

# 改善干细胞归巢和旁分泌功能的策略

何 华 韩福生

**【摘要】** 影响干细胞疗效的 2 个根本问题,一是干细胞归巢数量少,二是细胞移入后分化和生存率低。恢复或增强 SDF-1/CXCR4 轴的功能;将干细胞与生物高分子联合注射;磁场导向均可能改善干细胞的归巢。而增强生长因子表达或联合表达多种生长因子,以增强干细胞的旁分泌能力以及与宿主心肌连接能力和分化能力。将干细胞与生物材料联合注射,或通过诱导式多能干细胞增强旁分泌作用以及药物恢复干细胞的修复和生存能力等,均可能改善干细胞的生存能力。

**【关键词】** 干细胞;归巢;旁分泌;缺血性心脏病

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2013.01.002

干细胞治疗缺血性心脏病(IHD)的基础研究已显示出巨大的潜力,相关临床试验也已取得重要进展<sup>[1-7]</sup>。然而,干细胞治疗 IHD 还存在诸多问题没有解决,其中有两个根本瓶颈问题:一是干细胞归巢数量少,二是细胞移入后分化和生存率低。近年已进行了很多改善干细胞归巢和旁分泌功能方面的研究并取得了突破性进展。

## 1 干细胞治疗 IHD 的机制

早期认为是移植干细胞分化为心肌细胞而使心功能得到改善。目前研究显示,移植干细胞分化为心肌和内皮细胞数量很少,不足以解释其在各项研究中的显著益处,而且不同类型、数量的干细胞移植获益相似,干细胞培养液移植也可显著获益。因此认为干细胞移植治疗的机制有三方面<sup>[7]</sup>:移植干细胞分化为心脏各组分;旁分泌;促进内源性修复。

### 1.1 旁分泌作用

骨髓干细胞能够分泌大量趋化、生长因子,包括一氧化氮(NO)、血管内皮生长因子(VEGF)、成纤维细胞生长因子(FGF)、肝细胞生长因子(HGF)、胰岛素样生长因子(IGF)、肾上腺髓质素、胸腺素  $\beta 4$ (T $\beta 4$ )、基质细胞衍生因子-1(SDF-1)、血

小板源性生长因子(PDGF)、胎盘生长因子(PIGF)、转化生长因子  $\beta 1$ (TGF $\beta 1$ )、骨形态发生蛋白(BMP4)、白细胞介素-1(IL-1)及血管生成素(Ang)等。这些因子可以:(1)促进心肌保护和增加生存;(2)促进新生血管生成;(3)通过抑制成纤维细胞增殖及 I、III 型胶原合成,限制炎症,最终减轻心肌重塑;(4)改善心脏收缩性和代谢;(5)增强原位心脏干细胞(CSC)的增殖、动员、分化、生存和功能,促进干细胞生存微环境的恢复。

### 1.2 促进内源性修复

原位 CSC 分化能力很弱,外源性干细胞能够激活原位 CSC,促进 CSC 和外源性干细胞分化为心脏组织,可帮助恢复干细胞生存的微环境。

## 2 促进干细胞归巢的策略

干细胞要发挥生物学功能需要有足够数量的存活细胞,移植细胞能有效地向病损心肌部位归巢,是干细胞治疗的基础。然而,直接心肌注射过程中或其后不久,大量移植细胞从靶组织分离或死亡,植入细胞 24 h 死亡率 $>50\%$ ,14 d 后梗死区移植细胞数量仅占移植总量的 3%<sup>[8]</sup>;经冠脉内移植骨髓细胞的归巢率仅 1%~6%,移植骨髓单个核细胞群后只有 1%~2%的细胞滞留于目标心肌,大部分细胞分布于肝、脾等组织<sup>[9]</sup>。经静脉移植时只有极少量归巢到受损心肌,甚至有研究发现其心脏归巢率几乎接近于零。这表明单纯干细胞移植效率很低,现阶段移植细胞的归巢率离“精确定位”与临床期望还有很大差距。干细胞动员和归巢是一

