

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2006)19-1755-03

粒细胞集落刺激因子对 CD34<sup>+</sup> 骨髓干细胞在心肌内归巢的影响冯金华<sup>1</sup> 李玉光<sup>1</sup> 石刚刚<sup>2</sup> 侯玉清<sup>3</sup> 曹世平<sup>3</sup> (汕头大学医学院:<sup>1</sup> 第一附属医院心内科;<sup>2</sup> 药理学教研室, 广东 汕头 515041;<sup>3</sup> 南方医科大学南方医院心内科, 广东 广州 510515)Effects of granulocyte colony-stimulating factor on CD34<sup>+</sup> bone marrow stem cell homing to infarcted myocardiumFENG Jin-Hua<sup>1</sup>, LI Yu-Guang<sup>1</sup>, SHI Gang-Gang<sup>2</sup>, HOU Yu-Qing<sup>3</sup>, CAO Shi-Ping<sup>3</sup><sup>1</sup>Department of Cardiology, First Affiliate Hospital, <sup>2</sup>Department of Pharmacology, Medical College, Shantou University, Shantou 515041, China, <sup>3</sup>Department of Cardiology, Nanfang Hospital, Nanfang Medical University, Guangzhou 510515, China

**【Abstract】** AIM: To explore the possible effects of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) on the homing of CD34<sup>+</sup> bone marrow stem cell (BMSC) to myocardium. **METHODS:** Seventeen adult mongrel dogs were randomly assigned to 4 groups. Group 1 (G-CSF and MI,  $n=5$ ) were treated with 10  $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})\times 5$  d of G-CSF injection sc and then myocardial infarct operation; group 2 (G-CSF and sham operation,  $n=4$ ), treated with 10  $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})\times 5$  d of G-CSF injection sc and sham operation; group 3 (non-G-CSF and MI,  $n=4$ ) were injected with 10  $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})\times 5$  d sc normal saline and underwent myocardial infarct operation; group 4 (non-G-CSF and sham operation,  $n=4$ ) were injected with 10  $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})\times 5$  d sc normal saline and get sham operation. Thoracotomy was performed on the left thorax of each animal and left anterior descending artery was exposed and separated about 1 cm. In group 1 and 3 the separated arteries were occluded for 3 h and then re-opened, while the other 2 groups were not treated in this way. Every dogs received catheterizing in right femoral artery into the root of aorta arch and a top-modified pigtail catheter cannulating through left jugular superficial vein into coronary venous sinus. 5 mL blood from each animal aorta and coronary sinus were harvested for two times, in which erythrocytes were lysed. Mononuclear cells were separated with lymphocyte separating solution and CD34<sup>+</sup> BMSC were clarified and counted by flow cytometry. Data were calculated and managed with SPSS 10.0 statistical package. **RESULTS:** The amount of

the CD34<sup>+</sup> stem cells homing to myocardium in each group were  $(183.0 \pm 9.2) \times 10^4/\text{L}$ ,  $(71.1 \pm 9.2) \times 10^4/\text{L}$ ,  $(82.3 \pm 9.5) \times 10^3/\text{L}$  and  $(78.5 \pm 9.8) \times 10^3/\text{L}$ , respectively. We found after comparing the data of each group that the difference among every group was very significant ( $P=0.000$ , respectively) except between group 3 and 4 ( $P=0.912$ ). **CONCLUSION:** G-CSF could not only vastly mobilize the BMSC into periphery blood, but also could increase the CD34<sup>+</sup> stem cells homing to myocardium independent of myocardial infarct.

**【Keywords】** stem cell; myocardial infarction; homing; granulocyte colony-stimulating factor

**【摘要】**目的 观察粒细胞集落刺激因子(G-CSF)对 CD34<sup>+</sup> 骨髓干细胞(BMSC)在心肌内归巢的影响。方法 戒龄杂种犬 17 只 随机分 4 组。A 组 5 只 接受 10  $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$  5 d 皮下注射和实验性心梗; B 组 4 只 接受 10  $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$  5 d 皮下注射和假手术; C 组 4 只 接受 10  $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$  5 d 生理盐水皮下注射和实验性心梗; D 组 4 只 接受 10  $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$  5 d 生理盐水皮下注射和假手术。对每只动物股动脉插管至主动脉根部, 左颈浅静脉插管至冠状静脉窦, 分别于造型前后抽血 5 mL (抽复管) 裂解红细胞, 分离单个核细胞, 流式细胞仪测定 CD34<sup>+</sup> 细胞数。数据分析用 SPSS 10.0 统计软件包。结果: 4 个实验组 CD34<sup>+</sup> BMSC 心肌内归巢数分别为  $(183.0 \pm 9.2) \times 10^4$  个/L,  $(71.1 \pm 9.2) \times 10^4$  个/L,  $(82.3 \pm 9.5) \times 10^3$  个/L 和  $(78.5 \pm 9.8) \times 10^3$  个/L。除 C、D 组之间差别无统计学意义 ( $P=0.912$ ) 外, 其余各组间均有统计学意义 (均为  $P=0.000$ )。结论 G-CSF 不仅能动员 BMSC 大量释放入外周血, 同时还能增加 CD34<sup>+</sup> BMSC 在心肌内的归巢。

