

综述

干细胞移植治疗缺血性心脏病的进展及其作用机制<sup>☆</sup>

高连如

Department of  
Cardiology, Naval  
General Hospital of  
Chinese PLA, Beijing  
100037, ChinaGao Lian-ru<sup>☆</sup>,  
Post-doctoral fellow,  
Chief physician,  
Department of  
Cardiology, Naval  
General Hospital of  
Chinese PLA, Beijing  
100037, China  
lianru@yahoo.com.cnSupported by: the  
National High-Tech  
Research and  
Development  
Program (863  
Program), No.  
2006AA022469<sup>☆</sup>Received: 2007-07-16  
Accepted: 2007-09-13

## Progress and mechanism of stem cell transplantation in the treatment of ischemic heart disease

## Abstract

**BACKGROUND:** Despite the advanced therapeutic strategies of medical intervention and surgical procedures after myocardial infarction, which may improve coronary blood flow and salvage ischemic myocardium, is still not able to salvage necrosis or non-functional myocardium. Stem cells, as the material foundation of heart structures and function, have been proved to be one of safe and effective therapies for the improvement of cardiac function, although it is still extremely controversial.

**OBJECTIVE:** To summarize the clinical research progress on adult stem cells in treatment of ischemic heart disease, evaluate the safety and efficacy of adult stem cell therapy, speculate the mechanisms of adult stem cells on improving heart function, and introduce the future clinical study of adult stem cells.

**RETRIEVE STRATEGY:** English articles of adult stem cells and ischemic heart disease were searched in Pubmed databases published from 1996 to 2007, with the key words "adult stem cells, cardiomyocytes, ischemic heart disease". Meanwhile, a computer-based search was conducted in China Journal Full-text Database with the key words of "adult stem cell, cardiomyocytes, ischemic heart disease" between 1996 and 2007. Total 1 303 articles were selected firstly. Inclusive criteria: ①The literatures were closely related to adult stem cell and ischemic heart disease. ②The literatures of the same field were selected by the recent publication or the authority magazine publication. Exclusive criteria: ① repetitive researches. ②Meta analysis.

**LITERATURE EVALUATION:** The selected articles were mainly the reviews of the current status and mechanism of stem cell transplantation for ischemic heart disease. There were 626 out of the selected 1 303 articles referring to the animal experiments and *in vivo*, *in vitro*, cytological trials, 345 ones were the reviews, statements and reports, remaining 45 were clinical researches. Finally 46 articles were selected for the references.

**DATA SYNTHESIS:** ①Stem cell defining characteristics is the capacity to differentiate into a spectrum of different cell types and renew themselves, which is divided into embryonic stem cells and adult stem cells. Although embryonic stem cells have been shown to have greater potency for proliferation and differentiation than adult stem cells, their lack of availability and ethical issues hamper clinical applications. ②At present, a number of early clinical studies have been published, despite most of the them are small pilot studies that even lack randomization or control groups, the fact that several cell types (including bone marrow mononuclear cells, endothelial progenitor cells, CD133+ cells, mesenchymal stem cells, skeletal myoblasts), have been studied using different delivery methods, the overwhelming message from all of these studies is that cell therapy is safe and feasible for ischemic heart disease. In addition, the results of these studies provide the clinical data for the ongoing studies. ③Adult stem cells may improve cardiac function by various potential mechanisms, including direct or indirect effects. Differentiation into cardiomyocytes may contribute to cardiac regeneration. Paracrine factors released by progenitor cells may inhibit cardiac apoptosis, affect remodeling, or enhance neovascularization. New data show that exogenous stem cells may stimulate proliferation of endogenous cardiac precursors.

**CONCLUSION:** At present, despite the action mechanisms of adult stem cells on the functional improvement of heart after myocardial infarction remain unclear, there is a wealth of early clinical data showing safety, feasibility and early efficacy of adult stem cell therapy for ischemic heart disease. Adult stem cell therapies should proceed into randomized, placebo-controlled and double-blind multicenter clinical trials.

Gao LR. Progress and mechanism of stem cell transplantation in the treatment of ischemic heart disease. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu 2007;11(46):9346-9352(China) [www.zgckf.com/zgckf/ejournal/upfiles/07-46/46k-9346(ps).pdf]

## 摘要

**学术背景:**心肌梗死后,尽管现有的内外科治疗手段可以改善冠状动脉供血,挽救缺血心肌,但对已坏死的心肌或无功能心肌尚无良好治疗措施。细胞作为构成心脏结构、执行心脏功能的物质基础,尽管存在争议,但大量研究资料表明干细胞移植治疗是安全有效的。

**目的:**文章试图就目前成体干细胞在缺血性心脏病治疗的临床研究进展做一综述,客观评价成体干细胞治疗缺血性心脏病的安全性、有效性,阐述成体干细胞改善心功能的可能机制,介绍当今临床研究方向。

**检索策略:**由该论文的研究人员应用计算机检索 Pubmed 数据库 1996/2007 成体干细胞与缺血性心脏病方面的文献,检索词 "adult stem cells, ischemic heart disease, cardiomyocytes",并限定文章语言种类为 English,同时计算机检索中国期刊全文数据库 1996/2007 的相关文献,检索词 "成年干细胞,心肌细胞,缺血性心脏病",并限定文章语言种类为中文。共检索到 1 303 篇文献,对资料进行初审,纳入标准:①文章所述内容应与缺血性心脏病干细胞移植密切相关。②同一领域选择近期发表或在权威杂志上发表的文章。排除标准:①重复性研究。②Meta 分析。

**文献评价:**文献的来源主要是通过干细胞移植治疗缺血性心脏病现状及其作用机制进行汇总分析。1 303 篇文献中,动物实验和在体、离体、细胞学实验 626 篇,综述、述评、讲座类文献 345 篇,临床研究 45 篇,选用其中的 46 篇作为本文参考文献。

