

· 基础研究 ·

复方丹参滴丸联合人脐血间充质干细胞移植对急性心肌梗死小鼠作用机制研究

赵吉玲 彭 漪 徐维芳 余国龙

摘要 **目的** 观察复方丹参滴丸(CDDP)联合人脐血间充质干细胞(hUCB-MSCs)移植对急性心肌梗死(AMI)小鼠脾脏和外周血单核细胞 M1/M2 亚型转化、心肌炎症反应和心功能的影响。**方法** 雄性 Balb/C 小鼠结扎冠状动脉左前降支,制备 AMI 模型。32 只造模成功小鼠随机分为 4 组,对照组、移植组、CDDP 组和联合治疗组,每组 8 只。造模术后 24 h,各组均接受生理盐水 0.2 mL 注射及 0.2 mL 灌胃,CD-DP 组将 CDDP 270 mg/(kg·d)溶于灌胃生理盐水,移植组将 1×10^6 hUCB-MSCs 溶于注射生理盐水,联合治疗组接受两种治疗。治疗 7 d 后,每组随机选取 5 只小鼠行超声心动图检测心功能,HE 染色观察心肌病理变化和梗死区白细胞计数,Masson 染色观察胶原沉积情况,流式细胞仪检测外周血及脾脏单核细胞 M1/M2 比值,ELISA 检测外周血 IL-10 水平。**结果** HE 染色结果显示各组小鼠梗死区均有不同程度心肌细胞丢失,由大量平行或交错的胶原纤维束组成,形成疤痕组织,可见白细胞浸润。与对照组比较,其余三组残存心肌细胞数量较多,白细胞浸润减少,三组左室射血分数(LVEF)、外周血 IL-10 水平升高($P < 0.05$),心肌梗死区白细胞计数、胶原沉积比、脾脏和外周血单核细胞 M1/M2 比例降低($P < 0.05$)。与 CDDP 组比较,移植组梗死区白细胞计数增加,联合治疗组梗死区白细胞计数减少,移植组和联合治疗组 LVEF、IL-10 水平升高,外周血单核细胞 M1/M2 比例下降(均 $P < 0.05$)。与移植组比较,联合治疗组外周血单核细胞 M1/M2 比例下降($P < 0.05$)。**结论** CDDP 联合 hUCB-MSCs 移植治疗可促进 AMI 小鼠心外单核巨噬细胞 M1/M2 亚型转化,减低小鼠心肌梗死局灶炎症反应,并改善心功能,疗效优于单纯 hUCB-MSCs 移植。

关键词 复方丹参滴丸;人脐血间充质干细胞;急性心肌梗死;炎症反应;单核巨噬细胞 M1/M2

Mechanism Study of Compound Danshen Dripping Pills Combined with Human Umbilical Cord Blood Mesenchymal Stem Cells Transplantation on Acute Myocardial Infarction Mice ZHAO Ji-ling, PENG Yi, XU Wei-fang, and YU Guo-long *Department of Cardiology, Xiangya Hospital of Central Southern University, Changsha (410008)*

ABSTRACT **Objective** To observe the effects of compound Danshen Dripping Pills (CDDP) combined with human umbilical cord blood mesenchymal stem cells (HUCB-MSCs) transplantation on transformation of M1 / M2 subtypes in spleen and peripheral blood mononuclear cells, myocardial inflammation and cardiac function in mice with acute myocardial infarction (AMI). **Methods** Male Balb/C mice were used to establish AMI model by ligating the left anterior descending coronary artery. Thirty-two AMI mice were randomly divided into four groups: control group, CDDP group, transplantation group and combined treatment group, with 8 mice in each group. Twenty-four hours after operation, all groups received 0.2 mL normal saline by tail vein injection and 0.2 mL normal saline by gavage; 270 mg CDDP dissolved in normal saline was gavaged per day in the CDDP group, 1×10^6 of HUCBMCs dissolved in normal saline was injected via tail vein in the transplantation group, the combined treatment group received both treatment in CDDP group and transplantation group. After 7 days of treatment, 5 mice in each group were randomly selected.

基金项目:国家自然科学基金面上项目(No.81570266);湖南省自然科学基金重点项目(No.2015SK2025)

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: 0731-89753724, E-mail: yuguolong123@hotmail.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20201013.108