**【关键词】** 干细胞; 心肌梗死; 归巢; 粒细胞集落刺激因子

**【中图分类号】** R542.22

**【文献标识码】** A

## 0 引言

心肌梗死(myocardial infarction, MI)已成为第一位致死性疾病, 以往认为坏死心肌无法治愈, 现在研究发现干细胞能在体内外分化成心肌细胞<sup>[1-2]</sup>, 自体骨髓干细胞(bone marrow stem cell, BMSC)能在心梗时得到动员<sup>[3-4]</sup>, 并归巢(homing)到梗死部位分化心肌细胞, 然而正常情况下外周血干细胞含量很低<sup>[5]</sup>, 远达不到修复坏死心肌所需要的浓度, 使用粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)动员骨髓可以使大量 BMSC 进入外周血, 促进

收稿日期 2006-02-08; 接受日期: 2006-04-06

基金项目 军队课题基金(98Z072)

通讯作者: 冯金华, 副主任医师, 博士, 在站博士后. Tel: (0754)

8258290 Ext. 5210 Email: jinnhua@hotmail.com

其分化成心肌和血管内皮细胞,达到再生和修复作用,很显然只有归巢到靶部位的干细胞才有可能分化成心肌和血管内皮细胞,因此干细胞的归巢决定了心肌的再生。我们对 G-CSF 能否影响干细胞的归巢进行了探讨。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 成龄杂种犬 17 只,雌雄不限,体质量 17.5~24.7(平均  $21.2 \pm 2.2$ )kg,随机分为 4 组, A 组(G-CSF + MI);B 组(G-CSF + sham);C 组(NS + MI);D 组(NS + sham)。

**1.2 方法** A 组(5 只)接受 G-CSF(商品名惠尔血,麒麟昆鹏公司生产)  $10 \mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ,5 d 皮下注射和 MI 手术;B 组(4 只)接受 G-CSF  $10 \mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ,5 d 皮下注射和假手术;C 组(4 只)接受  $10 \mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ,5 d 生理盐水皮下注射和 MI 手术;D 组(4 只)接受  $10 \mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ,5 d 生理盐水皮下注射和假手术。

**MI 手术:** 每只动物左侧开胸,暴露并分离左冠状动脉前降支近端约 1 cm,阻断 3 h 后放开,制作 MI 模型,MI 的判断用心电监护和心肌声学造影(图 1~4)对每只动物股动脉插管至主动脉根部(冠状动脉窦),左颈浅静脉插管至冠状窦,分别于造型前后抽冠状动脉和冠状静脉窦血 5 mL(均抽复管),裂解红细胞,淋巴细胞分离液分离单个核细胞,流式细胞仪(美国 BD 公司)测  $\text{CD}34^+$  骨髓单个核细胞数。

**统计学处理:** 所有数据采用 SPSS 10.0 统计软件包统计处理,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用方差分析,以  $P < 0.05$  为统计学差异判断标准。

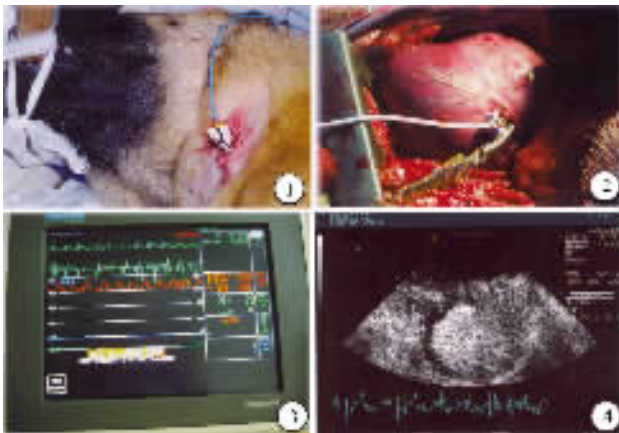


图 1 冠状窦插管过程  
图 2 心梗模型制作  
图 3 模型是否成功的体表心电显示  
图 4 心梗心肌的声学造影显像

## 2 结果

不同实验组归巢前(冠状动脉窦血)  $\text{CD}34^+$  BMSC 含量和数量比较见表 1。

4 个组比较后发现在 G-CSF 动员的基础上发生 MI,  $\text{CD}34^+$  BMSC 在心肌内归巢的数量大大增加,只用 G-CSF 动员而不发生 MI 的动物(B 组)  $\text{CD}34^+$  BMSC 的归巢数有所降低( $P = 0.000$ ),而未经 G-CSF 动员组(C、D 组)即使发生 MI,  $\text{CD}34^+$  BMSC 在心肌内的归巢数也微乎其微。

