

干细胞对急性心肌梗死后心肌修复的研究进展

瞿海龙¹, 边剑飞¹, 周英莲¹, 麻晓静², 彭广军¹

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

摘要: 目前对于急性心肌梗死的治疗, 主要采用药物溶栓、冠脉介入和心脏搭桥手术等方法, 开通闭塞血管, 恢复心肌再灌注, 进而改善心肌缺血挽救濒死心肌。然而这些方法对已坏死心肌却无再生作用, 最终导致缺血性心肌病的发生。最初研究显示, 干细胞具有再生心肌、提高左室功能的作用, 为实现心肌的有效再生带来曙光。然而随着研究的深入, 干细胞的心肌再生只在动物模型中被发现, 且数量极少。从临床角度来看, 干细胞移植后有多种因素促进了心功能的恢复, 因此心肌再生的概念已被心肌修复所替代。现就干细胞对心肌的修复作用作一综述。

关键词: 干细胞; 心肌梗死; 再生; 修复; 组织工程

中图分类号: R542.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-490X(2012)06-0060-05

Stem cells for cardiac repair in acute myocardial infarction

JU Hailong¹, BIAN Jianfei¹, ZHOU Yinglian¹, MA Xiaojing², PENG Guangjun¹

(1. Emergency Department, Affiliated Hospital of Hebei University, Baoding 071000, China; 2. Woman and Child Care Service Centre of Baoding Southern District, Baoding 071000, China)

Abstract: For the therapy of acute myocardial infarction, the main methods are pharmacological thrombolysis, percutaneous coronary intervention and cardiac bypass operation, opening the occluded vessel, recovery of myocardial reperfusion, further improving myocardial blood supply and saving dying myocardium. But all the methods can not generate new myocardiums, eventually lead to the occurrence of ischemic cardiomyopathy. Initial studies show stem cells could regenerate lost cardiomyocytes and improve left ventricular function, for realizing the effective myocardial regeneration brings hope. However, with the development of the research, the evidence for true generation of new myocardium is confined to the experimental models, and the number is very few. In the clinical perspective, myocardial regeneration has been replaced by myocardial repair, as other mechanisms seem to be involved heart function recovery. In this review, we will focus on stem cells for cardiac repair.

Key words: stem cells; myocardial infarction; regeneration; repair; tissue engineering

在过去的几十年中, 急性心肌梗死的药物治疗取得了显著进展^[1-2], 如急性溶栓剂、双重抗血小板剂、 β -受体阻断剂、他汀类和ACEI类药物的应用, 提高了急性冠脉综合症患者的生存率。然而其后期并发症如缺血性心肌病的发病率较过去明显增加。对于严重心衰的患者, 药物治疗已无明显疗效。因此

收稿日期: 2012-02-21

作者简介: 瞿海龙(1976—), 男, 河北涿水人, 主治医师, 硕士, 主要从事急救医学研究。E-mail: hailongju1976@sohu.com

如何实现心肌组织再生、修复受损心功能成为研究重点。动物实验和临床实践中显示，干细胞具有修复受损心肌、提高心功能的作用，现就其应用综述如下。

1 心肌干细胞的再生作用

传统观点认为，心脏是终末分化器官，心肌细胞属于不可再生细胞。然而近期有研究显示，在心肌组织内存在一种心肌干细胞，此类细胞具有活跃的增殖能力。Bergmann等^[3]通过把¹⁴C整合到心肌细胞DNA中以测定心肌细胞的年龄，发现不少于50%的心肌细胞在一个正常生命周期内出现了¹⁴C的交换，证实人类心肌细胞具有自我更新能力。Kajstura等^[4]应用组织化学染色的方法检测心肌细胞分裂蛋白Ki67和磷酸化组蛋白H3，发现人类心肌细胞具有凋亡率和更新率。尽管这些研究显示心肌细胞具有持续的更新能力，然而临床实践显示心肌细胞的这种内在再生能力，并不能够有效补充大面积心肌梗死造成的心肌细胞丢失。梗死后心肌细胞不能实现有效再生，梗死区域发生炎症反应，局部形成肉芽组织，致使梗死部位最终以瘢痕组织修复。由于瘢痕组织的形成，梗死部位局部室壁张力发生改变，引起全心结构和功能变化，即导致心室重构。Bergmann与Kajstura的发现证实了在成人人心肌内存在干细胞，能够分化为心肌细胞，促进新生心肌细胞的整合，这为干细胞治疗心脏病提供了细胞生物学理论。