Cardiac function was detected by echocardiography. Myocardial pathological changes and white blood cell (WBC) count in infarcted area were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. Collagen deposition was observed by Masson staining. The M1/M2 ratio in the peripheral blood and spleen was measured by flow cytometry. The level of IL-10 in peripheral blood was measured by ELISA. **Results** HE staining showed that varying degrees of myocardial cells were lost in infarcted area of mice in each group, which was replaced by scar tissue composed of a large number of parallel or staggered collagen fiber bundles, and WBC infiltration was observed. Compared with the control group, the left ventricular ejection fraction (LVEF) and IL-10 level in peripheral blood increased ($P < 0.05$), WBC count in infarcted area, collagen deposition ratio and M1/M2 ratio of spleen and peripheral blood mononuclear cells decreased in other three groups ($P < 0.05$). Compared with CDDP group, WBC count increased in transplantation group, WBC count decreased in combined treatment group, LVEF and IL-10 levels increased and M1/M2 ratio of peripheral blood mononuclear cells decreased in transplantation group and combined treatment group ($P < 0.05$). Compared with transplantation group, the M1/M2 ratio of peripheral blood mononuclear cells decreased in combined treatment group ($P < 0.05$). **Conclusions** CDDP combined with HUCB MSCs transplantation can promote the transformation of M1/M2 subtypes of extracardiac mononuclear cells in AMI mice, reduce the inflammatory reaction in infarcted myocardium, and improve cardiac function. The curative effect of CDDP combined with HUCB-MSCs transplantation is better than HUCB-MSCs transplantation alone.

KEYWORDS compound Danshen dripping pills; human umbilical cord blood mononuclear cells; acute myocardial infarction; inflammatory reaction; mononuclear macrophages M1/M2

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 炎症反应有炎性损伤和促心脏修复的双重效应^[1-3]。研究提示包括人脐血间充质干细胞 (human umbilical cord blood mesenchymal stem cells, hUCB-MSCs) 在内的间充质细胞移植可调节炎症平衡, 促进心肌梗死后心脏修复^[4]。复方丹参滴丸 (compound Danshen dripping pill, CDDP) 具有抗氧化、抗炎、保护血管内皮等作用^[5]。笔者团队前期研究显示 hUCB-MSCs 静脉移植联合 CDDP 治疗 AMI, 与单纯 hUCB-MSCs 静脉移植比较, 可进一步拮抗心肌细胞凋亡, 改善心功能, 其机制可能与联合治疗减低心肌组织局部炎症反应及拮抗氧化应激作用增强有关, 但其具体抗炎机制尚不明确^[6]。近期多项研究显示静脉移植干细胞仅少量移植细胞定植于心肌病灶组织, 难以解释干细胞移植产生的抗炎效应^[7,8]。笔者团队近期研究也发现静脉移植 hUCB-MSCs 可促进 AMI 小鼠心外周血、脾脏单核/巨噬细胞亚型 M1/M2 转化, 产生心外抗炎效应可能是拮抗心肌梗死区域及周边心肌组织炎症反应的机制之一^[9]。因此, hUCB-MSCs 静脉移植联合 CDDP 对 AMI 抗炎效应增强是否与促进心外周血、脾脏单核/巨噬细胞亚型 M1/M2 转化, 产生有效的心外抗炎效应相关, 有待进一步研究。

本研究以 Balb/C 心梗模型小鼠为研究对象, 采用经尾缘静脉注射 hUCB-MSCs 及 CDDP 灌胃为干预手段, 观察 CDDP 及联合 hUCB-MSCs 移植对 AMI

心肌组织炎症反应影响, 并探讨及其可能机制。

材料与方法

1 动物、细胞和药物 32 只 7~8 周龄雄性 Balb/C 小鼠, 体重 25~28 g, 购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 动物合格证号为: 43004700055002。第 2 代 hUCB-MSCs 购自广州赛业生物科技有限公司 (批号: 130606L01), 质检报告显示生长状态、分化能力、传代能力正常, hUCB-MSCs 的 CD29、CD44、CD73、CD105 表面抗原表达率 >98%, CD34、CD45、CD11b 细胞分化表面标记物表达率均 ≤1%。复方丹参滴丸 (天津天士力制药集团股份有限公司; 规格: 27 mg/丸; 生产批号: Z10950111)。本研究通过中南大学湘雅医院医学伦理委员会审批 [No. 伦审 (科) 第 201503435 号]。

2 主要试剂和仪器 IL-10 一抗 (英国 Abcam 公司, 批号: ab189392); 血清 IL-10 ELISA 试剂盒 (美国 Raybiotech 公司, 批号: ELR-IL10-1); 流式荧光直抗 Purified anti-mouse CD45 (Biolegend, 批号: 103101-1), FITC-CD11b (Biolegend, 批号: 101205), PE-CDLy-6C (Biolegend, 批号: 101969), 心脏彩超机 (飞利浦公司, 型号: ie33), 流式细胞仪 (美国 BD 公司, 型号: FACSCalibur)。

