

心脏修复与再生治疗的干细胞研究进展

戴国友¹, 山下润²

(1. 河南省人民医院心脏中心 河南省冠心病防治重点实验室 华中阜外医院 郑州大学华中阜外医院, 郑州 451464;

2. 日本京都大学诱导多能干细胞研究所增殖分化机制研究部门干细胞分化调控学, 京都 606-8507, 日本)

戴国友, 医学博士(日本京都大学), PhD, 博士后, 副主任医师, 日本熊本大学客座研究员。主要研究方向: 细胞再生修复与功能心肌细胞信号联系; 干细胞及再生医学; 心脏病分子医学与分子遗传学。在《Blood》等 SCI 收录杂志发表多篇论文, 在干细胞移植治疗心肌梗死等心脏病方面研究有所建树, 获得 2011 年中华医学科技奖三等奖 1 项, 河南省人民政府科技进步奖二等奖 3 项。

山下润, 医学博士, PhD, 日本京都大学诱导多能干细胞研究所增殖分化机制研究部门干细胞分化调控学教授, 日本京都大学医学部再生医疗-脏器重建医学课程的组织者。在血管内皮生长因子诱导 FLK-1⁺ 血管内皮细胞生成新血管方面有开拓性成果, 论文 2000 年发表在《Nature》。此外, 在诱导多能干细胞特异定向心肌细胞分化方面有系统性、标准化探索, 在多层诱导心肌细胞心脏组织片血管化工程化领域有一定贡献。发表 SCI 论文 98 篇, 获得 1998 年第 15 次日本循环器学会青年明星(Young Investigator's Award, YIA)奖、2000 年第 73 回日本内分泌学会青年研究者奖励奖、2000 年第 8 届日本血管细胞生物学会 YIA 最优秀奖、2002 年成人血管病研究振兴财团冈本研究奖励奖、2009 年 Circulation 杂志 2008 基础科学部门 Best Paper Award、2010 年第 14 届日本心血管内分泌代谢学会高峰让吉研究奖励奖。

摘要:缺血性心脏病是全球范围内人类死亡的主要原因, 可简单分为冠状动脉血管问题和心肌问题。冠状动脉血管狭窄、堵塞, 导致血流中断, 引起心肌梗死。针对冠状动脉血管狭窄、堵塞, 临床多采用药物溶栓, 或行经皮冠状动脉介入术、冠状动脉搭桥术等方法恢复血流灌注, 但我国缺血性心脏病病死率并未因上述技术的开展下降, 反而呈增高趋势。分析其原因, 是心肌梗死发作时心肌细胞大量死亡, 而目前缺乏使梗死心肌修复的有效方法, 从而导致治疗失败。因此, 在基本解决血管堵塞问题后, 探寻梗死心肌修复、再生的方法是临床研究的重点。近年来, 有关干细胞的研究不断深入, 干细胞诱导心肌再生技术不断获得突破。本文就心脏修复与再生治疗的干细胞研究进展作一综述。

关键词:心肌梗死; 间充质干细胞; 多能干细胞; 心肌细胞; 心功能; 细胞移植

Stem cell therapy for cardiac repair and regeneration

DAI Guoyou¹, YAMASHITA Jun²

(1. Heart Center of Henan Provincial People's Hospital, Department of Cardiology of People's Hospital of Zhengzhou University, Henan Key Laboratory of Coronary Heart Disease Control of Central China Fuwai Hospital, Henan Research Center for Cardiovascular Epidemiology, Central China Fuwai Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450003, China; 2. Department of Cell Growth and Differentiation, Center for iPS Cell Research and Application (CiRA), Kyoto University, Kyoto 606-8507, Japan)

