

· 基础研究 ·

鹿茸促血管新生修复心肌梗死大鼠
心肌损伤的实验研究王子未¹ 李艳君² 李琳³ 肖响³ 王金平¹ 石皓月¹ 乔佳君¹ 杨德爽¹ 黄力³

摘要 目的 基于血管新生观察鹿茸对心肌梗死(心梗)大鼠心肌损伤的保护效应。**方法** 应用冠状动脉左前降支结扎术建立心梗大鼠模型(假手术组只穿线,不结扎),将 50 只心梗模型大鼠随机分为模型组、低浓度鹿茸组[100 mg/(kg·d)]、中浓度鹿茸组[200 mg/(kg·d)]、高浓度鹿茸组[400 mg/(kg·d)]、马来酸依那普利组[简称普利组,1 mg/(kg·d)],每组 10 只。同时设立假手术组 10 只。各药物干预组分别给予相应药物灌胃,假手术组与模型组每日给予 0.5% 羧甲基纤维素钠灌胃。4 周后采用超声心动图检测大鼠心功能;HE 染色观察心肌病理组织学变化;免疫组化法观察心梗边缘区血小板-内皮细胞黏附分子(CD31)与 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)表达;ELISA 法检测血清中血管内皮生长因子(VEGF)和成纤维细胞生长因子(bFGF)的含量。**结果** 与假手术组比较,模型组左室收缩末期内径(LVESD)、左室舒张末期内径(LVEDD)增加,CD31、 α -SMA、VEGF 与 bFGF 表达增加($P < 0.05$, $P < 0.01$),左室射血分数(LVEF)、左室短轴缩短率(LVFS)下降($P < 0.01$)。与模型组比较,高、中浓度鹿茸组与普利组 LVEF、LVFS 增加($P < 0.01$),LVESD、LVEDD 降低($P < 0.01$);高、中浓度鹿茸组心梗边缘区 CD31 和 α -SMA 表达增多($P < 0.05$),血清中 VEGF、bFGF 含量明显升高($P < 0.05$)。**结论** 鹿茸通过上调 VEGF、bFGF 表达,增加微血管密度与小动脉生成,有效促进血管新生,修复心梗大鼠心肌损伤,进而改善心功能。

关键词 鹿茸;心肌梗死;血管新生;心功能;心肌损伤

Cervi Cornu Pantotrichum Repairs Damaged Myocardium of Myocardial Infarction Ratby Promoting Angiogenesis WANG Zi-wei¹, LI Yan-jun², LI Lin³, XIAO Xiang³, WANG Jin-pin¹, SHI Hao-yue¹, QIAO Jia-jun¹, YANG De-shuang¹, and HUANG Li³ 1 Graduate School, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100029); 2 The Second Cardiology Department, Rizhao Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shandong (276800); 3 Cardiology Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, China-Japan Friendship Hospital, Beijing (100029)

ABSTRACT Objective To observe the protective effect of *cervi cornu pantotrichum* (CCP) on myocardial damage of myocardial infarction (MI) rat model which is based on angiogenesis. **Methods** The MI rat models were established by ligation of left anterior descending coronary artery. Totally 50 rats were randomly divided into five groups: the model group, the high CCP-dose group (H-CCP, 400 mg · kg⁻¹ · d⁻¹), the medium CCP-dose group (M-CCP, 200 mg · kg⁻¹ · d⁻¹), the low CCP-dose group (L-CCP, 100 mg · kg⁻¹ · d⁻¹) and the enalapril maleate group (EM, 1 mg · kg⁻¹ · d⁻¹), 10 in each group. The sham-operation group was also established with 10 rats. The intervention groups were given corresponding dose CCP or enalapril maleate respectively. The sham-operation group and model group were given 0.5% sodium carboxymethyl cellulose. After 4-weeks treatment, cardiac structure and function of rats were assessed by ultrasonic diagnostic apparatus. Pathology changes of myocardial tissues were observed by HE staining. To detect the capillary density and new arterioles in peripheral infarction area,

基金资助: 国家自然科学基金项目(No. 7162172); 北京市自然科学基金项目(No. 81573777)

