

丹参酮 II A 对 EA. Hy926 氧化应激细胞模型自噬的影响及其时效关系的研究*

曹慧敏¹ 宋因¹ 张妮¹ 王英¹ 吴瑾¹ 杨关林¹ 贾连群¹

[摘要] **目的:**研究丹参酮 II A 对氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导的人脐静脉内皮细胞(EA. Hy926)氧化应激模型自噬效应的影响及时效关系。**方法:**①采用 MTT 法分别观察不同浓度 ox-LDL(模型组)及丹参酮 II A(丹参酮组)对 EA. Hy926 细胞增殖的影响,明确 ox-LDL 及丹参酮 II A 作用于 EA. Hy926 细胞的浓度;②采用荧光免疫法细胞技术及免疫印迹技术检测细胞内 LC3 蛋白不同时间点 6 h、12 h、24 h 表达的变化。**结果:**100 mg/L ox-LDL 作用于 EA. Hy926 细胞 24 h 造成明显氧化应激损伤,丹参酮 II A 能减轻此损伤。LC3/DAPI 复染发现丹参酮 II A 组 LC3 自噬小体在 6 h、12 h、24 h 形成较模型组增多,在 12 h 表达最多。免疫印迹技术发现 LC3A/B 蛋白表达水平在 12 h 及 24 h 时明显增高,但在 12 h 时自噬效应蛋白 LC3A/B 表达最为明显。**结论:**丹参酮 II A 上调 EA. Hy926 氧化应激细胞模型的自噬,保护细胞氧化应激损伤,并存在时效关系。

[关键词] 丹参酮 II A;内皮细胞;动脉粥样硬化;氧化应激;自噬

doi:10.13201/j.issn.1001-1439.2017.02.020

[中图分类号] R543.5 **[文献标志码]** A

Study on time-effects of Tanshinone II A on oxidative stress EA. Hy926 cell model's autophagy

CAO Huimin SONG Nan ZHANG Ni WANG ying
WU Jin YANG Guanlin JIA Lianqun

(Key Laboratory of Ministry of Education for TCM Viscera-State Theory and Applications of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Translational Medicine Research Center of Traditional Chinese Medicine in Liaoning Province, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, 110847, China)

Corresponding author: YANG Guanlin, E-mail: yang_guanlin@163.com

Abstract Objective: To study the time-effect of Tanshinone II A on autophagy of oxidative stress human umbilical vein endothelial cells (EA. Hy926) model induced by ox-LDL. **Method:** ①MTT method was used to observe the effect of different concentration of ox-LDL and tanshinone II A on EA. Hy926 cells proliferation. We figured out these concentrations of ox-LDL and tanshinone II A. ②Fluorescence and Western blot were observed the expressions of autophagy marker protein LC3 at 6 h, 12 h and 24 h. **Result:** One hundred mg/L ox-LDL caused significantly oxidative stress damage in human umbilical vein endothelial cells for 24 h, but tanshinone II A reduced the oxidative injury induced by ox-LDL. LC3/DAPI staining found that in the tanshinone II A group LC3 autophagy bodies formation were increased at 6-24 h, peaked at 12 h, when compared with the model group. Western blot found that autophagy marker protein LC3A/B expression was increased obviously at 12 h in the tanshinone II A group. **Conclusion:** Tanshinone II A affects the autophagy of oxidative stress EA. Hy926 cells modle with time-effect. Tanshinone II A protects EA. Hy926 cells from oxidative damage by autophagy upregulation.