Abstract: Ischemic heart disease is a major killer and disease burden in the world, and can be simply divided into coronary vascular problems and myocardial problems. Interruption of blood flow due to stenosis and blockage of blood vessels leads to myocardial infarction, which, at present, can be effectively treated by drugs, percutaneous coronary intervention and coronary artery bypass grafting so as to restore the recanalization of blood supply. However, the

mortality of ischemic heart disease in China has not decreased but increased, which is caused by the lacking of effective methods to replace the large amount of myocardial infarcted cells died in the attack of myocardial infarction. Therefore, after the basic solution of the problem of blood vessel blockage, how to effectively solve the problem of supplementing infarcted myocardium has become the top priority of future research. In recent years, with the deepening research of stem cells, the technique of myocardial regeneration by stem cells has achieved more and more breakthroughs. This paper reviews the development and progress of cardiac repair and regeneration.

Key words: myocardial infarction; mesenchymal stem cells; pluripotent stem cells; cardiomyocytes; cardiac function; cell transplantation

心血管疾病包括各种原因导致的心肌细胞死亡、功能退化和心力衰竭等,是导致人类死亡的主要原因。近日,国际权威期刊《柳叶刀》在线发表了由中国医学科学院北京协和医学院、中国疾病预防控制中心、美国华盛顿大学健康测量及评价研究所合作完成的中国近30年(1990—2017年)疾病负担研究^[1],结果显示中国人死亡的主要原因中卒中、缺血性心脏病、肺癌居前三位,其中缺血性心脏病的年龄标准化病死率从1990年至2017年增加了20.6%,而卒中的年龄标准化病死率下降了33.5%。《中国心血管病报告2018》概要^[2]指出,我国心血管病患者处于持续上升阶段,估计现有心血管病患者2.9亿,其中冠心病1100万,心力衰竭450万;2012年中国居民死亡构成中,心血管病居各类疾病之首,每5例死亡者中就有2例死于心血管病,其中缺血性心脏病病死率每年的上升幅度为5.05%。

缺血性心脏病可简单分为冠状动脉血管疾病和心肌疾病。冠状动脉血管狭窄、堵塞,导致血流中断,引起心肌梗死。针对冠状动脉血管狭窄、堵塞,临床多采用药物溶栓,或行经皮冠状动脉介入术(percutaneous coronary intervention, PCI)/冠状动脉旁路移植术(coronary artery bypass grafting, CABG)等恢复血流灌注,但我国缺血性心脏病病死率并未因上述技术的开展下降,反而呈增高趋势。分析其原因,是心肌梗死发作时心肌细胞大量死亡。人类左心室包含大约20~40亿个心肌细胞。成体心肌细胞被认为是终末分化细胞,多数为多倍体细胞,不能进入细胞周期,失去分裂增殖能力。虽然低等脊椎动物心肌细胞表现出较强的心脏再生能力,新生哺乳动物心肌细胞短期内也有一定的再生增殖能力,但其仅能维持水平极低的日常代谢更新的需要,无力在心肌受损后进行补充和修复。Bergmann等^[3]报道,正常成人心肌细胞平均每年仅更新1%。Murry等^[4]和van Berlo^[5]发

现,成人心肌细胞中具有分裂能力的细胞频次比例仅为1/3 000~1/1 000。一次心肌梗死在几小时内就可以丢失掉20%~40%的心肌细胞,而损伤的心肌不能依靠心肌细胞增殖而自愈,最终引起心力衰竭。心力衰竭是各种心脏疾病发展的终末阶段,也是以心肌细胞丢失、残留心肌细胞功能恶化为主要特征。而目前缺乏有效的使梗死心肌修复的方法,从而导致治疗失败。因此,在基本解决血管堵塞问题后,应用外源性干细胞促进心肌细胞再生,补充有功能的心肌细胞,可能是心肌再生的有效方法。

