

石斛合剂等降糖中药方对衰老糖尿病大鼠胰腺 PCNA、NF- κ Bp65 的影响

王晓宁¹ 郑燕芳¹ 余文珍¹ 高尤亮² 杨秀珍³ 林 雅¹ 张捷平¹
刘如玉¹ 何才姑¹ 李长征¹ 郑良朴¹ 施 红¹

(1 福建中医药大学,福州,350122; 2 福建中医药大学附属第二人民医院,福州,350003; 3 江苏省泰州市人民医院,泰州,225300)

摘要 目的:比较石斛合剂等降糖中药方对衰老糖尿病模型大鼠胰岛细胞增殖凋亡相关因子 PCNA、NF- κ Bp65 的影响,以遴选保护胰岛细胞功能、防治老年糖尿病的方药。方法:采用 Wistar 雌性大鼠制备衰老 DM 模型大鼠,随机分为:衰老对照组、衰老 DM 模型组、衰老 DM 石斛合剂组、衰老 DM 生脉散组,并给予药物治疗 4 周后,检测血清 FBG、GSP 等浓度;免疫组化法检测胰腺组织中 PCNA 和 NF- κ Bp65 的表达。结果:与衰老 DM 模型组相比:石斛合剂组大鼠 FBG 与 GSP 显著降低($P < 0.05 \sim 0.01$),生脉散组亦降低;且治疗组之间差异有统计学意义($P < 0.01$);石斛合剂组胰腺 PCNA 表达非常显著($P < 0.01$),生脉散组表达亦增加($P < 0.05$),2 个治疗组之间比较差异有统计学意义($P < 0.01$);但治疗组该 2 项指标均未达到衰老对照组水平。各组胰岛内 NF- κ Bp65 表达由多到少顺序依次如下:石斛合剂组 > 衰老 DM 模型组 > 生脉散组 > 衰老对照组。结论:与生脉散相比,石斛合剂能够更明显地改善衰老 DM 大鼠血糖;二者均能促使 DM 大鼠胰腺组织 PCNA 表达,提示其可促使胰腺细胞增殖,改善被破坏的内环境稳态,呈现石斛合剂 > 生脉散的趋势。各组胰岛内 NF- κ Bp65 表达由多到少顺序依次如下:石斛合剂组 > 衰老 DM 模型组 > 生脉散组 > 衰老对照组。推测:患 DM 后,机体产生应激反应,石斛合剂可以促使 NF- κ B 参与应激反应,调动了机体潜力;生脉散则减弱 NF- κ B 参与应激反应。在防治老年糖尿病方面,石斛合剂较生脉散更具优势。

关键词 衰老糖尿病模型;胰腺;PCNA;NF- κ Bp65;石斛合剂

Effects of Shihu Compound with Blood Glucose Decline Chinese Medicine on PCNA and NF- κ Bp65 Expressions in Pancreas of Aged Diabetes Mellitus Model Rats

Wang Xiaoning¹, Zheng Yanfang¹, Yu Wenzhen¹, Gao Youliang², Yang Xiuzhen³, Lin Ya¹, Zhang Jieping¹,
Liu Ruyu¹, He Caigu¹, Li Changzheng¹, Zheng Liangpu¹, Shi Hong¹

(1 Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fujian 350122, China; 2 The Second People's Hospital of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fujian 350003, China; 3 Taizhou People's Hospital of Jiangsu Province, Taizhou 225300, China)

Abstract Objective: To observe the effect of Shihu Compound (DC) and other Chinese medicine on declining blood glucose and their effects on PCNA and NF- κ Bp65 of aged diabetes Mellitus model rats. **Methods:** The aged diabetic model rats were divided into control group, model group, DC group and PRPB (Shengmai San) group. They were given drugs for four weeks. The concentrations of FBG and GSP in serum were measured, and the PCNA and NF- κ Bp65 in pancreas of aged diabetic rats were assayed by immunohistochemistry. **Results:** Compared with the model group, the level of FBG and GSP decreased in DC group and PRPB group ($P < 0.01$). And PCNA expression was evidently heightened in the two treatment group, and there were significant differences between the two groups ($P < 0.01$). The level of FBG and GSP and the PCNA expression has not reach the level of that of the aged control group. The NF- κ Bp65 expression in pancreas was DC treated group > aged DM model group > PRPB treated group > aged control group. **Conclusion:** DC could more significantly improve the blood glucose and enhance PCNA expression in model group than PRPB group. DC could better improve the internal environment homeostasis in aged diabetic rats via promoting the pancreatic cell proliferation than PRPB. It could be deduced that DC enables NF- κ B to involve in stress response in DM and mobilize the body potential, but PRPB functions the contrary. DC has better effect in treating aged DM than PRPB.

