

人脐血单个核细胞静脉移植联合复方丹参滴丸对急性心肌梗死局灶炎症反应的影响

邓柳霞 余国龙 艾 旗 袁春菊

摘要 **目的** 观察复方丹参滴丸(Compound Danshen Dripping Pill, CDDP)对急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)心肌组织炎症反应的影响,观察人脐血单个核细胞(human umbilical cord blood mononuclear cells, HUCBMCs)静脉移植联合 CDDP 对家兔 AMI 心肌组织炎症反应、炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α)表达及心功能的影响,并探讨其联合治疗对 AMI 可能的保护机制。**方法** 对 40 只健康家兔结扎冠状动脉左前降支,制备 AMI 模型。40 只建模成功家兔随机分为 4 组,即对照组、CDDP 组、单纯移植组及联合治疗组,每组 10 只。对照组:术后 24 h 生理盐水 0.5 mL 耳缘静脉注射,生理盐水 5 mL/天灌胃;CDDP 组:术后 24 h 经耳缘静脉注入生理盐水 0.5 mL, CDDP 270 mg/d 溶入生理盐水 5 mL 灌胃;单纯移植组:术后 24 h 经耳缘静脉注入含 3×10^7 个绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)标记 HUCBMCs 生理盐水 0.5 mL,生理盐水 5 mL/天灌胃;联合治疗组:术后 24 h 经耳缘静脉注入含 3×10^7 个 GFP 标记 HUCBMCs 的生理盐水 0.5 mL, CDDP 270 mg/d 溶入生理盐水 5 mL 灌胃。每组随机选取 5 只家兔分别于移植术后 1、4 周超声心动图检测家兔心功能指标,包括左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)及左室短轴缩短率(left ventricular fractional shorting, LVFS);HE 染色光镜下观察心肌病理变化和白细胞计数;免疫组化检测心肌组织 TNF- α 蛋白表达量;荧光显微镜观测 GFP 阳性细胞。**结果** (1)与对照组比较, CDDP 组、单纯移植组、联合治疗组术后 1、4 周心功能指标 LVFS 及 LVEF 改善($P < 0.05$),其中联合治疗组心功能指标改善优于单纯移植组、CDDP 组($P < 0.05$),而后两组组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$);(2)与对照组比较, CDDP 组、单纯移植组、联合治疗组术后 1、4 周心肌组织白细胞计数及 TNF- α 蛋白表达均显著减低($P < 0.05$),且联合治疗组心肌组织白细胞计数及 TNF- α 蛋白表达均显著低于单纯移植组、CDDP 组($P < 0.05$),而后两组组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$);(3)联合治疗组、单纯移植组术后 1、4 周均可见 GFP 阳性细胞散在分布于梗死周边区域,且联合治疗组细胞计数多于单纯移植组($P < 0.05$)。**结论** 本研究提示 HUCBMCs 静脉移植联合 CDDP 治疗 AMI,可提高移植细胞在心肌组织内的存活率,并进一步改善心功能。其机制可能与联合治疗减轻心肌局部炎症反应及抑制促炎因子 TNF- α 蛋白的表达作用增强有关。

关键词 复方丹参滴丸;人脐血单个核细胞;心肌梗死;炎症反应;肿瘤坏死因子- α

Effect of Compound Danshen Dripping Pill Combined with Intravenous Transplantation of Human Umbilical Cord Blood Mononuclear Cells on Local Inflammatory Response in the Myocardium of Rabbits with Acute Myocardial Infarction DENG Liu-xia, YU Guo-long, AI Qi, and YUAN Chun-ju Department of Cardiology, Xiangya Hospital, Central Southern University, Changsha (410008), China

ABSTRACT **Objective** To investigate effect of Compound Danshen Dripping Pill (CDDP) on the inflammatory response of the myocardium of acute myocardial infarction (AMI) rabbits, to observe the therapeutic effect of CDDP combined intravenous transplantation of human umbilical cord blood mononuclear cells (HUCBMCs) on inflammatory response, pro-inflammatory cytokine tumor necrosis factor α (TNF- α), and heart function in the myocardium of AMI rabbits, and to explore the possible protective mechanisms

