

本文引用:彭熙炜,阎卉芳,黄娟,朱嘉欢,徐昊,黄小平,邓常清.黄芪-当归配伍对大鼠血管内膜增生模型细胞外基质的影响[J].湖南中医药大学学报,2018,38(6):629-634.

黄芪-当归配伍对大鼠血管内膜增生模型 细胞外基质的影响

彭熙炜^{1,2}, 阎卉芳¹, 黄娟¹, 朱嘉欢¹, 徐昊¹, 黄小平¹, 邓常清^{1*}

(1.湖南中医药大学中西医结合心脑血管疾病防治湖南省重点实验室,湖南长沙 410208;

2.湖南中医药大学附属常德医院,湖南常德 415000)

〔摘要〕目的 研究黄芪和当归配伍对大鼠血管内膜增生血管壁细胞外基质的影响。方法 将SD大鼠随机分为黄芪与当归(简称芪归)1:1、芪归5:1(3.9 g/kg)配伍组及单用黄芪组(2.17 g/kg)、单用当归组(1.08 g/kg)、阳性药物阿托伐他汀对照组(0.1 g/kg)和假手术组,采用球囊导管损伤大鼠血管内皮造成胸腹主动脉血管内膜增生模型,同时灌胃黄芪、当归不同比例配伍药物,连续给药14 d后,取胸腹主动脉,用western blot法检测增生内膜中基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、组织基质金属蛋白酶抑制物-1(TIMP-1)蛋白表达,免疫组化法检测增生内膜中I型胶原(Col-I)、纤维连接蛋白(FN)表达。结果 与模型组比较,单用当归组、芪归1:1组、阿托伐他汀组Col-I、FN、MMP-9表达显著降低($P<0.01$, $P<0.05$)。芪归5:1组Col-I、MMP-9表达强度显著低于模型组($P<0.05$);单用黄芪组MMP-9表达强度显著低于模型组($P<0.05$)。单用黄芪组Col-I、FN的表达强度与模型组比较差异无统计学意义($P>0.05$),芪归5:1组FN的表达强度与模型组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。各组间TIMP-1的表达强度差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 黄芪-当归配伍可抑制血管内膜增生时血管壁细胞外基质沉积,其中当归为其主要的效应药物,黄芪-当归1:1配伍的作用强于两药单用及其5:1配伍。

〔关键词〕 黄芪;当归;配伍;血管内膜增生;细胞外基质

〔中图分类号〕 R285.5;R393;R54

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2018.06.005

Effect of Combination of Astragali Radix and Angelicae Sinensis Radix on Extracellular Matrix of Intimal Hyperplasia Rat Models

PENG Xiwei^{1,2}, YAN Hui Fang¹, HU QING Juan¹, ZHU Jiahuan¹, XU Hao¹, HUANG Xiaoping¹, DENG Changqing^{1*}

(1. Key Laboratory of Integrated Chinese and Western Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Changde Hospital Affiliated to Hunan University of Chinese Medicine, Changde, Hunan 415000, China)

〔Abstract〕 Objective To study the effect of compatibility of Astragali Radix (Huangqi) and Angelicae Sinensis Radix (Danggui) on the extracellular matrix of rats with intima hyperplasia. **Methods** Sprague-Dawley rats were randomly divided into different groups: Huangqi-Danggui 1:1 group, Huangqi-Danggui 5:1 group (3.9 g/kg), Huangqi group (2.17 g/kg), Danggui group (1.08 g/kg), atorvastatin control group (0.1g/kg) and sham-operation group. A model of intimal hyperplasia of thoracoabdominal aorta was established by balloon catheter injury in rats. Then thoracoabdominal aorta was taken out after administration of Huangqi and Danggui for 14 days. The expression of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) in proliferating endometrium was detected by Western blot. Immunohistochemistry was used to detect the expression of collagen-I

