

## 益坤饮对围绝经期大鼠血管内皮修复的作用

杜秋<sup>1</sup>, 许惠琴<sup>2</sup>, 陈霞<sup>1</sup>, 吴萌萌<sup>3</sup>, 詹群<sup>1\*</sup>

(1. 南京中医药大学附属南京中医院, 江苏南京 210022; 2. 南京中医药大学, 江苏南京 210023; 3. 南京大学医学院附属口腔医院, 江苏南京 210008)

**摘要:** 目的 研究益坤饮对围绝经期大鼠颈动脉血管内皮损伤的保护作用, 并探讨 ER $\alpha$  和 SDF-1/CXCR4 通路在诱导内皮祖细胞 (EPCs) 迁移和归巢中的作用。方法 建立围绝经期大鼠模型, 给予阳性药替勃龙 (0.25 mg/kg) 及益坤饮 (3.4、6.8 g/kg) 干预后, HE 染色观察颈动脉血管内皮病理形态, ELISA 法检测血管内皮功能指标 ET-1 及 NO 水平, 免疫荧光染色观察颈动脉血管 EPCs 表达, 流式细胞术检测骨髓及外周血 EPCs 的数量, Western blot 法检测颈动脉血管内皮 ER $\alpha$ 、SDF-1、CXCR4 蛋白表达。结果 益坤饮干预后可明显改善围绝经期大鼠血管内皮的病理改变及血管内皮功能; 增加骨髓及外周血 EPCs 的数量及迁移至受损颈动脉血管的归巢能力, 增加血管内皮 ER $\alpha$  水平, 提高与 EPCs 迁移密切相关的 SDF-1/CXCR4 通路蛋白的表达。结论 益坤饮可改善围绝经期大鼠受损的血管内皮功能, 改善 EPCs 的迁移和归巢, 其机制可能与调控血管内皮 ER $\alpha$  和 SDF-1/CXCR4 信号通路有关。

**关键词:** 益坤饮; 围绝经期综合征; 内皮祖细胞; 心血管疾病; SDF-1/CXCR4 信号通路; ER $\alpha$

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** B

**文章编号:** 1001-1528(2024)05-1668-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.05.042

现代研究已证实绝经后妇女心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD) 的发病率上升明显<sup>[1-2]</sup>。雌激素常用于治疗围绝经期综合征, 被认为是调节心血管稳态的重要因素, 研究表明雌激素主要是通过调控雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 的平衡 (ER $\alpha$ /ER $\beta$ ) 发挥心血管的保护作用<sup>[3-4]</sup>, 但是其远期的不良反应如乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌风险甚至心血管事件风险的增加使雌激素使用的利弊始终存在争议。中医认为“肾阴亏损, 燥热内盛”是围绝经期综合征的主要病机, 益坤饮是江苏省名中医陈霞教授基于此理论遣方而成, 该方以“滋肾养阴、平肝潜阳”为主, 目前已制成医院院内制剂, 临床应用 20 余年, 效果显著, 不良反应较少<sup>[5-6]</sup>。研究表明, 益坤饮有一定的雌激素样性, 能显著改善患者的症状评分 (Kupperman 评分), 且能增加患者上臂肱动脉 FMD 值, 降低血清中炎症因子 IL-6 及 TNF- $\alpha$  的表达, 改善患者受损的血管内皮功能<sup>[7]</sup>。为了进一步探索其作用机制, 本研究拟从 ER $\alpha$  表达和 SDF-1/CXCR4 调控通路, 探索绝经后内皮损伤环境下骨髓衍生的内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPCs) 向外周受损血管内皮增殖和迁移, 参与外周血管损伤后的修复机制。

### 1 材料

1.1 动物 35 只健康的 SPF 级雌性 SD 大鼠, 体质量 250~300 g, 购自南京市江宁区青龙山动物繁殖场, 饲养于

恒温 21~23  $^{\circ}$ C、恒湿 45%~65% 的饲养室, 保持各 12 h 的明暗循环, 自由进食饮水。实验动物使用许可证号 SYXK (苏) 2018-0049, 本实验由南京中医药大学实验动物伦理委员会批准 (伦理号 202206A045)。

