

。综述。

# 骨髓间充质干细胞心脏移植微环境和经络气血的关系

杨军<sup>1</sup>, 褚春<sup>2</sup>, 谭芳<sup>1</sup>

(1. 南华大学附属第一医院心内科, 湖南 衡阳 421001; 2. 南华大学附属第二医院药剂科)

**摘要:** 骨髓间充质干细胞心脏移植可改善心肌重建和恢复心功能, 但恶劣的移植微环境制约了干细胞心脏移植的疗效。微环境的改良成为提高干细胞移植疗效的关键。干细胞的归巢和定向转化都受移植微环境的信号转导和调控得影响, 经络气血的实质和功能与干细胞的移植微环境密切相关, 在干细胞的归巢和分化中可能起着重要作用。

**关键词:** 骨髓间充质干细胞; 微环境; 气血; 经络

中图分类号: R654.2

文献标志码: A

文章编号: 1006—1959(2009)11—1024—04

Abstracts of original articles Investigating into relationship between meridian and niche of transplanted mesenchymal stem cells(MSCs)

YANG Jun<sup>1</sup>, CHU Chun<sup>2</sup>, TANG Fang<sup>1</sup>

(1. Department of Cardiology the First Affiliated Hospital of South China University Hengyang 421001, Hunan Province China; 2. Department of Pharmacy the Second Affiliated Hospital of South China University)

**Abstract:** Mesenchymal stem cell transplantation for repair of myocardial necrosis is a safe and effective method for treatment of ischemic cardiomyopathy. Mesenchymal stem cell is a kind of ideal stem cell that can repair infarcted myocardium and improve heart function in quickly developed cell transplant therapy. Significant advances have been made in many studies on the differentiation of mesenchymal stem cells into myocardial cells. However stem cell homing, survival and differentiation still need investigation. The purpose of this article is from the point of view in of Chinese medicine to explore the mechanism of homing and differentiation of MSCs in niche and the relationship between niche and meridian. Meridian or niche plays a crucial role in the homing and differentiation of MSCs.

**Key words:** MSCs; niche; blood meridian

急性心肌梗死后通过经皮冠状动脉成形术和冠脉搭桥手术后可以使 90% 以上的患者恢复完全血运重建, 但即使完全血运重建也不能挽救坏死心肌, 这也是冠心病患者一旦发生急性心肌梗死则预后不良的主要原因, 而心肌梗死后如何实现心肌和血运重建也成为决定其最终预后的关键环节。国内外学者发现将干细胞移植至宿主心脏能修复坏死的心肌组织, 恢复心脏结构与功能。Wang 等<sup>[1]</sup>发现在“环境诱导分化”作用下, 移植入正常心肌中的骨髓间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 可分化形成心肌细胞<sup>[2]</sup>; 随后国内外学者先后均有报道: MSC 移植入梗死区可有效改善心肌梗死后心肌的重构和收缩功能<sup>[1]</sup>。而有关基础实验也提示移植干细胞在心肌移植微环境诱导下可转化成心肌细胞。

但干细胞移植的临床疗效也受到争议, 因为干细

胞所处微环境是移植干细胞存活和分化的关键因素, 而梗死灶的缺血缺氧的微环境却不利于干细胞的生长、分化和增殖, 有学者<sup>[3]</sup>发现在移植第 7 天干细胞存活率仅为 1%, 而引起细胞大量衰减的原因就和心肌梗死时心肌组织的缺氧和水肿有关<sup>[4]</sup>。缺乏微循环支持的梗死灶局部微环境明显影响了干细胞移植效果, 尤其是急性心肌梗死 1 周内干细胞移植的效果<sup>[4, 5]</sup>。因此, 如何提高移植干细胞在移植微环境下的存活, 增殖以及定向分化已经成为提高干细胞移植疗效的关键。而移植微环境改良也成为干细胞心脏移植领域的研究热点。

MSC 在心肌修复过程中主要涉及两个环节, 首先是 MSC 向坏死损伤部位的归巢, 其次是 MSC 在移植部位的存活, 增殖和定向分化。移植干细胞的存活, 增殖和分化受其所在环境的毗邻细胞以及局部的各种

