

# 清心饮对柯萨奇 B<sub>3</sub> 病毒感染心脏微血管内皮细胞的保护作用

俞燕<sup>1,2</sup>, 刘强<sup>1\*</sup>, 杨吕洪<sup>1</sup> (1.浙江中医药大学附属第一医院, 杭州 310006; 2.桐庐县中医院, 桐庐 311500)

**摘要:** 目的 研究清心饮对柯萨奇 B<sub>3</sub> 病毒(Coxsackievirus B<sub>3</sub>, CVB<sub>3</sub>)感染心脏微血管内皮细胞(cardiac microvascular endothelial cells, CMVECs)的保护作用。方法 采用 RT-PCR 检测 CVB<sub>3</sub> RNA, 应用倒置显微镜观察 CMVECs 形态, CCK8 检测细胞活性, 选择清心饮最佳干预时间点和稀释浓度。在最佳条件下通过免疫荧光法、Western blot 法检测内皮细胞标志物 CD31, 间充质细胞标志物  $\alpha$ -SMA 的表达。结果 CVB<sub>3</sub> 能在 CMVECs 中持续性复制, 清心饮最佳干预时间点和浓度分别是 72 h 和 20% 含药血清。与空白组比较, CVB<sub>3</sub> 组 CMVECs 形态固缩、变异, CD31 表达减弱,  $\alpha$ -SMA 表达增强; 与空白血清组比较, 清心饮血清组 CMVECs 形态趋于正常, CD31 表达增强,  $\alpha$ -SMA 表达减弱。结论 清心饮可抑制 CVB<sub>3</sub> 感染 CMVECs 发生内皮细胞转分化, 对 CMVECs 具有保护作用。

**关键词:** 清心饮; 柯萨奇 B<sub>3</sub> 病毒; 心脏微血管内皮细胞; 内皮细胞转分化

**中图分类号:** R965.2 **文献标志码:** B **文章编号:** 1007-7693(2017)01-0020-05

**DOI:** 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.01.006

## Protective Effects of Qinxin Decoction on Cardiac Microvascular Endothelial Cells Infected by Coxsackievirus B<sub>3</sub>

YU Yan<sup>1,2</sup>, LIU Qiang<sup>1\*</sup>, YANG Lyuhong<sup>1</sup> (1. The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, China; 2. Tonglu Hospital of TCM, Tonglu 311500, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To research the protective effects of Qinxin decoction on CMVECs infected by Coxsackievirus B<sub>3</sub> (CVB<sub>3</sub>). **METHODS** CVB<sub>3</sub> RNA were detected by RT-PCR, cells morphology were observed by inverted microscope, cell viability were tested by CCK8 and the best intervention time and concentration of Qinxin decoction were chosen. Then endothelial cells marker-CD31 and mesenchymal cells marker- $\alpha$ -SMA were tested by immunofluorescence and Western blot in optimal conditions. **RESULTS** CVB<sub>3</sub> could be replicated sustainably in CMVECs. The best intervention time and concentration of Qinxin decoction were 72 h and 20% diluted concentration. Compared with that in the blank group, CD31 protein showed a low expression, but  $\alpha$ -SMA showed higher and the cells changed to pyknosis or variation in the group CVB<sub>3</sub>. Compared with that in the blank serum group, CD31 protein showed high expression, but  $\alpha$ -SMA showed lower and the cells grew quite well in the Qinxin decoction serum group. **CONCLUSION** Qinxin decoction could inhibit the process of endothelial-to-mesenchymal transition and has a good protective effect on CMVECs following CVB<sub>3</sub> infection.

