

实, EMs 患者血清及腹腔液中 TNF- α 水平升高^[6]。TNF- α 通过提高人脐静脉内皮细胞 $\alpha 4$ 整合素及其配体血管细胞黏附分子-1 的表达, 从而有利于逆流入腹腔的子宫内膜黏附于腹壁和其他脏器。此外, TNF- α 还能够激活核转录因子, 从而有利于血管的生成^[7-8]。因此, TNF- α 在促进异位内膜在腹腔内生长起着关键性的作用。VEGF 是目前发现的最强烈的血管生成因子, 可诱导内皮细胞增生、毛细血管袢形成, 同时还可增加微血管通透性, 通过诱导间质产生促进体内新血管的生成^[9], 因此在子宫内膜异位症的发生、发展中起着重要作用。VEGF 在子宫内膜异位症患者的腹腔液及异位内膜中的含量均明显高于正常妇女^[10]。目前已发现 VEGF 的受体有 5 种, 其中 FLT-4 主要是表达于淋巴管的内皮细胞表面^[11], FLT-1 在内异症患者的在位与异位内膜中有明显表达, 并在不同月经周期中产生相应的变化^[12], 提示 VEGF 受体与内异症发病机制存在相关性。

罗氏内异方是著名中医妇科专家罗元恺教授的经验方, 由益母草、浙贝母、桃仁、丹参、海藻、牡蛎等药物组成, 具有活血化瘀、行气止痛、软坚散结之功效, 临床应用治疗子宫内膜异位症安全有效^[3-4]。前期的学者研究已发现罗氏内异方能够纠正子宫内异症动物模型的血瘀状态, 保护血管内皮细胞, 改善盆腔微循环^[13], 也有学者研究发现该方能够促进异位内膜细胞的凋亡^[14], 从而起到治疗子宫内膜异位症的作用。本研究从影响腹腔内环境的角度进一步探讨其疗效机理, 结果表明, 罗氏内异方含药血清可显著降低腹腔液细胞分泌的 TNF- α 、VEGF、FLT-1、FLT-4 水平, 说明罗氏内异方治疗轻型子宫内膜异位症不孕症的疗效机理可能是通过影响腹腔内环境来实现的。

参考文献:

- [1] 徐丛剑, 程明军, 黄宇婷, 等. 子宫内膜异位症病因学研究进展[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2009, 25(9): 712-714.
- [2] 高文, 郭新华, 王凌云, 等. 子宫内膜异位症腹腔液中细胞活性物质的表达及其相关性[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2009, 25(9): 705-707.
- [3] 王俊玲, 罗元恺, 欧阳惠卿, 等. 罗氏内异方治疗子宫内膜异位症的临床观察[J]. 中国中西医结合杂志, 1997, 17(4): 238.
- [4] 王俊玲, 罗元恺. 罗氏内异方治疗子宫内膜异位症 - 附 40 例病例报告[J]. 成都中医药大学学报, 1996, 19(2): 18-21.
- [5] 刘义, 罗丽兰, 赵海波, 等. 达那唑体外对子宫内膜异位症患者腹腔巨噬细胞释放细胞因子的影响及其与胞浆游离钙浓度的关系[J]. 中华妇产科杂志, 2000, 35(8): 479-481.
- [6] 陈美一, 马利国, 任莉莉, 等. TNF- α 与 IL-6 的表达与子宫内膜异位症相关性不孕[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(23): 3591-3592.
- [7] 赵雨花, 张菊红, 马云宝. EMS 患者血清、腹腔液 TGF- β 、IGF-I、TNF- α 及 IL-8 水平测定[J]. 放射免疫学杂志, 2006, 19(6): 457-459.
- [8] Twabe T, Harada T, Terakawa N. Role of cytokines in endometriosis associated infertility[J]. Gynecol Obstet Invest, 2007, 53(2): 19-25.
- [9] 徐红, 况燕, 张玮, 等. 血管内皮生长因子水平变化与子宫内膜异位症的关系[J]. 广西医科大学学报, 2005, 22(2): 220-222.
- [10] 史淑红, 李佃贵, 马秀菊. 子宫内膜异位症患者腹腔液中血管内皮生长因子及其可溶性受体的测定[J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(10): 976-978.
- [11] 赵靖雅. PLGF/Flt-1 与子宫腺肌病关系的新进展[J]. 安徽医学, 2012, 33(2): 237-239.
- [12] 尼玛卓玛, 李亚里, 张韶峰, 等. 血管内皮生长因子受体 KDR mRNA 和 flt-1 mRNA 与子宫内膜异位症相关性研究[J]. 实用妇产科杂志, 2005, 21(11): 676-679.
- [13] 黄洁明, 欧阳惠卿, 许丽绵. 子宫内膜异位症血瘀证本质探讨及罗氏内异方对其血管内环境的影响[J]. 河南中医, 2006, 26(10): 23-25.
- [14] 杨洪艳, 欧阳惠卿, 郑高飞. 罗氏内异方对实验性子宫内膜异位症模型超微结构的影响[J]. 中医药研究, 2000, 16(4): 35-37.

