

芪参益气滴丸对心梗后大鼠心功能及心肌纤维化相关蛋白表达的影响

赵桂峰^{1*}, 吴丽玉², 许传嘉²

(1. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300381; 2. 天津中医药大学研究生院, 天津 300193)

[摘要] 目的:观察芪参益气滴丸对心肌梗死后大鼠心功能, I 型胶原(Col I), III 型胶原(Col III), 基质金属蛋白酶-9 (MMP-9)及增殖细胞核抗原(PCNA), α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA), 波形蛋白(Vimentin)表达的影响。方法:雄性 Wistar 大鼠 50 只随机分为 5 组:假手术组, 模型组, 芪参益气滴丸低、高(135, 270 mg·kg⁻¹·d⁻¹) 剂量组(QSYQ-N, QSYQ-H), 卡托普利组, 每组 10 只。假手术组开胸穿线不结扎, 其余各组结扎左冠状动脉前降支制作心肌梗死模型, 灌胃 4 周。4 周后生理记录仪记录血流动力学状态, 免疫组织化学法检测大鼠心肌 Col I, Col III 及 PCNA, α -SMA, Vimentin 表达, 酶联免疫吸附法(ELISA)检测大鼠血清中 MMP-9 浓度。结果:与假手术组相比, 模型组左心室内压最大上升速率(+dp/dt_{max}), 左心室内压最大下降速率(-dp/dt_{max}), 左心室收缩压(LVSP)均明显降低, 左心室舒张末期压(LVEDP)明显升高($P < 0.01$); 心肌 Col I, Col III 及 PCNA, α -SMA, Vimentin 表达上调, 血清 MMP-9 浓度升高($P < 0.01$); 与模型组相比, QSYQ-N, QSYQ-H 组, 卡托普利组 + dp/dt_{max}, - dp/dt_{max}, LVSP 提高($P < 0.05$, $P < 0.01$); QSYQ-H 组、卡托普利组 LVEDP 降低($P < 0.05$, $P < 0.01$); QSYQ-N, QSYQ-H 及卡托普利组大鼠心肌 Col I, Col III 及 PCNA, α -SMA, Vimentin 表达下调, MMP-9 浓度降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论:芪参益气滴丸能够改善心肌梗死后大鼠心脏收缩与舒张功能, 其机制与抑制胶原沉积、基质蛋白的降解及心脏成纤维细胞、肌成纤维细胞增殖、分化有关。

[关键词] 芪参益气滴丸; 大鼠; 心肌梗死; 心功能; 心肌纤维化

[中图分类号] R22; R24; R285.5; R256.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)04-0131-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2018040131

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171125.1533.038.html>

[网络出版时间] 2017-11-25 15:33

Effect of Qishen Yiqi Dripping Pill on Cardiac Function and Myocardial Fibrosis Associated Protein of Myocardial Infarction in Rats

ZHAO Gui-feng^{1*}, WU Li-yu², XU Chuan-jia²

(1. First Teaching Hospital, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Tianjin 300381, China;

2. Graduate School, Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Qishen Yiqi dripping pill on cardiac function, collagen I (Col I), collagen III (Col III), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), proliferating cell nuclear antigen (PCNA), α -smooth muscle actin (α -SMA) and vimentin in rats after myocardial infarction. **Method:** Male Wistar rats were randomly divided into five groups ($n = 10$): sham-operation group, model group, Qishen Yiqi dripping pill (135 mg·kg⁻¹·d⁻¹) group (QSYQ-N), Qishen Yiqi dripping pill (270 mg·kg⁻¹·d⁻¹) group (QSYQ-H) and captopril group. The sham-operation group was not ligated after threading. The left anterior descending coronary artery was ligated to establish the myocardial infarction model in the remaining groups. The model was evaluated by

[收稿日期] 20170822(008)

[基金项目] 教育部“创新团队发展计划”项目(IRT_16R54);天津市科技计划项目(15ZXLCY00020)天津市高等学校科技发展基金项目(20130218)