**KEY WORDS:** Qinxin decoction; Coxsackievirus B<sub>3</sub>; cardiac microvascular endothelial cells; endothelial-to-mesenchymal transition

病毒性心肌炎(viral myocarditis, VMC)是指因病毒感染引起的弥漫性或局灶性心肌的炎性细胞浸润和其近的心肌纤维坏死或退行性病变, 导致不同程度的心脏和其他系统损害的疾病<sup>[1]</sup>。VMC 最常见的病因是柯萨奇 B<sub>3</sub> 病毒(Coxsackievirus B<sub>3</sub>, CVB<sub>3</sub>), 既往多研究 CVB<sub>3</sub> 对心肌细胞的损伤<sup>[2-3]</sup>, 而心脏微血管内皮细胞(cardiac microvascular endothelial cells, CMVECs)是心肌细胞的最后一层屏障, 研究证实 CVB<sub>3</sub> 可通过感染 CMVECs, 进而侵入心肌细胞引起 VMC<sup>[4-5]</sup>。此外, CMVECs 在病理情况下还可以向间充质细胞转化, 从而加

重心肌纤维化进程<sup>[6-7]</sup>, 如高血压、高血糖可诱发内皮细胞转分化产生心肌纤维化<sup>[8-9]</sup>。鉴于此, 进一步研究 CMVECs 在病毒感染环境中的变化, 对于进一步阐明 VMC 的发病机制有重要意义。

清心饮是由第一批国家级名老中医经验指导老师陆芷青教授的经验方化裁而来, 具有益气养阴, 清心活血作用, 主要由生晒参、丹参、苦参等组成, 其对 VMC 具有明显的抗病毒与保护心肌细胞作用。以往研究集中在清心饮改善 CVB<sub>3</sub> 对心肌细胞损伤的机制<sup>[10-11]</sup>, 而对内皮细胞损伤机制的研究甚少。因此, 本实验研究清心饮对 CVB<sub>3</sub>

**基金项目:** 浙江省自然科学基金项目(LY13H270013)

**作者简介:** 俞燕, 女, 硕士生, 住院医师 Tel: (0571)86620296  
硕士, 主任中医师 Tel: (0571)86620296 E-mail: lq\_925@163.com

E-mail: yuyan074843209@126.com \*通信作者: 刘强, 男, 博士,

感染内皮细胞的保护作用。

## 1 仪器与材料

### 1.1 材料与试剂

细胞和病毒 CMVECs, CVB<sub>3</sub> 由上海复旦大学附属中山医院卫生部病毒性心脏病重点实验室惠赠;清心饮(生晒参、苦参、丹参)由浙江省中医院钱松阳主任中药师鉴定及提供,浙江中医药大学药学院制剂重点实验室制备浓缩,得 1.5 g·mL<sup>-1</sup> 药液,置 4℃ 冰箱储存备用。

DMEM 培养液(杭州吉诺生物医药技术有限公司);胎牛血清(浙江天杭生物科技有限公司),胰蛋白酶(中山医院配置)。BCA 蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);CCK8(日本同仁化学研究所);PVDF 膜(美国 Milipore);ECL 试剂[天根生化科技(北京)有限公司];牛血清蛋白[生工生物工程(上海)股份有限公司];CD31 一抗(美国 ABCAM); $\alpha$ -SMA 一抗(美国 ABCAM);GAPDH 抗体(美国 Proteintech);辣根过氧化物酶标记二抗兔抗小鼠 IgG(中山医院实验室)。

### 1.2 动物

SPF 级 SD 大鼠,♂,动物许可证号:SYXK(浙)2013-0184,36 只,体质量(300±30)g,购于浙江中医药大学动物实验中心。

### 1.3 仪器和设备

SCV-4AX 型超净台(美国 Streamline);CLASS II 生物安全柜(美国 ESCD);3111 型 CO<sub>2</sub> 培养箱(美国 Thermo Forma);XPS-18 倒置生物显微镜(日本 COIC);NP-2 型倒置显微镜拍照系统(日本 Nikon);DMR 型倒置荧光显微镜系统(德国 Leica);MDF-U338-C 型低温冰箱(日本 SANYO);702 型 -80℃ 超低温冰箱(美国 Thermo Forma);多功能全波长酶标仪系统(美国 Thermo Forma);蛋白印记检测系统(美国 Bio-Rad)。

