

红豆杉多糖对 Beagle 犬心肌缺血再灌注损伤模型心肌 NADPH 氧化酶 mRNA 及 SOD、MDA 的影响

朱慧民¹, 李 辉², 朱天民³, 杨伯泉^{1*}

1. 浙江省台州市中心医院, 浙江 台州 318000

2. 成都大学医护学院, 四川 成都 610091

3. 成都中医药大学, 四川 成都 610075

摘要:目的 观察红豆杉多糖对心肌缺血-再灌注损伤(MIRI)模型心肌损伤及心肌还原型辅酶 II(NADPH)氧化酶 mRNA、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)的影响。方法 将30只 Beagle 犬随机分为假手术组、模型组、红豆杉多糖低剂量组与高剂量组、卡维地洛对照组,每组6只,给药7 d后,建立 MIRI 模型。HE 染色,光镜观察心肌组织病理改变;原位杂交检测 NADPH 氧化酶 p47^{phox} (NCF-47K) mRNA 表达;比色法检测心肌 SOD 活性和 MDA 水平。结果 光镜下可见,模型组心肌严重紊乱、断裂,核固缩及胞浆嗜酸性变明显,轻至中度充血、水肿,炎细胞浸润;红豆杉多糖高剂量组心肌细胞紊乱、断裂程度较轻,核固缩及胞浆嗜酸性变明显减少,部分组织仍有轻度充血、水肿。模型组、红豆杉多糖低剂量组心肌 NCF-47K mRNA 表达较假手术组显著升高($P<0.01$),红豆杉多糖高剂量组 NCF-47K mRNA 表达显著低于模型组($P<0.05$)。除红豆杉多糖高剂量组心肌 SOD 活性显著高于模型组($P<0.01$)外,模型组及各治疗组心肌组织 SOD 活性较假手术组显著降低($P<0.01$)。模型组及红豆杉多糖低剂量组心肌组织 MDA 水平较假手术组显著增加($P<0.05$),红豆杉多糖高剂量组心肌 MDA 水平显著低于模型组($P<0.05$)。结论 红豆杉多糖可能通过降低心肌组织 NADPH 氧化酶 NCF-47K mRNA 表达,升高 SOD 活性,减少 O₂⁻等氧自由基对心肌细胞的损伤,减轻缺血再灌注导致的心肌损伤。

关键词: 红豆杉多糖; 心肌缺血-再灌注; 还原型辅酶 II (NADPH); 超氧化物歧化酶 (SOD); 丙二醛 (MDA)

中图分类号: R285.51 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)05-0935-05

Effects of Taxus polysaccharide on myocardial NADPH oxidase mRNA, and SOD, and MDA in myocardial ischemia-reperfusion injury model of Beagle's dogs

ZHU Hui-min¹, LI Hui², ZHU Tian-min³, YANG Bo-quan¹

1. Taizhou Central Hospital in Zhejiang Province, Taizhou 318000, China

2. Medical and Nursing Faculty of Chengdu University, Chengdu 610091, China

3. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China

Abstract: Objective To investigate the influence of Taxus polysaccharide on myocardial NADPH oxidase mRNA, SOD, and MDA in myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI) model of Beagle's dogs. **Methods** Beagle's dogs (30) were randomly divided into Sham operation, model, low-dose Taxol polysaccharide, high-dose Taxol polysaccharide, and Carvedilol groups, six in each group, and MIRI model was established after 7 d administration. Stained with HE, pathological changes in myocardial tissue were observed with light microscopy; NADPH oxidase p47^{phox} (NCF-47K) mRNA expression was detected with *in situ* hybridization; Myocardial SOD and MDA contents were detected with colorimetry. **Results** Under light microscope, serious cardiac cells disorders, fracture, karyopyknosis, and significant eosinophilic cytoplasm existed, mild to moderate hyperemia and edema and inflammatory cell infiltration appeared in the model group. However, in the high-dose group, myocardial cells disorders and destruction existed in a lesser extent, karyopyknosis and eosinophilic cytoplasm decreased significantly, and some organizations were still mild hyperemia and edema. Myocardial NCF-47K mRNA expression of Beagle's dogs in the model group and low-dose group were significantly higher than that in the Sham-operated group ($P<0.01$), NCF-47K mRNA expression of Beagle's dogs in the high-dose group was significantly lower than that in the model group ($P<0.05$). And SOD content in myocardial tissue of the model group and the treatment group was significantly

