

姜黄素对脂多糖诱导人支气管上皮细胞 丝裂素活化蛋白激酶信号通路的影响

王灵聪 韦丽玲 江荣林 黄立权 朱美飞 吴建浓 智屹惠 吴艳春

(浙江中医药大学附属第一医院 ICU, 浙江 杭州 310006)

【摘要】 目的 探讨姜黄素对脂多糖(LPS)诱导人支气管上皮细胞三磷酸肌醇激酶(PI3K)、蛋白激酶 B (Akt)、外调节蛋白激酶(ERK)、核转录因子- κ B (NF- κ B)、不规则趋化因子(CX3CL1)表达的影响。**方法** 体外培养人支气管上皮细胞 24 h 后,用计算机生成的随机分配法表分为空白组(CK)、LPS (10 mg/L)组、PD 组(LPS + ERK 抑制剂 PD98059, 25 μ mol/L)、LY 组(LPS + PI3K/Akt 抑制剂 LY294002, 20 μ mol/L)、PDTC 组(LPS + NF- κ B 抑制剂 PDTC, 100 μ mol/L)、cur 组(LPS + 姜黄素, 10 μ mol/L)6 组。各组阻断剂预处理 30 min 后给予 LPS 刺激,加药后作用 4 h,用蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测各组 PI3K、Akt、ERK、NF- κ B、CX3CL1 表达,测定各条带吸光度(A)值。**结果** 与 CK 组比较, LPS 组 PI3K、Akt、ERK、NF- κ B、CX3CL1 表达均显著升高[PI3K(A 值): 0.68 ± 0.05 比 0.49 ± 0.09 , Akt(A 值): 0.54 ± 0.03 比 0.30 ± 0.06 , ERK(A 值): 1.09 ± 0.09 比 0.74 ± 0.05 , NF- κ B(A 值): 1.87 ± 0.15 比 0.57 ± 0.30 , CX3CL1(A 值): 0.62 ± 0.12 比 0.34 ± 0.00 , 均 $P < 0.05$]。与 LPS 组比较, PD 组、PDTC 组 PI3K、Akt、ERK、NF- κ B、CX3CL1 表达均明显下降[PI3K(A 值): 0.37 ± 0.06 、 0.38 ± 0.16 比 0.68 ± 0.05 , Akt(A 值): 0.33 ± 0.07 、 0.33 ± 0.12 比 0.54 ± 0.03 , ERK(A 值): 0.67 ± 0.05 、 0.82 ± 0.26 比 1.09 ± 0.09 , NF- κ B(A 值): 0.73 ± 0.19 、 0.97 ± 0.41 比 1.87 ± 0.15 , CX3CL1(A 值): 0.43 ± 0.07 、 0.32 ± 0.03 比 0.62 ± 0.12 , 均 $P < 0.05$] ; cur 组能明显抑制 PI3K、Akt、ERK、NF- κ B 表达[PI3K(A 值): 0.44 ± 0.04 比 0.68 ± 0.05 , Akt(A 值): 0.30 ± 0.10 比 0.54 ± 0.03 , ERK(A 值): 0.78 ± 0.05 比 1.09 ± 0.09 , NF- κ B(A 值): 0.78 ± 0.17 比 1.87 ± 0.15 , 均 $P < 0.05$]。**结论** 人支气管上皮细胞存在 LPS—ERK、NF- κ B—CX3CL1 信号通路,姜黄素可抑制 LPS 诱导人支气管上皮细胞后 PI3K/Akt、ERK、NF- κ B 的表达。

【关键词】 姜黄素; 支气管上皮细胞; 三磷酸肌醇激酶/蛋白激酶 B; 外调节蛋白激酶; 核转录因子- κ B; 不规则趋化因子

Effect of curcumin on mitogen activated protein kinase signaling pathway in human bronchial epithelial cells induced by lipopolysaccharide Wang Lingcong, Wei Liling, Jiang Ronglin, Huang Liquan, Zhu Meifei, Wujiannong, Zhi Yihui, Wu Yanchun. Department of Intensive Care Unit, Affiliated First Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang, China