2 干细胞组织工程对心肌的修复作用

如何利用干细胞实现有效的心肌修复，目前已有多项实验进行了该方面的研究，其中包括：应用药物刺激心肌干细胞的动员、迁移；应用多潜能干细胞移植，如胚胎干细胞（embryonic stem cells, ESCs）、诱导多潜能干细胞（induced pluripotent stem, iPS）；应用成体干细胞，如骨骼肌成纤维细胞、骨髓干细胞进行移植；组织工程技术——采用心肌细胞、肌源细胞和细胞外基质共同构造组织块，将其直接移植到梗死区。目前用于治疗心脏疾患的药物如他汀类、ACEI和ARB，除具有降低胆固醇、减轻心脏后负荷、抑制心室重构的作用外，有研究显示，这些药物能够影响循环中干细胞的数量和功能，可促进心肌细胞的修复^[5]。然而这些药物对干细胞的影响强度尚需前瞻性随机实验的证实。

目前有多种细胞因子如红细胞生成素（erythropoietin, EPO）、成纤维细胞生长因子（fibroblast growth factor, FGF）、粒细胞集落刺激因子（granulocyte colony stimulating factor, G-CSF）、肝细胞生长因子（hepatocyte growth factor, HGF）、胰岛素样生长因子（insulin-like growth factor, IGF）、甲状旁腺激素（parathyroid hormone, PTH）、基质细胞衍生因子1（stromal cell derived factor 1, SDF-1）、血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor, VEGF）等已用于干细胞的研究。这些因子具有促进干细胞动员、归巢、抑制凋亡、促进细胞增殖和提高心脏功能的疗效。G-CSF是最早用于临床实验的细胞因子，该因子可提高循环中CD₃₄⁺细胞25%，抑制心肌细胞的凋亡。然而Meta分析显示，G-CSF对急性心肌梗死后左室射血分数无任何效益^[6]。在临床实验中证实，VEGF可促进缺血性心脏病患者的血管形成。在一项Ⅱ期临床实验中，178例稳定型心绞痛患者经静脉途径输注VEGF，60 d后与对照组相比，治疗组患者运动时间得到提高^[7]。另一项临床实验将表达VEGF的质粒经NOGA导航系统注射到心肌内，研究发现与对照组相比，治疗组局部室壁运动得到明显提高，而两组患者在心肌灌注和临床症状方面无改善^[8]。

ESCs和iPS细胞是目前能够真正实现大量心肌细胞再生的干细胞。ESCs在培养数天后能够产生自发搏动的心肌细胞，在动物实验中将这些细胞移植到心脏内，其表达心肌细胞的表型特征，可提高左室功能^[9]。然而将ESCs用于临床尚有问题需要解决，首先由于ESCs是多潜能干细胞，具有形成肿瘤的潜在风

险, 如何从ESC_s中提取心肌祖细胞, 使其定向分化仍待研究; 其次ESC_s为同种异体, 在临床应用时需服用免疫抑制剂以抑制细胞的排斥反应; 第三个问题是ESC_s的应用存在伦理学问题。最近被发现的iPS细胞能够从患者成体细胞中获得, 且具有ESC_s的表型特征, 不存在免疫排斥反应和伦理学争议。由于多潜能基因本身可能就是癌基因, 因此iPS更具有形成肿瘤的风险^[10]。