Key Words Aged DM model; Pancreas; PCNA; NF- κ Bp65; Shihu compound

基金项目:福建中医药大学校管科研课题(编号:X2012017);福建中医药大学重点学科专项校管课题(编号:X2014024-学科);福建省中青年教育科研课题(一般项目 A 类科技项目)(编号:JA15240);福建省自然科学基金项目(编号:2014J01354)

作者简介:王晓宁(1980.01—),女,硕士,讲师,研究方向:主要从事中西医结合防治糖尿病研究工作,E-mail:wxn1980_1@sina.com

通信作者:施红(1964.04—),女,博士,博士研究生导师,教授,研究方向:主要从事中西医结合延缓衰老及中医药防治糖尿病的研究工作,E-mail:shihong3327@sina.com.cn

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.02.031

我国 2010 年大规模人群的糖尿病 (Diabetes Mellitus, DM) 研究表明,糖尿病及糖尿病前期患病率分别为 11.6% 和 50.1%^[1],国外流行病学研究显示,65~74 岁之间,糖耐量异常,加之未诊断的和确诊的 DM 患者可高达 40%^[2]。据联合国估计,到 2025 年,全世界 60 岁以上的老年人将达 11 亿,占总人口的 13.7%,我国将达 20%,约有 2.8 亿老年人,随之老年糖尿病患病率将大幅度增加。国内外均在积极研究防治老年糖尿病的药物和方法。目前临床研究已证明石斛合剂、生脉散等中药方对老年 DM 有一定疗效,本研究拟从胰岛细胞增殖、凋亡相关重要因子 PCNA、NF- κ Bp65 表达的情况对上述 2 方进行比较,以遴选出保护胰岛细胞功能、防治老年糖尿病的方药。

1 材料与方法

1.1 实验动物 清洁级健康 Wistar 雌性大鼠 78 只 (体重 140~160 g/只,3 个月龄),购自上海斯莱克实验动物有限公司 (批号 0008131)。动物饲养于福建中医药大学动物实验中心,室温 20~23℃,空气流通,相对湿度 55%~70%,12 h 光照维持,昼夜循环。以福建中医药大学动物中心提供的颗粒饲料及自制高脂高糖饲料进行喂养,自由摄食、饮水,保持垫料干燥,每日定时更换。

1.2 试剂 D-半乳糖 (上海试剂二厂),胆酸钠、胆固醇 (武汉亚法生物技术有限公司),链脲佐菌素 (STZ) (美国 ALEXIS 公司),PCNA、NF- κ B p65 (武汉博士德生物工程有限公司),血糖、GSP (南京建成生物工程研究所)。

1.3 石斛合剂 各中药方煎后均经过滤,浓缩至流浸膏,乙醇醇提,滤过,回收乙醇,最终滤液加水分别调至含生药量石斛合剂 6.4 g/mL、生脉散 5.5 g/mL,分装灭菌,100 mL/瓶。

1.4 分组及给药方法 根据国家卫生部关于中药新药治疗 DM 的临床指导原则^[3],参考《中药药理研究方法学》(人民卫生出版社,1994 版)、孙敬方主编《动物实验方法学》及有关文献^[4-6],选用课题组前期研究造模方法^[7]制备衰老 DM 模型大鼠,实验分组如下:衰老对照组 (A):腹腔注射 D-半乳糖 (50 mg/kg 体重) 42 d 并给予普通饲料和 NS 灌胃 (10 只);衰老 DM 糖尿病模型大鼠:腹腔注射 D-半乳糖 (50 mg/kg 体重) 连续 42 d,从第 13 d 起给予高脂高糖饲料灌胃,连续 30 d 后腹腔注射 STZ (体重 < 200

