

韩笑, 姚明江, 任建勋, 等. 银杏蜜环口服溶液对大鼠心肌微血管内皮细胞血管新生能力的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(2): 22-28.

Han X, Yao MJ, Ren JX, et al. Effect of Yinxing Mihuan oral solution on angiogenesis of rat cardiac microvascular endothelial cells [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(2): 22-28.

doi: 10. 3969/j.issn.1671-7856. 2022. 02. 004

银杏蜜环口服溶液对大鼠心肌微血管内皮细胞 血管新生能力的影响

韩 笑¹, 姚明江¹, 任建勋¹, 付建华¹, 任钧国¹, 金 龙¹, 郭 浩¹, 赵步长²,
王益民², 刘建勋^{1*}

(1. 中国中医科学院西苑医院基础医学研究所, 北京市中药药理重点实验室, 北京 100091;
2. 西安步长中医心脑血管病医院, 西安 710082)

【摘要】 目的 观察银杏蜜环口服溶液(简称银蜜)对 CMECs(大鼠心肌微血管内皮细胞)增殖、迁移、细胞小管形成及 VEGF(血管内皮生长因子)、CD31(血小板-内皮细胞粘附分子)蛋白表达的影响, 探讨银蜜的体外血管新生能力。**方法** 培养 CMECs, 分为对照组、银蜜高(2.6 mg/mL)、中(1.3 mg/mL)、低(0.6 mg/mL)剂量组。CCK-8 法检测 CMECs 增殖能力; 细胞划痕实验检测 CMECs 迁移能力; Matrigel 血管形成实验检测 CMECs 成管能力; Western blot 检测 VEGF、CD31 蛋白表达。**结果** 与对照组相比, 银蜜高、中、低剂量均能显著促进 CMECs 增殖; 且银蜜高组细胞增殖率显著高于银蜜中、低组。划痕 6 h 后银蜜高组细胞迁移率显著高于对照组, 银蜜中、低组细胞迁移率大于对照组, 但无统计学差异; 划痕 24 h 后银蜜高、中、低组 CMECs 迁移率均显著升高, 银蜜高组细胞迁移率高于银蜜中、低组。银蜜高组 CMECs 网眼数、网眼面积、交叉点数显著优于对照组、银蜜中、低组。银蜜高、中组 VEGF、CD31 蛋白表达量显著升高。**结论** 银杏蜜环口服溶液可促进 CMECs 的增殖、迁移和体外血管成环, 同时促进 VEGF 和 CD31 蛋白表达, 且药效随银蜜剂量的增加而增强, 提示银杏蜜环口服溶液具有显著的促进体外血管新生能力。

【关键词】 银杏蜜环口服液; 银杏叶提取物; 蜜环菌; 血管新生

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 02-0022-07

Effect of Yinxing Mihuan oral solution on angiogenesis of rat cardiac microvascular endothelial cells

HAN Xiao¹, YAO Mingjiang¹, REN Jianxun¹, FU Jianhua¹, REN Junguo¹, JIN Long¹, GUO Hao¹, ZHAO Buchang²,
WANG Yimin², LIU Jianxun^{1*}

(1. Institute of Basic Medical Sciences of Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences,
Key Laboratory of Pharmacology of Chinese Materia Medica, Beijing 100091, China.
2. Xi'an Buchang Traditional Chinese Cardio-cerebrovascular Disease Hospital, Xi'an 710082)

【Abstract】 Objective To determine the effects of Yinxing Mihuan (YM) oral solution on the proliferation, migration, tubule formation and protein expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and CD31 in rat cardiac

