

华夏小葱提取物对球囊损伤术后血管再狭窄的影响

张介眉 关江锋 涂欣 郝建军 柯于鹤 时昭红 何娟娟

(湖北省武汉市第一医院, 武汉市中山大道215号, 430022)

[摘要] 目的 观察华夏小葱提取物对球囊损伤术后血管再狭窄的影响。方法 Wistar 大鼠随机分为8组, 即球囊损伤2周/4周组、华夏小葱提取物2周/4周组、缬沙坦2周/4周组及立普妥2周/4周组。球囊损伤术后, 高脂饲料喂养2周或4周后观察血管形态学变化, 免疫组织化学法检测基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、增殖细胞核抗原(PCNA)和Ⅰ型胶原(CPⅠ)水平, 并进行定量统计分析。结果 各给药组较球囊损伤组管腔面积明显增大, 新生内膜面积明显减小($P < 0.05$); 各时间点 PCNA、MMP-2和 CPⅠ表达均降低, 华夏小葱组最低($P < 0.01$)。结论 华夏小葱对血管平滑肌细胞增殖有一定抑制作用, 可以改善球囊损伤后再狭窄。**[关键词]** 华夏小葱; 颈总动脉内膜球囊损伤术; 再狭窄; 基质金属蛋白酶; 增殖细胞核抗原; Ⅰ型胶原

Influence of Preparation of Chinese Allium fistulosum L. on Vascular Restenosis after Balloon Injury Interveneion

ZHANG Jie-mei, GUAN Jiang-feng, TU Xin, et al.

(The First Hospital of Wuhan City, 430022 China)

ABSTRACT Objective To observe the influence of Chinese Allium fistulosum L. (PCAL) on restenosis after interventional therapy. Methods Wistar rats were randomly divided into 8 groups: model group (2w/4w), PCAL group (2w/4w), valsartan group (2w/4w), Lipitor group (2w/4w), 10 rats in each group. Rats were treated with drugs and high fat foods for totally 2 or 4 weeks. Immunohistochemistry method was used to detect the expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), proliferation cell nuclear antigen (PCNA) and type I collagen (CPⅠ) in the vascular. The expression were analyzed by image analysis. Results At each time point, the lumen area was larger and the neointima area was smaller in all the treated groups than in model groups ($P < 0.05$). The expression of MMP-2, PCNA and CPⅠ in the vascular in all the treated group was decreased, that of the PCAL group (2w, 4w) being the lowest ($P < 0.05$). Conclusion PCAL has the effect of preventing restenosis after balloon injury.

Key Words Preparation of Chinese Allium fistulosum L. (PCAL); Balloon Injury; MMP-2; PCNA; CPⅠ

前期研究发现, 华夏小葱提取物能抗氧化损伤, 保护内皮细胞, 明显抑制平滑肌细胞增殖^[1,2]。为进一步探讨华夏小葱提取物抗球囊损伤的作用及机制, 我们制备了大鼠颈动脉内膜球囊损伤模型, 并观察了治疗后不同时段大鼠血管形态学、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、增殖细胞核抗原(PCNA)和Ⅰ型胶原(CPⅠ)表达的变化。

1 材料与方法

1.1 动物及分组

健康雄性 Wistar 大鼠 80 只, 体重 (200 ± 20) g, 由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供[合格证号: SCXK(鄂) 2006-0007]; 实验动物共分为 8 组, 即球囊损伤 2 周/4 周组, 华夏小葱 2 周/4 周组, 缬沙坦 2 周/4 周组及立普妥 2 周/4 周组, 每组 10 只。

1.2 药物与试剂

葱白提取物为褐色油状物, 50 mg/粒, 由华中科技大学同济医学院药学院提供, 批号: 20060908; 代文(缬沙坦胶囊)由北京诺华制药有限公司提供; 立普妥由辉瑞制药有限公司提供; PCNA、MMP-2 和 CPⅠ试剂盒均购自武汉博士德生物工程公司。

