

31 例人体股动脉粥样斑块中碱性成纤维细胞生长因子的表达及分布特点

张大伟¹, 张立燕², 金星³

(山东中医药大学 1. 附属医院血管外科, 山东省济南市 250011; 2. 基础医学院, 山东省济南市 250014; 3. 山东省立医院血管外科, 山东省济南市 250021)

[关键词] 外科学; 碱性成纤维细胞生长因子; 血管平滑肌细胞; 增殖; 闭塞性动脉硬化症; 动脉粥样硬化; 股动脉

[摘要] 目的 探讨碱性成纤维细胞生长因子在动脉粥样硬化斑块中的表达及分布特点。方法 应用免疫组织化学技术测定 31 例人体股动脉粥样斑块中碱性成纤维细胞生长因子的表达, 并观察其分布特点。结果 闭塞性动脉硬化症患者股动脉粥样斑块中碱性成纤维细胞生长因子呈强阳性表达, 且主要分布在平滑肌细胞密集的部位。而正常人动脉壁中碱性成纤维细胞生长因子仅在中膜有微量表达, 与闭塞性动脉硬化症患者比, 差异有显著性 (0.0145 ± 0.0017 比 0.0337 ± 0.0125 , $P < 0.05$)。结论 碱性成纤维细胞生长因子在动脉粥样斑块中的表达增高与动脉粥样硬化及闭塞性动脉硬化症的发生密切相关。

[中图分类号] R6

[文献标识码] A

Expression and Distribution of Basic Fibroblast Growth Factor in Atherosclerosis Plaque of Human Femoral Artery for 31 Cases

ZHANG Da Wei¹, ZHANG Li Yan², and JIN Xing³

(1. Department of Vascular Surgery, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250011; 2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014; 3. Department of Vascular Surgery, Shandong Hospital, Jinan 250021, China)

[KEY WORDS] Basic Fibroblast Growth Factor; Vascular Smooth Muscle Cell; Proliferation; Arteriosclerosis Obliterans; Atherosclerosis; Femoral Artery

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the expression and distribution of basic fibroblast growth factor (bFGF) in atherosclerosis (As) plaque of arteriosclerosis obliterans (ASO) cases. **Methods** The protein level and area of bFGF in As plaque and normal artery of human were studied by means of immunohistochemistry. **Results** The expression of bFGF had a high level in As plaque and was mainly distributed in the area where there were plenty of vascular smooth muscle cells, in contrast the expression of bFGF was very low in normal arterial (0.0337 ± 0.0125 vs 0.0145 ± 0.0017 , $P < 0.05$). **Conclusion** It suggested that the higher expression of bFGF was related to the pathogenesis of As and ASO.

闭塞性动脉硬化症 (arteriosclerosis obliterans, ASO) 是动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 病变在肢体动脉的局部表现, 在 As 以及移植动脉再狭窄的病理发展过程中, 血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 的异常增殖是非常重要的病理基础。研究表明, 碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 对 VSMC 有明显的促增殖作用^[1], 但目前的多数研究是 bFGF 在 As 动物模型或者离体培养人动脉平滑肌细胞中的表达及其对 VSMC 的影响, 有关 ASO 患者肢体动脉中 bFGF 的表达情况及分布特点鲜有报道。本研究通过检测 31 例 ASO 患者肢体动脉粥样斑块中 bFGF 的表达, 对

此进行探讨。

1 材料与方法

1.1 标本来源

实验分 ASO 组与正常对照组。ASO 组来自 2002 年 11 月~2004 年 10 月山东中医药大学附属医院周围血管科与山东省立医院血管外科住院病人, 共 31 例, 其中男 19 例, 女 12 例, 平均年龄 71.4 ± 12.9 岁。动脉标本取自 ASO 截肢患者的股动脉。正常对照组来自 2002 年 11 月~2004 年 10 月山东省立医院创伤外科住院病人, 共 10 例, 其中男 8 例, 女 2 例, 平均年龄 23.6 ± 8.2 岁。动脉标本取自外伤截肢患者 (单纯外伤无其他合并疾病) 的股动脉。