**资料综合:**①干细胞为一群具有自我更新、多向分化潜能的原始细胞,分为胚胎干细胞和成体干细胞。虽然研究表明胚胎干细胞较成体干细胞具有更强的增殖和分化潜能,但由于其涉及伦理道德、来源困难等原因,限制了它的使用。②就目前已完成的包括不同类型的成体细胞(如骨髓单个核细胞、内皮祖细胞、CD133<sup>+</sup>细胞、骨髓间充质干细胞、成肌细胞等)移植治疗缺血性心脏病的早期临床试验来看,尽管存在样本小、缺乏随机对照等不足,但均显示一个公认的事实,即无论采用何种方法移植成体干细胞治疗缺血性心脏病均是安全有效的。这对于正在进行的较大规模的临床研究是十分重要的,为其提供了更充分的临床资料。③多数研究认为干细胞改善心功能的作用机制包括直接与间接效应,如移植细胞横向分化为再生心肌与血管、移植细胞的旁分泌作用促进血管再生、抑制心肌细胞凋亡及心室重构等。近来研究认为外源前体移植心肌可以刺激体内源心肌存留

解放军海军总医院  
心内科,北京市  
100037高连如<sup>☆</sup>,女,解放军  
第二军医大学毕业,  
1996-2000 年  
美国加利福尼亚大  
学旧金山心血管研  
究所博士后研究员,  
主任医师,主要从事  
心血管介入与干细  
胞治疗方面的研究。  
lianru@yahoo.com.cn国家“八六三”计划  
(2006AA022469)<sup>☆</sup>中国分类号:R394.2  
文献标识码:A  
文章编号:1673-8225  
(2007)46-09346-07收稿日期:2007-07-16  
修回日期:2007-09-13  
(07-50-7-3852ZS-Y)

的干细胞增殖,从而改善心功能。

结论:尽管目前成体干细胞改善心功能的确切机制仍不清楚,但多数早期临床研究表明成体干细胞移植治疗缺血性心脏病是安全有效的。当前的研究方向是需要随机、双盲、安慰剂对照的多中心临床试验。

关键词:干细胞移植;缺血性心脏病;综述文献

高连如.干细胞移植治疗缺血性心脏病的进展及其作用机制[J].中国组织工程研究与临床康复,2007,11(46):9346-9352  
[www.zgickf.com/zgickf/ejournal/upfiles/07-46/46k-9346(ps).pdf]

## 0 学术背景

心肌梗死后,梗死心肌周围残存的心肌细胞接受心肌缺血、损伤的信息,并传递给细胞核,经过细胞核反应,启动了多种细胞因子的转录、表达,产生了一系列心室重塑过程的细胞表型改变。残存的心肌细胞肥大,而相应的血管不能再生以供应肥大的心肌,使心肌细胞缺血、凋亡。梗死区成纤维细胞增殖,胶原、纤维合成素、糖蛋白合成成分沉积,细胞外基质增加。纤维组织替代坏死心肌,梗死区室壁变薄,室腔扩大。最终心脏经历一系列心室重塑发展为失代偿的缺血性心力衰竭<sup>[1-3]</sup>。因而这类疾病的共同特征是心肌细胞数量减少和心脏功能低下。

多年来,人们一直试图寻找有效方法来逆转这一过程<sup>[4]</sup>。肽类血管内皮生长因子、成纤维细胞生长因子等治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病的大样本临床试验显示<sup>[5,6]</sup>:尚无逆转心室重塑、获得改善心功能的益处。基因治疗尚未进行随机的、安慰剂对照的临床研究。基因载体的选择、基因长期表达能力以及基因表达的调控等诸多问题均尚待解决<sup>[7]</sup>。因此构成心脏结构、执行心脏功能的物质基础的补充成为人们寄予改善心功能的期望靶点之一。1998年11月,美国生物学家 Thomson 等首次分离到人体多能干细胞,已预示着它巨大的医学生物学理论意义及应用前景。人类研究干细胞一方面可以探索人体发生、发育之谜,更期望它们可以用来替代患病组织,故被世界科学家称之为当代生物医学发展的最前沿<sup>[8]</sup>。

## 1 目的

文章试图就目前成体干细胞在缺血性心脏病治疗的临床研究进展及作用机制做一综述,客观评价成体干细胞治疗缺血性心脏病的安全性、可行性及有效性,阐述成体干细胞改善心功能的可能机制,介绍目前干细胞研究存在的问题及今后临床研究方向。

## 2 材料和方法

### 2.1 资料检索

检索人相关内容:第一作者。

检索时间范围:中、英文资料的检索时间范围均为 1996~2007 年。

关键词:英文关键词为“adult stem cells, ischemial heart disease, cardiomyocytes”。中文关键词为“成体干细胞,缺血性心脏病,心肌细胞”。

检索数据库:Pubmed 数据库,网址 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>。中国期刊全文数据库,网址 <http://www.wanfangdata.com.cn>。

检索文献量:总计 1 303 篇。

### 2.2 检索方法

纳入标准:①文章所述内容应与缺血性心脏病干细胞移植密切相关。②同一领域选择近期发表或在权威杂志上发表的文章。

排除标准:①重复性研究。②Meta 分析。

文献类型及资料分析:计算机初检得到 1 303 篇文献,中文 434 篇,英文 869 篇。阅读标题和摘要进行初筛,排除因研究目的与此文无关或内容重复的研究,共保留 46 篇中英文文献做进一步分析。

