

• 综述 •

干细胞治疗对心肌修复的研究

王毅峰 殷 亮 王文涛综述 王志农审校

【摘要】 在心血管疾病的治疗中,各种心脏疾病后心肌组织的再生修复仍是当前面临的一个严峻挑战。心肌细胞的各种自然修复过程在临床上并不能挽救受损的心肌,而干细胞治疗作为一种外源性促进心肌修复的方法,使当前的治疗从补救心肌向组织再生转变。该文从自体干细胞和异体干细胞移植两个方面,将目前应用干细胞修复受损心肌的主要策略及现状作一综述。

【关键词】 干细胞;细胞治疗;心肌修复;心肌再生

冠心病、心肌梗死、心肌病等疾病的最终结局是导致心力衰竭,而心肌的不可逆损伤在心脏疾病进展过程中起着重要作用。目前常规的治疗手段以缓解症状为主,治疗效果有限,无法修复受损的心肌。心脏移植虽能代替受损心脏,但供体难以选择,费用高,临床难以推广。心脏干细胞的提出,使人们重新去探寻心脏再生的机制,同时希望利用干细胞的多潜能性,通过增加具有完整收缩功能的心肌细胞数目,为人们提供一种新的更为有效的方法修复心肌损伤。

1 干细胞移植的分类及现状

干细胞移植心肌修复的分类按干细胞来自自身与否,可分为自体干细胞移植和异体干细胞移植。前者主要包括骨髓干细胞、骨骼肌祖细胞及心脏干细胞;后者以胚胎干细胞尤其是胚胎心肌细胞为典型。在目前的大量基础研究中,不同来源的干细胞及不同途径治疗方法均能够促进心肌修复、血管再生、增强缺血心肌灌注。随着基础研究的逐步深入,干细胞治疗修复损伤心肌及促进心功能提高这一结论在许多实验中得到验证。尽管其中的具体机制仍不完全清楚,但美国及欧洲的许多心脏中心仍相继开展了一些早期的临床试验,研究对象主要为急性心肌梗死或冠状动脉性

心脏病患者,旨在寻找干细胞治疗缺血性心脏病最安全、合理的方法。

2 自体干细胞移植

2.1 骨髓干细胞(bone marrow stem cell, BMSC)

骨髓干细胞主要包括造血干细胞、间充质干细胞、中胚层祖细胞及多能成体祖细胞,均具有多向分化潜能。传统观点认为骨髓干细胞具有组织特异性,只能分化为特定细胞或组织。但后期研究证实,骨髓间充质干细胞具有很强的可塑性,在不同的组织微环境中,能横向分化为适应新环境的细胞表型。有关骨髓干细胞不能分化为心肌细胞的研究也仅仅局限于造血干细胞移植方面,而在间充质干细胞、中胚层祖细胞及多能成体祖细胞的研究上尚有待开展^[1]。

2.1.1 间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC) 是一组具有 CD34⁺ 和 CD35⁻ 表型的非造血多能干细胞。它可分化为软骨细胞、造骨细胞、脂肪细胞和成纤维细胞等骨基质细胞。Chen 等^[2]实验证实了间充质干细胞的植入对心功能有明显改善。目前对心肌细胞移植后心功能改善的机制尚不明确,认为可能的机制有:移植细胞与宿主细胞之间建立了电-机械耦联,直接参与了宿主心脏的收缩;间充质干细胞能抑制心脏重构;移植细胞通过旁分泌等作用从整体上对心脏功能进行调节,抑制心肌凋亡及心肌纤维化;促进受损部位的血管生成,改善侧支循环,从而改善心肌灌注。

作者单位:200433 上海,第二军医大学研究生管理大队长海医院实习学员队

通讯作者:王志农,Email: wangzn007@163.com

Li 等^[3]发现,骨髓间充质干细胞移植后左心室功能改善与心肌细胞 Akt 磷酸化酶的激活有关,提出了干细胞移植后心肌存活信号的学说并展开进一步的研究。

随着研究的深入,近期关于骨髓间充质干细胞的研究主要向联合移植发展,以期明确干细胞移植的相关机制。Zeng 等^[4]将骨髓间充质干细胞联合血红素加氧酶-1 转染后移植入缺血心肌,发现成纤维细胞生长因子(bFGF)和血管内皮生长因子(VEGF)表达明显增强,梗死面积和心功能改善优于单行骨髓间充质干细胞移植。Yang 等^[5]比较了人 VEGF 转染联合骨髓间充质干细胞移植与单行人 VEGF 基因质粒和骨髓间充质干细胞移植,结果显示联合移植组梗死面积最小,且心功能改善效果最佳。