收稿日期: 2010-07-29

基金项目: 浙江省科技厅科技攻关计划“红豆杉多糖提取分离技术及对心肌缺血损伤的干预”基金资助项目(2006C33005); 四川省教育厅自然科学基金青年资助项目(09ZB112); 成都大学自然科学基金青年基金资助项目(2010XJZ09)

作者简介: 朱慧民(1972—), 女, 山东人, 博士, 主任医师, 研究方向为中西医结合治疗老年疾病的实验与临床研究。

*通讯作者 杨伯泉 Tel: 13608216905 E-mail: tmzhu@hotmail.com

lower than that in the Sham-operated group ($P<0.01$). SOD content in the high dose group was significantly higher than that in the model group ($P<0.01$). MDA contents in myocardial tissue in the model and low-dose groups were significantly higher than those in the Sham-operated group ($P<0.05$). MDA content in high-dose group was significantly lower than that in the model group ($P<0.05$).

Conclusion The Taxus polysaccharide may reduce ischemia-reperfusion myocardial injury by reducing the expression of NADPH oxidase, increasing SOD activity, and reducing injury of $O_2^{\cdot-}$ and other oxygen free radicals in myocardial cell.

Key words: Taxus polysaccharide; ischemia-reperfusion; NADPH; SOD; MDA

心肌缺血-再灌注损伤 (myocardium ischemia-reperfusion injury, MIRI) 是随冠脉溶栓、经皮腔内冠状动脉成形术等心内科介入治疗及冠状动脉旁路移植等心外科手术的开展而逐渐被人类认识的一种损伤机制, 其导致的心律失常、心肌顿抑等是临床心脏病患者猝死的常见原因。红豆杉多糖是本课题组首次以极性梯度提取技术, 从红豆杉科植物南方红豆杉 *Taxus chinensis* var. *mairei* Cheng et L. K. Fu 中发现, 并采用离子交换色谱提纯、非线性优化控制模拟移动床纯化等手段得到的一种高纯度全新多糖, 同时应用核磁共振等进行了多糖分子结构鉴定。前期研究表明红豆杉多糖可抑制缺血再灌注导致的心肌细胞凋亡, 其机制可能与降低心肌组织 MCP-1 蛋白表达及 NO 水平、抑制心肌细胞凋亡有关^[1]。本研究观察红豆杉多糖对 MIRI 模型犬心肌损伤及心肌 NADPH 氧化酶 mRNA、超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 的影响。

1 材料

1.1 动物

实验用 Beagle 犬, 一级, 30 只, 雌雄各半, 体质量 8.0~10.5 kg, 8~12 月龄, 由四川省医学科学院实验动物研究所提供, 实验动物生产许可证号: SCXK (川) 2004-15。

1.2 药品、试剂与仪器

卡维地洛片, 上海罗氏制药有限公司产品, 批号 MH6600908; NADPH 氧化酶 p47^{phox} (NCF-47K) mRNA 原位杂交试剂盒, 武汉博士德公司生产; SOD 试剂盒, 南京建成生物工程研究所生产; MDA 测定试剂盒, 南京建成生物工程研究所生产; MFV—3200 电磁流量计, 日本光电公司生产; HX—300S 动物呼吸机, 成都泰盟科技有限公司生产。

2 方法

2.1 红豆杉多糖的提取与分析

红豆杉多糖初提采用极性递减的溶剂进行分步抽提, 即多糖采用模拟移动床 (SMB) 连续逆流色谱对有效组分进行纯化。关键是选择合适的分离介质, 并采取非线性控制软件对电磁阀的运动进行优

化控制。该分离工艺的关键是: 既要把多糖等大分子物质与萜类、甾类和生物碱类小分子物质分开, 还要把不同的多糖分开。目前已提纯分离出相对分子质量为 23 000 的主要多糖成分, 质量分数为 99%, 符合国家二类以上新药的开发要求, 提取率约 70%。对得到的高纯度多糖成分分别用制备 HPLC、质谱、核磁共振、红外光谱等仪器进行综合分析, 并进行结构鉴定, 确定该多糖主要由 D-葡萄糖及少量的 D-木糖、阿拉伯糖、半乳糖和葡萄糖醛酸以 β -1, 3 糖苷键组成, 在其 β -1, 3 葡聚糖主链上, 存在少量 β -1, 6 糖苷键分支^[2]。

