

· 综 述 ·

自体骨髓间充质干细胞移植治疗心肌梗死的进展

胡星星, 朱庆磊*

(解放军总医院老年心血管病研究所, 北京 100853)

【摘 要】 心肌梗死可引起心肌细胞的丢失, 进而引起心脏功能的下降, 是心力衰竭最主要的病因。骨髓间充质干细胞 (BM-MSCs) 是一类具有横向分化为各系统器官和组织能力的干细胞, 能补充丢失的心肌细胞并通过旁分泌等机制增强心功能, 为心肌梗死提供一种全新的治疗方法, 极具发展潜力。本文对BM-MSCs的分离培养、诱导因素、移植以及临床研究等方面进行了综述。

【关键词】 骨髓间充质干细胞; 移植; 心肌梗死

【中图分类号】 R541.4

【文献标识码】 A

【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2014.00017

Autologous bone marrow mesenchymal stem cells transplantation in treatment of myocardial infarction: recent advances

HU Xing-Xing, ZHU Qing-Lei*

(Institute of Geriatric Cardiology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

【Abstract】 Myocardial infarction is the main cause of heart failure, causing the loss of myocardial cells, and then declining the cardiac function. Bone marrow derived mesenchymal stem cells (BM-MSCs) are stem cells with capacity for self-renewal and potential to differentiate into a broad tissue distribution. BM-MSCs after transplantation can survive in the myocardium and then improve cardiac function through paracrine and other mechanisms. The cell transplantation provides a new approach for treatment of myocardial infarction and has great application potential. In this paper, we reviewed the current understanding of BM-MSCs isolation, induction, transplantation and recent clinical research on the therapy for cardiac diseases.

【Key words】 bone marrow mesenchymal stem cells; transplantation; myocardial infarction

This work was supported by National Natural Science Foundation of China(81070200).

Corresponding author: ZHU Qing-Lei, E-mail: qlzhu@yahoo.com

心力衰竭是一组复杂的临床综合征, 是各种原因引起的心肌病变 (坏死、炎症、心肌损害等) 及血流动力学负荷过重 (压力负荷和容量负荷) 造成心脏结构和功能的改变, 导致心室射血功能的低下和心室充盈的障碍。心肌梗死是目前心力衰竭最主要的病因, 如今治疗心力衰竭的措施主要有药物治疗、辅助装置、心脏移植、细胞移植和基因治疗。药物治疗和介入干预治疗等仅能起控制和延缓心力衰竭进程的作用, 但并不能从根本上解决有功能心肌的进行性减少和逆转心室重塑。

心肌细胞一直被认为是永久细胞, 不可进行增殖分化, 但近年研究表明, 在正常情况下, 20岁年轻人的心脏每年约有1%的心肌细胞自我更

新, 在75岁的老年人中, 这一数值为0.4%。在病理状态下, 心肌梗死边缘区约有4%心肌细胞的为增殖相关蛋白Ki-67为阳性^[1]。虽然如此, 心脏的自我修复功能仍远远不能满足病理状态下的心脏复原, 但为心肌的细胞再生修复提供了理论依据。自体骨髓间充质干细胞 (bone marrow derived mesenchymal stem cells, BM-MSCs) 自1970年被Friedenstein发现以来, 以其容易获得且能在体外培养、无免疫排斥反应、具有较强的自我复制能力和多向分化能力以及其重要的旁分泌功能而备受瞩目^[2], 而且, BM-MSCs还具有向损伤组织迁移、滞留进行组织修复的功能^[3]。本文对BM-MSCs治疗心肌梗死的相关情况进行概述。

收稿日期: 2013-07-01; 修回日期: 2013-09-02

基金项目: 国家自然科学基金 (81070200)

通信作者: 朱庆磊, E-mail: qlzhu@yahoo.com

1 BM-MSCs的分离培养和鉴定

BM-MSCs是在骨髓间充质中一种重要的支持细胞,在外周血中量极少,并且很难用常规方法使BM-MSCs从骨髓迁移到外周血中,所以移植前需先在体外培养扩增。BM-MSCs一般取动物的长骨骨髓,主要分离方法包括密度梯度离心法、全骨髓培养法、流式细胞仪分离法和免疫磁珠法,后两种方法由于操作复杂、费用昂贵,对细胞的活性也有一定影响,难以应用推广。目前主要根据BM-MSCs的贴壁特性采用密度梯度离心法以及全骨髓培养法将BM-MSCs与骨髓中不贴壁细胞分离,再根据MSCs与骨髓间充质中其他贴壁细胞(如成纤维细胞)的贴壁能力的不同,利用胰酶消化再次纯化MSCs。

