芪参益气滴丸抗血管新生大鼠心肌缺血动态观察及机制探讨

张腾，张密霞*，张艳军
（天津中医药大学，天津 300193）

［摘要］ **目的：**基于血管新生，探讨芪参益气滴丸对心肌缺血大鼠心肌损伤的保护作用及机制。**方法：**160 只远交群 SD 大鼠分为假手术组、模型组、芪参益气滴丸高、低剂量组，结扎冠状动脉左前降支复制大鼠心肌缺血模型，术后 3，7，14，28 d 苏木素伊红（HE）染色检测心脏病理学变化，免疫组织化学染色检测缺血边缘区血管密度，血小板-内皮细胞黏附分子（platelet endothelial cell adhesion molecule-1，PECAM-1/CD31），α-平滑肌肌动蛋白（α-smooth muscle actin，α-SMA），实时荧光定量 PCR 法检测边缘区血管新生及成熟相关基因血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF），血管内皮生长因子受体 2（vascular endothelial growth factor receptor 2，KDR），碱性成纤维细胞生长因子（basic fibroblast growth factor，bFGF），血小板源性生长因子-B（plateletderived growth factor-B，PDGF-B），血小板源性生长因子受体-β（plateletderived growth factor receptor beta，PDGFR-β），血管生成素 1（angiopoietin-1，Ang-1），血管生成素 2（angiopoietin-2，Ang-2）信使核糖核酸（messenger RNA，mRNA）的表达。**结果：**大鼠心肌梗死后 3 d 心脏可见明显梗死区，7～28 d 左心室扩张，梗死区室壁变薄，3～28 d 梗死边缘区均可见新生毛细血管，CD31 阳性及 α-SMA 阳性血管密度较假手术增加。与模型组比较，芪参益气滴丸高低剂量组各时间点可减小心肌梗死面积，促进边缘区血管新生，7～28 d 可抑制心室扩张（$P<0.05$）。PCR 结果显示心肌梗死早期血管新生及稳定相关因子均升高，后期新生因子表达降低，血管成熟相关因子升高（$P<0.05$）。芪参益气滴丸给药 3 d 能促进 VEGF，Ang-1 mRNA 表达，降低 bFGF mRNA 表达（$P<0.05$）；7 d 能促进 VEGF，bFGF mRNA 表达（$P<0.05$），14 d 能促进 VEGF，Ang-1，bFGF，PDGFR-β mRNA 表达（$P<0.05$）；28 d 能促进 bFGF mRNA 表达（$P<0.05$），降低 VEGF，KDR，Ang-1，Ang-2 mRNA 表达（$P<0.05$）。**结论：**芪参益气滴丸能保护心肌缺血大鼠缺血心肌，减小心肌梗死面积，抑制左心室扩张，其机制与调节缺血后不同阶段缺血边缘区心肌组织中血管新生及成熟相关因子 mRNA 表达，促进梗死边缘区血管新生及成熟有关。

［关键词］ 芪参益气滴丸；心肌缺血；血管新生；α-平滑肌肌动蛋白；血管内生长因子；血管生成素
［中图分类号］ R285.5 ［文献标识码］ A ［文章编号］ 1005-9903(2017)01-0134-06
［doi］ 10.13422/j.cnki.syfjx.2017010134
［网络出版地址］ http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161027.1505.036.html
［网络出版时间］ 2016-10-27 15:05

Dynamic Observation and Mechanism of Qishen Yiqi Drop Pills on Myocardial Ischemia in Rats Based on Angiogenesis

ZHANG Teng, ZHANG Mi-xia*, ZHANG Yan-jun
(*Tianjin University of Traditional Chinese Medicine*, *Tianjin* 300193, *China*)

［**Abstract**］ **Objective**: To investigate the protective effect and mechanism of Qishen Yiqi drop pills on myocardial injury in rats with myocardial ischemia based on angiogenesis theory. **Method**: The 160 Sprague Dawley (SD) rats were divided into sham operation group, model group, high dose Qishen Yiqi drop pills group, and low dose Qishen Yiqi drop pills group. Myocardial ischemia models were established by ligating left anterior descending coronary artery in rats. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to detect cardiac pathological changes, platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1/CD31), and α-smooth muscle actin (α-SMA)