Key words tanshinone II A; endothelial cell; atherosclerosis; oxidative stress; autophagy

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)的发生和发展是一种多因素参与的复杂的病理生理学过程,作为心脑血管疾病的主要病理基础,其发病机制至今尚不明确。血管内皮细胞的氧化损伤被认为是 AS 的始动因素,与冠心病、高血压等心血管疾病的发生发展密切相关。氧化低密度脂蛋白(oxidative low density lipoprotein, ox-LDL)在血管内皮损伤中占有重要位置。研究发现在人脐静脉内皮细胞,

自噬是由 ox-LDL 激活,这种激活有助于 ox-LDL 的降解^[1]。在 AS 中,自噬作为降解氧化应激损伤的物质被激活,但相对于基础自噬,过度激活的自噬可能引起自噬死亡^[2-3]。丹参是唇形科鼠尾草属植物的根及根状茎,具有祛瘀止痛、活血通经、养心除烦、凉血消痈的功效,是治疗心脑血管病的常用中药。丹参酮 II A 是丹参的脂溶性有效单体,其不仅是一种天然的抗 AS 药物,且在其他心脑血管系统疾病、肿瘤、感染性疾病、内分泌疾病及肝脏疾病等方面具有非常广阔的临床应用前景。本研究丹参酮 II A 对 ox-LDL 诱导的人脐静脉内皮细胞(EA. Hy926)氧化应激模型的自噬效应的影响,同时探讨其时效关系。

* 基金项目:辽宁省自然科学基金项目(No:2015020394);辽宁省高等学校优秀人才支持计划(No:LR2015041);辽宁中医药大学 2015 年度大学生创新创业训练计划项目(No:201510162000066)

¹ 辽宁中医药大学中医脏象理论及应用教育部重点实验室 辽宁省中医转化医学研究中心(沈阳,110847)
通信作者:贾连群, E-mail: jlyq-8@163.com

1 材料与方法

1.1 材料

人脐静脉内皮细胞 EA. hy926 购自中国科学院上海细胞库。丹参酮 II A 标准品(中国食品药品鉴定研究院), ox-LDL(奕源, 中国), DMEM/高糖培养基、胎牛血清、0.25%胰蛋白酶、硫酸青霉素、硫酸链霉素(Hyclone, 美国)、微量丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、活性氧(reactive oxygen, ROS)测定试剂盒(南京建成, 中国), 蛋白质裂解液、一抗稀释液、ECL 化学发光试剂(碧云天, 中国), 蛋白测定试剂盒(鼎国, 中国), 兔抗人 LC3A/B 多克隆抗体(cell signal, 美国)、兔抗人 β -Actin 多克隆抗体(Santa Cruz, 美国), 二抗羊抗兔 HRP-IgG(Santa Cruz, 美国)。HERACell 150i 细胞培养箱(Thermo, 德国), TriStar2 LB 942 型多功能酶标仪(伯托, 德国), LEICA DM IL 倒置荧光显微镜(徕卡, 德国), SHZ-88 型水浴恒温振荡器(其林贝尔, 中国), Mini-Protean tetra 型垂直板电泳装置(Bio-Rad, 美国), Trans-Blot SD 型半干转膜仪(Bio-Rad, 美国), F3 型全自动荧光与可见光凝胶成像分析系统(Syngene, 英国)。

1.2 细胞培养及处理

1.2.1 细胞培养 人脐静脉血管内皮细胞 EA. hy926 购自上海, 用含 10% FBS 的高糖 DMEM 培养基(另加 1% 双抗)于 37 °C、5% CO₂ 条件下培养, 2~3 d 传代。取对数生长期细胞进行实验。用 0.25% 胰酶+EDTA 消化成单个细胞后传代。

1.2.2 MTT 法检测细胞活力 将 90% 生长的 EA. hy926 细胞用胰蛋白酶消化液消化, 用含胎牛血清的培养基配成单细胞悬液, 细胞以 8.5×10^3 个的密度接种于 96 孔板培养, 每孔 100 μ l; 将培养板放入温箱中 37 °C、5% CO₂ 条件下培养; 次日分别加入不同浓度(25、50、100、150、200 mg/L)的 ox-LDL 及不同浓度(5、10、20、40、60、80、160 μ mol/L)的丹参酮 II A, 每组 6 个复孔, 分别处理细胞 24 h, 培养结束后, 每孔加入 MTT 20 μ l, 4 h 后, 弃原培养液, 每孔加 150 μ l DMSO 置摇床上振荡使结晶物充分溶解, 酶联免疫检测仪 490 nm 波长处测光密度值(OD 值)。抑制率 = (1 - 实验组 OD 值 / 正常对照组 OD 值) \times 100%。