[通信作者] * 赵桂峰, 博士, 副主任医师, 从事中医药防治心力衰竭研究, Tel:022-27432329, E-mail:13920973198@139.com

electrocardiograph (ECG). Rats were fed for 4 weeks. After 4 weeks, the hemodynamic state of rats was recorded by physiological recorder. The immunohistological method was used to detect myocardial Col I, Col III and PCNA, α -SMA, Vimentin expression in rats, and the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect MMP-9 concentration in rat serum. **Result:** Compared with the sham-operation group, $+dp/dt_{max}$, $-dp/dt_{max}$ and LVSP in the model group were significantly lower, while LVEDP was significantly elevated ($P < 0.01$). Expressions of myocardial Col I, Col III and PCNA, α -SMA, Vimentin in the model group were increased, and serum MMP-9 concentration was increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, $+dp/dt_{max}$, $-dp/dt_{max}$, LVSP in QSYQ-N, QSYQ-H and captopril groups were elevated ($P < 0.05$, $P < 0.01$), while LVEDP in QSYQ-H and captopril groups was lower ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Expressions of myocardial Col I, Col III and PCNA, α -SMA, Vimentin in QSYQ-N, QSYQ-H and captopril groups were down-regulated, and serum MMP-9 concentration decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Qishen Yiqi dripping pill can improve cardiac systolic and diastolic function in rats after myocardial infarction, and its mechanism might be correlated with the inhibition of deposition of collagen, the degradation of matrix metalloproteinase and the proliferation and differentiation of fibroblasts and myofibroblasts.

[**Key words**] Qishen Yiqi dripping pill; rat; myocardial infarction; cardiac function; myocardial fibrosis

随着冠状动脉血运重建术的长足进步,急性心肌梗死患者的病死率显著下降,但后期心力衰竭的发病率明显上升。心室重构是心力衰竭发生的主要病理机制,心肌纤维化(myocardial fibrosis, MF)主要参与心室重构的进展,心脏成纤维细胞(cardiac fibroblasts, CFs)作为心肌间质的主要细胞,直接或分化为肌成纤维细胞(myofibroblasts, MFs),参与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的形成^[1]。肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)的激活是MF进展的主要神经内分泌机制,尚涉及多种细胞因子和信号通路^[2-3]。研究发现,中医药对心肌梗死后MF的作用机制表现在维持心脏ECM平衡、抑制炎症和氧化应激、抑制细胞凋亡等方面,通过多通路、多靶点的整体防治^[4]。芪参益气滴丸是治疗气虚血瘀型胸痹的上市中药制剂,主要由黄芪、丹参、三七、降香组成,具有益气活血的功效,临床广泛地应用于冠心病及心力衰竭的治疗,并取得了良好的效果^[5]。芪参益气滴丸能够改善心肌梗死后心力衰竭大鼠的血流动力学,降低肾素、血管紧张素II的表达,抑制RAAS的激活^[6]。但芪参益气滴丸对心肌梗死后MF过程中CFs增殖、分化和ECM的调节机制尚无相关研究。I型胶原(collagen I, Col I)和III型胶原(collagen III, Col III)作为ECM主要成分。其中,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)是调控ECM降解的主要酶类。增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)反映心肌细胞和间质细胞的增殖情况,波形蛋白(Vimentin)是CFs的中间纤维, α -平滑

肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)主要在MFs表达,能够反映CFs的分化状况。所以,本研究通过观察大鼠心功能变化及Col I, Col III, MMP-9, PCNA, Vimentin, α -SMA表达情况探讨芪参益气滴丸对心肌梗死后MF的影响。

1 材料

1.1 动物 清洁级健康Wistar雄性大鼠,体质量(220 ± 30)g,由北京华阜康动物实验中心提供,合格证号SCXK(京)2012-0001。饲养于中国医学科学院放射医学研究所清洁级动物房,喂养7d后进入实验。实验研究取得天津中医药大学实验动物伦理委员会批准(编号TCM-LAEC2016034)。