［收稿日期］ 20160224(007)
［基金项目］ 国家自然科学基金项目(81202943)
［第一作者］ 张腾，在读博士，从事中药药理研究，Tel:15122343484，E-mail:zhangtengfeier@163.com
［通讯作者］ *张密霞，博士，高级实验师，从事中药心脑血管药理研究，Tel:022-59596280，E-mail:mimimixia@sina.com

on days 3, 7, 14 and 28, immunohistochemical staining was used to detect the blood vessel density in ischemic border zone. Real-time PCR method was used to detect the expression levels of vascular endothelial growth factor (VEGF), vascular endothelial growth factor receptor 2 (KDR), basic fibroblast growth factor (bFGF), angiopoietin (Ang) -1, Ang-2 and platelet derived growth factor-B (PDGF-B) and platelet derived growth factor receptor-beta (PDGFR-β) mRNA. **Result**: After 3 days of infarction, the infarction area was obviously seen in heart, on days 7 ~ 28, with left ventricular dilation, the infarct zone wall was thinning; on days 3 ~ 28, new blood capillaries were seen in ischemic border zone; CD31 positive and α-SMA positive blood vessel densities were increased than those in sham operation group. As compared with the model group, high and low dose Qishen Yiqi drop pills could decrease the myocardial infarct size and promote the blood vessels in the border zone at different time points, and could inhibit ventricular dilatation at days 7 ~ 28 ($P < 0.05$). PCR results showed that in the early stage of miocardial infarction, angiogenesis and stability related factors were increased; in the late stage of miocardial infarction, vascular maturation related factors were increased ($P < 0.05$). On day 3 of Qishen Yiqi drop pills treatment, the expression levels of VEGF and Ang-1 mRNA were increased, but bFGF mRNA expression level was reduced ($P < 0.05$), on day 7, the expression levels of VEGF and bFGF mRNA were increased ($P < 0.05$), on day 14, the expression levels of VEGF, Ang-1, bFGF and PDGFR-β mRNA were increased ($P < 0.05$), on day 28, the expression level of bFGF mRNA was increased, but VEGF, KDR, Ang-1, and Ang-2 mRNA expression levels were reduce ($P < 0.05$). **Conclusion**: Qishen Yiqi drop pills can protect the myocardium in myocardial infarction model of rats, and the mechanism may be related to the regulation of angiogenesis and maturation-related factors in ischemic border zone.

[**Key words**] Qishen Yiqi drop pills; myocardial ischemia; angiogenesis; α-smooth muscle actin; vascular endothelial growth factor; angiopoietin (Ang)

心肌缺血、缺氧后血管新生被激活,新生血管能减轻心肌缺血,减少细胞坏死,预防和逆转左室重构,改善患者的临床症状,但这种自发形成的微血管不能充分代偿冠状动脉阻塞造成的血流损失[1]。近年研究发现多种血管生成因子可促进血管新生,促进缺血组织周边侧支循环的建立,从而起到“自身冠脉搭桥”的目的,改善患者的临床症状和预后,血管新生已成为心血管研究领域的热点之一[2]。芪参益气滴丸具有益气通脉、活血止痛的作用,广泛用于治疗心血管疾病[3]。前期的实验研究主要集中于心肌缺血再灌注损伤动物模型,阐明芪参益气滴丸对急性心肌缺血再灌注损伤模型均有抑制细胞凋亡、抑制炎症反应、保护心肌组织、清除自由基、保护血管内皮、逆转心室重构、维持正常能量代谢等药理活性,系统论证了芪参益气滴丸的补气行血作用可能与其调控 ATP,减轻心肌损伤,改善心功能相关,芪参益气滴丸的补气固摄作用可能与其调控血管内皮细胞的缝隙连接、质膜微囊,抑制微血管通透性相关[4-6]。课题组前期实验表明芪参益气滴丸能减少心肌缺血大鼠梗死区面积,本文以期为临床实践中经过扩冠、降低血小板聚集治疗,却不能阻止心功能状态逐渐恶化的患者提供新的治疗策略[7-8],为芪参益气滴丸的深入研究与临床应用提供借鉴。本研究采用大鼠心肌缺血模型,动态观察芪参益气滴丸对心肌缺血大鼠不同时间点的心脏保护作用,并从血管新生及成熟的角度探讨其心脏保护机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 160 只,体重(230 ± 20)g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,合格证号 SCXK(京)2014-0004。饲养于中国科学院生物医学工程研究所实验动物中心。