Corresponding author: Wang Lingcong, Email: xlc501@139.com

【Abstract】 Objective To approach the effect of curcumin on the expressions of phosphoinositide 3-kinase (PI3K), protein kinase B (Akt), extracellular regulated protein kinase (ERK), nuclear factor- κ B (NF- κ B), and inordinate fractalkine (CX3CL1) of human bronchial epithelial cells induced by lipopolysaccharide (LPS). **Methods** Human bronchial epithelial cells were collected and cultured for 24 hours, and they were divided into blank group (CK), LPS (10 mg/L) group, PD group (LPS + ERK inhibitor PD98059, 25 μ mol/L), LY group (LPS + PI3K/Akt inhibitor LY294002, 20 μ mol/L), PDTC group (LPS + NF- κ B inhibitor PDTC, 100 μ mol/L), cur group (LPS + curcumin, 10 μ mol/L). The cells in each group were stimulated by LPS after 30-minute pre-treatment of inhibitors. The cells were cultured for 4 hours, and the expressions of PI3K, Akt, ERK, NF- κ B, and CX3CL1 were determined with Western Blot, and the absorbance (A) values in all the straps were assessed. **Results** Compared with CK group, the expressions of PI3K, Akt, ERK, NF- κ B, and CX3CL1 in LPS group were significantly increased [PI3K (A value): 0.68 ± 0.05 vs. 0.49 ± 0.09 , Akt (A value): 0.54 ± 0.03 vs. 0.30 ± 0.06 , ERK (A value): 1.09 ± 0.09 vs. 0.74 ± 0.05 , NF- κ B (A value): 1.87 ± 0.15 vs. 0.57 ± 0.30 , CX3CL1 (A value): 0.62 ± 0.12 vs. 0.34 ± 0.00 , all $P < 0.05$]. Compared with LPS group, the expressions of PI3K, Akt, ERK, NF- κ B, and CX3CL1 in PD group and PDTC group were significantly decreased [PI3K (A value): 0.37 ± 0.06 , 0.38 ± 0.16 vs. 0.68 ± 0.05 , Akt (A value): 0.33 ± 0.07 , 0.33 ± 0.12 vs. 0.54 ± 0.03 , ERK (A value): 0.67 ± 0.05 , 0.82 ± 0.26 vs. 1.09 ± 0.09 , NF- κ B (A value): 0.73 ± 0.19 , 0.97 ± 0.41 vs. 1.87 ± 0.15 , CX3CL1 (A value): 0.43 ± 0.07 , 0.32 ± 0.03 vs. 0.62 ± 0.12 , all $P < 0.05$], and the expressions of PI3K, Akt, ERK, and NF- κ B were depressed in cur group [PI3K (A value): 0.44 ± 0.04 vs. 0.68 ± 0.05 , Akt (A value): 0.30 ± 0.10 vs. 0.54 ± 0.03 , ERK

(A value): 0.78 ± 0.05 vs. 1.09 ± 0.09 , NF- κ B (A value): 0.78 ± 0.17 vs. 1.87 ± 0.15 , all $P < 0.05$]. **Conclusions** LPS-ERK and NF- κ B-CX3CL1 signal pathways were found in human bronchial epithelial cells. Curcumin could inhibit the expressions of PI3K/Akt, ERK, and NF- κ B.

