

黄芪多糖对原发性高血压病血瘀证患者 Toll 样受体 4、核转录因子- κ B 表达的影响

张竞之¹ 陈利国^{2*} 胡小勤³ 贾会欣⁴

(1. 广州医学院第二附属医院中医科, 广东省广州市海珠区昌岗东路 250 号, 510620;

2. 暨南大学医学院; 3. 广西中医学院; 4. 大庆油田总医院中医科)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30572289)

* 通讯作者: tchenly@jnu.edu.cn, (020)85226476

[摘要] 目的 以 TLR-NF- κ B 信号转导通路的角度, 探讨高血压病血瘀证的形成机制及黄芪多糖的干预作用。方法 80 例高血压病患者中医辨证分为血瘀证组 40 例、非血瘀证组 40 例, 另选健康志愿者 (健康组) 30 例, 收集各组受试者血清, 实时 PCR 法测 Toll 样受体 4 (TLR4) mRNA 表达。不同浓度的黄芪多糖 (APS) 干预脂多糖 (LPS) 诱导的人脐静脉内皮细胞株 TLR4 表达及核转录因子- κ B (NF- κ B) 活化, PCR 法测 TLR4、抑制性 κ B α (I- κ B α) mRNA 的表达, 免疫印迹法检测 TLR4 蛋白及 I- κ B α 蛋白的表达。结果 TLR4 mRNA 在血瘀证组和非血瘀证组的表达明显高于健康组 ($P < 0.01$), 血瘀证组明显高于非血瘀证组 ($P < 0.01$); LPS 诱导组 TLR4 mRNA 表达明显高于健康组、I- κ B α mRNA 明显低于健康组 ($P < 0.01$); APS 大、中、小剂量组与 LPS 诱导组比较, TLR4、I- κ B α mRNA 表达差异均有统计学意义 ($P < 0.01$); 并且 APS 大、中、小剂量组之间 TLR4、I- κ B α mRNA 表达比较差异亦均有统计学意义 ($P < 0.01$)。结论 高血压血瘀证患者较非血瘀证患者存在着更为严重的炎症反应和免疫紊乱, TLR-NF- κ B 信号途径介导的炎症反应和免疫紊乱是高血压病血瘀证形成的机制之一。

[关键词] 高血压病; 血瘀证; 黄芪多糖; 脂多糖; Toll 样受体 4; 抑制性 κ B α ; 核转录因子- κ B

Influence of Astragalus Polysaccharide on the Expression of Toll-like Receptor 4 and Nuclear Transcription Factor- κ B in Essential Hypertension Patients with Blood Stasis Syndrome

ZHANG Jingzhi¹, CHEN Ligu², HU Xiaoqin³, JIA Huixin⁴

(1. The Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical College, Guangzhou 510620; 2. Medical College of Jinan University; 3. Guangxi College of Traditional Chinese Medicine; 4. General Hospital of Daqing Oilfield)

ABSTRACT Objective To discuss the formation mechanism of blood-stasis syndrome in essential hypertension (EH) through the TLR-NF- κ B signal transduction pathway and the effect of astragalus polysaccharide. **Methods** Eighty patients with EH were differentiated into blood-stasis syndrome group of 40 cases and non-blood-stasis syndrome group of 40 cases, and 30 healthy people were selected from volunteers (healthy group). The serum of each subject of all groups was collected. The real-time PCR method was adopted to measure the expression of Toll-like receptor 4 (TLR4) mRNA. Different concentrations of astragalus polysaccharide (APS) were given to intervene the expression of human umbilical venous endothelial cell clone TLR4 and the activation of nuclear transcription factors- κ B (NF- κ B) induced by lipopolysaccharide (LPS). The PCR method was used to measure the expression of TLR4 and inhibitory κ B α (I- κ B α) mRNA and the immune imprinting method was applied to detect the expression of TLR4 protein and I- κ B α protein. **Results** The expression of TLR4 mRNA in blood-stasis group and non-blood-stasis group was significantly higher than that of healthy group ($P < 0.01$), and it was significantly higher in the blood-stasis group than in the non-blood-stasis group ($P < 0.01$). The expression of TLR4 mRNA in the LPS induction group was significantly higher and the expression of I- κ B α mRNA was significantly lower than that in the healthy group ($P < 0.01$). In the comparison of the APS big-, medium- and small-dose groups with the LPS induction group, the expressions of TLR4 and I- κ B α mRNA were both statistically different ($P < 0.01$). And in the comparison among the APS big-, medium- and small-dose groups, the difference of expressions of TLR4 and I- κ B α mRNA was also statistically significant ($P < 0.01$). **Conclusion**

