

• 网络药理学专栏 •

整合药理学方法的心可舒片干预动脉粥样硬化作用网络机制探讨

李晓宇^{1,2,4}, 徐 男¹, 黄娜娜³, 吴成胜⁷, 刘闰平⁵, 郭文鹤^{2,6}, 李晓骄阳⁵, 孙 蓉^{2*}

1. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014

2. 山东大学, 山东 济南 250100

3. 山东大学第二医院, 山东 济南 250033

4. 山东中医药大学, 山东 济南 250355

5. 弗吉尼亚联邦大学 微生物学与免疫学系, 美国弗吉尼亚州 里士满 23298

6. 哈尔滨商业大学, 黑龙江 哈尔滨 150076

7. 泰山医学院附属医院, 山东 泰安 271000

摘要: **目的** 探究心可舒片干预动脉粥样硬化(AS)作用的分子机制, 对于心可舒片二次开发和临床应用提供参考。

方法 用整合药理学平台对心可舒片干预 AS 的关键靶点和通路进行预测, 探究其干预 AS 的分子机制。**结果** 通过建立心可舒片“中药-成分-靶点-通路”网络进行预测和分析, 得到相关有效成分 80 个, 确定了 B4GALT4、B4GALT2、PRKCD、GCK、GNB1 等关键靶点, 明确了内分泌系统、甲状腺激素、神经系统、雌性激素和趋化因子等富集通路与其抗 AS 作用相关。**结论** 心可舒片通过对 PI3K/Akt/eNOS 和 Raf/MEK/ERK 途径的共同调节, 保护血管内皮细胞, 从而达到干预 AS 的效果。

关键词: 心可舒片; 动脉粥样硬化; 整合药理学平台; 分子机制; PI3K/Akt/eNOS 通路; Raf/MEK/ERK 通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)15-3463-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.15.002

An integrative pharmacological-based study on network mechanism of Xinkeshu Tablets intervention in atherosclerosis

LI Xiao-yu^{1,2,4}, XU Nan¹, HUANG Na-na³, WU Cheng-sheng⁷, LIU Run-ping⁵, GUO Wen-he^{2,6}, LI Xiao-jiaoyang⁵, SUN Rong²

1. Shandong Academy of Chinese Medicine, Jinan 250014, China

2. Shandong University, Jinan 250100, China

3. The Second Hospital of Shandong University, Jinan 250033, China

4. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

5. Department of Microbiology and Immunology, Virginia Commonwealth University, Richmond VA 23298, USA

6. Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

7. Affiliated Hospital of Taishan Medical University, Taian 271000, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of the intervention of Xinkeshu Tablets (XKST) on atherosclerosis (AS) and provide reference for the secondary development and clinical application of XKST. **Methods** The integrated pharmacology platform was used to predict the key targets and pathways of the intervention of XKST on AS and its molecular mechanism was also explored. **Results** In the integrative analysis of heterogeneous network of “TCM-component-target-pathway”, 80 relevant effective ingredients were found, including B4GALT4, B4GALT2, PRKCD, GCK, GNB1, and other key targets; Endocrine system, thyroid hormone signaling pathway, nervous system, estrogen signaling pathway, and chemokine signaling pathway were key pathways related with its anti-atherosclerosis. **Conclusion** According to the analysis and prediction of the enrichment information, the effect of XKST on common regulating PI3K/Akt/eNOS and

收稿日期: 2018-03-21

基金项目: 山东省重大产业专项: 国家基药大品种心可舒片二次深度开发(2015ZDZX07002); 国家重大新药创制重大专项课题: 中药复方药理学研究与药效评价关键技术(2009ZX09502-015); 山东省自主创新和成果转化课题: 药物安全性评价和适宜于抗肿瘤及缺血性脑血管疾病多靶点和复方新药成药性评价关键技术研究(2014ZZCX02104); 泰山学者工程专项经费资助(Ns201511107)

作者简介: 李晓宇(1989—), 女, 山东临沂人, 助理研究员, 在读博士, 研究方向为中药药理与毒理。Tel: 15954901833 E-mail: 15954901833@126.com

***通信作者:** 孙 蓉, 教授, 博士生导师, 从事中药药理评价与新药发现和中药毒性与分子毒理学研究。Tel: 1305311799 E-mail: sunrong@sdu.edu.cn

Raf/MEK/ERK signaling pathway and protecting vascular endothelial cells is first prompted, thus achieving the intervention in AS.

Key words: Xinkeshu Tablets; atherosclerosis; integrated pharmacology platform; molecular mechanism; PI3K/Akt/eNOS signaling pathway; Raf/MEK/ERK signaling pathway

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是导致冠状动脉疾病发病和患者死亡的主要原因, 迄今仍未阐明其确切的病因及发病机制^[1]。其主要治疗药物是调脂、抗凝及溶栓药物, 治疗效果也不够理想^[2]。中医无“动脉粥样硬化”的病名, 但可归为“胸痹”“脉痹”“真心痛”等病症范畴, 主要证候包括痰瘀互结证、气阴两虚证、气虚血瘀证和气滞血瘀证^[3]。心可舒片由丹参、葛根、三七、山楂、木香组成, 有活血化瘀、行气止痛之功效^[4], 具有改善血液流变学和血流动力学、调血脂、改善血管内皮功能、调节炎症反应等药理作用, 临床对于高脂血症、冠心病、心脏神经官能症、双心疾病、脑心综合征等治疗有显著的疗效^[5]。近年来, 临床和实验研究表明心可舒片可通过抑制炎症反应、保护内皮细胞功能、改善血流动力学等途径改善 AS^[6-9], 且适用于 AS 气滞血瘀证者^[3], 其中, 丹参、葛根、三七在冠状动脉粥样硬化性心脏病所用的 232 种中药频次分布中分别为第 1、22、29 位^[10]。但心可舒片对 AS 的治疗作用及作用机制尚不明确。鉴于中药复方多成分、多效应、多靶点和整体调节作用, 本研究利用中药整合药理学平台, 挖掘心可舒片干预 AS 的关键靶点和信号通路, 探讨其分子作用机制, 进一步明确心可舒片干预 AS 的作用路径和靶点, 以期为国家基药大品种心可舒片二次深度开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 数据库

