

## · 综 述 ·

## 中药在干细胞治疗心肌梗死中的作用及机制

宣守松<sup>△</sup> 牟芳芳 李 涵 蔡 昊 邵水金 国海东

据统计,2016 年中国心血管病患人数为 2.9 亿,心血管病死亡率高举榜首,其中农村和城市心肌梗死(myocardial infarction, MI)死亡率分别为 74.72/10 万和 58.69/10 万,并且随着人口老龄化有持续上升趋势<sup>[1,2]</sup>。MI 发生后,死亡的心肌细胞被成纤维细胞代替,引起心脏结构的重构、室壁变薄和瘢痕形成,最终导致心力衰竭,甚至死亡<sup>[3-5]</sup>。目前,临床上对于 MI 的治疗措施主要包括药物治疗、内科介入治疗、外科手术治疗等,虽可以挽救濒临死亡的心肌,但对已坏死心肌却无能为力。

心脏移植是 MI 后终末期心力衰竭治疗的“金标准”,但由于组织来源匮乏和移植后易发生排斥反应等因素使其在临床上的应用受到限制<sup>[6,7]</sup>,而干细胞移植可以促进受损心肌细胞修复和再生,成为 MI 新的治疗方向<sup>[8]</sup>。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)是一种存在于骨髓组织中具有自我增殖并能分化为多种细胞的多功能干细胞,研究显示通过自体 BMSCs 移植治疗缺血性疾病,能有效改善缺血组织的功能<sup>[5,9]</sup>。但是,MI 后能够被动员并顺利迁移到缺血心肌组织的干细胞数量非常少,限制了干细胞疗法的临床应用。且 BMSCs 通过血行迁移到梗死区域后,在活体动物中分化成为心肌细胞数量远达不到更换坏死心肌细胞、实现心肌自我修复的目的<sup>[10]</sup>。因此,积极寻找能够促进干细胞动员、迁移、增殖和分化的药物和方法已成为目前亟待解决的问题。通过刺激 BMSCs 的增殖潜能,抑制成纤维细胞过度增殖,是心血管疾病再生治疗的新思路和方法。

微环境对干细胞在心肌组织内存活、分化起关键性的作用。改善心脏微环境对于提高干细胞疗法的效

果具有重要的意义<sup>[11,12]</sup>。研究表明,中药能改善干细胞移植的微环境,对干细胞的动员、迁移、增殖和分化有增效的作用<sup>[13]</sup>。中药干预 BMSCs 治疗 MI 后大鼠心功能有明显改善,且安全性较高。中药干预可为干细胞移植存活或内源性干细胞动员等提供良好的微环境,从而更好地保护缺血的心肌。现就中药干预干细胞移植治疗 MI 的研究进展作一综述,具体如下。

## 1 中药联合干细胞移植对心肌的保护作用

尽管干细胞移植是 MI 极具前景的一种治疗方式,但由于 MI 后局部缺血、缺氧等不利病理微环境会严重影响干细胞在移植后的存活和分化,进而限制了干细胞疗法在临床上的应用。中药干预可促进骨髓干细胞的动员、募集和分化,为骨髓干细胞移植提供良好的微环境,能够提高移植后的存活率,保护缺血的心肌<sup>[13]</sup>。李鑫辉等<sup>[14]</sup>研究表明,柴胡疏肝散联合 BMSCs 移植通过多靶点治疗 MI 大鼠,柴胡疏肝散能够增强心肌细胞抗氧化应激的能力、促进低氧诱导因子 1 $\alpha$  分泌、提高血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达,从而增强血管内皮细胞分裂,有效建立侧支循环,且随浓度增加疗效提高。金纳多注射液是银杏叶的提取物,主要有效成分为银杏黄酮苷,金纳多注射液联合人羊膜间充质干细胞可改善 MI 区及周边区域的微环境,减轻心肌组织纤维化,减少心肌细胞凋亡,改善心功能<sup>[15]</sup>。李鑫辉等<sup>[16]</sup>研究发现, BMSCs 移植和丹参通络解毒汤都能够明显抑制 MI 炎症反应,减少心肌真核细胞转录因子  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 蛋白表达,降低 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平,改善心肌病理形态,且两者对心肌存活的作用相当,并发现丹参通络解毒汤联合干细胞移植改善心肌存活的作用最强,两者具有协同作用。因此推测丹参通络解毒汤可能优化 BMSCs 移植后增殖、存活和分化的微环境,增加 BMSCs 的迁移量,通过促进干细胞的旁分泌作用,降低心肌 NF- $\kappa$ B 蛋白表达,从而降低血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平,抑制 MI 后炎症反应从而达到促进心肌存活的作用。