Hypertension patients with blood-stasis syndrome have more serious inflammation and immune disorder than those with non-blood-stasis syndrome. The inflammation and immune disorder mediated by TLR-NF- κ B signal pathway is one of the mechanisms of formation of blood-stasis syndrome of EH.

Key Words essential hypertension (EH); blood-stasis syndrome; astragalus polysaccharide; lipopolysaccharide; Toll-like receptor 4 (TLR4); inhibitory κ B α (I- κ B α); nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B)

原发性高血压病(essential hypertension, EH)是临床常见疾病,血瘀证是其中医辨证中的常见证型,是中西医结合研究的热点^[1]。而分子生物学时代的到来使中医证候的生物学原理研究达到更深的层次,本研究从 TLR-NF- κ B 信号途径入手,通过观察黄芪多糖对 EH 血瘀证患者血清损伤的血管内皮细胞 Toll 样受体 4(TLR4)、核转录因子- κ B(NF- κ B)表达的影响,从基因和蛋白层面探讨 EH 血瘀证的病理实质和形成机制。

1 资料及方法

1.1 诊断及辨证标准

西医诊断标准:采用《1999 年世界卫生组织/国际高血压联盟关于高血压治疗指南》^[2]中 EH 的定义:指未服用抗 EH 药物的情况下,收缩压 ≥ 140 mmHg 和/或舒张压 ≥ 90 mmHg,应至少两次在非同日静息状态下多次重复测得血压达到 EH 的诊断标准,并排除继发性 EH 后,即可确诊。

中医辨证标准^[3]:主要依据:①舌质紫暗或舌体瘀斑、瘀点,舌下静脉曲张瘀血;②固定性疼痛,或绞痛,或腹痛拒按;③病理性肿块,包括内脏肿大,新生物,炎性或非炎性包块,组织增生;④血管痉挛,唇及肢端紫绀,血栓形成,血管阻塞;⑤血不循经而停滞及出血后引起的瘀血、黑便、皮下瘀斑等,或血性腹水;⑥月经紊乱、经期腹痛、色黑有血块、少腹急结等;⑦面部、唇、齿龈及眼周紫黑者;⑧脉涩,或结、代,或无脉。其他依据:①肌肤甲错(皮肤粗糙、肥厚、鳞屑增多);②肢体麻木或偏瘫;③血液凝固性增高或纤溶活性降低;④腠黏膜征阳性(血管曲张、色紫暗)。实验室依据:①微循环障碍;②血液流变学异常;③血液凝固性增高或纤溶活性降低;④血小板聚集性增高或释放功能亢进;⑤血流动力学障碍;⑥病理切片示有瘀血表现等;⑦特异性新技术显示血管阻塞。凡符合以下条件者可诊断血瘀证:具有主要依据 2 项以上;具有主要依据 1 项,加实验室依据 2 项或其他依据 2 项;具有其他依据 2 项以上,加实验室依据 1 项。

