

· 综 述 ·

中药抑制生长因子诱导的血管平滑肌细胞增殖的研究进展

杨 广¹ 张敏州² 江 巍² 李 松²

摘要 本文总结了近年来直接抑制某些生长因子诱导的血管平滑肌细胞(VSMC)增殖,或者利用电镜、免疫组化、印迹法及原位杂交方法直接测量增殖 VSMC 中生长因子的 mRNA 或其受体的表达,观察中药及复方对生长因子诱导的 VSMC 增殖抑制作用的研究。

关键词 血管平滑肌细胞;生长因子;增殖;中药

Progress of Study on Inhibitory Effects of Traditional Chinese Herbs on Growth Factor Induced Proliferation of Vascular Smooth Muscle Cells YANG Guang, ZHANG Min-zhou, JIANG Wei, et al *Guangzhou University of TCM, Guangzhou (510405)*

Abstract This paper sums up some studies in the last decade regarding the inhibitory effects of traditional Chinese herbs on growth factor induced proliferation of vascular smooth muscle cell (VSMC) via directly measuring the mRNA expression of its growth factors and the related receptors by electron microscope, immunohistochemistry, blot and hybridization in situ.

Key words vascular smooth muscle cell;growth factor;proliferation;traditional Chinese herbs

平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)是血管中膜唯一的细胞成分,通过其收缩和舒张调节血管张力,分泌和释放血管调节因子维持血管正常功能。血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)移行增殖是引起血管内膜纤维增生、管腔狭窄,造成冠心病、冠心病介入术后再狭窄(RS)的重要病理过程^[1]。在生理条件下,血管平滑肌增殖和凋亡存在着有序的调控,两者保持平衡。病理情况下,心血管疾病的危险因素损伤血管内皮功能而导致生长因子的合成与释放,作用于 VSMC 的受体,并激活一系列的细胞效应,最终导致核内基因的表达而使 VSMC 由收缩表型向合成表型转变(即细胞由静止 G_0 期脱逸→ G_1 期→S 期),然后完成细胞的增生(G_2 期→M 期)^[2]。生长因子是血液和组织自身形成的多肽物质,对 VSMC 的表型转化和新细胞的增殖都有影响,其中最主要的有血小板源性内皮细胞生长因子(PDGF)、成纤维细胞生长因子(FGF)、血管内皮生长因子(VEGF)、转化生长因子(TGF)、胰岛素样生长因子(IGF)等。

近年来,对于中药抑制平滑肌细胞增殖的研究已

不再仅仅局限于组织学,随着细胞及分子生物学的发展,体外细胞培养与药物血清技术的成熟与推广及临床上冠心病介入术的广泛应用,在细胞分子水平上对中药抑制生长因子诱导的 VSMC 增殖机制的研究已经成为热点。现将近几年这方面的发展情况综述如下。

1 单味中药及中药提取物

1.1 丹参 PDGF 是多种细胞产生的肽类生长因子,具有促血管平滑肌细胞增殖和迁移的生物活性,并能引起其合成及分泌功能增强。与其他生长因子协同,PDGF 使细胞从非分裂状态的静止(G_0)期进入活化状态(G_1)期,因此将 PDGF 称为获能因子。PDGF 具有强大的促 VSMC 增殖和向内膜下迁移的作用^[3]。马小干^[4]利用体外培养大鼠动脉 VSMC,设对照组、丹参注射液组(3 个浓度组)、PDGF 组及 PDGF 加丹参(3 个浓度,同上)组,测定各组 VSMC 数量及掺入 ^3H -胸腺嘧啶核苷(^3H -TdR)量。结果发现丹参呈剂量依赖性地抑制基础状态及 PDGF 刺激下 SMC 数量及 ^3H -TdR 的摄入。提示丹参可抑制基础状态及 PDGF 作用下血管 VSMC 的增生及 DNA 的合成。

1.2 丹参酮 II A FGF 有两种:碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)与酸性成纤维细胞生长因子

作者单位:1. 广州中医药大学(广州 510405);2. 广东省中医院
通讯作者:杨 广, Tel: 020-36587302, E-mail: cokeyg@263.net