1.2 药物与试剂 益坤饮为南京中医药大学附属南京中医院的院内制剂 (制剂批准文号苏药制字 ZO4000787, 批号 181025); 替勃龙片 (荷兰欧加农公司生产, 南京欧加农制药有限公司分包装, 批号 T023817)。2.5% Gluta 固定液 (北京索莱宝科技有限公司, 批号 P1126); RIPA 强裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (增强型) (南京碧云天生物技术有限公司, 批号 P0013B、P0010); ECL 发光液 (美国 Affinity 公司, 批号 K002); ER $\alpha$  (美国 CST 公司, 批号 8644); CXCR4、SDF-1、VEGFR2、重组 Anti-CD34 抗体 (英国 Abcam 公司, 批号 ab181020、ab155090、ab39638、ab81289)。

1.3 仪器 全波长酶标仪 (美国 BioTek 公司, 型号 Synergy HT); 低温离心机 (美国赛默飞公司, 型号 Fresco17/17R); 高通量组织匀浆机 (宁波新芝生物科技股份有限公司, 型号 Scientz-48); 电泳及转膜系统 (美国 Bio-Rad 公司, 型号 1658033); 凝胶成像系统 (上海天能科技有限公司, 型号 4600); 生物组织冷冻包埋机 (金华市益迪医疗设备有限公司, 型号 YD-6L); 倒置荧光显微镜 (日本 Olympus 公司, 型号 IX71)。

收稿日期: 2023-05-12

基金项目: 江苏省自然科学基金青年项目 (BK20210035); 南京市医学科技发展专项资金重点项目 (ZKX19033); 南京市卫生科技发展专项基金 (YKK20166); 南京市中医卫青年人才项目 (ZYQ20012)

作者简介: 杜秋 (1984—), 女, 博士, 副主任药师, 研究方向为中药药理学。Tel: 18061645102, E-mail: duqiu0905@163.com

\* 通信作者: 詹群 (1978—), 女, 硕士, 主任中医师, 研究方向为中医妇科学。Tel: 18651819939, E-mail: 214348542@qq.com

## 2 方法

2.1 围绝经期大鼠模型建立 参照文献 [8-10] 报道制备围绝经期大鼠模型。取 10 周龄的雌性 SD 大鼠，去除双侧卵巢，适应性饲养 1 周后，自由饮水，采用无大豆颗粒饲料喂养。大鼠用 3% 戊巴比妥钠溶液 (1 mL/kg) 腹腔注射麻醉后，仰卧位放置于实验台，于下腹正中切口约 1.5 cm，止血钳夹卵巢根部，结扎后用眼科显微剪完整切除双侧卵巢，逐层缝合关腹。术后大鼠肌肉注射青霉素 20 000 U/kg，连续 3 d。术后第 5 天开始阴道涂片，连续 7 d，阴道涂片显示性周期紊乱即模型建立成功。

2.2 分组及给药 将造模成功的大鼠随机为模型组、阳性对照组 (替勃龙片, 0.25 mg/kg) 和益坤饮低、高剂量组 (益坤饮, 3.4、6.8 g/kg)，每组 7 只；另取 7 只仅切开腹部不摘除卵巢的大鼠为假手术组，给予生理盐水 10 mL/kg。各组灌胃给药 4 周后检测各指标。

2.3 HE 染色观察颈动脉内皮细胞形态 用 4% 多聚甲醛溶液固定颈动脉组织，将标本进行脱水、透明、浸蜡，于包埋机内进行包埋，于石蜡切片机切片 4 μm，切片于摊片机展平后用载玻片捞起，60 °C 烘箱内烤片，苏木素-伊红 (HE) 染色，于光学显微镜下观察、拍照并分析。

2.4 ELISA 法检测血管内皮细胞功能标记物 ET-1 及 NO 水平 各组大鼠用 3% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉，腹主动脉取血 4~5 mL，静置 30 min 后，3 000 r/min 离心 10 min，吸取上层血清，于 -20 °C 冰箱保存待测。按照 ELISA 试剂盒说明书检测血清 ET-1、NO 水平。