〔收稿日期〕 2017-11-23

〔基金项目〕 国家自然科学基金项目(81473581);湖南省科技创新团队项目(2013年);湖南省自然科学创新群体基金项目(2013年)。

〔作者简介〕 彭熙炜,男,在读硕士研究生,研究方向:中医药防治心脑血管疾病。

〔通讯作者〕* 邓常清,男,教授,博士研究生导师,E-mail:dchangq@sohu.com。

(Col-I) and fibronectin (FN) in proliferative endometrium. **Results** Compared with the model group, the expression intensity of Col-I, FN and MMP-9 in Danggui group, Danggui-Huangqi 1:1 group, atorvastatin group were significantly lower ($P<0.01$, $P<0.05$). The expression of Col-I and MMP-9 in Danggui-Huangqi 5:1 group was significantly lower than that in model group ($P<0.05$). The expression of MMP-9 in Danggui group was significantly lower than that in model group ($P<0.05$). There was no significant difference in the expression intensity of Col-I and FN between the Danggui group and the model group ($P>0.05$). There was no significant difference in the expression intensity of FN between the Huangqi-Danggui 5:1 group and the model group ($P>0.05$). There was no significant difference in the expression intensity of TIMP between each group ($P>0.05$). **Conclusion** Huangqi and Danggui could inhibit the deposition of extracellular matrix during intimal hyperplasia. And Danggui is one of the main effect drugs. The effect of Huangqi-Danggui 1:1 compatibility was stronger than the two drugs alone and compatibility of Huangqi-Danggui 5:1.

[**Keywords**] Astragali Radix; Angelicae Sinensis Radix; compatibility; vascular intimal hyperplasia; extracellular matrix

血管内膜增生是动脉粥样硬化、高血压血管重构和介入术后血管再狭窄等心血管疾病的病理生理基础。在其复杂的发病机制中,血管内皮损伤后导致血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC)从血管中膜迁移到内膜并增殖是其病理生理基础。同时,VSMC在内膜迁移增殖过程中合成大量细胞外基质(extracellular matrix, ECM),沉积于血管壁,从而形成新生内膜,引起血管狭窄^[1]。因此,抑制血管内皮损伤后 VSMC 增殖的同时,抑制 ECM 沉积和促进其降解,是防治血管内膜增生性病变的重要手段。

黄芪和当归是临床常用的中药药对,二者配伍既具有补气生血作用,又可益气活血。黄芪和当归的配伍(简称芪归)应用最有名的是公元 1247 年由李东垣所创的当归补血汤(Danggui Buxue Tang, DBT),由黄芪一两、当归二钱组成,芪归比为 5:1。研究表明,由黄芪和当归配伍组方除具有促进造血^[2]、增强免疫力^[3]等作用外,还具有心血管保护作用^[4]、抗动脉粥样硬化^[5]等药理效应。本课题组前期研究发现黄芪-当归在一定比例范围内配伍有较好的抗血管内膜增生的作用,而且当归为其抗血管内膜增生的主要药效物质。黄芪配伍当归可增强其抗血管内膜增生的作用,其中以芪归 1:1 配伍的作用为强^[6],但其作用机制尚未阐明。因此,我们基于血管内膜增生的病理生理机制,以抑制 ECM 沉积为切入点,进一步探讨了黄芪和当归配伍抗血管内膜增生的作用机制。

1 实验材料

1.1 主要仪器

2.0 mm×15 mm Runjin 医用球囊导管、Run-through 导丝(日本泰尔茂株式会社产品)。医用球囊

扩张压力泵(江西省中医院提供)。

1.2 实验动物

SD 雄性大鼠,体质量 220~250 g,SPF 级,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,大鼠动物许可证号:SCXK(湘)2013-0004。实验前适应性饲养 1 周,饲养于湖南中医药大学实验动物中心,湿度 45%~65%、室温 25 ℃,喂食标准饲料,自由饮水。实验场地许可证号:SCXK(湘)2013-0005。

