

## • 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2005)13-05-0560-03

## 中药复方“芪丹煎”对家兔碱性成纤维细胞生长因子的影响

焦玲霞<sup>1</sup>, 周俊琴<sup>2</sup>, 黄东华<sup>2</sup>

(1. 河北医科大学图书馆, 河北省石家庄市 050017; 2. 河北医科大学中医学院, 河北省石家庄市 050091)

[关键词] 中药学; 中药抗动脉粥样硬化的作用; 免疫组织化学; 芪丹煎; 碱性成纤维细胞生长因子; 动脉粥样硬化

[摘要] 目的 观察中药复方“芪丹煎”对实验性动脉粥样硬化家兔腹主动脉碱性成纤维细胞生长因子的影响。方法 将24只4月龄健康雄性新西兰白兔(体重2.4~2.9 kg), 随机均分为四组, 即正常组、模型组、芪丹煎组和硝苯地平组。模型组喂饲高脂颗粒饲料, 芪丹煎组每兔每天喂饲按100 g饲料含生药60 g的量制成的高脂颗粒饲料, 硝苯地平组每兔每天喂饲按40 mg硝苯地平的量制成的高脂颗粒饲料, 正常组喂饲普通颗粒饲料。12周后放血处死家兔, 取胸主动脉用于HE染色, 腹主动脉用于碱性成纤维细胞生长因子的免疫组织化学检测。结果 与模型组比较, 芪丹煎组碱性成纤维细胞生长因子的表达量明显减少( $P < 0.01$ ); 与硝苯地平组比较, 芪丹煎组碱性成纤维细胞生长因子的表达量也有明显差异( $P < 0.05$ )。病理检测结果发现芪丹煎组胸主动脉病变程度较模型组明显减轻。结论 对腹主动脉碱性成纤维细胞生长因子的抑制作用可能是芪丹煎抗动脉粥样硬化的机制之一。

[中图分类号] R28

[文献标识码] A

## Effect of Decoction Qidan Liquid on Basic Fibroblast Growth Factor in Artherosclerotic Rabbits

JIAO Ling-Xia<sup>1</sup>, ZHOU Jun-Qin<sup>2</sup>, and HUANG Dong-Hua<sup>2</sup>

(1. Library of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017; 2. Chinese Medical College of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050091; China)

[KEY WORDS] Qidan Liquid; Basic Fibroblast Growth Factor; Artherosclerosis; Nifedipine; Immunohistochemistry

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effect of Qidan liquid on the basic fibroblast growth factor (bFGF) of abdominal aorta in experimental atherosclerotic rabbits. **Methods** Twenty-four white, four months old, male, New Zealand rabbits whose weights were from 2.4 kg to 2.9 kg were divided into four groups at random: normal group, model group, Qidan liquid group and nifedipine group. Rabbits of normal group were fed with common rabbit forage, the rabbits of Qidan liquid group were fed with Qidan liquid (3 kg/L). A rabbit was fed 20 mL everyday. The rabbits of nifedipine group were fed with nifedipine (40 mg everyday to each rabbit). After twelve weeks, after the rabbits were put to death by exsanguinate, thoracic aorta and abdominal aorta were took out and kept in 10% neutralizing formaldehyde stabilization liquid, for the inspection of HE staining and for the detection of bFGF by immunohistochemistry. **Results** Compared with model group, the expression of bFGF in Qidan liquid group was decreased remarkably ( $P < 0.01$ ). Compared with nifedipine group, the expression of bFGF was decreased sharply in Qidan liquid group ( $P < 0.05$ ). Compared with model group, the degree of atherosclerotic lesion in aorta was reduced in Qidan liquid group. **Conclusion** Inhibiting the expression of bFGF in abdominal aorta is probably the mechanism of Qidan liquid in anti-atherosclerosis.

