

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.22.004

红花注射液对气虚血瘀证模型大鼠基因调控作用的研究*

梁凌飞¹ 翟小虎¹ 李玉文² 刘天龙² 张一恺² 尚沛津² 文爱东^{1,2Δ}

(1 陕西中医药大学药学院 陕西 咸阳 712046; 2 第四军医大学西京医院药剂科 陕西 西安 710032)

摘要 目的:采用基因芯片技术,分别构建气虚血瘀证大鼠和红花注射液给药处理后气虚血瘀证大鼠的差异基因表达谱,比较并分析,筛选出红花能够治疗气虚血瘀证的关键基因群,并推测其起治疗作用的基因组调控机制。**方法:**15只SD大鼠随机分为模型组、给药组、空白对照组。模型组和给药组采用疲劳游泳和饥饿饲养处理。造模一周后,给药组尾静脉注射红花注射液(100 mg/kg/d),模型组给予相同体积生理盐水;对照组不做任何处理。造模进行两周后处死大鼠,取血检验血流变指标并评价造模情况;另抽取足够的血分离 mRNA 并逆转录杂交基因芯片;扫描信号分析确定受红花注射液调控的基因;并通过基因数据库查询相关基因功能,结合相关文献分析初步探讨红花作用的机制。**结果:**两周后经过检验和观察发现模型组大鼠在不同切率下的全血粘度增加,并且其体征表现出虚弱和瘀血的状态、体重下降,确定造模成功;给药组大鼠则相对于模型组的各项检测指标和状态有所改善,确认药物有疗效。在差异基因的比较中,空白组相对于给药组上调基因 252 条,下调基因 54 条;给药组相对于模型组上调基因 196 条,下调基因 32 条;两次差异表达基因中有 16 条相同基因,这些差异基因涉及到炎症损伤、免疫调节反应等方面。**结论:**红花注射液对于气虚血瘀证有治疗作用,在基因层次上是通过抗炎损伤机制实现的。

关键词:红花注射液;气虚血瘀证;基因组学;基因芯片杂交

中图分类号:R-33; R285 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)22-4217-06

Study on the Effect of Safflower Injection on the Regulation of Genes related to Qi-deficiency and Blood Stasis Syndrome in Rats*

LIANG Ling-fei¹, ZHAI Xiao-hu¹, LI Yu-wen², LIU Tian-long², ZHANG Yi-ka², SHANG Pei-jin², WEN Ai-dong^{1,2Δ}

(1 Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi, 712046, China;

2 Department of Pharmacy, Xijing Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To establish two differential gene expression profiles of qi-deficiency and blood stasis syndrome before or after safflower injection treatment by using gene chip technology; compared and analyzed to ensure the effective genes that are responsible for the therapeutic effects of safflower injection against qi-deficiency and blood stasis syndrome in rats. Furthermore, speculated the effect mechanism of the therapeutic genes. **Methods:** Fifteen SD rats were randomly divided into 3 groups (n=5): control group, model group, and medication group. Qi-deficiency and blood stasis model was established by subjecting the rats to hunger and fatigue for two weeks. After a week of the modeling, safflower injection (100 mg/kg/d) was administered daily via the tail vein for 7 days in medication group, and the rats in model group were injected with saline of the same volume. Control group received normal feeding. At the end of the experiment, rats were killed and whole blood was collected to evaluate the blood stream change and extract mRNAs in blood samples. Qualified mRNAs were reverse transcribed into cDNA which was then used in gene chip hybridization. The genes regulated by safflower injection were determined by the fluorescence signal and the functional mechanisms of safflower injection were confirmed by further querying genealogy databases and reviewing literatures. **Results:** After two weeks of the modeling, the whole blood viscosity under various shear rates was significantly increased in the model rats which showed faint, blood stasis and weight loss, indicating that the model is made successfully. The increased whole blood viscosity and qi-deficiency and blood stasis syndrome were obviously reversed by safflower injection treatment. Compared with the control group, 252 genes up-regulated while 54 genes down-regulated in model group; compared with the model group, 196 genes up-regulated while 32 genes down-regulated. Among these, 16 differentially expressed genes were involved in inflammation and immune response. **Conclusions:** Safflower injection was effective in treating qi deficiency and blood stasis syndrome, which was achieved by regulating inflammation related genes.

