

骨髓间充质干细胞治疗心肌梗死的研究进展

杨关林*, 李 峥[△], 陈 岩, 张 哲

(辽宁中医药大学附属医院心内科, 沈阳 110032)

中图分类号: R541.1

文献标识码: A

文章编号: 1006-2084(2009)01-0034-04

摘要: 骨髓间充质干细胞是一种多能干细胞, 在一定条件下具有分化为各种组织的能力。心肌梗死是心血管病中最常见、最危重的病症之一, 在全世界有很高的发病率。骨髓间充质干细胞治疗心肌梗死为心血管疾病的治疗提供了新的思路。现就骨髓间充质干细胞治疗心肌梗死的研究现状予以综述。

关键词: 骨髓间充质干细胞; 心肌梗死; 细胞移植

Progress about Mesenchymal Stem Cell Therapy for Myocardial Infarction YANG Guan-lin, LI Zheng, CHEN Yan, ZHANG Zhe. (Department of Cardiology Hospital Affiliated to Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China)

Abstract: Mesenchymal stem cell is a multipotent stem cell, which can differentiate into a variety of organizations under certain conditions. Myocardial infarction is the most common and the most severe cardiovascular disease with a high incidence rate in the world. The method of treating myocardial infarction with mesenchymal stem cell provides a new idea for the treatment of acute cardiovascular disease. This article reviewed the research progress of mesenchymal stem cells in treating myocardial infarction.

Key words: Mesenchymal stem cells; Myocardial infarction; Cell transplantation

传统观念认为心肌细胞属于永久性的、不可再生的细胞, 心肌缺血、损伤、坏死以及心肌细胞凋亡引发的心肌梗死 (myocardial infarction, MI)、心律失常、心力衰竭等是不可逆转的心血管疾病。自从 1998 年 Anversa 等^[1] 利用激光扫描共聚焦显微镜观察发现, 正常成熟的心肌细胞也具有分裂和增殖能力, 这挑战了“心肌是永久性细胞”的观念。但是心肌细胞的分裂和增殖能力毕竟有限, 难以弥补大量坏死的心肌。近来细胞移植领域受到越来越多的关注, 而干细胞的研究也成为心血管疾病治疗的热点。干细胞是一类具有自我更新与增殖分化能力的细胞, 能产生表现型与基因型和自己完全相同的子细胞, 同时还能分化为祖细胞。

目前用于治疗心血管疾病的干细胞主要是骨髓干细胞、胚胎干细胞、骨骼肌干细胞等, 其中骨髓干细胞最具应用前景。骨髓干细胞主要包括骨髓造血干细胞、骨髓间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 和内皮祖细胞, 其中 MSCs 由于具有多向分化潜能 (包括神经、心肌细胞、肺上壁细胞、软骨、骨、肝脏细胞等) 而倍受研究者关注。MSCs 不仅具有干细胞的可塑性, 而且取材方便, 体外可以迅速增殖, 可以通过骨髓穿刺进行自体细胞移植, 避免免疫排斥反应及移植植物抗宿主病的发生, 因此具有其他供体细胞不可比拟的优势, 有望用于治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病、MI、晚期心功能不全及心肌退行性疾病。本文就 MSCs 移植治疗 MI 予以综述。

1 MSCs 研究近况

1.1 MSCs 的起源 间充质干细胞这一概念是 1987 年由 Owen 等^[2] 在 Friedenstein 工作的基础上提出来的。MSCs 是一群中胚层来源的具有自我更新和多向分化潜能的多能干细胞, 存在于骨髓基质中。Friedenstein 等^[3] 从鼠的造血器官中发现呈纺锤状的基质细胞, 且

证明其在体外可以分化为骨细胞及脂肪细胞。因这种细胞能够克隆成纤维细胞的祖细胞, 因此又称为成纤维细胞克隆形成单位。

1.2 MSCs 的特性 MSCs 具有以下特性^[5]: ①免疫原性低。研究表明, MSCs 不表达主要组织相容性复合物 II 类分子和 FasL, 不表达共刺激分子 B7-1、B7-2, 低水平表达或不表达主要组织相容性复合物 I 类分子、CD₄₀、CD₄₀L。②可塑性强。MSCs 具有多向分化潜能, 体外可以诱导分化为心肌细胞、成骨细胞、脂肪细胞及神经细胞等。③传代过程中遗传背景稳定。传代 20 次不丧失其分化特性, 也有实验室报道体外扩增 50 代而未见细胞有生物学特性改变。