g 者按 30 mg/kg 体重计算,体重 $\geq$ 200 g 者按体表面积计算)。将衰老糖尿病大鼠按体重、血糖随机分为衰老 DM 模型组 (B) (12 只)、衰老 DM 石斛合剂组 (C) (12 只)、衰老 DM 生脉散组 (D) (12 只) 中药灌胃量均为 1 mL/100 g (给药量按大鼠与人体表面积算法计算,相当于临床用量 10 倍),2 次/d,连续治疗 4 周。每日观察大鼠精神状态、毛色、活动情况、饮水量及进食量 (测每组饮水、进食的总量,再以平均值作为每只的进食、饮水量),每周测 1 次体重。药物治疗结束后,戊巴比妥钠麻醉,腹主动脉取血,离心制备血清,-20℃保存待测。并取胰尾保存于 Lille 液中,以行免疫组化。

注:因课题组前期实验已证实石斛合剂与生脉散中剂量组效果优于高、低剂量组,故本实验不设高、低剂量组,所用剂量为中剂量。且目前未发现有明显疗效的抗衰老糖尿病的西药或中成药,故不设阳性对照组。

1.5 指标观察

1.5.1 血清学指标 采用葡萄糖氧化酶法测定空腹血糖 (FBG),果糖胺法测定糖化血清蛋白 GSP。

1.5.2 免疫组织化学法检测 胰腺组织中增殖细胞核抗原 (PCNA) 与 NF- κ B 亚基 p65 的表达:采用卵白素—生物素—辣根过氧化物酶复合物——Avidin Biotin Complex 简称 ABC 法。PCNA 观察:细胞核棕染的为阳性细胞,高倍镜下选 5 个视野计数单位面积胰腺组织中阳性细胞个数,取平均值;NF- κ B 亚基 p65 观察:胞浆棕染为阳性细胞。高倍镜下选 5 个胰岛摄像,采用 CMIAS 型彩色病理图像分析仪计算 NF- κ B 亚基 p65 表达的积分光密度 (A) 值。

1.6 统计方法 所有资料均采用 SPSS 11.5 统计软件包进行统计。数据结果以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,各组间比较采用单因素方差分析。计量资料间比较用 t 检验和 t' 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况及各中药方对其血清 FBG、GSP 的影响 衰老对照组大鼠饮食饮水 (饮水量 43 mL/只·d,进食量 15 g/只·d) 及大小便正常,活动较正常,体毛浓密有泽,体重增长明显。衰老 DM 模型组大鼠多饮、多尿、活动减少,体毛松散无泽等症状未缓解,体重明显降低,精神萎靡,死亡 3 只;各治疗组大鼠三多症状均有一定程度改善 (饮水量 62 mL/只·d,进食量 18 g/只·d),较衰老 DM 模型组

活跃、体重呈有一定程度增加,各治疗组之间无明显区别($P>0.05$)。石斛合剂(C)组大鼠 FBG 与 GSP 显著降低(见表 1)。各治疗组比较,石斛合剂(C)组与生脉散(D)组之间有统计学意义($P<0.01$),可见,石斛合剂降糖疗效(数据参考已发表文章^[8]较生脉散更明显,但未达到衰老对照组大鼠水平($P<0.01$)。

表 1 各组大鼠空腹血糖(FBG)、糖化血清蛋白 (GSP)的变化($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	FBG (mmol/L)	GSP (mg/mL)
A	10	3.57±1.061	0.155±0.040
B	12	24.2±5.042**	0.234±0.060**
C	12	8.49±1.973**△△	0.186±0.034△
D	12	20.6±3.281**△	0.193±0.051*

注: *表示与 A 组比较差异有统计学意义($P<0.05$), **表示与 A 组比较差异有统计学意义($P<0.01$); △表示与 B 组比较差异有统计学意义($P<0.05$), △△表示与 B 组比较差异有统计学意义($P<0.01$)。