1.3 造模及给药

全部大鼠用水合氯醛 (300 mg/kg 体重) 腹腔注射麻醉, 分离颈外动脉, 结扎其远端, 在近端作一切口, 逆行插入球囊导管 (20 mm $\times$ 2.5 mm, 由 Cordis 公司生产), 充 0.2 ml 生理盐水并反复拉 3 次, 造成颈动脉内膜损伤, 退出导管, 结扎动脉远端^[3]。术后各组均给予高脂饮食 (93.8% 基础饲料, 1.0% 胆固醇, 5.0% 猪油, 0.2% 胆盐) 喂养^[4]。

1.4 标本制备及图像分析

分别于术后 2 周、4 周处死各组大鼠, 分离球囊损伤侧颈总动脉, 放入 4% 多聚甲醛标本瓶中固定, 24 小时后石蜡包埋, 切片, 分别进行 HE 色和免疫组织化学染色。每张切片随机取 5 个视野, 用 BI22000 图像分析系统分别测量管腔面积、新生内膜面积和新生内膜最大厚度; 并测定血管壁 MMP-2、PCNA 和 CPⅠ 阳性细胞的比例 (阳性细胞/总细胞数)。

1.5 统计学方法

用 SPSS 15.0 统计软件处理, 各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 形态学观察

表 1 示, 与球囊损伤组各时段比较, 各给药组新生

内膜最大厚度、管腔面积和新生内膜面积均有改善($P<0.05$ 或 $P<0.01$),其中华夏小葱提管腔面积和新生内膜面积的改变较缙沙坦组和立普妥组更为明显($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

表1 各组新生内膜最大厚度、管腔面积和新生内膜面积比较($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	新生内膜最大厚度(mm)	管腔面积(mm ²)	新生内膜面积(mm ²)
球囊损伤2周组	10	40.8±1.0	13.2±0.3	4.2±0.1
球囊损伤4周组	10	55.3±2.1	4.2±0.1	22.8±0.3**
华夏小葱2周组	10	20.4±4.0*	24.2±2.3**	7.4±2.3**
华夏小葱4周组	10	20.9±0.4*	31.2±3.3**	8.2±4.3**
缙沙坦2周组	10	21.3±2.0*▲	23.1±1.5*▲	8.5±1.6*▲▲
缙沙坦4周组	10	22.8±0.6*▲	26.8±1.5*▲▲	9.1±0.5*▲
立普妥2周组	10	21.1±1.0*▲▲	20.1±0.2*▲▲	10.1±3.8*▲▲
立普妥4周组	10	21.7±1.6*▲	21.3±3.1*▲▲	11.9±1.9*▲

与球囊损伤组同时间比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与华夏小葱组同时间比较,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$

2.2 各组MMP-2、PCNA和CPⅠ表达情况比较

表2示,与球囊损伤组各时段比较,华夏小葱组在2周和4周两个时段,除CPⅠ($P<0.05$)外,其他各项指标的改善均有显著性意义($P<0.01$);缙沙坦4周组CPⅠ($P<0.01$),立普妥2周组PCNA的改善具有显著性意义($P<0.01$),其他各时段各项指标差异均有显著性意义($P<0.05$)。

表2 各组MMP-2、PCNA和CPⅠ比较(% , $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	PCNA	MMP-2	CPⅠ阳性细胞比
球囊损伤2周组	10	48.3±9.8	46.5±3.2	32.9±1.3
球囊损伤4周组	10	39.5±1.3	43.2±12.3	47.8±21.3
华夏小葱2周组	10	17.4±7.3**	20.4±13.2**	25.4±3.1**
华夏小葱4周组	10	18.3±9.8**	18.5±3.2**	27.8±6.9*
缙沙坦2周组	10	21.3±7.2*▲	28.4±6.4*▲	25.4±9.2*▲
缙沙坦4周组	10	20.6±2.6*▲▲	22.5±7.3*▲▲	22.9±1.4*▲▲
立普妥2周组	10	18.9±21.3**	19.2±12.9*▲▲	25.9±3.2*
立普妥4周组	10	20.4±11.3*▲▲	21.2±22.5*▲	27.8±8.2*

