

# 干细胞移植治疗心肌梗死的研究进展

李晗 冯茹 李昕 祁泉

**【摘要】** 心脏作为终末分化器官,其再生能力十分有限。动物实验表明干细胞移植可以促进心肌细胞再生,有效改善左室功能。近年来,干细胞移植与非细胞策略结合为心肌梗死的治疗提供了新思路。该文主要介绍干细胞移植治疗心肌梗死的现状、遇到的障碍和非细胞策略。

**【关键词】** 心肌梗死;心力衰竭;干细胞移植;成体干细胞;多能干细胞

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2018.06.001

随着再生医学的发展,干细胞移植被证明可以使梗死区心肌细胞再生,从源头上治疗心肌梗死,其中针对成体干细胞(adult stem cells, ASC)的研究开展较早且较为成熟。人多能干细胞(human pluripotent stem cells, hPSC)具有强大的多向分化潜能,是近年来的研究热点<sup>[1]</sup>。

## 1 干细胞移植疗法

### 1.1 ASC 移植治疗心肌梗死

ASC 是存在于已分化组织中的未分化细胞,它可以来源于各种组织器官,包括骨骼肌成肌细胞、骨髓单核细胞、骨髓间充质干细胞、脂肪间充质干细胞、内皮祖细胞等。心脏祖细胞群也是其中的一种,包括 c-kit<sup>+</sup> 心脏干细胞、Sca-1<sup>+</sup> 心脏干细胞、Isl-1<sup>+</sup> 心脏干细胞、成纤维细胞集落形成单位、心肌球细胞、心外膜源性细胞、心肌球源性干细胞(cardiosphere-derived stem cells, CDC)和侧群细胞<sup>[2]</sup>。这些 ASC(主要是骨髓源性)由于分离、纯化技术完备,且具有低免疫原性和多向分化潜能,已经应用于临床研究中。在体外,ASC 可以分化为包括心肌细胞在内的多种不同类型的细胞,具有替代受损心肌细胞的潜能,但是在体内 ASC 的成心肌能力较弱、移植存活率低,并且归巢困难。

ASC 移植主要是通过旁分泌作用(如分泌可溶性因子、外泌体和未编辑 RNA)治疗心肌梗死,而不

是直接分化为有功能的心肌细胞。ASC(如 CDC 和间充质干细胞)分泌的生长因子包括血管内皮生长因子(VEGF)、肝细胞生长因子(HGF)、基质细胞源性因子-1(SDF-1)和胰岛素样生长因子-1(IGF-1)。这些生长因子通过促进血管新生,活化内源前体,调控细胞外基质,保护细胞,抑制细胞凋亡、纤维化和炎症反应,来改善心肌梗死<sup>[3]</sup>。Bao 等<sup>[4]</sup>给小鼠心肌内注射心脏干细胞和骨髓间充质干细胞 28 d 后,该组小鼠细胞因子[如 VEGF、表皮生长因子(EGF)、HGF 和 IGF]分泌增多,左室射血分数从 42.63%升至 59.73%,梗死面积从 31.42%降至 18.87%,显著优于单独移植心脏干细胞或者骨髓间充质干细胞组。

### 1.2 hPSC 移植治疗心肌梗死

hPSC 包括人胚胎干细胞(human embryonic stem cells, hESC)和人诱导多能干细胞(human induced pluripotent stem cells, hiPSC)。hESC 来源于着床前囊胚内细胞团。hiPSC 是通过在已分化的细胞(如成纤维细胞)中进行多能基因的强制表达而产生的<sup>[1]</sup>。与 ASC 不同,hPSC 分化为心肌细胞的能力已经得到证实,其治疗心肌梗死的机制主要是直接分化为心肌细胞。hPSC 具有无限分化为心肌细胞的潜能,并且其分化的心肌细胞可以和宿主心脏一体化。

hPSC 来源的心肌细胞(human pluripotent stem cells-derived cardiomyocytes, hPSC-CM)优势在于可利用患者自身的成体细胞诱导形成心肌细胞,避免了伦理学问题,并且在一定程度上减轻了免疫排斥反应。目前,对 hESC 或 hiPSC 分化得到的心肌细胞的形态学、超微结构、转录和功能特点

基金项目:甘肃省自然科学基金(18JR3RA349);兰州大学创新创业项目(20180060145);兰州大学第一临床医学院卓越计划(20180060108)

作者单位:730099 兰州大学第一临床医学院(李晗,冯茹,李昕);730099 兰州大学第一医院心外科(祁泉)

