

组织工程在心肌梗死中的治疗作用及优化策略

陈龙 严文华

【摘要】 组织工程对心肌梗死的治疗主要通过支架、补片和辅助注射途径。心脏组织工程能够填补梗死区的破损缺口并防止心室扩张,还可为细胞、药物、蛋白质以及核酸提供高效的运输载体。生物材料是心脏组织工程的基础,对其表面特性、组成成分、作用形式、注入方式、靶向性等方面的优化有助于克服材料自身的局限性。该文分析了组织工程在心肌梗死中的应用及优化策略。

【关键词】 心肌梗死;组织工程;生物材料

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2018.06.002

心肌梗死是一条或多条冠状动脉分支阻塞引起的心肌细胞缺血坏死,梗死后的心肌被瘢痕组织替代,最终导致心力衰竭。急性心肌梗死是全球死亡率最高的疾病之一。药物治疗、经皮冠状动脉介入术(PCI)、冠状动脉旁路移植术提高了心肌梗死患者的生存率,但不能在本质上逆转梗死心肌的损伤或改善心功能。心脏组织工程是利用生长因子、干细胞、可注射生物材料修复受损心肌的一种新型治疗手段,主要通过支架、补片和辅助注射取代梗死区的疤痕组织,为移植物创造良好的、类似于细胞外基质的生物微环境,促进心功能恢复。随着科技进步,个体特异性心脏组织工程得以实现^[1]。目前,许多生物材料,如纤维蛋白、基质凝胶、壳聚糖水凝胶等,已经成功应用于心脏组织工程并取得了良好疗效^[2]。

1 心脏组织工程的生物材料

心脏组织工程生物材料的制备结合了化学、物理、生物等多个学科的理论与方法,除了作为细胞或分子的临时运载工具,它还能提供多种生物化学信号,促进功能性仿生心肌组织与原位心肌形成统一的整体。常用的天然材料有壳聚糖、明胶、海藻酸钠、丝素蛋白、透明质酸和纤维蛋白,合成材料有聚乳酸、聚乙醇酸、乳酸-羟基乙酸共聚物以及聚己内酯^[3],其他还有钙调素等基因工程产物以及普鲁兰、卡拉胶等不常见的材料^[4]。不同的生物材料各

有其特点,如 Fullerenol/Alginate 水凝胶能有效地清除超氧阴离子和羟自由基^[5]。原材料的性质和制备方法决定了生物材料的最终性能,如电导率,降解率,与细胞、药物及受体组织的相互作用等。单一生物材料功能有限,多种材料协同应用可较好地兼顾各成分在结构与功能上的优势性能。

心脏组织工程的目的是修复受损的梗死组织,故移植材料应在生物学和力学上满足心脏结构与功能恢复的需要,如强度、毒性、免疫原性、生物相容性、免疫耐受性、材料和细胞间的电传导性等。根据目前的研究现状,心脏组织工程的安全性大多能够得到保障,如直径 50 nm 的金纳米颗粒无细胞毒性和免疫原性,在改善心肌梗死大鼠心功能的同时,不会引起明显的不良反应^[6]。另外,脱细胞心脏组织比人工合成材料更受青睐,这也是基于对安全性和非免疫原性的考虑^[7]。

2 心脏组织工程对心肌梗死的治疗作用

心脏组织工程能够填补梗死区的破损缺口并防止心室扩张,还可为细胞、药物、蛋白质以及核酸提供高效的运输载体并避免体内不良环境的干扰。心脏组织工程的作用主要包含以下几个方面:(1)支架。基于生物材料的自身性质和生物机制而开发的具有生物活性的仿生支架可以对梗死区细胞内的特定信号刺激进行调控,实现支持心脏新生组织生长的目的。如糖胺聚糖拟肽纳米纤维支架能够在不添加任何生物衍生因子或干细胞的情况下,通过与内源性生长因子的相互作用,诱导心肌梗死后血管新生^[8]。(2)补片。心脏补片可用于修复梗死心肌缺损,或单纯增加梗死区室壁厚度,限制左室重构。有研究表

