

·思路与方法·

从骨髓间充质干细胞移植探讨急性心肌梗死心血瘀阻证病机

李勇华¹ 郑景辉² 袁肇凯²

(1. 重庆三峡医药高等专科学校, 重庆市万州区百安坝天星路366号, 404020; 2. 湖南中医药大学)

[摘要] 急性心肌梗死(AMI)的主要病理为心血瘀阻,骨髓间充质干细胞(MSCs)移植能改善缺血心肌功能,可以从MSCs移植探讨AMI心血瘀阻证的病机。在探讨的必要性、要解决的关键问题、中药干预研究等方面进行了研究思路的分析。

[关键词] 骨髓间充质干细胞;急性心肌梗死;心血瘀阻;病机研究

急性心肌梗死(AMI)属中医“真心痛”范畴,是由于冠状动脉粥样硬化、血栓或痉挛等导致血管闭塞、血流中断,使部分心肌因严重的持久性缺血而发生局部坏死所致,为临床常见急重症,具有较高的病死率。近年来研究表明,通过骨髓间充质干细胞(MSCs)移植改善缺血心肌功能,重建梗死心肌丧失的心肌细胞以治疗缺血性心脏病,显示有良好的临床应用前景,已成为国内外心血管病研究领域的热点^[1]。传统中医学强调辨证论治,因为辨证论治能把临床治疗效应扩放到最佳。那么,如何把MSCs的移植治疗和AMI的证候学结合起来,探明二者之间的内在规律,对提高AMI的疗效,具有重要的意义。

1 探讨的必要性

杨国勋等^[2]研究发现,经MSCs移植治疗的梗死心肌内可见BrdU阳性细胞,电镜下可见幼稚的细胞,胞核大,染色质颗粒细而均匀,以常染色质为主,可见由肌微丝刚形成的小肌原节和发育程度不同的肌原纤维,部分与正常心肌形成缝隙连接,结论认为,MSCs移植能减轻心肌细胞坏死,并有可能通过分化为心肌细胞来修复梗死心肌。薛铮等^[3]用介入的方法将自体骨髓干细胞移植入AMI部位,观察其安全性及对心功能的改善情况,结论认为,经冠状动脉自身骨髓干细胞移植安全性好,左室收缩功能明显改善。杨国胜等^[4]观察经冠状动脉输注MSCs移植的疗效,发现实验组犬的病理、超声心动图、血流动力学指标均有明显改善,结论认为,经冠状动脉输注MSCs移植,能分化为心肌细胞,促进梗死区新生血管形成并改善心脏功能。已经有不少的实验和临床研究证实,应用MSCs移植治疗AMI的疗效是明确的,而且研究还正在向细胞分化、

细胞融合和旁分泌等方面不断深化^[5]。

研究发现^[6],AMI中医证候大都以组合的形式出现,其中心血瘀阻、气虚血瘀、气虚血瘀痰阻和气滞血瘀最为常见。结合现代医学的认识可见,心血瘀阻是AMI的基本病理。对于心血瘀阻证的病机研究已经涉及到了血脂代谢、血管内皮功能、凝血机制、血液流变学、血液动力学、血凝动力学、微循环、血细胞的功能、血液各种成分、心脏的心电活动和内分泌系统、基因、免疫、蛋白质组学等几方面的本质阐释。但是迄今为止还没有从MSCs移植的角度来探讨其对AMI不同证候影响的研究,更没有目的明确的针对AMI心血瘀阻证的病理本质研究。

目前制约缺血心肌的骨髓干细胞移植应用的瓶颈,也是当前干细胞研究领域的焦点表现在三个方面:(1)MSCs体外诱导分化为心肌细胞的转化率较低;(2)MSCs移植于梗死心肌的存活率较低;(3)骨髓干细胞动员归巢于心肌的百分率较低。如果有研究能阐明AMI心血瘀阻证与这三个瓶颈尤其是与“归巢”问题的本质联系,也就能阐明MSCs移植对AMI心血瘀阻证的影响,将能在多方面改进和提高MSCs移植治疗AMI的技术,为中医药的介入拓展空间,在微观的层面上发挥辨证论治的优势。

