

论 坛

从分子基因水平
开展中医药抗动脉粥样硬化的研究

张群豪* 指导:陈可冀*

主题词 动脉粥样硬化/中医药疗法 中草药/药理学
基因,结构

现代医学的发展日新月异。近年来由于分子生物学理论和技术的飞速发展,正在改变着人们对心脑血管疾病的重要发病机制——动脉粥样硬化(AS)的认识和理解,大大地丰富了AS研究的内容,为AS的研究开辟了一个崭新的天地。中医药抗AS研究如何引进和利用这一最新成果,跟上时代的步伐,开辟中西医结合研究领域的新篇章呢?这是一个值得深思的课题,本文对此作一初步的探讨。

1 动脉粥样硬化病理研究的新进展

AS是心脑血管疾病发病的重要基础,是影响人类健康最常见、最重要的疾病之一。AS发病机理极为复杂,参与因素很多,虽经一百多年的研究,至今尚未完全阐明。近年来,随着分子生物学的飞速发展,为AS的研究开辟了新纪元。美国著名医学家Williams于1990年提出:“心血管生理和病理,最本质、最核心的问题就是基因表达及调控的问题。”指出基因结构和表达异常是心血管疾病发生的根本原因。

组织病理学研究证明,AS都有内皮细胞的损伤,平滑肌细胞的增生和内膜下迁移,单核/巨噬细胞的浸润和增生,成纤维细胞的增生和内膜下迁移,形成泡沫细胞,细胞的坏死和大量脂肪的沉积。因此,AS是一种以细胞增生为主要病变的疾病,其中血管内皮细胞损伤和平滑肌细胞增生起着重要作用,是AS形成的关键^[1]。而这些改变与基因表达和调控的异常有密切的关系。

在平滑肌细胞增生过程中,血小板衍化生长因子(PDGF)是最为重要的因素之一。1988年Libby^[2]应用人的动脉粥样硬化血管在体外培养,将其培养液加入

正常平滑肌细胞的培养液中,可使平滑肌细胞增殖速度增加 5.1 ± 1 倍,培养液中的PDGF水平显著升高,表明在AS形成前就有内源性生长因子分泌增强;若应用PDGF的抗体中和条件培养液中PDGF,则可明显抑制平滑肌细胞的增生。PDGF是血清中最主要的致有丝分裂原,可刺激血管内膜平滑肌细胞增生,诱导平滑肌细胞、单核/巨噬细胞趋化,促进胶原合成和泡沫细胞形成等,在AS形成过程中起着至关重要的作用。正常情况下,血管内膜平滑肌细胞内PDGFmRNA的表达水平很低,但在PDGF的刺激下,则可大量产生和分泌PDGF^[3]。

现已证明,PDGF是C-sis基因的表达产物。Barrett^[4]直接取AS患者的血管测定C-sis基因的mRNA,发现其表达量较正常者高5~12倍。内皮细胞、单核/巨噬细胞、平滑肌细胞以及成纤维细胞内都有C-sis基因,都可产生PDGF。内皮细胞是体内PDGF的重要来源,它不仅可以促进自身的生长和增殖,还可以促进平滑肌细胞、成纤维细胞,单核/巨噬细胞增殖和向内膜下迁移^[5,6]。人的动静脉和毛细血管内皮细胞都有C-sis基因的表达和转录^[7],但在正常情况下表达很少,只有内皮细胞受损时,C-sis基因才能大量表达,产生PDGF^[8]。凝血酶、胆固醇、转化生长因子、白细胞介素-1、肿瘤坏死因子等可促进内皮细胞C-sis基因的表达,产生PDGF^[9]。单核/巨噬细胞内亦有C-sis基因,可以表达PDGF。但在正常情况下,未激活的单核/巨噬细胞PDGF产生较少,激活后的单核/巨噬细胞C-sis基因表达明显增强,PDGF产生也多。Barrett^[10]发现,AS病灶中单核/巨噬细胞越多,C-sis基因的表达水平也越高。将AS斑块中的平滑肌细胞和激活的单核/巨噬细胞共同培养,可使平滑肌细胞增殖速度明显加快。平滑肌细胞是动脉粥样硬化斑块中最主要的细胞成分,在PDGF刺激下,可引起平滑肌细胞的增殖。平滑肌细胞本身亦有C-sis基因,亦可产生和分泌PDGF。成纤维细胞内亦有C-sis基

