

## 自体骨髓间充质干细胞心肌移植后的分化及存活<sup>☆</sup>

蔡红雁, 聂俊, 陈丽星, 赵玲, 郭涛, 肖践明

### Differentiation and survival of autologous bone marrow mesenchymal stem cells following transplantation into the myocardium

Cai Hong-yan, Nie Jun, Chen Li-xing, Zhao Ling, Guo Tao, Xiao Jian-ming

#### Abstract

**BACKGROUND:** It was uncertain that the migration, differentiation and survival of transplanted bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) into myocardium after the acute myocardial infarction.

**OBJECTIVE:** To investigate the migration, differentiation and survival of rabbit transplanted autologous BMSCs in myocardium after the acute myocardial infarction.

**METHODS:** Rabbit BMSCs were isolated and labeled by DAPI *in vitro*. Rabbit left anterior descending branch was ligated to establish acute myocardial infarction models. Following successful model establishment, 30 New Zealand rabbits were assigned to BMSC and control groups ( $n = 15$ ). In the BMSC group, autologous BMSCs were infused into the surrounding sites of the infarcted region by 4 points 1 hour following coronary artery ligation. In the control group, the same region was injected with an equal volume of saline. Injection volume was 30  $\mu$ L in each point. Five animals from each group were sacrificed 10 minutes, 3 days and 4 weeks following transplantation. The heart was obtained to undergo frozen sections. The distribution of DAPI-labeled BMSCs was observed using fluorescence microscope. Immunofluorescence method was used to examine the troponin I and  $\alpha$ -actin.

**RESULTS AND CONCLUSION:** DAPI-labeled BMSCs with blue nuclei were distributed extensively in the myocardium of the cell transplantation group, ovoid in shape and arranged in parallel with the cardiac muscle fibers. Troponin I and  $\alpha$ -actin were positive immunofluorescently in the cytoplasm of the labeled BMSCs. Results indicated that transplanted BMSCs in the ischemic myocardium could differentiate into myocardial cells under stimulation of local microenvironment.

Cai HY, Nie J, Chen LX, Zhao L, Guo T, Xiao JM. Differentiation and survival of autologous bone marrow mesenchymal stem cells following transplantation into the myocardium. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(6): 1043-1047. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

#### 摘要

**背景:** 骨髓间充质干细胞移植入急性心肌梗死组织后是否能迁移、分化及存活, 目前尚不清楚。

**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, 在体内的迁移、分化及其存活。

**方法:** 分离培养兔骨髓间充质干细胞, 体外 DAPI 标记细胞。结扎兔左前降支制作急性心肌梗死模型, 造模成功后 30 只新西兰大耳兔抽签法分为骨髓间充质干细胞组和对照组, 每组 15 只。骨髓间充质干细胞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 点注射自体骨髓间充质干细胞。对照组于相同部位注射等量生理盐水。每点注射体积 30  $\mu$ L。分别于移植后 10 min, 3 d, 4 周时各组各处处死 5 只动物。取心脏行冰冻切片, 荧光显微镜观察 DAPI 标记骨髓间充质干细胞的分布情况; 免疫荧光法检测标记细胞是否表达心肌特异性肌钙蛋白 I 和  $\alpha$ -肌动蛋白。

**结果与结论:** DAPI 标记的骨髓间充质干细胞在兔急性心肌梗死模型心脏微环境中, 蓝色细胞核分布广泛, 呈椭圆形, 似心肌细胞核, 其排列方向与宿主心肌纤维方向一致, 间接免疫荧光法检测胞浆心肌特异性蛋白肌钙蛋白 I、 $\alpha$ -肌动蛋白均为阳性。说明缺血心肌内移植入骨髓间充质干细胞, 可在局部微环境的刺激下向心肌细胞定向分化。

**关键词:** 心肌梗死; 骨髓间充质干细胞; 细胞移植; 肌钙蛋白 I;  $\alpha$ -肌动蛋白

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.06.019

Department of Cardiology, First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650031, Yunnan Province, China

Cai Hong-yan<sup>☆</sup>, Doctor, Attending physician, Department of Cardiology, First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650031, Yunnan Province, China  
hyflykm@sina.com

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

Supported by: the Foundation of Education Department of Yunnan Province, No. 5Z0470C\*

