

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.02.005

白藜芦醇减轻高糖所致心肌微血管内皮细胞损伤的作用及机制研究*

李聪叶 王 利 张明明 孙书红 高好考^Δ

(空军军医大学西京医院心内科 陕西 西安 710032)

摘要 目的: 探讨白藜芦醇在高糖处理的大鼠心肌微血管内皮细胞损伤中的作用及其可能调控机制。**方法:** 酶消化分离大鼠 CMECs, 高糖处理 CMECs 建立细胞损伤模型, 实验随机分为 6 个组: 对照组(葡萄糖浓度为 5.5 mmol/L)、白藜芦醇组、高糖组(葡萄糖浓度为 33 mmol/L)、高糖+白藜芦醇组、高糖+白藜芦醇+3-MA(自噬抑制剂)组和高糖+雷帕霉素(自噬诱导剂)组。白藜芦醇组和高糖+白藜芦醇组分别加入 10 μmol/L 的白藜芦醇孵育 24 h, 高糖+白藜芦醇+3-MA 组加入 10 μmol/L 的白藜芦醇和 10 μmol/L 3-MA 孵育 24 h, 高糖+雷帕霉素组加入 100 nmol/L 的雷帕霉素孵育 24 小时。CCK-8 实验检测大鼠 CMECs 增殖; Tunel 法检测大鼠 CMECs 凋亡; FITC-葡聚糖清除实验检测单层 CMECs 通透性; Western blot 检测 LC3 II 和 p62 的表达。**结果:** 与对照组和白藜芦醇组相比, 高糖组 CMECs 增殖能力降低($P<0.05$), 凋亡率显著增加($P<0.05$), 细胞通透性增加($P<0.05$), LC3 II 表达降低($P<0.05$), p62 的表达增加($P<0.05$); 与高糖组相比, 高糖+白藜芦醇组和高糖+雷帕霉素组 CMECs 增殖能力增加($P<0.05$), 凋亡率显著降低($P<0.05$), 细胞通透性降低($P<0.05$), LC3 II 表达增加($P<0.05$), p62 的表达降低($P<0.05$); 与高糖+白藜芦醇组相比, 高糖+白藜芦醇+3-MA 组 CMECs 增殖能力降低($P<0.05$), 凋亡率显著增加($P<0.05$), 细胞通透性增加($P<0.05$), LC3 II 表达降低($P<0.05$), p62 的表达增加($P<0.05$)。**结论:** 白藜芦醇通过增加自噬减轻高糖处理的大鼠心肌微血管内皮细胞损伤。

关键词: 白藜芦醇; 微血管内皮细胞; 凋亡; 自噬**中图分类号:** R-33; R331.31; R587.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2020)02-226-05

Polydatin Decreases the Impairment of CMECs Caused by High Glucose in Rat by Enhancing Autophagy*

LI Cong-ye, WANG Li, ZHANG Ming-ming, SUN Shu-hong, GAO Hao-kao^Δ

(Department of Cardiology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effects and mechanism of polydatin on the impairment of CMECs caused by high glucose.

Methods: Collagenase digestion was used to isolate CMECs from the hearts of SD rats. Primary CMECs were randomly divided to 6 groups: low glucose group, low glucose + polydatin group, high glucose group, high glucose + polydatin group, high glucose + polydatin + 3-MA (the autophagy inhibitor) group and high glucose + rapamycin (the autophagy inducer) group. Low glucose + polydatin group and high glucose + polydatin group were treated with polydatin (10 μmol/L) in the absence or presence of high glucose for 24 h. The high glucose + polydatin + 3-MA group was treated with polydatin (10 μmol/L) and 3-MA (10 μmol/L) in high glucose for 24 h. The high glucose + rapamycin group was treated with rapamycin (100 nmol/L) in high glucose for 24 h. The proliferation of CMECs was evaluated by CCK-8 assay. Apoptotic index of CMECs was examined by TUNEL. FITC-dextran clearance assay was performed to monitor changes in CMEC permeability. Western blot was used to determine the expressions of LC3 II and p62. **Results:** Compared with low glucose group and low glucose + polydatin group, the proliferation of CMECs decreased significantly ($P<0.05$), with enhanced apoptotic index and CMEC permeability ($P<0.05$), as well as downregulated LC3 II level and upregulated p62 level ($P<0.05$) in high glucose group. Compared with high glucose group, the proliferation of CMECs increased significantly ($P<0.05$), with decreased apoptotic index and CMEC permeability ($P<0.05$), as well as upregulated LC3 II level and downregulated p62 level ($P<0.05$) in high glucose + polydatin group and in high glucose + rapamycin group. Compared with high glucose + polydatin group, the proliferation of CMECs decreased significantly ($P<0.05$), with enhanced apoptotic index and CMEC permeability ($P<0.05$), as well as downregulated LC3 II level and upregulated p62 level ($P<0.05$) in high glucose + polydatin + 3-MA group. **Conclusion:** Polydatin can significantly decrease the impairment of CMECs caused by high glucose in rat by enhancing autophagy.