利用中药整合药理学计算平台 (TCM-IP, <http://www.tcmip.cn/>)、Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG, <http://www.kegg.jp/>)、Reactome (<https://reactome.org/>)、韦恩图 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) 等数据库获取数据。

1.2 方法

1.2.1 化学成分和疾病的候选靶点预测 在 TCM-IP 平台中药材数据库中对心可舒片组方中药丹参、葛根、三七、山楂和木香进行化学成分信息收集, 包括 CAS 号、中文名称、英文名称、分子式、相对分子质量、药理作用, 并建立心可舒片的化学成分信息数据库。利用 TCM-IP 平台开源软件 OpenBabel 提取心可舒片化学成分 MACCS 分子指

纹, 通过化学成分二维结构 (.mol) 与 FDA 上市药物进行化学指纹特征比对, 以 Tanimoto 系数定义的相似度计量方法进行相似性打分, 取打分系数 > 0.8 所得的药物靶点为此次研究所需要的作用的潜在靶点, 建立心可舒片候选靶点信息数据库。在疾病/症状靶点数据库, 以 “atherosclerosis” 作为疾病或症状关键词进行检索, 提取心可舒片中干预 AS 的药物名称、药物疗效、药物靶点的基因和蛋白质相关信息, 作为候选靶点来源。

1.2.2 网络构建与分析 根据心可舒片候选靶点信息数据库, 利用 Cytoscape 3.5.1 软件构建中药-成分-靶点网络。通过 TCM-IP 平台的蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 数据库, 获得心可舒片作用的潜在靶点与 “atherosclerosis” 疾病靶点之间的 PPI 信息并构建相互作用网络, 以 “节点连接度 (degree) ≥ 2 倍中位数” 为筛选条件, 选取心可舒片靶点-疾病蛋白互作网络的节点 (hubs); 接着, 以 “degree $\geq$ 中位数” “紧密度 (closeness) 和介度 (betweenness) 均大于等于其中位数” 为条件^[11], 选取心可舒片干预 AS 的候选靶点; 然后, 通过对上述候选靶点所参与的功能和通路进行分析, 并构建 “复方-中药-成分-靶点-通路” 的多层次网络关联图。

1.2.3 基因功能和通路分析 采用 TCM-IP 平台基因本体数据库 (gene ontology, GO) 和 KEGG 通路数据库, 提取靶点基因或蛋白质的分子功能 (molecular function)、生物过程 (biological process)、细胞内定位 (subcellular localization) 和通路 (pathway), 得出的心可舒片作用靶点和 AS 的靶点, 进行基因功能分析和通路分析, 并将所得结果按照 *P* 值降序排列^[12], 选取 *P* 值在前 20 的靶点、基因功能和通路进行分析。

2 结果

2.1 心可舒片所含成分及其预测靶点信息

分别将心可舒片中所含中药 “丹参” “葛根” “三七” “山楂” 和 “木香” 带入 TCM-IP 数据库分析, 共得到活性成分 318 个, 预测靶点 1 534 个。其中, 丹参中活性成分 96 个, 主要为黄酮类、酚酸类、黄酮类和萜类化合物, 预测靶点 224 个; 葛根中活性成分 33 个, 主要为黄酮类和香豆素类化合物, 预测靶点 131 个; 三七中活性成分 95 个, 主要为皂苷类、

黄酮类、挥发油和氨基酸类化合物, 预测靶点 359 个; 山楂中活性成分 30 个, 主要为黄酮类、有机酸类和三萜类化合物, 预测靶点 572 个; 木香中活性成分 64 个, 主要为挥发油和氨基酸类化合物, 预测靶点 248 个, 单味药材间共有靶点分析表明丹参、三七、山楂、木香、葛根预测靶点中分别有 101、73、270、121、70 个共有靶点, 结果见表 1, 中药-成分-预测靶点网

表 1 共有靶点分析结果

Table 1 Basic information of common targets

中药	共有靶点数量				
	丹参	三七	山楂	木香	葛根
丹参	—	18	64	31	19
三七	18	—	52	45	59
山楂	64	52	—	68	60
木香	31	45	68	—	47
葛根	19	59	60	47	—

络中 degree 值最高的中药是山楂, degree 值排在 10 位的成分是棕榈酸、亚油酸、蔗糖、熊果酸、琥珀酸、花生酸、庚酸、壬酸、二十一碳酸和乌药酸, 见图 1。

2.2 心可舒片预测靶点生物信息学分析

对候选靶点进行 GO 富集分析, P 值排名前 20 的候选靶点功能信息主要涉及氧化还原、谷胱甘肽合成和代谢、谷胱甘肽受体、氨基酸代谢、膜转运和 NO 生物合成等多个生物学过程; 胞外体、线粒体等多个细胞组分和谷氨酸门控通道、转移酶、代谢酶和内切酶等多个分子功能, 见图 2-A。对候选靶点进行 Pathway 富集分析, P 值排名前 20 的候选靶点通路信息主要涉及谷胱甘肽代谢、氨基酸代谢、谷氨酸能突触、神经退行性疾病、P450 酶异物代谢、非酒精性脂肪肝病等通路, 见图 2-B。

