。见表 2。

表 1 Sal-B 对 CFs 增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	浓度/ $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	A	增殖率/%
空白	—	0.365 ± 0.014	—
Sal-B	2.5×10^{-5}	0.370 ± 0.006	101.47
	5×10^{-5}	0.369 ± 0.021	101.23
	1×10^{-4}	0.359 ± 0.006	98.44

表 2 Sal-B 抑制 Ang II 诱导的 CFs 异常增殖 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	浓度/ $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	A	增殖率/%
空白	—	0.339 ± 0.014	—
模型	—	$0.404 \pm 0.026^{1)}$	119.06
Sal-B	2.5×10^{-5}	$0.346 \pm 0.035^{2)}$	101.87
	5×10^{-5}	$0.331 \pm 0.032^{2)}$	97.54

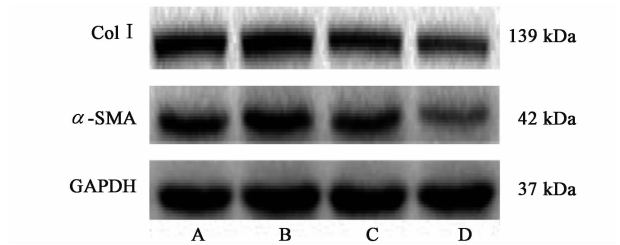
注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$ (表 3 同)。

3.4 对 Ang II 诱导的 CFs 羟脯氨酸含量的影响
与空白组比较,模型组羟脯氨酸含量显著升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,Sal-B 高、低浓度组羟脯氨酸含量降低 ($P < 0.01$)。见表 3。

3.5 对 Ang II 诱导的 CFs 异常增殖后 Col I, α -SMA 蛋白表达影响
与空白组比较,Ang II 可显著上调 Col I, α -SMA 的蛋白表达 ($P < 0.01$),提示 Ang II 可促进 CFs 向 MyoFb 分化;与模型组比较,Sal-B 高、低浓度组下调 Ang II 上调的 Col I, α -SMA 蛋白表达 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见图 3,表 4。

表 3 Sal-B 对 Ang II 诱导的 CFs 羟脯氨酸含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 3 Effect of Sal-B on concentration of hydroxyproline increased by Ang II ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	浓度/ $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	羟脯氨酸/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
空白	—	0.744 ± 0.024
模型	—	$1.394 \pm 0.112^{1)}$
Sal-B	2.5×10^{-5}	$0.787 \pm 0.136^{2)}$
	5×10^{-5}	$0.857 \pm 0.065^{2)}$



A. 空白组;B. 模型组;C. Sal-B $2.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组;D. Sal-B $5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组

图 3 各组 CFs Col I, α -SMA 蛋白的表达

Fig. 3 Expression of Col I, α -SMA protein in each CFs group

表 4 SA-B 对 Ang II 诱导的 CFs 的 Col I, α -SMA 蛋白表达的影响
Table 4 Effect of SA-B on Ang II-induced expression of Col I and α -SMA protein in CFs

组别	浓度/ $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	Col I /GAPDH	α -SMA/GAPDH
空白	—	1	1
模型	—	$1.427 \pm 0.203^{1)}$	$1.536 \pm 0.112^{1)}$
Sal-B	2.5×10^{-5}	$1.030 \pm 0.139^{2)}$	$1.086 \pm 0.200^{2)}$
	5×10^{-5}	$0.970 \pm 0.164^{3)}$	$0.953 \pm 0.277^{3)}$

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,
³⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

心血管系统疾病是严重威胁人类健康的常见疾病。MF 是多种心血管疾病发展到一定阶段的共同病理表现^[17-19],以 CFs 的过度增殖,胶原过度沉积及异常分布为特征。CFs 是心脏中数量最多的细胞,在正常的心脏中主要负责细胞外基质(ECM)的生成和降解,通过旁分泌机制与心肌细胞相互作用。同时,CFs 也是 MF 的主要效应细胞,在一定刺激(如容量负荷、压力负荷等)下,心脏局部 RAS 激活,Ang II 分泌增加,诱导 CFs 增殖,并转化成为分泌胶原能力更强的肌成纤维细胞,生成或降解 ECM 紊乱,使得胶原等细胞外基质沉积,导致纤维化。MF 将进一步促进心肌僵硬增加,顺应性降低,心肌收缩力减弱,冠脉血流储备降低,最终导致心力衰竭。因此,抑制 CFs 增殖与分化,防治和逆转 MF^[20-21]在心血管系统疾病治疗中具有重要意义。