Key words: Polydatin; Microvascular endothelial cells; Autophagy; Apoptosis**Chinese Library Classification (CLC):** R-33; R331.31; R587.2 **Document code:** A**Article ID:** 1673-6273(2020)02-226-05

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81670210)

作者简介: 李聪叶(1984-), 实验技师, 主要从事心血管基础研究, 电话: 13571913771, E-mail: congyl984@163.com

Δ 通讯作者: 高好考(1974-), 博士, 副主任医师, 主要从事心血管基础研究, 电话: 18229027701, E-mail: hk_gao@163.com

(收稿日期: 2019-07-03 接受日期: 2019-07-27)

前言

心脏微脉管系统主要由心脏循环末端的心肌微血管内皮细胞(cardiac microvascular endothelial cells, CMECs)构成,对于心肌灌注和冠脉储备发挥着极为重要的作用^[1]。心脏微脉管系统与心肌血流直接接触,CMECs更易受到高糖损伤^[1]。在糖尿病早期和进展期,CMECs活力和迁移能力损伤,进一步引发内皮调节功能受损,最终导致糖尿病心肌微血管病变,表现为微血管稀疏,微血管渗出增加,微血管的屏障功能破坏^[2,3]。

白藜芦醇甙(Polydatin)是从蓼科植物虎杖中提取出来的一种天然活性成分,具有镇咳、去痰、平喘、抗菌、清除自由基和调节血脂等多种生物学活性^[4]。近些年来越来越多的研究表明白藜芦醇甙在多种心肌损伤模型中具有保护作用^[5]。特别是我们在前期研究发现白藜芦醇甙通过激活NAD⁺依赖的去乙酰化酶蛋白Sirtuin 3(Sirt3)减轻糖尿病心肌损伤^[6],但是白藜芦醇甙对高血糖引发的心肌微血管损伤影响及机制尚不清楚。本研究通过建立高糖处理CMECs损伤的细胞模型,探讨白藜芦醇甙对高糖诱导的CMECs损伤的影响及可能的调控机制。

1 材料和方法

1.1 材料

雄性SD大鼠(150 g左右,6周龄)由空军军医大学实验动物中心提供;白藜芦醇甙购于陕西赛得高科生物技术公司;Dil-Ac-LDL购于美国Invitrogen公司;Tunel检测试剂盒购于美国R&D公司;胎牛血清和DMEM培养基购于美国Hyclone公司;雷帕霉素(自噬诱导剂)、3-MA(自噬抑制剂)、DAPI染色液、II型胶原酶、CCK-8试剂盒购于美国Sigma公司;组织裂解液、BCA蛋白定量试剂盒、配胶试剂盒购于上海碧云天公司;超敏发光液购于美国Minipore公司;LC3 II、p62和 β -actin抗体购于美国CST公司;山羊抗兔二抗购于天津三箭生物技术有限公司;体外血管通透性检测试剂盒、电泳仪、全自动酶标仪、转膜装置购于美国BIO-RAD公司;倒置显微镜和共聚焦显微镜购于日本Olympus公司。

1.2 方法

1.2.1 原代CMECs分离与培养 无菌分离SD大鼠的左心室组织,75%酒精灭活心外膜,去除冠脉组织。把心肌组织剪组织小块,大约为1 mm³左右,经0.25%II型胶原酶37℃水浴中消化6 min,0.2%胰蛋白酶消化6 min后,终止消化。1000 r/min离心,用含20%胎牛血清的低糖DMEM培养基重悬,接种至培养瓶中进行培养。差速贴壁6 h后换液,放入37℃的培养箱进行培养。