近年来,有关干细胞的研究不断深入,干细胞诱导心肌再生技术不断获得突破。间充质干细胞(mesenchymal stromal/stem cells, MSCs)治疗缺血性心脏病患者的临床试验^[6-10],胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)及其衍生的心肌样细胞(ESCs-derived cardiomyocytes, hESCs-CMs)^[11-12]、诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)^[13]在心肌缺血非人灵长类动物模型心脏再生中作用的研究,均得出积极的有意义的结果,预示了干细胞治疗心脏疾病的美好前景。2018年10月曝光的“心脏干细胞学术造假”事件,给干细胞治疗心脏病的研究带来一定的负面影响。本研究对近年来心脏干细胞治疗的相关研究结果进行综述,旨在坚定干细胞治疗心脏病的信心,期待干细胞造福人类心脏健康。

1 MSCs

人类干细胞研究曾被《科学》杂志评为21世纪最重要的10项科学研究成果之首。截至目前,从临床疗效、安全性、应用范围和科研数量而言,人类所发现的最具治疗潜力的干细胞是MSCs。MSCs是一种多功能的成体干细胞,存在于脐带、骨髓、牙髓和脂肪等多种组织中,表达MSCs的典型标志物如CD146、CD90、CD105、CD73等。1999年,Pittenger等^[14]首次证实MSCs具有多向分化的能力,可分化为脂肪细胞、成骨

细胞、软骨细胞等。随后,研究者逐渐发现 MSCs 具有消炎、促炎、促进组织生长和修复等多种生物学作用。

我国是最早开展 MSCs 治疗心肌梗死等心血管疾病的国家。2006 年南京医科大学 Chen 等^[6]首次对缺血性心脏病患者在 PCI 术后应用 MSCs,发现 MSCs 治疗后 3 个月患者运动耐量、左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)增高,心功能改善。此后,国内外多家医院机构开展了相关临床试验和注册研究。河南省人民医院高传玉团队也进行了相关探索,证实了扩张型心脏病患者冠状动脉内注射 MSCs 可改善 LVEF、NYHA 心功能分级和心肌灌注^[7]。

2009 年,Hare 等^[8]进行一项随机、双盲、对照研究。其将再灌注的急性心肌梗死患者分为 MSCs 组和对照组, MSCs 组静脉注射 MSCs (剂量为 $0.5 \times 10^6/\text{kg}$ 、 $1.6 \times 10^6/\text{kg}$ 、 $5.0 \times 10^6/\text{kg}$),对照组应用安慰剂,发现与对照组比较, MSCs 组治疗 6 个月 LVEF 改善,心脏重塑减慢,且 2 组不良事件发生率比较差异无统计学意义,认为静脉注射 MSCs 治疗急性心肌梗死安全、有效。

除外疗效, MSCs 治疗的安全性问题,也是临床医生、科研人员及民众最关心的问题。Lalu 等^[9]一项 MSCs 治疗安全性的 Meta 分析共纳入 36 项研究,包括缺血性脑卒中、克罗恩病、心肌病、心肌梗死以及移植抗宿主病 5 种疾病的 1 012 例患者,结果显示应用 MSCs 可引起短暂性发热,不会出现治疗相关的急性毒性反应、器官系统并发症、感染、恶性肿瘤或死亡等事件,认为 MSCs 治疗上述 5 种疾病是安全的。2018 年 Lalu 等^[10]一项 Meta 分析共纳入 23 项临床研究的 1 148 例患者,发现接受 MSCs 治疗的患者总体 LVEF 有显著的改善,试验组和对照组病死率比较差异无统计学意义,认为 MSCs 治疗急性心肌梗死和缺血性心力衰竭的整体结果是积极的, MSCs 治疗缺血性心脏病是安全的。2019 年,北京大学肿瘤医院 Yin 等^[15]研究发现,自体或异体来源的 MSCs (骨髓、脂肪、脐带或胎盘)应用于动物实验、临床试验均未见严重不良反应,未发生与 MSCs 移植有关的肿瘤形成、死亡,认为应用 MSCs 是安全的。

