

- 2004, 5(9): 691-701.
- [11] 王波涛, 孙斌, 祝康, 等. 重楼皂苷 I 介导 Wnt β -catenin 信号通路对鼻咽癌 CNE1 细胞生长和上皮间质转化的影响 [J]. 世界中医药, 2020, 15(24): 3782-3786; 3791.
- [12] Chen X F, Xu X M, Chen D, et al. Therapeutic potential of targeting the Wnt/ β -catenin signaling pathway in colorectal cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 110(2): 473-481.
- [13] Sebjo A, Kahn M, Lenz H. The potential of targeting Wnt/ β -catenin in colon cancer [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2014, 18(6): 611-615.
- [14] Bahrami A, Amerizadeh F, Shahidsales S, et al. Therapeutic potential of targeting Wnt/ β -catenin pathway in treatment of colorectal cancer: rational and progress [J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(8): 1979-1983.
- [15] Nusse R, Clevers H. Wnt/ β -catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities [J]. *Cell*, 2017, 169(6): 985-999.

小檗碱通过 PERK-ATF4 通路对高糖诱导的血管平滑肌细胞钙化的改善作用

段书众¹, 于文会², 张华¹, 王景福^{1*}

(1. 承德医学院附属医院肾脏内科, 河北承德 067000; 2. 承德医学院附属医院药学部, 河北承德 067000)

摘要:目的 基于内质网应激 (ERS) 蛋白激酶 R 样内质网激酶 (PERK) -激活转录因子 4 (ATF4) 通路探讨小檗碱减轻高糖诱导的血管平滑肌细胞 (VSMC) 钙化的相关机制。方法 体外培养大鼠 VSMC 细胞, 分为对照组, 高糖组 (35 mmol/L 葡萄糖), 小檗碱低、中、高剂量组 (35 mmol/L 葡萄糖+50、100、200 μ mol/L 小檗碱), 小檗碱+pcDNA 组 (35 mmol/L 葡萄糖+200 μ mol/L 小檗碱+转染 pcDNA), 小檗碱+pcDNA-ATF4 组 (35 mmol/L 葡萄糖+200 μ mol/L 小檗碱+转染 pcDNA-ATF4)。RT-qPCR 法检测 ATF4 mRNA 表达, 甲基百里香酚蓝比色法检测钙水平, 磷酸苯二钠法检测 ALP 活性, Western blot 法检测 p-PERK、PERK、ATF4、骨桥蛋白 (OPN)、Runx 相关转录因子 2 (Runx2)、Osterix 蛋白表达。结果 与对照组比较, 高糖组 VSMC 细胞钙水平、ALP 活性及细胞中 p-PERK/PERK、ATF4、OPN、Runx2、Osterix 蛋白表达升高 ($P < 0.05$); 与高糖组比较, 小檗碱各剂量组以上指标均降低 ($P < 0.05$), 并呈剂量依赖性; 与小檗碱+pcDNA 组比较, 小檗碱+pcDNA-ATF4 组钙水平、ALP 活性及细胞中 ATF4、OPN、Runx2、Osterix 蛋白表达及 ATF4 mRNA 表达均升高 ($P < 0.05$)。结论 小檗碱能减轻高糖诱导的 VSMC 细胞钙化, 其机制可能与抑制 PERK-ATF4 通路的激活有关。

关键词: 小檗碱; 血管平滑肌细胞钙化; 高糖; 内质网应激; PERK; ATF4

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)10-3325-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.10.049

糖尿病是临床常见的代谢障碍疾病, 近年来发病人数不断增长, 已成为严重威胁人类健康的全球性疾病^[1]。血管并发症是糖尿病患者常见的一类并发症, 发病率高、危险性大^[2], 而血管钙化是糖尿病发生血管并发症的主要特征, 是增加糖尿病患者心血管疾病发病率、死亡率的重要推手^[3]。因此, 探索糖尿病血管钙化的潜在作用机制, 并采取有效防治措施具有重要意义。目前研究认为, 血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMC) 由收缩表型转化为成骨表型是血管钙化形成的共同基础^[4]。蛋白激