Key words: Safflower injection; Qi deficiency and blood stasis syndrome; Genomics; Gene chip hybridization

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R285 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)22-4217-06

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81373947)

作者简介:梁凌飞(1989-),硕士研究生,主要研究方向:临床中药学,电话:13109631637, E-mail: lianglf127@163.com

Δ 通讯作者:文爱东(1964-),博士生导师,教授,主任药师,主要研究方向:临床中药学, E-mail: xjyylcsy@163.com

(收稿日期:2017-03-20 接受日期:2017-04-15)

前言

气虚血瘀证是一类常见的中医证型,被认为是由于气虚而无力引动血液运行从而引发的气血停滞及继发症状的一类综合性病理状态,有机体免疫不足、功能下降并伴有血液黏稠、聚集等特点^[1]。红花注射液是由传统活血化瘀药物红花的提取物制成的静脉注射剂型,在临床上对于各类血瘀证的治疗有着普遍的应用^[2]。

由于中医病症整体性、动态性和中药治疗疾病多靶点、多通路共同作用的特点,可以运用高通量、全通路、平行分析的基因芯片技术构建差异基因表达谱^[3],从基因层次上分析红花注射液调控前后气虚血瘀证的机体整体变化情况;并以此为据找出被红花注射液调控变化较大的基因群,而这些基因正是中药红花发挥治疗气虚血瘀证作用机制的关键。本研究使用 SD 大鼠模拟中医气虚血瘀证症候^[4],并采用基因芯片技术来考察红花注射液作用于气虚血瘀证的相关基因调控变化。

1 实验材料与方法

1.1 实验动物

雄性 SD 大鼠,体重 260 ± 20 g,由第四军医大学动物试验中心提供。合格证号:SCXK-(军)2012-0007。

1.2 药品和试剂

红花注射液(亚宝药业集团有限公司,批号 150808-1);10%水合氯醛溶液;无酶纯化水;焦碳酸二乙酯(DEPC);Trizol 试剂盒(德国 Qiagen 公司);芯片杂交试剂盒(美国 Affymetrix 公司);大鼠表达谱芯片 Gene Chip® Rat Gene 2.0 ST Array(美国 Affymetrix 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 造模和给药 将 15 只大鼠随机分成空白对照组(Control Group),模型组(Model Group)和红花注射液给药组(Safflower Administration Group),每组各 5 只。动物领回并适应饲养一周后开始造模。动物模型方法参考庞树玲等^[5]的实验,除对照组大鼠正常喂食不作其他处理外,模型组和给药组食物减半,每日强迫游泳一次(水温约 15°C ,待大鼠疲劳无力并沉在桶底超过 10 s 后捞出水面),时间持续两周。造模一周后给药,给药组采用尾静脉注射法给予红花注射液,剂量参考岳海涛^[6]的研究,为 100 mg/kg ,每日一次(在强迫游泳前半小时进行);模型组每日尾部静脉注射生理盐水,给药体积和方法如同给药组。

1.3.2 造模后观察和凝血指标检测 在造模期间,每日观察各组大鼠的活动、毛色和尾部形态变化并称重体重做记录。两周后造模结束,在末次给药 30 min 后,三组各 5 只大鼠分别用 3.5% 水合氯醛(10 mL/kg)腹腔注射麻醉,并用 3.2% 柠檬酸钠采血管在腹主动脉取 2 mL 血,及时送至西京医院检验科进行血液流变学参数检测。

1.3.3 基因芯片实验 (1) mRNA 提取和纯化:在进行血流变测定取血的同时,再从各组大鼠的腹主动脉取血 3 mL 用来杂交基因芯片。由于成熟的红细胞没有细胞核,不能反应疾病治疗前后基因表达的变化,所以分离出白细胞来研究血液细胞的基因表达变化。使用试剂盒 QIAamp RNA Blood Mini Kits 来裂