1.3 药物及制备

黄芪(产地内蒙古)、当归(产地甘肃)由湖南中医药大学附一医院药剂科统一购进并经湖南中医药大学附一医院左亚杰教授鉴定,黄芪为膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge 的干燥根,当归是伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根。根据本课题组以前的研究结果,黄芪和当归在 1:1 配伍时具有较好的抑制血管内膜增生的作用^[6],而黄芪和当归的传统配伍是 5:1,故设立黄芪-当归 1:1、5:1 配伍及单用药物组。按不同配伍,分别称取药材,以水热回流法提取 3 次(第一次 8 倍量水,提取 1 h;第二、三次 6 倍量水,提取 1 h),合并 3 次提取液,过滤后在 60 ℃真空条件下蒸发浓缩制成浸膏,取出浸膏用蒸馏水定容为一定浓度:黄芪 0.22 g/mL(生药)、当归 0.11 g/mL(生药)、芪-归不同配伍组 0.39 g/mL(生药)。药液中加入苯甲酸钠 0.1%,分装后置-4 ℃冰箱中保存备用。阿托伐他汀钙,浙江新东港药业股份有限公司生产,批号:20160803,规格:10 mg/片。临用时用蒸馏水溶解制成混悬液。

1.4 主要试剂

兔抗大鼠基质金属蛋白酶-9(MMP-9)多克隆抗体、兔抗大鼠组织基质金属蛋白酶抑制物-1

(TIMP-1)多克隆抗体、兔抗大鼠 I 型胶原(Col-I)多克隆抗体、兔抗大鼠纤维连接蛋白(FN)多克隆抗体、 β -actin 多克隆抗体为英国 abcam 公司产品。DAB 显色试剂盒(批号:SP-900D)、免疫组化染色试剂盒(批号:SP-9001)为北京中杉金桥生物有限公司产品。牛血清蛋白(BSA)为华美生物工程有限公司产品。PVDF 膜为瑞典 Amersham 公司产品。ECL 化学发光试剂盒为美国 GE Healthcare 公司产品。其它试剂均为国产分析纯。

2 方法

2.1 实验分组及模型制备方法

将大鼠随机分为 7 组:假手术组、模型组、单用当归组、单用黄芪组、芪归 1:1 组、芪归 5:1 组、阿托伐他汀组。每组实验成功的大鼠数为 8~10 只。采用球囊损伤后血管再狭窄模型^[7]。假手术组:只分离暴露左颈总动脉后缝合,不进行球囊损伤术。术后灌服等量蒸馏水。模型组:行胸腹主动脉球囊损伤造模,不进行药物干预。术后灌服等量蒸馏水。阿托伐他汀组:胸腹主动脉球囊损伤术后灌服阿托伐他汀药液。芪归不同配比组:胸腹主动脉球囊损伤术后灌服芪归不用配比药液。术后第一天开始给药,连续 14 d 后检测。给药剂量为:单用当归组 1.1 g/kg,单用黄芪组 2.2 g/kg,芪归配伍组 3.9 g/kg(芪归 1:1 配伍为 1.95 g/kg+1.95 g/kg,芪归 5:1 配伍为 3.25 g/kg+0.65 g/kg),阿托伐他汀组 10 mg/kg。给药体积为 10 mL/kg。

2.2 观察指标

2.2.1 标本的采集 末次给药后次日麻醉动物,截取胸腹主动脉血管。用于 western blot 检测的血管直接放入冻存管,然后置于 -80°C 冰箱保存。用于免疫组化检测的血管以 4%多聚甲醛固定,置于 4°C 冰箱保存。

2.2.2 免疫组织化学法测定增生内膜中 FN、Col-I 表达 以免疫组织化学法测定增生内膜中 FN、Col-I 的表达(一抗稀释倍数:FN 1:100,Col-I 1:100),操作按说明书。光镜下可见阳性表达呈棕黄色点状或纤维状染色,集中在细胞膜、细胞浆或细胞间。阴性则无棕黄色染色。用 MIAS 医学图像分析系统拍照,再每张切片分别选取 3 个不同视野,用 image-pro plus 6.0 图像分析软件测量单位面积的阳性染色积

