

心血管病的活血化癥治疗与骨髓干细胞动员*

□ 苏 海** 涂荣祖 (南昌大学医学院第二附属医院心内科 南昌 330006)

摘 要:干细胞研究已成为近年来的医学热点,一些研究表明,骨髓干细胞可以在心脏的环境条件下,横向转化为心肌细胞和血管内皮细胞,修复损伤心肌,尤其是近年发现的一些药物能够动员骨髓干细胞进入外周血液,然后到达损伤心肌中,这一新发现为中医药研究提供了思路。由于临床实践已经证实活血化癥治疗对缺血性心血管病有良好疗效,那么,活血化癥治疗是否具有动员骨髓干细胞的作用这一命题就值得深入研究。本文就此进行了深入探讨,以期在现代科学的最新层面上进一步阐明活血化癥治疗心血管病的机理。

关键词:心血管病 活血化癥 骨髓 干细胞 细胞动员

大量的临床实践已经证实活血化癥治疗对缺血性心血管病有良好疗效。近年研究表明骨髓干细胞(BMC)可以在心脏的环境条件下,横向转化为心肌细胞和血管内皮细胞,进而修复损伤心肌,保护心功能。现已证明一些西药,例如调整血脂的他汀类药物能动员骨髓内皮先祖细胞(EPC)进入外周血,修复损伤心肌和血管。因此对心血管病具有良好效果的活血化癥治疗,是否也能在BMC的这一层面上发挥某种效应,进而达到其治疗作用,值得人们去探索。

一、骨髓干细胞(BMC)动员和归巢

已经证实,急性心肌梗塞(AMI)和血管损伤后修复过程涉及到干细胞。包括两类干细胞:一是BMC,二是心肌和血管的原位干细胞。就BMC而言,有3个重要环节,首先是骨髓干细胞动员,即BMC增生

并促使其释放到外周血中;其次是BMC进入血循环向损伤部位的“归巢”;最后是BMC分化成受损组织的功能细胞。

1. 骨髓干细胞(BMC)的动员及其机制

成人外周血中也存在一定数量的干细胞,但是数量较少。研究发现,心肌缺血和AMI患者外周血中干细胞的比例明显增加。其原因是缺血缺氧心肌产生的某些物质刺激BMC增生和加速进入血液,即有BMC的动员作用。

Shintani等^[1]观察16名AMI患者,循环血中的内皮先祖细胞(EPC)和CD34⁺细胞显著增加;第7d到达高峰,28d后仍然维持在较高水平,而对照组8名无心肌缺血依据的患者则没有明显改变。研究同时观察血浆中6种主要造血因子:血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、粒细胞刺激因子(G-CSF)、粒细胞集落刺激因子(GM-CSF)、白介素-3(IL-3)和白介素-8(IL-8)的水平,发现只有VEGF水平显著升高。而且VEGF变化曲线与

收稿日期:2005-08-09

修回日期:2005-10-17

* 国家中医药管理局课题(0405JP34):丹参素和复方丹参滴丸在急性心肌梗死的骨髓干细胞动员作用,负责人:苏海。

** 联系人:苏海,医学博士,教授,博士生导师,主任医师,主要研究方向:冠心病, Tel: 0791-6292695, E-mail: suyihappy@sohu.com。

[World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica] 41

EPC 的升高曲线相一致,表明 VEGF 可能参与了干细胞的动员。

Adams^[2]等发现运动负荷诱发心肌缺血的冠心病患者循环血中 EPC 数量明显增多,24h~48h 达高峰。VEGF 则在 2h~6h 开始增加;而未诱发心肌缺血的患者,以及健康组 EPC 和 VEGF 无明显增加;缺血心肌释放的炎症因子和 VEGF 可能动员 EPCs 进入外周血,从而使 EPCs 增多。

关于心肌原位干细胞的研究较少。Hidemasa^[3]等研究发现小鼠心肌中存在心肌先祖细胞,它可以表达 Sac-1,心肌缺血时 Sac-1 表达增加,可能是心肌损伤后使这些细胞发生动员。

2. 骨髓干细胞(BMC)的“归巢”