2.5 免疫荧光染色检测血管 EPCs 数量 将颈动脉组织石蜡切片用 0.3% Triton X-100 (PBS 配制) 溶液通透 20 min，PBS 清洗 3 次，滴加山羊血清工作液室温封闭 30 min，移除血清，加入相应的一抗 4 °C 孵育过夜，次日用 PBST 浸洗 3 次，滴加适量抗兔/兔二抗溶液 (1 : 1 000) 室温孵育 1 h，滴加 DAPI 染液避光室温孵育 10 min，滴加抗淬灭封片液后于显微镜下拍片。VEGFR2 阳性细胞显示为红色荧光，CD34 阳性细胞显示为绿色荧光，VEGFR2/CD34 双阳性细胞即为 EPCs，显示为紫色荧光。

2.6 流式细胞术检测骨髓及外周血 EPCs 的数量 大鼠腹

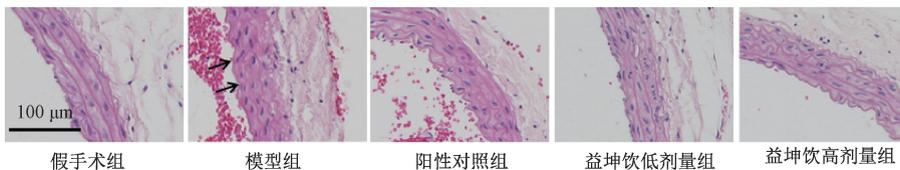
主动脉取血 2 mL 于含肝素钠的抗凝管中备用。无菌条件下分离股骨和胫骨，用匀浆冲洗液反复冲洗出大鼠胫骨和股骨的骨髓细胞，吹打混匀后采用 70 μm 细胞筛过目，离心后重悬细胞，采用 1% PBS 调整细胞密度为  $1 \times 10^6$ /mL，备用。取骨髓和外周血细胞悬液各 100 μL，各加 2 μL CD34、VEGFR2 抗体 4 °C 避光孵育 20 min，加红细胞裂解液 4 °C 避光孵育 10 min，1 500 r/min 离心 5 min，弃上清，PBS 洗涤细胞，用 100 μL PBS 重悬细胞，流式细胞仪上机检测。

2.7 Western blot 法检测颈动脉血管内皮中 ERα、SDF-1、CXCR4 蛋白表达 将颈动脉血管内皮剪切成细小的碎片，加入裂解液裂解，14 000 r/min 离心 10 min，吸取上清液，BCA 法进行蛋白定量，加入 5× 上样缓冲液后混匀，沸水浴加热 5 min 进行变性，蛋白样本于 -80 °C 冰箱冷冻保存。各组取等量蛋白上样，电泳、转膜，将 PVDF 膜浸没在封闭液中室温封闭 2 h，按照一抗说明书稀释一抗，4 °C 孵育过夜，次日用 PBST 洗膜 4 次，加入 PBST 稀释的 HRP-羊抗兔 IgG 抗体，室温孵育 2 h，用 PBST 洗膜 4 次，滴加 1 mL ECL 显影液反应 2 min，曝光。以 Tubulin 为内参，计算目的蛋白灰度值与 Tubulin 灰度值的比值，作为目的蛋白的相对表达量。

2.8 统计学分析 通过 SPSS 25.0 软件进行处理，计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示，多组间比较采用单因素方差分析，方差齐采用 LSD-*t* 检验，方差不齐则采用 Dunnett's T3 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

3.1 益坤饮对围绝经期大鼠颈动脉血管内皮病理形态的影响 如图 1、表 1 所示，假手术组颈动脉内膜结构排列规整，血管内膜光滑，与中膜界限清晰，无肥大增生；与假手术组比较，模型组大鼠内膜血管平滑肌细胞增多，内膜增厚 ( $P < 0.01$ )，平滑肌层形态不规则，有炎性细胞和血液浸润，且发生明显的血管重构；与模型组比较，阳性对照组和益坤饮各剂量组均可不同程度地缓解大鼠血管内膜的增生 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )，平滑肌形态相对规则，炎性细胞浸润较少。