* 中国中医研究院西苑医院,北京海淀区西苑
(100091)

收稿日期:1994-12-27

因,它亦可产生 PDGF,促进平滑肌细胞增生和向内膜下迁移^[11]。

此外,一些资料表明,低密度脂蛋白、集落刺激因子亦可促进 C-myc 和 fos 基因的表达,促进内皮和平滑肌细胞的增生^[12]。可见 C-myc 和 fos 基因也与 AS 的形成有关。C-myc 基因参与细胞增殖的调控,是细胞生长过程中的重要调节基因。它的产物是核内蛋白质,与细胞从 G₀-G₁ 期有关,参与 DNA 复制^[13]。

正常情况下,内皮的轻度损伤并不能导致平滑肌细胞增生而致 AS 的形成,提示在正常情况下可能有抑癌基因的存在。研究表明,抑癌基因 P53 在 AS 中呈低表达。有人对家兔 AS 斑块组织内泡沫细胞进行 P53 基因的免疫组化和分子杂交研究,结果显示泡沫细胞有 P53 基因的突变和低表达,而在斑块旁中膜平滑肌细胞中则有 P53 基因表达。这说明斑块内泡沫细胞有 P53 基因的失活(主要是甲基化和突变)。P53 为细胞增殖抑制基因,其失活可引起细胞增殖^[14]。

总之,C-sis 基因和 C-myc、fos 基因激活,PDGF 生成过多,促进平滑肌细胞的增生;P53 基因失活,失去对平滑肌细胞增殖的抑制作用,是 AS 形成的关键和根本原因。

2 分子基因水平中医药抗动脉粥样硬化的研究

近年来,国内开展中医药抗 AS 的研究,已经做了不少工作。综观各地报道主要是从以下几个途径进行研究:降低血脂、调整脂质代谢;抑制脂质的过氧化、保护内皮细胞的结构与功能;抗血小板粘附、聚集、释放反应、调整血栓素 A₂/前列腺素(PGI₂)平衡;抑制 AS 斑块形成和消退 AS 斑块等。这些研究虽然从不同侧面,不同程度上阐释了中医药抗 AS 的作用机理,但都未从分子基因表达调控这一较根本的原因入手进行研究。因此,我们从 1992 年开始,与中国科学院遗传所合作,展开了从分子基因水平研究中医药抗 AS 作用的工作。

血管通是血府逐瘀汤制成的水丸制剂,我们以往的研究已经证明,它具有降低血脂、抑制血小板粘附、聚集,防止血栓形成,抑制 AS 斑块形成等作用。在以上工作的基础上,为进一步探讨血管通抗 AS 的作用机制,我们开展了血管通对与家兔血管壁平滑肌细胞增生相关基因表达影响的研究^[15]。20 只纯种新西兰家兔,随机分成四组:(1)正常组:喂饲基础饲料;(2)高脂组:喂饲基础饲料加高胆固醇饲料;(3)阿斯匹林组:喂饲高脂组饲料加阿斯匹林;(4)血管通组:喂饲高脂组饲料加血管通。实验 12 周后,用气栓法处死家兔。先在光镜及电镜下观察家兔冠状动脉的病理切片,正常组