由炙黄芪、丹参、川芎、姜黄、降香等药物组成的经验方“芪丹煎”具有益气活血通络之功效, 经十几年临床应用, 治疗以冠状动脉缺血为主的心血管疾病, 疗效显著。我们曾以实验性动脉粥样硬化家兔为对象, 观察到本方有降低血脂, 降低血液粘稠度, 抑制血小板粘附聚集等作用<sup>[1]</sup>。为进一步探讨其作用机制, 我们观察了其对抗动脉粥样硬化家兔主

动脉碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)的影响。

## 1 材料与方法

## 1.1 动物及饲料

健康新西兰雄性白兔24只, 体重为2.4~2.8 kg, 购自河北医科大学实验动物中心, 合格证号为医动字第04063。家兔普通饲料、家兔高脂饲料(基础饲料79%、15%蛋黄粉、猪油5%、胆固醇1%)均由河北医科大学动物实验中心加工。

## 1.2 药品及试剂

芪丹煎组成的药材均由河北医科大学中西医结

[收稿日期] 2004-11-25 [修回日期] 2005-09-15

[基金项目] 河北省科技攻关项目(02276104D-20)

[作者简介] 焦玲霞, 硕士研究生, 讲师, 研究方向为冠心病诊治。

通讯作者周俊琴, 硕士研究生导师, 教授, 研究方向为冠心病诊治。

E-mail为zhoujq@hebm.edu.cn。黄东华, 硕士研究生。

合研究所制剂室制成,采用水煎浓缩法,即水煎 2 次,滤渣,取两次药液合并浓缩成浓度为 3 kg/L 的药液,搅拌于高脂饲料中,按 100 g 饲料含生药 60 g 的量制成颗粒饲料;硝苯地平(批号 021108)为石家庄制药集团生产,研碎搅拌于高脂饲料中,按每兔每日 20 mg 的量制成颗粒饲料;bFGF 一抗购自武汉博士德生物工程有限公司,二抗生物素标记羊抗兔 IgG、三抗辣根酶标记链霉卵白素工作液及显色剂 DBA 均购自中国北京中山生物技术有限公司;胆固醇购自天津市化学试剂商店;其他试剂为市售分析纯。

### 1.3 动物分组及给药方法

将家兔随机分为四组:正常组( $n=6$ )每天给予普通饲料,模型组( $n=6$ )每天给予高脂饲料,芪丹煎组( $n=6$ )每天给予含芪丹煎的高脂饲料,硝苯地平组( $n=6$ )每天给予含硝苯地平的高脂饲料。分笼喂养,自由饮水,共喂养 12 周。

### 1.4 主动脉形态学观察

实验末处死动物后,分离胸主动脉,制备病理切片,HE 染色后光镜下观察。

### 1.5 免疫组织化学染色

实验末处死动物后,立即取出腹主动脉,置于 10% 中性甲醛固定液中,固定好的标本经酒精脱水,二甲苯透明,常规石蜡包埋,即行石蜡切片。采用 SP 法,实验操作按试剂盒说明书进行。bFGF McAb 工作浓度为 1:200。用 PBS 代替一抗时染色阴性。阳性判断标准是以细胞浆呈棕黄色。每张载玻片在 40 倍物镜下随机选取 4 个视野,应用北航医学图像分析管理系统测定 bFGF 在内皮和平滑肌细胞中阳性表达强度的平均光密度值。

### 1.6 统计学处理

结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,应用 SPSS8.0 统计软件进行单因素方差分析( $F$  检验),组间比较用  $Q$  检验。

## 2 结果

### 2.1 主动脉形态学观察

HE 染色可见,正常组主动脉结构正常,内皮完整,中膜弹力纤维正常。模型组内膜明显增厚隆起,可见成堆的泡沫细胞、平滑肌细胞及结缔组织增生。芪丹煎组和硝苯地平组内膜增厚不明显,可见少量平滑肌细胞及结缔组织增生(图 1, Figure 1)。

