

· 基础研究 ·

复方参鹿颗粒含药血清对较低危骨髓增生异常综合征 p38MAPK 磷酸化的抑制作用

张文君¹ 赵琳² 赵艺涵² 徐培² 王子元³

摘要 **目的** 观察复方参鹿颗粒(CSG)含药血清对较低危骨髓增生异常综合征(lower-risk MDS)骨髓单个核细胞(BMMNC)p38MAPK 磷酸化、CD34⁺细胞凋亡和正常造血干/祖细胞集落(CFU-HSPC)形成的影响。**方法** 16 只清洁级 Wistar 大鼠,随机分为空白血清组、CSG 组,每组 8 只,制备空白血清和 CSG 含药血清。体外骨髓细胞培养分为空白血清组、CSG 组、SB203580 组和 SB202474 组。分离 lower-risk MDS 患者 BMMNC,与 10% 各组血清或 p38 抑制剂共培养,Annexin V/PI 双染流式细胞术检测 CD34⁺细胞凋亡率,Western Blot 检测 p38、p-p38 蛋白表达。MACS 分离骨髓 CD34⁺细胞,用半固体甲基纤维素与 10% 各组血清或 p38 抑制剂共培养,观察 CFU-HSPC 形成,FISH 检测集落中异常克隆细胞群体的比例。**结果** 与空白血清和 SB202474 组比较,CSG、SB203580 组的凋亡率、p-p38 蛋白表达减少($P < 0.05$);CFU-HSPC 形成数增加($P < 0.01$);形成的集落中异常克隆细胞比例降低($P < 0.05$)。CSG 和 SB203580 组的 p-p38 蛋白表达和异常克隆细胞比例呈正相关($P < 0.01$)。**结论** CSG 含药血清能改善 lower-risk MDS 骨髓无效造血,其机制可能与抑制 p38 蛋白磷酸化,减少骨髓 CD34⁺细胞凋亡,并恢复骨髓正常造血细胞的优势生长有关。

关键词 复方参鹿颗粒;含药血清;骨髓增生异常综合征;p38 丝裂原活化蛋白激酶

Inhibiting Effects of Compound Shenlu Granules Containing Serum on p38MAPK Phosphorylation of Lower-risk MDS ZHANG Wen-jun¹, ZHAO Lin², ZHAO Yi-han², XU Pei², and WANG Zi-yuan³
1 Department of Hematology, Tongji Hospital of Tongji University, Shanghai (200092); 2 Department of Hematology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of TCM, Shanghai (200021); 3 Department of Pathology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of TCM, Shanghai (200021)

ABSTRACT **Objective** To explore the effects of Compound Shenlu Granules(CSG) containing serum on the phosphorylation of p38MAPK, the apoptosis of CD34⁺ cells of lower-risk myelodysplastic syndromes(MDS) bone marrow and the normal colony forming unit of hematopoietic stem/progenitor cell(CFU-HSPC) formation. **Methods** Sixteen clean grade Wistar mice were randomly divided into blank serum group and CSG group, 8 in each group. The blank serum and CSG containing serum were prepared. Bone marrow cells cultured *in vitro* were divided into 4 groups: blank serum group, CSG group, SB203580 group, SB202474 group. Bone marrow mononuclear cells were isolated from patients with lower-risk MDS, then cultured with 10% serums of different groups or p38 inhibitor *in vitro*. The apoptosis rates of bone marrow CD34⁺ cells were detected by annexin V/PI double staining flow cytometry. The expressions of p38 and p-p38 protein were tested using Western Blot. Bone marrow CD34⁺ cells were isolated by MACS and cultured with 10% serums of different groups or p38 inhibitors. Formation of CFU-HSPC was observed. The percentages of aberrant clones in CFU-HSPC were detected by FISH. **Results** Com-

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(No. 81403233)

作者单位:1. 同济大学附属同济医院血液科(上海 200092); 2. 上海中医药大学附属曙光医院血液科(上海 200021); 3. 上海中医药大学附属曙光医院病理科(上海 200021)

