

当归多糖抑制 PI3K/AKT 途径阻碍平滑肌细胞增殖迁移

高雪亮¹, 秦立鹏¹, 李永章^{1*}, 李爱英^{2*}

¹河北省中医院, 石家庄 050011; ²河北中医学院, 石家庄 050200

摘要:探讨当归多糖对人血管平滑肌细胞(hVSMCs)增殖, 侵袭和迁移的调节作用。制备低、中、高剂量(100、200、400 mg/kg)当归多糖血清, 使用不同浓度当归多糖血清预处理 hVSMCs, 确定当归多糖血清最佳的预处理剂量。之后, 设置空白组、Ang II (1 ng/mL) 诱导 + 空白血清组、HB-EGF (1 ng/mL) 诱导 + 空白血清组、Ang II + 当归多糖血清组、HB-EGF + 当归多糖组、HB-EGF + 当归多糖血清组、Ang II + 当归多糖血清组 + PI3K/AKT 激动剂 (IGF-1, 10 μ M) 组和 HB-EGF + 当归多糖组 + IGF-1 组。结果表明, 100 mg/kg 和 200 mg/kg 的当归多糖血清预处理对 VSMCs 不会产生细胞毒性, 因此, 使用 100 mg/kg (A0) 当归多糖血清用于后续实验。Ang II 或 HB-EGF 可刺激 hVSMC 增殖, 侵袭和迁移, 并能提高迁移相关蛋白 MMP2 和 MMP9 的表达水平。当归多糖血清预处理可显著抑制这些过程。另外, 当归多糖血清预处理降低了 Ang II 或 HB-EGF 诱导的 hVSMCs 中 PI3K 和 AKT 的磷酸化水平。综上说明当归多糖经抑制 PI3K/AKT 途径阻碍了 Ang II/HB-EGF 诱导的 hVSMCs 增殖、侵袭和迁移。

关键词: 当归多糖; 血管平滑肌细胞; 增殖; 迁移

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)12-2004-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.12.003

Angelica polysaccharides inhibits the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells by suppressing PI3K/AKT pathway

GAO Xue-liang¹, QIN Li-peng¹, LI Yong-zhang^{1*}, LI Ai-ying^{2*}

¹Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China;

²Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China

Abstract: To investigate the regulatory effects of *Angelica polysaccharides* (AP) on proliferation, invasion and migration of vascular smooth muscle cells (VSMCs) stimulated by angiotensin II (Ang II) and heparin-binding epidermal growth factor (HB-EGF). Human vascular smooth muscle cells (hVSMCs) were pretreated with different concentrations of AP serum. Subsequently, Ang II or HB-EGF was used to induce hVSMC proliferation and migration. The experiment was divided into the following groups: Blank control group, Ang II (1 ng/mL) + control serum group, HB-EGF (1 ng/mL) + control serum group, Ang II + AP serum group, HB-EGF + AP serum group, HB-EGF + AP serum group, Ang II + AP + PI3K/AKT activator (IGF-1, 10 μ M) group and HB-EGF + AP serum + IGF-1 group. Cell proliferation was detected by CCK-8. Cell invasion and migration were tested by Transwell and Wound Healing assay, respectively. The expression levels of MMP2, MMP9, PI3K, p-PI3K, AKT, and p-AKT were detected by Western blot. The result showed that pretreatment with 100 mg/kg and 200 mg/kg AP serum had no cytotoxicity to VSMCs. Thus, 100 mg/kg AP serum was used for subsequent experiments (A0). Ang II or HB-EGF significantly stimulated the proliferation, invasion and migration of hVSMCs. Meanwhile, Ang II or HB-EGF improved the expression levels of migration-related proteins MMP2 and MMP9. Of note, pretreatment of AP serum dramatically inhibited these processes. In addition, AP serum pretreatment reduced phosphorylation of PI3K and AKT in Ang II or HB-EGF-induced hVSMCs. Co-treatment of IGF-1 reversed the inhibitory effect of AP serum on hVSMC proliferation, invasion and migration. In conclusion, AP serum can inhibit the proliferation and migration of hVSMCs induced by Ang II or HB-EGF through inhibiting the activity of PI3K/AKT signaling pathways.

