

# 肺心通对慢性肺源性心脏病模型大鼠一氧化氮、内皮素-1 及血管内皮细胞生长因子的影响

孙 杰<sup>\*</sup>, 王俊霞, 赵鸿亮, 吴立文  
(甘肃中医学院, 甘肃 兰州 730000)

[摘要] 目的: 探讨肺心通对慢性肺源性心脏病(CPHD)大鼠的治疗效果及其作用机理。方法: 50只Wistar大鼠, 雌雄各半, 随机分为空白组、模型组、肺心通高、中、低剂量组, 以2%野百合碱(MCT)按60 mg/kg 1次腹腔注射复制 CPHD 大鼠模型。同时给模型组、肺心通高、中、低剂量组灌胃相应药物, 连续用药 21 d。测定大鼠血清和肺组织匀浆中一氧化氮(NO)、内皮素-1(ET-1)的含量; 测定肺小动脉及支气管平滑肌血管内皮细胞生长因子(VEGF)的表达; 观察肺组织病理形态学改变。结果: 肺心通可显著提高 CPHD 模型大鼠的 NO 含量; 降低 ET-1 的含量; 降低大鼠肺小动脉及支气管平滑肌中 VEGF 的表达; 改善肺组织的病理改变。结论: 肺心通对 CPHD 大鼠有较好的治疗作用。

[关键词] 肺心通; 慢性肺源性心脏病; 一氧化氮; 内皮素-1; 血管内皮细胞生长因子

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)08-0036-03

## Influence of Feixintong on the Contents of NO, ET-1 and VEGF in Rat Model of Chronic Pulmonary Heart Disease

SUN Jie<sup>\*</sup>, WANG Jun-xia, ZHAO Hong-liang, WU Li-wen  
(Gansu College of TCM, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To research the functionary mechanism and treating effect of Feixintong(FXT) on chronic pulmonary heart disease(CPHD). **Methods:** 50 Wister rats were randomly separated into five groups: blank control group, model group, FXT groups of high, middle and low dosage, The rat model of corpulmonale was established by injecting 2% monocrotaline(60 mg/kg) i. p. At the same time, model group, FXT groups of high, middle and low dosage were separately administrated with physical saline or FXT for 21 days. NO, ET-1 and expression of VEGF in bronchi arterioles was measured. Lung tissue sections were examined to study the morphological alternations. **Results:** FXT could evidently improve the NO content of rat model of CPHD; reduce the ET-1 content; reduce the expression of VEGF in bronchi arterioles. **Conclusions:** FXT treatment is effective on rat model of CPHD.

[Key words] Feixintong; chronic pulmonary heart disease; NO; ET-1; VEGF

慢性肺源性心脏病(CPHD)是由肺组织、肺动脉血管或胸廓的慢性病变引起的肺组织结构和功能异常,产生肺血管阻力增加,肺动脉压力增高,使右心扩张、肥大,伴或不伴右心衰竭的心脏病。肺动脉高

压是慢性肺源性心脏病发生发展的病理生理学基础,肺血管收缩反应性增强和肺血管结构重建是肺动脉高压形成的基础,一氧化氮(NO)、内皮素-1(ET-1)、血管内皮细胞生长因子(VEGF)在肺动脉高压形成发展中起着重要的作用。因此本实验研究肺心通对 CPHD 大鼠 NO, ET-1, VEGF 的影响,揭示肺心通治疗 CPHD 的作用机理。

[收稿日期] 2007-02-01

[基金项目] 甘肃省中医管理局资助课题(2004-GZK-07)

[通讯作者] \* 孙杰, Tel: (0931) 8635287

## 1 材料

**1.1 实验动物** 健康成年 SPF 级 Wistar 大鼠 50 只, 体重(200±20) g, 鼠龄(3~4)个月龄。由甘肃中医学院实验动物中心提供。按体重随机分为 5 组。即空白对照组、模型组、肺心通高、中、低剂量组, 每组 10 只。

**1.2 药品与试剂** 肺心通(黄芪、当归、土鳖虫、葶苈子、赤芍、细辛、桂枝等)由甘肃中医学院附属医院制剂室制备成煎剂。野百合碱(MCT)(批号: 046K<sub>1</sub>-256), Sigma 公司提供; NO(批号: 20060711), ET-1(批号: 20060725), 试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供。VEGF 试剂盒(批号: 20060717)由武汉博士德生物工程有限公司提供。

**1.3 主要仪器** Primo 离心机, UV-2401PC 紫外分光光度仪, RM2135 石蜡切片机(德国), TEC-VEnr-J<sub>2</sub> 石蜡包埋机(日本), VIP-5Jr-J<sub>2</sub> 脱水机(日本), CX31-32L02 光学显微镜(德国), BI-2000 医学图像分析系统(成都)。

## 2 方法

**2.1 造模与给药** 2%的 MCT 水溶液, 按 60 mg/kg 1 次腹腔注射造模。空白组以等容量注射用水腹腔注射。造模同时开始给药: 肺心通高剂量为 27 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 中剂量 13.5 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 低剂量 5.4 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 同时模型组及空白组灌服等量生理盐水。每天上午灌胃 1 次, 连续给药 21 d。