[基金项目] 国家科技重大专项(2017ZX09301018)。

[作者简介] 韩笑(1976—), 女, 副研究员, 研究方向: 中药药理学研究。E-mail: hxfresh@sina.com

[通信作者] 刘建勋(1955—), 男, 教授, 研究方向: 中药药理和中药化学研究。E-mail: liujx0324@sina.com

microvascular endothelial cells (CMECs) and whether YM promotes angiogenesis *in vitro*. **Methods** CMECs were cultured and divided into a control group and YM high dose (2.6 mg/mL), YM medium dose (1.3 mg/mL) and low dose (0.6 mg/mL) YM groups. The cell counting CCK-8 assay was used to measure proliferation, and the scratch test was used to detect the migration of CMECs. A Matrigel-based angiogenesis assay was used to detect tube formation by CMECs, and Western blot were used to detect the expression of VEGF and CD31. **Results** Compared with that in the control group, the high, medium and low YM doses significantly promoted the proliferation of CMECs, and the proliferation rate in YM high dose YM group was significantly higher than that in YM medium and low dose YM groups. Six hours after scratching the CMEC monolayer, the migration rate of CMECs in YM high dose YM group was significantly higher than that in the control group; the migration rates of CMECs in YM medium and low dose YM groups were increased, but there was no significant difference compared with the control group. Twenty-four hours after scratching the monolayer, the migration rates of CMECs in YM high, medium and low dose groups were significantly increased compared with that in the control group. The Matrigel matrix number, area and cross points for CMECs in YM high dose group were significantly improved compared with those in YM medium and low dose YM groups. Compared with that in the control group, the expression of VEGF and CD31 in YM high and medium dose YM groups was significantly increased. **Conclusions** YM can promote proliferation, migration, angiogenesis and expression of VEGF and CD31 proteins in CMECs *in vitro*. These effects were dose-dependent, suggesting that YM has a significant ability to promote angiogenesis.

【**Keywords**】 Yinxing Mihuan oral solution; ginkgo biloba extract; *Armillaria mellea*; angiogenesis

血管新生在胚胎发育、组织修复、心室重构、肿瘤等生理病理过程中具有重要作用。近年来缺血性血管疾病的防治从单纯改变病变血管供血,转向如何促进侧支循环的建立,因而促血管新生成为缺血性血管疾病的治疗新方向^[1]。心肌微血管内皮细胞是心肌与血液交换能量的主要屏障,可合成多种细胞因子和活性物质,维持正常心肌的功能,参与心肌缺血后血管新生^[2]。很多中药可以促进血管新生、促进侧支循环,在治疗缺血性心脑血管疾病方面具有良好的应用前景^[3]。

银杏蜜环口服溶液主要由银杏叶提取物和天麻蜜环菌组成,银杏叶提取物有活血化瘀通络之功,蜜环菌可镇静安神,临床用于治疗冠心病、心绞痛、缺血性脑血管疾病,可改善心脑血管缺血性症状^[4-5]。药理研究显示,银杏蜜环口服溶液可保护急性心肌缺血大鼠^[6]和犬^[7],减轻脑缺血再灌注大鼠脑梗死^[8],对缺氧复氧损伤脐静脉内皮细胞^[9]、脑微血管内皮细胞损伤^[10]具有保护作用,但是对血管新生方面的研究尚未见报道。本研究旨在观察银杏蜜环口服溶液对大鼠心肌微血管内皮细胞血管新生能力的影响,发掘银杏蜜环口服溶液治疗缺血性心血管疾病的药效机制。

1 材料和方法

1.1 细胞

大鼠心肌微血管内皮细胞 CMECs (Cat NO. C645, ATCC)。

1.2 主要试剂与仪器

银杏蜜环口服溶液(每 10 mL 含 30 mg 银杏叶提取物和 1000 mg 蜜环菌粉,邛崃天银制药有限公司提供,批号 190721); DMEM 培养基 (GIBCO, 8119352); 胎牛血清 (Biowest, S14735S1820); 胰蛋白酶消化液 (Solarbio, T1300); 青霉素-链霉素 SP (Gibco, 1894156); CCK-8 试剂盒 (Dojindo, CK04); Matrigel 基质胶 (Corning, 356237); RIPA 细胞裂解液 (Solarbio, R0010); BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (Solarbio, 20191229); 5×SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 (KeyGEN BioTECH, 20160712); 10×电泳缓冲液、10×电转移缓冲液、10×封闭洗涤液、封闭专用脱脂奶粉 (北京普利来基因技术有限公司); 化学发光检测试剂盒 (Thermo Scientific, UI291092); VEGF 抗体 (Abcam, A3098); CD31 抗体 (Abcam, ab24590); β -actin 抗体 (Proteintech, 66009-1); 辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG (YUABIO, 127760); 辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG 抗体 (YUABIO, 203700113)。

活细胞工作站 (Olympus, IX81); 酶标仪 (BioTek SYNERGY4); 电泳仪 (BIO-RAD, Power Pac Universal); 凝胶成像仪 (BIO-RAD, ChemiDoc™ XRS+)。