在骨髓移植治疗中,归巢(homing)指的是血液中的干细胞定位在骨髓,而不是在其它的器官的现象。而在心血管病的治疗中,归巢是指 BMC 趋向并停留于受损的心肌和血管,是另一种意义上的归巢。

无论是动物试验还是临床研究,已经证实 BMC 的心血管归巢现象。在结扎左前降支造成 AMI 的大鼠模型,静脉注射取自转基因动物的骨髓细胞,一周后组织学发现能表达特殊的基因产物的外来细胞聚集在梗死灶及梗死周边区的心肌和新生血管上,而无梗死的对照组动物心肌组织则无上述表现。表明外周血中的 BMC 能够归巢于受损心脏。在 AMI 患者,也证实 BMCs 能归巢于受损心肌。

循环血中的干细胞如何被“征募”到受损的心肌和血管,目前尚不完全明了。心肌和血管损伤所导致的微循环的改变,尤其是损伤部位存在的一些细胞活性因子起了重要的作用。例如间质细胞衍生因子-1(SDF-1)也可能参与了 BMC 的归巢,作为趋化因子受体 CXCR4 和它的配体 SDF-1 在血管和血细胞生长中起到重要的作用。

二、骨髓干细胞(BMC)药物动员

急性心肌梗死时虽然存在自身的代偿性 BMC 动员作用,但其程度毕竟有限,可能不足以快速、有效修复损伤心肌。加之,BMC 的增殖和分化能力也可以受到多种因素的影响,进而限制修复的效果。因此,

许多研究者正力图发掘具有 BMC 的增殖、迁移和分化能力的药物。

1. 细胞因子

研究的最早和最多的药物是细胞因子。Takahashi^[4]等在兔后肢缺血模型中使用粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)50μg/d 肌注 7d,血循环中 EPC 的数量较对照组明显增多,这种现象称为药物性 EPC 动员。GM-CSF 可能通过降低 EPC 的表面粘附分子数量,促进 EPC 脱离骨髓、进入血液循环。Orlic 等^[5]在 AMI 小鼠,证实人粒细胞刺激因子(G-CSF)和大鼠干细胞因子(SCF)可以动员 BMC,并促进心肌和血管的再生,与对照组相比,第 27d 治疗组的小鼠死亡率下降 68%,心肌坏死面积减少 40%,左室舒张末容积减小 26%。射血分数增加 114%。Kocher^[6]等给 AMI 模型大鼠注射 G-CSF 后,血液中 CD34⁺细胞增加,2 周后心肌瘢痕面积明显小于对照组。左室收缩功能更好。

临床上也观察到 G-CSF 具有 BMC 动员作用。Seiler^[7]等对 21 例不宜行搭桥手术的病变广泛的冠心病患者,每天皮下注射 GM-CSF10μg/Kg,2 周后有创性检查发现冠脉血管侧枝循环明显增加。在 3 名行冠脉介入治疗的患者,Kang^[8]等观察到 G-CSF 治疗可使坏死区域心肌生成血管,心功能得到改善,但同时也发现其中的 2 名患者均发生了再狭窄,提示 BMC 动员可能促使血管平滑肌增生。因此用细胞活性因子治疗 AMI 患者的安全性和可行性受到质疑。

细胞因子除 BMC 动员作用外,是否还有促进归巢作用,现在尚不清楚。

2. 其他药物

除 GM-CSF 外,他汀类药物也具有 BMC 动员作用。Kureishi^[9]研究发现在新西兰白兔缺血模型中,塞伐他汀 0.1mg/kg 腹腔注射也显示 EPCs 动员。Vasa 等^[10]随机选取 15 名稳定性心绞痛患者作为阿伐他汀 40mg/d 治疗组,9 名健康者作为对照组。结果发现阿伐他汀可以明显增加循环中的 EPC 的数量,4 周后治疗组 EPC 的数量较未治疗组增加 4 倍。他汀药物机理可能是通过 PI₃-Kinase/AKT 途径、促进骨髓源

EPC 进入血液循环。

他汀类药物还可能具有延缓干细胞衰老的作用。Assmus 等^[11]从健康人外周血中分离出 EPC,在体外培养,以酸性 β 半乳糖苷酶染色作为判断其衰老的标志,结果显示,阿伐他汀和莫伐他汀均能明显延缓 EPC 的衰老、使 EPC 数目增多。

