

- 477-486.
- [10] Bianchi A, Gervasi ME, Bakin A. Role of $\beta 5$ -integrin in epithelial-mesenchymal transition in response to TGF- β [J]. *Cell Cycle*, 2010, 9 (8): 1647-1659.
- [11] Blick T, Hugo H, Widodo E, et al. Epithelial mesenchymal transition traits in human breast cancer cell lines parallel the CD44 (hi/) CD24 (lo/-) stem cell phenotype in human breast cancer [J]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2010, 15 (2): 235-252.
- [12] Bokobza SM, Ye L, Kynaston H, et al. Growth and differentiation factor 9(GDF-9) induces epithelial-mesenchymal transition in prostate cancer cells [J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 349(1-2): 33-40.
- [13] Savagner P. Leaving the neighborhood: molecular mechanisms involved during epithelial-mesenchymal transition [J]. *Bioessays*, 2001, 23: 912-923.
- [14] Bellovin DI, Bates RC, Muzikansky A, et al. Altered localization of p120 catenin during epithelial to mesenchymal transition of colon carcinoma is prognostic for aggressive disease [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(23): 10938-10945.
- [15] Behrens J. The role of the Wnt signaling pathway in colorectal tumorigenesis [J]. *Biochemical Society Transactions*, 2005, 33: 672-675.

(编辑: 宋威)

温阳活血解毒复方对人脐静脉内皮细胞功能的影响

洪永敦¹, 黎智文¹, 陈爽¹, 赵春晓², 叶子青¹, 黄瑞莉¹ (1. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州, 510405; 2. 千叶大学大学院医学研究院, 日本 千叶市, 2608670)

摘要: **目的** 研究温阳活血解毒复方对人脐静脉内皮细胞(HUVECs)增殖、迁移及细胞管形成功能的影响, 从细胞层面探讨温阳活血解毒复方治疗动脉粥样硬化机制。**方法** 将SD大鼠随机分为空白对照组、温阳活血解毒复方低、中、高剂量组(剂量分别为 10.35, 31.05, 93.15 g·kg⁻¹, 每天分2次灌胃给药), 于第4天首次灌胃2h后采血制备含药血清, 采用CCK8法、Transwell迁移试验、bFGF诱导细胞管形成试验分别观察含药血清对HUVECs增殖、迁移及细胞管形成功能的影响。**结果** 温阳活血解毒复方含药血清对HUVECs的增殖起到抑制作用, 与空白对照组比较, 低、中、高剂量组的含药血清对HUVECs的抑制率均明显升高($P < 0.05$), 且两两比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 呈浓度依赖型。在迁移方面, 温阳活血解毒复方组迁移细胞数减少, 与空白对照组比较, 高剂量组差异有统计学意义($P < 0.05$)。在细胞管形成方面, 与模型组比较, 温阳活血解毒复方组细胞管数明显减少, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 与空白对照组比较, 低、高剂量组差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 温阳活血解毒复方含药血清可抑制HUVECs的增殖、迁移及细胞管形成, 起到稳定动脉粥样硬化斑块的作用; 此外, 其可能与bFGF产生协同作用, 共同促进新生血管成熟, 发挥稳定斑块的作用。

关键词: 温阳活血解毒复方; 人脐静脉内皮细胞; 动脉粥样硬化; 血管新生; 细胞因子

doi: 10.19378/j. issn. 1003-9783. 2016. 04.0

Effects

Effect of Wengyang-Huoxue-Jiedu formula (WHJF) on the functions of HUVECs

HONG Yong dun¹, LI Zhiwen¹, CHEN Shuang¹, ZHAO Chunxiao², YE Ziqing¹, HUANG Ruili¹ (1. The First Affiliated hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China; 2. Graduate school of medicine of Chiba University, Chiba 2608076, Japan)

effects

Abstract objective to investigate the effect of pharmacological serum of Wengyang-Huoxue-Jiedu formula (WHJF) on the functions of HUVECs. **Methods** The SD rats were randomly divided into four groups: the control group (C group), low-dose WHJF group (L group), middle-dose WHJF group (M group), high-dose WHJF group (H group),