作者单位: 1. 北京中医药大学研究生院(北京 100029); 2. 山东省日照市中医医院心二科(山东 276800); 3. 中日友好医院中西医结合心内科(北京 100029)

通讯作者: 黄力, Tel: 010-84205137, E-mail: lihstrong@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20190529.050

platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (CD31) and α -smooth muscle actin(α -SMA) were observed by immunohistochemical staining. The level of vascular endothelial growth factor(VEGF) and basic fibroblast growth factor(bFGF) of serum were detected by ELISA. Results Compared with the sham-operation group, left ventricular end-systolic dimension(LVESD) and left ventricular end-diastolic dimension(LVEDD) in the model group increased($P < 0.01$). Expressions of CD31, α -SMA, VEGF and bFGF increased($P < 0.05$), while left ventricular ejection fraction(LVEF) and left ventricular fraction shortening(LVFS) decreased($P < 0.01$). Compared with the model group, H-CCP, M-CCP and EM had significant increases of LVEF and LVFS, as well as meaningful decreases of LVEDD and LVESD($P < 0.01$). The expressions of CD31 and α -SMA obviously increased in the peripheral infarction area of H-CCP and M-CCP($P < 0.05$). In addition, the level of VEGF and bFGF in rat serum increased significantly($P < 0.05$). Conclusion CCP could improve the cardiac function of MI rats by up-regulating the expression of VEGF and bFGF which increase capillary density and arteriole formation resulting in the promotion of angiogenesis and repairment of damaged myocardium.

KEYWORDS *cervi cornu pantotrichum*; myocardial infarction; angiogenesis; cardiac- function; myocardial damage

中国心血管病报告 2018 显示:心血管疾病(cardiac vascular disease, CVD)已成中国城乡居民死亡的首位原因,据推算 CVD 现患人数 2.9 亿^[1],急性心肌梗死(心梗)是 CVD 相关的主要死亡原因^[2]。治疗性血管新生是通过药物治疗增加有功能的冠状动脉分支或侧支循环,恢复缺血心肌血供、改善患者预后^[3]。鹿茸可治疗心血管系统、免疫系统等疾病^[4],临床疗效确切^[5]。本课题组在前期研究中发现:鹿茸对心肌损伤具有保护作用,可改善心梗大鼠心功能^[6]。本研究旨在前期研究基础上,利用心梗模型大鼠,深入观察鹿茸是否可以通过促进血管新生修复心肌损伤、改善大鼠心功能,发挥其保护效应。

材料与方法

1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 80 只,8 周龄,体重(240 ± 20)g,购自华阜康生物科技有限公司,实验动物使用许可证编号:SCXK(京)2009-0007。在实验周期内,大鼠被饲养在具有单独通风功能的装置中,(12 h 光/暗循环,23~26℃,40~50%湿度),并喂食标准实验室饲料和水。涉及动物的实验方案由中日友好医院伦理委员会审查和批准(No. 17-0106),所有实验均按照中日友好医院发布的相关实验动物管理准则和规定进行。

2 药物 戊巴比妥钠(北京化学试剂公司,批号:020919);马来酸依那普利片(扬子江药业集团江苏制药股份有限公司,批号:16112511,10 mg/片);鹿茸(吉林东丰梅花鹿养殖基地)切片后冻干打粉,溶于 0.5%羧甲基纤维素钠(25 g/瓶,北京索莱宝科技有限公司,批号 9004-32-4),置于超声振荡仪上振

荡 10 min 以确保混匀,4℃冰箱保存备用。

3 主要试剂与仪器 Anti-CD31 (Abcam 公司,批号:GR3186290-3,Abcam182981,用于免疫组化);Anti- α -SMA (Abcam 公司,批号:GR283004-15,Abcam 5694);通用型二抗及 DAB 染色液(丹麦 Dako,批号:20036385, A-K500711); Anti-CD31 (Abcam 公司,批号:GR192515-15,Abcam64543,用于免疫荧光);含 DAPI 防荧光淬灭封片剂(Abcam 公司,批号:GR319795-2,ab104139);内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF) ELISA Kit(博奥森,批号:20170908,bsk00173)及成纤维细胞生长因(basic fibroblast growth factor, bFGF) ELISA Kit (瑞格博,批号:20180630.60516R, RGB-60516R)。心脏超声机(美国 GE);ALC-V8 动物呼吸机(上海奥尔科特);全自动多功能酶标仪(美国 Thermo)。

