

## 干祖细胞与缺血性心脏病治疗

蒋璐璐<sup>1),3)</sup>, 杨娜娜<sup>2)</sup>, 王大新<sup>3)</sup>\*, 秦树存<sup>2)</sup>\*

(<sup>1)</sup>中南大学湘雅二医院心血管内科,长沙 410011;(<sup>2)</sup>泰山医学院动脉粥样硬化研究所,山东省高校动脉粥样硬化重点实验室,山东 泰安 271000;(<sup>3)</sup>江苏省苏北人民医院心血管内科,江苏 扬州 225001)

**摘要** 最近十几年,多种类型的干细胞,包括胚胎干细胞、诱导多能干细胞、骨骼肌干细胞、心脏干细胞和骨髓来源的干祖细胞等,可用于缺血性心脏病诱导的损伤修复和再生医学中,并且逐渐显示出广阔的发展前景。在此本文将介绍几种不同来源的干细胞在治疗缺血性心脏病中的研究概况,为进一步的基础研究和临床试验提供参考。

**关键词** 干祖细胞;缺血性心脏病

**中图分类号** Q25

## Stem/Progenitor Cells and the Therapy of Ischemic Heart Disease

JIANG Lu-Lu<sup>1),3)</sup>, YANG Na-Na<sup>2)</sup>, WANG Da-Xin<sup>3)</sup>\*, QIN Shu-Cun<sup>2)</sup>\*

(<sup>1</sup>) Department of Cardiovascular Medicine, Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, China;

(<sup>2</sup>) Institute of Atherosclerosis, Key Laboratory of Atherosclerosis in Universities of Shandong, Taishan Medical University, Taian 271000, Shandong, China;

(<sup>3</sup>) Department of Cardiovascular Medicine, Northern Jiangsu People's Hospital, Yangzhou 225001, Jiangsu, China)

**Abstract** Over the past decades, multiple types of stem cells, including embryonic stem cells (ESCs), induced pluripotent stem cells (iPSCs), skeletal myoblasts, bone marrow-derived stem/progenitor cells and cardiac stem cells (CSCs), have been found to contribute to the repairment of damage caused by ischemic heart disease (IHD). Stem cell therapy has showed broad prospects for the development of regenerative medicine. In order to provide references for further basic research and clinical trials, this review introduces the studies of stem cells from different sources in the treatment of IHD.

**Key words** stem/progenitor cells; ischemic heart disease (IHD)

近期研究发现,尽管药物、介入和外科等治疗措施对心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD) 均有改善,但其仍是世界范围内引起高发病率和死亡率的主要原因<sup>[1]</sup>。其中,缺血性心脏病 (ischemic heart disease, IHD), 如冠状动脉粥样硬化、心肌梗死 (myocardial infarction)、梗死后心力衰竭 (heart failure) 以及终末期心力衰竭等,是影响人类健康最主要的一种心血管疾病<sup>[2]</sup>。早期 IHD 以内皮细胞功能紊乱和斑块形成为特点。随着病变发展,不稳定斑块破裂形成血栓使冠状动脉闭塞,引起急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI)。梗死区心肌细胞变性、坏死,被纤维瘢痕组织替代,导致心脏收缩功能障碍,这种心功能不足将启动心脏代偿机制以维持心排量。而后,随着心功能失代偿,患者发展为终末期心力衰竭,最终由于低灌注量引发多器官功能衰竭,导致其死亡。目前,常规治疗手段仅

能减缓而不能阻止患者向终末期心力衰竭恶化的进

收稿日期: 2016-07-27; 修回日期: 2016-09-04; 接受日期: 2016-09-08  
国家自然科学基金项目 (No. 30971098); 山东省自然科学基金项目 (No. 2012ZRB14125); 山东省教育厅科技计划 (No. J14LK03); 江苏省“333 工程”二层次项目 (No. BRA2015171)

\* 联系人 秦树存 Tel: 0538-6237252; E-mail: 13583815481@163.com; 王大新 Tel: 0514-87373039; E-mail: daxinw2001@sina.com

Received: July 27, 2016; Revised: September 4, 2016; Accepted: September 8, 2016

Supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30971098); Shandong Provincial Natural Science Foundation of China (No. 2012ZRB14125); Higher Universities Science and Technology Development Project of Shandong Province (No. J14LK03); Jiangsu Provincial “333 Engineering” Project of China (No. BRA2015171)

\* Corresponding author QIN Shu-Cun Tel: 0538-6237252; E-mail: 13583815481@163.com; WANG Da-Xin Tel: 0514-87373039; E-mail: daxinw2001@sina.com

程,心脏移植是唯一有效的治疗方法。然而,供体短缺,手术复杂性高、创伤性大,且患者术后需终生服用免疫抑制药物,使之难以在临床中广泛实施。因此,对于 IHD,包括梗死后及终末期心力衰竭的治疗,迫切需要开辟一条新的道路。