通信作者:祁泉,Email:673218767@qq.com

已有描述。hPSC 来源的心肌细胞更像是胚胎心肌细胞而不是成体心肌细胞,它的基因表达与成体心肌细胞不同,形态较小,肾上腺素敏感性降低并且兴奋收缩耦联也较弱<sup>[5-6]</sup>。尽管 hPSC 疗法代表着未来再生医学发展的方向,但是在安全性没有被充分验证的前提下,无法开展临床应用。因此,ASC 仍是目前研究的主要对象。

## 2 干细胞疗法在治疗心肌梗死中遇到的障碍

### 2.1 致瘤性和免疫原性

无论是 ASC 还是 hPSC,作为活体细胞,注入人体后都会产生较大的致癌风险。ASC 的致瘤性较低,而 hPSC 的致瘤性较高<sup>[7]</sup>。

免疫原性是指干细胞注入人体后,可能与人体发生免疫排斥反应,导致干细胞受到免疫系统攻击,影响移植后的治疗效果。在干细胞移植时,要求干细胞免疫原性较低。ASC 可以通过低表达人类主要组织相容性复合体 II (MHC II) 和凋亡相关因子配体 (FasL),不表达人类主要组织相容性复合体 I (MHC I) 来抑制 T 细胞的增殖分化,抑制免疫排斥反应。虽然 ASC 可以通过这种方式免遭免疫系统的攻击,但是培养干细胞时所需的营养成分,如胎牛血清可以使干细胞的免疫原性发生改变,增加了干细胞受到免疫系统攻击的风险<sup>[7]</sup>。

为了解决致瘤性和免疫原性的问题,Tang 等<sup>[8]</sup>使用细胞模拟微粒 (CMMP) 来替代活体干细胞移植。CMMP 是表面覆以干细胞膜、携带干细胞分泌蛋白质组的聚乙烯羟基乙酸共聚物缓释系统。使用骨髓间充质干细胞加工成的 CMMP 与真实的间充质干细胞表面抗原相似,且适合低温保存和冷冻干燥。将其直接注入急性心肌梗死小鼠心肌中,可促进梗死区血管新生,减缓左室重构<sup>[9]</sup>。但如何运输只有微米大小的 CMMP 是其临床应用的首要难题。

### 2.2 移植后低存活率

在干细胞移植后早期,细胞就有大量死亡,较低的移植效率可能对上述多能干细胞移植动物实验的结果产生干扰。研究表明,在对心肌注射 hiPSC 后,早期只有 15%~17% 的细胞存留于心脏<sup>[10]</sup>。重复给药可以提高移植后细胞存活率,这是最简便的策略<sup>[11-12]</sup>。另外,使用可注射水凝胶来作为移植细胞的载体,可以提高移植细胞存活率,并减弱宿主的免疫反应<sup>[13-14]</sup>。还有研究者将 3D 打印的亚微米级别细胞外基质支架和 hPSC-CM 结合在

一起,制作成心脏补丁,再用脱细胞牛心包膜将其缝合在心肌梗死小鼠梗死区表面,1 周后 hPSC-CM 滞留率高达 27.1%<sup>[15-16]</sup>。

### 2.3 组织靶向性

通过开胸手术直接将干细胞注射到心肌梗死周边区和经导管冠状动脉内注射是目前干细胞移植常用的方法。磁性靶向策略是一种新型运送干细胞的方法。Vandergriff 等<sup>[17]</sup>将氧化铁纳米颗粒、硫酸肝素和鱼精蛋白制成的纳米复合物装载在心源性干细胞上,将其经由冠状动脉注入心肌梗死小鼠模型中,而后借助人造磁场使其靶向到达梗死区,24 h 后核磁共振成像显示梗死区移植细胞的滞留率明显提高。最近一项研究成功运用血小板膜使心脏干细胞靶向到达受损心肌<sup>[18]</sup>。使用心肌损伤时产生的抗体,比如肌球蛋白轻链作为标志物,也能够使干细胞靶向到达心肌受损区域<sup>[19]</sup>。

## 3 非细胞策略

除了直接使用 ASC 和 hPSC 之外,一些非细胞策略如应用来源于干细胞的外泌体、内源性心脏刺激、直接重编程和组织工程等,也被用于辅助干细胞移植治疗<sup>[1]</sup>。

### 3.1 来源于干细胞的外泌体

干细胞源外泌体是来源于干细胞培养液,在特定的应激条件下由干细胞分泌释放的直径为 30~100 nm 的磷脂双分子微泡。这些外泌体包含很多细胞间的信号分子,如蛋白质、脂质、细胞特异性 mRNA、微小 RNA (miRNA) 等。研究表明,骨髓间充质干细胞来源外泌体可以抑制心肌梗死患者心肌纤维化并有效改善心功能<sup>[20]</sup>。该研究提示使用来源于干细胞的外泌体治疗心肌梗死的策略富有前景。