1.3 实验方法

1.3.1 CMECs 细胞培养

CMECs 细胞以 DMEM 高糖培养基 (含 10% FBS 和 1% 青/链霉素) 培养,细胞生长至 80% 融合时,胰

蛋白酶消化液消化传代,取对数生长期的细胞进行实验。

1.3.2 分组及给药

分组:对照组、银杏蜜环口服溶液高剂量组(2.6 mg/mL,简称银蜜高)、中剂量组(1.3 mg/mL,简称银蜜中)、低剂量组(0.6 mg/mL,简称银蜜低)。对照组用 DMEM 培养基培养;银蜜高、中、低组适时(给药时间因实验不同而不同,具体见下)吸弃旧培养基,加入含药 DMEM 培养基。

1.3.3 CMECs 增殖检测

细胞增殖实验用 CCK-8 法。细胞以 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 的密度接种于 96 孔板,待细胞充分贴壁后,弃旧培养基,对照组换成 DMEM 培养基(每孔 100 μL),银蜜高、中、低剂量组分别换成含银蜜 2.6、1.3、0.6 mg/mL 的 DMEM 培养基(每孔 100 μL),将细胞放回培养箱继续培养。24 h 后取出加入 CCK-8 溶液每孔 10 μL ,孵育 3 h,酶标仪测定 450 nm 处的吸光度 OD 值,OD 值大小与活细胞的数量成正比。细胞增殖率(%)=(给药组 OD 值-对照组 OD 值)/对照组 OD 值 $\times 100\%$

1.3.4 CMECs 迁移检测

细胞迁移率借助细胞划痕法,比较各组细胞划痕面积愈合百分比(%),评价银杏蜜环口服液对 CMECs 迁移能力的影响。CMECs 以每孔 5×10^5 cells 的密度接种于 6 孔板内,待形成完全融合的单层细胞层后,用 200 μL 无菌枪头在孔中画“井”字型划痕无菌 PBS 洗细胞 3 次,去除划下的脱落细胞碎片,确保划线后留下的间隙清晰可见。此时,对照组加入 DMEM 培养基,银蜜高、中、低剂量组分别换成含银蜜 2.6、1.3、0.6 mg/mL 的 DMEM 培养基,放回培养箱培养。于划痕后即刻(0 h)、划痕后 6 h、划痕后 24 h 显微镜观察横竖划痕交叉点四周的固定检测点,拍照,Image J 软件计算划痕面积。细胞迁移率(%)=(原划痕面积-残留面积)/原划痕面积 $\times 100\%$ 。

1.3.5 CMECs 体外成管实验

将 Matrigel 基质胶、24 孔板、枪头提前预冷。向预冷的 24 孔板中加入 Matrigel 基质胶(每孔 250 μL),放入培养箱 30 min 固化成胶。将 CMECs 接种于 Matrigel 基质胶包被好的 24 孔板中,放回培养箱待细胞贴壁后,对照组换成 DMEM 培养液,银蜜高、中、低剂量组分别换成含银蜜 2.6、1.3、0.6 mg/mL 的 DMEM 培养基继续培养 3 h。3 h 后倒置显微镜

下观察细胞成管情况,每孔随机选取 5 个视野拍照。Image J 图像分析软件分析,以网眼数、网眼面积、交叉点数表示各组 CMECs 的成管能力。网眼和交叉点示意图见图 1。

1.3.6 CMECs CD31、VEGF 蛋白免疫印迹检测

CMECs 经药物处理后预冷的 RIPA 裂解液冰上超声裂解细胞,13000 r/min,4℃ 离心后取上清测蛋白浓度。取等量蛋白上样,SDS-PAGE 分离后,将蛋白转印至 PVDF 膜,5%脱脂奶粉室温摇床封闭 1 h,CD31、VEGF 一抗(1:1000),4℃ 冰箱孵育过夜。TBST 洗膜 3 次,辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG(1:20000)室温孵育 2 h,TBST 洗涤 3 次后,增强型化学发光试剂(ECL)显色,Image Lab 3.0 系统成像软件采集凝胶成像图片,分析条带灰度值。

1.4 统计学方法

实验结果以平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,SPSS 18.0 统计软件 One-Way ANOVA(单因素方差分析)方法,方差齐性应用 Tukey 检验,方差不齐采用 Tamhane's T_2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 银杏蜜环口服溶液对 CMECs 增殖的影响

与对照组相比,银蜜高、中、低剂量可显著促进 CMECs 增殖,具有统计学差异($P < 0.05 \sim 0.001$);银蜜高促进细胞增殖生长的作用优于银蜜中、低组($P < 0.001$);银蜜中剂量与低剂量组相比,未见统计学差异。结果提示银杏蜜环口服溶液对 CMECs 具有显著的增殖效应,见表 1。