收稿日期: 2021-04-15 接受日期: 2021-09-22

基金项目: 河北省心脑血管病中医药防治研究重点实验室 2021 年度开放课题基金 (2021301); 河北省中医药管理局指令课题 (2022039)

* 通信作者 Tel: 86-013503330234; E-mail: hbszliyongzhang@163.com

Key words: *Angelica* polysaccharides; vascular smooth muscle cells; proliferation; migration

冠状动脉疾病(coronary artery disease, CAD)是最常见的心血管疾病类型之一,具有很高的发病率和死亡率。经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)是一种非常重要的 CAD 微创治疗方法,PCI 可有效改善冠脉血流量,降低心绞痛,极大地提高了病人的生活质量。然而,血管成形术后血管再狭窄(vascular restenosis, RS)的高发生率往往影响其长期治疗效果。已有研究表明,血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)的增殖和迁移是血管成形术后血管再狭窄发展的关键因素^[1]。血管内皮损伤后,中膜的 VSMCs 在多种生长因子、细胞因子、炎症介质的作用下,由收缩型转化为合成型,并向内膜下迁移,发生过度增殖则是新生内膜形成的关键环节。因此,有效抑制 VSMCs 增殖和迁移已成为血管再狭窄防治的重点。当归多糖是中药当归的主要生物活性成分,在抗炎症、抗肿瘤和免疫调节等方面具有重要作用^[2,3]。然而,当归多糖在抗 RS 作用尚未见报道。本实验采用当归多糖处理人 VSMCs (hVSMCs),观察 VSMCs 增殖、迁移和侵袭的状态,并探寻当归多糖调节 VSMCs 功能的可能分子机制,为血管再狭窄的早期干预治疗提供策略。

1 材料

1.1 细胞

hVSMCs 购自购自上海中国科学院细胞库。

1.2 药物

当归多糖(西安雨泽生物科技有限公司,UV > 98%);血管紧张素 II (Ang II, 美国 Sigma-Aldrich 公司);肝素结合表皮生长因子(HB-EGF, 美国 R&D Systems 公司)。

1.3 试剂

DMEM 培养基(美国 Invitrogen 公司, 12100-046);胎牛血清(索尔生物科技有限公司, SH30084.03);RIPA 裂解缓冲液(南京森贝伽生物科技有限公司, SBJ-0999);BCA 试剂盒(上海易色医疗科技有限公司, BC201);MMP2 (ab92536)、MMP9 (ab76003)、PI3K (ab139307)、p-PI3K (ab278545)、AKT (ab8805)和 p-AKT (ab38449)抗体(美国 Abcam 公司);HRP 二抗(美国 Abcam 公司, ab6721);牛血清白蛋白(BSA, 上海源叶生物科技有限公司, B20923);ECL 化学发光底物试剂盒(广州赛国生物

科技有限责任公司, WBKLS0100)。

1.4 仪器

蛋白电泳设备(美国 Bio-Rad 公司, 164-5052 和 165-8001);凝胶成像系统(美国 Thermo Fisher 公司, iBright CL1500);细胞培养箱(美国 Thermo Fisher 公司, Cytomat™ 10 C450);酶标仪(美国 Thermo Fisher 公司, 51119180ET);光学显微镜(日本 Olympus 公司, CKX53);台式低温离心机(美国 Thermo Fisher 公司, MICRO17R)。

2 方法

2.1 细胞培养

hVSMCs 培养在含体积分数为 10% FBS 的 DEME 培养基中进行连续传代培养。每隔 2~3 天进行细胞换液,每隔 4 天进行细胞传代。

2.2 当归多糖的制备

取当归的水煮醇沉淀物和热蒸馏水(1:1)溶解,用氢氧化钙饱和液调 pH 值为 10.0~11.0,放置过夜,抽滤。滤液用 5 mol/L 硫酸调 pH 值为 5.0~6.0,冰存过夜,抽滤,滤液过阴阳离子混合树脂(树脂体积之比为 2:1)交换,交换液浓缩至一定体积,加乙醇沉淀,使含醇量达 85%,冰存过夜,抽滤。将醇沉物挥发掉乙醇并浓缩至稠膏状,低温干燥即得当归多糖。

2.3 当归多糖含药血清的制备

四组 4 月龄 SD 雄性大鼠,每组 5 只,共 20 只。每天灌胃给药当归多糖低、中、高剂量(100、200、400 mg/kg)1 次,连续 1 周,空白血清组给予等量的蒸馏水。第 7 天给药 1 h 后,静脉注射戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉大鼠,心脏取血,静置后离心取上清,0.22 μm 无菌滤器过滤分装,56 °C 水浴锅中 30 min 灭活补体。-20 °C 冰箱保存备用。用于体外实验的含药血清按照 1:4 稀释后使用,即当归多糖低、中、高剂量的含药血清实际添加浓度分别为 25、50、100 mg/kg。

2.4 细胞分组

检测当归多糖血清对人血管平滑肌细胞(hVSMCs)的毒性作用。设置空白组(Blank)和不同浓度当归多糖血清(100、200、400 mg/kg)组。A0 为 100 mg/kg 当归多糖血清,用于后续研究。