收稿日期: 2016-05-10

作者简介: 洪永敦, 教授, 主任中医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 中西医结合防治心血管病研究; Email: hongyongdun@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金(81273737)。

which were respectively treated with normal saline, WHJF ($10.35\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $31.05\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $93.15\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) twice a day. Pharmacological serum, used for all experiments, was taken from rats treated with the WHJF on the fourth day at 2 hour after first oral administration. The functions of cell proliferation, migration and tube formation were evaluated by CCK-8 assay, transwell-assay and bFGF-tube formation respectively. Results Pharmacological serum of WHJF exerted an inhibitory effect on proliferation, it was found that the inhibit rate of the L, M, H groups was significant difference compared to the C group ($P < 0.05$). The number of migrated cells in WHJF groups was lower than the C group. However, only the H group exerted an obvious arrest on the cell migration compared the C group ($P < 0.05$). Moreover, pharmacological serum of WHJF can stabilize the neovascularization, which induced by bFGF, in certain degree. Conclusion the pharmacological serum of WHJF exhibited inhibition of proliferation, migration in HUVECs, and stabilize the neovascularization, which induced by bFGF, in certain degree.

less

Keywords: Wengyang-Huoxue-Jiedu formula; Human Umbilical Vein Endothelial Cells; Proliferation; Migration; Atherosclerosis; Angiogenesis; Cytokines

温阳活血解毒法^[1-2]是结合汉唐时期对心痛病的认识及岭南地区冠心病证候的特点提出的,其复方在临床治疗冠心病取得了一定的疗效^[3],并能稳定冠状动脉粥样硬化动物模型的血管斑块,缓解斑块形成^[4]。血清药理学方法可模拟中药在人体内消化、吸收、代谢的变化过程,是一种研究成分较为复杂的中药复方的重要实验方法。本实验按照血清药理学“通法”制备含药血清^[5],以研究温阳活血解毒复方对人脐静脉血管内皮细胞(HUVECs)功能的影响,从细胞层面进一步阐明其治疗动脉粥样硬化的机制。

1 材料与方

1.1 动物 SD大鼠,雌性,体质量(180 ± 20)g,购自广州中医药大学实验动物中心,批号:00094739。

1.2 细胞 人脐静脉血管内皮细胞(HUVECs),购自广州吉妮欧生物科技有限公司,批号:13710710356。

1.3 试剂 北美胎牛血清(批号:1227693),0.25%胰蛋白酶/EDTA(批号:25200056),青霉素/链霉素双抗溶液(批号:1572281),高糖培养基DMEM(批号:626353),均为Gibco公司产品;PBS缓冲液(Hyclone公司);CCK-8试剂盒(日本Dojindo公司,批号:JE603);八因子抗体Anti-Factor VIII antibody(abcam公司,批号:ab139391);SABC免疫组化染色试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司);浓缩型DAB试剂盒(中杉金桥,批号:ZLI-9017);Transwell通透性嵌套(Corning公司);碱性成纤维生长因子bFGF(Prospec公司,批号:414PFGFB06);Basement Membrane Matrix基底膜基质(Corning公司,批号:4034003)。

1.4 仪器 CK40倒置显微镜(日本Olympus公司)、MVC-FD91数字化照相系统(日本索尼公司)、500酶标仪(美国BIO-RAD公司)、8525型 -80°C 超低温冰箱(美国Forma Scientific公司)、TDL-5C低速台式大容量离心机(上海安亭科学仪器厂)、TGL-20000cR高速台式冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂)、NAPCO series 5400细胞培养箱(美国Nuair公司)、水浴箱(德国Memert公司)。

