

· 综述 ·

## 干细胞在心肌再生中的研究进展

瞿海龙<sup>1</sup>, 麻晓静<sup>2</sup>, 张冰<sup>1</sup>, 梁璐<sup>1</sup>

(1.河北大学附属医院 急诊科, 河北 保定 071000; 2.保定市南市区妇幼医院, 河北 保定 071000)

**摘要:** 在中国, 心肌梗死、心衰等疾病的发病率正逐年上升, 而传统的以药物、介入、手术为主的治疗手段只能改善心脏的血液供应, 对坏死心肌无再生修复功能。动物及临床实验证实, 干细胞可再生心肌, 具有减少梗死面积、提高射血分数的作用。现就可再生心肌干细胞作一综述。

**关键词:** 干细胞; 心肌梗死; 心肌再生

**中图分类号:** R542.2

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1674-490X(2011)04-0061-05

目前自体干细胞移植治疗心脏疾患已进入临床试验阶段, 最初认为此类细胞可再生心肌, 修复受损心脏组织, 进而可改善患者近期及长期预后。然而, 尚无一临床试验证明干细胞移植后有明显的心肌再生作用, 其取得的临床效益多源于干细胞的旁分泌效应。因此, 寻找一种更佳的细胞资源已成为干细胞研究热点, 现就可再生心肌细胞综述如下。

### 1 造血干细胞和间充质干细胞

在体外, 此类细胞可被诱导为具有典型肌节样结构细胞, 能够表达心房利钠肽 (atrial natriuretic peptide, ANP)、脑利钠肽 (brain natriuretic peptide, BNP)、肌球蛋白重链及轻链、 $\alpha$ -肌动蛋白<sup>[1-2]</sup>, 可产生窦房结样和心室肌样动作电位。将这些细胞注射到梗死心肌中, 可向心肌细胞分化, 并与宿主心肌产生电机械偶联<sup>[3-4]</sup>。在心肌梗死动物模型中, 移植内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPCs) 和间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 能够促进局部室壁运动和防止心室重构<sup>[5]</sup>。将外周血单个核干细胞移植到梗死心肌中, 可通过分泌血管形成因子而促进侧支循环建立、提高缺血顿抑心肌功能<sup>[6]</sup>。在一项猪的心肌梗死模型中, 将MSCs经静脉途径迅速移植到梗死心肌, 可提高左室射血分数, 抑制非梗死心肌增厚, 限制心室重构<sup>[7]</sup>。

在临床试验中, 经冠脉途径移植自体骨髓干细胞治疗心肌梗死, 取得了明显的临床疗效。Meta分析表明, 射血分数平均绝对提高3%~4%<sup>[8]</sup>, 对于那些射血分数低、干细胞移植时间在梗死5d以后的患者, 临床疗效更明显, 射血分数平均提高5.1%<sup>[9]</sup>。一些随机试验表明, 骨髓干细胞移植后的终点事件, 如死亡、再梗死等, 在12个月内明显减少<sup>[6]</sup>。一项非随机试验进行了5年追踪, 表明干细胞移植后可降低病死率, 减少梗死面积, 提高心肌灌注和全心功能<sup>[10]</sup>。

### 2 心肌干细胞

心肌干细胞 (cardiac stem cells, CSCs) 是一类存在于心肌组织中、c-kit阳性的干细胞, 具有自我更

收稿日期: 2011-02-24

作者简介: 瞿海龙(1976—), 男, 河北涿水人, 主治医师, 硕士。E-mail: hailongju1976@sohu.com

新、自我增殖特性,能够向心肌细胞及血管细胞分化,表达心肌特异性标志肌球蛋白重链、NKx2.5、肌钙蛋白I,血管细胞的VWF因子和间充质干细胞的CD<sub>105</sub>及CD<sub>90</sub>。