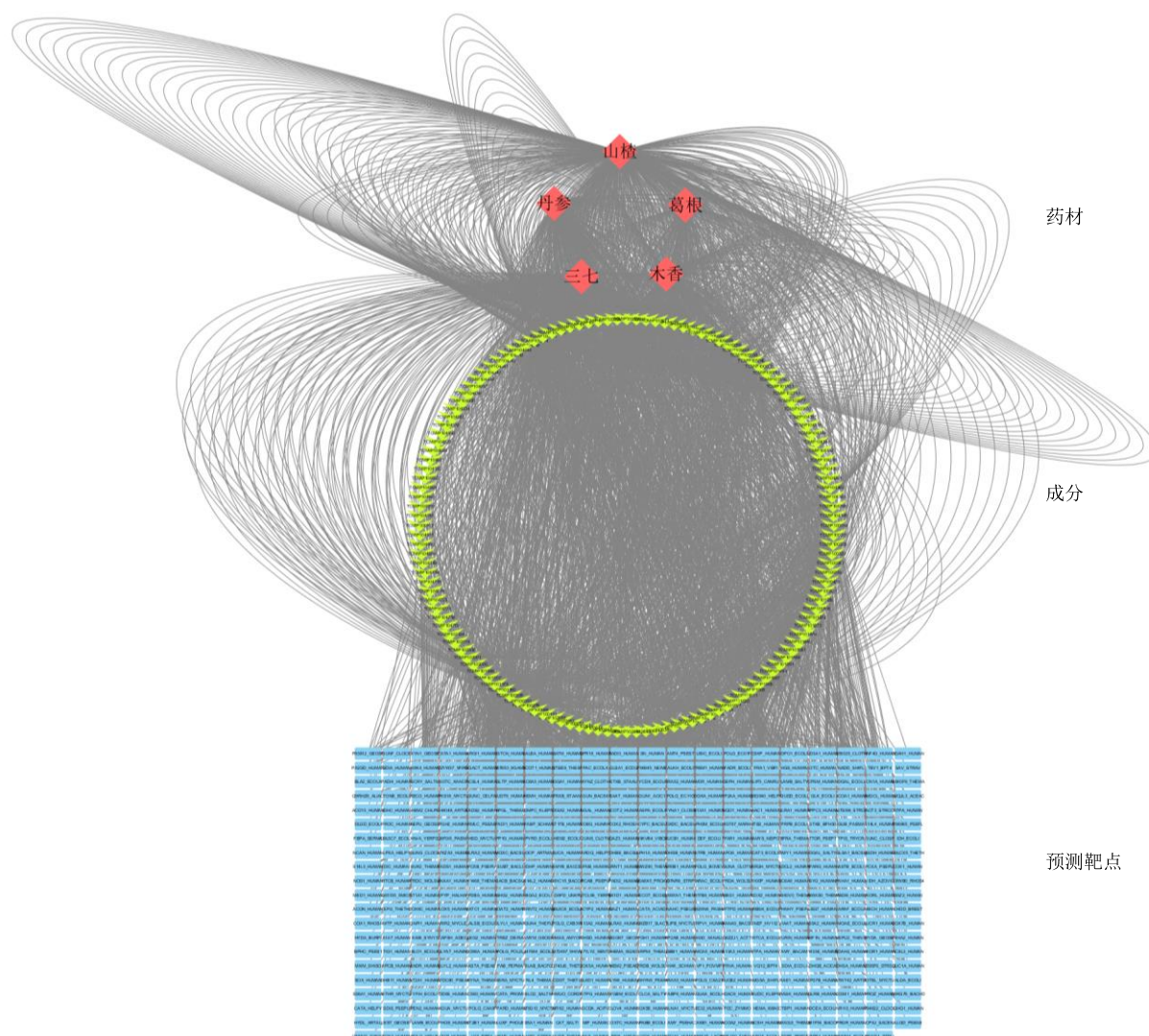


图 1 心可舒片“中药-成分-预测靶点”网络

Fig. 1 Network of TCM-component-predictive target of XKST

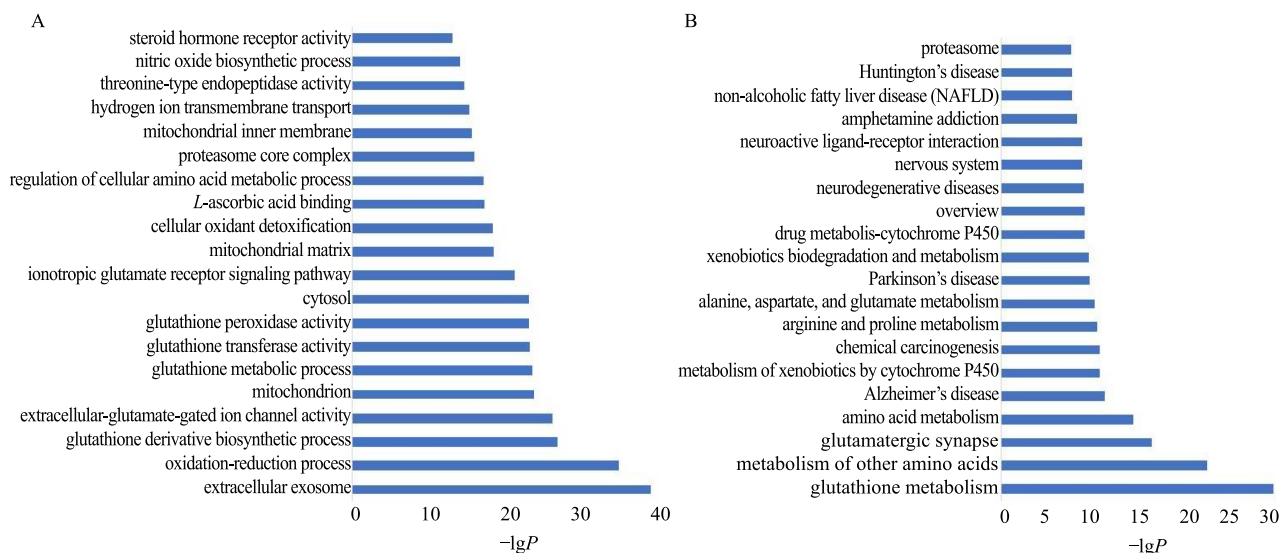


图 2 候选靶点 GO (A) 和 Pathway (B) 功能富集分析

Fig. 2 GO (A) and Pathway (B) functional enrichment analysis of candidate targets

2.3 心可舒片干预 AS 候选靶点网络构建

通过 TCM-IP 平台的 PPI 相互作用数据库, 建立心可舒片药物靶点与 AS 靶点之间的相互作用网络, 根据条件筛选出核心靶点 461 个, 其中红色代表潜在药物靶点 (putative drug target), 灰色代表其他。根据 degree 排序仅显示排名前 100 的靶点得到心可舒片干预 AS 的候选靶点网络, 见图 3。节点的大小与 degree 呈正比关系, 节点的 degree 值越大, 说明这个节点在网络中的作用越大。其中, degree 值排在前 10 位的基因分别是 B4GALT4、B4GALT2、PRKCD、GCK、GNB1、ADCY2、CASK、ADCY5、PRKAA2、SSTR1。其中网络中连接度最高的节点为 B4GALT4 基因, 表明 B4GALT4 相对应的蛋白在心可舒片干预 AS 的发生发展中具有重要作用。对前 10 位的基因进行 Pathway 的通路分析, 选取 Pathway 的 $P \leq 0.05$ 为有意义的通路。结果显示与钙调蛋白、G 蛋白、 γ -氨基丁酸通路密切相关, 见图 4。