Received: 2009-10-09  
Accepted: 2009-12-21

蔡红雁, 聂俊, 陈丽星, 赵玲, 郭涛, 肖践明. 自体骨髓间充质干细胞心肌移植后的分化及存活[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(6):1043-1047. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

昆明医学院第一附属医院心内科, 云南省昆明市 650031

蔡红雁\*, 女, 1971年生, 汉族, 云南省昆明市人, 汉族, 1990年昆明医学院毕业, 博士, 主治医师, 主要从事冠心病基础及介入的研究。hyflykm@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)06-01043-05

收稿日期: 2009-10-09  
修回日期: 2009-12-21 (20091009003/WL-Q)

## 0 引言

近年来, 冠状动脉粥样硬化性心脏病(简称冠心病)的发病率不断上升。目前的治疗手段虽能消除血管阻塞, 缓解心室重构, 但不能逆转坏死心肌。心脏移植受供体来源, 高昂手术费限制, 很难在临床上广泛推广, 因此干细胞心肌移植日益受到人们的重视<sup>[1]</sup>。理想的供体细胞应该能在体内或体外分化为成熟的心肌细胞, 并在心肌坏死区长期存活且与宿主心肌细胞建立起电机械耦联, 形成同步收缩, 恢复受损的心功能<sup>[2]</sup>。Friedenstein在1968年最早证明了骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)的存在, BMSCs是一种多潜能干细胞, 在不同的诱导条件下可以向各种组织分化, 并且在特定的微环境中横向分化为其他类型的组织和器官, 因此骨髓干细胞是最常用的供体细胞类型<sup>[3]</sup>。本实验将BMSCs移植于心肌梗死模型中, 观察兔自体BMSCs在急性心肌梗死模型心脏组织中的迁移、分化状况。

## 1 材料和方法

**设计:** 细胞学体内实验。

**时间及地点:** 实验于2008-03/2009-08在昆明医学院第一附属医院心脏分子实验室完成。

**材料:** 新西兰兔30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: 200800105), 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。

**主要试剂及仪器:**

试剂及仪器	来源
PBS、DMEM培养基	Gibco
新生牛血清	杭州四季青生物材料研究所
胰蛋白酶	Solarbio
DAPI	Sigma
$\alpha$ -肌动蛋白单克隆抗体、罗丹明(TRITC)-羊抗鼠IgG、生物素标记的羊抗鼠IgG、S-P试剂盒	武汉博士德生物工程有限公司
肌钙蛋白I单克隆抗体	Neo Markers
倒置显微镜	Sony
荧光显微镜	Olympus

## 实验过程:

**BMSCs的分离培养:** 无菌消毒于新西兰兔膝关节处沿胫骨长轴进针, 穿入胫骨髓腔, 接5 mL注射器(内含3 000 U/mL的肝素钠0.3 mL), 抽取骨髓液3.0~4.0 mL。将骨髓液放入10 mL离心管, 加等体积PBS, 吸管轻轻吹打混匀, 1 500 r/min离心3~5 min后, 弃上清。在管中加入5 mL PBS, 充分吹打制成单细胞悬液。取另一离心管, 吸5 mL相对密度为1.073的Percoll分离液, 将制好的单细胞悬液轻轻沿离心管壁加至分离液上, 形成2层分离的液体。3 000 r/min离心20 min, 取出时见液体呈3层: 用直吸管轻轻垂直伸入液体至中层, 吸取该层细胞, 移至一清洁离心管, 加入等体积的PBS, 1 500 r/min离心3~5 min, 弃上清, 向离心管内加入DMEM培养基, 内含体积分数为15%新生牛血清。反复吹打制成单细胞悬液, 将细胞以 $1 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ 的浓度接种于培养瓶中。培养瓶置于体积分数为5%CO<sub>2</sub>饱和湿度, 37 °C培养箱中培养。细胞长到90%融合时用0.25%的胰酶消化, 按1:3传代培养<sup>[4]</sup>。

**模型制备:** 制备心肌梗死模型: 取戊巴比妥钠按1 mL/kg沿新西兰兔耳缘静脉缓慢推注, 处于麻醉状态后固定于手术台上, 正中开胸。剪开心包, 暴露心脏。沿前室间沟分辨出冠状动脉前降支的走行, 分离左冠状动脉前降支, 以无创针带2/0丝线穿过左前降支根部, 行双重结扎。梗死标志为左室前降支供血区明显发绀, 收缩减弱。