(aFGF)。bFGF 广泛存在于人体各组织,内膜损伤的血管局部的 bFGF 主要由增生的血管平滑肌细胞、成纤维细胞及内皮细胞合成。bFGF 不仅能促进成纤维细胞的生物活性,对血管损伤后内皮细胞的移行、血管平滑肌细胞的增殖和迁移及新生血管的形成具有重要作用,还刺激邻近细胞分泌 bFGF^[3]。杜俊蓉^[5]在碱性纤维母细胞生长因子诱导的血管平滑肌细胞增殖模型上用 MTT 法及³H-TdR 法观察丹参酮 II A 对 VSMC 增殖影和 DNA 合成的影响。结果发现,在无细胞毒性的浓度范围内,丹参酮 II A 剂量依赖性地抑制性纤维母细胞生长因子诱导的人血管平滑肌细胞 DNA 的合成,显著抑制细胞增殖。

1.3 黄芪、当归 李琦等^[6]采用体外培养的血管平滑肌细胞,以 bFGF 诱导其表型转化和增殖,在此基础上,通过 Northern 和 Western 印迹法检测平滑肌细胞表型标志基因表达的变化,研究黄芪和当归注射液对 bFGF 上述效应的抑制作用。结果发现,bFGF 可明显下调分化型标志基因平滑肌 α -肌动蛋白的表达,上调去分化型标志基因平滑肌胚胎型肌球蛋白重链和骨桥蛋白表达,诱导原癌基因 c-jun 表达及促进血管平滑肌细胞 DNA 合成。黄芪和当归可上调分化型标志基因的表达活性,下调去分化型标志基因的表达,不同程度地抑制 bFGF 诱导的血管平滑肌细胞表型转化和 DNA 合成,有效抑制血管平滑肌细胞增殖,其作用机制可能与抑制碱性成纤维细胞生长因子诱导的 c-jun 基因表达有关。二者相比,当归的作用大于黄芪。结果提示,黄芪和当归可从多位点上拮抗碱性成纤维细胞生长因子促血管平滑肌细胞表型转化及细胞增殖。

1.4 莲心碱 熊一力^[7]等用³H-TdR 掺入法、电泳、免疫组化和原位杂交方法,以自发性高血压大鼠 (SHR) 为对象观察了莲心碱 (Lien) 对 VSMC 增殖的作用及对生长因子 PDGF-B、bFGF 及其相关癌基因 c-sis 和 c-myc 表达的影响。结果发现 Lien 在降低 SHR 血压同时,能减少 VSMC 的线粒体、粗面内质网和³H-TdR 掺入量,并能逆转 VSMC 增殖时 PDGF-B、bFGF 抗原及 c-sis 和 c-myc mRNA 的表达增强。

1.5 雷公藤红素 陈星等^[8]体外培养 5~10 代 VSMC 同步化后,加不同剂量的雷公藤红素,采用斑点杂交方法观察雷公藤红素对大鼠血管平滑肌细胞 (VSMC) 中 PDGF 的 mRNA 表达水平和原癌基因 (c-myc) 的影响。结果发现经雷公藤红素作用后,VSMC 的 PDGF 的 mRNA 表达和 c-myc 较对照组明显降低,c-myc mRNA 表达水平的降低具有一定的药物剂量依赖性关系。提示雷公藤红素可能是通过抑制 VSMC

的 PDGF mRNA 的表达和 c-myc,引起抑制 VSMC 的过度增殖。

1.6 粉防己碱 熊一力等^[9]采用³H-TdR 掺入法,在自发性高血压大鼠 (SHR) 观察了粉防己碱 (Tet) 对血管平滑肌细胞 (VSMC) 增殖的作用及对生长因子 PDGF-B、bFGF 的抗原及原癌基因表达的影响。结果发现:Tet 在降低 SHR 血压的同时,能减少 VSMC 的线粒体、粗面内质网和³H-TdR 掺入量 ($P < 0.01$),并能逆转 VSMC 增殖时 PDGF-B、bFGF 抗原和原癌基因表达。提示 Tet 抑制 SHR 的 VSMC 增殖与生长因子及癌基因调控的分子生物学机制有关。

1.7 红景天甙 TGF- β 是 TGF 家族中一类有激素样活性的多肽,它的生物学功能是多方面的,表现在对细胞生长具有双向调节的作用,它可以抑制上皮源性细胞的生长,又可促血管新生,促进已停止增殖的内皮细胞、平滑肌细胞的增生^[10,11]。甄志军等^[12]采用³H-TdR 掺入法观察红景天甙对平滑肌增殖及 TGF 的表达的影响,结果发现红景天甙能显著抑制 VSMC 的增殖,同时免疫组化显示红景天甙组 VSMC 中 TGF- β 的表达低于正常作用组。该结果提示,红景天甙对 VSMC 增殖的抑制作用可能与 TGF- β 的减少有关。