基金项目:国家自然科学基金(81100142)、教育部心血管转化医学重点实验室开放性课题基金(2010XGCS02)

作者单位:100029 首都医科大学附属北京安贞医院急诊心内科

通信作者:何 华,Email:hehua430@163.com

个复杂的过程,其详细机制尚不完全清楚。

在遭受缺血性损伤时,机体释放多种生物活性物质,如干细胞因子(SCF)、SDF-1、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、血管形成素-1、基质金属蛋白酶(MMP)、VEGF、1-磷酸鞘胺醇等,诱导自体骨髓干细胞进入血循环并迁移到损伤区及其周围区<sup>[10, 11]</sup>。其中 SDF-1 为  $\alpha$  类趋化因子,由骨髓、心、骨骼肌和脑组织等的间质和内皮细胞分泌,CXC 趋化因子受体蛋白 4(CXCR4)是 SDF-1 特异性受体,表达于造血干细胞及神经组织、骨骼肌卫星细胞、心肌和血管内皮等组织的干细胞表面。SDF-1/CXCR4 轴在归巢中发挥着关键作用。急性心肌梗死(AMI)时,梗死区 SDF-1 表达明显增加,形成骨髓内、外 SDF-1 浓度梯度,CXCR4<sup>+</sup> 细胞因此被动员离开骨髓入血循环,沿 SDF-1 浓度梯度向缺血梗死部位迁移,SDF-1 通过增强干细胞运动能力、激活各种黏附分子、整合素、促进分泌更多 MMP-9、NO 和 VEGF 等促血管生长因子,在干细胞的动员、归巢、黏附、血管穿透和在靶器官内的增殖、存活、分化的整个过程中发挥着重要作用<sup>[12, 13]</sup>;而 SDF-1/CXCR4 轴本身又受 VEGF、G-CSF、SCF、缺氧等因素及钴、胍苯吡嗪等药物调节,形成以 SDF-1/CXCR4 轴为中心环节的复杂“细胞-细胞外基质-细胞因子”调控网络。然而,SDF-1/CXCR4 不是干细胞移植时唯一激活的通路,IL-10、T $\beta$ 4、许多生长因子的非 CXCR4 效应也在介导着心肌修复<sup>[14]</sup>。

由于 SDF-1/CXCR4 轴在干细胞归巢中的关键地位,恢复或增强这一生物轴的功能就可能显著改善干细胞的归巢。研究表明,抑制 SDF-1 降解、SDF-1 预处理或基因修饰增加 SDF-1、CXCR4 表达,均可促进归巢、增强干细胞疗效<sup>[15-19]</sup>。缺氧预处理可使 CXCR4 表达增加,从而增加募集,增强干细胞疗效。另外,缺血梗死区 SDF-1 与 CXCR4 表达时间不匹配,AMI 后数分钟到 1h, SDF-1 表达迅速增加,而 CXCR4 在 AMI 后 36~48 h 才开始表达,持续 96 h,延长 SDF-1 表达时间或提前 CXCR4 表达时间使二者分泌时间匹配,也可能改善干细胞疗效<sup>[20]</sup>。干细胞与生物高分子联合注射可改善移植时的细胞黏附和生存,显著减少围移植期的细胞丢失,进一步增强治疗益处<sup>[21]</sup>。Huang 等<sup>[22]</sup>使用研发的“空间定位聚焦磁性颗粒装置”,分析了磁标记骨髓间充质干细胞(MSCs)在空间聚焦磁场中的动力学过程,为将磁场导向新策略引入冠心病细胞