2 要解决的关键问题

2.1 造模

引起AMI心血瘀阻的主要原因有气虚、气滞、痰凝、气阴两虚、阳虚寒凝等。心血瘀阻为诸因导致的共同病理,有学者^[6,7]认为,AMI的主要原因为心气亏虚,多由年迈体衰、劳倦、饮食所伤等引起,使心气无力推动血脉,造成心血瘀阻、脉道不通而发病,AMI的最主要病机为气虚血瘀。然而目前的AMI造模(大鼠)方法主要为:结扎左冠脉前降支,使左室前壁失去原有光

泽而变苍白,出现搏动减弱,心电监测见肢体导联 R 波振幅明显升高,随后出现 I 导联和 aVL 导联 S-T 段明显抬高,证实大鼠 AMI 造模成功。很明显,这种造模方法并没有中医证候的特色,不能体现机体的复杂病理。如果选用雄性兔,通过饲喂胆固醇粉末、注射牛血清蛋白、放血等程序先造成心气虚证动物模型^[8],实际上同时也具备了痰瘀、气滞的病理,然后再如前述方法造成 AMI,这样与临床实际的符合程度就能够大大提高。

2.2 选择微观指标

心血瘀阻证的微观病机研究涉及到的方面已如前所述。MSCs 移植治疗 AMI 研究同样涉及到的方面有:杨晶等^[9]研究发现,QY1骨髓多能间质干细胞系细胞在体外特定条件下具有分化为心肌细胞和血管内皮细胞的能力;张春来等^[10]研究发现,MSCs 移植到实验性大鼠心肌梗死模型后成功存活,能降低血清中增高的细胞间黏附分子1与血管内皮细胞黏附分子1含量,提示骨髓间充质干细胞移植可能通过降低黏附分子的表达来改善血管内皮功能;井玲等^[11]研究发现,骨髓基质干细胞体外诱导后能分化为心肌样细胞,植入到瘢痕心肌组织中生存、增殖良好,可改善心电图及心肌弹性,从而改善心肌梗死大鼠的心功能;杨国勋等^[12]研究发现,MSCs 移植可能通过缩小心肌梗死面积改善心功能,可用于心肌梗死的治疗;李杨等^[13]研究发现,MSCs 移植后可能通过刺激与能量合成相关和心肌收缩相关基因的表达,一方面促进心肌能量合成,另一方面 MSCs 可能分化为新的心肌细胞,增加心肌收缩力,从而改善心肌组织功能;王文等^[14]研究发现,芪丹通脉片具有促进 MSCs 在缺血心肌中转化为内皮细胞,增加毛细血管密度的作用。

由上可见,MSCs 移植和心血瘀阻证在心功能、血管内皮功能、血管新生等方面已经有共同的研究指标,那么提示,揭示二者(尤其是骨髓干细胞动员归巢与心血瘀阻)之间的内在联系是完全可能的,只是最佳的指标还有待于逐步发现和验证。我们认为,可以从心功能、心肌细胞分化增殖状态、心肌组织的形态变化、缺血区血管生长因子含量、血流动力学、心电图、超微结构、血液流变学、基因、免疫、蛋白质组学等方面来确定检测指标。当然,除了微观指标,在宏观辨证的症征方面揭示二者之间的联系同样具有重要意义。

3 中药干预研究

如前所述,MSCs 在移植梗死心肌的过程中存在“诱导分化”、“移植存活”、“动员归巢”等三个环节的瓶颈。中医药治疗缺血性心脏病经验丰富,疗效确切,从某些抗心肌缺血确有疗效的中医名方之中,筛选出能

诱导 MSCs 的扩增和向心肌样细胞分化,改善缺血心肌的微环境,提高 MSCs 移植梗死心肌的存活率,促进骨髓干细胞归巢于梗死心肌等作用的有效成分部位,配伍组方,开展实验和临床研究,对于克服现代干细胞移植研究中的某些困境,提高缺血心肌的骨髓干细胞移植水平,加速心肌缺血性疾病的干细胞移植的临床应用,阐释中医方药防治缺血性心脏病的机理,都具有十分重要的理论和临床意义。