MSCs 识别的基本特征为: ①骨髓来源, 占骨髓单个核细胞的 1/万~1/10 万; ②体外培养呈贴壁生长, 尤其易贴附于塑料器皿, 形态呈成纤维样集落形成单位; ③分化的组织类型广泛, 能够自主增殖, 至少可以分化为 3 种以上间质细胞系^[4]; ④传代过程中遗传背景稳定, 传代 20 次不丧失其分化特性^[5]; ⑤MSCs 具有独特的表型, 表现为 SH2、SH3、CD₂₉、CD₄₄、CD₇₁、CD₉₀、CD₁₀₆、CD_{120a}、CD₁₂₄ 及 CD₁₆₆ 阳性, 而 CD₁₄、CD₃₄、CD₄₅ 阴性^[5]; ⑥MSCs 具有较长的端粒, 在培养过程中不缩短, 即使连续多代培养细胞也能维持正常染色质组形及端粒活性。MSCs 具有很强的体外培养扩增潜力, 增殖旺盛, 其平均倍增时间为 30 h, 10% 的细胞处于 S 期^[6], 细胞可扩增 15~70 个

倍增周期^[7,8];⑦细胞过度增殖后将失去其多能分化能力,趋于衰老,或表现为细胞凋亡特征^[9]。

1.3 MSCs 的获得 MSCs 的分离纯化的方法主要有 3 种:①全骨髓法:取骨髓体外培养,反复涤除悬浮细胞,最后留下贴壁生长的细胞即为 MSCs;②密度梯度离心法:依据骨髓细胞的比重差异进行密度梯度离心(通常用 1.073 g/m 的 Percoll),分离出单个核细胞层,按照标准密度接种于含低浓度(10%)胎牛血清的低糖 DMEM 培养基中培养,去除悬浮细胞获取 MSCs;③通过 MSCs 表面抗原标志,利用流式细胞仪或免疫磁珠分选技术进行分离纯化获得。Hung 等^[10]通过带有 3 μm 孔径的塑料培养皿直接由骨髓筛选出 SS (size sieved cells) 细胞,成功获得高纯度的 MSCs。

2 MI 的治疗现状

MI 是一种不可逆的心肌损伤,目前,临幊上对于 MI 和 MI 后慢性心功能不全的常用治疗手段主要包括药物治疗、内科介入治疗、外科手术治疗,基因治疗尚处于临幊实验阶段,对于终末期的心功能不全患者,心脏移植是挽救他们生命的惟一办法。

2.1 药物治疗 MI 的药物治疗包括早期的静脉溶栓、抗凝、抗血小板治疗,同时根据患者情况,服用血管紧张素转换酶抑制剂、血管紧张素Ⅱ受体拮抗剂、β 受体阻断剂、他汀类降脂类药物、硝酸盐、醛固酮受体拮抗剂等,这些药物在一定程度上可以缓解患者症状。

2.2 内科介入治疗 心脏内科的介入治疗主要包括经皮冠状动脉腔内成形术、冠状动脉内支架植入术、冠状动脉旋切术、经皮经导管心肌激光成形术等。经过 20 余年的临幊实践和技术的不断改进,介入治疗已成为心血管疾病治疗的有效手段。但是,经皮冠状动脉腔内成形术球囊扩张术后由于血管损伤刺激可造成血管重塑和内膜增生,再狭窄率高达 20%~50%。