【Key words】 Curcumin; Bronchial epithelial cell; Phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B; Extracellular regulated protein kinase; Nuclear factor- κ B; Inordinate fractalkine

本课题组前期研究发现,急性肺栓塞大鼠不规则趋化因子(CX3CL1)、核转录因子- κ B(NF- κ B)、三磷酸肌醇激酶(PI3K)、蛋白激酶 B(Akt)、外调节蛋白激酶(ERK)均显著升高^[1-4]。有研究认为,抑制 NF- κ B 信号通路可抑制 CX3CL1^[5];丝裂素活化蛋白激酶(MAPK)级联是细胞内重要的信号通路,其中以 ERK 与细胞的增殖反应最为密切,而 ERK 信号通路阻滞可抑制 CX3CL1^[6]。阐明 PI3K/Akt、ERK、NF- κ B、CX3CL1 之间的关系,有助于了解急性肺栓塞后内皮细胞的炎症机制。故本研究拟通过体外细胞实验,探讨脂多糖(LPS)诱导人支气管上皮细胞后,是否 PI3K/Akt、ERK、NF- κ B、CX3CL1 存在上下游信号通路关系,以及姜黄素能否抑制该通路。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料

1.1.1 主要试剂: LPS 为美国 Sigma 公司产品,原液 1 mg/L, H₂O 溶解,处理剂量 10 mg/L。ERK 抑制剂 PD98059 为美国 Sigma 公司产品,原液 25 mmol/L, H₂O 溶解,处理剂量 25 μ mol/L。PI3K/Akt 抑制剂 LY294002 为美国 Sigma 公司产品,原液 10 mmol/L, H₂O 溶解,处理剂量 20 μ mol/L。NF- κ B 抑制剂 PDTC 为江苏南通碧云天公司产品,母液浓度 25 mmol/L, 二甲基亚砜(DMSO)溶解,处理剂量 100 μ mol/L。姜黄素为美国 Sigma 公司产品。聚偏二氟乙烯(PVDF)膜为美国 Millipore 公司产品。Tgfr2 抗体 AP17322b 为美国 Abgent 公司产品。三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)抗体 AP0063,羊抗兔 IgG-HRP(BS13278)均为江苏南京 Bioworld 公司产品。

1.1.2 实验仪器: 凝胶成像仪、ChemiDoc XRS + System 为美国 Bio-RAD 公司产品。高精度分光光度计(SMA4000)为美国 Merinton 公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养: 人支气管上皮细胞株(BEAS-2B)由中国科学院典型培养物保藏中心昆明细胞库提供。BEAS-2B 细胞复苏方法:用 LHC-8 无血清培养基在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱孵育培养细胞,使用磷酸盐缓冲液(PBS)清洗,0.125% 胰酶素 + 0.01% 乙二胺四乙酸(EDTA)消化细胞进行传代培养并调整

细胞状态。取对数生长期细胞,用 0.125% 胰酶素 + 0.01% EDTA 消化离心后计数,以 2×10^5 /孔铺 6 孔板,37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中孵育培养。

1.2.2 细胞分组与给药: 细胞培养 24 h 后,利用 SPSS 19.0 统计软件产生随机分配表,将细胞分为 6 组:空白组(CK),LPS 10 mg/L(LPS 组);LPS + ERK 抑制剂 PD98059(PD 组),LPS + PI3K/Akt 抑制剂 LY294002(LY 组),LPS + 姜黄素 10 μ mol/L(cur 组),LPS + NF- κ B 抑制剂 PDTC(PDTC 组)。各组提前给予相应阻断剂预处理 30 min 后再给予 LPS 刺激,加药后作用 4 h。

1.2.3 蛋白质免疫印迹试验(Western Blot): 每瓶细胞加 2 mL 4 $^{\circ}$ C 预冷的 PBS,平放轻轻摇动 1 min 洗涤细胞,然后弃去洗液。胰酶消化贴壁细胞,离心收集细胞,4 $^{\circ}$ C 裂解 30 min,4 $^{\circ}$ C 离心 10 min,将离心后的上清转移到新的离心管中置于 -70 $^{\circ}$ C 保存。二喹啉甲酸法(BCA)法测定蛋白浓度,聚丙烯酰胺凝胶电泳,经转膜、封闭、孵育一抗、洗膜、孵育二抗、再洗膜,将 PVDF 膜置于保鲜膜上,取适量增强化学发光(ECL)试剂盒中等体积的 A 液和 B 液混合,混匀后加在膜的表面,移入凝胶成像分析仪中,化学光敏模式曝光显影。以 GAPDH 为参照,在 Image J 软件下分析各条带吸光度(A)值。每个样本重复 3 次实验。