1.2 主要试剂

碱性成纤维细胞生长因子单克隆抗体、SABC 试

[收稿日期] 2005-08-29

[修回日期] 2006-04-29

[作者简介] 张大伟, 博士, 主治医师, 从事血管外科疾病的临床研究, E-mail 为 qiyinhuaok@hotmail.com。张立燕, 硕士, 从事血管外科疾病的基础研究。金星, 博士, 教授, 从事血管外科疾病的临床研究。

剂盒均购自北京中山生物工程公司。

1.3 标本处理及 HE 染色

动脉标本取下后 4% 多聚甲醛固定 24 h, 上行梯度酒精脱水, 标本保存于 70% 的酒精中备用。将标本常规石蜡包埋切片后脱蜡至水, 水洗后, 苏木素浸染 10 min, 10% 盐酸酒精分化 10 s, 0.5% 氨水返蓝, 伊红浸染 3~6 min, 上行梯度酒精脱水, 二甲苯透明后中性树脂封片。

1.4 免疫组织化学检验

采用 SABC 法, 将石蜡标本切片脱蜡, 枸橼酸钠抗原修复液微波修复 10 min, 冷却至 40℃ 左右, 滴加正常血清封闭, 滴加 bFGF 单克隆抗体(工作液浓度 1:200), 置 4℃ 湿盒过夜, 依次滴加二抗、三抗, DAB 显色, 上行梯度酒精脱水, 二甲苯透明后中性树脂封片。两组设对照标本用 PBS 代替一抗。阳性信号染色为棕黄色。40×10 倍镜下, 采用 IMAGE-PRO PLUS 图像系统(美国 Media Cybernetics 公司), 对两组玻片进行图像分析, 测定阳性染色的平均吸光度与面积。

1.5 统计学方法

应用 SPSS10.0 统计软件对数据进行统计, 采用两组独立样本的 *t* 检验, *P* 值取双侧。

2 结果

2.1 碱性成纤维细胞生长因子的表达

闭塞性动脉硬化症(ASO)患者股动脉壁 As 斑块中 bFGF 染色呈强阳性, 棕黄色阳性颗粒位于斑块内增殖的平滑肌细胞内、外, 以细胞外最明显(图 1A)。正常人动脉壁组织中 bFGF 染色呈弱阳性, 棕黄色阳性颗粒仅见于动脉中膜的平滑肌细胞核周胞质中(图 1B)。测定两组动脉壁中 bFGF 的平均吸光度×面积数值, ASO 组为 0.0337 ± 0.0125 , 正常对照组为 0.0145 ± 0.0017 , ASO 组较正常对照组动脉壁 bFGF 的表达显著增高($P < 0.05$), 两组的对照标本均呈阴性。

2.2 碱性成纤维细胞生长因子的分布特点

根据免疫组织化学染色的石蜡切片发现, bFGF 在 VSMC 的细胞外及细胞内均有表达, 以细胞外最明显。在动脉粥样斑块中分布区域主要是 VSMC 密集的部位, 即增生内膜部分, 在增生内膜中, 其分布也有不同, 分布更集中在接近泡沫细胞区域的增生 VSMC 区域; 在泡沫细胞区域也有分布, 钙化的部位几乎没有分布。

