


探讨使用表达荧光蛋白的ES胚胎干细胞验证中医经络学说

——干细胞巢及其群落就是经络系统的腧穴

张建新 

江苏润华冷冻食品有限公司, 江苏 兴化

收稿日期: 2022年7月24日; 录用日期: 2022年9月1日; 发布日期: 2022年9月9日

摘要

经络是各种干细胞活动交流、协同进化的巨系统, 主要表现为干细胞巢的出现以及不同种类干细胞巢的有序分布。近百年来, 以肉眼观察和解剖操作为主的大体解剖学, 不可能将微小的干细胞巢从细胞组织中鉴别和分离出来; 即使是以电子显微镜等来观察细胞组织, 也难以判断干细胞巢内的干细胞组成。只有以ES胚胎干细胞、EG胚胎干细胞乃至造血干细胞等不同种类的干细胞为探针, 运用干细胞示踪和单细胞测序等足够先进的科学技术, 才能逐步验证中医经络学说。《黄帝内经·上古天真论》将在经络中流注运行的ES胚胎干细胞称为真气, 本文初步探讨了在一些重要腧穴附近注射能够表达荧光蛋白的ES胚胎干细胞, 观察实验动物体内督脉(如斑马鱼的督脉)和十二经脉(如微型猪的手厥阴心包经)的循行分布, 以及研究ES胚胎干细胞在相应经脉中的增殖分化。同样, 使用表达荧光蛋白的造血干细胞, 观察研究造血干细胞归巢、冲脉的循行分布以及造血干细胞的增殖分化。潘巍峻等人2018年在Nature上报告称, VCAM-1⁺巨噬细胞亚群能够引导造血干细胞归巢; 作者认为红系细胞中应该存在与VCAM-1⁺巨噬细胞一样功能的引导细胞(usher cells), 能够识别和引导造血干细胞进入冲脉的诸干细胞巢中。希望这些实验设想能够引起一些专家学者的研究兴趣, 尽快地寻找确认腧穴的解剖学基础。

关键词

经络学说, 干细胞巢, 腧穴, ES胚胎干细胞, EG胚胎干细胞, 干细胞分化, 手厥阴心包经, 督脉, 冲脉, 造血干细胞

An Insight into the Verification of TCM Meridians Using Embryonic Stem Cells Expressing Fluorescent Proteins

—The Acupoints of the Meridian System: Stem Cell Niches and Their Communities

Jianxin Zhang 

Jiangsu Runhua Frozen Food Co., Ltd., Xinghua Jiangsu

Received: Jul. 24th, 2022; accepted: Sep. 1st, 2022; published: Sep. 9th, 2022

Abstract

Meridians are a giant system for the exchange and coevolution of various stem cells, which are mainly manifested as the emergence of stem cell niches and the orderly distribution of different types of stem cell niches. In the past 100 years, gross anatomy, mainly based on naked eye observation and anatomical manipulation, is incapable to identify and separate tiny stem cell niches from cells and tissues. Composition of stem cells in the stem cell niche is also difficult to determine even under an electron microscope. If stem cells, such as embryonic stem cells, embryonic germ cells, and hematopoietic stem cells, act as probes, there may be an opportunity to verify the theory of TCM meridians using advanced scientific technologies such as stem cell tracing and single-cell sequencing. In the Inner Canon of Yellow Emperor·Ancient Theory about Genuine Qi, embryonic stem cells distributing in the meridians are defined as Genuine Qi. In this study, embryonic stem cells that can express fluorescent proteins were preliminarily injected around some important acupoints to observe the running and distribution of the Governor vessel (such as the Governor vessel of the zebrafish) and the twelve meridians (such as the pericardium meridian of Hand-Jueyin of the miniature pig), as well as the proliferation and differentiation of embryonic stem cells in the corresponding meridians. Similarly, hematopoietic stem cells expressing fluorescent proteins were injected to observe the homing of hematopoietic stem cells, the running and distribution of the Chong meridian (the thoroughfare vessel), and the proliferation and differentiation of hematopoietic stem cells. In 2018, a study by Pan Weijun *et al.* published in Nature indicated that VCAM-1⁺ macrophage subsets can guide the homing of hematopoietic stem cells. Therefore, we believe that there should be a kind of usher cells in erythroid cells that share similar functions with VCAM-1⁺ macrophage subsets, which can identify and guide the homing of hematopoietic stem cells into stem cell niches of the Chong meridian. These experimental assumptions are hoped to arouse much scholarly concern on finding and identifying the anatomical basis of acupoints.