酶 R 样内质网激酶 (protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase, PERK) -激活转录因子 4 (activating transcription factor 4, ATF4) 是内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS) 的经典信号通路, 通过 PERK 发生自身磷酸化, 进而诱导 ATF4 表达发挥作用^[5]。研究发现, ERS 可能介导高糖引起 VSMC 钙化的过程^[6]。

小檗碱是广泛存在于黄柏、黄连等传统中草药中的植物碱, 具有降脂、降糖、抗炎、抗氧化等作用^[7]。目前研究表明, 小檗碱能缓解 ERS, 且其对代谢综合征器官损害

收稿日期: 2021-04-06

基金项目: 河北省 2020 年度医学研究课题计划项目 (20200181)

作者简介: 段书众 (1980—), 男, 副主任医师, 研究方向为慢性肾脏病血管钙化、血管内膜增生。Tel: 15028930076, E-mail: duansz80@163.com

* **通信作者:** 王景福 (1968—), 男, 主任医师, 研究方向为慢性肾脏病血管钙化。Tel: 15028930076, E-mail: 769757660@qq.com

的保护作用可能与改善 ERS 有关^[8]。另有研究发现,小檗碱对血小板源生长因子诱导的 VSMC 钙化具有抑制作用^[9]。本研究将基于 PERK-ATF4 通路,探讨小檗碱对高糖诱导的 VSMC 钙化的减轻作用。

1 材料

1.1 细胞 大鼠胸主动脉平滑肌细胞 VSMC (货号 FE563) 购自美国 ATCC 库,用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,于在 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养,待细胞长满后,传代 3 次用于后续实验。

1.2 试剂与药物 小檗碱对照品(纯度 ≥ 97%, 货号 B832574) 购自北京泰泽嘉业科技发展有限公司。DMEM 培养基(货号 90113) 购自北京索莱宝科技有限公司; pcDNA、pcDNA-ATF4 由上海易汇生物科技有限公司构建; 钙离子比色法检测试剂盒(货号 XG-E98821) 购自上海西格生物科技有限公司; BCA 蛋白检测试剂盒、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP) 检测试剂盒(货号 ALH371-QIP、GL2018-RDH) 购自北京百奥莱博科技有限公司; p-PERK 抗体、PERK 抗体(货号 3192、3179) 购自美国 Cell Signaling Technology 公司; ATF4 抗体、骨桥蛋白(osteopontin, OPN) 抗体、Runt 相关转录因子 2 (Runt related transcription factor 2, Runx2) 抗体、Osterix 抗体、GAPDH 抗体、辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗(货号 ab23760、ab75285、ab23981、ab209484、ab245356、ab7090) 购自英国 Abcam 公司。

1.3 仪器 NAPCO-8800 型恒温培养箱购自美国 Shellab 公司; Stat Fax-2100 型酶标仪购自美国 Awareness 公司; AlphaImager Mini 型凝胶成像系统购自美国 ProteinSimple 公司。

2 方法

2.1 细胞分组及给药 取对数生长期 VSMC 细胞,以每孔 4.0×10^4 个的密度接种于 24 孔板,分为对照组,高糖组,小檗碱低、中、高剂量组,小檗碱+pcDNA 组,小檗碱+pcDNA-ATF4 组。高糖组培养基中加 35 mmol/L 葡萄糖;小檗碱低、中、高剂量组加 35 mmol/L 葡萄糖和浓度分别为 50、100、200 μmol/L 的小檗碱;小檗碱+pcDNA 组、小檗碱+pcDNA-ATF4 组加 35 mmol/L 葡萄糖和 200 μmol/L 小檗碱,同时 VSMC 细胞分别转染 pcDNA、pcDNA-ATF4。小檗碱高剂量组、小檗碱+pcDNA 组、小檗碱+pcDNA-ATF4 组 VSMC 细胞培养 48 h, RT-qPCR 法检测细胞中 ATF4 mRNA 表达情况,以验证转染效率,内参基因为 β-actin,结果通过 2^{-ΔΔCT} 法计算表示。

2.2 甲基百里香酚蓝比色法检测钙水平 各组 VSMC 细胞培养 7 d,用 PBS 冲洗 3 次,每孔加入 1 mL 0.6 mol/L HCl,于 37 °C 环境中脱钙 1 h,离心分离上清液,采用钙离子比色法检测试剂盒检测上清液中钙浓度;剩余细胞用细胞裂解液裂解 30 min,BCA 法测定细胞蛋白浓度,将上清液中钙浓度用细胞蛋白浓度加以校正,即上清液中钙浓度/细胞蛋白浓度表示钙相对水平。