注：箭头指示为血管内膜。

图 1 益坤饮对围绝经期大鼠颈动脉血管内皮病理形态的影响 (HE 染色, ×200)

3.2 益坤饮对围绝经期大鼠血管内皮功能的影响 如表 2 所示，与假手术组比较，模型组大鼠血清 ET-1 分泌水平升高 ( $P < 0.01$ )，NO 水平降低 ( $P < 0.01$ )，说明模型组大鼠血管内皮功能有一定的损伤；与模型组比较，阳性对照组及益坤饮高剂量组大鼠血清 ET-1 水平降低 ( $P < 0.01$ )，NO 水平升高 ( $P < 0.01$ )。

3.3 益坤饮对围绝经期大鼠颈动脉血管内皮 EPCs 归巢的影响 如图 2 所示，与假手术组比较，模型组大鼠 EPCs 数量减少 ( $P < 0.01$ )；与模型组比较，阳性对照组及益坤饮各剂量组 EPCs 数量均增加 ( $P < 0.01$ )。

3.4 益坤饮对围绝经期大鼠骨髓及外周血 EPCs 数量的影响 如图 3 所示，与假手术组比较，模型组骨髓及外周血

**表 1 益坤饮对围绝经期大鼠颈动脉血管内膜厚度的影响**  
( $\bar{x} \pm s, n=7$ )

组别	内膜厚度/ $\mu\text{m}$
假手术组	10.35 $\pm$ 6.55
模型组	22.54 $\pm$ 7.18 <sup>##</sup>
阳性对照组	15.14 $\pm$ 3.86 <sup>**</sup>
益坤饮低剂量组	16.15 $\pm$ 7.29 <sup>*</sup>
益坤饮高剂量组	13.18 $\pm$ 8.57 <sup>**</sup>

注：与假手术组比较，<sup>##</sup> $P < 0.01$ ；与模型组比较，<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ，<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

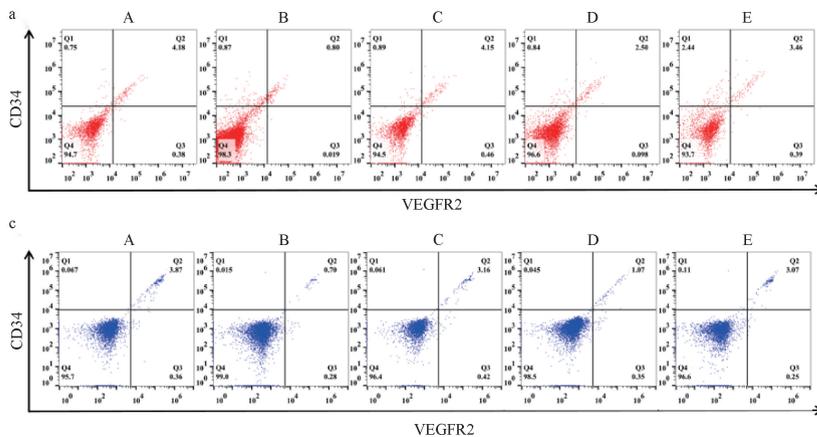
**表 2 益坤饮对围绝经期大鼠血清 ET-1、NO 水平的影响**  
( $\text{pg/mL}, \bar{x} \pm s, n=7$ )

组别	ET-1	NO
假手术组	74.12 $\pm$ 7.00	0.079 $\pm$ 0.005
模型组	180.10 $\pm$ 6.60 <sup>##</sup>	0.032 $\pm$ 0.006 <sup>##</sup>
阳性对照组	108.60 $\pm$ 10.93 <sup>**</sup>	0.063 $\pm$ 0.006 <sup>**</sup>
益坤饮低剂量组	169.90 $\pm$ 14.67	0.038 $\pm$ 0.004
益坤饮高剂量组	116.20 $\pm$ 9.69 <sup>**</sup>	0.059 $\pm$ 0.005 <sup>**</sup>

注：与假手术组比较，<sup>##</sup> $P < 0.01$ ；与模型组比较，<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

EPCs 数量减少 ( $P < 0.01$ )；与模型组比较，阳性对照组及益坤饮各剂量组外周血及骨髓 EPCs 数量均增加 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