Keywords

Meridian Theory, Stem Cell Niche, Acupoints, Embryonic Stem Cells, Embryonic Germ Cells, Stem Cell Differentiation, Hand-Jueyin Pericardium Meridian, Du Meridian, Chong Meridian, Hematopoietic Stem Cells

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

三十多年来, 作者根据现代胚胎发育学和解剖学、现代生物进化理论的相关研究成果以及不断更新的干细胞研究进展, 在精气神学说、药物归经理论、十二经脉气血子午流注规律和方剂君臣佐使理论等中医基础理论的启发下, 系统地阐述了不同种类干细胞巢的有序分布构成中医经络系统, 真气为全能细胞(约定表示为 C_1^1)中的 Embryonic Stem Cell (ES 胚胎干细胞), 元气(Yuan qi)为 Embryonic Germ Cell (EG

胚胎干细胞, 划分为七种, 约定表示为 C_7^1), 以及脊椎动物经络系统中存在两条胚胎干细胞分化链 $C_1^1 \rightarrow C_{32}^1 \rightarrow C_{64}^1 \rightarrow C_{448}^1 \rightarrow C_{448n}^1$ 和 $C_7^1 \rightarrow C_{4m}^1 \rightarrow C_{448}^1 \rightarrow C_{448n}^1$ ($2 \leq n \leq 7$) 等理论假说[1]-[10]。

干细胞巢及其群落就是腧穴。干细胞巢是干细胞赖以长期生存、更新分化的微环境, 干细胞的离巢与归巢行为表明, 干细胞巢是复杂开放的微系统, 不同的干细胞巢都具有中空的基本结构特征——最简单的混沌结构[1], 这样不同种类的干细胞才能往来出入于不同的干细胞巢中。腧穴是构成经络的基本结构单位, 彼此离散地分布在细胞组织的特定位置[11]。古汉语中, 穴指孔隙, 腧和输、俞音义相通, 输含义为输注和转输, 俞原指挖空树木做的小船, 引申为中空之义, 也有留存的含义。因此不是中空的解剖结构以及连续分布的中空解剖结构(如血管和间质网络)都不是《黄帝内经·灵枢》等中描述的腧穴。

Langevin 等人 2002 年的研究报告称, 近 80% 的穴位对应于肌间/肌内筋膜平面[11]。Theise 等人 2018 年的研究报告称, 遍布全身的致密结缔组织实际上是充满流体的间质(interstitium)网络, 在癌症转移、水肿、纤维化和许多或所有组织器官的机械功能中可能非常重要[12]。作者认为, 手足三阴经脉是由疏松结缔组织中纤维细胞的成体干细胞巢构成, 此纤维细胞为结缔组织第六类细胞[7] [8], 人体大多数重要的腧穴(C_{448}^1 多能干细胞巢群落)镶嵌在十二经脉上[9] [10]。十二经筋是由致密结缔组织中纤维细胞的成体干细胞巢构成, 此纤维细胞为结缔组织第五类细胞[7] [8], 十二经筋决定了间质(interstitium)网络的形成产生, 后者遍布全身并且复杂多变[9]。以往使用 Tc-99m 高氯酸盐、荧光素钠和吲哚青绿等进行的经络研究表明, 一些经脉的循行分布确实显示了与肌间筋膜的相关性[13] [14] [15] [16] [17]。

真的还没有获得经络可视化的科学证据吗[18]? 神经嵴是脊椎动物胚胎发育过程中重要的过渡性结构, 神经嵴细胞从神经管背壁分离出来, 形成左右两条与神经管平行的细胞索。作者认为, 神经嵴就是脊索动物祖先身体中的督脉分支, 一分为三, 演变分化为脊椎动物后代身体中的三条督脉分支[7]。不同脊椎动物神经嵴细胞的发育命运和迁移行为极为相似, 但同一胚胎不同部位神经嵴细胞(大多是 C_{448n}^1 成体干细胞)的迁移、定位和分化有很大差别[19] [20], 后者暗示了优先使用全能细胞中的 ES 胚胎干细胞来追踪经脉的循行分布。

2. ES 胚胎干细胞与十二经脉

2.1. 理论依据

本实验设想来源于《灵枢·九针十二原》和《灵枢·邪客》等。《难经·八难》曰: 诸十二经脉者, 皆系于生气之原。所谓生气之原者, 谓十二经之根本也, 谓肾间动气也。有机体中所有细胞都来源于全能细胞 C_1^1 (包括原始生殖细胞等), ES 胚胎干细胞就是真气, 又常被称为原气, 顾名思义, 即为原始之气以及本源和源头之气[21], 是生命的本根[22]。ES 胚胎干细胞及其分化产生的多能干细胞(C_{32}^1 、 C_{64}^1 和 C_{448}^1)构成二十七脉的经气, 呈现为向心性循行, 从五输入内属络于脏腑[9] [23]。十二经脉在腕、踝关节附近各有一个原穴, 是原气经过和留止的部位, 阴经的原穴即是本经五输穴中的输穴, 阳经则在输穴之外另有原穴。《灵枢·九针十二原》曰: 所出为井, 所溜为荥, 所注为腧, 所行为经, 所入为合, 二十七气所行, 皆在五输也。

