

淫羊藿苷调控血栓调节蛋白表达抑制大鼠深静脉血栓形成的机制^{*}

韩丹¹ 符壮² 丁辉³

(1. 三亚市中医院中药房,海南 三亚 572000;2. 三亚市中医院药学部,海南 三亚 572000;

3. 海南医学院基础医学与生命科学学院,海南 海口 571199)

【摘要】 目的 探讨淫羊藿苷(ICA)调控血栓调节蛋白(TM)表达抑制大鼠深静脉血栓(DVT)形成的机制。方法 45 只 10 周龄 SPF 级 SD 雌性大鼠随机分为对照组、DVT 组及 ICA 组,每组 15 只。分离 DVT 组及 ICA 组大鼠下腔静脉,采用完全结扎法建立深静脉血栓模型,对照组不做结扎处理,建模后 ICA 组大鼠给予舌下静脉 40 mg/kg ICA 注射治疗 7 d,其他两组给予等量生理盐水。抽取颈动脉血分离血浆检测各组大鼠活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(FIB)含量及 TM、MCP-1、ICAM-1 蛋白表达量。分离造模段下腔静脉 HE 染色观察各组大鼠下腔静脉血栓形成情况,qRT-PCR 检测血栓组织内 TM、MCP-1、ICAM-1 mRNA 表达差异。结果 ICA 组大鼠血栓干重及湿重均显著小于 DVT 组大鼠($P < 0.05$),HE 染色结果显示 ICA 组大鼠下腔静脉内病变较 DVT 组减轻。ICA 组大鼠 APTT、PT、TT 时间较 DVT 组延长,血浆内 FIB、TM、MCP-1、ICAM-1 含量减少,血栓组织水平 TM、MCP-1、ICAM-1 mRNA 表达较 DVT 组显著降低(均 $P < 0.05$)。结论 淫羊藿苷可通过干扰深静脉血栓大鼠血栓调节蛋白表达抑制深静脉血栓形成。

【关键词】 淫羊藿苷;深静脉血栓;血栓调节蛋白;大鼠

【中图分类号】 R543.6 **【文献标志码】** A **DOI:**10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 03. 012

Effects of icariin on venous thrombosis by regulating thrombomodulin expression on deep venous thrombosis model of rats

HAN Dan¹, FU Zhuang², DING Hui³

(1. Chinese Medicine Room, Sanya Hospital of Traditional Chinese Medicine, Sanya 572000, Hainan, China;

2. Department of Pharmacy, Sanya Hospital of Traditional Chinese Medicine, Sanya 572000, Hainan, China;

3. School of Basic Medicine and Life Science, Hainan Medical College, Haikou 571199, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the effects of icariin (ICA) on venous thrombosis (TM) by regulating thrombomodulin expression on deep venous thrombosis (DVT) model of rats. **Methods** 45 adult SD rats were randomly divided into control group, DVT group and ICA group, with 15 rats in each. The DVT model was established by complete ligation in DVT group and ICA group while the control group was not treated with ligation. After modeling, the rats in ICA group were treated with 40mg/kg ICA for sublingual vein for 7 days, continuously. The carotid blood was extracted to measure activated partial thromboplastin time (APTT), prothrombin time (PT), thrombin time (TT) and the content of fibrinogen (FIB), TM, MCP-1 and ICAM-1 in plasma were detected by ELISA. The inferior vena cava thrombosis was observed by HE staining in each group. The expression of TM, MCP-1, ICAM-1 mRNA in thrombus were detected by qRT-PCR. **Results** The dry weight and wet weight of rats in ICA group were significantly lower than in DVT group. HE staining showed that the lesions in the inferior vena cava of the ICA group were less than in DVT group. The APTT, PT and TT in ICA group were longer than in DVT group. Moreover, both protein and mRNA expression levels of TM, MCP-1 and ICAM-1 in ICA group were lower than those in DVT group. **Conclusion** ICA inhibits inferior vena cava

基金项目:海南省卫生健康行业科研项目(19A20180)

通信作者:符壮,E-mail:q417955104@163.com

引用本文:韩丹,符壮,丁辉.淫羊藿苷调控血栓调节蛋白表达抑制大鼠深静脉血栓形成的机制[J].西部医学,2022,34(3):381-385. DOI:10.

thrombosis by interfering TM expression on DVT model rats.