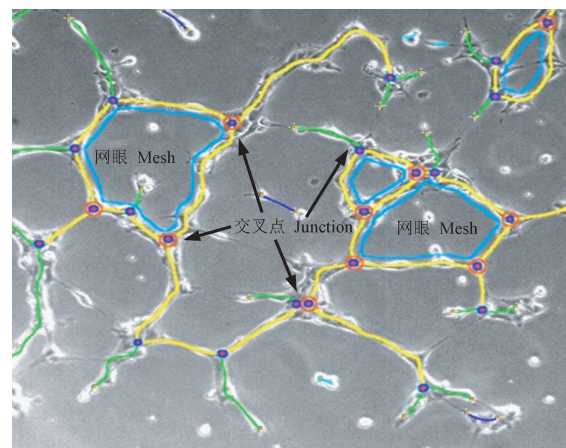


图 1 体外成管实验主要检测指标示意图

Figure 1 Schematic diagram of main detection indexes in vitro tube forming experiment

2.2 银杏蜜环口服溶液对 CMECs 迁移的影响

结果显示,6 h 时间点,银蜜高组细胞迁移率显著高于对照组,具有统计学差异($P<0.001$),银蜜中、低组 CMECs 迁移率大于对照组,但无统计学差异($P>0.05$);在 24 h 时间点,银蜜高、中、低组细胞迁移率明显高于对照组,具有统计学差异($P<0.001$),且银蜜高组迁移率显著高于银蜜中、低组($P<0.001$);银蜜中组迁移率高于银蜜低组($P<0.001$)。提示银蜜可促进 CMECs 迁移,且促进 CMECs 迁移的能力随着银蜜剂量的增加而增强、随时药物作用时间的延长而增加。见表 2,图 2。

表 1 银杏蜜环口服溶液对 CMECs 增殖的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)
Table 1 Effect of YM (Yinxing Mihuan oral solution) on proliferation of CMECs

组别 Groups	剂量 Dose	增殖率(%) Proliferation rate
对照组 Control group	/	0±0
银蜜高组 YM high dose group	2.6 mg/mL	34.0±4.9***△△△▲▲▲
银蜜中组 YM medium dose group	1.3 mg/mL	10.5±5.2*
银蜜低组 YM low dose group	0.6 mg/mL	8.6±4.5*

注:与对照组比较, * $P<0.05$, *** $P<0.001$;与银蜜中组比较, △△△ $P<0.001$;与银蜜低组比较, ▲▲▲ $P<0.001$ 。
Note. Compared with control group, * $P<0.05$, *** $P<0.001$. Compared with YM medium dose group, △△△ $P<0.001$. Compared with YM low dose group, ▲▲▲ $P<0.001$.

表 2 银杏蜜环口服溶液对 CMECs 迁移率(%)的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)
Table 2 Effect of YM on CMECs mobility rate

组别 Groups	剂量 Dose	6 h 迁移率(%) 6 h mobility rate	24 h 迁移率(%) 24 h mobility rate
对照组 Control group	/	6.5±5.7	22.1±6.0
银蜜高组 YM high dose group	2.6 mg/mL	15.1±3.3***	57.7±5.5***△△△▲▲▲
银蜜中组 YM medium dose group	1.3 mg/mL	13.0±8.8	44.9±5.6***▲▲▲
银蜜低组 YM low dose group	0.6 mg/mL	11.7±4.7	31.4±2.9***

注:与对照组比较, *** $P<0.001$;与银蜜中组比较, △△△ $P<0.001$;与银蜜低剂量组比较, ▲▲▲ $P<0.001$ 。
Note. Compared with control group, *** $P<0.001$. Compared with YM medium dose group, △△△ $P<0.001$. Compared with YM low dose group, ▲▲▲ $P<0.001$.