BM-MSCs的鉴定主要包括以下几个方面:(1)形态学以及自我复制能力;(2)表面标志物鉴定,包括CD29、CD44、CD105、Sca-1阳性,CD34、CD45、CD11-b、HLA-DR阴性^[4];(3)多向分化能力鉴定。

2 BM-MSCs向心肌细胞分化诱导

虽然BM-MSCs体外可培养扩增,但移植入体内的BM-MSCs能滞留在心肌的少之又少,移植4d后在心脏中存留的BM-MSCs只占移植总量的0.44%^[5],而且能向心肌细胞转化的比例也非常低,所以,需要人工干预提高BM-MSCs在心脏的滞留率以及向心肌细胞的转化率。

2.1 共培养诱导

BM-MSCs在相似心肌内的环境下能转化成心肌细胞。将小鼠的BM-MSCs与心肌细胞以1:10的比例共培养3周后,BM-MSCs已不能和心肌细胞鉴别开来^[6]。将成人的BM-MSCs以1:1的比例与成人心肌细胞共培养48h后表达心肌标志物肌钙蛋白(TnT)、 β 肌动蛋白(β -actin)、主要组织相容性复合体(MHC)^[7],说明共培养能促进BM-MSCs向心肌细胞的分化。

2.2 药物以及细胞因子诱导

加强DNA脱甲基作用的药物能促进BM-MSCs向心肌细胞转化,例如阿扎胞苷(5-氮胞苷,5-Aza)以及5-乙酰唑胺—2-脱氧胞苷酸^[8]。1995年,Wakitani等^[9]用含5-Aza的培养基培养大鼠BM-MSCs 7~10d后,电镜下可见细胞内长的多核肌管,并表达心肌钙蛋白I(cTnI)和cTnT。Tomita等^[11]用5-Aza诱导后能提高BM-MSCs移植治疗心力衰竭的疗效。但也有学者研究发现未经诱导和经诱导的BM-MSCs移植于心肌4周后,两组心功能的改善无显著性差异。

还有其他的一些物质,如V型胶原、高密度脂蛋白胆固醇均对BM-MSCs的分化有积极的影响。

2.3 基因转染诱导

基因转染指的是将具生物学功能的核酸转移或运送到细胞内并使核酸在细胞内维持其生物功能的方法^[12]。转染Bcl-2的BM-MSCs抗凋亡能力增强^[13]。转染Akt基因后的BM-MSCs移植入大鼠心肌梗死模型,能提高心功能^[14]。BM-MSCs通过整合素连接激酶转染后移植可抑制成纤维细胞的增殖并减少纤维合成,改善心肌梗死后的心室顺应性^[15]。HO-1增强BM-MSCs对缺氧复氧损伤的耐受力^[16]。以上几个基因只是众多研究中的一小部分。虽然基因转染在体外试验和动物实验中被证明能提高干细胞生存率和转化率,但在临床中还未进行大规模试验,其安全性还有待考量。

3 BM-MSCs移植治疗心力衰竭

3.1 移植的最佳时间

原则上越早移植越能够防止以后发生心肌重构、限制心肌细胞分离、减少胶原沉淀和瘢痕形成。但动物研究发现干细胞移植有时间窗^[17]。急性心肌梗死(AMI)后早期(1周内)可能由于明显的心肌缺血坏死和炎症反应、再灌注后氧爆发和严重的过氧化损伤,以及随后出现的坏死物质液化吸收(如6~9d)等,影响移植干细胞的存活与分化。中期(AMI后1周至瘢痕形成前)移植期间炎症反应逐渐减弱,瘢痕尚未形成,较利于移植细胞的存活和发挥作用。晚期(指梗死瘢痕形成后的阶段)瘢痕区缺乏血供,不利于移植细胞的存活;瘢痕还限制了干细胞和宿主心肌细胞的连接,容易形成“细胞岛”而提供心律失常的基质。但Quevedo^[18]的实验在猪心肌梗死后12周给予BM-MSCs移植,12周后移植组的心功能较安慰剂组有明显改善,说明BM-MSCs移植对于心肌梗死瘢痕形成以后的心功能修复仍然有一定作用。临床上对于移植时间的研究并没有深入,一般为梗死后两周进行移植,此时正处于中期,炎症反应轻而瘢痕又没有完全形成,对于逆转梗死后心室重塑有利。