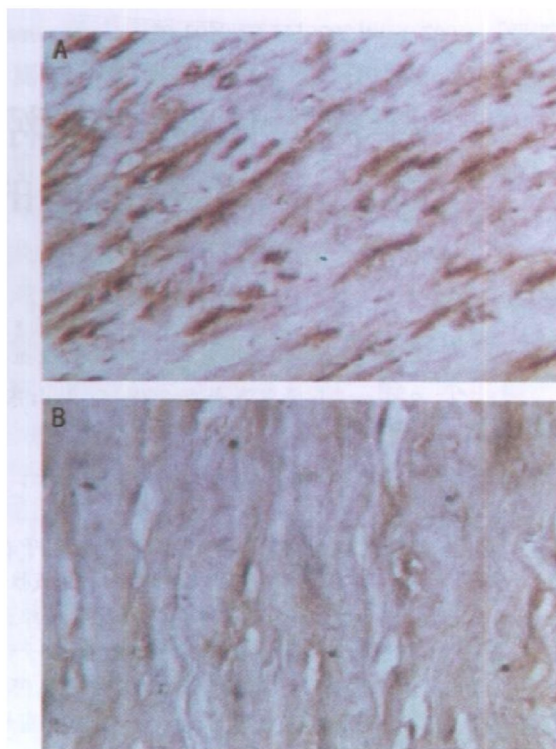


图 1. 免疫组织化学检测碱性成纤维细胞生长因子的表达(×20 倍) A 为闭塞性动脉硬化症组, B 为正常对照组。

3 讨论

动脉粥样硬化(As)是一个复杂的临床综合征, ASO 则是 As 病变发展引起肢体动脉闭塞的严重疾病, 有很高的截肢率。因此积极预防和治疗 As 是防治 ASO 的关键。bFGF 在 As 的发病及发展过程中发挥了重要作用, 它是一个血管源性的多效能生长因子, 主要作用于 VSMC, 促进其增生与分化。有研究表明 bFGF 作用于大鼠 VSMC 1 h 后 α -fos 和 α -myc 表达活性达到高峰, 增殖细胞核抗原在一个细胞周期内出现两次表达, 证实 bFGF 可显著促进 VSMC 的 DNA 合成, 其作用是通过诱导与细胞增殖有关的基因表达来实现的^[2]。

血管平滑肌细胞(VSMC)和内皮细胞是血管壁合成 bFGF 的主要细胞, 在 As 斑块浸润的 T 淋巴细胞和单核巨噬细胞也能合成 bFGF^[3]。动物实验证实, 在家兔 As 模型主动脉粥样斑块中 bFGF 的表达明显高于对照组^[4]。本实验所取标本为 ASO 患者截肢肢体的股动脉, 全部标本均肉眼可见 As 斑块。采用免疫组织化学技术检测 ASO 患者动脉粥样斑块与正常人动脉壁中 bFGF 的表达, 结果发现, ASO 组 31 例肢体动脉粥样斑块中 bFGF 表达明显, 染色呈强阳性, 正常对照组动脉壁中 bFGF 染色呈弱阳性, 二者差异有显著性, 与动物试验及既往研究结果保持一致。

有研究表明, bFGF 在 VSMC 细胞内和细胞周区域的分布比例与细胞是否处于增殖状态有关, 离体培养的静息态 VSMC 80% 的 bFGF 位于细胞内, 而增殖态 VSMC 释放入细胞周区域的 bFGF 占 70% ~ 80%, 并于细胞指数增长时细胞周区域 bFGF 分布达到最高值^[5]。本研究也证实了这一点, ASO 组动脉粥样斑块中, bFGF 主要沉积在细胞基底膜和细胞外间质中。bFGF 在动脉粥样斑块中主要是分布在平滑肌细胞分布密集的部位, 即增生内膜部分, 在泡沫细胞区域内也有分布, 而钙化的部位几乎没有分布; 在增生内膜中, 其分布也有不同, 分布更集中在接近泡沫细胞的平滑肌细胞区域, 而吞噬了脂质的泡沫细胞则没有明显的 bFGF 表达。此结果表明, bFGF 主要由增生的平滑肌细胞分泌, 在粥样斑块区的 bFGF 表达则应该是由单核巨噬细胞和尚未吞噬脂质的 VSMC 分泌的, 这与泡沫细胞引起的炎症反应、各种趋化的细胞因子协同作用有关。bFGF 与 VSMC 相应受体结合, 使 VSMC 发生表型转化, 成为合成表