(编辑: 梁进权)

二苯乙烯苷对肾虚大鼠 MSCs 增殖及旁分泌的影响

黄 进, 潘华峰, 张 进, 徐志伟(广州中医药大学, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 观察何首乌主要成分二苯乙烯苷(THSG)对去卵巢肾虚大鼠骨髓间充质干细胞(MSCs)增殖及旁分泌细胞因子 mRNA 的影响。**方法** 切除 SD 雌性大鼠双侧卵巢复制肾虚大鼠模型, 密度梯度离心法收集各组大鼠 MSCs 进行体外培养, 观察 THSG 对大鼠第 3 代 MSCs 增殖及旁分泌细胞因子 mRNA 的影响。**结果** 模型组

收稿日期: 2013-02-08

作者简介: 黄进, 女, 主治医师, 博士, 研究方向: 肾藏精的基础与应用研究。Email: kitty_jinjin@163.com。通讯作者: 张进, 副教授, 博士。Email: zhangjinok@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金(81202732); 广州中医药大学科研创新基金(11cx058)。

大鼠第3代MSCs增殖的OD值明显低于正常组($P < 0.05$, $P < 0.01$), THSG组明显高于模型组($P < 0.05$)。模型组MSCs表达粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、白血病抑制因子(LIF)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、骨形成蛋白-2(BMP-2)mRNA明显低于正常组($P < 0.05$); THSG组MSCs表达G-CSF mRNA明显高于模型组($P < 0.05$)。结论 与正常大鼠比较, 去卵巢大鼠MSCs增殖能力减弱, 可能与其MSCs旁分泌GM-CSF、LIF、G-CSF、BMP-2 mRNA减少有关。THSG改善去卵巢肾虚大鼠MSCs增殖能力, 可能与其促进MSCs表达G-CSF mRNA有关。

关键词: 二苯乙烯苷; 大鼠; 骨髓间充质干细胞; 增殖

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)04-0347-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.04.006

Effect of Diphenyl Ethylene Glycoside on MSCs Proliferation and Paracrine in vitro

HUANG Jin, PAN Huafeng, ZHANG Jin, XU Zhiwei (Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glycoside(THSG) on bone marrow mesenchymal stem cells(MSCs) proliferation and paracrine in vitro. **Methods** The kidney-deficiency animal model was established by ovariectomy on female Sprague-Dawley(SD) rats. After fed with THSG for 3 months, the rats were executed, and MSCs were isolated by density gradient method and purified by whole bone marrow adherent method. The effect of THSG on the proliferation capacity of the third generation of MSCs as well as cytokine mRNA expression was determined. **Results** The growth curve of the third generation of MSCs showed that MSCs proliferation capacity in the model group was significantly lower than that of normal group and THSG group($P < 0.05$ or $P < 0.01$). At the proliferation phase of MSCs, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor(GM-CSF), leukaemia inhibitory factor(LIF), granulocyte colony-stimulating factor(G-CSF), bone morphogenetic protein(BMP-2) mRNA expression level of model group were significantly lower than normal group($P < 0.05$), and G-CSF mRNA expression of model group was significantly lower than THSG group($P < 0.05$). **Conclusion** To some extent, the decreased proliferation capacity of MSCs from ovariectomized rats can be improved by THSG, and the mechanism may be related to the promotion of G-CSF mRNA expression.