## 3 技术路线评价

有效性评价:国外报导已完成的临床试验,应用不同方法、不同成体干细胞移植治疗不同类型缺血性心脏病,均以心脏收缩功能左室射血分数为客观指标,均呈现不同程度升高,绝对值最低增加 0.6,最高增加 18,平均提高(7.13±4.41),其中 71%具有统计学显著性差异,仅 29%未构成统计学差异。以上初步结果表明成体干细胞移植可改善缺血性心脏病患者的心功能。

安全性评价:从现有国内外报道的临床试验结果看,除个别报道骨髓肌干细胞、CD133 及粒细胞因子动员有致心律失常、冠脉内支架再狭窄、粒细胞因子动员后全身反应外,余成体干细胞应用均无明显不良反应。

伦理学评价:自体成体干细胞移植无伦理道德问题。

卫生经济学评价:据专家预计,全球干细胞医疗(包括心血管、神经系统、代谢疾病)近两年的潜在市场规模大约为 800 亿美元,未来 20 年内干细胞医疗市场的全球规模将迅速增长,到 2020 年前后其年全

球市场规模可达4 000亿美元。参与这一领域的国际竞争并占有一席之地,对加快中国卫生医疗和科学研究事业的发展是十分迫切和必要的,而且在以人为本、构建和谐社会方面具有重大社会效益。

## 4 综合评价

**4.1 干细胞概念与分类** 干细胞是一种具有多向分化潜能和自我复制功能的早期未分化细胞。根据在个体发育过程中出现的先后次序不同,干细胞可分为胚胎干细胞和成体干细胞。当受精卵分裂发育为囊胚时,内层细胞团的细胞即为胚胎干细胞。成体干细胞是指那些具有组织或器官特异性的干细胞,具有很强的可塑性,组织类型非常广泛。其中与心肌细胞相关的有骨髓造血干细胞、外周血干细胞、脐血干细胞、骨髓间充质干细胞和骨骼肌干细胞等。

根据分化潜能的大小,干细胞还可分为三种类型:①全能干细胞:它具有形成完整个体的分化潜能,如胚胎干细胞。②多能干细胞:这种干细胞具有分化出多种细胞组织的潜能,但却失去了发育成完整个体的能力,发育潜能受到一定的限制,如骨髓多能造血干细胞。③单能干细胞:这类干细胞只能向一种类型或密切相关的两种类型的细胞分化,如上皮组织基底层的干细胞。

**4.2 用于治疗缺血性心脏病的干细胞类别** 目前,用于治疗心肌缺血的干细胞大致分为两大类:一是肌肉类细胞,主要指胚胎心肌细胞、胚胎干细胞和骨骼肌干细胞;二是非肌肉类细胞,主要为骨髓干细胞和周围血干细胞。骨髓干细胞的组成很复杂,包括造血干细胞、间充质干细胞、内皮祖细胞以及其他功能不明的干细胞。由于分离和纯化方法不同,从骨髓液中又可分离得到骨髓单个核细胞群、AD133<sup>+</sup>细胞、边缘细胞群、Linc-kit<sup>+</sup>细胞和各种单克隆干细胞等。临床常用的骨髓干细胞有骨髓单个核细胞、间充质干细胞、AD133<sup>+</sup>细胞等。

**4.3 干细胞移植治疗缺血性心脏病的前期探索** 心脏的细胞移植治疗,即直接用分离来的细胞或用经体外纯化、培养和增殖后的细胞,移植到缺血坏死区域,试图通过新生的肌肉细胞替代纤维组织,从而改善心肌收缩和舒张功能,为心肌梗死和严重心力衰竭治疗提供了崭新的治疗方法。

2001年,纽约医学院 Orlic 等<sup>[9]</sup>将标记有报告基因 EGFP 的转基因雄性小鼠骨髓 Linc-kit<sup>+</sup>细胞注入雌性小鼠心肌梗死的坏死心肌四周边缘。9 d 后观察到来自于供体细胞的胞浆有 EGFP 特异标记及胞核有 Y 染色体的新生细胞占原梗死心肌的 (68±11)%,

并清楚可见来自供体细胞分化不同阶段的心肌样细胞、平滑肌细胞和内皮细胞。心肌样细胞具有成熟心肌细胞特异的心肌细胞增强因子及心肌特异转录因子 GATA-4 的表达,有代表心肌细胞电生理特性的细胞间偶联因子 Connexin43 表达,左室功能改善,左室舒张末压下降 36%,左室最大收缩、舒张速率分别增加 40%与 41%。

Kamihata 给予前降支结扎的猪心肌梗死模型直接心肌注射骨髓单个核细胞后 3 周观察心功能,细胞移植组左室射血分数改善 48%(相对值),该区域血流及血管分别较对照组增加 4.6 倍和 2.8 倍<sup>[10]</sup>。

2001 年,日本的 Hamano<sup>[11]</sup>和德国的 Strauer<sup>[12]</sup>率先将骨髓细胞移植应用于临床研究,于是掀开了细胞移植治疗心血管疾病新的一页。

### 4.4 干细胞移植治疗缺血性心脏病的研究现状

**4.4.1 骨髓单个核细胞移植治疗心肌梗死** 2002,德国 Strauer 等<sup>[12]</sup>观察了 20 例心肌梗死患者,在急性心肌梗死后(7±2) d,10 例进行了冠状动脉内移植自体骨髓单个核细胞+标准治疗;另 10 例患者只接受标准治疗。随访 3 个月,左室造影显示细胞移植组梗死面积从 (30±13)%降低到 (12±7)%,差异显著 ( $P=0.005$ ),也明显低于标准治疗组 ( $P=0.005$ );梗死室壁运动速度从 (2.0±1.1) cm/s 增加到 (4.04~2.6) cm/s,差异显著 ( $P=0.005$ );多巴酚丁胺负荷超声心动图试验、核素心室造影术和右室导管检查显示心脏功能均明显改善,梗死区域心肌灌注明显增强。此项研究系临床 I 期安全性和可行性研究,第一次比较完整地证实经冠状动脉内移植自体骨髓细胞的治疗方式是安全可行的。