2.3 磷酸苯二钠法检测 ALP 活性 各组 VSMC 细胞培养 7 d,用 PBS 冲洗 3 次,每孔加入 1 mL 含 1% TritonX 的生理盐水,于 4 °C 环境中放置 24 h,超声裂解细胞 30 s,离心分离上清液,采用 ALP 检测试剂盒检测 ALP 活性;剩余细胞用细胞裂解液裂解 30 min,BCA 法测定细胞蛋白浓度,将上清液 ALP 活性用细胞蛋白浓度加以校正,即上清液中 ALP 活性/细胞蛋白浓度表示 ALP 活性。

2.4 Western blot 法检测细胞中 PERK-ATF4 通路及骨相关蛋白表达 各组 VSMC 细胞培养 7 d,离心收集细胞,用含蛋白酶抑制剂的细胞裂解液提取细胞总蛋白,BCA 法测定细胞蛋白表达,电泳分离目标蛋白,转膜,脱脂奶粉封闭 1 h,将膜放入相应蛋白抗体稀释液(p-PERK 抗体、PERK 抗体、ATF4 抗体、OPN 抗体、Runx2 抗体、Osterix 抗体、GAPDH 抗体,均 1:1 500 稀释)中 4 °C 孵育过夜, TBST 洗膜 3 次,将膜放入用辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗稀释液(1:3 000)中室温孵育 1 h, TBST 洗膜 3 次, ECL 法显色,曝光,凝胶成像系统扫描图像,将目的蛋白条带灰度值用内参蛋白 GAPDH 条带灰度值加以校正,即目的蛋白条带灰度值/内参蛋白 GAPDH 条带灰度值表示目的蛋白相对表达。

2.5 统计学分析 通过 SPSS 21.0 软件进行处理,数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间进行比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 SNK-*q* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 转染效率验证 小檗碱高剂量组与小檗碱+pcDNA 组 VSMC 细胞中 ATF4 mRNA 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$);与小檗碱+pcDNA 组比较,小檗碱+pcDNA-ATF4 组 VSMC 细胞中 ATF4 mRNA 表达升高 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 各组 VSMC 细胞中 ATF4 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	ATF4 mRNA
小檗碱高剂量组	1.00 ± 0.11
小檗碱+pcDNA 组	0.97 ± 0.12
小檗碱+pcDNA-ATF4 组	2.26 ± 0.19 ^{▲△}

注:与小檗碱高剂量组比较,▲ $P < 0.05$;与小檗碱+pcDNA 组比较,△ $P < 0.05$ 。

3.2 小檗碱对 VSMC 细胞钙水平的影响 与对照组比较,高糖组 VSMC 细胞钙水平升高 ($P < 0.05$);与高糖组比较,小檗碱各剂量组 VSMC 细胞钙水平降低 ($P < 0.05$),并呈剂量依赖性;小檗碱高剂量组与小檗碱+pcDNA 组 VSMC 细胞钙水平比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$);与小檗碱+pcDNA 组比较,小檗碱+pcDNA-ATF4 组 VSMC 细胞钙水平升高 ($P < 0.05$),见表 2。

3.3 小檗碱对 VSMC 细胞 ALP 活性的影响 与对照组比较,高糖组 VSMC 细胞 ALP 活性升高 ($P < 0.05$);与高糖组比较,小檗碱各剂量组 VSMC 细胞 ALP 活性降低 ($P < 0.05$),并呈剂量依赖性;小檗碱高剂量组与小檗碱+pcDNA 组 VSMC 细胞 ALP 活性比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$);与小檗碱+pcDNA 组比较,小檗碱+pcDNA-

表2 各组 VSMC 细胞钙水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	钙水平
对照组	1.04±0.22
高糖组	6.78±0.76*
小檗碱低剂量组	5.45±0.65**
小檗碱中剂量组	3.97±0.46#
小檗碱高剂量组	2.38±0.31#
小檗碱+pcDNA 组	2.30±0.34#
小檗碱+pcDNA-ATF4 组	5.77±0.59# Δ

