

间充质干细胞在心肌梗死治疗中的研究进展

瞿海龙¹, 彭广军¹, 曹国辉¹, 麻晓静², 王新平¹, 叶红卫¹

(1. 河北大学附属医院 急诊内科, 河北 保定 071000; 2. 保定同济男科医院, 河北 保定 071000)

中图分类号: R542.22 文献标志码: A 文章编号: 1674-490X(2009)-03-0084-03

心肌梗死后, 心肌细胞的机械功能和电生理功能发生紊乱, 往往会导致不良心血管事件的发生。受损的心肌细胞坏死凋亡、纤维组织增生, 导致心腔扩大和心室重构。这些结果的出现, 是由于心肌缺乏有效的修复和再生的内在机制。尽管目前研究表明^[1], 心肌梗死后有少数原位心肌祖细胞可再生心肌, 但由于数量少, 不能够满足机体需要, 因此应用外源性多潜能干细胞进行心脏的康复治疗备受关注。动物实验证实心肌梗死后注入骨髓来源的祖细胞可促进心功能的恢复。^[2]然而, 这种有益的效应是来源于骨髓造血干细胞、心肌祖细胞, 还是内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)或其他未被发现的干细胞, 目前尚无定论。

从细胞、分子和动物实验结果来看, 骨髓来源的间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一类可用于心肌梗死后心肌再生的理想细胞。本文就 MSCs 在治疗心肌梗死方面的研究综述如下。

1 MSCs 的生物学特征

在适宜的细胞因子作用下, MSCs 能够诱导分化为脂肪细胞、成骨细胞、软骨细胞、肌细胞、内皮细胞、肾细胞和神经元细胞等,^[3-5]表明 MSCs 具有高度的可塑性。MSCs 位于人体的多种组织内, 如骨髓、外周血、脐带血等, 在体外具有很强的扩增能力, 能够为 MSCs 移植治疗心肌梗死提供足量细胞。

MSCs 的治疗效应源于其能够迁移并长期存活于特定的靶组织内, 动物实验表明将同系基因型或异种基因型的 MSCs 进行移植, 供体细胞能够迁移到受体的各种间充质组织内。^[6]

2 MSCs 向心血管系统细胞的分化

体外实验研究表明, 在适宜的微环境作用下, MSCs 能够分化为心肌样细胞, 产生肌小管样结构, 并具有同步收缩的特性。在电子显微镜下, 可观察到典型的肌小节样结构、心房颗粒和中心位细胞核。这些细胞具有心肌细胞的功能特征, 能够生成肽类物质, 表达多种结构和收缩蛋白。同时这些细胞能够产生窦房结样及心室细胞样动作电位。^[7,8]

MSCs 能够向心肌样细胞分化, 需要特定的刺激因子和细胞间相互接触的作用。将人的 MSCs 与心肌细胞共同培养, MSCs 能够获得心肌样细胞表形特征, 表达肌球蛋白重链、 β -肌动蛋白、肌钙蛋白 T。然而将 MSCs 应用心肌细胞的条件培养基进行培养时, 只有 β -肌动蛋白表达。因此, 细胞与细胞间直接接触是 MSCs 向心肌细胞分化的必备条件。共培养的 MSCs 之间能够相互偶联, 形成心室肌细胞间的特定缝隙连接。

MSCs 不仅能够分化为心肌细胞, 而且能够分化为血管平滑肌细胞和内皮细胞。这些细胞参与了血管系统的形成, 包括原位血管的产生和管腔的扩大。实验表明, 在血小板衍生的生长因子 β (PDGF- β) 作用下, 血管周围的间充质细胞能够分化为血管平滑肌细胞, 参与血管的形成。^[9]当将外源性 MSCs 注射到心肌组织内时, 通过组织病理学和免疫组化分析, 植入的 MSCs 分化为心肌细胞、血管平滑肌细胞、内皮细胞,^[10]心肌组织血管密度增加。

以上结果表明, MSCs 能够分化成心肌梗死后所需的各种心血管系统细胞。MSCs 分化为心肌细胞、促进新生血管形成及提高心功能, 有旁分泌机制的参与。Benavente CA 等^[11]研究显示 MSCs 能够分泌纤维生长因子-2 (FGF-2), 一种主要的有

收稿日期: 2009-02-22

作者简介: 瞿海龙(1976-), 男, 河北涿水人, 主治医师, 硕士。

丝分裂蛋白,能够促进定型和未定型的 MSCs 增殖和分化。

MSCs 分化为心肌细胞主要依靠冰冻组织切片的免疫组化分析,到目前为止,尚无确切的结论表明 MSCs 移植后,在受体心脏能够真正表达心肌和血管系细胞免疫表型,而不是一种假象或细胞融合现象。