基金项目:2011 年湖南省中医药管理局科研资助课题项目(No. 2100045)

作者单位:中南大学湘雅医院心内科(长沙 410008)

通讯作者:余国龙, Tel:13875938418, E-mail: yuguolong123@yahoo.com.cn

DOI: 10. 7661/CJIM. 2013. 11. 1532

of the combined therapy. **Methods** The AMI model was successfully established by ligation of the left anterior coronary artery (LAD) in 40 healthy rabbits. Then they were randomly divided into four groups, i.e., the control group, the CDDP group, the transplantation group, and the combined group, 10 in each group. Rabbits in the control group received intravenous injection of 0.5 mL normal saline via ear vein within 24 h after AMI and then intragastric infusion of normal saline at 5 mL per day. Rabbits in the CDDP group received intravenous injection of 0.5 mL normal saline via ear vein within 24 h after AMI and then intragastric infusion of solution obtained by solving 270 mg CDDP in 5 mL normal saline per day. Rabbits in the transplantation group received intravenous injection of 0.5 mL normal saline labeled with green fluorescent protein (GFP) containing 3×10^7 of HUCBMCs via ear vein within 24 h after AMI and then intragastric infusion of normal saline at 5 mL per day. Rabbits in the combined group received intravenous injection of 0.5 mL normal saline labeled with GFP containing 3×10^7 of HUCBMCs via ear vein within 24 h after AMI and then intragastric infusion of solution obtained by solving 270 mg CDDP in 5 mL normal saline per day. At week 1 and 4 after treatment, cardiac function indices such as left ventricular fractional shorting (LVFS) and left ventricular ejection fraction (LVEF) were performed by echocardiography; the number of transplanted cells in the myocardium was found by GFP positive cells counted with fluorescence microscopy. The white blood cells in the myocardium stained with HE were determined by light microscope. The expressions of TNF- α protein in the myocardium were detected by immunohistochemical assay. **Results** (1) Compared with the control group at week 1 and 4 after treatment, the LVEF and LVFS were significantly improved in the CDDP, transplantation, and combined groups ($P < 0.05$). The cardiac function was significantly improved in the combined group than in the CDDP group and the transplantation group ($P < 0.05$). But there was no statistical difference in the latter two groups. (2) Compared with the control group, the number of white blood cells and the expression of TNF- α protein decreased significantly in the CDDP, transplantation, and combined groups at week 1 and 4 respectively after treatment. The number of white blood cells and expressions of TNF- α protein were significantly lower in the combined group than in the CDDP group and the transplantation group ($P < 0.05$). But there was no statistical difference in the latter two groups. (3) GFP-positive cells were found to be distributed in the peri-myocardial infarction area in the transplantation group and the combined group at week 1 and 4 after transplantation. Besides, the number of the GFP positive cells was much more in the combined group than in the transplantation group ($P < 0.05$). **Conclusions** The findings indicated that the combination of CDDP with intravenous transplantation of HUCBMCs in the treatment of AMI rabbits could elevate the survival rate of transplanted cells, and further improve the heart function. The possible mechanisms might be related to attenuating local inflammation of myocardium, and inhibiting enhanced expressions of pro-inflammatory cytokine TNF- α protein.

KEYWORDS Compound Danshen Dripping Pill; human umbilical cord blood mononuclear cell; myocardial infarction; inflammation; tumor necrosis factor α

有研究显示继发于急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 心肌组织内的炎症反应、低氧状态和营养物质缺乏等组织恶劣微环境可影响移植细胞在急性梗死心肌内存活、增殖及分化^[1-3], 也是影响人脐血单个核细胞 (human umbilical cord blood mononuclear cells, HUCBMCs) 移植治疗心肌梗死疗效的主要因素。近年临床研究表明复方丹参滴丸 (Compound Danshen Dripping Pill, CDDP) 能够改善 AMI 患者心功能、左室重构及近期预后^[4-7], 并证实血清炎症反应指标改善与 CDDP 疗效相关; 近年亦有实验研究表明 CDDP 可促进体外培养或 AMI 后植

