

中药诱导干细胞分化为心肌细胞的效应**☆

王东进¹, 施广飞², 姜宏³, 余洪松¹

Effects of traditional Chinese medicine in the induction of stem cell differentiation into cardiomyocytes

Wang Dong-jin¹, Shi Guang-fei², Jiang Hong³, Yu Hong-song¹

Abstract

BACKGROUND: Classical stem cell inducer due to its cytotoxicity only has been utilized in stem cell *in vitro* experiment, which provides a challenge for elevating the therapeutic effect of stem cell transplantation. More and more studies have verified that traditional Chinese medicine as a new stem cell inducer can induce the differentiation of embryonic stem cells and bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) into cardiomyocytes. This study group engaged in myocardial stem cell research for a long term. The alkaloid ligustrazine extracted from Szechwan Lovage Rhizome has successfully induced the differentiation of cardiac stem cells into cardiomyocytes *in vitro*.

OBJECTIVE: To summarize the advance in traditional Chinese medicine stem cell inducer and to provide a basis for the efficiency of stem cell differentiation into cardiomyocytes during cardiovascular diseases stem cell transplantation.

METHODS: Key words were "traditional Chinese medicine, stem cells, cardiomyocytes". Foreign Medical Journal Service (www.kjmed.com.cn), Chinese journal full-text database, China Doctor Dissertations Full-text Database and China National Knowledge Infrastructure were searched for articles on the differentiation of stem cells into cardiomyocytes induced by traditional Chinese medicine published from 2005 to 2009. The repetitive studies were excluded. The retrieved literatures contained original articles, thesis and reviews.

RESULTS AND CONCLUSION: A total of 30 articles were included for this review, including 14 Chinese articles and 16 English articles. Results exhibited that traditional Chinese medicine as a new stem cell inducer not only effectively induced stem cell differentiation into cardiomyocytes, but also was characterized by no side or adverse effects. Therefore, it is hopeful to use in clinical stem cell therapy. It is new for traditional Chinese medicine to induce stem cell differentiation into cardiomyocytes. With deep research, more and more traditional Chinese medicine inducer will be found.

¹Drum Tower Hospital, Department of Integrated Traditional and Western Medicine, First Clinical College, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China; ²Department of Cardiology, Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China; ³First Clinical College, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China

Wang DJ, Shi GF, Jiang H, Yu HS. Effects of traditional Chinese medicine in the induction of stem cell differentiation into cardiomyocytes. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2010;14(45):8503-8506.

[<http://www.crter.cn> <http://en.zglckf.com>]

摘要

背景: 经典干细胞诱导剂由于具有细胞毒性而仅仅应用在干细胞体外实验中, 这对进一步提高干细胞移植疗效提出了挑战。越来越多的课题组证实, 中药作为全新的干细胞诱导剂可以诱导胚胎干细胞和骨髓间充质干细胞分化为心肌细胞。课题组长期从事心肌干细胞研究, 利用从中药川芎中提取的生物碱川芎嗪, 已成功在体外诱导心肌干细胞分化为心肌细胞。

目的: 总结中药干细胞诱导剂的整体研究进展情况, 为进一步提高心血管疾病干细胞移植治疗过程中干细胞诱导分化为心肌细胞的效率奠定基础。

方法: 以 "traditional Chinese medicine, stem cells, cardiomyocytes" 为英文关键词, 以 "中药, 中草药, 干细胞, 心肌细胞" 为中文关键词, 检索 2005/2009 西文生物医学期刊文献数据库(www.kjmed.com.cn)、中国全文期刊数据库、中国博士学位论文全文数据库及中国优秀硕士学位论文全文数据库(www.cnki.net)有关中药诱导干细胞分化为心肌细胞的文献, 排除重复性研究。检索文献类型包括研究论著、学位论文及综述。

结果与结论: 共保留 30 篇文献进一步分析, 中文 14 篇, 英文 16 篇。结果显示中药作为一种全新的干细胞诱导剂, 不仅能够有效诱导干细胞分化为心肌细胞, 而且具有无毒副作用的特点, 因此很有希望应用于临床干细胞治疗中。中药在诱导干细胞分化为心肌细胞方面的研究较新, 随着研究深入, 将会有越来越多的中药诱导剂被发现。

关键词: 中药; 干细胞移植; 心肌细胞; 干细胞诱导剂; 综述

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.45.034

Wang Dong-jin ☆, Doctor, Chief physician, Drum Tower Hospital, Department of Integrated Traditional and Western Medicine, First Clinical College, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China gdjw@163.com