1.2 纳入标准

①符合 EH 西医诊断标准;②年龄 18~75 岁;③EH 病限于 2、3 级的患者,EH 危险分层属于低危、中危、高危;④检查前 1 周末服用影响血压的药物。

1.3 排除标准

有严重心脑血管疾病,有严重呼吸系统疾病,有

肝、肾器官功能障碍者和糖尿病患者。

1.4 一般资料

80 例患者均为 2007 年 3 月至 008 年 6 月在暨南大学附属第一医院确诊 EH 患者。依中医辨证分为血瘀证组 40 例,男 23 例,女 17 例,平均年龄(65.23 $\pm$ 8.46)岁,平均收缩压(168.63 $\pm$ 14.45)mmHg,平均舒张压(105.93 $\pm$ 8.27)mmHg;非血瘀证组 40 例,男 25 例,女 15 例,平均年龄(64.60 $\pm$ 9.46)岁,平均收缩压(166.19 $\pm$ 7.56)mmHg,平均舒张压(103.53 $\pm$ 8.47)mmHg。两组患者的一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。另选健康组 30 例,为暨南大学医学院健康志愿者,男 17 例,女 13 例,平均年龄(27.24 $\pm$ 2.43)岁,平均收缩压(119.43 $\pm$ 6.47)mmHg,平均舒张压(79.53 $\pm$ 5.23)mmHg。

2 方法

2.1 样本采集

血瘀证组、非血瘀证组及健康组均空腹抽血,采血前患者均未使用任何药物,无菌采集前臂静脉血,置入无菌带帽不抗凝干燥试管,自凝后离心,4℃,2000r/min,15min,取上清液置无菌 EP 管,恒温水浴箱 56℃灭活 30min,-20℃保存备用。

2.2 细胞与主要试剂

人脐静脉内皮细胞株(HUVEC-C),购自武汉中国典型培养物保藏中心。DMEM 培养基、南美胎牛血清购自 Gibco 公司。TaKaRaSYBR[®]Ex-Script[™]RT-PCR (Perfect Real Time)试剂盒购自大连宝生物工程有限公司。Trizol 试剂购自 Invitrogen 公司。9600PCR 扩增仪由 PE 公司生产。Chrono4 全自动荧光定量 PCR 仪由 MJ Reaserch 公司生产。荧光定量 PCR 特异性引物,由上海英骏生物技术有限公司合成。蛋白 Marker 购自 Invitrogen 公司。H-TLR-4 一抗购自 Santa 公司。H-NF- κ Ba 一抗购自 CST 公司。二抗及 ECL 发光试剂盒购自 Cell Signal 公司。PVDF 膜购自 Axygen 公司。垂直电泳槽及垂直蛋白转印槽由 Bio-Rad 公司生产。黄芪多糖(APS)购自中国药品生物制品检定所,批号:110708-200505。脂多糖(LPS)系北京普博欣生物技术有限公司生产。

2.3 细胞培养与条件培养基配制

HUVEC-C 培养于含 10%胎牛血清的 DMEM 培养液中,隔天换液,0.25%胰酶消化传代。APS 母液的配制:20mg APS 溶于 2ml DMEM 中,使其

溶浓度为 10 μ g/ μ l,4 $^{\circ}$ C 避光保存。LPS 母液的配制:1mg LPS 溶于 1ml DMEM 中,使其溶浓度为 1 μ g/ μ l,4 $^{\circ}$ C 避光保存。条件培养基按实验设计如下配制。①血瘀证组:10% EH 血瘀证患者血清 + 90%DMEM;非血瘀证组:10%EH 非血瘀证患者血清 + 90%DMEM;健康组:10%健康人血清 + 90%DMEM。用于比较不同证型 TLR4 mRNA 表达。②健康组:9000 μ l DMEM + 1000 μ l 健康人血清。LPS 诱导组:8990 μ l DMEM + 1000 μ l 健康人血清 + 10 μ lLPS 母液。APS 小剂量(80 μ g/ml)组:8865 μ l DMEM + 1000 μ l 健康人血清 + 125 μ lAPS 母液 + 10 μ lLPS 母液。APS 中剂量(160 μ g/ml)组:8740 μ l DMEM + 1000 μ l 健康人血清 + 250 μ lAPS 母液 + 10 μ lLPS 母液。APS 大剂量(320 μ g/ml)组:8490 μ l DMEM + 1000 μ l 健康人血清 + 500 μ lAPS 母液 + 10 μ lLPS 母液。用于观察 LPS、APS 对 TLR4、抑制性 κ B α (I- κ Ba)蛋白表达的影响。