2.2 各中药方对大鼠胰腺组织中 PCNA 表达的影响 由图 1 可知,衰老对照(A)组可观察到大片核着棕褐色的 PCNA 阳性细胞。衰老 DM 对照(B)组只见极少数核着棕褐色的 PCNA 阳性细胞。各治疗组可见到核着棕褐色的 PCNA 阳性细胞,石斛合剂(C)组可见到大量 PCNA 阳性细胞,较衰老 DM 对照组增加,但未及衰老对照(A)组阳性细胞数。生脉散(D)组可见少量的 PCNA 阳性细胞。由表 2 可知,关于 PCNA: 与衰老对照(A)组比较,衰老 DM 模型(B)组 PCNA 阳性细胞个数明显减少($P<0.01$)。经治疗后,与衰老 DM 模型(B)组相比,石斛合剂可非常显著地促进胰腺组织中 PCNA 表达($P<0.01$),生脉散也可促其表达($P<0.05$)。2 治疗组之间比较差异有统计学意义($P<0.01$),因此可见,石斛合剂较生脉散疗效更明显,但未达到衰老对照组大鼠水平(P 均 <0.01)。中药方石斛合剂与生脉散能促使衰老 DM 大鼠胰腺组织中 PCNA 表达,提示二者可促使胰腺细胞增殖,但其疗效是石斛合剂>生脉散。

2.3 各中药方对大鼠胰岛中 NF-κBp65 表达的影响 由图 2 可知,免疫组化染色胞浆中着棕黄色片状者为 NF-κB 亚基 p65 阳性。衰老对照(A)组胰岛可见少量胰岛细胞胞浆棕染。与衰老对照(A)组比较,各治疗组均比衰老对照(A)组阳性细胞多;其中石斛合剂(C)组胰岛内胞浆棕染细胞最多。生脉散(D)组中可见到较少量的阳性细胞。与衰老 DM 模型(B)组相比,石斛合剂(C)组

所含阳性细胞数增多($P<0.01$),但生脉散(D)组则较少($P<0.05$)。由表 2 可知,与衰老对照(A)组比较,衰老 DM 模型(B)组、石斛合剂(C)组及生脉散(D)组均差异均有统让学意义(P 均 <0.01);与衰老 DM 模型(B)组比较,石斛合剂(C)组表达非常明显增加($P<0.01$),但生脉散(D)组表达明显减少($P<0.05$)。各组胰岛内 NF-κBp65 表达由多到少顺序依次如下:石斛合剂(C)组>衰老 DM 模型(B)组>生脉散(D)组>衰老对照(A)组。推测:患 DM 后,机体产生应激反应,石斛合剂可以促使 NF-κB 参与应激反应,调动了机体潜力;生脉散则减弱 NF-κB 参与应激反应。

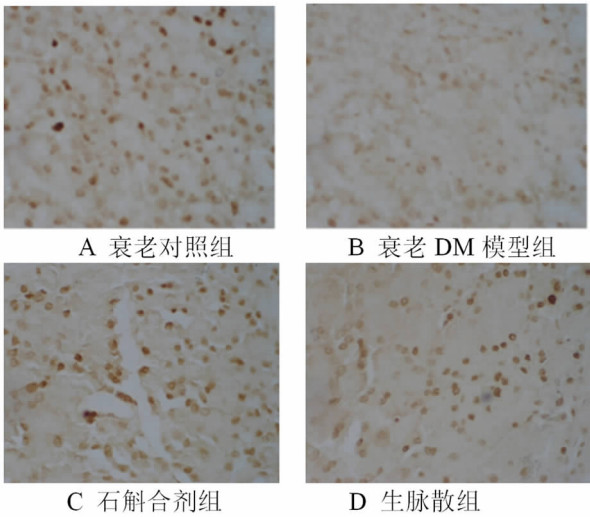


图 1 各组大鼠胰腺组织中 PCNA 表达观察 (免疫组化图片)

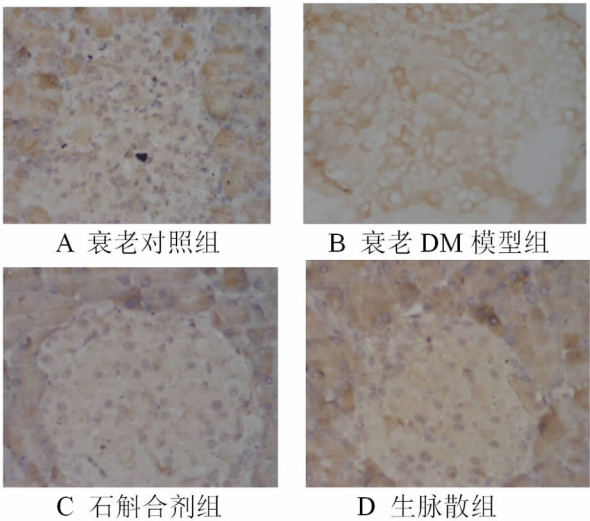


图 2 各组大鼠胰岛中 NF-κB 亚基 p65 表达观察 (免疫组化图片)