### 3.2 内源性心脏刺激

使用蛋白质或其他生长因子,如胸腺素  $\beta_4$ 、VEGF、单核细胞趋化蛋白-3 (MCP-3)、前列腺素 F (PGF) 和干细胞归巢因子等,可以刺激内源性心肌干细胞增殖分化,使其产生新的心肌细胞,同时促进血管新生,修复受损心肌<sup>[21]</sup>。但是目前尚无研究证明单独使用这些刺激可以促进心脏自身新生心肌细胞。

### 3.3 直接重编程

直接重编程是通过直接修改内源性成纤维细胞的基因,使其转变为有功能的心肌细胞,逆转瘢痕组织,从而治疗心肌梗死。该策略避免了移植细

胞归巢、迁移等问题,而且降低了移植细胞的致瘤性<sup>[22]</sup>。多种生长因子、趋化因子、转录因子和 miRNA 可用于重编程,在动物实验中已取得了良好的效果,改善了小鼠的心功能<sup>[23]</sup>。但心脏有大量用于结构支撑和发挥正常功能所必须的成纤维细胞,无选择地将成纤维细胞转化为心肌细胞会损伤心脏。靶向转化成纤维细胞是实现直接重编程临床转化的主要挑战。

### 3.4 组织工程

组织工程技术主要包括细胞片层技术水凝胶注射、有孔材料应用和微型胶囊技术<sup>[24]</sup>。应用这些技术可以解决干细胞体内移植靶向特异性差、定植困难、滞留时间短、存活率低等问题。2015 年报道了第一例使用胚胎干细胞结合支架材料,明显改善严重缺血性心力衰竭患者心功能的临床病例<sup>[25]</sup>。研究人员将 hESC 来源心脏祖细胞嵌入一个纤维蛋白支架中,而后通过外科手术将其运送到 1 例 68 岁的心力衰竭患者(纽约心脏病协会心功能分级Ⅲ级)心肌梗死区中,1 个月后患者的心功能恢复到Ⅰ级,左室射血分数达到了 36%。但生物相容性、力学特性良好的材料的研制较为困难,这是组织工程面临的难题。

