

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.01.023

[http://www.crter.org]

陈婷, 陈光辉. 间充质干细胞移植治疗心血管疾病的应用与进展[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(1):142-149.

## 间充质干细胞移植治疗心血管疾病的应用与进展\*\*

陈婷, 陈光辉

解放军总医院心内科, 北京市 100853

### 文章亮点:

- 1 此问题的已知信息: 心肌梗死后心肌细胞的丧失是导致心肌梗死后心衰的最主要原因, 寻找替代或修复受损坏死心肌细胞的方法成为了关键性的问题。而干细胞具有多项分化潜能, 可以促进血管以及心肌细胞的再生。
- 2 本综述增加的新信息: 对不同的输注方式进行比较, 选择适当的输注方式从而更好的发挥间充质干细胞的作用并对临床前期和临床期间充质干细胞用于心血管疾病的相关实验进行总结。
- 3 临床应用的意义: 从间充质干细胞的生物学特性、免疫调控机制以及输注的方式、作用的机制做进一步阐述。并总结临床前期和临床期间充质干细胞用于心血管疾病的相关资料, 为进一步深入了解间充质干细胞以及为其最终应用于临床提供理论基础和实验依据。

### 关键词:

干细胞; 干细胞综述; 骨髓间充质干细胞; 免疫调控; 心肌梗死; 心力衰竭; 国家自然科学基金

### 摘要

**背景:** 间充质干细胞因其具有自我更新、向不同组织分化及免疫调节功能, 而被作为治疗急性心肌梗死、心力衰竭等心血管疾病的有效的的方法之一。

**目的:** 从间充质干细胞的生物特性, 转分化能力、免疫调节、心脏修复的作用机制以及间充质干细胞用于治疗心血管疾病早期的临床实验资料做一简要阐述。

**方法:** 以“间充质干细胞、免疫调控、心肌梗死、心力衰竭”, “MSCs, Immunomodulation, myocardial infarction, heart failure”为检索词, 应用计算机检索维普(VIP)期刊全文数据库及 Pubmed 数据库。排除与研究目的无关和内容重复者。保留 35 篇文献做进一步分析。

**结果与结论:** 间充质干细胞作为理想的种子细胞, 除了具备自我更新、多向分化潜能之外, 还具有免疫调节功能, 避免同种异体移植或异种移植引起的免疫排斥反应。它可以向心肌细胞及脉管系统分化, 通过旁分泌作用分泌一系列的细胞活素类物质及生长因子, 并且动员内在的心肌干细胞, 从而起到改善心功能, 诱导逆向重塑, 降低心肌梗面积的作用。相关的临床实验也显示了移植间充质干细胞的可行性和有效性。

## Mesenchymal stem cells: Biological characteristics and therapeutic implications for cardiovascular diseases

Chen Ting, Chen Guang-hui

Department of Cardiology, the General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

### Abstract

**BACKGROUND:** The application of mesenchymal stem cells is an effective method for treatment of cardiac diseases, such as acute myocardial infarction and heart failure, owing to their self-renewal, multi-lineage differentiation and immunomodulation.

**OBJECTIVE:** To summarize the current understanding of biological characteristics, translational findings, immunomodulation, mechanism underlying cardiac function repair of mesenchymal stem cells as well as

陈婷★, 女, 1987年生, 山西省宁武县人, 汉族, 解放军总医院在读硕士, 主要从事干细胞对心肌梗死后心衰治疗效果的研究。

chenting0489@163.com

通讯作者: 陈光辉, 博士, 副教授, 解放军总医院心内科, 北京市 100853

中图分类号:R318

文献标识码:B

文章编号:2095-4344  
(2013)01-00142-08

收稿日期: 2012-02-06

修回日期: 2012-03-13

(20120206007/W · S)

Chen Ting★, Studying for master's degree, Department of Cardiology, the General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China  
chenting0489@163.com

Corresponding author: Chen Guang-hui, M.D., Associate professor, Department of Cardiology, the General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No.30572445\*

Received: 2012-02-06  
Accepted: 2012-03-13

clinical data regarding mesenchymal stem cells for early cardiovascular disease.