分光密度(integrated optical density,IOD),取平均值进行统计分析。

2.2.3 western blot 法测定 MMP-9、TIMP-1 蛋白表达 取出血管组织,剔除外膜结缔组织,尽量剪碎,加入 1 mL 的 RIPA 裂解液,2 μL PMSF,研磨至无明显的组织碎片,再置于冰上 0.5 h 后,将组织匀浆液转移至 1.5 mL 的离心管中,于 4°C 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液。以 BCA 法测定样品的蛋白含量。按配方制备 10%聚丙烯酰胺分离胶和 5%聚丙烯酰胺浓缩胶,将凝胶转移至电泳槽。取样品蛋白,加入 2 \times SDS loading buffer、 β -巯基乙醇、裂解液调整蛋白浓度(1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$),置沸水中煮 10 min 使蛋白变性。将待分析样品和 Marker 依次加入,每个泳道加入 20 μL 。然后进行电泳。电泳完毕后,将凝胶放在电转液中,恒流 20 mA 转膜, 4°C 冰箱中过夜,使凝胶目的蛋白转移至 PVDF 膜上。将 PVDF 膜用 PBS 液洗 2 次,然后放入 5%PBS-脱脂奶粉封闭液内封闭 90 min。将 PVDF 膜放入杂交袋中,加入约 1 mL 一抗(MMP-9 1:1 000, TIMP-1 1:1 000, β -actin 1:1 000),在室温下摇床(70 r/min)孵育 90 min。PBS 洗 3 次,每次 10 min。再将上述与一抗孵育的 PVDF 膜加入稀释的二抗(羊抗兔 IgG 1:1 000),在室温下摇床(70 r/min)孵育 90 min。PBS 洗 3 次,每次 10 min。以 ECL 显色液显色,最后用凝胶成像系统观察、拍照。用 Quantity One 图像分析软件测定目的条带的累积光密度(integrated optical density,IOD),以目的条带的 IOD 与 β -actin 条带的 IOD 的比值作为该目的蛋白的相对表达量。

2.3 统计分析方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,实验数据采用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示。多组间均数的比较采用单因素方差分析,组间两两比较方差齐者用 LSD 检验,方差不齐者用 Dunnett's T3 检验。 $P<0.05$ 表示有统计学意义。

3 结果

3.1 各组增生内膜中 Col-I、FN 表达的比较

与假手术组比较,模型组增生内膜 Col-I 表达显著增强($P<0.01$)。与模型组比较,阿托伐他汀组增生内膜 Col-I 表达强度显著降低($P<0.01$);单用当归组、芪归 1:1 组和芪归 5:1 组增生内膜 Col-I 表达强度也显著低于模型组($P<0.05$);单用黄芪组与模型组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。各药物组之

间增生内膜 Col- I 表达差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1、图 1。

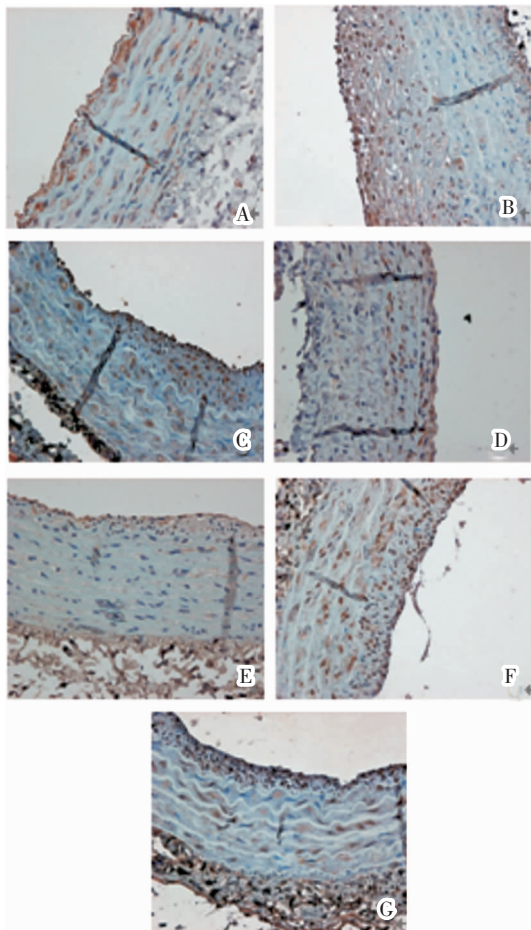
与假手术组比较,模型组增生内膜 FN 表达显著增强 ($P<0.01$)。与模型组比较,阿托伐他汀组、单用当归组增生内膜 FN 表达强度显著降低 ($P<0.01$); 芪归 1:1 组也较模型组 FN 表达强度降低 ($P<0.05$); 单用黄芪组、芪归 5:1 组与模型组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。各药物组之间增生内膜 FN 表达差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1、图 2。