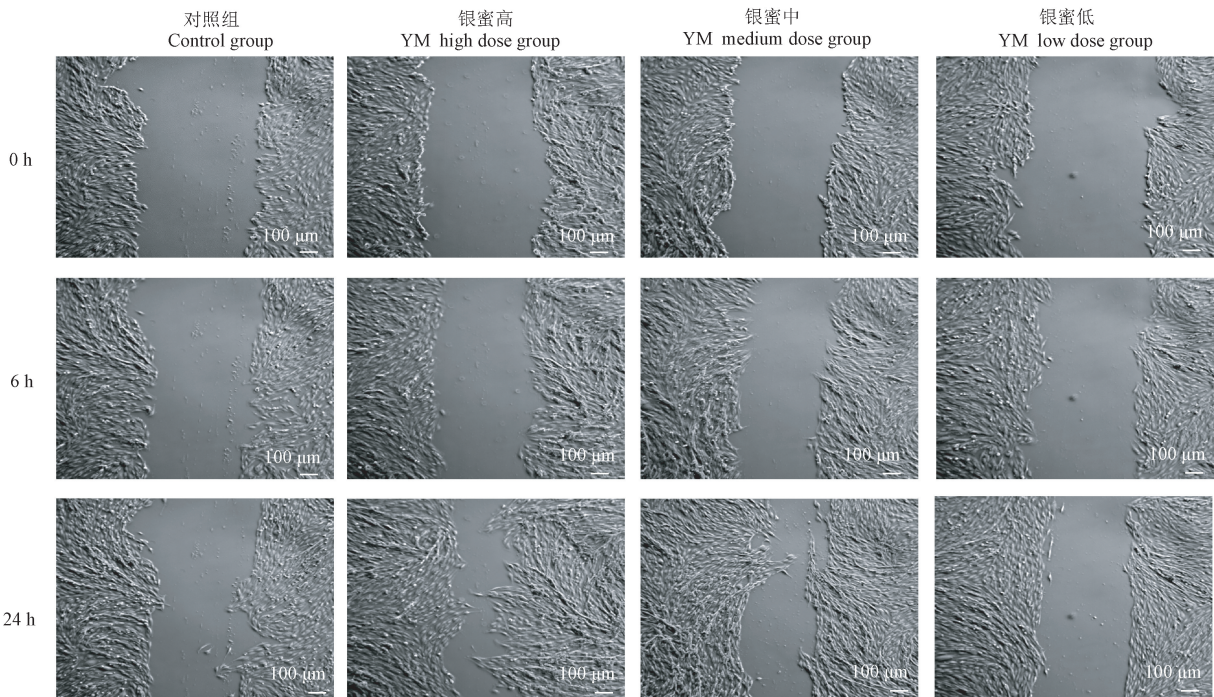


图 2 银杏蜜环口服溶液对 CMECs 迁移能力的影响
Figure 2 Effect of YM on migration ability of CMECs

2.3 银杏蜜环口服溶液对 CMECs 成管的影响

CMECs 细胞接种于 Matrigel 基质胶孔中后,刚开始呈圆形或卵圆形,30 min 后基本贴壁,1 h 后细胞逐渐伸展并伸出突起,3 h 后突起相互连接形成小管样结构。银蜜有良好的促进 CMECs 成管作用,且促 CMECs 成管的能力随药物剂量的增加而增强,见图 3、表 3。

网眼数及网眼面积结果显示,与对照组相比银蜜高、银蜜中组网眼数显著增多 ($P<0.01$, $P<0.05$)、网眼面积更大 ($P<0.01$, $P<0.05$),其中银蜜高组网眼的数量及面积与银蜜低组相比具有统计学差异 ($P<0.05$)。银蜜低组网眼数量增多,但与对照组相比无统计学差异 ($P>0.05$),网眼面积显著大于对照组 ($P<0.05$)。交叉点数结果显示:银蜜高组细胞网状结构的交叉点显著多于对照组、银蜜中、低剂量组 ($P<0.001$);银蜜中、低组交叉点数高于对照组,银蜜中组与对照组相比有统计学差异 ($P<0.05$)。

2.4 银杏蜜环菌口服溶液对 CMECs CD31、VEGF 蛋白表达的影响

结果显示,与对照组相比,银蜜高、银蜜中组 CD31、VEGF 蛋白表达量均显著升高 ($P<0.05 \sim 0.001$),银蜜低组 CD31 和 VEGF 表达有升高趋势,但统计学意义 ($P>0.05$);银蜜高组 CD31、VEGF 表达量显著高于银蜜中、低组 ($P<0.001$),见图 4。

3 讨论

冠心病的死亡率呈逐年上升态势,建立有效的冠状动脉侧支循环可以在一定程度上缓解心肌缺血症状,降低患者的病死率^[11-12],而侧支循环的形成有赖于新生血管,血管新生能力是侧支循环建立的基础和关键^[13]。治疗性血管新生成为缺血性心脏病治疗的新途径^[14]。