Keywords: Diphenyl ethylene glycoside(THSG); Rats; Bone marrow mesenchymal stem cells; Proliferation

何首乌是补肾益精的要药, 而中医认为“干细胞具先天之精的属性, 是先天之精在细胞层次的存在形式”^[1-3]。因此, 何首乌有可能影响去卵巢肾虚大鼠干细胞的增殖能力。本研究探索何首乌主要成分二苯乙烯苷(THSG)对去卵巢肾虚大鼠骨髓间充质干细胞(MSCs)增殖的影响, 并从旁分泌角度初步探讨其作用机理。

1 材料与方法

1.1 动物 SD大鼠, 雌性, SPF级, 体质量280~320 g, 广东省医学实验动物中心, 合格证编号: 粤监证字2008A020。

1.2 试剂 THSG(四川曼斯特公司); 特级胎牛血清(Gbico公司); DMEM低糖培养液(吉诺生物医药技

术有限公司); 四甲基偶氮唑盐(MTT)、二甲基亚砷(DMSO, Amresco公司), Trizol(天根生化科技有限公司); 引物(Invitrogen公司)。

1.3 仪器 医用超净工作台, 苏州净化设备有限公司; CO₂培养箱, Thermo Forma公司; 台式离心机, 江苏医疗仪器厂; 荧光显微镜、倒置相差显微镜: Leica公司; 全自动酶标仪, Bio-Rad公司; 梯度PCR仪, TaKaRa公司; 核酸蛋白测定仪, Eppendorf公司; 凝胶成像及分析系统, Syngene公司。

1.4 去卵巢大鼠模型的复制及判定 大鼠腹腔注射3%戊巴比妥钠麻醉, 固定, 消毒术区, 从最末肋骨下、腋中线和距脊柱外侧约2 cm交叉处, 剪除长毛, 切开皮肤和背肌约1 cm, 暴露双侧卵巢。提起

卵巢后用丝线结扎其周围相连血管及输卵管等组织，切除卵巢，缝合切口，消毒切口缝合处。肌肉注射青霉素 1 周预防感染。术后连续 3 d 作阴道涂片检查。以涂片中未见到成熟脱落上皮细胞作为卵巢切除成功的指标。术后饲养 3 个月，复制肾虚模型^[4]。

1.5 分组及给药 3 月龄 SD 雌性大鼠随机分为正常组、模型组、THSG 组。正常组不作任何处理，模型组、THSG 组复制去卵巢大鼠模型。THSG 组给予 THSG 5.4 mg·kg⁻¹，用药剂量相当于临床等效剂量的 5 倍；正常组和模型组给予等量蒸馏水，灌胃给药，每天 1 次，共 90 d，给药容积为 10 mL·kg⁻¹。

1.6 MSCs 的分离、培养与传代 采用密度梯度离心法^[5]培养 MSCs。大鼠颈椎脱臼处死，75 %乙醇浸泡 3 min。取出附着肌肉的股骨、胫骨，浸入 75 %乙醇中，移入超净台内。剔除股骨、胫骨上的肌肉和筋膜组织后，剪断胫、股骨的骨骺端，完全培养液反复冲洗骨髓腔。1500 r·min⁻¹ 离心 5min，弃上清，用 3 mL 完全培养液重悬细胞，将其贴壁缓慢注入含 4 mL 比重为 1.077 的 Percoll 分离液的离心管中。400 r·min⁻¹ 离心 30 min 后，形成 3 层，上层为粉红色培养基，下层为沉淀了红细胞的淋巴分离液，取中间黄褐色环状云雾层置另一离心管中。取 L-DMEM 重悬细胞，1500 r·min⁻¹ 离心 5 min，弃上清。细胞沉淀经完全培养液重悬后制成单细胞悬液，接种培养，2 d 后全量换液。以后每 3 天换液 1 次，常规按 1 : 2 比例传代。

1.7 Giemsa 染色 原代 MSC 培养 10 d 后，细胞融合约 80 % ~ 90 %，取出各组 6 孔板滴加 Giemsa 试剂进行染色，观察细胞形态。

1.8 测定大鼠 MSCs 增殖的光吸收值 取生长状态良好的第 3 代 MSCs，以 1 × 10⁴ 个 /mL 接种到 7 个 96 孔板中，每孔终体积 200 μL，每组设 6 个复孔。接种 24 h 后，取出一块 96 孔板，在每个接种孔中加入 MTT 溶液 20 μL，培养箱中继续孵育 4 h。终止培养，弃上清，每孔再加上 DMSO 150 μL，振荡 10 min，选择 490 nm 波长测定各孔光吸收(OD)值。其他各板分别于接种后 2 ~ 7 d，每天取出 1 板，以相同方法测定 OD 值，未测定板接种孔每 3 天全量换液 1 次。