2.4 心可舒片干预 AS 关键靶点生物信息学分析及“成分-靶点-通路”多维网络关系构建

对候选靶点进行 GO 富集分析, P 值排名前 20 的候选靶点功能信息主要涉及 MAPK 级联反应、免疫过程、氨基酸代谢等多个生物学过程; 胞外体、线粒体、髓鞘等多个细胞组分蛋白激酶结合、ATP 结合和药物应答等多个分子功能 (图 5-A); 对候选靶点进行 Pathway 富集分析, P 值排名前 20 的候选靶点通路信息主要涉及内分泌系统中甲状腺激素、



图 3 心可舒片干预 AS 的候选靶点网络

Fig. 3 Candidate target network for XKST intervention in AS

雌激素, 神经系统中神经传导、谷氨酸能突触, 免疫系统中趋化因子, 循环系统和细胞生长和死亡等通路 (图 5-B)。通过上述分析, 借助 TCM-IP 平台建立心可舒片干预 AS “成分-靶点-通路” 多维网络, 见图 6。心可舒片干预 AS 的成分共 80 个, 丹参中 15 个、三七中 37 个、山楂中 19 个、葛根中 7 个、木香中 9 个。研究表明, 丹酚酸 B 可通过抗氧化、抗炎和抑制 TLR4-NF- κ B-TNF- α 通道, 而影响 AS^[13]; 三七总皂苷、人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rb₁、三七皂苷 R₁ 均有抗 AS 作用^[14-16]; 槲皮素可激活 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路, 起到抗 AS 作用^[17]; 棕榈酸能够升高血浆游离脂肪酸水平, 降低斑块内