## 2 中药对干细胞存活的作用

干细胞移植后的存活是影响干细胞疗法的关键问

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81673729,81704157)

作者单位:上海中医药大学基础医学院人体解剖教研室(上海 201203)

通讯作者:国海东, Tel: 021-51322249, E-mail: hdguo8@hotmail.com

<sup>△</sup>现在上海市嘉定区中医医院推拿科(上海 201800)

DOI: 10.7661/j.cjim.20200622.284

题。而中药在调控干细胞存活方面也具有较为重要的作用。研究发现,人参皂苷 Rg1 可能通过调控促凋亡基因和抗凋亡基因表达、稳定线粒体膜结构与功能和抑制凋亡效应分子天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3 的激活等途径,减少低氧-无血清培养诱导的 BMSCs 凋亡<sup>[17]</sup>。地黄低聚糖(rehmannia glutinosa oligosaccharide, RGOs)与同种异体脂肪来源干细胞(adipose-derived stem cells, ASCs)联合较单纯 ASCs 可明显提高移植细胞存活率,表明 RGOs 具有提高 ASCs 存活的作用,其机制可能与 RGOs 抗氧化应激损伤、抗凋亡、改善梗死区域血供等因素有关<sup>[18,19]</sup>。丹红注射液是常用的活血化瘀中成药,研究发现 MI 造模后行间充质干细胞多点注射和丹红注射液的联合应用能够显著提高间充质干细胞的存活率和心功能,并发现丹红注射液通过调节基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)/趋化因子受体 4(CXC chemokine receptor4, CXCR4)信号通路增强间充质干细胞在心脏组织中的停留<sup>[20]</sup>。

### 3 中药对干细胞动员和迁移的作用

骨髓是人体最大的干细胞库。当心肌发生缺血损伤后,干细胞会被从骨髓中动员至外周血,然后经血液循环到达病变区域,通过分化和旁分泌等途径发挥组织修复的作用。在人体正常生理状态下,外周血的造血干细胞数量极少,注射药物之后,骨髓中的造血干细胞的生成加速并释放到外周血液中,可使外周血液造血干细胞增加 20~30 倍<sup>[21]</sup>。

赵海滨等<sup>[22,23]</sup>采用活血化瘀药对 MI 大鼠进行干预,发现药物组胶原含量较模型组明显降低,心肌梗死面积有所减少,这可能与活血化瘀中药疏通经络的作用有关,并发现活血化瘀法可能动员 BMSCs 迁移,最终有效的抑制 MI 后心肌重塑。活血化瘀药物与 BMSCs 动员之间紧密关联,活血化瘀药物不仅能够增强西药干细胞动员剂疗效,同时还能够提高 BMSCs 的出髓效率,并且增加 MI 模型大鼠外周血中 BMSCs 的数量,最终促进干细胞迁移到梗死心肌区域。研究表明,三七总皂苷能促进 BMSCs 迁移至 MI 区域<sup>[24]</sup>。活血化瘀中药联合粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)组外周血及心肌组织梗死边缘区域 CD34 和细胞增殖核抗原 Ki67 阳性细胞均高于单纯 G-CSF 组,活血化瘀中药还可在 MI 后动员 CD34 阳性骨髓干细胞定向迁移<sup>[25]</sup>。柴胡加龙骨牡蛎汤可增强 MI 后 BMSCs 动员和旁分泌,发挥抗炎作用,进而改善梗死边缘区的交感神经重构、梗死后的心肌损伤以及焦虑状态<sup>[26]</sup>。赤