表 2 各组大鼠胰腺组织 PCNAS 和 NF- κ B 亚基 p65 表达变化的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	PCNA 阳性细胞数	p65 阳性目标积分光密度
A	8	168.32 $\pm$ 2.13	0.252 $\pm$ 0.016
B	8	142.94 $\pm$ 3.19 **	0.418 $\pm$ 0.081 **
C	8	162.28 $\pm$ 2.68 ** $\Delta\Delta$	0.524 $\pm$ 0.121 ** $\Delta\Delta$
D	8	146.80 $\pm$ 2.77 ** Δ	0.309 $\pm$ 0.083 Δ

注: * 表示与 A 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$), ** 表示与 A 组比较差异有统计学意义($P < 0.01$); Δ 表示与 B 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$), $\Delta\Delta$ 表示与 B 组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。

3 讨论

胰岛 β 细胞功能失调和胰岛素抵抗是老年糖尿病的 2 个重要发病机制。研究表明,患 DM 后,胰岛素抵抗不再继续加重,而胰岛 β 细胞数量减少、功能衰竭,成为 DM 进展的驱动力。结合老年病学研究:老年人随着年龄增长,各组织器官发生衰老性形态结构改变及生长停滞,神经内分泌免疫调控功能退化或紊乱^[9],进而势必影响细胞增殖与凋亡因子的表达,使衰老机体胰岛细胞易发生分化增殖下降、凋亡增加、乃至二者失衡的内环境紊乱现象。我国临床长期使用的降糖西药,显示出对机体有较大的损害作用,尤其对器官、功能逐渐衰退的老年人,不良反应更多。已有报道提出,磺脲类优降糖在降低血糖的同时,可促使大鼠和人的胰岛细胞凋亡,无法根本遏制 β 细胞功能进行性衰竭。

中医学中 DM 属于“消渴病”范畴,老年 DM 呈现阴阳失调、气血亏虚、脏腑虚衰且夹瘀等特点。大量研究表明,中药方石斛合剂、生脉散等均有治疗 DM 及预防、治疗或减轻 DM 患者慢性并发症的作用。本研究从调控胰岛细胞增殖、凋亡相关因子表达的角度,遴选出保护胰岛细胞功能、防治老年糖尿病的有效方药。

石斛合剂是以滋阴、益气、活血治则所立之方。本课题组经近 30 年临床-基础-临床研究发现,石斛合剂能显著降低高血糖大鼠空腹及自由进食血糖,降低胰高血糖素、升高和调节胰岛素、C 肽的分泌,升高胰岛素/C 肽比值,降低 FFA、TNF- α 水平,抑制 α -葡萄糖苷酶;促进胰岛增大及胰岛 β 细胞增殖,作用尤为明显,显著优于优降糖和二甲双胍以及中药玉泉丸;另外,尚有降低三酰甘油、胆固醇,改善血黏度及血小板功能,调整和提高免疫功能,升高 SOD,降低 LPO,延缓衰老等作用。临床应用发现,该方降糖疗效稳定,且可预防、减轻糖尿病并发症^[10-11]。本试验的研究进一步提示石斛合剂能从保护胰岛细胞

功能角度防治糖尿病,具有重要理论和实际指导意义。

生脉散主要功效为益气养阴、生津止渴。能滋补老年人的肺阴及心阴,具有多途径调节糖基化代谢紊乱的作用。现代药理研究证明:人参所含人参皂苷及人参多糖有刺激胰岛素分泌,激活、致敏胰岛素受体,降低血糖水平。临床观察证实,源于古方生脉散的参麦注射液有很好的降糖作用,还能清除 LPO、恢复 SOD 活性并改善机体微循环、脂质代谢及组织缺氧的功能。加用参麦注射液的治疗组在改善空腹血糖、餐后血糖及促进胰岛素的基础分泌方面均优于对照组,体现出参麦注射液对 NIDDM 的临床治疗确有较好的运用价值^[12]。