2.4 观察指标和方法

2.4.1 TLR4、I- κ Ba mRNA 表达 血瘀证组、非血瘀证组、健康组细胞在 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 条件下培养 24h 后,采用 Trizol 法提取各样品总 RNA,测定纯度并定量后参照试剂盒使用说明书合成第一链 cDNA,于 PTC-200 型梯度 PCR 仪上 42 $^{\circ}$ C 反应 15min,95 $^{\circ}$ C 反应 2min。取 2 μ l cDNA 样本按照 10 倍梯度稀释,依次稀释成共 6 个浓度梯度的 cDNA,制备成阳性定量标准品梯度,倍比稀释一定要准确。每次上机必须新鲜配制阳性定量标准品梯度,正式上机时以包含所有样本的梯度上机进行实时 PCR 反应。目的基因 TLR4:5'-TGC AAT GGA TCA AGG ACC AG-3',下游引物:5'-TGA GGA CCG ACA CAC CAA TG-3'(147bp)。目的基因 I- κ Ba 上游引物:5'-CCT GCA CTT GGC CAT CAT C-3',下游引物:5'-TGC TGC AGG TTG TTC TGG AA-3'(105bp)。内参 β -actin 上游引物:5'-GCA TGG GTC AGA AGG ATT CCT-3',下游引物:5'-TCG TCC CAG TTG GTG ACG AT-3'(106 bp)。反应条件为:95 $^{\circ}$ C 5s,然后 60 $^{\circ}$ C 20s,共 40 循环。反应结束后,由电脑自动生成荧光扩增曲线、标准曲线以及溶解曲线。使用最大二阶倒数法进行分析。

2.4.2 TLR4、I- κ Ba 蛋白表达 各组细胞在 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 条件下培养(检测 TLR4 时,细胞培养 24 h,检测 I- κ Ba 时,细胞培养 1h),用细胞裂解液提取总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度。取 50 μ g 总蛋白样

品煮沸变性后,SDS-PAGE 电泳,随后电转移至硝酸纤维素膜上,将膜用双蒸水漂洗后放入含有封闭液的容器中,室温下脱色摇床上 4 $^{\circ}$ C 振荡过夜。加入用 TBS/T 稀释至适当浓度的一抗,4 $^{\circ}$ C 振荡过夜。TBS/T 洗膜。加入封闭液稀释的二抗,4 $^{\circ}$ C 振荡过夜,TBS/T 洗膜。将膜与 ECL 反应 5 min 后,曝光于 X 光胶片上,显影、定影、扫描后图像分析。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计软件包分析,计量数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较用单因素方差分析。

3 结果

3.1 3 组受试者细胞 TLR4 mRNA 表达的比较

表 1 示,TLR4 mRNA 在血瘀证组和非血瘀证组的表达明显高于康健组($P<0.01$),血瘀证组明显高于非血瘀证组($P<0.01$),说明血瘀证 EH 患者较健康人存在着更为严重的炎症反应和免疫紊乱。

表 1 3 组受试者细胞 TLR4 mRNA 表达的比较($\times 10^{-4}$ /L, $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	TLR4
健康组	30	5.4160 $\pm$ 0.2488
非血瘀证组	40	6.4692 $\pm$ 0.0956*
血瘀证组	40	8.2598 $\pm$ 0.2685* Δ

注:与健康组比较,* $P<0.01$;与非血瘀证组比较, $\Delta P<0.01$

3.2 APS 对 TLR4、I- κ Ba mRNA 表达的影响

表 2 示,LPS 诱导组 TLR4 mRNA 表达明显高于康健组、I- κ Ba mRNA 明显低于健康组($P<0.01$);APS 大、中、小剂量组与 LPS 诱导组比较,TLR4、I- κ Ba mRNA 表达差异均有统计学意义($P<0.01$);并且 APS 大、中、小剂量组之间 TLR4、I- κ Ba mRNA 表达比较差异亦均有统计学意义($P<0.01$)。说明 APS 对 LPS 引起的 TLR4 高表达及 I- κ Ba 降解有明显的抑制作用,从而抑制了 NF- κ B 的活化,且呈剂量依赖性。