1.5 温阳活血解毒复方的制备 人参10g、桂枝10g、薤白15g、法夏10g、川芎10g、丹参15g、柴胡10g、黄芩10g、连翘15g、炙甘草5g,均购自广州中医药大学第一附属医院药学部,由广州中医药大学第一附属医院实验中心临床药理研究室制备,将桂枝、川芎、薤白加3倍量水浸泡1h,蒸馏,收蒸馏液30mL备用(备用液1);药渣与柴胡、黄芩、连翘、法夏、炙甘草加5倍量水浸泡0.5h,煮2次,第1次1.5h,第2次加水适量煎煮1h,合并2次煎液,过滤;滤液浓缩至药液与药材比例为1:1,加95%乙醇适量使含醇量达65%,静置24h;滤过,回收乙醇至无醇味,浓缩至约150mL备用(备用液2);人参、丹参加3倍量65%乙醇回流提取2次,每次1.5h,合并两次提取液,回收乙醇至无醇味,浓缩至40mL,滤过备用(备用液3),合并备用液1、2、3。过滤,加蒸馏水至220mL即得浓度为 $3\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的所需药液, 4°C 保存。

1.6 含药血清的制备 取SD大鼠12只,按质量分层法随机分为4组,每组3只,即空白对照组和温阳活血解毒复方低、中、高剂量组(10.35 , 31.05 , $93.15\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$),小剂量组为临床等效剂量^[6],空白对照组给

予等量生理盐水, 每天给药 2 次, 间隔 12 h, 连续灌胃 3 d, 于第 4 天首次灌胃 2 h 后, 以 10 % 水合三氯乙醛按 $3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射麻醉, 腹主动脉采血; 静置 1 h 后, $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20 min; 分离血清, 经 56°C 灭活 30 min 后, 用 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤除菌, 置于 -20°C 保存。

1.7 细胞培养 将细胞常规复苏后, 接种于培养瓶, 用含 20 % FBS 培养基, 置 37°C , 5 % CO_2 饱和湿度培养箱内培养。当细胞生长融合度达到 85 %~90 % 时, 用胰蛋白酶消化细胞, 制得单细胞悬液后按照 1 : 2 或 1 : 3 进行传代, 每隔 48 h 更换培养基 1 次; 约 4 d 可传代 1 次。

1.8 指标检测

1.8.1 细胞的鉴定 在 6 孔培养板中放置两块盖玻片, 将生长状态良好的第 3 代 HUVECs 消化后按 1×10^6 个 / 孔接种于盖玻片, 常规培养 24 h, 待细胞贴壁后, 去培养液, PBS 冲洗 3 遍, 加入 4°C 预冷的 95 % 酒精固定 30 min 后, 用 PBS 冲洗 3 次, 每次 2 min; 按照 SABC 免疫组化法, 制作盖玻片, 其中, 实验组用 Anti-Factor VIII antibody (1 : 100) 作为一抗、生物素化兔抗山羊 IgG 作为二抗, 阴性对照组用 PBS 替代一抗; 光学显微镜下观察两组盖玻片并摄影。

1.8.2 细胞增殖抑制实验 采用 CCK-8 法, 取第 7 代对数生长期 HUVECs, 将细胞浓度调整为 $2 \times 10^4 \cdot \text{mL}^{-1}$ 接种于 96 孔板上, 每孔 $100 \mu\text{L}$, 每组设 6 个复孔, 共 4 组; 含 20 % FBS 培养基常规培养 24 h 后弃去旧培养基, 每孔分别加入含 10 % 各实验组血清的培养基 $100 \mu\text{L}$; 置于 37°C 、5 % CO_2 饱和湿度培养箱继续培养 12 h 后; 向每孔分别加入 $10 \mu\text{L}$ 的 CCK8 试剂, 37°C 继续培养 2 h; 冷却至室温后用酶标仪测定在 450 nm 处的 OD 值, 根据 CCK-8 实验说明书计算抑制率。