2.1.2 内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPC)是指能分化为内皮细胞的前体细胞,原始的内皮祖细胞存在于骨髓中,而成熟的内皮祖细胞会出现在外周血中。内皮祖细胞因其存在于人外周血中,取材方便,并能被他汀类等常用的冠心病药物动员。体外实验表明,内皮祖细胞在细胞因子的作用下可迅速扩增并分化成内皮细胞,它们在体内可以归巢到心肌受损的缺血部位,并促进受损部位的血管生成,同时改善左心室功能,延缓左心室重构,减少心肌细胞的凋亡^[6]。Kawamoto 等^[7]发现内皮祖细胞经 VEGF-2 基因转染后可协同内皮祖细胞向缺血部位心肌动员。有关内皮祖细胞在促进受损心肌血管再生的研究提出,内皮祖细胞移植联合局部基因治疗或基因修饰将成为新的治疗方法^[8]。

通过动物实验分别移植纯化的单克隆化骨髓间充质干细胞、未纯化的骨髓间充质干细胞、CD34⁺前体细胞、骨髓单核细胞和外周血单核细胞,实验显示:骨髓间充质干细胞具有更强的自我复制和多向分化潜能,移植 3 个月后,间充质干细胞较其他亚型细胞改善心脏功能更显著^[9]。而另一组比较骨髓间充质干细胞及骨髓单核细胞的大体动物实验显示,骨髓单核细胞在心肌收缩性和心脏收缩功能改善上优于间充质干细胞,且移植

后心肌梗死范围减少及 B 型利钠肽(NT-BNP)表达下降更为显著。目前关于骨髓干细胞亚型中何种亚型更易促进心肌修复的治疗尚未清楚,更多的研究是寻找干细胞移植的理想细胞亚型^[10,11]。

2.2 骨骼肌祖细胞

由于骨骼肌细胞与心肌细胞在收缩功能等方面的相似性,因此采用骨骼肌祖细胞进行心脏细胞移植心肌修复。Dib 等^[12]报道了一个非随机的临床一期试验,将心肌梗死患者自体骨骼肌祖细胞移植入心脏内后,发现可以使患者的射血分数增加 5%。Hoashi 等^[13]应用组织工程骨骼肌祖细胞进行移植,实验结果显示压力过度负荷的右心室的舒张功能获得明显地改善。然而,由于骨骼肌细胞之间没有闰盘,其收缩特性和电活动与心肌也有着不同,这都限制了骨骼肌祖细胞移植的临床应用。

2.3 心脏干细胞(cardiac stem cells, CSC)

正常心肌中处于有丝分裂期细胞的比例较低,而在缺血心肌中,处于有丝分裂的细胞数量增加了 10 倍左右,并且仅有少数的肌细胞增殖表现为有效的修复,因而人们猜测心脏中存在某种自然修复系统,只是被严重的损伤所抑制。通过寻找具有分裂能力细胞的来源,人们从大鼠心脏组织中分离出能够表达干细胞表型 *linc kit*⁺ 以及 *Sca-1*⁺ 的细胞,认为这些具有分裂能力的细胞可能是原本存在于心脏内的干细胞群。Torella 等^[14]发现人类心脏干细胞有维持心肌稳态和参与心脏病理重构的作用,推测其可能为人类心脏干细胞进行心肌修复的基础。与骨髓间充质干细胞相比,心脏干细胞能更为有效地修复坏死心肌。一旦心脏干细胞被激活,能迅速迁移并形成心肌和冠脉血管。随着新的成像技术发展,应用正电子发射断层摄影术评价心脏干细胞移植后心功能改善情况,将有利于心脏干细胞移植的进一步研究^[15]。

3 异体干细胞移植

胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESC)增殖活跃且具有全能性,可以高效分化成各种组织。胚胎干细胞在体外自然情况下的分化是随机,但

仍有分化为多种其他类型细胞系的可能。Rubart 等^[16]将绿色荧光蛋白表达增强的胚胎心肌细胞移植入受者的心脏。细胞内钙离子瞬时影像分析证实,移植的胚胎心肌细胞与宿主心肌有了功能连接,提示胚胎细胞可作为一个电-机械耦联的合胞体直接参与宿主心脏工作,且胚胎心肌细胞的分化程度显然高于胚胎干细胞。近年来的研究证实,p38 促分裂原活化蛋白激酶特异性抑制因子能够有效地促进人类胚胎干细胞 END-2 细胞系向心肌细胞分化^[17]。Xu 等^[18]应用化学剂配制获得了促进 END-2 细胞系心肌分化的条件培养基,使得胚胎干细胞心肌修复的临床应用前景令人期待。