1.9 RT-PCR 检测旁分泌细胞因子 mRNA 表达 取生长状态良好的第 3 代 MSCs，接种于培养皿中。培育 72 h 后收集细胞，用 Trizol 提取总 RNA，逆转录合成 cDNA。RT-PCR 方法检测各组不同细胞因子的 mRNA 表达，以 GAPDH 为内参。RT-PCR 引物序列

见表 1。25 μL PCR 反应体系包括 5 × PCR Buffer 2.5 μL，上游、下游引物各 1 μL，cDNA 1.5 μL，ddH₂O 15.25 μL。PCR 反应条件：先经过 94 ℃，5 min；GAPDH 为 94 ℃，30 s；55 ℃，30 s；72 ℃，30 s，25 个循环。骨形成蛋白-2(BMP-2)为 94 ℃，30 s；52 ℃，30 s；72 ℃，30 s，30 个循环。粒细胞集落刺激因子(G-CSF)为 94 ℃，30 s；55 ℃，30 s；72 ℃，30 s，30 个循环。粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)为 94 ℃，30 s；59 ℃，30 s；72 ℃，30 s，35 个循环。白血病抑制因子(LIF)为 94 ℃，30 s；55 ℃，30 s；72 ℃，30 s，30 个循环。反应产物 4 ℃保存。电泳完毕后紫外透射仪观察，并采用 Syngene 凝胶成像扫描系统扫描，以目的基因 /GAPDH 条带吸光度灰度值比值作为 mRNA 表达的相对含量，实验重复 3 次。

表1 RT-PCR 引物序列

Table 1 RT-PCR primer sequences

基因	引物序列 (5'-3')	产物长度
BMP-2	For: AAGCCAGGTGTCTCCAAG	216 bp
	Rev: AAGTCCACATACAAAGGCTG	
G-CSF	For: AGGAGCTGCTGCTGTTTG	298 bp
	Rev: AAGGCAGAACTGAAGATTGG	
GM-CSF	For: TTTCCTGGGCATTGTGCT	298 bp
	Rev: AGGGCAGTTCCTCTGCTAG	
LIF	For: GCCTCCCTGACCAACATC	216 bp
	Rev: GCAGCCCAACTTCTTCTCT	
GAPDH	For: GGTGAAGGTCGGAGTCAACGG	520 bp
	Rev: GGTGATGAGTCCTTCCACGAT	

1.10 统计学处理方法 实验数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，用 SPSS16.0 统计软件，采用单因方差分析方法。组间两两比较方差齐用 LSD-*t* 检验，方差不齐用秩和检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MSCs Giemsa 染色形态学观察 Giemsa 染色后荧光显微镜下观察原代 MSCs，可见正常组大鼠 MSCs 核增大、染色深、核内有包容物，初步出现细胞衰老的形态学特征(图 1A)，模型组大鼠 MSCs 胞浆区域增大，胞浆中可见较多颗粒或空泡，衰老现象更为明显(图 1B)。

2.2 THSG 对去卵巢肾虚大鼠 MSCs 增殖的影响 各组大鼠 MSCs 增殖均在第 6 天到达峰值，第 7 天开始有所降低。从第 4 天开始，模型组大鼠 MSCs OD 值较正常组明显降低(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。第 5, 6 天，

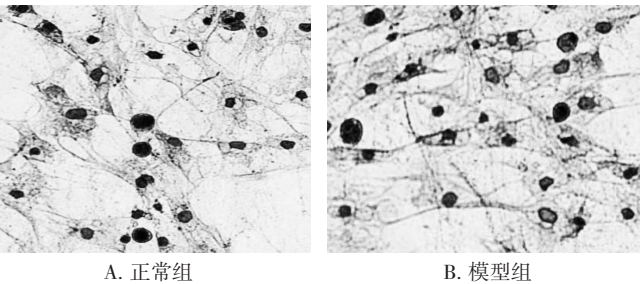


图1 大鼠MSCs的形态学的观察(Giemsa染色, ×200)

Figure 1 Giemsa staining results of rats MSCs

表2 THSG对去卵巢肾虚大鼠MSCs增殖的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 2 Effect of THSG on rats MSCs proliferation in different groups

