

## 经5-氮胞苷诱导骨髓间充质干细胞心肌移植对心功能的影响\*☆

陈丽星<sup>1</sup>, 聂俊<sup>1</sup>, 孙金华<sup>2</sup>, 蔡红雁<sup>1</sup>, 赵玲<sup>1</sup>, 郭涛<sup>1</sup>, 肖践明<sup>1</sup>

### Effects of 5-azacytidine-induced bone marrow mesenchymal stem cells transplantation on cardiac function

Chen Li-xing<sup>1</sup>, Nie Jun<sup>1</sup>, Sun Jin-hua<sup>2</sup>, Cai Hong-yan<sup>1</sup>, Zhao Ling<sup>1</sup>, Guo Tao<sup>1</sup>, Xiao Jian-ming<sup>1</sup>

#### Abstract

**BACKGROUND:** Bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) have the potential to differentiate into various cells. BMSCs induced by 5-azacytidine were transplanted into myocardium of rabbits after myocardial infarction. Whether transplanted stem cells could improve cardiac function in short or long time was unclear.

**OBJECTIVE:** To investigate the effects of BMSCs transplantation on cardiac function in rabbits after acute myocardial infarction (AMI).

**METHODS:** Rabbit BMSCs were purified and cultured *in vitro*. BMSCs were induced by 5-azacytidine, and labeled with DAPI at 4 weeks following induction. New Zealand rabbits were randomly divided into three groups. In sham operation group, the chest was opened for 1 hour and then closed. In BMSCs group, autologous BMSCs were infused into the surrounding infarct area at 4 points using a microsyringe at 1 hour following model induction by coronary artery ligation. In AMI group, an equal volume of saline was injected at the same region following model establishment. At 3 days and 4 weeks following transplantation, ultrasonic cardiography was used to determine changes in left ventricular end diastolic volume (LVEDV), left ventricular end-systolic volume (LVESV) and left ventricular ejection fraction (LVEF) in rats from each group.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Fluorescence microscopy results demonstrated that DAPI-labeled BMSCs were distributed extensively in the myocardium of BMSCs group at 3 days and 4 weeks, arranged in parallel with the cardiac muscle fibers. At 3 days after transplantation, there were no significant differences in LVEDV, LVESV and LVEF between AMI and BMSCs groups. No significant improvement was found in cardiac function. At 4 weeks after transplantation, LVEDV and LVESV were significantly decreased, and LVEF was significantly increased in BMSCs group compared with AMI group.

Chen LX, Nie J, Sun JH, Cai HY, Zhao L, Guo T, Xiao JM. Effects of 5-azacytidine-induced bone marrow mesenchymal stem cells transplantation on cardiac function. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(23): 4247-4251.

[http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

#### 摘要

**背景:** 骨髓间充质干细胞具有多分化潜能, 但其在体外经 5-氮胞苷诱导后移植于急性心肌梗死大鼠中, 能否改善近期及长期的心功能, 目前尚不明确。

**目的:** 观察兔骨髓间充质干细胞移植入急性心肌梗死组织后对心功能的影响。

**方法:** 分离培养兔骨髓间充质干细胞, 5-氮胞苷诱导 4 周后, 体外 DAPI 标记。新西兰兔随机均分 3 组, 假手术组: 打开胸腔 1 h 后缝合胸腔; 骨髓间充质干细胞组: 于冠状动脉结扎建立急性心肌梗死模型后 1 h 在梗死周边区用微量注射器分 4 点注射诱导后的自体骨髓间充质干细胞; 急性心肌梗死组: 造模后于相同部位注射等量生理盐水。移植后 3 d, 4 周超声心动图检测各组大鼠左室舒张末期容积, 左室收缩末期容积及射血分数变化。

**结果与结论:** 荧光显微镜观察发现, 骨髓间充质干细胞组移植后 3 d, 4 周心脏标本中均发现有 DAPI 标记的阳性细胞, 呈散在分布于瘢痕周边区并沿心肌纤维排列方向走行。移植后 3 d, 骨髓间充质干细胞组与急性心肌梗死组相比, 左室舒张末期容积、左室收缩末期容积及射血分数无明显差异, 心功能没有明显的改善; 移植 4 周后, 骨髓间充质干细胞组与急性心肌梗死组相比, 射血分数明显提高, 左室舒张末期容积、左室收缩末期容积明显降低。