1.8 扇贝裙边提取物 黄翠丽等^[13]运用 MTT 法及免疫组化方法,观察扇贝裙边提取物 (ESS) 对 VSMC 增殖的影响时发现,ESS 能显著抑制 bEGF 诱导的 VSMC 的增殖,并且能降低 VSMC 中 PDGF 的表达。

2 中药复方

2.1 通脉宁胶囊 通脉宁胶囊是陈淑长教授治疗周围血管疾病的有效方药,由黄芪、党参、丹参、当归、赤芍、川芎等组成。石雪迎等^[14]采用家兔颈动脉球囊损伤法复制 PTCA 术后再狭窄模型,分假手术组,对照组及通脉宁大、中、小剂量组,以苏木素伊红染色观察动脉壁形态改变,Masson 染色以及免疫组化染色检测血管壁胶原形成及 VEGF 和 bFGF 表达情况,结果发现通脉宁可以抑制 VSMC 增生,降低 VEGF 和 bFGF 的表达。

2.2 血府逐瘀汤 血管通是血府逐瘀汤的颗粒制剂,由当归、红花、川芎、赤芍、桃仁、牛膝等组成。李静等^[15]采用斑点印迹杂交和原位杂交技术进一步探讨血管通对与血管平滑肌细胞 (VSMC) 增生相关基因表达的影响。结果表明,高脂组家兔血管壁 PDGF-A 的 mRNA 呈高表达,杂交阳性颗粒主要分布在动脉粥样硬化 (AS) 斑块边缘区及新生斑块区的 SMC 胞浆

内,而血管通组家兔血管壁 PDGF-A mRNA 表达水平明显低于高脂组;高脂组血管斑块组织 c-myc 的 mRNA 表达水平亦比正常组高,血管通组血管壁 c-myc mRNA 表达水平下降。上述结果初步说明血管通可能是通过影响血管壁 PDGF-A、c-myc 的 mRNA 表达水平,以抑制 VSMC 增生。

2.3 调肝导浊中药复方 调肝导浊中药复方,由首乌、草决明、泽泻、蒲黄、丹参、菟蔚子、姜黄组成,全方疏养并调,体用并治,攻补兼施,共奏滋阴养血、疏肝行气、祛瘀化浊之效。崔洪英等^[16]运用体外培养技术,培养大鼠主动脉 SMC,以加入高脂血清和中药等不同培养基进行分组培养,取细胞进行指标检测。结果表明:调肝导浊中药复方可抑制 VSMC 原癌基因 c-myc 及血小板源性生长因子受体(PDGF-R)的表达。提示该中药复方抑制平滑肌增殖与 PDGF-R 的表达及原癌基因 c-myc 有关。

2.4 通心络胶囊 唐元生等^[17]用新西兰大白兔,随机分为假手术组、对照组和通心络组,并分别于术前以及术后即刻及第 1、2、4 周留取各组受损动脉标本和手术前后血液标本,分别行病理、电镜、RT-PCR 检验。结果发现术后对照组新生内膜明显增厚,内含大量增殖、迁移的 VSMC,对照组 PDGF-BB 的免疫组化及 RT-PCR 表达均显著高于通心络组,而组织抑制因子-1(TIMP-1)的表达则相对低于通心络组。提示通心络胶囊抑制 VSMC 增殖与影响生长因子 PDGF 及细胞外基质的改变有关。

2.5 益气活血化瘀方药 益气活血化瘀方药由黄芪、丹参、当归、徐长卿、生蒲黄组成,韩梅等^[18]采用³H-TdR 测定 VSMC 增殖活性,应用 Northern 印迹和 VI 型胶原酶(MMP-2)酶图分析检测 MMP-2 和骨桥蛋白表达的变化。结果发现益气活血化瘀中药可显著抑制 bFGF 对 VSMC 的促胶原合成作用,降低血管内皮剥脱大鼠血管壁胶原转换速率,下调 MMP-2 和骨桥蛋白在体外培养的 VSMC 及血管壁中的表达水平,抑制 VSMC 增殖。中药血清去蛋白后对 VSMC 的影响不发生明显变化。提示益气活血化瘀中药通过调节 MMP-2 和骨桥蛋白基因表达及降低胶原转换速率可抑制和(或)减缓 ECM 重塑,从而抑制 VSMC 增殖。且在另一实验中,温进坤等实验室用血管内皮剥脱动物模型和体外培养的 VSMC 证实,益气活血中药可显著下调 bFGF 和 ET 诱导的细胞增殖相关基因,包括 cyclin-D、c-fos、c-jun、c-cym 等基因的表达,抑制 VSMC 增殖。