因此,寻找一种准确、可重复、能够确保数据稳定的检测方法是必须而且必要的。

3 MSCs 在动物实验中的研究

动物实验表明,将不同类型的细胞移植到梗死模型中,能够促进心功能的改善。这些细胞类型包括自身未被纯化的骨髓、骨髓单个核细胞、CD₃₄⁺和 CD₁₃₃⁺细胞、心肌细胞、成纤维细胞和肌原细胞。尽管移植途径(心肌内注射、冠脉或静脉输注)、注射细胞类型、受体心功能状况不同,但尚未观察到免疫或毒性反应。

骨髓 MSCs 能够迁移并定居于受损的心肌组织内,抑制梗死后心室的重构,促进新生血管的形成,缩小瘢痕面积。动物实验证明将 MSCs 经冠脉或心肌内注射方式移植到受体心脏后,在心脏微环境的诱导下,向心肌细胞分化,并表达心肌 β -肌动蛋白重链、 α -肌动蛋白、心脏肌钙蛋白 T 和受磷蛋白,而且移植的细胞间可形成缝隙连接。^[12,13]

由于猪的心脏在解剖学上与人的心脏类似,因此往往选择猪制作心肌梗死模型,进行心血管疾病的研究。通过这些模型,研究人员可以追踪 MSCs 在心脏的位置以及对心功能短期和长期的影响。研究发现,心肌内移植的 MSCs 在两周后分化为心肌样细胞,共表达几种特定肌肉蛋白,心脏收缩功能增强,室壁厚度明显减少。^[14]

在进行细胞康复治疗时,要考虑到移植的安全性和可行性。大多数学者研究表明大的动物(羊、狗、猪)心肌内注射移植干细胞是安全可行的。在治疗猪的心肌梗死模型时,心肌内注射 10^4 ~ 10^8 个 MSCs 是安全的,无免疫反应和毒性反应产生。^[15]将 1×10^8 个 MSCs 经心肌内注射移植到狗的心肌梗死模型中,未发生并发症和心律失常,同样证明是安全可行的。然而,经冠脉途径移植 MSCs 的安全性受到质疑。Vulliet PR 等^[16]研究发现,将 10×10^6 的 MSCs 经冠脉途径移植到正常狗的心脏中,发生

了急性心肌缺血和亚急性心肌微梗死。因此何种移植途径更安全有效,仍需大量实验研究证实。

4 MSCs 在临床中的研究

在过去的几年里,临床上已经开始应用自身细胞移植治疗急性心肌梗死。在这些研究中,选用的细胞大多数是骨髓来源的单个核细胞(bone marrow derived mononuclear cells BM-MNCs)。BM-MNCs 中包含多个细胞亚群,如淋巴细胞、早期骨髓细胞、内皮祖细胞和极少数量的 MSCs。此外,许多被纯化的髓细胞,如 CD₃₄⁺或 CD₁₃₃⁺祖细胞及骨髓肌肌原细胞等也被用于梗死后左室功能不全的治疗。以上“自身修复细胞”均是通过心肌内注射、冠脉或静脉途径输注进行移植,实验结果证明这些途径是安全可行的,能够有效提高梗死后心肌的再灌注。^[17-18]尽管大量实验证明 MSCs 能够分化为心肌样细胞,可用于动物心肌梗死模型中,但临床报道尚少。

2004 年,Chen SL 等^[19]对 69 例急性心肌梗死的病人在 PCI 术后进行分组治疗,一组进行自身 MSCs 冠脉注入治疗,对照组接受常规治疗。3 个月后 MSCs 移植组左室射血分数明显高于对照组($67\% \pm 11\%$ VS $53\% \pm 8\%$, $P < 0.05$),左室舒张末容积和收缩末容量 MSCs 移植组与对照组相比明显降低,分别为[(136 ± 31)mL VS (162 ± 27)mL, $P < 0.05$]和[(63 ± 20)mL VS (88 ± 19)mL, $P < 0.05$]。6 个月后 MSCs 移植组心室收缩速率显著快于对照组[(4.2 ± 2.5)cm/s VS (2.2 ± 1.3)cm/s, $P < 0.05$],心功能明显改善。

Jose J 等进行了一项非随机的 I 期临床实验,对行冠脉搭桥手术(CABG)的冠心病患者(包括心肌梗死和持续心肌缺血患者)经心肌内注射移植自身 MSCs 和 MNCs 的混合细胞。所有实验患者在注入细胞过程中无 1 例死亡,没有手术并发症产生。4 个月后,心肌核磁共振像分析表明细胞移植组左室射血分数显著高于对照组,左室舒张末容积明显减少。

