

中药对内皮祖细胞的影响

邬伟魁¹, 张海燕^{1,2}, 宋伟¹, 贺娅¹, 郑琴¹, 朱根华¹, 杨明^{1,3*}

(1. 江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004; 2. 西南交通大学材料先进技术教育部重点实验室, 成都 610003; 3. 成都中医药大学, 成都 611137)

[摘要] 主要就中药对内皮祖细胞的影响研究进行文献整理和分析。研究表明, 内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)是血管内皮细胞(endothelial cells, ECs)的前体细胞, 可参与血管新生和内皮损伤后的修复, 在心血管疾病的发生、发展中扮演了重要角色。中医药治疗心血管疾病有着悠久的历史, 能够同时作用于疾病发生的不同环节, 多途径、多环节、多靶点直接或间接地影响疾病的进程。一些中药能有效调节 EPCs 的功能, 如影响其动员、分化、归巢、黏附等。全文从临床观察、动物实验、细胞培养等 3 个方面综述了中药对内皮祖细胞的有效影响, 同时探讨了中药对内皮祖细胞的作用机制及目前研究存在问题, 以期为中心血管领域的中药应用和新药研发提供参考。中药调节 EPCs 的数量和功能在心血管疾病和肿瘤的防治中具有重要作用。中药结合材料学、生物医学等学科, 有可能为最终打破重大疾病防治的瓶颈做出贡献。

[关键词] 中药; 内皮祖细胞; 心血管疾病; 内皮细胞; 冠心病

[中图分类号] R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0282-04

Treatment of Endothelial Progenitor Cells Used Traditional Chinese Medicine

WU Wei-kui¹, ZHANG Hai-yan^{1,2}, SONG Wei¹, HE Ya¹, ZHEN Qin¹, ZHU Gen-hua¹, YANG Ming^{1,3*}

(1. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine(TCM), Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China; 2. Key Lab. of Advanced Technology of Materials (Chinese Education Ministry), Southwest Jiaotong University, Chengdu 610003, China; 3. Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China)

[Abstract] Treatment of endothelial progenitor cells (EPCs) used traditional Chinese medicine was introduced in this review. EPCs, the precursor cells of endothelial cells (ECs), can participate in angiogenesis and endothelial injury after repair, which plays an important role in the incidence and development of cardiovascular disease. There is a long history for Chinese medicine to treat cardiovascular disease. It plays an important role in the different stages of disease development simultaneously. Some Chinese herbal medicines adjust the EPCs functions effectively, like influencing their mobilization, differentiation, homing, adhesion, etc. This paper reviewed Chinese medicine in the treatment of endothelial progenitor cells, to improve its application in cardiovascular field and new drug development of traditional Chinese medicine. The adjustment of Chinese medicine on EPCs plays a very important role in disease treatment.

[Key words] traditional Chinese medicine; endothelial progenitor cells; cardiovascular disease; endothelial cells; coronary artery disease

[收稿日期] 20110301(001)

[基金项目] “十一五”重大新药创制重大专项(2009ZX09103-393;2009ZX09310-005); 中医药行业科研专项项目(200708006)

[第一作者] 邬伟魁, 在读研究生, 从事新制剂、心血管药物研究, E-mail: weikuiwu@qq.com; 张海燕, 讲师, 在读博士, 从事心血管材料研究, Tel: 0791-7118108, E-mail: haiyansl@163.com

[通讯作者] * 杨明, 教授, 博士, 从事中药炮制学、中药制剂学研究, Tel: 0791-7118658, E-mail: yangming16@126.com

动脉粥样硬化、血栓形成、高血压和糖尿病等均存在内皮损伤,内皮损伤和修复的平衡在减少心血管事件方面具有重要的作用。相关致病因素存在时内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)的功能将受损。自首次^[1]从外周血液分离出 EPCs 以来,大量研究证实,EPCs 具有向内皮细胞(endothelial cells, ECs)分化、促进新生血管生成及加快内皮修复等作用。近年报道了药物动员 EPCs、使用 EPCs 移植^[2]和 EPCs 捕获支架^[3]等方法在心血管病治疗中的应用。其中中药复方及其制剂、单体成分治疗对 EPCs 的影响备受关注。