治疗、调控促进移植细胞的心脏归巢提供了强大理论支持和实验基础。

### 3 改善干细胞旁分泌功能的策略

除归巢率低外,移入缺血心脏内的干细胞生存能力也很差,动物模型中移植后 24~48 h 有 90% 的移植细胞死亡,Toma 等<sup>[23]</sup>发现,99% 的植入细胞进入了外周血或发生凋亡,而且移植入人体后成活率低于 1%,这大大限制了干细胞的修复能力。生存环境恶劣是移植干细胞生存率低的主要原因。AMI 后心肌坏死激活了补体瀑布,启动了炎症反应,释放炎症因子、内源性细胞 MMP 和细胞因子,MMP 可降解细胞外基质(ECM)、清除整合素,并刺激修复性纤维化,因此缺血心肌内形成了一个缺乏营养和氧、缺乏来自于 ECM 的生存信号的炎症恶劣环境,在这种环境中,只有少数植入细胞能够生存下来。针对这些原因,通过诱导趋化因子、生长因子及抗凋亡因子表达增加(如 VEGF-A、FGF-2、Ang-1、Ang-2、PIGF、HGF、IGF-1、PDGF-B、SDF-1 等)可能改善干细胞保留和生存。另外,应用他汀类、罗格列酮、NO 合酶增强剂 AVE9488 等药物预处理病人,联合表达几种生长因子,通过基因修饰增强干细胞的旁分泌能力、与宿主心肌连接能力和分化能力,或干细胞与生物材料联合注射均可能是改善其生存能力的策略。有研究将 TGF $\beta$ 1、BMP4、活化素 A、视黄酸、IGF-1、FGF-2、 $\alpha$ -凝血酶、IL-6 等各种因子鸡尾酒重组连接入人重组 MSCs 以促进向心肌分化和生存,结果显著增强了治疗效果<sup>[24]</sup>。近年发展的诱导式多能干细胞通过增强旁分泌作用,分泌一些导致宿主心肌长期基因表达变化的因子,可增加新生血管形成,抑制凋亡,促进原位心脏干细胞激活<sup>[25]</sup>。年龄和危险因素也会影响干细胞的迁移、生存、增殖等功能状态,胍苯吡嗪等药物可能恢复有危险因素病人衰竭干细胞的修复和生存能力<sup>[26]</sup>。

### 4 结语

在干细胞治疗基础上的心脏再生很可能成为改变心血管疾病治疗的突破性技术,在不久的将来成为冠心病治疗的常规辅助手段。但是,归巢少和生存率低两个瓶颈问题影响着干细胞的疗效,探索优化归巢和生存策略具有重要意义,相信未来在这方面会取得突破性进展,大大提高干细胞治疗的效率。