## 4 展望

尽管干细胞移植治疗心肌梗死还面临着许多挑战,但是新的解决办法也在不断提出,干细胞移植和非细胞策略相结合的复合疗法将在未来造福心肌梗死患者。

### 参 考 文 献

- [1] Le TY, Thavapalachandran S, Kizana E, et al. New developments in cardiac regeneration[J]. Heart Lung Circ, 2017, 26(4):316-322.
- [2] Chong JJ. Cell therapy for left ventricular dysfunction: an overview for cardiac clinicians[J]. Heart Lung Circ, 2012, 21(9):532-542.
- [3] Liu N, Qi X, Han Z, et al. Bone marrow is a reservoir for cardiac resident stem cells[J]. Sci Rep, 2016, 6:28739.
- [4] Bao L, Meng Q, Li Y, et al. C-kit positive cardiac stem cells and bone marrow-derived mesenchymal stem cells synergistically enhance angiogenesis and improve cardiac function after myocardial infarction in a paracrine manner[J]. J Card Fail, 2017, 23(5):403-415.
- [5] Mummery CL, Zhang J, Ng ES, et al. Differentiation of human embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells to cardiomyocytes a methods overview[J]. Circ Res, 2012, 111(3):344-358.
- [6] Pillekamp F, Haustein M, Khalil M, et al. Contractile properties of early human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes: beta-adrenergic stimulation induces positive chronotropy and lusitropy but not inotropy[J]. Stem Cells Dev, 2012, 21(12):2111-2121.
- [7] Heslop JA, Hammond TG, Santeramo I, et al. Understanding and assessing the risks of stem cell-based therapies[J]. Stem Cells Transl Med, 2015, 4(4):389-400.
- [8] Tang J, Shen D, Caranasos TG, et al. Therapeutic microparticles functionalized with biomimetic cardiac stem cell membranes and secretome[J]. Nat Commun, 2017, 8:13724.
- [9] Luo L, Tang J, Nishi K, et al. Fabrication of synthetic mesenchymal stem cells for the treatment of acute myocardial infarction in mice[J]. Circ Res, 2017, 120(11):1768-1775.
- [10] Martens A, Rojas SV, Baraki H, et al. Substantial early loss of induced pluripotent stem cells following transplantation in myocardial infarction[J]. Artif Organs, 2014, 38(11):978-984.
- [11] Guo Y, Wysoczynski M, Nong Y, et al. Repeated doses of cardiac mesenchymal cells are therapeutically superior to a single dose in mice with old myocardial infarction[J]. Basic Res Cardiol, 2017, 112(2): 18.
- [12] Bolli R. Repeated cell therapy: a paradigm shift whose time has come[J]. Circ Res, 2017, 120(7):1072-1074.
- [13] Hernandez MJ, Christman KL. Designing acellular injectable biomaterial therapeutics for treating myocardial infarction and peripheral artery disease[J]. JACC Basic Transl Sci, 2017, 2(2):212-226.
- [14] Tang J, Cui X, Caranasos TG, et al. Heart repair using nanogel-encapsulated human cardiac stem cells in mice and pigs with myocardial infarction[J]. ACS Nano, 2017, 11(10):9738-9749.
- [15] Tang J, Vandergriff A, Wang Z, et al. A regenerative cardiac patch formed by spray painting of biomaterials onto the heart[J]. Tissue Eng Part C Methods, 2017, 23(3):146-155.
- [16] Gao L, Kupfer ME, Jung JP, et al. Myocardial tissue engineering with cells derived from human induced-pluripotent stem cells and a native-like, high-resolution, 3-dimensionally printed scaffold[J]. Circ Res, 2017, 120(8): 1318-1325.
- [17] Vandergriff AC, Hensley TM, Henry ET, et al. Magnetic targeting of cardiosphere-derived stem cells with ferumoxylol nanoparticles for treating rats with myocardial infarction[J]. Biomaterials, 2014, 35(30):8528-8539.
- [18] Lo CY, Weil BR, Palka BA, et al. Cell surface glycoengineering improves selectin-mediated adhesion of mesenchymal stem cells (MSCs) and cardiosphere-derived cells (CDCs): pilot validation in porcine ischemia-reperfusion model[J]. Biomaterials, 2016, 74:19-30.

- [35] Ji ST, Kim H, Yun J, et al. Promising therapeutic strategies for mesenchymal stem cell-based cardiovascular regeneration; from cell priming to tissue engineering[J]. *Stem Cells Int*, 2017, 2017;3945403.
- [36] Tian BZ, Liu J, Dvir T, et al. Macroporous nanowire nanoelectronic scaffolds for synthetic tissues[J]. *Nat Mater*, 2012, 11(11):986-994.
- [37] Feiner R, Dvir T. Engineered hybrid cardiac patches with multifunctional electronics for online monitoring and regulation of tissue function[J]. *Tissue Eng Part A*, 2016, 22(1):S54.
- [38] Prat-Vidal C, Gálvez-Montón C, Puig-Sanvicens V, et al. Online monitoring of myocardial bioprosthesis for cardiac repair[J]. *Int J Cardiol*, 2014, 174(3):654-661.

(收稿:2018-07-27 修回:2018-09-27)

(本文编辑:胡晓静)

(上接第 323 页)

- [19] Cheng K, Shen D, Hensley MT, et al. Magnetic antibody-linked nanomatchmakers for therapeutic cell targeting[J]. *Nat Commun*, 2014, 5:4880.
- [20] Guo J, Lin GS, Bao CY, et al. Anti-inflammation role for mesenchymal stem cells transplantation in myocardial infarction[J]. *Inflammation*, 2007, 30(3/4):97-104.
- [21] Iwasaki H, Kawamoto A, Tjwa M, et al. PlGF repairs myocardial ischemia through mechanisms of angiogenesis, cardioprotection and recruitment of myo-angiogenic competent marrow[J]. *PLoS One*, 2011, 6(9):e24872.
- [22] Muraoka N, Ieda M. Direct reprogramming of fibroblasts into myocytes to reverse fibrosis[J]. *Annu Rev Physiol*, 2014, 76(76):21-37.
- [23] Doppler SA, Deutsch MA, Lange R, et al. Direct reprogramming—The future of cardiac regeneration? [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(8):17368-17393.
- [24] 吕井井, 施国丞, 陈会文. 心脏干细胞治疗心血管疾病的研究进展[J]. *中国胸心血管外科临床杂志*, 2017, 24(12):983-987.
- [25] Menasché P, Vanneau V, Hagège 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.

(收稿:2018-06-29 修回:2018-09-17)

(本文编辑:丁媛媛)

**NO NSOMKING**  
THE LIFE WILL BE MORE BEAUTIFUL

不吸烟，生活更美好