Correspondence to: Shi Guang-fei, Doctor, Chief physician, Department of Cardiology, Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China njglxzsfgf@yahoo.com.cn

王东进, 施广飞, 姜宏, 余洪松. 中药诱导干细胞分化为心肌细胞的效应[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(45):8503-8506. [<http://www.crter.org> <http://cn.zglckf.com>]

0 引言

缺血性心脏病和心力衰竭患者存在大量心肌细胞损伤和坏死, 干细胞移植是唯一有希望修复和替代受损组织细胞的治疗手段, 目前有关干细胞移植研究包括胚胎干细胞(embryonic

stem cells, ESC)移植、骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)移植、造血干细胞移植、脂肪干细胞和心肌干细胞(cardiac stem cell, CSC)等, 提高这些干细胞诱导分化为心肌细胞的效率对于进一步临床应用研究具有积极地作用。

随着干细胞治疗心血管疾病研究的深入开

Supported by: the Science and Technology Projects of Health Department of Jiangsu Province, No. H200220*; the Key Medical Science and Technology Development Projects of Nanjing City, No. ZXK0206*

Received: 2010-05-19
Accepted: 2010-06-19

展, 寻找安全高效的干细胞诱导剂成为新的研究课题。传统的干细胞诱导剂 5-氮胞苷由于具有较大毒性, 很难应用于临床, 其他通过细胞生长因子来诱导干细胞分化的方法目前仍在探索之中。中草药是祖国医学宝库, 近年来, 随着中药提纯技术的提高, 许多研究已经表明某些中药复方制剂、单味中药或中药提取物能有效诱导干细胞分化为心肌细胞, 且无明显毒副作用, 这为应用中医药作为诱导剂提供了坚实的基础。

本文总结目前为止已经开展的中药干细胞诱导剂研究, 结合自己的研究体会, 表明中药诱导干细胞分化为心肌细胞的临床意义, 并指出目前存在的不足。

1 资料和方法

资料来源: 由第一作者于 2009-12 完成检索工作, 检索 2005/2009 西文生物医学期刊文献数据库(www.kjmed.com.cn)、中国全文期刊数据库、中国博士学位论文全文数据库及中国优秀硕士学位论文全文数据库(www.cnki.net)的相关内容。英文关键词为“traditional Chinese medicine”, “stem cells”, “cardiomyocytes”; 中文关键词为“中药”, “中草药”, “干细胞”, “心肌细胞”。检索文献类型包括研究论著、学位论文及综述。

纳入标准: 文章所述内容应涉及中药诱导干细胞分化为心肌细胞。

排除标准: 与本主题无关; 重复性研究。

数据的提取: 通过计算机检索, 阅读标题和摘要进行初筛, 排除与本主题无关及内容重复性的研究, 共保留 30 篇文献进一步分析, 中文 14 篇, 英文 16 篇。

质量评估: 共纳入文献 30 篇, 均紧扣本综述主题, 其中有关中药诱导 ESC 分化为心肌细胞的文献 10 篇^[1-10], 有关中药诱导 BMSCs 分化为心肌细胞的文献 9 篇^[11-19], 有关中药诱导 CSC 分化为心肌细胞的文献 9 篇^[20-28], 有关经典干细胞诱导剂的文献 2 篇^[29-30]。

2 结果

2.1 中药诱导 ESC 分化为心肌细胞 ESC 又称全能干细胞, 是由早期胚胎内细胞团或桑椹胚分离后, 经体外分化抑制培养所得的一种高度未分化细胞, 具有全能性、无限增殖和多元化的

潜能。给予合适的培养条件, ESC 可以在体外分化成内、中、外 3 个胚层的任何类型细胞。研究证明, ESC 在体外可以向心肌细胞分化, 分化得到的心肌细胞具有体内正常心肌或原代培养心肌的特征和功能^[1-3]。目前, 西医多采用 5-氮胞苷、维生素 A 酸、二甲基亚砷和环磷酸腺苷等来诱导 ESC 分化为心肌细胞^[4-6], 但是这些诱导剂都存在着不足, 如 5-氮胞苷和二甲基亚砷毒性较大, 不适用于人体, 而维生素 A 酸和环磷酸腺苷诱导的效率较低, 难以满足细胞移植的需求。因此, 寻找一种毒性小、有临床应用前景的诱导剂变得尤为重要。