3.2 移植剂量的选择

理论上说,移植的细胞数量越多,存活的干细胞也应该更多,对于患者越有利。不过事实也许并非如此。首先,对于干细胞的获得和培养的能力有限;另外,移植的BM-MSCs量越大,并不代表其修复心脏的功能越强。Dixon等^[19]学者用大量的动物做

实验,结果表明干细胞治疗心肌梗死在细胞浓度上可能有一个阈值。低浓度的干细胞能抑制梗死边缘区的心肌肥大,但高浓度(450×10^6)的这一功能却被削弱。往梗死边缘区注射高浓度的干细胞导致氧和营养的需求增加,从而增大了心肌的代谢负担,浓度越高可能会导致炎症反应越严重,从而改变心肌细胞的微环境,影响心肌细胞的修复生长。

3.3 移植方法的选择

现在应用于移植研究的方法包括经静脉注射植入、经左室注射植入、经冠状静脉窦植入、经心内膜心肌内注射植入、直视下局部注射植入及介入方法经冠状动脉注射植入。动物实验中一般采取开胸直视下心肌内直接注射,而在临床上一般采取开胸直视下局部注射以及经冠状动脉注射植入。临床上心外膜注射移植只适用于外科搭桥的患者;而相对于心内膜注射来说,介入方法技术较成熟,操作也较简单。经冠状动脉注入需要的移植细胞量大,严重时可能造成血栓,在血管有病变和狭窄时尤其如此^[20]。最近有学者研究细胞薄膜技术(cell sheet),通过一种温度敏感培养皿得到无支架BM-MSCs细胞薄膜,将其替代心包外膜以达到移植的目的,此项技术能增加BM-MSCs在心肌上的滞留率,比支架心肌内注射对照组增加6.4倍^[21]。

3.4 移植BM-MSCs治疗心力衰竭的机制

(1) 分化为心肌细胞,减少了梗死区有功能心肌细胞的下降程度^[22]; (2) 在梗死心肌中生长发育的心肌样细胞提高了心肌组织的弹性、韧性和收缩性,增加梗死部位心肌的厚度,阻止了梗死后的心室重塑过程^[23]; (3) 旁分泌机制:分泌各种细胞因子促进心肌细胞再生、新生血管形成、抗炎、影响心肌代谢、延缓心室重塑并增加心肌收缩力,从而达到修复心脏的效果^[24,25]; (4) 细胞融合; (5) 向心肌细胞、血管内皮细胞以及血管平滑肌3系分化,参与梗死心肌的修复^[18]。

4 骨髓干细胞移植的临床研究

率先将BM-MSCs移植应用于临床的是日本的Hamano研究小组^[26]。2001年,他们在给7例陈旧性心肌梗死患者行冠状动脉搭桥手术时,进行了自体骨髓单个核细胞移植,发现5例患者中有3例心肌灌注长期改善,2例无明显变化。2006年最大的随机安慰剂对照试验鹿特丹急性梗死再灌注-急性心肌梗死实验(Reperfusion of Acute Infarction Rottardam-AMI, REPAIR-AMI)^[27]表明,BM-MSCs

移植不仅能增强左心室功能,而且能降低心肌梗死后1年的死亡终点事件、再次心肌梗死或者血管成形术的概率。骨髓转移增强ST抬高型梗死再生实验(BOOST试验)^[28]中,移植组左心室功能比对照组增强得更早,但是这种差异在18个月后消失,此时对照组的心功能已经赶上了移植组的水平。但是另一项双盲、随机试验却与上述两项试验结果相反,试验人员用自体骨髓单核细胞移植到心肌梗死24h内成功再灌注的患者体内,结果显示,患者的左室射血分数并没有增加,但是心肌梗死面积却显著减少,局部左心室功能增强^[29]。2012年的慢性缺血性心脏衰竭间充质基质细胞试验(MSC-HF)是一项两期、双盲、随机、单中心的临床研究,也得到了阳性结果^[30]。干细胞治疗心肌梗死的临床研究仍在不断进行,取得了令人鼓舞的结果,但还有很多问题有待解决,需要进一步的探讨和研究。