注：与对照组比较，* $P<0.05$ ；与高糖组比较，# $P<0.05$ ；与小檗碱+pcDNA 组比较， $\Delta P<0.05$ 。

ATF4 组 VSMC 细胞 ALP 活性升高 ($P<0.05$)，见表 3。

表3 各组 VSMC 细胞 ALP 活性比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	ALP 活性/(IU·g ⁻¹)
对照组	122.36±12.48
高糖组	368.25±32.73*
小檗碱低剂量组	324.63±24.62#
小檗碱中剂量组	237.49±15.68#
小檗碱高剂量组	192.02±12.38#
小檗碱+pcDNA 组	189.74±13.41#
小檗碱+pcDNA-ATF4 组	331.09±20.94# Δ

注：与对照组比较，* $P<0.05$ ；与高糖组比较，# $P<0.05$ ；与小檗碱+pcDNA 组比较， $\Delta P<0.05$ 。

3.4 小檗碱对 VSMC 细胞中 PERK-ATF4 通路及骨相关蛋白表达的影响 与对照组比较，高糖组 VSMC 细胞中 p-PERK/PERK、ATF4、OPN、Runx2、Osterix 蛋白表达升高 ($P<0.05$)；与高糖组比较，小檗碱各剂量组 VSMC 细胞中

表4 各组 VSMC 细胞中 p-PERK、PERK、ATF4、OPN、Runx2、Osterix 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	p-PERK/PERK	ATF4/GAPDH	OPN/GAPDH	Runx2/GAPDH	Osterix/GAPDH
对照组	0.24±0.04	0.17±0.03	0.22±0.03	0.26±0.04	0.23±0.04
高糖组	0.93±0.06*	0.94±0.07*	0.88±0.06*	0.89±0.07*	0.82±0.06*
小檗碱低剂量组	0.78±0.05#	0.77±0.06#	0.73±0.07#	0.70±0.08#	0.69±0.07#
小檗碱中剂量组	0.49±0.04#	0.54±0.06#	0.58±0.05#	0.53±0.07#	0.55±0.06#
小檗碱高剂量组	0.36±0.04#	0.34±0.04#	0.39±0.04#	0.40±0.04#	0.37±0.03#
小檗碱+pcDNA 组	0.35±0.04#	0.35±0.04#	0.42±0.04#	0.41±0.03#	0.38±0.04#
小檗碱+pcDNA-ATF4 组	0.38±0.04#	0.83±0.05# Δ	0.75±0.06# Δ	0.75±0.06# Δ	0.72±0.05# Δ

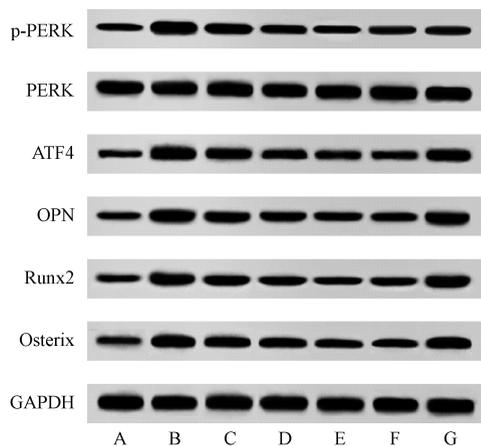
注：与对照组比较，* $P<0.05$ ；与高糖组比较，# $P<0.05$ ；与小檗碱+pcDNA 组比较， $\Delta P<0.05$ 。

4 讨论

血管钙化是引起糖尿病并发心血管疾病的危险因素，同时是升高疾病死亡率的重要原因^[10]。VSMC 是参与血管钙化发生的主要细胞，在受到高糖、氧化应激等刺激因素的作用后，由收缩表型向成骨样细胞表型转化，并分泌大量骨相关蛋白，从而诱导细胞钙化发生^[11]。本研究采用含高糖的培养液模拟糖尿病机体内的环境，发现高糖组 VSMC 细胞钙水平、ALP 活性及细胞中成骨细胞标志物 OPN、Runx2、Osterix 蛋白表达均升高，提示高糖能促进 VSMC 细胞中钙离子沉积，并诱导 VSMC 细胞分化为成骨样细胞，即发生钙化。

