

## • 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2002)10-01-0038-03

## 氟伐他汀对兔髂动脉内皮剥脱后细胞增殖的影响

李东宝, 沈潞华, 谢苗荣, 陈 晖

(北京友谊医院心内科, 北京 100050)

[关键词] 氟伐他汀; 肌, 平滑, 血管; 增殖; 血小板源生长因子

[摘要] 探讨氟伐他汀对兔髂动脉内皮剥脱后造成的动脉粥样硬化模型中细胞增殖的影响。将雄性新西兰兔随机分为氟伐他汀组( $n=28$ )和对照组( $n=28$ ), 用球囊导管剥脱内皮及高胆固醇饮食造成动脉粥样损伤, 分别在剥脱后1、2、4、8周处死动物并取髂动脉, 用常规免疫组织化学染色和计算机图像分析方法观察氟伐他汀对新生内膜中平滑肌细胞增殖和血小板源生长因子-BB的影响。结果发现, 氟伐他汀组内膜中增殖细胞核抗原染色阳性细胞率明显少于对照组( $P<0.05$ ); 氟伐他汀组血小板源生长因子-BB含量一直处于较低水平, 且明显低于对照组( $P<0.05$ ); 血管内膜增殖细胞核抗原染色阳性细胞率与血小板源生长因子-BB含量的相关系数为0.7127( $P<0.01$ )。提示氟伐他汀可能部分通过抑制血小板源生长因子-BB合成和分泌而抑制平滑肌细胞增殖。

[中图分类号] R541.2

[文献标识码] A

## The Effects of Fluvastatin on Cell Proliferation in Rabbit Iliac Artery after Endothelial Denudation

LI Dong-Bao, SHEN Lu-Hua, XIE Miao-Rong, and CHEN Hui

(Cardiology of Beijing Friendship Hospital, Beijing 100050, China)

[MeSH] Fluvastatin; Muscle, Smooth, Vascular; Proliferation; Platelet Derived Growth Factor

[ABSTRACT] **Aim** The present study was to investigate the effects of Fluvastatin on vascular smooth muscle cells (VSMC) proliferation in atherosclerotic model of iliac artery of rabbit after endothelial denudation. **Methods** The New Zealand White Rabbits were randomized into Fluvastatin group ( $n=28$ ) and control group ( $n=28$ ). The atherosclerotic lesions were developed by inducing endothelial denudation with balloon catheter and being given high dosage of cholesterol diet at the same time. The experimental animals were killed and iliac arteries were removed at 1, 2, 4, 8 week after endothelial injury respectively. Through the methods of routine immunohistochemical staining and image analysis system, we observed the effects of Fluvastatin on the expression between proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and platelet derived growth factor-BB (PDGF-BB) in neointima.

**Results** Percentages of PCNA-positive cells in the intima of Fluvastatin group was lower than that in control group apparently. The content of PDGF-BB in Fluvastatin group was always at a lower level and even lower than that in control group ( $P<0.05$ ). Coefficient of linear correlation of PCNA with PDGF-BB was 0.7127 ( $P<0.01$ ). **Conclusion** Fluvastatin may partly inhibit VSMC proliferation through decreasing the synthesis of PDGF-BB.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是心血管疾病最常见的原因之一。目前许多研究证实, As和再狭窄(restenosis, RS)有一类似的特征是血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)的过度增殖和迁移。因此, 抑制细胞增殖过程被认为是防止As和RS最有希望的途径。人们发现氟伐他汀可直接抑制平滑肌细胞增殖, 但对其作用机制了解较少。

## 1 材料和方法

## 1.1 动物分组

2.0~2.5 kg 雄性新西兰白兔56只, 随机分为两组: ①氟伐他汀组( $n=28$ ): 髂动脉内皮剥脱+高脂饲料+氟伐他汀; ②对照组( $n=28$ ): 髂动脉内皮剥脱+高脂饲料。高脂饲料由1.5 g胆固醇和20 g鸡蛋黄组成。氟伐他汀(诺华公司提供)用量为8~10 mg/(kg·d)。动脉内皮剥脱术前一周开始喂养至实验结束。