2.2 分组与给药

参考《中药新药研究指南》^[3]中治疗胸痹心痛证中药的药效学研究部分, 将 30 只 Beagle 犬随机分为假手术组、模型组、红豆杉多糖低剂量与高剂量组、阳性对照组, 每组 6 只。假手术组、模型组不给药; 红豆杉多糖低、高剂量组分别 ig 给予红豆杉多糖 89.5、357 mg/(kg·d), 阳性对照组给予卡维地洛 1 mg/(kg·d), 共给药 7 d。给药结束后建立 MIRI 模型。

2.3 MIRI 模型的建立

Beagle 犬经 3%戊巴比妥钠 30 mg/kg iv 麻醉后, 卧位固定, 气管插管, 接 HX—300S 动物呼吸机, 以呼吸比 5:4、呼吸频率 18~20 次/min、潮气量 120~135 mL 行机械通气。于 5、6 肋间开胸, 暴露肺和心脏, 用撑胸器撑开胸腔, 做心包摇篮, 充分暴露手术野, 在左冠状动脉前降支 (LAD) 中下段游离约 1 cm, 于 LAD 的中下 1/3 处确定夹闭点, 并在夹闭部位上缘附近套上合适直径的电磁流量计卡式探头, 接 MFV—3200 电磁流量计。夹闭已分离的 LAD 主干 60 min (在电磁流量计监控下使 LAD 血流量降低约 80%), 然后开放再灌注 120 min。假手术组手术方法同上, 但仅分离 LAD, 不夹闭。

2.4 心肌组织病理学观察

犬处死后, 取心尖附近再灌注区心肌组织, 4% 多聚甲醛固定, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 浸蜡, 石蜡包埋切片, HE 染色, 光镜 ($\times 400$) 观察。

2.5 NCF-47K mRNA 原位杂交检测

从美国国立卫生研究院维护的国际权威数据库网站 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 获得 Beagle 犬 NCF-47K 基因的 mRNA 序列。利用专业软件 Primer Premier 5.0 设计其探针, 委托武汉博士德生物工程有限公司完成探针合成。探针序列如下: 5'-AGCACTACGTCTACATGTTTC-TGGTGAAGTGGCAC-3'; 5'-GAGAGTGGCTGGTGGTTCTGCCAA-ACGAAGACAAA-3'; 5'-CABCCAGGACACCTA-TCGGCGCAACAGCGTCCGAA3'。

参考试剂盒说明书行原位杂交检测。NCF-47K mRNA 的细胞胞浆着色呈棕黄色。在 200× 光镜下每个切片随机选取 5 个视野, Image-Pro Plus 5.0.2.9 软件分析各视野 NCF-47K mRNA 阳性物质的平均吸光度值, 求其平均值为每一切片 NCF-47K mRNA 的表达值。

2.6 心肌 SOD、MDA 检测

每例样本取心尖附近缺血再灌注区心肌组织约 100 mg, 加入 0.9 mL 冷生理盐水冰浴匀浆后, 以 3 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 参照 SOD、MDA 检测试剂盒说明书比色法测定。

2.7 统计学分析

计量资料结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS13.0 软件分析, 单因素方差分析和重复测量数据的方差分析。

3 结果

3.1 一般状况

在建立 MIRI 模型期间, 模型组 1 只犬在再灌注 18 min 时发生室颤, 经抢救无效死亡, 其余犬经电磁流量计检测缺血前、缺血 60 min 及再灌注 60、120 min 时冠状动脉左前降支血流量 (CBF_{LAD}) 显示, MIRI 模型建立成功。见表 1。

表 1 紫杉醇多糖对 MIRI 模型犬冠状动脉左前降支血流量的影响

Table 1 Effects of Taxus polysaccharide on left anterior descending coronary artery blood flow in MIRI model

组 别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	动物/ 只	CBF _{LAD} /(mL·min ⁻¹)			
			缺血前	缺血 60 min	灌注 60 min	灌注 120 min
假手术	—	6	21.87±1.81	22.15±1.65	22.12±1.58	22.10±1.73
模型	—	5	22.00±1.71	4.36±0.36 ^{△△▲}	11.32±1.64 ^{△△▲}	17.98±1.54 ^{△△▲}
红豆杉多糖	89.5	6	21.83±1.45	4.35±0.21 ^{△△▲}	10.92±1.06 ^{△△▲}	18.15±1.30 ^{△△▲}
	357.0	6	22.10±1.56	4.28±0.15 ^{△△▲}	14.53±1.09 ^{△△▲###}	21.58±1.42 ^{###}
卡维地洛	1	6	22.75±1.63	4.47±0.22 ^{△△▲}	15.73±1.32 ^{△△▲###}	22.43±1.38 ^{###}