内质网是动态膜性细胞器，含有大量伴侣蛋白、糖基化酶及氧化还原酶，具有蛋白质合成、修饰、折叠、脂质、类固醇、糖原合成及钙储存、钙稳态维持等多种功能^[12]。

p-PERK/PERK、ATF4、OPN、Runx2、Osterix 蛋白表达降低 ($P<0.05$)，且呈剂量依赖性；小檗碱高剂量组与小檗碱+pcDNA 组 VSMC 细胞中 p-PERK/PERK、ATF4、OPN、Runx2、Osterix 蛋白表达比较，差异无统计学意义 ($P>0.05$)；与小檗碱+pcDNA 组比较，小檗碱+pcDNA-ATF4 组 VSMC 细胞中 p-PERK/PERK 蛋白表达差异无统计学意义 ($P>0.05$)，ATF4、OPN、Runx2、Osterix 蛋白表达升高 ($P<0.05$)，见图 1、表 4。



注：A~G 分别为对照组、高糖组、小檗碱低剂量组、小檗碱中剂量组、小檗碱高剂量组、小檗碱+pcDNA 组、小檗碱+pcDNA-ATF4 组。

图1 各组 VSMC 细胞 p-PERK、PERK、ATF4、OPN、Runx2、Osterix 蛋白条带图

内质网被外界环境刺激后，会发生 ERS，影响许多蛋白质的合成过程^[13]。曾蓉等^[14]研究表明，过度的 ERS 会促进血管钙化的发生发展。PERK-ATF4 是经典的 ERS 途径，在 ERS 发生时，PERK 解除与葡萄糖调节蛋白 78 的结合状态，活化形成 p-PERK，可通过将 eIF2 α 磷酸化阻断合成过程，同时上调 ATF4 表达发挥作用^[15]。沈洁等^[16]研究显示，降低大鼠血糖，缓解炎症反应，可减轻 ERS 并抑制 PERK/ATF4/CHOP 信号通路激活。本研究显示，高糖组 VSMC 细胞中 p-PERK/PERK、ATF4 蛋白表达升高，提示高糖环境会诱导 VSMC 细胞中 PERK-ATF4 通路激活，发生 ERS，可能与 VSMC 细胞钙化存在一定联系。

小檗碱是中草药提取物，在糖脂代谢、氧化应激、炎症反应等调节方面发挥重要作用^[17]。张勇等^[18]研究发现，小檗碱对果糖诱导的 HK-2 细胞内 PERK 通路激活过程具有

抑制作用。张楠等^[19]研究亦表明,小檗碱对大鼠脂肪肝缺血再灌注损伤的保护作用可能与抑制ERS有关。Li等^[20]研究发现,小檗碱能调节高脂肪饮食小鼠的血脂水平,减轻炎症损伤及血管钙化,可能在改善动脉粥样硬化及心血管保护中发挥作用。本研究显示,使用不同浓度小檗碱处理高糖诱导的VSMC细胞,细胞中p-PERK/PERK、ATF4蛋白表达降低,同时钙水平、ALP活性及细胞中成骨细胞标志物OPN、Runx2、Osterix蛋白表达均降低,且均呈剂量依赖性,提示小檗碱可以抑制PERK-ATF4通路激活,并减少VSMC细胞中钙离子沉积,减轻VSMC细胞钙化,但小檗碱对高糖诱导VSMC细胞钙化的减轻作用是否与抑制PERK-ATF4通路激活有关,尚缺乏验证。

为进一步探索PERK-ATF4通路在小檗碱减轻高糖诱导VSMC细胞钙化过程中发挥的作用,本研究通过向VSMC细胞转染pcDNA-ATF4上调ATF4表达,发现高糖、高浓度小檗碱处理下,上调VSMC细胞中ATF4表达后,VSMC细胞钙水平、ALP活性及细胞中成骨细胞标志物OPN、Runx2、Osterix蛋白表达均升高,提示PERK-ATF4通路激活与VSMC细胞钙化有关,小檗碱可能通过抑制PERK-ATF4通路激活,对高糖诱导VSMC细胞钙化起抑制作用。

综上所述,小檗碱能减轻高糖诱导的VSMC细胞钙化,其机制可能与抑制PERK-ATF4通路激活有关。

参考文献:

[1] Zimmet P, Shaw J. Diabetes; rising incidence of diabetes mellitus in youth in the USA[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2017, 13(7): 379-380.