1.2.3 比色法检测 EA. hy926 细胞内 SOD、MDA

将细胞分为正常对照组, 50 mg/L ox-LDL 组, 100 mg/L ox-LDL 组及丹参酮 II A 组, 分组处理后, 收集培养板内的细胞和培养液, 按 SOD、MDA 试剂盒说明书, 分别测定不同浓度 ox-LDL 处理的细胞及丹参酮 II A 处理的 100 mg/L 的 ox-LDL 作用后的细胞, 细胞内 SOD 活性和细胞培养液中 MDA 含量。

1.2.4 免疫细胞化学技术检测 MAP1-LC3 蛋白的表达 将对数生长期 EA. hy926 细胞按 1×10^4 个/ml 接种于内置 1.2 cm \times 1.2 cm 小玻片的 24 孔板中培养 24 h。之后将细胞随机分为正常对照组、模型组、丹参酮组, 分别培养 6 h、12 h、24 h, 固定 15 min, PBS 冲洗, 封闭 20 min, 加入一抗(1 : 200)4 °C 过夜, FITC 标记二抗(1 : 500), 37 °C, 2 h, DAPI 染色 5 min。以上各步骤之间用 PBS 洗 3 次。50% PBS 甘油封片。Leica 荧光显微镜观察。

1.2.5 Western 检测自噬相关基因 各组细胞用 PBS 清洗 3 次, 加入适量裂解液, 冰上放置裂解 30 min; 充分吹打并转移至 1.5 ml 离心管中于 4 °C 下 $12\ 000 \times g$ 离心 15 min, 将上清分装转移至新的 1.5 ml 离心管中加 5 \times SDS 100 °C 变性 5 min。根据蛋白定量的结果上样电泳。以 50 μ g 蛋白/泳道上样, 经 SDS-PAGE 电泳后, 半干转膜至 PVDF 膜, 按比例配制 LC3A/B 及 β -Actin 一抗, 4 °C 封闭过夜, TBST 洗涤 3 次, 每次 10 min, 加入 HRP 标记的羊抗兔二抗。按 1 : 1 比例配制化学发光液, 将膜放在曝光板上, 膜上滴适量的发光液, 应用全自动荧光与可见光凝胶成像分析系统曝光分析图片。

1.3 统计学处理

采用 SPSS17.0 软件进行分析, 所得数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度 ox-LDL 对 EA. hy926 细胞增殖的影响

MTT 结果表明, 不同浓度 ox-LDL 对 EA. hy926 细胞增殖存在量效关系, 25~200 mg/L ox-LDL 对细胞增殖的抑制随 ox-LDL 浓度的增加而增加, 而 200 mg/L 的 ox-LDL 对 EA. hy926 细胞的抑制率 $> 50\%$, 对 EA. hy926 细胞的增殖有明显的抑制效应, 因此笔者选择 50 mg/L 及 100 mg/L ox-LDL 造模浓度进一步进行浓度筛选(图 1)。

2.2 不同浓度 ox-LDL 对 EA. hy926 细胞 MDA 含量及 SOD 活力的影响

各组 EA. hy926 细胞 MDA 含量及 SOD 活力检测结果发现: 与正常对照组相比, 50 mg/L ox-LDL 组细胞中 MDA 含量显著增高 ($P < 0.01$), 100 mg/L ox-LDL 组细胞中 MDA 含量显著增高 ($P < 0.01$); 与正常对照组相比, 50 mg/L ox-LDL 组细胞中 SOD 活力显著降低 ($P < 0.01$); 100 mg/L ox-LDL 组细胞中 SOD 活力显著降低 ($P < 0.01$)。50 mg/L、100 mg/L ox-LDL 均使细胞处于氧化应激状态, 但 100 mg/L ox-LDL 结果更为显著, 笔者结合文献采用 100 mg/L ox-LDL 制作氧化应激细胞模型(图 2)。