干细胞组织工程是一项复杂技术, 但是它能够为人体提供大量细胞, 实现有效的细胞移植和存活。在小型动物实验中各种干细胞移植均可取得较好疗效, 然而人体实验却令人失望, 究其原因存在多种因素, 其中心脏大小为其原因之一。成人心脏重300~350 g, 而小鼠的心脏重0.5~1.0 g, 因此人体需要干细胞的数量至少为小鼠的300倍^[11]。一项人体实验研究显示, 经冠脉途径注入自体骨髓干细胞 (bone marrow cells, BMCs) 后仅有7%的细胞存留于心肌内, 3 d后仅有2%的干细胞存留^[12]。直接心肌内注射虽可提高干细胞的存留率, 但需要通过导管或开胸手术方能实施心内膜或心外膜注射。为了提高干细胞的存活率, 避免干细胞聚集, BMCs的细胞浓度可用至 1×10^8 /mL, 而间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 只能用至 4×10^6 /mL, 因此大量干细胞应用的可行性受到质疑。尽管细胞在体外培养过程中具有自我增殖能力, 但却无充分证据表明体内移植后干细胞可进一步分裂。在预临床实验中发现, 移植到梗死区域及其梗死周边的干细胞, 其分化、转分化率非常低^[13]。心肌梗死后干细胞向梗死区域迁移, 考虑与以下因素有关: 首先梗死后局部发生炎症反应, 诱导内皮细胞活化, 促进细胞因子表达。细胞粘附因子的增加和血管通透性的提高, 有利于干细胞向病变部位的迁移和归巢。其次梗死区域微循环受损, 注入的干细胞在早期不易被血流冲走。尽管干细胞可到达梗死区域, 但由于该部位缺少氧气和营养物质的供应, 致使注入的干细胞大部分死亡。因此要实现大面积心肌梗死的有效治疗, 必须将10亿以上的干细胞连同胞外基质和有功能的微循环一起移植到梗死区域。动物实验证实将干细胞与胶原补片结合, 或将其与附有ESC来源干细胞和脂肪组织来源干细胞 (adipose-tissue derived stem cells, ADSCs) 的组织工程支架相结合, 可提高干细胞移植存活率^[14]。应用组织工程对新生大鼠心肌组织进行研究发现, 组织构架移植是安全可行的, 移植植物能够存活, 可以有效实现电的耦合, 能够提高心脏的收缩和舒张功能^[15]。

3 间充质干细胞对心肌的修复作用

MSCs是一类能够贴壁生长、体外易培养、具有多向分化潜能的干细胞, 在适宜的培养条件下, 能够向脂肪、骨、软骨、平滑肌细胞、心肌细胞方向分化^[16]。MSCs可从骨髓、脂肪、骨骼肌等多种组织中获取。与骨骼肌成肌细胞类似, MSCs体积大易粘附, 可导致血管梗阻, 因此很少经全身动脉输注。通常采用导管系统实施心内膜注射、冠脉搭桥手术时心外膜注射或经静脉输注等方法。经静脉移植的MSCs大部分滞留于肺循环内, 进入体循环的数量极少。有研究^[17]显示, MSCs在肺内能够刺激肺部的巨噬细胞分泌TSG-6, 具有促进心肌梗死部位的血管形成和抗心肌细胞凋亡效应, 能够减小心肌梗死面积, 提高左室功能。这表明MSCs并非是通过向心肌细胞转分化而促进心肌修复。Hare等^[18]经静脉途径将同种异体MSCs输注到急性心肌梗死患者体内, 53例患者随机分为大剂量MSCs治疗组、低剂量MSCs治疗组和安慰剂治疗组, 实验发现MSCs移植组是安全有效的, 其室性心律失常的发生率减低, 左室功能得到改善。同种异体MSCs能够用于人体移植, 是由于MSCs不表达MHC II类分子, 具有免疫耐受特性。