干细胞治疗作为一种具有广泛发展前景的心脏治疗策略应运而生,它旨在替代心肌梗死后无收缩性的纤维瘢痕组织,以及调节心室重塑。因此,我们期望干细胞治疗不仅能预防心梗后心力衰竭的发生,而且能修复和再生梗死后、甚至终末期心力衰竭患者损伤的心肌组织。许多临床前研究证明,移植的干细胞通过血管新生作用增加梗死区血流,抑制瘢痕组织形成,最终实现心功能的提高<sup>[3,4]</sup>。目前,有大量临床试验运用骨骼肌成肌细胞(skeletal myoblasts)、骨髓单个核细胞(bone marrow mononuclear cells, BMMNCs)、间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)和内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)治疗 IHD。遗憾的是,这些研究结果并不一致。近年来,心脏干细胞(cardiac stem cells, CSCs)和诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)因其自体同源性及成心肌潜能吸引了越来越多的关注。在此,本文介绍几种今后有望被用于临床治疗 IHD 的干细胞。

干细胞是一类具有克隆形成与自我更新和多潜能分化功能的未分化细胞,大致分为 3 类:(1) 胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs),源自胚胎发育过程中囊胚的内细胞团;(2) 诱导多能干细胞(iPSCs),是由转录因子介导重新编程后的体细胞,具有 ESCs 的全能性和多能性;(3) 成体干细胞,例如骨骼肌干细胞、造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)、内皮干/祖细胞(endothelial stem/progenitor cells),及成人组织中存在的干细胞。自 2000 年开始,一些临床试验开始采用不同类型的干细胞治疗急性心肌梗死和慢性缺血性心肌病,其中包括骨骼肌成肌细胞、BMMNCs、EPCs 和 MSCs<sup>[3-6]</sup>。然而,由于干祖细胞的不均一性,不同实验小组获得的实验结果也有所不同。令人鼓舞的是,近年发表的几项临床试验结果均报道了 CSCs、iPSCs 和骨髓来源的干祖细胞用于治疗 IHD 患者是安全有效的<sup>[7,8]</sup>。随着干细胞生物技术的不断发展,干细胞有望在心血管再生医学中发挥重要作用。

## 1 胚胎干细胞

ESCs 具有多能性和全能性,在体外和体内能分

化为 3 个胚层,包括胰岛  $\beta$  细胞、神经细胞、心肌细胞等。1981 年首次报道了小鼠胚胎干细胞(mouse ESCs, mESCs)的成功分离<sup>[9]</sup>。最初,mESCs 被用于研究胚胎发育及建立小鼠基因修饰模型,此后逐渐将研究领域延伸到以干细胞为基础的再生治疗中。1998 年,Thomson 等<sup>[10]</sup>首次分离出人胚胎干细胞(human ESCs, hESCs)。由于其增殖能力高、分化能力强,研究者们期待它能在再生医学方面发挥巨大作用。

有研究显示,移植 mESCs 和 hESCs 来源的心肌细胞能在小鼠心梗模型中存活,并改善心功能<sup>[11,12]</sup>。Menasche 等<sup>[13]</sup>将 hESCs 移植到同期接受冠状动脉旁路移植术(coronary artery bypass grafting, CABG)治疗的重型心力衰竭患者体内,3 个月后观察到患者 NYHA (New York Heart Association) 心功能分级和左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)均得到了有效的提高。然而,在 hESCs 的实际应用中却存在诸多问题,例如,伦理学问题,致畸胎瘤作用以及免疫排斥等,这些均阻碍了其在治疗心血管疾病患者中的应用。因此,了解掌握 ESCs 分化及心脏发育过程中分子遗传机制,对预防未分化 ESCs 的污染,防止 ESCs 移植至机体内形成畸胎瘤至关重要。另外,为了解决伦理学问题和免疫排斥,iPSCs 由于来源于自体体细胞,似乎是更理想的选择。

## 2 诱导多能干细胞

近年来,研究者们用新技术诱导产生诱导多能干细胞(iPSCs),即在与细胞多能性相关的转录因子作用下,成体终末分化细胞,如真皮成纤维细胞,能转变为 ESCs 样状态<sup>[14]</sup>。Takahashi 等<sup>[15]</sup>发现,4 种转录因子(Sox2, Oct4, c-Myc 和 Klf4)的过表达可以使小鼠皮肤成纤维细胞转变为多能干细胞。此外,尚有研究证明,iPSCs 能够分化为有功能的小鼠心肌细胞<sup>[16,17]</sup>。2007 年,Yu 等<sup>[18,19]</sup>利用 4 个基因片段(SOX2, OCT4, NANOG 和 LIN28)重新编程,成功将人体细胞转变为 iPSCs,且这些细胞表现出能分化成有功能的心肌细胞的潜能。Ong 等<sup>[20]</sup>把体外诱导分化为心肌细胞的人 iPSCs 注射到小鼠心梗模型后,小鼠的左室功能提高,并且在一定程度上减缓了心室重塑的进程。Wendel 等<sup>[21]</sup>将人 iPSCs 来源的心脏补片用于治疗心肌梗死患者,4 周后与对照组相比,移植组梗死面积缩小,左室短轴缩短率提高。