CSCs目前多通过免疫磁珠的方法,应用c-kit抗原抗体反应而获取。CSCs的优势在于此类细胞为自体细胞且能够向心肌细胞分化,不存在自身免疫反应。Urbanek等<sup>[11]</sup>通过心肌活检的方法获取患者的心肌干细胞,在体外进行培养扩增,并将其注射到啮齿类动物梗死心肌中,发现在心肌组织内有嵌合体形成,其内有心肌细胞、冠状阻力动脉和毛细血管。其他研究也表明,心肌干细胞能够形成新生血管和具有心肌特征的心肌细胞,移植到梗死心肌中,可促进局部室壁运动和减少梗死面积<sup>[12]</sup>。

### 3 骨骼肌成肌细胞

与骨髓干细胞相比,骨骼肌成肌细胞具有两个显著特点,其更容易在宿主梗死心肌中存活,在体内更具有再生能力。在适宜的培养环境下,成肌细胞能够分化成“心肌样”细胞,细胞间可通过闰盘样结构相连接。在成肌细胞移植的动物梗死模型中,组织切片可发现兼有骨骼肌和心肌细胞特征的狭长类细胞,此类细胞具有提高心功能和减少梗死面积的作用。然而,骨骼肌成肌细胞的电生理特性不同于心肌细胞,且其不能够合成缝隙连接蛋白,使其临床应用受到限制。

在I期临床试验中,10例心肌梗死致心力衰竭患者接受心脏搭桥手术后,将自体骨骼肌成肌细胞直接注射到梗死心肌内,其中9例存活,4例患者在随后的(10.9±5)个月内出现持续性室速,行植入式除颤器治疗。10例患者经超声心动图检查显示,射血分数明显提高,心功能得到改善。1例患者在18个月后发现死亡,尸解显示植入骨骼肌成肌细胞与存活心肌细胞融合良好,心肌纤维化受到抑制<sup>[13]</sup>。

骨骼肌成肌细胞具有便于提取和高度耐受缺血的生物学特性,临床试验证明,此类细胞能够存活于受损心肌,提高心功能和射血分数。然而其在心肌内形成岛样结构,导致室性心律失常的发生,限制了其在临床上的进一步应用。

### 4 心肌球样衍生干细胞

心肌球样衍生干细胞(cardiosphere-derived stem cells, CDCs)的提取方法不同于CSCs,其获取途径是将心肌组织直接培养,在其发展成为多细胞、球结构的细胞集团时会表现出原始的心脏组织特性,向心肌细胞、平滑肌及血管细胞分化。将人的CDCs注射到梗死大鼠或猪的心肌组织内,与对照组相比, CDCs移植组有更多的新生心肌细胞,射血分数明显提高<sup>[14-15]</sup>。

2009年,洛杉矶一家医院首先开始应用CDCs进行临床试验<sup>[16]</sup>。该实验通过心肌活检提取标本体外培养,在4~6周后经冠脉途径移植到心肌组织,应用磁共振的方法检测CDCs在3、6、12个月的存活状况及其功能,目前尚无临床结果报道。

### 5 人胚胎干细胞衍生的心肌细胞

人胚胎干细胞(human embryonic stem cells, hESC)具有无限增殖和定向分化的特点,体外培养可分化为心肌细胞。将内胚层细胞置于细胞悬液内进行培养,可见有节律收缩区域出现,从收缩区域内提取的细胞表达心肌转录因子和心肌特定基因,能够产生动作电位。

将hESC进行骨形态蛋白2和纤维生长因子受体预处理以后,移植到大鼠的梗死心肌内,可见早期阶

段的心肌组织形成, 未见畸胎瘤的形成<sup>[17]</sup>。在猪的动物模型中造成完全房室传导阻滞, 将胚胎干细胞移植到心室内, 能够起到生物起搏点的作用, 驱动心脏的电活动<sup>[18]</sup>。在另一动物模型中, 将hESC诱导为CD<sub>133</sub>阳性的内皮祖细胞, 并转染血管内皮生长因子腺病毒, 移植到梗死心肌内, 发现在梗死区域新生血管增加, 心脏射血分数明显提高<sup>[19]</sup>。