检测当归多糖血清对血管紧张素 II (Ang II) 和肝素结合表皮生长因子(HB-EGF)诱导的

hVSMCs 细胞特性的影响。设置空白 (Blank) 组, Ang II (1 ng/mL) 诱导 + 空白血清组, HB-EGF (1 ng/mL) 诱导 + 空白血清组, Ang II + 当归多糖血清 (A0) 组和 HB-EGF + 当归多糖血清 (A0) 组。

研究当归多糖血清通过调节 PI3K/AKT 途径对 Ang II 和 HB-EGF 诱导的 VSMCs 增殖和迁移的影响。设置空白 (blank) 组, Ang II + 当归多糖血清 (A0) 组, HB-EGF + 当归多糖血清 (A0) 组, Ang II + 当归多糖血清 (A0) 组 + PI3K/AKT 激动剂 (IGF-1, 10 μ M) 组和 HB-EGF + 当归多糖血清 (A0) 组 + IGF-1 组。

2.5 指标检测

2.5.1 hVSMCs 增殖能力检测

使用 CCK-8 试剂盒检测 hVSMCs 增殖能力。取对数期生长至 90% 的各组细胞, PBS 洗涤后用 0.25% 胰酶消化制成单细胞悬液, 调节细胞悬液浓度为 7×10^4 /mL, 然后以 100 μ L/每孔接种于 96 孔板, 每组设 6 个平行孔, 接种的细胞置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下孵育 48 h。培养结束后, 去除每个孔中原有培养基, 用无血清新鲜培养将 CCK-8 溶液按照 10:1 的比例进行稀释并混匀, 每孔加入 100 μ L, 轻轻敲击培养板混匀, 然后置于培养箱中继续孵育 1 h。利用酶标仪检测各组 450 nm 处吸光度。

2.5.2 hVSMCs 迁移能力检测

使用细胞划痕实验检测 hVSMCs 迁移能力。对数期生长至 90% 的 hVSMCs 用 0.25% 的胰酶消化细胞, 使用 Ang II 和 HB-EGF 诱导细胞; 调整细胞浓度至 5.0×10^4 个/mL, 每孔 2 mL 细胞悬液加入 6 孔板; 细胞培养至 100% 融合状态, 加入 1 μ g/mL 的丝裂霉素 C, 处理时间为 1 h; 使用 200 μ L 移液器吸头在每孔细胞表面划一道直线, PBS 冲洗划掉细胞碎片; 处理后的细胞除对照组, 加入最适浓度的当归多糖血清, 将细胞置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的培养箱中培养; 分别在 0 h 和 24 h 倒置显微镜拍照并计算细胞侵袭距离。

2.5.3 hVSMCs 侵袭能力检测

使用 Transwell 小室检测 hVSMCs 侵袭能力。从 -20 $^{\circ}$ C 冰箱中取出 Matrigel 基质胶, 将其置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜融化收集各组对数期细胞, PBS 洗涤, 用胰酶消化制成单细胞悬液, 用无血清的 MEM 培养基调节细胞密度 1×10^5 /mL, 将 Transwell 小室放置在 24 孔培养板中, 上室加入 200 μ L/孔, Transwell 下室加入 600 μ L 含 10% 血清的 DMEM 培养基, 将 24 孔

板置于细胞培养箱中, 于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下继续培养 48 h 后, 取出小室, PBS 洗涤后置于 4% 多聚甲醛中固定 20 min, 后加入 0.1% 结晶紫染色 30 min, PBS 冲洗小室, 室温下自然干燥后显微镜下观察细胞迁移数量。

2.5.4 Western blot 分析蛋白表达水平

取对数生长期的细胞, 接种到 6 孔细胞培养板 (2.5×10^5 个/mL), 每孔 2 mL, 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 过夜培养。分组处理后收集细胞。用 RIPA 裂解各组细胞, 提取总蛋白。用 BCA 试剂盒检测总蛋白浓度, 10% SDS-PAGE 分离蛋白后用半干转膜仪转移蛋白质至 PVDF 膜。用 5% 脱脂牛奶室温封闭蛋白 2 h, 随后按照适当比例加入一抗 (MMP2, MMP9, PI3K, P-PI3K, AKT 和 P-AKT) 于 4 $^{\circ}$ C 封闭过夜, 第二天加入对应二抗室温封闭 1 h, 最后滴 ECL 进行曝光, 曝光显色后的蛋白使用 Bio-Rad 全功能成像系统采集图像, Image-Pro Plus 分析光密度, 以 β -actin 为内参, 计算各组蛋白质的相对表达量。

2.6 统计学方法

实验数据使用 SPSS 20.0 软件进行统计分析, 各实验数据以平均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示。组间比较使用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 多组间两两比较采用 LSD-t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 当归多糖血清对 hVSMCs 的毒性作用