入干细胞的成活以及向心肌样细胞的分化, 并减小梗死面积^[8,9]。但 CDDP 对 AMI 心肌组织炎症反应有无影响及联合 HUCBMCs 移植是否能够增强 AMI 治疗疗效及其机制, 目前国内外均尚未见相关研究。本研究的目的是观察 CDDP 对 AMI 心肌组织炎症反应的影响及联合 HUCBMCs 移植是否能够增强 AMI 治疗疗效及其可能机制。

材料与方法

1 实验动物 健康纯种中国家兔 40 只, 雌雄不拘, 兔龄 4~5 个月, 体质量 1.5~2.0 kg, 购自中南大

学实验动物学部,动物许可证号:SYXK(湘)2011-00041。饲养环境:室内 25℃ 常温、12 h 灯光照明、单笼常规饲养。

2 主要药物、试剂和仪器 CDDP(天津天士力制药股份有限公司,生产批号:100214,规格:270 mg/丸);XDS-100 倒置显微镜(上海蔡康光学仪器有限公司);JX0197097 细胞培养箱(博士德公司);淋巴细胞分离液(美国 GIBCO 公司);DMEM(美国 GIBCO 公司);RPMI 1640 液(美国 GIBCO 公司);绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)慢病毒(上海英为信生物科技有限公司);KIT-5020 通用型羊抗鼠/兔免疫组化广谱试剂盒(福州迈新公司);羊抗兔 TNF- α 单克隆抗体(一抗)(上海研域化学试剂有限公司);Vevo770 型高分辨率小动物超声仪(加拿大 VISUALSONICS 公司)。

3 实验方法

3.1 HUCBMCs 提取、制备与 GFP 标记 参考文献[10]。6 份脐血来自中南大学湘雅医院产科身体健康足月分娩(37~42 周)产妇。无菌条件下采脐血,一次性血袋取血 80~120 mL,4~8 h 内分离。5:1 比例加入 6.0% 羟乙基淀粉,800 r/min 离心 10 min 去除红细胞,细胞悬液按 1:2 体积比加 Ficoll 淋巴细胞分离液,2 000 r/min 离心 20 min,取中间白膜层及白膜上层细胞,PBS 洗涤 2 次,接种于细胞培养瓶中,培养液为含体积分数为 10% 胎牛血清 DMEM,放入 37℃ 饱和湿度 CO₂ 孵箱培养。48 h 后更换培养液,弃去悬浮细胞,保留贴壁生长细胞,每 7 天更换培养液 1 次,细胞汇合度到 80% 消化传代,取传 2 代细胞为移植细胞。将移植细胞按 5×10^4 个每孔接入 24 孔板,加入含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 液为培养液培养 12 h。将携带 GFP 慢病毒载体与无血清的 RPMI 1640 液混合液分别加入每孔细胞中培养 24 h,在每孔中加入 1 mL 含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 液,继续培养 48 h,在荧光显微镜下计数绿色荧光细胞,计算转染效率。移植前调整终浓度至 3×10^7 细胞/500 μ L 备用。

3.2 动物模型制作与分组 对 40 只健康家兔结扎冠状动脉左前降支,制备 AMI 模型^[11]。将造模成功家兔随机分为 4 组,即对照组、CDDP 组、单纯移植组及联合治疗组,每组 10 只。对照组:术后 24 h 生理盐水 0.5 mL 耳缘静脉注射,生理盐水 5 mL/d 灌胃;CDDP 组:术后 24 h 经耳缘静脉注入生理盐水 0.5 mL, CDDP 剂量为 270 mg/d 溶入生理盐水 5 mL 灌胃^[12];单纯移植组:术后 24 h 经耳缘静脉注入含 3×10^7 个 GFP 标记 HUCBMCs 生理盐水

0.5 mL,生理盐水 5 mL/d 灌胃;联合治疗组:术后 24 h 经耳缘静脉注入含 3×10^7 个 GFP 标记 HUCBMCs 的生理盐水 0.5 mL, CDDP 270 mg/d 溶入生理盐水 5 mL 灌胃。根据分组与实验方案,喂养 1 周或 4 周。

3.3 超声心动图检测 分别于移植后第 1、4 周用配备 7.5 MHz 心脏超声探头 Vevo770 型高分辨率小动物超声仪检测心功能。在大鼠胸骨旁以二维超声和 M 型超声行功能检测。测量指标为左室短轴缩短率(left ventricular fractional shorting, LVFS)及左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF),3 次测量取平均值。