1.8.3 细胞迁移实验^[7] 取第 7 代对数生长期 HUVECs, 将浓度调整为 $1 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$, 接种于在 Transwell 通透性嵌套上室, 每孔加入 $200 \mu\text{L}$, 每组 3 个复孔, 共 4 组; 下室分别加入含 10 % FBS 及各实验组血清培养基 $600 \mu\text{L}$; 37°C 、5 % CO_2 饱和湿度培养箱培养 24 h 后, 弃去全部培养液, PBS 冲洗 2 遍; 加入 $600 \mu\text{L}$ 甲醛, 固定 30 min; PBS 冲洗 1 遍; 用棉签轻轻擦拭上室上层, 去除上层的细胞; 加入 0.1 % 结晶紫溶液 $600 \mu\text{L}$, 染色 20 min; PBS 缓慢冲洗去染液; 倒置上室, 晾干; 100 倍倒置显微镜下随机取 5 个视野, 拍照, 计数移至微孔膜下层细胞数

并取平均值。

1.8.4 bFGF 诱导细胞管形成实验^[7] 全程冰上操作, 将基底膜基质平铺在 24 孔板上, 每孔 $150 \mu\text{L}$, 放入 37°C 、5 % CO_2 饱和湿度培养箱预处理 30 min; 取第 4 代对数生长期的 HUVECs, 将浓度调整为 $2.5 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ 接种于预处理后的 24 孔板, 每孔加入 $400 \mu\text{L}$; 随后, 其中 1 组只加入 $100 \mu\text{L}$ bFGF 作为模型组, 其余 4 组分别向每孔加入 $50 \mu\text{L}$ bFGF 及各实验组血清 $50 \mu\text{L}$, 共 5 组, 每组 3 个复孔; 37°C 、5 % CO_2 饱和湿度培养箱继续培养 12 h; 100 倍倒置显微镜下随机选取 5 个视野, 观察各组细胞管情况, 拍照计算细胞管数量并取其平均值。

1.9 统计学处理方法 数据以 “ $\bar{x} \pm s$ ” 表示, 采用 SPSS 20.0 统计学软件。多个样本均数比较采用单因素方差分析; 方差齐时, 两两比较采用 LSD 分析, 方差不齐时, 两两比较采用 DunnettT3 分析。

2 结果

2.1 细胞鉴定 对照组人脐静脉内皮细胞贴壁呈单层铺张, 细胞为扁平多角形, 边界清楚, 胞浆丰富, 胞核清晰可见, 为圆形或椭圆形 (图 1A); 与对照组相比, 经 VIII 因子免疫组化染色后, 胞浆内可见棕黄色颗粒 (图 1B、C), 为特异性反应, 证实培养细胞确为人脐静脉内皮细胞。见图 1。

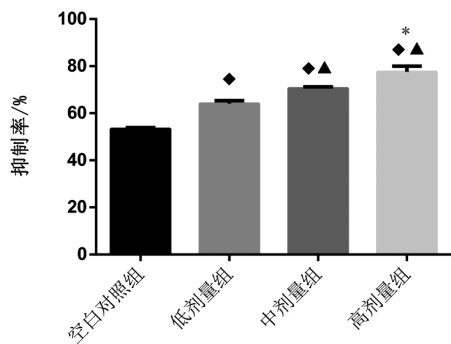


图 1 人脐静脉内皮细胞鉴定 (A.200 ×; B.100 ×; C.400 ×)

Figure 1 Identification of HUVECs.

2.2 温阳活血解毒复方含药血清对内皮细胞增殖的影响 从图 2 可以看出, 温阳活血解毒复方含药血清对 HUVECs 起到负性调节作用, 即抑制作用。低、中、高剂量组的含药血清对 HUVECs 的抑制率分别为 64.1 %、70.6 %、77.6 %, 与空白对照组比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 而且两两比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 呈浓度依赖型。