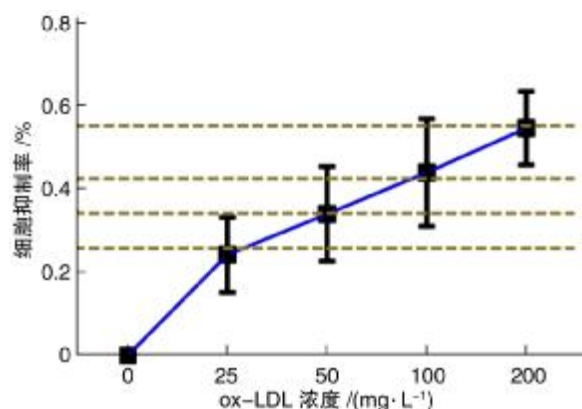
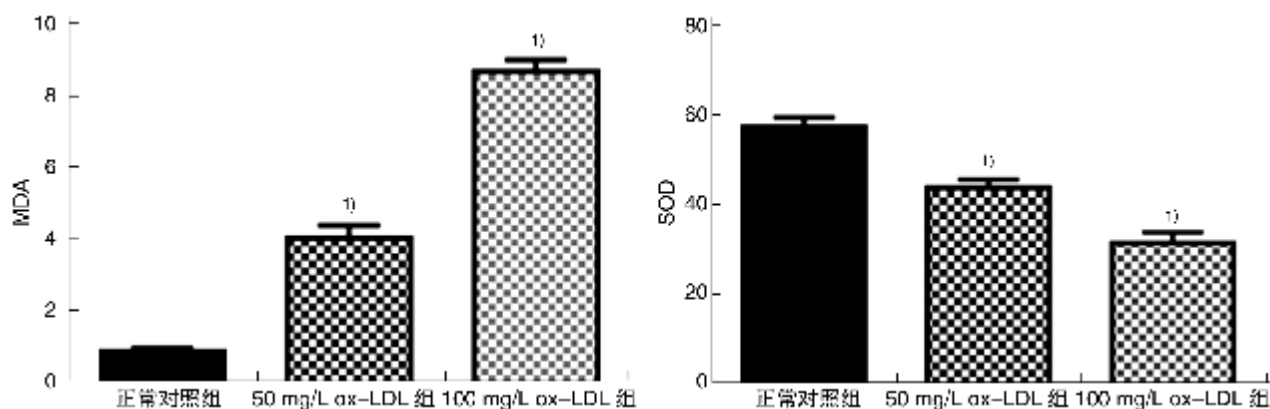


图1 不同浓度的 ox-LDL 对 EA. hy926 细胞增殖的影响
 Figure 1 Effects of different concentrations of ox-LDL on the proliferation of EA. hy926 cells



与正常对照组比较,¹⁾ $P < 0.01$ 。

图2 不同浓度 ox-LDL 对 EA. hy926 细胞 MDA 含量及 SOD 活力的影响
 Figure 2 The effects of different concentration of ox-LDL on MDA content and SOD activity of EA. hy926 cells

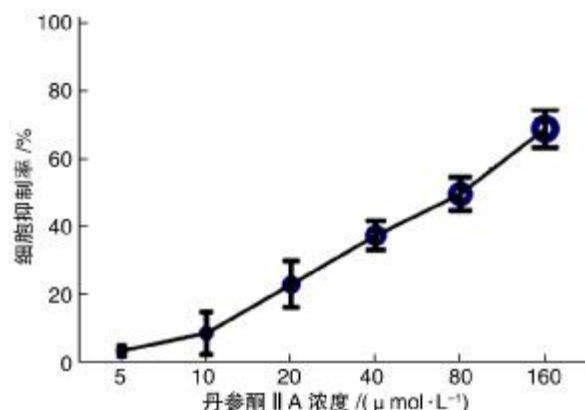


图3 不同浓度丹参酮ⅡA对EA. hy926细胞增殖的影响
 Figure 3 Effect of different concentrations of tanshinone ⅡA on the proliferation of EA. hy926 cells