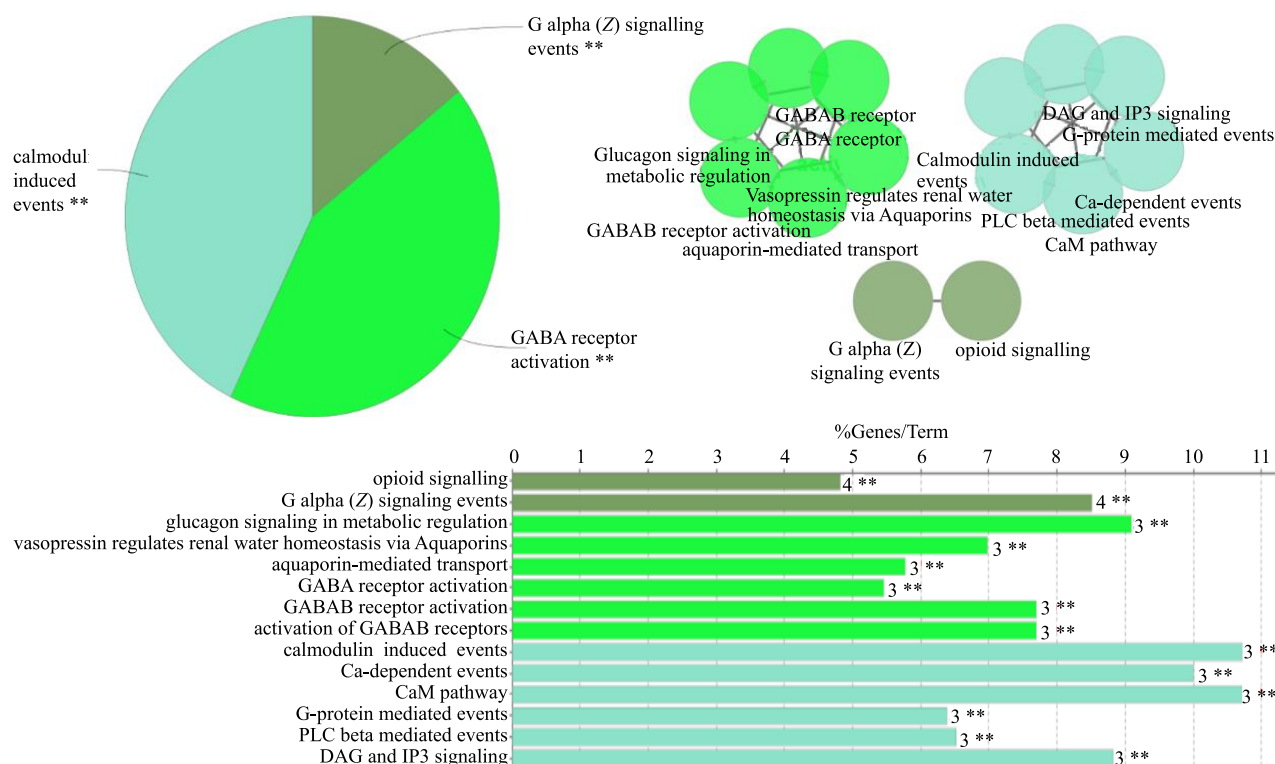


图 4 前 10 位关键靶点 Pathway 分析

Fig. 4 Pathway analysis of top10 targets

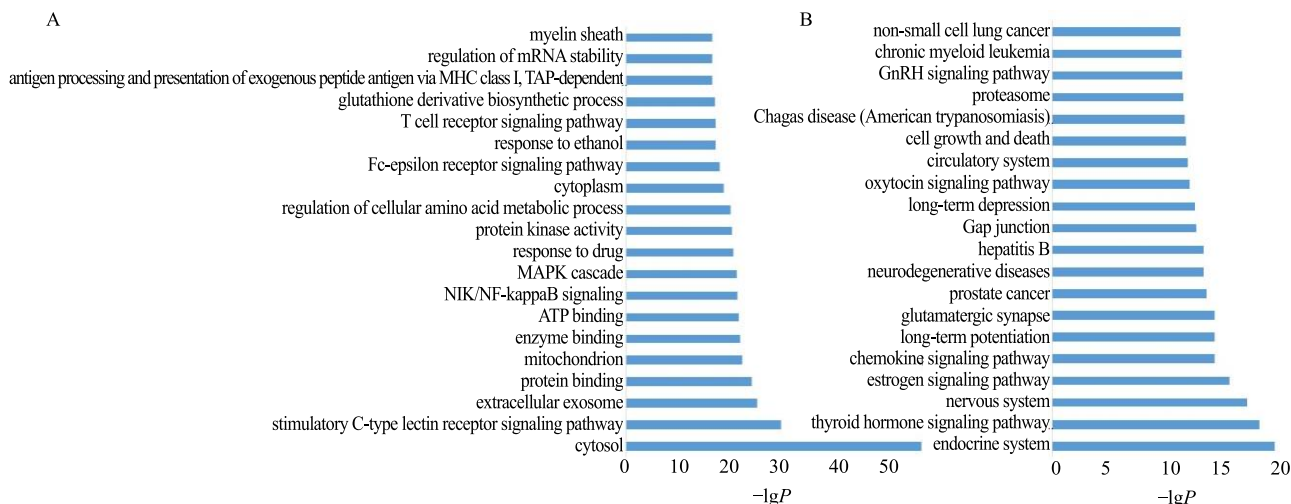


图 5 关键靶点 GO (A) 和 Pathway (B) 功能富集分析

Fig. 5 GO (A) and pathway (B) functional enrichment analysis of key targets

胶原含量，从而降低 AS 斑块稳定性^[18]；齐墩果酸对 AS 的形成有显著的抑制作用^[19]；枸橼酸可通过 PI3K/Akt 信号通路，缩小心肌梗死面积，保护心肌，降低再灌注心律失常的发生及严重程度^[20]；熊果酸可能通过调节血脂，抑制炎症反应以及降低氧化应激损伤而对 AS 大鼠表现出一定的保护作用^[21]；染料木黄酮可以结合雌激素受体进而抑制血管内皮

细胞和平滑肌细胞内细胞核因子- κ B (NF- κ B) 活性及炎症细胞因子分泌，减少血管内皮细胞及平滑肌细胞增殖和转移，抑制 AS 的形成^[22]。

2.5 心可舒片干预 AS 网络机制探讨

对“成分-靶点-通路”网络中取 P 值排名前 5 的通路内分泌系统 (endocrine system)、甲状腺激素信号通路 (thyroid hormone signaling pathway)、神

经系统 (nervous system)、雌激素受体信号传导通路 (estrogen signaling pathway) 和趋化因子信号通路 (chemokine signaling pathway) 中富集的基因进行韦恩分析, 见图 7。其中, 5 条通路的共有基因 13 个: HRAS、RAF1、PLCB2、MAPK3、PLCB3、

KRAS、AKT1、PIK3R1、AKT3、PRKACA、PIK3CG、MAP2K1、SRC。将这 13 个基因带入 KEGG Mapper, 分析得到共有机制, 结果显示心可舒片干预 AS 的机制与干预 PI3K/Akt/eNOS 和 Raf/MEK/ERK 途径密切相关, 见图 8。

