

• 临床研究 •

外周血干细胞移植治疗老年心肌梗死后心力衰竭患者的疗效及安全性

顾翔 许厚田 李铭辉 段俊斐 顾健 陈勇 高松 张玲芳 徐日新 孙磊 刘晓东 谢勇

【摘要】 目的 比较冠状动脉内自体外周血干细胞(PBSC)移植治疗老年及非老年心肌梗死后心力衰竭患者的治疗效果与安全性。**方法** 25例心肌梗死后心力衰竭患者,以60岁为界限分为老年组13例,非老年组12例,接受粒细胞集落刺激因子动员后的冠脉内自体PBSC移植(PBSCT)治疗。比较两组患者临床资料、冠状动脉病变及支架植入情况、PBSCT的不良反应及其前后左室形态和心功能变化。**结果** 与非老年组比较,老年组合并高血压病、糖尿病、慢性闭塞病变,多支病变及植入支架数均较多。PBSCT 6个月后,两组患者的左室舒张末期径明显缩小,射血分数明显提高,6min步行距离明显增加,心肌灌注缺损面积均明显缩小。而两组上述参数的术前术后变化比较无显著性差异。**结论** 冠脉内自体PBSCT治疗老年人心肌梗死后心力衰竭,能够改善患者心功能,提高生存质量,安全有效,且效果与非老年组无明显差异。

【关键词】 外周血干细胞移植;老年人;心肌梗死;心力衰竭

Efficiency and safety of peripheral blood stem cells transplantation in elderly patients with heart failure after myocardial infarction

GU Xiang, XU Houtian, LI Minghui, et al

Department of Cardiology, Subei People's Hospital Affiliated to Yangzhou
University, Yangzhou 225001, China

【Abstract】 Objective To compare the efficiency and safety of intracoronary peripheral blood stem cells(PBSC) transplantation between aged patients and non-aged patients with heart failure after myocardial infarction (MI). **Methods** Twenty-five patients with heart failure after MI were divided into aged group(≥ 60 years, $n=13$) and non-aged group(<60 years, $n=12$) to receive intracoronary PBSC transplantation(PBSCT) following bone marrow cells mobilized by granulocyte colony-stimulating factor. The clinical data, coronary lesion characteristics, side effects, left ventricular shape and cardiac function between two groups were compared. **Results** Six months after PBSCT, the left ventricular ejection fraction and 6 min walk test distance increased significantly and left ventricular diastolic diameter decreased obviously. The area of myocardial perfusion decreased obviously in both groups. There were no significant differences between two groups in the above parameters change. **Conclusion** The present study demonstrates that autologous intracoronary PBSCT is safe and feasible for elderly patients with heart failure after MI, and the left ventricular function of the patients is significantly improved. The results have no significant difference between aged group and non-aged group.

【Key words】 peripheral blood stem cells transplantation; elderly; myocardial infarction; heart failure

老年人心肌梗死(myocardial infarction)具有高发病率、高心衰率、高致死、高致残率。虽然,近年来在药物、介入及外科手术治疗方面有较大进展,但效果仍不满意。随着外周血分离技术的不断改进,将骨髓干细胞动员到外周血,经采集、冠状动脉回输到

心肌梗死部位的血管中是干细胞移植的进展之一。本临床研究旨在观察粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)动员后的自体外周血干细胞(peripheral blood stem cells, PBSC)冠状动脉内移植治疗心肌梗死后心力衰竭患

收稿日期:2008-01-03

基金项目:江苏省科技厅社会发展科技计划项目(BS2004532);江苏省卫生厅计划项目(Z200514)

作者单位:225001 扬州市,江苏省扬州大学医学院附属苏北人民医院心血管内科。Tel:0514-87196589

者的疗效和安全性并比较老年和非老年人的效果。

1 资料与方法

1.1 病例选择 2006 年 3 月至 2007 年 9 月期间苏北人民医院心内科收治的 28 例心肌梗死后心力衰竭患者,2 例患者因经济原因退出,1 例采集结束时因心律失常、低血压而退出。最终入选的病例为 25 例,分为老年组(≥ 60 岁)13 例;非老年组(< 60 岁)12 例。患者的临床和冠状动脉造影特征(表 1)。病例入选标准:透壁性心肌梗死史;心功能Ⅲ级或Ⅳ级(NYHA 分级标准);左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF) $< 50\%$;确认心力衰竭主要由心肌坏死所致;患者和家属知情同意。病例排除标准:出血症状;严重肝肾功能不全;严重感染;严重血液动力学不稳定未被纠正;合并恶性肿瘤;其他可能威胁生命的情况;单纯心绞痛而无大面积心肌坏死。研究方案经江苏省苏北人民医院伦理委员会批准。