3 细胞制备 第 2 代 hUCB-MSCs 常规解冻复苏, 用含体积分数为 15% 胎牛血清的 DMEM 培养基

漂洗 2 次,重悬于含体积分数为 15% 胎牛血清的低糖 DMEM 培养基的培养瓶中,接种密度为 $2 \times 10^5/\text{cm}^2$,于 37°C 、体积分数为 5% CO_2 饱和湿度培养中培养,每隔 3 d 或 4 d 更换培养液,未贴壁细胞弃之,待贴壁细胞近乎完全铺满培养瓶底,加入 0.05% 胰蛋白酶/0.02% EDTA 在 37°C 条件下消化贴壁细胞,按 1:3 的比例重新接种传代,然后每隔 3 d 或 4 d 更换培养液,换液时弃去非贴壁细胞,待细胞长到 80% 融合时再次传代,无菌条件下扩增至第 5 代,重悬于生理盐水中,调整细胞浓度为 $5 \times 10^6/\text{mL}$ 。

4 造模与分组 心肌梗死模型建立与模型成功判断参照文献[6,8,9],腹腔注射 1% 戊巴比妥钠(80 mg/kg)麻醉后,行气管插管,在呼吸机辅助呼吸下,分离胸大肌及胸小肌,第 2、3 肋间隙开胸,左心耳下缘 1.0~2.0 mm 处结扎冠脉左前降支,以观察到左室前壁颜色变白,活动减弱和心电图 V2 等导联 ST 段弓背样抬高为模型构建成功标志。造模成功的 32 只小鼠采用随机区组法,按照体重分为 8 个区组,每组内进行编号,按照随机数字表分为 4 组,即对照组、CD-DP 组、移植组及联合治疗组,每组 8 只。术后 24 h,各组均接受生理盐水 0.2 mL 注射,0.2 mL 灌胃。CDDP 组将 CDDP 270 mg/(kg·d) 溶入生理盐水 0.2 mL 灌胃;移植组耳缘静脉注入含 1×10^6 个 hUCB-MSCs 的生理盐水 0.2 mL;联合治疗组接受两种治疗,干预时间均为 7 d。

5 检测指标及方法

5.1 超声心动图检测心功能 治疗后,采用心脏彩超机,12MHz 探头行超声检测,检测指标为左心室收缩末期内径(left ventricular end-systolic dimension, LVDS)、左心室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic dimension, LVDD)、左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF),3 次测量取平均值。

5.2 心脏组织病理检测 每组随机取 5 只小鼠心脏,于左室前壁心肌梗死部分中点处,沿心脏长轴约等分为 3 部分,沿下 1/3 处切开,心尖处的 1/3 左室放进冻存管于液氮中保存,上 2/3 部分左室用 40 g/L 多聚甲醛溶液固定 24 h,用于病理切片检测。

5.2.1 HE 染色病理检测及白细胞计数 取 40 g/L 多聚甲醛溶液固定的心脏组织,常规脱水,石蜡包埋,以厚度 4 μm 切片,常规 HE 染色。使用数字扫描仪扫描全片,每只小鼠于心梗区随机取 5 个非血管区高倍视野(1×400),使用 Image J 图片处理软件计算白细胞数,取其均值。

5.2.2 Masson 染色病理检测 取 40 g/L 多聚甲醛溶液固定的心脏组织,常规脱水,石蜡包埋,以厚度 4 μm 切片,常规 Masson 染色。放大 1.6 倍视野,染色后胶原纤维呈蓝色,与红色心肌可明显区分,imagej 图片处理软件进行颜色阈值选定,得到胶原面积、存活心肌面积及组织总面积,计算胶原沉积比。

5.3 流式细胞技术检测外周血、脾脏单核细胞亚群 干预后,每组随机取 5 只小鼠,于腹腔注射 1% 戊巴比妥钠(80 mg/kg)麻醉后摘眼球取血,并用肝素钠抗凝。取血后将小鼠颈椎脱臼法处死,取脾脏于 200 目滤网上研磨,收集细胞悬液,并裂解红细胞去除红细胞。

将从外周血及脾脏提取出的细胞用流式染色缓冲液重悬,调整细胞数为 $1 \times 10^6/100 \mu\text{L}$ 。取 100 μL 细胞悬液冰上孵育直标抗体 30 min,细胞重悬至 300 μL PBS 中,流式细胞仪检测单核细胞中 M1 单核细胞($\text{CD}45^+$ 、 $\text{CD}11b^+$ 、 $\text{Ly}-6C^{++}$)与 M2 单核细胞($\text{CD}45^+$ 、 $\text{CD}11b^+$ 、 $\text{Ly}-6C^+$)比例(M1/M2)。

5.4 ELISA 检测外周血清 IL-10 水平 小鼠摘眼球取血,室温静置 1 h,2 000 r/min 离心 10 min,取血清于 EP 管中。按 ELISA 试剂盒说明书对血清 IL-10 浓度进行检测及计算。

6 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计分析软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,均数比较采用单因素方差分析(ANOVA),组间采用 Tukey 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组心功能比较(表 1) 与对照组比较,其余三组 LVEF 升高($P < 0.05$);与 CDDP 组比较,移植组和联合治疗组 LVEF 升高($P < 0.05$)。其余各组各指标比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