3.4 病理学与免疫组化检测 移植后第 1、4 周每组随机处死 5 只家兔,即取心脏。取左室心肌梗死部位及其周边区域沿长轴切成 4 段,体积分数为 10% 甲醛溶液固定,脱水,石蜡包埋,3 μ m 连续切片,每 3 张连续切片分别取 1 张,依次进行苏木精-伊红染色、荧光显微镜和 TNF- α 免疫组化检测。白细胞计数于每个切片的梗死边缘区随机取 10 个非血管区高倍镜视野($\times 100$),计数白细胞数/mm²,取其平均值。TNF- α 免疫组化检测一抗为羊抗兔 TNF- α 单克隆抗体,二抗为通用型二抗羊抗鼠免疫组化广谱试剂盒。按免疫组化试剂盒操作程序进行,显色剂显色(DAB 染色,苏木精复染),使用 Image pro plus 图像分析系统,每组每个时间点取 6 张切片,每张切片随机选取 10 个高倍视野($400 \times$),测量 TNF- α 免疫组化染色的平均吸光度值。荧光显微镜下每张切片随机观察 10 个高倍镜视野($\times 400$),计算绿色荧光阳性细胞数目,取每个视野的阳性细胞数目均数为移植细胞数。

4 主要观察指标 超声心动图指标:LVFS, LVEF;TNF- α 免疫组化染色的平均吸光度值;移植白细胞计数。

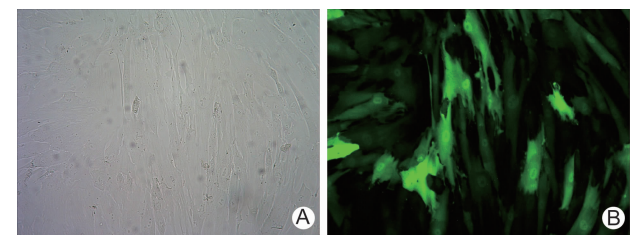
5 设计、实施、评估者 实验由通讯作者设计,资料收集与实施者由第一作者与其他作者负责,评估采用盲法,中南大学湘雅医院医学实验研究中心病理检测实验室负责。

6 统计学方法 所有数据采用 SPSS 10.0 统计软件包处理,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多样本均数比较采用方差分析,两组比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 观察 GFP 慢病毒转染的 HUCBMCs 效应 (图 1) GFP 慢病毒转染前,光镜下可见大量长梭

形、无色透明的 HUCBMCs ,GFP 慢病毒转染后,转染效率为(90±3)%。置荧光显微镜下观察,可见绿色长梭形 GFP 转染阳性细胞。



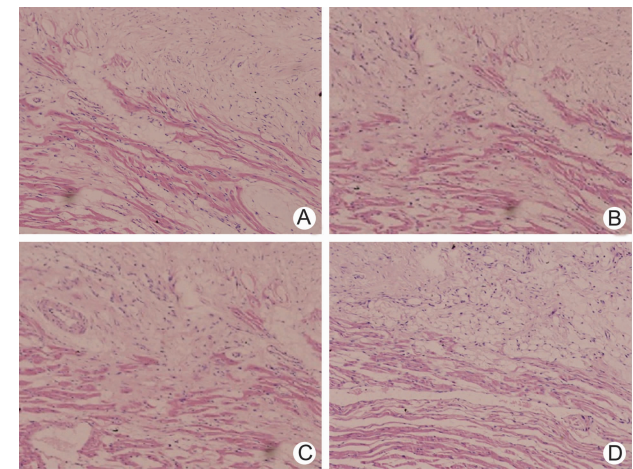
注:A 为 GFP 转染前 HUCBMCs; B 为 GFP 转染后 HUCBMCs

图 1 GFP 转染前的 HUCBMCs 与转染后的 HUCBMCs(×400)