(niche)。微环境是指干细胞赖以生存的空间位置和相互关系,其中含有毗邻细胞分泌产生的细胞外基质成分及大量生物活性分子,不仅对移植干细胞起着支持、连接、营养和保护等作用,还对细胞的增殖、分化和迁移等具有重要的信号调节作用。干细胞微环境是人们研究造血系统时于上世纪 70年代提出的,并先后在神经组织、小肠和表皮等处也同样发现存在类似的干细胞微环境。微环境中的毗邻细胞可产生的多种蛋白因子,并可与移植的干细胞相互作用,调控它们自我更新与分化的过程。因此微环境也称为移植干细胞的“土壤”,以其特征性的三维空间结构为移植干细胞提供赖以生存的基础,并与干细胞归巢、存活、增殖和分化等生命活动密切相关。移植干细胞所处微环境通常是一复杂的,损伤的,失稳态的微环境,包含各种的不同状态的细胞和多种活性蛋白分子,在其时空调节上目前还有许多不明确的地方。干细胞是具有多向分化潜能的细胞,但其分化受到干细胞自发信号和周围微环境中各种信号的调控,移植干细胞与毗邻细胞、干细胞与细胞外基质形成了复杂的微环境,而微环境对于移植干细胞和前体细胞的存活、分化、增殖和迁移都起着重要的作用。细胞外基质是干细胞微环境的重要组成部分,其降解和形成对于解除和建立干细胞的凝集状态以及其后发生的迁移和定居有着重要作用<sup>[6]</sup>。这一特征与后面所提到的经络现代假说有类似之处。

当组织损伤发生后,骨髓会迅速动员多种干细胞迁移至病变处,产生自然的代偿性修复;而通过各种途径引入体内的外源性 MSCs 也会定向归巢至损伤处,发挥治疗作用。干细胞移植是否成功,依赖于输注的干细胞能否定居于靶器官并长期存活,这个过程被称为归巢,但目前调节和控制干细胞归巢的分子机制尚不十分清楚。心肌梗死时,坏死区局部微环境明显失稳态,各种环境因素发生明显改变,如代谢物质堆积,渗透压升高,氢离子浓度增加, pH 值下降,细胞外基质逐渐增多,同时血管内皮细胞多种黏附分子表达明显上调,同时可以出现炎症细胞,如白细胞、单核细胞浸润,并释放大量细胞因子,炎症因子和趋化因子,如白介素 8 (IL-8)、肿瘤坏死因子 (TNF) 等。在浓度梯度和趋化特性以及一系列信号递呈体系的作用下, MSCs 可被动员或归巢至心肌梗死区,在局部微环境的作用下分化为心肌细胞,参与心肌修复。心肌损伤造成的这一系列微环境变化可能正是干细胞归巢的始动因

的作用下可定向分化为相应组织的成熟细胞,才能最终实现组织的更新和修复。

MSCs“归巢”机制主要源于黏附分子、趋化因子与配体的相互作用。MSCs 可表达不同的黏附分子和趋化因子,能使它们容易迁移并存活在不同的组织中。循环中的 MSCs 和心肌微血管内皮细胞的结合是干细胞“归巢”心肌的关键,在体外动态实验中已经发现两者的结合受到灌注培养液流速和静脉切应力影响,而活化的干细胞或内皮细胞均可调节此过程,炎症因子和 VCAM-1 的表达也可影响这一过程。已有实验证实,化学因子 (受体-配体) 之间的相互作用是指导干细胞特异性归巢于病损部位的关键环节。近年研究发现干细胞表达多种受体,例如基质细胞衍生因子-1 (SDF-1) 的受体 4 (CXCR4) (CXCR4),这使干细胞与心肌缺血损伤后产生的很多化学趋化物分子和细胞因子可以相互作用。有研究已证实, SDF-1 在组织缺血后局部过度表达,并导致血浆表达上调,同时骨髓表达出现下调,使得 CXCR4+干细胞被吸引至缺血区域,而 SDF-1/CXCR4 分子信号通路可能为循环中 CXCR4+干细胞归巢的主要机制<sup>[7]</sup>。而经络中的气血循环可能参与干细胞动员,迁移和归巢的信号递呈和驱动,而经络可能成为干细胞迁移和归巢的最终途径。