与假手术组比较: ^{△△} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P<0.01$; 与红豆杉多糖低剂量组比较: ^{###} $P<0.01$; 与缺血前比较: ^{▲▲} $P<0.01$
^{△△} $P<0.01$ vs Sham group; ^{**} $P<0.01$ vs model group; ^{###} $P<0.01$ vs Taxol polysaccharide low-dose group; ^{▲▲} $P<0.01$ vs before ischemia

3.2 对 MIRI 模型犬心肌组织病理学的影响

假手术组心肌组织无明显病理变化。模型组心肌细胞严重紊乱、断裂, 核固缩及胞浆嗜酸性变明显, 有轻至中度充血、水肿及炎细胞浸润, 少数组织有严重出血。红豆杉多糖低剂量组心肌细胞紊乱、断裂严重, 核固缩及胞浆嗜酸性变明显, 有轻至中度充血、水肿及炎细胞浸润。红豆杉多糖高剂量组心肌细胞紊乱、断裂程度较轻, 核固缩及胞浆嗜酸性变明显减少, 部分组织仍有轻度充血、水肿。卡维地洛组有中度心肌细胞紊乱、断裂, 核固缩及胞浆嗜酸性变仍较为明显, 有轻度充血、水肿及炎细胞浸润。结果见图 1。

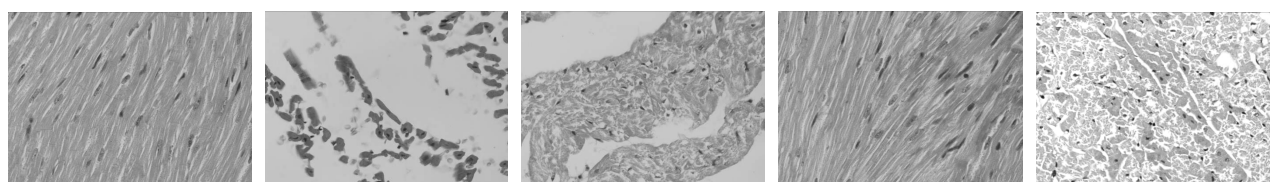
3.3 对 MIRI 模型犬心肌 NCF-47K mRNA 表达的影响

模型组、红豆杉多糖低剂量组心肌 NCF-47K

mRNA 表达水平较假手术组显著升高 ($P<0.01$); 红豆杉多糖高剂量组、卡维地洛组 NCF-47K mRNA 表达水平显著低于模型组 ($P<0.05$), 仍高于假手术组, 但无显著差异 ($P>0.05$)。结果见图 2 和表 2。

3.4 对 MIRI 模型犬心肌 SOD、MDA 的影响

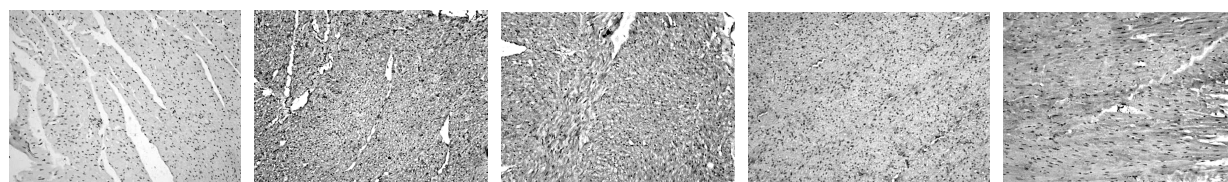
模型组及各治疗组心肌组织 SOD 活性较假手术组显著降低 ($P<0.01$), 红豆杉多糖高剂量组心肌 SOD 活性显著高于模型组 ($P<0.01$) 及其低剂量组 ($P<0.05$), 与卡维地洛组比较差异无显著性 ($P>0.05$)。模型组及红豆杉多糖低剂量组犬心肌组织 MDA 水平较假手术组显著升高 ($P<0.05$), 而红豆杉多糖高剂量组、卡维地洛组心肌 MDA 水平显著低于模型组 ($P<0.05$), 与假手术组比较无显著性差异 ($P>0.05$)。见表 2。