国外已有研究表明:DM 动物表现为胰腺细胞增殖下降,凋亡增加,如细胞凋亡因子 Bax、Caspase-3 表达增加^[13-14],而抑制细胞凋亡、促进细胞增殖的因子 Bcl-2、PCNA 表达下降。涉及胰岛细胞增殖、凋亡的因素众多,在基础状态下,其抑制凋亡的作用可能通过 NF- κ B 和 cAMP-PKA 途径共同调节;在应激状态下(如创伤、氧化损伤、高脂高糖等),增殖和凋亡可能主要通过 NF- κ B 途径调节^[15],即通过 NF- κ B 结合活性加强,促使其下游的 iap-2(凋亡蛋白-2 抑制物基因)及 bcl-2 表达增强来抑制凋亡。因此,NF- κ B 在介导 DM 胰岛细胞的增殖、凋亡中至关重要。但 NF- κ B 与胰岛细胞增殖、凋亡的关系还不是很明确,仍存在争议。而课题组前期研究已观察了石斛合剂对 Bax、Bcl-2 表达的影响^[16],对 Caspase-3 表达的影响课题组其他人员正在研究,故本研究选取 PCNA、NF- κ B 的亚基 p65 作为指标行胰腺组织免疫组化观察。

PCNA——增殖细胞核抗原,其表达与 DNA 复制及细胞分裂增殖活性有关。已有研究发现 DM 可使小鼠睾丸组织中 PCNA 表达下降^[17],而 DM 肾病大鼠肾小球基底膜细胞 PCNA 表达增强。本实验结果:中药方石斛合剂与生脉散能促使衰老 DM 大鼠胰腺组织中 PCNA 表达,提示二者可促使胰腺细胞增殖,但其疗效是石斛合剂 > 生脉散。各组胰岛内 NF- κ Bp65 表达由多到少顺序依次如下:石斛合剂(C)组 > 衰老 DM 模型(B)组 > 生脉散(D)组 > 衰老对照(A)组。推测:患 DM 后,机体产生应激反应,石斛合剂可以促使 NF- κ B 参与应激反应,调动了机体潜力;生脉散则减弱 NF- κ B 参与应激反应。

综合上述结果分析,石斛合剂较生脉散在控制衰老 DM 模型大鼠血糖、糖化血清蛋白和促进胰岛

细胞增殖等方面效果更佳,为石斛合剂临床有效防治老年糖尿病、延缓其并发症的发生、发展进一步提供理论依据。

为深入明确石斛合剂防治老年糖尿病的作用机制,尚需在其他信号途径及上述指标的基因水平做进一步研究。

参考文献

- [1] Xu Y, Wang L, He J, et al. Prevalence and control of diabetes in Chinese adults[J]. JAMA, 2013, 310(9): 948-959.
- [2] Daniel Porte, Robert S. Ellenberg & Rifkin's diabetes mellitus[M]. ed5. McGraw Hill, 2000: 565-568.
- [3] 刘明, 董超仁, 苏静怡, 等. 一种简便实用的大鼠高脂血症模型[J]. 中国药理学通报, 1989, 5(2): 119.
- [4] Song X, Bao M, Li D, et al. Advanced glycation in D-galactose induced mouse aging model[J]. Mech ageing Dev, 1999, 108(3): 239.
- [5] 刘晓秋, 李卫东. D-半乳糖衰老模型大鼠的羰基毒化机理初步探讨[J]. 中国实验动物学杂志, 2002, 12(3): 141.
- [6] 施红, 金国琴, 余文珍. 诱导构建最佳类似人类 2 型糖尿病大鼠的造模方式[J]. 中国临床康复, 2005, 9(39): 69-71.
- [7] 施红, 王晓宁, 余文珍, 等. 化学药物诱导构建衰老糖尿病大鼠模型[J]. 中国老年学杂志, 2008, 28(24): 2416-2418.
- [8] 王晓宁, 江敏, 郑燕芳, 等. 降糖中药方对糖尿病模型大鼠糖脂代谢的影响[J]. 福建中医学院报, 2009, 19(3): 54-56.
- [9] Jin Guo-qin, Dai Wei-wei, Zhang Xue-li, et al. Effect of tonifying kid-

ney recipe on retarding aging change of the brain limbic system-HYP axis and thymus-dependent immune function in senile rats[J]. ABBS, 2003, 35(11): 1052.