5 移植治疗存在的问题

5.1 安全性

虽然BM-MSCs为干细胞移植的良好选择,但其安全性仍受各界关注。应注意体外干细胞培养的截止时间,传代过多的干细胞可能会引发各种疾病,如突变获得染色体异常^[31]、异位骨化、移植部位脂肪组织形成^[32]、移植部位钙化等^[33]。另外一些安全性考虑还有对非靶器官的影响、免疫反应、细胞可能无限限制生长以及发生白血病^[34]等。

5.2 可能引起心律失常

组织学分析显示,相对于对照组,BM-MSCs移植组的心肌梗死面积、心肌纤维化、以及由于缺血引起的心肌凋亡都有显著减少。但这些修复后的心肌并没有达到梗死前的水平。在移植区仍然遗留有50%的损伤。这些遗留的瘢痕可能会导致心电图阻滞。移植区遗留的间质纤维化可能诱发继发性心律失常。Segers等^[35]指出纤维瘢痕不仅能中等程度地阻碍细胞再生,而且还能阻碍心电传播,促进折返。移植区严重的炎症能阻碍传导和复极化,而且能影响祖细胞的转录和存活。

5.3 提高存活率的能力有限

进行BM-MSCs移植使心脏收缩功能得到显著提高,但却并不能使存活率得到同比例的增高^[36-38]。产生这种不一致的原因可能是这些BM-MSCs细胞移植入心脏以后并不能转化为有电生理功能的心肌细胞,而是使移植细胞在移植区形成不一致的异质区,有可能使心脏出现室性心律失常^[39]。

5.4 移植后细胞存活率低

BM-MSCs在骨髓中的含量很低,仅占骨髓中单个核细胞的 $1/10^6 \sim 1/10^5$ 。细胞在扩增过程中保持多向分化的潜能性,但该能力会随着过度扩增和不恰当操作而减弱。AMI经干细胞移植后,移植干细胞在梗死区会因为缺血和再灌注、炎症因子等恶劣环境的作用而大量死亡。研究表明干细胞移植后在第一个24h内大多数均死亡,只有15%可能生存到12周。李克等^[40]将携带人端粒酶逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase, hTERT)目的基因的质粒通过脂质体转染法转入人BM-MSCs中,显示外源性hTERT基因可以在人BM-MSCs中获得异位表达,并能诱导人BM-MSCs的端粒酶活性,使BM-MSCs的寿命明显延长而且不影响其维持干细胞的多向分化潜能特性。亦有通过红细胞生成素、碱性成纤维细胞生长因子、中药提取物等促进BM-MSCs增殖的报道。但如何提高BM-MSCs移植后的存活率依然值得深入研究和探讨。其他诸如BM-MSCs移植后归巢及心肌细胞分化的诱导、干细胞的分离和培养等问题都需进一步的研究。

6 展 望

干细胞治疗心肌梗死还处在研究的初级阶段,虽然有很多问题还不清楚,由于BM-MSCs取材容易,临床上应用又不受伦理道德限制,具有广阔的治疗前景。但真正要在临床上推广,还需要进行大量临床前实验研究以确定其安全性和有效性。随着实验技术和研究方法的进步,以及对相关机制研究的深入,BM-MSCs将对心力衰竭的治疗产生深远的影响。

