

干细胞治疗自身免疫性疾病和心脏疾患的研究进展

瞿海龙¹, 麻晓静², 张冰¹

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

摘要: 干细胞可分泌多种细胞因子, 参与免疫细胞间通讯信号的调节, 诱导机体对自身抗原产生免疫耐受或特异性免疫无应答, 使其成为治疗自身免疫性疾病的种子细胞。同时众多研究显示, 干细胞具有再生心肌作用和旁分泌效应, 在心肌梗死和心衰的治疗上具有独特优势。现就干细胞在自身免疫性疾病和心脏疾患的研究作一综述。

关键词: 干细胞; 自身免疫病; 心肌梗死

中图分类号: R542.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-490X(2011)02-0081-04

干细胞治疗是指应用活体干细胞修复或替代受损组织, 最早用于白血病的治疗。随着细胞生物学的进展, 其应用范围不断扩大。其中间充质干细胞具有独特的再生能力与旁分泌效应, 成为干细胞研究的热点。现就干细胞在自身免疫性疾病和心脏疾患中的应用综述如下。

1 干细胞分类

根据分化能力, 干细胞可分为全潜能干细胞、多潜能干细胞和定向干细胞。全潜能干细胞具有各向分化潜能, 能够分化为机体所需的各类细胞, 包括胚外组织。如受精卵细胞, 能够分化为胎儿各个系统形成细胞。多潜能干细胞具有多向分化潜能, 能够向内、中、外三胚层细胞分化, 但却无发育成完整个体的能力, 如造血干细胞。定向干细胞由多潜能干细胞分化而来, 能够向机体特定系统细胞分化。

干细胞按其来源可分为胚胎干细胞和成体干细胞。胚胎干细胞是在人胚胎发育早期囊胚中未分化的细胞。囊胚含有约140个细胞, 外表是滋养层, 可发育成胚胎的支持组织如胎盘等。中心的腔称囊胚腔, 腔内一侧的细胞群, 称内细胞群, 内细胞群在形成内、中、外三个胚层时开始分化。每个胚层可分别分化形成人体的各种组织和器官。成体干细胞是指存在于已分化组织中的未分化细胞, 这种细胞能够自我更新并可分化成该类型组织的细胞。成体干细胞存在于机体的各种组织器官中。成年个体组织中的成体干细胞在正常情况下大多处于休眠状态, 在病理状态或在外因诱导下可以表现出不同程度的再生和更新能力。

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs) 是成体干细胞的一种类型, 具有多向分化潜能, 能够向骨骼肌细胞、脂肪细胞、成骨细胞、软骨细胞等分化。其不同于造血干细胞, 缺乏造血干细胞表面标志物, 如CD₃₄、CD₄₅。MSCs在20世纪60年代被发现, 随后的研究证明, MSCs可归巢到受损组织, 在不同周围环境刺激下, 能够向不同细胞方向分化, 且在局部产生旁分泌效应。同时该类细胞在机体内可产生免疫耐受, 已用于自身免疫性疾病和心脏疾患的治疗。

一般来说, MSCs多源于骨髓, 然而一些资料表明, 在外周血、脐带血和脂肪组织中也可以提取到MSCs, 且其生物学特性和体内作用与骨髓MSCs类似^[1], 亦可用于实验及临床研究。

收稿日期: 2010-12-16

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

2 干细胞在自身免疫性疾病中的应用

在过去十余年里，1 000多名患有自身免疫性疾病的患者接受了不同类型的干细胞治疗，其中约30%的患者得到了长期缓解^[2]。干细胞治疗自身免疫性疾病是通过对患者采用高剂量化疗或结合全身放疗，使机体达到过度的免疫抑制或免疫去除，然后回输经体外免疫净化处理的干细胞，重建患者的免疫和造血功能。其机制可能与以下因素有关：自身免疫性疾病患者在免疫清除治疗后的免疫功能重建过程中，可以对自身抗原重新产生耐受；在免疫过程中，对自身抗原反应的细胞克隆凋亡，达到新的免疫平衡，异常免疫反应减弱，自身抗体减少，有利于组织免疫损伤的修复。最初认为，要达到病情持续缓解，需采用化疗或放疗彻底消除体内的自身免疫细胞，而最近研究表明，当干细胞移植后，机体自身免疫调节系统重新启动，使自身免疫重达平衡而使疾病缓解^[3]。