表 1 各组增生内膜中 Col- I、FN 表达的比较

(IOD/25 μm^2 , $\bar{x}\pm s$, $n=8$)

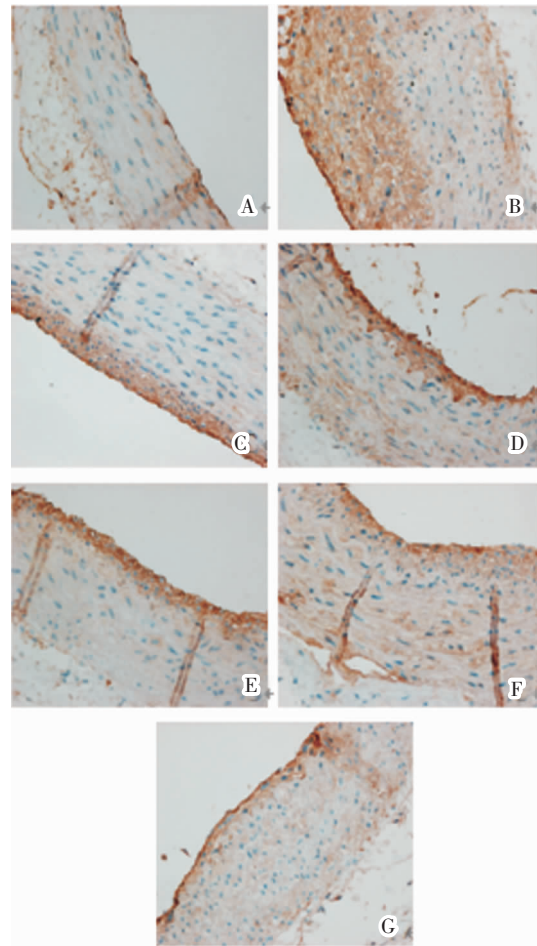
组别	COL-I	FN
假手术组	6.32±2.35	16.83±0.38
模型组	363.44±39.60**	340.84±29.97**
单用黄芪组	340.72±28.59	321.80±49.25
单用当归组	326.37±42.91 Δ	301.30±33.23 $\Delta\Delta$
芪归 1:1 组	321.81±29.06 Δ	304.82±32.07 Δ
芪归 5:1 组	325.41±43.29 Δ	328.97±35.96
阿托伐他汀组	317.56±27.15 $\Delta\Delta$	300.47±43.84 $\Delta\Delta$

注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$ 。



注:A.假手术组;B.模型组;C.单用当归组;D.单用黄芪组;E.芪归 1:1 组;F.芪归 5:1 组;G.阿托伐他汀组。

图 1 各组增生内膜中 Col- I 的表达(免疫组化染色,×400)



注:A.假手术组;B.模型组;C.单用当归组;D.单用黄芪组;E.芪归 1:1 组;F.芪归 5:1 组;G.阿托伐他汀组。

图 2 各组增生内膜中 FN 的表达(免疫组化染色,×400)

3.2 各组 MMP-9、TIMP-1 蛋白表达的比较

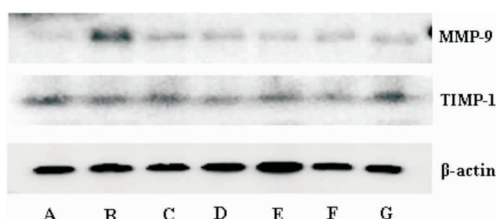
与假手术组比较,模型组 MMP-9 蛋白表达显著增强 ($P<0.01$)。与模型组比较,单用黄芪组 MMP-9 蛋白表达强度低于模型组 ($P<0.05$);阿托伐他汀组、单用当归组、单用黄芪组、芪归 1:1 组和芪归 5:1 组 MMP-9 蛋白表达强度显著低于模型组 ($P<0.01$)。各药物组之间 MMP-9 蛋白表达差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