1 中药对内皮祖细胞的有效影响

1.1 临床观察

Xu 等^[4]对小檗碱促进血管内皮功能的机制进行了探讨,在 15 例健康受试者的相关研究中发现,小檗碱通过动员 EPCs,可增进健康人小动脉的弹性。不同浓度的参麦注射液可影响培养 EPCs 的数量及其部分生物学功能^[5],临床观察表明^[6],冠心病患者经参麦注射液治疗后可增加外周血中循环 EPCs 数量,其疗效高于一般西药。季亢挺等^[7]对 12 例高胆固醇血症患者用复方丹参滴丸治疗,发现复方丹参滴丸对患者外周血 EPCs 数量无显著性影响,但显著提高其克隆形成能力、增殖能力、黏附能力及迁移能力。

1.2 动物实验

补肾生血胶囊能够动员骨髓内皮祖细胞的迁移和分化,改善缺血组织的供血^[8]。梁天成等^[9]建立了大鼠后肢缺血模型,喂食补肾生血胶囊,1 周后细胞培养观察外周血 EPC 数量变化,4 周后检测缺血组织微血管密度及血管内皮生长因子(VEGF)的表达情况。结果补肾生血药通过动员骨髓 EPCs 的迁移、分化、促进局部的血管新生,达到改善供血目的。为了探讨血府逐瘀汤在动员骨髓 EPCs 方面的作用,高冬等^[10]将 SD 大鼠随机分为生理盐水对照组及血府逐瘀汤高、中、低剂量组,灌胃给药 8 d 后,腹主动脉采血测定相应指标;结果提示血府逐瘀汤有可能通过一氧化氮(NO)途径动员骨髓中 EPC 释放,参与血管新生。采用不同浓度的血府逐瘀汤含药血清和空白对照血清诱导处理 EPCs 后,观察药物对 EPCs 吞噬乙酰化低密度脂蛋白、分泌 NO 和细胞超微结构的影响发现,血府逐瘀汤具有诱导内皮祖细胞分化成内皮细胞的作用^[11]。之后研究证实,血府逐瘀汤通过上调血管内皮生长因子-血管内皮生长因子受体通路^[12],影响内皮祖细胞功能。血府逐瘀汤能显著影响内皮祖细胞增殖、迁移、黏附和吞噬 ac-LDL 的能力^[13],提示其具有诱导内皮祖细胞转化成内皮细胞参与血管新生的作用。

1.3 细胞培养

药物治疗机体疾病存在一定的量效关系,体外培养的 EPCs 对药物的浓度也比较敏感。季亢挺等^[14]认为,低剂量复方丹参注射液显著提高培养 EPCs 数量和功能,高剂量则反之。丹参酮 II_A 能改善 EPCs 的增殖、迁移和黏附能力^[15]。丹酚酸 B 对 EPCs 具有保护作用^[16],增强其细胞功能,其机制可能是多方面的,如与其减少细胞凋亡,促进分泌某些细胞因子以及增加或减低某些酶活性等有关。

通心络胶囊在一定浓度范围内能影响人外周血 EPCs 的“质”和“量”,促进血管损伤后的内皮修复和心肌缺血后的

血管再生^[17]。通心络能改善 EPCs 的增殖、迁移、黏附的功能,且在 500 mg·L⁻¹时作用最为显著^[18];采用 500 mg·L⁻¹的通心络进行时效作用的研究显示,通心络呈时间依赖性地增强 EPCs 增殖、迁移、黏附能力,在 36 h 达到高峰。这可能是通心络防治心脑血管疾病的新机制。冠通方可促进外周血 EPCs 扩增,并显著改善外周血 EPCs 的黏附、迁移和增殖能力^[19-20],这可能是冠通方防治冠心病患者经皮冠状动脉腔内成形术加支架植入术后再狭窄的作用机制之一。