用于移植的造血干细胞多由外周血获取。环磷酰胺是最常用的骨髓动员剂，因为它对造血系统的抑制效应较弱，仅短暂杀死血中成熟细胞，因此，可以反馈地刺激机体的造血功能，促进干细胞释放到外周血。粒细胞集落刺激因子（granulocyte colony-stimulating factor，GCSF）是另一类常用的骨髓激动剂，但有文献报道，应用GCSF刺激骨髓造血后，可加重冠脉血管的狭窄程度^[4]，使其应用的临床安全性受到质疑。

到目前为止，大约有900多例患者已经接受了自体造血干细胞移植，50余例接受了异体造血干细胞移植。这些病例包括250例多发性硬化、170例系统性硬化病、80例系统性红斑狼疮、100例类风湿关节炎等。所有这些患者，仅有1/3外周血干细胞在体外实施了CD₃₄阴性选择。研究表明，系统性红斑狼疮患者约有半数在接受干细胞移植治疗后得到长期缓解，1/3的多发性硬化患者得到好转，尚未有细胞移植后不良反应报道^[5]。

MSCs在体内外具有抗增殖和抗炎症反应特性，使其成为治疗自身免疫性疾病的种子细胞。MSCs进行异体移植时，无需预处理，其在体内产生免疫耐受的机制尚未清楚。目前，MSCs治疗自身免疫性疾病，已进入Ⅰ期临床实验，包括多发性硬化、1型糖尿病和系统性红斑狼疮等的治疗^[2]。

3 干细胞在心脏疾病中的应用

传统观点认为，心肌组织属于不可再生组织。然而，在2001年，Orlic等^[6]研究表明，将骨髓干细胞注射到小鼠梗死心肌内，患病小鼠心功能较对照组明显提高。2年后，Beltrami等^[7]实验证实，心肌祖细胞能够分化成心肌细胞、内皮细胞和平滑肌细胞，将此类细胞注射到受损心脏中，可通过心肌再生提高心功能。

目前用于研究治疗心脏疾病的干细胞，主要是可再生心肌组织的胚胎干细胞和间充质干细胞。其他细胞，如心肌固有祖细胞、骨骼肌细胞、内皮祖细胞等，也日益受到关注。胚胎干细胞由于伦理学问题，限制了其在临床上的研究及应用。MSCs具有自我增殖和分化的能力，能够分化为成熟的、具有节律性收缩的心肌细胞^[8]。当MSCs经5-氮胞杂昔诱导后，可表达心肌特异基因，形成肌管样结构和润盘。MSCs用于治疗心脏疾患具有以下特点：归巢效应，当将MSCs植入机体后，能够自行迁移到受损的心肌组织；免疫耐受效应，即MSCs在机体内不会引起宿主免疫应答，能够在同种异体中更好地存活下来；可促进血管形成，缓解缺血组织的血液供应；旁分泌效应，可抑制心室重构，减少梗死面积。然而，MSCs是否具有心肌细胞的电生理特点，目前尚不清楚。

MSCs是如何到达受损心肌而产生心肌修复作用的呢？Steingen等^[9]研究表明，MSCs能够跨越内皮细胞屏障而到达心肌，主要依赖于细胞间黏附分子与内皮细胞的相互作用，如血管细胞黏附分子-1（vascular cell adhesion molecule-1，VCAM-1）和缓慢抗原-4（very late antigen-4，VLA-4）。随后有研究显示，血小板在MSCs的增殖、定向趋化、与内皮及心肌整合中起着关键作用，该过程由血小板源性碱性成纤维细胞生长