重要的是,尽管 iPSCs 和 ESCs 在重新编程上存

在表观遗传学差异,在形态学、分化潜能、基因表达水平,及致畸胎瘤作用上,它们是非常相似的。iPSCs 源于自体体细胞,避免了 ESCs 应用中所遇到的伦理学和免疫学问题,但是在 iPSCs 的诱导过程中需使用病毒和致癌基因,这大大阻碍了其在临床中的应用。为此,安全起见,使用非病原媒介且不激活致癌基因诱导出多能干细胞可能会推动 iPSCs 在临床中的应用。

### 3 骨骼肌成肌细胞

骨骼肌成肌细胞(skeletal myoblasts)细胞,或骨骼肌卫星细胞,可以形成骨骼肌。体外培养条件下,扩增能力强,体内缺血区滞留率高,以及自体同源性的优点,使骨骼肌成肌细胞被广泛应用于治疗心肌梗动物模型中。有实验结果表明,移植的骨骼肌成肌细胞能增厚心室壁,加强心肌收缩,从而提高梗死后心脏的功能<sup>[22, 23]</sup>。在前期探索性研究取得了理想的实验结果后,使用骨骼肌成肌细胞的大型随机对照试验逐步开展起来,包括 MAGIC, MARVEL-1 和 SEISMIC。由于未能证明临床有效性,且联合应用 CABG 的缺血性心脏病患者发生心律失常事件的频率较高, Menasche 等<sup>[24]</sup>组织的 MAGIC 试验在早期便终止了。与此相反, Lainscak 等<sup>[25]</sup>进行的 MARVEL-1 试验显示,用导管将成肌细胞移植到充血性心衰患者体内 6 个月后,他们的 6 min 行走距离平均提高了 90.9 米,相比之下,对照组平均降低了 3.7 米。Duckers 等<sup>[26]</sup>开展的 SEISMIC 试验报道,向心力衰竭患者体内注射自体骨骼肌干细胞治疗安全可靠,尽管 LVEF 没有明显提高,细胞移植组患者的心衰症状有所缓解,同时运动耐受量得到了提高。然而,虽然在缺血心肌处移植骨骼肌干细胞后患者心功能得以改善,但这些细胞却不能分化成心肌细胞,不能与宿主心肌细胞电机械偶联,因此增加了病人发生持续性室性心动过速的风险<sup>[27]</sup>。为了减少骨骼肌干细胞移植治疗患者发生室速的可能,或许需要预防性使用埋藏式心脏复律除颤器和/或胺碘酮。总之,鉴于骨骼肌干细胞不能再生心肌细胞,无法与宿主心肌细胞融合,移植后可能发生致死性心律失常以及目前喜忧参半的实验结果,将骨骼肌干细胞应用于临床前仍需要更深入的研究。

### 4 骨髓来源的干/祖细胞

骨髓由不同干细胞亚群组成,包含 HSCs、EPCs (约 2% ~ 4%)、少量 MSCs (约占有核细胞的

0.001% ~ 0.01%) 以及其它祖细胞<sup>[3, 4]</sup>。无论是通过骨髓穿刺,或是经细胞因子动员后从外周血分离,骨髓来源的干细胞均易于获取。这些细胞来源于自体,安全可靠、容易分离,且具有低免疫原性(MSCs)。因此,作为细胞治疗的种子细胞,吸引了广泛的关注<sup>[28]</sup>。在动物前期实验及临床应用研究中, BMMNCs、EPCs、纯化的祖细胞(CD34<sup>+</sup>或 CD133<sup>+</sup>)和 MSCs 对心血管疾病均具有潜在治疗作用<sup>[28, 29]</sup>。然而,由于这些细胞具有多潜能性,移植后能分化为多种细胞类型,因此,有可能在心脏中形成骨、软骨、脂肪等组织。有报道<sup>[30]</sup>称,移植未经筛选的骨髓干细胞导致持久的心肌内钙化,且 MSCs 移植到心肌梗动物模型后,在心脏中形成了骨组织。

#### 4.1 造血干细胞

造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)表面表达 CD34、CD133、c-kit 及 Sca-1 等细胞表面抗原,不表达 Lin。HSCs 可从骨髓、脐带和外周血中获取,能产生所有血细胞类型<sup>[31]</sup>。迄今,造血干细胞已被广泛研究,并在临床中用于治疗多种造血系统疾病,例如贫血、白血病和淋巴瘤。Orlic 等<sup>[32]</sup>研究显示,向小鼠梗死心肌中注射 Lin<sup>-</sup>/c-kit<sup>+</sup>骨髓干细胞后,有新的心肌细胞生成。然而,后续研究未能证明 HSCs 能够分化为心肌细胞,并提高心肌梗动物的心功能<sup>[33]</sup>。此外,几项关于人 HSCs 的临床试验结果也表明,对射血分数(ejection fraction, EF)并无改善作用<sup>[6, 31]</sup>。