尽管有报道注射胚胎干细胞可以修复小鼠胚胎发育过程中缺陷的心脏,但迄今为止尚没有对胚胎干细胞移植后所产生的心肌细胞功能进行详细的评定。移植胚胎干细胞会因缺血导致过早死亡,这仍是干细胞移植心肌修复的一个主要问题,目前也还未被充分评估。尽管胚胎干细胞的相关实验显示出其分化为成熟的心肌细胞,改善受损心肌功能的能力,但胚胎干细胞的移植应用于临床仍面临着几个问题,(1)胚胎干细胞的潜在致瘤可能:胚胎干细胞植入心肌后不能无限度增长,必须及时终止其增殖,目前尚未掌握相关方法;(2)免疫排斥问题:现有胚胎干细胞的治疗方法必然会导致移植排斥的产生,尽管有研究表明胚胎干细胞的免疫原性很小,可在无免疫抑制的情况下移植入受者,但免疫排斥反应仍是无法避免的问题;(3)伦理道德问题:胚胎干细胞的移植长期受到西方国家许多人权及宗教人士所极力反对。

4 总结与展望

近年来,各种来源于干细胞在心肌修复中的作用均获得了大量基础及临床研究的证实。随着干细胞移植心肌修复临床研究的深入,不良反应已显现,主要包括心律失常、心肌酶谱轻度升高以及心肌梗死患者吻合血管再狭窄概率的升高。因此,在进一步深入基础研究的同时,应进行严格对照、多中心、随机双盲、前瞻性的多样本临床试验,深入评价干细胞移植心肌修复的临床意义。在基

础研究上,干细胞的分离纯化方法、移植途径、治疗时机的选择、适合剂量等问题尚无明确统一的认识。有关心肌损伤、再生、修复机制的认识,新生心肌细胞等来源细胞演变过程的追索,干细胞演化动态表现等的研究对于心肌修复治疗的探究仍至关重要。此外,如何提高干细胞移植向受损区域的趋化及存活率以增强心肌修复能力,如何控制干细胞对损伤心肌的靶向修复,如何控制修复的干细胞在局部损伤心肌的生物学行为,如何发挥干细胞修复损伤心肌的作用等都将是下一步研究的重点^[19]。

参考文献

- [1] Deten A, Volz HC, Clamors S, et al. Hematopoietic stem cells do not repair the infarcted mouse heart[J]. Cardiovasc Res, 2005, 65(1): 52-63.
- [2] Chen 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.
- [3] Li H, Malhotra D, Yeh CC, et al. Myocardial survival signaling in response to stem cell transplantation[J]. J Am Coll Surg, 2009, 208(4): 607-613.
- [4] Zeng B, Chen H, Zhu C, et al. Effects of combined mesenchymal stem cells and heme oxygenase-1 therapy on cardiac performance[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2008, 34(4): 850-856.
- [5] Yang J, Zhou W, Zheng W, et al. Effects of myocardial transplantation of marrow mesenchymal stem cells transfected with vascular endothelial growth factor for the improvement of heart function and angiogenesis after myocardial infarction[J]. Cardiology, 2007, 107(1): 17-29.
- [6] Yamaguchi J, Kusano KF, Masuo O, et al. Stromal cell-derived factor-1 effects on ex vivo expanded endothelial progenitor cell recruitment for ischemic neovascularization[J]. Circulation, 2003, 107(9): 1322-1328.
- [7] Kawamoto A, Murayama T, Kusano K, et al. Synergistic effect of bone marrow mobilization and vascular endothelial growth factor-2 gene therapy in myocardial ischemia[J]. Circulation, 2004, 110(11): 1398-1405.
- [8] Jujo K, Li M, Losordo DW. Endothelial progenitor cells in neovascularization of infarcted myocardium[J]. J Mol Cell Cardiol, 2008, 45(4): 530-544.
- [9] 葛均波. 干细胞治疗心肌梗死的最新研究成果[J]. 医学研究杂志, 2008, 37(12): 3.

(下转第 283 页)