解白细胞并提取其中总 RNA,具体操作参照 Qiagen 的工作手册。提取 RNA 经纯化,使用紫外分光光度计测定其 A260、A280 和 A230 的吸光度值,算出浓度和纯度。要求样本 A260/A280 值在 1.9~2.1 之间,A260/A230 值大于 2.0,样本总量保证足用。同时用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测并观察提取 RNA 的 18S 及 28S 条带,要求条带清晰完整,没有明显的 RNA 降解。

(2) 杂交基因芯片和信号分析

本实验由陕西脉元生物科技有限公司参与完成,采用双通道点制大鼠全基因组的表达谱芯片。依此设计出两组芯片,空白组样本和模型组样本为一组;红花给药组样本和模型组样本为另一组。用 Ambion® WT Expression Kit 分别将收集的同组两对比样本的 mRNA 逆转录成双链 cDNA,纯化处理后用 Affymetrix® Gene Chip® WT Terminal Labeling Kit 把 cDNA 片段化处理,得到的片段在末端荧光标记,然后和芯片杂交、纯化、洗片。每组重复 3 张芯片。用 Affymetrix Scanner 3000 激光扫描仪对各芯片进行扫描。读取芯片扫描原始信号值,并把荧光值导入 Command Console Software 3.1 进行归一化处理。处理后的数据经过计算机处理分析出有差异的表达基因,我们以差异倍数 >2 为表达上调,差异倍数 <0.5 为表达下调。

(3) 差异表达基因的功能分析

筛选出来的基因群上传到 GO 数据库(www.geneontology.org),进行基因本体论分析,查询基因基本功能。并结合文献记载,分析调控基因在气虚血瘀证中发挥治疗作用的分子机制。

1.4 统计学分析方法

所有数据应用 GraphPad Prism6.04 软件来统计分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间进行 one-way ANOVA 分析,以 $P < 0.05$ 有统计学差异。

2 结果

2.1 大鼠基本情况和血液流变学变化

两周后,模型组大鼠明显表现出气虚特征,包括体虚无力,活动较少,毛色杂乱无光泽,尾部绀紫发凉,大多体重下降。而对照组大鼠活动灵活,体重稍增加,无其他异常表现。给药组大鼠活动正常,体重无明显变化。

与空白组比较,模型组大鼠在 1 s、5 s、30 s、200 s 剪切率下的全血粘度明显增加,差异有统计学意义($P < 0.01$),提示造模成功。与模型组比较,给药组大鼠各剪切率下全血粘度显著下降($P < 0.05$),说明红花注射液有改善血液粘度的作用。结果见表 1。

2.2 总 RNA 纯度检查

各组样本 RNA 的 A260/A280 值在 1.9~2.1 之间,A260/A230 值大于 2.0,1% 琼脂糖凝胶电泳观察到提取 RNA 的 18S 及 28S 条带清晰完整,没有明显的 RNA 降解,表明提取核酸的质量合格。提取的量足以杂交芯片,符合下一步实验要求。见表 2、图 1。

2.3 基因芯片检测结果和功能分析

模型组和对照组相比,上调基因 252 条,下调基因 54 条,主要与细胞分化和凋亡、炎性物质表达、炎症因子受体调节、信号转导、能量代谢相关。给药组和模型组相比,上调基因 196

表 1 不同切变率下大鼠全血粘度指标($\bar{x} \pm s$, n=3)
Table 1 Blood Viscosity Indexes of Rats at Different Shear Rate($\bar{x} \pm s$, n=3)

Group	Blood Viscosity Indexes			
	1/s	5/s	30/s	200/s
Control	20.23 ± 0.73	8.23 ± 0.17	4.565 ± 0.22	3.28 ± 0.52
Model	28.95 ± 2.13*	10.52 ± 0.19*	5.89 ± 0.42*	4.29 ± 0.23*
Medication	23.31 ± 1.29 [#]	9.50 ± 0.07 [#]	5.32 ± 0.32 [#]	3.40 ± 0.14 [#]

Note: Compared with the control group: * P <0.01; compared with the model group: [#] P <0.05.