2.2. 实验动物

实验动物选择小鼠(如 C57BL/6 小鼠)等, 其十二经脉在四肢上的循行分布、特别是五输穴的分布位置等已经被反复地实验研究确认[24]。优先选择处于幼儿期的动物为主要观察对象, 选择即将性成熟的和性成熟的动物等为对照组, 这是因为幼儿身体柔顺, 真气自然顺畅地流注运行于经络中。《道德经》曰: 专气致柔, 能如婴儿乎? 《黄帝内经·上古天真论》曰: 恬淡虚无, 真气从之, 精神内守, 病安从来。

2.3. ES 胚胎干细胞的制备

在比较成熟的 C57BL/6 小鼠 ES 胚胎干细胞的培养方法基础上稍作变动[25], 例如首先将小鼠 ES 胚胎干细胞与特定来源的纤维细胞共同培养一段时间, 这里, 纤维细胞最好取自于小鼠手足三阴经脉(如手厥阴心包经)分布路径上的肌间筋膜中, 然后除去那些成熟的纤维细胞等杂质细胞, 再转染绿色(或者红色等)荧光蛋白质粒, 制备一定数量的能够表达荧光蛋白的 ES 胚胎干细胞。

例如首先将小鼠 ES 胚胎干细胞与特定来源的血管平滑肌细胞共同培养一段时间, 血管平滑肌细胞取自于小鼠手足三阳经脉(如手少阳三焦经)附近纵向分布的大血管中, 同样除去那些成熟的血管平滑肌细胞等杂质细胞后, 再转染绿色(或者红色等)荧光蛋白质粒, 制备一定数量的能够表达荧光蛋白的 ES 胚胎干细胞。

2.4. ES 胚胎干细胞的注入

以观察手厥阴心包经在前肢(主要是大、小臂)中的片段为例, 根据五输穴之间的距离, 先估算出若能示踪成像所必需的最小剂量 A, 制备数倍于 A 的剂量。根据五输穴之间流注产生的经气以及五输穴的“孔隙”有由小到大的变化规律, ES 胚胎干细胞的注入剂量必须随所选择的输穴而改变。五输穴以及其他重要腧穴一般都是 C_{448}^1 多能干细胞巢群落, 是不同经脉、络脉的交汇之处, 直接向该区域注入大量的 ES 胚胎干细胞(或者荧光染料)等, 有可能破坏其作为交通枢纽的基本功能, 引发漫溢等非正常现象的发生。因此选择在紧邻五输穴的上游部位注入 ES 胚胎干细胞, 观察后者是不是先迁移至五输穴, 之后主要是在下游经脉片段中向心性循行。可以由内而外(曲泽、间使、内关、大陵和劳宫)依序先后注入 ES 胚胎干细胞, 剂量由大到小地递减, 观察其是不是主要沿经脉线向心流注, 影像能不能相连? 作为对照, 再由外而内依序先后注入 ES 胚胎干细胞, 剂量由小到大地递增, 观察影像能不能相连?

观察了解所选区域内的解剖组织关系[26], 注入 ES 胚胎干细胞后, 及时适度地按压住该区域, 避免因为将 ES 胚胎干细胞直接注入较大的血管或者淋巴管而导致实验失败, 防止 ES 胚胎干细胞伴随出血而大量外泄, 确保注射形成的鼓包在正常生理环境下存在足够长的时间, 也就是说, 鼓包内的 ES 胚胎干细胞尽可能平缓地自然释放, 不妨将鼓包形成出现在该区域内相对较大的肌间筋膜处视为理想情形。

与注入荧光素钠示踪心包经等不同[14], 本实验设想注入的 ES 胚胎干细胞必须具有正常的细胞结构功能, 可以通过艾灸所选区域, 诱使鼓包内 ES 胚胎干细胞处于非常活泼的结构功能状态, 在热力驱动下, 使其尽快寻找到最快捷的迁移扩散路径。也可以利用超声波的温热效应和机械效应以及超强的穿透能力, 作用于鼓包中的 ES 胚胎干细胞群以及周围的肌间筋膜等, 获得与艾灸刺激相同的效果。

2.5. 对比实验

经络隧道是干细胞巢之间干细胞交流活动的第一条通道, Neil D. Theise 等发现的间质(interstitium)网络则是第二条通道, 对于大多数成体干细胞而言, 后者是主要的交流活动通道[9], 也是中国传统硬气功的物质基础。作者认为, 干细胞巢中, 君臣佐使组织体系通过释放特定的生物信号分子如趋化因子等, 能够与一些紧邻的干细胞巢建立起直接的联系, 表现为将一般的组织间隙改造成为相对较大的、细胞构成复杂多样的经络隧道, 后者具有一定的生物物理特征[27] [28] [29], 一些特定种类的干细胞能够迁移往来于其中, 因为干细胞迁移动力可以来源于自身或者网状细胞等[9], 所以并不总是与十二经脉气血子午流注规律、与组织液循环运动相一致[30]。显而易见, 所选实验动物处于脱水状态是不行的。