**METHODS:** A computer-based online retrieval was performed to search papers in VIP periodical full-text database and PubMed database using the key words MSCs, immunomodulation, myocardial infarction, heart failure in Chinese and English. After excluding objective-independent papers, 35 papers were included for further analysis.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Mesenchymal stem cells are a kind of ideal cells with the capacity of self-renewal, multi-lineage differentiation, and immunomodulation, as well as being free of immunological rejection due to allotransplantation or xenotransplantation. Mesenchymal stem cells secrete bioactive levels of soluble factors (growth factors and cytokines) by paracrine secretion and recruit endogenous cardiac stem cells. These characteristics make mesenchymal stem cells to differentiate into cardiomyocytes and promote angiogenesis, which can reverse remodeling and reduce the area of myocardial infarction. Recently, some related clinical trials also showed the feasibility and effectiveness of transplantation of mesenchymal stem cells, which provide a solid theoretical foundation for stem cells used in cardiovascular diseases.

**Key Words:** stem cells; stem cell review; bone marrow mesenchymal stem cells; immunoregulation; myocardial infarction; heart failure; National Natural Science Foundation of China

Chen T, Chen GH. Mesenchymal stem cells: Biological characteristics and therapeutic implications for cardiovascular diseases. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2013;17(1):142-149.

## 0 引言

心肌梗死是导致死亡的主要疾病之一。当发生急性心肌梗死时,大量心肌细胞丧失,并继以瘢痕组织形成,从而严重影响了心脏的收缩及舒张功能,长期的过程导致慢性心力衰竭。虽然目前的药物,冠脉成形术以及同步起搏器的运用可以部分改善临床症状,但心肌梗死后心衰的发生率仍较高,严重影响着患者的生活质量及生存率。由于心肌细胞的丧失是导致心肌梗死后心衰的最主要原因,因此人们一直致力于寻找可能替代或修复受损坏死心肌细胞的方法。干细胞由于具有自我更新及定向分化为某种特定细胞的能力而被深入研究并开始应用于临床替代治疗心肌梗死和预防心梗后心衰的发生发展。

目前可用于干细胞移植治疗的细胞种类较多,其中一类间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)引起了越来越多的关注。早在40年前Friedenstein和他的同伴证明了骨髓中存在造血干细胞和少量的贴壁细胞<sup>[1]</sup>,这些贴壁细胞可以调控造血干细胞的成熟并促进其进入外周循环系统,并且将这些贴壁细胞在体外进行培养成克隆生长,此贴壁细胞即为骨髓间充质干细胞。在随后的研究中发现间充质干细胞存在于许多组织中并可以向外胚层、中胚层及内胚层分化。近年的研究证明了间充质干细胞具有较低的免疫原性和抑制T淋巴细胞增殖的作用,为干细胞应用于治疗异体器官移植引起的免疫排斥反应铺垫了道路。大量的实验动物研究以及临床前期实验都显示了间充质干细胞对心肌梗死和心肌梗死后心力衰竭的治疗及预防作用。

## 1 资料和方法

### 1.1 资料来源

检索人相关内容:第一作者。

检索时间范围:1990年1月至2011年12月。

检索词:英文检索词“MSC, Immunology, myocardial infarction, heart failure”;中文检索词“骨髓间充质干细胞;免疫调控;心肌梗死;心力衰竭”。

检索数据库:Pubmed数据库,网址:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/>;维普数据库,网址:<http://www.cqvip.com/>。

检索文献量: 共检索到 62 篇文献。

## 1.2 检索方法

纳入标准: ①与骨髓间充质干细胞有关的文献。

②与移植干细胞对心肌梗死后心力衰竭实验有关的文献。

排除标准: 与纳入标准无关及重复的文献。

质量评估: 计算机初检得到 62 篇文献, 包括中文 21 篇, 英文 41 篇。阅读标题和摘要进行初筛, 排除研究目的与本文无关及内容重复的研究 27 篇, 最后保留其中 35 篇归纳总结。