表 2 RNA 质量检查结果
Table 2 The concentration of RNA in each group

Samples	A260/A280	A260/A230	Concentration ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	Volume(μL)	Total amount (μg)	Result
Control group 1	2.02	2.09	424.24	32	13.58	Qualified
Control group 2	1.91	2.03	575.53	32	16.32	Qualified
Control group 3	1.95	2.01	628.01	33	20.72	Qualified
Control group 4	1.88	2.02	420.42	32	13.45	Qualified
Control group 5	2.04	2.22	671.29	32	21.48	Qualified
Model group 1	1.97	2.11	833.06	32	26.66	Qualified
Model group 2	1.91	2.13	435.02	30	13.05	Qualified
Model group 3	1.92	2.07	490.31	32	14.89	Qualified
Model group 4	1.93	2.03	280.73	30	16.82	Qualified
Model group 5	1.92	2.02	560.05	30	16.04	Qualified
Medication group 1	1.92	2.01	420.42	32	13.45	Qualified
Medication group 2	1.91	2.11	561.25	30	16.84	Qualified
Medication group 3	2	2.01	623.85	32	19.96	Qualified
Medication group 4	1.91	2.05	435.02	30	13.05	Qualified
Medication group 5	1.92	2.01	797.61	33	26.32	Qualified

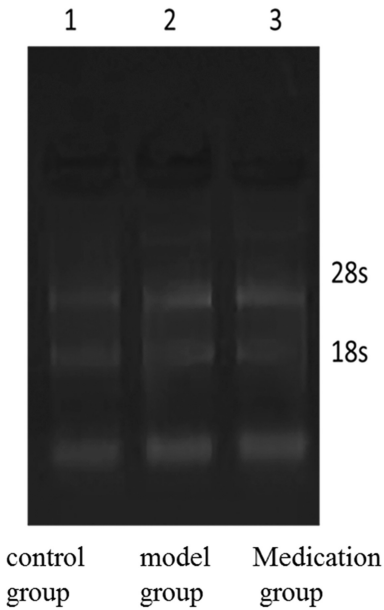


图 1 mRNA 甲醛变性凝胶电泳结果

Fig.1 Formaldehyde-a-garose gel electrophoresis results of rRNA

条,下调基因 32 条,主要与抗细胞分化、抗凋亡、抗免疫表达、DNA 损伤修复、抗细胞浸润细胞等功能相关。其中,有 16 条相同的差异表达基因。从给药前后来看,7 条表达上调,9 条表达下调。这些基因主要与细胞黏附、炎症应激反应、炎症因子分泌、细胞增殖和代谢相关。结果见表 3、表 4。

3 讨论

红花在传统中医药学中被认为有活血通经,散瘀止痛的功效。现代药理发现红花有抑制血液凝聚、调控血流变、抗氧化损伤和保护心肌、内皮细胞的作用^[7]。红花注射液是由红花提取物制备的,其成分复杂,起作用的主要活性物质是多种水溶性查尔酮类化合物,含量最高的是羟基红花黄色素 A^[8]。多与其他药物合用应对于各种血瘀症状的治疗。现代药理证明其改变气虚血瘀状况的机制是由增强免疫功能并降低免疫功能紊乱、抗血栓形成、抗血小板凝聚、抗炎症损伤的作用实现的^[9]。

