【综述与进展】

骨髓间充质干细胞移植治疗心肌梗死的研究现状和展望

吴泽彬(综述),许香广(审校),李涛(审校)

【主题词】 心肌梗塞/外科学;间质干细胞移植

【中图分类号】 R654.2 【文献标识码】 A 【文章编号】 1009-6647(2007)09-1940-02

目前心肌梗死的治疗手段主要包括药物治疗、冠状动脉介入治疗、冠状动脉旁路手术等,这些手段只能在一定程度上挽救濒死心肌细胞,防止梗死扩大,缩小心肌缺血范围,也在可以在一定程度上缓解患者的临床症状,理想的疗法应是能使心肌重生来改善心脏的功能。干细胞是一类具有无限或较长期增殖、自我更新和分化潜能的细胞,干细胞移植是一项新兴的细胞生物工程技术。因此,近年来,干细胞移植治疗心肌梗死成为一个研究热点[1]。

1 研究背景

Beltrami 等[2]研究发现,心肌梗死后,有少量心肌细胞发生分裂增生,但是数量有限,而且仅仅局限于存活部分的心肌细胞,因此,并不能有效的修复心肌组织。在1994 年,Soonpaa 等[3]用实验证实将小鼠胚胎心肌细胞植入成年鼠心肌梗死模型中可以长期存活并改善成年鼠的心脏功能,并能与宿主心肌细胞形成闰盘结构,利用干细胞移植达到心肌细胞再生的优点及可行性已引起了各国科学家的广泛关注。国内外已经进行了大量的实验研究,主要有胚胎干细胞移植和成体干细胞移植,而成体干细胞来源主要有骨髓造血干细胞、骨髓间充质干细胞(BMSCs)、肝脏来源的干细胞、血管来源的干细胞等,在这些干细胞移植研究中,BMSCs 移植具有更为广阔的应用前景。

2 BMSCs 移植的研究

2.1 BMSCs 的基本概念 BMSCs 是存在于骨髓中除了造血干细胞之外的另一类早期前体细胞,它具有多分化的潜能,可分化为骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞和肌细胞等[4]。因此,利用BMSCs 作为种子细胞取代受损的心肌细胞具有很好的应用前景[5]。

2.2 BMSCs 移植的研究 Makino 等[6]通过实验首次发现,小鼠BMSCs 在体外经过 5-氮胞苷处理后,能诱导分化出自发跳动、具有心肌细胞的形态和电机械特征的细胞。Wang 等[7]的研究进一步证明了 BMSCs 可以在体内心脏局部微环境中通过诱导分化生成心肌细胞。这为BMSCs 移植治疗心肌梗死提供了较其他途径更为理想的局部注射方法。Shyu 等[8]通过老鼠急性心肌梗死模型研究发现,BMSCs 能改善急性心肌梗死后的心脏功能,可能是通过在缺血心肌局部增加血管供血和形成心肌组织。

Wang 等[9]的研究发现,干细胞进入体内不同的组织器官后,能在不同的环境及生长因子的作用下,发生环境依赖性改变。Beltrami 等[2]研究则发现,心肌梗死后,有少量心肌细胞发生分裂增生。这些表明,在心肌梗死的局部可能存在促进干细胞分化为心肌细胞的微环境,人的BMSCs 在合适的条件下也有可能被诱导成为心肌细胞。郭起仓等的研究证实,BMSCs 移植 4 周后,实验组射血分数明显比对照组高,心功能改善。考虑机制可能为[10]:(1)BMSCs 在梗死心肌内分化、生长、发育过程中,抑制了梗死后心肌纤维化进程;(2)由BMSCs 发育而来的肌纤维限制了心室壁的变薄及瘢痕组织的扩大;(3)BMSCs 的植入,限制了原有心肌细胞的过度延伸,从而使某些心肌纤维肌小节的长度不超过 2.0~2.2 μm 的最适初长度;(4) BMSCs 是多能干细胞,植入梗死心肌后,分化为心肌样组织,且具有良好的弹性、韧性和收缩性;(5)BMSCs 可分泌多种生长因子,从而使梗死心肌再生出更多的毛细血管,新生的毛细血管将通过增加血流给"冬眠"的心肌细胞来改善心脏功能;(6)细胞移植后心脏功能的恢复还与缺血心肌中植物神经的再生功能有关。