因子所调控^[10]。Askari等^[11]在缺血性心肌病大鼠模型中发现，心梗后，基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)立即上调，7d后下调，与干细胞归巢到心肌组织相关。目前对MSCs归巢机制尚未阐明，很可能是在上述细胞趋化因子的趋化作用下，通过细胞黏附分子而到达心肌。

MSCs经心肌内注射、静脉或冠脉移植后到达心脏，在多种调节因子的作用下，发挥旁分泌效应，抑制心室重构、保护心肌和促进血管新生。这些调节因子包括细胞因子和生长因子，如缺氧诱导因子-1α(hypoxia inducible factor-1 alpha, HIF-1α)、肝细胞生长因子-1(hepatocyte growth factor-1, HGF-1)、间充质干细胞因子(mesenchymal stem cell factor, MSCF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-alpha, TNF-α)等。HIF-1α可调控血管形成和心肌保护基因的表达，MSCs在低氧环境下活化该途径，分泌VEGF，抑制氧化应激导致的细胞凋亡，保护梗死后心肌^[12]。HGF-1是另一种心肌保护因子，具有促进血管形成、抗凋亡、抗纤维化、抗炎症反应作用。最近一项研究表明，将MSCs与HGF-1一起移植到猪梗死模型中，可明显刺激血管形成、心肌再生和提高心功能^[13]，

MSCs的一个显著特点是抑制心肌细胞外基质的形成。研究显示，在由阿霉素诱导的心肌病动物模型中，MSCs可调节细胞外基质，减少瘢痕形成。其机制为促进基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)的表达，而抑制组织金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)的表达，MMP可降解细胞外基质。在此心衰动物模型中，MMP1、MMP2和MMP9高表达，而TIMP-3表达下降^[14]。

实验^[15-16]表明，移植到心脏的MSCs具有免疫调节作用，可影响抗原提呈细胞，使其处于免疫抑制表型，减弱T细胞反应。其机制为MSCs分泌的HGF-1可抑制淋巴细胞增殖和细胞毒性T细胞的活化。最近报道，MSCs也可抑制自然杀伤细胞和B细胞的增殖与活化，从而使机体处于免疫耐受状态^[17]。

几项临床实验证实，干细胞移植治疗心脏疾患是安全可行的。一项随机双盲多中心实验证实，将自体骨髓来源的单核干细胞移植到心肌梗死患者的冠脉内，4个月后发现，实验组左室功能明显高于对照组^[18]。在另一实验中，将骨髓单核细胞注射到慢性缺血患者的心肌中，与安慰剂组对照，心肌灌注明显提高^[19]。

2009年，Hare等^[20]将MSCs经静脉途径移植到53例急性心肌梗死患者中，发现患者左室功能明显改善，再住院间隔时间显著延长，无恶性心律失常发生，如室性早搏、室速等。

Chen等^[21]对急性心肌梗死的患者在PCI术后进行分组治疗，3个月后，MSCs移植组左室射血分数明显高于对照组，左室收缩末容积和舒张末容量MSCs移植组与对照组相比明显降低；6个月后，MSCs移植组心室收缩速率显著快于对照组，心功能明显改善。然而这些实验只是干细胞移植的初步研究，尚需大规模临床试验证明其有效性。