2004 年,Wollert 等<sup>[13]</sup>完成了全球第一个临床随机对照研究试验,细胞移植组和对照组各 30 例,在心肌梗死后 4.8 d 经过冠脉内注射骨髓单个核细胞。随访 6 个月,MRI 检测终点左室射血分数,对照组增加 0.7%,骨髓单个核细胞移植组左室射血分数提高 6.7%,两者差异显著 ( $P=0.0026$ )。而最近公布这项试验的 18 个月随访结果显示:对照组左室射血分数在 18 个月后提高 3.1%,骨髓单个核细胞移植组增加 5.9%,两者差异无显著性意义 ( $P=0.27$ )。骨髓单个核细胞并未显示长期效果,但其安全性好,不增加感染、支架内再狭窄、心律失常、微血栓形成等临床不良反应发生率。当然这个临床试验虽具有随机性,但缺乏双盲性,研究中的对照组并没有接受骨髓穿刺,也没有实施冠脉内注射不含骨髓单个核细胞的悬浮液。

2002 年,海军总医院心内科<sup>[14]</sup>始采用自体骨髓单个核细胞经冠状动脉移植对比观察 38 例急性心肌梗死患者,3 个月随访 PET 发现,骨髓单个核细胞移

植组患者梗死区域有代谢活力心肌增加 ( $40.08 \pm 8.82\%$ ), 左室射血分数增加  $6.83\%$ , 而对照组单纯 PCI 手术者无改善。本科室完成了 36 例急性心肌梗死患者 2 年随访: 骨髓单个核细胞移植组 26 例, 左室射血分数 1 年保持增加  $5.79\%$  ( $P < 0.05$ ), 2 年增加  $3.79\%$  ( $P > 0.05$ ), 但 LVEDV、LVESV 无显著改善, 2 年心肌代谢缺损区减小  $30.76\%$  ( $P < 0.01$ ); 对照组 10 例左室射血分数略微有所减低, 但未构成统计学差异<sup>[15]</sup>。

2004 年, Fernandez-Aviles 等<sup>[16]</sup>报道 20 例急性心肌梗死患者, 发病后平均 13.5 d 经冠脉移植骨髓单个核细胞, 随访 6 个月 MRI 显示 LVESV 减低、左室功能改善, 梗死区壁厚增加。

最近, 德国 Schachinger 等<sup>[17]</sup>报道一项多中心、随机对照、双盲试验, 入选 204 例急性心肌梗死患者, 在成功再灌注后 3~7 d 分为两组, 组 1 行骨髓单个核细胞经冠脉注入, 组 2 行自体血浆经冠脉注入。4 个月随访与组 2 相比, 组 1 左室射血分数明显增加 ( $P < 0.01$ ); 1 年随访组 1 不仅左室功能改善, 而且明显改善复合终点事件比例 (包括死亡、再发心肌梗死和再血管化治疗)。

然而, 同期另一报道挪威学者 Lunde<sup>[18]</sup>入选 97 例急性心肌梗死患者, 于血管重建后 6 d 随机分为骨髓单个核细胞组 ( $n=47$ ) 与对照组 ( $n=50$ )。6 个月随访同时应用 SPECT, MRI, Echo 检测左室功能, 结果发现两组左室射血分数、LVEDV、梗死面积差异均无显著性意义。

骨髓单个核混合细胞移植虽然简单易行, 但是其细胞成分复杂, 干细胞含量极低, 向心肌细胞和血管内皮细胞分化的发生概率很低 (约为万分之一), 其修复梗死心脏作用很有限。近 2 年来临床试验结果显示, 这些细胞移植在改善急性梗死患者心肌功能提高左室射血分数在  $5\%$  左右, 而且并未能保持长期效果。对于骨髓单个核细胞移植改善缺血心脏功能的机制, 多数学者认为骨髓细胞移植改善缺血心脏功能的作用机制可能与血管生成有关, 且移植细胞的旁分泌、内分泌功能产生血管活性肽、细胞因子、生长因子等亦与改善心功能有关。

**4.4.2 内皮祖细胞移植治疗心肌梗死** 德国学者 Assmus 研究小组分别于 2002, 2003, 2004 年<sup>[19-21]</sup>报道了经冠脉内移植骨髓来源的或血液来源的内皮祖细胞治疗急性心肌梗死患者 (20 例、28 例、59 例), 结果表明两种来源的内皮祖细胞疗效相似, 提高左室射血分数程度随观察时间延长而增加, 随访 4 个月可增加  $2.5\% \sim 5\%$ , 随访 1 年可增加  $8\%$  以上, 并减少梗死面积, 并未观察到炎症反应和心律失常。然而, 这三项

系列研究均缺乏经冠状动脉内只注射悬浮液而不含祖细胞的随机对照, 并不能排除冠脉支架植入术后对左室功能的影响; 此外还存在观察时间短、样本量少等缺憾。因此, 仍需要大规模、随机试验的结果来进一步证实。

最近, 德国学者 Assmus<sup>[19-22]</sup>在原研究基础上, 入选 75 例陈旧性心肌梗死患者, 进行随机对照交叉研究 (TOPCARE-CHD), 随机分为骨髓单个核细胞组 ( $n=28$ )、外周血祖细胞 ( $n=24$ )、对照组 ( $n=23$ )。对照组随机接受外周血祖细胞或骨髓单个核细胞, 初次接受骨髓单个核细胞或外周血祖细胞的患者交叉接受这两种细胞。3 个月随访结果显示骨髓单个核细胞组左室功能优于其他两组, 与外周血祖细胞组比较, 左室射血分数显著增高 ( $P < 0.01$ )。