## 2 结果

### 2.1 间充质干细胞的定义、来源和多向分化潜能

**2.1.1 间充质干细胞的定义** 间充质干细胞是一类具有自我更新、多向分化潜能的干细胞。目前对间充质干细胞无准确的定义, 原因在于其表面抗原在培养过程中有的消失, 又有新的表面抗原出现, 并且不同种属之间也有一定的差异。

目前国际细胞治疗协会根据以下标准 2 定义间充质干细胞: ①培养过程中具有贴壁能力。②表达表面抗原 CD73、CD90 和 CD105, 不表达 CD34、CD45、HLA-DR、CD14 或 CD11b、CD79a。③在体外可以向骨、软骨、脂肪组织等分化。

**2.1.2 间充质干细胞的来源** 间充质干细胞可来源于脂肪组织、脐带血、外周血、滑液组织等不同组织。

最早发现的间充质干细胞来源于骨髓, 并且骨髓来源的间充质干细胞也是目前研究最多、最为深入的间充质干细胞。它的多分化潜能, 低免疫原性使其运用于实验研究和临床, 但是骨髓中的间充质干细胞仅占骨髓细胞的 0.01%-1%, 并随着年龄的增加而减少。

脂肪来源间充质干细胞最早由 Zuk 等<sup>[1-3]</sup>从抽脂术中取得的脂肪组织分离培养获得, 其在适当诱导条件下也可将其向成骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞、肝细胞、神经组织定向分化, 并且脂肪组织来源丰富, 取材方便, 较少涉及医学伦理学问题而被受到广泛关注。脐带血具有来源丰富, 取材方便且无伦理学问题等优点, 它除了含有丰富的造血干细胞, 还含有具有

多向分化潜能的干细胞。

大量实验已经证实脐血造血干细胞比骨髓来源的造血干细胞更原始、更具有自我更新、多向分化及扩增潜能。另外, 脐血免疫系统相对不成熟, 移植后受体的排斥反应发生率和严重程度较骨髓低。但是它具有导致遗传性疾病的潜在可能性。

**2.1.3 间充质干细胞的多向分化潜能** 间充质干细胞不同的定向分化能力主要取决于它所处的周围环境。

**向软骨的分化:** 在培养基中加入地塞米松、维生素 C、转化生长因子  $\beta$ (transforming growth factor $\beta$ , TGF- $\beta$ )<sup>[4]</sup>, 随后细胞分泌细胞外基质, 包括 II 型胶原、聚集蛋白聚糖等。诱导后用甲苯胺蓝染色着色阳性, 表明间充质干细胞向软骨细胞定向分化。目前发现转化生长因子  $\beta$ 、胰岛素样生长因子和碱性成纤维细胞因子等均可诱导间充质干细胞向软骨细胞分化。转化生长因子  $\beta$ 1 是在软骨形成过程中调节细胞分化的关键因子。Worster 等<sup>[5]</sup>研究表明转化生长因子  $\beta$ 1 和促生长因子 1 联合应用可明显促进骨髓间充质干细胞软骨特征标志物的表达, 并且转化生长因子  $\beta$ 1 促进骨髓间充质干细胞向骨和软骨方向分化的作用具有剂量依赖性。邓进等<sup>[6]</sup>的实验说明了不同浓度的转化生长因子  $\beta$ 1 对骨髓间充质干细胞具有不同的诱导效率, 10  $\mu$ g/L 转化生长因子  $\beta$ 1 可能是骨髓间充质干细胞向软骨细胞分化的最佳诱导浓度。碱性成纤维细胞因子是一种肝素黏合多肽, 主要分布在细胞和细胞外基质, 它能促进细胞有丝分裂, 促进软骨基质, 特别是 II 型胶原的合成, 并阻止蛋白聚糖的降解。

**向成骨细胞分化:** 经典的诱导间充质干细胞向成骨细胞分化的因素很多, 包括地塞米松、 $\beta$ -甘油磷酸钠、维生素 C 及其他的一些生长因子如骨形态发生蛋白、转化生长因子  $\beta$  等。成骨细胞能够分泌碱性磷酸酶, 合成 I 型胶原、骨钙素等细胞外基质, 从而进一步矿化形成骨组织。