总之，干细胞治疗自身免疫性疾病和心脏疾患有其独特优势，无疑将会成为细胞治疗研究的热点。

参考文献：

- [1] VAN DER BOGT K E, SCHREPFER S, YU J, et al. Comparison of transplantation of adipose tissue- and bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the infarcted heart[J]. Transplantation, 2009, 87(5): 642-652.
- [2] VAN LAAR J M, TYNDALL A. Cellular therapy of systemic sclerosis[J]. Curr Rheumatol Rep, 2008, 10(3): 189-194.
- [3] MURARO P A, DOUEK D C, PACKER A, et al. Thymic output generates a new and diverse TCR repertoire after autologous stem cell transplantation in multiple sclerosis patients[J]. J Exp Med, 2005, 201(5): 805-816.
- [4] KANG H J, KIM H S, ZHANG S Y, et al. 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 randomised clinical trial[J]. Lancet, 2004, 363(9411): 751–756.
- [5] JAYNE D, PASSWEG J, MARMONT A, et al. Autologous stem cell transplantation for systemic lupus erythematosus[J]. Lupus, 2004, 13(3): 168–176.
- [6] ORLIC D, KAJSTURA J, CHIMENTI S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium[J]. Nature, 2001, 410(6829): 701–705.
- [7] BELTRAMI A P, BARLUCCI L, TORELLA D, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration[J]. Cell, 2003, 114(6): 763–776.
- [8] TOMA C, PITTINGER M F, CAHILL K S, et al. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart[J]. Circulation, 2002, 105(1): 93–98.
- [9] STEINGEN C, BRENIK F, BAUMGARTNER L, et al. Characterization of key mechanisms in transmigration and invasion of mesenchymal stem cells[J]. J Mol Cell Cardiol, 2008, 44(6): 1072–1084.
- [10] LANGER H F, STELLOS K, STEINGEN C, et al. Platelet derived bFGF mediates vascular integrative mechanisms of mesenchymal stem cells in vitro: platelet derived bFGF mediates vascular integrative mechanisms of mesenchymal stem cells in vitro[J]. J Mol Cell Cardiol, 2009, 47(2): 315–325.
- [11] ASKARI A T, UNZEK S, POPOVIC Z B, et al. Effect of stromal-cell-derived factor 1 on stem-cell homing and tissue regeneration in ischaemic cardiomyopathy[J]. Lancet, 2003, 362(9385): 697–703.
- [12] DAI Ying, XU Meifeng, WANG Yiyang, et al. HIF-1 α induced-VEGF overexpression in bone marrow stem cells protects cardiomyocytes against ischemia[J]. J Mol Cell Cardiol, 2007, 42(6): 1036–1044.
- [13] YANG Zhijian, MA Dongchao, WANG Wei, et al. Experimental study of bone marrow-derived mesenchymal stem cells combined with hepatocyte growth factor transplantation via noninfarct-relative artery in acute myocardial infarction[J]. Gene Ther, 2006, 13(22): 1564–1568.
- [14] APPERLE H, GARBÄDE J, SCHUBERT A, et al. Effects of autologous stem cells on immunohistochemical patterns and gene expression of metalloproteinases and their tissue inhibitors in doxorubicin cardiomyopathy in a rabbit model[J]. Vet Pathol, 2007, 44(4): 494–503.
- [15] ALDINUCCI A, RIZZETTO L, PIERI L, et al. Inhibition of immune synapse by altered dendritic cell actin distribution: a new pathway of mesenchymal stem cell immune regulation[J]. J Immunol, 2010, 185(9): 5102–5110.
- [16] STRONCEK D, BERLYNE D, FOX B, et al. Developments in clinical cell therapy[J]. Cytotherapy, 2010, 12(3): 425–428.
- [17] ATOUI R, SHUM-TIM D, CHIU R C. Myocardial regenerative therapy: immunologic basis for the potential “universal donor cells” [J]. Ann Thorac Surg, 2008, 86(1): 327–334.
- [18] 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.
- [19] VAN RAMSHORST J, BAX J J, BEERES S L, et al. Intramyocardial bone marrow cell injection for chronic myocardial ischemia: a randomized controlled trial[J]. JAMA, 2009, 301(19): 1997–2004.
- [20] 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.
- [21] CHEN Shaoliang, WU Wangfang, YE Fei, et al. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction[J]. Am J Cardiol, 2004, 94(1): 92–95.