1.2 PBSC 的动员、分离、纯化与采集 用 G-CSF (津恤力,山东格兰百克公司) $10\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 左右,分两次皮下注射,连用 5d,进行 PBSC 动员,监测外周血白细胞数。第 6 天经 CS-3000PLUS 血细胞分离机(美国 Baxter 公司)采集外周血单核细胞,采集前 1h 静推地塞米松 10mg,急查血常规,处理血量为 5000~10 000ml,共采集含单核细胞的混悬液(62 ± 5)ml。流式细胞仪检测 CD34⁺ 细胞数及涂片分类,移植的单个核细胞数为 1×10^{10} 个细胞/L,其中 CD34⁺ 细胞数占 0.3%~0.8%。

1.3 PBSC 冠状动脉内回输 于 PBSC 分离、计数后即行细胞移植术。以 Seldinger 法建立股动脉通路,行冠状动脉造影,病变狭窄超过 70%时先行支

架植入,最大限度地开通冠状动脉血流。将 over-the-wire 球囊导管置于梗死相关动脉。除首例采用球囊扩张并封堵梗死区冠状动脉近段外,其余病例球囊均未进行扩张。将球囊远端分别置于靶血管的近、中、远端,每个部位注射干细胞悬液约 5ml,总量约 15ml。

1.4 安全性评价和患者的随访 术前与术后观察 G-CSF 动员相关的骨痛、低钙、栓塞、心绞痛、心力衰竭、低血压和心律失常等表现;血常规;心肌酶、肌钙蛋白;心电图、24h 动态心电图、超声心动图和 6min 步行试验(6 minute walk test, 6MWT)距离。所有患者随访至术后 6 个月并检测超声心动图、动态心电图和 6MWT 等。

1.5 心功能和心肌灌注评估 术前、术后 6 个月查 6MWT,超声心动图及单光子发射型计算机断层扫描(single photon emission computed tomography, SPECT),计算 LVEF 和左室容积。根据 NYHA 标准确定患者心功能级别。SPECT 采用^{99m}Tc-MIBI 药盒(江苏原子医学研究所江原制药厂)。扫描前停用血管紧张素转换酶抑制剂、 β -受体阻滞剂、硝酸酯类药物 24h 以上。在静脉注射^{99m}Tc-MIBI 20mCi 1h 后行心肌断层扫描。探头从 RAO45° 到 LPO45°,共采集 180°,每 6° 采一帧,每帧 30s。Hanning 滤波后行图像重建水平长轴、垂直长轴、短轴及极坐标靶心图,以极坐标靶心图定量分析法分析,各极坐标靶心图行归一化处理。

1.6 统计学分析 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料采用 t 检验,非原始数据采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。所有统计学处理均在 SPSS10.0、Excel 2003 软件中完成。

表 1 两组患者一般特征比较[例数(%)]

组别	年龄 (岁)	女性	高血压病	糖尿病或 糖耐量异常	心功能≥Ⅱ级	肌酐 ≥170μmol/L	
老年组(13例)	66.85±4.58	2(15.4%)	7(53.8%)	8(61.5%)	13(100%)	2(15.4%)	
非老年组(12例)	52.08±5.07*	1(8.3%)	7(58.3%)	4(33.3%)	12(100%)	1(8.3%)	
组别	冠脉重度钙化	慢性阻塞性肺病	高脂血症	心肌梗死	吸烟	广泛前壁心梗	
老年组(13例)	8(61.5%)	3(23.1%)	9(69.2%)	13(100%)	7(53.8%)	8(61.5%)	
非老年组(12例)	5(41.7%)	1(8.3%)	7(58.3%)	12(100%)	8(66.7%)	7(58.3%)	
组别	广泛前壁合并		冠状动脉病变				
	高侧壁心梗	并下壁心梗	单支病变	双支病变	三支病变	左主干病变	完全血运重建
老年组(13例)	3(23.1%)	2(15.4%)	7(53.8%)	3(23.1%)	3(23.1%)	0(0%)	10(76.9%)
非老年组(12例)	2(16.7%)	3(25%)	8(77.8%)	3(25%)	1(8.3%)	0(0%)	10(83.3%)