**4.4.3 CD133<sup>+</sup> 移植治疗心肌梗死** 2005 年 Bartunek 等<sup>[23]</sup>报道, 35 例急性心肌梗死患者直接支架血管重建后 11.6 d 分为 2 组: 第 1 组 ( $n=19$ ) 经冠脉灌注 CD133<sup>+</sup>  $12.6 \times 10^6$ , 第 2 组 ( $n=16$ ) 未给予细胞。随访 4 个月, 第 1 组左室射血分数从 ( $45.0 \pm 2.6\%$ ) 增加至 ( $52.1 \pm 3.5\%$ ), 差异显著 ( $P < 0.05$ ); 第 2 组左室射血分数无明显增加 ( $P > 0.05$ )。第 1 组左室区域缩短率从  $11.5\%$  升高至  $16.1\%$ , 而第 2 组无变化 ( $P > 0.05$ )。第 1 组灌注缺血区从  $28\%$  降低至  $22.5\%$ , 差异显著 ( $P < 0.05$ ); 而第 2 组无变化 ( $P > 0.05$ )。第 1 组不良反应明显, 2 例发生支架内再闭塞, 7 例支架内再狭窄; 第 2 组 4 例支架内再狭窄。

CD133<sup>+</sup> 细胞是单个核细胞群中一类纯化细胞, 能够多向分化, 具有非常高的倍增特性和较好的血管新生潜能。体内外实验均证实该类细胞具有分化为层状心肌内皮细胞的能力, 可改善心肌缺血, 利于心肌的修复。但研究发现 CD133<sup>+</sup> 表达血管内皮细胞受体 3, 主要在血管新生方面起作用, 而增加心肌收缩力作用较弱, 甚至增加再狭窄。

**4.4.4 骨髓间充质干细胞移植治疗心肌梗死** 陈绍良等<sup>[24]</sup>于 2004 年和 2005 年先后报道了 69 例急性心肌梗死患者, 直接 PCI 术后 19 d, 34 例接受移植自身血清培养出来的骨髓间充质干细胞, 35 例患者以注射盐水作为对照。随访 6 个月发现, 骨髓间充质干细胞移植明显改善左室功能 (升高  $18\%$ ), 未见与移植骨髓间充质干细胞相关的不良反应。但是, Dai 等<sup>[25]</sup>研究发现, 骨髓间充质干细胞移植虽然在梗死大鼠心肌内可存活长达 6 个月之久, 并表达肌肉和内皮细胞特征性蛋白, 但对整体心脏功能改善作用是短暂的, 即术后 4 周作用明显, 而术后 6 个月这种作用消失。

骨髓间充质干细胞有着干细胞的共同特性, 是各种间质细胞的前体细胞, 具有很强的增殖能力和多向

分化潜能。骨髓间充质干细胞含量很少,但是单个核细胞在体外可以扩增十倍而不丧失干细胞活性。目前可通过体外贴壁培养,或根据细胞表面的特异表达的分子来获得相对较纯的间充质干细胞群。2000年,Wang等<sup>[26]</sup>观察到骨髓间充质干细胞具有微环境依赖性分化,移植4周后开始表达肌球蛋白重链、收缩蛋白等成心肌细胞表型,形成缝隙连接,能够向心肌样细胞分化并可能替代宿主心肌细胞。此后进一步证实经冠状循环移植的骨髓间充质干细胞也能够定居心脏,并分化为心肌细胞、成纤维细胞、内皮细胞三种细胞系。Shake等<sup>[27]</sup>建立猪的心肌梗死模型后,将标记有Di-I的自体骨髓间充质干细胞注射入梗死心肌,2周后检测到心肌特异蛋白,4周后心脏收缩功能改善、室壁变薄减轻,移植的细胞能分化为心肌样细胞。

**4.4.5 干细胞移植治疗慢性缺血性心力衰竭** 2002年日本Hamano<sup>[11]</sup>研究小组首先在5例陈旧性心肌梗死患者行CABG的同时,进行了自体骨髓单个核细胞移植,显示3例患者心肌灌注得到长期改善。

2003年,Tse等<sup>[28]</sup>给8例严重缺血性心脏病患者借助NOGA系统经心内膜行自体骨髓单个核细胞点状注射移植,术后3个月MRI检测左室射血数未构成统计学差异,但心绞痛发作,心肌低灌注区明显改善。

2003年,Perin<sup>[29]</sup>对14例严重缺血性心力衰竭患者借助NOGA系统经心内膜行自体骨髓单个核细胞点状注射移植,术后4个月随访左室射血分数增加9%,左室收缩末容量减少16%。证实缺血心肌血流灌注和功能显著提高,未发现任何与手术相关的急性并发症和后遗症。

2003年始,解放军海军总医院对41例缺血性心力衰竭患者进行了对比观察,其中27例经冠脉骨髓单个核细胞移植,14例对照常规治疗。随访3个月,骨髓单个核细胞移植组左室射血分数增加10.49%,而对照组心功能恶化<sup>[30]</sup>。此后又对比观察28例终末期心力衰竭患者,14例进行了骨髓单个核细胞移植治疗。6个月随访全部存活,明显改善了生活质量,左室射血分数提高9.87%,而对照组14例半年死亡2例,再住院率71.4%,左室射血分数减低7.23%<sup>[31]</sup>。最近已完成26例慢性缺血性心力衰竭骨髓单个核细胞移植后2年随访<sup>[15]</sup>,14例对照。结果骨髓单个核细胞移植组1年、2年的左室射血分数持续增加8.8%、9.2% ( $P < 0.01$ ),LVESV保持下降20.4%、27.8% ( $P < 0.05$ ),2年心肌代谢缺损区减小23.67% ( $P < 0.05$ );对照组心功能明显恶化。显示骨髓单个核细胞移植的长期效果,慢性缺血性心力衰竭心功能改善优