综上,VSMC 在各种外界刺激的作用下,细胞外

信号经过细胞内信号传递系统到达核内,诱导一系列与增殖相关的基因表达,启动细胞周期,从而推动 VSMC 分裂、增殖。生长因子作为细胞增殖过程中的一个启动因素,在 VSMC 增殖过程中有着举足轻重的作用,降低生长因子或其受体的活性,可以有效的抑制 VSMC 的增殖,上述研究发现中药可以抑制生长因子诱导的 VSMC 增殖或其中生长因子 mRNA 的表达。但中药成分复杂,其靶点是作用于生长因子本身还是其受体,还有待于更深入的研究。VSMC 增殖是高血压、冠心病及 RS 的重要病理过程,因此,研究中药对生长因子诱导的 VSMC 增殖的影响及其作用机制,将为中药对心血管疾病的治疗开辟新的篇章。

参 考 文 献

- 1 陈灏珠. 心脏病学. 第 5 版. 北京:人民卫生出版社,2000:1240—1241.
Cheng HZ. Cardiology. 5th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000:1240—1241.
- 2 朱妙章,袁文俊. 心血管生理学与临床. 北京:高等教育出版社,2004:152—161.
Zhu MZ, Yuan WJ. Physiology and clinic of cardiovascular. Beijing: Higher Education Press, 2004:152—161.
- 3 李玉林. 分子病理学. 北京:人民卫生出版社,2002:194—209.
Li YL. Molecular pathology. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002:194—209.
- 4 马小干,时 德. 丹参对血小板源生长因子刺激血管平滑肌细胞增生的影响. 中国实用外科杂志 2002;11(8):488—490.
Ma XG, Shi D. Effects of Radix salviae miltiorrhizae on the proliferation of vascular smooth muscle cells induced by platelet-derived growth factor. Chin J Gen Surg 2002;11(8):488—490.
- 5 杜俊蓉. 丹参酮 II A 对培养人血管平滑肌细胞增殖的影响. 华西药理学杂志 1999;14(1):1—3.
Du JR. Effects of Salvial II A on the proliferation of vascular smooth muscle cells. West China J Pharm Sci 1999;14(1):1—3.
- 6 李 琦,温进坤,韩 梅. 黄芪和当归对血管平滑肌细胞表型标志基因表达和细胞增殖的影响. 中国动脉硬化杂志 2004;12(2):147—150.
Li Q, Wen JK, Han M. Effects of astragalus membranaceus and angelica sinensis on phenotypic modulation and proliferation of vascular smooth muscle cells. Chin J Arterioscl 2004;12(2):147—150.
- 7 熊一力,王嘉陵. 莲心碱对自发性高血压大鼠血管平滑肌细胞增殖及对 PDGF-B、bFGF、c-sis、c-myc 的影响. 中国心血