**关键词:** 骨髓间充质干细胞; 5-氮胞苷; 移植; 心肌梗死; 心功能

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.23.016

陈丽星, 聂俊, 孙金华, 蔡红雁, 赵玲, 郭涛, 肖践明. 经 5-氮胞苷诱导骨髓间充质干细胞心肌移植对心功能的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(23):4247-4251. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

## 0 引言

干细胞是一类具有自我更新和自我分化潜能的细胞, 其分化方向和分化能力是全能的, 可形成包含多种组织的有机体<sup>[1-3]</sup>。心肌内虽存在多潜能的干细胞, 但数量极少, 心肌梗死时不能修复受损的心肌<sup>[4-6]</sup>。因此干细胞心肌移植日益受到人们的重视。课题组前期的实验

已经证明了骨髓间充质干细胞 (bone mesenchymal stem cells, BMSCs)能够在适当的微环境中转化成为心肌样细胞<sup>[7]</sup>, 一些研究也发现这些心肌样细胞拥有正常心肌细胞的形态, 结构特征, 并能够表达心脏特有蛋白和转录因子<sup>[8-10]</sup>。本实验将BMSCs经5-氮胞苷诱导4周后, 移植于心肌梗死模型中, 观察不同时间点, 移植的干细胞对心功能的影响, 为BMSCs在临床上的应用提供理论和实验基础。

<sup>1</sup>Department of Cardiology, First Affiliated Hospital, Kunming Medical College, Kunming 650031, Yunnan Province, China; <sup>2</sup>Department of Internal Medicine, Yunnan Provincial Maternal and Child Health Hospital, Kunming 650051, Yunnan Province, China

Chen Li-xing☆, Doctor, Attending physician, Department of Cardiology, First Affiliated Hospital, Kunming Medical College, Kunming 650031, Yunnan Province, China cheng\_l\_x@sina.com

Correspondence to: Xiao Jian-ming, Professor, Department of Cardiology, First Affiliated Hospital, Kunming Medical College, Kunming 650031, Yunnan Province, China Jianmingxiao@163.com

Supported by: a Grant from Department of Education of Yunnan Province, No. 5Z0470C\*

Received: 2010-01-02 Accepted: 2010-03-14

<sup>1</sup>昆明医学院第一附属医院心内科, 云南省昆明市650031; <sup>2</sup>云南省妇幼保健院内科, 云南省昆明市650051

陈丽星☆, 女, 1977年生, 汉族, 云南省宣威市人, 2009年中山大学毕业, 博士, 主治医师, 主要从事冠心病基础研究。  
cheng\_l\_x@sina.com

通讯作者: 肖践明, 教授, 昆明医学院第一附属医院心内科, 云南省昆明市650031  
Jianmingxiao@163.com

中图分类号: R394.2  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225 (2010)23-04247-05

收稿日期: 2010-01-02  
修回日期: 2010-03-14  
(20100102001/WL-Q)

## 1 材料和方法

**设计:** 随机对照动物实验。

**时间及地点:** 实验于2008-03/2009-08在昆明医学院动物实验中心完成。

**材料:** 新西兰兔42只, 体质量2.3~2.7 kg, 平均2.5 kg, 雌雄不拘, 由昆明医学院实验动物中心提供(动物合格证号: 200800109), 实验过程中对动物的处置符合中华人民共和国科学技术部2006年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》标准<sup>[1]</sup>。

**主要试剂及仪器:**

试剂及仪器	来源
PBS、DMEM培养基	Gibico公司
新生牛血清	杭州四季青生物材料研究所
Percoll分离液	上海维编科贸有限公司
胰蛋白酶	Solarbio公司
DAPI、5-氮胞苷	Sigma公司
肌钙蛋白I单克隆抗体	Neo Markers公司
Vivid 7型超声心动仪	GE公司
倒置显微镜	Sony
荧光显微镜	Olympus

**实验方法:**

**BMSCs的分离培养:** 沿胫骨抽取骨髓液, 采用密度梯度离心法体外分离BMSCs, 将细胞以 $1 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ 的浓度接种于培养瓶中。加入DMEM培养基, 内含体积分数为15%新生牛血清。培养瓶置于37℃培养箱中培养。通过贴壁筛选法, 去除包括血细胞在内的不贴壁细胞, 从而得到BMSCs。当细胞长到90%融合时用0.25%的胰酶消化, 按1:3传代培养<sup>[7]</sup>。倒置相差显微镜逐日观察细胞的生长情况和形态特征, 并拍照。