**3.5 益坤饮对围绝经期大鼠颈动脉血管内皮 ER $\alpha$ 、SDF-1、CXCR4 蛋白表达的影响** 如图 4 所示，与假手术组比较，



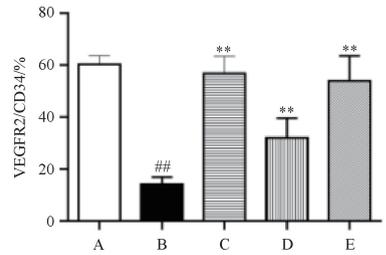
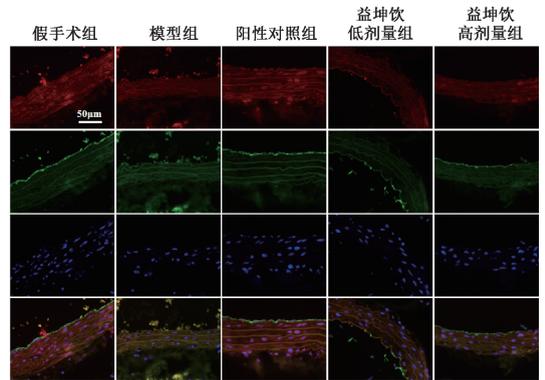
注：A 为假手术组，B 为模型组，C 为阳性对照组，D~E 为益坤饮低、高剂量组。a~b 为各组大鼠外周血 CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> 细胞数比较，c~d 为各组大鼠骨髓 CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> 细胞数比较。与假手术组比较，<sup>##</sup> $P < 0.01$ ；与模型组比较，<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ，<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

**图 3 益坤饮对围绝经期大鼠骨髓及外周血 EPCs 数量 (CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> 细胞数) 的影响** ( $\bar{x} \pm s, n=7$ )

模型组大鼠颈动脉内皮 ER $\alpha$ 、SDF-1 及 CXCR4 蛋白表达降低 ( $P < 0.01$ )；与模型组比较，阳性对照组及益坤饮各剂量组大鼠颈动脉内皮 ER $\alpha$ 、SDF-1 及 CXCR4 蛋白表达均升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

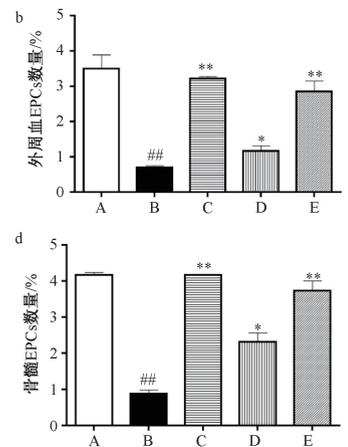
#### 4 讨论

研究表明，围绝经期雌激素水平下降影响患者的血管内皮功能，因此早期修复受损的血管内皮对降低绝经后心血管疾病的发病率有重要意义<sup>[11]</sup>。EPCs 是一类介于干细胞与血管内皮细胞之间，具有游走特性的、能够增殖分化及自我更新的定向干细胞。它是一种骨髓源性的干细胞，