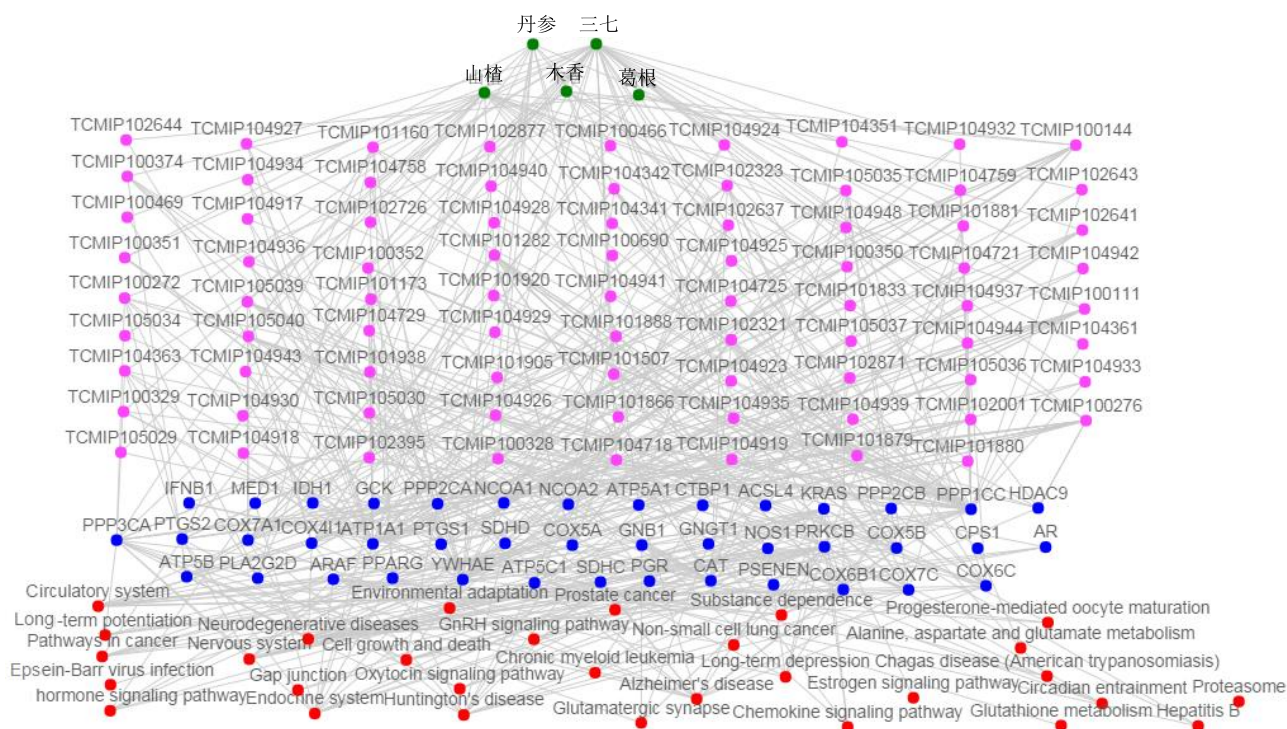


图 6 心可舒片干预 AS “中药-成分-靶点-通路” 多维网络关系

Fig. 6 A multidimensional network of TCM-component-target-pathway of XKST intervention in AS

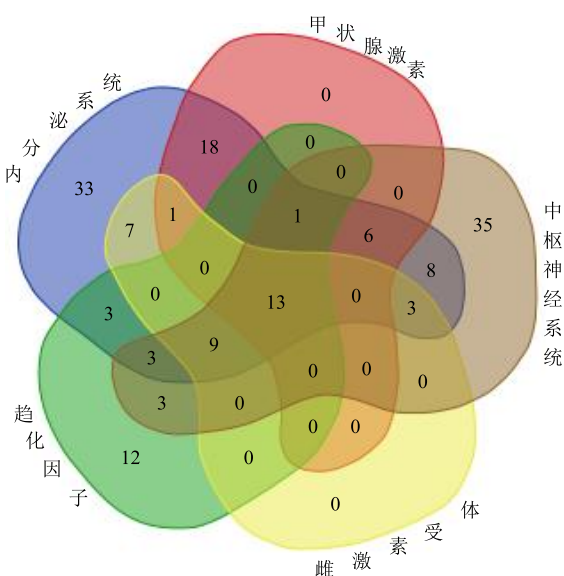


图 7 通路富集基因韦恩图

Fig. 7 Venn diagram of pathway enrichment gene

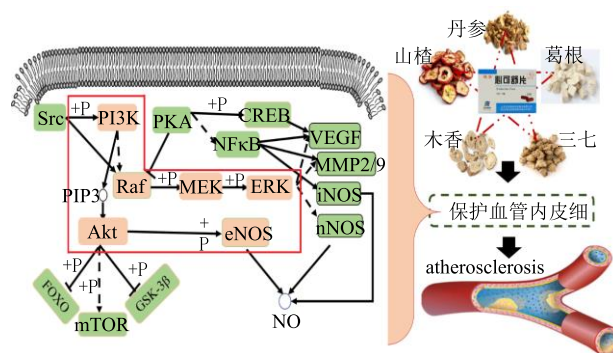


图 8 心可舒片干预 AS 关键机制作用

Fig. 8 Key mechanism of XKST intervention on AS

3 讨论

AS 是危害人类健康的主要疾病之一, 随着现代医学治疗方法的不断发展, 其病死率呈现下降趋势, 但死亡总数仍在不断增加^[23]。现代医学认为“损伤反应学说”是 AS 发病的主要机制。其发病机制