芍和川芎是两种常见的活血化瘀中药,研究发现其联合应用比二者单独应用能更好地保护心肌细胞,其机制可能与通过 Notch 信号转导、促进干细胞向心肌梗死区动员和促血管生成作用有关<sup>[27]</sup>。双心方主要成分分为丹参和川芎,可抑制心肌损伤引起的炎症,改善心功能和 MI 引起的抑郁,其机制也可能和促进 BMSCs 动员有关<sup>[28]</sup>。综上,活血化瘀中药具有促进骨髓干细胞动员并向心肌损伤部位迁移的作用。

中药调控干细胞的动员可能与 SDF-1/CXCR4 信号通路有关。SDF-1 作为一种化学趋化因子,能够和 CXCR4 相结合,形成 CXCR4 二聚体,进而激活多种下游信号通路,促进细胞的动员<sup>[29]</sup>。SDF-1/CXCR4 轴参与具有分化潜力的前体细胞的动员、迁移和促进血管生成<sup>[30-32]</sup>,上调 SDF-1/CXCR4 轴能够提高 MI 后 BMSCs 的动员和迁移<sup>[33]</sup>。刘延华等<sup>[34]</sup>等发现,MI 后外周血及梗死心肌区域 BMSCs 明显增多,与 SDF-1/CXCR4 轴表达提升有关。Xie J 等<sup>[35]</sup>则发现丹参酮 II A 和黄芪甲苷 IV 可能通过调节 CXCR4 表达调节 BMSCs 动员,且在促进迁移方面丹参酮 II A 优于黄芪甲苷 IV,二者合用可以协同增强 BMSCs 动员。内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)是成体干细胞的一种,中药地黄提取物可以改善 MI 后左心室功能,降低缺血面积和凋亡指数,与激活 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 级联增加 EPCs 的迁移和血管形成有关<sup>[36]</sup>。

### 4 中药对干细胞增殖与分化的作用

干细胞具有较强的增殖能力,并且几乎可以分化成任何类型细胞的潜力,这为 MI 的治疗提供了可能,而为了实现这一潜力,控制干细胞增殖和分化就至关重要,中草药在干细胞的增殖和分化中可发挥重要的调节作用<sup>[37]</sup>。

4.1 中药对干细胞增殖的作用 张金生等<sup>[38]</sup>观察三七总皂甙、红景天苷、黄芪有效组分对 MI 大鼠内源性 CD105 阳性 BMSCs 增殖的影响,结果显示这 3 种中药有效组成成分均可促进 BMSCs 增殖。王艳春<sup>[39]</sup>研究发现,独参汤颗粒剂在体外不仅可以促进 BMSCs 的增殖,而且可以减轻氧化应激反应对 BMSCs 的损害,强化 BMSCs 分泌 VEGF,从而提高 BMSCs 在宿主体内的存活。丹酚酸 B 预处理 EPCs 联合 BMSCs 可减少 MI 面积,改善周围梗死和局部缺血心肌 BMSCs 的增殖。随着 EPCs 种植比例的增加,梗死面积逐渐减少,增殖表达逐渐增强<sup>[40]</sup>。中药地黄提取物也可以通过激活 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 级联增加 EPCs 的增殖<sup>[36]</sup>。淫羊藿苷可通过 ERK 和 p38 MAPK 信号刺激大鼠 BMSCs 增殖<sup>[41]</sup>。中国