浙江大学娄宜嘉研究组挖掘中国传统医学宝库, 发现中药淫羊藿的有效成分淫羊藿苷具有诱导分化干细胞的作用^[7-8], 通过反复对比, 发现在分化的第 5~8 天加入淫羊藿苷能够有效诱导 ESC 分化为心肌细胞, 此时, 心肌特异性转录因子(Nkx2.5, MEF2C, GATA4)的表达已经处于较高水平, 编码肌原蛋白的相关基因(α -MHC、MLC-2v)则开始大量表达, 第 8 天以后, 肌原蛋白大量表达, 出现节律性收缩的心肌细胞群, 心肌细胞进一步成熟则可以发现肌小节结构蛋白 α -Actinin 和 Troponin-T 的表达, 提示淫羊藿苷作用在心肌特异性转录因子表达向心肌特异性基因表达过渡期^[9]。对诱导分化机制的进一步探讨提示 p53 通过调节细胞凋亡和细胞分化之间的平衡在淫羊藿苷诱导 ESC 分化为心肌细胞中起重要作用, 而淫羊藿苷增强 ESC 体外分化为心肌细胞的过程与 P38MAPK 的磷酸化有关^[7-9]。

丹参是一种临床常用的中药制剂, 具有抗氧化作用, 可用于改善心肌供血。将丹参和 5-氮胞苷混合加入传代多次的小鼠 ESC 中, 分别采用悬滴三步法和悬浮两步法连续贴壁培养数天, 均可见 ESC 向心肌细胞分化率显著高于单用 5-氮胞苷, 表明丹参可以提高 5-氮胞苷对干细胞的诱导效率^[10]。

2.2 中药诱导 BMSCs 分化为心肌细胞 BMSCs 是成体干细胞的一种, 来源于中胚层的间充质, 在一定的环境和刺激因子的作用下可以分化成为各种组织细胞。现在基本已证实 BMSCs 可以诱导分化为心肌细胞, 采用 BMSCs 移植能够有效改善心肌梗死动物的心功能, 国内外很多研究机构甚至已将该研究成果应用于临床^[11-12]。而国内研究表明, 中药同样能有效诱导 BMSCs 向心肌细胞分化^[13]。

汪朝晖等^[14]受人参能够保护梗死心肌的启

1 南京中医药大学第一临床医学院中西医结合鼓楼医院, 江苏省南京市 210008; 2 南京大学医学院附属鼓楼医院心脏科, 江苏省南京市 210008; 3 南京中医药大学第一临床医学院, 江苏省南京市 210046

王东进^{*}, 男, 1963 年生, 吉林省长春市人, 汉族, 南京中医药大学毕业, 博士, 主任医师, 主要从事心血管病方面的研究。
gldjw@163.com

通讯作者: 施广飞, 博士, 主任医师, 南京大学医学院附属鼓楼医院心脏科, 江苏省南京市 210008
njglxzsgf@yahoo.com.cn

中图分类号: R394.2
文献标识码: A
文章编号: 1673-8225 (2010)45-08503-04

收稿日期: 2010-05-19
修回日期: 2010-06-19
(20100304001/G·Q)

发, 将人参总皂苷和 5-氮胞苷同时诱导大鼠第 8 代 BMSCs, 72 h 后均发现生长密集的纺锤形细胞逐渐呈现出梭形和成纤维细胞形态, 免疫组化及反转录-聚合酶链反应检测显示心肌细胞特异性蛋白结蛋白(Desmin)、心肌肌钙蛋白 T 和肌球蛋白重链(myosin H-chain, MHC)表达均为阳性, 人参总皂苷不仅能诱导 BMSCs 分化成心肌细胞, 而且转化率与 5-氮胞苷相比没有显著的差异。而杨忠奇等^[15]通过对中药进行筛选, 使用三七总皂苷也在体外成功诱导 BMSCs 分化为心肌细胞。推测三七皂苷、人参总皂苷诱导 BMSCs 转化为心肌样细胞的作用可能与其抗氧化作用及分泌某些诱导因子有关, 但尚有待于进一步研究。