淫羊藿苷高、中、低浓度组均改善了人外周血 EPCs 增殖功能,且呈一定的量效、时效关系;在同一浓度组中,随时间延长淫羊藿苷对 EPCs 的促进作用逐渐增强,于 72 h 达到高峰,且中剂量组对 EPCs 的促进作用优于辛伐他汀组^[21]。淫羊藿苷可促进 EPCs 增殖,从而刺激缺血组织血管新生,这可能是其防治心脑血管及周围血管疾病的机制之一。体外培养人外周血 EPCs 研究表明^[22],葛根素能显著增加外周血 EPCs 数量,且 EPCs 数量随葛根素浓度增加及作用时间延长而增加,3 mmol·L⁻¹葛根素作用 24 h 对 EPCs 数量的影响显著。葛根素还可显著改善 EPCs 的黏附、迁移和体外管腔形成能力^[23]。

2 中药对内皮祖细胞的作用机制

近年来,人们对有心血管系统治疗作用的中药复方及其制剂进行了机制探讨,发现其对 EPCs 功能具有促进作用,这可能是其治疗冠心病、糖尿病、内皮修复和促进血管再生的一个重要原因。有研究显示,丹参对 EPCs 的保护功效可能与其消炎和抗氧化的作用有关^[24]。氧化低密度脂蛋白损伤后,EPCs 的增殖能力、黏附能力显著受损,细胞培养液白细胞介素(IL-6)及肿瘤坏死因子(TNF-α)含量显著增高;丹参素干预 24 h 后,显著改善了外周血 EPCs 的功能,且丹参各组 IL-6 及 TNF-α 含量显著减少^[25]。故认为丹参素对氧化低密度脂蛋白损伤后内皮祖细胞的功能有显著保护作用,其机制可能与抑制炎症因子释放有关。

灯盏花素^[26]可增加 EPCs 的数量、增殖能力、迁移能力、黏附能力和体外血管形成能力。陈图刚等^[27]发现黄芪注射液能增加 EPCs 的数量,促进 EPCs 的增殖能力、迁移能力、黏附能力,且随黄芪浓度和作用时间增加而加强。还发现黄芪能增加 EPCs 中 iNOS 含量,使 NO 增多,NO 可通过激活血管内皮祖细胞中 PI3K/Akt 信号通路,从而促进 EPCs 的增殖及其各种功能的增强,与他汀类药物对内皮祖细胞的作用机理相似,这可能是其促进 EPCs 增殖及功能的主要机制之一。黄芪注射液、血塞通粉针剂(三七总皂苷)对高糖环境下 EPCs 分化的促进作用及机制研究初步证实^[28],中药黄芪和三七在 EPCs 向 ECs 分化方面具有显著的促进作用,可改善高糖对 EPCs 向 ECs 分化的功能,对治疗糖尿病,尤其对于缓解高糖所致的糖尿病慢性并发症具有积极意义。然而促进 EPCs 向成熟 ECs 分化的具体机制有待进一步研究。

中药芪红合剂含药血清对体外培养的人外周血 EPCs 的增殖具有一定的促进作用^[29],与对照组比较,含药血清能增

加 EPCs 的数量,且能改善 EPCs 黏附能力,并且其影响呈一定的剂量相关性、时间依赖性^[30];低剂量芪红合剂组较中、高剂量组作用明显,且在同一剂量组中,芪红合剂含药血清对 EPCs 数量和黏附功能的影响随时间推移逐渐增强,于 72 h 达到高峰作用。芪红合剂能促进体外培养人外周血 EPCs 的数量和黏附功能,可能是其防治血管内皮损伤及内皮功能障碍相关性疾病的作用机制之一。宫建芳等^[31]探讨了其对体外周血内皮祖细胞的保护机制,认为芪红合剂可能通过增加 EPCs 的 NOS 活性,促进 NO 分泌,防止血管内皮损伤及动员血管内皮祖细胞修复损伤血管来发挥血管内皮保护作用。小剂量白藜芦醇可上调 eNOS 表达,促进 EPC 动员,加快内皮修复及抑制内膜增生,这可能是白藜芦醇具有心血管系统保护作用的机制之一,值得进一步研究。