- 644-649.
- [7] Fenton M, Burch M. Understanding chronic heart failure [J]. Arch Dis Child, 2007, 92(9):812-816.
 - [8] Ansari M, Massie B. Heart Failure: How big is the problem? Who are the patients? What does the future hold? [J]. Am Heart J, 2003, 146(1):1-4.
 - [9] Cranney A. Is there a new role for angiotensin-converting-enzyme inhibitors in elderly patients? [J]. CMAJ, 2007, 177(8):891-892.
 - [10] O'Connor CM, Arumugham P. Inotropic drugs and neuro-hormonal antagonists in the treatment of HF in the elderly [J]. Clin Geriatr Med, 2007, 23(1):141-153.
 - [11] Jost A, Rauch B, Hochadel M, et al. Beta-blocker treatment of chronic systolic heart failure improves prognosis even in patients meeting one or more exclusion criteria of the MERIT-HF study [J]. Eur Heart J, 2005, 26(24):2689-2697.
 - [12] Dulin BR, Hass SJ, Abraham WJ, et al. Do elderly systolic heart failure patients benefit from beta blockers to the same extent as the non-elderly? Meta-analysis of >12,000 patients in large-scale clinical trials [J]. Am J Cardiol, 2005, 95(7):896-898.
 - [13] Ahmed A. Digoxin and reduction in mortality and hospitalization in geriatric heart failure: importance of low doses and low serum concentrations [J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2007, 62(3):323-329.
 - [14] Cayley WE Jr. Selections from current literature: digoxin in chronic heart failure [J]. Family Practice, 2004, 21(4):469-475.
 - [15] Dec GW. Digoxin remains useful in the management of chronic heart failure [J]. Med Clin North Am, 2003, 87(2):317-337.
 - [16] Ahmed A, Rich MW, Love TE, et al. Digoxin and reduction in mortality and hospitalization in heart failure: a comprehensive post hoc analysis of the DIG trial [J]. Eur Heart J, 2006, 27(2):178-186.
 - [17] Ahmed A, Rich MW, Love TE, et al. Digoxin and reduction in mortality and hospitalization in heart failure: a comprehensive post hoc analysis of the DIG trial [J]. Eur Heart J, 2006, 27(2):178-186.
 - [18] Pitt B, Zannad F, Remme WJ, et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators [J]. N Engl J Med, 1999, 341(10):709-717.
 - [19] Pitt B, Remme WJ, Zannad F, et al. Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction [J]. N Engl J Med, 2003, 348(14):1309-1321.
 - [20] Hunt SA, Abraham WT, Chin MH, et al. ACC/AHA 2005 guideline update for the diagnosis and management of chronic heart failure in the adult [J]. Circulation, 2005, 112(12):e154-e235.
 - [21] Hülsmann M, Berger R, Mörtl D, et al. Influence of age and in-patient care on prescription rate and long-term outcome in chronic heart failure: a data-based substudy of the EuroHeart Failure Survey [J]. Eur J Heart Fail, 2005, 7(4):657-661.
- (收稿:2009-02-10 修回:2009-05-05)
(本文编辑:丁媛媛)
-
- (上接第 276 页)
- [10] Mathieu M, Bartunek J, Oumeiri BSE, et al. Cell therapy with autologous bone marrow mononuclear stem cells is associated with superior cardiac recovery compared with use of nonmodified mesenchymal stem cells in a canine model of chronic myocardial infarction [DB/OL]. (J Thorac Cardiovasc Surg); <http://www.sciencedirect.com> 2009.
 - [11] Novotny NM, Ray R, Markel TA, et al. Stem cell therapy in myocardial repair and remodeling [J]. J Am Coll Surg, 2008, 207(3):423-434.
 - [12] Dib N, McCarthy P, Campbell A, et al. Feasibility and safety of autologous myoblast transplantation in patients with ischemic cardiomyopathy [J]. Cell Transplant, 2005, 14(1):11-19.
 - [13] Hoashi T, Matsumiya G, Miyagawa S, et al. Skeletal myoblast sheet transplantation improves the diastolic function of a pressure-overloaded right heart [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2009, 138(2):460-467.
 - [14] Torella D, Ellison GM, Mendez-Ferrer S, et al. Resident human cardiac stem cells: role in cardiac cellular homeostasis and potential for myocardial regeneration [J]. Nat Clin Pract Cardiovasc Med, 2006, 3(Suppl 1):S8-S13.
 - [15] Li Z, Lee A, Huang M, et al. Imaging survival and function of transplanted cardiac resident stem cells [J]. J Am Coll Cardiol, 2009, 53(14):1229-1240.
 - [16] Rubart M, Pasumarthi KB, Nakajima H, et al. Physiological coupling of donor and host cardiomyocytes after cellular transplantation [J]. Circ Res, 2003, 92(11):1217-1224.
 - [17] Graichen R, Xu X, Braam SR, et al. Enhanced cardiomyogenesis of human embryonic stem cells by a small molecular inhibitor of p38 MAPK [J]. Differentiation, 2008, 76(4):357-370.
 - [18] Xu XQ, Graichen R, Soo SY, et al. Chemically defined medium supporting cardiomyocyte differentiation of human embryonic stem cells [J]. Differentiation, 2008, 76(9):958-970.
 - [19] Ruvinov E, Dvir T, Leor J, et al. Myocardial repair: from salvage to tissue reconstruction [J]. Expert Rev Cardiovasc Ther, 2008, 6(5):669-686.
- (收稿:2009-03-19 修回:2009-08-11)
(本文编辑:朱 映)