【Key words】 Icariin; Deep venous thrombosis; Thrombomodulin; Rat

深静脉血栓(Deep venous thrombosis, DVT)是一种静脉回流障碍性疾病^[1],常见形成于外科手术后的制动状态,多发于下肢髂股静脉与腘静脉。DVT 并发肺栓塞所致的静脉血栓栓塞症(Venous thromboembolism, VTE)近年来已成为心血管疾病致死的主要诱因^[2-3]。常规溶栓及抗凝等治疗手段受制于 DVT 临床表现滞后、发病迅速、致死率高等特点^[4],并未取得良好的治疗效果,因此 DVT 的预防和早期诊断是关键,中医药以其“治未病”、高安全性及低副作用等优势在临床预防 DVT 中得到了越来越多的关注^[5]。早在《内经·素问》中就有“痹在于骨则重,在于脉则血凝而不流”等关于深静脉血栓的记录,现代中医根据 DVT 发病机制将其分型为气虚血瘀型、脾肾阳虚型及湿热下注型^[6],其中“瘀血”始终贯穿于 DVT 病发的始末,临床辨证论治 DVT 时采用的中医药内治方也常以清热利湿、活血通脉为主,并辅以针灸、外敷、熏洗等外治及综合治疗手段。淫羊藿苷(Icariin, ICA)是中药淫羊藿中主要活性成分淫羊藿总黄酮(Total flavone of herba epimedium, TFE)的重要组成部分,ICA 在心血管疾病中发挥的潜在降黏解聚、阻滞血瘀、预防血栓作用受到广泛研究^[7-8],但其药理作用及治疗机制尚未完全阐明,因此本研究通过探究 ICA 对 DVT 模型大鼠的治疗作用及相关分子标志物的表达变化,旨在阐明 ICA 治疗 DVT 的机制,为中医临床预防及治疗 DVT 提供理论依据。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 实验动物 选取 10 周龄 SPF 级 SD 雌性大鼠 45 只,体质量(220±15)g,购自海南医学院实验动物中心。分笼饲养,设置饲养条件为 25℃ 恒温,50%~60% 恒湿,8:00~20:00 昼夜轮换。实验动物符合动物伦理要求,并经医院伦理委员会审核同意。

1.1.2 主要材料与试剂 淫羊藿苷(上海纯优生物,批号:489-32-7);戊巴比妥钠注射液(Merck,批号:P11011);生理盐水(石家庄四药,批号:20181011);APTT、PT、TT 及 FIB 检测试剂盒均购自上海太阳生物技术有限公司(批号:Pc200811,Pc201100,Pc201110,Pc200821);TM、MCP-1、ICAM-1 ELISA 检测试剂盒购自上海雅吉生物科技有限公司(批号:E-30971、E-44250、E-05953);TRIzol(Invitrogen,批号:15596018);反转录试剂盒及荧光定量 PCR 试剂盒(TAKARA,批号:RR047Q、RR036Q);DEPC 水(天

根,批号:BL510A);qRT-PCR 所用引物委托生工生物工程(上海)有限公司设计并合成,引物序列见表 1。

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequence

| 名称 | 序列(5'→3') | 长度(bp) |
|--------|----------------------------------|--------|
| GAPDH | Forward: CGAGAAATATGACAACTCCCTCA | 23 |
| | Reverse: CAGCCCCAGCATCAAAGGTAGGA | 23 |
| TM | Forward: GATTTTCAGACGCTGCCGATAG | 22 |
| | Reverse: CAGAGTTCGTTGCACAATTGAG | 22 |
| MCP-1 | Forward: CCAGTTACCACGAGCGACGGAA | 22 |
| | Reverse: GATTATTCGCCACAGGATTGCC | 21 |
| ICAM-1 | Forward: ATCTTGGAGTCGACGCTTTCT | 21 |
| | Reverse: TTGGGACCCTATCGGGAGG | 19 |