假手术组 模型组 红豆杉多糖低剂量组 红豆杉多糖高剂量组 卡维地洛组

图 1 各组 Beagle 犬心肌 HE 染色结果

Fig. 1 HE staining of myocardium of Beagle's dogs in every group



假手术组 模型组 红豆杉多糖低剂量组 红豆杉多糖高剂量组 卡维地洛组

图 2 各组 Beagle 犬心肌 NCF-47K mRNA 原位杂交检测结果

Fig. 2 *In situ* hybridization of myocardium NCF-47K mRNA of Beagle's dogs in every group

表 2 红豆杉多糖对 MIRI 模型犬心肌组织 NCF-47K mRNA 表达、SOD 活性与 MDA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of Taxus polysaccharide on NCF-47K mRNA expression, SOD activity, and MDA content in myocardium of MIRI model dogs ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	动物/只	NCF-47K mRNA	SOD/(U·mg ⁻¹)	MDA/(nmol·mg ⁻¹)
假手术	—	6	0.040±0.010	39.568±8.409	7.833±1.678
模型	—	5	0.099±0.032 ^{△△}	18.160±1.733 ^{△△}	17.260±1.579 ^{△△}
红豆杉多糖	89.5	6	0.091±0.020 ^{△△}	20.217±4.873 ^{△△}	13.233±2.844 [△]
	357.0	6	0.065±0.022 [*]	28.633±3.121 ^{△△***}	10.150±1.178 ^{**}
卡维地洛	1	6	0.067±0.018 [*]	25.600±8.233 ^{△△}	10.317±0.818 ^{**}

与假手术组比较: [△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$; 与红豆杉多糖低剂量组比较: [#] $P<0.05$

[△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$ vs Sham group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group; [#] $P<0.05$ vs Taxus polysaccharide low-dose group

4 讨论

红豆杉又名紫杉、赤柏松等。现代药理学研究证实, 红豆杉茎、叶、皮内富含多种化合物, 如紫杉醇、紫杉酚、紫杉碱等, 具有良好的抗白血病、抗肿瘤和降血糖作用^[4-8]。近年来本课题组在临床上应用南方红豆杉基地种植的南方红豆杉水煎剂进行抗肿瘤治疗时, 发现其能明显改善伴随冠心病及心肌梗死的肿瘤患者的心肌缺血症状。该植物水提物可缩小冠状动脉结扎致急性心肌梗死大鼠的心肌梗死范围, 有良好的心脏保护效果。因此本课题组对南方红豆杉水提物的成分进行了研究, 发现其主要成分为国内外文献尚未报道的多糖类物质, 进而对其结构进行了分析并提出了分离、纯化方法, 现已获得国家专利。为进一步探索该多糖对 MIRI 时的心脏保护作用及其作用机制进行了本实验研究。

MIRI 是心肌缺血后在一定时间内恢复血供, 缺

血心肌发生的更严重的损伤。目前认为 MIRI 的发生与氧自由基大量产生密切相关。O₂^{·-}等氧自由基作为单电子化合物, 具有很高的活性, 主要攻击生物膜上的不饱和脂肪酸, 引起脂质过氧化, 使膜流动性降低, 通透性增高, 损伤心肌细胞^[9-10]; 它还可以改变呼吸链中复合物 I、复合物 III、ATP 酶及腺苷转移酶的结构, 使呼吸链活性受损; 破坏质膜上的离子泵, 加剧因 ATP 耗竭而引起的细胞内离子失调, 造成细胞内 Na⁺、Ca²⁺超载, 间接引起心肌细胞损伤。

以往研究发现线粒体是 MIRI 后氧自由基的重要来源。心肌缺血时, 呼吸链末端细胞色素氧化酶被抑制, 异柠檬酸脱氢酶 (NAD⁺) 被还原为还原型辅酶 (NADH), 将溶于膜脂质中的 O₂ 还原, 形成 O₂^{·-}; 再灌注时, 大量 O₂ 进入灌注区, 通过 NADH 脱氢酶的作用而产生大量的氧自由基^[11]。最初发现