疏肝活血方能明显促进大鼠骨髓来源的血管 EPCs 的分化,提高 EPCs 的数量,明显改善 EPCs 的黏附、增殖及迁移能力,减少 EPCs 的凋亡率。还能明显提高 EPCs 中血管新生相关基因 VEGF, HGF, HIF-1 α 的 mRNA 表达量,与对照相比差异具有显著意义^[32]。疏肝活血方能促进 EPCs 中血管新生相关基因 VEGF, HGF, HIF-1 α 的表达,是该方促血管新生的机制之一。银杏叶提取物^[33]通过增加 EPCs 的数量促进血管生成,而且数量的增加随浓度增加及作用时间延长而增加。银杏叶提取物(25 mg·L⁻¹)作用 24 h 可使 EPCs 的数量增加一倍,提示银杏叶提取物可增加 EPCs 的数量并改善其功能,从而促进内皮修复,其影响 EPC 的机制可能与减少 EPCs 的凋亡或者调节 EPC 的分化和增殖有关。丹参多酚酸盐是中药丹参提取物中最重要的水溶性成分。陈琴等^[34]观察了丹参多酚酸盐对糖基化终产物(advanced glycation end products, AGE)引起的晚期 EPCs 功能障碍的修复作用,并探讨其中分子机制。研究发现,AGE 使 EPCs 功能受损,表现为凋亡增加、迁移及体外形成新生血管的能力下降,丹参多酚酸盐可修复由 AGE-白蛋白引起的 EPCs 功能损害。

3 问题与讨论

与化学药物的作用途径相对单一、靶点明确不同,许多中药尤其是中药复方对心血管系统的影响,存在着多靶点、多途径的调节作用。对于有 EPCs 治疗作用的中药,其对血管内皮细胞和平滑肌细胞的作用如何却少见报道;目前的研究多从某方面入手研究中药的作用机制,难以全面揭示中药作用的整体效用,相关研究有待进一步深入。

有研究表明,EPCs 可作为肿瘤患者预后的指标和治疗的靶标。陈立武等^[35]发现中药(复方制剂“解毒消癥饮”和“扶正抑瘤方”)在肝癌手术期中提高手术疗效可能与减少外周血内皮祖细胞的含量和 VEGF 水平有关。与此不同的是,上述中药对 EPCs 的数量和功能多是通过产生正面调节作用起到治疗疾病作用的。不少中药可显著提高患者外周血内皮祖细胞的各项功能,可能通过抗氧化损伤、抑制内皮祖细胞凋亡、提高机体分泌或内皮祖细胞自分泌 VEGF(或上调 VEGF 受体水平)而促进内皮祖细胞动员及分化等机制

影响内皮祖细胞的数量及功能。上调 EPCs 的数量和功能可以起到治疗多数心血管疾病的作用,而对其进行下调则是肿瘤治疗中希望的效果。

冠脉介入治疗急需进一步降低再狭窄率和支架血栓形成率。部分中药及其有效成分具有抗炎、抗凝、抗血栓、抗血管平滑肌增生和促进内皮细胞生长的作用,其多环节、多靶点、双向调节的作用十分适宜应用于载药支架系统。但是,本课题组在研究中发现,PLGA 包裹水溶性中药有效成分的负载量及其缓释特性是目前研究的一个难题。若将适宜的中药应用于药物洗脱血管支架,有望在支架血栓和再狭窄率方面有所突破,为研制新型支架系统提供物质基础,为进一步将中药提取物应用于支架提供依据。