1.3 统计学方法: 采用 SPSS 19.0 统计软件处理数据并进行分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 法, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Western Blot 检测 LPS 诱导人支气管上皮细胞 PI3K/Akt、ERK、NF- κ B、CX3CL1 的含量(表 1)。

2.1.1 PI3K: 与 CK 组比较,LPS 组 PI3K 显著升高($P < 0.05$);与 LPS 组比较,PD 组、PDTC 组、cur 组 PI3K 均显著下降(均 $P < 0.05$)。

2.1.2 Akt: 与 CK 组比较,LPS 组 Akt 显著升高($P < 0.05$);与 LPS 组比较,PD 组、PDTC 组、cur 组 Akt 均显著下降(均 $P < 0.05$)。

2.1.3 ERK: 与 CK 组比较,LPS 组 ERK 显著升高($P < 0.05$);与 LPS 组比较,PD 组、PDTC 组、cur 组 ERK 均显著下降(均 $P < 0.05$)。

表 1 Western Blot 检测 LPS 诱导人支气管上皮细胞 PI3K/Akt、ERK、NF- κ B、CX3CL1 含量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	标本数(次)	PI3K(A 值)	Akt(A 值)	ERK(A 值)	NF- κ B(A 值)	CX3CL1(A 值)
CK 组	3	0.49 $\pm$ 0.09	0.30 $\pm$ 0.06	0.74 $\pm$ 0.05	0.57 $\pm$ 0.30	0.34 $\pm$ 0.00
LPS 组	3	0.68 $\pm$ 0.05 ^a	0.54 $\pm$ 0.03 ^a	1.09 $\pm$ 0.09 ^a	1.87 $\pm$ 0.15 ^a	0.62 $\pm$ 0.12 ^a
PD 组	3	0.37 $\pm$ 0.06 ^b	0.33 $\pm$ 0.07 ^b	0.67 $\pm$ 0.05 ^b	0.73 $\pm$ 0.19 ^b	0.43 $\pm$ 0.07 ^b
LY 组	3	0.52 $\pm$ 0.10	0.39 $\pm$ 0.10	0.88 $\pm$ 0.21	0.82 $\pm$ 0.37 ^b	0.50 $\pm$ 0.13
PDTC 组	3	0.38 $\pm$ 0.16 ^b	0.33 $\pm$ 0.12 ^b	0.82 $\pm$ 0.26 ^b	0.97 $\pm$ 0.41 ^b	0.32 $\pm$ 0.03 ^b
cur 组	3	0.44 $\pm$ 0.04 ^b	0.30 $\pm$ 0.10 ^b	0.78 $\pm$ 0.05 ^b	0.78 $\pm$ 0.17 ^b	0.48 $\pm$ 0.16
F 值		4.480	3.439	3.063	8.143	3.487
P 值		0.016	0.037	0.052	0.001	0.035

注:与 CK 组比较,^a $P < 0.05$;与 LPS 组比较,^b $P < 0.05$

2.1.4 NF- κ B: 与 CK 组比较, LPS 组 NF- κ B 显著增高($P < 0.05$); 与 LPS 组比较, PD 组、LY 组、PDTC 组、cur 组 NF- κ B 均显著下降(均 $P < 0.05$)。

2.1.5 CX3CL1: 与 CK 组比较, LPS 组 CX3CL1 显著增高($P < 0.05$); 与 LPS 组比较, PD 组、PDTC 组 CX3CL1 均显著下降(均 $P < 0.05$)。

2.2 Western Blot 检测 LPS 诱导人支气管上皮细胞 PI3K/Akt、NF- κ B、CX3CL1 的表达(图 1): ① LPS 诱导细胞株后, PI3K、Akt、ERK、NF- κ B、CX3CL1 均显著增高。② 使用 ERK 抑制剂 PD98059 和 NF- κ B 抑制剂 PDTC 后, PI3K、Akt、ERK、NF- κ B、CX3CL1 均明显下降。③ 姜黄素能抑制 PI3K/Akt、ERK、NF- κ B 的表达。