1.2 试剂与仪器 芪参益气滴丸(天津天士力制药集团股份有限公司,批号 150208);RAT CD31 PURE MAB TLD-3A12(美国 BD 公司,批号 555025);Anti-α-平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin, α-SMA)antibodyab7817(Abcam 公司,批号 GR11402-1);兔免疫球蛋白(Ig)G 免疫组化试剂盒(博士德生物工程有限公司,批号 10E19B);RNAsimple Total RNA Kit 总 RNA 提取试剂盒,FastQuant cDNA 第一链合成试剂盒,SuperReal 荧光定量预混试剂[天根生化科技(北京)有限公司,批号分别为 03710,03608,03309]。引物序列由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,β-肌动蛋白(β-actin, 224 bp):上游 5′-TTGTGATGGACTCCGG

AGAC-3′,下游5′-TTGCTCGAAGTCTAGGGCAA-3′;血管内皮生长因子(VEGF, 216 bp):上游5′-CCACTTCTGAGGAGCCTAGG-3′,下游5′-CACACACACAGCCAAGTCTC-3′;血管内皮生长因子受体2(KDR, 172 bp):上游5′-CAACGTGGGGCTTGATTTCA-3′,下游5′-CGCTGTGCAGGTGTATTCTC-3′;碱性成纤维细胞生长因子(bFGF,184 bp):上游5′-CACTTCAAGGATCCCAAGCG-3′,下游5′-TCATAGCCAGGTACCGGTTC-3′;血小板源性生长因子-B(PDGF-B, 240 bp):上游5′-CTCTACCCCAAGAACCTGGG-3′,下游5′-AGGGACAGGGAGAGATGAGT-3′;血小板源性生长因子受体-β(PDGFR-β, 151 bp):上游5′-GAAACTC CCATCTGCCTCCT-3′,下游5′-TAAGTGAAGCTG GTCCCTGG-3′;血管生成素-1(Ang-1, 168 bp):上游5′-TTGGTGGTTTGATGCCTGTG-3′,下游5′-TAGCGCCTTCAGAAGTCCAA-3′;血管生成素-2(Ang-2, 238 bp):上游5′-ACTCCTATGTGCCTGCAAGT-3′,下游5′-GTAGGGGCTGGAGGAAGATA-3′。

MP-100型16道生理记录仪(美国Biopac公司),DM4000B + DFC450C型荧光显微镜(德国Leica公司),CFX96 Touch型PCR仪(美国Bio-Rad公司)。

2 方法

2.1 模型复制 132只SD大鼠用于心梗模型复制,乙醚麻醉,仰卧位固定,沿左侧第四五肋间开胸,钝性分离胸肌,挤出心脏,在左心耳和动脉圆锥之间,左前降支起始部位以下3~4 mm处以7-0带线缝合针结扎冠状动脉左前降支,将心脏送回胸腔,逐层缝合。其余28只穿线不结扎作为假手术组。术后5 min生理记录仪检测大鼠心电图,以ST段显著上升或降低确定模型成功。

2.2 分组及给药 将成模大鼠随机分为模型组、芪参益气滴丸高、低剂量组,各28只。芪参益气滴丸低剂量为临床等效剂量,芪参益气滴丸高剂量为临床等效剂量的2倍。用蒸馏水将芪参益气滴丸溶解至药物质量浓度为270,135 g·mL^{-1},按0.1 mL·(100 g)$^{-1}$灌胃给药,每日1次。假手术组和模型组分别灌胃蒸馏水0.1 mL·(100 g)$^{-1}$。

2.3 心肌缺血大鼠心脏病理组织学及血管新生及成熟检测 术后3,7,14,28 d,各组分别取3只大鼠心脏,去除心房,4%多聚甲醛固定,于结扎线下沿心脏横轴切取厚约3~5 mm心脏切片,常规石蜡包埋,苏木素伊红(HE)染色,评价芪参益气滴丸对心脏病理形态学的影响;CD31(1∶50)采用免疫组织化学,计数缺血边缘区CD31及血管数量,每个心脏切片取5个400倍视野,检测芪参益气滴丸对血管新生的影响;取术后第28 d石蜡切片,α-SMA(1∶50)采用免疫组织化学,每个心脏切片取5个400倍视野,检测芪参益气滴丸对新生血管成熟的影响。