无 AS 斑块形成;高脂组冠状动脉有大量脂质浸润,使冠脉内膜增厚致不同程度管腔狭窄,严重者管腔几乎全部被阻,AS 病变发生率 90.68%,III、IV 级病变动脉占 51.6%;阿斯匹林组也有 AS 斑块的形成,但轻于高脂组;血管通组冠脉脂质沉着少,斑块堵塞管腔程度以及病变程度均轻于高脂组,病变发生率 72.18%,III、IV 级病变动脉占 29.33%,显著少于高脂组。接着采用斑点印迹杂交和原位杂交技术,观察血管通对与平滑肌细胞增生相关基因 PDGF、C-myc 基因表达的影响。PDGF 斑点杂交和原位杂交结果表明,高脂组 AS 斑块内 PDGFmRNA 呈高表达,杂交阳性颗粒主要分布在血管 AS 斑块边缘小区和新生的平滑肌细胞内,而血管通可影响家兔 PDGFmRNA 的表达,血管通组 PDGFmRNA 的表达量比高脂组低。C-myc 基因分子杂交结果表明,高脂组 AS 斑块内 C-myc mRNA 表达水平与正常组比较显著升高,血管通组动脉壁 C-myc 表达水平下降。上述结果表明,血管通防治实验性家兔 AS 形成的作用机制可能是通过降低 PDGF、C-myc 基因表达水平,减少 PDGF 的释放,抑制平滑肌细胞的增生,进而阻止 AS 斑块形成。

此外,我们还进行了血管通防治家兔髂动脉经皮腔内成形术(PTA)后再狭窄的研究^[16],结果显示血管通组家兔髂动脉管腔内径明显大于对照组,髂动脉内膜厚度明显小于对照组,透射电镜下观察,血管通组平滑肌细胞内细胞器少,含有肌丝,分化较好,对照组细胞内细胞器多,处于增殖状态。我们还进行了血管通对实验性 AS 家兔主动脉平滑肌细胞增殖影响的研究^[17],采用体外动脉平滑肌细胞培养,测定同步化平滑肌细胞³H-TdR 掺入量,结果显示:血管通可抑制平滑肌细胞从收缩表型向合成表型转变,并可使平滑肌细胞对³H-TdR 掺入量明显降低,抑制动脉平滑肌细胞的 DNA 合成,以抑制平滑肌细胞的增生。

在以上工作的基础上,目前我们又着手进行血管通对实验性 AS 家兔血管壁 C-sis 基因、P53 基因表达影响的研究工作,以期进一步揭示血管通对这两个 AS 形成相关基因的影响,阐释血管通抗 AS 的作用机制。

3 结语

分子基因水平研究中医药抗 AS,为阐明中医药抗 AS 的作用机理提供一个新的依据,为中医药防治 AS 提供一种先进科学的研究方法。虽然我们的工作刚刚起步,但已显示较好的势头。随着分子生物学的进展,从分子基因水平研究中医药防治心脑血管疾病、肿瘤、血液病等将大有可为。

4 参考文献

- Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis. *New Engl J Med* 1986;314:488.
- Libby P, et al. Production of PDGF-like mitogen by smooth muscle cells from atheroma. *New Engl J Med* 1988;318:1493.
- Sjolund M, et al. Arterial smooth muscle cells express PDGF-A. *J Cell Biology* 1988;106:403.
- Barrett TB, et al. Sis gene transcript levels are elevated in human atherosclerotic lesions compared to normal artery. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:1099.
- Collins T, et al. Culture human endothelial cells express PDGF-A. *Am J Pathol* 1987;127:7.
- Autio I, et al. Cultured bovine aortic endothelial cells secrete factor chemotactic for aortic smooth muscle cells. *Artery* 1989;16:72.
- Mormex J F, et al. Spontaneous expression of sis gene and release of PDGF by human macrophages. *J Clin Invest* 1986;78:61.
- Barrett TB, et al. Expression of the sis gene by endothelial cells in culture and vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:6772.
- Suzuki H, et al. Interferon- γ modulates mRNA levels of sis (PDGF-A), PDGF-A and IL-1 genes in human vascular endothelial cells. *Am J pathol* 1989;134:35.
- Barrett TB, et al. PDGF gene expression in human atherosclerotic plaques and normal artery wall. *Proc Nstl Acad Sci USA* 1988;85:2810.
- Nilsson J, et al. Growth factors and the pathogenesis of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1986;62:185.
- Burden TS, et al. Induction of growth related metabolism in human vascular smooth muscle cells by LDL. *J Biol chem* 1988;264:12582.
- Kelly K, et al. Cell-specific regulation of the C-myc gene by lymphocyte mitogens and platelet-derived growth factor. *Cell* 1983;35:603.
- 杨和平. 动脉粥样硬化病变内 P53 基因的实验研究. *中华医学杂志* 1993;73(11):674.
- 李静, 等. 血管通对实验性家兔血管壁血小板衍化生长因子 A、B 及 C-myc 基因表达的影响. *中国中西医结合杂志* 1995;15(1):33.
- 史大卓, 等. 血管通防治家兔髂动脉经腔内成形术 (PTA) 后再狭窄的研究. *中医药杂志(台湾)* 1994;5(3):155.
- 李静, 等. 血管通对实验性动脉粥样硬化家兔主动脉平滑肌细胞增殖的影响. *中国中医药科技* 1994;1(6):25.