于急性心肌梗死患者。

最近Strauer等<sup>[32]</sup>也报道18例慢性缺血性冠状动脉粥样硬化性心脏病患者,经冠状动脉移植骨髓单个核细胞,随访3个月发现梗死范围缩小30%,左室射血分数提高15%,梗死室壁运动速度增加57%,最大氧摄取增加11%,18-FDG摄取增加15%,而对照组以上指标均无改善。

Fuchs等<sup>[33]</sup>于2003年报道,对10例晚期冠状动脉粥样硬化性心脏病不能行任何方法的血管重建术者,应用新鲜仅经滤过未经分离的骨髓细胞在电标记指引下经心内膜注射,手术均成功,无并发症,无心律失常、无炎症、无瘢痕形成,加拿大心绞痛分级明显改善 ( $P = 0.001$ ),踏车运动试验改善但差异无显著性意义。此试验仅为初步研究,目前多数不赞成此种细胞选择。

2001年,Menasche等首先将成肌细胞移植应用于临床缺血性心力衰竭患者。2003年<sup>[34]</sup>该学者又对10例心肌梗死伴严重心衰患者在搭桥术同时行骨骼肌成肌细胞移植。随访10月余,心功能提高,心肌收缩功能改善,1例患者死于与移植无关的并发症,但4例发生了室性心动过速,都需要安装ICD。2004年Sirinilial等<sup>[35]</sup>对10例心肌梗死患者在冠脉搭桥同时移植骨骼肌干细胞,有2例于手术早期发生持续性室速,另2例于随访2周时出现持续性室速,其他患者须预防性应用胺碘酮以防止持续性室速发作。动物实验也发现,这些成肌细胞虽然在受损心脏内能形成新的肌肉组织(肌管),转变为耐疲劳的慢收缩肌纤维,但是不能表达连接蛋白43和钙粘连素。这两种蛋白质是心肌细胞之间的缝隙连接蛋白,缺乏这些蛋白,心肌细胞之间就不能实现电机械耦联。由此可见,其致心律失常危险仍是阻止骨骼肌干细胞临床应用的主要因素。

**4.5 干细胞移植治疗缺血性心脏病作用机制探讨** 目前,干细胞心肌内移植改善缺血心脏功能的机制尚未明确,但认为可能与下列机制有关:①移植细胞分化作用:移植细胞分化为心肌样细胞,作为修复心肌的原料,重建梗死心肌。②移植的细胞分化为内皮细胞和平滑肌细胞,形成新的血管来供应缺血心肌,拯救临近凋亡的心肌细胞。③促进宿主心肌的血管新生。④与宿主细胞建立了电-机械耦合,直接参与宿主心脏收缩。⑤移植细胞的自分泌、旁分泌功能,产生大量血管活性肽直接强心扩张血管。分泌产生大量细胞因子、生长因子因促进血管再生及侧支循环形成。⑥限制心室重构,移植细胞使心室壁增厚富有弹性从而限制了心室扩张与梗死区扩大。⑦新近研究认为移植细胞的旁分泌功能刺激心肌本身残存的干细胞增殖,可

起到再生心肌主导作用。

目前干细胞的多向分化潜能及可塑性已经得到公认,但由于对这一特殊的生物学现象的发生和调控机制认识还不清楚,干细胞是否具有横向分化能力是基础和临床研究两个领域中最大的争议,至今无任何研究能够肯定分化存在与否。尽管 Orlic 等发现 Lin<sup>-</sup>kit<sup>+</sup> 细胞能够在心脏中分化为具有心肌细胞特异蛋白表达的心肌样细胞,可重建梗死心肌,但仍存在一些分歧认识。2004 年 Nygren L 和 Murry 等研究<sup>[36-38]</sup>认为,移植骨髓造血干细胞并不能实现再生心肌和血管效应,移植的造血干细胞仅延着造血干细胞命运分化。针对这一质疑,2005 年 Orlic 研究组成员 Kajstura<sup>[39]</sup>重复了原来实验研究,并抨击 Murry 等研究方法存在问题而导致不正确的结果。由此可知,争论还在继续。Verfaillie 等认为目前所见分化现象是来源于成体组织中残存的胚胎样原始干细胞,而非成体干细胞;而 Terada 则提出所谓骨髓干细胞的分化表现,其实是干细胞与胚胎干细胞融合后产生胚胎样细胞,从而彻底否定了成体干细胞的不可塑性理论。但有研究发现,干细胞在不同时间点移植入大鼠梗死心脏后,心肌特异性标志物逐一表达逐渐增加,而如果发生细胞融合则应立即具备这些标志物,且表达水平稳定,因此肯定干细胞分化是存在的。另有研究将人外周血 CD34<sup>+</sup> 干细胞移植到小鼠心脏后发现细胞融合、分化两种现象并存,提示融合可能是隐藏在某些分化假象下的本质。在目前的临床试验中,本科室与 Wollert 研究<sup>[40]</sup>均发现干细胞移植后,短期与长期效果不一致,以及在缺血性心脏病不同病理基础下,干细胞移植长期效果的不一致性。因此干细胞对心脏修复的远期作用以及机制问题还有待深入探讨。近有巴西学者对 1 例接受过干细胞移植的患者进行尸检,在细胞植入部位发现毛细血管密度增加,无异常细胞形成,有周细胞增生,且这些细胞具备心肌细胞形态,含有收缩蛋白成分,认为干细胞有可能在心脏发生分化。虽然该研究样本仅为 1 例,分析结果时不排除偶然性因素,但是也能为细胞移植的临床应用提供一定有利证据。