## 2 方法

### 2.1 清心饮含药血清的制备

SD 健康大鼠 36 只,随机分为 2 组,给药组和空白组,每组 18 只,给药组清心饮灌胃,剂量为生药 12 g·kg<sup>-1</sup>,空白组生理盐水灌胃,每天 1 次,连续 7 d,制备血清前禁食 12 h,末次灌胃 2 h 后取血。取血时,10%水合氯醛麻醉,腹主动脉取血,静置 30 min,3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,小心吸取血清,0.45  $\mu$ m 过滤灭菌,56℃ 水浴 30 min 灭活补体,-20℃ 备用。

### 2.2 细胞培养及分组

CMVECs 在 37℃,5% CO<sub>2</sub> 条件下,常规培养于含 10%胎牛血清 DMEM 内皮专用培养液,含青霉素、链霉素。待细胞长满时,用含 0.02%EDTA 的 0.25%胰蛋白酶溶液进行消化、传代,取生长良好的细胞进行实验,每组实验做复孔 3 个,重复 3 次。

分组如下:空白对照组, CVB<sub>3</sub> 组(CVB<sub>3</sub>), CVB<sub>3</sub>+空白血清组(CVB<sub>3</sub>+S), CVB<sub>3</sub>+低剂量含药血清组(CVB<sub>3</sub>+5%DS), CVB<sub>3</sub>+中剂量含药血清组(CVB<sub>3</sub>+10%DS), CVB<sub>3</sub>+高剂量含药血清组(CVB<sub>3</sub>+20%DS)。其中 CVB<sub>3</sub> 代表柯萨奇 B3 病毒,DS 代表含清心饮大鼠血清,S 代表不含清心饮大鼠血清。

### 2.3 细胞形态观察

CMVECs 接种于 48 孔板,于 CO<sub>2</sub> 培养箱 37℃ 恒温培养 24 h,空白对照组更换培养基,其余组更换 100TCID<sub>50</sub>CVB<sub>3</sub>,在 37℃ 下使细胞吸附 2 h;弃去病毒液,更换干预培养液(如“2.2”项下分组加入干预培养液),于 24, 48, 72 h 在倒置显微镜下观察细胞形态,并拍照留存。

### 2.4 CCK8 检测

CMVECs 接种于 96 孔板,于 CO<sub>2</sub> 培养箱中 37℃ 恒温培养 24 h,空白对照组更换培养基,其余组更换 100TCID<sub>50</sub>CVB<sub>3</sub> 病毒液,病毒感染 2 h 后弃去并加入干预培养液,分别于病毒感染后 24, 48, 72 h 进行细胞活性的检测(实验设计 3 个复孔,重复 3 次)。于观察时间点加入 CCK8 溶液( $V_{\text{CCK8}}/V_{\text{培养液}}=1:10$ ),37℃ 温育 2 h,酶标仪 450 nm 处测吸光度。细胞活性(%)=(实验孔 OD 值-空白孔 OD 值)/(对照孔 OD 值-空白孔 OD 值)×100%选取最佳时间点和稀释浓度作为下一步实验基础。

### 2.5 RT-PCR 检测

6 孔板接种 CMVECs 稳定培养,空白对照组更换培养基,其余组加入含 100TCID<sub>50</sub>CVB<sub>3</sub> 培养液干预 2 h,弃去病毒液,加入培养液持续培养 24, 48, 72 h。提取总 RNA,以 GAPDH 为内参,逆转录后进行 PCR 转录,引物序列分别如下: GAPDH: 5-GGAACTGTGGCGTGATGGCCG-3, 5-GTTGGCAGTGGGGACACGAAG-3; CVB<sub>3</sub>: 5-GAACACCCAAGATCACGTGCGC-3, 5-GTCCAACCACTTCCTGCGTAGAG-3。逆转录条件:37℃ 15 min, 85℃ 5 s,得到的 cDNA 置于冰上备用。

PCR 反应体系: 2×SYBR PCR Mix 12.5 μL, PCR 特异引物 1 μL, 2 μL cDNA, 加水至总体积 25 μL。数据采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法分析。