由图 1 可知, 与空白组比较, 100 mg/kg 和 200 mg/kg 当归多糖血清处理细胞后不会影响细胞活力, 使用 400 mg/kg 当归多糖血清处理细胞, 细胞活力显著下降 ($P < 0.05$)。因此, 本实验选择 100 mg/kg (A0) 的当归多糖血清浓度用于后续研究。

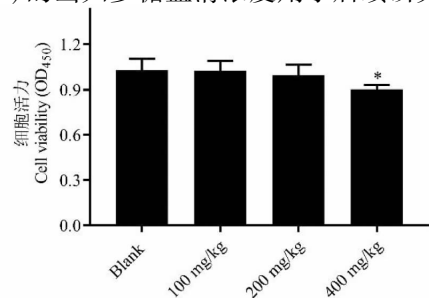


图 1 当归多糖对 hVSMCs 活力的影响

Fig. 1 The effect of *Angelica* polysaccharides on the viability of hVSMCs

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$ 。Note: Compared with blank group, * $P < 0.05$ 。

3.2 当归多糖抑制 Ang II 和 HB-EGF 诱导的 hVSMCs 的增殖, 迁移和侵袭

如图 2 所示, Ang II 和 HB-EGF 成功诱导了 hVSMCs 增殖, 当归多糖血清预处理显著抑制 Ang II 和 HB-EGF 诱导的 hVSMCs 的增殖。另外, 当归多糖血清预处理显著阻碍了由 Ang II 和 HB-EGF 成功诱导的 hVSMCs 迁移和侵袭水平的增加(图 3A、3B)。Western blot 实验结果表明, 在 Ang II 和 HB-EGF 诱导的 hVSMCs 中, 迁移相关蛋白 MMP2 和 MMP9 的表达水平显著升高, 而当归多糖血清预处理可以降低 MMP2 和 MMP9 的水平(图 4A~4C)。

3.3 当归多糖调控 PI3K/AKT 信号途径

如图 5A~5E 所示, 在 Ang II 和 HB-EGF 诱导的 hVSMCs 中, p-PI3K 和 p-AKT 的表达水平显著升高,

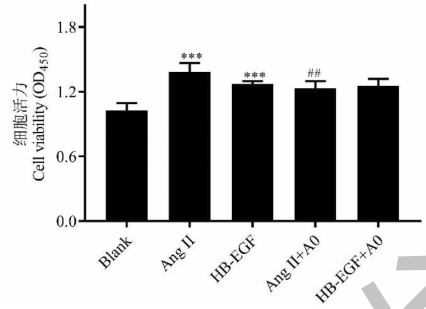


图 2 当归多糖对 Ang II 和 HB-EGF 诱导的 hVSMCs 活力的影响

Fig. 2 The effects of *Angelica* polysaccharides on the proliferation of hVSMCs induced by Ang II and HB-EGF

注:与空白组比较, *** $P < 0.001$;与 Ang II 组比较, ** $P < 0.01$ 。Note: Compared with blank group, *** $P < 0.001$; Compared with Ang II group, ** $P < 0.01$.

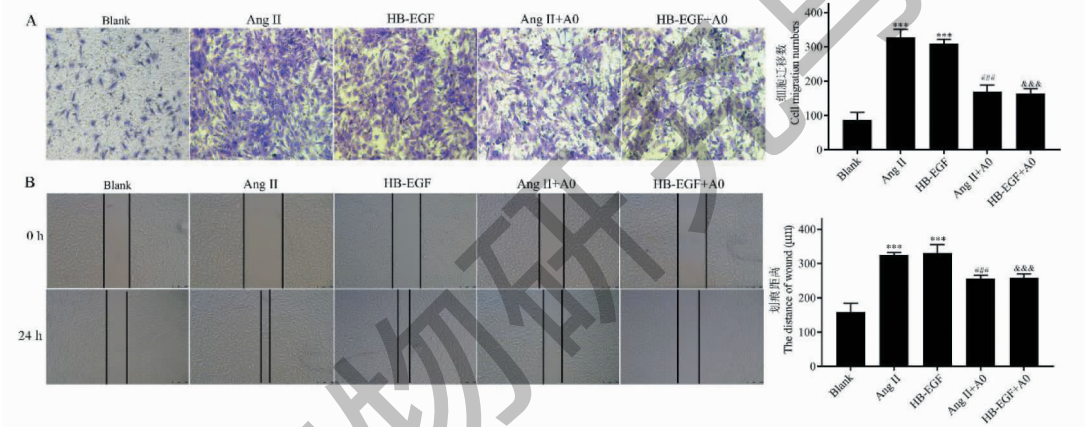


图 3 当归多糖对 Ang II 和 HB-EGF 诱导的 hVSMCs 侵袭和迁移的影响

Fig. 3 The effects of *Angelica* polysaccharides on the invasion and migration of hVSMCs induced by Ang II and HB-EGF