1.2 方法

1.2.1 动物分组及造模 大鼠适应性饲养 1 周后随机分为对照组、DVT 组及 ICA 组,每组 15 只。造模方法参照文献报道^[9],造模前 24 h 大鼠禁食,称重,以 30 mg/kg 给予大鼠 0.3% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,麻醉后行仰卧位固定大鼠于操作台上。剃毛消毒,沿腹中线切 2 cm 切口,分离并暴露左肾静脉以下的下腔静脉分支至髂总静脉分叉处,用显微血管夹分别阻断该段下腔静脉分支两端,保持 2 h。透壁可见该段血管颜色变为暗红色,25 g 细针穿刺后无血液流出视为造模成功,血栓形成后取下血管夹关腹消毒,全程无菌操作。对照组大鼠采用相同手术方法但不给予血管夹结扎,造模结束后恢复大鼠至活动状态分笼饲养。ICA 融于 DMSO 后用生理盐水调节浓度为 40 mg/kg 舌下静脉注射治疗 ICA 组大鼠,对照组及 DVT 组大鼠给予等量生理盐水,淫羊藿苷药物使用剂量参照文献报道^[10],每天 1 次,连续给药 7 d。

1.2.2 大鼠凝血指标检测 末次给药 8 h 后抽取各组大鼠颈总动脉血 2 mL,3000 rpm 低速离心 10 min,分离血浆,测定 3 组大鼠活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)以及纤维蛋白原(FIB)含量差异,检测方法严格参照各试剂盒说明书。

1.2.3 HE 染色 取血完成后再次开腹截取 1~2 cm 病变段下腔静脉,生理盐水漂洗 3 次,转移至 4% 多聚甲醛中固定 8 h 或至过夜,常规脱水石蜡包埋后行冠状面切片,切片厚度 5 μm。将切片转移至载玻片上,脱蜡、梯度酒精水化后先后使用苏木紫和伊红染液染色,无水乙醇洗净后采用苯酚二甲苯与二甲苯封片,中性树脂固封,将切片置于光学倒置显微镜下观察并采集图像。

1.2.4 血栓重量检测 分离下腔静脉并在结扎下方 2 cm 处夹闭管腔,分离下腔静脉内皮与血栓,取出血栓组织块,吸除多余水分后天平称重并记录血栓湿重 $a(\text{mg})$,转移血栓至培养皿中放在干燥器中,室温干燥 24 h 后称重并记录血栓干重 $b(\text{mg})$,比较 DVT 组与 ICA 组大鼠血栓质量差异。

1.2.5 ELISA 检测血液中蛋白含量 抽取各组大鼠颈总动脉血 10 mL 于枸橼酸钠抗凝采血管中,37℃ 恒温水浴 0.5 h,2000 rpm 低速离心 5 min,分离下层血浆。参照 ELISA 试剂盒说明书分别检测 3 组大鼠血浆中血栓调节蛋白(TM)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)及细胞间黏附因子-1(ICAM-1)的含量。

1.2.6 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测 取上述血栓样本置于液氮中快速研磨成粉末,加入 1 mL TRIzol 充分匀浆粉末,参照 TRIzol 试剂盒说明书依次加入氯仿、异丙醇抽提组织总 RNA。核算定量检测总 RNA 浓度后标定加入 DEPC 水调节 RNA 浓度一致,参照反转录试剂盒说明书逆转总 RNA 为 cDNA,各取 100 ng cDNA 经 qRT-PCR 定量扩增后比较各组大鼠相关 mRNA 表达差异。设置 qRT-PCR 反应条件如下:预变性 95℃ 5 min;扩增循环 95℃ 1 min,55℃ 2 min,72℃ 1 min,共 40 次循环;溶解曲线 95℃ 15 s,60℃ 1 min,95℃ 15 s。每组样品设置 3 个平行副孔,GAPDH 为内参引物,以采集到的荧光信号 Ct 值根据相对定量法计算 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 用来表示相关 mRNA 表达水平。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 20.0 软件进行数据统计处理,计量资料采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 ICA 对 DVT 大鼠血栓形成的影响 HE 染色观察 3 组大鼠下腔静脉内血栓形成情况及血管内皮结构变化,结果显示对照组大鼠下腔静脉管腔通畅,血管内皮组织细胞结构清晰、排列规则,无血栓形成(图 1A);DVT 组大鼠静脉腔内可见完全性血栓,血栓与大部分静脉内皮粘连,内皮细胞消失,血管壁出现大量炎性细胞浸润,局部可见血栓与管腔内壁存在裂隙,血栓内中央区域有毛细血管形成,血栓机化明显(图 1B);ICA 组大鼠下腔静脉内血栓萎缩,多为不完全性血栓,血栓组织仅有少部分与血管壁粘连,管腔裂隙间充斥较多红细胞,血管壁内皮细胞形态较为恢复(图 1C)。剥离血栓块后比较 DVT 组与 ICA 组大鼠血栓湿重和干重的差异显示,ICA 组大鼠血栓湿重及干重均显著小于 DVT 组大鼠血栓($P<0.05$),表明 ICA 能够抑制血栓形成及管腔内病理变化,见表 2。