Bartunek等^[19]近期进行了一项临床实验, 将自体骨髓MSCs经导管注射到心力衰竭患者心肌内, 这些患者与对照组相比, 左室射血分数得到显著提高, 6 min步行距离明显增加。在该实验中并未发现新生心肌的形成, 表明MSCs对心功能的改善并非是通过再生心肌实现的。

4 骨髓单个核细胞对心肌的修复作用

20世纪70年代骨髓干细胞成功用于重构造血系统,治疗血液系统疾患造成的重度骨髓抑制。到90年代有研究显示,骨髓中的某些单核细胞可向肝细胞、神经元细胞、心肌细胞等方向分化。2001年Orlic等^[20]应用骨髓单核细胞(mononuclear bone marrow cells, mBMCs)治疗急性心肌梗死小鼠,发现mBMCs具有较高的心肌分化率,且小鼠心功能得到明显改善。这项里程碑式的研究引起了众多学者的兴趣,使其迅速从动物实验进入临床实践。2002年Strauer等^[21]对10例心肌梗死患者一周后抽取骨髓,采用密度梯度离心法提取mBMCs,并将其通过PCI导管注射到梗死相关血管。实验应用PCI球囊反复阻断血流3次,使干细胞有足够时间粘附于血管壁,使其进入梗死区域。该研究表明,mBMCs移植是安全可行的,能够促进缺血部位的血流供应,减小梗死面积,提高左室功能。

大规模临床实验如BOOST^[22]、REPAIR-AMI^[23]等证实,应用mBMCs在4~6个月时能够显著提高左室功能,经Meta分析显示,移植mBMCs患者左室射血分数平均提高2.99%。然而REGENT和HEBE实验并未发现mBMCs这些效益,而且有两项应用mBMCs治疗急性心梗的临床实验因其不良事件的发生而被迫中止^[24-25]。在BOOST实验中发现,患者5年后由mBMCs带来的正面效益消失。

总之,众多研究显示,干细胞在治疗急性心肌梗死、缺血性心力衰竭时,具有改善患者临床症状、提高左室功能的作用。但这些作用并非源于干细胞的心肌再生作用,而是通过其分泌多种细胞因子实现。如何实现干细胞真正意义上的心肌细胞分化,将会是今后研究的重点。

参考文献:

- [1] 武金霞,单彪,习洋,等. 蚯蚓冻干粉抗氧化作用[J]. 河北大学学报:自然科学版, 2010, 30(1): 73-77.
- [2] 张娜,郭圣荣. 双噻达莫嵌段共聚物胶束的制备及体外药物释放[J]. 河北大学学报:自然科学版, 2010, 30(6): 667-670.
- [3] BERGMANN O, BHARDWAJ R D, BERNARD S, et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans[J]. Science, 2009, 324(5923): 98-102.
- [4] KAJSTURA J, GURUSAMY N, OGOREK B, et al. Myocyte turnover in the aging human heart[J]. Circ Res, 2010, 107(11): 1374-1386.
- [5] LANDMESSER U, ENGBERDING N, BAHLMANN F H, et al. Statin-induced improvement of endothelial progenitor cell mobilization, myocardial neovascularization, left ventricular function, and survival after experimental myocardial infarction requires endothelial nitric oxide synthase[J]. Circulation, 2004, 110(14): 1933-1939.
- [6] ZOHLNHOFFER D, DIBRA A, KOPPARA T, et al. Stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor for myocardial recovery after acute myocardial infarction: a meta-analysis[J]. J Am Coll Cardiol, 2008, 51(15): 1429-1437.
- [7] HENRY T D, ANNEX B H, MCKENDALL G R, et al. The VIVA trial: vascular endothelial growth factor in ischemia for vascular angiogenesis[J]. Circulation, 2003, 107(10): 1359-1365.
- [8] KASTRUP J, JORGENSEN E, RUCK A, et al. Direct intramyocardial plasmid vascular endothelial growth factor-A165 gene therapy in patients with stable severe angina pectoris A randomized double-blind placebo-controlled study: the euroinject one trial[J]. J Am Coll Cardiol, 2005, 45(7): 982-988.
- [9] MENARD C, HAGEGE A A, AGBULUT O, et al. Transplantation of cardiac-committed mouse embryonic stem cells to infarcted sheep myocardium: a preclinical study[J]. Lancet, 2005, 366(9490): 1005-1012.
- [10] AHMED R P, ASHRAF M, BUCCINI S, et al. Cardiac tumorigenic potential of induced pluripotent stem cells in an immunocompetent host with myocardial infarction[J]. Regen Med, 2011, 6(2): 171-178.
- [11] de la GRANDMAISON G L, CLAIRAND I, DURIGON M. Organ weight in 684 adult autopsies: new tables for a caucasoid population[J]. Forensic Sci Int, 2001, 119(2): 149-154.