2.3 外科手术治疗 外科冠状动脉旁路移植术对陈旧性 MI、三支病变、不宜内科介入治疗的患者提供了一定的帮助,但对于冠状动脉远端血运不佳及侧支循环不好的患者的应用也存在困难,而且术后的移植血管病也在困扰着临幊外科医师和患者。心脏移植手术从理论上可以根治各种原因造成的晚期心功能衰竭,由于异体心脏移植供体来源缺乏、移植排斥反应、移植组织功能衰竭及高昂的费用限制,难以在临幊上广泛应用。心脏移植手术从理论上可以根治各种原因造成的晚期心功能衰竭,美国仅 1998 年 1 年就进行了 2340 例心脏移植手术。但与临幊需求相比仍是杯水车薪。由于异体心脏移植供体来源缺

乏、移植排斥反应、移植组织功能衰竭及高昂的费用限制,难以在临幊上广泛应用。

由于溶栓治疗、介入治疗、外科治疗等方法的开展,MI 患者的病死率明显下降,存活患者的生活质量也得到明显改善,随之而来的是冠状动脉粥样硬化性心脏病晚期心力衰竭的患者增加。但目前所有的治疗方法都不能使患者已有的心肌病得到逆转,尤其是大面积 MI 后心肌工作细胞大量不可逆丧失,最终必然导致心力衰竭。当前治疗严重心力衰竭目标主要是减少室壁张力和心肌耗氧量,它包括药物治疗、降低心脏负荷(心脏辅助装置)、协调机械节律(心室同步化)、通过减少心室尺寸来恢复心室几何形状以及瓣膜修复等方法,这些方法在临幊应用中受到各种各样的限制,其延长寿命和改善生活质量效果亦有限。因此,寻找一种能够改变 MI 自然进程更新的、更符合生理机制和更加有效的治疗方法成为 MI 治疗的当务之急。

细胞治疗应运而生,最近几年干细胞技术的发展使细胞治疗在心脏病中的应用达到了一个新的高潮,短短几年,MI 的骨髓源干细胞治疗即从动物实验过渡到了临幊。

3 MSCs 治疗 MI 的研究进展

3.1 MSCs 移植治疗 MI 的动物实验研究 心肌细胞丢失、瘢痕的形成及心室重构是造成心肌功能恶化的主要原因。方五旺等^[11]用 5-氮胞苷诱导 MSCs 向心肌细胞分化,用血管内皮生长因子 B 诱导向血管内皮细胞分化。异丙肾上腺素法制成 NOD/SCID 小鼠心肌损伤模型,经尾静脉注入标记的 MSCs。免疫荧光法检测 MSCs 的体内外分化。结果显示,在体外,经诱导的 MSCs 表达肌凝蛋白重链和肌钙蛋白 I、VII 因子相关抗原和 CD₃₁;在体内,标记的 MSCs 表达阳性的肌凝蛋白重链和 VII 因子相关抗原。结果说明 MSCs 可分化为心肌和血管内皮细胞,是心血管再生医学的理想种子细胞。并进一步证实了经冠状动脉内注射自体 MSC 治疗 MI 的有效性和可行性。

程芮等^[12]通过冠状动脉、心外膜、心内膜 3 种途径移植 MSCs 于小型猪 MI 模型,证实以上 3 种途径均可改善 MI 后心功能。经冠状动脉移植不是最佳途径,心肌内注射效果更好,移植的 MSCs 体内定位明确,心功能有改善,并有心肌相关蛋白的表达,并说明体外扩增 MSCs 体内移植安全,各重要脏器功能及结构正常。宋晓蓉等^[13]研究报道,自体 MSCs 移植于缺血的心肌组织中,发现 MSCs 可向心肌细胞分化,并增加心肌血流灌注,改善心肌收缩功能。