4 动物模型制备及干预方法 1%戊巴比妥钠(50 mg/kg)腹腔注射麻醉,仰卧位固定大鼠。手术部位备皮消毒,术前心电图后经口行气管插管,连接小动物呼吸机。于胸骨左侧第 3、4 肋间横向切开皮肤,逐层分离肌肉、肋骨暴露心脏。在肺动脉圆锥及左心耳下 1~2 mm 处,结扎前降支,可见下方因心脏缺血大面积泛白。逐层关闭胸腔,缝合皮肤。假手术组仅穿线而不结扎冠脉。术后 24 h 采集心电图,标准 12 导联中 I、AVL、V3~V6 兼有 V1 或 V2 导联中同时出现 Q 波,视为模型成功^[7]。70 只大鼠行心梗手术,成模率为 72%,共 50 只。成模大鼠按随机数字表法分为模型组、高、中、低浓度鹿茸组和马来酸依那普利(简称普利组)5 组,每组 10 只。另选择 10 只为假手术

组。实验动物用药量根据人和动物间按体表面积折算的等效剂量比值表计算^[8],大鼠用量为人的 7 倍:鹿茸临床用量为 2 g/70 kg,经计算大鼠给药量为 200 mg/(kg·d),以此为中浓度鹿茸组,相当于等剂量成人临床用量;400 mg/(kg·d)为高浓度鹿茸组,相当于临床用量的 2 倍;100 mg/(kg·d)为低浓度鹿茸组,相当于临床用量的 0.5 倍。马来酸依那普利临床用量为 10 mg/70kg,普利组大鼠给药量为 1 mg/(kg·d),相当于等剂量成人临床用量。假手术组与模型组给予 0.5%羧甲基纤维素钠灌胃。术后每日灌胃 1 次,第 4 周末处死各组大鼠。

5 检测指标及方法

5.1 超声心动图检测 各组大鼠于心梗后第 4 周末,取材前行经壁超声心动图检测,M 型超声测量同一个心动周期内左室射血分数(left ventricular ejection fractions,LVEF)、左室短轴缩短率(left ventricular factional shortening,LVFS)、左室收缩末期内径(left ventricular end-systolic dimension,LVESD)和左室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic dimension,LVEDD),以连续三个心动周期测量值的平均值作为检测数据。

5.2 心肌组织 HE 染色 心脏组织在 4%多聚甲醛中固定 48 h 后进行石蜡包埋切片,厚度为 4 μm,HE 常规染色,在显微镜下观察心肌梗死边缘区病理结构。

5.3 免疫组织化学检测 大鼠心肌梗死边缘区 CD31、α-SMA 石蜡切片脱蜡,0.3%过氧化氢孵育,以灭活内源性酶,一抗(1:1 000),4℃孵育过夜。次日,通用型二抗孵育 60 min。DAB 显色,镜下控制反应时间(1~2 min)。显微镜下观察棕黄色为阳性表达,每张切片于 400 倍镜下取 6 个不重叠视野,应用 Image-Pro Plus Version 6.0 图像处理系统测定 6 个图像的平均光密度值,取平均值。

5.4 免疫荧光染色观察 大鼠心肌梗死边缘区 CD31、α-SMA 共表达 将小鼠来源的 CD31 抗体与兔来源的 α-SMA 抗体(均 1:200)混匀滴加在组织上,4℃孵育过夜。次日,将 488 标记的山羊抗兔二抗与 555 标记的山羊抗小鼠二抗(均 1:250)混匀滴加在组织上,室温避光孵育 1 h。用含有 DAPI 的防荧光淬灭封片剂封片。在 400 倍荧光显微镜下观察,拍摄照片。

5.5 各组大鼠血清中 VEGF、b-FGF 含量检测 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,从腹主动脉抽取动脉血,离心后分装保存于-80℃冰箱备用。用 ELISA 法分别