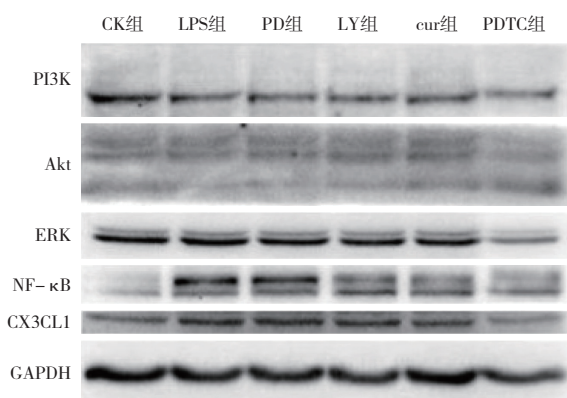


图 1 Western Blot 检测 LPS 诱导人支气管上皮细胞 PI3K/Akt、ERK、NF- κ B、CX3CL1 的表达

3 讨论

PI3K/Akt 是参与细胞生长、增殖及分化调节的信号转导通路^[7]。PI3K 靶蛋白是 Akt, Akt 又称蛋白激酶 B, 属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶^[8]。这与烧伤血清可加重心肌细胞炎症凋亡, 而 PI3K/Akt 抑制剂可促进细胞凋亡的增加相符^[9]。MAPK 信号

通路中的 ERK 与细胞增殖反应最密切, ERK 被激活后, 作用于 NF- κ B 等转录因子, 引起特定蛋白表达或活性改变, 影响细胞产生特定的生物学效应^[10]。CX3CL1 是兼有黏附和趋化活性的含有 373 个氨基酸残基的蛋白质分子趋化因子^[11]。有研究显示, ERK 在 LPS 介导的肺损伤炎症反应中发挥了重要作用^[12]; 也有研究认为, 血

管平滑肌细胞产生的 CX3CL1 与 NF- κ B 及 ERK 有关^[13]。理论上 LPS 刺激人支气管上皮细胞会发生形态改变, 但一般很难直接观察到。本研究中经细胞培养观察到 CK 组细胞属于贴壁细胞, 长梭型, 有小突起, 故只能检测其功能性改变指标, 如蛋白、细胞因子、基因, 或表型转化等。结果显示, ERK 抑制剂和 NF- κ B 抑制剂都能抑制 CX3CL1 的表达, 提示 ERK 及 NF- κ B 是 CX3CL1 的上游信号, 说明人支气管上皮细胞的 ERK、NF- κ B 也能调节 CX3CL1 表达, 这与文献^[5-6]的结果一致。

姜黄素是从姜黄中提取的一种单体酚类物质, 相对分子质量为 368.37, 分子式为 $C_{21}H_{20}O_6$, 具有抗炎、抗凝、抗氧化等作用。姜黄素预处理能明显抑制脓毒症大鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6) 及 NF- κ B 的表达和炎症反应^[14]。姜黄素可减轻百草枯所致大鼠肺泡炎和肺纤维化, 且副作用较地塞米松更少^[15]。姜黄素通过降低大鼠肝细胞内 Ca^{2+} 浓度、而发挥其抗凋亡作用^[16]。研究发现: 姜黄素可抑制人肝癌细胞株 BEL-7402 中的磷酸化 Akt^[17]; 姜黄素治疗 14 d 后可明显下调糖尿病神经痛大鼠脊髓背角及背根神经节中磷酸化 ERK1/2 和脊髓及活化蛋白-1 的表达^[18]; 姜黄素还可通过阻断 NF- κ B 减少白细胞介素-1 (IL-1) 诱导的人血管内皮细胞内皮酯酶的表达^[19]。上述这些结果均与本研究相符。根据预实验我们发现, 10 μ mol/L 姜黄素对 LPS 诱导支气管上皮细胞表达的抑制作用最显著, 故选用该浓度进行实验。结果本研究证实, 姜黄素能抑制 LPS 诱导的人支气管上皮细胞 PI3K/Akt、ERK、NF- κ B 的表达。研究认为 LPS 能刺激 NF- κ B 活化^[20], 姜黄素能明显抑制 NF- κ B 的表达^[21], 与本课题组前期研究所发现的姜黄素能抑制急性肺栓塞大鼠 PI3K/Akt、ERK、