药物洗脱血管支架系统通过载雷帕霉素或紫杉醇克服裸支架的缺陷,但所载药物却存在比较严重的抑制 ECs 和 EPCs 的副作用。很多中药有抗凝药物、抗炎药物、抗平滑肌增生和促内皮的作用,可以提高心血管材料的生物相容性,已有研究将中药成分应用于支架研究^[36]。中药对 EPCs 的治疗作用,可以通过两条途径与冠心病介入治疗结合:第一,介入治疗患者可同时口服或注射对 EPCs 有治疗作用的中药,以提高患者 EPCs,克服介入治疗的副作用;第二,将有 EPCs 治疗作用中药有效成分载到材料表面,促进血液接触材料自内皮化,起到积极的治疗作用。

[参考文献]

- [1] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis [J]. Science, 1997, 275(5302):964.
- [2] Griese D P, Ehsan A, Melo L G, et al. Isolation and transplantation of autologous circulating endothelial cells into denuded vessels and prosthetic grafts: implications for cell-based vascular therapy [J]. Circulation, 2003, 108(21):2710.
- [3] Aoki J, Serruys P W, van Beusekom H, et al. Endothelial progenitor cell capture by stents coated with antibody against CD34: the HEALING-FIM (Healthy endothelial accelerated lining inhibits neointimal growth-first in man) registry [J]. J Am Coll Cardiol, 2005, 45(10):574.
- [4] Xu M G, Wang J M, Chen L, et al. Berberine-induced mobilization of circulating endothelial progenitor cells improves human small artery elasticity [J]. J Hum Hypertens, 2008, 22(6):389.
- [5] 郭伟新, 杨期东, 谢晓云, 等. 参麦注射液对人外周血内皮祖细胞部分生物学的影响 [J]. 卒中与神经疾病, 2008, 15(1):37.
- [6] 唐丽鹃. 参麦注射液治疗冠心病疗效及患者内皮祖细胞的变化 [J]. 中国医药导报, 2009, 6(16):35.
- [7] 季亢挺, 张怀勋, 唐疾飞, 等. 丹参对高胆固醇血症患