国内研究表明,人参总皂苷对 MSCs 分化为心肌样细胞具有诱导作用,孔晓丹等^[15]报道,三七皂苷能定向诱导猪骨髓基质细胞向心肌样细胞分化。现代药理研究表明,某些益气活血化瘀中药,如丹参素、川芎嗪、三七皂苷等及名方血府逐瘀汤、丹参饮、养心通脉方等均可扩张冠状动脉,增加心肌血流量,提高心肌缺血耐受力,减轻血管内皮细胞凋亡,促进血管内皮生长因子的产生和缺血心肌毛细血管新生,改善心肌微循环血供,从而形成一个有利于移植干细胞存活的微环境。近年来,有报道在中医药抗心肌缺血的临床和实验研究中,经过血管实验模型的验证后,发现某些益气活血中医方药能在一定程度上上调 VEGF、bFGF 表达,促进血管新生^[16,17]。由上可见,目前有研究证实,活血化瘀的方剂、中药、中药成分在 MSCs 移植的“诱导分化”、“移植存活”、“动员归巢”等三个环节上均有一定的促进作用。只是,在骨髓干细胞移植缺血心肌的过程中,此类益气活血化瘀的方药是否仍有同样的作用,还有待于进一步深入研究。

由于中药干预的研究,就在 MSCs 移植、AMI 心血瘀阻证和活血化方药三者之间架起了汇通的桥梁,我们可以据此探求三者彼此之间的内在联系,相互阐释和证实,在反复的实验和临床研究中寻找疗效确切的中药单体、复方及其制剂。

参考文献

- [1]Keller G·Embryonic stem cell differentiation;emergence of a new era in biology and medicine·Genes Dev, 2005, 19(10): 1129~1155.
- [2]杨国勋,刘唐威,钟国强,等·骨髓间质干细胞移植后心肌梗死区的超微结构变化·中国急救医学,2007,27(3): 240~241.
- [3]薛铮,冯燕光,崔炜,等·急性心肌梗死患者自体骨髓干细胞移植疗效观察·河北医药,2007,29(8): 807~809.
- [4]杨国胜,杨跃进,白东峰,等·经冠状动脉移植骨髓间质干细胞治疗心肌梗死的实验研究·中国循环杂志,2007,22(1): 20~23.
- [5]凌树宽,李莹辉,戴钟铨,等·骨髓间质干细胞修复受损心肌研究进展·中国生物工程杂志,2007,27(6): 107~110.
- [6]农一兵,林谦,王薇,等·急性心肌梗死中医辨证论治现状的

- 研究——基于北京288例患者的横断面调查. 北京中医, 2007, 26(7): 387~388.
- [7] 翁维良主编. 活血化瘀治疗疑难病. 北京: 学苑出版社, 1993: 132.
- [8] 陈主初, 吴端生主编. 实验动物学. 长沙: 湖南科技出版社, 2001: 163.
- [9] 杨晶, 谢祁阳, 向红霞. QY1骨髓多能间质干细胞系向心肌细胞和血管内皮细胞分化. 中南大学学报(医学版), 2007, 32(1): 93~98.
- [10] 张春来, 许丹, 尚小明, 等. 骨髓间充质干细胞移植对急性心肌梗死大鼠血管内皮功能的影响. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(11): 2087~2090.
- [11] 井玲, 李为民, 赵翠萍, 等. 骨髓基质干细胞移植对正常和心肌梗死大鼠心电图及心功能的影响. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(28): 5553~5556.
- [12] 杨国勋, 刘唐威, 钟国强, 等. 骨髓间充质干细胞移植对心肌梗死后心功能的影响. 中国危重病急救医学, 2007, 19(7): 428~430.

- [13] 李杨, 陈沅, 田杰, 等. 骨髓间充质干细胞移植改善心肌梗死大鼠心功能相关基因的初步筛选. 中华儿科杂志, 2006, 44(10): 787~791.
- [14] 王文, 李军昌, 张金洲, 等. 芪丹通脉片对移植后骨髓间充质干细胞分化为内皮细胞的协同作用. 中华老年心脑血管病杂志, 2007, 9(7): 482~484.
- [15] 孔晓丹, 曲鹏, 王彦, 等. 三七皂甙诱导骨髓基质细胞分化为心肌样细胞的实验研究. 中国心血管病研究杂志, 2005, 3(7): 528~530.
- [16] Yamaguchi J, Kusano KF, Masuo O, et al. Stromal cell-derived factor-1 effects on ex vivo expanded endothelial progenitor cell recruitment for ischemic neovascularization. Circulation, 2003, 107(9): 1322~1328.
- [17] 汪姗姗, 李勇, 范维琥, 等. 麝香保心丸对鸡胚绒毛尿囊膜及培养的血管内皮细胞的促血管生成作用. 中国中西医结合杂志, 2003, 23(2): 128~131.