**4.6 干细胞移植治疗缺血性心脏病目前存在问题** 虽然大多数临床研究已显示不同种类的细胞移植确实可改善心功能,但目前有临床试验显示,骨髓干细胞移植引起的心脏功能改善并不如人们想象中的那么明显,而且有报道移植这些干细胞可引起心律失常、微梗死、加重支架内再狭窄等不良反应。

以往人们对于干细胞移植的安全性争论主要集中在胚胎干细胞和骨髓干细胞方面,但是随着研究的深入,发现骨髓干细胞移植并不如人们先前认为的那样安全可靠,除上述所说的粒细胞刺激因子动员有

加重支架内再狭窄风险外,Vulliet 等<sup>[41]</sup>研究发现冠状脉内移植骨髓间充质干细胞会引起冠状动脉微梗死。Yoon 等<sup>[42]</sup>发现,注射未分选的骨髓细胞到急性梗死心肌会诱导心肌严重钙化。另有研究发现<sup>[43]</sup>,骨髓细胞有形成肿瘤血管之虞。Rubio 等<sup>[44]</sup>发现骨髓间充质干细胞在体外经长期培养可自发形成肿瘤样细胞。Zhang 等<sup>[45]</sup>研究结果显示,移植干细胞源性心肌细胞,可因这些细胞迁移到正常心肌中而加重梗死周边心肌细胞缺血,加重心肌细胞死亡。在移植路径方面,各种移植方式也存在各自优点和缺陷,心外膜下肌内注射最为直接可靠,便于术后分化细胞鉴定,但由于需要进行开胸手术,对某些心力衰竭晚期患者来讲可能难以承受,而且存在诱导心律失常、引起细胞回漏等不良反应。

## 5 结论

目前临床需要较大样本、随机、多中心临床试验。欧洲心脏病学会 2006 年 6 月发布的自体成年干细胞移植修复心肌临床研究方向:①大样本双盲随机对照应用自体骨髓干细胞治疗急性心肌梗死患者,规定时间窗在发病 12 h 内接受了直接 PCI 或溶栓血管重建者。②双盲随机对照应用自体骨髓干细胞治疗急性心肌梗死患者,发病 > 12 h,未行血管重建。③双盲随机对照应用自体骨髓干细胞或骨髓肌干细胞治疗缺血性心力衰竭患者;自体骨髓干细胞或前体细胞治疗心肌病,特别是扩张性心肌病临床研究。④系列的设计严谨的小样本安全性及机制研究,如细胞标记、旁分泌、自分泌机制研究。⑤验证单独应用细胞因子(粒细胞刺激因子)或与干细胞联合应用的危险性与益处比较。不需要的研究是小样本、缺乏对照的使用自体骨髓细胞的临床研究,因为这些研究不会增加新的发现<sup>[46]</sup>。深信经过以上严谨的科学设计,周密实施计划,成体干细胞移植在缺血性心脏病治疗上的价值、地位、意义必将予以揭示。

## 6 参考文献

- 1 Lange RA, Hillis LD. Reperfusion therapy in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2002; 346(13):954-955
- 2 Sutton MG, Sharpe N. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy. *Circulation* 2000; 101(25): 2981-2988
- 3 高连如, John Teerlink, Joel Karliner, 等. 慢性心力衰竭大鼠转化生长因子  $\beta$ -Smads 信号转导通路的调节异常[J]. 中华心血管病杂志, 2001, 29(3): 177-180
- 4 Fedak PW, Verma S, Weisel RD, et al. Angiogenesis: protein, gene, or cell therapy? *Heart Surg Forum* 2001; 4(4):301-304
- 5 Henry TD, Annex BH, McKendall GR, et al. The VIVA trial: Vascular endothelial growth factor in ischemia for Vascular Angiogenesis. *Circulation* 2003; 107(10):1359-1365
- 6 Kleimn, NS, Califf RM. Results from late-breaking clinical trials sessions at ACCIS 2000 and ACC 2000. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36(1):310-325