#### 4.2 间充质干细胞

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是存在于非造血组织中的前体细胞,例如肌肉、软骨、脂肪组织及心脏,细胞表面表达 CD90、CD105 和 CD73,在体外能生成成纤维细胞、成骨细胞、成软骨细胞和脂肪细胞<sup>[34]</sup>。实验结果<sup>[35]</sup>表明,在特殊的培养条件下,以及在动物正常或受损的心肌组织中, MSCs 能分化为心肌样细胞。此外,有研究表明,注射到梗死心肌处的 MSCs 能增加局部血管密度,防止瘢痕扩大,促进局部室壁运动,预防心室重塑<sup>[36]</sup>。Hatzistergos 等<sup>[37]</sup>证明,给发生心肌梗死的猪注射同种异体骨髓源 MSCs 可以刺激 c-kit<sup>+</sup> CSCs 的增殖和分化。尚有临床试验也证明了移植 MSCs 安全可行,并且能够提高左心室功能<sup>[38, 39]</sup>。其中, PROMETHEUS 研究,是为了评估心梗后 CABG 和 MSCs 联合治疗的安全性和有效性。而 POSEIDON 研究,则比较自体 and 异体 MSCs 移植对慢性缺血性心肌病患者治疗的安全性和疗效。尽管有前期动物

实验和临床应用试验结果,支持 MSCs 移植的有效性,但针对 MSCs 是否能横向分化为心肌细胞仍然存有争议。

### 4.3 骨髓单个核细胞

过去 10 年,骨髓单个核细胞 (CD34<sup>+</sup> 和 CD133<sup>+</sup>) 是骨髓干细胞中最常用于临床试验治疗急性心肌梗死和缺血性心肌病患者的细胞类型<sup>[40]</sup>。早期的研究结果显示,短期随访 (3 ~ 6 月),BMMNCs 有提高患者 LVEF 的功能 (1% ~ 5%)<sup>[6,29]</sup>。但是,有临床试验在长期追踪 (>12 月) 后,并未得出一致的结果。例如,REPAIR-AMI 是以 204 位急性心肌梗死患者为研究对象的大型随机对照试验。其结果显示,经过 4 个月追踪,与对照组相比,急性心肌梗死后行冠脉内注射 BMMNCs 治疗组的 EF 提高了 2.5% ( $P=0.01$ )。EF 这一显著差异在随访至 12 个月时便消失了。但是,仍可以观察到治疗组的死亡率有所降低<sup>[41]</sup>。两项重要的临床试验,BALANCE 和 STAR 研究结果均显示,BMMNCs 移植治疗组 EF 和 5 年生存率有明显提高,说明 BMMNCs 治疗对于急性心肌梗死和慢性 IHD 患者左室功能及死亡率存在长期且显著的改善<sup>[42, 43]</sup>。然而,ASTAMI 研究与 Late-TIME 研究和 TIME 研究却显示,BMMNCs 治疗组与对照组,在 LVEF、室壁运动、左心室容积、梗死面积上,两组比较差异无统计学意义<sup>[44-46]</sup>。因此,仍需要开展更多深入的临床研究,为骨髓来源的干细胞移植治疗 IHD 患者提供充分有力的科学依据。

### 4.4 内皮祖细胞

1997 年,Asahara 等<sup>[47]</sup>首次从人外周血中分离出内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPCs),并报道这些细胞能在纤连蛋白包被的培养皿中形成克隆,具有血管生成和血管内皮损伤修复的潜能。虽然至今关于 EPCs 的确切定义仍存在争议,但根据美国心脏协会推荐,EPCs 是能够在缺血、缺氧、损伤或肿瘤形成部位,促进新血管生成的循环祖细胞<sup>[48, 49]</sup>。通常认为,早期 EPCs (1 ~ 3 周) 表达 flk-1、CD133 和 CD34;晚期 EPCs (3 周以上) 表达内皮系分子标志,如血管内皮钙粘蛋白和血管性血友病因子<sup>[50]</sup>。除此之外,EPCs 还表达 C-X-C 趋化因子受体 4,其配体为在缺血条件下释放的基质细胞衍生因子 1 (stromal cell-derived factor-1, SDF-1)<sup>[51]</sup>。

EPCs 主要存在于骨髓中,与 HSCs 和骨髓基质细胞之间有紧密关联,仅有少量 EPCs 存在于外周血中,约占循环单个核细胞的 0.02%<sup>[52]</sup>。多种刺激

因素可以促进 EPCs 从骨髓中动员释放入血,包括血管生成素 1,成纤维细胞生长因子和 SDF-1。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF),特别是 VEGF-165,在 EPCs 动员和新生血管中起重要作用,不仅能诱导 EPCs 的增殖,而且能够调节 EPCs 表面粘附分子的表达。此外,内皮型一氧化氮合酶 (endothelial-nitric oxide synthase, e-NOS) 通过调节其下游产物一氧化氮和基质金属蛋白酶 9 影响 EPCs 的动员和迁移<sup>[53]</sup>。尚有研究表明,多种细胞因子、趋化因子和药物促进 EPCs 归巢至内皮损伤处,再内皮化,参与血管损伤的修复<sup>[54]</sup>。这都说明,EPCs 通过重建完整的内皮组织参与维持血管稳态,并且在促进血管新生中发挥关键作用。