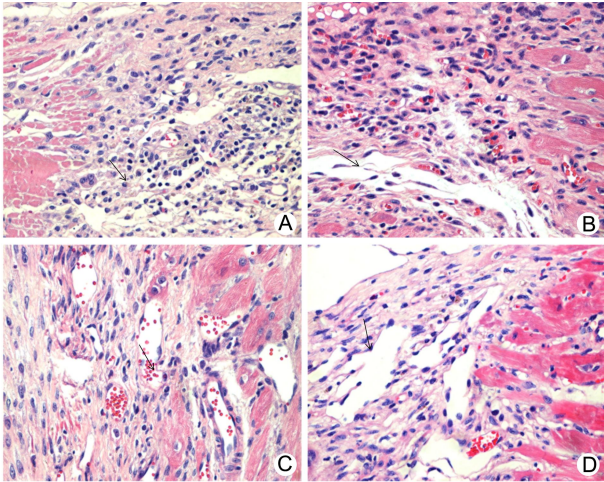
表 1 各组超声心功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	LVDS(cm)	LVDD(cm)	LVEF(%)
对照	5	0.22 $\pm$ 0.02	0.32 $\pm$ 0.03	64.76 $\pm$ 0.89
CDDP	5	0.19 $\pm$ 0.01	0.29 $\pm$ 0.01	67.89 $\pm$ 0.82 *
移植	5	0.19 $\pm$ 0.01	0.29 $\pm$ 0.02	70.75 $\pm$ 1.70 * Δ
联合治疗	5	0.20 $\pm$ 0.01	0.31 $\pm$ 0.01	73.68 $\pm$ 0.80 * Δ

注:与对照组比较,* $P < 0.05$;与 CDDP 组比较, $\Delta P < 0.05$

2 各组心肌病理变化及白细胞计数比较(图 1、2,表 2) HE 染色结果显示各组小鼠梗死区均有部分心肌细胞丢失,由大量平行或交错的胶原纤维束组成,形成疤痕组织,组织内血管减少,可见白细胞(主要为淋巴细胞、浆细胞、单核细胞等慢性炎症细胞)浸润。

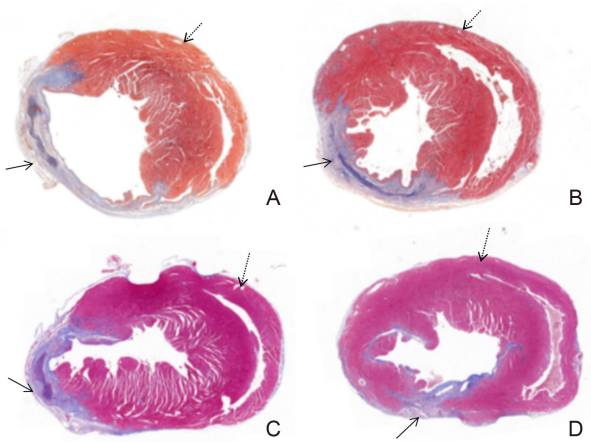
心梗区域及边缘处心肌水肿,胞质疏松,部分肌纤维及核溶解消失。与对照组比较,其余三组残存心肌细胞数量较多,白细胞浸润减少。与对照组比较,其余三组干预后心梗区术后白细胞计数降低($P<0.05$)。与 CDDP 组比较,移植组白细胞计数增加($P<0.05$),联合治疗组白细胞计数减少($P<0.05$)。与移植组比较,联合治疗组白细胞计数减少($P<0.05$)。



注:A 为对照组,B 为 CDDP 组,C 为移植组,D 为联合治疗组;HE 染色示梗死区域心肌(粉红色区)丢失,形成纤维瘢痕(粉白色区);箭头所示为白细胞

图 1 四组小鼠心肌梗死区域 HE 染色病理检测 ($\times 400$)

Masson 染色显示,与对照组比较,其余三组胶原沉积比降低($P<0.05$),但三组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。



注:A 为对照组,B 为 CDDP 组,C 为移植组,D 为联合治疗组;Masson 染色示梗死区域正常的心肌组织丢失,被坏死后沉积的薄层胶原纤维组织取代;图中虚线箭头所示为正常心肌组织,蓝色示为胶原,实线箭头所示为胶原沉积

图 2 四组小鼠梗死心肌组织横切面 Masson 染色 ($\times 1.6$)

表 2 各组心肌梗死区域白细胞计数及胶原沉积分数比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	白细胞计数(个/视野)	胶原沉积分数(%)
对照	5	387.3 $\pm$ 11.32	0.330 7 $\pm$ 0.035 26
CDDP	5	316.8 $\pm$ 17.84 *	0.211 0 $\pm$ 0.012 15 *
移植	5	326.5 $\pm$ 17.23 * Δ	0.186 8 $\pm$ 0.010 15 *
联合治疗	5	260.7 $\pm$ 16.54 * Δ	0.185 7 $\pm$ 0.024 23 *