通讯作者:赵琳, Tel: 021-53827352, E-mail: zhaolin131@aliyun.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20180927.203

pared with the blank serum group and SB202474 group, the apoptosis rates, the expressions of p-p38 protein of CSG and SB203580 group were lower ($P < 0.05$), the numbers of CFU-HSPC in CSG group were higher ($P < 0.01$), the percentages of aberrant clones in CFU-HSPC were lower ($P < 0.05$). P-p38 protein expressions and the proportions of abnormal clone cells of CSG and SB203580 group were positively correlated($P < 0.01$). Conclusions CSG-containing serum could improve the ineffective hematopoiesis of lower-risk MDS patients. The mechanism may be related to the inhibition of p38 protein phosphorylation, the reduction of apoptosis in bone marrow CD34⁺ cells and the restoration of normal hematopoietic in bone marrow.

KEYWORDS Compound Shenlu Granules; containing serum; myelodysplastic syndromes; p38MAPK

骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)是以骨髓无效造血和高风险向急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)转化为特征的异质性克隆性造血干/祖细胞疾病^[1]。根据国际预后评分系统(International Prognostic Scoring System, IPSS),较低危(lower-risk) MDS 是指 IPSS≤1.0 的 MDS 患者。较低危 MDS 骨髓造血细胞存在 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38MAPK)的组成性激活^[2],过度磷酸化的 p38MAPK 通过多个信号通路,诱导骨髓细胞过度凋亡,是引起较低危 MDS 骨髓无效造血的重要机制^[3],凋亡主要为骨髓正常造血细胞^[4]。复方参鹿颗粒(Compound Shenlu Granule, CSG)为上海中医药大学附属曙光医院院内制剂(沪药制字 Z06100005),用于临床 20 余年,疗效肯定。本课题组前期研究发现,CSG 能抑制较低危 MDS 骨髓造血细胞 p38MAPK 过度磷酸化,减少 CD34⁺ 细胞凋亡^[5]。本实验拟分离较低危 MDS 骨髓 CD34⁺ 细胞,与 CSG 含药血清或 p38 抑制剂共同培养,结合荧光原位杂交技术(fluorescence in situ hybridization, FISH)检测形成的造血集落中正常造血细胞和异常克隆细胞的比例,以了解 CSG 能否通过抑制 p38MAPK 的高磷酸化减少骨髓 CD34⁺ 细胞凋亡,并恢复骨髓正常造血细胞的优势生长。

材料与方法

1 动物 清洁级 Wistar 大鼠 16 只,雌雄各半,8 周龄,体重(200±10)g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供[动物生产许可证号:SCXK(沪)2012-0002,实验动物质量合格证:2007000581914]。饲养于上海中医药大学实验动物中心 SPF 级动物房,以标准饲料饲养,自由饮水及摄食,适应性喂养 7 天。本实验遵循了国家制订的实验动物管理与使用指南。

2 实验药物 CSG 按照红参须(吉林):鹿角片(辽宁):炙龟板(湖北):菟丝子(内蒙古):黄芪(甘肃):枸杞子(宁夏):熟地黄(河南):补骨脂(云南):熟附子(四川):肉桂(广西)为 2:1:1:1:1:1:1:1:0.6:0.3 配比,药物均购自上海虹桥中药饮片有限公司,上海中医药大学附属曙光医院制剂中心制成颗粒剂,12 g/包,每包含生药 33 g,批号:20150317。

3 标本采集 经上海中医药大学附属曙光医院伦理委员会批准(No. 2014-124),选择 2015 年 9 月—2016 年 9 月在上海中医药大学附属曙光医院血液科就诊的未予治疗较低危 MDS 患者 6 例。MDS 诊断标准:采用维也纳最低诊断标准^[6]。MDS 分型标准:采用 2008 年世界卫生组织(WHO)分型诊断标准^[6]。预后分组:采用 MDS IPSS^[6]。所有患者经 G 带核型分析结合 FISH 检测,确定骨髓细胞有异常克隆存在,并按照人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN,2009)描述染色体异常核型。患者一般情况见表 1。取骨髓标本前征得患者同意,并签署知情同意书。