## 1.2 动物处理方法

无菌条件经股动脉逆行插入球囊导管反复3次损伤动脉内皮, 分别于术后第1、2、4和第8周末各处死兔子7只, 取损伤侧髂动脉用10%中性福尔马林液固定后常规脱水、浸蜡、包埋, 制成蜡块后, 室温保存。

## 1.3 免疫组织化学染色

应用单克隆增殖细胞核抗原(proliferating cell

[收稿日期] 2001-05-14 [修回日期] 2002-01-14

[作者简介] 李东宝, 男, 汉族, 1970年出生, 山东省惠民县人, 主治医师, 从事心血管内科工作, 着重于血脂代谢异常的研究, 现为首都医科大学2001级在读博士研究生。沈潞华, 女, 汉族, 上海人, 教授, 博士研究生导师, 本文联系人。

nuclear antigen, PCNA) 一抗血清 (PC-10 zymid 公司产品) 和单克隆血小板源生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF) 一抗血清 (PDF007, Mochida 制药公司产品) 进行常规免疫组织化学染色。

#### 1.4 血小板源生长因子免疫组织化学染色定量

各组各时间点取 7 张切片, 每张切片取 6 个视野, 用 MPIAS-500 多媒体彩色病理图像分析系统 (同济医科大学清平影像工程公司生产) 测定内膜 PDGF-BB 单位平均光密度。

#### 1.5 增殖细胞核抗原染色阳性细胞定量

各组各时间点取 7 张切片, 每张切片随机选 6 个视野, 分别计数每个视野中血管内膜的细胞数和 PCNA 阳性细胞数, 求出百分数, 取平均值。

#### 1.6 统计学方法

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间差异用双侧  $t$  检验, 直线相关系数用  $F$  检验,  $P < 0.05$  有统计学意义。

## 2 结果

对照组内膜 PCNA 染色阳性细胞率明显多于氟伐他汀组, 氟伐他汀组和对照组内膜 PCNA 染色阳性细胞率在术后 2 周达最高峰, 术后 8 周明显降低, 甚至低于术后 1 周时 (表 1, Table 1)。

氟伐他汀组和对照组内膜 PDGF-BB 阳性颗粒浓度在术后 2 周达最高峰, 但对照组阳性颗粒比氟伐他汀组明显增多 ( $P < 0.05$ ), 见表 2 (Table 2)。

氟伐他汀组和对照组内膜 PCNA 染色阳性细胞数与 PDGF-BB 阳性颗粒浓度呈正相关, 相关系数分别为 0.4861 和 0.7127 ( $P$  均  $< 0.01$ )。

表 1. 氟伐他汀组和对照组内膜增殖细胞核抗原阳性细胞百分比比较。

Table 1. Comparison of percentages of PCNA-positive cells between Fluvastatin group and control group in the intima ( $\bar{x} \pm s$ , %).

Times	Flavastatin group	Control group
1 week	32.73 $\pm$ 5.44 <sup>a</sup>	39.15 $\pm$ 4.71
2 weeks	37.50 $\pm$ 5.95 <sup>a</sup>	44.9 $\pm$ 93.4
4 weeks	30.17 $\pm$ 5.16 <sup>a</sup>	36.60 $\pm$ 4.16
8 weeks	25.84 $\pm$ 3.68 <sup>a</sup>	31.21 $\pm$ 3.49

a:  $P < 0.05$ , compared with control group.

## 3 讨论

PCNA 位于细胞核内且仅在 S 期出现, S 期结束时又消失, 所以又称细胞周期蛋白, 是 S 期的特异性标记<sup>[1]</sup>, 因此, 人们用 PCNA 作为平滑肌细胞增殖的

表 2. 氟伐他汀组和对照组内膜血小板源生长因子-BB 含量比较。

Table 2. Comparison of contents of PDGF-BB between Fluvastatin group and control group in the intima ( $\bar{x} \pm s$ ).