三、活血化瘀与骨髓动员

目前,活血化瘀治疗与骨髓动员的研究多局限在血液学方面。一项研究表明^[12],川芎嗪对骨髓移植小鼠的骨髓造血功能有良好的影响,并认为川芎嗪促使静脉注射的骨髓细胞归巢宿主骨髓是其原因。舒砚君^[13]等在免疫介导的再生障碍性贫血(再障)小鼠中,发现喂饲川芎嗪组的骨髓细胞 CD34 抗原阳性细胞明显增加,在相似的再障小鼠,三七总皂苷能通过促进骨髓粒系、红系造血祖细胞的增殖,从而促进血细胞的生成。

叶铁真^[14]等在家兔试验发现,静脉注射丹参组外周血中的单个核细胞在体外半固体培养时,粒-巨噬系祖细胞(CFU-GM)的集落生成数量明显增加,用药 8 天时 CFU-GM 集落生成数量为对照组的 6.18 倍,证实丹参具有 BMC 动员作用或促 BMC 增殖作用,其机理可能与改善骨髓造血微循环、促进造血细胞增殖分化并向外周血迁移等有关。王兴祥^[15]、张芙蓉^[16]等在人纤维连接蛋白包被培养板中培养人 EPC,并分别加入银杏叶提取物和葛根素 24h 后,药物组 EPC 数目较对照组增加 1 倍,且 EPC 数量随药物作用时间延长而增加,同时 EPC 的粘附、迁移、增殖能力也得到了显著改善。上述研究证实活血化瘀治疗可以影响到血液-骨髓屏障的功能,促进 BMC 的增殖作用。

四、活血化瘀与心肌损害的修复

活血化瘀是多种心血管病中医治疗的重要治则,已有的研究证实,活血化瘀治疗可以明显改善血液循环的多项参数,如降低血粘度、抗血小板凝聚、扩血管、改善微循环等。一些研究表明活血化瘀治疗还有抗氧自由基、抗细胞内钙超载、调节能量代谢、抗

细胞凋亡等效果。

然而,活血化瘀与 BMC 动员之间是否有关联目前未见研究报道,因此这一课题值得深入研究。我们的一项动物试验初步证实,复方丹参滴丸具有 BMC 动员作用。联用垂体后叶素和呋喃唑酮造成大鼠心肌损伤模型后,第一周模型组外周血中 CD34⁺细胞比率明显高于对照组,而且,复方丹参滴丸治疗组 CD34⁺细胞比率又明显高于模型组,在第 3、6 周末仍有增高趋势。6 周末治疗组心腔扩张程度明显减轻,心功能好于模型组。结果表明,在心肌损伤早期机体自身存在一定程度的 BMC 动员作用,加用复方丹参滴丸能进一步增强损伤的 BMC 动员作用,继而减轻心室扩张、保护心功能。这一初步结果可能为活血化瘀治疗心血管病的机理研究带来启迪。

我们相信,深入研究活血化瘀与 BMC 动员的关系,将为中医活血化瘀治法提供新的现代医学依据,不仅在理论上、而且在临床实践中均具有重要价值。

参考文献

- 1 Shintani S, Murohara T, Ikeda H, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. 2001, 103: 2776~2779.
- 2 Adams V, Lenk K, Linke A, et al. Increase of circulating endothelial progenitor cells in patients with coronary artery disease after exercise-induced ischemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004, 24: 684~690.
- 3 Hidemasa OH, Bradfult SB, Gallardo TD, et al. Cardiac progenitor cells from adult myocardium: Homing, differentiation, and fusion after infarction. *PNAS*. 2003, 100(21): 12313~12318.
- 4 Takahashi T, Kalka C, Masuda H, et al. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med*. 1999, 5: 434~438.
- 5 Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *PNAS*. 2001, 98(18): 10344~10349.
- 6 Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nature medicine*. 2001, 7(4): 430~436.