**干预分组与移植:** 造模成功的新西兰兔30只随机抽签法分为BMSCs组和对照组, 每组15只。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。对照组于相同部位注射等量生理盐水。每点注射体积30  $\mu\text{L}$ 。

**免疫组织荧光染色检测:** 各组分别于移植后10 min, 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, 行荧光显微镜观察及心肌特异性蛋白免疫荧光检测。免疫荧光法步骤参见试剂说明书。另外组织病理切片作苏木精-伊红染色。观察DAPI标记BMSCs的分布情况、标记细胞中表达心肌特异性肌钙蛋白I和 $\alpha$ -肌动蛋白情况及左心室病理改变。

**主要观察指标:** BMSCs移植后DAPI标记BMSCs在心肌中的分布情况; 标记细胞中是否表达心肌特异性肌钙蛋白I和 $\alpha$ -肌动蛋白情

况及左心室病理改变。

**设计、实施、评估者：**实验设计为第一、二、三、六作者，干预实施为第一、二、三作者，评估为第四、五、六作者，经过正规培训，采用盲法评估。

## 2 结果

**2.1 BMSCs分离培养** 原代细胞以 $1 \times 10^7 \text{ L}^{-1}$ 的密度接种于24孔板中，24 h后部分细胞贴壁，多数呈圆形，有极少数呈梭形。换液后，大多数悬浮细胞随培养液被去除，接种三四天部分细胞开始分裂，并形成由数个细胞组成的细胞集落，见图1。

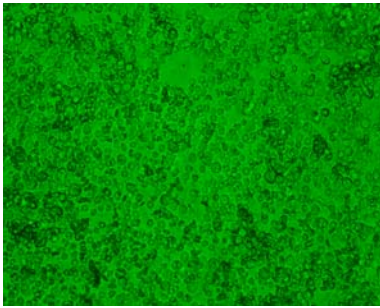


Figure 1 Morphological changes in bone marrow mesenchymal stem cells at 24 hours of primary culture (Inverted phase contrast microscope,  $\times 200$ )

图1 原代BMSCs培养24 h后形态变化(倒置相差显微镜,  $\times 200$ )

集落数目逐渐增多，体积逐渐扩大，9~12 d集落相互融合，细胞形成单层，90%融合时可传代。传代后细胞生长速度明显加快，约5 d长满瓶底。细胞形态基本一致，均为长梭形或纺锤形，细胞核较大，呈圆形或卵圆形，胞浆内可见细小颗粒，见图2。

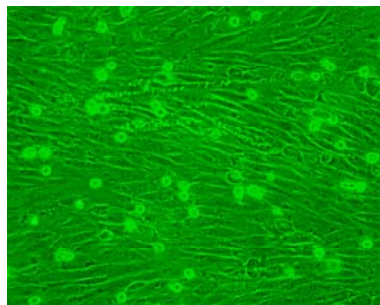


Figure 2 Morphological changes in bone marrow mesenchymal stem cells at 7 days of subculture (Inverted phase contrast microscope,  $\times 200$ )

图2 传代细胞培养后7 d BMSCs形态变化(倒置相差显微镜,  $\times 200$ )

## 2.2 免疫组织荧光染色检测结果 BMSCs在体外用

DAPI标记，标记率达100%，见图3。

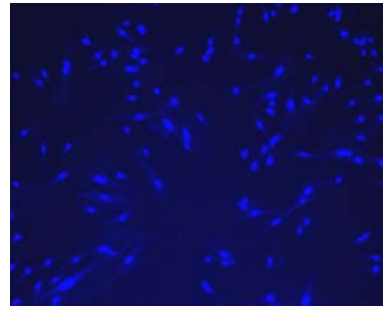


Figure 3 DAPI-labeled bone marrow mesenchymal stem cells *in vitro* ( $\times 100$ )

图3 体外DAPI标记BMSCs( $\times 100$ )