检测大鼠血清中 VEGF 及 b-FGF 含量,严格遵循试剂盒说明书进行操作。

6 统计学方法 应用 SPSS 17.0 统计软件,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

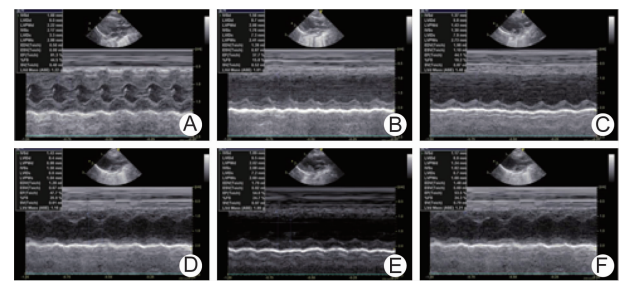
结 果

1 各组超声心动图检测结果比较(表 1,图 1) 与假手术组比较,模型组 LVEF、LVFS 降低($P < 0.01$),LVESD、LVEDD 增加($P < 0.01$);与模型组比较,高、中浓度鹿茸组及普利组 LVEF、LVFS 增加,LVESD、LVEDD 降低(均 $P < 0.01$),低浓度鹿茸组差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 各组超声心动图检测结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	LVESD(mm)	LVEDD(mm)	LVEF(%)	LVFS(%)
假手术	10	4.78±0.86	6.96±0.48	78.69±5.01	42.49±5.15
模型	10	9.08±1.19*	10.43±1.16*	38.91±5.98*	16.59±2.94*
低浓度鹿茸	10	8.56±1.41	9.45±1.58	43.61±7.02	19.50±3.29
中浓度鹿茸	10	7.39±1.01 [△]	8.97±0.61 [△]	48.95±6.57 [△]	21.77±3.54 [△]
高浓度鹿茸	10	7.17±0.85 [△]	8.54±0.78 [△]	54.97±8.95 [△]	24.50±4.02 [△]
普利	10	7.07±1.06 [△]	8.75±0.78 [△]	54.76±2.70 [△]	24.96±1.58 [△]

注:与假手术组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[△] $P < 0.01$

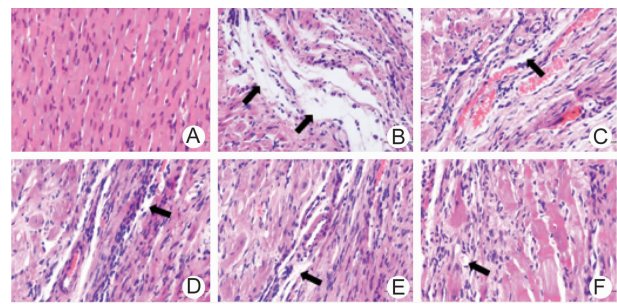


注:A 为假手术组;B 为模型组;C 为低浓度鹿茸组;D 为中浓度鹿茸组;E 为高浓度鹿茸组;F 为普利组

图 1 各组大鼠心梗术后 28 天超声心动图

2 各组心肌组织 HE 染色结果比较(图 2) 假手术组心肌组织形态正常,结构清楚,心肌细胞横纹,胞核大小均一;模型组可见明显梗死区,心肌组织排列紊乱,出现断裂、溶解,心肌细胞变性、坏死,胞核固缩、破碎、甚至消失,血管、结缔组织严重增生;各药物干预组大鼠的心肌结构都有不等程度的改善,心肌纤维较完整,排布整齐,增生程度减轻,存活心肌细胞较多,细胞染色大致匀称,少量炎症细胞浸润。