MSCs 和 MNCs 混合细胞能够用于冠心病的治疗,其机制如下:(1)骨髓来源的 MNCs 含有 EPCs,参与新生血管的形成;(2)MSCs 能够分化为心肌样细胞;(3)MSCs 分泌多种因子,如成纤维细胞生长因子、血管内皮生长因子和干细胞归巢因子,^[20,21]

因此联合移植 MSCs 和 MNCs 能够促进心肌再生和血管形成。

尽管目前对 MSCs 的研究尚处于初始阶段,但随着研究的深入,其有可能成为不同于内科传统药物治疗、心血管介入治疗和外科手术治疗又一全新治疗方法。

参考文献:

- [1] Muller P, Beltrami AP, Cesselli D, et al. Myocardial regeneration by endogenous adult progenitor cells[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2005, 39: 377-387
- [2] Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium[J]. *Nature*, 2001, 410: 701-705
- [3] Pittenger M, Mackay AM, Beck SC, et al. Multi-lineage potential of adult human mesenchymal stem cells[J]. *Science*, 1999, 284: 143-147
- [4] Minguell JJ, Erices A, Conget P. Mesenchymal stem cells[J]. *Exp Biol Med*, 2001, 226: 507-520
- [5] Neuhuber B, Gallo G, Howard L, et al. Reevaluation of in vitro differentiation protocols for bone marrow stromal cells: disruption of actin cytoskeleton induces rapid morphological changes and mimics neuronal phenotype[J]. *J Neurosci Res*, 2004, 77: 192-204
- [6] Allers C, Sierralta WD, Neubauer S, et al. Dynamic of distribution of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells after transplantation into adult unconditioned mice[J]. *Transplantation*, 2004, 78: 503-508
- [7] Zhao P, Ise H, Hongo M, et al. Human amniotic mesenchymal cells have some characteristics of cardiomyocytes[J]. *Transplantation*, 2005, 79: 528-535
- [8] 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: 1195-1201
- [9] Hellstrom M, Kalen M, Lindahl P, et al. Role of PDGF-B and PDGFR-beta in recruitment of vascular smooth muscle cells and pericytes during embryonic blood vessel formation in the mouse[J]. *Development*, 1999, 126: 3047-3055
- [10] Davani S, Marandin A, Mersin N, et al. Mesenchymal progenitor cells differentiate into an endothelial phenotype, enhance vascular density, and improve heart function in a rat cellular cardiomyoplasty model[J]. *Circulation*, 2003, 108: 253-258
- [11] Benavente CA, Sierralta WD, Conget PA, et al. Subcellular distribution and mitogenic effect of basic fibroblast growth factor in mesenchymal uncommitted stem cells[J]. *Growth Factors*, 2003, 21: 87-94
- [12] Barbash IM, Chouraqui P, Baron J, et al. Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium: feasibility, cell migration, and body distribution[J]. *Circulation*, 2003, 108: 863-868
- [13] Hattat N, Kawaguchi H, Ando K, et al. Purified cardiomyocytes from bone marrow mesenchymal stem cells produce stable intracardiac grafts in mice[J]. *Cardiovasc Res*, 2005, 65: 334-344
- [14] Shake JG, Gruber PJ, Baumgartner WA, et al. Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects[J]. *Ann Thorac Surg*, 2002, 73: 1919-1925
- [15] Dick AJ, Guttman MA, Raman VK, et al. Magnetic resonance fluoroscopy allows targeted delivery of mesenchymal stem cells to infarct borders in swine[J]. *Circulation*, 2003, 108: 2899-2904
- [16] Vulliamt PR, Greeley M, Halloran SM, et al. Intra-coronary arterial injection of mesenchymal stromal cells and microinfarction in dogs[J]. *Lancet*, 2004, 363: 783-784
- [17] Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial[J]. *Lancet*, 2004, 364: 141-148
- [18] Tse HF, Kwong YL, Chan JK, et al. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation[J]. *Lancet*, 2003, 361: 47-49
- [19] Chen SL, Fang WW, Ye F, 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 Cardio*, 2004, 194: 92-95
- [20] Haynesworth SE, Baber MA, Caplan AL. Cytokine expression by human marrow-derived mesenchymal progenitor cells in vitro: effects of dexamethasone and IL-1 alpha[J]. *J Cell Physiol*, 1996, 166: 585-592
- [21] Tang YL, Zhao Q, Qin X, et al. Paracrine action enhances the effects of autologous mesenchymal stem cell transplantation on vascular regeneration in rat model of myocardial infarction[J]. *Ann Thorac Surg*, 2005, 80: 229-236