4.2 中药对干细胞分化的作用 中药有效成分诱导干细胞向心肌细胞的分化亦有诸多报道。张金生等<sup>[38]</sup>研究发现,三七总皂甙、红景天苷、黄芪有效组分均可促进 BMSCs 直接分化成功能性心肌细胞,从而发挥防治 MI 后心肌重塑。笔者研究发现,丹酚酸 B 预处理还可促进 BMSCs 向内皮细胞的分化,但不促进心肌细胞的分化<sup>[42]</sup>。研究发现,ASCs 组及 RGOs+ASCs 结合治疗组均有少数移植细胞存活并分化为心肌细胞、血管内皮细胞及血管平滑肌细胞<sup>[18,19]</sup>。李旭等<sup>[43]</sup>则使用丹酚酸 B、丹参酮 II A 及两者合用分别对第 2 代 BMSCs 定向诱导,诱导后细胞结蛋白、 $\alpha$ -横纹肌肌动蛋白、肌钙蛋白 T 及缝隙连接蛋白 43 水平明显升高,结果说明丹酚酸 B 及丹参酮 II A 均可诱导 BMSCs 获得心肌分化表型,且两者结合诱导效果更好。应用三七总皂甙、丹酚酸 B、加味丹参饮、淫羊藿苷等不同的中药诱导 BMSCs,诱导后的细胞免疫组化和 RT-PCR 检测结果提示肌纤维蛋白、心肌肌钙蛋白 I 和主要组织相容性复合体表达均呈现阳性,阳性细胞呈梭形和成纤维状态,说明有促进心肌分化的作用<sup>[44]</sup>。双龙方由人参、丹参组成,其可以诱导 BMSCs 分化为心肌细胞样细胞,并且双龙方处理可以显著调节大约 36 种主要参与细胞骨架、细胞组织能量代谢和信号转导的蛋白质<sup>[45]</sup>。

## 5 讨论

中药可通过促进干细胞和宿主心肌细胞的存活、提高干细胞动员和迁移、增强干细胞增殖与分化等方面提高干细胞移植治疗 MI 的效果。中药改善移植后的病理微环境、调控干细胞旁分泌作用以及调控 SDF-1/CXCR4 信号通路可能是中药影响干细胞的重要途径和机制。通过深入了解中药介入干细胞移植治疗 MI 的机制,可为中药治疗 MI 等缺血性心脏病奠定理论依据,为干细胞的临床应用提供的新的策略和手段。