2 各组治疗后 1、4 周超声心功能比较(表 1) 与对照组比较,CDDP 组、单纯移植组及联合治疗组于移植后第 1、4 周心功能均有改善即 LVFS、LVEF 均有增加($P<0.05$);联合治疗组较单纯移植组、CDDP 组心功能改善明显($P<0.05$),但后两组心功能指标比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。与本组治疗后第 1 周比较,CD- DP 组、单纯移植组及联合治疗组治疗后第 4 周心功能指标 LVEF 和 LVFS 有好转趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 各组治疗后 1、4 周缺血梗死区病理学检测及白细胞计数比较(图 2,表 2) 各组治疗后 4 周缺血梗死区 HE 染色病理学检测显微镜下均有心肌细胞排列紊乱,梗死处心肌细胞缺失,单核淋巴细胞浸润,梗死边缘区心肌细胞代偿性肥大。与对照组比较,联合

治疗组残存心肌细胞数量增多,单核淋巴细胞浸润减少;单纯移植组、CDDP 组依次分别次之。与对照组比较,CDDP 组、单纯移植组、联合治疗组在治疗后第 1、4 周白细胞计数均明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$),其中联合治疗组最低,单纯移植组、CDDP 组依次分别次之,单纯移植组与 CDDP 组比较,仅第 1 周白细胞计数差异有统计学意义($P<0.05$);与单纯移植组同期比较,联合治疗组治疗后 1、4 周白细胞计数表达均降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后各组第 4 周白细胞计数与本组治疗后第 1 周比较均有所降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。



注:A 为对照组;B 为 CDDP 组;C 为单纯移植组;D 为联合治疗组

图 2 各组治疗后第 4 周缺血梗死区病理学检测结果(HE 染色,×100)

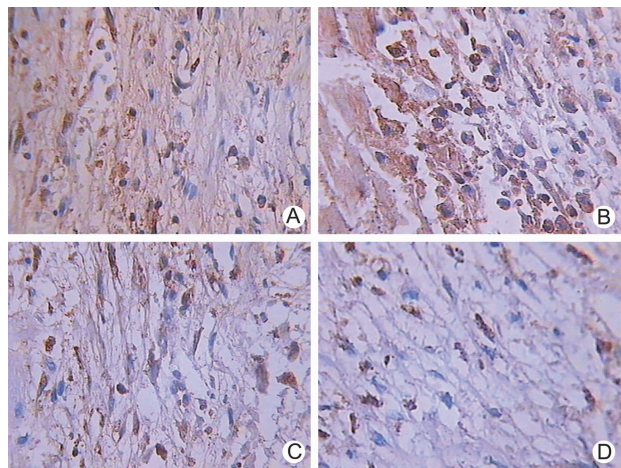
表 1 各组治疗后 1、4 周超声心功能比较 (%, $\bar{x}\pm s$)						
组别	治疗后 1 周			治疗后 4 周		
	n	LVEF	LVFS	n	LVEF	LVFS
对照	10	34.43±5.20	17.98±3.76	5	36.48±5.82	18.31±3.89
CDDP	10	38.98±5.59* [△]	20.91±4.38* [△]	5	39.72±6.43* [△]	21.29±4.13* [△]
单纯移植	10	40.25±6.52* [△]	22.24±4.65* [△]	5	42.45±6.47* [△]	23.04±5.43* [△]
联合治疗	10	45.34±7.54*	26.81±6.24*	5	48.56±9.58*	28.05±6.11*

注:与对照组同期比较,* $P<0.05$;与联合治疗组同期比较,[△] $P<0.05$

表 2 各组治疗后 1、4 周缺血梗死区白细胞计数及心肌 TNF-α 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$)					
组别	n	白细胞计数比较(个/200 倍视野)		TNF-α 蛋白表达(平均吸光值)	
		治疗后 1 周	治疗后 4 周	治疗后 1 周	治疗后 4 周
对照	5	1580.55±184.65	532.00±76.45 [○]	0.59±0.13	0.47±0.09 [○]
CDDP	5	1163.49±126.69*	376.00±59.89* [○]	0.44±0.10*	0.39±0.08* [○]
单纯移植	5	873.68±102.62* [△]	319.00±48.43* [○]	0.37±0.07* [△]	0.29±0.08* [○]
联合治疗	5	665.88±87.46* ^{△▲}	274.34±52.21* ^{△▲○}	0.31±0.07* ^{△▲}	0.21±0.05* ^{△▲○}