分组	OD值						
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
正常组	0.3014 ± 0.0265	0.3336 ± 0.0194	0.3944 ± 0.0182	0.4210 ± 0.0139	0.4490 ± 0.0143	0.4608 ± 0.0118	0.4520 ± 0.0155
模型组	0.3322 ± 0.0202	0.3498 ± 0.0244	0.3964 ± 0.0121	0.3930 ± 0.0147*	0.4118 ± 0.0149*	0.4274 ± 0.0098**	0.4230 ± 0.0099*
THSG组	0.3056 ± 0.0169	0.3108 ± 0.0213	0.3934 ± 0.0144	0.3894 ± 0.0180	0.4416 ± 0.0155▲	0.4514 ± 0.0115▲	0.4342 ± 0.0146

注:与正常组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与模型组比较, ▲ $P<0.05$ 。

表3 THSG对去卵巢肾虚大鼠MSCs细胞因子mRNA灰度半定量比值的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 3 Effect of THSG on cytokines mRNA expression in different groups

分组	细胞因子			
	GM-SCF	LIF	G-CSF	BMP-2
正常组	1.0332 ± 0.0137	0.9551 ± 0.0255	0.9091 ± 0.0300	0.9703 ± 0.0158
模型组	0.9714 ± 0.0116*	0.8648 ± 0.0232*	0.7207 ± 0.0402*	0.8908 ± 0.0096*
THSG组	0.9716 ± 0.0137	0.9106 ± 0.0178	0.9146 ± 0.0373▲	0.9303 ± 0.0257

注:与正常组比较, * $P<0.05$,与模型组比较, ▲ $P<0.05$ 。

是它属于肾虚证的范围,并反映了肾阴亏虚、精血不足的主要特征^[6],本研究以去卵巢大鼠作为研究肾精亏虚的动物模型,结果显示,模型组第3代MSCs OD值明显低于正常组, Giemsa染色结果表明去卵巢大鼠MSCs符合早期衰老细胞的形态学特征。提示去卵巢大鼠MSCs增殖能力减弱,去卵巢加速了大鼠MSCs的衰老。

THSG是何首乌发挥药效的主要成分,具有抗氧化、清除自由基的作用,作为抗衰老的标准组极具研究价值^[7]。本研究结果表明,与模型组比较, THSG组MSCs OD值明显升高,表明THSG可改善肾虚大鼠MSCs增殖能力,对于延缓MSCs的衰老有一定的作用,这为何首乌临床应用于衰老的保健与治疗提供了实验基础,也为“干细胞是先天之精在细胞层次的存在形式”^[1-3]提供了证据。

骨髓MSCs作为一种骨髓基质细胞的前体细胞,可以分泌多种细胞因子,如GM-CSF、G-CSF、

THSG组OD值明显高于模型组($P<0.05$),见表2。

2.3 RT-PCR检测MSCs细胞因子mRNA的表达
见表3。与正常组比较,模型组MSCs GM-CSF、LIF、G-CSF、BMP-2 mRNA表达明显降低($P<0.05$); THSG组细胞G-CSF mRNA表达明显高于模型组($P<0.05$)。

3 讨论

去卵巢大鼠模型尚不能完全代表中医肾虚证,但

LIF、BMP-2等,通过组织间隙作用于周围细胞,发挥重要的旁分泌作用。除调控造血功能外,还广泛参与免疫调节、细胞增殖、凋亡、内源性前体细胞再生、血管再生等病理生理作用^[8-10]。人体在发育急剧变化阶段,最显著的变化是生殖能力的变化,目前研究比较清楚公认的变化是以性激素调控系统为核心的神经内分泌系统的变化。本实验结果显示,与正常组相比,模型组MSCs表达GM-CSF、LIF、G-CSF、BMP-2 mRNA明显降低,这可能由于大鼠去卵巢后,以雌激素撤退为主的内分泌系统发生显著改变,导致全身的MSCs发生旁分泌功能的改变和MSCs增殖能力降低。Kocher等^[11]用G-CSF动员骨髓干细胞,发现G-CSF具有同时动员造血干细胞和间质干细胞的能力。G-CSF与表面特异性受体(G-CSFR)结合后,产生多种生物学效应,包括使干细胞增殖,并使外周血中性粒细胞增加^[12]。李洪等^[13]的研究证实,G-CSF能体外促进大鼠MSCs的增殖。

本研究表明,THSG能上调MSCs表达G-CSF mRNA,提示THSG能促进去卵巢肾虚大鼠MSCs增殖能力,可能与其促进G-CSF mRNA的表达有关。

参考文献:

[1] 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):1198-1200.
[2] 张进,徐志伟,陈群,等. 干细胞与中医基础理论中的先天之精学