3.3 APS 对细胞 TLR4、I- κ Ba 蛋白表达的影响

图 1 示,LPS 诱导 24h 后,TLR4 蛋白表达明显高于健康组,而 APS 对 LPS 引起的 TLR4 高表达有明显的抑制作用,说明 APS 可作为 TLR4 活化抑制剂,调控了细胞内 TLR4 的表达,呈剂量依赖性降低 TLR4 蛋白的高表达。图 2 示,LPS 诱导后,I- κ Ba 基因表达明显低于康健组,而 APS 呈剂量依赖性抑制 I- κ Ba 蛋白的降解。说明 APS 可作为 I-

表 2 各组受试者细胞 TLR4、I-κBa mRNA 表达的比较(±s)

组别	例数	剂量(μg/ml)	TLR4 mRNA×10 ⁻⁴	I-κBa mRNA
健康组	30	—	5.4160±0.2488	0.4536±0.0164
LPS 诱导组	40	—	97.3569±0.9599	0.0665±0.0007*
APS 小剂量组	40	80	33.4288±0.8112*△	0.0873±0.0007*△
APS 中剂量组	40	160	13.5707±0.6434*△#	0.1333±0.0005*△#
APS 大剂量组	40	320	7.2484±0.0566*△#☆	0.1371±0.0004*△#☆

注:与健康组比较,*P<0.01;与 LPS 诱导组比较,△P<0.01;与 APS 小剂量组比较,#P<0.01;与 APS 中剂量组比较,☆P<0.01

κBa 降解的抑制剂,从而抑制了 NF-κB 的活化,调控细胞内 NF-κB 的表达。

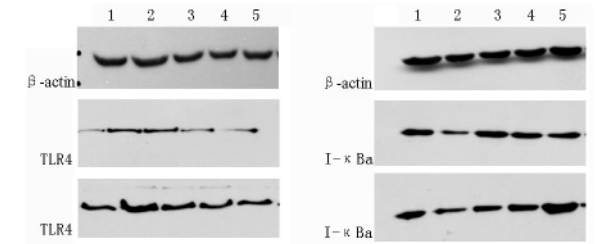


图 1 TLR4 及 β-actin 免疫印迹结果

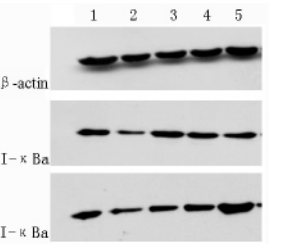


图 2 I-κBa 及 β-actin 免疫印迹结果

注:1. 健康组,2. LPS 诱导组,3. APS 小剂量组,4. APS 中剂量组,5. APS 大剂量组

4 讨论

EH 的病因及发病机制至今不明,近年来,内皮细胞损伤、炎症、免疫在 EH 中的作用日渐受到重视,大量研究表明^[1,4-5],血瘀证与血管内皮细胞损伤、炎症标志物、免疫功能障碍改变有关,活血化瘀治疗可以改善内皮细胞功能、抗炎和调节免疫。提示内皮细胞损伤、炎症反应和免疫紊乱在血瘀证的发生发展中扮演着重要角色。EH 是与免疫密切相关的、低度的全身炎症状态性疾病的认识^[6-8],为研究 EH 的发病机制和治疗提供了新的思路。分子生物学的发展为中医证候的生物学原理研究提供了技术上的平台。可被 LPS 诱导的 TLR-NF-κB 信号途径,最突出的生物学功能就是促进细胞因子合成与释放,参与炎症反应和免疫反应,在内皮细胞参与的炎症免疫反应中表达并发挥作用^[9],因此加深 TLR 信号系统在 EH 中作用的理解,有助于了解 EH 血瘀证的发病机制。

黄芪是传统的益气药,虽然没有直接活血的功能,但有活血之药用,这可在中医的气血理论和现代药理研究中找到证据^[10],APS 是黄芪中最重要的决定其作用的有效成分,我们观察 APS 对血清损伤的内皮细胞 TLR4、NF-κB 表达影响,探讨 EH 血瘀证的和形成机制。本实验从基因水平和蛋白水平检测