明,从具有生物活性的细胞外基质中提取的水凝胶具有生物相容性和生物可降解性,既能填补梗死心肌的缺损,还可以通过增加室壁厚度和 La Place's 定律降低室壁张力^[9]。Zhou 等^[10]在水凝胶中加入氧化石墨烯,增强了细胞与补片间的电导性,促进了心脏的收缩与舒张功能。(3)运输载体。干细胞疗法是当前研究的热点之一,其依赖细胞的增殖分化与旁分泌机制发挥作用。然而,由于受体内不良因素的影响,在注射过程中因机械压力而受损的干细胞数量高达 40%^[11],只有约 3% 的间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)在 24 h 后出现在梗死边缘区,<1% 的 MSC 能存活 1 周以上^[12]。利用生物材料包封干细胞能够有效地保护细胞免受损害。Levit 等^[13]利用海藻酸钠包封 MSC,与对照组相比,采用海藻酸钠包封 MSC 治疗的大鼠心肌梗死组的射血分数提高 43%,瘢痕组织减小 50%,梗死边缘区血管数量增加 4 倍。Boffito 等^[14]也证明了生物材料在干细胞疗法中能够明显增加梗死心肌的血管密度,提高心脏的射血分数。此外,在常规的蛋白质疗法中,注入的生长因子或药物受到循环血流的影响,极大地降低了蛋白质的传输效率^[15]。通过物理包封、非共价结合^[16]、配体-受体相互作用的策略能够提高注入物的滞留率,而一定孔径和孔隙的生物材料能够控制所装载分子的释放速度,如通过同轴静电纺丝法合成的聚己内酯可实现对生长因子的持续释放^[17]。将包封血管内皮生长因子的脂质体在大鼠心肌梗死后进行静脉注射,与对照组相比,治疗组的心脏功能和血管密度在 4 周后显著提升^[9]。近年来,RNA 干扰(RNAi)介导的基因沉默技术因其高特异性而在心肌梗死治疗中表现出广阔的应用前景,然而,带负电荷的细胞外基质分子对强阳离子载体基因传递过程的阻断作用、肾滤过功能和血清 RNA 酶的存在^[17],使 siRNA 的传输成为难题。晚期糖基化终末产物受体的激活与心肌损伤密切相关,脱氧胆酸修饰的聚乙烯亚胺可作为 siRNA 载体,传输后的 siRNA 对晚期糖基化终末产物受体的激活相关基因的敲除率高达 84.9%^[18]。Monaghan 等^[19]将含外源性 miR-29B 的 10 μ L 水凝胶局部注入小鼠心肌梗死边缘区,显著改善了小鼠的心功能。

心脏组织工程对心肌梗死的治疗效果在临床试验中已得到证实。2013 年, Lee 等^[20]采用冠状动脉旁路移植术联合 Algisyl-LVR 水凝胶对 11 例心力衰竭患者进行治疗,患者术后射血分数提高了

7.8%,提示该疗法的安全性和可行性。2015 年, AUGMENT-HF 试验^[21]结果显示, Algisyl-LVR 心肌注射能够改善晚期心力衰竭患者的心功能。

3 心脏组织工程的优化

心脏组织工程在心肌修复中的治疗潜力已得到证实。然而,无论是天然或者人工合成的生物聚合物,都存在缺陷,故采取优化措施至关重要。

3.1 表面修饰

具有生物活性的仿生表面是提高组织相容性的必要因素。表面修饰的策略众多,如表面粗糙化、有序模式化、等离子体处理、化学蚀刻、共价涂层等^[22]。修饰后的仿生表面通过与细胞或心肌组织的相互作用介导心肌梗死区的修复,如在 3D 胶原基质中培养的成体干细胞能够在没有趋化因子的情况下增殖并迁移^[23]。合理的表面修饰可以提高生物材料的生物相容性、亲水性、pH 敏感性以及官能团密度,使疗效最大化。

3.2 混合生物材料的制备

天然生物材料具有高生物活性与高生物相容性,但力学性能差、不可控等问题极大地限制了临床应用。合成材料易于控制与调节各项成分的组成和物理特性,如导电性、收缩性、密度、孔隙率和硬度,但缺乏细胞的模式识别受体,不利于促进细胞应答^[24-25]。混合生物材料有望实现结构与功能上的互补。Ruvinov 等^[26]将脱细胞的猪心脏细胞外基质与 genipin 或者壳聚糖混合制备生物材料,心肌梗死大鼠模型的心功能在 8 周后显著改善。此外,结构内部乏氧是大多数生物支架面临的挑战。Fan 等^[27]研制的释氧抗氧化性低温聚合物支架很好地解决了这个问题。