## 参 考 文 献

- [1] 胡盛寿,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2018》概要[J]. 中国循环杂志, 2019, 34(3): 209-220.
- [2] 马丽媛,吴亚哲,陈伟伟.《中国心血管病报告 2018》要点介绍[J]. 中华高血压杂志, 2019, 27(8): 712-716.
- [3] 刘冬梅,邹剑杰,罗晓敏,等. 高频电针内关穴治疗急性心肌梗死并发心力衰竭的疗效观察[J]. 四川中医, 2014, 32(2): 146-149.
- [4] 罗志荣,韩小晶,邵水金,等. Hippo-YAP 信号通路在心脏发育和心肌再生中的作用[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(8): 2052-2055.
- [5] Li P, Zhang L. Exogenous Nkx2.5-or GATA-4-transfected rabbit bone marrow mesenchymal stem cells and myocardial cell co-culture on the treatment of myocardial infarction in rabbits[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(2): 2607-2621.
- [6] Olymbios M, Kwiecinski J, Berman DS, et al. Imaging in Heart Transplant Patients[J]. JACC Cardiovasc Imaging, 2018, 11(10): 1514-1530.
- [7] Chih S, Chong AY, Mielniczuk LM, et al. Allograft Vasculopathy: The Achilles' Heel of Heart Transplantation[J]. J Am Coll Cardiol, 2016, 68(1): 80-91.
- [8] Carvalho E, Verma P, Hourigan K, et al. Myocardial infarction: stem cell transplantation for cardiac regeneration[J]. Regen Med, 2015, 10(8): 1025-1043.
- [9] Williams AR, Hatzistergos KE, Addicott B, et al. Enhanced effect of combining human cardiac stem cells and bone marrow mesenchymal stem cells to reduce infarct size and to restore cardiac function after myocardial infarction[J]. Circulation, 2013, 127(2): 213-223.
- [10] Ren J, Stroncek DF, Zhao Y, et al. Intra-subject variability in human bone marrow stromal cell (BMSC) replicative senescence: molecular changes associated with BMSC senescence[J]. Stem Cell Res, 2013, 11(3): 1060-1073.
- [11] Xu JY, Qian HY, Huang PS, et al. Transplantation efficacy of autologous bone marrow mesenchymal stem cells combined with atorvastatin for acute myocardial infarction (TEAM-AMI): rationale and design of a randomized, double-blind, placebo-controlled, multi-center, Phase II TEAM-AMI trial[J]. Regen Med, 2019, 14(12): 1077-1087.
- [12] Tian XQ, Yang YJ, Li Q, et al. Combined therapy with atorvastatin and atorvastatin-pretreated mesenchymal stem cells enhances cardiac performance after acute myocardial infarction by activating SDF-1/CXCR4 axis[J]. Am J Transl Res, 2019, 11(7): 4214-4231.
- [13] 李慧影,马亚珂,杨岳,等. 中药干预骨髓干细胞治疗缺血性心脏病研究进展[J]. 湖北中医药大学学报, 2015, 17(6): 107-109.
- [14] 李鑫辉,吴若霞,廖菁,等. 柴胡疏肝散联合骨髓间充质干细胞对心肌梗死大鼠心肌的保护作用[J]. 上海中医药大学学报, 2015, 29(5): 57-61.
- [15] 乔素玲. 金纳多注射液对大鼠急性心肌梗死后 hAD-MSCs 移植的影响[D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [16] 李鑫辉,李雅婧,黄森鑫,等. 丹参通络解毒汤对骨髓干细胞移植急性心肌梗死模型大鼠 NF- $\kappa$ B 介导的炎症反应影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2017, 23(7): 931-933.
- [17] 伏学坤,郑惠珍. 人参皂苷 Rg1 对大鼠骨髓间充质干细胞凋亡的保护作用[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2013, 7(8): 3454-3459.
- [18] 裴志勇,赵玉生,高伟,等. 地黄低聚糖对过氧化氢-血清饥饿诱导的脂肪组织来源于细胞凋亡的影响[J]. 中国临床保健杂志, 2014, 17(5): 519-522.
- [19] 裴志勇,尹巧香,张晓晶,等. 地黄低聚糖联合脂肪组