## 2.2 检测指标

**2.2.1 血清 NO, 血浆 ET-1 的检测** 末次给药后 24 h, 用 20% 的乌拉坦(1 g/kg)腹腔注射麻醉动物, 剪断股动脉取血约 4 mL, 分为 2 份, 每份 2 mL, 其中 1 份加入含有 10% 依地酸钠(EDTA) 40 μL 和抑肽酶 30 μL 的试管中混匀, 静置, 以 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 测血浆 ET-1 的水平。另 1 份以 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 测血清 NO 的水平。

**2.2.2 肺组织匀浆 NO, ET-1 的检测** 脱颈椎处死大鼠, 取左肺下叶肺组织 0.3g 左右, 置于玻璃匀浆管中。再加入 0.86% 的预冷生理盐水 2.7 mL(按照实际组织重的 9 倍计算), 充分研磨使组织匀浆化。将制备好的匀浆以 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 测肺组织匀浆中 ET-1 及 NO 的水平。

**2.2.3 VEGF 的测定** 采用免疫组化法和图像分析技术测定肺小动脉及支气管平滑肌 VEGF 表达的平均吸光度值, 作为 VEGF 蛋白表达的相对含量。测定方法严格按照试剂盒说明书进行。

**2.3 统计学处理** 各组数据用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 数据处理采用 SPSS11.5 统计软件进行单因素方差分析。P < 0.05 具有统计学意义。

## 3 实验结果

**3.1 “肺心通”对 CPHD 大鼠血清、肺组织匀浆中 NO 和 ET-1 含量的影响** 见表 1。

表 1 各组大鼠血、肺组织匀浆中 NO 和 ET-1 含量( $\bar{x} \pm s$ , n = 10)

组别	剂量 (g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	NO 含量(μmol/L)		ET-1 含量(pg/mL)	
		肺组织	血清	肺组织	血浆
空白对照组	—	15.40 ± 4.32 <sup>2)</sup>	20.33 ± 2.29 <sup>2)</sup>	45.96 ± 10.24 <sup>2)</sup>	42.82 ± 19.80 <sup>2)</sup>
模型对照组	—	6.42 ± 3.12	12.91 ± 2.53	93.60 ± 11.98	86.45 ± 21.26
肺心通组	27.0	10.84 ± 3.56 <sup>1)</sup>	16.63 ± 0.97 <sup>1)</sup>	62.83 ± 6.98 <sup>1)</sup>	52.83 ± 15.69 <sup>1)</sup>
肺心通组	13.5	8.16 ± 3.15	14.11 ± 1.36	79.19 ± 7.72	69.47 ± 28.92
肺心通组	5.4	7.06 ± 3.44	13.89 ± 1.16	82.15 ± 12.53	75.01 ± 24.56

注: 与模型对照组比较, <sup>1)</sup> P < 0.05; <sup>2)</sup> P < 0.01(下同)。

**3.2 “肺心通”对 CPHD 大鼠 VEGF 表达的影响** 免疫组化: 空白对照组 VEGF 表达在肺血管平滑肌、支气管平滑肌中均有表现, 模型组 VEGF 表达较空白对照组明显增强, 肺心通高剂量组 VEGF 的表达介于两者之间, 而中、低剂量组的表达与模型组差别不大, 见表 2。图像分析结果见表 3。

**3.3 “肺心通”对 CPHD 大鼠支气管、肺组织病理形态的影响** 光镜下显示, 正常对照组肺小动脉内皮细胞扁平连续, 细胞分布均匀, 厚薄一致, 中膜肌层

较薄, 只有一层内弹力膜。模型组大鼠肺内肌型动脉和腺泡动脉中膜厚度比例均明显增大, 以腺泡动脉更为明显, 非肌型动脉肌化, 肺血管内皮细胞肿胀, 呈立方形或柱状突向血管腔内, 核形变圆, 甚或坏死脱落。肺心通高、中、低剂量组肺血管结构较模型组均有不同程度的改善, 内皮细胞肿胀减轻, 肺内肌型动脉和肺腺泡动脉中膜厚度比例减小, 管腔扩大, 以肺心通高剂量组为优。肺小动脉腔面积/总面积(EA/TA), 中膜面积/总面积(WA/TA), 中膜厚/外

径(WD/TD)的比值明显改变,见表4。

表2 VEGF在肺血管及支气管平滑肌中表达的分布与强度(n=10)

组别	剂量 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	血管平滑肌细胞	支气管平滑肌细胞
空白对照组	—	+	+
模型对照组	—	+++	+++
肺心通组	27.0	++	++
肺心通组	13.5	++	+++
肺心通组	5.4	+++	+++

注: + : 弱阳性, ++ : 阳性, +++ : 强阳性。

表3 “肺心通”对CPHD大鼠肺血管平滑肌和支气管平滑肌细胞VEGF表达的影响( $\bar{x} \pm s$ , n=10)