2.3 BMSCs 的体外分离纯化与扩增 原有对BMSCs 的分离纯化、鉴定的方法比较繁杂,不利于对BMSCs 生物学特性的研究。李海红等[11]研究发现:BMSCs 在体外很容易分离培养和扩增,采用直接贴壁法分离纯化BMSCs,体外扩增,用免疫细胞化学法及流式细胞仪分别对培养的BMSCs 进行鉴定,同时检测第 3 代和同代溴脱氧尿嘧啶(5-bromo-2′-deoxyuridine,BrdU)标记的BMSCs 细胞周期,用BrdU 标记BMSCs 对其细胞周期无明显影响,可作为标记细胞的一种有效手段。

2.4 移植的途径 细胞移植方法分为两大类:(1)创伤性外科方法,即经心外膜直接病灶注射;(2)微创性内科方法,包括心内膜注射、经冠状动脉内注射和经静脉注射三种方式。研究表明,冠状动脉路径能直接将较完全的细胞数量释放到梗死相关血管,更有助于梗死心肌的修复,也可能更优于心室内注射[12]。另外,由于 BMSCs 在骨髓中含量较少,所以可能有必要在进行移植前采取措施,刺激干细胞的动员以增加BMSCs 的数量而有利于移植成功。

2.5 移植细胞的剂量 由于移植的干细胞成分不同,需要移植的干细胞剂量也不同。Kobayashi 等[13]研究认为,移植BMSCs 的剂量在 10^6~10^8 之间,最佳移植干细胞剂量为 10^6。

2.6 移植的最佳时间 这个问题一直是细胞移植领域关注的焦点问题之一,Li 等[14]的研究表明,心梗后第 1 天行细胞移植,可以起副性作用,而在梗死后 2 周获益最大;而 Assmus 等[15]的研究则认为,在心肌梗死的超急性期进行干细胞移植收获更大,这可能与移植的干细胞通过释放一些细胞因子更有益于恢复衰竭心脏的功能有关;赵嫣等[16]的研究则认为,在心肌梗死后 1~2 周是经冠脉内骨髓细胞移植的最佳时间段,即在心肌梗死后亚急性期即炎症反应消退之后、瘢痕扩展之前进行细胞移

作者单位:广东医学院附属深圳市福田区人民医院心血管内科,广东 深圳 518000

作者简介:吴泽彬(1980-),男,广东汕头人,在读研究生。研究方向:骨髓间充质干细胞移植治疗心肌梗死的现状和展望。

植引起心脏功能和结构改善最为明显。曹丰等[17]的研究也认为,心肌梗死后炎症反应强烈,不利于移植细胞的存活,而在炎症减弱的瘢痕修复早期尽早进行BMSCs移植可能对于细胞的存活及心功能的恢复较为有利。

2.7 临床试验 Katritsis等[18]对11名心肌梗死患者行冠脉内BMSCs和内皮祖细胞(endothelial progenitors, EPCs)联合应用,研究表明,冠脉内移植BMSCs和EPCs是安全、可行的。Chen[19]把69名心肌梗死患者随机分成两组,实验组移植BMSCs,对照组使用生理盐水,结果表明,实验组与对照组比较,实验组左室射血分数、梗死局部血液灌注、左室舒张末期容积和收缩末期容积均有明显改善,24 h动态心电图未发现心律失常。目前,这方面的临床试验的开展越来越多,我们期待得到更满意的疗效。

3 存在问题

尽管BMSCs移植作为一种新疗法治疗心肌梗死取得了令人鼓舞的成果,有着广阔而光明的应用前景,但仍然存在以下几个问题:(1)其有效性、安全性尚有争议,缺乏一个统一的判断标准;(2)尚有很多的技术和理论问题未完全清楚,存在很多不确定的因素;(3)治疗对象的选择问题,缺乏统一的准入标准,可比性不高;(4)BMSCs移植的最佳时间并不完全清楚;(5)BMSCs移植的几种途径:心肌内注入、静脉注入及冠状动脉注入,这几种方法何者更优,尚有争议;(6)缺乏大规模的临床试验;(7)缺乏移植细胞成活与增殖的科学客观的临床评价手段;(8)副作用、远期疗效与安全性尚未清楚。