## 2.6 免疫荧光检测

24 孔板接种 CMVECs 稳定培养, 加入含 100TCID<sub>50</sub>CVB<sub>3</sub> 培养液干预 2 h, 弃去病毒培养液, 加入干预培养液, 培养 72 h 后使用 4%多聚甲醛固定 10 min, 5%的牛血清蛋白覆盖细胞封闭 30 min, TBST 洗涤 3 次 10 min, 滴加适当比例稀释的 CD31 一抗, 4 ℃过夜, 滴加适当比例的荧光二抗, 荧光显微镜下观察。

## 2.7 Western blot 检测

6 孔板接种 CMVECs 稳定培养, 加入含 100TCID<sub>50</sub>CVB<sub>3</sub> 培养液干预 2 h, 弃去病毒培养液, 加入干预培养液, 培养 72 h 后制备蛋白, 检测蛋白浓度。取约 30 μg 跑 10%SDS-PAGE 电泳凝胶, 转 PVDF 膜, 转膜后, 3%胎牛血清蛋白封闭 1.5 h, CD31 一抗适当浓度孵育 4 ℃过夜, TBST 洗涤 3 次 10 min, 二抗孵育 1.5 h, TBST 洗涤 3 次 10 min, ECL 法显影, GAPDH 为内参蛋白。

## 2.8 统计

所有数据均用  $\bar{x} \pm s$  表示, 用 SPSS 22.0 进行统计学处理。组间比较用双侧  $t$  检验,  $P < 0.05$  和  $P < 0.01$  为有显著性差异。

# 3 结果

## 3.1 RT-PCR 检测

RT-PCR 显示, CVB<sub>3</sub> 感染 CMVECs, 在一定时间范围内, CVB<sub>3</sub> RNA 能在 CMVECs 中持续性复制, 结果见图 1。

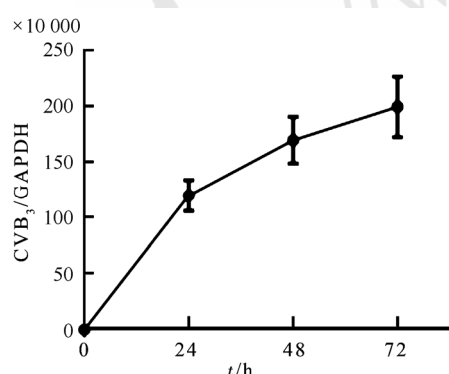


图 1 各时间段被感染的 CMVECs 检出 CVB<sub>3</sub> RNA 趋势  
Fig. 1 Trends of CVB<sub>3</sub> RNA detected on infected CMVECs at each time point

## 3.2 细胞形态

倒置显微镜下观察, 空白对照组 CMVECs 长

势致密, 呈鹅卵石样生长; 与空白对照组比较, CVB<sub>3</sub> 组细胞形态受损, 呈圆形固缩或纺锤形扁平变异, 增殖明显减少。与 CVB<sub>3</sub>+S 组比较, 含药血清浓度越大细胞排列越致密, 增殖越显著, 结果见图 2。

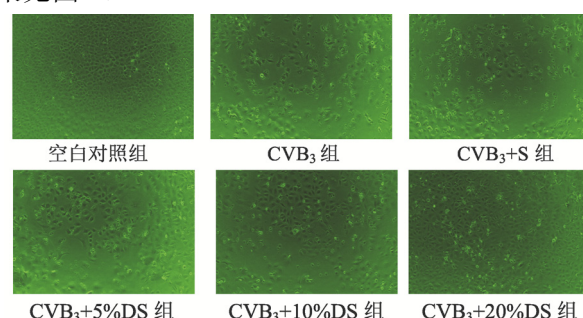


图 2 72 h 时各组 CMVECs 的显微形态学(200×)

Fig. 2 Microscopic morphology of CMVECs at 72 h(200×)