表 1 患者一般情况					
病例号	性别	年龄(岁)	细胞遗传学	WHO 分型	IPSS 积分
1	女	66	47, XX, +8 [19]/46, XX[1]	RCMD	0.5
2	男	55	47, XY, +8 [16]/46, XY[4]	RCMD	0.5
3	男	74	46, XY, del(20)(q11.2) [20]	RCMD	0.5
4	男	54	47, XY, +8 [20]	RCMD	0.5
5	女	70	47, XX, +8 [20]	RARS	1.0
6	男	75	47, XY, +8 [20]	RCMD	0.5

4 主要试剂及仪器 Annexin V-FITC/PI 双染法细胞凋亡检测试剂盒(上海七星生物科技有限公司, Cat No. A009-01); PE/Cy5 标记鼠抗人 CD34 单克隆抗体(美国 BD 公司, Cat No. 555823); 兔抗 p-p38 多克隆抗体和兔抗 p38 多克隆抗体(美国 CST 公司, Cat No. 9211, 9212); β-actin、GAPDH 小鼠单

克隆抗体(美国 Immunoway 公司, Cat No. YM3028、TDY042); MACS 分离试剂盒(德国 Miltenyi 公司, Cat No. 130-046-702); SB203580(美国 sigma 公司, Cat No. s8307); SB202474(美国 Gene Operation 公司, Cat No. 172747-50-1); 甲基纤维素人造血干/祖细胞半固体培养基(上海吉泉生物技术有限公司, Cat No. StemCult HU644); MDS 染色体及基因异常检测试剂盒(荧光原位杂交法, 广州安必平医药科技有限公司, Cat No. 201608001); Cytomics FC500 型流式细胞仪(美国 Beckman Coulter 公司); Semi-Dry Transfer Cell 170-3940 和 Power-Pac HC 电泳仪(美国 Bio-Rad 公司); Olympus CKX41 倒置显微镜、Olympus BX51 荧光显微镜(日本 Olympus 公司)。

5 含药血清制备 清洁级 Wistar 大鼠适应性喂养 1 周后, 采用随机数字表法将 16 只大鼠分为空白血清组、CSG 组, 每组 8 只。CSG 成人口服量为 36 g/d, 折算成大鼠等效剂量为 3.6 g/(kg·d)。生理盐水稀释成溶液, 按 15 mL/(kg·d) 灌胃, 空白血清组灌胃等量生理盐水, 每天 2 次(8 A.M., 4 P.M.) 灌胃, 连续 3 天。第 3 天采血前禁食 12 h, 末次灌胃结束 1 h 后在无菌条件下于腹主动脉采血。分离血清, 56 °C 灭活 30 min, 超净台内滤膜过滤除菌, 分装 -80 °C 冻存备用。

6 观察指标及方法

6.1 细胞分组 体外骨髓细胞培养分为空白血清组、CSG 组、SB203580 组和 SB202474 组, 与相应的血清或抑制剂共培养。

6.2 CD34⁺ 细胞凋亡率检测 取肝素抗凝较低危 MDS 患者骨髓 2 mL, 淋巴细胞分离液分离骨髓单个核细胞(bone marrow mononuclear cell, BMMNC), 洗涤, 于沉淀细胞中加入 1 mL RPMI1640 完全培养基。和 10% 各组血清或 0.5 mmol/L SB203580 或 0.5 mmol/L SB202474 共同培养 48 h, 收集细胞, Annexin V/PI 双染流式细胞术测定凋亡细胞比例。每个样本检测 1×10^5 个细胞, 用 CXP 软件分析数据。实验重复 3 次。

6.3 p38、p-p38 蛋白表达检测 取肝素抗凝较低危 MDS 患者骨髓 5 mL, 淋巴细胞分离液分离 BMMNC, 接种到加了 RPMI1640 完全培养基的 24 孔板中, 加入 10% 各组血清或抑制剂(浓度同 6.2), 补足培养基, 使培养体系终体积为 500 μ L, 充分混匀, 培养 2 h。收集细胞, 严格按照 Western Blot 操作步骤进行。BCA 法蛋白定量, 分离, 凝固, 加样, 蛋白电

泳转移, 用 3% BSA-TBST 稀释一抗(p-p38、p38), 室温孵育 10 min, 4 °C 过夜。次日 TBST 洗膜 5 次, 加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠 IgG(H+L) 二抗, 室温轻摇 40 min, ECL 显色, 曝光, 洗片。分别以 GAPDH、 β -actin 为内参蛋白, 用 Quantity one 分析各蛋白条带灰度值。实验重复 3 次。