不仅 MSCs 向损伤部位的归巢与损伤微环境的信号递呈有关, MSCs 的定向转化也与微环境的信号调节和传递密切相关。Condorelli 等研究发现将胎鼠的内皮祖细胞 (EPC) 与乳鼠心肌细胞共同培养后可发生心肌定向分化,并且发现只有与乳鼠心肌细胞直接接触的内皮细胞才能分化为心肌细胞<sup>[8]</sup>。因此可以认为传递心肌细胞的微环境信号,也就是与心肌细胞之间的相互作用在促进 MSCs 定向分化可能是必需的。肖诗亮等对比不同方法诱导的 MSCs 移植到心肌梗死部位的修复作用时,发现与心肌细胞共培养和用心肌细胞裂解液培养两种方法诱导的 MSCs 移植于心梗部位后,分化为心肌样细胞比用 5-aza 诱导的 MSCs 效率高,而且模型鼠心功能也恢复显著<sup>[9]</sup>。常静等在将人 MSCs 和新生 SD 大鼠心肌细胞进行共同培养也得出类似的结论。并发现人 MSCs 在越接近于机体移植内环境的状态下, MSCs 的生长、转化、归巢表现越好<sup>[10]</sup>。

由此可见, MSCs 的定向转化与干细胞和微环境的信号调节和传递密切相关,而其中的调控机制并不清楚,可能与干细胞的凝集态形成有关,干细胞的归巢

和传递有关,其中的机制目前很多尚不清楚,但与中医中经络理论有许多关联和相似之处。经络理论是我国中医理论体系的重要组成部分,是并列于阴阳五行理论、藏象理论、气血津液理论、病因病机理论等的重要中医理论,与气血津液理论、藏象理论等从不同层次和角度阐述了机体的不同结构和功能单位相互作用和运化的关系。经络遍布人体各部,内属脏腑、外络支节,起着运行气血,调理阴阳,抗御外邪,护卫机体,传导感应,调节虚实的作用。“经脉者,行气血而营阴阳”、“夫十二经脉者,内联于脏腑外络于肢节”,因经络居于各功能单位之间起到联络、沟通、协调作用,故参与机体重要的信息调控和递呈机制。

经络是一个机体复杂的多层次的系统,包括经脉和络脉,经脉包括十二经脉、奇经八脉、十二经筋和十二皮部,络脉包括十五大络及浮络和孙络。经络的经,有路径的意思;络,有网络的意思。“络”据《说文解字》释义“絮”,是一种网状结构,《灵枢·脉度》云:“经脉为里,支而横者为络”,即络脉是经脉的分支,纵横交错并网络全身,无处不到。络脉是人体气血——物质、能量、信息交换、连通、传导、运行的通路中除主干之外的一种网络结构的总称。络脉有有形络脉和无形络脉之分,有人根据其功能又分为气络和血络,是人体脏腑、组织、器官之间运行气血——物质、能量、信息等的通路。我国古代医学家将“经”看成是主干传导线路,而把“络”看成是分支传导线路,从而构成了一个人体整体生理信息网络传导线路图——经络图。从某种意义上讲,中国古代的经络学说是一个更多注重功能,并不局限于结构的模糊的生理调控学说,同时该理论也是一个伸缩性、涵盖性、包容性、模糊性很强的理论。经络不仅包含神经系统的调节网络,也包含血管和淋巴等的循环网络,同时也囊括了内分泌和细胞因子等信息调控机制。因此经络系统是一个复杂的生命信号调控网络。经络感传现象在病理状态下常常出现气至病所现象,这一现象可用细胞因子的浓度梯度和免疫细胞及干细胞的趋化性来解释。而人们通过针灸技术观察到的循经感传现象,可能就就是由于针刺激活细胞,促使其释放大量的细胞活性物质而产生治疗作用。

《内经》中的经络流注就是气血流注,是气血在运行过程中不断变化和调节的反映。《黄帝内经》将气血关系概括为“血为气之母,气为血之帅,气引而血引,气滞而血滞”,明确地界定了气血的互动因果和母子运化关系,所以血液循环产生“气”,传递着梯度的信息