型, 合成大量细胞外基质, 造成内膜增厚。合成型 VSMC 也可吞噬脂质, 形成脂肪泡沫细胞, 使增生内膜发生粥样变化, 形成 As。综上说明, bFGF 在动脉粥样斑块中表达增高与 As 及 ASO 的发生密切相关。

[参考文献]

- [1] 姜志胜, 符民桂, 赵文, 庞永政, 刘乃奎, 唐朝枢. 几种扩血管多肽对 bFGF 促血管平滑肌细胞增殖作用的影响[J]. 中国应用生理学杂志, 2000, 16 (2): 6-9
- [2] 郭庆, 温进坤. 碱性纤维母细胞生长因子对血管平滑肌细胞增殖的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 1996, 4 (3): 168-171
- [3] Lindner V, Lappi DA, Baird A, Majack RA, Reidy MA. Role of basic fibroblast growth factor in vascular lesion formation [J]. *Circ Res*, 1991, 68 (1): 106-113
- [4] 唐靖一, 薛金贵, 胡婉英, 王肖龙. 卡托普利对兔动脉粥样硬化斑块中碱性成纤维细胞生长因子和血管内皮生长因子的影响[J]. 中国心血管杂志, 2004, 9 (1): 4-8
- [5] Skalet Z, Rorowski A, Schmidt A, Breithardt G, Buddecke E. Heparin induced over expression of basic fibroblast growth factor, basic fibroblast growth factor receptor, and cell associated proteoglycans in cultured coronary smooth muscle cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996, 16: 1063-069

(此文编辑 许雪梅)

•读者•作者•编者•

我刊报道的疾病和诊治方法

- | | | |
|----------------|-----------------|-----------------|
| 1 肥胖症 | 9.4 动脉硬化性闭塞症 | 15 脑动脉硬化症 |
| 2 小儿肥胖病 | 9.5 动脉硬化性周围动脉缺血 | 16 动脉硬化性精神病 |
| 3 原发性高脂蛋白血症 | 10 高血压病 | 17 其他缺血性脑血管疾病 |
| 4 高脂血症 | 11 周围血管疾病 | 18 粥样栓塞性肾病 |
| 5 原发性肺动脉高压症 | 11.1 血栓闭塞性脉管炎 | 19 肾动脉血栓形成或栓塞 |
| 6 早老症 | 11.2 雷诺综合征 | 20 糖尿病合并心血管疾病 |
| 6.1 弥漫性动脉粥样硬化 | 11.3 手足紫绀症 | 20.1 糖尿病并发冠心病 |
| 6.2 冠状动脉栓塞 | 11.4 急性动脉栓塞 | 20.2 糖尿病性心肌梗死 |
| 7 冠状动脉粥样硬化性心脏病 | 11.5 肢端动脉痉挛病 | 20.3 糖尿病并发血管病变 |
| 7.1 原发性心跳骤停 | 12 伯格氏病 | 21 代谢综合征 |
| 7.2 心绞痛 | 13 短暂性脑缺血发作 | 22 血管疾病的影像学诊断 |
| 7.3 心肌梗死 | 13.1 黑矇 | 23 血管疾病的手术疗法 |
| 7.4 冠状动脉性心力衰竭 | 13.2 视野异常 | 23.1 动脉旁路移植术 |
| 7.5 缺血性心律失常 | 14 脑梗死 | 23.2 动脉内膜切除术 |
| 8 急性冠状动脉综合征 | 14.1 脑血栓形成 | 23.3 激光心肌内血管重建术 |
| 9 动脉硬化症 | 14.2 脑血管栓塞 | 23.4 经腔内血管成形术 |
| 9.1 颈动脉硬化症 | 14.3 腔隙性脑梗死 | 23.5 其它血管手术 |
| 9.2 肾动脉硬化 | 14.4 多发梗死性痴呆 | 24 血管疾病的基因疗法 |
| 9.3 动脉硬化性主动脉瘤 | | |

(胡必利编写)