(下转第 56 页)

- method for measurement of 5-hydroxymethyl-furfuraldehyde and furfuraldehyde in processed juices. *Bioseparatio.* 1992,3(2-3):177~184.
- 35 Lo Coco F, Novelli V, Valentini C, et al. High-performance liquid chromatographic determination of 2-furaldehyde and 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in fruit juices. *J Chromatogr Sci*, 1997,35(12):578~583.
 - 36 Kubo M, Asano T, Matsuda H, et al. Studies on *Rehmanniae radix*. III. The relation between changes of constituents and improvable effects on hemorheology with the processing of roots of *Rehmannia glutinosa*. *Yakugaku Zasshi*, 1996,116(2):158~168.
 - 37 Hideaki Matsuda, Yasuyuke Tsukioka, Kenzo Moriyama, et al. Studies on *Rehmanniae Radix*. V. 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyde, Active Constituent of the Steamed Root of *Rehmannia glutinosa* Having Increasing Activity of Erythrocyte Deformability in Rats. *Natural Medicines*, 2004, 58(1):34~37.
 - 38 Vinay K. Sharma, Jinsuk Choi, Niti Sharma, et al. In vitro anti-tyrosinase activity of 5-(Hydroxymethyl)-2-furfural isolated from *Dicthyophora indusiata*. *Phytother. Res*, 2004, (18):841~844.
 - 39 Hou YC, Ching H, Chao PD, et al. Effects of glucose, fructose and 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde on the presystemic metabolism and absorption of glycyrrhizin in rabbits. *J Pharm Pharmacol*, 2005,57(2):247~251.
 - 40 Miyazawa M, Anzai J, Fujioka J, et al. Insecticidal compounds against *Drosophila melanogaster* from *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. *Nat Prod Res.* 2003,17(5):337~339.
 - 41 Zhang XM, Chan CC, Stamp D, et al. Initiation and promotion of colonic aberrant crypt foci in rats by 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in thermolyzed sucrose. *Carcinogenesis*, 1993,14(4):773~775.
 - 42 Surh YJ, Tannenbaum SR. Activation of the Maillard reaction product 5-(hydroxymethyl) furfural to strong mutagens via allylic sulfonation and chlorination *Chem Res Toxicol*, 1994, 7(3):313~318.
 - 43 Rasmussen A, Hesselov I, Bojsen-Møller M. General and local toxicity of 5-hydroxymethyl-2-furfural in rabbits. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*, 1982, 50(2):81~84.
 - 44 Miyakawa Y, Nishi Y, Kato K, et al. Initiating activity of eight pyrolysates of carbohydrates in a two-stage mouse skin tumorigenesis model. *Carcinogenesis*, 1991,12(7):1169~1173.
 - 45 Janowski C, Glaab V, Samimi E, et al. 5-Hydroxymethylfurfural: assessment of mutagenicity, DNA-damaging potential and reactivity towards cellular glutathione. *Food Chem Toxicol*, 2000,38 (9):801~809.
 - 46 Jacques-Edouard Germond, Georges Philipposian, Urs Richli, et al. Rapid and complete urinary elimination of [14C]-5-Hydroxymethyl-2-furaldehyde administered orally or intravenously to rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 1987,22:79~89.
 - 47 夏云,李志明,朱丹妮等. 生脉散复方化学动态变化与药效关系的研究—生脉散复方化学的研究 (I). *中国中药杂志*, 1998,23(4):230~231.
 - 48 朱丹妮,李志明,严永清等. 生脉散复方化学的动态变化与药效关系的研究—生脉散复方化学的研究 (II). *中国中药杂志*, 1998,23(5):291~295.
 - 49 朱丹妮,严永清,李志明. 生脉散复方化学动态变化与药效关系的研究—生脉散复方化学的研究 (III). *中国中药杂志*, 1998, 23(8):483~485.