- 织来源干细胞移植治疗小型猪急性心肌梗死的疗效[J]. 中国临床保健杂志, 2016, 19(5): 505-510.
- [20] Chen J, Wei J, Huang Y, et al. Danhong injection enhances the therapeutic efficacy of mesenchymal stem cells in myocardial infarction by promoting angiogenesis[J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 991.
- [21] Kwon SG, Park I, Kwon YW, et al. Role of stem cell mobilization in the treatment of ischemic diseases[J]. *Arch Pharm Res*, 2019, 42(3): 224-231.
- [22] 赵海滨, 张秀静, 王帅, 等. BMSCs“归巢”在AMI后心肌重塑中的作用及活血化瘀药的干预研究[J]. 天津中医药大学学报, 2013, 32(1): 28-31.
- [23] 张秀静, 赵海滨, 王帅, 等. 转化生长因子 $\beta$ 1/Smads通路在急性心肌梗死后心肌重塑中的作用及祛瘀生新法的干预研究[J]. 中国康复理论与实践, 2013, 19(4): 329-333.
- [24] Zhang JS, He QY, Huang T, et al. Effects of panax notoginseng saponins on homing of C-kit + bone mesenchymal stem cells to the infarction heart in rats[J]. *J Tradit Chin Med*, 2011, 31(3): 203-208.
- [25] 师伟, 李晔紫, 赵海滨, 等. 活血化瘀法对急性心肌梗死大鼠CD34、血管内皮生长因子阳性细胞的影响[J]. 中国康复理论与实践, 2015, 21(8): 894-899.
- [26] Wang C, Du H, Hou J, et al. Chaihu longgu muli tang shows psycho-cardiology therapeutic effects on acute myocardial infarction by enhancing bone marrow mesenchymal stem cells mobilization[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 3724.
- [27] Shi WL, Zhao J, Yuan R, et al. Combination of ligusticum chuanxiong and radix paeonia promotes angiogenesis in ischemic myocardium through notch signalling and mobilization of stem cells[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019; 7912402.
- [28] Wang C, Hou J, Du H, et al. Anti-depressive effect of Shuangxinfang on rats with acute myocardial infarction: Promoting bone marrow mesenchymal stem cells mobilization and alleviating inflammatory response[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 111: 19-30.
- [29] Takahashi M. Role of the SDF-1/CXCR4 system in myocardial infarction[J]. *Circ J*, 2010, 74(3): 418-423.
- [30] 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[J]. *Circulation*, 2003, 107(9): 1322-1328.
- [31] De Falco E, Porcelli D, Torella AR, et al. SDF-1 involvement in endothelial phenotype and ischemia-induced recruitment of bone marrow progenitor cells[J]. *Blood*, 2004, 104(12): 3472-3482.
- [32] Wynn RF, Hart CA, Corradi-Perini C, et al. A small proportion of mesenchymal stem cells strongly expresses functionally active CXCR4 receptor capable of promoting migration to bone marrow[J]. *Blood*, 2004, 104(9): 2643-2645.
- [33] Li L, Wu S, Liu Z, et al. Ultrasound-targeted microbubble destruction improves the migration and homing of mesenchymal stem cells after myocardial infarction by upregulating SDF-1/CXCR4: a pilot study[J]. *Stem Cells Int*, 2015: 691310.
- [34] 刘延华, 王帅, 马迪, 等. SDF-1/CXCR4轴在大鼠急性心肌梗死后BMSCs“归巢”中的作用[J]. 中医学报, 2015, 30(2): 241-244.
- [35] Xie J, Wang H, Song T, et al. Tanshinone II A and astragaloside IV promote the migration of mesenchymal stem cells by up-regulation of CXCR4[J]. *Protoplasma*, 2013, 250(2): 521-530.
- [36] Wang YB, Liu YF, Lu XT, et al. Rehmannia glutinosa extract activates endothelial progenitor cells in a rat model of myocardial infarction through a SDF-1  $\alpha$ /CXCR4 cascade[J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e54303.
- [37] Lin PC, Chang LF, Liu PY, et al. Botanical drugs and stem cells[J]. *Cell Transplant*, 2011, 20(1): 71-83.
- [38] 张金生, 张宝霞, 张阳阳, 等. 不同治法中药干预心肌梗死边缘区归巢骨髓间充质干细胞的增殖与分化[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(36): 5774-5781.
- [39] 王艳春. 独参汤强化骨髓间充质干细胞心肌梗死治疗的实验研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2011.
- [40] 赵桂峰, 范英昌, 姜希娟. 丹酚酸B对内皮祖细胞与骨髓间充质干细胞联合心脏移植后增殖状况的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(5): 671-675.
- [41] Qin S, Zhou W, Liu S, et al. Icaritin stimulates the proliferation of rat bone mesenchymal stem cells via ERK and p38 MAPK signaling[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(5): 7125-7133.
- [42] Guo HD, Cui GH, Tian JX, et al. Transplantation of salvianolic acid B pretreated mesenchymal stem cells improves cardiac function in rats with myocardial infarction through angiogenesis and paracrine mechanisms[J]. *Int J Cardiol*, 2014, 177(2): 538-542.
- [43] 李旭, 王亚玲. 丹酚酸B及丹参酮IIA诱导骨髓间充质干细胞分化为心肌样细胞[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(10): 1849-1855.
- [44] 王艳, 王海萍, 吕洋. 中药制剂诱导骨髓间充质干细胞向心肌细胞的分化[J]. 中国组织工程研究, 2014, (1): 155-160.
- [45] Fan X, Li X, Lu S, et al. Comparative proteomics research on rat MSCs differentiation induced by Shuanglong Formula[J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 131(3): 575-580.

(收稿: 2019-07-16 在线: 2020-09-03)

责任编辑: 邱禹