表 2 DVT 组与 ICA 组大鼠血栓重量比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 The weight of thrombus in DVT group and ICA group

| 组别 | n | 血栓湿重(mg) | 血栓干重(mg) |
|-------|-----|-------------------------|------------------------|
| DVT 组 | 15 | 18.91±2.05 | 6.20±0.72 |
| ICA 组 | 15 | 13.55±1.10 ^① | 3.13±0.46 ^① |

注:与 DVT 组相比,① $P<0.05$

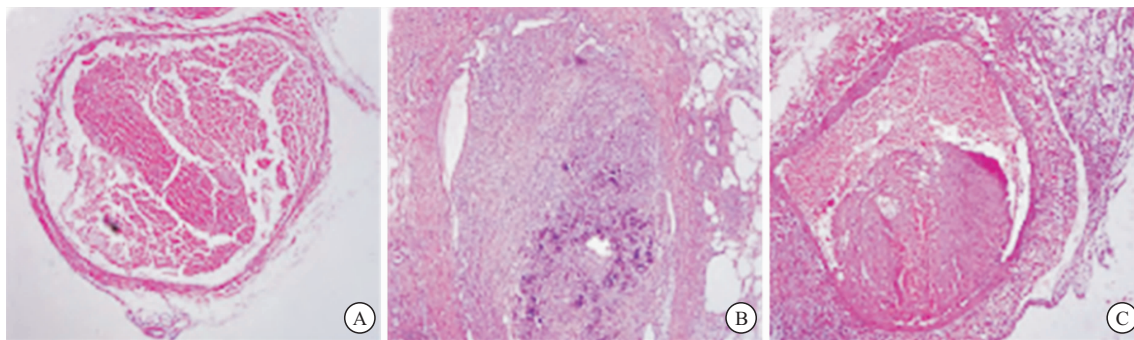


图 1 各组大鼠下腔静脉 HE 染色(100×)

Figure 1 HE staining of inferior vena cava of rats in each group

注:A. 对照组;B. DVT 组;C. ICA 组

2.2 各组大鼠相关凝血参数比较 与对照组相比,DVT 组大鼠造模后血浆 FIB 含量显著升高,APTT、PT、TT 均显著降低($P<0.05$),DVT 组大鼠凝血时间较对照组延长;与 DVT 组相比,ICA 组大鼠血浆 FIB 含量显著降低,APTT、PT 及 TT 时间升高($P<0.05$),ICA 组大鼠凝血时间较 DVT 组减少,见表 3。

2.3 各组大鼠血浆蛋白表达差异 ELISA 检测结果显示,与对照组相比,DVT 组大鼠静脉血血浆中 TM、MCP-1、ICAM-1 蛋白含量均显著升高($P<0.05$);给予 ICA 连续给药治疗 7 d 后,ICA 组大鼠血浆 TM、MCP-1、ICAM-1 含量较 DVT 组显著降低($P<0.05$),见表 4。

表 3 ICA 对模型大鼠凝血参数的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 The effect of ICA on coagulation parameters of model rats

| 组别 | n | APTT(s) | PT(s) | TT(s) | FIB(g/L) |
|-------|----|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| 对照组 | 15 | 22.03±1.37 | 11.58±0.86 | 33.84±2.26 | 2.13±0.63 |
| DVT 组 | 15 | 18.85±1.41 ^① | 9.74±1.00 ^① | 27.31±1.48 ^① | 2.97±0.91 ^① |
| ICA 组 | 15 | 21.34±1.10 ^② | 13.20±1.12 ^② | 31.96±1.65 ^② | 2.05±1.11 ^② |