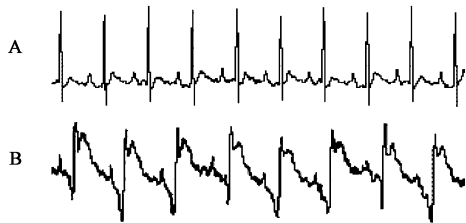
1.2 药品与试剂 芪参益气滴丸(组成为黄芪、丹参、三七、降香,0.5g/袋,天津天士力制药集团股份有限公司,批号150906);卡托普利片(12.5mg/片,中美上海施贵宝制药有限公司,批号AAA6059);PCNA, α -SMA, Vimentin兔抗大鼠多克隆抗体(美国Abcam公司,批号分别为ab18197, ab5694, ab8978);Col I, Col III兔抗大鼠多克隆抗体(北京博奥森生物技术有限公司,批号分别为bs-0578R, bs-0984R);即用型SABC试剂盒(武汉博士德生物工程公司,批号SA1022);MMP-9检测试剂盒(武汉优尔生科技有限公司,批号SEA553Hu)。

1.3 仪器 CUT4062型手动旋转式石蜡切片机(德国Slee公司);ASP300型组织自动脱水机,DM3000型显微镜和照相系统(德国Leica公司);ML750型PowerLab/4SP生理记录仪(澳大利亚ADInstruments公司);SpectraMax190型酶标仪(美

国 Molecular Devices 公司); Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件(美国 Media Cybernetics 公司)

2 方法

2.1 动物模型复制与评价 参考田颖等^[7]方法,大鼠术前禁食 12 h, 5% 水合氯醛腹腔麻醉, 固定、备皮、消毒, 连接心电图, 于大鼠胸部左侧第 3, 4 肋间剪开皮肤, 钝性分离肌肉, 打开胸腔, 撕破心包膜, 将心脏挤出, 于左冠状动脉前降支距离左心耳根部 2 ~ 3 mm 处, 用 5-0 号带针线结扎。结扎后可见左室前壁结扎区心肌运动幅度减弱或消失、颜色变白, 左心耳充血明显, 肢体 II 导联心电图 ST 段抬高 > 0.1 mV, 见图 1。关闭胸腔。假手术组开胸后只穿线不结扎。



A. 术前; B. 术后

图 1 大鼠 II 导联心电图

Fig. 1 II lead of ECG in rat

2.2 分组与给药 按随机数字表法将 50 只大鼠分为 5 组, 假手术组, 模型组, 芪参益气滴丸低、高剂量组(QSYQ-N, QSYQ-H), 卡托普利组, 每组 10 只。术后 24 h 给药, QSYQ-N 组及卡托普利组按照成人每日剂量及大鼠与人的用药量换算, 并结合参考文献给药^[8-9]: 卡托普利组 $6.75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 相当于成人剂量 25 mg, 每天 3 次; QSYQ-N 组 $135 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, QSYQ-H 组 $270 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 均按 $1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃, 每天 1 次。其中假手术组、模型组大鼠每天给予与药物组等容积的蒸馏水连续灌胃 4 周。

2.3 指标检测

2.3.1 生理记录仪测量心脏功能 麻醉后暴露分离大鼠右颈总动脉约 1.5 cm, 结扎远心端, 动脉夹

夹闭近心端, 插入导管, 连接压力换能器, 观察生理记录仪压力波形的变化, 当血压波谷降至 0 mmHg ($1 \text{ mmHg} = 0.133 \text{ kPa}$) 附近, 出现明显舒张期且顶峰平坦的波形时即表明导管已进入左心室腔内。记录指标: 左室收缩压(LVSP), 左室舒张末期压(LVEDP), 左室内压最大上升速率($+dp/dt_{\max}$), 左室内压最大下降速率($-dp/dt_{\max}$)。