MSCs 治疗缺血性心脏病的机制,与其旁分泌作用有关。 MSCs 可通过旁分泌作用分泌白细胞介素(interleukin, IL)-6 及激活 JAK-STAT 信号通路,促进肝细胞生长因子及血管内皮生长因子(vascular

endothelial growth factor, VEGF)分泌,发挥心肌修复作用;通过旁分泌作用抑制 T 细胞、B 细胞、自然杀伤细胞等多种免疫细胞的活性,减少炎症细胞 CD68⁺ 的数量,下调单核趋化蛋白-1 表达,调节局部炎症反应;通过旁分泌作用阻断 STAT3 等信号通路,释放 VEGF、碱性成纤维细胞生长因子、胰岛素样生长因子-1、蛋白激酶 B 等,抑制梗死区域周围心肌细胞的凋亡、促进心肌重建,从而起到改善心功能,减轻心力衰竭或减缓心力衰竭发生的作用。

目前, MSCs 在缺血性心脏病治疗中的价值已得到越来越多的国家认可,是心脏病治疗领域唯一已经进入临床实验的干细胞,是在美国、韩国、欧盟国家等已获得批准的治疗心脏病的 MSCs 产品。我国目前也有多款 MSCs 药物获准进行临床试验研究。临床注册或监管部门批准的 MSCs 产品/药品以骨髓、脂肪、脐带来源居多,近来发现来自脱落牙齿的牙髓 MSCs 具有独特的优势和潜力,牙髓有望成为下一个极具前景的干细胞来源。

2 ESCs 及 hESCs-CMs

ESCs 是从早期胚胎囊胚内细胞团分离培养而来的细胞,具有分化为体内任何组织细胞的能力。 ESCs 可分化生成心肌细胞,但未分化的人 ESCs (human embryonic stem cells, hESCs) 植入小鼠心脏会导致畸胎瘤。按照一定程序和条件,从 ESCs 诱导分化的 hESCs-CMs 体外表现出心肌的跳动、电生理等特性,将 hESCs-CMs 植入梗死后心脏,其能在活体心肌组织中存活,并能缩小心肌梗死面积,减缓心室重塑,改善 LVEF,延长心室射血时间,具有一定的促进梗死后心肌修复、心功能恢复的作用。将 hESCs-CMs 移植至无胸腺大鼠的梗死心脏,其存活时间可长达 4 周。2014 年,美国 Chong 等^[11]发现, hESCs-CMs 可规模生产(每批超过 10 亿个细胞)并且冷冻保存,将其移植到心肌缺血后再灌注的非人灵长类猴心脏,发现 hESCs-CMs 有一定比例在心肌梗死区域存活并保持心肌细胞特征,且存活的心肌样细胞(induced cardiomyocytes, iCM)与原宿主心肌细胞形成细胞膜和电生理的双重偶联;进一步心肌电生理测定发现,移植细胞表现出与宿主心肌细胞同步的正常钙瞬变;此外,移植细胞身份识别分析发现,较多移植的心肌样细胞在活体内分化形成内皮细胞,能够起到诱导新血管生成,加强养份和氧气供应,改善心肌修复微环境的作用,认为 hESCs-CMs 可使心肌缺血后再灌注的非人

灵长类猴的心脏再血管化。Zhu 等^[12]也报道了相似的观察结果。因此, hESCs-CMs 移植治疗心肌梗死有良好的前景。

由于 ESCs 能够有把握地分化形成心肌样细胞, 可能成为体外心肌细胞的较好来源, 较多实验室着力于提高 ESCs 分化 iCM 的效率和生命力, 并取得了显著的效果。研究发现, Notch 信号通路, 骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)、Ⅲ型纤连蛋白组件包含蛋白 5 (fibronectin type Ⅲ domain containing 5, Fndc5)等均能促进 ESCs 更有效地分化为 iCM。hESCs-CMs 移植前用血红素氧合酶-1 激动剂进行预处理, 能帮助移植的 hESCs-CMs 对抗急性心肌梗死后严重的组织炎症, 提高其在梗死区域的存活率, 延长其存活时间, 更有效地促进梗死后损伤心肌的修复。但 hESCs、hESCs-CMs 治疗存在致畸胎瘤、心律失常、移植存活率低及伦理问题, 目前的研究仅限于动物实验。