## 3.3 CCK8 法检测

CCK8 检测结果显示, 在一定时间内, 与空白对照组比较, CVB<sub>3</sub> 组细胞活性下降; 与 CVB<sub>3</sub>+S 组相比, 含药血清组细胞活性升高, 且 CVB<sub>3</sub>+20%DS 组 72 h 细胞活性最高( $P < 0.01$ ), 结果见图 3。综合表明, 清心饮最佳血清浓度为 20%, 最佳干预时间为 72 h, 可进行下一步实验。

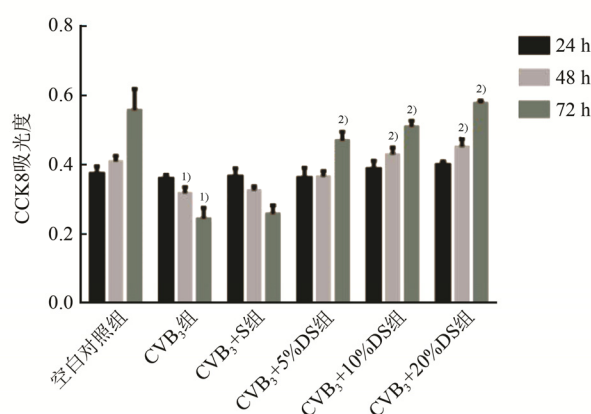


图 3 不同浓度清心饮干预下的 CMVECs 的 CCK8 吸光度与空白对照组比较, <sup>1)</sup> $P < 0.01$ ; 与 CVB<sub>3</sub> 组比较, <sup>2)</sup> $P < 0.01$ 。

Fig. 1 CCK8 absorbance of CMVECs intervened by Qingxin decoction with different concentrations Compared with control group, <sup>1)</sup> $P < 0.01$ ; compared with CVB<sub>3</sub> group, <sup>2)</sup> $P < 0.01$ .

## 3.4 免疫荧光法检测

免疫荧光检测结果显示, 空白对照组内皮细胞标志物 CD31 表达明显, 间充质细胞标志物  $\alpha$ -SMA 几乎无表达; 与空白对照组比较, CVB<sub>3</sub> 组 CD31 表达显著减弱,  $\alpha$ -SMA 表达显著增强; 与 CVB<sub>3</sub>+S 组比较, CVB<sub>3</sub>+DS 组 CD31 表达明显,

$\alpha$ -SMA 表达下降, 结果见图 4。

### 3.5 Western blot 检测

与空白对照组比较, CVB<sub>3</sub> 组 CD31 蛋白表达

降低,  $\alpha$ -SMA 蛋白表达升高; 与 CVB<sub>3</sub>+S 组比较, CVB<sub>3</sub>+DS 组 CD31 蛋白表达升高,  $\alpha$ -SMA 蛋白表达降低, 结果见图 5。