**BMSCs体外定向诱导分化及诱导后的检测:** 细胞传代后加入浓度为10 μmol/L的5-氮胞苷进行诱导, 倒置相差显微镜观察细胞形态和生长状况并拍照。诱导4周后, 免疫组织化学法检测干细胞是否表达troponin T, 按试剂盒上说明书进行操作。

**诱导后BMSCs的标记:** 当诱导的BMSCs数量达 $1 \times 10^7$ 时准备移植。移植前1 d在培养液中加入终浓度为50 mg/L的4', 6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI), 孵化过夜。用荧光显微镜观察并拍照。

**心肌梗死模型的建立:** 用3%戊巴比妥钠按1 mL/kg将动物麻醉后, 沿正中切开开胸, 注意保持两侧胸膜的完好, 动物行自主呼吸。沿前室

间沟分辨出左冠状动脉前降支的走行, 在左冠状动脉前降支的上、中1/3处穿线高位结扎前降支, 观察前降支供血心肌的颜色, 若心肌明显发绀, 心肌收缩力减弱, 说明结扎成功。否则需进行二次结扎。

**干预分组与细胞移植:** 新西兰兔42只通过抽签法随机均分为假手术组, 急性心肌梗死组和BMSCs组。假手术组: 打开胸腔1 h后缝合胸腔, 未进行药物干预; BMSCs组: 于冠状动脉结扎后1 h在梗死周边区用微量注射器分4点注射自体BMSCs; 急性心肌梗死组: 于相同部位注射等量生理盐水, 每点注射体积30 μL。

**移植后的检测:** 各组分别于移植后3 d、4周时静脉注射10%氯化钾处死。取出心脏, PBS冲洗后立即行冰冻切片, 连续切片4张, 行荧光显微镜观察DAPI标记的BMSCs在心肌中的分布情况。

**心功能的检测:** 各组分别于移植后3 d、4周时, 用GE Vivid 7多普勒超声仪, 10 s探头, 频率11.5 MHz, 深度4 cm, 经胸前壁于胸骨左缘用二维切面超声进行检查。左心室舒张末期容积(left ventricular end-diastolic volume, LVEDV)、左心室收缩末期容积(left ventricular end-systolic volume, LVESV)、心室射血分数(ejection fraction, EF), 所有超声测值均取3个心动周期的平均值。

**主要观察指标:** BMSCs体外诱导分化结果, BMSCs移植后在体内的存活情况; 超声测定移植后3 d、4周各组动物LVEDV, LVESV及EF变化。

**设计、实施、评估者:** 实验设计为第一、二、三、七作者, 干预实施为一、二、三作者, 评估为第四、五、六、七作者, 经过正规培训, 采用盲法评估。

**统计学分析:** 由第一、二作者采用SPSS 11.0软件完成统计处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析及q检验, 两组比较采用两样本t检验,  $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

## 2 结果

**2.1 实验动物数量分析** 纳入新西兰兔42只, 干预4周后, 假手术组14只动物进入结果分析。BMSCs组和急性心肌梗死组, 各死亡1只, 各有13只动物进入结果分析。

**2.2 BMSCs分离培养** 部分BMSCs于接种

后12~24 h内贴壁, 贴壁细胞形态不规则, 呈梭形。大部分造血干细胞及红细胞呈悬浮状态, 经数次换液后可将悬浮细胞去除。贴壁细胞体积逐渐增大, 有粗大突起伸出。7~12 d细胞迅速分裂增殖, 铺成单层, 紧密排列成螺旋梳状。

**2.3 BMSCs体外定向诱导分化为心肌细胞** 10  $\mu\text{mol/L}$  5-氮胞苷处理BMSCs后, 第3天发现细胞形态较未诱导前更细长, 呈梭形, 见图1。

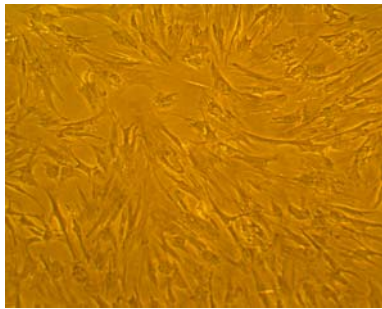


Figure 1 Bone marrow mesenchymal stem cells induced by 5-azacytidine for 12 d ( $\times 200$ )  
图1 BMSCs经5-氮胞苷诱导后第12天( $\times 200$ )