注: A: Transwell 小室检测 hVSMCs 迁移能力; B: 划痕实验检测 hVSMCs 侵袭能力。与空白组比较, *** $P < 0.001$; 与 Ang II 组比较, ** $P < 0.001$; 与 HB-EGF 组比较, *** $P < 0.001$ 。Note: A: The migration ability of hVSMCs was measured by Transwell assay; B: The invasion ability of hVSMCs was detected using Wound Healing. Compared with blank group, *** $P < 0.001$; Compared with Ang II group, ** $P < 0.001$; Compared with HB-EGF group, *** $P < 0.001$.

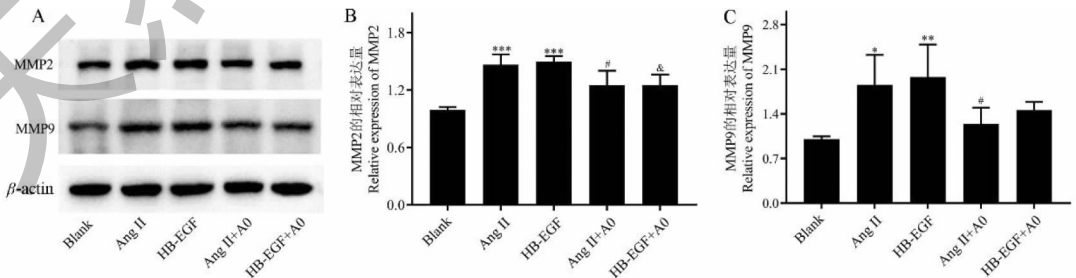


图 4 当归多糖对 Ang II 和 HB-EGF 诱导的 hVSMCs 中 MMP2 和 MMP9 表达的影响

Fig. 4 The effects of *Angelica* polysaccharides on the expression of MMP2 and MMP9 in Ang II and HB-EGF-induced hVSMCs

注:与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$;与 Ang II 组比较, # $P < 0.05$;与 HB-EGF 组比较, & $P < 0.05$ 。Note: Compared with blank group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; Compared with Ang II group, # $P < 0.05$; Compared with HB-EGF group, & $P < 0.05$.

而当归多糖血清预处理可以抑制 p-PI3K 和 p-AKT 的表达。PI3K 和 AKT 的表达水平在各组细胞中没有显著变化。

3.4 当归多糖通过抑制 PI3K/AKT 途径对 hVSMCs 增殖, 侵袭和迁移的影响

如图 6 和图 7 所示, PI3K/AKT 激动剂 IGF-1 处

理逆转了当归多糖血清预处理对 hVSMCs 增殖、迁移和侵袭水平的抑制作用。Western blot 实验结果表明, 与单独使用当归多糖血清预处理的 hVSMCs 相比, IGF-1 和当归多糖血清共处理的 hVSMCs 中, 迁移相关蛋白 MMP2 和 MMP9 的表达显著升高(见图 8)。