1.2.2 实验分组 细胞传代的时机选在细胞长满培养瓶底部80%后,将CMECs同步化以后进行细胞的分组。实验随机分为6个组:对照组(Con,葡萄糖浓度为5.5 mmol/L)、白藜芦醇甙组(Pol)、高糖组(HG,葡萄糖浓度为33 mmol/L)、高糖+白藜芦醇甙组(HG+Pol)、高糖+白藜芦醇甙+3-MA组(HG+Pol+3-MA)和高糖+雷帕霉素组(HG+RIPA)。白藜芦醇甙组和高糖+白藜芦醇甙组分别加入10 μ mol/L的白藜芦醇甙孵育24 h,高糖+白藜芦醇甙+3-MA组加入10 μ mol/L的

白藜芦醇甙和10 μ mol/L 3-MA 孵育24 h,高糖+雷帕霉素组加入100 nmol/L的雷帕霉素孵育24小时。

1.2.3 乙酰化低密度脂蛋白(Dil-Ac-LDL) 鉴定CMECs CMECs悬液接种于共聚焦培养皿,置于37℃的50 mL/L CO₂细胞培养箱中常规培养。将含终浓度15 μ g/mg Dil-Ac-LDL的完全培养基进行换液,培养箱中孵育6 h。多聚甲醛固定,使用DAPI染细胞核。由于CMECs具有吞噬Dil-Ac-LDL的特性,细胞内有颗粒样Dil-Ac-LDL的细胞可鉴定为CMECs。

1.2.4 CCK-8 实验检测细胞增殖能力 将消化好的CMECs接种于96孔板培养,CMECs同步化后加入不同组别的培养基及进行相应处理。向每孔加入10%体积CCK-8溶液,继续培养4 h后,分光光度计检测各组的吸光度值(D450nm,波长为450 nm),吸光度值即可代表细胞的增殖能力。

1.2.5 Tunel 法检测CMECs 凋亡 将细胞悬液接种于共聚焦培养皿常规培养,各组相应处理后进行Tunel检测。倒掉培养基,然后用PBS清洗三遍,每次3 min,多聚甲醛固定各组细胞,用3 g/L的Triton-X100溶液进行破膜,孵育15 min后用PBS洗三遍,每次3 min。按照Tunel试剂盒说明书的要求进行染色,最后用10 μ g/mL DAPI染色液孵育10 min染细胞核,PBS洗三遍后用甘油进行封片。在共聚焦显微镜下观察凋亡情况,拍片并用于进一步分析。

1.2.6 FITC- 葡聚糖清除实验检测单层CMECs 通透性 48 h后CMECs生长融合,各组分别给予不同处理并培养24 h,将浓度为1 mg/mL的FITC- 葡聚糖加入到培养小室的上室,室温放置8 min取培养小室下室培养液于荧光分光光度仪检测各组荧光强度。用体外血管通透性检测试剂盒为聚碳酸酯膜,孔径一般为0.4 μ m,直径为12 mm,根据说明书检测单层心肌微血管内皮细胞通透性。

1.2.7 Western blot 检测自噬相关蛋白表达 常规使用RIPA裂解液裂解细胞并提取蛋白,离心后吸取20 μ L上清液用于蛋白定量,后将剩余上清液移入离心管,加入相应体积的5 $\times$ 上样缓冲液,沸水煮5 min。配胶、上样、电泳、90 mA恒流转膜、牛奶封闭1 h、孵育兔抗LC3 II一抗(1:1000)和兔抗P62一抗(1:1000)过夜。次日孵育辣根过氧化物酶(HRP)标记的相应二抗(1:10000),然后显影拍照并保存分析图片和统计分析。

1.3 统计学分析

用SPSS1.9.0进行统计分析,本实验计量资料用均数 $\pm$ 标准差表示,3组以上比较采用单因素方差分析的方法进行统计学分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Dil-Ac-LDL对CMECs进行鉴定

使用Dil-Ac-LDL对CMECs进行鉴定,结果显示:被检测细胞可吞噬Dil-Ac-LDL,细胞胞质内有显著的红色颗粒样Dil-Ac-LDL,表明被检测细胞即为CMECs细胞,见图1。