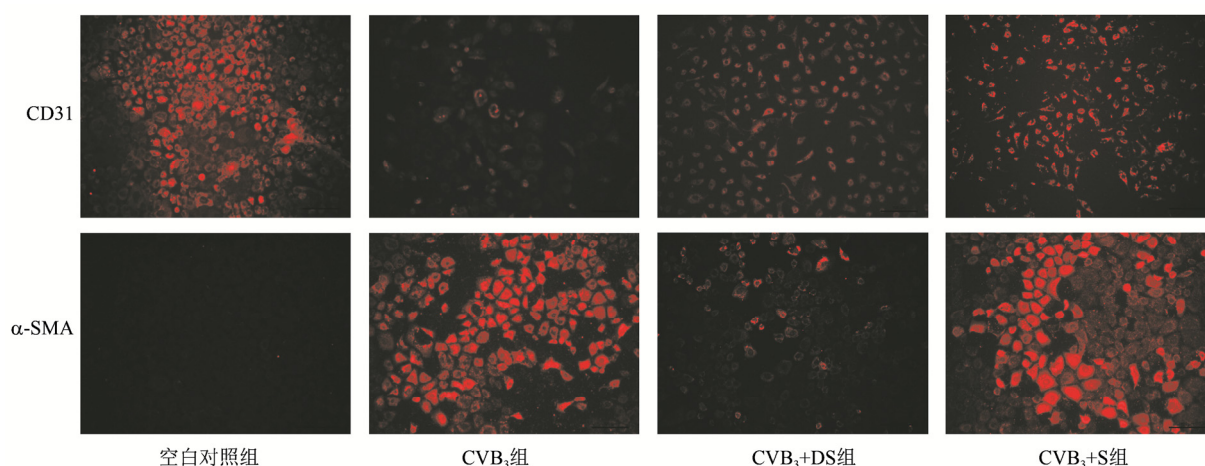


图 4 清心饮参与 CVB<sub>3</sub> 感染 CMVECs 的 CD31 和  $\alpha$ -SMA 表达

Fig. 4 The expression of CD31 and  $\alpha$ -SMA in CMVECs with CVB3 treated by Qingxin decoction

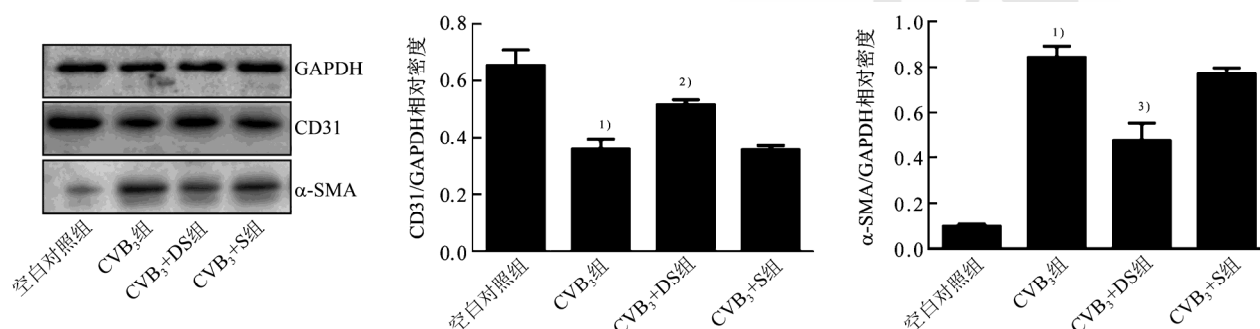


图 5 清心饮参与 CVB<sub>3</sub> 感染 CMVECs 的 CD31 和  $\alpha$ -SMA 表达

与空白对照组比较, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; 与 CVB<sub>3</sub>+S 组比较, <sup>2)</sup> $P<0.01$ , <sup>3)</sup> $P<0.05$ 。

Fig. 5 The expression of CD31 and  $\alpha$ -SMA in CMVECs with CVB3 treated by Qingxin decoction

Compared with control group, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; compared with CVB<sub>3</sub>+S group, <sup>2)</sup> $P<0.01$ , <sup>3)</sup> $P<0.05$ .

## 4 讨论

VMC 发生和发展的机制复杂, 目前尚未完全阐明<sup>[12-13]</sup>。其中 CMVECs 在 VMC 早期扮演着重要角色。在病毒感染的病理变化中, CMVECs 出现固缩、凋亡<sup>[14]</sup>。此外, 还可引起 CMVECs 炎症改变, 进而内皮细胞黏附, 后期出现心肌细胞损伤, 其作为屏障功能发挥着保护心肌细胞的作用<sup>[15-16]</sup>。本实验结果发现, CVB<sub>3</sub> 感染 CMVECs 后, CMVECs 中的 CVB<sub>3</sub> RNA 呈持续性复制, CVB<sub>3</sub> 组细胞形态固缩、变异, 活力下降。实验结果与文献所得一致, 提示 CVB<sub>3</sub> 感染 CMVECs 破坏其屏障功能。

CMVECs 受 CVB<sub>3</sub> 感染后, 亦可由内皮细胞向间充质细胞转化, 最终发展为纤维化细胞<sup>[17]</sup>。内皮细胞标志物 CD31, 又称血小板/内皮细胞黏附