【参考文献】

- [1] Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, *et al.* Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction[J]. *N Engl J Med*, 2001, 344(15): 1750-1757.
- [2] Salem HK, Thiemermann C. Mesenchymal stromal cells: current understanding and clinical status[J]. *Stem Cells*, 2010, 28(3): 585-596.
- [3] Ansilla E, Marin GH, Drago H, *et al.* Blood stream cells phenotypically identical to human mesenchymal bone marrow stem cells circulate in large amounts under the influence of acute large skin damage: new evidence for their use in regenerative medicine[J]. *Transplant Proc*, 2006, 38(3): 967-969.
- [4] Gindraux F, Selmani Z, Obert L, *et al.* Human and rodent bone marrow mesenchymal stem cells that express primitive stem cell markers can be directly enriched by using the CD49 molecule[J]. *Cell Tissue Res*, 2007, 327(3): 471-483.
- [5] Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, *et al.* Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart[J]. *Circulation*, 2002, 105(1): 93-98.
- [6] Li X, Yu X, Lin Q, *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cells differentiate into functional cardiac phenotypes by cardiac microenvironment[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2007, 42(2): 295-303.
- [7] Rangappa S, Entwistle JW, Wechsler AS, *et al.* Cardiomyocyte-mediated contact programs human mesenchymal stem cells to express cardiogenic phenotype[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2003, 126(1): 124-132.
- [8] Xu W, Zhang X, Qian H, *et al.* Mesenchymal stem cells from adult human bone marrow differentiate into a myocardial cell phenotype *in vitro*[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2004, 229(5): 623-663.
- [9] Wakitani S, Saito T, Caplan AI, *et al.* Myogenic cells derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells exposed to 5-aza—cytidine[J]. *Muscle Nerve*, 1995, 18(12): 1417-1442.
- [10] Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS, *et al.* The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells[J]. *Cell Tissue Kinet*, 1970, 3(4): 393-403.
- [11] Tan G, Shim W, Gu Y, *et al.* Effect of myocardial matrix and integrins on cardiac differentiation of human mesenchymal stem cells[J]. *Differentiation*, 2010, 79(2): 260-271.
- [12] Greener I, Donahue JK. Gene therapy strategies for cardiac electrical dysfunction[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2010, 50(5): 759-765.
- [13] Li W, Ma N, Ong LL, *et al.* Bcl-2 Engineered MSCs inhibited apoptosis and improved heart function[J]. *Stem Cells*, 2007, 25(8): 2118-2127.
- [14] Mangi AA, Noiseux N, Kong D, *et al.* Mesenchymal stem cells modified with Akt prevent remodeling and restore performance of infarcted hearts[J]. *Nat Med*, 2003, 9(9): 1195-1201.
- [15] Mao Q, Lin CX. Mesenchymal stem cells overexpressing integrin-linked kinase attenuate cardiac fibroblast proliferation and collagen synthesis through paracrine actions[J]. *Mol Med Rep*, 20137(5):1617-1623.
- [16] Tang YL, Tang Y, Zhang YC, *et al.* Improved graft mesenchymal stem cell survival in ischemic heart with a hypoxia-regulated hemeoxygenase-1 vector[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 46(7): 1339-1350.
- [17] Jia M, Lu PQ, Yang JY, *et al.* Influence of transplanting mesenchymal stem cells at different time on functional restoration after myocardial infarction[J]. *J Clin Rehabil Tissue Eng Res*, 2007, 33(2), 45-47. [贾敏, 卢沛琦, 杨继要, 等. 心肌梗死后不同时间移植骨髓间充质干细胞对心脏功能修复的作用[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 33(2): 45-47.]