Times	Flavastatin group	Control group
1 week	32.73 $\pm$ 5.44 <sup>a</sup>	39.15 $\pm$ 4.71
2 weeks	37.50 $\pm$ 5.95 <sup>a</sup>	44.9 $\pm$ 93.4
4 weeks	30.17 $\pm$ 5.16 <sup>a</sup>	36.60 $\pm$ 4.16
8 weeks	25.84 $\pm$ 3.68	31.21 $\pm$ 3.49

a:  $P < 0.05$ , compared with control group.

指标。本实验发现, 氟伐他汀组动脉切片的内膜中广泛分布较多的 PCNA 染色阳性颗粒, 且在术后 2 周达高峰, 以后逐渐减少, 提示术后 2 周内膜中的 VSMC 处于最旺盛的增殖阶段, 以后的增殖在较高的水平持续一段时间后下降, 术后 8 周明显减少。这说明内膜损伤后早期的 VSMC 增殖是内膜增厚的重要因素, 但到病变晚期, 可能由于胞外基质和结缔组织的大量分泌以及脂质沉积, VSMC 吞噬大量脂质后变成泡沫细胞或凋亡, 而使 VSMC 增殖能力降低, 其表现为 PCNA 染色阳性细胞率减少。

氟伐他汀组兔髂动脉内膜 PCNA 染色阳性颗粒明显少于非用药组, PCNA 阳性颗粒仅在术后 2 周较高, 以后明显减少, 在术后 8 周接近于正常水平。说明氟伐他汀在动物在体实验条件下抑制 VSMC 增殖的作用较明显, 且随用药时间的延长, 其抑制作用可能更加有效。

大量实验证明, 在血管狭窄形成过程中 VSMC 增殖和类型转化, 取决于多种生长因子的联合作用, 其中 PDGF 是诸多促进 VSMC 增殖的生长因子中最重要的, 可促进平滑肌细胞增殖及向内膜下迁移<sup>[2~4]</sup>, 可能是影响损伤内膜增生和再狭窄形成的主要生长因子之一。Walker 等<sup>[3]</sup>研究表明, 从经球囊导管损伤后动脉内膜的粥样硬化中分离所得的 VSMC, 其增殖速度比未损伤侧平滑肌细胞增殖快得多, 并且合成和分泌的 PDGF 样生长因子也比正常侧高 10 倍, 用 DNA 分子杂交技术证明, 在人粥样硬化中存在 PDGF 基因的较高表达<sup>[5]</sup>。另外, 在动脉模型中给予 PDGF 蛋白或增强 PDGF 在血管壁的表达可引起内膜增生, 而在体内抑制 PDGF 活性或抑制 PDGF 受体的合成则可抑制血管重塑和内膜增厚<sup>[6,7]</sup>。Ferns 等<sup>[8]</sup>报道, 将 PDGF 抗体注入动物体内, 可使动脉损伤后肌性内膜增厚被抑制达 40%。说明通过药物抑制 PDGF 的促 VSMC 增殖效应, 可能有效预防 As 和经皮腔内冠状动脉成形术后的再狭窄。

本研究发现, 对照组 PDGF 染色阳性颗粒的平均光密度明显高于氟伐他汀组, 且在术后 2 周达高峰, 在术后 8 周达最低值。而氟伐他汀组 PDGF 水平无明显变化, 一直处于较低水平。说明仅在内皮损伤后高脂血症的环境下, PDGF 会随时间的延长而分泌增加, 但达一定程度后可能维持在一定高水平的分泌状态, 而氟伐他汀可有效抑制 PDGF 的合成与分泌。氟伐他汀组和对照组 PCNA 阳性细胞率与 PDGF 平均光密度呈正相关, 提示氟伐他汀可能通过抑制 PDGF 的合成和分泌而抑制 VSMC 增殖, 从而减少血管内膜增厚。