**向脂肪细胞分化:** 地塞米松、3-异丁基-1-甲基黄嘌呤、吡啶美辛和胰岛素的培养液诱导间充质干细胞分化为脂肪组织<sup>[7]</sup>, 表达一些脂肪细胞的标志物, 例如脂蛋白酯酶、脂肪酸结合蛋白 aP2。有关研究表明胰岛素可通过与骨髓间充质干细胞胰岛素样生长因

子 1 受体结合, 促进骨髓间充质干细胞增殖分化, 并且不同浓度胰岛素对骨髓间充质干细胞向脂肪组织分化的影响不同, 质量浓度为 10 mg/L 的效果较好<sup>[8]</sup>。

**向神经细胞分化:** 全反式维甲酸可诱导间充质干细胞向神经细胞分化, 表达 NSE 阳性细胞和神经纤维-M。但一些实验表明虽然这些细胞具有神经元表型, 但却不产生动作电位。

**向心肌细胞分化:** 5-氮杂胞苷可诱导间充质干细胞向心肌细胞分化。Dai 研究证明了 5-氮杂胞苷对间充质干细胞向心肌分化的诱导作用, 并提出了适宜的诱导条件是在细胞接种后 3 d 内用浓度为 5-10  $\mu\text{mol/L}$  的 5-氮杂胞苷持续作用 24 h。诱导的心肌细胞可以表达  $\alpha$ -肌动蛋白、cTnT、Nkx2.5 及 GATA-4, 并有一些细胞出现自发性跳动。与心肌细胞的直接接触是诱导间充质干细胞分化为心肌细胞的必需条件。Xu 等<sup>[9]</sup>实验发现, 将小鼠的间充质干细胞与大鼠的心室肌细胞共培养, 间充质干细胞可表达  $\alpha$ -肌动蛋白并与原有的心室肌细胞形成缝隙连接, 同时这些间充质干细胞具有自发性跳动, 而当用半透膜将其分开, 间充质干细胞则不表达  $\alpha$ -肌动蛋白。

**2.2 间充质干细胞的免疫调控** 间充质干细胞低水平表达人类白细胞抗原主要组织相容性复合物 I, 不表达主要组织相容性复合物 II, 也不表达协同刺激因子 B7-1、B7-2、CD40 和 CD40L<sup>[10]</sup>。在  $\gamma$  干扰素作用下可以诱导主要组织相容性复合物 II 类抗原的表达, 但经过这样处理的 MHC 并不能刺激 T 细胞的增生和分化<sup>[11]</sup>, 这说明间充质干细胞的免疫抑制机制并不依赖 MHC 的表达。间充质干细胞对增殖反应的抑制作用也不依赖间充质干细胞的来源。DiNicola 等<sup>[12]</sup>应用 Transwell 共培养体系的研究表明, 细胞间的直接接触和间充质干细胞产生的可溶性的细胞因子在间充质干细胞的免疫抑制中起着一定的作用。这些细胞因子包括吲哚胺 2, 3-过氧化酶(IDO)、一氧化氮、前列腺素 E2、肝细胞生长因子和转化生长因子  $\beta$ 1 等。间充质干细胞的免疫调节作用是通过固有免疫和适应性免疫调控的。