2.3.2 免疫组织化学染色法检测心肌 Col I, Col III, PCNA, α -SMA, Vimentin 蛋白表达 心肌组织石蜡切片按照说明书操作步骤采用 S-P 法染色及 DAB 显色。高倍镜($\times 400$)下随机选取 5 个视野, 拍照后用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件进行定量分析, 采用图像分析软件对染色阳性物质进行测定。测定区域面积(Area)及积分吸光度 IA。计算阳性细胞表达的平均吸光度 AA。 $AA = IA / \text{Area} \times 100\%$ 。PCNA 的测定则选用计算阳性细胞率(%), 阳性细胞率 = PCNA 阳性细胞数/视野内细胞总数 $\times 100\%$ 。

2.3.3 ELISA 检测血清 MMP-9 含量 按照说明书操作步骤进行检测大鼠血清中 MMP-9 的含量。酶标仪在 450 nm 测量各孔吸光度 A。以标准品的浓度为纵坐标, A 为横坐标, 作出标准曲线及方程, 计算出各样品 A 对应的浓度值。

2.4 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计学软件, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA), 两两比较时方差齐采用 LSD 法, 方差不齐采用 Dunnett's-T3 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 芪参益气滴丸对心肌梗死大鼠心功能的影响 与假手术组相比, 模型组 $+dp/dt_{\max}$, $-dp/dt_{\max}$, LVSP 均明显降低($P < 0.01$), LVEDP 明显升高($P < 0.01$)。与模型组相比, QSYQ-N, QSYQ-H 组与卡托普利组 $+dp/dt_{\max}$, $-dp/dt_{\max}$, LVSP 升高($P < 0.05$, $P < 0.01$), QSYQ-H 组及卡托普利组 LVEDP 明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 1。

表 1 芪参益气滴丸对心肌梗死大鼠 $+dp/dt_{\max}$, $-dp/dt_{\max}$, LVSP, LVEDP 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

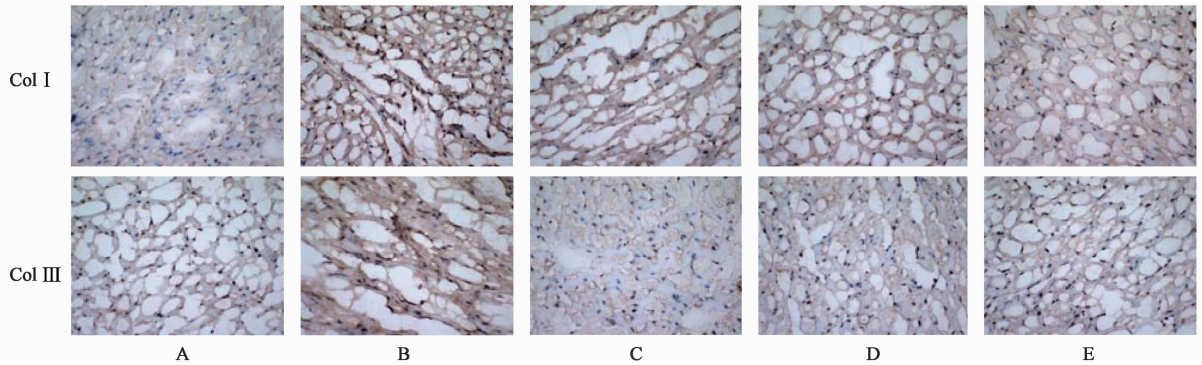
Table 1 Effect of Qishen Yiqi dripping pills on $+dp/dt_{\max}$, $-dp/dt_{\max}$, LVSP, LVEDP in MI rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$+dp/dt_{\max}/\text{mmHg} \cdot \text{s}^{-1}$	$-dp/dt_{\max}/\text{mmHg} \cdot \text{s}^{-1}$	LVSP/mmHg	LVEDP/mmHg
假手术	-	$8\ 427.18 \pm 746.41$	$-7\ 700.60 \pm 1\ 818.04$	112.93 ± 11.15	16.27 ± 3.82
模型	-	$4\ 036.83 \pm 593.00^{1)}$	$-3\ 241.35 \pm 873.02^{1)}$	$90.54 \pm 11.88^{1)}$	$24.25 \pm 2.86^{1)}$
QSYQ	135	$5\ 139.07 \pm 446.27^{3)}$	$-4\ 514.79 \pm 814.25^{2)}$	$100.97 \pm 6.1^{2)}$	19.78 ± 4.84
	270	$5\ 416.27 \pm 692.93^{3)}$	$-4\ 773.01 \pm 676.26^{3)}$	$104.63 \pm 8.06^{3)}$	$18.09 \pm 6.21^{2)}$
卡托普利	6.75	$5\ 988.74 \pm 711.20^{3)}$	$-5\ 113.38 \pm 927.83^{3)}$	$105.66 \pm 10.32^{3)}$	$16.39 \pm 6.67^{3)}$