3 iPSCs 及其分化的心肌样细胞 (iPSCs-derived cardiomyocytes, hiPSCs-CMs)

2006 年, 日本京都大学 Takahashi 等^[16]报道, c-Myc、Oct4、Sox2 和 Klf4 基因共转染能通过细胞重编程逆转体细胞, 将其诱导成为原始的 ESCs 样细胞, 这些细胞在形态学、增殖特性、表面标志物的表达、端粒酶的活性、组蛋白修饰等许多方面表现出与 ESCs 一致的特性, 而基因组甲基化模式和基因表达谱与人 ESCs 不完全相同, 具有多分化潜能和自我再生能力, 被称为 iPSCs 细胞。iPSCs 细胞可经特异性诱导有效地分化为 hiPSCs-CMs, hiPSCs-CMs 与 ESCs-CMs 在心脏跳动和心电活动方面拥有相似的特性。

2014 年, 日本京都大学山下润教授团队, 应用人 iPSCs 细胞首次成功培育出了由心肌和血管等数种细胞组成的心脏组织细胞层^[17]。研究者应用人 iPSCs 细胞培育心肌细胞时, 分阶段加入 VEGF, 发现人 iPSCs 细胞除发育成心肌细胞外, 还同时发育成血管内皮细胞和血管壁细胞, 将 3 层细胞物理整合成心脏组织片 (hiPSCs-CTS), 移植给 9 只心肌梗死大鼠, 4 周后有 4 只大鼠的移植部位有新血管生成, 大鼠心功能明显改善。

最具影响力的大型灵长类动物实验研究结果在 2016 年发表。日本 Shiba 等^[13]使用 5 只 HT4 杂合子食蟹猴制备心肌梗死模型, 然后在心肌内注射 iPSCs-CMs, 发现 iPSCs-CMs 在梗死区域心肌存活 12

周, 移植后 4、12 周心肌收缩功能明显改善, 室性心动过速发生率显著增加, 认为 iPSCs-CMs 可弥补失去的心肌细胞, 转分化为内皮细胞增加新血管生成, 改善梗死心脏的结构和功能, 延缓心力衰竭的发生, 但须控制移植后心律失常的发生。

2018 年, 日本大阪大学团队首先获得批准应用人 iPSCs-CMs 心肌补片治疗心肌梗死后心力衰竭, 其研究一旦成功, 将有力推动人 iPSCs-CMs 临床研究的快速发展。

4 c-Kit⁺ 内源性心脏干细胞/祖细胞 (resident or endogenous cardiac stem cells/progenitor cells, CSCs/PCs)

CSCs/PCs 包括 c-Kit⁺ 细胞、Sca-1⁺ 细胞、心球样细胞团源性细胞 (cardiosphere-derived cells, CDCs)、islet-1⁺ 细胞和心外膜来源细胞。2001 年, 美国 Anversa 教授实验室发表颠覆性的研究成果, 其发现骨髓来源的 c-Kit⁺ 细胞能够在体内分化形成心肌细胞促进心脏再生。研究者将骨髓来源的 c-Kit⁺ 细胞移植到心肌梗死小鼠模型的心脏, 发现移植 9 d 后, 损伤区约 68% 的区域已被新生的心肌细胞覆盖心脏损伤得到了极大程度的恢复, 这些新生成的心肌细胞由移植的 c-Kit⁺ 细胞分化而来, 其还可分化形成心脏中的血管内皮细胞和平滑肌细胞。2003 年, 美国 Anversa 教授实验室在《Cell》杂志发表另外一篇影响巨大的文章, 阐述了成体心脏中存在着一群 c-Kit⁺ 细胞, 能在体内分化形成心肌细胞, 是心肌干细胞; 将 c-Kit⁺ 细胞分离出来, 在体外富集后注射到受损后的心脏内, 20 d 后损伤区大部分区域已经被新生成的心肌细胞修复, 新生成的心肌细胞是由移植的 c-Kit⁺ 干细胞分化产生。该研究发表后, 相关研究和临床试验也随后跟进。