2.4 实时荧光定量PCR检测缺血边缘区血管新生及成熟相关mRNA表达 术后3,7,14,28 d,分别取3只大鼠心脏,切取缺血边缘区心脏组织50 mg,提取总RNA,逆转录为cDNA,进行PCR反应,反应条件:95 ℃ 15 min, 95 ℃ 10 s, 60 ℃ 30 s,40个循环。计算$\Delta\Delta C_t$,$\Delta\Delta C_t = (C_{t目的基因} - C_{t管家基因})_{实验组} - (C_{t目的基因} - C_{t管家基因})_{空白组}$,以$2^{-\Delta\Delta C_t}$表示VEGF,KDR,bFGF,PDGF-B,PDGFR-β,Ang-1,Ang-2 mRNA相对表达量。

2.5 统计学方法 采用SPSS 17.0统计分析软件,计量数据用$\bar{x} \pm s$表示,组间比较采用单因素方差分析,以$P<0.05$为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 芪参益气滴丸对缺血心脏病理组织学的影响

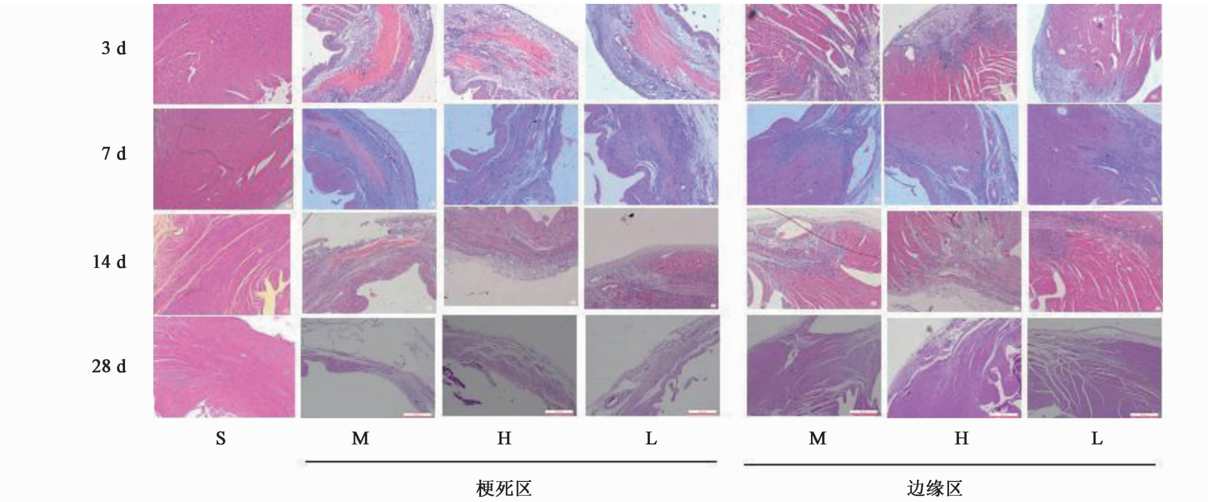
假手术组心肌细胞排列整齐,细胞界限清楚,心肌细胞横纹、闰盘清晰,胞核大小均一。心肌梗死后3 d,模型组可见明显梗死区,贯穿室壁全层,心肌细胞消失,代以肉芽组织,梗死区可见不规则岛状残存心肌细胞,梗死边缘区可见变性坏死的心肌细胞,并见大量炎细胞浸润及较多新生毛细血管。芪参益气滴丸高、低剂量组梗死面积减小,梗死区和边缘区病变与模型组相似,梗死区内有残存的心肌细胞及大量新生血管,边缘区可见变性坏死的心肌细胞,新生血管增多。

心肌梗死后7 d,与心肌梗死后3 d比较,模型组梗死区心室壁明显变薄,左心室明显扩张,梗死区肉芽组织增生明显,中心区仍可见凝固性坏死的心肌细胞,肉芽组织内可见成纤维细胞,炎细胞、新生血管增多,有大片出血区,梗死边缘区有炎细胞浸润、大量血管新生。芪参益气滴丸高、低剂量组梗死面积减小,梗死区和边缘区病变与模型组相似,坏死区内大部分坏死的心肌细胞被炎症肉芽组织取代,有大量新生血管、炎细胞浸润及成纤维细胞增生,可见出血区。边缘区正常心肌细胞和肉芽组织相间,可见变性坏死心肌细胞,新生血管组增多,在这些血管周围有残存心肌细胞。