组别	剂量 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	血管平滑肌细胞	支气管平滑肌细胞
空白对照组	—	103.03 ± 6.35 <sup>2)</sup>	120.65 ± 8.96 <sup>2)</sup>
模型对照组	—	185.32 ± 4.56	193.24 ± 6.52
肺心通组	27.0	133.12 ± 5.39 <sup>1)</sup>	158.79 ± 4.51 <sup>1)</sup>
肺心通组	13.5	169.46 ± 7.86	186.39 ± 4.01
肺心通组	5.4	174.56 ± 8.03	189.36 ± 3.98

表4 “肺心通”对CPHD大鼠ET/TA WA/TA WD/TD的影响( $\bar{x} \pm s$ , n=10)

组别	剂量 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	ET/TA (%)	WA/TA (%)	WD/TD (%)
空白对照组	—	55.70 ± 12.49 <sup>2)</sup>	14.19 ± 6.38 <sup>2)</sup>	28.51 ± 3.38 <sup>2)</sup>
模型对照组	—	15.77 ± 7.679	36.94 ± 3.74	58.07 ± 7.13
肺心通组	27.0	35.89 ± 10.21 <sup>1)</sup>	26.20 ± 1.38 <sup>1)</sup>	40.49 ± 4.89 <sup>1)</sup>
肺心通组	13.5	18.46 ± 6.735	33.58 ± 6.19	53.39 ± 7.29
肺心通组	5.4	16.60 ± 3.201	35.89 ± 3.36	57.79 ± 10.14

#### 4 讨论

MCT通过损伤肺动脉血管内皮,诱导肺动脉血管壁的重建,可建立大鼠肺动脉高压动物模型<sup>[1,2]</sup>。本实验发现注射MCT后肺动脉内皮细胞出现肿胀、变性和坏死脱落,伴血小板性血栓形成,从形态学方面证实了这一观点。

CPHD的特点是久病肺、心、脾、肾俱虚,痰浊、血瘀、水饮互结为主,而又以血瘀痰浊较为多见。故治疗以益气化痰活血为法。肺心通是由黄芪、当归、葶苈子、赤芍、土鳖虫、细辛、桂枝等组成。方中黄芪补气生血利水;当归养血、补血、活血;桂枝温经通阳;葶苈子泻肺平喘,利水消肿;土鳖虫清热利水、通络平喘;细辛通血脉温肺散寒;赤芍活血祛瘀。诸药合用,共奏化痰利水,益气活血之功。

NO和ET-1是由气道和肺上皮细胞以及炎症细胞包括肺泡巨噬细胞合成和释放的一对相互拮抗的生物活性因子。NO主要功能有:使平滑肌舒张,扩张支气管,抑制血小板凝集及扩张肺气管、支气管、血管,使通气/血流比增加。ET-1是目前最强的血管肽,其在肺部有着广泛的生物学效应,不仅有收缩气管、支气管和血管平滑肌以及促平滑肌细胞、成纤维细胞增殖作用,而且还有促进腺体分泌、炎性介质释放等多种作用。肺脏既是内皮素作用的靶器官,又是ET合成、分泌、代谢的主要场所<sup>[3]</sup>,缺血、缺氧、内皮细胞损伤均可刺激ET释放。本实验结果表明:模型组血清、肺组织中NO含量明显降低,ET-1含量明显升高。而肺心通高剂量组能提高NO的含量,降低ET-1的含量,从而防止肺血管收缩及肺小动脉痉挛,降低肺血管阻力,减缓肺动脉高压的形成。

VEGF是一种特异性作用于血管内皮细胞的生长因子。肺组织内皮细胞、平滑肌细胞等多种细胞均具有分泌VEGF的能力,通过旁分泌方式作用于血管内皮细胞,引起内皮细胞增生和分泌,从而引起管腔狭窄。本实验结果表明:模型组VEGF的表达较正常对照组明显增强,肺心通高剂量组VEGF的表达较模型组明显降低。提示肺心通高剂量通过降低CPHD大鼠肺血管平滑肌和支气管平滑肌细胞VEGF表达来抑制肺血管结构重建,降低肺动脉压而对CPHD大鼠具有治疗作用。以上变化在中、低剂量时不明显,可能与剂量不足有关。

总之,肺心通通过使CPHD大鼠ET-1、VEGF的下降,NO的增加,以抑制肺血管收缩及其结构重建,减轻CPHD的病理损害,从而降低肺动脉压,达到治疗CPHD的目的。

#### [参考文献]

- [1] Thomas H C, Lane M W, Wilson D W, et al. Cell cycle alterations associated with covalent binding of monocrotaline pyrrole to pulmonary artery endothelial cell DNA[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 1996, 141: 319-329.
- [2] Tyler R C, Muramatsu M, Abman S H, et al. Variable expression of endothelial NO synthase in three forms of rat pulmonary hypertension[J]. Am J Physiol, 1999, 276, L297-L303.
- [3] 杨新良,周波,富维骏.内皮素在肺部的作用及其研究进展[J].国外医学呼吸系统分册,1998,18(2):104-107.