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与 CDDP 组比较, Δ $P<0.05$;与移植组比较, Δ $P<0.05$

3 各组单核细胞亚型 M1/M2 比例比较(图 3、4,表 3) 与对照组比较,其余三组脾脏和外周血单核细胞 M1/M2 比例下降($P<0.05$)。与 CDDP 组比较,移植组和联合治疗组外周血单核细胞 M1/M2 比例下降($P<0.05$)。与移植组比较,联合治疗组外周血单核细胞 M1/M2 比例下降($P<0.05$)。

表 3 各组脾脏及外周血单核细胞 M1/M2 比值比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	脾脏 M1/M2 比值	外周血 M1/M2 比值
对照	5	4.236 $\pm$ 0.763 2	6.526 $\pm$ 0.446 0
CDDP	5	2.182 $\pm$ 0.239 8 *	4.855 $\pm$ 0.125 5 *
移植	5	1.585 $\pm$ 0.222 2 *	3.897 $\pm$ 0.312 3 * Δ
联合治疗	5	1.709 $\pm$ 0.094 4 *	2.178 $\pm$ 0.320 6 * Δ

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与 CDDP 组比较, Δ $P<0.05$;与移植组比较, Δ $P<0.05$

4 外周血清 IL-10 水平比较(表 4) 与对照组比较,其余三组外周血 IL-10 水平上升($P<0.05$)。与 CDDP 组比较,移植组和联合治疗组外周血 IL-10 水平上升($P<0.05$)。

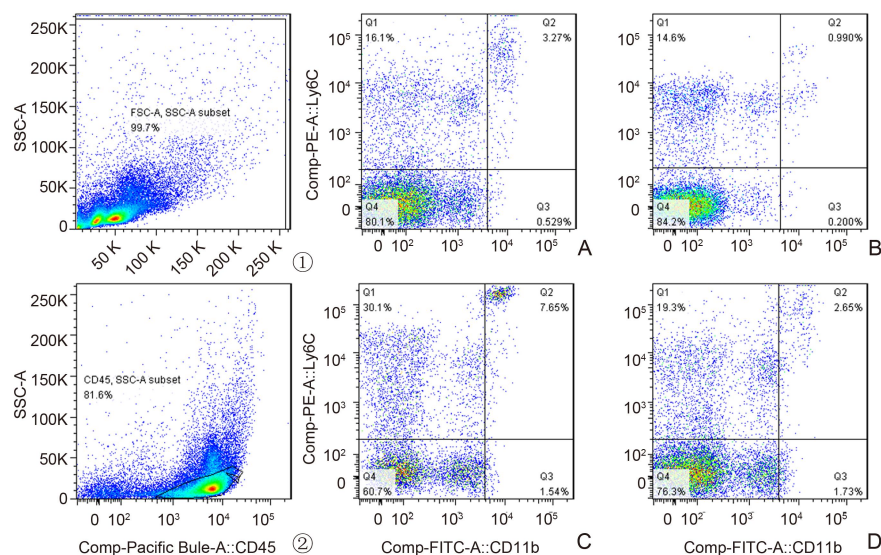
表 4 外周血清 IL-10 ELISA 测值比较 (pg/mL, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	IL-10
对照	5	276.7 $\pm$ 24.36
CDDP	5	296.2 $\pm$ 16.46 *
移植	5	414.5 $\pm$ 36.50 * Δ
联合治疗	5	484.0 $\pm$ 48.59 * Δ

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与 CDDP 组比较, Δ $P<0.05$

讨 论

研究证实 AMI 炎症反应具有炎性心肌损伤和促心脏修复的双重效应^[1-3]。AMI 后的急性组织损伤,激活全身与局部免疫系统,导致心梗区域及周边心肌中性粒细胞和单核细胞浸润,并产生相关炎症因子。其炎症反应不仅加重心肌组织损伤,而且介导相关坏死组织的清理,协调心梗组织的修复文献。心梗炎症反应过强或时间过长可加重心肌组织损伤;而过度干预炎症反应,可影响心梗后心肌组织修复文献。仅对 AMI 炎症反应的调节成为目前研究热点^[10,11]。



注:①为 FSC/SSC 点图用于排除干扰,②采用 CD45/SSC 设门技术圈出单核细胞;A 为对照组,B 为丹参滴丸组,C 为移植组,D 为联合治疗组;Q1 为 CD11b-Ly-6C++细胞群,Q2 为 CD11b+Ly-6C++细胞群(M1),Q3 为 CD11b+Ly-6C+细胞群(M2),Q4 为 CD11b-Ly-6C+细胞群;图 4 同