6.4 CD34⁺ 细胞分离及体外培养 取肝素抗凝较低危 MDS 患者骨髓 10 mL, 免疫磁珠分离法(magnetic-activated cell-sorting, MACS) 分离骨髓 CD34⁺ 细胞。取 100 μ L 细胞悬液(含 CD34⁺ 细胞 1×10^3 个), 接种到加了半固体甲基纤维素培养基的 6 孔板中, 加入 10% 各组血清或 0.1 mmol/L SB203580 或 0.1 mmol/L SB202474, 补足培养基, 使培养体系终体积为 1 mL, 充分混匀, 置于 37 °C, 5% 的 CO₂ 培养箱中, 14 天后, 倒置显微镜下, 观察造血干/祖细胞集落(colony forming unit-hematopoietic stem/progenitor cell, CFU-HSPC): 混合细胞集落形成单位(colony forming unit-granulocyte, erythroid, macrophage, megakaryocyte, CFU-GEMM)、红系爆式集落形成单位(burst forming unit-erythroid, BFU-E) 和粒/巨噬细胞集落形成单位(colony forming unit-granulocyte, macrophage, CFU-GM) 形成情况。实验重复 3 次。

6.5 FISH 检测 将培养 14 天后的 CFU-HSPC 从培养基中取出, 加入 RPMI1640 完全培养基, 1 000 r/min 离心 10 min, 洗涤, -20 °C 保存固定后的细胞悬液, 用新鲜固定液(甲醇:冰醋酸=3:1) 调至合适浓度滴片后, 按照试剂盒提供的 FISH 操作说明书操作, 荧光显微镜下观察杂交信号, 每份标本分析 200 个细胞, 不计数重叠细胞。实验重复 3 次。

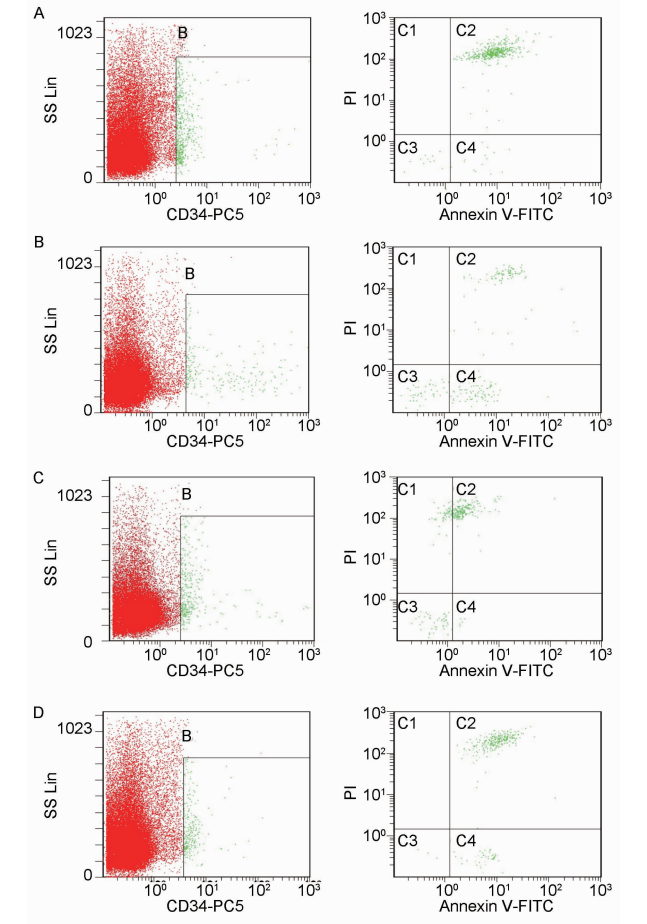
7 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析。连续性变量若满足正态性分布则以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 非连续性变量用 M(IQR) 表示。多组间比较采用单因素方差分析, 方差齐性多组间两两比较采用 LSD-t 检验, 方差不齐者采用 Kruskal-Wallis 非参数检验。相关分析采用 Spearman 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 骨髓 CD34⁺ 细胞凋亡率比较(表 2, 图 1) 与空白血清组比较, CSG 组和 SB203580 组凋亡率降低(P < 0.05)。与 SB202474 组比较, CSG 组和 SB203580 组凋亡率降低(P < 0.05)。