诱导后细胞生长速度较前减慢, 培养4~7 d传代, 10  $\mu\text{mol/L}$  5-氮胞苷诱导BMSCs 4周后, 免疫组织化学检测troponin T为阳性, 即胞质呈棕黄色, 细胞体积较大, 形态不规则, 细胞周围有较长的突起, 见图2。

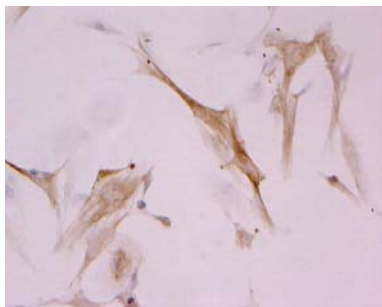


Figure 2 Bone marrow mesenchymal stem cells were positive for troponin T and showed brown after induced by 5-azacytidine for 4 wk ( $\times 250$ )  
图2 5-氮胞苷诱导BMSCs 4周后, 部分细胞troponin T阳性表达, 呈棕黄色( $\times 250$ )

未诱导的BMSCs免疫组织化学检测troponin T为阴性, 阴性对照不显色。说明10  $\mu\text{mol/L}$  5-氮胞苷诱导BMSCs 4周后, BMSCs定向诱导分化为心肌细胞。

**2.4 细胞标记** BMSCs在体外用DAPI标记, 用荧光显微镜观察发蓝色荧光的梭形细胞, 胞核清楚, 胞浆淡染, 见图3。

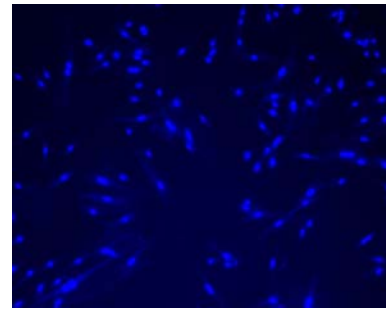


Figure 3 DAPI-labeled bone marrow mesenchymal stem cells exhibit blue fluorescence under a fluorescence microscope ( $\times 100$ )  
图3 荧光显微镜下DAPI标记的BMSCs发蓝色荧光( $\times 100$ )

经5-氮胞苷诱导4周后, BMSCs移植于梗死心肌中的存活: 移植3 d后梗死区组织标本中可见带蓝色荧光的供体细胞核, 形态呈椭圆形类似心肌细胞核, 并与心肌纤维排列方向一致, 见图4。



Figure 4 Intramyocardial bone marrow mesenchymal stem cells-labeled with DAPI at 3 d after transplantation under a fluorescence microscope ( $\times 100$ )  
图4 移植3 d后, 在荧光显微镜下可见分布于心肌中经DAPI标记的BMSCs( $\times 100$ )

移植4周后蓝色荧光细胞数较前减少, 分布较为分散, 见图5。



Figure 5 Intramyocardial bone marrow mesenchymal stem cells labeled with DAPI at 4 wk after transplantation under a fluorescence microscope ( $\times 100$ )  
图5 移植4周后, 在荧光显微镜下可见分布于心肌中经DAPI标记的BMSCs( $\times 100$ )



**2.5 心功能的检测** 移植后3 d, 与假手术组相比, 急性心肌梗死组和BMSCs组LVEDV、LVESV明显升高, EF明显下降, 心功能明显下降。急性心肌梗死组和BMSCs组间LVEDV、LVESV、EF无明显差异。移植后4周, 与急性心肌梗死组相比, BMSCs组LVEDV、LVESV明显下降, EF明显升高, 心功能明显改善, 假手术组和BMSCs组两组间心功能无明显差异, 见表1。

表1 各组动物移植后心功能变化  
Table 1 Cardiac function of each group after transplantation (x±s)