始终保持适度地按压所选经脉上的注射区域。在较短时间内, 使得鼓包四周较小的组织间隙很快失去运输 ES 胚胎干细胞乃至组织液的能力, 确保只有少数 ES 胚胎干细胞迁移进入邻近的络脉中, 除十五络脉外, 鼓包四周的孙络和浮络一般非常短小而容量很小。在较长时间内, 可以通过艾灸或者超声波等

的热力,驱使鼓包中 ES 胚胎干细胞通过较大的组织间隙快速迁移,进入孔隙更大的经脉中。十二经脉是经络系统的主干,在位于四肢的十二经脉片段(特别是原穴)中,ES 胚胎干细胞聚集产生达到一定数量时,一般将作长距离的向心性定向迁移运动。

手足三阳经脉与手足三阴经脉存在表里对应关系,通过对比实验,可以证明 ES 胚胎干细胞及其分化产生的多能干细胞(C_{32}^1 、 C_{64}^1 和 C_{448}^1)在经络中具有自主迁移能力。手足三阳经脉中诸成体干细胞巢决定了大动脉、大静脉的产生形成,手足三阴经脉中诸成体干细胞巢决定了疏松结缔组织的产生形成[7-8],两者干细胞巢君臣佐使组织体系中,“君臣的组成”差异非常大(君主是不同的),“佐使的组成”却有很多相同之处,表现为十二经脉与十二经筋、十五络脉、十二经水和十二皮部等关系密切,后者决定了十二经脉中大多数重要腧穴部位解剖结构特征非常相似。

以手厥阴心包经为研究对象,采用患有心包炎的疾病模式动物,观察是否有一些表达荧光蛋白的 ES 胚胎干细胞能够从前肢迁移至心包,通过第一条干细胞分化链 $C_1^1 \rightarrow C_{32}^1 \rightarrow C_{64}^1 \rightarrow C_{448}^1 \rightarrow C_{448n}^1$ 主要分化产生纤维细胞(结缔组织第六类细胞和第五类细胞)?以足阳明胃经为研究对象,采用患有胃血管炎的疾病模式动物,观察是否有一些 ES 胚胎干细胞从后肢迁移至胃,通过第一条干细胞分化链分化产生血管平滑肌细胞(肌肉组织第六类细胞或者第五类细胞)?以手少阴心经为研究对象,采用患有心肌梗死的疾病模式动物,观察是否有 ES 胚胎干细胞从前肢迁移至心脏,通过第一条干细胞分化链产生心肌细胞(肌肉组织第八类细胞)[7]?

3. ES 胚胎干细胞与督脉

3.1. 理论依据

李时珍的《奇经八脉考》曰:内景隧道,唯返观者能照察之。中国道家将修行者能够察觉大量的真气沿任督二脉循行,同时也在十二经脉、冲脉与带脉等主要经脉、络脉等上流走,称为大周天;将修行者只能感觉到少量的真气主要在任督二脉循环往复,称为小周天。本实验设想来源于道家内丹理论中的“采大药过三关服食”,从小周天自然过渡到大周天,ES 胚胎干细胞被称为能够益智强身的“大药”,三关是指人体督脉上的尾闾穴(长强穴)、夹脊穴(灵台穴)和玉枕穴(三个 C_{448}^1 多能干细胞巢群落),是阻滞截流 ES 胚胎干细胞沿督脉主干经络隧道循行的三个重要腧穴。

3.2. 实验动物

以年幼的实验动物如 C57BL/6 小鼠为研究对象,特别是以斑马鱼为研究对象,选择即将性成熟的和性成熟的实验动物等为对照组。年幼的健康实验动物体内,一般仍然有神经发生(neurogenesis),督脉主干内的真气体运行非常明显,长强穴、夹脊穴(灵台穴)和玉枕穴所在部位尚未发育形成可以有效阻断真气连续流注的关隘。人体督脉第一支从胞中、会阴至尾骨端等处的经脉片段与肠神经系统相对应[9],督脉主干与督脉第一支交汇于长强穴,可以根据人体长强穴所在部位内的解剖组织关系,根据胚胎组织发育与进化关系,在斑马鱼的泄殖孔与尾椎之间,寻找推测斑马鱼长强穴的所在部位。

3.3. ES 胚胎干细胞的制备

与督脉主干中成体干细胞巢君臣佐使组织体系相对应,将实验动物的 ES 胚胎干细胞和来源于脊髓的星形神经胶质细胞共同培养一段时间,然后同样除去星形神经胶质细胞等杂质细胞,再转染绿色(或者红色等)荧光蛋白质粒,制备一定数量的能够表达荧光蛋白的 ES 胚胎干细胞。