但 2004 年, 美国 Murry 和 Molkentin 实验室在《Nature》发表文章, 表明他们采用严格的类似的细胞谱系追踪实验技术进行实验, 未得出 Anversa 教授实验室的结果, 即骨髓来源的 c-Kit⁺ 细胞并不能在体内分化形成心肌细胞, 而是主要形成了各种血细胞。之后的许多重复研究也得出骨髓来源的 c-Kit⁺ 细胞并不具备分裂和再生的能力, 不能形成新的心肌细胞, 其促进心脏再生的观点已经被否定。

2014—2018 年, Clevers、Molkentin 实验室及中国的周斌团队先后引用分子和遗传及细胞谱系追踪技术, 在心肌梗死前、后追踪所有分裂心脏细胞的细胞图

谱,报道了具有决定性意义的实验结果,即成体心脏中 c-Kit⁺ 细胞并非心肌干细胞,即不具有在体内分化形成心肌细胞的能力。随后哈佛大学相关部门经调查后认定,Anversa 等有关研究者捏造数据、论文造假,相关杂志撤销其发表的论文共计 34 篇。

这一学术造假行为重创了干细胞治疗心脏病的研究,使公众对干细胞治疗心脏病产生了质疑。但我们必须清楚以下几点:(1)骨髓来源的 c-Kit⁺ 细胞虽被证实不是心脏干细胞,但并不能否定其可通过旁分泌机制发挥一定的治疗修复作用;(2)较多骨髓单个核细胞移植治疗心肌梗死的临床试验均取得积极、有效的治疗效果,其中就包括较多的 c-Kit⁺ 造血细胞和内皮细胞等;(3)心脏干细胞只是干细胞治疗心脏病研究领域的一个方面,否定骨髓来源的 c-Kit⁺ 细胞,是为了让我们不在错误的道路上继续或走的更远,并不等于关闭了干细胞治疗心脏病的大门,MSCs、ESCs 及 hESCs-CMs 等已经证实具有相当的心肌细胞修复能力;(4)低等脊椎动物、新生哺乳动物心肌细胞有一定的再生增殖能力,探索其心脏中再生细胞的性质和来源,发育演化、消失或控制的分子机制,是否可唤醒心脏干细胞克隆培养扩增,及是否具有临床应用治疗细胞的潜力等,可进一步促进干细胞治疗心脏病的研究进步。

5 其他相关干细胞和心肌样细胞

5.1 基因直接诱导心肌样细胞 在 iPS 技术基础上,直接的心肌细胞转分化诱导研究也有了长足的发展。2010 年,美国 Gladstone 心脏研究所首先将 GATA4、Mefc2 和 Tbx5(GMT)基因组合转染至小鼠成纤维细胞,发现其可将 20% 的成纤维细胞诱导成为 iCM,并表达心肌细胞特异性蛋白。之后,研究者重复并优化其实验步骤,进一步发现转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 抑制剂、Wnt 抑制剂、Hand2 等可有效提高 iCM 的转化效率。随后进行的 iCM 诱导转化动物模型实验,证实优化的 GMT3 基因组合能较好地诱导心肌梗死区成纤维细胞直接转分化变为 iCM,模型动物心功能有一定程度的改善。