3.3 纳米材料的应用

纳米设计能够定制接近天然细胞外基质的生物材料,可以提高外源性干细胞的存活率,改善药物或蛋白质的运输,促进心功能恢复。粒径在 10~100 nm 之间的纳米颗粒可作为经动静脉药物注射系统的理想材料,可有效改善循环时间^[28]。对纳米材料进行修饰能够进一步优化治疗效果。将单壁碳纳米管与多聚 N-异丙基丙烯酰胺水凝胶结合后用作细胞移植载体,在正常培养条件下,培养后的细胞是多聚 N-异丙基丙烯酰胺水凝胶组的 1.25 倍^[29]。将糖胺聚糖拟肽纳米纤维水凝胶和单纯纳米纤维水凝胶分别进行心肌内注射,4 周后半定量分析表明,两者的梗死面积比约为 1:2^[30]。目前,

基于纳米工程的智能生物材料得到广泛关注,以对化学敏感性材料(如 pH/葡萄糖/氧化剂敏感性材料)、生物敏感性材料(如抗原/抗体敏感性材料)以及物理敏感性材料(如温度/光/压力/电/磁场敏感性材料)的研究最为深入,而环境敏感性材料在药物注射系统中已显示出明显优势^[31]。

3.4 生物材料作用形式的改进

创新的生物组织表达形式往往能够突破传统疗法的局限。Izadifar 等^[32]开发的双层纳米颗粒运输系统具有较低的“爆发效应”,对生长因子释放速度的控制显著优于单层材料。另外,由于受到缺氧等因素的限制,心脏补片使用量一般不超过 3 张。Matsuo 等^[33]将水凝胶微球插入心脏补片相邻两层之间,通过控制层间距克服缺氧的局限性,使移植的心脏补片达到 15 张,甚至可高达 40 张,进而在心肌梗死大鼠模型上实现了大面积心脏组织的移植。

3.5 生物材料注入方式的优化

生物材料的注入途径主要有心肌内注射、冠状动脉内注射以及静脉注射三种方式。借助导管的心肌内注射具有局部治疗的优势,并可将潜在的全身效应降到最低^[2]。经血管给药利用了心肌梗死区毛细血管的高通透性,注入的生物材料易通过血管进入梗死区,但滞留率相对较低,且需考虑全身不良反应和免疫原性等问题。此外,心肌梗死是一个复杂的时间依赖过程,生物材料在不同的时间段注射具有疗效差异性。Yoshizumi 等^[34]的研究表明,在纤维化期(大约在心肌梗死后 3 d 至 2 周)注入生物材料,效果最佳。不同生物材料的最佳注射时间存在差异,故最佳方案仍需进一步探讨。

3.6 心脏组织工程靶向性的提高

外源性物质易受体内微环境的干扰而难以定位或被快速清除,这就促使靶向治疗策略的产生。基质金属蛋白酶在梗死心肌中表达上调,Nguyen 等^[28]通过构建酶应答肽-聚合物两性分子,与基质金属蛋白酶相互作用,促使经静脉注射的纳米颗粒在梗死区停留长达 28 d。在心肌梗死小鼠模型中,研究人员鉴定了 CRPPR、CRKDKC、KSTRKS、CARSKNKDC 等 4 个肽序列。将心肌梗死归位肽包被的 MSC 注射到心肌梗死小鼠模型中,梗死心肌中归巢的 MSC 数量显著增多^[35]。

3.7 电子技术的应用

目前,组织工程在心肌梗死临床前动物实验与

临床应用中的疗效主要根据心脏结构与功能指标的改变程度来衡量,开发在线监测系统具有积极意义。Tian 等^[36]将基于硅纳米材料的传感系统整合于水凝胶等生物补片,用其监测心肌局部电活动及血液 pH 值。另有研究将金电极与生物材料相结合,除了能够记录细胞的电活动,还能按需求进行电刺激,以控制心肌细胞收缩的速度和方向^[37]。Prat 等^[38]也证实了在线监测心肌修复的可能。电子技术的应用有望提高移植补片的安全性,同步心脏电活动。实时监测还为研究心肌梗死后组织功能恢复的机制创造了条件。