NF- κ B、CX3CL1 的表达结果^[22-25]相一致。

本研究的缺点在于:LPS 造成的支气管内皮细胞损伤不能真正模拟急性肺损伤后(ALI)血管内皮细胞的炎症模型,需要进一步探索。结合本课题组前期的研究结果^[1-4, 22-25],我们认为,CX3CL1 可能是急性肺栓塞后影响内皮细胞炎症机制的一个重要因素。下一步可研究药物通过调控 CX3CL1,影响急性肺栓塞病理条件下肺血管内皮细胞的炎症反应和细胞损伤。

4 结 论

人支气管上皮细胞存在 LPS—ERK、NF- κ B—CX3CL1 信号通路。姜黄素可抑制 LPS 诱导的人支气管上皮细胞中 PI3K/Akt、ERK、NF- κ B 表达。

参考文献

- [1] Wang L, Wu J, Zhang W, et al. Effects of aspirin on the ERK and PI3K/Akt signaling pathways in rats with acute pulmonary embolism [J]. Mol Med Rep, 2013, 8(5): 1465-1471.
- [2] Wang LC, Wu JN, Xia GX, et al. Effect of Aspirin on Fractalkine in Rats with Pulmonary Embolism [J]. Tropical J Pharmaceutical Research May, 2014, 13(3): 753-760.
- [3] Wang LC, Jiang RL, Zhang W, et al. Effects of aspirin on the expression of nuclear factor- κ B in a rat model of acute pulmonary embolism [J]. World J Emerg Med, 2014, 5(3): 229-233.
- [4] 王灵聪,张微.阿司匹林对急性肺栓塞大鼠 NF- κ B 的影响[J].中华急诊医学杂志,2014,23(4):402-405.
- [5] Cao Y, Zheng L, Liu S, et al. Total flavonoids from Plumula Nelumbinis suppress angiotensin II-induced fractalkine production by inhibiting the ROS/NF- κ B pathway in human umbilical vein endothelial cells [J]. Exp Ther Med, 2014, 7(5): 1187-1192.
- [6] Uchida M, Ito T, Nakamura T, et al. ERK pathway and sheddases play an essential role in ethanol-induced CX3CL1 release in pancreatic stellate cells [J]. Lab Invest, 2013, 93(1): 41-53.
- [7] Voigt P, Brock C, Nürnberg B, et al. Assigning functional domains within the p101 regulatory subunit of phosphoinositide 3-kinase gamma [J]. J Biol Chem, 2005, 280(6): 5121-5127.
- [8] Lin CH, Yeh SH, Lin CH, et al. A role for the PI-3 kinase signaling pathway in fear conditioning and synaptic plasticity in the amygdala [J]. Neuron, 2001, 31(5): 841-851.
- [9] 吕根法,石宏伟,王光远,等.胰岛素对烧伤血清致心肌细胞凋亡的保护作用[J].中华危重病急救医学,2012,24(4):197-200.
- [10] Eblen ST, Slack JK, Weber MJ, et al. Rac-PAK signaling stimulates extracellular signal-regulated kinase (ERK) activation by regulating formation of MEK1-ERK complexes [J]. Mol Cell Biol, 2002, 22(17): 6023-6033.