注:两组比较,* $P < 0.05$

2 结果

2.1 患者的基本临床特征 正如表 1 所示,除平均年龄外,两组患者术前的病史、合并疾病、心功能、梗死范围及冠状动脉病变等均无显著差异。

2.2 心功能和心肌灌注 超声心动图评估,术后 2 组左室舒张末期期内径显著缩小,LVEF 明显提高(图 1,表 2)。

SPECT 评估,术后心肌灌注缺损范围显著缩小(图 2)。

表 2 2 组 PBSC 移植前后心功能对比($\bar{x} \pm s$)

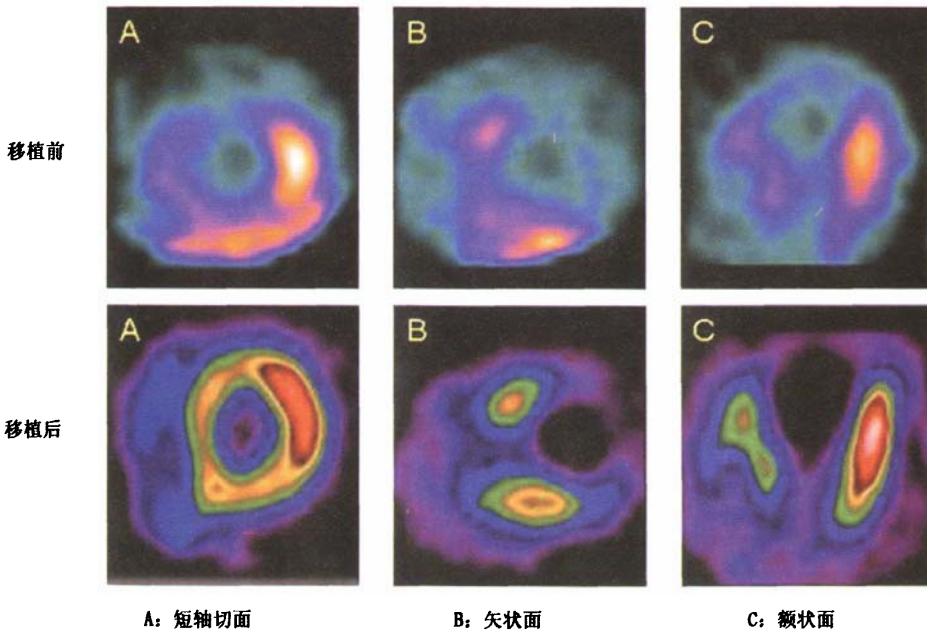
组别	左室舒张末期 期内径(mm)	左室射血 分数(%)	6min 步行 距离(m)
老年组			
移植前	61.92±7.06	41.85±4.54	220.46±22.32
移植后 6 个月	56.30±5.39*	45.31±3.28*	280.85±44.39*
非老年组			
移植前	59.83±6.51	39.83±4.17	217.42±21.33
移植后 6 个月	54.92±6.64*	44.17±4.19*	289.58±50.06*

注:与术前相比较,* $P<0.05$ 。老年组与非老年组术前术后变化对比,舒张末期期内径($P>0.05$),左室射血分数($P>0.05$),6min 步行距离($P>0.05$),均无统计学意义



左心室内径缩小,室壁运动幅度增强

图 1 PBSC 移植前后超声心动图对比



患者移植后侧壁、前壁、下壁、间隔心肌灌注较前明显改善

图 2 PBSC 移植前后 ^{99m}Tc -MIBI 心肌灌注显像

2.3 临床过程 and 安全性评价 随访期间无死亡病例发生,1例老年患者因肺部感染诱发心力衰竭再次住院。老年组6人改善1级,5人改善2级,2人改善3级;非老年组6人改善1级,3人改善2级,3人改善3级。术后的老年组与非老年组6MWT均较术前显著增加(表2),但两组的变化绝对值分别为 (60.38 ± 46.92) m与 (72.17 ± 54.11) m($P=0.566$),无显著性差异。动员时发生骨痛1例,感乏力1例,1例采集结束时发生室性加速性自主心律,低血压,大汗淋漓,未进一步行回输,另1例在 over-the-wire 球囊扩张、回输过程中发生急性肺水肿、严重心动过缓、阿-斯综合征,经及时停止回输,对症治疗后好转。术后肌钙蛋白均为阴性,心肌酶谱正常。术后动态心电图检查结果示,3例患者室性早搏较前减少;无新的心律失常发生。其他患者均无不良反应。