表 2 各组 CD34 ⁺ 细胞凋亡率比较 [% ,M(IQR)]		
组别	n	CD34 ⁺ 细胞凋亡率
空白血清	6	96.1(94.4 ~ 97.9)
CSG	6	72.3(20.5 ~ 82.0) * Δ
SB203580	6	50.2(25.4 ~ 69.5) * Δ
SB202474	6	95.6(93.4 ~ 97.8)

注:与空白血清组比较,* $P < 0.05$;与 SB202474 组比较, $\Delta P < 0.05$



注:A 为空白血清组;B 为 CSG 组;C 为 SB203580 组;D 为 SB202474 组;下图同

图 1 各组流式细胞术结果

2 各组 p38、p-p38 蛋白表达比较(表 3,图 2) 与空白血清组比较,CSG 组和 SB203580 组 p-p38 蛋白表达降低($P < 0.05$)。与 SB202474 组比较,CSG 组和 SB203580 组 p-p38 蛋白表达降低($P < 0.05$)。

表 3 BMMNC 中 p38、p-p38 蛋白表达比较 [M(IQR)]			
组别	n	p38	p-p38
空白血清	6	0.51(0.45 ~ 0.72)	0.81(0.42 ~ 0.96)
CSG	6	0.52(0.41 ~ 0.79)	0.04(0.02 ~ 0.12) * Δ
SB203580	6	0.57(0.53 ~ 0.77)	0.03(0.02 ~ 0.08) * Δ
SB202474	6	0.61(0.51 ~ 0.79)	0.82(0.49 ~ 0.97)

注:与空白血清组比较,* $P < 0.05$;与 SB202474 组比较, $\Delta P < 0.05$

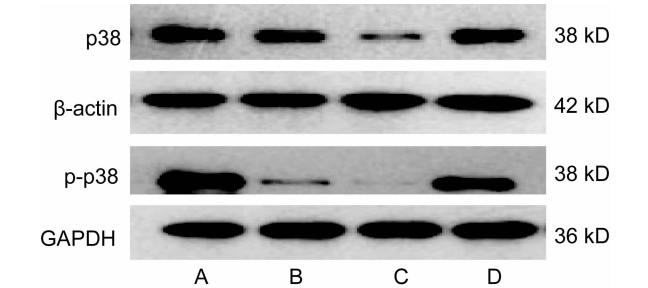
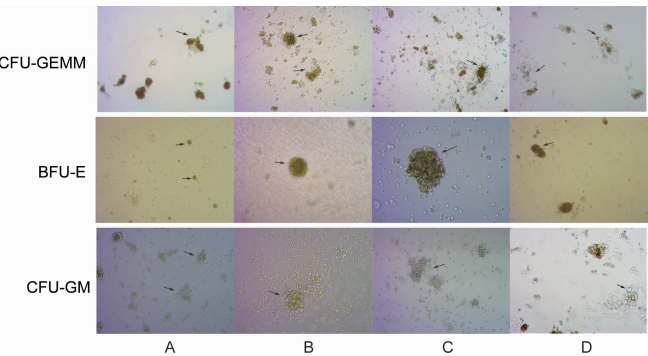


图 2 各组 p38 及 p-p38 Western Blot 结果

3 各组 CFU-HSPC 形成数比较(表 4,图 3) 与空白血清组和 SB202474 组比较,CSG 组和 SB203580 组 CFU-GEMM、BFU-E、CFU-GM 的数量均升高($P < 0.01$)。

表 4 各组 CFU-HSPC 形成数比较 [个/培养孔,M(IQR)]				
组别	n	CFU-GEMM	BFU-E	CFU-GM
空白血清	6	5.5(3.8 ~ 8.0)	2.0(1.0 ~ 3.0)	1.5(0 ~ 2.5)
CSG	6	9.5(8.3 ~ 13.0) * Δ	6.0(4.5 ~ 7.3) * Δ	7.5(6.0 ~ 9.3) * Δ
SB203580	6	11.5(9.0 ~ 13.0) * Δ	6.0(4.8 ~ 6.5) * Δ	4.0(3.3 ~ 8.3) * Δ
SB202474	6	5.0(2.8 ~ 6.8)	1.5(0.8 ~ 2.3)	2.0(1.5 ~ 3.0)