3.4. ES 胚胎干细胞的注入

道家内丹理论指出,采集大药时,会自然出现较强的热力,使得大药(ES 胚胎干细胞)具有较强的迁

移活动能力,使得长强穴等处的组织器官处于特殊的结构功能状态(例如肛部括约肌收缩等),为大药冲关提供动力和环境条件,因此修行者必须预先用馒头状的木座抵住谷道,防止大药漏泄。

先使实验动物处于暂时失去活动能力的半麻醉状态,注意事项与前文 2.4 中相同,在紧邻长强穴处注入 ES 胚胎干细胞,形成明显的鼓包,观察能否有一些 ES 胚胎干细胞迁移到脊髓中。这里,也可以利用超声波的温热效应等,推测斑马鱼长强穴的所在部位。在长强穴之后的部位注入 ES 胚胎干细胞,长强穴应该同样象关隘一样有效地阻止 ES 胚胎干细胞倒流。肛部括约肌收缩运动,也能为 ES 胚胎干细胞迁移提供一定的动力。

4. 造血干细胞与冲脉

4.1. 理论依据

本实验设想是以造血干细胞替代 ES 胚胎干细胞,验证冲脉的循行分布及其功能特征。32 种 C_{32}^1 多能干细胞中,最早被人们发现的就是造血干细胞(一左一右,两种 C_{32}^1)。冲脉是奇经八脉之一,其成体干细胞巢君臣佐使组织体系是以红细胞的 C_{448n}^1 成体干细胞为君主[7] [8],主要由造血干细胞在干细胞巢中通过干细胞分化链 $C_{32}^1 \rightarrow C_{64}^1 \rightarrow C_{448}^1 \rightarrow C_{448n}^1$ 不断补充君主的细胞数量[10],与之形成鲜明对比的是,在其他七脉和十二经脉等中,大多数 C_{448n}^1 成体干细胞巢君主一般通过自我增殖方式维持细胞数量。《黄帝内经·上古天真论》曰:女子二七而天癸至,任脉通,太冲脉盛,月事以时下,故有子。《灵枢·海论》曰:冲脉者,为十二经之海,其输上在于大杼,下出于巨虚之上下廉。中医常称冲脉为血海,具有调节月经的作用,与生殖功能关系密切。

4.2. 实验动物

选择性成熟的和即将性成熟的实验动物,优先选择处于发情期的哺乳动物如 C57BL/6 小鼠等,选择具有月经周期的灵长类动物;选择处于轻度失血状态下的实验动物,例如分娩失血后的雌性哺乳动物和月经期失血的雌性灵长类动物,再以主要是失去红细胞的实验动物为对照组。

4.3. 造血干细胞的制备

与冲脉诸成体干细胞巢君臣佐使组织体系相对应:① 将取自实验动物的造血干细胞和原始红细胞等红系细胞共同培养一段时间,然后除去红系细胞等杂质,再转染绿色(或者红色等)荧光蛋白质粒,制备一定数量的能够表达荧光蛋白的造血干细胞。② 将取自实验动物的造血干细胞、原始红细胞等红系细胞和软骨细胞共同培养一段时间,然后除去红系细胞和软骨细胞等杂质,再转染绿色(或者红色等)荧光蛋白质粒,制备一定数量的能够表达荧光蛋白的造血干细胞。

4.4. ES 造血干细胞的注入

观察冲脉在后肢中的循行分布:选择在紧邻下巨虚穴处注入造血干细胞,观察鼓包内造血干细胞是不是主要向上迁移至上巨虚穴?在紧邻上巨虚穴处注入造血干细胞,观察鼓包内造血干细胞是不是继续向腹部定向迁移,能不能迁移至会阴穴和气冲穴等?这里,注意事项与前文 2.4 中相同,同样可以采用艾灸或者超声波作用于所注射区域以及下巨虚穴和上巨虚穴等,驱使造血干细胞等更快地迁移扩散。

5. 七种 EG 胚胎干细胞

单细胞真核生物四膜虫存在七种性别[31],作者认为决定四膜虫性别的细胞核与 EG 胚胎干细胞 (Embryonic germ cell)功能行为相对应,负责四膜虫繁殖的细胞核与 ES 胚胎干细胞功能行为相对应[7]。自原腔动物开始,生殖腺中原始生殖细胞作为全能细胞 C_1^1 中的成员,不再是自身直接通过减数分裂产生