黄芪甲苷来源于黄芪类植物的根, 具有增强免疫力, 增加能量, 抗疲劳, 抑突变等作用, 用于心气虚损、血脉淤阻之病毒性心肌炎、心功能不全及脾虚湿困之肝炎。通过与 5-氮胞苷进行比较发现, 黄芪甲苷同样可以诱导大鼠 BMSCs 分化为心肌样细胞, 诱导效率与单用 5-氮胞苷和与 5-氮胞苷合用相似, 将来有望尝试进一步提高其分化诱导率^[16]。杨庆友等^[17]将黄芪加水煎煮后给大白兔灌胃, 持续 10 d 后取颈动脉血, 分离血清后诱导 BMSCs 持续 4 周, 免疫组化和反转录-聚合酶链反应证实心肌细胞诱导成功, 为国内首例用中药含药血清诱导干细胞分化, 从而拓展了中药在干细胞移植治疗心肌缺血中的应用。

淫羊藿苷作为一种有干细胞诱导作用的中药单体, 除了可以诱导 ESC 之外, 同样可以诱导 BMSCs 分化为心肌细胞。国内的两个课题组均独立发现, 适当浓度的淫羊藿苷既可以促进 BMSCs 增殖, 也可以促使 BMSCs 细胞因子分泌的增加。与 5-氮胞苷合用能够发挥协同作用提高 BMSCs 分化为心肌样细胞效率, 诱导分化成的心肌样细胞大量表达心肌修复相关蛋白, 移植入心肌梗死模型动物体内后能有效改善心肌梗死后的功能, 因此具有广阔的应用前景^[18-19]。

2.3 中药诱导 CSC 分化为心肌细胞 以往认为, 心脏为终末分化器官, 其细胞本身不具有增殖分化功能, 因此无法修复损伤心肌。但随着细胞生物学技术的进步以及人们研究的深入, 心脏中存在 CSC 的观念已经越来越多地为医学工作者们所接受。CSC 存在于心肌细胞的深部, 虽然数量相对较少, 但却能够分化为构成心脏的 3 种主要细胞: 心肌细胞、血管平滑肌细胞和血管内皮细胞^[20-21]。目前, 尚无法证实何为 CSC 特异性标志物, 但研究者多采用干细胞共同标志物 c-kit, Sca-1, MDR1 等来分选 CSC^[20, 22-23]。而诱导 CSC 分化的诱导剂也多使用 5-氮胞苷或其改进配方^[20, 24]。

国内现在开展 CSC 研究的多集中在少数几家单位, 且与国外相关领域研究有较大差距^[25-26]。南京中医药大学施广飞课题组已开展 CSC 研究数年, 通过对组织消

化、培养液配方和磁珠分选等多个步骤的改良, 目前已成功培养出大量小鼠 CSC^[27-28]。将 5-氮胞苷加入 c-kit 阳性而谱系阴性的 CSC 中诱导数天可见细胞如心肌样搏动, 待细胞生长大量融合后可见一种类似于文献上所提到“拟胚体”结构的细胞群体, 称为“心肌球”^[20, 28]。免疫荧光证实, 诱导后的细胞表达心肌特异性蛋白心肌肌钙蛋白 T、desmin 和连结蛋白 43。

此外, 本课题组还在国内首先采用中药提取物诱导 CSC 分化为心肌细胞。川芎是药膳常用的药材之一, 具有活血行气祛瘀的功效, 而川芎嗪就是从川芎中提取的生物碱单体。作者选用 5-氮胞苷、二甲基亚砷和不同浓度的川芎嗪作为诱导剂, 建立三组不同的对照组, 在体外诱导 CSC 分化, 倒置相差显微镜下观察细胞形态学变化; 免疫细胞化学染色法检测早期心肌特异性转录因子和心肌特异性蛋白如心肌肌钙蛋白 T、连结蛋白 43、Desmin 等表达情况; 对比分析不同诱导剂作用结果之间的差异。结果发现, 在不同诱导条件下, CSC 均能不同程度的表达早期心肌特异性转录因子 GATA-4, NKx2.5 和心肌特异性蛋白; 诱导培养一段时间后, 倒置相差显微镜下可见有体积小、折光性较强的圆形细胞, 呈现半浮或全浮状态, 并能出现自主性节律性收缩, 并可见“心肌球”结构形成, 提示川芎嗪可作为干细胞诱导剂应用于临床。而将三七总皂苷加入用相同方法培养出的 CSC 后, 也出现了心肌样细胞, 并形成“心肌球”, 表明三七总皂苷也具有诱导 CSC 分化为心肌细胞的功能。