气虚血瘀证中医辨证论治的重要证型,被认为是由于气的亏损,无力推动气血在脉内运行,从而使血液停滞脉内或淤积于脉外各处,进而影响相应部位正常功能,甚至产生全身病变

表 3 受调控差异基因的差异倍数

Table 3 Fold changes of regulated genes

Transcript Cluster ID	Gene Symbol	ANOVA p-value (Model/Blank)	Ratio (Model/Blank)	ANOVA p-value (Safflower /Model)	Ratio (Safflower /Model)
17828842	Laptn4b	0.01725	2.69	0.0190825	0.40
17818092	Ifi27	0.00737	2.85	0.0232616	0.32
17724702	Cd226	0.032869	3.73	0.020856	0.41
17737024	RGD1562660	0.046	0.37	0.043289	2.63
17874691	Cd40lg	0.03	0.13	0.02129	3.28
17875665	Timp1	0.0155	2.96	0.0321345	0.45
17789627	Asns	0.01	0.33	0.016236	2.43
17612693	Lilrb3l	0.02	2.31	0.035728	0.44
17638314	Irf7	0.0088	0.43	0.039257	2.65
17684919	Rgs1	0.023116	2.59	0.0036	0.38
17796689	Stau2	0.0328	0.19	0.0151646	2.11
17815145	Cmpk2	0.021909	2.49	0.02373116	0.32
17860324	Cxcr2	0.017616	0.42	0.08479	2.82
17799396	Tlr4	0.03821	0.21	0.023329	3.03
17882665	C5ar2	0.23436	0.39	0.023719	2.62
17725828	Arap3	0.05	0.46	0.026318	2.83

的病理表现。气虚血瘀证的特点是以气虚为本,血瘀为标,本虚标实^[10]。在病理上有多多样性的表现,有着血管内皮细胞的损伤、血小板的聚集、免疫能力低下、血管细胞异常增殖、结缔组织代谢病变、内脏病变肿大等的病理表现^[11]。并且在血液中发现有抗凝成分活性肽、NO、心钠素等的表达降低,炎性成分 TNF- α 、IL-1、促凝因子内皮素的量增多等的变化^[12]。气虚血瘀证是一种临床病变的外观表现,存在于多种血液运行障碍的相关疾病中,其中在冠心病、中风等症状中是关键病因。"证"是中医的认识和治疗疾病的基础,体现中医独有的治疗特点。然而,对"证"的认识至今仍不清晰、没有可以量化的评价标准。对"证本质"不能科学的认识的已成为影响中医现代化的障碍。近来,随着基因组学的兴起,其理论和研究方法已进入传统中医药学研究领域,并有不断深入发展的趋势,在未来可作为中医药理论突破的重要契机。基因芯片是基因组学的重要工具,可以通过提取机体总 mRNA 作基因表达图谱,来进行比较某一疾病经过药物治疗前后基因组调控表达变化情况。再从调控的基因里筛选关键基因的候选基因群,查明注释结合文献分析,就能在整体观下从基因层次上得到正确的认识。

本研究以基因芯片技术构建了大鼠气虚血瘀证基因调控表达图谱和红花注射液调控气虚血瘀证基因图谱,重点研究明显受到红花注射液调控的 16 个差异基因。根据基因功能查询结合文献对照,上调的 7 条基因中 Irf7^[13]、Ifi27^[14]和 Lilrb3l^[15]趋化活化 T 细胞和单核细胞,参与免疫反应;Rgs1^[16]属于 G 蛋白调节因子,有提高免疫细胞耐受性的作用;Laptn4b^[17]参与细胞

分化,并促进细胞增殖,介导细胞之间的粘附、识别;Timp1^[18]和 Rgs1 抑制细胞浸润、转移和血管生成;Cmpk2^[19]调控细胞凋亡。下调的 9 条基因中,C5ar2^[20]能促使炎细胞粘附和浸润;Stau2^[21]参与氧化应激反应;Tlr4^[22]参与多种机体免疫应答的调节;锌指蛋白分子 RGD1562660^[23]参与基因转录和调控,并有促进机体免疫干预等作用;CD226^[24]和 Cd40lg^[25]参与诱导血小板释放及聚集;Cxcr2^[26]参与炎性细胞趋集;Arap3^[27]调节细胞分化和发育。Asns^[28]有促进细胞凋亡并增强氧化应激的作用。