银杏蜜环口服溶液主要有效物质为银杏叶提取物和天麻蜜环菌,其有银杏叶具有活血、化瘀、通络之功效,银杏叶提取物具有保护线粒体、抑制细胞凋亡、抗氧化、抗炎、扩张血管、改善血液循环的作用^[15];天麻蜜环菌与天麻共生,与天麻有相似的药理作用和临床疗效^[16],具有抗炎、抑制细胞凋亡、抑制血小板活化、抗血栓等药效^[17],与化瘀通络功效相似。银杏蜜环口服溶液临床用于治疗缺血性心血管疾病,但机制是否与促进心肌缺血区血管新生的作用少见报道。

血管生成是一个复杂过程,涉及激活期血管基底膜降解;血管内皮细胞的激活、增殖、迁移;重建形成新的血管和血管网等环节^[18]。血管生成受机体多种因素如 CD31 和 VEGF 的调节。CD31 又称为血小板-内皮细胞粘附分子,存在于血管内皮细胞紧密连接处,CD31 胞内结构域的酪氨酸残基磷酸化,启动丝裂原活化蛋白激酶/细胞外调节蛋白

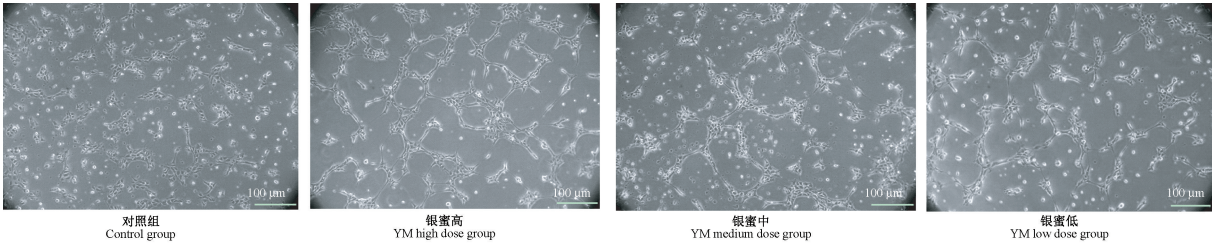
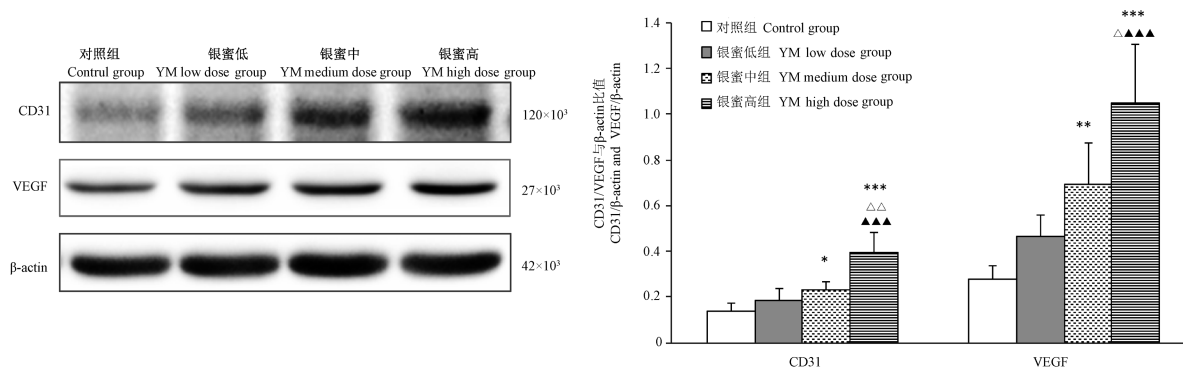


图 3 银杏蜜环口服溶液对 CMECs 小管形成的影响
Figure 3 Effect of YM on tubule formation of CMECs

表 3 银杏蜜环口服溶液对 CMECs 网眼数、网眼面积、交叉点数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)
Table 3 Effect of YM on meshes number, meshes area and junctions of CMECs

组别 Groups	剂量 Dose	网眼数(个) Nb meshes(NO.)	网眼面积(像素) Meshes area(PX)	交叉点数(个) Nb junctions(NO.)
对照组 Control group	/	2±2	9585±8034	30±11
银蜜高 YM high dose group	2.6 mg/mL	10±6 ** ▲	112307±96316 ** ▲	60±16 *** △△△ ▲▲▲
银蜜中 YM medium dose group	1.3 mg/mL	5±3 *	35283±28857 *	41±12 *
银蜜低 YM low dose group	0.6 mg/mL	4±3	22072±13128 *	39±14

注:与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$;与银蜜中组比较,△△△ $P<0.001$;与银蜜小组比较,▲ $P<0.05$,▲▲▲ $P<0.001$ 。
Note. Compared with control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$. Compared with YM medium dose group, △△△ $P<0.001$. Compared with YM low dose group, ▲ $P<0.05$, ▲▲▲ $P<0.001$.