表 1 归巢前冠状动脉血  $\text{CD}34^+$  BMAC 含量及数量比较

组别	n	$\text{CD}34^+$ BMSC	
		含量	数量
G-CSF + MI	10	$45857 \pm 830^{\text{bd}}$	$1803 \pm 92^{\text{b}}$
G-CSF + sham	8	$45520 \pm 489^{\text{b}}$	$711 \pm 92^{\text{b}}$
NS + MI	8	$2224 \pm 119$	$82 \pm 9$
NS + sham	8	$2237 \pm 104$	$78 \pm 10$

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs NS + MI 和 NS + sham; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs G-CSF + sham.

## 3 讨论

自体 BMSC 因不引起免疫排斥反应、取材方便、无伦理学纠纷等特有的优势在临床应用中倍受青睐,研究发现急性心肌梗死本身即可引发自体 BMSC 动员<sup>[3,5]</sup>,使外周血含量增加,促进坏死组织的自发修复,但这种应急性反应所致骨髓动员意义到底多大尚无定论。本研究显示单纯 MI 组外周血  $\text{CD}34^+$  BMSC 含量( $222 \pm 12$ )  $\times 10^4/\text{L}$  与无心肌梗死组( $224 \pm 10$ )  $\times 10^4/\text{L}$  比无明显差别( $P = 0.958$ ),两个组发生归巢的  $\text{CD}34^+$  BMSC 数也无显著性差异( $82 \pm 10$ )  $\times 10^3/\text{L}$  比( $78 \pm 10$ )  $\times 10^3/\text{L}$  ( $P = 0.912$ ),提示单纯 MI 本身对干细胞动员和归巢的影响不起决定作用。

干细胞向心肌或血管内皮细胞方向的分化首先需要归巢到心肌内,至于 BMSC 是如何通过血管内皮迁移到心肌靶部位的目前尚不得而知,但是已经有研究发现局部组织以及 MI 后浸润的炎性细胞所分泌的活性细胞因子对梗死后心肌再生可能起一定的作用<sup>[6-7]</sup>。Kuethe 等<sup>[8]</sup>给心肌梗死患者每日应用 G-CSF  $10 \mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  共 7 d,3 mo 后发现患者心室射血分数平均增加 40%,Sugano 等<sup>[9]</sup>在实验性心肌梗死的动物身上也得出了类似的结果。Fukuhara 等<sup>[10]</sup>研究显示静脉应用 G-CSF 后梗死边缘区 BMSC 的数量明显增多,反映心肌再生的肌钙蛋白重链等的基因表达也明显增多,提示 G-CSF 的作用靶点可能是在 BMSC 向坏死心肌靶部位的迁移归巢或是定向分化

这两个环节中。本研究我们通过精确测定证实,G-CSF确实大大提高了CD34<sup>+</sup> BMSC在心肌内发生归巢的程度,所以我们认为G-CSF是通过促进CD34<sup>+</sup> BMSC在心肌内的归巢而发挥其促心肌细胞再生作用。经过进一步的对比我们还发现在G-CSF动员的基础上发生心肌梗死的心肌内CD34<sup>+</sup> BMSC归巢的数量远远超过没有发生心肌梗死的心肌,而在未经G-CSF动员的心肌内即使发生心肌梗死CD34<sup>+</sup> BMSC归巢的数量也无显著增加,说明G-CSF对CD34<sup>+</sup> BMSC归巢的影响是不受MI干预的。

致谢 本研究得到南方医科大学南方医院心内科实验室和南方医科大学中心实验室的大力支持和协作。

### 【参考文献】

- [1] 张勇, 陈如坤. 兔缺血心肌中自体骨髓基质干细胞的治疗作用[J]. 第四军医大学学报, 2006, 27(19): 22.
- [2] Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium[J]. Nature, 2001, 410: 710.
- [3] Wright DE, Amji JW, Anjali PG, et al. Physiological migration of hematopoietic stem and progenitor cells[J]. Science, 2001, 294: 1933-1936.
- [4] Satoshi S, Toyooki M, Hisao I, et al. Mobilization of endothelial pro-

genitor cells in patients with acute myocardial infarction[J]. Circulation, 2001, 103: 2776-2779.