3 讨论

过去十年,虽然在药物、介入和搭桥手术治疗心肌梗死方面取得了较大的进展,但是心肌梗死后引起的心力衰竭仍是影响患者远期预后的主要问题。为了更有效地治疗老年心肌梗死后并泵衰竭的患者,众多学者都将目光投向了较有前景的生物治疗方法——自体干细胞移植。

尽管对干细胞在心肌组织中的再生及干细胞的生物学表现仍有较大争议^[1],许多机制仍然不清楚,但多种干细胞可用于心肌修复,改善心力衰竭症状已为众多学者所接受^[2]。自体干细胞移植因避免免疫排斥、伦理等问题而有着独特的优势。在自体干细胞系列中目前研究较多的主要是骨髓间质干细胞和PBSC。PBSC采集方便,不必抽吸骨髓,痛苦少,1次采集可供多次回输;G-CSF还具有促进单核细胞浸润、活化金属基质蛋白酶,抑制心肌细胞凋亡等干细胞以外的作用。Steve等^[3]于2007年研究表明,G-CSF动员PBSC治疗猪心肌梗死后心力衰竭,不但能抑制心室重构,增强心功能,而且在梗死区能发现心肌特异性表达基因及蛋白如GATA-4、NKX2.5等。Peter等^[4]发现G-CSF动员组与对照组相比能提高鼠射血分数,但在局部梗死区几乎没有组织学方面的改变。Valgimigli等^[5]通过对ST段抬高的心肌梗死患者的临床研究证实,应用G-CSF可以加强骨髓干细胞的动员,且不会引起任何临床和血管造影术中的不良事件,并能够使血液中 $CD34^{+}$ 和 $CD34^{+}AC133^{+}VEGFR2^{+}$ 细胞明显增

多。

本研究在药物治疗基础上加用经G-CSF动员后的自体PBSC冠脉内移植治疗老年组与非老年组心力衰竭患者,术后6个月,两组患者心功能均有不同程度提高,并且两组心功能变化对比,统计学无明显差异;另外,经心肌断层扫描检测表明,术后6个月两组患者心肌灌注缺损面积均明显缩小。说明干细胞移植不仅适用于非老年心肌梗死,同样也适用于治疗老年心肌梗死后心力衰竭患者。虽然干细胞移植改善心功能的机制还不清楚,但许多学者推测可能与下列因素相关:干细胞在体内心脏微环境中分化为心肌细胞和血管内皮细胞,促进心肌细胞再生和局部血管形成,防止心室重构,改善心功能;另外,干细胞具有自分泌与旁分泌功能,可以分泌血管内皮生长因子、心脏成纤维生长因子、白介素和肿瘤坏死因子等细胞因子以及心脏保护因子等物质^[6],从而增强心肌收缩能力,阻止心肌细胞肥大;抑制细胞外基质的合成和减少胶原沉积^[7]等。

自体干细胞移植安全性是人们关注的焦点之一。有报道^[8]认为G-CSF动员PBSC治疗心肌梗死患者,其引起支架内再狭窄与对照组相比有明显差异。另有报道^[9]冠脉内移植PBSC与对照组相比心功能明显提高且并发症较少,安全、可行。本研究两组患者在动员时发生骨痛1例,感乏力1例。采集时1例发生急性心力衰竭,对症治疗后好转。考虑原因为采集时间过长、远距离搬动患者所致。另1例在 over-the-wire 球囊扩张过程中发生急性肺水肿、严重心动过缓、阿-斯综合征,经及时停止回输,复苏抢救成功。其原因可能是球囊封堵引起严重冠脉痉挛或黏稠的干细胞悬液注入冠脉内造成冠状动脉栓塞所致。为降低并发症,此后病例未采用球囊扩张,采取每个部位缓慢注射3~5ml干细胞悬液,然后以肝素水推注加以血液稀释降低血黏滞度均相当安全。也有报道^[10]采用球囊封堵或不封堵,两组移植效果相当。笔者认为采取多个部位分次注射可以更大范围增加干细胞的心肌浸润。而对非闭塞病变短暂封堵,很可能导致封堵下游部位的心肌急性缺血、损伤,甚至严重心律失常。目前为止,冠脉移植组有13例患者作了冠状动脉造影随访,未发现支架内再狭窄或冠状动脉其他部位狭窄。术后动态心电图随访也未见新的心律失常发生。