与假手术组比较,模型组 TIMP-1 蛋白表达强度无显著差异 ($P>0.05$)。与模型组比较,阿托伐他汀组、单用当归组、单用黄芪组、芪归 1:1 组和芪归 5:1 组 TIMP-1 蛋白表达强度无明显差异 ($P>0.05$)。各药物组之间 TIMP-1 蛋白表达强度无显著差异 ($P>0.05$)。见表 2、图 3。

表2 各组 MMP-9、TIMP-1 蛋白表达的比较 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	MMP-9(MMP-9/ β -actin)	TIMP-1(TIMP-1/ β -actin)
假手术组	0.30 \pm 0.16	0.62 \pm 0.18
模型组	0.68 \pm 0.30**	0.46 \pm 0.13
单用黄芪组	0.42 \pm 0.26 [△]	0.61 \pm 0.23
单用当归组	0.31 \pm 0.14 ^{△△}	0.47 \pm 0.19
芪归 1:1	0.33 \pm 0.23 ^{△△}	0.56 \pm 0.15
芪归 5:1	0.36 \pm 0.08 ^{△△}	0.62 \pm 0.34
阿托伐他汀组	0.34 \pm 0.13 ^{△△}	0.51 \pm 0.23

注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$ 。



注:A.假手术组;B.模型组;C.单用黄芪组;D.单用当归组;E.芪归 1:1 组;F.芪归 5:1 组;G.阿托伐他汀组。

图3 各组 MMP-9、TIMP-1 蛋白表达图谱

4 讨论

ECM 是分布在细胞表面或细胞之间的大分子,主要由多糖、蛋白质或蛋白聚糖等组成。ECM 在维持血管壁的完整性和血管壁细胞的正常功能中扮演着重要的角色。在动脉粥样硬化、血管成形术后再狭窄等病变中 ECM 与 VSMC 的相互作用是其重要的病理因素。血管内膜增生性疾病中,血管中膜的 VSMC 增殖并迁移至内膜后合成大量 ECM 并在血管壁沉积,从而进一步促进内膜的增生。层黏连蛋白、弹性蛋白、胶原和纤维连接蛋白等是 ECM 的主要组成成分,其中胶原占据大部分,以 I 型和 III 胶原为主^[8]。Nikkari 等^[9]研究表明,血管内皮损伤第 3 天起增加最明显的是 I 型胶原,2 周达高峰后便逐渐下降。在增生的血管内膜中,可见 ECM 大量沉积,主要成分是纤维连接蛋白和胶原,占据了 89%,仅有 11%为细胞成分,ECM 的沉积促进了 VSMC 的增殖与向内膜的迁移^[10]。

另外在 ECM 的合成与降解过程中基质金属蛋白酶(matrix metallo proteinase,MMPs)起着另一关键的作用。目前发现的 MMPs 有 20 种之多,其中对胶原的合成与降解起着关键作用的为 MMP-2 与 MMP-9 等。在正常情况下组织基质金属蛋白酶抑制物(tissue inhibitor matrix metallo proteinase,TIMPs)