荧光显微镜下观察BMSCs组于移植细胞后10 min出现注射局部细胞聚集成团，标记的细胞核为圆形，见图4。

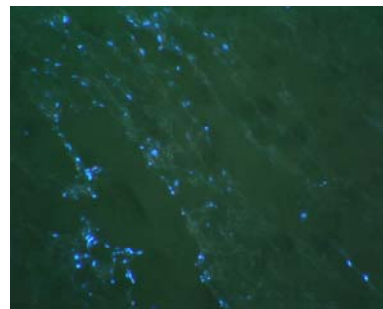


Figure 4 Hematoxylin and eosin staining of host heart frozen sections 10 minutes after bone marrow mesenchymal stem cell transplantation ( $\times 100$ )

图4 BMSCs移植后10 min心脏冰冻切片(苏木精-伊红染色,  $\times 100$ )

3 d后，蓝色荧光细胞数较前减少，分布较为分散，核呈圆形，见图5。

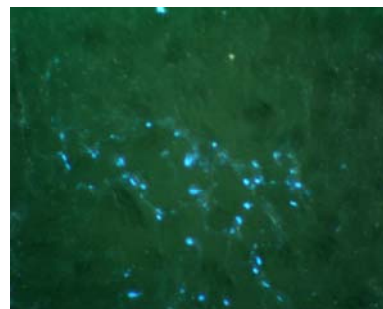


Figure 5 Hematoxylin and eosin staining of host heart frozen sections 3 days after bone marrow mesenchymal stem cell transplantation ( $\times 200$ )

图5 BMSCs移植后3 d心脏冰冻切片(苏木精-伊红染色,  $\times 200$ )



间接免疫荧光法鉴定移植细胞心肌特异性蛋白在移植后10 min和3 d时为阴性。4周后所有BMSCs组心肌内均可见DAPI标记的蓝色细胞核, 分布广泛, 呈椭圆形, 似心肌细胞核, 与心肌细胞排列方向一致, 见图6。



Figure 6 Host heart frozen sections 4 weeks after bone marrow mesenchymal stem cell transplantation (Hematoxylin and eosin staining, ×100)  
图6 BMSCs 移植后4周心脏冰冻切片(苏木精-伊红染色, ×100)

间接免疫荧光法鉴定: 在梗死区域, DAPI标记的核周围心肌特异性蛋白: 肌钙蛋白 I、 $\alpha$ -肌动蛋白的免疫荧光染色均为阳性, 见图7, 8。

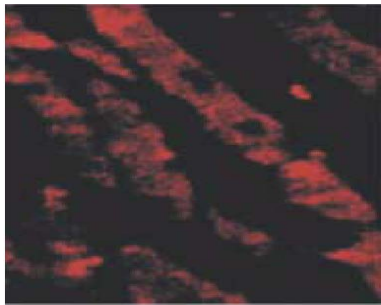


Figure 7 Troponin I-positive reaction using immunofluorescence (×400)  
图7 免疫荧光检测 troponin I 呈阳性(×400)



Figure 8  $\alpha$ -actin-positive reaction using immunofluorescence (×400)  
图8 免疫荧光检测  $\alpha$ -肌动蛋白呈阳性(×400)

对照组在相同时间处死动物后左心室行冰冻切片, 荧光显微镜未观察到蓝色细胞核, 苏木精-伊红染色显示心肌纤维排列紊乱, 核溶解, 心肌细胞消失, 4周后梗死灶出现胶原组织。

### 3 讨论

体外标记移植细胞, 以示踪移植入体内干细胞的迁移和分布情况。本实验采用DAPI作为干细胞标记物, 标记细胞核的位置。DAPI即4', 6-二脒基-2-苯基吲哚(4', 6-diamidino-2-phenylindole), 是一种能够与DNA强力结合的荧光染料, 常用于显微镜观测。因DAPI可以透过完整的细胞膜, 但不改变细胞的超微结构, 所以可以用于活细胞和固定细胞的染色<sup>[5-7]</sup>。

本实验通过开胸结扎冠状动脉左前降支造成兔急性心肌梗死模型。结扎冠状动脉前降支近端后, 其供血区明显发绀, 收缩减弱, 苏木精-伊红染色显示心肌纤维排列紊乱, 核溶解, 心肌细胞消失, 证明心肌梗死模型制作成功。于结扎后1 h在直视下于梗死周边区心肌内直接注射DAPI标记好的干细胞。干细胞进入微环境后, 接受新的微环境中的调节信号并做出反应, 进行分化、分泌和调节功能。环境中的Nkx2.5、GATA-4和肌细胞增强子结合因子2(myocyte enhancer binding factor-2, MEF-2)等早期心肌形成转录因子的表达是干细胞分化为心肌的先决条件<sup>[8-11]</sup>。在干细胞分化中, 除了有特殊的分子、细胞因子、细胞外基质参与外, 干细胞与受体细胞之间的相互接触在分化中也起重要作用<sup>[7-8, 12]</sup>。此外, 神经激素可能在细胞分化上也担负一定的作用<sup>[6, 13-17]</sup>。但究竟是哪一种或哪几种机制在起作用, 作用程度如何, 至今尚未明确。