注:与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$;与银蜜中比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与银蜜低比较, $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ 。

图4 银杏蜜环口服溶液对 CMECs CD31、VEGF 表达的影响

Note. Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. Compared with YM medium dose group, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$. Compared with YM low dose group, $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$.

Figure 4 Effect of YM on the expression of CD31、VEGF in CMECs

激酶信号通路,调控细胞的增殖、分化、迁移和凋亡,促进血管生成^[19]。VEGF 是血管内皮细胞的特异性有丝分裂剂,促进血管内皮细胞的增殖和迁移,抑制内皮细胞凋亡,增加血管的渗透性^[20-21],使血浆蛋白溢出凝结形成凝胶体,成为血管生成的临时基质,为内皮细胞迁移提供纤维网络,在促血管生成的调控中发挥重要作用^[22-25]。

本研究观察银杏蜜环口服溶液对体外培养 CMECs 增殖、迁移及血管样管腔形成的影响;同时检测与血管生成密切相关的 CD31、VEGF 蛋白表达情况,综合评价银杏蜜环口服溶液体外促血管新生的能力及机制。实验结果提示,银蜜高、中、低剂量具有显著促进 CMECs 增殖、迁移和成管的药效,且药效随着银蜜实验剂量的增加而增强。同时,银蜜还可明显上调 CD31 和 VEGF 的蛋白表达,银蜜剂量越高,内皮细胞 CD31 和 VEGF 的蛋白表达量越高。

依据上述细胞学研究结果,可以推测银蜜促进细胞增殖的作用将为血管生成提供足够多的细胞、促进细胞迁移的能力则把增殖的内皮细胞迁移至需要生成血管的部位,为血管生成提供物质基础,之后银蜜促成管的作用将帮助机体利用输送过来的增殖细胞,组建管样网状结构。同时,银蜜刺激内皮细胞 CD31 和 VEGF 的表达,二者协同内皮细胞增殖、迁移、成管过程,并为血管网的生成提供临时基质和纤维网络,最终形成管腔样结构。

在 Matrigel 基质胶成管实验中,银蜜高剂量组网眼数量、网眼面积、交叉点数量都显著高于对照组、银蜜中、银蜜低剂量组。网眼数量越多,网眼面

积越大,代表可能形成血管管腔越多,血管管径可能越粗,大口径的新生血管将有可能为缺血组织提供更多的血供,更为有效地发挥缺血代偿作用。交叉点越多,血管网状结构就越牢固越成熟。可见,银蜜高剂量显示出更好的促进 CMECs 体外成管的药效。

综上所述,银杏蜜环口服溶液可促 CMECs 增殖、迁移、成管,并能上调细胞 CD31 和 VEGF 的表达,具有良好的体外促血管新生的能力,其活血、化瘀、通络的功效及其治疗缺血性心脏病的药效机制与其促血管新生的作用具有一定相关性。促血管生成更深入的机制将在细胞及心肌缺血动物模型上进行。

参考文献:

- [1] Fong GH. Mechanisms of adaptive angiogenesis to tissue hypoxia [J]. Angiogenesis, 2008, 11(2): 121-140.
- [2] 位庚,郭勇英,贾振华.发育成熟心脏中血管内皮细胞和心肌细胞的关系[J].中国老年学杂志,2015,35(19):5647-5649.
- [3] 郭浩,李磊,侯金才,等.中药促治疗性血管新生防治缺血性心脑血管疾病的研究进展[J].中国中药杂志,2015,40(1):24-28.
- [4] 闫洁,袁森.银杏蜜环口服溶液联合阿司匹林肠溶片和氯吡格雷治疗冠心病心绞痛的疗效观察[J].现代药物与临床,2016,31(10):1575-1578.
- [5] 李广宣.银杏蜜环口服溶液治疗风痰瘀血证脑梗死临床研究[J].中医学报,2013,28(5):737-738.
- [6] 郭浩,任建勋,郝婷婷,等.银杏蜜环口服溶液对急性心肌梗死损伤大鼠的保护作用[J].药理学,2017,52(12):1865-1870.
- [7] 任建勋,郭浩,李磊,等.银杏蜜环口服溶液改善犬急性心