2.2 白藜芦醇甙促进高糖处理的大鼠CMECs增殖

CCK8检测结果显示,与对照组和白藜芦醇甙组相比,高糖组吸光度值显著下降,CMECs增殖能力显著降低($P<0.05$);与高糖组相比,高糖+白藜芦醇甙组吸光度值显著增加,CMECs增殖能力显著增加($P<0.05$);与高糖+白藜芦醇甙组

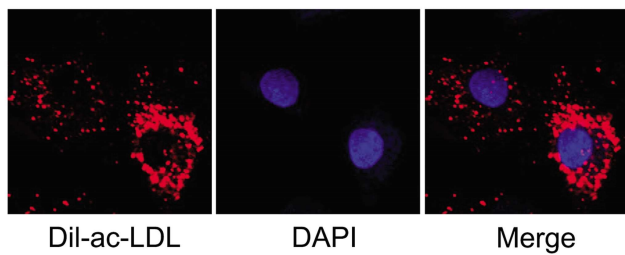


图1 Dil-Ac-LDL 对 CMECs 进行鉴定(n=4-6)

Fig.1 CMECs were identified with Dil-Ac-LDL (n=4-6)

相比, 高糖 + 白藜芦醇 + 3-MA 组吸光度值显著下降, CMECs 增殖能力显著下降 ($P < 0.05$); 与高糖组相比, 高糖 + 雷帕霉素组吸光度值显著增加, CMECs 增殖能力显著增加 ($P < 0.05$), 见图 2。

2.3 白藜芦醇抑制高糖处理的大鼠 CMECs 凋亡

如图 3 所示, 与对照组和白藜芦醇组相比, 高糖组 CMECs 凋亡率显著增加 ($P < 0.05$); 与高糖组相比, 高糖 + 白藜芦醇组 CMECs 凋亡率显著降低 ($P < 0.05$); 与高糖 + 白藜芦醇组相比, 高糖 + 白藜芦醇 + 3-MA 组 CMECs 凋亡率显著增加 ($P < 0.05$); 与高糖组相比, 高糖 + 雷帕霉素组 CMECs 凋亡率显著降低 ($P < 0.05$), 见图 3。

2.4 白藜芦醇减轻高糖处理的单层 CMECs 通透性

如图 4 所示, 与对照组和白藜芦醇组相比, 高糖组单层 CMECs 通透性显著增加 ($P < 0.05$); 与高糖组相比, 高糖 + 白藜

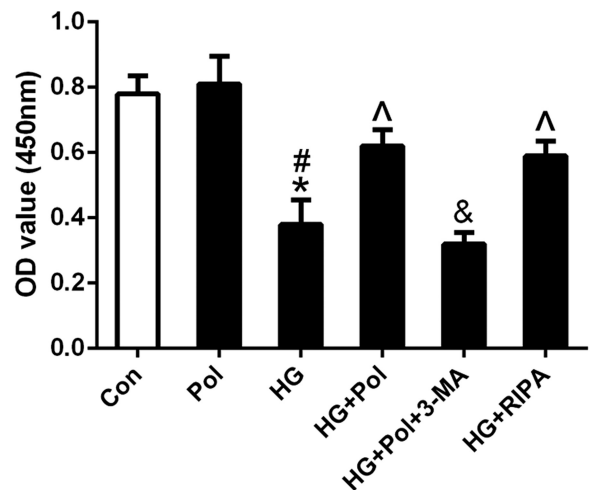


图2 CCK-8 检测各组 CMECs 增殖 (n=4-6, * 与 Con 组相比, $P < 0.05$; # 与 Pol 组相比, $P < 0.05$; ^ 与 HG 组相比, $P < 0.05$; & 与 HG+Pol 组相比, $P < 0.05$)

Fig.2 CMECs viability were detected with CCK8 assay. (n=4-6, * vs. Con, $P < 0.05$; # vs. Pol, $P < 0.05$; ^ vs. HG, $P < 0.05$; & vs. HG+Pol, $P < 0.05$)

芦醇组单层 CMECs 通透性显著降低 ($P < 0.05$); 与高糖 + 白藜芦醇组相比, 高糖 + 白藜芦醇 + 3-MA 组单层 CMECs 通透性显著增加 ($P < 0.05$); 与高糖组相比, 高糖 + 雷帕霉素组单层 CMECs 通透性显著降低 ($P < 0.05$) 见图 4。