- [10] 施红, 林求诚, 冯亚. 石斛合剂对阴虚热盛、气阴两虚型 2 型糖尿病的疗效观察[J]. 中药药理与临床, 2002, 18(3): 42-44.
- [11] 辛金钟, 王麒又, 陈丽娟, 等. 石斛合剂改善 2 型糖尿病胰岛素抵抗的临床研究[J]. 中国现代医生, 2010, 48(3): 58.
- [12] 卢丹, 冯桂梅, 姜秀英, 等. 参麦注射液对 II 型糖尿病患者抗脂质过氧化损伤的临床研究[J]. 中国医药学报, 1999, 14(3): 72.
- [13] Hanke J. Apoptosis and occurrence of Bcl-2, Bak, Bax, Fas and FasL in the developing and adult rat endocrine pancreas[J]. Anat Embryol (Berl), 2000, 202(4): 303-312.
- [14] Reddy S, Bradley J, Ross JM. Immunolocalization of caspase-3 in pancreatic islets of NOD mice during cyclophosphamide-accelerated diabetes[J]. Ann N Y Acad Sci, 2003(1005): 192.
- [15] Buteau J, El-Assaad W, Rhodes CJ, et al. Glucagon-like peptide-1 prevents beta cell glucolipotoxicity[J]. Diabetologia, 2004, 47(5): 806-815.
- [16] 施红, 金国琴, 高亢亮, 等. 石斛合剂对衰老糖尿病大鼠胰腺组织凋亡相关基因 Bax, Bcl-2 mRNA 及蛋白表达的调控[J]. 中国老年学杂志, 2006, 26(1): 57.
- [17] 岳凤鸣. 糖尿病对小鼠睾丸组织中 PCNA 表达的影响[J]. 中国男科学杂志, 2001, 15(3): 154.

(2015-11-22 收稿 责任编辑: 王明)

(上接第 295 页)

- [4] Juha P. Laurilaa, Lilja Laatikainen, et al. Human embryonic stem cell derived mesenchymal stromal cell transplantation in at hind limb injury model[J]. Cytotherapy, 2009, 11(6): 726 - 737.
- [5] 华兴邦, 李辞荣, 周浩良, 等. 大鼠穴位图谱的研制[J]. 实验动物与动物实验, 1991(1): 1-5.
- [6] Werner Risau. Angiogenic growth factors[J]. Pro In growth factor Res, 1990(2): 71.
- [7] Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, et al. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen[J]. Science, 1989, 246(4935): 1306-1309.
- [8] Keck PJ, Hauser SD, Krivi G, et al. Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF[J]. Science, 1989(246): 1309 - 1312.
- [9] Cross MJ, Claesson-Welsh L. FGF and VEGF function in angiogenesis: signaling pathways, biological responses and therapeutic inhibition[J]. Trends Pharmacol Sci, 2001, 22(4): 201-207.
- [10] Werner Risau. Angiogenic growth factors[J]. Pro In growth fac-

tor Res, 1990(2): 71.

- [11] Montesano R, Vassalli JD, Baird A, et al. Basic fibroblast growth factor induces angiogenesis in vitro[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1986, 83(19): 7297-7301.
- [12] Detillieux KA, Sheikh F, Kardami E, et al. Biological activities of fibroblast growth factor-2 in the adult myocardium[J]. Cardiovasc Res, 2003, 57(1): 8-19.
- [13] Pu LL, Holme KR, Symes JF. Heparinase enhances collateral vessel development in the ischemic limb[J]. Int Surg, 2002, 87(4): 260-268.
- [14] Morishita R, Aoki M, Hashiya N, et al. Safety evaluation of clinical gene therapy using hepatocyte growth factor to treat peripheral arterial disease[J]. Hypertension, 2004(44): 203-209.
- [15] Sharif F, Daly K, Crowley J, et al. Current status of catheter-and stent-based gene therapy[J]. Cardiovasc Res, 2004(64): 208-216.
- [16] 诸毅晖, 陈玉华. 论穴位注射的穴药效应[J]. 中国针灸, 2005, 25(1): 46-48.

(2015-11-12 收稿 责任编辑: 洪志强)