力显著降低($P < 0.01$);与模型组相比,丹参酮ⅡA组细胞中SOD活力显著增高($P < 0.01$)。各浓度丹参酮ⅡA均可改善细胞的氧化应激状态,以20 μmol/L最为显著(图4)。

2.3 不同浓度丹参酮ⅡA对EA. hy926细胞增殖的影响

丹参酮ⅡA对EA. hy926细胞的增殖影响也存在量效关系,随着药物作用浓度加大,其生长抑制作用逐渐增强,丹参酮ⅡA 160 μmol/L时其抑制率为69.29%,对细胞的增殖有明显的抑制(图3)。

2.4 不同浓度丹参酮ⅡA对ox-LDL诱导的EA. hy926细胞MDA含量及SOD活力的影响

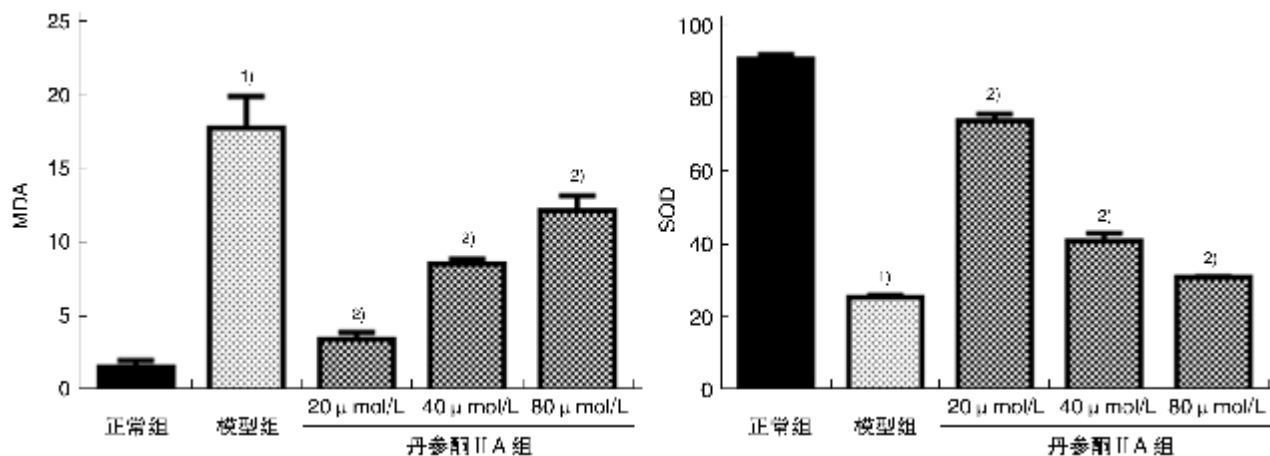
各组EA. hy926细胞MDA含量及SOD活力检测结果发现:与正常对照组比较,模型组细胞中MDA含量显著增高($P < 0.01$);与模型组相比,丹参酮ⅡA组细胞中MDA含量显著降低($P < 0.01$)。与正常对照组相比,模型组细胞中SOD活

2.5 丹参酮ⅡA对ox-LDL诱导的EA. hy926细胞MAP-LC3的影响

LC3/DAPI复染荧光倒置显微镜下观察细胞自噬现象发现:与正常对照组相比,模型组细胞在6 h、12 h、24 h时可见点状绿色荧光分布,即LC3自噬小体形成;与模型组相比,丹参酮ⅡA组在12 h时细胞内点状绿色荧光分布增强,即LC3自噬小体形成增多,而6 h及24 h时LC3的表达较12 h弱(图5)。

2.6 丹参酮ⅡA对ox-LDL诱导的EA. hy926细胞LC3 A/B表达的影响

Western blot技术检测各组EA. hy926细胞不同时间点自噬标记蛋白LC3A/B表达水平,结果显示:与正常对照组相比,模型组LC3A/B蛋白表达水平在12 h及24 h明显增高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与模型组相比,丹参酮ⅡA组LC3A/B蛋白表达水平在12 h及24 h明显增高,但12 h更为显著($P < 0.05$)(图6)。