2018 年,美国 Gladstone 的 Srivastava 团队通过研究鉴别出 4 个能控制细胞分裂周期的基因即细胞周期蛋白依赖性激酶 1、CDK4、细胞周期蛋白 B1、细胞周期蛋白 D1,其过表达能促进发育成熟的心肌细胞重新进入细胞周期,促进细胞分裂及快速增殖;15%~

20% 转染该 4 个基因的成体心肌细胞能够进行分裂并保持活性,并可显著改善急性或亚急性心肌梗死后的心功能^[18]。

5.2 心外膜来源细胞 (epicardial derived cells, EPDCs) 心脏心肌组织除心肌细胞外,还包括其他类型细胞,如血管平滑肌细胞、内皮细胞以及心脏成纤维细胞,这些细胞也需要日常更新、转换以维持心肌稳定的需要,这些细胞的来源就是 EPDCs。EPDCs 由心外膜细胞发生上皮间质转化形成,具有在体内、外分化为动脉平滑肌细胞、动脉内皮细胞和心脏成纤维细胞的潜力。心肌梗死后心外膜细胞被激活,促进成纤维细胞、血管内皮细胞的增生。低等脊椎动物心肌梗死后,被激活的 EPDCs 可形成新的心肌细胞,补充死亡失去的心肌细胞。EPDCs 作为促进损伤心肌再生的一种有效细胞类型,为心脏再生提供了一种可行途径。但其激活及向间充质细胞转变过程的分子机制尚未明确。

6 干细胞修复心脏损伤存在的问题

目前,干细胞修复心脏损伤最受关注问题的仍然是效果与安全性。一项随机对照试验的 Meta 分析结果^[19]表明,与临床规范治疗相比,急性心肌梗死患者冠状动脉注射 BMCs 后 6、12 个月 LVEF 分别增加 2.23%、3.91%,左心室收缩末期容积分别减少 4.81、9.41 mL,但心肌梗死面积、左心室舒张末期容积、左心室舒张功能无明显改善,推测干细胞治疗急性心肌梗死可能仅改善了左心室收缩功能,未促进心肌再生、心脏结构修复。分析影响干细胞治疗心脏病效果的原因,可能是:(1)目前使用的干细胞不具有再生心肌的能力,不能直接增加心肌细胞数量;(2)干细胞移植入心脏的效率较低、停留时间较短;(3)不同研究组采用的干细胞来源不同、质量不一,起到的修复治疗效果存在差异;(4)治疗用干细胞种类单一、剂量、疗程(次数)不足;(4)规范治疗的药物如阿司匹林、他汀类药物等,与干细胞一样具有抗炎作用,可能干扰结果的对比分析;(5)观察指标的选择、测量设备的差异等。

此外,ESCs 和 iPSCs 移植具有存活率,致畸胎瘤、引发心律失常等风险,且 ESCs 移植还存在伦理问题。2018,日本厚生劳动省批准大阪大学泽芳树团队开展 iPSCs-CMs 治疗心脏病的临床试验,观察 iPSCs-CMs 的安全性及对心功能的恢复情况,这是 iPSCs-CMs 首次被批准用于心脏病临床研究,其研究成果将会引起各界关注。

为有效解决上述问题,今后,应该探索组合疗法甚至多重组合疗法,即将干细胞疗法与基因疗法、组织工程、新技术药物及其投递体系联合,或者 MSCs 与内皮细胞等其他细胞联合。相信新的组合治疗体系将会进一步改善干细胞治疗的临床效果。

7 结 语

干细胞治疗心脏病的主要目的是再生心肌,恢复心脏结构和功能,次要目的是修复受损的心肌细胞,改善患者心功能,减少心力衰竭,减轻心力衰竭症状。目前研究较多的 MSCs 不能促进心肌细胞再生,不能达到干细胞治疗的主要目的。随着研究的深入,ESCs-CMs、iPSCs-CMs、iCM 等显示出再生心肌的作用。2018 年 iPSCs-CMs 治疗心脏病获准进入临床试验后,会有越来越多的 ESCs-CMs、iPSCs-CMs、iCM 治疗心血管疾病的临床研究注册,干细胞治疗心脏病主要目的有望实现。