注:与对照组同期比较,* $P<0.05$;与 CDDP 组同期比较,[△] $P<0.05$;与单纯移植组同期比较,[▲] $P<0.05$;与本组治疗后第 1 周比较,[○] $P<0.05$

4 各组心肌免疫组化检测 TNF- α 蛋白表达比较 (图 3,表 2) 心肌免疫组化检测 TNF- α 蛋白表达阳性细胞的胞浆呈现棕黄色。治疗后 1、4 周各组心肌梗死区域与周边组织均有 TNF- α 蛋白表达阳性细胞。与对照组比较,CDDP 组、单纯移植组及联合治疗组治疗后第 1、4 周心肌组织 TNF- α 蛋白表达均显著减少,其中联合治疗组 TNF- α 蛋白表达最少,单纯移植组次之,单纯移植组与 CDDP 组比较,仅第 4 周 TNF- α 蛋白表达差异有统计学意义($P < 0.05$);与单纯移植组同期比较,联合治疗组治疗后 1、4 周 TNF- α 蛋白表达均降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与本组治疗后第 1 周比较,各组第 4 周 TNF- α 蛋白表达进一步减少,差异有统计学意义($P < 0.05$)。



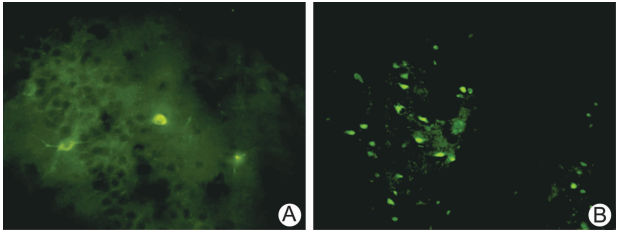
注:A 为对照组;B 为 CDDP 组;C 为单纯移植组;D 为联合治疗组

图 3 各组第 4 周心肌组织 TNF- α 蛋白表达比较 (免疫组化, $\times 400$)

5 单纯移植组与联合治疗组治疗后 1、4 周缺血梗死区心肌组织 GFP 阳性细胞计数比较 (图 4,表 3) 治疗后第 1、4 周,荧光显微镜下观察心肌梗死区域与周边组织 GFP 阳性细胞。对照组与 CDDP 组未见 GFP 阳性细胞,单纯移植组及联合治疗组第 1、4 周可见呈绿色的 GFP 阳性细胞散在分布于梗死周边区域 (图 4)。与单纯移植组比较,联合治疗组治疗后 1、4 周 GFP 阳性细胞数量明显增多($P < 0.05$),两组治疗后第 4 周 GFP 阳性细胞数量较本组第 1 周均有减少,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

讨 论

近期国内外研究均证实心肌梗死急性期心肌组织内微环境突出表现为急性炎症反应,心梗区域与周边心肌组织内大量中性粒细胞和单核细胞浸润,炎症因



注:A 为单纯移植组;B 为联合治疗组

图 4 单纯移植组与联合治疗组第 4 周心肌组织 GFP 阳性细胞比较 ($\times 400$)

表 3 单纯移植组与联合治疗组治疗后 1、4 周缺血梗死区心肌 GFP 阳性细胞计数比较 (个/400 倍视野, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	GFP 阳性细胞计数	
		治疗后 1 周	治疗后 4 周
单纯移植	5	8.76 $\pm$ 0.92	4.85 $\pm$ 0.86 Δ
联合治疗	5	12.70 $\pm$ 1.34 *	8.54 $\pm$ 1.69 * Δ

注:与单纯移植组比较,* $P < 0.05$;与本组治疗后第 1 周比较, $\Delta P < 0.05$

子如 TNF- α 、白细胞介素 1 β (IL-1 β)、白细胞介素 6 (IL-6) 等水平增加^[11,13,14]。上述微环境改变可持续至心肌梗死后 7 ~ 14 天。本研究资料显示与各治疗组比较,对照组第 1 周心肌病理学检测结果显示心肌梗死区域与周边心肌组织内有大量白细胞浸润,且免疫组化检测心肌组织 TNF- α 蛋白表达显著增加,进一步证实心肌梗死急性期心肌组织内微环境改变特点。