3.2 MSCs 移植治疗 MI 的临床试验研究

目前临

床研究较多的是,应用骨髓干细胞来治疗由 MI 所造成的细胞丢失和瘢痕的形成。

2004 年, Wollert 等^[14]进行了第一个随机、对照的临床研究——BOOST 试验。60 例 MI 患者经经皮冠状动脉介入治疗后分为 2 组,一组经冠状动脉注入自体 MSCs,另一组药物治疗。结果显示,6 个月后试验组左室射血分数较对照组增加 617%,随访 18 个月左室射血分数仍有改善,提示白体骨髓单核细胞能阻止 MI 后舒张功能不全的进展。研究者认为,左室射血分数增加的原因是介入、药物和细胞治疗综合作用的结果。TOPCARE-AMI 和 BOOST 试验随访 12 个月和 18 个月未见到心肌钙化和肿瘤形成。2004 年,韩国学者 Kang 等^[15]将粒细胞集落刺激因子动员后的外周血单核细胞在经皮冠状动脉介入治疗术后注入梗死相关动脉(MAGIC 试验),随访 6 个月,无心力衰竭、心律失常和心绞痛恶化现象,无死亡事件发生。细胞输注组肌酸激酶-同工酶水平增加了 65%,7 例患者发生了支架内再狭窄,被迫提前终止试验。2004 年,李占全等^[16]在常规治疗 MI 的基础上,将粒细胞集落刺激因子动员后的外周血单核细胞在经皮冠状动脉介入治疗术后注入患者的梗死相关动脉,不良反应率为 11.1%,无死亡等严重并发症发生。该研究认为,经皮经腔冠状动脉内移植自体外周血单核细胞治疗 MI 是安全可行的。2005 年,在 STEMMI 试验中,41 例 MI 患者在经皮冠状动脉介入治疗术后被随机分为粒细胞集落刺激因子组和对照组。随访 5 个月,经血管内超声和冠状动脉造影证实粒细胞集落刺激因子并没有增加支架内再狭窄,两组之间差异无显著性,这与 MAGIC 试验结果有所不同^[17]。同年,在 POZNAN 试验中,10 例 MI 后心力衰竭的患者应用 TransAccess catheter system 经冠状静脉注入自体 MSCs,9 例操作成功,1 例失败。随访 6 个月,所有患者纽约心功能分级均有改善,6 例左室射血分数增加 3%~8%^[18]。现有的临床证据初步表明,干细胞治疗可能是有效的。但是目前干细胞移植技术还很不成熟,仍然存在许多问题有待解决,如移植的干细胞可否引起心律失常、微梗死、心肌钙化、肿瘤形成、加重支架内再狭窄,干细胞能否再生梗死心肌,干细胞治疗是否安全,如何客观评价其移植疗效,其确切作用机制如何,移植的干细胞数量和临床症状改善之间的关系,移植干细胞的最佳类型、最佳时间窗和最佳途径等^[19]。

3.3 MSCs 移植治疗 MI

3.3.1 MSCs 移植改善心脏功能的机制研究 MSCs 移植的确可以使 MI 后心脏的功能得到改善,这一点已得到很多实验的证实,但确切的机制目前仍未得

到完全的阐明。细胞移植后之所以能够改善局部和全心功能的可能机制是:①移植细胞与宿主细胞之间建立了电-机械耦合,直接参与了宿主心脏的收缩。②移植细胞分泌的生长因子促进心肌产生收缩能力。③由移植细胞分泌的血管源性因子诱导血管形成,使侧支循环增多,通过细胞移植后诱导局部血管再生^[20]。血流灌注的增加可以使 MI 区周边部位休眠的心肌细胞复苏,并且与心脏同步收缩,从而使心脏功能得到改善。④新生的毛细血管改善了代偿肥大的心肌细胞血液供应,阻止了肥大的心肌细胞的凋亡。⑤早期新生的毛细血管阻止了 MI 后的心室重构。⑥移植细胞分泌心脏保护因子促进宿主先前存在的血管系统的增殖。⑦移植细胞使心室壁富有弹性从而限制了心室的扩张与梗死区的扩大。⑧另外,移植细胞分化形成的心肌细胞之间的连接结构对心脏局部功能的改善也有一定的帮助^[21]。总而言之,骨髓干细胞移植后心脏局部区域及全心功能的改善可能是多因素的综合作用,其中包括瘢痕组织肌肉化及血管再生。但目前对心肌细胞移植后心功能改善的机制仍未完全明了。