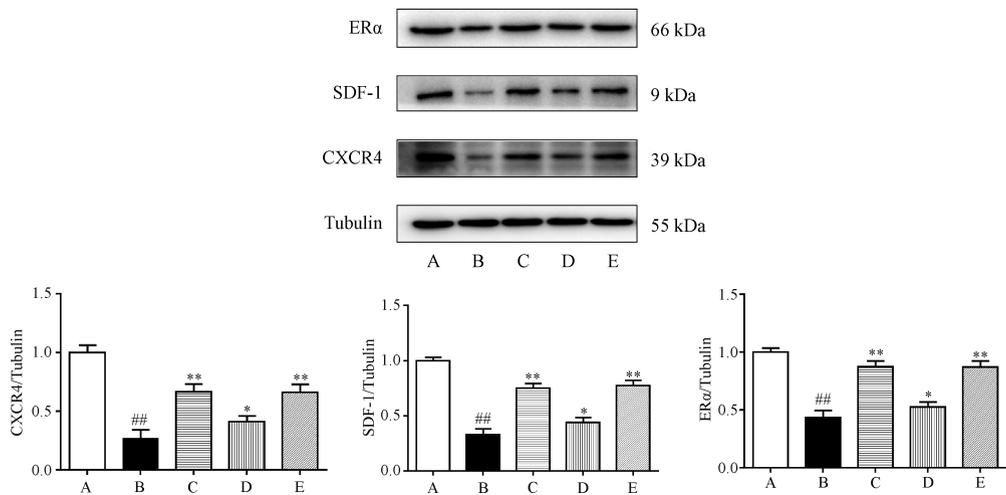


注：A 为假手术组，B 为模型组，C 为阳性对照组，D~E 为益坤饮低、高剂量组。与假手术组比较，<sup>##</sup> $P < 0.01$ ；与模型组比较，<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

**图 2 益坤饮对围绝经期大鼠颈动脉血管内皮 EPCs 数量的影响 (VEGFR2/CD34 双染,  $\bar{x} \pm s, n=7$ )**



通过动员、趋化、归巢、增殖和分化等多个过程参与损伤血管内皮细胞的修复，对维持血管内皮完整性和改善血管内皮功能有重要作用<sup>[12]</sup>。Yuan 等<sup>[13]</sup>报道了 17 $\beta$ -雌二醇可通过 ER $\alpha$  介导的信号通路促进 EPCs 向外周心梗受损血管区域迁移和归巢，促进血管的生成。基质细胞衍生因子-1 (SDF-1 或称 CXCL12) 在介导 EPCs 的增殖、迁移和分化过程中扮演着重要的角色，SDF-1 是骨髓基质细胞产生的 CXC 类趋化蛋白，是一种有效的骨髓趋化因子，在多种细胞及组织中均有表达<sup>[14]</sup>。CXCR4 含 352 个氨基酸残基，编码基因位于人染色体 2q21，与其他可结合多种趋化因子的



注：A 为假手术组，B 为模型组，C 为阳性对照组，D~E 为益坤饮低、高剂量组。与假手术组比较，##  $P < 0.01$ ；与模型组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$ 。

图4 益坤饮对围绝经期大鼠颈动脉内皮 ERα、SDF-1 及 CXCR4 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 7$ )

受体不同，CXCR4 只与 SDF-1 特异性结合发挥多种重要且独特的生物学功能。EPCs 可表达或分泌 CXCR4，并能沿着 SDF-1 的浓度梯度迁移至损伤区域从而发挥修复作用<sup>[15]</sup>。

益坤饮由熟地、枸杞、白芍、生牡蛎、钩藤、合欢皮、黄芪、茯苓、淫羊藿等配伍组成<sup>[16]</sup>。方中以熟地、枸杞、白芍滋阴补肾，养血柔肝，为君药；钩藤清降心肝郁火，牡蛎平肝潜阳、重镇安神，合欢皮行气解郁除烦，为臣药；淫羊藿补肾温阳以阳中求阴，为佐药；黄芪、茯苓健脾培土，以后天养先天，又茯苓化痰利湿助运，可防止补益药滋腻碍胃，均为使药。全方滋肾养阴，平肝宁心，燮理阴阳，标本兼顾。且已有研究报道方中熟地黄<sup>[17]</sup>、枸杞<sup>[18]</sup>、黄芪<sup>[19]</sup>、淫羊藿<sup>[20]</sup>等中药均能保护受损的血管内皮，进一步证实了该方可有效治疗围绝经期综合征的同时，保护受损血管内皮的作用。

本研究证实，围绝经期大鼠颈动脉血管内皮发生明显的血管重构，骨髓及外周血 EPCs 的数量减少，归巢至颈动脉内皮的 EPCs 亦减少；给予益坤饮干预后能显著改善颈动脉血管内皮的病理损伤，增加骨髓及外周血 EPCs 的数量，且归巢至颈动脉血管内皮的 EPCs 的表达也有增加，进一步修复受损的血管内皮。另外，围绝经期大鼠颈动脉血管内皮的受损与 ERα 的表达密切相关，模型大鼠颈动脉血管内皮中与 EPCs 动员相关的因子 SDF-1、CXCR4 表达亦减少。益坤饮在增加受损血管内皮 ERα 表达的同时，也增加了 SDF-1、CXCR4 表达，表明益坤饮修复围绝经期大鼠受损的血管内皮可能与 ERα 表达和 SDF-1/CXCR4 通路诱导 EPCs 迁移和归巢有关。