精子或者卵子,而是分化产生七种 EG 胚胎干细胞即 $C_1^1 \rightarrow C_7^1$ (例如秀丽隐杆线虫的幼虫含有 2 个生殖细胞),后者通过生殖细胞分化链最终产生精子或者卵子。EG 胚胎干细胞具有潜在的全能性,同样能够通过不对称细胞分裂产生 ES 胚胎干细胞即 $C_7^1 \rightarrow C_1^1$; EG 胚胎干细胞就是中医所说的元气,在经络系统中通过第二条干细胞分化链产生成体干细胞,脊椎动物为 $C_7^1 \rightarrow C_{4m}^1 \rightarrow C_{448}^1 \rightarrow C_{448n}^1$ ($2 \leq n \leq 7$) [6] [10]。

干细胞巢君臣佐使理论认为,干细胞巢是决定大中小血管、神经纤维等细胞组织为什么各自具有特定解剖结构功能形态的基本单位,反过来说,通过解剖观察大中小血管和神经纤维等中存在的主要构成细胞,就能得知相应干细胞巢中的干细胞组成及其基本功能[8]。脊椎动物生精小管(seminiferous tubule)的解剖结构非常简单,根据干细胞巢君臣佐使理论和经络板块说[1],作者认为,生精小管所对应的诸成体干细胞巢是以支持细胞的成体干细胞为君主,后者是上皮组织第 2 类细胞,并且隶属于第七层次[7],这决定了无脊椎动物的精巢中可以有 x ($1 \leq x \leq 7$)种 EG 胚胎干细胞的生殖细胞分化链,决定了脊椎动物的一条生精小管只能对应于一种 EG 胚胎干细胞的生殖细胞分化链。

以雄性哺乳动物为例,睾丸划分为上下有序排列的七个相对独立的组成部分,与神经系统划分为七个组成部分(五部脑、脊髓和周围神经)等存在一一对应关系[7],在每个组成部分中,所有生精小管都对应于同一种 EG 胚胎干细胞的生殖细胞分化链。易见,睾丸的上下两端是第一组成部分和第七组成部分,其睾丸小叶内的生精小管分别对应于第一种和第七种 EG 胚胎干细胞的生殖细胞分化链,睾丸的第四组成部分一般居中,其生精小管对应于第四种 EG 胚胎干细胞的生殖细胞分化链。

从脊椎动物原始生殖腺中获取七种 EG 胚胎干细胞,替代 ES 胚胎干细胞和造血干细胞,采用同样的实验方法来观察研究十二经脉、督脉和冲脉的循行分布,以及七种 EG 胚胎干细胞在相应经脉中的增殖分化等。这里,优先选择性成熟的和即将性成熟的实验动物;优先选择第七种 EG 胚胎干细胞替代 ES 胚胎干细胞来观察研究督脉、冲脉等奇经八脉以及手厥阴心包经、手少阳三焦经等十二经脉;选择第一种 EG 胚胎干细胞来观察研究手厥阴心包经和手少阳三焦经,选择第四种 EG 胚胎干细胞来观察研究足阳明胃经和足太阴脾经,参见文献[7]中的表 1。

6. 讨论

将 ES 胚胎干细胞、EG 胚胎干细胞与纤维细胞或者血管平滑肌细胞等共同培养一段时间,彼此之间存在复杂的相互作用,常见的是一些 ES 胚胎干细胞、EG 胚胎干细胞被诱导分化产生纤维细胞或者血管平滑肌细胞等[32],表明 ES 胚胎干细胞、EG 胚胎干细胞的结构功能状态发生相应的改变,这有利于促使其在相应经脉中流注运行。同理,将造血干细胞和原始红细胞等红系细胞共同培养一段时间,也是为了高效地引导造血干细胞在冲脉中流注运行,并且主要增殖分化产生红系细胞。

潘巍峻等人 2018 年在 Nature 上发表了题为 VCAM-1⁺ Macrophages Guide the Homing of HSPCs to a Vascular Niche 的研究论文[33],对斑马鱼的尾部造血组织(Caudal Hematopoietic Tissue,对应于哺乳动物的胎肝)中造血干细胞归巢进行长时程活体成像,发现一群表达一类粘附蛋白(VCAM-1)的巨噬细胞亚群能够引导造血干细胞归巢。刘峰等人 2022 年在 Cell Research 上发表了小鼠胎肝发育的单细胞时空转录组图谱,发现巨噬细胞高度富集在造血干/祖细胞周围,并且具有相邻关系的巨噬细胞和造血干/祖细胞分别表达互作分子对中的配体和受体[34]。

红系细胞中,是否存在与 VCAM-1⁺巨噬细胞一样功能的引导细胞(usher cells),能够识别和引导造血干细胞进入冲脉诸干细胞巢中,并且造血干细胞在巢中主要增殖分化产生红系细胞?作者认为,不是只有造血干细胞与巨噬细胞之间存在上述互作关系,而是所有种类的 C_{32}^1 、 C_{64}^1 和 C_{448}^1 多能干细胞与其所辖 C_{448n}^1 成体干细胞产生的分化性衍生细胞之间都能建立类似的互作关系,即在分化性衍生细胞中至少有一类细胞可以作为引导细胞,后者具有干细胞巢君臣佐使组织体系中“使”的功能,能够识别和引导 C_{32}^1 、