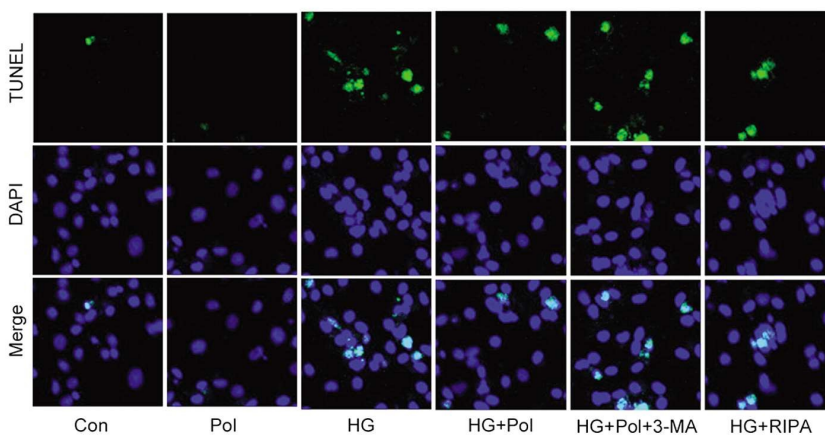


图3 白藜芦醇对 CMECs 凋亡水平的影响 (n=4-6, * 与 Con 组相比, $P < 0.05$; # 与 Pol 组相比, $P < 0.05$; ^ 与 HG 组相比, $P < 0.05$; & 与 HG+Pol 组相比, $P < 0.05$)

Fig.3 Effect of Polydatin on apoptosis of CMECs. (n=4-6, * vs. Con, $P < 0.05$; # vs. Pol, $P < 0.05$; ^ vs. HG, $P < 0.05$; & vs. HG+Pol, $P < 0.05$)

2.5 白藜芦醇促进高糖处理的 CMECs 自噬相关蛋白的表达

如图 5 所示, 与对照组和白藜芦醇组相比, 高糖组 LC II 表达显著降低 ($P < 0.05$), p62 表达显著增加 ($P < 0.05$); 与高糖组相比, 高糖 + 白藜芦醇组 LC II 表达显著增加 ($P < 0.05$), p62 表达显著降低 ($P < 0.05$); 与高糖 + 白藜芦醇组相比, 高糖 + 白藜芦醇 + 3-MA 组 LC II 表达显著降低 ($P < 0.05$), p62 表达显著增加 ($P < 0.05$); 与高糖组相比, 高糖 + 雷帕霉素组 LC II 表达显著增加 ($P < 0.05$), p62 表达显著降低 ($P < 0.05$), 见图 5。

3 讨论

糖尿病具有高发病率、高死亡率和致残率的特点, 糖尿

病微血管病变已成为多学科亟待解决的难题之一^[7]。糖尿病患者发病后最常出现的病理损伤就是糖尿病微血管并发症, 心肌微血管损伤的早期病理改变主要是 CMECs 增殖能力降低、细胞连接破坏、细胞通透性增加和屏障功能降低、细胞凋亡增加、细胞衰老及氧化应激的增加, 氧化应激的增加可进一步加重细胞凋亡^[8]。在本研究中我们发现, 与对照组和白藜芦醇组相比, 高糖组 CMECs 增殖能力降低, 凋亡率显著增加, 细胞通透性增加, 与文献报道相一致。

白藜芦醇是一种多酚类化合物, 目前在多种植物中发现了含量较高的白藜芦醇, 具有改善代谢和心血管保护等多种生物学作用^[9]。前期我们发现白藜芦醇通过激活 Sirt 减轻小

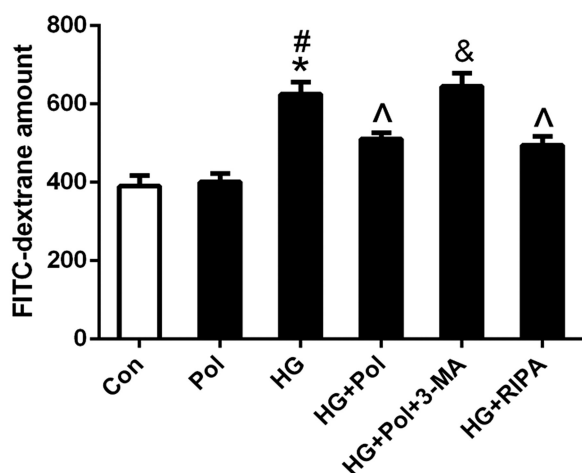


图4 白藜芦苷对单层 CMECs 通透性的影响 (n=4-6, * 与 Con 组相比, $P<0.05$; # 与 Pol 组相比, $P<0.05$; ^ 与 HG 组相比, $P<0.05$; & 与 HG+Pol 组相比, $P<0.05$)

Fig.4 Effect of Polydatin on the permeability of monolayer CMECs.