综上所述，本研究初步发现围绝经期大鼠颈动脉血管内皮功能受损，骨髓来源的 EPCs 数量及归巢能力受损；而益坤饮可通过上调受损血管内皮 ERα 表达和 SDF-1/CXCR4 通路活化，改善 EPCs 的功能障碍，修复受损的血管内皮，进一步为益坤饮方的临床推广使用提供实验依据。

### 参考文献：

- [1] Aittokallio J, Saaresranta T, Riskumäki M, et al. Effect of menopause and age on vascular impairment [J]. *Maturitas*, 2023, 169: 46-52.
- [2] Thurston R C, Aslanidou Vlachos H E, Derby C A, et al. Menopausal vasomotor symptoms and risk of incident cardiovascular disease events in SWAN[J]. *J Am Heart Assoc*, 2021, 10: e017416.
- [3] Iorga A, Cunningham C M, Moazeni S, et al. The protective role of estrogen and estrogen receptors in cardiovascular disease and the controversial use of estrogen therapy [J]. *Biol Sex Differ*, 2017, 8(1): 33.
- [4] Aryan L, Younessi D, Zargari M, et al. The role of estrogen receptors in cardiovascular disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(12): 4314.
- [5] 陈霞. 陈霞·益坤饮[J]. *江苏中医药*, 2011, 43(8): 14.
- [6] 骆桃红. 益坤饮治疗肾阴虚型绝经前后诸证的临床研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2014.
- [7] 詹群, 华峰, 杜秋, 等. 滋阴降火法治疗围绝经期中重度潮热患者潮热及肱动脉 FMD 临床观察[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2019, 17(20): 72-74.
- [8] Chen Q L, Li C D, Tao E X, et al. Exploration of a brain-liver-communication-related mechanism involved in the experimental perimenopausal depression rat model using Chaihu-Shugan-San [J]. *Neurochem Res*, 2022, 47(5): 1354-1368.
- [9] 王雨辰, 芮立宁, 贾川, 等. 强骨合剂通过 Wnt3a/β-catenin/VEGF 信号通路促进血管生成改善围绝经期大鼠骨质疏松的研究[J]. *南京中医药大学学报*, 2022, 38(9): 819-826.
- [10] 谢慧慧, 王莹, 杨硕, 等. 二仙汤对围绝经期大鼠心脏电生理的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(18): 43-48.

- [11] Zhu D S, Chung H F, Dobson A J, et al. Vasomotor menopausal symptoms and risk of cardiovascular disease; a pooled analysis of six prospective studies[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2020, 223: 898. e1-898. e16.
- [12] Fadini G P, Mehta A, Dhindsa D S, et al. Circulating stem cells and cardiovascular outcomes: from basic science to the clinic[J]. *Eur Heart J*, 2020, 41(44): 4271-4282.
- [13] Yuan Z Z, Kang L, Wang Z, et al. 17 $\beta$ -estradiol promotes recovery after myocardial infarction by enhancing homing and angiogenic capacity of bone marrow-derived endothelial progenitor cells through ER $\alpha$ -SDF-1/CXCR4 crosstalking [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2018, 50(12): 1247-1256.
- [14] Keshavarz S, Nassiri S M, Siavashi V, et al. Regulation of plasticity and biological features of endothelial progenitor cells by MSC-derived SDF-1[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2019, 1866(2): 296-304.
- [15] Wang X Y, Jiang H J, Guo L J, et al. SDF-1 secreted by mesenchymal stem cells promotes the migration of endothelial progenitor cells via CXCR4/PI3K/AKT pathway [J]. *J Mol Histol*, 2021, 52(6): 1155-1164.
- [16] 曹圣君. 益坤饮治疗绝经综合征潮热的临床疗效观察及对血管内皮功能影响的机理研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2018.
- [17] 王颖彬. 熟地提取物通过调节 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 信号途径活化内皮祖细胞保护梗死心肌的研究[D]. 济南: 山东大学, 2013.
- [18] 吴伟, 薛妹婧, 朱玲勤, 等. 枸杞多糖通过抗氧化及抗凋亡作用对过氧化氢致血管内皮细胞损伤的保护作用研究[J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(5): 1047-1049.
- [19] 何丽红, 郑宣, 莫佳航, 等. 黄芪多糖对人脐静脉内皮细胞的增殖及表达 VEGF 的影响[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2019, 25(6): 862-867.
- [20] 倪杰, 蒋辉, 张龙, 等. 淫羊藿苷对外周血内皮祖细胞数量及功能的影响[J]. *实用老年医学*, 2015, 29(3): 213-215.