C_{64}^I 和 C_{448}^I 多能干细胞进入所对应的干细胞巢中。

将造血干细胞和软骨细胞等共同培养一段时间, 是因为软骨细胞的 C_{448n}^I 成体干细胞是冲脉诸干细胞巢君臣佐使组织体系中的重要成员, 通过细胞之间复杂的相互作用, 作者认为, 软骨细胞能够促使不同干细胞巢来源的 C_{32}^I 造血干细胞通过不对称细胞分裂产生新的 C_{32}^I 造血干细胞, 子细胞去除了母细胞原先的干细胞巢遗传信息[10], 从而能高效地融入新的干细胞巢君臣佐使组织体系中。虽然骨髓是有机体中主要造血组织, 但是冲脉才是 C_{32}^I 造血干细胞(具有高度异质性)的主要集散地, 因此中医称之为血海。

参考文献

- [1] 张建新. 经络是干细胞系——兼论物种的起源与干细胞系的进化[J]. 中国中医基础医学杂志, 2001, 7(4): 17-20. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-3250.2001.04.008>
- [2] 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. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-3250.2004.06.007>
- [3] 张建新. 不同种类干细胞巢的有序分布构成中医经络系统[J]. 中国组织工程研究, 2006, 10(21): 189-192. <https://doi.org/10.3321/j.issn:1673-8225.2006.21.061>
- [4] 张建新. 从进化论角度探讨干细胞分化及其干细胞巢分布规律[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(50): 7571-7578. <http://www.cjter.com/CN/10.3969/j.issn.2095-4344.2016.50.018>
- [5] 张建新. 干细胞巢的主要细胞成分及其组合模型[J]. 临床医学进展, 2018, 8(8): 694-701. <https://doi.org/10.12677/acm.2018.88117>
- [6] 张建新. 胚胎干细胞的分化和多能干细胞巢模型——动物经络系统中胚胎干细胞的分化[J]. 中医学, 2019, 8(2): 98-105. <https://doi.org/10.12677/TCM.2019.82019>
- [7] 张明娟, 张建新. 不同种类干细胞巢的有序分布构成中医经络系统[J]. 中医学, 2021, 10(1): 67-79. <https://doi.org/10.12677/TCM.2021.101008>
- [8] 张建新. 从中医角度探讨干细胞巢内的干细胞组成及其基本功能——干细胞巢及其群落就是经络系统的腧穴[J]. 中医学, 2021, 10(3): 291-303. <https://doi.org/10.12677/TCM.2021.103040>
- [9] 张建新. 多能干细胞巢群落的起源进化及其在经络系统中的功能——浅析中医十二经脉的五输穴和任脉的膻中穴[J]. 中医学, 2021, 10(5): 707-715. <https://doi.org/10.12677/TCM.2021.105098>
- [10] 张建新. 中医经络系统中肿瘤干细胞及其干细胞巢的起源与进化——脊椎动物干细胞巢模型的演变及其意义[J]. 中医学, 2022, 11(4): 551-563. <https://doi.org/10.12677/TCM.2022.114078>
- [11] Langevin, H.M. and Yandow, J.A. (2002) Relationship of Acupuncture Points and Meridians to Connective Tissue Planes. *The Anatomical Record*, **269**, 257-265. <https://doi.org/10.1002/ar.10185>
- [12] Benias, P.C., Wells, R.G., Sackey-Aboagye, B., et al. (2018) Structure and Distribution of an Unrecognized Interstitium in Human Tissues. *Scientific Reports*, **8**, Article No. 4947. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23062-6>
- [13] Xiong, F., Song, X., Jia, S., et al. (2020) Preliminary Observation of the Migration of Sodium Fluorescein along Meridians in the Limbs of Mini-Pigs. *Scientia Sinica Vitae*, **50**, 1453-1463. <https://doi.org/10.1360/SSV-2020-0144>
- [14] Li, T.J., Tang, B.Q., Zhang, W.-B., Zhao, M.Y., Hu, Q.C. and Ahn, A. (2021) *In Vivo* Visualization of the Pericardium Meridian with Fluorescent Dyes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2021**, Article ID: 5581227. <https://doi.org/10.1155/2021/5581227>
- [15] 原林, 姚大卫, 白宇, 等. 经络的解剖学发现与筋膜学理论[J]. 上海针灸杂志, 2011, 30(1): 1-5. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1005-0957.2011.01.001>
- [16] Yang, C., Du, Y.K., Wu, J.B., et al. (2015) Fascia and Primo Vascular System. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2015**, Article ID: 303769. <https://doi.org/10.1155/2015/303769>
- [17] Maurer, N., Nissel, H., Egerbacher, M., Gornik, E., Schuller, P. and Traxler, H. (2019) Anatomical Evidence of Acupuncture Meridians in the Human Extracellular Matrix: Results from a Macroscopic and Microscopic Interdisciplinary Multicentre Study on Human Corpses. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2019**, Article ID: 6976892. <https://doi.org/10.1155/2019/6976892>
- [18] Litscher, G. (2014) No, There Is No Conclusive Scientific Evidence for Visualization of Meridians at the Moment. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, **20**, 215-216. <https://doi.org/10.1089/acm.2013.0150>
- [19] Weston, J. (1970) Migration and Differentiation of Neural Crest Cells. *Advances in Morphogenesis*, **8**, 41-114. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-028608-9.50006-5>