本研究表明对老年心肌梗死后心力衰竭患者,在常规药物治疗基础上,进行冠状动脉支架植入及外周血干细胞移植同样能够有效改善心功能,提高

生活质量,且安全可行。

总之,干细胞治疗缺血性心脏病尚处于探索阶段,其临床疗效已为较多学者所接受,但还有些问题尚需解决,诸如在临床上,移植细胞类型、数目,移植时间、次数及移植后心功能评价尚无统一标准;移植后远期效果、是否会导致再狭窄、心律失常,甚至肿瘤也需要进一步观察。基础方面,对于干细胞的生物学特征,细胞的分离、纯化、诱导分化等方面仍需要深入研究。

参考文献

- [1] Edward TH, Sui Z, Henry D, et al. Transdifferentiation of human peripheral blood CD34⁺ enriched cell population into cardiomyocytes, endothelial cells, and smooth muscle cells *in vivo*. *Circulation*, 2003, 108: 2070-2073.
- [2] Wollert KC, Meyer GP, Lota J, et al. Intracoronary autologous bone marrow cell transfer after myocardial infarction; the BOOST randomized controlled clinical trial. *Lancet*, 2004, 364: 141-148.
- [3] Steve SL, Tasneem ZN, James F, et al. The effect of granulocyte colony stimulating factor on regional and global myocardial function in the porcine infarct model. *Int J Cardiol*, 2007, 116: 225-230.
- [4] Peter K, Slater NJ, Du XJ, et al. Granulocyte colony-stimulating factor and stem cell factor improve endogenous repair after myocardial infarction. *Cardiovasc Res*, 2006, 70: 117-125.
- [5] Valgimigli M, Rigolin GM, Cittanti C, et al. Use of granulocyte-colony stimulating factor during acute myocardial infarction to enhance bone marrow stem cell mobilization in humans. *Eur Heart*, 2005, 26: 1838-1845.
- [6] Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, et al. Improvement of collateral perfusion and regional function by implantation of peripheral blood mononuclear cells into ischemic hibernating myocardium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, 22: 1804-1810.
- [7] Zhang SH, Guo JX, Zhang P, et al. Long-term effects of bone marrow mononuclear cell transplantation on left ventricular function and remodeling in rats. *Life Sci*, 2004, 74: 2853-2864.
- [8] Kang HJ, Kim HS, Zhang SY. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction; the MAGIC cell randomized clinical trial. *Lancet*, 2004, 363: 751-756.
- [9] Li ZQ, Zhang M, Jing YZ, et al. The clinical study of autologous peripheral blood stem cell transplantation by intracoronary infusion in patients with acute myocardial infarction (AMI). *Int J Cardiol*, 2007, 115: 52-56.
- [10] Gao LR, Wang ZG, Zhu ZM, et al. Effect of intracoronary transplantation of autologous bone marrow-derived mononuclear cells on outcomes of patients with refractory chronic heart failure secondary to ischemic cardiomyopathy. *Am J Cardiol*, 2006, 98: 597-602.

(上接第 419 页)

糖尿病患者血管病变严重,累及的冠状动脉数目亦明显增多。早期发现病变,严格控制危险因素,进行积极的血管重建具有重要意义。双源 64 排螺旋 CTCA 对检出冠状动脉狭窄有较高的准确性,作为一种无创性检查方法,是临床评价冠状动脉病变的重要手段。

参考文献

- [1] Cariou B, Bonnevie L, Mayaudon H, et al. Angiographic characteristics of coronary artery disease in diabetic patients compared with matched non-diabetic subjects. *Diabetes Nutr Metab*, 2000, 13: 134 - 141.
- [2] Johansen OE, Birkeland KI. Preventing macrovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiovasc Drugs*, 2003, 3: 283.
- [3] Low LP. Diabetes and cardiovascular disease. *Med Prog*, 1996, 27: 8211.
- [4] Seibaek M, Sloth C, Vallebo L, et al. Glucose tolerance status and severity of coronary artery disease in men referred to coronary arteriography. *Am Heart J*, 1997, 133: 622-629.
- [5] Nieman K, Cademartiri F, Lemos PA, et al. Reliable noninvasive coronary angiography with fast submillimeter multislice spiral computed tomography. *Circulation*, 2002, 106: 2051-2054.