心肌梗死后14 d,与心肌梗死后7 d比较,模型组梗死区心室壁明显变薄,肉芽组织发生机化,炎细

胞浸润减少,在成纤维细胞周围可见明显红染的胶原纤维。尚有部分残存心肌细胞轮廓未被肉芽组织取代。边缘区可见心肌细胞水肿,炎细胞浸润及血管新生、出血灶。芪参益气滴丸高、低剂量组梗死面积减小,梗死区和边缘区病变与模型组相似,心室壁厚度增厚,梗死区可见岛状心肌细胞残留,边缘区新生血管增多。

心肌梗死后 28 d,与心肌梗死后 14 d 组比较,模型组梗死区心室壁进一步变薄,结构破坏,心肌结构大部分消失代之以瘢痕组织,仅余少量心肌细胞,排列紊乱,瘢痕组织边缘部分心肌细胞坏死,结构消失,伴大量炎症细胞浸润,细胞间可见毛细血管增多。芪参益气滴丸高、低剂量组梗死面积减小,结构大部分破坏代之以瘢痕组织,心室壁厚度增厚,梗死区可见纤维组织和残留的心肌细胞增多,梗死边缘区心肌细胞形态结构较模型组好,伴少量炎症细胞浸润,周边毛细血管明显充血、增多。见图 1。



S. 假手术组;M. 模型组;H. 芪参益气滴丸高剂量组;L. 芪参益气滴丸低剂量组(图 2 ~ 6 同)

图 1　芪参益气滴丸对缺血心肌形态的影响(HE, ×50)

Fig. 1　Effect of Qishen Yiqi drop pills on ischemic myocardium morphology(HE, ×50)

3.2　芪参益气滴丸对心肌缺血大鼠缺血边缘区血管新生及成熟的影响　与假手术组比较,心肌梗死后 3,7,14,28 d 模型组梗死边缘区心肌纵切面毛细血管密度增加,微血管密度变化趋势为第 3 ~ 7 天微血管密度增加,第 7 ~ 28 天微血管密度降低。与模型组比较,各时间点芪参益气滴丸高剂量组毛细血管密度增加($P<0.05$),且在第 28 天芪参益气滴丸组的微血管密度仍高于模型组微血管密度的最高值。与假手术组比较,梗死后 28 d 模型组 α-SMA 阳性血管数升高($P<0.05$),与模型组比较,芪参益气滴丸高、低剂量组 α-SMA 阳性血管数明显升高($P<0.05$)。见图 2 ~ 5。

3.3　芪参益气滴丸对缺血边缘区血管新生及成熟影响的机制　与假手术组比较,心肌缺血后 3,7,14 d 模型组 VEGF, KDR, bFGF, PDGF-B, PDGFR-β mRNA 表达上调($P<0.05$),第 28 天 bFGF, PDGF-B, PDGFR-β mRNA表达上调($P<0.05$)。与假手术组比较,模型组心梗后 3 d Ang-1, Ang-2 mRNA 表达均明显升高,此后 Ang-1 mRNA 表达持续升高至 14 d,而 Ang-2 mRNA 表达明显降低($P<0.05$)。

与模型组比较,心肌缺血后给予芪参益气滴丸第 3 天 VEGF, Ang-1 mRNA 表达升高, bFGF mRNA 表达降低;第 7 天 VEGF, bFGF mRNA 表达升高,第 14 天 VEGF, Ang-1, bFGF, PDGFR-β mRNA 表达升高;第 28 天 bFGF mRNA 表达升高, VEGF, KDR, Ang-1, Ang-2 mRNA 表达降低($P<0.05$)。见图 6。

4　讨论

促进缺血心肌血管新生已成为治疗缺血性心脏病具有前景的方法之一。动物实验表明,促血管新生治疗后,缺血区新生血管密度增加、梗死面积减小,心肌细胞坏死和凋亡的程度降低、射血分数增加、心功能得以改善[9-10]。在血管新生过程中有多种生长因子参与。VEGF, VEGF-AVEGF-A 有很强的刺激血管新生作用,其受体 KDR 参与 VEGF 的主要作用功能,两者结合可促进内皮细胞增殖、迁移,促进细胞外基质降解,促进新生血管形成,但形成的血管通透性增加[11];bFGF 与其受体结合,可促进内皮细胞增殖、迁移,并促进平滑肌细胞增殖,促进