注:与空白血清组比较,* $P < 0.01$;与 SB202474 组比较, $\Delta P < 0.01$



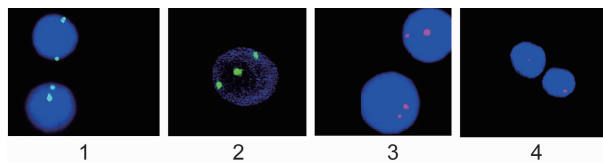
注:箭头所指为典型集落

图 3 各组集落形成图示 (×100)

4 各组 CFU-HSPC 中异常克隆细胞群体比例比较(表 5,图 4) 与空白血清组和 SB202474 组比较,CSG 组和 SB203580 组异常克隆细胞比例降低($P < 0.05$)。CSG 组和 SB203580 组 p-p38 蛋白表

表 5 各组异常克隆细胞群体比例比较 [% ,M(IQR)]		
组别	n	异常克隆细胞群体比例
空白血清	6	22.5(17.8 ~ 45.6)
CSG	6	9.8(8.3 ~ 18.1) * Δ
SB203580	6	10.5(7.8 ~ 17.6) * Δ
SB202474	6	26.3(21.5 ~ 40.3)

注:与空白血清组比较,* $P < 0.05$;与 SB202474 组比较, $\Delta P < 0.05$



注:1 为病例 2 正常骨髓细胞(探针 CSP8,显示 2 个绿色荧光杂交信号);2 为病例 2 异常克隆细胞(+8,探针 CSP8,显示 3 个绿色荧光杂交信号);3 为病例 3 正常骨髓细胞(探针 GSP D20S108,显示 2 个红色荧光杂交信号);4 为病例 3 异常克隆细胞(20q-,探针 GSP D20S108,显示 1 个红色荧光杂交信号)

图 4 典型病例 FISH 检测结果 (×100)

达水平以及异常克隆细胞群体比例呈正相关($r = 0.737, P = 0.006$)。

讨 论

MAPK 超家族是介导细胞反应的重要信号系统。p38MAPK 信号通路在造血祖细胞增殖、分化、衰老和凋亡中占据重要地位,各类造血抑制因子如干扰素(interferon, IFN)- α 、IFN- β 、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等均可激活 p38MAPK 信号通路,参与红系、髓系造血的调控^[7,8]。MDS 的重要特征是无效造血。虽然约有三分之一患者存在向 AML 转化的高风险,但难治性血细胞减少仍是导致 MDS 患者死亡的首要原因^[1]。临床约 70% 的 MDS 是以骨髓无效造血为基本特征、难治性外周血细胞减少为主要临床表现的较低危 MDS^[9]。TNF- α 、IFN、TGF- β 等通过共同的 p38MAPK 信号通路诱导骨髓造血干/祖细胞的过度凋亡是导致 lower-risk MDS 骨髓无效造血的重要发病机制^[10]。阻断该通路可显著改善骨髓无效造血^[11]。

CSG 以红参须、鹿角片、熟地黄、炙龟板为君臣药,温阳益气、填精益髓;菟丝子、枸杞子补肾益精,补骨脂补肾助阳,黄芪益气开阳,共为佐药;熟附子、肉桂为使,温中补肾。具有“温肾益髓”之功效。CSG 能有效改善 MDS 患者骨髓的无效造血,其机制可能与抑制 p38MAPK 磷酸化,减少骨髓造血细胞凋亡有关^[5]。SB203580 是一种最常用的 p38MAPK 特异性抑制剂,可以有效抑制炎症因子如 TNF- α 诱导的信号转导^[12]。本研究以 SB203580、SB202474 分别作为 p38MAPK 抑制剂的阳性和阴性对照。结果发现,CSG 含药血清组和 SB203580 组骨髓 CD34⁺ 细胞凋亡减少,p-p38 蛋白表达显著降低。CD34⁺ 抗原作为一种阶段特异性抗原,选择性的表达于早期造血干/