参考文献

- [1] ZHOU M, WANG H, ZENG X, et al. Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. *Lancet*, 2019, pii: S0140-6736.
- [2] 胡盛寿,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2018》概要[J]. *中国循环杂志*, 2019, 34(3): 209-220.
- [3] BERGMANN O, ZDUNEK S, FELKER A, et al. Dynamics of cell generation and turnover in the human heart[J]. *Cell*, 2015, 161(7): 1566-1575.
- [4] MURRY C E, SOONPAA M H, REINECKE H, et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts[J]. *Nature*, 2004, 428(6983): 664-668.
- [5] VAN BERLO J H, KANISICAK O, MAILLET M, et al. c-Kit⁺ cells minimally contribute cardiomyocytes to the heart[J]. *Nature*, 2014, 509(7500): 337-341.
- [6] CHEN S, LIU Z, TIAN N, et al. Intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells for ischemic cardiomyopathy due to isolated chronic occluded left anterior descending artery[J]. *J Invasive Cardiol*, 2006, 18(11): 552-556.
- [7] XIAO W, GUO S, GAO C, et al. A randomized comparative study on the efficacy of intracoronary infusion of autologous bone marrow mononuclear cells and mesenchymal stem cells in patients with dilated cardiomyopathy[J]. *Int Heart J*, 2017, 58(2): 238-244.
- [8] 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.
- [9] LALU M M, MCINTYRE L, PUGLIESE C, et al. Safety of cell therapy with mesenchymal stromal cells (safe cell): a systematic review and meta-analysis of clinical trials[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e47559.
- [10] LALU M M, MAZZARELLO S, ZLEPNIG J, et al. Safety and efficacy of adult stem cell therapy for acute myocardial infarction and ischemic heart failure (safe cell heart): a systematic review and meta-analysis [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2018, 7(12): 857-866.
- [11] CHONG J J, YANG X, DON C W, et al. Human embryonic-stem-cell-derived cardiomyocytes regenerate non-human primate hearts[J]. *Nature*, 2014, 510(7504): 273-277.
- [12] ZHU K, WU Q, NI C. Lack of remuscularization following transplantation of human embryonic stem cell-derived cardiovascular progenitor cells in infarcted non-human primates [J]. *Circ Res*, 2018, 122(7): 958-969.
- [13] SHIBA Y, GOMIBUCHI T, SETO T. Allogeneic transplantation of iPS cell-derived cardiomyocytes regenerates primate hearts[J]. *Nature*, 2016, 538(7625): 388-391.
- [14] PITTENGER M F, MACKAY A M, BECK S C, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells [J]. *Science*, 1999, 284(5411): 143-147.
- [15] YIN J Q, ZHU J, ANKRUM J A, et al. Manufacturing of primed mesenchymal stromal cells for therapy[J]. *Nat Biomed Eng*, 2019, 3(2): 90-104.
- [16] 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.
- [17] MASUMOTO H, IKUNO T, TAKADA M, et al. Human iPS cell-engineered cardiac tissue sheets with cardiomyocytes and vascular cells for cardiac regeneration[J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 6716.
- [18] MOHAMED T M A, ANG Y S, RADZINSKY E, et al. Regulation of cell cycle to stimulate adult cardiomyocyte proliferation and cardiac regeneration[J]. *Cell*, 2018, 173(1): 104-116.
- [19] DELEWI R, ANDRIESSEN A, TIJSEN J G, et al. Impact of intracoronary cell therapy on left ventricular function in the setting of acute myocardial infarction: a meta-analysis of randomised controlled clinical trials[J]. *Heart*, 2013, 99(4): 225-232.

收稿日期:2019-08-16 修回日期:2019-08-24 本文编辑:李立华