图 3 脾脏中单核细胞 M1/M2 亚型比值流式图

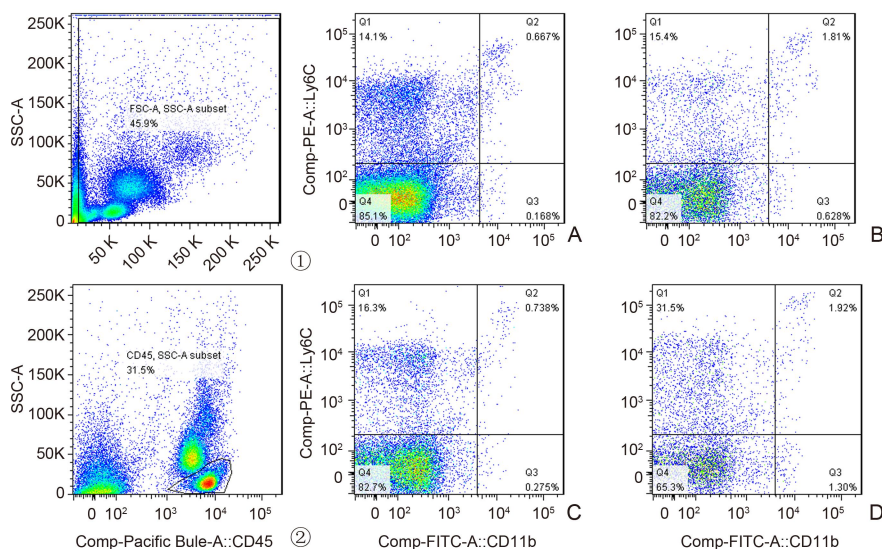


图 4 外周血中单核细胞 M1/M2 亚型比值流式图

研究证实巨噬细胞 M1/M2 亚型转化在心梗炎症双重效应中发挥至关重要的调节作用^[1,12]。2007 年, Nahrendorf M 等^[13]首次证实 AMI 组织出现时间依赖性序贯性巨噬细胞 M1/M2 亚型变化,自后经多个实验与临床研究进一步证实^[14,15]。AMI 炎症反应早期以 M1 巨噬细胞浸润为主,心肌梗死后 3d 达高峰,分泌促炎因子 IL-1、IL-6、IL-8 和 TNF- α 等,参与促炎与炎性心肌损伤。心肌梗死 3 d 后,M2 巨噬细胞逐渐替代 M1 巨噬细胞浸润,5~7 d M2 数量超过 M1,分泌 IL-10、成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast

growth factor, bFGF)、转化生长因子 β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1) 等,参与拮抗炎症反应及促进心脏修复。参与 AMI 炎症反应的单核细胞初期主要来源于外周血、脾脏,外周血 M1 型单核细胞通过表面受体 CCR2 与单核细胞趋化因子-1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1) 结合,浸润至心梗组织,分化为 M1 型巨噬细胞,参与促炎作用^[6,16-18]。外周血 M2 型单核细胞通过表面受体 CX3CR1 与不规则趋化因子 Fractalkine (Fkn, CX3CL1) 结合,缓慢进入炎症组织。因此,本研究选

择外周血、脾脏单核细胞 M1/M2 比值为观察指标,来判断 CDDP 联合 hUCB-MSCs 联合疗法对 AMI 小鼠心外单核/巨噬细胞 M1/M2 亚型转化影响。

近期多个研究表示,包括 hUCB-MSCs 在内的间充质干细胞移植对心肌梗死后的炎症情况进行调节,减低炎症损伤,促进炎症修复^[19-21]。其主要可能机制为旁分泌调节促炎型单核巨噬细胞 M1 向抗炎修复型 M2 转化。笔者团队研究^[8,18]也证明 hUCB-MSCs 可通过改善机体炎症情况,促使 M1 促炎型巨噬细胞向 M2 抗炎修复型转化,从而改善心功能^[6,7,22,24],以及促机体抗炎因子表达,尤其是 IL-10 通路,以减少炎症损伤,限制心脏重塑^[24-26]。

CDDP 主要由丹参、三七、冰片组成,具有抗血小板聚集、抗炎、扩张冠状动脉的作用及镇痛作用^[5]。研究证实 CDDP 联合常规治疗心梗药物如重组人尿激酶原、氯吡格雷等,可改善患者炎症情况,显著提高血管再通率,对抗血小板聚集,改善左心功能^[27-29]。另有实验研究表明复方丹参滴丸可以调节心梗模型动物的氨基酸脂肪酸代谢,调控心肌细胞凋亡,对缺血心肌具有保护作用^[30,31]。

本研究结果显示,CDDP 组较对照组单核细胞 M1/M2 显著降低,表明 CDDP 治疗可以于细胞水平调控抗炎 M1 单核细胞与促炎型 M2 型单核细胞的比例,防止炎症反应的过度放大,由此可避免后续促炎因子过量释放而导致的心肌细胞的炎性损伤、凋亡及坏死,挽救濒临缺血心肌,对梗死心脏功能的恢复有一定的意义。CDDP 及 hUCB-MSCs 单独治疗均显现有明显的抑制炎症反应的作用,且联合治疗组外周血及脾脏单核细胞 M1/M2 比例较 CDDP 组、移植组均呈下降趋势。此结果说明联合治疗更有效地促进 AMI 小鼠心外外周血、脾脏单核细胞 M1 向 M2 亚型转化,通过调控心外炎症免疫系统,从而抑制心肌梗死后心肌组织炎性反应及炎性损伤。