3 讨论

干细胞移植是一种新型治疗手段, 对于心肌梗死和心力衰竭的患者来说, 如果能够使移植的干细胞有效分化为心肌细胞则可以显著改善其预后。经典干细胞诱导剂由于具有细胞毒性而仅仅应用在干细胞体外实验中, 这对进一步提高干细胞移植疗效提出了挑战。目前研究表明, 中药不但能够活血化瘀, 营养心肌, 而且具有诱导干细胞分化为心肌细胞的作用。

众所周知, 经典的干细胞诱导剂 5-氮胞苷是一种去甲基化药物, 它可使控制向心肌分化的特定调控基因阻遏蛋白去甲基化而发生构型改变, 从而促进干细胞向心肌细胞分化^[20, 29]。而在 5-氮胞苷的基础上加入一些生长因子则能进一步提高分化效率^[24, 30], 表明诱导分化机制多样。许多中药化学成分复杂, 其诱导干细胞分化作用较难阐明, 是否通过改变干细胞局部生长微环境即产生一定程度的促分化作用尚需进一步研究。

总之, 中药对干细胞的诱导作用不仅为干细胞的定向分化开辟新途径, 而且对于中药作用机制的研究、中药新药的研制开发、某些疑难疾病防治水平的提高等都

具有重要意义。但是, 由于体内外实验分化条件的差别, 如诱导分化机制(体外药物与体内局部微环境)、基础营养、细胞密度、空间组织、机械力、生长因子、含药血清制备、灭活的各个过程以及含药血清浓度、诱导时间等等环节, 对干细胞的分化效率都有很大的影响。因此未来需要在这些方面进一步深入研究, 才能充分发挥祖国医学的优势, 将中药真正应用于干细胞移植中。

4 参考文献

[1] Boheler KR, Czyz J, Tweedie D, et al. Differentiation of pluripotent embryonic stem cells into cardiomyocytes. *Circ Res*. 2002;91(3): 189-201.

[2] Doss MX, Sachinidis A, Hescheler J. Human ES cell derived cardiomyocytes for cell replacement therapy: a current update. *Chin J Physiol*. 2008;51(4):226-229.

[3] Iacobas I, Vats A, Hirschi KK. Vascular potential of human pluripotent stem cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30(6): 1110-1117.

[4] 尹青, 赵昱, 赵秀军, 等. 5-氮胞苷诱导体外培养的胚胎干细胞向心肌细胞分化[J]. *基础医学与临床*, 2007, 27(5):549-552.

[5] Hescheler J, Fleischmann BK, Lentini S, et al. Embryonic stem cells: a model to study structural and functional properties in cardiomyogenesis. *Cardiovasc Res*. 1997;36(2): 149-162.

[6] Sachinidis A, Fleischmann BK, Kolossov E, et al. Cardiac specific differentiation of mouse embryonic stem cells. *Cardiovasc Res*. 2003;8(2):278-291.

[7] Zhu DY, Qu LH, Zhang XN, et al. Icaritin-mediated modulation of cell cycle and p53 during cardiomyocyte differentiation in embryonic stem cells. *Eur J Pharmacol*. 2005;514(2-3):99-110.

[8] Zhu DY, Lou YJ. Inducible effects of icaritin, icaritin, and desmethylcaritin on directional differentiation of embryonic stem cells into cardiomyocytes in vitro. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2005;26(4):477-485.

[9] Ding L, Liang XG, Hu Y. Involvement of p38MAPK and reactive oxygen species in icaritin-induced cardiomyocyte differentiation of murine embryonic stem cells in vitro. *Stem Cells Dev*. 2008; 17(4): 751-760.

[10] 王芳洁, 易岩建, 郭鹏飞. 小鼠胚胎干细胞分化为心肌细胞的体外实验[J]. *第四军医大学学报*, 2009; 39(9):808-811.

[11] 马晓辉, 高长青, 李伯君, 等. 骨髓间充质干细胞移植治疗急性心肌梗死的实验研究[J]. *中华医学杂志*, 2009, 89(15):1067-1070.

[12] Hare JM, Traverse JH, Henry TD, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54(24): 2277-2286.

[13] 冯雪. 中药干预骨髓间充质干细胞体外定向分化的研究[D]. 北京: 清华大学化学系, 2005.

[14] 汪朝晖, 洗绍祥, 杨忠奇, 等. 人参总皂苷诱导骨髓间充质干细胞分化为心肌细胞的实验研究[J]. *广州中医药大学学报*, 2006, 23(2): 100-103.