Ott 等<sup>[55]</sup>将 CD34<sup>+</sup> EPCs 通过冠脉移植到急性心肌梗死裸鼠心脏中,14 d 后观察到 EPCs 能在缺血心肌处存活且形成管腔样结构,提高大鼠的左心室功能。Schlechta 等<sup>[56]</sup>将来源于脐血的 CD133<sup>+</sup> 和 CD34<sup>+</sup> 的 EPCs 通过尾静脉注射到心肌梗死裸鼠体内,其 LVEF 得到了显著提高。Mascuda 等<sup>[57]</sup>给心肌梗死裸鼠冠脉内注射 EPCs,28 d 后观察到植入的 EPCs 对大鼠的左心室功能有保护作用。虽然如此,在实际大规模使用 EPCs 治疗前,仍存在一些问题需要解决。例如,如何从骨髓或外周血中分离培养足够数量的 EPCs,且在培养过程中,预防 EPCs 因表型改变引起的衰老死亡。同时,受患者固有疾病的影响,如冠心病、糖尿病等,其循环中 EPCs 的数量和功能均有所下降<sup>[58, 59]</sup>,这就限制了自体 EPCs 移植治疗的应用。因此,增加 EPCs 的数量,提高 EPCs 的功能将会在未来推动 EPCs 治疗 IHD 的发展。

## 5 心脏干细胞

传统观点认为,心脏是终末分化器官,不具备再生能力。2003 年,Beltrami 等<sup>[60]</sup>发现,在大鼠心脏中,存在一种 Lin<sup>-</sup>、c-kit<sup>+</sup> 的心脏干细胞亚群。同时,他们还研究出如何从少量心肌样本中分离扩增 c-kit<sup>+</sup> 人心脏干细胞的方法。将心脏干细胞注射到免疫功能不全的大鼠或小鼠体内,它们能分化为心肌细胞,并且提高梗死后心脏左室的功能<sup>[61]</sup>。随后,有学者用不同的细胞表面标记物 (Sca-1、Abcg2、Isl-1) 鉴定出其它 CSC 样细胞群<sup>[62, 63]</sup>。Messina 等<sup>[64]</sup>报道了一种培养 CSCs 的方法,可以产生出表达 c-kit<sup>+</sup>、Sca-1<sup>+</sup> 和 flk-1<sup>+</sup> 的混合细胞群。另外一些学者在胎鼠和成人心脏中发现了心外膜源的心肌祖细胞和血管祖细胞,这些心脏祖细胞均具有再生潜

能<sup>[65-67]</sup>。值得一提的是,这些 CSCs 细胞亚群不仅有分化为心肌细胞的能力,在某些情况下,还能分化为平滑肌细胞和内皮细胞。

Marban 等改良了 Messina 提出的体外大量扩增心肌球衍生细胞(cardiosphere-derived cells, CDCs)的方法,在发生心肌梗的小鼠心脏中注射这种细胞,可以观察到心肌再生现象并伴有心功能的提高<sup>[68]</sup>。与 CSCs 其它亚群相比,心球样细胞团和 CDCs 是由 c-kit<sup>+</sup>的心脏祖细胞和表达 CD90、CD31/CD34 的细胞组成的混合细胞群<sup>[69]</sup>。在心脏 MSCs 和 EPCs 的协同旁分泌作用下,移植到受损心肌处的心脏祖细胞更易于分化及发挥心肌修复功能<sup>[70, 71]</sup>。

综合来说,由于 CSCs 源于自体,且能分化为心肌细胞、平滑肌细胞和内皮细胞,似乎可以认为,CSCs 就是临床细胞治疗的一个理想选择。目前,使用内源性 CSCs 治疗 IHD 患者的临床试验包括 SCIPIO 和 CADUCEUS。Bolli 等<sup>[7]</sup>设计的 SCIPIO 试验目的是检测缺血性心脏病患者经冠状动脉内注射自体右心耳来源的 c-kit<sup>+</sup> CSCs 治疗的安全性和有效性,最初的结果发表在 2011 年 11 月的《Lancet》上,不仅肯定了 CSCs 移植安全可靠,同时表明,冠脉内注射自体 c-kit<sup>+</sup> CSCs 能显著提高患者左室收缩功能,减少梗死面积。同样,Marban 等<sup>[71]</sup>开展的 CADUCEUS 试验,目的是研究心肌梗死后短期内(2~4 周),发生心力衰竭的患者行冠脉内注射自体 CSCs 的治疗效果。2012 年,发表在《Lancet》的结果<sup>[8]</sup>显示,尽管患者 LVEF 没有显著提高,冠脉内注射自体 CDCs 后,存活心肌、局部收缩力和室壁厚度明显增加。基于上述试验结果,仍需进行大规模长期随访试验来进一步证实 c-kit<sup>+</sup> CSCs 和 CDCs 带来的临床效益。