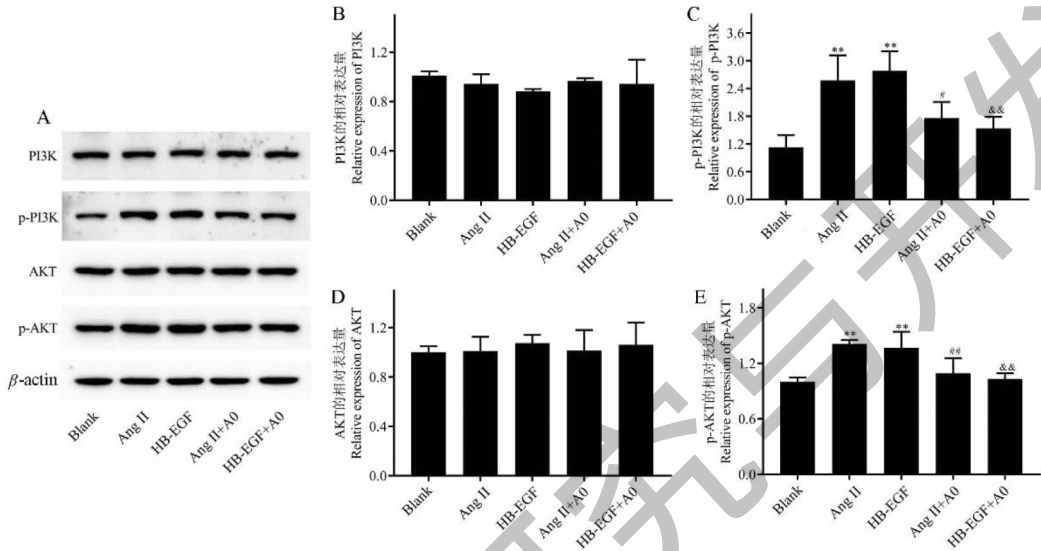


图 5 当归多糖对 PI3K/AKT 信号途径的调控作用

Fig. 5 The regulation of *Angelica* polysaccharides on PI3K/AKT signaling

注:与空白组比较, ** $P < 0.01$; 与 Ang II 组比较, * $P < 0.05$, # $P < 0.01$; 与 HB-EGF 组比较, && $P < 0.01$ Note: Compared with blank group, ** $P < 0.01$; Compared with Ang II group, * $P < 0.05$, # $P < 0.01$; Compared with HB-EGF group, && $P < 0.01$

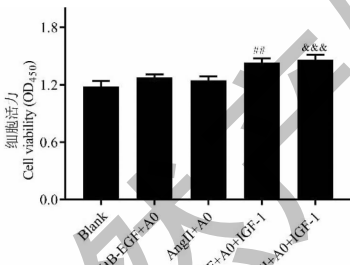


图 6 当归多糖通过抑制 PI3K/AKT 途径阻碍 hVSMCs 增殖

Fig. 6 *Angelica* polysaccharides inhibited the

proliferation of hVSMCs by suppressing the PI3K/AKT pathway

注:与 HB-EGF + A0 组比较, ## $P < 0.01$; 与 Ang II + A0 组比较, &&& $P < 0.001$. Note: Compared with HB-EGF + A0 group, ## $P < 0.01$; Compared with Ang II + A0 group, &&& $P < 0.001$.

4 讨论与结论

中药活性物质由于具有较少的副作用, 长期以来被用于预防 PCI 后的血管再狭窄。当归多糖作为当归的主要活性成分, 具有抗氧化、抗肿瘤、造血调

节、免疫调节和神经保护等多种重要的生物活性。研究发现, 当归多糖可以通过调节骨髓造血干细胞改善骨髓造血微环境^[4]。另外, 当归多糖通过抑制氧化应激和肝细胞凋亡, 可以改善过量对乙酰氨基酚 (acetaminophen, APAP) 所致的大鼠急性肝损伤^[5]。机制上, 当归多糖生物活性的发挥可通过调节多种信号途径实现。当归多糖通过下调 BNIP3 和激活 mTOR 和 Notch 信号通路调节缺氧诱发的大鼠神经干细胞的凋亡和自噬^[6]。最新研究发现, 当归多糖通过调节 p38 信号通路抑制宫颈癌 Hela 细胞生长、迁移和侵袭^[2]。然而, 当归多糖对血管平滑肌细胞增殖和损伤血管修复的作用及潜在机制尚未见研究。在本研究中, 我们发现当归多糖血清在体外显著抑制 Ang II 和 HB-EGF 诱导的 hVSMC 增殖、迁移和侵袭。并进一步证明当归多糖血清对 hVSMC 增殖、迁移和侵袭的抑制作用是通过抑制 PI3K/AKT 信号通路中的蛋白活性来实现的。

众所周知, Ang II 是一个是动脉粥样硬化、高血压和血管再狭窄的已知致病因素。据报道, 高水平

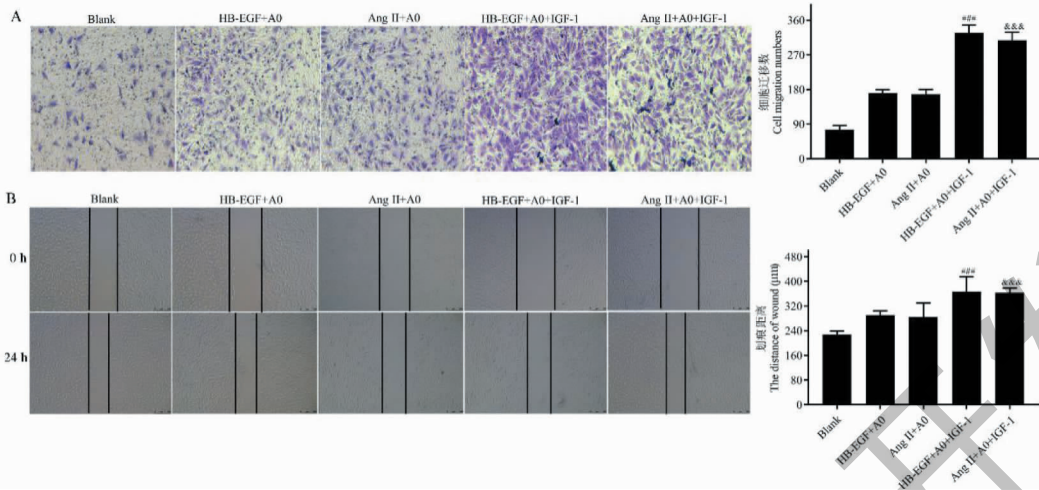


图 7 当归多糖通过抑制 PI3K/AKT 途径阻碍 hVSMCs 侵袭和迁移

Fig. 7 *Angelica* polysaccharides inhibited the invasion and migration of hVSMCs by suppressing the PI3K/AKT pathway