所有上调的调控基因抑制了炎症因子的分泌和表达,增进了免疫,调控血管增生细胞的凋亡,减轻了炎症损伤。下调的基因调控了免疫表达的紊乱、减小血小板和炎性的凝集、抑制增生细胞的生长、减轻氧化损伤。无论调控基因是上调还是下调,都参与了机体免疫反应、抵抗炎性因子对细胞的破坏作用,从不同的途径干预和抑制血液凝聚、凝血因子表达和血管的破坏。由此可知,红花注射液主要是通过抗血栓、抑制炎性因子分泌、减轻血管的损伤和增强免疫来治疗气虚血瘀证。同时,对于引起气虚血瘀证病理变化的能量代谢方面的调节并不明显。这也侧面说明在临床上红花多与补气类药物配伍应用。

本研究利用基因组学的方法初步表现了两个系统之间的基因表达谱的调控变化,并用生物信息学的手段简单分析了红花注射液作用于气虚血瘀证的药效机制。但是,对于本质的研究并没有脱离前人的认识,进一步的研究需要对数据进行深入挖掘,在关键性的靶点和通路的筛查中需要借助新的技术如蛋白组学和代谢组学的知识来进行探索。当然,由于大鼠和人类

表 4 受调控的差异基因的功能
Table 4 Functions of the regulated genes

Transcript Cluster ID	Gene Symbol	Description	Function
17818092	Ifi27	interferon, alpha-inducible protein 27	Activate T cells and monocytes to participate in the immune response 趋化活化 T 细胞和单核细胞,参与免疫反应 ^[14]
17828842	Laptn4b	Lysosomal protein transmembrane 4 beta	Participate in cell differentiation, promote cell proliferation. Mediate adhesion between cells and identify 参与细胞分化,促进细胞增殖,介导细胞之间的粘附、识别 ^[17]
17724702	Cd226	CD226 molecule	Participate in cell adhesion 参与细胞粘附 ^[24]
17737024	RGD1562660;	zinc finger protein 455	Involved in signal transduction and differentiated cells 参与信号转导,细胞分化 ^[23]
17874691	Cd40lg	CD40	ligand Involved in cellular and humoral immunity 参与细胞免疫和体液免疫 ^[25]
17875665	Timp1	TIMP metalloproteinase inhibitor 1	Inhibit cell infiltration, metastasis and angiogenesis 抑制细胞浸润、转移和血管生成 ^[18]
17789627	Asns	Asparagine synthetase	Promote cell apoptosis, enhance oxidative stress 促进细胞凋亡、增强氧化应激作用 ^[28]
17796689	Stau2	Staufen double-stranded RNA binding protein 2	Participate in oxidative stress response 参与氧化应激反应 ^[21]
17725828	Arap3	ArfGAP with RhoGAP domain, ankyrin repeat and PH domain 3	Regulate cell differentiation and development 调节细胞分化和发育 ^[27]
17612693	Lilrb3l	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B (with TM and ITIM domains), member 3-like	Leukocyte immunoglobulin-like receptors 白细胞免疫球蛋白样受体 ^[15]
17638314	Irf7	interferon regulatory factor 7	Interferon Regulatory Factor, involved in immunization 干扰素调节因子,参与免疫 ^[13]
17684919	Rgs1	Regulator of G-protein signaling 1	Immune tolerance of immune cells 免疫细胞的免疫耐受相关 ^[16]
17815145	Cmpk2	Cytidine monophosphate (UMP-CMP) kinase 2, mitochondrial	Participate in nucleic acid and lipid metabolism, maintain cell energy balance, and participate in apoptosis 参与核酸及脂类代谢,维持细胞能量平衡,并参与细胞凋亡 ^[19]
17860324	Cxcr2	G protein-coupled receptor kinase	Involved in inflammatory cell convergence 参与炎症细胞趋集 ^[26]
17799396	Tlr4	toll-like receptor 4	Toll-like receptors, involved in immunization Toll 样受体,参与免疫 ^[22]
17882665	C5ar2	complement component 5a receptor 2	Complement C5a receptor, involved in inflammation 补体 C5a 受体,参与炎症发生 ^[20]

基因组的差异性,最终的认识通过临床实验来验证。

参考文献(References)

