

急性心肌梗死后促进骨髓间充质干细胞有效归巢研究

叶力文,陈庆伟

(重庆医科大学,重庆 400010)

摘要:目的 就促进骨髓间充质干细胞归巢的各种方法如细胞因子、中成药及双向抗体的研究现状做一综述,为经远心途径增效骨髓间充质干细胞归巢的研究提供理论依据。**方法** 以"myocardial infarction,stem cells,home"为英文检索词;以"心肌梗死,干细胞,归巢"为中文检索词,检索万方、PubMed 数据库和维普数据库 2002 年 1 月~2013 年 1 月相关文献,纳入与心肌梗死、经远心途径、骨髓间充质干细胞及细胞因子、中成药、双向抗体调节骨髓间充质干细胞归巢的相关文献。**结果** 经远心途径调节骨髓间充质干细胞归巢提供了有效可行的治疗方式,通过细胞因子、中成药及双向抗体等联合间充质干细胞移植,经静脉、皮下、体腔、体外预处理等途径以相对安全、简便的方式提高见充值干细胞归巢率。**结论** 可以避免经冠脉或心肌穿刺带来的风险。但该疗法的还有很多问题尚待解决,尚待深入研究。

关键词:心肌梗死;骨髓间充质干细胞;归巢

Development in Improving the Homing Ability of Bone Mesenchymal Stem Cells

YE Li-wen,CHEN Qing-wei

(Chongqing Medical University,Chongqing 400010,China)

Abstract: Objective To review the progress of improving the homing ability of BMMSCs in the distal way by cytokines, traditional Chinese medicine and bi-antibody, provide a theoretical basis for the study of BMMSCs homing. **Methods** Documents in the PubMed, wanfang databases and VIP databases from January 2002 to January 2013 were searched by computer using key words of "stem cells, myocardial infarction, home" both in English and Chinese. Papers related to myocardial infarction, distal way, homing, revascularization of myocardial tissue. **Results** With the help of cytokine, traditional Chinese medicines and bi-antibody, transplanted mesenchymal stem cells can home effectively for the treatment of myocardial infarction. Via the subcutaneous, vein, body cavity, in vitro pretreatment, the effect infactors express relatively safe, convenient way to improve stem cell homing rate without coronary or cardiac puncture risks. **Conclusion** But this technology is not mature with many problems to be solved. The mechanism of various ways for the improvement of heart function and influence needs further study.

Key words: Myocardial infarction; Bone marrow mesenchymal stem cells; BMMSCs; Homing

心肌梗死是常见的病理过程,而成年心肌细胞却不能再生,因此需要寻找一种有效促使缺血受损心肌修复的方法。随着对干细胞研究的深入,其修复损伤组织的能力受到医学界的重视。大量动物实验以及临床研究已证实移植胚胎干细胞、骨骼肌成肌细胞、骨髓间充质干细胞等干细胞能使坏死心肌再生,因此干细胞移植成为心肌再生的重要方法,是心肌梗死患者康复的新希望。尤其是骨髓间充质干细胞移植成为目前研究热点。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMMSCs)是骨骼中一种多功能干细胞,在一般情况下进入到外周循环血中的 BMMSCs 数量极少,修复作用有限,需要经静脉回输提取的 BMMSCs 后,再动员其在受损心肌部位聚集以促进心肌细胞修复(其中细胞在受损位点迁移、识别、定位过程称为归巢)。目前动员细胞归巢的途径较多,主要分为:①心肌梗死定位注射;②经冠状动脉途径;③经静脉途径;④微循环途径(皮下或体腔注入);⑤体外预处理干细胞。因经静脉途径及皮下注射途径操作简单、对人体的损伤小、安全性高,引发医学界的关注^[1]。本文将对经静脉及微循环途径动员 BMMSCs 归巢现象及其机制进行综述。

1 资料与方法

1.1 一般资料 第一作者利用计算机检索万方数据库(<http://med.wanfangdata.com.cn>)、维普数据库(<http://vip.lnlip.net.cn>)及 PubMed 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Pubmed>) 中 BMMSCs 归巢的相关文献。检索英文关键词为"myocardial infarction; stem cell; home",中文检索关键词为"干细胞,心肌梗死,归巢"。检索时间为 2013 年 02 月 10 日,共检索文献 1000 余篇,为避免遗漏人工筛选出 10 余篇文献。