[2] Sharma G, Ashhar M U, Aeri V, et al. Development and characterization of late-stage diabetes mellitus and -associated vascular complications[J]. *Life Sci*, 2018, 216: 295-304.

[3] Ghosh S, Luo D L, He W B, et al. Diabetes and calcification: The potential role of anti-diabetic drugs on vascular calcification regression[J]. *Pharmacol Res*, 2020, 158: 104861.

[4] Zhang H, Chen J, Shen Z, et al. Indoxyl sulfate accelerates vascular smooth muscle cell calcification via microRNA-29b dependent regulation of Wnt/ β -catenin signaling[J]. *Toxicol Lett*, 2018, 284: 29-36.

[5] Guo Y Z, Guo R, Su Y X, et al. The PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP pathway plays a role in regulating monocrotaline-induced endoplasmic reticulum stress in rat liver[J]. *Res Vet Sci*, 2020, 130: 237-239.

[6] 郭润民, 刘畅, 吴斌, 等. 内质网应激介导了高糖引起的血管平滑肌细胞钙化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2016, 24(7): 668-672.

[7] Wang K, Feng X C, Chai L W, et al. The metabolism of berberine and its contribution to the pharmacological effects[J]. *Drug Metab Rev*, 2017, 49(2): 139-157.

[8] Shen Y, Liu Y C, Wang Z L, et al. Effect of berberine from *Coptis chinensis* on apoptosis of intestinal epithelial cells in a mouse model of ulcerative colitis: Role of endoplasmic reticulum stress[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 3784671.

[9] 张旭慧. 小檗碱对血管平滑肌细胞钙化的影响及其机制初探[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2018.

[10] 姜斌. 超纯透析联合高通量透析对糖尿病肾衰竭患者FGF-23、微炎症状态及血管钙化的影响[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2018, 19(8): 724-726.

[11] 薛新月, 畅智慧, 刘兆玉. 血管平滑肌细胞在血管钙化中的调控机制研究进展[J]. *临床心血管病杂志*, 2020, 36(9): 870-873.

[12] Szymański J, Janikiewicz J, Michalska B, et al. Interaction of mitochondria with the endoplasmic reticulum and plasma membrane in calcium homeostasis, lipid trafficking and mitochondrial structure[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(7): 1576.

[13] Selvam S, Ramaian Santhaseela A, Ganesan D, et al. Autophagy inhibition by biotin elicits endoplasmic reticulum stress to differentially regulate adipocyte lipid and protein synthesis[J]. *Cell Stress Chaperones*, 2019, 24(2): 343-350.

[14] 曾蓉, 李安琪, 刘江华. 血管平滑肌细胞内质网应激与血管钙化的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(11): 949-954.

[15] Liu J, Luo L F, Wang D L, et al. Cadmium induces ovarian granulosa cell damage by activating PERK-eIF2 α -ATF4 through endoplasmic reticulum stress[J]. *Biol Reprod*, 2019, 100(1): 292-299.

[16] 沈洁, 周珊珊, 万晓刚. 黄连对2型糖尿病大鼠胰腺内质网应激PERK/ATF4/CHOP信号通路的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(16): 50-55.

[17] 邵文涛, 孙海东, 王起哈, 等. 盐酸小檗碱缓解高胆固醇所致肝脏损伤的机制体外及动物实验研究[J]. *诊断学理论与实践*, 2018, 17(3): 311-317.

[18] 张勇, 黄春来, 付婷婷, 等. 小檗碱对果糖诱导人肾小管细胞内质网应激PERK凋亡通路的影响[J]. *解放军医学杂志*, 2017, 42(1): 6-11.

[19] 张楠, 盛明薇, 张馨月, 等. 小檗碱对大鼠脂肪肝缺血再灌注损伤的影响: 与肝组织内质网应激的关系[J]. *中华麻醉学杂志*, 2019, 39(2): 162-166.

[20] Li X M, Wang Q Z, Guo L. Beneficial effect of berberine on atherosclerosis based on attenuating vascular inflammation and calcification[J]. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 2017, 31(10): 1002-1003.