3 各组大鼠心梗边缘区 CD31、α-SMA 表达比较(表 2,图 3,4) 各组均可观察到大鼠心梗边缘区的微血管及小动脉。与假手术组比较,模型组 CD31 和



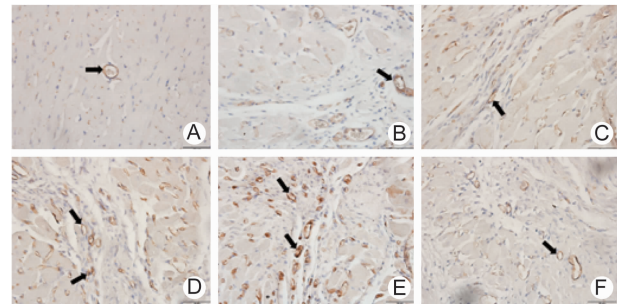
注:A 为假手术组;B 为模型组;C 为低浓度鹿茸组;D 为中浓度鹿茸组;E 为高浓度鹿茸组;F 为普利组;箭头所指为典型病理变化

图 2 各组大鼠心肌组织病理结果比较 (HE, ×400)

表 2 各组大鼠心肌梗边缘区 CD31、α-SMA 平均光密度表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

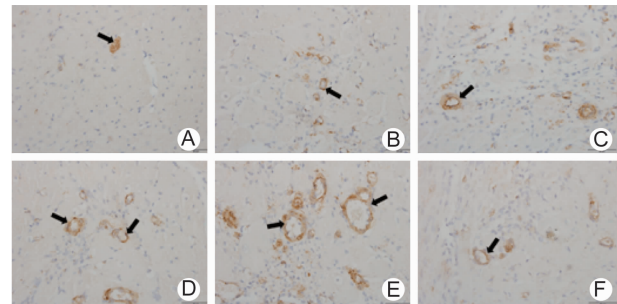
组别	n	CD31	α-SMA
假手术	10	75.97 ± 10.12	1 764.53 ± 158.87
模型	10	131.77 ± 17.56 *	3 833.92 ± 524.64 *
低浓度鹿茸	10	146.37 ± 24.19	4 191.83 ± 626.84
中浓度鹿茸	10	195.26 ± 18.01 Δ	6 087.78 ± 739.89 Δ
高浓度鹿茸	10	201.32 ± 20.77 Δ	6 235.54 ± 884.94 Δ
普利	10	188.17 ± 25.27	4 442.08 ± 704.45

注:与假手术组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$



注:A 为假手术组;B 为模型组;C 为低浓度鹿茸组;D 为中浓度鹿茸组;E 为高浓度鹿茸组;F 为普利组;箭头所指为典型 CD31 表达

图 3 各组大鼠缺血心肌梗边缘区 CD31 表达 (免疫组化染色, ×400)

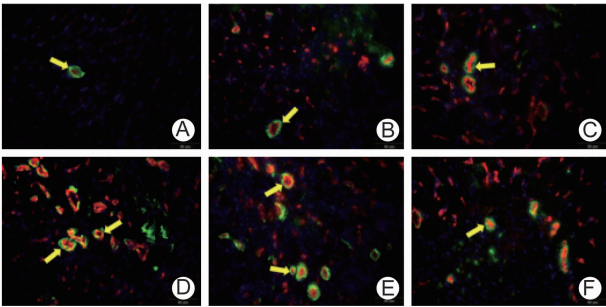


注:A 为假手术组;B 为模型组;C 为低浓度鹿茸组;D 为中浓度鹿茸组;E 为高浓度鹿茸组;F 为普利组;箭头所指为典型 α-SMA 表达

图 4 各组大鼠缺血心肌梗边缘区 α-SMA 免疫组化染色表达 (免疫组化染色, ×400)

α-SMA 表达增多($P < 0.05$);与模型组比较,高、中浓度鹿茸组 CD31 和 α-SMA 表达增多($P < 0.05$),其中高浓度鹿茸组较为明显;低浓度鹿茸组、普利组与模型组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

4 免疫荧光法检测大鼠缺血心肌梗边缘区 CD31、α-SMA (图 5) 假手术组仅可见少量 CD31 和 α-SMA 共表达;模型组大鼠心肌梗死边缘区 CD31 和 α-SMA 共表达增强,表明心肌缺血后产生代偿,启动了血管新生;各给药组 CD31 和 α-SMA 共表达与模型组相比均增多,其中高、中浓度鹿茸趋势较明显。