- [20] 蒋锐达, 赵敏, 赵三军, 等. 胚胎发育中神经嵴细胞迁移机制的研究进展[J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(9): 3799-3809. <https://www.cnki.net/kcms/doi/10.13417/j.gab.037.003799.html>
- [21] 李智慧, 王小平. 中医原气探析[J]. 北京中医药大学学报, 2019, 42(9): 709-712. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-2157.2019.09.001>
- [22] 石翎笙, 贺娟. 《黄帝内经》“真气”本根论思想形成脉络探析[J]. 北京中医药大学学报, 2020, 43(4): 269-274. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-2157.2020.04.001>
- [23] 李瑞, 赵百孝, 王娜, 等. 试论五输穴与原穴脉气循行流注的一致性[J]. 北京中医药大学学报, 2006, 29(4): 225-228. <https://doi.org/10.3321/j.issn:1006-2157.2006.04.002>
- [24] 程觅, 张雪, 史阳琳, 等. 实验大鼠和小鼠穴位定位的研究概况[J]. 上海针灸杂志, 2021, 40(5): 640-646. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx?doi=10.13460/j.issn.1005-0957.2021.05.0640>
- [25] 孟国良, 汤富酬, 尚克刚, 薛友纺. 高效建立 129/ter、C57BL/6J 小鼠胚胎干细胞系的方法学探讨[J]. 生物工程学报, 2002, 18(6): 740-743. <https://doi.org/10.3321/j.issn:1000-3061.2002.06.018>
- [26] 徐培, 范燕华, 王茵萍. 超声介入下内关穴得气与周围解剖组织关系观察[J]. 针灸临床杂志, 2020, 36(10): 16-20. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1005-0779.2020.10.005>
- [27] Li, J., Wang, Q., Liang, H., et al. (2012) Biophysical Characteristics of Meridians and Acupoints: A Systematic Review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, Article ID: 793841. <https://doi.org/10.1155/2012/793841>
- [28] Zhang, W.B., Wang, G.J. and Fuxe, K. (2015) Classic and Modern Meridian Studies: A Review of Low Hydraulic Resistance Channels along Meridians and Their Relevance for Therapeutic Effects in Traditional Chinese Medicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, Article ID: 410979. <https://doi.org/10.1155/2015/410979>
- [29] 郝宇卉, 刘志贞, 刘丹, 冯玉娟, 解 军. 小鼠腹白线组织中 Sca-1⁺成体干细胞的分布[J]. 中国组织工程研究, 2019, 23(17): 2672-2677. <http://www.cjter.com/CN/10.3969/j.issn.2095-4344.1721>
- [30] 李宏义, 季福绥, 汪芳, 等. 人体纤维结缔组织网络中的主动界面液体流动新现象及其机制研究进展[J]. 生理科学进展, 2021, 52(2): 155-161. <https://doi.org/10.3969/j.issn.0559-7765.2021.02.016>
- [31] Cervantes, M.D., Hamilton, E.P., Xiong, J., Lawson, M.J., Yuan, D., Hadjithomas, M., et al. (2015) Correction: Selecting One of Several Mating Types through Gene Segment Joining and Deletion in *Tetrahymena thermophila*. *PLOS Biology*, 13, e1002284. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002284>
- [32] 詹秀琴, 姜泽群. 干细胞共培养技术在医学研究中的应用[J]. 中国细胞生物学学报, 2014, 36(8): 1178-1185. http://www.cjcb.org/cjcb/portal/zl_show.jsp?ID=1984
- [33] Li, D.T., Xue, W.Z., Li, M., et al. (2018) VCAM-1⁺ Macrophages Guide the Homing of HSPCs to a Vascular Niche. *Nature*, 564, 119-124. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0709-7>
- [34] Gao, S., Shi, Q., Zhang, Y., et al. (2022) Identification of HSC/MPP Expansion Units in Fetal Liver by Single-Cell Spatiotemporal Transcriptomics. *Cell Research*, 32, 38-53. <https://doi.org/10.1038/s41422-021-00540-7>