了血管内皮细胞 TLR4 信号传导通路上两个关键因子 TLR4、NF-κB 的表达。TLR4 在由病原感染和免疫应答反应引发的相关疾病中起着重要作用,激活的 TLR4 可诱导炎症反应和促进抗原特异性获得性免疫反应的分化和成熟。NF-κB 是一种重要的核转录因子,位于 TLR 下游信号通路的枢纽位置,参与炎症免疫反应及细胞增殖与分化等过程。在静息状态下,NF-κB 以一种无活性的形式与其抑制性蛋白 I-κB 相结合存在于胞质中。I-κB 的降解使 NF-κB 从静息状态下激活导致 ICAM-1、VCAM-1 等内皮细胞黏附分子的表达,从而激活细胞因子,参与炎症反应和内皮细胞损伤^[11]。

本研究发现,TLR4 在 EH 患者的表达明显高于健康组,EH 血瘀证患者明显高于非血瘀证患者,而 APS 对 LPS 引起的 TLR4 高表达和 NF-κB 活化有明显的抑制作用,可以阻断这种反应。说明 EH 患者较健康人、EH 血瘀证患者较非血瘀证患者存在着更为严重的炎症反应和免疫紊乱,炎症反应和免疫紊乱是 EH 患者区别于健康人、EH 血瘀证区别于非血瘀证的重要特征之一,是 EH 的发病机制之一,也是血瘀证的病理实质。同时也说明,TLR-NF-κB 信号途径介导的炎症反应和免疫紊乱可能是 EH 血瘀证形成的分子生物学机理。APS 可作为 TLR4、NF-κB 活化抑制剂,调控细胞内 TLR4、NF-κB 的表达,使细胞内信号传导通路活性降低,从而起到减轻炎症反应、免疫紊乱的作用,这可能是 APS 起活血化瘀作用的分子药理作用机制之一,也从以药验证(反证)的角度证明,TLR-NF-κB 信号途径参与了 EH 血瘀证的形成。

参考文献

[1]陈可冀,李连达,翁维良,等.血瘀证与活血化瘀研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2005,3(10):1-2.
[2]1999 年世界卫生组织/国际高血压联盟关于高血压治疗指南[J]. 高血压杂志,1999,7(2):97.

慢性乙型肝炎肝纤维化发病因素为湿热毒邪侵扰和正气不足脏腑功能失调的共同作用,基本病机为正虚血瘀^[6]。根据慢性肝炎肝纤维化的基本病因病机特点,结合临床经验,我们认为,慢性乙型肝炎肝纤维化是因虚而病,基本病机为正虚邪恋,气虚血滞,痰瘀毒阻络。治疗当扶正祛邪,扶正益气养血调补肝脾肾,着重强调补益脾气,恢复气血生化之源。祛邪注重通利肝经络脉,祛瘀化痰解毒清除肝络中瘀滞。以益气扶正补虚,活血祛瘀为主,辅化痰理气,解毒通络贯穿本病治疗的始终。本方重用黄芪为君,黄芪为补药之长,补气生血,气充脏腑功能增强,精血滋生,达邪托毒;气充帅血,活血通络,祛瘀散结;补气升阳,益三焦之气,通调水道利水消肿。其入脾经补脾气,防“土虚木贼”,确保气血生化之源;其入肺经补肺气,以金克木,制约肝脏之邪。白芍入肝脾血分养血,丹参益气养血活血,共助君药补气养血柔肝为臣。三药同用益气助肝用,养血荣肝体,扶正治本。泽兰辛散肝郁,芳香舒脾,统肝脾之血。配丹参既行肝脾之血活血散结通络,又疏肝和营不伤正。橘红理气和胃宽中化痰,合泽兰理脾和中,以保胃气存生机。草河车、小蓟清热凉血解毒利湿,清血分肝络之毒。综观全方,扶正祛邪,标本同治,气血兼顾,病证结合,扶正不助邪,活血化瘀并行,共起益气扶正,活血解毒化痰通络之功。