### 2.2.1 免疫调节

**间充质干细胞对树突状细胞的影响:** 树突状细胞在将抗原提成给 T 细胞中发挥着重要的作用。间充质干

细胞抑制树突状细胞的分化和成熟, 干扰树突状细胞的内吞功能, 减少树突状细胞白细胞介素 12 的分泌, 使其刺激同种异体 T 淋巴细胞增殖的能力减低。间充质干细胞与活化的树突状细胞共培养可使肿瘤坏死因子分泌减少。白细胞介素 10 分泌增加。间充质干细胞具有抑制由树突状细胞诱导分化的 T 淋巴细胞增殖分化的作用。且 T 淋巴细胞与间充质干细胞共培养后, T 细胞亚群由辅助性 T 细胞 1、杀伤性 T 细胞 1 向辅助性 T 细胞 2、杀伤性 T 细胞 2 极化。Basara 等<sup>[13]</sup>认为由于辅助性 T 细胞 2 可预防和调节由辅助性 T 细胞 1 介导的抗移植物抗宿主病, 杀伤性 T 细胞 2 则兼备产生移植物抗白血病并同时减轻移植物抗宿主病的双重作用。因此向辅助性 T 细胞 2 和杀伤性 T 细胞 2 极化发展有利于减少移植物抗宿主病的发生, 在骨髓移植后移植物抗宿主病与移植物抗白血病两者的平衡中产生更有利的结果。

**间充质干细胞对自然杀伤细胞的作用:** 自然杀伤细胞通过分泌细胞活素类和溶解物质起到抗病毒和预防肿瘤发生的作用<sup>[14]</sup>。体外研究发现, T 细胞与自然杀伤细胞共培养时, 间充质干细胞可降低辅助性 T 细胞 1 细胞和自然杀伤细胞  $\gamma$  干扰素的分泌水平和提高辅助性 T 细胞 2 细胞分泌白细胞介素 4 的水平。间充质干细胞可以抑制由白细胞介素 2 诱导的自然杀伤细胞的增生, 而白细胞介素 2 激活的自然杀伤细胞可以杀死间充质干细胞<sup>[15]</sup>。

**间充质干细胞对中性粒细胞的影响:** 中性粒细胞是炎症早期的主要细胞, 它消耗大量氧气并产生氧自由基从而导致呼吸爆发, 间充质干细胞可以通过释放白细胞介素 6 起到减弱呼吸爆发的作用<sup>[16]</sup>。

**间充质干细胞对 T 细胞的影响:** 间充质干细胞可以抑制 T 细胞的增殖且这种抑制效应呈剂量依赖性, 即间充质干细胞的数量愈多, 其抑制 T 细胞增殖的作用愈强。间充质干细胞的这种抑制作用, 并不是通过诱导 T 细胞发生凋亡起作用的, 主要是通过细胞直接接触和产生可溶性因子发挥抑制效应的。主要有肝细胞生长因子和转化生长因子  $\beta$ 1。

Di Nicola 等<sup>[12]</sup>通过转化生长因子抗体和肝细胞生长因子抗体中和间充质干细胞分泌的转化生长因子 1 和肝细胞生长因子, 进一步证实转化生长因子  $\beta$ 1

和肝细胞生长因子参与了间充质干细胞介导的对 T 细胞增殖的抑制作用。T 细胞包括 CD8<sup>+</sup>细胞毒性 T 细胞和 CD4<sup>+</sup>辅助性 T 细胞。CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>是重要的免疫调节细胞,调节性 T 细胞具有抑制自身免疫和诱导免疫耐受作用,间充质干细胞可以上调 CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>而发挥其抑制作用。

**间充质干细胞对 B 细胞的影响:** 间充质干细胞对 B 细胞的影响仍有争议,在一些研究中显示了间充质干细胞可以抑制 B 细胞的增殖,使 B 细胞停止在 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期,还可以下调 B 细胞的 CSCR4、CXCR5、CCR7 的表达。而另一些研究却得出相反的结论即间充质干细胞可以促进 B 细胞的增殖。

### 2.2.2 间充质干细胞分泌的细胞因子

**间充质干细胞分泌IDO:** 色氨酸在 T 细胞的增殖中起着重要的作用,IDO 可以使色氨酸转变为犬尿氨酸,通过耗竭营养物质或直接通过代谢产生的毒性物质来抑制免疫细胞的生长和作用<sup>[17]</sup>。间充质干细胞表达IDO依赖于 $\gamma$ 干扰素<sup>[18]</sup>。已经观察到将间充质干细胞置于炎症环境中,例如 $\gamma$ 干扰素中,可以抑制 T 细胞、B 细胞、自然杀伤细胞的增殖。