注: A:Transwell 小室检测 hVSMCs 迁移能力;B:划痕实验检测 hVSMCs 侵袭能力。与 HB-EGF + A0 组比较,###*P* < 0.001;与 Ang II + A0 组比较,###*P* < 0.001。Note:A:The migration ability of hVSMCs was measured by Transwell assay;B:The invasion ability of hVSMCs was detected using Wound Healing. Compared with HB-EGF + A0 group,###*P* < 0.001;Compared with Ang II + A0 group,###*P* < 0.001.

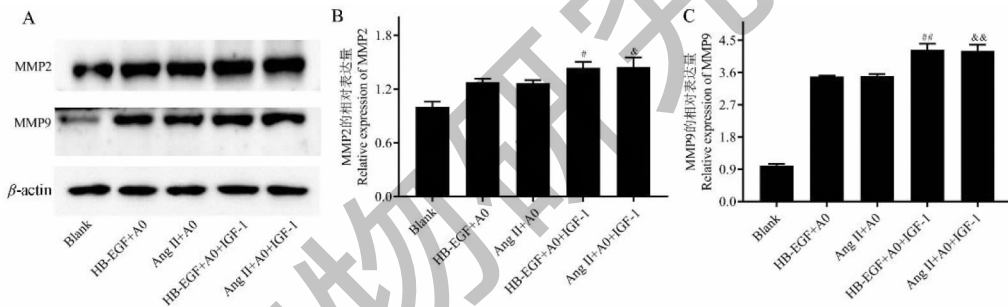


图 8 当归多糖通过抑制 PI3K/AKT 途径阻碍 MMP2 和 MMP9 的表达

Fig. 8 *Angelica* polysaccharides inhibited the expression of MMP2 and MMP9 by suppressing the PI3K/AKT pathway

注:与 HB-EGF + A0 组比较,**P* < 0.05,##*P* < 0.01;与 Ang II + A0 组比较,&*P* < 0.05,##*P* < 0.01。Note:Compared with HB-EGF + A0 group,**P* < 0.05,##*P* < 0.01;Compared with Ang II + A0 group,&*P* < 0.05,##*P* < 0.01.

的 HB-EGF 与支架内再狭窄的高风险发生率相关^[7]。本研究结果显示,Ang II 和 HB-EGF 可显著诱导 hVSMC 增殖、迁移和侵袭的发生。值得注意的是,当归多糖可以显著降低 Ang II 和 HB-EGF 诱导的 hVSMC 增殖、迁移和侵袭水平。此外,一些迁移调节蛋白,包括细胞粘附分子 ICAM1、VCAM-1、MMP2 和 MMP9 被报道为异常 VSMC 迁移的重要调节蛋白。MMPs,尤其是 MMP2 和 MMP9,在血管损伤后被快速激活。本研究结果表明当归多糖血清可以抑制 Ang II 和 HB-EGF 刺激诱导的 MMP2 和 MMP9 的表达。

PI3K/AKT 信号通路广泛调节细胞免疫、增殖、分化和凋亡过程^[8]。已有研究报道,PI3K/AKT 信

号通路在激活 hVSMC 增殖和迁移,并在血管损伤后新生内膜增生中发挥重要作用^[9,10]。PI3K/AKT 信号通路的激活可导致支架内血管再狭窄的发生^[11]。相反,含 AKT1 siRNA 的纳米颗粒洗脱支架能够有效缓解支架内再狭窄^[12]。在总动脉支架植入动脉模型中,吉非替尼涂层球囊可通过抑制 PI3K/AKT 信号通路而抑制 VSMC 增殖并促进细胞凋亡^[13,14]。还有实验发现,用 PDGF 刺激人肺动脉 VSMCs,可激活 PI3K,PI3K 通过使 AKT 下游的核糖体蛋白 p70S6K 磷酸化,进而调节核糖体 S6 蛋白,从而促进 VSMCs 增殖和迁移,且 IGF-1 能有效抑制这一过程,证明 PDGF 诱导 VSMCs 的增殖和迁移呈 PI3K 依赖性^[15]。Zhou 等^[16] 在体外模拟支架植入后