与正常对照组比较,¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较,²⁾ $P < 0.01$ 。

图 4 不同浓度丹参酮 II A 对 ox-LDL 诱导的 EA. hy926 细胞 MDA 含量及 SOD 活力的影响

Figure 4 Effects of different concentration of tanshinone II A on MDA content and SOD activity of ox-LDL induced EA. hy926 cells

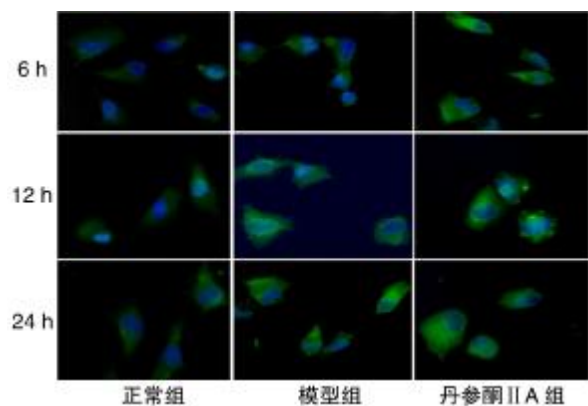
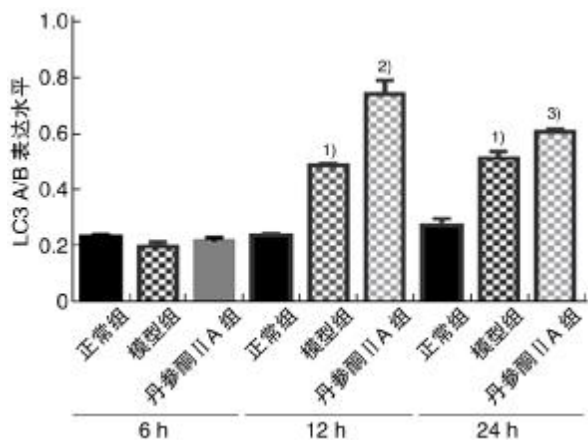


图 5 各组细胞 LC3 自噬小体染色

Figure 5 Autophagosomes LC3 staining in each group



与正常对照组比较,¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较,²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.05$ 。

图 6 各组细胞自噬小体 LC3 A/B 蛋白的表达

Figure 6 Expression of LC3 A/B protein in each group

3 讨论

AS 是多种心血管疾病的共同病理基础,其发

病机制涉及脂质浸润、氧化应激、内皮损伤等方面^[4]。ox-LDL 对内皮细胞的氧化损伤是 AS 发生和发展的重要因素。ox-LDL 可通过增高 ROS 含量、促进脂质过氧化反应产物 MDA 的产生及降低抗氧化酶 SOD 活性而导致血管内皮细胞氧化损伤^[5-6]。内皮细胞对 ox-LDL 引起的氧化损伤十分敏感。因此,在本研究中 ox-LDL 被用于 EA. hy926 内皮细胞建立氧化应激模型。实验检测内皮细胞 MDA 含量及 SOD 活力评估氧化应激损伤度,结果显示,ox-LDL 100 mg/L 刺激细胞 24 h 后,细胞内 SOD 活力降低,MDA 含量明显增多,造成内皮细胞过氧化损伤。笔者采用 100 mg/L 的 ox-LDL 造氧化应激的模型。