心血管疾病,特别是缺血性心脏病,是世界医疗卫生长期以来影响人类健康的主要疾病之一。目前,梗死后心力衰竭患者仍然因心脏移植的种种限制而无法得到有效的医治。随着干细胞研究的发展,基于干细胞的治疗方法在心脏再生医学中显示出巨大的潜能,吸引了研究者的广泛关注。然而,由于移植效率和细胞存活率低下,不少采用细胞移植治疗的临床试验显示出积极但又差强人意的结果。尽管前期大量的干细胞基础和临床研究,可以基本确定干细胞治疗缺血性心脏病是安全有效的,但作为心血管疾病的临床治疗手段仍然存在一些问题,比如,理想的干细胞类型、干细胞的移植数量和频率、有效的移植时间点选择以及移植途径等。因此,

在干细胞治疗广泛应用于临床前,仍需开展大量更深入的基础研究和设计科学的临床试验。相信在广大研究者的共同努力下,干细胞治疗将会在临床应用中愈加成熟和安全有效。

## 参考文献 (References)

- [1] Writing Group Members, Mozaffarian D, Benjamin E J, Go A S, *et al.* Heart Disease and Stroke Statistics- 2016 Update: A Report From the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2016, **133**(4):e38-360
- [2] Taylor D A, Robertson M J. The basics of cell therapy to treat cardiovascular disease: one cell does not fit all [J]. *Rev Esp Cardiol*, 2009, **62**(9):1032-1044
- [3] Murry C E, Field L J, Menasche P. Cell-based cardiac repair: reflections at the 10-year point [J]. *Circulation*, 2005, **112**(20):3174-3183
- [4] Dimmeler S, Zeiher A M. Cell therapy of acute myocardial infarction: open questions [J]. *Cardiology*, 2009, **113**(3):155-160
- [5] Hansson E M, Lindsay M E, Chien K R. Regeneration next: toward heart stem cell therapeutics [J]. *Cell Stem Cell*, 2009, **5**(4):364-377
- [6] Segers V F, Lee R T. Stem-cell therapy for cardiac disease [J]. *Nature*, 2008, **451**(7181):937-942
- [7] Bolli R, Chugh A R, D'Amario D, *et al.* Cardiac stem cells in patients with ischaemic cardiomyopathy (SCIPIO): initial results of a randomised phase 1 trial [J]. *Lancet*, 2011, **378**(9806):1847-1857
- [8] Makkar R R, Smith R R, Cheng K, *et al.* Intracoronary cardiosphere-derived cells for heart regeneration after myocardial infarction (CADUCEUS): a prospective, randomised phase 1 trial [J]. *Lancet*, 2012, **379**(9819):895-904
- [9] Evans M J, Kaufman M H. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos [J]. *Nature*, 1981, **292**(5819):154-156
- [10] Thomson J A, Itskovitz-Eldor J, Shapiro S S, *et al.* Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts [J]. *Science*, 1998, **282**(5391):1145-1147
- [11] Laflamme M A, Chen K Y, Naumova A V, *et al.* Cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells in pro-survival factors enhance function of infarcted rat hearts [J]. *Nat Biotechnol*, 2007, **25**(9):1015-1024
- [12] Min J Y, Yang Y, Converso K L, *et al.* Transplantation of embryonic stem cells improves cardiac function in postinfarcted rats [J]. *J Appl Physiol* (1985), 2002, **92**(1):288-296
- [13] Menasche P, Vanneaux V, Hagege A, *et al.* Human embryonic stem cell-derived cardiac progenitors for severe heart failure treatment: first clinical case report [J]. *Eur Heart J*, 2015, **36**(30):2011-2017
- [14] Vunjak-Novakovic G, Tandon N, Godier A, *et al.* Challenges in cardiac tissue engineering [J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2010, **16**(2):169-187
- [15] 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
- [16] Mauritz C, Schwanke K, Reppel M, *et al.* Generation of functional murine cardiac myocytes from induced pluripotent stem cells [J]. *Circulation*, 2008, **118**(5):507-517
- [17] Pfannkuche K, Liang H, Hannes T, *et al.* Cardiac myocytes derived from murine reprogrammed fibroblasts: intact hormonal regulation, cardiac ion channel expression and development of contractility [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2009, **24**(1-2):73-86
- [18] Yu J, Vodyanik M A, Smuga-Otto K, *et al.* Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells [J]. *Science*, 2007, **318**(5858):1917-1920
- [19] Nelson T J, Martinez-Fernandez A, Yamada S, *et al.* Repair of