注:A 为假手术组;B 为模型组;C 为低浓度鹿茸组;D 为中浓度鹿茸组;E 为高浓度鹿茸组;F 为普利组;CD31 为红色荧光标记血管内皮细胞,α-SMA 为绿色荧光标记血管平滑肌细胞,蓝色荧光标记细胞核;当 CD31 和 α-SMA 共表达在同个血管则表明内皮细胞外有血管平滑肌包裹,可减少破裂与渗漏的风险,提示已发育为成熟的微血管;箭头所指为典型 CD31 与 α-SMA 共表达

图 5 各组大鼠缺血心肌梗边缘区血管新生相关指标

5 各组大鼠血清中 VEGF 和 bFGF 含量比较 (表 3) 与假手术组比较,模型组 VEGF 和 bFGF 含量增加($P < 0.05$);与模型组比较,高、中浓度鹿茸组 VEGF 与 bFGF 含量增加($P < 0.05$);低浓度鹿茸组、普利组与模型组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 3 各组大鼠血清中 VEGF 和 bFGF 含量比较 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	VEGF	bFGF
假手术	10	994.17 ± 159.36	411.84 ± 62.48
模型	10	1 262.35 ± 194.95 *	556.98 ± 79.61 *
低浓度鹿茸	10	1 465.05 ± 168.22	625.08 ± 129.2
中浓度鹿茸	10	1 578.55 ± 144.92 Δ	704.96 ± 94.42 Δ
高浓度鹿茸	10	1 641.20 ± 137.21 Δ	717.55 ± 108.82 Δ
普利	10	1 457.01 ± 231.64	634.16 ± 139.03

注:与假手术组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

讨 论

现代医学理论中的血管新生与中医传统“血脉”理论中的“生脉”颇为相似。中医学认为温阳、益气、活血、养阴等法均可生脉^[9]。鹿茸归属心包、心、肾、肝经,禀纯阳之质、含生发之气^[10],素有壮元阳、补气血、益精

髓的功用^[11]。鹿茸是哺乳动物中唯一具有完全独立再生能力,可在 60 天内迅速生长发育为含有丰富血管系统的成熟器官^[12]。中医使用鹿茸已经有近两千多年的历史,并取得了良好的临床治疗效果。现代药理研究发现:鹿茸中含有多种生物活性成分,其中 50% 以上是蛋白类物质^[12]。本课题组在早前离体实验中发现:鹿茸蛋白能够保护缺血缺氧损伤的心脏微血管内皮细胞^[13]与心肌细胞^[14],通过调控凋亡相关蛋白的表达;鹿茸蛋白通过调控 Notch 与 AKT 信号通路影响内皮祖细胞的增殖和迁移,进而促进受损微血管的修复^[15]。在体内实验中证实:鹿茸通过促进大鼠内皮祖细胞的动员以加速心梗后血管新生并修复血管内皮细胞损伤,其机制可能是通过激活 Notch 信号通路得以实现^[16]。基于此,本课题组进一步研究鹿茸通过促进血管新生,发挥修复心梗心肌损伤,改善心功能的保护效应。

血管新生是通过血管内皮细胞的增殖和迁移发芽长出新的毛细血管和小的非肌性血管,进而形成复杂血管系统^[17]。在评价新生血管和侧支循环建立情况时,多采用免疫组化染色的方法。其中 CD31 是目前内皮细胞敏感特异的标志物,可反映微血管密度^[18]。 α -SMA 是血管平滑肌纤维的特异性标志,可标记有平滑肌细胞覆盖的新生小动脉^[19]。心肌缺血可诱导自发血管生成,然而,这种保护性反应不足以补偿由于冠状动脉闭塞所造成的缺血^[20]。心肌梗死后,侧支循环的形成需要通过各种生长因子对静态的内皮细胞进行刺激,其中 VEGF 和 bFGF 均参与其中^[21]。当血管生长时,首先形成未成熟的血管网络^[22]。这些血管仅由内皮细胞组成,具有渗漏和破裂的高风险。而当内皮细胞通道被血管平滑肌细胞覆盖时,则可以提供稳定的血流^[23]。免疫组化统计结果显示,鹿茸可增加大鼠心梗边缘区 CD31 和 α -SMA 表达,提示鹿茸有效促进心梗大鼠血管新生,改善血液循环,促进心肌损伤修复。免疫荧光双染色同时标记 CD31 和 α -SMA,对两者进行定位,以便更直观地显示血管新生情况。