分子(platelet/endothelial cell adhesion molecule-1, PECAM-1/CD31), 是连接内皮细胞, 维持血管屏障通透性的重要分子<sup>[18]</sup>。间充质细胞标志物  $\alpha$ -SMA 是心肌纤维细胞的标志物, 其表达强度与心肌纤维化程度相关<sup>[19-20]</sup>。研究发现, 疱疹病毒亦可使淋巴管的内皮细胞向间充质细胞转化<sup>[21]</sup>。本实验结果发现 CVB<sub>3</sub> 感染 CMVECs 后, 内皮细胞标志物 CD31 表达减弱, 间充质细胞标志物  $\alpha$ -SMA 表达增强, 提示 CVB<sub>3</sub> 感染能引起 CMVECs 发生内皮细胞转分化。

VMC 归属于中医学“心悸”、“怔忡”的范畴, 其病机特点在急性期多认为是热毒壅盛, 气阴受损; 慢性期则为气阴两伤, 瘀热内结; 最终发展至阴阳俱虚, 水饮瘀血互结, 机体衰败。清心饮具有益气养阴, 清热活血作用, 主要由生晒参,

丹参, 苦参组成。其中方中生晒参具有培本固元, 益气养阴之效, 切中病机, 为方中君药; 苦参性味苦寒, 归心经, 故能泻心经之火而解热毒, 两药相配合, 一清一补, 祛邪而不伤正; 丹参《神农本草经》将其列为上品,《日华子本草》称其功能为“养神定志、通利关脉……治血邪心烦”。既可清热凉血, 又可养血活血散瘀, 安神宁心, 与苦参同为方中臣药。丹参入心经又可作为使药, 引诸药直达病所。清心饮能抑制 CVB<sub>3</sub> 感染心肌细胞, 减轻病毒对心肌的直接损害<sup>[22]</sup>, 能够调节 VMC 小鼠紊乱的细胞免疫功能, 从而减轻心肌病变<sup>[23]</sup>。本实验研究发现 CVB<sub>3</sub> 感染后, 清心饮含药血清能抑制 CMVECs 形态固缩和细胞死亡, 提示清心饮能加强内皮细胞屏障功能; 同时 CD31 表达上升,  $\alpha$ -SMA 表达下降, Western blot 试验结果亦显示相同趋势, 提示清心饮可抑制 CVB<sub>3</sub> 感染 CMVECs 发生内皮细胞转分化。

综上所述, 清心饮对 CVB<sub>3</sub> 感染的 CMVECs 具有保护作用, 这可能也是清心饮治疗 VMC 的作用机理之一。而清心饮抑制 CVB<sub>3</sub> 感染 CMVECs 发生内皮细胞转分化的作用机制尚不明确, 可能与多条信号通路调控有关, 仍需进一步研究。