(收稿日期: 2008-05-12)

[编辑: 黄健]

丹红注射液辅助治疗肺心病合并心力衰竭42例

张毅宏 霍兴兰 魏维付 莹 赵虹

(天津市北辰区第一医院内科, 天津市北辰区北医道7号, 300400)

肺原性心脏病(肺心病)心力衰竭时心功能的改善对肺心病的预后直接影响。我科采用丹红注射液对肺心病心力衰竭患者进行辅助治疗, 疗效满意, 现报告如下。

1 临床资料

83例肺心病合并心力衰竭病例均为2004年12月~2006年2月在我科住院患者, 均符合全国第二次肺心病专业会议制定的《慢性肺心病诊断标准》。心功能按美国纽约心脏协会标准分级。全部患者经心电图、X线胸片、超声心动图等检查, 除外其它心脏病引起的心力衰竭。其中心功能二级13例, 心功能三级47例, 心功能四级23例。病程10~35年。随机分为两组: 治疗组42例, 男24例, 女18例, 年龄60~85岁, 平均(68±5.0)岁; 对照组41例, 男25例, 女16例, 年龄60~86岁, 平均(67±6.0)岁。两组年龄、性别、病程、心力衰竭及呼吸衰竭程度等基本相似($P>0.05$), 具有可比性。

2 治疗方法

对照组采用控制感染、止咳、化痰、解痉、平喘、持续低流量吸氧、保持呼吸道通畅、纠正电解质及酸碱失衡、强心、利尿等常规治疗。治疗组在上述常规治疗的基础上每次加用丹红注射液40ml(步长制药有限公司生产, 每支10ml, 相当于生药20g)加入5%葡萄糖注射液250ml静脉滴注, 每日1次, 14天为1个疗程。两组均在治疗1个疗程后评定疗效。

3 疗效观察

3.1 疗效判定标准

显效: 心功能改善二级, 水肿完全消失、肝脏缩小2cm以上, 颈静脉怒张消退, 两肺湿啰音消失或明显减少, 咳嗽、气喘、紫绀明显缓解, 尿量、咳痰以及心悸、水肿等症均有明显改

善。有效: 心功能改善一级, 咳嗽、咳痰、心悸、水肿等症均有不同程度改善。无效: 心功能以及咳嗽、咳痰、心悸、水肿等症无改善甚至恶化、死亡。

3.2 两组临床疗效比较

治疗组42例, 显效28例, 有效12例, 无效2例, 总有效率为95.2%; 对照组41例, 分别为16例、16例、9例、78.0%。治疗组疗效明显优于对照组($P<0.05$)。

3.3 两组治疗前后血液流变学指标变化比较

结果表明, 治疗组全血黏度高切、全血黏度低切、红细胞比容、红细胞电泳时间治疗后较治疗前均有明显改善($P<0.05$), 对照组治疗后改善不明显($P>0.05$)。

4 讨论

丹参是活血祛瘀药, 实验证明, 丹参抑制血小板合成前列腺素, 从而抑制血小板的黏附和聚集, 降低血黏度, 抑制血栓形成; 同时丹参还能促进纤维蛋白降解作用, 加快已形成的微血栓溶解, 改善微循环加快血流速度, 改善瘀血状况; 丹参能扩张肺循环解除血管痉挛, 使肺动脉压降低; 丹参还能扩张冠状动脉, 使之阻力下降, 血流量增加, 同时提高心肌缺氧能力; 另外, 丹参对革兰氏阳性菌及部分革兰氏阴性菌有抑制作用, 并增加机体免疫功能。红花提取物是由菊科植物红花提取制备, 含大量黄酮类化合物。主要成分为红花黄色素。红花黄色素有抑制二磷酸腺苷诱导的血小板聚集作用, 有防止血栓形成和发展或促进血栓溶解作用。提示红花总黄色素可能通过抑制PAF所致血小板钙离子内流而使血小板活化受到抑制, 起到保护心血管的作用。