- 说[J]. 中国临床康复, 2006, 10(7): 189-192.
- [3] 张进, 徐志伟. 补肾法诱导间充质干细胞向神经方向分化研究[J]. 现代医院, 2004, 4(9): 15-17.
- [4] 陈训华, 危剑安, 陈燕平, 等. 补肾方药对去卵巢雌鼠骨质疏松症防治作用的研究[J]. 中国骨伤, 1998, 11(2): 12-15
- [5] 杨丽, 张荣华, 谢厚杰, 等. 建立大鼠骨髓间充质干细胞稳定分离培养体系与鉴定[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(6): 1064-1068.
- [6] 丁富平, 黄进, 张进, 等. 左归丸对肾虚大鼠 MSCs 增殖的影响[J]. 时珍国医国药, 2010, 22(5): 1062-1064.
- [7] 吕丽爽. 何首乌中二苯乙烯苷的研究进展[J]. 食品科学, 2006, 27(10): 608-612.
- [8] Majumdar MK, Thiede MA, Mosca JD, et al. Phenotypic and functional comparison of cultures of marrow-derived mesenchymal stem cells and stromal cell[J]. J Cell Physiol, 1998, 176(1): 57-66.
- [9] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells[J]. Science, 1999, 284: 143-147.
- [10] Dormady SP, Bashayan O, Dougherty R, et al. Immortalized multipotential mesenchymal stem cells and the hematopoietic microenvironment[J]. J Hematother Stem Cell Res, 2001, 10(1): 125-140.
- [11] Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs ML, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function[J]. Nat Med, 2001, 7(4): 430-436.
- [12] Watarai K, Asano S, Shirafuji N, et al. Serum granulocyte colony-stimulating factor levels in healthy volunteers and patients with various disorders as estimated by enzyme immunoassay[J]. Blood, 1989, 73(1): 117-120.
- [13] 李洪, 许志恩, 李维, 等. 粒细胞集落刺激因子对大鼠骨髓间充质干细胞增殖的影响[J]. 中国脑血管病杂志, 2008, 5(10): 461-465.

(编辑: 梁进权)

木豆叶对激素干预后的骨髓间充质干细胞的蛋白质组学研究

马春涛^{1,2}, 曾意荣³, 曾建春³, 韩旭东¹, 齐新宇¹, 陈锦伦¹ (1. 广州中医药大学, 广东 广州 510405; 2. 三亚市中医院, 海南 三亚 572000; 3. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 观察大剂量激素及木豆叶干预后骨髓间充质干细胞(MSCs)的蛋白质变化, 探讨木豆叶治疗股骨头坏死的作用机理。**方法** 培养人 MSCs, 设正常对照组、模型(激素)组及木豆叶含药血清组, 通过双向电泳比较正常对照组与模型组、模型组与木豆叶含药血清组的蛋白质表达差异, 通过质谱分析对差异蛋白质进行初步鉴定。**结果** 与正常对照组比较, 模型组 MSCs 有 38 个蛋白点发生显著变化; 与模型组比较, 木豆叶含药血清组 MSCs 有 28 个蛋白点发生显著变化, MSCs 中热休克蛋白(HSP)、含缬氨酸蛋白(VCP)及 COP9 表达水平显著升高。**结论** 大剂量激素干预可造成 MSCs 内脂肪代谢失调、分化异常, 木豆叶可抑制 MSCs 凋亡, 并可能通过 MAPK 途径, 影响其成骨分化及修复骨坏死而发挥治疗股骨头坏死的作用。

关键词: 股骨头坏死; 骨髓间充质干细胞; 激素; 蛋白质组学

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)04-0351-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.04.007

Proteomics Study on Effect of Folium Cajani on Hormone-treated Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells

MA Chuntao^{1,2}, ZENG Yirong³, ZENG Jianchun³, HAN Xudong¹, QI Xinyu¹, CHEN Jinlun¹ (1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 2. Sanya Traditional Chinese Medical Hospital, Sanya 572000 Hainan, China; 3. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: Objective To investigate the changes of protein expression in bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs) treated by large doses of hormones and Folium Cajani, and to explore its possible therapeutic mechanism for

收稿日期: 2013-03-13

作者简介: 马春涛, 男, 博士, 研究方向: 髌膝关节疾病诊疗。Email: met1983@163.com。通讯作者: 曾意荣, 博士, 教授, 硕士生导师, 主任医师, 研究方向: 髌膝关节疾病的基础与临床研究。Email: zeng6612@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目(81273784)。