[15] 杨忠奇, 洗绍祥, 汪朝晖, 等. 三七总皂苷对骨髓间充质干细胞分化为心肌样细胞的作用[J]. *中药新药与临床药理*, 2006, 17(4):239-242.

[16] 洗绍祥, 杨忠奇, 汪朝晖, 等. 黄芪甲苷体外诱导骨髓间充质干细胞分化为心肌样细胞的实验研究[J]. *广州中医药大学学报*, 2007, 24(1): 37-40.

[17] 杨庆有, 洗绍祥, 孙慧茹, 等. 黄芪含药血清诱导骨髓间充质干细胞分化为心肌样细胞的实验研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2008, 35(6):832- 834.

[18] 谢玲玲. 淫羊藿苷诱导骨髓间充质干细胞分化心肌样细胞的实验研究[D]. 广州: 广州中医药大学中西医结合基础专业, 2008.

[19] 刘韶英. 淫羊藿苷对骨髓间充质干细胞增殖及向心肌细胞分化的影响[D]. 北京: 北京中医药大学中西医结合临床专业, 2008.

[20] Leri A, Kajstura J, Anversa P. Cardiac stem cells and mechanisms of myocardial regeneration. *Physiol Rev*. 2005;85(4):1373-1416.

[21] Itzhaki-Alfia A, Leor J, Raanani E, et al. Patient characteristics and cell source determine the number of isolated human cardiac progenitor cells. *Circulation*. 2009; 120(25):2559-2566.

[22] Tang YL, Shen L, Qian K, et al. A novel two-step procedure to expand cardiac Sca-1+ cells clonally. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007; 359(4): 877-883.

[23] Itzhaki-Alfia A, Leor J, Raanani E, et al. Patient characteristics and cell source determine the number of isolated human cardiac progenitor cells. *Circulation*. 2009;120(25):2559-2566.

[24] Smits AM, van Vliet P, Metz CH, et al. Human cardiomyocyte progenitor cells differentiate into functional mature cardiomyocytes: an in vitro model for studying human cardiac physiology and pathophysiology. *Nat Protoc*. 2009;4(2):232-243.

[25] 魏强, 赵强, 魏来, 等. 成人心肌干细胞的体外培养纯化与鉴定[J]. *中国临床医学*, 2009, 16(2):187-190.

[26] 陆东风, 吴昊, 黄璟, 等. 新生SD大鼠心肌干细胞的体外分离培养与鉴定[J]. *南方医科大学学报*, 2006, 26(11):1629-1632.

[27] 姜宏, 施广飞. 心肌干细胞培养和纯化的实验方法研究[J]. *现代生物医学进展*, 2009, 9(1):33-35.

[28] 姜宏, 施广飞. 5-氮胞苷诱导心肌组织中c-kit+干细胞分化的实验研究[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2008, 13(9):996-1001.

[29] Tomita Y, Makino S, Hakuno D, et al. Application of mesenchymal stem cell-derived cardiomyocytes as bio-pacemakers: current status and problems to be solved. *Med Biol Eng Comput*. 2007;45(2):209-220.

[30] Chamuleau SA, van Belle E, Doevendans PA. Enhancing cardiac stem cell differentiation into cardiomyocytes. *Cardiovasc Res*. 2009; 82(3):385-387.

关于作者: 第一作者构思并设计本综述, 第一作者解析相关数据, 经4次修改2次审校, 所有作者共同起草, 第一作者对本文负责。

基金资助: 江苏省卫生厅科技项目(H200220); 南京市医学重点科技发展项目(ZKX0206)。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理批准: 没有与相关伦理道德冲突的内容。

此问题的已知信息: 干细胞的诱导分化研究对于干细胞移植临床应用有着重要作用, 已有多种中药用于诱导干细胞分化为心肌细胞的研究。

本综述增加的新信息: 增加了最新研究的几种中药诱导剂, 囊括了博士和硕士学位论文中的成果, 并增加了本课题组的研究体会。是否有更多具有活血化瘀作用的中药都能够诱导干细胞分化为心肌细胞尚需进一步探讨。

临床应用的意义: 中药作为一种全新的干细胞诱导剂, 不仅能够有效诱导干细胞分化为心肌细胞, 而且具有无毒副作用的特点, 因此很有希望应用于临床干细胞治疗中。