- [1] 陈可冀,史载祥.实用血瘀证学(第2版)[M].北京:人民卫生出版社,2013:13-20
Chen Ke-ji, Shi Zai-xiang. Practical learning of blood stasis syndrome (second edition) [M]. Beijing: People's Health Publishing House, 2013: 13-20
- [2] 田红伟,何进来.红花注射液的临床应用[J].中医学报,2004,32(6):41-43
Tian Hong-wei, He Jin-lai. The clinical application of safflower parenteral solution [J]. Acta Chinese Medicine and Pharmacology, 2004, 32(6): 41-43
- [3] 王军,刘震坤.基因芯片技术在中医实验研究中的应用[J].长春中医药大学学报,2012,28(4):347-348
Wang Jun, Liu Zhen-kun. Application of the Gene Chip Technology in Experimental on Traditional Chinese Medicine [J]. Journal of Changchun University of Chinese Medicine, 2012, 28(4): 347-348
- [4] 王明明,陈敏纯,李玉文,等.羟基红花黄色素A联用 β -乳香酸对血瘀证模型大鼠凝血功能、NO、cGMP的影响[J].中国药房,2014,25(47):4417-4419
Wang Ming-ming, Chen Min-chun, Li Yu-wen, et al. Effect of the Combination of HSYA and β -boswellic Acid on Coagulation Function, NO and cGMP in Bloodstasis Model Rats [J]. China Pharmacy, 2014, 25(47): 4417-4419
- [5] 庞树玲,高金亮.中年大鼠气虚血瘀证的模拟及其机理探讨[J].天津中医学院学报,1997,16(3):28-30
Pang Shu-ling, Gao Jin-liang. Study on the simulation and mechanism of qi deficiency and blood stasis syndrome in middle-aged rats [J].