注:与对照组相比,①P<0.05;与 DVT 组相比,②P<0.05

表 4 ICA 对模型大鼠血浆 TM、MCP-1、ICAM-1 蛋白表达影响($\bar{x} \pm s$)

Table 4 The effect of ICA on the expression of TM, MCP-1 and ICAM-1 protein in plasma of model rats

| 组别 | n | TM (ng/mL) | MCP-1 (pg/mL) | ICAM-1 (ng/mL) |
|-------|----|-------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 对照组 | 15 | 16.27±1.41 | 121.49±10.75 | 183.64±12.73 |
| DVT 组 | 15 | 25.88±2.09 ^① | 256.64±19.81 ^① | 571.35±44.26 ^① |
| ICA 组 | 15 | 18.49±1.73 ^② | 155.74±11.60 ^② | 222.60±19.03 ^② |

注:与对照组相比,①P<0.05;与 DVT 组相比,②P<0.05

2.4 各组大鼠血栓组织中相关 mRNA 表达差异 qRT-PCR 检测结果显示,ICA 组大鼠血栓中给予 ICA 连续给药治疗 7 d 后,ICA 组大鼠血栓中 TM、MCP-1、ICAM-1 mRNA 表达较 DVT 组显著降低(P<0.05),见图 2。

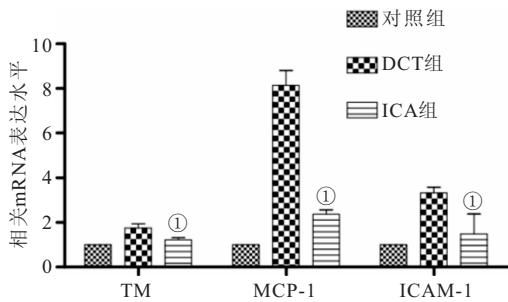


图 2 ICA 对模型大鼠血栓内 TM、MCP-1、ICAM-1 mRNA 表达影响

Figure 2 The effect of ICA on the expression of TM, MCP-1 and ICAM-1 mRNA in thrombus of model rats

注:与 DVT 组相比,①P<0.05

3 讨论

ICA 在早期的药理学研究中被发现具有抗炎、抗肿瘤、抗组织损伤,促进神经突触生长及性功能恢复等广泛作用^[11],同时近年来越来越多的研究表明 ICA 对心血管系统具有一定的保护作用,其在动脉粥样硬化、高血压、心肌缺血及心力衰竭中的作用及分子机制被逐一揭示^[12],但其治疗 DVT 的作用机制仍尚不明确。另一方面,血栓调节蛋白(TM)作为 DVT 发生发展中重要的标志分子^[13],TM 的异常表达与血管内皮细胞损伤和体内抗凝水平相关,现已被证明参与包括 PI3K/AKT、FGFR1/FRS2 α 在内的多种信号通路发挥对动脉粥样硬化、冠状动脉慢流等心脑血管疾病的治疗作用^[14-15],是近年来衡量多种疾病严重程度和预后的重要指标。历代中医对 DVT 的病机及治疗均

有精辟的论述,并形成了辨证论治、专病专方、内外兼顾的治疗方法。ICA 作为中药中成分疗效较为明确的一种药剂,自《神农本草经》中始载入册后,《本经》、《别录》、《日华子本草》及《医学入门》等书籍中先后记载了其在生殖、骨关节、呼吸系统、抗炎症和抗肿瘤中的突出作用,近年来更是在心血管疾病的治疗中受到广泛的重视,逐步完善并形成了 ICA 的药理作用机制及临床用药方法。