对 MMPs 的代谢起抑制作用,目前已发现四种 TIMPs 对 MMPs 有着显著的抑制作用,即为:TIMP-1、TIMP-2、TIMP-3、TIMP-4。TIMPs 抑制 MMPs 的机制是其与 MMPs 以 1:1 的比例非共价结合。在介入术后血管内皮损伤,TIMPs 的合成与表达可以抑制血管内膜增生,其机制是可抑制 VSMC 的增殖与迁移,并能诱导 VSMC 凋亡^[11]。Southgate 等^[12]研究发现:在行猪冠状动脉剥脱术后,MMP-2、MMP-9 在术后第 3 天的表达明显增强,并且其表达强度能维持 21 d 不衰减。有研究发现^[13]MMPs 抑制剂能有效抑制新生的血管内膜形成,在球囊血管损伤造模后即开始给予 MMPs 抑制剂,可见术后 1 周内 ECM 成分中胶原的合成明显减少 33%。因此,在血管增殖性病变的防治中,抑制 ECM 的过度沉积,对于其防治具有重要的治疗学意义。Wu 等^[14]研究发现,在血管损伤模型大鼠,三七皂苷能显著降低增生内膜中纤维连接蛋白(FN)和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)的表达,从而抑制 ECM 在内膜中的沉积并降解 ECM 相关蛋白,达到抑制血管内膜增生的作用。有研究发现^[7]:补阳还五汤能抑制纤维连接蛋白(FN)、胶原 I (Col-I)的表达,降解 ECM 相关蛋白表达,抑制 ECM 在血管壁的沉积。张伟等^[15]研究发现:补阳还五汤中生物碱和苷能显著抑制 ECM 的沉积,其作用机制是通过抑制 Col-I 及 FN 的表达而实现。因此,抑制 ECM 在血管内膜中的沉积是防治血管增殖性病变的重要靶点。中医药具有多环节多靶点的调节作用,可能通过调节 ECM 代谢而发挥其抗血管内膜增生的作用。

本研究表明,球囊导管损伤血管内膜后,可造成明显的血管内膜增生。增生内膜中细胞外基质成分 Col-I、FN 表达增强,说明在增生血管内膜中 ECM 合成增加,进一步促进了 VSMC 增殖和内膜的增生。阿托伐他汀、单用当归、芪归 1:1 配伍可抑制增生内膜中 Col-I、FN 的表达。提示当归及黄芪-当归配伍可抑制 ECM 在增生内膜中的沉积,从而减轻血管内膜增生的程度。研究还发现,单用黄芪对 Col-I、FN 表达无明显抑制作用,芪归 5:1 组能抑制 Col-I 的表达,但对 FN 表达无明显抑制作用。表明单用黄芪对血管内膜中 ECM 沉积无显著影响,芪归 5:1 配伍抑制 ECM 沉积的作用弱于 1:1 配伍。

一般认为,MMP-9表达增强可促进ECM的降解,TIMP表达增强可抑制ECM的降解。本研究发现在球囊损伤模型,血管MMP-9表达增强,而TIMP-1则无明显变化。这与血管损伤时,通过诱导MMP-9基因表达及促进炎性细胞分泌MMP-9有关,使得MMP与TIMP之间的平衡被破坏^[16]。MMP-9的大量表达虽然可以促进ECM的降解,但其同时催化降解VSMC周围的基底膜,使之与周围的基质接触,促使VSMC表型转变为具有迁移和增生能力的分泌型VSMC,并且ECM的降解使得中膜VSMC得以摆脱ECM的束缚,加速了VSMC的迁移,从而促进血管内膜增生^[17]。另外MMP-9的大量表达可促进脂蛋白向内膜下沉积及炎性细胞的浸润,可导致斑块形成,加速内膜增生^[18]。所以抑制MMP-9的表达可起到稳定斑块、抑制VSMC增殖与迁移的作用。本研究发现阿托伐他汀、黄芪、当归、芪归1:1及芪归5:1配伍对MMP-9的表达有明显的抑制作用,表明其能通过抑制MMP-9的表达而达到纠正ECM清除机制失衡、抑制VSMC增殖与迁移及稳定斑块的作用。研究还发现,单用黄芪对MMP-9的表达抑制作用较弱,说明黄芪并非抑制MMP-9表达的主要药物,但黄芪和当归配伍可增强其抑制MMP-9表达的作用。

总之,单用当归、芪归1:1配伍可抑制增生内膜中ECM沉积,从而抑制VSMC迁移增殖。在黄芪-当归配伍中,当归为其主要的效应药物,黄芪-当归1:1配伍的作用强于5:1。

参考文献:

[1] KANG S J, MINTZ G S, PARK D W, et al. Mechanisms of in-stent restenosis after drug-eluting stent implantation: intravascular ultrasound analysis[J]. *Circ Cardiovasc Interv*, 2011,4(1):9-14.