## 6 诱导多潜能性干细胞

诱导多潜能性干细胞 (induced pluripotent cells, iPS) 是通过在分化的体细胞中表达特定的几个转录因子, 以诱导体细胞的重编程而获得的可不断自我更新且具有多向分化潜能的细胞。由于iPS即无免疫排斥, 又不涉及伦理道德问题, 因此具有广泛且重要的临床应用价值。Takahashi等<sup>[20]</sup>从大鼠和人的表皮提取成纤维细胞, 并对其转染OCT3/4、SOX2、Klf4、c-myc 基因。这些基因活化后, 抑制细胞分化, 促进去分化, 而形成iPS细胞。此类细胞在形态上类似于胚胎干细胞, 表达端粒酶和特征性的细胞标志, 具有正常的核型, 能够分化为胚胎体和畸胎瘤。

诱导多潜能性心肌干细胞能够向窦房结、心房肌、心室肌细胞分化, 产生动作电位。 $\beta$ -肾上腺素受体激动剂可促进此类细胞的自发搏动频率, 加快动作电位持程<sup>[21]</sup>。将其置于含有血管内皮生长因子的培养基中, 能够分化为内皮细胞。与心肌细胞共培养时, 可分化为具有收缩功能的心肌细胞,  $\alpha$ -受体激动剂能够加快其收缩, 并增强其收缩力。将iPS细胞通过心肌内注射移植到梗死动物模型中, 与对照组相比, 具有提高心功能, 抑制心室重构的作用<sup>[22]</sup>。iPS细胞移植到心脏后, 能够促进心肌细胞、平滑肌细胞、内皮细胞再生, 提高心室收缩功能, 抑制室壁重构。

iPS细胞具有可自身获取和数量丰富的特点, 因此在治疗心脏疾患中具有独特优势。该类细胞分化的内皮细胞和平滑肌细胞, 是心肌再生的必要条件。然而, iPS细胞在体内具有形成畸胎瘤的风险, 使其临床应用受到限制。

## 7 提高干细胞存活与增殖的策略

尽管干细胞移植治疗心脏疾患已进入临床阶段, 但仍存在许多问题。如干细胞移植后, 1周时仅有小部分细胞可在梗死心肌内发现, 到1个月时几乎看不到移植细胞。因此提高细胞在体内的存活与增殖, 也日益倍受关注。

目前为提高干细胞的存活与增殖多采取以下两种办法: (1) 对干细胞进行预处理和基因转染。为了提高干细胞在梗死心肌内的存活, 抵抗局部的炎症反应, 在干细胞移植前, 可行抗凋亡因子的预处理。例如, 经基质细胞衍生因子1 (stromal cell-derived factor 1, SDF-1) 处理后, 可明显提高干细胞在缺血环境中的存活。有研究显示, 将SDF-1预处理的MSCs移植到大鼠梗死心肌中, 可抑制MSCs的凋亡, 促进新生血管形成, 明显提高心功能<sup>[23]</sup>。(2) 对MSCs缺氧预处理。在MSCs培养时, 将其置于缺氧环境中, 可提高促存活因子和促血管生成因子的表达 (如低氧诱导因子-1、血管形成因子-1、血管内皮生长因子等)。将缺氧预处理的MSCs移植到大鼠梗死模型的心肌中, 细胞的死亡率明显减少, 在6周时仍有大量细胞存活, 可减少心肌梗死面积, 提高心功能<sup>[24]</sup>。

干细胞经重组基因转染后能够编码抗凋亡因子, 促进细胞存活。其产生的血管生成因子可促进新生血管形成, 促生长因子可促进细胞增殖。干细胞经胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1) 转染后, 能够激活促存活基因Akt、Bcl-XL、SDF-1等的表达, 促进干细胞的存活, 加速干细胞