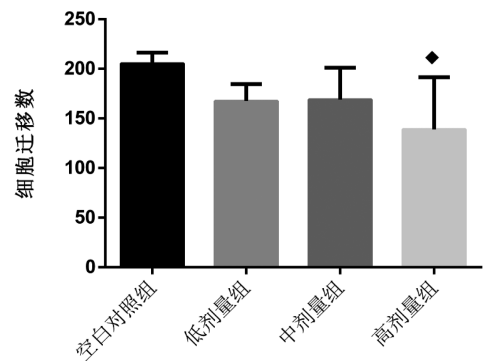
2.3 温阳活血解毒复方含药血清对内皮细胞迁移的影响 从图 3 及图 4 可以看出, 温阳活血解毒复方含药血清对 HUVECs 的迁移能力起到抑制作用。低、中、高剂量组细胞迁移数目分别为 167、169、139 个, 与空白对照组比较, 温阳活血解毒复方高剂量组差异有



注：与空白对照组比较，◆ $P<0.05$ ；与低剂量组比较，▲ $P<0.05$ ；与中剂量组比较，* $P<0.05$ 。

图2 温阳活血解毒复方含药血清对 HUVECs 增殖的影响 (n=6)

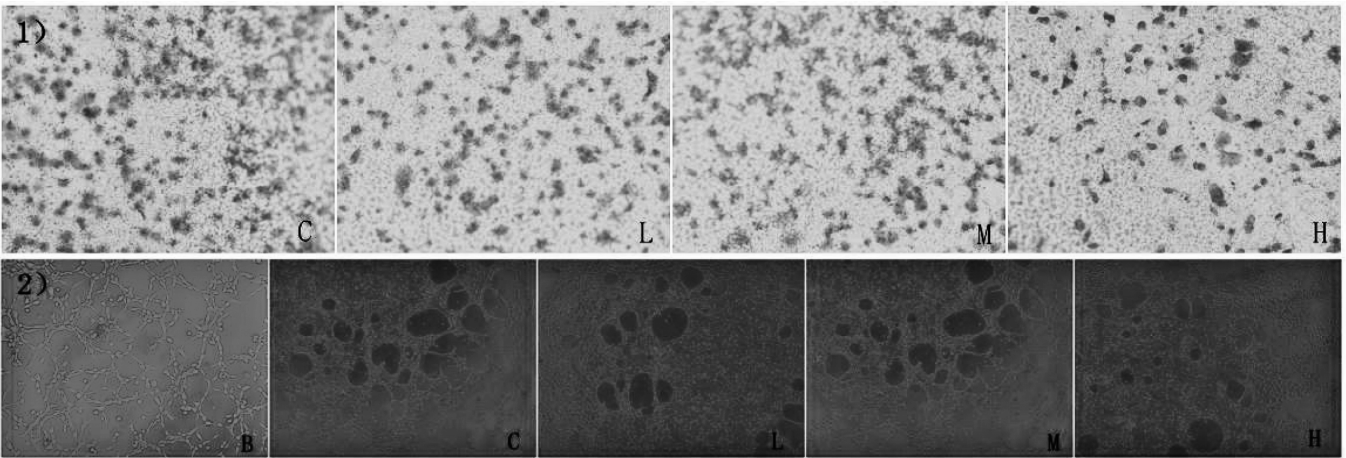
Figure 2 Effects of WHJF on the proliferation of HUVECs



注：与空白对照组比较，◆ $P<0.05$ 。

图3 温阳活血解毒复方含药血清对内皮细胞迁移的影响 (n=3)

Figure 3 Effects of WHJF on the migration of HUVECs



注：1) 迁移细胞，2) 细胞管形成；B. 模型组；C. 空白对照组；L. 低剂量组；M. 中剂量组；H. 高剂量组。

图4 温阳活血解毒复方对 HUVECs 细胞迁移及细胞管形成的影响 (100 ×)