(责任编辑:付建华)

(上接第43页)

- 7 Seiler C, Ohl T, Wustmann K, et al. Promotion of colony-stimulating factor in patients with artery disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Circulation*, 2001,104:2012~2017.
- 8 Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, et al. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomised clinical trial. *The Lancet*, 2004, 363:751~756.
- 9 Kureishi Y, Luo Z, Shiojima I, et al. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. *Nat Med*, 2000, 6:1004~1010.
- 10 Vasa M, Fichtlscherer S, Adler K, et al. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation*, 2001,103:2885~2890.
- 11 Dimmeler S, Aicher A, Vasa M, *J Clin Invest*. 2001, 108:391~397.
- 12 Assmus B, Urbán C, Aicher A, et al. HMG-CoA reductase inhibitors reduce senescence and increase proliferation of endothelial progenitor cells via regulation of cell cycle regulatory genes. *Circ Res*. 2003, 92:1049~1055.
- 13 孙汉英,房明皓,任天华,等. 川芎嗪对骨髓移植小鼠骨髓造血的影响. *中国中西医结合杂志*, 2002, 22:365~368.
- 14 舒砚君,孙汉英,董凌莉,等. 川芎嗪对免疫介导的再生障碍性贫血小鼠骨髓细胞 CD34 抗原表达的影响. *中国中西医结合杂志*, 1998, 2(18):107~108.
- 15 叶铁真,吴梓梁. 丹参注射液对家兔粒-巨噬系祖细胞动员作用的研究. *实验血液学杂志*, 1995, 3(1):68~73.
- 16 王兴祥,尚云鹏,陈君柱,等. 银杏叶提取物对外周血内皮祖细胞数量和功能的影响. 2004, 8(9):656~660.
- 17 张芙蓉,陈君柱,朱军慧,等. 葛根素对外周血内皮祖细胞数量和功能的影响. 2004, 8(29):777~780.

(责任编辑:付建华)

prescription on the apoptosis and the expression of protein bcl-2 and bax associated with apoptosis in cellular model of Alzheimer's disease. **Methods** To respectively apply decoction-containing cerebrospinal fluid and decoction-containing serum to cellular model of Alzheimer's disease established by A β_{25-35} inducing NG₁₀₈₋₁₅ cells and then observe the growth of cells under microscope, testing the apoptosis of cells by flow cytometric analysis and the expression of the protein bcl-2 and bax by the method of immunohistochemistry. **Results** In comparison with the model group the rate of cell apoptosis is lower ($p < 0.05$), the expression of bcl-2 assumes no apparent difference ($p > 0.05$), the expression of bax protein becomes weaker ($p < 0.1$) and the ratio of bcl-2/bax goes up ($p < 0.1$) in the groups of decoction-containing cerebrospinal fluid and decoction-containing serum. **Conclusion** The improved prescription of Wenden decoction is able to effectively inhibit the apoptosis of cellular model of Alzheimer's disease and its functional mechanisms may be associated with its intervention in the expression of the gene bax related to apoptosis and the rise of bcl-2/bax ratio.

Key Words Alzheimer's disease, Cerebrospinal fluid, NG₁₀₈₋₁₅ cell, apoptosis, Wenden decoction.

Treatment of Cardio-vascular Diseases via Promoting Blood Circulation and Removing Blood Stasis As Well As Mobilization of Stem Cells of Bone Marrow for Them

Su Hai and Tu Rangzu

*(Department of Heart Diseases of the Second Hospital,
School of Medical Sciences of Nanchang University, Nanchang 330006)*

The research of stem cells has become a hotpoint in the area of medical sciences in recent years. Some research results have shown that stem cells of bone marrows can be transversely transformed into cardiocytes and vascular endothelial cells to recover injured myocardium and it is found in the last years, in particular, that some medicines are able to mobilize the stem cells of bone marrow to reach peripheral blood and then injured myocardium. Such new discoveries have provided the study of traditional Chinese medicine with a new train of thought. Now that clinical practice has confirmed that the treatment of promoting blood circulation and removing blood stasis has good curative effect for ischemic cardiovascular diseases, the subject of whether this kind of treatment can play such a role as to mobilize the stem cells of bone marrow is worth deep studies. In this article this subject is deeply discussed in the hope that the mechanisms of the treatment of promoting blood circulation and removing blood stasis for cardiovascular diseases can be further expounded on the basis of the latest research results of modern sciences.

Key Words Cardiovascular diseases, promoting blood circulation and removing blood stasis, bone marrow, stem cell, mobilization

Study and Application of A Device integrating Pressure and B-ultrasound for Acquisition of pulse Message in Traditional Chinese Medicine

Yang Jie, Niu Xin, Xu Yuanjing and Niu Shudong

(Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029)