NADPH 氧化酶存在于吞噬细胞（中性粒细胞、巨噬细胞、单核细胞）中^[12]。近年来的研究表明，NADPH 氧化酶亦广泛存在于吞噬细胞以外的组织，包括心脏、肝脏、肾脏以及血管等^[13]。NADPH 氧化酶是体内重要的氧化酶，由多种亚单位构成，包括存在于胞膜的 p22^{phox} 和 gp91^{phox} 构成的异源二聚体，以及存在于胞质中的 p47^{phox}、p67^{phox}、p40^{phox}、Rac2 等几种胞质蛋白成分^[14]。在细胞因子等刺激物作用下，胞质成分 p47^{phox} 被磷酸化，然后与 p67^{phox} 发生相互作用，从胞质转位到细胞膜上与 p22^{phox} 和 gp91^{phox} 构成的异源二聚体结合，激活 NADPH 氧化酶，活化后的 NADPH 氧化酶以 NADPH 为递氢体，催化 NADPH 与 O₂ 反应生成 O₂^{·-}^[15]。

本实验病理学检测显示，模型组心肌损伤严重，且 NCF-47K mRNA 表达及 MDA 水平较假手术组显著升高（ $P < 0.01$ ），SOD 活性较假手术组显著降低（ $P < 0.01$ ），提示 MIRI 过程中除线粒体途径产生氧自由基外，NADPH 氧化酶可能也参与了氧自由基的产生，心肌氧自由基清除障碍是心肌损伤的重要机制之一。红豆杉多糖高剂量组心肌损伤较轻，且 NCF-47K mRNA 表达及 MDA 水平显著低于模型组（ $P < 0.05$ ），SOD 活性较模型组显著升高（ $P < 0.01$ ），提示红豆杉多糖可能通过降低心肌组织 NADPH 氧化酶表达，增强 SOD 活性，减少 O₂^{·-}等氧自由基对心肌细胞的损伤，而减轻缺血再灌注导致的心肌损伤。

本研究首次证实红豆杉多糖可减轻缺血再灌注导致的心肌损伤，其机制可能与提高心肌组织抗氧化能力有关。今后应进行该多糖对 MIRI 影响的深入研究，为开发以红豆杉多糖为主原料的天然心脏保护药物打下坚实的基础。

参考文献

[1] 朱天民, 朱慧民, 李 辉. 红豆杉多糖对 Beagle 犬心肌

缺血再灌注模型心肌细胞凋亡及单核细胞趋化蛋白-1 与 NO 表达的影响 [J]. 中草药, 2010, 41(5): 778-781.

- [2] 吴锦斌, 孔繁智, 张朝晖. 一种红豆杉枝叶中的提取物及提取方法 [P]. 中国专利: CN1472226, 2004-02-04.
- [3] 中药新药研究指南 [S]. 1994.
- [4] 唐朝晖, 钟德珩. 紫杉醇抗肿瘤的分子机制 [J]. 中国临床康复, 2006, 10(27): 125-127.
- [5] 陈 艳, 堵锡华. 紫杉醇类似物抗癌活性与分子结构的定量构效关系 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 318-323.
- [6] 南京中医药大学. 中药大辞典 [M]. 第 2 版. 上海: 上海科技出版社. 2006.
- [7] 赵 锐, 赵玮玮. 抗癌植物药紫杉醇研究进展与动态 [J]. 中草药, 2009, 40(7): 1172-附 2.
- [8] 黄 歆, 杨尚金. 与微管作用的抗肿瘤天然药物的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2010, 25(1): 1-5.
- [9] Halestrap A P, Kerr P M, Javadov S, *et al.* Elucidating the molecular mechanism of the permeability transition pore and its role in reperfusion injury of the heart [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1366(1/2): 792-794.
- [10] 吴新文. 氧自由基与心肌缺血再灌注损伤 [J]. 国外医学: 麻醉学与复苏分册, 1996, 17(1): 33-36.
- [11] Vanden H T L, Shao Z, Li C, *et al.* Mitochondrial electron transport can become a significant source of oxidative injury in cardiomyocytes [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1997, 29(9): 2441-2450.
- [12] Griendling K K, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease [J]. *Circ Res*, 2000, 86(5): 494-501.
- [13] Pagano P J, hanock S J, Siwik D A, *et al.* Angiotensin II induces p67phox mRNA expression and NADPH oxidase superoxide generation in rabbit aortic adventitial fibroblasts [J]. *Hypertension*, 1998, 32(2): 331-337.
- [14] Babior B M. NADPH oxidase: an update [J]. *Blood*, 1999, 93(5): 1464-1476.
- [15] Groemping Y, Rittinger K. Activation and assembly of the NADPH oxidase: a structural perspective [J]. *Biochem J*, 2005, 386(3): 401-416.