目前将BMSCs移植于心肌梗死模型中有两种方法: 一种是将未经诱导的BMSCs直接移植于心肌梗死模型中<sup>[8]</sup>; 另一种是将BMSCs在体外经5-氮胞苷诱导后再移植<sup>[5]</sup>。本实验证明未经诱导的BMSCs能在心肌中存活, 并向类心肌细胞转化, 进行BMSCs移植后不仅有心肌细胞再生, 而且重建血供, 使冬眠、抑顿心肌恢复正常功能<sup>[18-24]</sup>。虽然BMSCs移植治疗心肌梗死的研究尚处于初级阶段, 但是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<sup>[8, 25-30]</sup>。这将为心血管科学带来更光辉的前景, 为心肌梗死患者带来更大的福音。

### 4 参考文献

- [1] WoBert KC. Cell therapy for acute myocardial infarction. *Curr Opin Pharmacol*. 2008;8(2):202-210.

- [2] Frantz S, Vallabhapurapu D, Tillmanns J, et al. Impact of different bone marrow cell preparations on left ventricular remodelling after experimental myocardial infarction. *Eur J Heart Fail*. 2008;10(2):119-24.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] Zeng ZH, Huang XJ, Lin BJ, et al. *Guangxi Yike Daxue Xuebao*. 2008;25(4):511-513.  
曾知恒, 黄晓静, 林葆菁, 等. 自体骨髓干细胞移植治疗急性心肌梗死的实验研究[J]. *广西医科大学学报*, 2008, 25(4): 511-513.
- [6] 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.
- [7] Hamblin TJ, Davis J, Gardiner A, et al. Unmutated Ig VH genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999;94(6):1848-1854.
- [8] 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.
- [9] Barzilay R, Sadan O, Melamed E, et al. Comparative characterization of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells from four different rat strains. *Cytherapy*. 2009;11(4): 435-442.
- [10] Yamahara K, Min KD, Tomoike H, et al. Pathological role of angiostatin in heart failure: an endogenous inhibitor of mesenchymal stem-cell activation. *Heart*. 2009;95(4):283-289.
- [11] Schneider C, Krause K, Jaquet K, et al. Intramyocardial transplantation of bone marrow-derived stem cells: ultrasonic strain rate imaging in a model of hibernating myocardium. *J Card Fail*. 2008;14(10):861-872.
- [12] Zhang Y, Liang JL, Wang S, et al. *Nanfang Yike Daxue Xuebao*. 2007;27(1):43-48.  
张勇, 梁家立, 王胜, 等. 联合应用粒细胞集落刺激因子和骨髓基质干细胞治疗急性心肌梗死的实验研究[J]. *南方医科大学学报*, 2007, 27(1): 43-48.
- [13] Qi XY, Meng CL, Dang Y, et al. Effect of bone mesenchymal stem cells transplantation on malignant ventricular arrhythmia induced by electrophysiological stimulation in a mini-swine model of acute myocardial infarction. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*. 2008;36(6):546-550.
- [14] Nakajima T, Iizuka H, Tsutsumi S, et al. Evaluation of posterolateral spinal fusion using mesenchymal stem cells: differences with or without osteogenic differentiation. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2007;32(22):2432-2436.
- [15] Boumaza I, Srinivasan S, Witt WT, et al. Autologous bone marrow-derived rat mesenchymal stem cells promote PDX-1 and insulin expression in the islets, alter T cell cytokine pattern and preserve regulatory T cells in the periphery and induce sustained normoglycemia. *J Autoimmun*. 2009;32(1):33-42.
- [16] Chen Y, Liu W, Li W, et al. Autologous bone marrow mesenchymal cell transplantation improves left ventricular function in a rabbit model of dilated cardiomyopathy. *Exp Mol Pathol*. [Epub ahead of print]
- [17] Itescu S, Kocher AA, Schuster MD. Myocardial neovascularization by adult bone marrow-derived angioblasts: strategies for improvement of cardiomyocyte function. *Heart Fail Rev*. 2003;8(3):253-258.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] Choi SC, Yoon J, Shim WJ, et al. 5-azacytidine induces cardiac differentiation of P19 embryonic stem cells. *Exp Mol Med*. 2004; 36(6):515-523.
- [21] Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP, et al. Chimerism of the transplanted heart. *N Engl J Med*. 2002;346(1):5-15.
- [22] Hagege AA, Menasché P. Cellular cardiomyoplasty: a new hope in heart failure? *Heart*. 2000;84(5):465-466.
- [23] 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. *Nat Med*. 2001;7(4): 430-436
- [24] Wang JS, Shum-Tim D, Chedrawy E, et al. The coronary delivery of marrow stromal cells for myocardial regeneration: pathophysiologic and therapeutic implications. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2001;122(4):699-705.
- [25] Itescu S, Kocher AA, Schuster MD. Myocardial neovascularization by adult bone marrow-derived angioblasts: strategies for improvement of cardiomyocyte function. *Ann Hematol*. 2002;81 Suppl 2:S21-25.
- [26] Hori Y, Nakamura T, Kimura D, et al. Experimental study on tissue engineering of the small intestine by mesenchymal stem cell seeding. *J Surg Res*. 2002;102(2):156-160.
- [27] Corvol MT. Cell therapy and its clinical applications. Cartilage cell therapy, present and future. *J Soc Biol*. 2001;195(1):79-82.
- [28] Tang J, Xie Q, Pan G, et al. Mesenchymal stem cells participate in angiogenesis and improve heart function in rat model of myocardial ischemia with reperfusion. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2006;30(2):353-361.
- [29] Gao F, He T, Wang H, et al. A promising strategy for the treatment of ischemic heart disease: Mesenchymal stem cell-mediated vascular endothelial growth factor gene transfer in rats. *Can J Cardiol*. 2007;23(11):891-898.
- [30] Tang J, Xie Q, Pan G, et al. Mesenchymal stem cells participate in angiogenesis and improve heart function in rat model of myocardial ischemia with reperfusion. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2006;30(2):353-361.