- 7 Mercadier JJ, Logeart D. Myocardial gene therapy. *Ach Mal Coeur Vaiss* 2002; 95(3):197-203
- 8 Thomson JA, Litskovitz-Elder J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998;282(5391):1145-1147
- 9 Orlie D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice. *Ann N Y Acad Sci* 2001;938: 221-229
- 10 Kamihata H, Matsubara H, Nishio T, et al. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation* 2001;104(9):1046-1052
- 11 Hamano K, Nishida M, Hirata K, et al. Local implantation of autologous bone marrow cells for therapeutic angiogenesis in patients with ischemic heart disease: clinical trial and preliminary results. *Jpn Circ J* 2001;65(9):845-847
- 12 Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002;106(15):1913-1918
- 13 Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet* 2004;364(9429):141-148
- 14 高连如,朱智明,王志刚,等.经冠状动脉自体骨髓单个核细胞移植修复梗死心肌的临床研究[J].中国介入心脏病学杂志,2004,12(5):265-269
- 15 高连如,王志刚,田海涛,等.经冠状动脉自体骨髓单个核细胞移植治疗缺血性心脏病二年随访[J].中华医学杂志,2007,87(10):685-689
- 16 Fernandez-Aviles F, San Roman JA, Garcia-Frade J, et al. Experimental and clinical regenerative capability of human bone marrow cells after myocardial infarction. *Circ Res* 2004;95(7):742-748
- 17 Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, et al. Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006;355(12):1210-1221
- 18 Lund K, Solheim S, Aakhus S, et al. Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006;355(12):1199-1209
- 19 Assmus B, Schachinger V, Teupe C, et al. Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002;106(24):3009-3017
- 20 Britten MB, Abolmaali ND, Assmus B, et al. Infarct remodeling after intracoronary progenitor cell treatment in patients with acute myocardial infarction. (TOPCARE-AMI): mechanistic insights from serial contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Circulation* 2003; 108(18):2212-2218
- 21 Schachinger V, Assmus B, Britten MB, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction: final one-year results of the TOPCARE-AMI trial. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44(8):1690-1699
- 22 Assmus B, Honold J, Schachinger V, et al. Transcatheter transplantation of progenitor cells after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006;355(12):1222-1232
- 23 Bartunek J, Vanderheyden M, Vanderkheve B, et al. Intracoronary injection of CD133-positive enriched bone marrow progenitor cells promotes cardiac recovery after recent myocardial infarction: feasibility and safety. *Circulation* 2005;112(9 Suppl):178-183
- 24 Chen SL, Fang WW, Qian J. Improvement of cardiac function after transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells in patients with acute myocardial infarction. *Chin Med J (Engl)* 2004;117(10):1443-1448
- 25 Dai W, Hale SL, Martin BJ. Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in postinfarcted rat myocardium: short- and long-term effects. *Circulation* 2005;112(2):214-223
- 26 wang J, shum T, Galipeau J, et al. Marrow stromal cells for cellular cardiomyoplasty: feasibility and potential clinical advantages. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 120(5):999-1005
- 27 Shake JG, Gruber PJ, Baumgartner WA. Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects. *Ann Thorac Surg* 2002;73(6):1919-1925
- 28 Tse HF, Kwong YL, Chan JK, et al. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet* 2003;361(9351):47-49
- 29 Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003;107(18):2294-2302
- 30 高连如,田海涛,朱智明,等.经冠状动脉自体骨髓单个核细胞移植治疗缺血性心力衰竭[J].中国介入心脏病学杂志,2005,13(6):386-390
- 31 Gao LR, Wang ZG, Zhu ZM, et al. Effect of intracoronary transplantation of autologous bone marrow-derived mononuclear cells on outcomes of patients with refractory chronic heart failure secondary to ischemic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2006; 98(5):597-602
- 32 Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Regeneration of human infarcted heart muscle by intracoronary autologous bone marrow cell transplantation in chronic coronary artery disease: the IACT Study. *J Am Coll Cardiol* 2005;46(9):1651-1658
- 33 Fuchs S, Sattler LF, Komowski R, et al. Catheter-based autologous bone marrow myocardial injection in no-option patients with advanced coronary artery disease: a feasibility study. *J Am Coll Cardiol* 2003;41(10):1721-1724
- 34 Menasche P, Hagege AA, Vilquin JT, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003;41(7):1078-1083
- 35 Siminiak T, Kalawski R, Fisz D. Autologous skeletal myoblast transplantation for the treatment of postinfarction myocardial injury: phase I clinical study with 12 months of follow-up. *Am Heart J* 2004;148(3):531-537
- 36 Nygren JM, Jovinge S, Breitbach M, et al. Bone marrow-derived hematopoietic cells generate cardiomyocytes at a low frequency through cell fusion, but not transdifferentiation. *Nat Med* 2004;10(5):494-501
- 37 Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature* 2004;428(6983):664-668
- 38 Balsam BL, Wagers JA, Christensen JL, et al. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature* 2004; 428(6983): 668-673
- 39 Kajstura J, Rota M, Whang B, et al. Bone marrow cells differentiate in cardiac cell lineages after infarction independently of cell fusion. *Circ Res* 2005;96(1):127-137
- 40 Meyer GP, Wollert KC, Lotz J. Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: eighteen months' follow-up data from the randomized, controlled BOOST (BOne marrow transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) trial. *Circulation* 2006;113(10): 1287-1294
- 41 Vulliamy PR, Greeley M, Halloran SM, et al. Intracoronary arterial injection of mesenchymal stromal cells and microinfarction in dogs. *Lancet* 2004; 363(9411):783-784
- 42 Yoon YS, Park JS, Tkebuchava T, et al. Unexpected severe calcification after transplantation of bone marrow cells in acute myocardial infarction. *Circulation* 2004;109(25):3147-3154
- 43 Davidoff AM, Ng CY, Brown P, et al. Bone marrow-derived cells contribute to tumor neovascularization, when modified to express an angiogenesis inhibitor, can restrict tumor growth in mice. *Clin Cancer Res* 2001;7(9):2870-2879
- 44 Rubio D, Garcia-Castro J, Martin MC, et al. Spontaneous human adult stem cell transformation. *Cancer Res* 2005;65(8):3035-3039
- 45 Zhang M, Methot D, Poppa V, et al. Cardiomyocyte grafting for cardiac repair: graft cell death and anti-death strategies. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33(5):907-921
- 46 Bartunek J, Dimmeler S, Drexler H, et al. The consensus of the task force of the European Society of Cardiology concerning the clinical investigation of the use of autologous adult stem cells for repair of the heart. *European heart journal* 2006; 27(11): 1338-1340

关于作者:由本文作者构思设计综述,并解析相关数据,经1次修改1次审核,作者对本文负责。

赞助情况:国家“八六三”计划(2006AA02Z469)。

利益冲突:无利益冲突。

伦理批准:没有与相关伦理道德冲突的内容。

此问题的已知信息:目前成体干细胞改善心功能的确切机制仍不清楚,但大量早期临床研究表明成体干细胞移植治疗缺血性心脏病是安全有效的,可以增加心肌灌注,认为其作用机制包括直接与间接效应。

本综述增加的新信息:虽然多数临床研究已证实不同种类的干细胞移植确实可改善心功能,但目前有临床试验显示,骨髓干细胞移植引起的心脏功能改善并不如人们想象中的那么明显,甚至可引起心律失常、微梗死、加重支架内再狭窄等不良反应。当前的研究方向是需要随机、双盲、安慰剂对照的多中心临床试验。