(n=4-6, * vs. Con, $P<0.05$; # vs. Pol, $P<0.05$; ^ vs HG, $P<0.05$; & vs. HG+Pol, $P<0.05$)

鼠糖尿病心肌损伤和急性心肌缺血性损伤 [6,9]。同时有文献报道,白藜芦醇可激活 Akt 信号通路改善糖脂代谢 [10]。也有学者发现,白藜芦醇可改善高糖诱导的主动脉血管环内皮依赖的血管舒缩功能障碍 [11]。Yu 等报道了白藜芦醇通过激活 Notch 信号通路改善糖尿病大鼠心肌缺血再灌注损伤 [12]。本研究发现,与高糖组相比,高糖 + 白藜芦醇组 CMECs 增殖能力增加,凋亡率显著降低,细胞通透性降低,首次证实白藜芦醇可减轻高糖处理的大鼠 CMECs 损伤,研究提示白藜芦醇可能通过改善大鼠 CMECs 而发挥心肌保护作用。

自噬是实现细胞自身的代谢需要和细胞器的更新的重要途径,对于细胞发育、分化、老化、维持细胞稳态和生理学功能就要重要的意义 [13,14]。在正常情况下,自噬维持细胞内稳态,在

外界应激、饥饿、缺氧和内质网应激等特殊环境下,自噬则是一种自我生存的重要机制。细胞通过吞噬自身蛋白或细胞器,进入囊泡后与溶酶体融合形成自噬溶酶体,降解其所包裹的内容物,自身蛋白和一些损伤细胞器得以降解和消化 [15]。大量的文献表明,糖尿病心肌病与自噬调节异常密切相关,1 型糖尿病心肌组织和高糖处理的微血管内皮细胞自噬水平降低 [16-18]。在本研究中我们发现,与低糖组和低糖 + 白藜芦醇组相比,高糖组 LC II 表达显著降低, p62 表达显著增加,高糖处理的 CMECs 自噬水平显著降低,这与文献报道是相一致的。此外有文献表明,白藜芦醇在多种细胞类型中具有调控自噬的作用。前期我们发现,白藜芦醇通过激活 Sirt 增加自噬水平改善小鼠糖尿病心肌损伤 [6]。Yang 等报道,白藜芦醇可通过诱导自噬抑制骨髓瘤细胞增殖 [19]。Ling 等报道,白藜芦醇可通过增加自噬流改善心肌缺血再灌注损伤 [20]。本研究我们发现,与高糖 + 白藜芦醇组相比,高糖 + 白藜芦醇 + 3-MA 组 CMECs 增殖能力降低,凋亡率显著增加,细胞通透性增加,抑制自噬可逆转白藜芦醇减轻减轻高糖处理的大鼠 CMECs 损伤的作用。同时,与高糖组相比,高糖 + 雷帕霉素组 CMECs 增殖能力增加,凋亡率显著降低,细胞通透性降低,增加自噬水平可减轻减轻高糖处理的大鼠 CMECs 损伤。这提示白藜芦醇可能通过增加自噬减轻高糖处理的大鼠 CMECs 损伤。

本研究仍有不足之处。一是仅仅在细胞水平上进行了验证,还需在动物实验上进一步验证结论;二是自噬受到多种信号通路的调节,本研究仅仅提出白藜芦醇可能通过增加自噬减轻高糖处理的大鼠 CMECs 损伤的现象,并未找到调控自噬的具体靶点;三是糖尿病微血管损伤与 CMECs 衰老、氧化应激、成管能力、细胞迁移和细胞骨架蛋白的变化均有联系,本研究未进行验证这些指标。下一步研究将进一步阐明这些问题。综上所述,白藜芦醇可能通过增加自噬减轻高糖处理的大鼠 CMECs 损伤,自噬可能是白藜芦醇发挥保护作用的重要环节,本研究为白藜芦醇改善糖尿病心肌微血管损伤的机制研究提供了科学思路和实验依据。