的主要过程首先是内皮损伤,其次是脂质积聚^[3],而粥样斑块的形成是动脉对内皮损伤反应的结果。AS 属于中医“胸痹”“脉痹”“真心痛”等病症范畴,气滞血瘀证是其主要证候之一^[3]。心可舒片由丹参、葛根、三七、山楂、木香 5 味药物组成,具有活血化瘀、行气止痛的功效。2017 年发布的《动脉粥样硬化中西医结合诊疗专家共识》中明确了心可舒片可用于 AS 气滞血瘀证者。其君药丹参中丹参素、丹酚酸 B、丹参酮 II_A、隐丹参酮等有效成分对 AS 斑块的形成与发展具有一定的防治作用^[13,24];丹参、山楂和丹参、葛根药对于大鼠 AS 的发生发展具有良好的干预作用,作用与调节血脂水平、强抗氧化作用以及增强内皮功能有关^[25];臣药葛根中黄酮类有效成分降低了 AS 病变内巨噬细胞凋亡,抑制 AS 斑块的进展^[26]。但国内外对心可舒干预 AS 的研究尚不足。因此,探究心可舒片用于 AS 的药效和机制研究对于心可舒片的进一步开发和应用具有十分重要意义。

PI3K/Akt 信号通路与细胞激活、蛋白质合成等调控密切相关,调控 PI3K/Akt 信号通路可直接影响 AS 病理进程^[27-30]。研究表明,PI3K/Akt 通路可以抑制血管内皮细胞中组织因子的表达,降低血管内皮细胞的凋亡^[29-30];调节血管平滑肌细胞增殖、迁移及细胞凋亡^[31];并通过影响单核细胞和巨噬细胞来影响 AS^[32]。PI3K/Akt 信号通路中 PI3K 下游有众多效应分子,Akt 作为中心环节,激活可作用于下游的叉头转录因子类(forkhead transcription factors of the O class, FOXO)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)、糖原合成酶激 3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)和内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)等多个靶点。Akt 磷酸化后可以促进 eNOS 活化,使内皮细胞产生 NO 增多,NO 具有抑制血小板聚集和血管内皮细胞组织因子产生的作用^[33]。PI3K/Akt/eNOS 途径在 AS 的发生发展中起着至关重要的作用,抑制该途径,可延缓 AS 的形成及进展。研究表明,其中丹酚酸 B 可通过 PI3K-Akt 信号通路干预大鼠心肌缺血再灌注损伤^[34];人参皂苷 Rg₁通过 PI3K/Akt/eNOS 信号通路调控异丙肾上腺素致急性心肌缺血大鼠心肌的抗氧化作用^[35],但对于 AS 中信号通路的影响尚未见报道。

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)是细胞内的一类丝氨酸/苏氨酸

蛋白激酶。MAPKs 可将细胞外刺激信号转导至细胞内及核内,而引起细胞的增殖、分化、转化及凋亡等各种生物学反应^[36]。ERK 是 MAPKs 中的重要成员之一,可被炎性刺激激活,通过相应的下游信号分子调节多种内皮细胞的迁移、分化和增殖。Raf 以级联反应的方式调节相关靶蛋白,形成经典 Raf/MEK/ERK 途径。Raf/MEK/ERK 途径可由活性氧(ROS)、Ca²⁺、蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)等激活,并参与体内多种生理生化功能,对细胞生长、增殖、分化、凋亡均有影响^[37]。Raf/MEK/ERK 途径目前在肿瘤治疗、神经保护方面研究较多,对抑制 Raf/MEK/ERK 途径来抑制肿瘤的发展已经成为肿瘤开发药物的新方向,但鲜有其在 AS 方面的研究。

PI3K/Akt/eNOS 和 Raf/MEK/ERK 途径广泛存在于体内各种细胞,在血管内皮细胞的多种功能中起重要作用^[38]。本研究结果首次提示心可舒片通过对 PI3K/Akt/eNOS 和 Raf/MEK/ERK 途径的共同调节,保护血管内皮细胞,从而达到干预 AS 的效果,对于心可舒片的开发和应用具有十分重要意义。心可舒片干预 AS 的药效作用网络、方剂配伍关系仍需在病证背景下做进一步的实验验证。

参考文献

- [1] 严春琳,杨静,韩际宏,等. 中药抗动脉粥样硬化机制研究进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2014, 28(6): 904-913.
- [2] 王新,李春阳,苏立平,等. 动脉粥样硬化发病机制及治疗的研究进展 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2017, 25(2): 1-4.
- [3] 安冬青,吴宗贵. 动脉粥样硬化中西医结合诊疗专家共识 [J]. 中国全科医学, 2017, 20(5): 507-511.
- [4] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [5] 张智慧,杨倩,孙蓉. 心可舒片的药理作用及临床应用研究进展 [J]. 中国药物警戒, 2016, 13(9): 543-546.
- [6] 常晖,常乐军. 心可舒对高血脂和颈动脉粥样硬化斑块的影响 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2012, 10(8): 931-932.
- [7] 黑乃豪,徐飞飞,曹新冉,等. 心可舒与氟伐他汀抑制兔动脉粥样硬化黏附分子的表达及炎症反应 [J]. 基础医学与临床, 2016, 36(5): 590-593.
- [8] 杨倩,孙蓉. 心可舒片治疗冠心病合并抑郁症的“双心”疾病的 Meta 分析 [J]. 中草药, 2016, 47(24): 4488-4493.
- [9] 徐飞飞,徐慧,王楠,等. 心可舒对兔动脉粥样硬