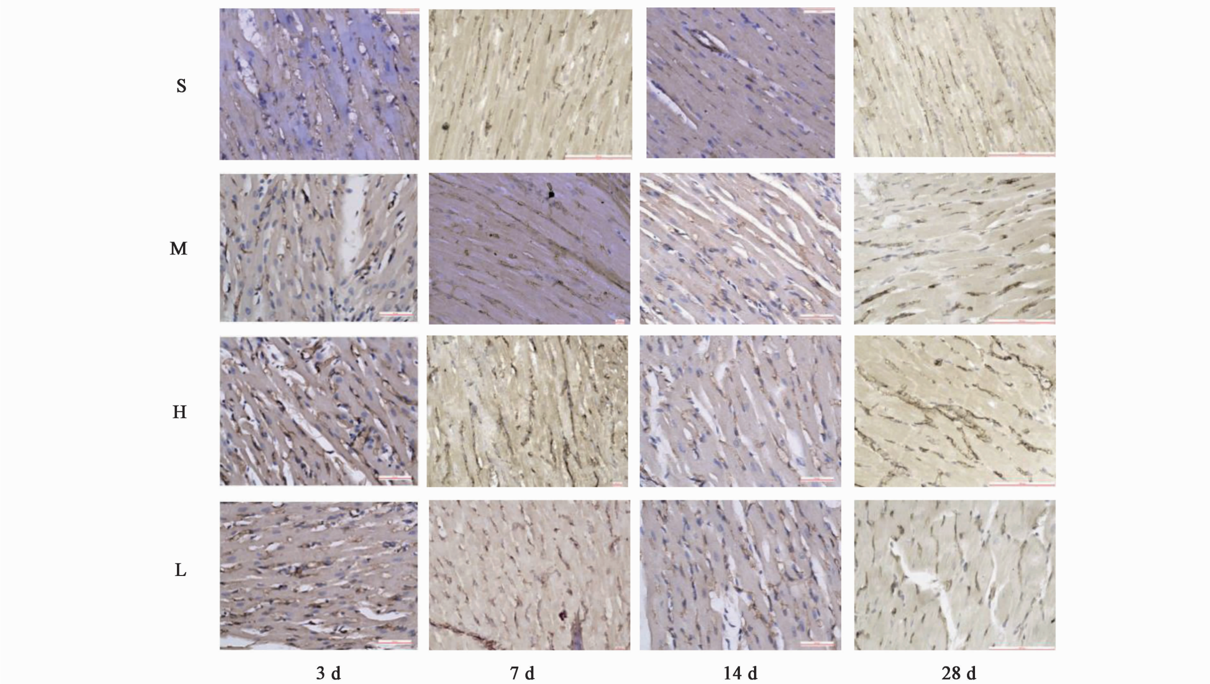


图 2　芪参益气滴丸对缺血心肌 CD31 蛋白表达的影响（免疫组化，×400）

Fig. 2　Effect of Qishen Yiqi drop pills on protein expression of CD31 in ischemic myocardium（IHC，×400）

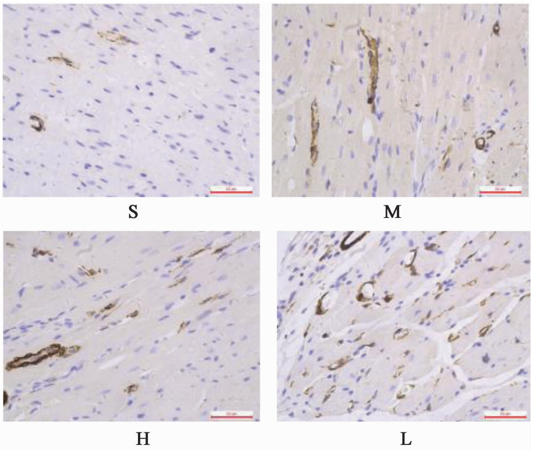
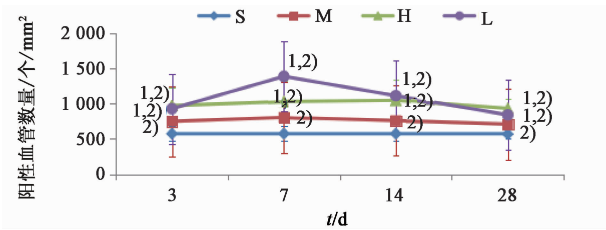


图 3　芪参益气滴丸对缺血心肌 α-SMA 蛋白表达的影响（免疫组化，×400）

Fig. 3　Effect of Qishen Yiqi drop pills on protein α-SMA in ischemic myocardium（IHC，×400）