Time	Sham operation group (n=14)	AMI group (n=13)	BMSCs group (n=13)
Pretransplantation			
LVEDV(mm)	11.3±2.1	11.2±0.9	10.9±1.2
LVESV(mm)	9.0±0.9	8.9±0.7	8.6±0.6
LVEF(%)	69.1±6.2	67.5±5.2	67.8±4.8
3 d posttransplantation			
LVEDV(mm)	11.8±1.4	17.1±0.8 <sup>a</sup>	18.6±0.9 <sup>a</sup>
LVESV(mm)	9.2±0.4	14.1±0.7 <sup>a</sup>	14.9±0.5 <sup>a</sup>
LVEF(%)	67.9±6.0	48.9±8.5 <sup>a</sup>	49.2±3.5 <sup>a</sup>
4 wk posttransplantation			
LVEDV(mm)	11.2±1.1	19.7±1.3 <sup>a</sup>	13.3±0.8 <sup>ab</sup>
LVESV(mm)	9.5±0.9	17.3±1.0 <sup>a</sup>	10.6±0.9 <sup>ab</sup>
LVEF(%)	69.1±6.2	40.4±6.2 <sup>a</sup>	63.6±7.2 <sup>ab</sup>

LVEDV: left ventricular end-diastolic volume; LVESV: left ventricular end-systolic volume; LVEF: left ventricular ejection fraction; BMSCs: bone marrow mesenchymal stem cells; AMI: acute myocardial infarction; <sup>a</sup>P < 0.05, vs. sham operation group; <sup>b</sup>P < 0.05, vs. AMI group

### 3 讨论

BMSCs具有较强的自我复制能力和多分化潜能, 在不同的诱导条件下, 具有向中胚层组织细胞分化的能力: 如向成骨细胞、脂肪细胞、心肌细胞分化能力<sup>[12-15]</sup>。本实验中10 μmol/L 5-氮胞苷诱导BMSCs 4周后, 心肌特异性蛋白troponin T免疫组织化学阳性, 未诱导的MSCs troponin T免疫组织化学染色为阴性, 证明5-氮胞苷可诱导BMSCs向类心肌细胞转化, 5-氮胞苷诱导BMSCs向心肌细胞转化的机制可能为: 5-氮胞苷是胞嘧啶核苷的一个类似物, 能引起DNA中某些胞嘧啶的低甲基化, 从而参与激活表型特异性的基因。用5-氮胞苷诱导后, 这个部位去甲基化, 转录激活, 引起细胞向肌源性细胞转化<sup>[16-17]</sup>。

近年来, 冠心病心肌梗死发病率呈上升趋势。心肌缺血引起细胞坏死和局部出现冬眠心肌, 形成瘢痕组织。由于瘢痕无收缩性, 降低了心室功能, 导致心脏代偿性扩张, 最终引起心力衰竭<sup>[18-20]</sup>。目前较肯定的治疗手段有药物、手术、介入治疗。它们虽能消除血管阻塞, 缓解心室重构, 但不能逆转坏死心肌。理想的治疗应该能降低细胞死亡, 使冬眠心肌恢复正常, 刺激梗死区血

管再生, 同时再生心肌细胞代替坏死细胞以保持心功能, 减少瘢痕形成<sup>[1]</sup>。本实验于冠状动脉前降支结扎后1 h在直视下于梗死周边区心肌内直接注射经5-氮胞苷诱导4周后的BMSCs, 最初在注射局部, BMSCs成簇存在, 3 d后梗死区组织标本中可见带蓝色荧光的供体细胞核, 形态呈椭圆形类似心肌细胞核, 并与心肌纤维排列方向一致。移植4周后蓝色荧光细胞数较前减少, 分布较为分散, 可在远离注射部位存在。可能因为BMSCs表面的黏附分子有利于其游走并穿过内皮细胞进入心肌, 类似白细胞所具有的内皮趋化性, 黏附定位于缺血组织。本实验用LVEDV、LVESV、LVEF来评价左室收缩、舒张功能。兔前降支结扎后, 心功能较前明显下降, BMSCs移植3 d后对心功能无明显改善。而在BMSCs移植4周后, 与急性心肌梗死组相比, BMSCs组LVEDV、LVESV明显下降, EF从(40.4±6.2)%上升至(62.6±7.2)%, EF明显升高, 心功能明显改善。