- 管杂志 1998;3(1):6—9.
- Xiong YL, Wang JL. Effect of hensinine on proliferation of vascular smooth muscle cells, PDGF-B, bFGF, c-sis and c-myc in spontaneously hypertensive rat. *Chin J Cardiovasc Med* 1998;3(1):6—9.
- 8 陈 星,汪 洛.雷公藤红素对大鼠血管平滑肌细胞 c-myc 和血小板源性生长因子的 mRNA 的影响. *中国中西医结合杂志* 1998;18(3):156—158.
- Chen X, Wang L. Effect of Tripterine on mRNA expression of c-myc and platelet derived growth factor of vascular smooth muscle cells in rats. *Chin J Integr Tradit West Med* 1998;18(3):156—158.
- 9 熊一力,姚伟星.粉防己碱对自发性高血压大鼠血管平滑肌细胞增殖及对 PDGF-B、bFGF 和相关癌基因表达的影响. *中国药理学与毒理学杂志* 1998;12(2):109—112.
- Xiong YL, Yao WX. Effects of tetrandrine on proliferation of vascular smooth muscle cells and expression of PDGF-B, bFGF and related oncogenes in spontaneously hypertensive rat. *Chin J Pharmacol Toxicol* 1998;12(2):109—112.
- 10 Moses HL, Yang EY, Pietenpol JA. TGF-beta stimulation and inhibition of cell proliferation: new mechanistic insights. *Cell* 1990;63(2):245—247.
- 11 Ryan ST, Kotliansky VE, Gotwals PJ, et al. Transforming growth factor-beta-dependent events in vascular remodeling following arterial injury. *J Vasc Res* 2003;40(1):37—46.
- 12 甄志军,李志华,李 剑.红景天甙对大鼠血管平滑肌细胞增殖和 TGF- β 表达的影响. *心脏杂志* 2002;14(5):458—458.
- Zhen ZJ, Li ZH, Li J. Effects of rhodioloside on proliferation of vascular smooth muscle cells and expression of TGF- β in rats. *Chin Heart J* 2002;14(5):458—458.
- 13 黄翠丽,于树君.扇贝裙边提取物抗动脉粥样硬化作用及其机理研究. *中国海洋药物* 2002;21(4):12—19.
- Huang CL, Yu SJ. A study of the extract of Scallop Skirt on anti-atherosclerotic action and its related mechanisms. *Chin J Marine Drugs* 2002;21(4):12—19.
- 14 石雪迎,赵凤志,宋崇顺.通脉宁胶囊对家兔颈动脉球囊损伤后血管再狭窄的影响. *北京中医药大学学报* 2003;26(3):24—27.
- Shi XY, Zhao FZ, Song CS. Effects of Tongmaining capsule on the restenosis of arteria carotis after balloon-induced vascular injury in rabbit. *J Beijing Univ Tradit Chin Med* 2003;26(3):24—27.
- 15 李 静,陈可冀,张靖溥,等.血管通对实验性动脉粥样硬化家兔血管壁血小板衍化生长因子 A、B 及 c-cym 基因表达的影响. *中国中西医结合杂志* 1995; 15(1):33—35.
- Li J, Chen KJ, Zhang JF et al. Effect of Xue Guan Tong on PDGF-A, PDGF-B and c-myc gene expression of vessel wall in atherosclerotic rabbit. *Chin J Integr Tradit West Med* 1995;15(1):33—35.
- 16 崔洪英,陆一竹,范英昌.调肝导浊中药对体外培养大鼠主动脉平滑肌细胞 c-myc, PDGF-R 表达的影响. *生物医学工程研究* 2003;22(3):51—53.
- Cui HY, Lu YZ, Fan YC. The influences of modulating liver and eliminating turbidity herbs to the expression of c-myc, PDGF-R of rat's aortic smooth muscle cells *in vitro*. *J Biomedical Engineering Res* 2003;22(3):51—53.
- 17 唐元升,李吉发,朱兴雷等.实验家兔血管球囊损伤后血管平滑肌细胞增殖和迁移及通心络对其影响. *疑难病杂志* 2004;3(2):69—73.
- Tang YS, Li JF, Zhu XL, et al. Effects of Tongxinluo on proliferation of vascular smooth muscle cells and migration after balloon-induced vascular injury in rabbit. *Chin J Difficult Complicated Cases* 2004;3(2):69—73.
- 18 韩 梅,温进坤,周秀霞.益气活血化瘀方药对血管胶原转换及相关基因表达的影响. *中西医结合学报* 2004;2(2):136—139.
- Han M, Wen JK, Zhou XX. Effect of Yiqi Huoxue Huayu Recipe on vascular collagen turnover and relevant gene expression. *J Chin Integr Med* 2004;2(2):136—139.

(收稿:2005-05-08 修回:2005-06-30)

浙江中医杂志



2006年 扩版升级

保持传统特色 体现时代气息

《浙江中医杂志》为月刊, 2006 年改为大 16 开本, 64 页, 定价 6.00 元, 全年价: 72.00 元。国内统一刊号: CN33-1083/R, 国际标准刊号: ISSN 0411-8421。全国各地邮局(所)均可订阅, 邮发代号: 32-11。本刊地址: 浙江省杭州市天目山路 132 号, 邮政编码: 310007。联系电话: (0571) 88082214-3409。