注: 1 mmHg = 0.133 kPa; 与假手术组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$ (表 2, 4 同)。

3.2 芪参益气滴丸对心梗大鼠 Col I, Col III 及 Col I/Col III 的影响 与假手术组相比,模型组大鼠 Col I, Col III 表达明显上调 ($P < 0.01$), Col I/Col III 增高 ($P < 0.01$); 与模型组相比, QSYQ-N, QSYQ-H 组与卡托普利组 Col I, Col III 表达明显减少 ($P < 0.01$), Col I/Col III 降低 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2, 图 3。

3.3 芪参益气滴丸对心肌梗死大鼠血清 MMP-9 浓度的影响 与假手术组相比,模型组 MMP-9 浓度升高 ($P < 0.01$); 与模型组相比, QSYQ-N, QSYQ-H 组及卡托普利组 MMP-9 浓度降低 ($P < 0.01$)。见表 3。



A. 假手术组; B. 模型组; C. QSYQ-N 组; D. QSYQ-H 组; E. 卡托普利组 (图 3 同)

图 2 芪参益气滴丸对大鼠心肌组织 Col I, Col III 表达的影响 (免疫组化, $\times 400$)

Fig. 2 Effect of Qishen Yiqi dripping pillon expression of Col I, Col III in rat myocardium (IHC, $\times 400$)

表 3 芪参益气滴丸对心梗大鼠血清 MMP-9 浓度的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of Qishen Yiqi dripping pillon serum MMP-9 in rats of myocardial infarction ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	n	MMP-9/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
假手术	-	7	35.52 \pm 4.11
模型	-	8	40.61 \pm 4.86 ¹⁾
QSYQ	135	10	32.34 \pm 2.17 ²⁾
	270	10	31.33 \pm 1.81 ²⁾
卡托普利	6.75	8	28.83 \pm 5.35 ²⁾

与假手术组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.01$ 。

3.4 芪参益气滴丸对心肌梗死大鼠心肌 PCNA, α -SMA, Vimentin 蛋白表达的影响 与假手术组相比,模型组大鼠心肌 PCNA, α -SMA 及 Vimentin 表达明显上调 ($P < 0.01$); 与模型组相比, QSYQ-N, QSYQ-H 组及卡托普利组大鼠心肌 α -SMA, Vimentin 及 PCNA 表达下调 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 4, 图 3。

4 讨论

心肌梗死后心室重构是导致心力衰竭进展的主要病理机制。心肌缺血、缺氧和炎症等病理因素可以刺激心肌间质的 CFs 增殖并向 MFs 分化, 导致胶

表 2 芪参益气滴丸对心梗大鼠 Col I, Col III 及 Col I/Col III 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 2 Effect of Qishen Yiqi dripping pillon Col I, Col III and Col I/Col III in rats of myocardial infarction ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Col I/%	Col III/%	Col I/Col III
假手术	-	10.45 \pm 1.27	8.33 \pm 0.91	1.26 \pm 0.22
模型	-	31.11 \pm 4.17 ¹⁾	16.63 \pm 1.55 ¹⁾	1.87 \pm 0.18 ¹⁾
QSYQ	135	16.00 \pm 1.00 ³⁾	12.10 \pm 1.66 ³⁾	1.34 \pm 0.16 ³⁾
	270	15.05 \pm 2.69 ³⁾	10.93 \pm 1.40 ³⁾	1.38 \pm 0.25 ²⁾
卡托普利	6.75	15.70 \pm 1.25 ³⁾	10.84 \pm 0.20 ³⁾	1.45 \pm 0.12 ²⁾