1.2 入选标准 纳入标准:文章所述内容必须与骨髓间充质干细胞归巢相关,并且需经静脉或皮下动员,优先选择 5 年内发表的在该领域具有代表性的文献。

排除标准:内容与本文宗旨不相符的文献,重复研究和 Meta 分析类文献。

质量评估:按照纳入排除标准进行筛选。

2 结果

2.1 细胞因子动员剂 近年来随着医学的发展,用细胞因子动员骨髓间充质干细胞游离到外周血,然后归巢受损心肌部位修复心肌组织方法,也是目前心肌梗死治疗方法研究较多方法。国内外有多项研究结果提示,骨髓间充质干细胞移植后能促进血管新生^[2],而其改善程度与间充质干细胞归巢数量相关^[3],且多个研究表明细胞因子动员后干细胞归巢率有显著增加。

2.1.1 心肌炎症 心肌损伤后的产生的炎症因子^[4]促进骨髓干细胞归巢的重要条件,提示骨髓干细胞归巢于缺血心肌是机体潜在的修复机能。组织炎症时局部趋化因子精确地控制着炎症细胞的趋向运动,趋化性细胞因子和其受体相互作用使白细胞选择性地进入炎症组织,而骨髓移植研究表明造血干细胞的归巢途径亦是由趋化分子和黏附分子介导的极联反应,缺血心肌组织存在炎症反应,表达多种趋化因子于心肌梗死部位微环境中,引导骨髓间充质干细胞归巢。

2.1.2 粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony stimulating factor, G-CSF) G-CSF 是骨髓细胞琼脂培养中能特异性促进中性粒细胞集落形成的因子,其作用是诱导骨髓前体细胞的增殖、分化为成熟的中性粒细胞。冯金华^[4]研究发现静脉应用 G-CSF,确实大大提高了骨髓间充质干细胞在心肌内发生归巢的程

通讯作者:陈庆伟,出生年月:1962,性别:男,籍贯:重庆,学历:博士,职称:主任医师,研究方向:老年心血管方向,单位:重庆医科大学老年科,Email:420793458@qq.com。

收稿日期:2014-02-10

度,骨髓间充质干细胞在心肌内的归巢后能发挥其促心肌细胞再生作用;经过进一步的对比还发现在 G-CSF 动员的基础上发生心肌梗死的心肌内骨髓间充质干细胞归巢的数量远远超过没有发生心肌梗死的心肌,而在未经 G-CSF 动员的心肌内即使发生心肌梗死骨髓间充质干细胞归巢的数量也无显著增加,说明 G-CSF 对骨髓间充质干细胞归巢的影响是不受心肌梗死干预的。国内学者吴祖常等^[5]研究发现经皮下输入 G-CSF 与 SCF 联用可促进 BMMSCs 向心肌梗死区域迁移和聚集,这可能与细胞因子之间的协同作用有关,但其单独应用则无该效应,与其它研究不符,需进一步研究。

2.1.3 基质细胞衍生因子 1 (stromal cell-derived factor 1, SDF-1) SDF-1 属于 CXC 趋化因子,其唯一受体是 CXCR4。庄瑜等^[6]对大鼠心肌梗死模型研究予 SDF-1 及 anti-SDF-1 处理后,发现心肌梗死后早期梗死区 SDF-1 的表达明显增高,而且 SDF-1 可以促进骨髓间充质干细胞归巢到损伤心肌中并且改善心功能。Jun-Ming Tang^[7]用表达 VEGF 的骨髓间充质干细胞移植到大鼠体内,研究发现 VEGF 通过与 VEGF-1 及 VEGF-3 结合,刺激心肌梗死区附近心肌细胞表达 SDF-1,通过 SDF-1:CXCR4 途径使骨髓间充质干细胞归巢,并通过刺激内皮血管再生改善心功能,具体机制尚不明确,需进一步研究。

2.1.4 血管细胞粘附分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) ICAM-1 和 VCAM-1 属于免于球蛋白超家族成员,是组织中分布最广的粘附分子。吕浩敏^[8]等学者研究中发现,予适量炎症因子 IL-1B 经小鼠尾静脉注射后,能增加 BMMSCs 表面 VCAM-1 黏附分子的表达,进而促进与血管内皮细胞的稳固黏附,从而增加穿越血管内皮细胞单层到达损伤组织的 BMMSCs 数量,实现 BMMSCs 移植治疗的靶向性和有效性。

2.1.5 Kv2.1 钾通道 经 Xinyang Hu^[9]等学者对心肌梗死模型研究表明,对骨髓间充质干细胞进行低氧预处理,提高其表达 Kv2.1 钾通道,进而增加局部粘着斑激酶(Focal Adhesion Kinase, FAK)磷酸化和 BMMSCs 移迁能力,若敲除 Kv2.1 基因或者抑制 Kv2.1 钾通道活性均可以明显抑制氧预处理的作用。