Sal-B 是唇形科植物丹参中的重要物质基础之一。前期研究证实,Sal-B 能显著抑制 TGF- β_1 诱导的心肌成纤维细胞增殖^[14]。本文采用 Ang II 诱导体外培养的 CFs 增殖与分化,建立 CFs 增殖分化模型。以 Sal-B 进行干预保护,通过检测细胞存活率、胶原纤维特有水解物质羟脯氨酸的含量,CFs 分化为 MyoCFs 的标志物 α -SMA 表达量以及 I 型胶原蛋白表达量,探讨 Sal-B 对 CFs 异常增殖分化的抑制作用。结果表明,Sal-B 能有效抑制 Ang II 诱导的 CFs 增殖及胶原生成,降低羟脯氨酸的含量、下调 α -SMA 及 I 型胶原蛋白的表达,减少 Ang II 诱导的 CFs 向 MyoFbs 的分化。因此,本研究证实,Sal-B 抑制 Ang II 体外诱导的 CFs 异常增殖与分化,在保护心脏,抑制心肌纤维化进程具有重要作用。但其抑制 CFs 增殖分化的机制尚未十分完善,还有待进一步研究。

[参考文献]

[1] ZENG Q C, GUO Y, LIU L, et al. Cardiac fibroblast-derived extracellular matrix produced *in vitro* stimulates growth and metabolism of cultured ventricular cells[J]. Int Heart J, 2013, 54(1) : 40-44.

[2] 马金,丁春华. 心脏成纤维细胞与心肌纤维化[J]. 中华心血管病杂志, 2014, 42(3) : 269-272.

[3] Baum J R, Duffy H S. Fibroblasts and myofibroblasts; what are we talking about? [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2011, 57(4) : 376-379.

[4] 肖一佳,沈祥春,李杰平,等. 心肌纤维化与 TGF- β -Smad 信号系统[J]. 中国新药杂志, 2016, 25(2) : 182-186.

[5] Driesen R B, Nagaraju C K, Abi-Char J, et al. Reversible and irreversible differentiation of cardiac fibroblasts [J]. Cardiovasc Res, 2014, 101 (3) : 411-422.

[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015:76-77.

[7] WANG J. Cardiovascular effects of salvianolic acid B [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, doi: 10.1155/2013/247948.

[8] 许波华,沈祥春,张良,等. 丹酚酸 B 对血管内皮细胞迁移及管腔形成的影响[J]. 中国药理学通报, 2012, 28(4) : 496-500.

[9] 陈衡霞,许立. 丹酚酸 B 对大鼠离体胸主动脉环张力

的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(23) : 121-126.

[10] LIN C, LIU Z, LU Y, et al. Cardioprotective effect of Salvianolic acid B on acute myocardial infarction by promoting autophagy and neovascularization and inhibiting apoptosis [J]. J Pharm Pharmacol, 2016, 68 (7) : 941-952.

[11] 王育红,宋明,李时,等. 丹酚酸 B 对四氯化碳诱导大鼠肝纤维化的防治作用[J]. 中国现代医学杂志, 2014, 24(2) : 24-28.

[12] 金粟,李士远,陈芳宁,等. 丹酚酸 B、甘草次酸、白藜芦醇单用及联用对小鼠肺间质纤维化影响的实验研究[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(5) : 1095-1098.

[13] 王曼,王新宇,陈叶香,等. 丹酚酸 B 干预肾间质纤维化 Wnt/ β -catenin 信号通路的研究[J]. 中药新药与临床药理, 2016, 27(5) : 602-607.

[14] 罗红,杨红宇,沈祥春. 丹酚酸 B 对转化生长因子 β_1 诱导心肌成纤维细胞增殖的影响[J]. 中国药房, 2014, 25(3) : 202-204.

[15] 金惠铭,王建枝,殷莲华,等. 病理生理学[M]. 8 版. 北京:人民卫生出版社, 2013:202.

[16] 付凌云,黄海烽,徐旖旎,等. 氧化苦参碱抑制 p38MAPK 磷酸化改善醛固酮诱导心肌成纤维细胞增殖[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(22) : 103-107.

[17] 涂琳,张彦燕,杨钰萍,等. 阿司匹林对大鼠急性心肌梗死后诱发实验性心肌纤维化的防治作用[J]. 中国医院药学杂志, 2012, 32(11) : 827-831.

[18] 鲁玉明,涂琳,刘兴德,等. 阿司匹林对醛固酮诱导的大鼠心肌成纤维细胞增殖的影响及机制[J]. 军事医学, 2015, 39(10) : 765-768.

[19] 宋秉春,张金国. 心肌纤维化发病机制及治疗进展[J]. 济宁医学院学报, 2015, 38(1) : 65-67.

[20] 沈祥春,杨钰萍,徐旖旎,等. 基于 TGF- β -Smads 信号的氧化苦参碱干预急性心肌梗死诱发实验性大鼠心肌纤维化的研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(5) : 632-636.

[21] FU L, XU Y, LING T, et al. Oxymatrine inhibits aldosterone-induced rat cardiac fibroblast proliferation and differentiation by attenuating smad-2, -3 and -4 expression; an *in vitro* study [J]. BMC Complement Altern Med, 2016, 16(1) : 241.

[责任编辑 周冰冰]