丹参始载于《神农本草经》,言其“味苦微寒,主心腹邪气,肠鸣幽幽如走水,寒热积聚,破癥除瘕,止烦满,益气”。现代药理学研究表明,丹参具有扩张冠状动脉,增加冠状动脉血流量,改善心肌缺血,促进心肌缺血或损伤的恢复及抗菌消炎、抗氧化等多种药理作用^[7]。丹参酮 II A 为丹参酮主要有效成分之一。目前关于丹参酮 II A 抗 AS 的研究主要集中于其抗炎、抗氧化、抑制平滑肌细胞增殖与迁移、舒张血管、调节血脂等作用。本课题组前期研究发现丹参酮 II A 可通过抗炎症反应、抗氧化和抗凋亡对内皮细胞发挥保护作用,进而抗 AS 发生^[8-9]。Chen 等^[10]发现丹参酮 II A 通过减少 ox-LDL 产生及增加 SOD 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 的活性,减弱氧化应激反应,而氧化应激的减弱进一步改善动脉粥样斑块的形成。在此基础上本课题组进一步探讨丹参酮 II A 对 ox-LDL 诱导的 EA. hy926 内皮细胞氧化应激反应的作用。本实验研究发现丹参酮 II A 20 μmol/L、40 μmol/L、80 μmol/L 与模型组相比,细胞内 SOD 活力升高,MDA 含量降低,表明丹参酮 II A 具有明显

抗氧化损伤作用,减少了 ox-LDL 对细胞的氧化应激损伤。

研究发现氧化应激的发生与自噬存在密切的关系。ox-LDL 是 LDL 经一系列氧自由基连锁反应氧化的产物,Nowicki 等^[11]利用 ox-LDL 诱导 EA. hy926 内皮细胞发生非凋亡性细胞死亡,这些细胞呈现自噬的上调,可能与氧化应激有关。氧化应激产物是已知的、重要的自噬诱导因素之一,氧化应激诱导自噬促进受损物质的去除^[12]。张艳林^[13]研究发现 ox-LDL(100 mg/L)作用能上调人脐静脉内皮细胞的 LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ蛋白表达,在 0.5 h、6.0 h 时作用显著,48 h 时降低。Guo 等^[14]研究发现,白藜芦醇通过 AMPK/Sirt1 信号通路上调自噬,保护内皮细胞,减轻 ox-LDL 造成的氧化损伤。Han 等^[15]研究发现姜黄素可以通过引发人脐静脉内皮细胞自噬过程,在氧化应激损伤条件下起到对细胞保护作用。陈璐等^[16]研究发现,二氢杨梅素可能通过促进细胞自噬抑制高脂诱导的新西兰兔 AS 的形成。郝国强等^[17]研究发现,丹参酮ⅡA 作用 24 h,通过抑制 ox-LDL 诱导的人脐静脉内皮细胞自噬,从而对 ox-LDL 所致的人脐静脉内皮细胞损伤起保护作用。但关于丹参酮Ⅱ对 EA. Hy926 氧化应激细胞模型的自噬影响的相关研究较少,本课题组观察丹参酮ⅡA 对 EA. Hy926 氧化应激细胞模型的自噬效应的影响,并明确其与自噬的时效关系。本研究通过观察 20 μmol/L 丹参酮ⅡA 与 ox-LDL(100 mg/L)作用不同时间点下细胞内荧光免疫标记 MAP-LC3 自噬囊泡及自噬标记蛋白 LC3A/B 蛋白水平的变化。发现 20 μmol/L 丹参酮ⅡA 与 ox-LDL(100 mg/L)给药 6 h 后,细胞胞质中自噬标记物 MAP1-LC3 的表达较对模型组增多;给药 12 h,细胞胞质中自噬标记物 MAP1-LC3 的表达较给药 6 h 时明显增多;给药 24 h,细胞胞质中仍然可见自噬标记物 MAP1-LC3 的表达但较少。ox-LDL(100 mg/L)作用能上调细胞中的 LC3A/B 蛋白表达,而丹参酮ⅡA 组较模型组能上调细胞中的 LC3A/B 蛋白表达,在 6 h 出现,12 h 作用显著,24 h 时降低。表明丹参酮ⅡA 影响 EA. Hy926 氧化应激细胞模型的自噬且具有时效效应关系。