**间充质干细胞分泌前列腺素 E2:** 前列腺素 E2 是另一个间充质干细胞分泌的免疫抑制调控因子。前列腺素合成抑制剂可以减弱间充质干细胞的免疫抑制作用。前列腺素 E2 在间充质干细胞抑制树突状细胞成熟中也发挥着重要的作用<sup>[19-20]</sup>。Nemeth 和他的同伴<sup>[21]</sup>证明了间充质干细胞释放的前列腺素 E2 作用于巨噬细胞的 EP2 和 EP4 受体上,可以释放白细胞介素 10 而起到抗炎的作用,并同时降低促炎因子肿瘤坏死因子  $\alpha$  和白细胞介素 6。

**间充质干细胞表达转化生长因子  $\beta$ :** 间充质干细胞不断的表达转化生长因子  $\beta$ ,有关报道指出中和转化生长因子  $\beta$  的抗体可以损害 T 细胞和自然杀伤细胞的免疫调控作用。

**间充质干细胞合成一氧化氮:** 一氧化氮是有诱导型的一氧化氮合酶合成的,当间充质干细胞于 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 相接触时使诱导型一氧化氮合酶合成一氧化氮<sup>[22]</sup>。Stat5 是 T 细胞活化和增殖的重要的转录因子。通过抑制一氧化氮介导的 Stat5 磷酸化,可以抑制 T 细胞

的增殖<sup>[17]</sup>。

正是因为间充质干细胞的低免疫原性及其对宿主 T 细胞强大的免疫抑制效应,间充质干细胞可以用于皮肤的移植、同种异体器官移植和移植物抗宿主病。Bartholomew 等<sup>[23]</sup>证明了输入供体的间充质干细胞可以延长移植皮肤的生存时间。移植物抗宿主病在动物移植的研究中已取得了令人鼓舞的结果,证明间充质干细胞能提高同种异型造血干细胞(HSC)的移植物成活率。

**2.3 临床前期间充质干细胞的不同输注方式对心功能的影响** 通常将间充质干细胞输入心脏通过 4 条途径:静脉输注、经冠脉输注、经导管心内膜输注和直接心外膜注射。

**2.3.1 静脉输注** 经静脉输注是最简便的方法,但是由于要使干细胞进入心肌,必须途径肺循环,这使得必须考虑到经过血液循环进入心脏的干细胞是否会下降而影响间充质干细胞向心肌细胞的分化。有关实验将间充质干细胞静脉输注用于大鼠心肌梗死后的治疗,在梗死区及其周边可见到标记物标记的间充质干细胞,并分化为心肌细胞表型,从而证明了静脉输注间充质干细胞的可行性和安全性。Halkos 等<sup>[24]</sup>将猪的前降支阻塞造成急性心肌梗死,15 min 后静脉输注间充质干细胞,12 周后间充质干细胞治疗组心肌梗死区血管内皮生长因子和 vWF 较对照组明显升高。两组左室射血分数无明显差异,但是间充质干细胞组左室收缩末期容积明显缩小。

**2.3.2 冠脉输注** 应用 OTW 球囊导管梗死相关冠脉并可间充质干细胞有效的送至心肌缺血部位,但因其暂时阻断冠脉血流,可能使干细胞无法有效到达梗死区域并导致室颤等严重并发症。相关实验指出应用 MSsC 组动物的 EF 值较对照组升高,并且可以在梗死区域周围看到铁氧化物标记的间充质干细胞。用羊作为实验动物,通过冠脉输入异体的间充质干细胞,在心肌梗死 2 个月后明显改善了左室射血分数值,并看到了新生血管形成。

**2.3.3 心内膜输注** 是透视引导下将导管送入心室,通过导管前段用针将间充质干细胞注入心内膜下心肌。虽然这种方式可以将干细胞直接送入梗死部位和

梗死周围,但可能会导致心脏穿孔并引起严重的心律失常。Quevedo 等<sup>[25]</sup>将雄性老鼠的间充质干细胞通过心内膜注入雌性老鼠的梗死区及周围区,采用 Y 染色体来定位间充质干细胞。实验证明了间充质干细胞可以向心肌细胞、血管平滑肌细胞和内皮细胞分化,并且可以缩小瘢痕范围,改善心功能。