## REFERENCES

- [1] PAN L H, LI C H. The dynamic study of mice myocarditis induced by CVB-3 [J]. Shandong Med J(山东医药), 2007, 47(28): 28-29.
- [2] CHEN B T, ZHU R J, YANG H Y, et al. Effect of OMT on apoptosis and its protein Bcl-2 and Bax of myocardium in mice with viral myocarditis [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2016, 33(2): 162-165.
- [3] DONG N, DONG C, XIONG S. Janus effects of ADAR1 on CVB3-induced viral myocarditis at different infection stages [J]. Int J Cardiol, 2016(223): 898-905.
- [4] XIE Y, LIAO J, LI M, et al. Impaired cardiac microvascular endothelial cells function induced by Coxsackievirus B3 infection and its potential role in cardiac fibrosis [J]. Virus Res, 2012, 169(1): 188-194.
- [5] ZANONE M M, FAVARO E, CONALDI P G, et al. Persistent infection of human microvascular endothelial cells by coxsackie B viruses induces increased expression of adhesion molecules [J]. J Immunol, 2003, 171(1): 438-446.
- [6] SHIRAKINARA T, HORIQUCHIK, MIYAZOWA K, et al. TGF- $\beta$  regulates isoform switching of FGF receptors and epithelial-mesenchymal transition [J]. EMBO J, 2011, 30(4): 783-795.
- [7] CHUA K N, POON K L, LIM J, et al. Target cell movement in tumor and cardiovascular diseases based on the epithelial-mesenchymal transition concept [J]. Adv Drug Deliver Rev, 2011, 63(8): 558-567.
- [8] WU M, PENG Z, ZU C, et al. Losartan attenuates myocardial endothelial-to-mesenchymal transition in spontaneous hypertensive rats via inhibiting tgf- $\beta$ /smad signaling [J]. PLoS One, 2016, 11(5): 1-13.
- [9] CHEN X Y, LYU R J, ZHANG W, et al. Inhibition of myocyte-specific enhancer factor 2A improved diabetic cardiac fibrosis partially by regulating endothelial-to-mesenchymal transition [J]. Oncotarget, 2016, 7(21): 31053-31066.
- [10] 刘强, 程志清. 清心饮及其含药血清对培养大鼠心肌细胞感染柯萨奇 B3 病毒的保护作用[J]. 中国中医药科技, 1999, 6(1): 13-16.
- [11] 程志清, 刘强, 杨英珍. 清心饮对培养大鼠心肌细胞感染柯萨奇 B3 病毒的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 1998, 6(18): 51-53.
- [12] HEYMANS S. Inflammation and cardiac remodeling during viral myocarditis [J]. Ernst Schering Res Found Workshop, 2006(55): 197-218.
- [13] TAVARES P S, ROCON-ALBUQUERQUE R J R, LEITE-MOREIRA A F. Innate immune receptor activation in viral myocarditis: pathophysiologic implications [J]. Rev Port Cardiol, 2010, 29(1): 57-78.
- [14] RAY R B, BASU A, STEELE R, et al. Ebola virus glycoprotein-mediated anoikis of primary human cardiac microvascular endothelial cells [J]. Virology, 2004, 321(2): 181-188.
- [15] FRUSTACI A, PETROSILLO N, VIZZA D, et al. Myocardial and microvascular inflammation/infection in patients with HIV-associated pulmonary artery hypertension [J]. AIDS, 2014, 28(17): 2541-2549.
- [16] WEI L, YIN Z, YUAN Y, et al. A PKC-beta inhibitor treatment reverses cardiac microvascular barrier dysfunction in diabetic rats [J]. Microvasc Res, 2010, 80(1): 158-165.
- [17] ZEISBERG E M, KALLURI R. Origins of cardiac fibroblasts [J]. Circ Res, 2010, 107(11): 1304-1312.
- [18] LERTKIATMONGKOL P, LIAO D, MEI H, et al. Endothelial functions of platelet/endothelial cell adhesion molecule-1 (CD31) [J]. Curr Opin Hematol, 2016, 23(3): 253-259.
- [19] ZHANG M, PAN X, ZOU Q, et al. Notch3 ameliorates cardiac fibrosis after myocardial infarction by inhibiting the TGF- $\beta$ 1/Smad3 Pathway [J]. Cardiovasc Toxicol, 2015, 16(4): 316-324.
- [20] ALJINOVIĆ J, VUKOJEVIĆ K, KOSTA V, et al. Histological differences in healing following experimental transmural infarction in rats [J]. Histo Histopathol, 2010, 25(12): 1507-1517.
- [21] CHENG F, PEKKONEN P, LAURINAVICIUS S, et al. KSHV-initiated notch activation leads to membrane-type-1 matrix metalloproteinase-dependent lymphatic endothelial-to-mesenchymal transition [J]. Cell Host Microbe, 2011, 10(6): 577-590.
- [22] 程志清, 刘强. 用血清药理学方法观察清心饮对培养大鼠心肌细胞感染柯萨奇 B3 病毒的影响[J]. 中医杂志, 1999, 40(1): 47-49.
- [23] LIU Q, CHENG Z Q, YE W. Effect of Qingxin capsule on differentiation of Th cell in the course of viral myocarditis [J]. Chin J Immunol(中国免疫学杂志), 2005, 21(6): 455-459.

收稿日期: 2016-07-20