3.3.2 骨髓干细胞移植途径的研究 如何将移植细胞输送到 MI 区也是一个比较重要的问题。目前使用的方法主要有:①经 MI 相关区冠状动脉注射;②MI 区局部注射;③经静脉注射。Toma 等^[22]认为,经冠状动脉途径注射移植细胞,可以使足量的细胞进入梗死区,故效果优于经静脉注射途径。

3.3.3 骨髓干细胞移植最佳时机的研究 MI 发生后心肌组织将经历炎性反应、心肌纤维化的复杂病理过程^[23]。在此期间移植的骨髓干细胞其分化及存活率都会受到此病理过程的影响^[24]。如何选择合适的时机进行骨髓干细胞移植也是需要解决的一个问题。在 MI 形成后的第一个 48 h 内是急性炎性反应期,在此期间进行细胞移植,植入的骨髓干细胞更多的是参与了炎性反应而不是参与心肌与血管再生,不利于细胞的生长,这是因为:①在急性反应期,白细胞介素 8 吸引中性粒细胞向梗死区移动。移动到梗死区的中性粒细胞通过释放蛋白水解酶发挥强大的细胞毒作用,可以对移植细胞进行攻击^[25]。②参与急性炎性反应的中性粒细胞及巨噬细胞将坏死细胞与移植细胞共同清除。Kuethe 等^[26]发现,在 MI 后第 7 天,促使血管再生的血管内皮生长因子的分泌达到高峰,这将有利于提高移植细胞的存活率。在 MI 发生后 2 周,瘢痕的形成似乎不利于细胞移植。基于上述原因,Valgimigli 等^[27]推测骨髓干细胞移植的最佳时机是 7~14 d。但到目前为止有关骨髓干细胞移植治疗 MI 最佳时机的实验研究并不充分。

Rigolin 等^[28] 将家兔分为 MI 发生后立即移植组、2 周后移植组及 4 周后移植组。结果发现,立即移植组心功能与对照组比较无明显差异,而 2 周后移植组及 4 周后移植组心脏功能均优于对照组,且 2 周后移植组心脏功能更优于 4 周后移植组。因此心肌细胞移植在炎性反应消退后尽快进行是较为合适的。这一结论是否适用于自体骨髓干细胞移植,尚需进一步的实验加以论证。

4 MSCs 治疗 MI 展望

骨髓干细胞移植由于具有前述的各种优点,可为临床治疗 MI 提供一个有效的方法。但目前大多数骨髓干细胞移植治疗 MI 的研究尚处于实验阶段,有很多问题都需要加以解决,如细胞移植的最佳数量、最佳时机、最佳方法以及细胞移植后,心脏功能的改善都有待进一步研究。另外骨髓干细胞移植后,MI 区血管再生与功能改善的确切机制也需要进一步阐明。总之,骨髓干细胞移植做为一种新的治疗 MI 的手段,其应用前景将十分广阔。