- 者内皮祖细胞数量及功能的影响[J]. 中国中药杂志,2007,32(12):1215.
- [8] 张喜成,何延政,李跃武,等. 补肾生血胶囊动员骨髓内皮祖细胞促进缺血肢体血管新生的研究[J]. 江苏中医药,2006,27(3):57.
- [9] 梁天成,黄家应,向友,等. 补肾生血药促进大鼠缺血后肢血管新生的实验研究[J]. 中国现代普通外科进展,2006,9(3):165.
- [10] 高冬,林薇,郑良朴,等. 血府逐瘀汤动员大鼠骨髓内皮祖细胞的实验研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2007,5(9):829.
- [11] 高冬,吴立娅,焦雨欢,等. 血府逐瘀汤影响内皮祖细胞分化的实验研究[J]. 中国中医基础医学杂志,2009,15(12):917.
- [12] 高冬,吴立娅,焦雨欢,等. 血管内皮生长因子通路在血府逐瘀汤影响内皮祖细胞功能中的作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(11):104.
- [13] 高冬,吴立娅,焦雨欢,等. 血府逐瘀汤对内皮祖细胞功能的影响[J]. 中药材,2010,33(7):1129.
- [14] 季亢挺,张怀勤,杨鹏麟,等. 复方丹参注射液对内皮祖细胞数量和功能的影响[J]. 中国中药杂志,2006,31(3):246.
- [15] 陈晓锋,唐礼江,朱敏,等. 丹参酮ⅡA对外周血内皮祖细胞增殖、粘附和迁移功能的影响[J]. 中国药理学通报,2007,23(2):274.
- [16] 李庆雯,南亚的,姜希娟,等. 丹酚酸B对离体内皮祖细胞私附、趋裕和增殖的影响[J]. 天津中医药大学学报,2009,28(1):20.
- [17] 梅爱农,王珏,湛颜强,等. 通心络胶囊对脑梗死大鼠脑皮质血管新生和皮层神经元凋亡的影响[J]. 实用医学杂志,2006,22(3):267.
- [18] 梁小卫,田福利,梁春,等. 通心络体外促进人外周血内皮祖细胞的增殖、迁移、黏附的研究[J]. 国际心血管病杂志,2009,36(3):184.
- [19] 张接发,易自刚. 冠通方对体外培养内皮祖细胞数量和迁移功能的影响[J]. 长春中医药大学学报,2010,26(2):175.
- [20] 张接发,易自刚. 冠通方对体外培养内皮祖细胞(EPCs)数量和功能的影响[J]. 广西中医学院学报,2010,13(1):1.
- [21] 杜海斌,马华,武丽萍,等. 淫羊藿苷对人外周血内皮祖细胞增殖功能的影响[J]. 中国医药指南,2010,8(10):11.
- [22] 张芙蓉,陈君柱,朱军慧,等. 葛根素对外周血内皮祖细胞数量和功能的影响[J]. 中国中药杂志,2004,29(8):777.
- [23] Zhu J H,Wang X X,Chen J Z, et al. Effects of puerarin on number and activity of endothelial progenitor cells from peripheral blood[J]. Acta Pharmacol Sin,2004,25(8):1045.
- [24] Ji K T, Chai J D, Xing C, et al. Danshen protects endothelial progenitor cells from oxidized low-density lipoprotein induced impairment[J]. J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol),2010,11(8):618.
- [25] 季亢挺,唐疾飞,陈鹏,等. 丹参素保护内皮祖细胞炎症损伤的机制研究[J]. 中国预防医学杂志,2010,11(8):809.
- [26] 陈图刚,李鸣媛,谭维羚,等. 灯盏花素对内皮祖细胞数量、功能及 iNOS 的影响[J]. 实用中西医结合临床,2010,10(4):1.
- [27] 陈图刚,谭维羚,马战清,等. 黄芪注射液对外周血内皮祖细胞数量及功能的影响[J]. 中药新药与临床药理,2007,18(5):364.
- [28] 沈凌,杨博华,曾绩娟,等. 黄芪、三七对高糖环境下内皮祖细胞分化的影响[J]. 北京中医药,2010,29(10):787.
- [29] 武丽萍,马华,杜海斌,等. 中药芪红合剂含药血清对人外周血内皮祖细胞增殖的影响[J]. 中西药结合心脑血管病杂志,2009,7(3):304.
- [30] 马华,武丽萍. 芪红合剂含药血清对人外周血内皮祖细胞数量及其功能的影响[J]. 中西药结合心脑血管病杂志,2010,8(9):1107.
- [31] 宫建芳,马华,申静,等. 芪红合剂含药血清对体外培养人外周血内皮祖细胞 NO 及 NOS 的影响[J]. 中西药结合心脑血管病杂志,2010,8(3):312.
- [32] 李大勇,陈文娜,谷峰,等. 疏肝活血方含药血清对大鼠骨髓源性内皮祖细胞血管新生相关基因表达的影响[J]. 中国现代中药,2010,12(3):30.
- [33] 王兴祥,尚云鹏,陈君柱,等. 银杏叶提取物对外周血内皮祖细胞数量和功能的影响[J]. 药学报,2004,39(8):656.
- [34] 陈琴,黄铭涵,江时森,等. 丹参多酚酸盐修复糖基化终产物引起的晚期 EPCs 功能障碍及其分子机制[J]. 中国中西医结合杂志,2010,30(6):630.
- [35] 陈立武,赵红佳,江敏,等. 复方中药抑制原发性肝癌患者外周血内皮祖细胞的临床研究[J]. 福建中医学院学报,2009,19(4):6.
- [36] 张海燕,邬伟魁,杨明. 药物洗脱支架载药概述[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(13):252.

[责任编辑 邹晓翠]