与球囊损伤组同时间比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与华夏小葱组同时间比较,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$

3 讨论

经腔内冠状动脉成形术(PTCA)后再狭窄的主要机制为血管平滑肌细胞增殖及迁移所致的内膜过度增生、局部血栓形成、细胞外基质形成、早期血管弹性回缩及晚期血管负性重塑^[5,6]。PCNA阳性细胞主要是血管平滑肌细胞。MMP-2是基质金属蛋白酶家族中的一种,主要水解变性胶原及基膜的主要成分型胶原,是由损伤的平滑肌细胞分泌的。近来研究表明,明胶酶能持续降解间质的纤维类胶原,在细胞外基质胶原重塑过程中具有重要作用^[7,8]。CPⅠ以胶原纤维的形式发挥作用,主要功能是作为组织支持物,与细胞的生长、

分化、增生、组织损伤的修复以及炎症反应、硬化、纤维化等均密切相关。血管损伤后,血管平滑肌细胞增殖及从中膜向内膜的迁移是动脉再狭窄发展过程中的主要环节,而由平滑肌细胞产生的MMP对细胞外基质的降解促进了平滑肌细胞的迁移。术后的第1周,胶原降解及合成增加是早期血管重塑的重要特征,能有效降解胶原MMP的表达及活性增高^[9]。

本研究发现各给药组2周和4周较模型组的管腔面积明显增加,新生内膜最大厚度明显减少($P<0.05$)其中华夏小葱组最为显著($P<0.01$),与血管壁PCNA阳性细胞的表达基本一致。MMP-2和CPⅠ在2周和4周均有表达,给药组较模型组比较明显减少($P<0.05$),其中华夏小葱组在两个时间点与模型组比较差异有显著性意义($P<0.01$),华夏小葱提取物效果最好。结果表明,华夏小葱提取物可能通过抑制血管平滑肌细胞增殖使MMP-2分泌减少,从而抑制血管平滑肌细胞迁移和细胞外基质胶原重塑,在防治PCTA术后再狭窄中发挥重要的作用。

参考文献

[1]张介眉,时昭红,郝建军.搏心通抗氧化损伤、改善内皮功能的实验研究.中医杂志,2006,47(2):142~143.
[2]郑琼莉,喻荣辉,张介眉.射心通胶囊抗球囊损伤术后再狭窄作用的实验研究.中西医结合心脑血管病杂志,2005,3(6):510~511.
[3]王元占,赵军礼,刘谋荣.大鼠血管内膜损伤模型的建立.中华中西医杂志,2003,13(2):12~13.
[4]林健,李爱香,何聆,等.爱康利胶囊对喂饲高脂饲料大鼠血脂的影响.心肺血管病杂志,1999,3(3):18.
[5]Mehran R, Dangas G, A bizaid AS, et al. Angiographic patterns of in-stent restenosis:classification and implication for long term outcome.Circulation, 1999, 100(18):1872~1878.
[6]Carter AJ, Laird JR, Farb A, et al. Morphologic characteristics of lesion formation and time course of smooth muscle cell proliferation in a porcine proliferative restenosis model. J Am Coll Cardiol, 1994, 24(5):1398~1405.
[7]Okada Y, Nara K, Kawamura K. Localization of matrix metalloproteinase⁹ in osteoclasts: implications for bone resorption. Lab Invest, 1995, 72(3):311~322.
[8]Aimes RT, Quigley JP. Matrix metalloproteinase-2 is an interstitial collagenase: inhibitor free enzyme catalyzes the cleavage of collagen fibrils and soluble native typeⅠcollagen generating the special 3/4 and 1/4 length fragments. J Biol Chem, 1995, 270(11):5872~5876.
[9]Strauss BH, Robinson R, Batchelor WB, et al. In vivo collagen turnover following experimental balloon angioplasty injury and the role of matrix metalloproteinase. Circ Res, 1996, 79(3):541~550

(收稿日期:2006-10-10;修回日期:2007-01-09)