调控着运化生机。气血是经络的主体,经络服务于气血,“经脉流行不止、环周不休”(《素问·举痛论》),其与体液循环和机体信号调节密切相关,“血和则孙脉先满溢,乃注于络脉,皆盈乃注于经脉”(《灵枢·痛疽》),气血是生命活动的源泉和动力,气血也是经络理论的核心和灵魂,气血的变化涵盖了一切生命现象,也包括经络现象。经络是气血运行的通道,五脏系统是通过经络的网状信息沟通、气血运行通达进行调控,从而维持在一定的稳态。经脉中血气发挥营阴阳的作用,通过“络脉之渗溉”(《灵枢·小针解》),才得以“内溉脏腑,外濡腠理”(《灵枢·脉度》)。气血通过经络的络属沟通而发挥作用,不仅沟通内外,而且顺应自然。络脉中的气血流注具有满溢灌注和双向流动的特性,而络脉除了通行气血、卫外抗邪、沟通表里的作用外,还具有贯通营卫、互渗津液、促进气血循环的作用,在气血津液的输布环流中,起着重要的调控作用。虽然血管是《内经》经络的重要组成部分之一,同样血液循环也是经络流注的一种重要表现形式,但经络的含义和功用比血管和血液循环要更复杂更丰富。从解剖学与组织学上来看,毛细动脉管、毛细静脉管、毛细淋巴管、细胞间隙组织液,以及离子和多肽信号网络和细胞间信号连接的四维微环境构成了古典中医经络四维解剖结构的最小单位,十二正经和奇经八脉都是由这样的四维微环境最小单位构成的,有着特殊结构的信号传递通道,而微环境中的组织液则构成了多维的网状“络脉”。借助离子和多肽等介质微环境与定居细胞实现了信息交流,完成物质交换和能量代谢,也就是中医理论“气和”的状态,也是西医病理生理学中阐述的相对“稳态”。同样这样一种复杂的微环境,这样一种经络气血传递的生命信息也调控着生机和运化,并与干细胞在移植微环境下的归巢,存活,增殖,分化以及细胞间连接都有着密切的关系。

随着对经络理论的研究,不少学者曾对于经络实质提出各种假说,李子才在1994年提出经络本质的生物信息网络学说,文琛提出“经络与血管神经密不可分论”;谢浩在1988年提出经络的组织间隙结构说,张维波在1997年提出经络的体液通道假说,2003周立华提出“经络蛋白耦联带”假说;认为经络是功能蛋白质群的特定组合,经络表现形式的多样性也就是这些功能蛋白质群特定组合的多样性。常西廊认为<sup>[11]</sup>:经络信道的主要组员是间隙、缝隙、神经、血管、淋巴,包括部分组织液流通扩散时所依附的结构,如,骨髓、骨

神经等生长需要靶细胞产生的诱导因子,初始发育时细胞和间隙、缝隙分布的不对称导致序因子的产生和分布不均衡;又由此导致毛细血管、淋巴管、神经等的分布形态出现具有时空性有序性。而经络的信道结构是分布优化、有序兼容的系统性结构<sup>[12]</sup>。罗燕提出经络功能系统与现代神经内分泌免疫网络的相互融通<sup>[13]</sup>。经络是人体气、血、津液运行的主要通道,是人体各部分之间相互联系的途径。经络的存在,是依赖气的运行。“有气则开,无气则闭”。通过气的运行循着细胞间隙,由液晶态组织液直接地沟通了人体内部的机能<sup>[14]</sup>。于文娟等认为针刺治疗可动员并诱导内皮祖细胞归巢参与机体损伤修复,其机制就与刺激产生的液晶态组织液中的细胞因子的趋化作用有关<sup>[15]</sup>。这些假说都认可了经络的信息网络实质,并设法根据现代医学进展阐述经络在各种生理和病理状态下的功用和机制。而作为机体主要的信号网络——经络必然也参与了干细胞的动员,归巢,迁移和转化等调控过程,干细胞的动员,归巢,迁移和转化过程可能就是通过经络气血这一信号网络通过信号递呈和转导而最终实现的。有学者甚至认为经络气血实际就是干细胞的网络和运化,如张建新则认为《黄帝内经》中经脉、络脉的分类对应着干细胞巢的分类。“经络系统与干细胞巢分布”密切相关。经络是组织器官中各级分化细胞的“本源”与“中枢”,是由分布组织中的成体干细胞及其定向干细胞组成的,而经穴和络穴是成体干细胞及其定向干细胞形成的富集点及干细胞巢<sup>[16]</sup>。刘柏炎等学者则认为干细胞可归于正气范畴,干细胞与先天之精气密切相关<sup>[17]</sup>。张进等也认为干细胞与中医学的先天之精相关,并提出假说:干细胞是先天之精在细胞层次的存在形式<sup>[18]</sup>。这些假说为干细胞和经络气血的关系提供了时空上的想象空间,也为中医药应用与干细胞移植研究结合提出了新的思路。由于气血运化循环和经络信息递呈与干细胞的归巢,迁移和转化过程密切相关,而目前已经发现一些调节经络气血的中药对干细胞的动员,归巢,以及增殖和分化有着明显的作用,这也进一步提示气血经络在干细胞移植的调控中起着重要作用<sup>[19-20]</sup>。同时也提示着可能会有更多的中药,尤其是通络药物可通过调节气血经络影响干细胞的动员,归巢,以及增殖和分化,并在提高和改善干细胞心肌移植疗效上有着不可估量的应用前景。