表 4 芪参益气滴丸对心梗大鼠心肌 PCNA, α -SMA, Vimentin 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 4 Effect of Qishen Yiqi dripping pillon PCNA, α -SMA, Vimentin in rats myocardium of myocardial infarction ($\bar{x} \pm s, n = 5$) %

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	PCNA	α -SMA	Vimentin
假手术	-	7.56 \pm 1.73	19.63 \pm 1.50	18.11 \pm 2.16
模型	-	18.23 \pm 0.90 ¹⁾	25.90 \pm 4.48 ¹⁾	25.24 \pm 2.18 ¹⁾
QSYQ	135	12.92 \pm 2.92 ³⁾	22.50 \pm 2.81 ²⁾	22.96 \pm 2.49 ²⁾
	270	12.39 \pm 0.56 ³⁾	22.27 \pm 2.25 ²⁾	22.62 \pm 2.58 ³⁾
卡托普利	6.75	13.67 \pm 1.44 ³⁾	21.26 \pm 3.65 ²⁾	22.17 \pm 2.65 ³⁾

原过度沉积, 导致心室腔的逐渐扩大, 心肌收缩和舒张功能的下降^[10]。所以作为心脏间质的主要细胞类型 CFs 在心肌梗死后的增殖状况、向 MFs 的分化数量, ECM 中胶原含量及比例及代谢情况是基础研究的重要问题。

冠心病应属于中医学“胸痹”范畴。气虚血瘀是贯穿冠心病始终的主要证候特征^[11]。芪参益气滴丸中黄芪善补虚益气; 丹参、三七活血祛瘀、通络止痛; 降香温通行滞。本研究发现, 高剂量和低剂量芪参益气滴丸均能够改善心肌梗死后大鼠的心脏的

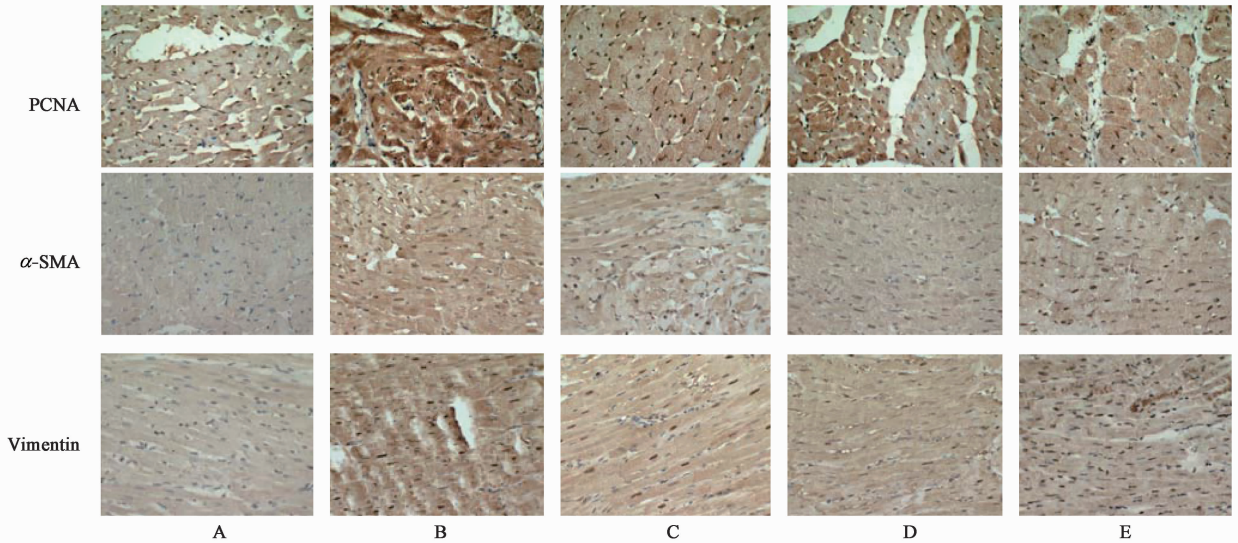


图 3 芪参益气滴丸对大鼠心肌组织 PCNA, α -SMA, Vimentin 表达的影响(免疫组化, $\times 400$)