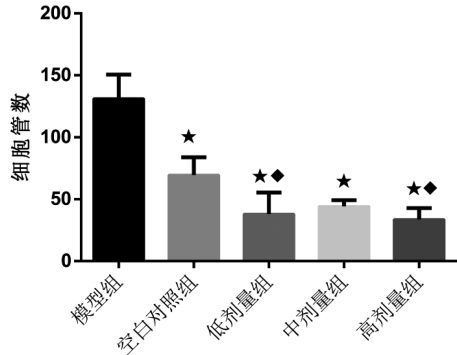
Figure 4 Effects of WHJF on the migration and bFGF-tube formation of HUVECs

统计学意义($P<0.05$)。

2.4 温阳活血解毒复方含药血清对细胞管形成的影响
重组碱性成纤维生长因子(bFGF)可以诱导 HUVECs 分化形成细胞管，细胞管密集，细胞聚集较少，然而，温阳活血解毒复方组形成的细胞管数目较少，管腔较大，细胞聚集于管腔周围，可能提示其形成的细胞管更稳定，见图4。温阳活血解毒复方组形成的细胞管数明显减少，低、中、高剂量组细胞管数分别为38、44、33个，与模型组比较，差异均有统计学意义($P<0.05$)；与空白对照组比较，低、高剂量组差异有统计学意义($P<0.05$)。见图5。

3 讨论

动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)是冠心病的病理基础，各种心血管危险因素对血管内皮细胞功能造成的损伤，是其启动的关键环节。随着 AS 的进



注：与模型组比较，★ $P<0.05$ ；与空白对照组比较，◆ $P<0.05$ 。

图5 温阳活血解毒复方含药血清对细胞管形成的影响 (n=3)

Figure 5 Effects of WHJF on the tube formation of HUVECs

展，血管外膜及中膜的滋养血管向内膜生长，从而形成了斑块内的新生血管，其中血管内皮细胞的增殖、迁移及细胞管形成是其最基本的三个步骤^[8]。然而，由于斑块内新生血管缺乏周细胞、平滑肌细胞及基底

膜支撑,血管脆性极高,斑块内不稳定,容易发生破裂而形成斑块内血栓,最终导致急性冠脉事件^[9]。因此,稳定斑块是目前心血管研究的热点及重点。孙璐等^[10]研究表明斑块内新生血管数目越多,其斑块越不稳定,新生血管的多少成为了衡量斑块稳定性的指标之一,减少斑块内的新生血管成为了稳定斑块的新策略。HUVECs 保持了血管内皮细胞的一定特性,具有干细胞潜能,可分化形成细胞管,是体外研究血管内皮功能的理想模型^[11],故本研究选用 HUVECs 为研究对象,并经Ⅷ因子相关抗原免疫组化证实为内皮细胞^[12]。既往研究^[4]表明温阳活血解毒复方可减少 AS 模型小鼠斑块内的新生血管而起到稳定斑块的作用。本研究结果表明温阳活血解毒复方含药血清对 HUVECs 的增殖、迁移及细胞管形成的功能均产生了一定的抑制作用,由此亦可以推断温阳活血解毒复方可减少新生血管形成,从而起到稳定斑块的作用。

血管新生是指在血管内皮细胞通过增殖、迁移的方式,在原有血管基础上形成新毛细血管的过程,其成熟的标志是血管周围细胞的募集。碱性成纤维生长因子(bFGF)^[13]、血管内皮生长因子(VEGF)^[14]、血小板源性生长因子(PDGF-B)^[15]等生长因子在血管新生的过程起到了重要作用。bFGF 属于成纤维生长因子家族,可促进血管内皮细胞及血管周围细胞的增殖,从而诱导细胞管的形成^[13];VEGF 又称作血管通透性因子,研究发现其通过促进血管内皮细胞有丝分裂及抑制其凋亡,起到促进内皮细胞增殖、迁移的作用;PDGF-B 在血管形成中则起到募集周围细胞而促进新生血管成熟的作用。鉴于单纯给予 bFGF 或 VEGF 诱导形成的血管尚未能成熟,在新血管形成过程中多种生长因子的协同作用越来越受到重视^[16]。如 Kano MR 等^[17]研究发现 VEGF-A 和 FGF-2 分别通过增加内源性的 PDGF-B 及 PDGFR- β 的表达,在促进新生血管成熟中起到协同作用;Lu^[18]等研究也表明 bFGF 及 PDGF-BB 联合应用可稳定新生血管,并能改善心肌缺血再灌注;王延琳等^[19]研究发现 bFGF 可促进大鼠心脏微血管内皮细胞中 VEGF 分泌及增加 VEGFR1 受体的表达而发挥促进血管新生及成熟的作用。本研究利用 bFGF 诱导 HUVECs 分化形成细胞管,发现含药血清组的细胞管的数目减少,其所形成的细胞管管壁更厚,细胞聚集于管腔周围,细胞管更稳定,可能提示温阳活血解毒复方含药血清中某些成份可能与 bFGF 产生协同作用,共同促进细胞管成熟,而其具体机理需作进一步研究。