VEGF 是血管内皮细胞生长刺激因子,能特异性地作用于血管内皮细胞,促进侧支血管的形成^[24]。其主要作用于微血管生成阶段,形成的血管不成熟、易渗漏,且不能促进动脉生成^[25]。而 bFGF 是血管源性生长因子,对动脉性侧支的生长具有良好的促进作用^[26]。同时许多实验已证实,VEGF 和 bFGF 在促进血管生成中存在着明显的协同作用^[27,28]。ELISA 结果显示模型组血清 VEGF、bFGF 含量较假手术组增多,提示大鼠在冠脉结扎后,机体产生代偿。与模型组比较,高、中浓度鹿茸可进一步提高 VEGF、bFGF 的含

量,提示鹿茸促进血管新生的作用与增加 VEGF、bFGF 表达有一定关系。

心脏超声结果显示,高、中浓度鹿茸可提高心梗大鼠 LVFS 和 LVEF,改善大鼠心功能。HE 染色结果提示高、中浓度鹿茸组心肌细胞形态较模型组有不同程度改善。高、中浓度鹿茸组血清 VEGF、bFGF 水平升高,大鼠心梗边缘区微血管密度与小动脉数量较模型组增加,LVEF 和 LVFS 明显改善,提示鹿茸可能通过增加心肌缺血区血管新生改善大鼠心梗后左心室收缩功能。低浓度鹿茸有改善心功能的趋势,但差异无统计学意义,考虑可能为鹿茸浓度较低、尚未达到起效剂量,也可能需要在今后扩大样本量以进一步研究。

此外,超声心动图也显示高、中浓度鹿茸组大鼠 LVESD、LVEDD 较模型组明显降低,表明鹿茸能够减轻心梗后失代偿性的心室扩张、改善心肌重构。

上述发现提示:鹿茸可能通过上调促血管新生因子 VEGF、bFGF 的相关表达,增加梗死边缘区微血管密度与小动脉生成,促进血管新生,修复心梗大鼠心肌损伤,从而改善心功能。实验表明鹿茸是治疗心梗的潜在有效药物,为心梗的防治研究提供了新的思路 and 实验依据。但尚未完全阐明鹿茸促进心梗后大鼠血管新生 相关机制,需要进一步深入研究。

利益冲突:本文无利益冲突。

参 考 文 献

- [1] 胡盛寿,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2018》概要[J]. 中国循环杂志, 2019, 34(3): 209-220.
- [2] Sen S, Merchan J, Dean J, et al. Autologous transplantation of endothelial progenitor cells genetically modified by adeno-associated viral vector delivering insulin-like growth factor-1 gene after myocardial infarction [J]. Hum Gene Ther, 2010, 21(10): 1327-1334.
- [3] Lasseletta AD, Chu LM, Sellke FW. Therapeutic neovascularization for coronary disease: current state and future prospects[J]. Basic Res Cardiol, 2011, 106(6): 897-909.
- [4] 胡太超,刘玉敏,陶荣珊,等. 鹿茸的化学成分及药理作用研究概述[J]. 经济动物学报, 2015, 19(3): 156-162.
- [5] 黄力. 鹿茸治疗心梗后心衰的临床及实验研究[A]. 中国中西医结合学会活血化瘀专业委员会. 第十一届活血化瘀研究进展高层论坛论文集[C]. 北京: 中国中西医结合学会, 2016: 2.
- [6] Shao MJ, Wang SR, Zhao MJ, et al. The effects