CDDP 是以丹参、三七和冰片组成的中药复方制剂,在临床已广泛用于冠心病等心血管病的预防与治疗,且取得良好的临床疗效。近期相关心血管实验研究^[15,16]显示 CDDP 通过多靶点途径发挥抗炎作用:(1)抑制血管内皮细胞黏附因子 ICAM-1 和粒细胞黏附因子 CD II B/CD18 表达,抑制白细胞浸润;(2)抑制组织内肥大细胞脱颗粒,减少促炎因子 TNF- α 、IL-6 等释放;(3)抑制缺血组织过氧化物生成;(4)扩张冠脉,改善微循环。临床研究表明 CDDP 治疗急性冠脉综合征患者疗效与血清炎症反应指标 CRP 降低相关。但有关 CDDP 对 AMI 组织炎症反应有无影响目前尚未见相关报道,本研究结果显示单纯 CDDP 治疗可显著减少心肌梗死及周边心肌组织白细胞浸润数量及组织 TNF- α 蛋白表达水平,且心功能也有一定的改善。其结果首次证实 CDDP 抑制 AMI 心肌组织内局部炎症反应是心功能改善的主要机制之一,本研究结果还显示 CDDP 在 AMI 抗炎与改善心功能作用与单纯静脉途经移植 HUCBMCs 相仿。

近年多数实验研究与初步临床研究表明,对 AMI 进行包括 HUCBMCs 等干细胞移植治疗有肯定近期

疗效,但其改善心功能作用有限^[1,11,17,18]。本研究结果显示单纯 HUCBMCs 静脉移植治疗 AMI,移植细胞可归巢于心肌梗死区域,并能存活;同时抑制心肌组织微环境炎症反应,且心功能改善,但其疗效与单纯 CDDP 治疗无显著差异。已有的实验研究证实移植细胞在急性梗死心肌内存活率低、增殖分化能力有限是目前干细胞移植治疗 AMI 疗效有限的主要原因^[1-3],大多数移植细胞移植后 4 天内 AMI 心肌组织内发生细胞凋亡^[19,20],其原因主要是心肌梗死后继发炎症反应和营养物质的缺乏等组织恶劣微环境下导致的细胞凋亡^[1-3,18,19]。

更重要的是本研究结果显示与单纯 CDDP 或静脉移植 HUCBMCs 治疗比较,静脉移植 HUCBMCs 联合 CDDP 治疗 AMI,心肌梗死区及其周边区域心肌组织内白细胞计数和炎症因子 TNF- α 蛋白表达进一步减少,且心肌组织 GFP 标记阳性细胞数增多,超声心功能指标改善。本研究结果提示 HUCBMCs 静脉移植联合 CDDP 治疗急性心肌梗死,能增加移植细胞在 AMI 区域存活率,并进一步改善心功能,其机制可能与联合治疗抑制心肌局部炎症反应及促炎因子 TNF- α 蛋白的表达作用增强有关。

本研究尚有以下缺陷:未对心肌内移植细胞是否分化为心肌细胞进行定性检测;不能明确静脉移植 HUCBMCs 联合 CDDP 治疗 AMI,CDDP 对定植于心肌组织内 HUCBMCs 是否有直接作用,这将有待于进一步研究和探讨。

总之,本实验证实 HUCBMCs 静脉移植联合 CDDP 治疗 AMI,能够增强对心肌局灶炎症反应抑制作用,增加移植细胞在 AMI 区域存活率,并进一步改善心功能。本研究对中医药与干细胞移植联合治疗 AMI 的临床应用具有指导意义。