总之, 氟伐他汀可能通过抑制 PDGF 而发挥其抑制平滑肌细胞增殖的作用, 从而起到抗 As 的效果, 该作用可能与氟伐他汀的调脂作用无关。

#### [参考文献]

- [1] Dierendonk JKV, Wijsman JH, Keijzer R, et al. Cell-cycle-related staining patterns of antiproliferating cell nuclear antigen monoclonal antibodies. *Am J Pathol*, 1991, **138**: 1 165
- [2] Brown BG. Update on factors which determine progression and regression. *Atherosclerosis*, 1994, **109**: 1
- [3] Walker LN, Bower-Pope DF, Ross R, et al. Production of platelet-derived growth factor-like molecules by cultured arterial smooth muscle cells accompanies proliferation after arterial injury. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, **83**: 7 311
- [4] Brehm BR, Wolf SC, Bertsch D, et al. Effects of nebivolol on proliferation and apoptosis of human coronary artery smooth muscle and endothelial cells. *Cardiovasc Res*, 2001, **49** (2): 430-439
- [5] Wilcox JN, Smith KM, Williams LT, et al. PDGF mRNA detection in human atherosclerosis plaques by in situ hybridization. *J Clin Invest*, 1988, **82**: 1 134
- [6] Sires MG, Simons M, Edelman ER. Antisense oligonucleotide inhibition of PDGF-BB receptor expression directs suppression of intimal thickening. *Circulation*, 1997, **91**: 669-676
- [7] Okamoto S, Iden M, Setsuda M, et al. Effects of trapidil a platelet-derived growth factor antagonist in preventing restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Am Heart J*, 1992, **123**: 1 439-444
- [8] Ferns GA, Raines EW, Sprugel KH, et al. Inhibition of neointimal smooth muscle accumulation after angioplasty by an antibody to PDGF. *Science*, 1991, **251**: 1 129

(此文编辑 文玉珊)

## •读者•作者•编者•

### 关于汉字文稿中名词术语使用英语缩写的规定

当一个多汉字的名词术语在汉字文稿中反复出现时, 作者往往喜欢用一个英语缩写词来代替; 这样做, 既节省篇幅, 又避免繁琐重复, 为多数期刊所称颂, 本刊亦不例外。然而我们在编辑工作中发现, 由于受作者层次和参考文献种类等因素的影响, 在使用名词术语的英语缩写时存在以下问题: ①同一个英语名词如术语, 译成的汉语不同, 如 derived 这个词, 有的译成源性, 有的译为衍化, 还有的译成衍生; ②名词术语的缩写不规范, 英语字母的大小写不一致, 如载脂蛋白 (apolipoprotein), 缩写为 apo 已不规范, 而它却有 Apo 和 apo 两种写法; ③用法不当, 有的用在文题中, 有的用作关键词, 有的名词术语仅两三个汉字, 为图方便, 个别作者也用缩写词来代替; 而且, 第一次出现时, 没有汉英对照, 只有缩写, 这是极不应该的。有鉴于此, 为求统一, 本刊对汉字文稿中名词术语使用英语缩写词来代替作如下规定, 请遵照执行。

1 名词术语在 3 个 (含 3 个) 汉字内, 一律使用汉语; 多于 3 个汉字的, 可使用英语缩写词; 如胆固醇、脂蛋白、内皮素、高血压、糖尿病、再狭窄等, 都只能用汉语; 但冠心病、肺心病等例外。

2 文题、摘要和关键词中的名词术语, 不得使用英语缩写词来代替。

3 正文中的各级标题不得用缩写来代替名词术语; 段首和句首的名词术语, 也不得用缩写词来代替。

4 第一次使用英语缩写词来代替名词术语时, 必须按照下列格式来写: 汉语全称 (英语全称, 缩写词)。如极低密度脂蛋白胆固醇 (very low density lipoprotein cholesterol, VLDLC)、动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 等, 以下行文, 可只写缩写词, 不必注释汉语。

5 用来代替汉语名词术语的英语缩写词, 在汉字文稿中不用复数。

6 书写时缩写词字母之间不用连字符; 若词末有数字, 可在数字与左邻字母之间加连字符 (用半字线), 如 II-1。

7 名词术语的英语缩写词不移行。

8 汉字文稿中不宜过多使用英语缩写词, 我刊规定一篇文献综述可使用 4 个, 其它文稿限 3 个内。

以上规定生效后, 凡文稿中有不符合规定者, 本刊将退回作者重写, 直到符合本规定为止。

(胡必利起草、修订)