祖细胞。为了更好的研究 CSG 对造血干/祖细胞的影响,采用 MACS 分离骨髓 CD34⁺ 细胞,进行体外培养。结果发现,与空白血清组和 SB202474 组比较,CSG 含药血清组和 SB203580 组的造血干/祖细胞集落形成数量显著增加,而且集落体积更大,集落所含细胞更多。提示抑制 p38MAPK 的磷酸化可以改善较低危 MDS 骨髓的无效造血,促进造血干/祖细胞的增殖分化。

MDS 是一组克隆性造血干/祖细胞疾病,异常的 MDS 克隆来源的细胞群体和正常克隆来源的细胞群体共存。异常的 MDS 克隆失去了正常造血细胞应有的分化增殖能力,造成 MDS 患者骨髓的无效造血。从某种意义上讲,MDS 疾病的发展过程正是异常 MDS 克隆与正常克隆细胞之间相互斗争、此消彼长的过程。当异常 MDS 克隆最终取胜,完全取代正常造血干/祖细胞,MDS 则向 AML 转化。有研究发现,较低危 MDS 骨髓造血细胞凋亡主要发生在正常造血细胞,MDS 克隆可通过上调抗凋亡分子的表达而避免凋亡^[4],并干扰正常造血的反馈信号,在牺牲正常造血的基础上获得优势生长^[13]。由于常规细胞遗传学分析只能分析中期细胞,且受到染色体数量和质量的影响,因而检出 MDS 的克隆性异常率较低。FISH 技术则能在染色体制片和骨髓涂片上分析大量的中期或间期细胞,可以显著提高异常克隆的检出率^[14]。CSG 含药血清虽然能显著增加造血干/祖细胞集落的形成,但形成的集落是正常克隆来源还是异常的 MDS 克隆来源,尚未明确。在本研究中,结合 FISH 检测方法,发现 CSG 组、SB203580 组形成的造血集落中,来源于异常的 MDS 克隆比例低于空白血清组和阴性抑制剂对照组。相关性分析结果提示,p-p38 蛋白表达水平和异常克隆细胞群体比例呈正相关。提示 CSG 含药血清能通过抑制较低危 MDS 骨髓 p38MAPK 的异常磷酸化,部分恢复骨髓正常克隆细胞来源的造血干/祖细胞的优势生长。

综上,本研究证实 CSG 含药血清能改善骨髓无效造血,其机制与抑制 p38 蛋白磷酸化,减少骨髓 CD34⁺ 细胞凋亡,并恢复骨髓正常造血细胞的优势生长有关。但该中药复方发挥作用的确切物质基础、作用靶点仍有待进一步深入研究,从而为临床“温肾益髓”治疗较低危 MDS 提供科学依据。