4 心脏组织工程的优势和挑战

借助于支架、补片和辅助注射等途径,组织工程在心肌梗死的治疗上取得了长足进步。生物支架可以扩张血管,增加组织供血;心脏补片能够替换受损心肌,促进心肌再生;此外,生物材料的载体功能有效减轻了体内不利因素对细胞、蛋白质等移植物的消极影响。随着技术进步,生物组织结构微调得以实现。然而,组织工程的临床应用仍然存在缺陷,且优化策略进展有限。生物材料的制作工艺落后、细胞疗法的干细胞来源不足、移植干细胞的免疫原性、注入蛋白质的低滞留率等都是心脏组织工程的巨大挑战。在临床试验中,样本量少、观察时间短、远期预后观察缺失导致心脏组织工程的可靠性与安全性仍不明确。利用组织工程恢复梗死心肌功能的机制仍待充分阐明。

参 考 文 献

- [1] Wang QJ, Yang H, Bai AB, et al. Functional engineered human cardiac patches prepared from Nature's platform improve heart function after acute myocardial infarction[J]. *Biomaterials*, 2016, 105:52-65.
- [2] Cui Z, Yang BF, Li RK. Application of biomaterials in cardiac repair and regeneration[J]. *Engineering*, 2016, 2(1):141-148.
- [3] Chen FM, Liu XH. Advancing biomaterials of human origin for tissue engineering[J]. *Prog Polym Sci*, 2016, 53:86-168.
- [4] Toh WS, Loh XJ. Advances in hydrogel delivery systems for tissue regeneration[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2014, 45:690-697.
- [5] Hao T, Li JJ, Yao FL, et al. Injectable fullerene/algininate hydrogel for suppression of oxidative stress damage in brown adipose-derived stem cells and cardiac repair[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(6):5474-5488.
- [6] Ahmed SM, Abdelrahman SA, Salama AE. Efficacy of gold nanoparticles against isoproterenol induced acute myocardial infarction in adult male albino rats[J]. *Ultrastruct Pathol*, 2017, 41(2):168-185.