**2.3.4 心外膜注射** 是一种侵入性的方式,因为必须经过开胸术,但是可以直视下将间充质干细胞输入瘢痕部位,并且当发生穿孔时,可以进行修补。Schuleri 等<sup>[26]</sup>于猪缺血性心肌病 12 周后分别接受两种不同剂量( $20 \times 10^6$  和  $200 \times 10^6$ )的间充质干细胞,不同剂量组的心肌酶无明显区别,但大剂量组的心梗面积较小组明显下降,而且梗死局部心肌的收缩力也较小组明显提高。两组的左室射血分数都增加了,而对照组无明显变化。不论哪种方式都可以缩小瘢痕范围以及改善心功能。

程芮等<sup>[27]</sup>对经冠脉、心内膜、心外膜 3 种不同途径移植间充质干细胞治疗心肌梗死效果进行了比较,结果表明经冠脉、心内膜及心外膜注射 3 种途径移植间充质干细胞均可改善梗死后的心功能,但移植细胞在损伤心肌内的定位增殖、新生血管数目、瘢痕缩小范围以及心功能改善的程度并不完全相同。冠脉移植组上述指标虽有改善,但与对照组比较无明显差异,而且梗死周围心肌内几乎找不到 DAPI 标记的供体细胞。与之相比,心内膜及心外膜移植组上述指标改善更明显。一些报道指出运用间充质干细胞可能会增加肿瘤发生的可能性或者引起严重的心律失常。但一些临床期研究的资料显示运用间充质干细胞并未增加心律失常的发生,并且大量的临床前期及临床期研究也并未证明有肿瘤形成或是有异位组织生长。

**2.4 干细胞的作用机制** 心肌梗死后的心室重塑在所难免,心肌梗死部位由纤维瘢痕所代替。因此逆转左室重塑成为心肌梗死后各种治疗手段的主要目标。目前间充质干细胞作用的机制主要包括旁分泌机制,细胞间相互作用机制及与宿主细胞融合机制,而旁分泌机制是研究最多的机制。间充质干细胞分泌各种生长因子以及活性物质抑制免疫反应,细胞凋亡,促进新生血管形成增加灌注,趋化其他细胞参与心肌修复等机制从而改善心脏功能。

**2.4.1 促血管发生** 间充质干细胞可分泌多种血管生长因子。血管内皮生长因子是引起血管发生很强的细胞因子,主要通过血管生成机制诱导新生血管发生<sup>[28]</sup>,并且血管内皮生长因子可以通过激活内皮一氧化氮合酶诱导培养的内皮细胞产生一氧化氮和 cGMP,从而扩张血管、抑制平滑肌增生、抗血小板聚集和白细胞黏附抑制等保护心肌。另外碱性成纤维细胞因子,肝细胞生长因子,血小板生长因子 B 也与血管生成有关。Tang 等<sup>[29-30]</sup>研究者发现,自体间充质干细胞移植后,血管内皮生长因子、碱性成纤维细胞因子表达均较对照组明显增高,移植后 2 周,新生毛细血管血管密度超过对照组的 40%。

**2.4.2 抗凋亡作用** 间充质干细胞通过旁分泌作用阻断凋亡从而保护心肌组织,胰岛素样生长因子 1,血管内皮生长因子,肝细胞生长因子、血小板生长因子和白细胞介素 6 等均曾被报道具有抗凋亡作用。间充质干细胞的旁分泌细胞因子通过凋亡抑制蛋白 (Bcl-2) 发挥抗心肌细胞凋亡的作用。缺氧期间成心肌细胞的死亡已经被证实与 Bcl-2 缺乏有关。Tang 等<sup>[30]</sup>发现,自体间充质干细胞移植后,梗死区及周边以及正常区域心肌细胞凋亡数均明显下降,移植后 2 周, Bax 蛋白,一个 Bcl-2 家族中的促凋亡蛋白下降了 60%。碱性成纤维细胞因子能够诱导 Bcl-2 较高的表达<sup>[31]</sup>。