目前BMSCs组改善心肌损伤后的心功能机制仍在探讨之中, 考虑可能与下列因素有关: ①BMSCs具有肌源性特点, 能向心肌细胞分化, 与宿主心肌细胞形成缝隙连接, 可能产生同步收缩, 补充的肌源性细胞具有弹性, 可稳定梗死区域, 防止室壁变薄、心室腔扩大和心衰发生<sup>[21-25]</sup>。②BMSCs能向内皮细胞分化, 并能分泌各种生长因子和细胞因子, 促进血管新生, 增加氧和血供, 提高心肌细胞的存活率<sup>[26-28]</sup>。③BMSCs抑制心肌梗死区促胶原纤维增生的因子合成, 影响了瘢痕细胞外基质的组分, 改变了基质金属蛋白酶系的表达, 抑制了左心室重构的进程<sup>[29-31]</sup>。④BMSCs调节急性心肌梗死引起的炎性反应, 减轻早期组织损伤的程度。具体何种机制在其中发挥着重要作用, 将在今后的研究中进一步探讨。

### 4 参考文献

- WoBert KC. Cell therapy for acute myocardial infarction. *Curr Opin Pharmacol.* 2008;8(2):202-210.
- Grigoropoulos NF, Mathur A. Stem cells in cardiac repair. *Curr Opin Pharmacol.* 2006;6(2):169-175.
- Weissman IL. Normaland neoplastic stem cells. *Novartis Found Svmp.* 2005;265(1):35-50.
- Beeltramia P, Urbanek K, Kajstura J, et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2001;344(23):1750-1757.
- Urbanek K, Quaini F, Tasca G, et al. Intense myocyte formation from cardiac stem cells in human cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100(18):10440-10445.
- Beltramia P, Barlucchi IL, Torella D, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell.* 2003;114(6):763-776.
- Chen LX, Xiao JM, Sun JH, et al. *Zhongguo Weixunhuan.* 2007;11(4):235-239.  
陈丽星, 肖践明, 孙金华, 等. 兔骨髓间充质干细胞来源的心肌(样)细胞的诱导分化研究[J]. *中国微循环.* 2007, 11(4): 235-239.
- Frantz S, Vallabhapurapu D, Tillmans J, et al. Impact of different bone marrow cell preparations on left ventricular remodeling after experimental myocardial infarction. *Eur J Heart Fail.* 2008;10(4):119-124.
- Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J Clin Invest.* 1999;3(5):697-705.