综上所述,本研究表明丹参及其有效成分丹参酮ⅡA 作为临床上治疗心血管疾病的主要药物,影响 ox-LDL 诱导的 EA. Hy926 氧化应激细胞模型的自噬且具有时效效应关系。丹参酮ⅡA 可能通过上调内皮细胞的自噬,减少了 ox-LDL 对细胞的氧化应激损伤,发挥其对血管内皮细胞的保护作用,进而发挥其抗 AS 的作用。但细胞自噬是一个复杂的过程,是多种因素参与及相互作用的结果。因此对丹参酮ⅡA 诱导的 EA. hy926 内皮细胞自

噬的机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] ZHANG Y L, CAO Y J, ZHANG X, et al. The autophagy-lysosome pathway: a novel mechanism involved in the processing of oxidized LDL in human vascular endothelial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 394: 377-382.
- [2] LIAO X, SLUIMER J C, WANG Y, et al. Macrophage autophagy plays a protective role in advanced atherosclerosis[J]. *Cell Metab*, 2012, 15: 545-553.
- [3] SCHRIJVERS D M, DE MEYER G R, MARTINET W. Autophagy in atherosclerosis: a potential drug target for plaque stabilization[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31: 2787-2791.
- [4] 丁小涵,叶平. 动脉粥样硬化研究进展[J]. *医学综述*, 2016, 22(10): 1873-1877.
- [5] SANTANAM N, RAMACHANDRAN S, PARTHASARATHY S. Oxygen radicals, antioxidants, and lipid peroxidation[J]. *Semin in Reprod Endocrinol*, 1998, 16: 275-280.
- [6] 潘玉婷,郭春雨,马晓娟,等. 人参皂苷 Rb3 对 ox-LDL 诱导内皮细胞氧化应激与功能障碍的类雌激素样保护作用[J]. *药学报*, 2014, 49(10): 1406-1412.
- [7] 沈映君. *中药药理学*[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000.
- [8] 贾连群,冯峻屹,杨关林,等. 丹参酮ⅡA 对 EA. hy926 细胞 TLR4/NF-κB 炎症信号通路的影响[J]. *中国生化药物杂志*, 2011, 32(5): 337-340.
- [9] JIA L Q, YANG G L, REN L, et al. Tanshinone ⅡA reduces apoptosis induced by hydrogen peroxide in the human endothelium-derived EA. hy926 cells[J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 143: 100-108.
- [10] CHEN W, TANG F, XIE B, et al. Amelioration of atherosclerosis by tanshinone ⅡA in hyperlipidemic rabbits through attenuation of oxidative stress[J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 674: 359-364.
- [11] NOWICKI M, ZABIRNYK O, DUERRSCHMIDT N, et al. No upregulation of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 in serum-deprived EA. hy926 endothelial cells under oxLDL exposure, but increase in autophagy[J]. *Eur J Cell Biol*, 2007, 86: 605-616.
- [12] MALAVIYA R, LASKIN J D, LASKIN D L. Oxidative stress-induced autophagy: role in pulmonary toxicity[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 275: 145-151.
- [13] 张艳林. 自噬在氧化低密度脂蛋白诱导内皮细胞损伤中的作用及其机制探讨[D]. 苏州大学, 2010.
- [14] GUO H, CHEN Y, LIAO L, et al. Resveratrol protects HUVECs from oxidized-LDL induced oxidative damage by autophagy upregulation via the AMPK/SIRT1 pathway[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2013, 27: 189-198.
- [15] HAN J, AN X Y, XU Y, et al. Curcumin induces autophagy to protect vascular endothelial cell survival from oxidative stress damage[J]. *Autophagy*, 2012, 8: 812-825.
- [16] 陈璐,周洁,廖慧颖,等. 二氢杨梅素对高脂诱导动脉粥样硬化兔自噬相关蛋白表达的影响[J]. *临床心血管病杂志*, 2016, 32(6): 624-629.
- [17] 郝国强,邢壮杰,郑新,等. 丹参酮ⅡA 对 ox-LDL 诱导血管内皮细胞自噬效应蛋白 Beclin1 表达的影响[J]. *安徽医药*, 2015, 19(12): 2393-2396.

(收稿日期:2016-09-09;修回日期:2016-12-09)