VSMCs 受到的力学刺激,发现鼠 VSMCs 加载 5% 和 20% 的潜力 6 h 可激活 PI3K/AKT 信号通路和下游的 GSK。另外,人参皂苷 R1 通过 PI3K/Akt 信号通路抑制 VSMC 增殖、迁移和新生内膜增生^[17]。本研究发现,PI3K/Akt 信号通路激动剂 IGF-1 可逆转当归多糖血清对 hVSMC 增殖、迁移和侵袭的抑制作用。

综上所述,当归多糖血清可成功抑制 Ang II 和 HB-EGF 刺激的 hVSMC 增殖、迁移和侵袭的增加,其重要的作用机理之一是降低了 PI3K/Akt 信号通路的活性,本研究为抗血管再狭窄提供了新的治疗策略。

参考文献

- 1 Han XJ, He D, Xu LJ, et al. Knockdown of connexin 43 attenuates balloon injury-induced vascular restenosis through the inhibition of the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells [J]. *Int J Mol Med*, 2015, 36: 1361-1368.
- 2 Tang ZR, Long QX, Liu XY, et al. *Angelica* polysaccharide inhibits the growth, migration and invasion of cervical cancer Hela cells by regulating the p38 pathway [J]. *Chin J Immunol* (中国免疫学杂志), 2020, 36: 332-337.
- 3 Tong SX, Guo WY. Effects of *Angelica* polysaccharides on antioxidant capacity and NOS and NO levels in kidney tissues of diabetic rats [J]. *Chin J Gerontol* (中国老年学杂志), 2015, 35: 7001-7002.
- 4 Wang GQ, Jing P, Jia SH. The effect of *Angelica* polysaccharides on the level of intercellular adhesion molecule 1 on the surface of mouse bone marrow hematopoietic stem cells and stromal cells [J]. *Chin J Tissue Eng Res* (中国组织工程研究), 2017, 21: 3293-3298.
- 5 Cao P, Sun J, Sullivan MA, et al. *Angelica sinensis* polysaccharide protects against acetaminophen-induced acute liver injury and cell death by suppressing oxidative stress and hepatic apoptosis *in vivo* and *in vitro* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 111: 1133-1139.
- 6 Xue Y, Dongmei L, Yige Z, et al. *Angelica* polysaccharide moderates hypoxia-evoked apoptosis and autophagy in rat neural stem cells by downregulation of BNIP3 [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47: 2492-2499.
- 7 Jiang H, Liu WW, Liu YS, et al. High levels of HB-EGF and interleukin-18 are associated with a high risk of in-stent restenosis [J]. *Anatol J Cardiol*, 2015, 15: 907-912.
- 8 Lin XM, Zhang XH, Yang JJ, et al. Protective effect of oviductus ranae on oxidative stress-induced injury in rat ovarian granulosa cells by activation of PI3K/Akt/NF- κ B signal transduction pathway [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2017, 29: 941-946.
- 9 Miyake H, Maeda K, Asai N, et al. The actin-binding protein Girdin and its Akt-mediated phosphorylation regulate neointima formation after vascular injury [J]. *Circ Res*, 2011, 108: 1170-1179.
- 10 Tucka J, Yu H, Gray K, et al. Akt1 regulates vascular smooth muscle cell apoptosis through FoxO3a and Apaf1 and protects against arterial remodeling and atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34: 2421-2428.
- 11 Zhu LH, Huang L, Zhang X, et al. Mindin regulates vascular smooth muscle cell phenotype and prevents neointima formation [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2015, 129: 129-145.
- 12 Che HL, Bae IH, Lim KS, et al. Therapeutic effect of Akt1 siRNA nanoparticle eluting coronary stent on suppression of post-angioplasty restenosis [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2016, 12: 1211-1222.
- 13 Zeng O. Gefitinib-coated balloon can inhibit intimal hyperplasia after vascular injury through PI3K/AKT pathway [D]. Hengyang: University of South China (南华大学), 2017.
- 14 Tang F, Liu M, Zeng O, et al. Gefitinib-coated balloon inhibits the excessive hyperplasia of intima after vascular injuries through PI3K/AKT pathway [J]. *Technol Health Care*, 2019, 27: 331-343.
- 15 Goncharova EA, Ammit AJ, Irani C, et al. PI3K is required for proliferation and migration of human pulmonary vascular smooth muscle cells [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2002, 283: L354-363.
- 16 Zhou RH, Lee TS, Tsou TC, et al. Stent implantation activates Akt in the vessel wall; role of mechanical stretch in vascular smooth muscle cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23: 2015-2020.
- 17 Fang H, Yang S, Luo Y, et al. Notoginsenoside R1 inhibits vascular smooth muscle cell proliferation, migration and neointimal hyperplasia through PI3K/Akt signaling [J]. *Sci Rep*, 2018, 8: 7595.