4 展望

虽然BMSCs移植治疗心肌梗死的大部分还是停留在实验室研究阶段,只有少量的临床试验,结论也存在很多争议,但是,与其他干细胞移植治疗心肌梗死相比,它仍具有很多优点:(1)来源充足;(2)取材方便,采用温和的机械分离方法即可很容易地制备单细胞悬液;(3)避免了胚胎干细胞移植面临的伦理问题和致瘤的危险;(4)自体骨髓干细胞移植不存在移植后免疫排斥反应;(5)较小的潜在致心律失常作用。Kehat等[20]通过实验发现BMSCs作为非兴奋细胞致心律失常的可能性较小。同时,还要关注BMSCs移植之后对冬眠心肌和顿抑心肌的作用,以及BMSCs与相关细胞因子的协同或拮抗作用。随着干细胞技术、实验方法和医学分子生物学技术等的进一步发展,以及对BMSCs移植的不断研究,在不久的将来,BMSCs移植治疗心肌梗死很有可能会成为有别于传统疗法的又一个新的治疗心肌梗死的手段。

【参考文献】

[1] 朱小玉,陆英. 骨髓干细胞动员疗法治疗急性心肌梗死的研究进展[J]. 国外医学内科学分册,2004,31(12):525-534.

[2] Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction[J]. N Engl J Med, 2001, 344(23): 1750-1757.

[3] Soonpaa MH, Koh GY, Klug MG, et al. Formation of nascent intercalated disks between grafted fetal cadiomyocytes and host myocardium[J]. Science, 1994, 264(5155): 98-101.

[4] Deans RJ, Moseley AB. Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses[J]. Exp Hematol, 2000, 28(8): 875-884.

[5] 陈虹霞. 骨髓干细胞—心肌修复的新一代细胞来源[J]. 国外医学内科学分册,2005,32(3):103-107.

[6] Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro[J]. J Clin Invest, 1999, 103(5): 697-705.

[7] Wang JS, Shum-Tim D, Chedrawy E, et al. The coronary delivery of marrow stromal cells for myocardial regeneration: pathophysiologic and therapeutic implications [J]. J Thorac Cardiovase Surg, 2001, 122(4): 699-705.

[8] Shyu KG, Wang BW, Hung HF, et al. Mesenchymal stem cells are superior to angiogenic growth factor genes for improving myocardial performance in the mouse model of acute myocardial infarction[J]. J Biomed Sci, 2006, 13(1): 47-58.

[9] Wang JS, Shum-Tim D, Galipeau J, et al. Marrow stromal cells for cellular cardiomyoplasty: feasibility and potential clinical advantages[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2000, 120(5): 999-1006.

[10] 郭启仓,李占清,张宇,等. 骨髓间充质干细胞分化为心肌细胞的实验研究[J]. 中华胸心血管外科杂志,2005,21(2):97-100.

[11] 李海红,付小兵,周岗,等. 人骨髓间充质干细胞体外分离培养、鉴定及标记[J]. 创伤外科杂志,2005,7(4),291-293.

[12] 郭静萱,张萍. 心脏干细胞治疗的选择和存在的问题[J]. 中国介入心脏病学杂志,2004,12(5):259-260.

[13] Kobayashi T, Hamano K, Li TS, et al. Enhancement of angiogenesis by the implantation of self bone marrow cells in a rat ischemic heart model[J]. J Surg Res, 2000, 89(2): 189-195.

[14] Li RK, Mickle DA, Weisel RD, et al. Optimal time for cardiomyocyte transplantation to maximize myocardial function after left ventricular injury[J]. Ann Thorac Surg, 2001, 72(6): 1957-1963.

[15] Assmus B, Schachinger V, Teupe C, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI)[J]. Circulation, 2002, 106(24): 3009-3017.

[16] 赵嫣,葛均波,张少衡,等. 骨髓干细胞移植治疗心肌梗死最佳时间段的选择[J]. 中国临床医学,2005,12(2):192-195.

[17] 曹丰,贾国良,牛丽丽,等. 移植时机对骨髓间充质干细胞修复梗死心肌的影响[J]. 第四军医大学学报,2005,26(1):22-27.

[18] Katritsis DG, Sotiropoulou PA, et al. Transcoronary transplantation of autologous mesenchymal stem cells and endothelial progenitors into infarcted human myocardium [J]. Catheter Cardiovasc Interv, 2005, 65(3): 321-329.

[19] Chen SL, Fang WW. Improvement of cardiac function after transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells in patients with acute myocardial infarction[J]. Chinese Medical Journal, 2004, 117(10): 1443-1448.

[20] Kehat I, Gepstein A, Spira A, et al. High-resolution electrophysiological assessment of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes: a novel in vitro model for the study of conduction[J]. Circ Res, 2002, 91(8): 659.

收稿日期:2006-12-30;**修回日期**:2007-02-27 **责任编辑**:郭怀勇