- 肌缺血的研究 [J]. 世界中医药, 2018, 13(1): 21-24, 30.
- [8] 宋文婷, 刘建勋, 姚明江, 等. 银杏蜜环口服溶液减轻脑缺血再灌注大鼠脑梗死的实验研究 [J]. 世界中医药, 2018, 13(1): 36-40.
- [9] 韩笑, 徐立, 刘建勋, 等. 银杏蜜环口服溶液作用 p38 MAPK 调节 eNOS/NO 信号途径保护人脐静脉内皮细胞缺氧复氧损伤 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(23): 79-84.
- [10] 郑咏秋, 张业昊, 刘建勋, 等. 银杏蜜环口服溶液对缺氧缺糖再灌注诱导脑微血管内皮细胞和 SH-SY5Y 细胞炎症损伤的保护作用与机制 [J]. 世界中医药, 2018, 13(1): 12-16.
- [11] Hausenloy DJ, Yellon DM. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target [J]. J Clin Invest, 2013, 123(1): 92-100.
- [12] Steg PG, Kerner A, Mancini GB, et al. Impact of collateral flow to the occluded infarct-related artery on clinical outcomes in patients with recent myocardial infarction: a report from the randomized occluded artery trial [J]. Circulation, 2010, 121(25): 2724-2730.
- [13] Ng R, Yeghiazarians Y. Post myocardial infarction cardiogenic shock: a review of current therapies [J]. J Intensive Care Med, 2013, 28(3): 151-165.
- [14] 施洋, 候宝林, 党晓玲, 等. 血管新生在心肌梗死中作用机制的研究进展 [J]. 海峡药学, 2020, 32(1): 95-99.
- [15] Zhang Y, Liu J, Yang B, et al. Ginkgo biloba extract inhibits astrocytic lipocalin-2 expression and alleviates neuroinflammatory injury via the JAK2/STAT3 pathway after ischemic brain stroke [J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 518.
- [16] 袁媛, 刘景圣, 蔡丹. 蜜环菌化学成分与药理作用的研究进展 [J]. 农产品加工(学刊), 2008, 5: 46-49.
- [17] 沈寿东, 沈明花. 蜜环菌多糖对动脉血栓大鼠炎症反应和细胞凋亡的影响 [J]. 延边大学医学学报, 2018, 41(1): 4-7.
- [18] Kalkunte S, Brard L, Granai CO, et al. Inhibition of angiogenesis by vitamin D-binding protein: Characterization of anti-endothelial activity of DBP-maf [J]. Angiogenesis, 2005, 8(4): 349-360.
- [19] Wang Y, Sheibani N. PECAM-1 isoform-specific activation of MAPK/ERKs and small GTPases: implications in inflammation and angiogenesis [J]. J Cell Biochem, 2006, 98(2): 451-468.
- [20] Gerber HP, Dixit V, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor induces expression of the antiapoptotic proteins Bcl-2 and A1 in vascular endothelial cells [J]. J Bio Chem, 1998, 273(21): 13313-13316.
- [21] Kieran MW, Kalluri R, Cho YJ. The VEGF pathway in cancer and disease: responses, resistance, and the path forward [J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2012, 2(12): a006593.
- [22] Holmes K, Roberts OL, Thomas AM, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-2: structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition [J]. Cell Signal, 2007, 19(10): 2003-2012.
- [23] Rong SL, Lu YX, Liao YH, et al. Effects of transplanted myoblasts transfected with human growth hormone gene on improvement of ventricular function of rats [J]. Chin Med J, 2008, 121(4): 347-354.
- [24] Chung HJ, Kim JT, Kim HJ, et al. Epicardial delivery of VEGF and cardiacstem cells guided by 3-dimensional PLLA mat enhancing cardiac regeneration and angiogenesis in acute myocardial infarction [J]. J Control Release, 2015, 205: 218-230.
- [25] Cheng Y, Jiang S, Hu R, et al. Potential mechanism for endothelial progenitor cell therapy in acute myocardial infarction: activation of VEGF-PI3K/Akte-NOS pathway [J]. Ann Clin Lab Sci, 2013, 43(4): 395-401.

[收稿日期] 2021-03-26