- [12] SCHACHINGER V, AICHER A, DOBERT N, et al. Pilot trial on determinants of progenitor cell recruitment to the infarcted human myocardium[J]. *Circulation*, 2008, 118(14): 1425–1432.
- [13] ARMINAN A, GANDIA C, GARCIA-VERDUGO J M, et al. Mesenchymal stem cells provide better results than hematopoietic precursors for the treatment of myocardial infarction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 55(20): 2244–2253.
- [14] MURRY C E, REINECKE H, PABON L M. Regeneration gaps: observations on stem cells and cardiac repair[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 47(9): 1777–1785.
- [15] BEL A, PLANAT-BERNARD V, SAITO A, et al. Composite cell sheets: a further step toward safe and effective myocardial regeneration by cardiac progenitors derived from embryonic stem cells[J]. *Circulation*, 2010, 122(11 Suppl): S118–S123.
- [16] 瞿海龙, 麻晓静, 张冰. 干细胞治疗自身免疫性疾病和心脏疾患的研究进展[J]. *医学研究与教育*, 2011, 28(2): 81–84.
- [17] LEE R H, PULIN A A, SEO M J, et al. Intravenous hMSCs improve myocardial infarction in mice because cells embolized in lung are activated to secrete the anti-inflammatory protein TSG-6[J]. *Cell Stem Cell*, 2009, 5(1): 54–63.
- [18] HARE J M, TRAVERSE J H, HENRY T D, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 54(24): 2277–2286.
- [19] BARTUNEK J, WIJNS W, DOLATABADI D, et al. C-CURE multicenter trial: lineage specified bone marrow derived cardiopoietic mesenchymal stem cells for treatment of ischemic cardiomyopathy[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2011, 57(14 Suppl 1): E200.
- [20] ORLIC D, KAJSTURA J, CHIMENTI S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium[J]. *Nature*, 2001, 410(6829): 701–705.
- [21] STRAUER B E, BREHM M, ZEUS T, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans[J]. *Circulation*, 2002, 106(15): 1913–1918.
- [22] MEYER G P, WOLLERT K C, LOTZ J, et al. Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: 5-year follow-up from the randomized-controlled BOOST trial[J]. *Eur Heart J*, 2009, 30(24): 2978–2984.
- [23] SCHACHINGER V, ERBS S, ELSASSER A, et al. Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction[J]. *N Engl J Med*, 2006, 355(12): 1210–1221.
- [24] PENICKA M, HORAK J, KOBYLKA P, et al. Intracoronary injection of autologous bone marrow-derived mononuclear cells in patients with large anterior acute myocardial infarction: a prematurely terminated randomized study[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 49(24): 2373–2374.
- [25] WOHRLE J, MERKLE N, MAILANDER V, et al. Results of intracoronary stem cell therapy after acute myocardial infarction[J]. *Am J Cardiol*, 2010, 105(6): 804–812.

(责任编辑: 刘俊华)