向心肌细胞方向分化。在大鼠动物模型中,将转染IGF-1的MSCs移植到梗死心肌内,可促进局部SDF-1高于正常20倍的表达,移植细胞存活数量、射血分数及短轴缩短速率显著提高,心肌梗死面积明显减少。免疫组化显示,干细胞的心肌肌球蛋白重链、肌动蛋白、连接蛋白-43、Ⅷ因子明显表达<sup>[25]</sup>。

干细胞再生心肌治疗心脏疾患,远比最初想象的复杂,如何提高移植后干细胞的存活,促使其在宿主体内长期生存并增殖,将是今后干细胞研究的重点。

#### 参考文献:

- [1] HAKUNO D, FUKUDA K, MAKINO S, et al. Bone marrow-derived regenerated cardiomyocytes (CMG Cells) express functional adrenergic and muscarinic receptors[J]. *Circulation*, 2002, 105(3): 380-386.
- [2] STRAUER B E, OTT G, SCHANNWELL C M, et al. Bone marrow cells to improve ventricular function[J]. *Heart*, 2009, 95(2): 98-99.
- [3] ORLIC D, KAJSTURA J, CHIMENTI S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium[J]. *Nature*, 2001, 410(6829): 701-705.
- [4] GAETANI R, LEDDA M, BARILE L, et al. Differentiation of human adult cardiac stem cells exposed to extremely low-frequency electromagnetic fields[J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 82(3): 411-420.
- [5] ZHANG Xin, WEI Meng, ZHU Wei, et al. Combined transplantation of endothelial progenitor cells and mesenchymal stem cells into a rat model of isoproterenol-induced myocardial injury[J]. *Arch Cardio-vasc Dis*, 2008, 101(5): 333-342.
- [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[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, 22(11): 1804-1810.
- [7] PRICE M J, CHOU C C, FRANTZEN M, et al. Intravenous mesenchymal stem cell therapy early after reperfused acute myocardial infarction improves left ventricular function and alters electrophysiologic properties[J]. *Int J Cardiol*, 2006, 111(2): 231-239.
- [8] MARTIN-RENDON E, BRUNSKILL S J, HYDE C J, et al. Autologous bone marrow stem cells to treat acute myocardial infarction: a systematic review[J]. *Eur Heart J*, 2008, 29(15): 1807-1818.
- [9] DREXLER H, MEYER G P, WOLLERT K C. Bone-marrow-derived cell transfer after ST-elevation myocardial infarction: lessons from the BOOST trial[J]. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, 2006, 3(suppl 1): S65-S68.
- [10] YOUSEF M, SCHANNWELL C M, KOSTERING M, et al. The BALANCE Study: clinical benefit and long-term outcome after intracoronary autologous bone marrow cell transplantation in patients with acute myocardial infarction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 53(24): 2262-2269.
- [11] URBANEK K, TORELLA D, SHEIKH F, et al. Myocardial regeneration by activation of multipotent cardiac stem cells in ischemic heart failure[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(24): 8692-8697.
- [12] DAWN B, STEIN A B, URBANEK K, et al. Cardiac stem cells delivered intravascularly traverse the vessel barrier, regenerate infarcted myocardium, and improve cardiac function[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(10): 3766-3771.
- [13] MENASCHE P, HAGEGE A A, SCORSIN M, et al. Myoblast transplantation for heart failure[J]. *Lancet*, 2001, 357(9252): 279-280.
- [14] JOHNSTON P V, SASANO T, MILLS K, et al. Engraftment, differentiation, and functional benefits of autologous cardiosphere-derived cells in porcine ischemic cardiomyopathy[J]. *Circulation*, 2009, 120(12): 1075-1083.
- [15] CHIMENTI I, SMITH R R, LI T S, et al. Relative roles of direct regeneration versus paracrine effects of human cardiosphere-derived cells transplanted into infarcted mice[J]. *Circ Res*, 2010, 106(5): 971-980.
- [16] DAVIS D R, ZHANG Yiqiang, SMITH R R, et al. Validation of the cardiosphere method to culture cardiac progenitor cells from myocardial tissue[J]. *PLoS One*, 2009, 4(9): e7195.
- [17] TOMESCOT A, LESCHIK J, BELLAMY V, et al. Differentiation in vivo of cardiac committed human embryonic stem cells in postmyocardial infarcted rats[J]. *Stem Cells*, 2007, 25(9): 2200-2205.
- [18] KEHAT I, KHIMOVICH L, CASPI O, et al. Electromechanical integration of cardiomyocytes derived from human embryonic stem