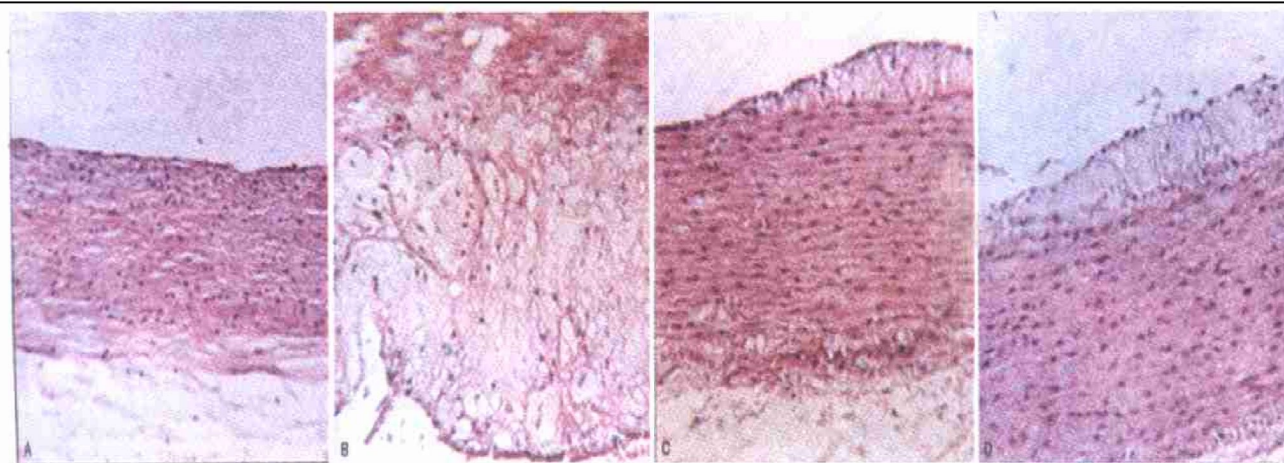


图 1. 家兔胸主动脉 HE 染色 ( $1 \times 100$ ) A 为正常组, B 为模型组, C 为芪丹煎组, D 为硝苯地平组。

Figure 1. Rabbit thoracic aorta by HE staining

### 2.2 免疫组织化学染色图像分析

模型组 bFGF 抗原表达明显高于正常组( $P < 0.01$ ),芪丹煎组和硝苯地平组 bFGF 抗原表达比模型组显著减弱( $P < 0.01$ ),该两组之间也有明显差异( $P < 0.05$ ),说明芪丹煎可抑制 bFGF 抗原阳性表达(表 1 和图 2, Table 1 and Figure 2)。

## 3 讨论

成纤维细胞生长因子是一种能广泛地促进中胚

层细胞增殖的多肽生长因子,在体内具有广泛的生理功能。最近研究表明, bFGF 与动脉硬化、冠心病有密切关系,并越来越引起人们的关注<sup>[2]</sup>。目前认为,许多生长因子和细胞因子,如血小板源生长因子、成纤维细胞生长因子和白细胞介素 1 等,对动脉中膜平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)向内皮下迁移和增殖起关键作用<sup>[3]</sup>。SMC 增殖是动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)病变的主要特征之一。

碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)可以由内皮



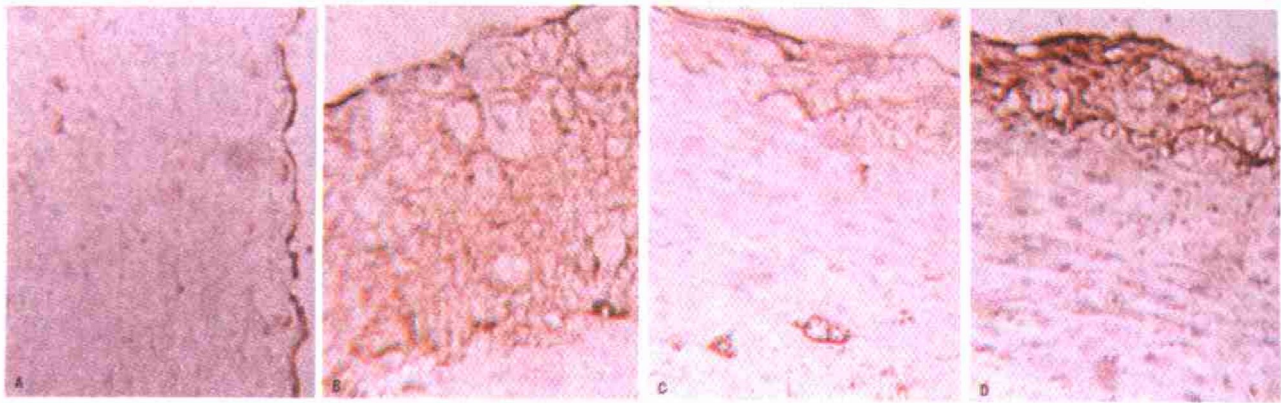


图 2. 腹主动脉成纤维细胞生长因子的免疫组织化学检测 (1×200) A 为正常组, B 为模型组, C 为芪丹煎组, D 为硝苯地平组。

Figure 2. bFGF in abdominal aorta by immunohistochemical detection

表 1. 芪丹煎对动脉粥样硬化家兔腹主动脉碱性成纤维细胞生长因子的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1. The effect of Qidan liquid on the bFGF of abdominal aorta in experimental arteriosclerotic rabbits