2.1.6 胰岛素样生长因子-1(IGF-1) 国内学者张爱东、郭军^[10]研究表明,体外 IGF-1 预处理提高了 BMMSCs 的趋化因子受体-4(CXCR-4) 表达,通过使用中和 IGF-1 的抗体而抑制了 CXCR-4 的提高。CXCR-4 的表达具有时间和剂量依赖性,IGF-1 通过增加 BMMSCs CXCR-4 的表达从而增加了移植细胞的归巢数量,进而提高 MSCs 的心肌修复效果。

2.2 抗体在调节间充质干细胞归巢的应用 目前医学界对抗体机制研究较多,其特异性识别靶向位点的能力已得到公认。目前抗体在携带药物靶向治疗、抗体免疫荧光特异性标记、抗体引导细胞定向转移等运用中发挥这巨大的作用,是科研及临床治疗中的重要手段。运用抗体靶向引导骨髓间充质干细胞归巢已成为趋势,为心肌梗死病人的康复带来新的希望。

2.2.1 基于化学偶联的双向抗体 国内学者邓玮等^[11]运用化学偶联方法制作双向抗体促进骨髓间充质干细胞靶向归巢。利用 anti-CD29 能特异性识别骨髓间充质干细胞,以及抗肌凝蛋白轻链抗体(Anti-myosin light chain antibody, AMLCA)能特异性结合损伤心肌的特性,制备成双向抗体(CD29×AMLCA),该双向抗体能特异性的与经静脉注入血液循环的骨髓间充质干细胞结合后,经血液循环到达受损心肌,特异性引导 MSCs 归巢至心肌梗死部位,促进受损部位心肌修复。

2.2.2 靶向移植增效间充质干细胞归巢 利用超声波的空化效应^[12]可以将脂质制作脂质微泡,并以此为载体结合抗体可形成主动靶向治疗单位,邓玮等学者^[13]基于该原理制作脂质微泡,并以此为载体融合,制备成 CD29×AMLCA 双向抗体,该双向抗体抗体与骨髓间充质干细胞结合后,经血液循环到达受损

心肌,特异性引导 MSCs 归巢至心肌梗死部位,修复受损心肌。2.3 中药方剂在干细胞移植治疗心肌梗死的应用 中药是中国医学史的重要组成部分,它具有取材方便、价格低廉、不良反应小的优势,给干细胞的定向分化提供新的思路和方法。有研究者将干细胞移植与中药相结合,起到协同增效的作用,发挥了中西医结合的优势。目前已有多钟中药制剂干预骨髓干细胞定向分化的报道,但其主要作用是促进心肌梗死区域微循环形成及改变血液流变学。

2.3.1 养心通脉有效部位方 养心通脉有效部位方主要成分包括人参、丹参、桂枝、泽泻、枳实等多味中药。李勇华^[10]等学者利用大鼠心肌梗死模型研究表明,通过腹腔注射的方式,将该中药方剂能使降低冠状动脉阻力,增加冠状动脉血流量,显著改善微循环等作用,以促进间充质干细胞归巢并减小心肌梗死面积,并且与 G-CSF 联用后可进一步改善心功能。

2.3.2 护心康 护心康片剂由生蒲黄、瓜蒌壳、远志、旋覆花、玉竹、山楂、茯苓、茜草等中药精制加工而成。李新^[11]等学者研究发现,经尾静脉注射骨髓间充质干细胞后,予护心康灌胃后,骨髓间充质干细胞向心肌梗死区域归巢数量明显增加,心功能也得到改善,考虑护心康增强其归巢的能力可能是心功能改善机制之一。

3 讨论

细胞因子、中成药及双向抗体联合间充质干细胞移植,可促进干细胞归巢,为临床治疗心肌梗死提供有效的办法。经静脉、皮下、体腔、体外预处理等途径提高见充质干细胞归巢率,可以避免经冠脉或心肌穿刺带来的风险。但经该技术还有很多问题尚待解决,需进一步研究。诸如运用上述治疗手段的最佳时机、最佳数量、明确的机制,对其定向分化的影响、多种方式联用的相互作用以及对心功能改善程度的影响等虽已有相关研究,但还需要进一步的探讨阐明。

参考文献:

- [1] Michael L, Michael M, Andrea B, et al. Intravenous and intramyocardial injection of apoptotic white blood cell suspensions prevents ventricular remodelling by increasing elastin expression in cardiac scar tissue after myocardial infarction [J]. Basic Res Cardiol, 2011, 106(4): 645-655.
- [2] Tbmota S, Mickle DA, Weise RD, et al. Improved heart function with myogenesis and angiogenesis after autologous porcine bone marrow stromal cell transDlantatIOn [J]. Thorac Cardiovasc Surg, 2011, 59(4): 231-236.
- [3] 杨春,蔡萍.大鼠心肌梗死后心肌炎症与骨髓干细胞归巢于缺血心肌的关系[J].中国临床康复,2006,10,10.
- [4] 冯金华,李玉光.粒细胞集落刺激因子对 CD34 骨髓干细胞在心肌内归巢的影响[J].第四军医大学学报(J Fourth Mil Med Univ)2006,27(19).
- [5] 梁洋,吴迪.重组人粒细胞集落刺激因子动员急性心肌缺血大鼠自体骨髓干细胞归巢缺血心肌的短期安全性评价[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,03,05,13.
- [6] 庄瑜,陈鑫.基质细胞衍生因子 1 在骨髓间质干细胞归巢到急性梗死心肌中的作用[J].江苏医药,2007,6,633(4).
- [7] Jun-Ming T, Jia-Ning W, et al. VEGF/SDF-1 promotes cardiac stem cell mobilization and myocardial repair in the infarcted heart[J]. Cardiovasc Res, 2011, 91(3): 402-411.
- [8] 吕浩敏,王爱玲.黏附分子在骨髓间充质干细胞的表达及向心肌梗死区归巢的作用[J].安徽医科大学学报,2012,4,47(4).
- [9] Xinyang H, Ling W, et al. Hypoxic preconditioning enhances bone marrow mesenchymal stem cell migration via Kv2.1 channel and FAK activation [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2011, 301(2): C362-C372.
- [10] 李勇华,袁肇凯.养心通脉有效部位方与急性心肌梗死大鼠骨髓间充质干细胞的动员及定向归巢[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,06,04,14(23).
- [11] 邓玮,陈庆伟.双特异抗体增效骨髓间充质干细胞干预心肌纤维化[J].重庆医科大学学报,2011,36(2).
- [12] Rychak J J, Klibanov A L, Leppanen A, et al. Enhanced binding of ultrasound contrast microbubbles targeted to P-selectin using a physiological capture ligand [J]. FASEB J, 2004, 18(3): A446.
- [13] WEI D, QING-WEI C, et al. Bone marrow mesenchymal stromal cells with support of bispecific antibody and ultrasound-mediated microbubbles prevent myocardial fibrosis via the signal transducer and activators of transcription signaling pathway[J]. Cytotherapy, 2011, 13: 431-440.
- [14] 卢仁荣,陈良龙,钟玲,等.同种异体骨髓间充质干细胞转染连接蛋白 43 基因后移植对心肌梗死大鼠心功能的影响[J].中国循环杂志,2008,23: 467-470.
- [15] 张爱东,郭军.胰岛素样生长因子-1 预处理对大鼠骨髓间充质干细胞移植效率及心肌修复的影响[J].中国循环杂志,2011,2,26(1).
- [16] 李新,朱莹.护心康联合静脉骨髓间充质干细胞移植对急性心梗后大鼠心功能的影响[J].医药导报,2012,2,18(2).

编辑/申磊

FloTrac/Vigileo 系统围术期血流动力学监测的局限性

裴树俊,米卫东

(解放军医学院 & 解放军总医院麻醉手术中心,北京 100853)

摘要: FloTrac/Vigileo 监测系统是通过分析外周动脉压力波形监测循环指标的新型技术,它相对于传统的监测循环指标的漂浮导管属于微创技术。目前的研究证明,在低动力循环或正常循环条件下或在血管弹性变化不剧烈时 Vigileo 系统能够可靠的用于临床监测,但在高动力性循环时即使最新版本的 Vigileo 系统也不能保证监测的准确性。本文对 Vigileo 监测系统作一综述以及讨论它临床应用的局限性。