- [10] Ye NS, Chen J, Luo GA, et al. Proteomic profiling of rat bone marrow mesenchymal stem cells induced by 5-azacytidine. *Stem Cells Dev.* 2006;15(5):665-676.
- [11] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance suggestion of caring laboratory animals. 2006-09-30.  
中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见. 2006-09-30.
- [12] Huang RZ, Ge JB. *Zhonghua Xinxueguanbing Zazhi.* 2007;35(6):497-499.  
黄榕种, 葛均波. 骨髓干细胞移植治疗急性心肌梗死研究现状[J]. *中华心血管病杂志*, 2007, 35(6): 497-499.
- [13] Nassiri SM, Khaki Z, Soleimani M, et al. The similar effect of transplantation of marrow-derived mesenchymal stem cells with or without prior differentiation induction in experimental myocardial infarction. *J Biomed Sci.* 2007;14(6):745-755.
- [14] Joung B, Kim IK, Lee MH, et al. Bone Marrow Mononuclear Stem Cells Transplanted in Rat Infarct Myocardium Improved the Electrical Conduction without Evidence of Proarrhythmic Effects. *Yonsei Med J.* 2007;48(5):754-764.
- [15] Kajstura J, Leri A, Finato N, et al. Myocyte proliferation in end-stage cardiac failure in humans. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;95(15):8801-8805.
- [16] Burlacu A, Rosca AM, Maniu H, et al. Promoting effect of 5-azacytidine on the myogenic differentiation of bone marrow stromal cells. *Eur J Cell Biol.* 2008;87(3):173-184.
- [17] Zhong H, Zhu H, Zhang Z. Affects of different access routes on autologous satellite cell implantation stimulating myocardial regeneration. *Chin Med J (Engl).* 2002;115(10):1521-1524.
- [18] Hagege AA, Carrion C, Menasche P, et al. Viability and differentiation of autologous skeletal myoblast grafts in ischaemic cardiomyopathy. *Lancet.* 2003;361(9356):491-492.
- [19] Mege RM, Goudou D, Giaume C, et al. Is intercellular communication via gap junctions required for myoblast fusion? *Cell Adhes Commun.* 1994;2(4):329-343.
- [20] Schuleri KH, Amado LC, Boyle AJ, et al. Early improvement in cardiac tissue perfusion due to mesenchymal stem cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008;294(5):H2002-2011.
- [21] 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 Effects of myocardial transplantation of marrow mesenchymal stem cells. *Cardiology.* 2007;107(1):17-29.
- [22] Halkos ME, Zhao ZQ, Kerendi F, et al. Intravenous infusion of mesenchymal stem cells enhances regional perfusion and improves ventricular function in a porcine model of myocardial infarction. *Basic Res Cardiol.* 2008;103(6):525-536.
- [23] Chen SL, Fang WW, Qian J, et al. Improvement of cardiac function after transplantation of autologous of bone marrow mesenchymal stem cells in patients with acute myocardial infarction. *Chin Med J(Engl).* 2004;117(10):1443-1448.
- [24] Lin GS, Lu JJ, Jiang XJ, et al. Autologous transplantation of bone marrow mononuclear cells improved heart function after myocardial infarction. *Acta Pharmacol Sin.* 2004;25(7):876-886.
- [25] Osterziel KJ. Improved clinical outcome after intracoronary administration of bone-marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2007;28(5):638.
- [26] Qi XY, Zhang J, Li YX, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu.* 2007;11(50):10070-10073.  
齐晓勇, 张军, 李英肖, 等. 自体骨髓间充质干细胞移植后心肌缝隙连接蛋白43表达与室性心动过速发生的关系[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11(50): 10070-10073.
- [27] Hou M, Yang KM, Zhang H, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells from human bone marrow improves damaged heart function in rats. *Int J Cardiol.* 2007;115(2):220-228.
- [28] Qi CM, Ma GS, Liu NF, et al. Transplantation of magnetically labeled mesenchymal stem cells improves cardiac function in a swine myocardial infarction model. *Chin Med J (Engl).* 2008;121(6):544-550.
- [29] Hou M, Yang KM, Zhang H, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells from human bone marrow improves damaged heart function in rats. *Int J Cardiol.* 2007;115(2):220-228.
- [30] Takaoka M, Uemura S, Kawata H. Inflammatory response to acute myocardial infarction augments neointimal hyperplasia after vascular injury in a remote artery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26(9):2083-2089.
- [31] Li SR, Qi XY, Zhang JQ, et al. Improvement of left ventricle remodeling by transplanting Varous autologous bone marrow stem cells. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu.* 2008;12(47):9371-9377.

## 来自本文课题的更多信息--

**基金资助:** 云南省教育厅基金资助项目(5Z0470C)。

**利益冲突:** 无利益冲突。

**课题的意义:** 本实验通过骨髓间充质干细胞在体外经 5-氮胞苷诱导 4 周后, 免疫组织化学证实骨髓间充质干细胞已分化为心肌细胞。将其移植于心肌梗死组织中, 通过心脏超声观察移植细胞对心功能的影响。移植后第 3 天, 移植细胞对心功能无明显改善作用。移植后 4 周, 可明显改善心功能。通过外源性补充骨髓间充质干细胞, 修复受损心肌, 从而改善心功能, 有望成为一种治疗心肌梗死的有效手段。

**课题评估的“金标准”:** 课题主要结果指标评价已采用公认的“金标准”。

**设计或课题的偏倚与不足:** 本实验观察了骨髓间充质干细胞移植于心肌梗死组织中对心功能的影响, 但还需在以后的研究中探讨骨髓间充质干细胞通过何种作用机制改善心功能。

**提供临床借鉴的价值:** 近年来, 冠心病心肌梗死发病率呈上升趋势。心肌缺血引起细胞坏死和局部出现冬眠心肌, 形成瘢痕组织。理想的治疗应该能降低细胞死亡, 使冬眠心肌恢复正常, 刺激梗死区血管再生, 同时再生心肌细胞代替坏死细胞以保持心功能, 减少瘢痕形成。骨髓间充质干细胞具有多分化潜能, 移植于心梗组织中可改善心功能而备受瞩目。实验拟在通过建立完整的动物模型技术平台, 探索各项技术在临床应用的可能性, 使骨髓间充质干细胞移植治疗心肌梗死的手段有可能成为不同于内科传统的药物治疗、心血管介入治疗和外科手术治疗的又一个全新治疗方法, 为心肌梗死患者带来更大的福音。