# 参 考 文 献

- [1] Templin C, Lüscher TF, Landmesser U, et al. Cell-based cardiovascular repair and regeneration in acute myocardial infarction and chronic ischemic cardiomyopathy-current status and future developments[J]. Int J Dev Biol, 2011,55(4-5):407-417.
- [2] Lu M, Zhao S, Liu Q, et al. Transplantation with autologous mesenchymal stem cells after acute myocardial infarction evaluated by magnetic resonance imaging: an experimental study[J]. J Thorac Imaging, 2012, 27(2):125-35.
- [3] Siu CW, Liao SY, Liu Y, et al. Stem cells for myocardial repair[J]. Thromb Haemost, 2010, 104(1):6-12.
- [4] Moreira Rde C, Haddad AF, Silva SA, et al. Intracoronary stem-cell injection after myocardial infarction: microcirculation sub-study [J]. Arq Bras Cardiol, 2011, 97(5):420-426.
- [5] Penn MS, Ellis S, Gandhi S, et al. Adventitial delivery of an allogeneic bone marrow-derived adherent stem cell in acute myocardial infarction: phase I clinical study[J]. Circ Res, 2012, 110(2):304-311.
- [6] Clifford DM, Fisher SA, Brunskill SJ, et al. Stem cell treatment for acute myocardial infarction [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2012, 2:CD006536.
- [7] Sanz-Ruiz R, Gutiérrez Ibáñez E, Arranz AV, et al. Phases i-iii clinical trials using adult stem cells[J]. Stem Cells Int, 2010, 2010:579142.
- [8] Dow J, Simkhovich BZ, Kedes L, et al. Washout of transplanted cells from the heart: a potential new hurdle for cell transplantation therapy[J]. Cardiovasc Res, 2005, 67(2):301-307.
- [9] Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, et al. Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: eighteen months' follow-up data from the randomized, controlled Boost (bone marrow transfer to enhance st-elevation infarct regeneration) trial [J]. Circulation, 2006, 113(10):1287-1294.
- [10] Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(18):10344-10349.
- [11] Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function [J]. Nat Med, 2001,7(4):430-436.
- [12] Abbott JD, Huang Y, Liu D, et al. Stromal cell-derived factor-1alpha plays a critical role in stem cell recruitment to the heart after myocardial infarction but is not sufficient to induce homing in the absence of injury [J]. Circulation, 2004,110(21):3300-3305.
- [13] Chen M, Xie HQ, Deng L, et al. Stromal cell-derived factor-1 promotes bone marrow-derived cells differentiation to cardiomyocyte phenotypes in vitro [J]. Cell Prolif, 2008, 41(2):336-347.
- [14] Penn MS. Importance of the sdf-1:Cxcr4 axis in myocardial repair[J]. Circ Res, 2009,104(10):1133-1135.
- [15] Zaruba MM, Franz WM. Role of the sdf-1-cxcr4 axis in stem cell-based therapies for ischemic cardiomyopathy[J]. Expert Opin Biol Ther, 2010,10(3):321-335.
- [16] Pasha Z, Wang Y, Sheikh R, et al. Preconditioning enhances cell survival and differentiation of stem cells during transplantation in infarcted myocardium[J]. Cardiovasc Res, 2008, 77(1):134-142.
- [17] Frederick JR, Fitzpatrick JR 3rd, McCormick RC, et al. Stromal cell-derived factor-1alpha activation of tissue-engineered endothelial progenitor cell matrix enhances ventricular function after myocardial infarction by inducing neovasculogenesis[J]. Circulation, 2010, 122(11 Suppl):S107-S117.
- [18] Zhang D, Huang W, Dai B, et al. Genetically manipulated progenitor cell sheet with diprotin a improves myocardial function and repair of infarcted hearts [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010, 299(5):H1339-H1347.
- [19] 张悦,欧来良,程兆康,等. Cxcr4 基因修饰骨髓间充质干细胞体外迁移实验[J]. 生物医学工程学杂志,2009, 26(3):595-600.
- [20] Tang YL, Zhu W, Cheng M, et al. Hypoxic preconditioning enhances the benefit of cardiac progenitor cell therapy for treatment of myocardial infarction by inducing cxcr4 expression[J]. Circ Res, 2009,104(10):1209-1216.
- [21] Danoviz ME, Nakamuta JS, Marques FL, et al. Rat adipose tissue-derived stem cells transplantation attenuates cardiac dysfunction post infarction and biopolymers enhance cell retention[J]. PLoS One, 2010,5(8):e12077.
- [22] Huang Z, Pei N, Wang Y, et al. Deep magnetic capture of magnetically loaded cells for spatially targeted therapeutics [J]. Biomaterials, 2010, 31(8):2130-2140.
- [23] Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, et al. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart[J]. Circulation, 2002,105(1):93-98.
- [24] 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.
- [25] Jameel MN, Zhang J. Stem cell therapy for ischemic heart disease [J]. Antioxid Redox Signal, 2010, 13(12):1879-1897.
- [26] Pesce M, Burba I, Gambini E, et al. Endothelial and cardiac progenitors: boosting, conditioning and (re)programming for cardiovascular repair[J]. Pharmacol Ther, 2011, 129(1):50-61.

(收稿:2012-08-06 修回:2012-10-15)

(本文编辑:金谷英)