综上所述,温阳活血解毒复方含药血清可抑制 HUVECs 的增殖、迁移及细胞管形成,起到稳定斑块的作用;此外,其可能与 bFGF 产生协同作用,共同促进新生血管成熟,发挥稳定斑块的作用。

参考文献:

- [1] 洪永敦,赵春晓. 传统中医的心痛病诊疗与温阳活血解毒法[J]. 广州中医药大学学报, 2014, 31(4): 640-644.
- [2] 洪永敦,杨庆邦. 岭南地区近 20 年冠心病文献的中医证候规律分析[J]. 广州中医药大学学报, 2011, 28(6): 579-582.
- [3] 洪永敦,吴兴波. 温阳解毒活血法对急性心肌梗死患者的临床干预作用[J]. 广州中医药大学学报, 2012, 29(5): 519-522.
- [4] 陈广进,洪永敦,赵静,等. 温阳活血解毒方对 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化斑块及斑块内血管新生的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2015, (2): 139-144.
- [5] 李仪奎,吴健宇. 血清药理实验中采血时间的通法方案[J]. 中国药理学通报, 1999(06): 93-94.
- [6] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2002: 202-204.
- [7] 吕祥,冯彦军,夏英,等. 淫羊藿素抑制人脐静脉内皮细胞血管生成及其机制[J]. 世界中医药, 2014, (1): 71-74.
- [8] Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases[J]. Nature, 2000, 407(6801): 249-257.
- [9] Frank D Kolodgie, Jagat Narula, Chun Yuan, et al. Elimination of neoangiogenesis for plaque stabilization: is there a role for local drug therapy? [J]. Journal of the American College of Cardiology, 2007, 49(21): 2093-2101.
- [10] 孙璐,韦立新,石怀银,等. 冠状动脉粥样硬化斑块内血管新生与斑块稳定的关系[J]. 中华病理学杂志, 2003, 32(5): 427-431.
- [11] Jaffe EA. Culture of human endothelial cells[J]. Transplantation Proceedings, 1980, 12(3): 49-53.
- [12] Rosenberg JB, Greengard JS, Montgomery RR. Genetic induction of a releasable pool of factor VIII in human endothelial cells [J]. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 2000, 20(12): 2689-2695.
- [13] Cao Renhai, Bräkenhielm Ebba, Pawliuk Robert, et al. Angiogenic synergism, vascular stability and improvement of hind-limb ischemia by a combination of PDGF-BB and FGF-2 [J]. Nature medicine, 2003, 9(5): 604-613.
- [14] Riazzy Maziar, Chen Johnny H, Steinbrecher Urs P. VEGF secretion by macrophages is stimulated by lipid and protein components of OxLDL via PI3-kinase and PKC ζ activation and is independent of OxLDL uptake[J]. Atherosclerosis, 2009, 204(1): 47-54.
- [15] Wilkinson-Berka Jennifer L, Babic Sanja, De Gooyer Tanyth, et al. Inhibition of platelet-derived growth factor promotes pericyte loss and angiogenesis in ischemic retinopathy [J]. The American journal of pathology, 2004, 164(4): 1263-1273.
- [16] 杨向红. 生长因子的协同作用与新血管形成的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19(1): 1-5.
- [17] Kano MR, Morishita Y, Iwata C, et al. VEGF-A and FGF-2

synergistically promote neoangiogenesis through enhancement of endogenous PDGF-B-PDGFRbeta signaling[J]. Journal of Cell Science, 2005, 118(16): 3759-3768.