## [参考文献]

- [2] Wang J, Shum-Tin D, Galipeau J, et al. Marrow stromal cells for cellular cardiomyoplasty: Feasibility and potential clinical advantages [J]. J Thorac Cardiovasc Surg. 2000; 120: 999—1005.
- [3] Pasha Z, Wang Y, Sheikh R, et al. Preconditioning enhances cell survival and differentiation of stem cells during transplantation in infarcted myocardium [J]. Cardiovasc Res. 2008; 77: 134—142.
- [4] Zhang M, Mehot P, Poppa V, et al. Cardiomyocyte grafting for cardiac repair: Graft cell death and anti-death strategies [J]. J Mol Cell Cardiol. 2001; 33: 907—921.
- [5] Hu X, Wang J, Chen J, et al. Optimal temporal delivery of bone marrow mesenchymal stem cells in rats with myocardial infarction [J]. Eur J Cardiothorac Surg. 2007; 31: 438—443.
- [6] Takamatsu Y, Simmons PJ, Moore RJ, et al. Osteoclast-mediated bone resorption is stimulated during short-term administration of granulocyte colony-stimulating factor but is not responsible for hematopoietic progenitor cell mobilization [J]. Blood. 1998; 92: 3465—3473.
- [7] Hildebrandt M, Schaub R, SDF-1 (CXCL12) in haematopoiesis and leukaemia: impact of DPP IV/CD26 [J]. Front Biosci. 2008; 13: 1774—1779.
- [8] Condorelli G, Borello U, Angelis DE, et al. Cardiomyocytes induce endothelial cells to transdifferentiate into cardiac muscle: implications for myocardium regeneration [J]. PNAS. 2001; 98: 10733—10738.
- [9] 肖诗亮, 郑日善. 不同方法诱导的 MSC 移植修复大鼠梗死心肌 [J]. 华中科技大学学报(医学版). 2007; 36(3): 339—342.
- [10] 常静, 雷寒, 陈建斌, 等. 大鼠心肌细胞诱导人骨髓间充质干细胞向心肌样细胞分化的研究 [J]. 重庆医科大学学报. 2007; 32(9): 907—910.
- [11] 周立华. “经络蛋白耦联带假说”与经络实质 [J]. 中医正骨. 2003; 15(12): 53.
- [12] 常西廊. 经络信道结构的解剖可观测性 [J]. 针刺研究. 2008; 33(6): 420—422.
- [13] 罗燕. 论古典经络功能系统与现代神经内分泌免疫网络学说的融通 [J]. 河北中医. 2007; 29(4): 343—344.
- [14] 卢六沙. 从经络的液晶体液模型到针刺的基因位点调控 [J]. 中国针灸. 2001; 21(10): 603—605.
- [15] 于文娟, 蔡绍哲. 关于针刺治疗脑缺血疾病机制中血管新生途径的新思路 [J]. 中国组织工程研究与临床康复. 2009; 13(7): 1375—1378.
- [16] 张建新. 待验证的揭示人体干细胞分布与分类的中医经络学说 [J]. 中国中医基础医学杂志. 2004; 10(6): 13—15.
- [17] 刘柏炎, 蔡光先. 试论中医学精气与干细胞生物学的关系 [J]. 湖南中医学学报. 2003; 23(6): 29.
- [18] 张进, 徐志伟, 杜少辉, 等. “精”学说与干细胞辨识 [J]. 中医药学刊. 2004; 22(7): 1198.
- [19] 唐巍, 王键, 胡建鹏. 中医药诱导神经干细胞增殖分化治疗缺血性脑卒中的策略和设想 [J]. 中国中医基础医学杂志. 2005; 11(4): 295—297.
- [20] 汪朝晖, 洗绍祥, 杨志奇, 等. 人参皂甙诱导 MSC 分化为心肌样细胞的实验研究 [J]. 广州中医药大学学报. 2006; 23(2): 100—103.