与假手术组比较[1)] $P<0.05$；与模型组比较[2)] $P<0.05$（图 5，6 同）

图 4　芪参益气滴丸对各组细胞不同时间点心脏缺血边缘区心 CD31 阳性血管数量的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=28$）

Fig. 4　Effect of Qishen Yiqi drop pills on CD31 positive blood vessels number in ischemic border zone at different time points（$\bar{x}\pm s$，$n=28$）

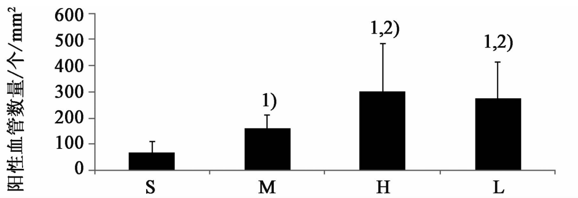
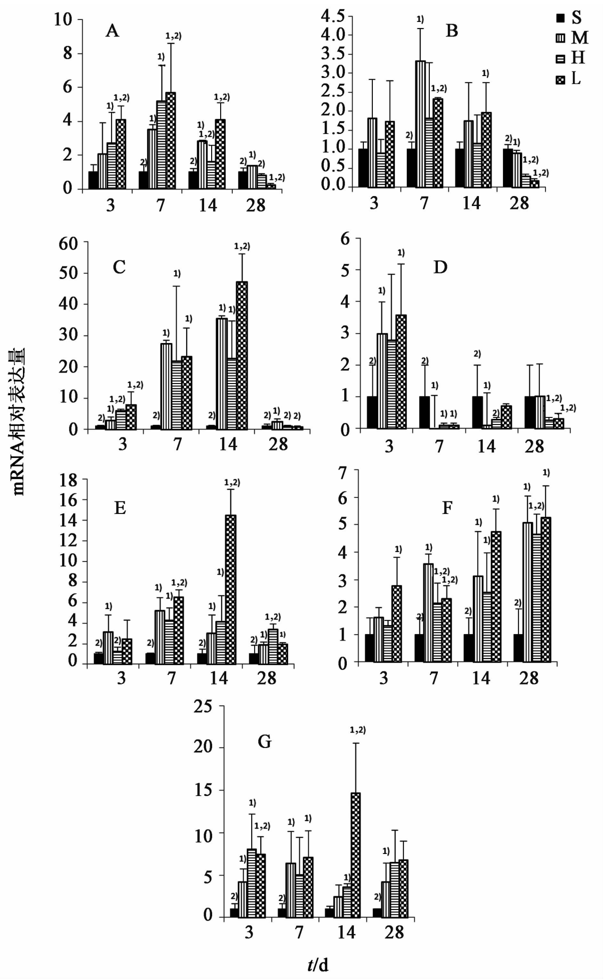


图 5　芪参益气滴丸对各组心脏缺血边缘区心 α-SMA 阳性血管数量的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=28$）

Fig. 5　Effect of Qishen Yiqi drop pills on α-SMA positive blood vessels number in ischemic border zone（$\bar{x}\pm s$，$n=28$）

血管成熟；bFGF 和 VEGF 在体内对血管再生具有协同作用[12-13]。PDGF-B 可通过募集血管平滑肌细胞和周细胞向内皮细胞的聚集和包被，促进血管的成熟和稳定，与 PDGF-B 与 bFGF 和 VEGF 在体内对血管新生和稳定具有协同作用[14]。Ang-1 维持血管稳定状态，Ang-2 拮抗其作用，在缺氧、肿瘤等导致 VEGF 增加的情况下，Ang-2 上调，破坏 Ang-1 和 Ang-2 的平衡，血管稳定性破坏，促进血管形成[15]。

中医学有“脉者血之府也”、“气血相关”、“行气通脉”、“补气活血”、“益气补血”等理论，为中药发挥促血管生成作用奠定了理论基础，由此推测具有益气活血作用的中药可能具有促血管生成作用[16-17]。芪参益气滴丸由黄芪、丹参、三七、降香等中药制成的现代中药制剂，具有益气通脉、活血止痛的作用。本实验结果表明，芪参益气滴丸能减小



A. VEGF;B. KDR;C. Ang-1;D. Ang-2;E. bFGF;F. PDGF;G. PDGFR-β;S. 假手术组;M. 模型组;H. 芪参益气滴丸高剂量组;L. 芪参益气滴丸低剂量组

图 6　芪参益气滴丸对心肌缺血大鼠血管新生及成熟因子 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=28$)