关键词: FloTrac/Vigileo 系统;局限性;心输出量;每搏量变异;容量管理

心排血量(cardiac output,CO)和每搏输出量(stroke volume,SV)的监测对于重大手术患者及危重患者有很重要的诊断和指导治疗意义。肺动脉置管(pulmonary arterial catheter,PAC)热稀释法作为临床测定 CO 的金标准已被广泛应用,然而这项技术操作复杂,导管相关性感染较多,同时又是非连续性,对于病情变化快,需要连续血流动力学监测的危重患者应用受到限制^[1]。FloTrac/Vigileo 监测系统是近年来应用于临床的一种微创、操作简单、并发症少的循环指标监测系统。它是通过分析外周动脉压力波形信息连续计算 CO,SV、每搏量变异(stroke volume variation,SVV)等血流动力学指标^[2]。目前为止,尽管很多研究发现 FloTrac/Vigileo 监测系统在冠脉搭桥手术患者或其他高风险手术患者能够准确监测 CO 和判断容量状态^[3]。但是,也有不少研究证明了 FloTrac/Vigileo 系统应用的局限性^[6,18,19]。本文将 FloTrac/Vigileo 系统围术期血流动力学监测的局限性综述如下:

1 FloTrac/Vigileo 系统应用原理

FloTrac/Vigileo 监测系统是由爱德华公司研发的基于动脉压力波形监测 CO 的微创技术,由主机、光学模块和 FloTrac 传感器等组成。通过连接患者桡动脉或股动脉产生的压力信号,输入患者的身高、体重、年龄、性别等一般资料,衡量患者血管顺应性指标,连续计算出患者的 CO、心指数(cardiac index,CI)、SV、SVV 等血流动力学指标。监测 CO 原理依然是以 $CO = PR \times SV$ 公式为基础,通过 FloTrac 公式, $APCO = PR \times (\sigma AP \times \chi)$ 计算瞬时的 CO。其中,PR 为 FloTrac 传感器经患者外周动脉采集的脉率, FloTrac 系统通过对动脉压力波形进行分析,应用统计分析计算脉搏压特性;通过动脉波形的上升来识别心跳周期,计算出心率。SV 是 σAP 与 χ 的乘积, σAP 代表动脉压力标准差,是评估脉搏压的指标; χ 是通过对动脉波形分析得出的函数,是系统从人口统计学资料中评估不同患者的差异性和校准血管的差异性(顺应性和阻力);最后通过对单位时间内的血压数据和波形分析来测得 CO。

通讯作者:米卫东(1962-),教授,博士生导师,解放军总医院麻醉手术中心主任,邮箱:wdmi301@sina.cn。

收稿日期:2014-02-10

SVV 是近年来用于预测机体对于液体治疗反应性的重要的功能性血流动力学参数,也是 FloTrac/Vigileo 监测系统的一项重要指标。在机械通气过程中随着胸腔内压力的周期性变化,SV 也会发生周期性变化,SVV 就是基于机械通气时心肺交互作用这一原理,通过记录单位时间内每次心脏搏动时的 SV,计算出它在该段时间内的变异程度。其计算公式为: $SVV = (SV_{max} - SV_{min}) / SV_{mean} \times 100\%$ 。

2 FloTrac/Vigileo 系统版本更新

为了提高监测循环指标的准确性和精确性,到目前为止爱德华公司共更新了三代 Vigileo 系统。第二代 Vigileo 系统和第一代比较,在数据库中添加了高风险手术患者资料,而且显示监测结果时间缩短为 1min。为了改进 Vigileo 系统在高动力性循环状态和器官移植方面的缺陷,第三代 Vigileo 系统数据库又收录了脓毒症患者和肾移植患者资料^[4,5]。

3 FloTrac/Vigileo 系统应用局限性

3.1 FloTrac/Vigileo 系统监测 CO FloTrac/Vigileo 系统动脉压力波形分析技术所基于的理论基础是:主动脉搏动压与每搏量成正比,与主动脉的顺应性成反比。根据 Vigileo 系统监测 CO 的机制我们不难看出,影响血压变化的因素很大程度上影响了 CO 的测量。例如血管弹性和顺应性,这些都是不依赖实际 CO 变化而变化的。虽然理论上 Vigileo 系统能够校正这些变化,但是在血管弹性和顺应性变化剧烈时系统校正有可能过度或不足,从而导致系统监测 CO 很大程度单纯依赖血压的变化。

近 10 年来,关于 Vigileo 系统临床应用的研究越来越多,每年的增长速度也是惊人的。的确,通过这些研究人们发现,患者在正常或低动力性循环状态而且血管弹性变化不剧烈的情况下,Vigileo 系统可作为临床监测 CO 的理想工具。但是临幊上需要监测 CO 的患者多数循环系统是不稳定的,因此很多研究者报道了影响 Vigileo 系统监测 CO 准确性的情况,这些情况主要包括外周阻力(systemic vascular resistance, SVR)降低、应用血管活性药物或血流动力学极度不稳定、肝移植手术、儿童患者、监测点因素等^[4]。

Metzelder 等发现颅内出血患者 SVR 降低时,第二代甚至第三代 Vigileo