IL-10 是 M2 亚型单核巨噬细胞标志性生物因子,具有抗炎、促进炎症组织修复生物学效应。相关实验证实 IL-10 促进成纤维细胞活化、增殖,迁移和胶原蛋白产生^[32],心肌梗死后 IL-10 还可改善心肌组织微环境,抑制炎症并促进心脏修复、介导单核细胞 M1 向 M2 转化^[33]。本研究结果显示外周血 IL-10 水平在 CDDP 组、移植组、联合治疗组治疗后升高,单核细胞 M1/M2 比例降低,可能与 IL-10 介导单核细胞 M1 向 M2 的转化,促进炎症保护效应有关,另一方面单核细胞 M1/M2 比例降低,M2 占比的增加,分泌更多 IL-10,从而实现保护性炎症反应的良性循环。本结果还显示

联合治疗组较 CDDP 组、移植组的 IL-10 水平升高,说明在炎症因子水平的调节方面,CDDP 同 hUCB-MSCs 移植有协同效应。

本结果显示联合治疗组的心梗区域白细胞浸润亦少于移植组。治疗后联合治疗组胶原沉积比、LVEF 值均优于对照组,证明细胞及细胞因子水平的炎症保护效应最终在病理生理层面显现。心肌细胞坏死后胶原沉积形成的瘢痕组织没有收缩舒张功能,影响心脏泵功能,静脉移植 hUCB-MSCs 及口服 CDDP 均可减轻白细胞浸润、减少心肌组织坏死及瘢痕化,改善小鼠的心脏功能,并具有协同作用。

本研究结果显示,hUCB-MSCs 移植并联合服用 CDDP 可改善 AMI 后心内、心外的炎症微环境,促进单核巨噬细胞由促炎型 M1 向抗炎修复 M2 转化、减少炎症浸润、上调外周血抗炎因子 IL-10 浓度,使包括心脏系统在内的全身系统由促炎损伤向抗炎修复转化,从而发挥拮抗心梗后炎症反应、炎性损伤和促进心梗组织修复及心功能改善。

利益冲突: 文章的全部作者声明,在课题研究及文章撰写过程中不存在利益冲突。

参 考 文 献

- [1] 袁春菊,余国龙. 心肌梗死后心肌组织炎症双重效应与骨髓间充质细胞的调节作用[J]. 临床与病理杂志, 2014, 34(2): 212-215.
- [2] Frantz S, Hofmann U, Fraccarollo D, et al. Monocytes/macrophages prevent healing defects and left ventricular thrombus formation after myocardial infarction[J]. FASEB, 2013, 27(3): 871-881.
- [3] Lee TM, Chang NC, Lin SZ. Dapagliflozin, a selective SGLT2 Inhibitor, attenuated cardiac fibrosis by regulating the macrophage polarization via STAT3 signaling in infarcted rat hearts[J]. Free Radic Biol Med, 2017, 104: 298-310.
- [4] 裴宇,刘晓程,张崑,等. 同种、异种脐带间充质干细胞移植治疗猪急性心肌梗死模型疗效对比[J]. 中华全科医学, 2015, 13(12): 1935-1937, 1975.
- [5] 复方丹参滴丸临床应用中国专家建议写作组. 复方丹参滴丸临床应用中国专家建议[J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 35(11): 1139-1145.
- [6] 邓柳霞,艾旗,袁春菊,等. 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[J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(11): 1532-1537.
- [7] 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): RA163-RA172.
- [8] Pinho-Ribeiro V, Maia AC, Werneck-de-Castro JP, et