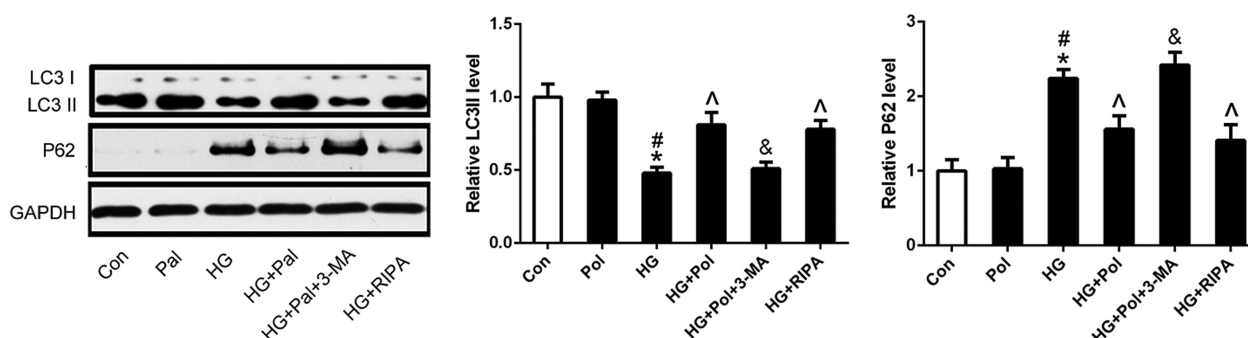


图5 白藜芦苷对 CMECs 自噬相关蛋白的影响 (n=4-6, * 与 Con 组相比, $P<0.05$; # 与 Pol 组相比, $P<0.05$;

^ 与 HG 组相比, $P<0.05$; & 与 HG+Pol 组相比, $P<0.05$)

Fig.5 Effect of Polydatin on autophagy-related proteins in CMECs. (n=4-6, * vs. Con, $P<0.05$; # vs. Pol, $P<0.05$; ^ vs HG, $P<0.05$; & vs. HG+Pol, $P<0.05$)

参考文献(References)

- [1] Hinkel R, Howe A, Renner S, et al. Diabetes Mellitus-Induced Microvascular Destabilization in the Myocardium [J]. J Am Coll Cardiol, 2017, 69(2): 131-143
- [2] Packer M. Activation and Inhibition of Sodium-Hydrogen Exchanger Is a Mechanism That Links the Pathophysiology and Treatment of Diabetes Mellitus With That of Heart Failure [J]. Circulation, 2017, 136(16): 1548-1559