- Journal of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 1997, 16(3): 28-30
- [6] 岳海涛, 李金成, 吕铭洋, 等. 红花注射液对大鼠血栓形成的影响及其作用机制[J]. 中草药, 2011, 42(8): 1585-1587
- Yue Hai-tao, Li Jin-cheng, Lv Ming-yang, et al. Effects of Safflower Injection on thrombosis in rats and its mechanism [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2011, 42(8): 1585-1587
- [7] 黄芳. 中药红花的现代药理研究进展 [J]. 医学信息, 2014, 27(9): 674-675
- Huang Fang. Modern Pharmacological Research Progress of Traditional Chinese Medicine Safflower [J]. Medical Information. 2014, 27(9): 674-675
- [8] 瞿城, 乐世俊, 林航, 等. 红花化学成分研究 [J]. 中草药, 2015, 46(13): 1872-1877
- Qu Cheng, Yue Shi-jun, Lin Hang, et al. Chemical constituents of Carthamus tinctorius[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2015, 46(13): 1872-1877
- [9] 李志文, 李新民, 祝岩, 等. 红花黄色素注射液辅助治疗风湿性瓣膜病(气虚血瘀型)疗效观察[J]. 沈阳部队医药, 2012, 20(7): 328-330
- Li Zhi-wen, Li Xin-min, Zhu Yan, et al. Observation on Curative Effect of Safflower Yellow Injection on Patients with Rheumatic Valvular Disease (Qi Deficiency and Blood Stasis Type)[J]. Shenyang military medicine, 2012, 20(7): 328-330
- [10] 马民, 张桂娟. 血瘀证客观化研究进展 [J]. 山东中医药大学学报, 2002, 26(2): 155-156
- Ma Min, Zhang Gui-juan. Research Progress on Objective Evaluation of Blood Stasis Syndrome [J]. Journal of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, 2002, 26(2): 155-156
- [11] 时晶, 田金洲, 王永炎, 等. 血瘀证的生物学基础研究[J]. 中华中医药杂志, 2006, 21(6): 363-364
- Shi Jing, Tian Jin-zhou, Wang Yong-yan, et al. Study on the Biological Basis of Blood Stasis Syndrome [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2006, 21(6): 363-364
- [12] 刘洪, 李荣亨. 气虚血瘀证的实验研究概况[J]. 中医杂志, 2005, 46(6): 471-472
- Liu Hong, Li Rong-heng. Experiments Study Survey of Qi Deficiency and Blood Stasis Syndrome [J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2005, 46(6): 471-472
- [13] Honda K, Yanai H, Negishi H, et al. IRF-7 is the master regulator of type-I interferon-dependent immune responses [J]. Nature, 2005, 434(7034): 772-777
- [14] Puthia M, Ambite I, Cafaro C, et al. IRF7 inhibition prevents destructive innate immunity-A target for nonantibiotic therapy of bacterial infections[J]. Science Translational Medicine, 2016, 8(336): 336ra59
- [15] Jr B D, Caligiuri M A. Killer immunoglobulin-like receptors and tumor immunity[J]. Cancer Immunology Research, 2014, 2(2): 99-99
- [16] Rangel J, Nosrati M, Leong S P, et al. Novel role for RGS1 in melanoma progression [J]. American Journal of Surgical Pathology, 2008, 32(8): 1207-1212
- [17] Zhang H, Qi S, Zhang T, et al. miR-188-5p inhibits tumour growth and metastasis in prostate cancer by repressing LAPT4B expression [J]. Oncotarget, 2015, 6(8): 6092-6104
- [18] Zanotti L, Angioni R, Call B, et al. Mouse mesenchymal stem cells inhibit high endothelial cell activation and lymphocyte homing to lymph nodes by releasing TIMP-1[J]. Leukemia, 2016, 30(5): 1143-1154
- [19] Lee M H. The contribution of CMP kinase to the efficiency of DNA repair[J]. Cell Cycle, 2015, 14(3): 354-363
- [20] Pundir P, Macdonald C A, Kulka M. The Novel Receptor C5aR2 Is Required for C5a-Mediated Human Mast Cell Adhesion, Migration, and Proinflammatory Mediator Production [J]. Journal of Immunology, 2015, 195(6): 2774-2787
- [21] Xin Z, Tré panier V, Beaujois R, et al. The downregulation of the RNA-binding protein Staufen2 in response to DNA damage promotes apoptosis[J]. Nucleic Acids Research, 2016, 44(8): 3695-3712
- [22] Chá vez-Sá nchez L, Garza-Reyes M G, Espinosa-Luna J E, et al. The role of TLR2, TLR4 and CD36 in macrophage activation and foam cell formation in response to oxLDL in humans [J]. Human Immunology, 2014, 75(4): 322-329
- [23] 赵楠, 赵飞, 李玉花. 锌指蛋白结构及功能研究进展 [J]. 生物技术通讯, 2009, 20(1): 131-134
- Zhao Nan, Zhao Fei, Li Yu-hua. Advances in Research on Zinc Finger Protein[J]. Letters in Biotechnology, 2009, 20(1): 131-134
- [24] Guillerey C, Ferrari d A L, Vuckovic S, et al. Immunosurveillance and therapy of multiple myeloma are CD226 dependent.[J]. Journal of Clinical Investigation, 2015, 125(7): 2077-2089
- [25] Aloui C, Prigent A, Tariket S, et al. Levels of human platelet-derived soluble CD40 ligand depend on haplotypes of CD40LG-CD40-ITGA2 [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 24715
- [26] Auer P L, Teumer A, Schick U. Rare and low-frequency coding variants in CXCR2 and other genes are associated with hematological traits[J]. Nat Genet, 2014, 46(6): 629-634
- [27] Kartopawiro J, Bower N I, Karnezis T, et al. Arap3 is dysregulated in a mouse model of hypotrichosis-lymphedema-telangiectasia and regulates lymphatic vascular development [J]. Human Molecular Genetics, 2014, 23(5): 1286-1297
- [28] 罗长缨, 顾龙君. 天冬酰胺合成酶的基因结构及其表达调控[J]. 国际儿科学杂志, 2006, 33(2): 120-122
- Luo Chang-ying, Gu Long-jun. The Structure and Expression Regulation of Human Asparagine Synthetase Gene [J]. International Journal of Pediatrics, 2006, 33(2): 120-122