Fig. 3 Effect of Qishen Yiqi dripping pillon expression of PCNA, α -SMA, Vimentin in rat myocardium (IHC, $\times 400$)

收缩及舒张功能。其有效成分黄芪甲苷、三七总皂苷能够通过抑制转化生长因子- β_1 (TGF- β_1) 的表达而抑制 MF^[12-13]。丹酚酸 B 能够抑制血管紧张素 II 体外诱导 CFs 的增殖与分化^[14]。临床研究亦发现, 该药能够抑制气虚血瘀型心肌梗死患者的心室重构及慢性心力衰竭患者的炎症反应, 并改善其心脏功能^[15-16]。

ECM 的胶原蛋白以 I 型和 III 型为主, Col I 僵硬较大, 能够保持室壁的抗牵拉强度, Col III 弹性较大, 使室壁保持伸展性。一方面, 心肌梗死后胶原的大量沉积代替坏死或凋亡的心肌细胞, 导致心肌收缩力的下降; 另一方面, I 型与 III 型胶原比例的失调导致的室壁顺应性的下降亦是导致心功能下降的重要因素。芪参益气滴丸能够抑制梗死部位胶原的过度沉积, 同时调节两种胶原纤维的合成比例, Col III 比例增加, 使修复后的心肌组织具有更好的伸展性, 改善心室顺应性和心脏舒张功能。其中黄芪提取物具有抑制胶原沉积的作用^[17], 但不同中药在调节各种类型胶原的比例方面尚待进一步研究。

MMPs 是调节 ECM 降解的主要酶类。心肌梗死后 MF 过程中 ECM 蛋白的合成和降解均增加。MMPs 是锌离子依赖性内源酶家族, 其中 MMP-9 属于明胶酶。主要由炎细胞生成, 梗死区可见大量炎细胞浸润。心肌梗死后可以观察到 MMPs 活性增加, MMPs 可以使梗死区 ECM 降解, 室壁张力降低, 导致心室扩张。Ducharme 等^[18]利用 MMP-9 基因敲除大鼠研究发现, 与空白组相比, 炎细胞浸润

减轻, 左室扩张程度减轻。芪参益气滴丸能够抑制 MMP-9 活性, 抑制 ECM 中明胶的降解, 可能是抑制心室重构的重要机制之一。目前临床上尚无抑制 MMPs 活性的药物。通过研究高亲和性、高选择性的抑制 MMPs 的药物将成为抑制心室重构的重要方向。同时, 可能不同的中药有效组分对不同类型的 MMPs 的亲合力存在差异, 通过调节不同药物组分的配伍产生最佳的修复效果也将是研究的目标之一。

PCNA 是 DNA 合成的重要核内多肽链, 仅在增殖细胞中表达。PCNA 是反映梗死后细胞增殖的重要指标。心肌梗死后心肌细胞与 Fbs 均发生增殖修复, 细胞的增殖亦是心肌重构的重要机制。同时, CFs 亦发生表型转化, 成为 MFs, 后者有更加活跃的分泌修复能力, 表达 α -SMA 具有平滑肌细胞的表型特征。Vimentin 是间质细胞中间纤维家族的重要成员, 是细胞骨架的重要组成部分。在心脏内作为 CFs 的重要标志。本研究发现芪参益气滴丸能够抑制 PCNA, α -SMA 和 Vimentin 的表达。既抑制 CFs 和 MFs 的增殖, 又抑制 CFs 向 MFs 分化。其中丹参中有效成分丹酚酸和丹参酮 II_A 在体外实验中均发现具有抑制 CFs 增殖和分化作用^[14, 19]。