## 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:** 无其他利益冲突。

**课题的意义:** 细胞性心肌成形术的基础实验及临床应用研究是当今心血管病领域的研究热点。实验通过冠状动脉结扎后 1 h 注射自体骨髓间充质干细胞, 分别观察移植后不同的时间点, 骨髓间充质干细胞在心肌梗死组织中的分布情况, 通过免疫荧光法检测标记细胞是否表达心肌特异性肌钙蛋白 I 和  $\alpha$ -肌动蛋白。研究发现缺血心肌内移植入骨髓间充质干细胞, 可在局部微环境的刺激下向心肌细胞定向分化。骨髓间充质干细胞移植有望成为冠心病急性心肌梗死新的治疗方法。

**课题评估的“金标准”:** 实验采用 DAPI 作为干细胞标记物, DAPI 是一种能够与 DNA 强力结合的常用的荧光染料, 可以透过完整的细胞膜, 但不改变细胞的超微结构, 是经典的细胞标记方法, 且不影响细胞的活性。能较好地追踪移植入体内的干细胞的迁移和分布情况。然后通过心肌特异性肌钙蛋白 I 和  $\alpha$ -肌动蛋白的表达, 证实移植的干细胞向心肌细胞转化。

**设计或课题的偏倚与不足:** 实验发现缺血心肌内移植入骨髓间充质干细胞, 可在局部微环境的刺激下向心肌细胞定向分化。但影响迁移、分化的机制还应在以后的研究中进一步探讨。

**提供临床借鉴的价值:** 目前的治疗手段虽能消除血管阻塞, 缓解心室重构, 但不能逆转坏死心肌。心脏移植受体来源, 高昂手术费限制, 很难在临床上广泛推广。实验发现缺血心肌内移植入骨髓间充质干细胞, 可在局部微环境的刺激下向心肌细胞定向分化。通过大量动物实验, 使之逐步应用于临床, 将成为不同于药物、介入、手术的一种全新的治疗手段, 为广大的心梗患者带来福音, 具有广泛的应用价值。