[2] 黄丽萍,吴素芳,周俊,等.当归补血汤对三种血虚模型小鼠作用的比较[J].*中药药理与临床*,2011,27(5):5-8.

[3] LIU Y, ZHANG H G, LI X H. A Chinese herbal decoction, Danggui Buxue Tang,improves chronic fatigue syndrome induced by food restriction and forced swimming in rat[J]. *Phytother Res*, 2011, 25(12):1825-1832.

[4] LI Y D, MA Y H, ZHAO J X, et al. Protection of ultra-filtration extract from Danggui Buxue Decoction on oxidative damage in cardiomyocytes of neonatal rats and its mechanism [J]. *Chin J*

Integr Med, 2011, 17(11):854-859.

[5] 秦臻,黄水清.当归补血汤含药血清对内皮祖细胞功能及其PI3K/Akt通路影响的研究[J].*中国药理学通报*,2013,29(9):1320-1323.

[6] 彭熙炜,阎卉芳,黄娟,等.当归不同配伍比例对大鼠血管内膜增生的影响[J].*中国中医药信息杂志*,2017,24(6):56-59.

[7] WU L, ZHANG W, LI H, et al. Inhibition of aortic intimal hyperplasia and cell cycle protein and extracellular matrix protein expressions by BuYang HuanWu Decoction[J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 125(3):423-435.

[8] 樊炼,潘立群,姚昶.细胞外基质干预血管生成及其中药的作用[J].*中国生化药物杂志*,2009,30(6):419-422.

[9] NIKKARI S T, JARVELAINEN H T, WIGHT T N, et al. Smooth muscle cell expression of extracellular matrix genes after arterial injury[J]. *Am J Pathol*, 1994,144(6):1348-1356.

[10] SCHWARTZ R S, HOLMES D R, TOPOL E J. The restenosis paradigm revisited: an alternative proposal for cellular mechanisms[J]. *J AmColl Cardiol*, 1992, 20(5):1284-1293.

[11] BAKER A H, ZALTSMAN A B, GEORGE S J, et al. Divergent effects of tissue inhibitor of metalloproteinase-1, -2, or -3 overexpression on rat vascular smooth muscle cell invasion, proliferation, and death in vitro. TIMP-3 promotes apoptosis[J]. *J Clin Invest*, 1998, 101(6):1478-1487.

[12] SOUTHGATE K M, FISHER M, BANNING A P, et al. Upregulation of basement membrane-degrading metalloproteinase secretion after balloon injury of pig carotid arteries[J]. *Circ Res*, 1996, 79(6):1177-1187.

[13] MASON D P, KENAGY R D, HASENSTAB D, et al. Matrix metalloproteinase -9 overexpression enhances vascular smooth muscle cell migration and alters remodeling in the injured rat carotid artery[J]. *Circ Res*, 1999, 85(12):1179-1185.

[14] WU L, ZHANG W, TANG Y H, et al. Effect of total saponins of "panax notoginseng root" on aortic intimal hyperplasia and the expressions of cell cycle protein and extracellular matrix in rats[J]. *Phytomedicine*, 2010, 17(3/4):233-240.

[15] 张伟,吴露,陈北阳,等.补阳还五汤及有效组分对大鼠增生血管内膜细胞外基质蛋白表达的影响[J].*中国病理生理杂志*, 2010,26(1):169-173.

[16] 温进坤,韩梅.基质金属蛋白酶与血管壁细胞外基质重建[J].*生命的化学*,2002,22(5):461-463.

[17] 朱勇锋,司忠义.血管损伤修复与基质金属蛋白酶[J].*中国组织工程研究与临床康复*,2010,14(46):8673-8676.

[18] 孙亮,司忠义.基质金属蛋白酶与动脉损伤后再狭窄[J].*心血管病学进展*,2003,26(S1):111-113.

(本文编辑 杨瑛)