隐性脊柱裂致神经原性膀胱继发急性肾衰验案

吕仁和* 主治 杨晓晖 整理*

李××,男,37岁,1993年3月3日初诊。患者于1990年初无明显诱因出现小腹胀满、小便频而量少,当时未予重视。近3个月症状加重,排尿时需按压下腹方可排出,时有恶心、纳饮减少、疲乏无力。在某院经摄片和CT检查示有“隐性脊柱裂”,查血红蛋白6.5g/dl,尿素氮70mg/dl,肌酐8.0mg/dl,B超示有膀胱残余尿500ml,并诊为神经原性膀胱、肾功能衰竭,当时为改善肾功能曾要求病人做“膀胱造瘘术”,因体质较弱,患者不堪手术故寻求中医药治疗。就诊时症见:面色苍黄,眼睑苍白,纳食不香,口淡无味,腹胀难忍,腰酸腿软,面目和下肢浮肿,小便排出困难,需按压下腹方可排出少许,舌质淡暗、舌苔薄白,脉沉细无力。吕师认为此属禀赋有亏,复加劳累,肝肾不足,气血亏虚,督任失养,膀胱气化不利,浊毒内停。治当补益气血,兼顾肝肾,温养督任,疏利膀胱。处方:生黄芪30g,当归10g,狗脊15g,川断15g,牛膝15g,巴戟天30g,仙灵脾30g,蛇床

子20g,石韦30g,猪苓30g,荔枝核各10g,麻黄6g。

服完上方7剂后,尿出渐畅,腹胀减轻,下肢浮肿也明显减轻,食欲转佳,已无恶心呕吐,但舌苔转为黄腻。考虑湿热又起,在上方加用苍术15g,熟军8g,厚朴10g,番泻叶3g(包)以增加清化湿浊之功。服上方7剂后,诸症大减,为防化燥,在二诊方中去苍术、熟军。继服7剂。诸症消失殆尽,排尿正常,复查:血红蛋白9.2g/dl,尿素氮51mg/dl,肌酐1.8mg/dl,B超示残余尿48ml。吕师嘱继服上方以巩固。随访半年,病情稳定。

体会:本病乃先天禀赋不足,复加劳伤,肝肾亏损,气血不足,致肾虚而髓不充乃成。此患者首先表现为癃闭和水肿,结合辅检结果,吕师认为乃肝肾不足,气血俱伤,督任失养所致。故治以补气血益肝肾,滋养督任之剂。方中生芪、当归补气血,狗脊、杜仲、牛膝、川断、巴戟天等益肝肾,强筋骨;蛇床子温肾壮阳,散寒祛湿;猪苓、石韦助气利水,保护肾功能;尤其是麻黄一味的使用尤妙,有“提壶揭盖”治疗癃闭和水肿之意,另加番泻叶不仅能通便泻浊,还有促进肠和膀胱功能的改善。诸药合用肝肾得补,膀胱气化得以恢复。

* 北京中医药大学附属东直门医院,北京市海运仓5号(100700)

收稿日期:1994-03-11