利益冲突:无。

参 考 文 献

[1] Adès L, Itzykson R, Fenaux P. Myelodysplastic syn-

- dromes[J]. Lancet, 2014, 383(9936): 2239-2252.
- [2] Navas TA, Mohindru M, Estes M, et al. Inhibition of overactivated p38 MAPK can restore hematopoiesis in myelodysplastic syndrome progenitors[J]. Blood, 2006, 108(13): 4170-4177.
 - [3] Bachegowda L, Gligich O, Mantzaris I, et al. Signal transduction inhibitors in treatment of myelodysplastic syndromes[J]. J Hematol Oncol, 2013, 6(1): 50-53.
 - [4] Marcondes AM, Li X, Gooley TA, et al. Identification of DJ-1/PARK-7 as a determinant of stroma-dependent and TNF-alpha-induced apoptosis in MDS using mass spectrometry and phosphopeptide analysis[J]. Blood, 2010, 115(10): 1993-2002.
 - [5] 张旭峰, 赵琳, 徐培. 从 p38MAPK 通路探讨复方参鹿颗粒对较低危 MDS 骨髓患者 CD34⁺ 细胞凋亡的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(16): 152-157.
 - [6] 中华医学会血液学分会. 骨髓增生异常综合征诊断与治疗专家共识[J]. 中华血液学杂志, 2012, 33(4): 347-352.
 - [7] Vaidya A, Kale VP. TGF- β signaling and its role in the regulation of hematopoietic stem cells[J]. Syst Synth Biol, 2015, 9(1): 1-10.
 - [8] Geest CR, Coffey PJ. MAPK signaling pathways in the regulation of hematopoiesis[J]. J Leukoc Biol, 2009, 86(2): 237-250.
 - [9] Fenaux P, Adès L. How we treat lower-risk myelodysplastic syndromes[J]. Blood, 2013, 121(21): 4280-4286.
 - [10] Aggarwal S, van deLoosdrecht AA, Alhan C, et al. Role of immune responses in the pathogenesis of low-risk MDS and highrisk MDS: implications for immunotherapy[J]. Br J Haematol, 2011, 153(5): 568-581.
 - [11] Sokol L, Cripe L, Kantarjian H, et al. Randomized, dose-escalation study of the p38 α MAPK inhibitor SCIO-469 in patients with myelodysplastic syndrome[J]. Leukemia, 2013, 27(4): 977-980.
 - [12] Peifer C, Wagner G, Laufer S. New approaches to the treatment of inflammatory disorders small molecule inhibitors of p38 MAP kinase[J]. Curr Top Med Chem, 2006, 6(2): 113-149.
 - [13] Pang WW, Pluvineau JV, Price EA, et al. Hematopoietic stem cell and progenitor cell mechanisms in myelodysplastic syndromes[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110(8): 3011-3016.
 - [14] Park JH, Kim M, Kong SY, et al. Monitoring of the clonal fraction by fluorescence in situ hybridization in myelodysplastic syndrome: comparison with International Working Group treatment response criteria[J]. Arch Pathol Lab Med, 2016, 140(6): 560-569.

(收稿: 2017-09-29 在线: 2018-11-04)

责任编辑: 赵芳芳

《中西医结合心脏病研究方法学》书评

《中西医结合心脏病研究方法学》是一部全面、系统介绍重症心血管疾病基础研究的学术专著,该书为至今国内第一本阐述心血管疾病动物实验及分子研究的专著。我国中西医结合领军人物、国医大师陈可冀院士,对此书作序:“按照‘西医研究为基础,中医研究为深入’之统领原则,细加甄别,分类论述,得以成新著,其思维之缜密,阐述之细腻,足资心血管病本专业临床及基础医学研究者借镜,是一册甚为实用的案头参考用书”。

重症心血管疾病是当今危害国人健康的重大疾病,发病率和死亡率逐年攀升。要想从本质上治疗重症心血管疾病,还需要从其发病机制上进行深入研究。《中西医结合心脏病方法学》将科研与教学运用到实践之中,结合前沿及热点问题,在选题上与时俱进,既重视学科的内在逻辑,又涉及实务操作,作为心血管科学学位研究生入门的阅读书,囊括了目前重症心血管疾病研究的最新动态。

全书分上下两篇,上篇为常规实验方法,下篇为心脏病研究。本书注重中西医结合的科学性与实用性:疾病的基础理论以及相关研究涉及了近年来的最新进展;期望为读者提供一部实用性强的参考书。本书的主要特色为强调动物模型的重要性。本书开篇即重点强调各种心血管疾病动物模型的构建,均为当今研究最深入、最公认的模式,区别于既往心血管试验书籍。另外强调中西医结合的必要性。

张敏州教授是我国中西医结合心脏病学专家,现任广东省中医院胸痛中心医疗总监、陈可冀学术经验传承工作室负责人、广州市心肌梗死中医药防治重点实验室主任,长期致力于该类重症心血管疾病的中西医结合研究,取现代医学救治之长,发扬传统医学治本之稳,参加本书编写工作的编委长期致力于心血管疾病的中西医结合基础和临床研究,具有良好的科研素养和专业能力。

《中西医结合心脏病方法学》一书详细介绍了心血管疾病各种实验方法,以重症心血管病的特点以及中医经典为基础,可作为心血管病专业中、西医学临床医生、研究人员及学生从事心血管病实验研究的重要指导书籍,具有很强的实用性,值得广泛推广。

(吴宗贵 供稿)