本研究以抗肝纤维化上市中成药复方鳖甲软肝片为对照药物,临床观察显示益气活血解毒化痰方与复方鳖甲软肝片均能明显改善肝纤维化患者证候($P<0.01$);益气活血解毒化痰方改善证候,缓解疲倦乏力、食欲不振、肝区不适症状较复方鳖甲软

肝片为优($P<0.05$);两组均能降低血清肝纤维化指标及 S 指数,缩小肝门静脉主干内径和脾脏指数($P<0.05$),缓解肝纤维化活跃状态,减轻肝纤维化严重程度,对肝纤维化形态学有一定的改善作用。两组治疗后临床疗效显示益气活血解毒化痰方作用优于复方鳖甲软肝片($P<0.05$)。观察结果从不同侧面反映了益气活血解毒化痰方的抗肝纤维化作用,临床使用安全。同时,借助 S 指数模型反应慢性 HBV 感染患者肝纤维化程度,评价乙型肝炎患者药物抗肝纤维化疗效较肝组织病理学检测更加简单、易行和安全,临床有重要的参考价值。

参考文献

- [1] 齐京,关幼波.益气活血解毒化痰治疗慢性丙肝的临床观察[J].中国中医基础医学杂志,2001,7(9):46-48.
- [2] 王芳,梁代英,齐京,等.益气活血解毒化痰方对实验性肝纤维化大鼠的胶原合成及 TGF- β 1 的影响[J].中华中医药杂志,2005,20(8):472-474.
- [3] 王芳,齐京,梁代英,等.益气活血解毒化痰方对 DMN 诱导的大鼠肝纤维化的预防和治疗[J].北京中医药大学学报,2005,28(2):50-54.
- [4] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会.病毒性肝炎防治方案[J].中华内科杂志,2001,40(1):62-68.
- [5] 郑筱萸.中药新药临床研究指导原则[M].北京:中国医药科技出版社,2002:378-379,383-384,143-150.
- [6] 中国中西医结合学会肝病专业委员会.肝纤维化中西医结合诊疗指南[J].中西医结合肝病杂志,2006,16(5):316-320.
- [7] 周琨,郑瑞丹,咸建春,等.从常规指标中建立肝纤维化非创伤性诊断模型[J].肝脏,2008,13(5):263-267.
(收稿日期:2011-04-11;修回日期:2011-04-30)
[编辑:侯建春]
- [8] 宋卫华,党爱民,刘国仗.原发性高血压相关基因研究进展[J].中国分子心脏病学杂志,2005,5(2):500-502.
- [9] Bulut Y, Faure E, Thomas L, et al. Chlamydial heat shock protein 60 activates macrophages and endothelial cells through Toll-like receptor 4 and MD2 in a MyD88-dependent pathway[J]. J Immunol, 2002, 168(3): 1435-1440.
- [10] 韩娟,刘宏艳,肖照岑.黄芪活血功效刍议[J].云南中医中药杂志,2008,29(3):21-22.
- [11] 杨玉荣,余锐萍,梁宏德. Toll-NF- κ B 信号途径及其介导的功能[J].细胞生物学杂志,2007,29(4):483-486.
(收稿日期:2010-09-08;修回日期:2010-11-28)
[编辑:邓媛]

(上接第 1289 页)

- [3] 第二届全国活血化瘀研究学术会议修订.血瘀证诊断标准[J].中西医结合杂志,1987,7(3):129.
- [4] 马晓娟,殷惠军,陈可冀.血瘀证与炎症相关性的研究进展[J].中国中西医结合杂志,2007,27(7):669-672.
- [5] 袁肇凯,黄献平,谭光波,等.冠心病血瘀证血管内皮细胞功能的检测分析[J].中国中西医结合杂志,2006,26(5):407-410.
- [6] Das UN. Hypertension as a low-grade systemic inflammatory condition that has its origins in the perinatal period[J]. J Assoc Physicians India, 2006, 54: 133-142.
- [7] 成威,舒春明,周胜华.冠心病和高血压病的免疫机制进展[J].现代生物医学进展,2009,9(2):362-364.