本研究通过观察 ICA 治疗 DVT 模型大鼠过程中 TM 的表达变化,进一步解释了 ICA 治疗 DVT 的分子机制。首先通过解剖分离局部血栓及对内皮和血栓组织切片的染色观察,结果显示造模 7 d 后 DVT 组大鼠血栓内部出现显著机化,中央区域形成新生血管再通,下腔静脉血栓内形成完全性血栓,表明大鼠 DVT 模型建立有效,而给予 ICA 治疗能够显著缓解血栓形成及血栓堵塞局部大小和质量,表明 ICA 能够抑制大鼠深静脉血栓的形成。那么 ICA 对 DVT 治疗的作用机制又是什么呢?现代医学认为血栓形成是由血流缓慢、血管壁损伤及血液的高凝状态三种治病因素综合作用而形成的,其中尤以凝血异常最为关键,由此本研究进一步检测了 ICA 对模型大鼠凝血参数的影响,结果显示 ICA 能够有效延长 DVT 大鼠 APTT 和 TT,查阅以往文献我们猜测 ICA 可能是通过抑制内源性凝血因子的活性抑制纤维蛋白生成进而发挥其内源性抗凝作用^[16],此外 ICA 能够延长大鼠的 PT,PT 的大小常反应外源性凝血因子的活性^[17],提示 ICA 能够通过抑制外源因子活性干扰纤维蛋白原(FIB)向纤维蛋白的转化,这一结果也在进一步对静脉血中 FIB 含量的检测中得到印证,给予 ICA 治疗 7 d 后大鼠体内 FIB 含量较 DVT 组显著降低,体内 FIB 存在向纤维蛋白的动态转化,FIB 含量降低说明 ICA 能促进纤维蛋白转化增加,血浆中凝血因子含量增加进一步增强大鼠抗凝能力。此外,HE 染色结果显示 DVT 组大鼠血管内皮组织出现大量的炎性细胞浸润,大量研究表明由凝血异常等动态因素造成的深静脉血栓临床常见的肿胀、疼痛的发生与组织内部炎性损伤相关,同时炎性损伤与凝血异常间也存在着紧密联系,这里我们首先检测了 TM 的含量变化。基于上述 ICA 可能的对内外源凝血反应的抑制作用,TM 作为凝血酶-TM-蛋白 C(PC)复合物中重要的组成部分^[18],ICA 对 TM 的表达调控进一步解释了 ICA 的体内抗凝机制。本研究结果显示,ICA 能够显著降低 DVT 大鼠血浆 TM 的含量,TM 的减少促进了凝血酶活化 FIB 的能力,由此提高血浆中纤维蛋白的含量,与上述结果一致,提示 ICA 可能通过调控

TM 促进抗凝因子的表达进而发挥治疗 DVT 的作用。另一方面,证据表明血浆中 MCP-1、ICAM-1 等炎症因子介导的炎症反应与 TM 的异常表达相关, MCP-1、ICAM-1 作为炎症细胞激活和游走趋化过程的重要分子, ICA 能够显著降低二者的表达并抑制血栓组织中 TM、MCP-1、ICAM-1 mRNA 的合成, 结合以往文献报道, 我们发现 ICA 能够在多种疾病模型中发挥促进 SIRT6 表达、抑制 TM 及 NF- κ B 信号通路下游靶基因活化的作用^[19-20], 而 ICAM-1、MCP-1 又是 NF- κ B 信号通路中的关键分子, 提示我们 ICA 可能通过调控 TM 在 DVT 发病过程中介导 NF- κ B 相关信号分子的转录抑制, 从而发挥对 DVT 模型大鼠抑炎、抗凝的综合治疗作用。

4 结论

淫羊藿苷能够抑制深静脉血栓大鼠深静脉血栓的形成, 其作用机制与调控血栓调节蛋白表达, 抑制下游凝血及炎症因子的活化有关, 为阐明淫羊藿苷治疗深静脉血栓的作用机制提供了有力的证据。

【参考文献】

[1] 中华医学会外科学分会血管外科学组. 深静脉血栓形成的诊断和治疗指南(第三版)[J]. 中华普通外科杂志, 2017, 32(9): 807-812.

[2] OLAF M, COONEY R. Deep venous thrombosis[J]. Emerg Med Clin North Am, 2017, 35(4): 743-770.

[3] BUESING K L, MULLAPUDI B, FLOWERS K A. Deep venous thrombosis and venous thromboembolism prophylaxis[J]. Surg Clin North Am, 2015, 95(2): 285-300.

[4] GUO F, SHASHIKIRAN T, CHEN X, *et al.* Clinical features and risk factor analysis for lower extremity deep venous thrombosis in Chinese neurosurgical patients[J]. J Neurosci Rural Pract, 2015, 6(4): 471-476.