- [11] Bazan JF, Bacon KB, Hardiman G, et al. A new class of membrane-bound chemokine with a CX3C motif [J]. Nature, 1997, 385(6617): 640-644.
- [12] Jiang JX, Zhang Y, Ji SH, et al. Kinetics of mitogen-activated protein kinase family in lipopolysaccharide-stimulated mouse Kupffer cells and their role in cytokine production [J]. Shock, 2002, 18(4): 336-341.
- [13] Van der Vorst EP, Vanags LZ, Dunn LL, et al. High-density lipoproteins suppress chemokine expression and proliferation in human vascular smooth muscle cells [J]. FASEB J, 2013, 27(4): 1413-1425.
- [14] 宋菲,张蓓,马莉,等.槲皮素和姜黄素对脓毒症大鼠炎症因子的影响[J].中国中西医结合急救杂志,2012,19(4):216-219.
- [15] 于淼淼,吴伟.姜黄素与地塞米松对百草枯中毒大鼠肺组织损伤治疗作用的对比研究[J].中国中西医结合急救杂志,2009,16(5):299-301.
- [16] 陶珮,尹海燕,马永辉.姜黄素对脓毒症大鼠肝细胞线粒体膜通透性转换的作用机制研究[J].中华危重病急救医学,2014,26(9):666-670.
- [17] 李帅帅,孙军.PI3K/AKT/mTOR 信号传导通路在姜黄素抑制人肝癌细胞 Cox-2 表达中的作用[J].解放军医学杂志,2014,39(1):30-34.
- [18] 黄葱葱,陈果,吴艳,等.p-ERK1/2-AP-1 通路在姜黄素抗大鼠糖尿病神经病理理性痛中的作用[J].中国病理生理杂志,2011,27(6):1143-1148.
- [19] 许灿新,王春,朱炳阳,等.姜黄素通过阻断 NF- κ B 减少 IL-1 β 诱导的内皮脂酶表达[J].中国药理学通报,2008,24(1):75-79.
- [20] 薛昀,吴新民,张生锁,等.内毒素预处理对大鼠急性肺损伤的影响.中国危重病急救医学,2004,16(6):361-363.
- [21] 林梅瑟,陈碧新,赵志光,等.姜黄素对动脉粥样硬化家兔核转录因子- κ B 的影响.中国中西医结合急救杂志,2007,14(2):95-98.
- [22] 王灵聪,张微,夏国莲,等.姜黄素对急性肺栓塞大鼠炎症因子的影响[J].中医杂志,2013,54(6):506-508.
- [23] 王灵聪,张微,吴建浓,等.姜黄素对急性肺栓塞大鼠细胞外调节蛋白激酶、三磷酸肌醇激酶、蛋白激酶 B 的影响[J].中医杂志,2013,54(18):67-70.
- [24] 王灵聪,黄立权,孙晨,等.姜黄素对肺血栓栓塞症大鼠肺组织不规则趋化因子的影响[J].中华危重病医学杂志(电子版),2011,4(6):4-8.
- [25] 张微,赖志珍,王灵聪.姜黄素对急性肺栓塞大鼠核转录因子 kappa B 的影响[J].中华中医药学刊,2014,32(9):2216-2218.

(收稿日期:2014-12-25)

(本文编辑:李银平)

• 读者 • 作者 • 编者 •

本刊关于临床试验和伦理的一般要求

临床试验注册号应是从 WHO 认证的一级临床试验注册中心获得的全球唯一的注册号。临床试验注册号排印在摘要结束处。以“临床试验注册”(Trial registration)为标题(字体、字号与摘要的其他小标题相同),写出注册机构名称和注册号。前瞻性临床试验研究的论著摘要应含有 CONSORT 声明(Consolidated Standards of Reporting Trial;http://www.consort-statement.org/home)列出的基本要素。医学伦理问题及知情同意须遵循医学伦理基本原则。当论文的主体是以人为研究对象时,作者应说明其遵循的程序是否符合赫尔辛基宣言以及负责人体试验的委员会(单位性的、地区性的或国家性的)所制订的伦理学标准。提供该委员会的批准文件(批准文号著录于论文中)及受试对象或其亲属的知情同意书。