- [5] Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival[J]. Proc Natl Acad Sci, 2001, 98: 10344-10349.
- [6] Adachi Y, Imagawa J, Suzuki Y, et al. G-CSF treatment increases side population cell infiltration after myocardial infarction in mice[J]. J Mol Cell Cardiol, 2004, 36: 707-710.
- [7] Parisis JT, Adamopoulos S, Venetsanou K, et al. Plasma profiles of circulating granulocyte-macrophage colony stimulating factor and soluble cellular adhesion molecules in acute myocardial infarction. Contribution to post-infarcted left ventricular dysfunction[J]. Eur Cytokine Netw, 2004, 15: 139-144(abstract).
- [8] Kuethe F, Figulla HR, Herzau M, et al. Treatment with granulocyte colony-stimulating factor for mobilization of bone marrow cells in patients with acute myocardial infarction[J]. Am Heart J, 2005, 150: 115.
- [9] Sugano Y, Anzai T, Yoshikawa T, et al. Granulocyte colony-stimulating factor attenuates early ventricular expansion after experimental myocardial infarction[J]. Cardiovasc Res, 2005, 65: 446-456.
- [10] Fukuhara S, Tomita S, Nakatani T, et al. G-CSF promotes bone marrow cells to migrate into infarcted mice heart and differentiate into cardiomyocytes[J]. Cell Transplant, 2004, 13: 741-748.

编辑 袁天峰

· 经验交流 · 文章编号 1000-2790(2006)19-1757-01

## 老年血液透析患者的心理干预探讨

王军辉, 关青, 王利群, 董微

(吉林医药学院基础护理教研室, 吉林 吉林 132013)

【关键词】老年患者; 血液透析; 心理干预

【中图分类号】R395.5 【文献标识码】B

1 临床资料 2003-03/2005-10, 我们对52(男29, 女23)例老年患者进行血液透析, 平均年龄65.5(57~74)岁。采用德国贵森尤斯生产的4008B和4008A机进行治疗, 选用聚砜膜透析器, 常规每周透析两次, 血流100~200 mL/min。52例老年血液透析患者分别于入院后3 d内(干预前)及常规血透后2 mo(干预后), 使用抑郁自评表(SDS)和焦虑自测表(SAS)调查, 共20个项目。按症状出现频率评分分为4个等级, 依次评分粗分为1, 2, 3, 4。将总粗分经过公式 $Y = \text{int}(1.25X)$ 转换, 得出标准分。SAS > 50分, SDS > 53分提示有焦虑、抑郁状态。

收稿日期 2006-09-22; 接受日期 2006-09-25

作者简介: 王军辉, 讲师, 本科。Tel: (0432)4653526 Email: Wangjhlh@yahoo.com

干预内容包括: ①提供热情服务, 尊重老年人; ②提供环境支持; ③建立良好长久的护患关系; ④做好信息支持; ⑤指导患者的自我护理。所得数据采用t检验, 进行统计学处理。结果患者干预前后SAS评分[(47±8) vs (30±8)]及SDS评分[(48±9) vs (31±9)]有显著性差异( $P < 0.05$ ), 提示经过心理干预老年血透患者焦虑、抑郁心理得到改善。

2 讨论 随着人口的老年化及血透技术和设备的不断提高, 老年血液透析人群呈递增趋势。老年血液透析患者除了具有血液透析患者的恐惧、焦虑、抑郁等心理特征外, 还具有老年患者的心理特征, 如失落、孤独、固执违拗、自卑、内疚等。心理干预可以调动老年血液透析患者的主观能动性, 提高老年血液透析患者的自护能力, 改变医患间的相互作用和关系, 即由“主动—被动”型改为“指导—合作”或“共同参与”型。由于大多数医疗活动是医患双方的共同事务, 患者理应承担医疗活动的积极合作者、参与者, 同医护人员共同为战胜疾病负责。大多数老年血液透析患者并不确切地知道自己应当做什么和如何去做, 通过心理干预, 使患者更可能有充分的动机与方法实施或配合医护人员的活动。因此我们认为, 心理干预可明显降低患者的抑郁、焦虑、恐惧、自卑、孤独、绝望、内疚等心理状态, 并能调整患者的心理状态, 减少血透的并发症, 有助于改善患者的生活质量, 延长存活时间。

编辑 井晓梅