[5] 贾宇东, 刘又文, 秦克枫. 中药预防髋关节置换术后深静脉血栓形成的研究进展[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2012, 20(5): 67-69.

[6] 喻辉, 黄肖华, 易生辉. 中药防治下肢深静脉血栓形成的研究进展[J]. 大众科技, 2015, 24(1): 96-97.

[7] ZHANG G, QIN L, SHENG H, *et al.* A novel semisynthesized small molecule icaritin reduces incidence of steroid-associated os-

teonecrosis with inhibition of both thrombosis and lipid-deposition in a dose-dependent manner. [J]. Bone, 2009, 44(2): 345-356.

[8] 胡彦武, 刘凯, 闫梦彤, 等. 淫羊藿总黄酮及淫羊藿苷的心血管保护作用及机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 20(13): 227-230.

[9] 金浪, 李勃, 杨光. 深静脉血栓形成动物模型的制备方法研究进展[J]. 中国骨伤, 2015, 28(8): 775-779.

[10] 刘洋, 甄学敏. 淫羊藿苷抑制大鼠静脉血栓形成及对血液流变学的影响[J]. 中医药导报, 2019, 25(7): 35-38.

[11] 方厚枢. 淫羊藿应用研究进展[J]. 健康前沿, 2015, 22(10): 43-43.

[12] 向家培, 赵劲波, 王勇, 等. 淫羊藿苷对大鼠心肌细胞缺氧再复氧损伤的作用及机制[J]. 中华医学杂志, 2015, 95(45): 3701-3704.

[13] AHMAD A, SUNDQUIST K, ZÖLLER B, *et al.* Identification of Genetic Aberrations in Thrombomodulin Gene in Patients With Recurrent Venous Thromboembolism [J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2017, 23(4): 319-328.

[14] CHEN P S, WANG K C, CHAO T H, *et al.* Recombinant Thrombomodulin Exerts Anti-autophagic Action in Endothelial Cells and Provides Anti-atherosclerosis Effect in Apolipoprotein E Deficient Mice[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 3284.

[15] 王彦富, 张宗雷, 孙亚男, 等. 可溶性血栓调节蛋白与冠状动脉粥样硬化斑块易损性的相关性研究[J]. 临床心血管病杂志, 2015, 31(10): 1068-1070.

[16] 张红胜, 张敏. 血清 RB P、凝血四项和血小板指标检测在重症肝病辅助诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(17): 2413-2415.

[17] SCHELLINGS M W M, DE MAAT M P M, DE LATHOUDER S, *et al.* Prolonged Prothrombin Time After Discontinuing Vitamin K Antagonist[J]. Clin Chem, 2017, 63(9): 1442-1444.

[18] 宋立成, 孟激光, 韩志海. 血栓调节蛋白在凝血功能调节及炎症反应中作用的研究进展[J]. 解放军医学院学报, 2017, 38(10): 984-986, 989.

[19] 陶菲菲. 淫羊藿苷对小鼠结肠炎的改善作用及其机制[D]. 南京大学, 2013.

[20] 陈洋, 平键, 张晶, 等. 淫羊藿苷提高 SIRT6 酶活性及抑制小鼠 NF- κ B 炎症信号通路的实验研究[J]. 老年医学与保健, 2012, 18(6): 338-341, 346.

(收稿日期: 2020-11-20; 修回日期: 2021-11-15; 编辑: 刘灵敏)

(上接第 380 页)

[18] SONG C, HE L, ZHANG J, *et al.* Fluorofenidone attenuates pulmonary inflammation and fibrosis via inhibiting the activation of NALP3 inflammasome and IL-1 β /IL-1R1/MyD88/NF- κ B pathway[J]. J Cell Mol Med, 2016, 20(11): 2064-2077.

[19] FU H, CHEN J K, LU W J, *et al.* Inflammasome-independent NALP3 contributes to high-salt induced endothelial dysfunction

[J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 968.

[20] YANG G, LEE H E, MOON S J, *et al.* Direct binding to NLRP3 pyrin domain as a novel strategy to prevent NLRP3-driven inflammation and gouty arthritis [J]. Arthritis Rheumatol, 2020, 72(7): 1192-1202.

(收稿日期: 2020-12-02; 修回日期: 2021-12-20; 编辑: 刘灵敏)