- acute myocardial infarction by human stemness factors induced pluripotent stem cells[J]. *Circulation*, 2009, **120**(5):408-416
- [20] Ong S G, Huber B C, Lee W H, *et al.* Microfluidic Single-Cell Analysis of Transplanted Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes After Acute Myocardial Infarction[J]. *Circulation*, 2015, **132**(8):762-771
- [21] Wendel J S, Ye L, Tao R, *et al.* Functional Effects of a Tissue-Engineered Cardiac Patch From Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes in a Rat Infarct Model[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, **4**(11):1324-1332
- [22] Al Attar N, Carrion C, Ghostine S, *et al.* Long-term(1 year) functional and histological results of autologous skeletal muscle cells transplantation in rat[J]. *Cardiovasc Res*, 2003, **58**(1):142-148
- [23] Tambara K, Sakakibara Y, Sakaguchi G, *et al.* Transplanted skeletal myoblasts can fully replace the infarcted myocardium when they survive in the host in large numbers[J]. *Circulation*, 2003, **108** Suppl 1: 11259-11263
- [24] Menasche P, Alfieri O, Janssens S, *et al.* The Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathy (MAGIC) trial: first randomized placebo-controlled study of myoblast transplantation[J]. *Circulation*, 2008, **117**(9):1189-1200
- [25] Lainscak M, Coletta A P, Sherwi N, *et al.* Clinical trials update from the Heart Failure Society of America Meeting 2009: FAST, IMPROVE-HF COACH galectin-3 substudy, HF-ACTION nuclear substudy, DAD- HF, and MARVEL-1[J]. *Eur J Heart Fail*, 2010, **12**(2):193-196
- [26] Duckers H J, Houtgraaf J, Hehrlein C, *et al.* Final results of a phase IIa, randomised, open-label trial to evaluate the percutaneous intramyocardial transplantation of autologous skeletal myoblasts in congestive heart failure patients: the SEISmiC trial [J]. *EuroIntervention*, 2011, **6**(7):805-812
- [27] Li S C, Wang L, Jiang H, *et al.* Stem cell engineering for treatment of heart diseases: potentials and challenges[J]. *Cell Biol Int*, 2009, **33**(3):255-267
- [28] Wu S M, Chien K R, Mummery C. Origins and fates of cardiovascular progenitor cells[J]. *Cell*, 2008, **132**(4):537-543
- [29] Byun K H, Kim S W. Is stem cell-based therapy going on or out for cardiac disease? [J]. *Korean Circ J*, 2009, **39**(3):87-92
- [30] Breitbach M, Bostani T, Roell W, *et al.* Potential risks of bone marrow cell transplantation into infarcted hearts [J]. *Blood*, 2007, **110**(4):1362-1369
- [31] Wu J, Zeng F, Weisel R D, *et al.* Stem cells for cardiac regeneration by cell therapy and myocardial tissue engineering [J]. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 2009, **114**:107-128
- [32] Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, *et al.* Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium [J]. *Nature*, 2001, **410**(6829):701-705
- [33] 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
- [34] Caplan A I, Dennis J E. Mesenchymal stem cells as trophic mediators[J]. *J Cell Biochem*, 2006, **98**(5):1076-1084
- [35] Behfar A, Yamada S, Crespo-Diaz R, *et al.* Guided cardiopoiesis enhances therapeutic benefit of bone marrow human mesenchymal stem cells in chronic myocardial infarction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2010, **56**(9):721-734
- [36] Shake J G, Gruber P J, Baumgartner W A, *et al.* Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects[J]. *Ann Thorac Surg*, 2002, **73**(6):1919-1925, 1926
- [37] Hatzistergos K E, Quevedo H, Oskoue B N, *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cells stimulate cardiac stem cell proliferation and differentiation[J]. *Circ Res*, 2010, **107**(7):913-922
- [38] Chen S L, Fang W W, 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
- [39] Williams A R, Trachtenberg B, Velazquez D L, *et al.* Intramyocardial stem cell injection in patients with ischemic cardiomyopathy: functional recovery and reverse remodeling[J]. *Circ Res*, 2011, **108**(7):792-796
- [40] Stamm C, Nasser B, Choi Y H, *et al.* Cell therapy for heart disease: great expectations, as yet unmet[J]. *Heart Lung Circ*, 2009, **18**(4):245-256
- [41] Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, *et al.* Improved clinical outcome after intracoronary administration of bone-marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction; final 1-year results of the REPAIR- AMI trial[J]. *Eur Heart J*, 2006, **27**(23):2775-2783
- [42] Strauer B E, Yousef M, Schannwell C M. The acute and long-term effects of intracoronary Stem cell Transplantation in 191 patients with chronic heART failure; the STAR-heart study[J]. *Eur J Heart Fail*, 2010, **12**(7):721-729
- [43] Yousef M, Schannwell C M, Kostering M, *et al.* The BALANCE Study: clinical benefit and long-term outcome after intracoronary autologous bone marrow cell transplantation in patients with acute myocardial infarction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, **53**(24):2262-2269
- [44] Lunde K, Solheim S, Aakhus S, *et al.* Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction [J]. *N Engl J Med*, 2006, **355**(12):1199-1209
- [45] Traverse J H, Henry T D, Ellis S G, *et al.* Effect of intracoronary delivery of autologous bone marrow mononuclear cells 2 to 3 weeks following acute myocardial infarction on left ventricular function: the LateTIME randomized trial[J]. *JAMA*, 2011, **306**(19):2110-2119
- [46] Traverse J H, Henry T D, Pepine C J, *et al.* Effect of the use and timing of bone marrow mononuclear cell delivery on left ventricular function after acute myocardial infarction: the TIME randomized trial[J]. *JAMA*, 2012, **308**(22):2380-2389
- [47] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, *et al.* Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis[J]. *Science*, 1997, **275**(5302):964-967
- [48] Hirschi K K, Ingram D A, Yoder M C. Assessing identity, phenotype, and fate of endothelial progenitor cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, **28**(9):1584-1595
- [49] Yoder M C. Is endothelium the origin of endothelial progenitor cells? [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, **30**(6):1094-1103
- [50] Resch T, Pircher A, Kahler C M, *et al.* Endothelial progenitor cells: current issues on characterization and challenging clinical applications[J]. *Stem Cell Rev*, 2012, **8**(3):926-939
- [51] Ceradini D J, Kulkarni A R, Callaghan M J, *et al.* Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1[J]. *Nat Med*, 2004, **10**(8):858-864
- [52] Luttun A, Carmeliet G, Carmeliet P. Vascular progenitors: from biology to treatment[J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2002, **12**(2):88-96
- [53] Aicher A, Heeschen C, Mildner-Rihm C, *et al.* Essential role of endothelial nitric oxide synthase for mobilization of stem and progenitor cells[J]. *Nat Med*, 2003, **9**(11):1370-1376
- [54] Cittadini A, Monti M G, Castiello M C, *et al.* Insulin-like growth factor-1 protects from vascular stenosis and accelerates re-endothelialization in a rat model of carotid artery injury[J]. *J Thromb Haemost*, 2009, **7**(11):1920-1928
- [55] Ott I, Keller U, Knoedler M, *et al.* Endothelial-like cells expanded from CD34 + blood cells improve left ventricular function after experimental myocardial infarction[J]. *FASEB J*, 2005, **19**(8):992-994
- [56] Schlechta B, Wiedemann D, Kittinger C, *et al.* Ex-vivo expanded umbilical cord blood stem cells retain capacity for myocardial regeneration[J]. *Circ J*, 2010, **74**(1):188-194
- [57] Masuda H, Iwasaki H, Kawamoto A, *et al.* Development of serum-free quality and quantity control culture of colony-forming endothelial progenitor cell for vasculogenesis [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2012, **1**(2):160-171
- [58] Tepper O M, Galiano R D, Capla J M, *et al.* Human endothelial

- progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures [J]. *Circulation*, 2002, **106**(22):2781-2786
- [59] Edelberg J M, Tang L, Hattori K, *et al.* Young adult bone marrow-derived endothelial precursor cells restore aging-impaired cardiac angiogenic function[J]. *Circ Res*, 2002, **90**(10):E89-E93
- [60] Beltrami A P, Barlucchi L, Torella D, *et al.* Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration [J]. *Cell*, 2003, **114**(6):763-776
- [61] Bearzi C, Rota M, Hosoda T, *et al.* Human cardiac stem cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, **104**(35):14068-14073
- [62] Martin C M, Meeson A P, Robertson S M, *et al.* Persistent expression of the ATP-binding cassette transporter, *Abcg2*, identifies cardiac SP cells in the developing and adult heart[J]. *Dev Biol*, 2004, **265**(1):262-275
- [63] Laugwitz K L, Moretti A, Caron L, *et al.* Islet1 cardiovascular progenitors; a single source for heart lineages? [J]. *Development*, 2008, **135**(2):193-205
- [64] 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
- [65] Smart N, Bollini S, Dube K N, *et al.* De novo cardiomyocytes from within the activated adult heart after injury [J]. *Nature*, 2011, **474**(7353):640-644
- [66] van Tuyn J, Atsma D E, Winter E M, *et al.* Epicardial cells of human adults can undergo an epithelial-to-mesenchymal transition and obtain characteristics of smooth muscle cells in vitro [J]. *Stem Cells*, 2007, **25**(2):271-278
- [67] Zhou B, Ma Q, Rajagopal S, *et al.* Epicardial progenitors contribute to the cardiomyocyte lineage in the developing heart [J]. *Nature*, 2008, **454**(7200):109-113
- [68] Smith R R, Barile L, Cho H C, *et al.* Regenerative potential of cardiosphere-derived cells expanded from percutaneous endomyocardial biopsy specimens [J]. *Circulation*, 2007, **115**(7):896-908
- [69] Davis D R, Zhang Y, Smith R R, *et al.* Validation of the cardiosphere method to culture cardiac progenitor cells from myocardial tissue [J]. *PLoS One*, 2009, **4**(9):e7195
- [70] Caspi O, Lesman A, Basevitch Y, *et al.* Tissue engineering of vascularized cardiac muscle from human embryonic stem cells [J]. *Circ Res*, 2007, **100**(2):263-272
- [71] Marban E, Malliaras K. Boot camp for mesenchymal stem cells [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2010, **56**(9):735-737