- cells[J]. *Nat Biotechnol*, 2004, 22(10): 1282-1289.
- [19] RUFATHAH A J, HAIDER H K, HENG B C, et al. Therapeutic angiogenesis by transplantation of human embryonic stem cell-derived CD133<sup>+</sup> endothelial progenitor cells for cardiac repair[J]. *Regen Med*, 2010, 5(2): 231-244.
- [20] TAKAHASHI K, YAMANAKA S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors[J]. *Cell*, 2006, 126(4): 663-676.
- [21] ZHANG Jianhua, WILSON G F, SOERENS A G, et al. Functional cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells[J]. *Circ Res*, 2009, 104(4): e30-e41.
- [22] LENGNER C J. iPS cell technology in regenerative medicine[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1192(4): 38-44.
- [23] PASHA Z, WANG Y, SHEIKH R, et al. Preconditioning enhances cell survival and differentiation of stem cells during transplantation in infarcted myocardium[J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 77(1): 134-142.
- [24] HU Xinyang, YU Shanping, FRASER J L, et al. Transplantation of hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells improves infarcted heart function via enhanced survival of implanted cells and angiogenesis[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2008, 135(4): 799-808.
- [25] HAIDER H, JIANG S, IDRIS N M, et al. IGF-1-overexpressing mesenchymal stem cells accelerate bone marrow stem cell mobilization via paracrine activation of SDF-1 alpha/CXCR4 signaling to promote myocardial repair[J]. *Circ Res*, 2008, 103(11): 1300-1308.

(上接第60页)

**2.3.7 健康宣教(病情平稳至出院)** 病情进入平稳期后,可以给患者及家属讲解破伤风预防的相关知识,如伤口的正确处理及肌肉注射破伤风抗毒素的重要性。

**2.3.8 出院指导(出院日)** 破伤风平均住院日为45d。有大部分患者考虑经济的因素而提前出院,出院指导尤为重要。患者要安静休息,继续服用镇静类药物,每月回医院复查肝、肾功能。建议接种破伤风类毒素。

### 3 体 会

建立临床护理路径使护士熟知重型破伤风接诊程序,能够在第一时间对患者实施迅速、有效的救治。临床护理路径的实施,使患者肺部感染发生率明显下降,提高了患者的生存率,缩短了住院时间,促进了护理质量的提高。

#### 参考文献:

- [1] 马香玉,康东红. 3例重症破伤风患者救治成功的护理[J]. *宁夏医科大学学报*, 2009, 31(4): 555-556.
- [2] 陈灏珠,林果为. *实用内科学*[M]. 13版. 北京:人民卫生出版社, 2009: 650.
- [3] 汪建初,浦润,马燕飞,等. 成人重症破伤风45例治疗方法的探讨[J]. *右江医学*, 2009, 37(1): 26-27.
- [4] 常颖. 破伤风18例的护理[J]. *中国误诊学杂志*, 2009, 9(23): 5726-5727.
- [5] 孙秀玲. 88例成人破伤风的临床护理[J]. *护理实践与研究*, 2009, 6(16): 66-67.

(本栏目责任编辑:刘俊华)