- al. Human umbilical cord blood cells in infarcted rats [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2010, 43(3): 290–296.
- [9] 彭漪, 陈柄全, 赵吉玲, 等. 静脉移植人脐血间充质干细胞心肌梗死小鼠心内、外单核巨噬细胞 M1/M2 亚型的转化[J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(33): 6327–6333.
- [10] Mona P, Nimai V, Mathun K, et al. Immunopharmacology of Post-Myocardial Infarction and Heart Failure Medications[J]. *J Clin Med*, 2018, 7(11): 403.
- [11] Kalkman DN, Aquino M, Claessen BE, et al. Residual inflammatory risk and the impact on clinical outcomes in patients after percutaneous coronary interventions[J]. *Eur Heart J*, 2018, 39(46): 4101–4108.
- [12] Tajbakhsh A, Rezaee M, Kovanen PT, et al. Efferocytosis in atherosclerotic lesions: malfunctioning regulatory pathways and control mechanisms[J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 188: 12–25.
- [13] Nahrendorf M, Swirski FK, Aikawa E, et al. The healing myocardium sequentially mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions[J]. *J Exp Med*, 2007, 204: 3037–3047.
- [14] Hulsmans M, Sager HB, Roh JD, et al. Cardiac macrophages promote diastolic dysfunction[J]. *J Exp Med*, 2018, 215(2): 423–440.
- [15] Humeres C, Vivar R, Boza P, et al. Cardiac fibroblast cytokine profiles induced by proinflammatory or profibrotic stimuli promote monocyte recruitment and modulate macrophage M1/M2 balance in vitro[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 101: 69–80.
- [16] Lai RC, Chen TS, Lim SK. Mesenchymal stem cell exosome: a novel stem cell-based therapy for cardiovascular disease[J]. *Regen Med*, 2011, 6(4): 481–492.
- [17] Raposeiras-Roubin S, Aguiar-Souto P, Barreiro-Pardal C, et al. GRACE risk score predicts contrast-induced nephropathy in patients with acute coronary syndrome and normal renal function[J]. *Angiology*, 2013, 64(1): 31–39.
- [18] Jhawar M, Chan A, Christianson L, et al. Utilization of phase II cardiac rehabilitation in veterans administration patients[J]. *Missouri Med*, 2013, 110(1): 71–73.
- [19] Yi Peng, Bingquan Chen, Jiling Zhao, et al. Effect of intravenous transplantation of hUCB-MSCs on M1/M2 subtype conversion in monocyte/macrophages of AMI mice[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 111: 624–630.
- [20] Frantz S, Nahrendorf M. Cardiac macrophages and their role in ischaemic heart disease[J]. *Cardiovasc Res*, 2014, 102(2): 240–248.
- [21] Dayan V, Yannarelli G, Billia F, et al. Mesenchymal stromal cells mediate a switch to alternatively activated monocytes/macrophages after acute myocardial infarction[J]. *Basic Res Cardiol*, 2011, 106(6): 1299–1310.
- [22] Tokutome M, Matoba T, Nakano Y, et al. PPAR γ -targeting nanomedicine promotes cardiac healing after acute myocardial infarction by skewing monocyte/macrophage polarization in preclinical animal models[J]. *Cardiovasc Res*, 2018, 115(2): 419–431.
- [23] Swirski FK, Nahrendorf M, Etzrodt M, et al. Identification of splenic reservoir monocytes and their deployment to inflammatory sites[J]. *Science*, 2009, 325(5940): 612–616.
- [24] Sebastião MJ, Menta R, Serra M, et al. Human cardiac stem cells inhibit lymphocyte proliferation through paracrine mechanisms that correlate with indoleamine 2, 3-dioxygenase induction and activity[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 290.
- [25] Kimura T, Tajiri K, Sato A, et al. Tenascin-C Accelerates Adverse Ventricular Remodeling after Myocardial Infarction by Modulating Macrophage Polarization[J]. *Cardiovasc Res*, 2018, 115(3): 614–624.
- [26] Bezerra OC, França CM, Rocha JA, et al. Cholinergic stimulation improves oxidative stress and inflammation in experimental myocardial infarction[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 13687.
- [27] 巩贵宏, 焦洁, 杨建涛, 等. 复方丹参滴丸联合重组人尿激酶原治疗急性 ST 段抬高型心肌梗死的临床研究[J]. *现代药物与临床*, 2018, 3(6): 1376–1379.
- [28] 卢乃棉. 不稳定型心绞痛患者联合应用氯吡格雷与复方丹参滴丸治疗对其血小板功能影响[J]. *心血管病防治知识(学术版)*, 2017, 7(24): 33–34.
- [29] 陈宏, 魏冬梅, 于丽, 等. 复方丹参滴丸对老年急性心肌梗死患者 PCI 术后血清炎症因子及 T 细胞亚群的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(11): 2586–2588.
- [30] 芦勤玮, 佟玲, 李东翔, 等. 复方丹参滴丸抗急性心肌梗死代谢组学研究[J]. *分析化学*, 2017, 45(6): 791–798.
- [31] 刘尊涛, 胡定辉, 杜璵, 等. 复方丹参滴丸处理对大鼠移植心脏心肌细胞保护作用及细胞凋亡线粒体途径的影响[J]. *实用中医药杂志*, 2018, 34(4): 391–392.
- [32] Jung M, Ma Y, Iyer RP, et al. IL-10 improves cardiac remodeling after myocardial infarction by stimulating M2 macrophage polarization and fibroblast activation[J]. *Basic Res Cardiol*, 2017, 112(3): 33.
- [33] Ali SS, Mohamed SFA, Rozalei NH, et al. Anti-fibrotic Actions of Roselle Extract in Rat Model of Myocardial Infarction[J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2019, 19(1): 72–81.

(收稿: 2019-02-16 在线: 2020-10-27)

责任编辑: 邱 禹