参 考 文 献

- [1] Yu G, Borlongan CV, Stahl CE, et al. Transplantation of human umbilical cord blood cells for the repair of myocardial infarction [J]. *Med Sci Monit*, 2008, 14 (10): 163 - 172.
- [2] Tongers J, Losordo DW, Landmesser U. Stem and progenitor cell-based therapy in ischaemic heart disease: promise, uncertainties, and challenges [J]. *Eur Heart J*, 2011, 32(10): 1197 - 1206.
- [3] Dai W, Kloner RA. Bone marrow-derived cell transplantation therapy for myocardial infarction: lessons learned and future questions [J]. *Am J Transplant*, 2011, 11 (11): 2297 - 2301.
- [4] 林小端. 复方丹参滴丸对急性心梗后早期心室重构的临床研究 [J]. *世界中医药*, 2011, 5 (2): 111 - 112.
- [5] 徐红, 王洁. 复方丹参滴丸对急性心肌梗死后患者存活率的影响 [J]. *中国社区医师*, 2011, 27 (13): 16 - 17.
- [6] 丛树芹, 丛波. 复方丹参滴丸对急性心肌梗死临床疗效的影响 [J]. *中国基层医药*, 2008, 15 (10): 1653 - 1654.
- [7] 刘霞, 王利国. 急性冠脉综合征中 MMP 9 与 hs-CRP 的变化及复方丹参滴丸的治疗作用 [J]. *心理医生*, 2011, 16 (4): 24.
- [8] 武重阳, 孙兰军, 赵英强, 等. 复方丹参滴丸含药血清诱导大鼠骨髓间充质干细胞分化为心肌样细胞 [J]. *中国老年学杂志*, 2010, 30 (16): 2328 - 2330.
- [9] 李艳芬, 孙兰军, 赵英强, 等. 复方丹参滴丸对骨髓基质细胞移植后梗塞大鼠心功能及梗塞面积的影响 [J]. *时珍国医国药*, 2010, 20 (5): 1146 - 1147.
- [10] Yasuhara T, Hara K, Maki M, et al. Mannitol facilitates neurotrophic factor up-regulation and behavioural recovery in neonatal hypoxic-ischaemic rats with human umbilical cord blood grafts [J]. *J Cell Mol Med*, 2010, 14 (4): 914 - 921.
- [11] 周波, 余国龙, 潘玮, 等. 人脐血单个核细胞静脉移植心肌梗死模型兔心肌组织肿瘤坏死因子 α 的表达 [J]. *中国组织工程与修复*, 2009, 13 (40): 7996 - 7998.
- [12] 田季雨, 陈建宗, 顾宜, 等. 复方丹参滴丸对家兔血脂水平和颈动脉粥样硬化斑块的影响 [J]. *中国临床康复*, 2004, 8 (9): 1708 - 1709.
- [13] Shi RZ, Li QP. Improving outcome of transplanted mesenchymal stem cells for ischemic heart disease [J]. *Biochem Biophys Res Communications*, 2008, 376 (2): 247 - 250.
- [14] Wu JX, Li J, Zhang NN, et al. Stem cell-based therapies in ischemic heart diseases: a focus on aspects of microcirculation and inflammation [J]. *Basic Res Cardiol*, 2010, 106 (3): 317 - 324.
- [15] 林色奇, 卫晓红, 刘育英, 等. 复方丹参滴丸对 I/R 大鼠心脏表面血流量和心肌损伤的改善作用 [J]. *微循环学杂志*, 2012, 21 (2): 21 - 23.
- [16] 刘育英, 卫晓红, 赵娜, 等. 复方丹参滴丸及其主要成分对心脏缺血再灌注引起的大鼠微循环障碍和心肌损伤的保护作用 [J]. *微循环学杂志*, 2010, 19 (5): 62.
- [17] 卿丽琼, 余国龙, 周波, 等. 人脐血干细胞静脉移植对急性心肌梗死胶原重构及组织基质金属蛋白酶 9 表达的影响 [J]. *中国现代医学杂志*, 2011, 23 (23): 2820 - 2825.
- [18] 袁春菊, 余国龙, 李文斌. 多次静脉移植人脐血单个核细胞对家兔急性心肌梗死炎症反应影响 [J]. *中华器官移植杂志*, 2011, 32 (7): 162 - 165.
- [19] Joggerst SJ, Hatzopoulos AK. Stem cell therapy for cardiac repair: benefits and barriers [J]. *Expert Rev Mol Med*, 2009, 8 (11): 20 - 28.
- [20] Pinho-Ribeiro V, Maial JP, Werneck-de-Castro S, et al. Human umbilical cord blood cells in infarcted rats [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2010, 43 (3): 290 - 296.

(收稿:2012-07-08 修回:2013-01-16)