- [3] Lee WS, Kim J. Diabetic cardiomyopathy: where we are and where we are going[J]. Korean J Intern Med, 2017, 32(3): 404-421
- [4] Du QH, Peng C, Zhang H. Polydatin: a review of pharmacology and pharmacokinetics[J]. Pharm Biol, 2013, 51(11): 1347-1354
- [5] Liu L T, Guo G, Wu M, et al. The progress of the research on cardio-vascular effects and acting mechanism of polydatin [J]. Chin J Integr Med, 2012, 18(9): 714-719
- [6] Zhang M, Wang S, Cheng Z, et al. Polydatin ameliorates diabetic cardiomyopathy via Sirt3 activation [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 493(3): 1280-1287
- [7] Szuszkiewicz-Garcia MM, Davidson JA. Cardiovascular disease in diabetes mellitus: risk factors and medical therapy [J]. Endocrinol Metab Clin North Am, 2014, 43(1): 25-40
- [8] Kibel A, Selthofer-Relatic K, Drenjancevic I, et al. Coronary microvascular dysfunction in diabetes mellitus [J]. J Int Med Res, 2017, 45(6): 1901-1929
- [9] Zhang M, Zhao Z, Shen M, et al. Polydatin protects cardiomyocytes against myocardial infarction injury by activating Sirt3 [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2017, 1863(8): 1962-1972
- [10] Hao J, Chen C, Huang K, et al. Polydatin improves glucose and lipid metabolism in experimental diabetes through activating the Akt signaling pathway[J]. Eur J Pharmacol, 2014, 745: 152-165
- [11] Wu Y, Xue L, Du W, et al. Polydatin Restores Endothelium-Dependent Relaxation in Rat Aorta Rings Impaired by High Glucose: A Novel Insight into the PPARbeta-NO Signaling Pathway [J]. PLoS One, 2015, 10(5): e126249
- [12] Yu L, Li Z, Dong X, et al. Polydatin Protects Diabetic Heart against Ischemia-Reperfusion Injury via Notch1/Hes1-Mediated Activation of Pten/Akt Signaling[J]. Oxid Med Cell Longev, 2018, 2018: 2750695
- [13] Zou M H, Xie Z. Regulation of interplay between autophagy and apoptosis in the diabetic heart: new role of AMPK [J]. Autophagy, 2013, 9(4): 624-625
- [14] Ouyang C, You J, Xie Z. The interplay between autophagy and apoptosis in the diabetic heart[J]. J Mol Cell Cardiol, 2014, 71: 71-80
- [15] Mei Y, Thompson MD, Cohen RA, et al. Autophagy and oxidative stress in cardiovascular diseases [J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1852(2): 243-251
- [16] Kobayashi S, Liang Q. Autophagy and mitophagy in diabetic cardiomyopathy[J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1852(2): 252-261
- [17] Varga ZV, Giricz Z, Liaudet L, et al. Interplay of oxidative, nitrosative/nitrative stress, inflammation, cell death and autophagy in diabetic cardiomyopathy[J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1852(2): 232-42
- [18] Kubli DA, Gustafsson AB. Unbreak my heart: targeting mitochondrial autophagy in diabetic cardiomyopathy [J]. Antioxid Redox Signal, 2015, 22(17): 1527-1544
- [19] Yang B, Zhao S. Polydatin regulates proliferation, apoptosis and autophagy in multiple myeloma cells through mTOR/p70s6k pathway [J]. Onco Targets Ther, 2017, 10: 935-944
- [20] Ling Y, Chen G, Deng Y, et al. Polydatin post-treatment alleviates myocardial ischaemia/reperfusion injury by promoting autophagic flux[J]. Clin Sci (Lond), 2016, 130(18): 1641-1653

(上接第 225 页)

- [26] Tanoue T, Atarashi K, Honda K. Development and maintenance of intestinal regulatory t cells [J]. Nature reviews Immunology, 2016, 16(5): 295-309
- [27] Liu J, Wang H, Li Y, et al. Anti-mouse cd52 treatment ameliorates colitis through suppressing th1/17 mediated inflammation and promoting tregs differentiation in il-10 deficient mice [J]. Biological & pharmaceutical bulletin, 2018, 41(9): 1423-1429
- [28] Asseman C, Mauze S, Leach M, et al. An essential role for interleukin 10 in the function of regulatory t cells that inhibit intestinal inflammation[J]. J Exp Med, 1999, 190(7): 995-1004
- [29] Akeus P, Szeponik L, Ahlmanner F, et al. Regulatory t cells control endothelial chemokine production and migration of t cells into intestinal tumors of apc (min/+) mice [J]. Cancer immunology, immunotherapy: CII, 2018, 67(7): 1067-1077
- [30] Varshney R, Gupta S, Roy P. Cytoprotective effect of kaempferol against palmitic acid-induced pancreatic beta-cell death through modulation of autophagy via ampk/mtor signaling pathway [J]. Molecular and cellular endocrinology, 2017, 448: 1-20
- [31] Zhang Y, Liu D. Flavonol kaempferol improves chronic hyperglycemia-impaired pancreatic beta-cell viability and insulin secretory function[J]. Eur J Pharmacol, 2011, 670(1): 325-332
- [32] Yoon H, Lee E, Lee H, et al. Kaempferol inhibits il-1 β -induced proliferation of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts and the production of cox-2, pge2 and mmps [J]. Int J Mol Med, 2013, 32(4): 971-977
- [33] Chen X, Yang X, Liu T, et al. Kaempferol regulates mapks and nf- κ b signaling pathways to attenuate lps-induced acute lung injury in mice [J]. Int Immunopharmacol, 2012, 14(2): 209-216
- [34] Lin F, Luo X, Tsun A, et al. Kaempferol enhances the suppressive function of treg cells by inhibiting foxp3 phosphorylation [J]. Int Immunopharmacol, 2015, 28(2): 859-865