- [7] Shahabipour F, Banach M, Johnston TP, et al. Novel approaches toward the generation of bioscaffolds as a potential therapy in cardiovascular tissue engineering[J]. *Int J Cardiol*, 2017, 228:319-326.
- [8] Fleischer S, Feiner R, Dvir T. Cardiac tissue engineering: from matrix design to the engineering of bionic hearts[J]. *Regen Med*, 2017, 12(3):275-284.
- [9] Nguyen MM, Gianneschi NC, Christman KL. Developing injectable nanomaterials to repair the heart[J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2015, 34:225-231.
- [10] Zhou J, Yang XN, Liu W, et al. Injectable OPF/graphene oxide hydrogels provide mechanical support and enhance cell electrical signaling after implantation into myocardial infarct [J]. *Theranostics*, 2018, 8(12):3317-3330.
- [11] Baldari S, Di Rocco G, Piccoli MA, et al. Challenges and strategies for improving the regenerative effects of mesenchymal stromal cell-based therapies[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(10):2087.
- [12] Vizoso FJ, Eiro N, Cid S, et al. Mesenchymal stem cell secretome: toward cell-free therapeutic strategies in regenerative medicine[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(9):1852.
- [13] Levit RD, Landázuri N, Phelps EA, et al. Cellular encapsulation enhances cardiac repair[J]. *J Am Heart Assoc*, 2013, 2(5):e000367.
- [14] Boffito M, Di Meglio F, Mozetic PA, et al. Surface functionalization of polyurethane scaffolds mimicking the myocardial microenvironment to support cardiac primitive cells[J]. *PLoS One*, 2018, 13(7):e0199896.
- [15] Boopathy AV, Davis ME. Self-assembling peptide-based delivery of therapeutics for myocardial infarction [J]. *Methods Mol Biol*, 2014, 1141:159-164.
- [16] De Mel A, Cousins BG, Seifalian AM. Surface modification of biomaterials: a quest for blood compatibility [J]. *Int J Biomater*, 2012, 2012:707863.
- [17] Yanamandala M, Zhu WQ, Garry DJ, et al. Overcoming the roadblocks to cardiac cell therapy using tissue engineering [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2017, 70(6):766-775.
- [18] Ku SH, Hong J, Moon HH, et al. Deoxycholic acid-modified polyethylenimine based nanocarriers for RAGE siRNA therapy in acute myocardial infarction[J]. *Arch Pharm Res*, 2015, 38(7):1317-1324.
- [19] Monaghan MG, Holeiter M, Brauchle E, et al. Exogenous miR-29B delivery through a hyaluronan-based injectable system yields functional maintenance of the infarcted myocardium[J]. *Tissue Eng Part A*, 2018, 24(1/2):57-67.
- [20] Lee LC, Wall ST, Klepach D, et al. Algisyl-LVR™ with coronary artery bypass grafting reduces left ventricular wall stress and improves function in the failing human heart[J]. *Int J Cardiol*, 2013, 168(3):2022-2028.
- [21] Pellicori P, Clark AL. Clinical trials update from the European Society of Cardiology—heart failure meeting 2015: AUGMENT-HF, TITRATION, STOP-HF, HARMONIZE, LION HEART, MOOD-HF, and renin-angiotensin inhibitors in patients with heart and renal failure[J]. *Eur J Heart Fail*, 2015, 17(9):979-983.
- [22] Moorthi A, Tyan YC, Chung TW. Surface-modified polymers for cardiac tissue engineering[J]. *Biomater Sci*, 2017, 5(10):1976-1987.
- [23] Ishii M, Shibata R, Shimizu Y, et al. Multilayered adipose-derived regenerative cell sheets created by a novel magnetite tissue engineering method for myocardial infarction[J]. *Int J Cardiol*, 2014, 175(3):545-553.
- [24] Barron C, He JQ. Alginate-based microcapsules generated with the coaxial electrospray method and its clinical application[J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2017, 28(13):1245-1255.
- [25] Sepantafar M, Maheronnaghsh R, Mohammadi H, et al. Stem cells and injectable hydrogels: synergistic therapeutics in myocardial repair[J]. *Biotechnol Adv*, 2016, 34(4):362-379.
- [26] Ruvinov E, Cohen S. Alginate biomaterial for the treatment of myocardial infarction: progress, translational strategies, and clinical outlook from ocean algae to patient bedside[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 96:54-76.
- [27] Fan ZB, Xu ZB, Niu H, et al. An injectable oxygen release system to augment cell survival and promote cardiac repair following myocardial infarction [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):1371.
- [28] Nguyen MM, Carlini AS, Chien MP, et al. Enzyme-responsive nanoparticles for targeted accumulation and prolonged retention in heart tissue after myocardial infarction [J]. *Adv Mater*, 2015, 27(37):5547-5552.
- [29] Li X, Zhou J, Liu ZQ, et al. A PNIPAAm-based thermosensitive hydrogel containing SWCNTs for stem cell transplantation in myocardial repair[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(22):5679-5688.
- [30] Rufaihah AJ, Yasa IC, Ramanujam VS, et al. Angiogenic peptide nanofibers repair cardiac tissue defect after myocardial infarction[J]. *Acta Biomater*, 2017, 58:102-112.
- [31] Saludas L, Pascual-Gil S, Prosper F, et al. Hydrogel based approaches for cardiac tissue engineering[J]. *Int J Pharm*, 2017, 523(2):454-475.
- [32] Izadifar M, Kelly ME, Chen X. Regulation of sequential release of growth factors using bilayer polymeric nanoparticles for cardiac tissue engineering[J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2016, 11(24):3237-3259.
- [33] Matsuo T, Masumoto H, Tajima S, et al. Efficient long-term survival of cell grafts after myocardial infarction with thick viable cardiac tissue entirely from pluripotent stem cells [J]. *Sci Rep*, 2015, 5:16842.
- [34] Yoshizumi T, Zhu Y, Jiang HB, et al. Timing effect of intramyocardial hydrogel injection for positively impacting left ventricular remodeling after myocardial infarction [J]. *Biomaterials*, 2016, 83:182-193.

- [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, 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.

(收稿:2018-06-29 修回:2018-09-17)

(本文编辑:丁媛媛)

NO SMOCKING
THE LIFE WILL BE MORE BEAUTIFUL

不吸烟，生活更美好