分 组	n	碱性成纤维细胞生长因子
正常组	6	0.028±0.011
芪丹煎组	6	0.160±0.026 <sup>abc</sup>
硝苯地平组	6	0.217±0.024 <sup>ab</sup>
模型组	6	0.248±0.019 <sup>a</sup>

a:  $P < 0.01$ , 与正常组比较; b:  $P < 0.01$ , 与模型组比较; c:  $P < 0.05$ , 与硝苯地平组比较。

细胞、SMC、巨噬细胞等分泌, 是一种强丝裂原, 有促进血管平滑肌有丝分裂的作用<sup>[4]</sup>, 还可促进多种间充质细胞的增殖、分化, 促进胞外胶原纤维的合成<sup>[5]</sup>。正常情况下, 成年家兔的血管 SMC 呈静止状态, 当受到细胞外因素(如高血脂、缺氧、缺血等)刺激时, bFGF 可激活, 直接或间接地使细胞进入 G<sub>1</sub> 期, 此时细胞内 DNA 含量由于有丝分裂而成倍增加, 细胞经过获能后进入 S 期。据报道, bFGF 参与了血管成形术后再狭窄的病理过程<sup>[6]</sup>。成纤维细胞生长因子既是重要的生长调节因子又是重要的炎症介质, 在组织修复和急性炎症过程中可能发挥有益作用, 但在 As 的过程中则十分有害<sup>[4]</sup>。因此寻找积极的治疗措施, 抑制 bFGF 在 As 发病中的作用, 对 As 的防治具有重要意义。

芪丹煎重用炙黄芪, 补益心肺之气, 使气旺则血行, 血行则滞通; 当归、丹参养心血安心神; 丹参、川芎、赤芍、当归、生蒲黄、五灵脂、姜黄等活血化瘀, 通络止痛。诸药合用, 共奏益心气、养心血、通心络、安心神, 活血畅脉止痛之功。经临床观察<sup>[7]</sup>, 芪丹煎能有效地缓解冠心病稳定型心绞痛的症状。本实验发现, 模型组腹主动脉 bFGF 表达明显增强, 而芪丹煎组 bFGF 抗原表达比模型组显著减弱, 并且芪丹煎组动脉硬化程度明显减轻。由此推测芪丹煎抗 As 的机理可能与其抑制 bFGF 的表达, 从而抑制 SMC 的增殖有关, 其机理有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 焦玲霞, 温瑞书, 周俊琴. 芪丹煎对动脉粥样硬化家兔血液流变学的影响. 河北中医药学报, 2004, 19 (2): 1

[2] Cuevas P, Barrios V, Gimenez-Gallego G, Martinez-Coso V, Cuevas B, Benavides J, et al. Serum levels of basic fibroblast growth factor in acute myocardial infarction. Eur J Med Res, 1997, 2 (7): 282-284

[3] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective of the 1990's. Nature, 1993, 362: 801

[4] Kennedy SH, Rouda S, Qin H, Aho S, Selber J, Tan EM. Basic FGF regulates interstitial collagenase gene expression in human smooth muscle cells. Journal of Cellular Biochemistry, 1997, 65 (1): 32-41

[5] Kyriakos KE, Sonenshein GE. Basic fibroblast growth factor decreases type V/XI collagen expression in cultured bovine aortic smooth muscle cells. Journal of Cellular Biochemistry, 1998, 68 (2): 247-258

[6] Lindner V, Lappi DA, Baird A, Richard A, Majack RA, Reidy MA. Role of basic fibroblast growth factor in vascular lesion formation. Circ Res, 1991, 68: 106

[7] 李志华, 周俊琴, 焦玲霞. 芪丹煎治疗冠心病稳定型心绞痛疗效观察. 临床荟萃, 2004, 19 (20): 1 185-186

(此文编辑 文玉珊)