[18] Lu Huixia, Xu Xinsheng, Zhang Mei, et al. Combinatorial protein therapy of angiogenic and arteriogenic factors remarkably improves collateralogenesis and cardiac function in pigs [J]. Proceedings of the

National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(29): 12140-12145.

[19] 王延琳, 杨向红, 柳爱华, 等. 碱性成纤维细胞生长因子对大鼠心脏微血管内皮细胞血管形成及血管内皮生长因子受体 1 的影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2006, 14(11): 963-966.

(编辑:)

心脉隆注射液对大鼠局灶性脑缺血的保护作用

李会仙, 谢文波, 张延婷, 王修波, 周凤汝, 刘晓波, 沈 磊(大理大学药学与化学学院, 云南 大理 671000)

摘要: 目的 探讨心脉隆注射液(XML)对大鼠局灶性脑缺血的保护作用。方法 采用线栓法制备大鼠永久性大脑中动脉阻塞模型, 观察 XML 对大鼠神经行为、脑梗塞面积、脑组织含水量、脑组织中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)活性和丙二醛(MDA)含量以及脑组织病理变化的影响。结果 与缺血模型组比较, XML 可改善缺血大鼠神经行为, 减少脑梗塞面积, 降低脑含水量, 升高 SOD 和 GSH-PX 活性, 降低 MDA 含量, 减轻缺血所致的脑组织损伤。结论 XML 对大鼠局灶性脑缺血有较好的保护作用, 能提高缺血大鼠的抗氧化能力。

关键词: 心脉隆注射液; 局灶性脑缺血; 抗氧化能力

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2016)04-

doi: 10.19378/j. issn. 1003-9783. 2016. 04.0

Protective Effect of Xinmailong injection on Focal Cerebral Ischemia in Rats

LI Huixian, XIE Wenbo, ZHANG Yanting, WANG Xiubo, ZHOU Fengru, LIU Xiaobo, SHEN Lei (College of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali, 671000)

Abstract: Objective To study the protective effect of XML on focal cerebral ischemia in rats. Methods Permanent middle cerebral artery occlusion models were established by inserting nylon thread. The effects of XML on neurotic behavior, cerebral infarct volume, cerebral water volume, the activities of SOD and GSH-PX, the content of MDA, and the pathologic change of brain were observed. Results Compared with the ischemic model group, XML improved ischemic rats' neurotic behavior, decreased the cerebral infarct volume and water volume, increased SOD and GSH-PX activities, decreased MDA content, and reduced cerebral injury after ischemia. Conclusion XML has the protective effect on cerebral ischemia and enhances the anti-oxidation ability in rats.

Key words: XML; Focal cerebral ischemia; Anti-oxidation ability

心脉隆注射液(Xinmailong injection, XML)是从美洲大蠊体内提取的生物活性物质, 其主要成分为核苷类化合物和氨基酸。近年研究^[1]表明, 心脉隆注射

液在心血管系统具有广泛的药理活性, 尤其对于缺血缺氧心肌具有保护作用, 并主要用于心力衰竭。对中枢神经系统也有影响, 如促进神经干细胞增值、分

收稿日期: 2016-04-26

作者简介: 李会仙, 女, 本科, 研究方向: 药学。Email: 2738811855@qq.com。通讯作者: 沈磊, 男, 博士, 讲师, 研究方向: 神经药理学。Email: scort20009@163.com。

基金项目: 云南省教育厅科学研究基金重点项目(2013Z156); 大理大学博士基金项目(KYBS201411); 大理大学大学生科研基金项目(KYSX2015099)。