- 化斑块的影响及其作用机制探讨 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2013, 11(4): 454-456.
- [10] 刘俊丽. 心、脑及下肢动脉粥样硬化性疾病中医用药规律研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [11] 何汉青, 李 宁. 基于云计算的 MCU 应用开发平台 [J]. 武汉理工大学学报: 信息与管理工程版, 2011, 33(4): 544-547.
- [12] 许海玉, 刘振明, 付 岩, 等. 中药整合药理学计算平台的开发与应用 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(18): 3633-3638.
- [13] 杨 阳, 王 林, 张毕奎. 丹参中抑制炎症因子的活性成分抗动脉粥样硬化研究进展 [J]. 中南药学, 2013, 11(4): 289-292.
- [14] 乔 磊. 人参皂苷 Rb₁ 通过促进巨噬细胞自噬稳定动脉粥样硬化斑块的研究 [D]. 济南: 山东大学, 2017.
- [15] 顾金松. 人参皂苷 Rg₁ 对 ox-LDL 诱导人脐静脉内皮细胞损伤的保护作用及信号传导机制研究 [D]. 昆明: 昆明医科大学, 2016.
- [16] 赵丹丹. 定心方通过 Ang1-Tie2 通路干预动脉粥样硬化斑块内血管生成的机制研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2017.
- [17] 吕 丽. 基于 PI3K/Akt/NF- κ b 信号通路槲皮素抗动脉粥样硬化作用研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2017.
- [18] 靳飞鹏, 蒋四华, 马双陶, 等. 高棕榈酸饮食对 ApoE 基因敲除小鼠动脉粥样硬化的影响 [J]. 国际心血管病杂志, 2014, 41(2): 107-110.
- [19] 武继彪, 黄文兴, 董 榕. 齐墩果酸对实验性动脉粥样硬化的预防作用 [J]. 中药药理与临床, 1991, 7(2): 24-26.
- [20] 卢 青. 枸橼酸预处理对缺血再灌注大鼠心肌细胞凋亡和再灌注心律失常的影响及其分子机制研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2016.
- [21] 杨晓龙, 刘艳峰, 陈树杰. 熊果酸对动脉粥样硬化大鼠保护作用的研究 [J]. 心肺血管病杂志, 2017, 36(1): 53-57.
- [22] 杨 秀, 张黎明. 染料木黄酮抗动脉粥样硬化的研究进展 [J]. 医学综述, 2013, 19(13): 2328-2330.
- [23] 张 运. 动脉粥样硬化研究的当前问题 [J]. 中华心血管病杂志, 2011, 39(9): 785-788.
- [24] 王 贺, 罗明华, 沈晓君, 等. 丹参片通过 PI3K/Akt 信号通路抗动脉粥样硬化机制研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015(6): 1194-1197.
- [25] 王 伟, 杨 滨, 王 岚, 等. 丹参山楂药对对大鼠动脉粥样硬化的影响 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6): 784-789.
- [26] 武 迎, 王绿娅, 张慧信, 等. 葛根总黄酮对载脂蛋白 E 基因缺陷小鼠动脉粥样硬化病变内细胞凋亡及凋亡相关基因的影响 [J]. 中华心血管病杂志, 2007, 35(6): 567-570.
- [27] 张志鑫, 李彦杰, 秦合伟, 等. 基于 PI3K/Akt/mTOR 信号通路调控巨噬细胞自噬探讨黄芪甲苷抗动脉粥样硬化的作用机制 [J]. 中草药, 2017, 48(17): 3575-3581.
- [28] Hwang Y P, Kim H G, Hien T T, *et al.* Puerarin activates endothelial nitric oxide synthase through estrogen receptor-dependent PI3-kinase and calcium-dependent AMP-activated protein kinase [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2011, 257(1): 48-58.
- [29] Liu C M, Ma J Q, Sun Y Z. Puerarin protects rat kidney from lead-induced apoptosis by modulating the PI3K/Akt/eNOS pathway [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 258(3): 330-342.
- [30] Wang Y, Wang W L, Xie W L, *et al.* Puerarin stimulates proliferation and differentiation and protects against cell death in human osteoblastic MG-63 cells via, ER-dependent MEK/ERK and PI3K/Akt activation [J]. *Phytomed Int J Phytoth Phytopharmacol*, 2013, 20(10): 787-796.
- [31] Liu C H, Su T, Li F, *et al.* PI3K/Akt signaling transduction pathway is involved in rat vascular smooth muscle cell proliferation induced by apelin-13 [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2010, 42(6): 396-402.
- [32] Jackson S P, Schoenwaelder S M, Goncalves I, *et al.* PI 3-kinase p110beta: A new target for antithrombotic therapy [J]. *Nat Med*, 2005, 11(5): 507-514.
- [33] Yang Y, Loscalzo J. Regulation of tissue factor expression in human microvascular endothelial cells by nitric oxide [J]. *Circulation*, 2000, 101(18): 2144-2148.
- [34] 薛 凌. 丹酚酸 B 通过 PI3K-Akt 信号通路干预大鼠心肌缺血再灌注损伤的实验研究 [D]. 济南: 山东大学, 2014.
- [35] 冷 雪, 臧安缘, 李其芳. 人参皂苷 Rg₁ 通过 PI3K/Akt/eNOS 信号通路调控异丙肾上腺素致急性心肌缺血大鼠心肌的抗氧化作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(11): 145-150.
- [36] 李 丽. MEK/ERK 和 PI3K/Akt 信号通路在体外震波促人脐静脉内皮细胞 VEGF 表达中的作用 [D]. 昆明: 昆明医科大学, 2016.
- [37] Secchiero P, Gonelli A, Carnevale E, *et al.* TRAIL promotes the survival and proliferation of primary human vascular endothelial cells by activating the Akt and ERK pathways [J]. *Circulation*, 2003, 107(17): 2250-2256.
- [38] Dong B, Zhang C J, Zhao Y, *et al.* Overexpression of ACE2 enhances plaque stability in a rabbit model of atherosclerosis [J]. *Arterioscl Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(7): 1270-1276.