参考文献

- [1] Anversa P, Kajstura J. Ventricular myocytes are not terminally differentiated in the adult mammalian heart [J]. *Circ Res*, 1998, 83 (1): 1-14.
- [2] Owen ME, Cave J, Joyner CJ. Clonal analysis in vitro of osteogenic differentiation of marrow CFU-F [J]. *J Cell Sci*, 1987, 87 (5): 731-738.
- [3] Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN, et al. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs [J]. *Experi Hematol*, 1976, 4 (5): 267-274.
- [4] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells [J]. *Science*, 1999, 284 (5411): 143-147.
- [5] Conger P, Minguez JJ. Adenoviral-mediated gene transfer into ex vivo expanded human bone marrow mesenchymal progenitor cells [J]. *Experi Hematol*, 2000, 28 (4): 382-390.
- [6] Minguez JJ, Conger P, Erices A. Biology and clinical utilization of mesenchymal progenitor cells [J]. *Braz J Med Res*, 2000, 33 (8): 881-887.
- [7] DiGirolamo CM, Stokes D, Colter D, et al. Propagation and senescence of human marrow stromal cells in culture: a simple colony-forming assay identifies samples with the greatest potential to propagate and differentiate [J]. *Brit J Haematol*, 1999, 107 (2): 275-281.
- [8] Reyes M, Verfaillie CM. Characterization of multipotent adult progenitor cells, a subpopulation of mesenchymal stem cells [J]. *Ann New York Acad Sci*, 2001, 938: 231-235.
- [9] Kamihata H, Matsubara H, Nishie T, et al. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhance collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic, ligands and cytokines [J]. *Circulation*, 2001, 104 (9): 1046-1052.
- [10] Hung SC, Chen NJ, Hsieh SL, et al. Isolation and characterization of size sieved stem cells from human bone marrow [J]. *Stem Cells*, 2002, 20 (3): 249-258.
- [11] 方丘丘, 刘煜昊, 叶飞, 等. 骨髓间充质干细胞治疗小型猪急性心肌梗死的实验研究 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2007, 7 (12): 767-773.
- [12] 程芮, 王士雯, 曹丰, 等. 3 种不同途径移植自体骨髓间充质干
- 细胞治疗急性心肌梗死效果比较 [J]. *中华实验外科杂志*, 2005, 12 (4): 276-280.
- [13] 宋晓蓉, 翟志敏, 章仁品, 等. 骨髓间充质干细胞自体移植治疗心肌梗死的实验研究 [J]. *中国胸心血管外科临床杂志*, 2007, 14 (3): 205-210.
- [14] 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 (9429): 141-148.
- [15] Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, et al. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilized with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomized clinical trial [J]. *Lancet*, 2004, 363 (9411): 751-756.
- [16] 李占全, 张明, 金元哲, 等. 自体外周血干细胞移植治疗急性心肌梗死安全性的观察 [J]. *中国实用内科杂志*, 2004, 24 (5): 274-276.
- [17] Jorgensen E, Ripa RS, Helqvist S, et al. In-stent neo-intimal hyperplasia after stem cell mobilization by granulocyte-colony stimulating factor: Preliminary intracoronary ultrasound results from a double-blind randomized placebo-controlled study of patients treated with percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction (STEMMI Trial) [J]. *Int J Cardiol*, 2006, 111 (1): 174-177.
- [18] Siminiak T, Fiszer D, Jerzylovska O, et al. Percutaneous trans-coronary-venous transplantation of autologous skeletal myoblasts in the treatment of post-infarction myocardial contractility impairment: the POZNAN trial [J]. *Eur Heart J*, 2005, 26 (12): 1188-1195.
- [19] 张明, 崔丽杰. 经冠状动脉骨髓及外周血干细胞移植治疗急性心肌梗死临床研究进展 [J]. *中国实用内科杂志*, 2005, 25 (7): 654-656.
- [20] Reyes M, Dudek A, Jahagirdar B, et al. Origin of endothelial progenitors in human postnatal bone marrow [J]. *J Clin Invest*, 2002, 109 (3): 337-346.
- [21] Factor SM, Robinson TF. Comparative connective tissue structure-function relationships in biologic pumps [J]. *Lab Nest*, 1988, 58 (2): 150-156.
- [22] Toma 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 Cardiol*, 2004, 94 (1): 92-95.
- [23] Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration [J]. *Cell*, 2003, 114 (6): 763-776.
- [24] Messina E, De Angelis L, Frati G, et al. Isolation and expansion of adult cardiac stem cells from human and murine heart [J]. *Circ Res*, 2004, 95 (9): 911-921.
- [25] Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, 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 trial [J]. *Lancet*, 2004, 363 (9411): 751-756.
- [26] Kuether F, Figulla HR, Herzau M, et al. Treatment with granulocyte colony-stimulating factor for mobilization of bone marrow cells in patients with acute myocardial infarction [J]. *Am Heart J*, 2005, 150 (1): 115.
- [27] Valgimigli M, Rigolin GM, Cittanti C, et al. Use of granulocyte-colony stimulating factor during acute myocardial infarction to enhance bone marrow stem cell mobilization in humans: clinical and angiographic safety profile [J]. *Eur Heart J*, 2005, 26 (18): 1838-1845.
- [28] Rigolin GC, Leyfer GP, Lotz J, et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell trans-artery myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial [J]. *Lancet*, 2004, 364: 141-148.