Fig. 6　Effect of Qishen Yiqi drop pills on angiogenesis and mature factor mRNA expression in myocardial ischemia rats($\bar{x} \pm s$, $n=28$)

大鼠梗死面积,抑制左心室壁变薄,促进梗死区及边缘区血管新生及稳定。给药 3 d 能促进血管新生相关因子表达,降低新生血管成熟相关因子表达,7 ~ 14 d,可使血管新生及成熟相关因子表达均增加,28 d可抑制血管新生相关因子表达,促进新生血管成熟相关因子表达。即芪参益气滴丸抗心肌梗死,促进心肌血管新生及成熟的作用机制与其缺血后不同阶段对相关因子不同趋势的调节相关。

[参考文献]

[1] 张秋雁,苏剑峰,王权礼,等. 超微血府逐瘀汤对急性心肌缺血大鼠缺血心肌血管新生及 bFGF、ANG-1 表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(4): 773-775.

[2] 尹慧秋. 舒脉胶囊对缺血心肌大鼠促血管新生及改善左室重构作用的实验研究[D]. 济南: 山东大学,2009.

[3] 魏聪聪,朱明丹,杜武勋,等. 芪参益气滴丸临床应用研究进展[J]. 西部中医药,2011,24(10):102-106.

[4] 崔振田,魏万林,姚建民,等. 芪参益气滴丸对缺血性心肌细胞保护的研究进展[J]. 临床军医杂志,2015,43(1):74-77.

[5] 林色奇,韩晶岩,刘红宁. 芪参益气滴丸及其组成中药抗缺血再灌注损伤的研究进展[J]. 江西中医学院学报,2011,23(3):95-100.

[6] 韩晶岩. 芪参益气滴丸补气活血和补气固摄的作用机理[J]. 南宁:中国药学大会,2013.

[7] 张晓颖,魏万林,田日新. 芪参益气滴丸在心血管系统疾病中的应用进展[J]. 中国循证心血管医学杂志,2012,4(3):280-281.

[8] 曲凤,邢冬梅,郑文科,等. 芪参益气滴丸治疗缺血性心力衰竭的系统评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(3):213-218.

[9] LI D Y, ZHAO K, ZHOU J F, et al. Changes of expressions of VEGF, bFGF, and angiogenesis, and effect of benazepril, bFGF on angiogenesis in acute myocardial infarction model of the rabbits[J]. Biomed Environ Sci, 2004, 17(4): 442-451.

[10] TANG J M, WANG J N, ZHENG F, et al. Combination of chemokine and angiogenic factor genes and mesenchymal stem cells could enhance angiogenesis and improve cardiac function after acute myocardial infarction in rats [J]. Mol Cell Biochem, 2010, 339(1/2): 107-118.

[11] CAO R H, Brakenhielm E, Pawliuk R, et al. Angiogenic synergism, vascular stability and improvement of hind-limb ischemia by a combination of PDGF-BB and FGF-2 [J]. Nat Med, 2003, 9(5): 604-613.

[12] Pepper M S, Ferrara N, Orci L, et al. Potent synergism between vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in the induction of angiogenesis in vitro[J]. Biochem Bioph Res Co, 1992, 189(2): 824-831.

[13] Bikfalvi A, Klein S, Pintucci G, et al. Biological roles of fibroblast growth factor-2 [J]. Endocr Rev, 1997, 18(1): 26-45.

[14] Renhai C. Angiogenic synergism, vascular stability and improvement of hind-limb ischemia by a combination of PDGF-BB and FGF-2 [J]. Nat Med, 2003, 9(5): 604-613.

[15] Bogdanovie E, Nguye V P, Dumont D J, et al. Activation of Tie2 by angiopoietin-1 and angiopoietin-2 results in their release and rEbba Brakenhielm, ROBERT Pawliuk, et al. eceptor internalization[J]. J Cell Sdi, 2006, 119(17): 3551-3360.

[16] 陈卫星,吉中强,纪文岩. 活血化瘀中药与冠心病血管新生[J]. 辽宁中医药大学学报, 2010, 1(5): 135-136.

[17] 郭养雨,王永志. 冠心病“生物搭桥”疗法[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2012,10(2):222-224.

[责任编辑　张丰丰]