- of velvet antler of deer on cardiac functions of rats with heart failure following myocardial infarction[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012; 825056.
- [7] 王蕾, 赵明镜, 杨涛, 等. 从心电图和超声心动图相关性分析研究心肌梗死后心衰模型的早期评价和筛选方法[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2017, 15(22): 2816–2820.
 - [8] 施新猷主编. *现代医学实验动物学*[M]. 北京: 人民军医出版社, 2000: 421.
 - [9] 郭浩, 李磊, 侯金才, 等. 中药促治疗性血管新生防治缺血性心脑血管疾病的研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(1): 24–28.
 - [10] 明·缪希雍. *神农本草经疏*[M]. 北京: 中医古籍出版社, 2002: 479–481.
 - [11] 黄泰康主编. *现代本草纲目*[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2001: 2649–2652.
 - [12] Wu F, Li H, Jin L, et al. Deer antler base as a traditional Chinese medicine: a review of its traditional uses, chemistry and pharmacology[J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 145(2): 403–415.
 - [13] Xiao X, Li L, Xu SQ, et al. Evaluation of velvet antler total protein effect on bone marrow-derived endothelial progenitor cells[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(3): 3161–3168.
 - [14] 肖响, 吴佳芸, 李琳, 等. 鹿茸蛋白对缺血缺氧诱导心肌细胞凋亡的保护作用[J]. *中国中西医结合杂志* 2019, 39(4): 460–464.
 - [15] Xiao X, Xu S, Li L, et al. The effect of Velvet Antler proteins on cardiac microvascular endothelial cells challenged with ischemia-hypoxia[J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 601.
 - [16] Li Y, Wang Z, Mao M, et al. Velvet Antler mobilizes endothelial progenitor cells to promote angiogenesis and repair vascular endothelial injury in rats following myocardial infarction[J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1940.
 - [17] Badimon L, Borrell M. Microvasculature recovery by angiogenesis after myocardial infarction[J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24(25): 2967–2973.
 - [18] Sass FA, Schmidt-Bleek K, Ellinghaus A, et al. CD31⁺ cells from peripheral blood facilitate bone regeneration in biologically impaired conditions through combined effects on immunomodulation and angiogenesis[J]. *J Bone Miner Res*, 2017, 32(5): 902–912.
 - [19] Rendell MS, Milliken BK, Finnegan MF, et al. A comparison of the microvascular response in the healing wound in the spontaneously hypertensive and non-hypertensive rat[J]. *Int J Surg Investig*, 2000, 2(1): 17–25.
 - [20] Cochain C, Channon KM, Silvestre JS. Angiogenesis in the infarcted myocardium[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 18(9): 1100–1113.
 - [21] Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis[J]. *Nature*, 2011, 473(7347): 298–307.
 - [22] Yu JM, Zhang XB, Jiang W, et al. Astragalosides promote angiogenesis via vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in a rat model of myocardial infarction[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(5): 6718–6726.
 - [23] Weil BR, Kushner EJ, Diehl KJ, et al. CD31 + T cells, endothelial function and cardiovascular risk[J]. *Heart Lung Circ*, 2011, 20(10): 659–662.
 - [24] De Luca A, Carotenuto A, Rachiglio A, et al. The role of the EGFR signaling in tumor microenvironment[J]. *J Cell Physiol*, 2008, 214(3): 559–567.
 - [25] Hershey JC, Baskin EP, Corcoran HA, et al. Vascular endothelial growth factor stimulates angiogenesis without improving collateral blood flow following hindlimb ischemia in rabbits[J]. *Heart Vessels*, 2003, 18(3): 142–149.
 - [26] Kastrup J, Jørgensen E, Drvota V. Vascular growth factor and gene therapy to induce new vessels in the ischemic myocardium. Therapeutic angiogenesis[J]. *Scand Cardiovasc J*, 2001, 35(5): 291–296.
 - [27] Tsunoda S, Nakamura T, Sakurai H, et al. Fibroblast growth factor-2-induced host stroma reaction during initial tumor growth promotes progression of mouse melanoma via vascular endothelial growth factor A-dependent neovascularization[J]. *Cancer Sci*, 2007, 98(4): 541–548.
 - [28] Kigel B, Rabinowicz N, Varshavsky A, et al. Plexin-A4 promotes tumor progression and tumor angiogenesis by enhancement of VEGF and bFGF signaling[J]. *Blood*, 2011, 118(15): 4285–4296.

(收稿: 2018–11–26 在线: 2019–06–20)

责任编辑: 白霞