## 虎杖苷调控 HIF-1 $\alpha$ /VEGF 信号通路对绝经后骨质疏松症大鼠 H 型血管生成的影响

田佳庆<sup>1,2</sup>, 韦雨柔<sup>1,2</sup>, 肖方骏<sup>1,2</sup>, 何宪顺<sup>1,2</sup>, 魏腾飞<sup>1,2</sup>, 何敏聪<sup>2,3</sup>, 魏秋实<sup>2,3\*</sup>

(1. 广州中医药大学第三临床医学院, 广东广州 510378; 2. 广东省中医骨伤研究院, 广东广州 510378; 3. 广州中医药大学第三附属医院关节中心, 广东广州 510378)

**摘要:** 目的 探讨虎杖苷对绝经后骨质疏松症大鼠 (PMOP) H 型血管生成的影响。方法 采用随机数表法将大鼠分为空白组、模型组、虎杖苷组 (45 mg/kg), 每组 10 只。除空白组外, 其余组采用去卵巢法构建 PMOP 大鼠模型, 灌胃给予相应药物。干预 8 周后, HE 染色观察胫骨近端骨组织病理变化, Micro-CT 分析膝关节组织形态变化和骨量变化, 免疫组化和免疫荧光分析膝关节 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF、CD31、Emcn 蛋白表达。结果 与空白组比较, 模型组骨小梁数量减少, 骨小梁不连续, BMD、BV/TV、Tb. N、Tb. Th 值降低 ( $P < 0.01$ ), Tb. Sp 值升高 ( $P < 0.01$ ), 膝关节组织 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF、CD31 及 Emcn 蛋白表达降低 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 虎杖苷组 BMD、BV/TV、Tb. N、Tb. Th 值升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), Tb. Sp 值降低 ( $P < 0.01$ ) 膝关节组织 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF、CD31 及 Emcn 蛋白表达升高 ( $P < 0.01$ )。结论 虎杖苷可能通过上调 HIF-1 $\alpha$ /VEGF 信号通路相关蛋白表达来促进 H 型血管的生成, 改善 PMOP 大鼠的血流供应, 从而达到对 PMOP 的保护作用。

**关键词:** 虎杖苷; 绝经后骨质疏松症; 骨代谢; 血管生成; H 型血管

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)05-1672-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.05.043

绝经后骨质疏松症 (postmenopausal osteoporosis, PMOP) 是一种老年代谢性骨病, 主要以骨量下降, 骨微

结构破坏, 骨脆性增加为特征<sup>[1]</sup>。目前治疗 PMOP 的药物主要包括雌激素、降钙素、钙剂以及维生素 D 等<sup>[2]</sup>。但以

收稿日期: 2023-12-15

基金项目: 2021 年广东省教育厅普通高校重点领域专项 (2021ZDZX2005); 广东省中医药局科研项目 (20221199); 2022 年广州市科学技术局重点研发计划农业和社会发展科技项目 (202206010184)

作者简介: 田佳庆 (1998—), 男 (回族), 硕士生, 研究方向为中医药防治骨关节疾病。E-mail: tianjq0413@126.com

\* 通信作者: 魏秋实 (1982—), 男 (蒙古族), 博士, 副主任医师, 研究方向为中医药防治骨关节疾病。E-mail: weiqshi@126.com