- [18] Quevedo HC, Hatzistergos KE, Oskouei BN, *et al.* Allogeneic mesenchymal stem cells restore cardiac function in chronic ischemic cardiomyopathy via trilineage differentiating capacity[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(33), 14022–14027.
- [19] Dixon JA, Gorman RC, Stroud RE, *et al.* Mesenchymal cell transplantation and myocardial remodeling after myocardial infarction[J]. *Circulation*, 2009, 15, 120(11): S220–S229.
- [20] Suzuki K, Brand NJ, Smolenski RT, *et al.* Development of a novel method for cell transplantation through the coronary artery[J]. *Circulation*, 2000, 102(3): 359–364.
- [21] Narita T, Shintani Y, Ikebe C, *et al.* The use of scaffold-free cell sheet technique to refine mesenchymal stromal cell-based therapy for heart failure[J]. *Mol Ther*, 2013, 21(4): 860–867.
- [22] Lin Q, Chen SY. The mechanism of bone marrow derived mesenchymal stem cells in treatment of myocardial infarction[J]. *Chin Heart J*, 2008, 20(4), 498–500. [林 强, 陈书艳. 骨髓间充质干细胞治疗急性心肌梗死的机制[J]. *心脏杂志*, 2008, 20(4): 498–500.]
- [23] Shake JG, Gruber PJ, Baumgmmmer WA, *et al.* Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects[J]. *Ann Thorac Surg*, 2002, 73(6): 1919–1926.
- [24] Zhang SH, Jia ZQ, Guo JX, *et al.* Transplantation of bone marrow cells upregulated vascular endothelial growth factor and its receptor and improved ischemic myocardial function[J]. *J Peking Univ, Health Sci*, 2003, 4(1): 245–247. [张少衡, 贾竹青, 郭静莹, 等. 骨髓细胞移植上调血管内皮生长因子及其受体的表达并改善缺血心脏功能[J]. *北京大学学报医学版*, 2003, 4(1): 245–247.]
- [25] Wen Z, Zheng S, Okamoto R, *et al.* Repair mechanisms of bone marrow mesenchymal stem cells in myocardial infarction[J]. *J Cell Mol Med*, 2011, 15(5), 1032–1043.
- [26] Hamano K, Nishida M, Hirata K, *et al.* Local implantation of autologous bone marrow cells for therapeutic angiogenesis with ischemic heart disease: clinical trial and preliminary results[J]. *Jpn Circ J*, 2001, 65(9), 845–847.
- [27] Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, *et al.* Improved clinical outcome after intracoronary administration of bone-marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction: final 1-year results of the REPAIR-AMI trial[J]. *Eur Heart J*, 2006, 27(23): 2775–2783.
- [28] Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, *et al.* Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: eighteen months' follow-up data from the randomized, controlled BOOST (Bone Marrow Transfer to Enhance ST-Elevation Infarct Regeneration) trial[J]. *Circulation*, 2006, 113(10): 1287–1294.
- [29] Janssens S, Dubois C, Boqaert J, *et al.* Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2006, 367(9505): 113–121.
- [30] Mathiasen AB, Jarqensen E, Qayyum AA, *et al.* Rationale and design of the first randomized, double-blind, placebo-controlled trial of intramyocardial injection of autologous bone-marrow derived Mesenchymal Stromal Cells in chronic ischemic Heart Failure (MSC-HF Trial)[J]. *Am Heart J*, 2012, 164(3): 285–291.
- [31] Aguilar S, Nye E, Chan J, *et al.* Murine but not human mesenchymal stem cells generate osteosarcoma-like lesions in the lung[J]. *Stem Cells*, 2007, 25(8): 1586–1594.
- [32] Tolar J, Nauta AJ, Osborn MJ, *et al.* Sarcoma derived from cultured mesenchymal stem cells[J]. *Stem Cells*, 2007, 25(2): 371–379.
- [33] Breitbach M, Bostani T, Roel W, *et al.* Potential risks of bone marrow cell transplantation into infarcted hearts[J]. *Blood*, 2007, 110(4): 1362–1369.
- [34] Mishra PJ, Mishra PJ, Humeniuk R, *et al.* Carcinoma-associated fibroblast-like differentiation of human mesenchymal stem cells[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(11): 4331–4339.
- [35] Segers VF, Lee RT. Stem-cell therapy for cardiac disease[J]. *Nature*, 2008, 451(2): 937–942.
- [36] Song H, Chang W, Lim S, *et al.* Tissue transglutaminase is essential for integrin-mediated survival of bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. *Stem Cells*, 2007, 25(6): 1431–1438.
- [37] Chang W, Song BW, Lim S, *et al.* Mesenchymal stem cells pretreated with delivered Hsp-1-Hsp70 protein are protected from hypoxia-mediated cell death and rescue heart functions from myocardial injury[J]. *Stem Cells* 2009, 27(9): 2283–2292.
- [38] Song SW, Chang W, Song BW, *et al.* Integrin-linked kinase is required in hypoxic mesenchymal stem cells for strengthening cell adhesion to ischemic myocardium[J]. *Stem Cells*, 2009, 27(6): 1358–1365.
- [39] Song H, Hwang HJ, Chang W, *et al.* Cardiomyocytes from phorbol myristate acetate-activated mesenchymal stem cells restore electromechanical function in infarcted rat hearts[J]. *PNAS*, 2011, 108(1): 296–301.
- [40] Li K, Liu RM, Han XF, *et al.* Ectopic hTERT gene expression in human bone marrow mesenchymal stem cells[J]. *Chin J Pathophysiol*, 2007, 23(7): 1357–1362. [李克, 刘瑞敏, 韩雪飞, 等. 端粒酶逆转录酶基因修饰人骨髓间质干细胞的实验研究[J]. *中国病理生理杂志*, 2007, 23(7): 1357–1362.]