心肌梗死后 MF 既参与心室重构又是心脏修复的重要过程。进一步研究通过不同阶段调控 CFs 增殖和分化的机制。中医药研究目标, 一方面明确中药有效组分在不同阶段的干预机制, 另一方面通过辨证论治, 复方中不同的有效组分的配伍综合干预其不同的信号机制, 发挥协同作用。

[参考文献]

- [1] Tomasek J J, Gabbiani G, Hinz B, et al. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002, 3(5):349-363.
- [2] Zucker I H, XIAO L, Haack K K. The central renin-angiotensin system and sympathetic nerve activity in chronic heart failure[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2014, 126(10):695-706.
- [3] 王禹川, 丁燕生, 刘梅林. 不同因子致心肌纤维化分子学机制[J]. *医学综述*, 2012, 18(17): 2736-2740.
- [4] 吴美芳, 吕仕超, 李萌, 等. 中医药干预心肌纤维化的效应与机制[J]. *中国中西医结合杂志*, 2014, 34(7): 887-891.
- [5] 王拴虎, 毛静远, 侯雅竹, 等. 西药常规加用芪参益气滴丸治疗慢性心力衰竭随机对照试验的系统评价[J]. *中国中西医结合杂志*, 2013, 33(11): 1468-1475.
- [6] 陈慧, 李春, 石天娇, 等. 芪参益气滴丸对心衰大鼠RAAS系统的实验研究[J]. *北京中医药大学学报*, 2014, 37(8): 538-542.
- [7] 田颖, 王江, 李振魁, 等. 大鼠心肌梗死后心力衰竭模型的建立和评估[J]. *心脏杂志*, 2006, 18(4): 404-405, 410.
- [8] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [9] 张腾, 张密霞, 张艳军. 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[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(1): 134-139.
- [10] Stratton M S, Mckinsey T A. Epigenetic regulation of cardiac fibrosis[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 92(3): 206-213.
- [11] 葛永彬, 毛静远. 7512例冠心病中医证型分布规律分析[J]. *山东中医杂志*, 2011, 30(4): 227-229.
- [12] 蒋洪强, 张金国. 黄芪甲苷抑制慢性心力衰竭大鼠心肌纤维化和转化生长因子 β_1 的表达[J]. *新医学*, 2016, 47(1): 27-33.
- [13] 聂丹, 孙红丹, 时召平, 等. 丹皮酚、三七总皂苷组方对心肌梗死后心室重构大鼠TGF- β /Smads信号通路的影响[J]. *天津医药*, 2016, 44(4): 449-452.
- [14] 黄海烽, 王春花, 赵玲璐, 等. 丹酚酸B抑制血管紧张素II诱导心肌成纤维细胞增殖与分化的作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(13): 128-132.
- [15] 谢东霞, 毛秉豫. 芪参益气滴丸对心肌梗死后气虚血瘀证患者心室重构及心功能的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(1): 192-195.
- [16] 邵正斌, 戴小华, 毛静远, 等. 芪参益气滴丸对慢性心力衰竭患者心功能及超敏C-反应蛋白的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(15): 152-155.
- [17] 刘暖, 杨雷, 毛秉豫, 等. 黄芪提取物对大鼠心肌梗死后心肌组织血管新生的作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(19): 92-96.
- [18] Ducharme A, Frantz S, Aikawa M, et al. Targeted deletion of matrix metalloproteinase-9 attenuates left ventricular enlargement and collagen accumulation after experimental myocardial infarction [J]. *J Clin Invest*, 2000, 106(1): 55-62.
- [19] 付晓杰, 孙红霞. 丹参酮II_A通过调控PKC/CyclinD1通路抗大鼠心肌成纤维细胞增殖作用研究[J]. *北华大学学报: 自然科学版*, 2016, 17(5): 616-619.

[责任编辑 邹晓翠]