**2.4.3 趋化作用** 间充质干细胞分泌的趋化因子可以趋化多种细胞参与缺血心肌修复,包括单核细胞集落刺激因子,单核细胞趋化蛋白 1,基质细胞衍生因子 1 $\alpha$ , 干细胞因子。基质细胞衍生因子 1 $\alpha$  是目前所知的最强的骨髓干细胞趋化因子,其配体为 CXCR4。基质细胞衍生因子 1/CXCR4 轴不仅能够促进移植后间充质干细胞向损伤组织迁徙,当组织损伤时受损组织会上调基质细胞衍生因子 1 的表达,使局部基质细胞衍生因子 1 的浓度升高并向周围扩散,趋化表面表达 CXCR4 的间充质干细胞沿着基质细胞衍生因子 1 的浓度梯度到达损伤部位参与组织修复,而且具有抑制间充质干细胞的凋亡、增加间充质干细胞的存活率及增殖活性等作用<sup>[32]</sup>。干细胞因子是重要的造血祖细胞生长因子,具有促进增殖可抗凋亡的作用, kit 为干细胞因子的受体,干细胞因子/c-kit 信号对所有表达 c-kit 的细胞的活化,维持功能都起着重要作用。干细胞因子/Kit 对 CD34 造血干细的趋化作用尤为

重要。

**2.5 临床前期运用间充质干细胞对心脏修复的作用** 临床前期大量的实验动物研究给人们运用间充质干细胞治疗心脏疾病带来了前景。目前大量的临床实验也证明了间充质干细胞的安全性和有效性。STIM 和 SWISS-AMI 实验都显示了自体的骨髓间充质干细胞经冠脉注入治疗急性心肌梗死的安全性, 并且可以明显改善患者的左室射血分数<sup>[33]</sup>。而且这种作用似乎在重度心功能不全的患者高于轻度功能障碍的患者。2009 年一项临床一期通过静脉注射自体间充质干细胞治疗急性心肌梗死患者的实验<sup>[34]</sup>。该实验采用随机、双盲、安慰剂对照及剂量升级。该实验未观察到明显的并发症, 表明其安全性, 并且干细胞治疗组的患者与对照组相比较, 临床症状有所缓解, 在 3 个月内左室射血分数值增加了, 发生室性心动过速的事件较少。TAC-HFT 和 POSEIDON 是目前两项正在进行的大型间充质干细胞治疗心肌梗死的临床研究实验。TAC-HFT 采用随机、双盲、安慰剂对照通过心内膜下注射干细胞来比较间充质干细胞和骨髓间充质干细胞对心功能不全的安全性和有效性<sup>[35]</sup>。

### 3 讨论

虽然大量研究证明了干细胞移植可以改善心肌梗死后心衰的心功能, 但仍有许多问题需要解决。①向心肌细胞分化的能力低下, 因此人们试图用血管内皮生长因子、胰岛素样生长因子等基因转染干细胞来提高间充质干细胞的分化能力。②采用什么方式, 剂量的选择、时间的选择仍需进一步研究。③虽然目前大量的实验证明了干细胞移植的安全性, 未见明显严重的并发症及肿瘤或异位组织的形成, 但仍需长期大量的实验来证明。④干细胞作用的机制到底是通过旁分泌、细胞融合、细胞间相互作用或者是转化为心肌细胞和内皮细胞也依然不明确。⑤干细胞具有免疫抑制作用, 但自体间充质干细胞可能会引起免疫反应而影响功效。总而言之, 间充质干细胞移植作为一项新的技术, 以其特有的生物学特性及大量的实验数据为治疗心肌缺血等疾病提供了广阔的前景。

**基金资助:** 国家自然科学基金面上项目(30572445), 课题名称: 地黄低聚糖对 ADMSCs 自体移植防治心肌梗

死后心力衰竭的实验研究。

**作者贡献:** 第一作者构思并设计本综述, 经通讯作者审校, 第一作者对本文负责。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**伦理要求:** 无涉及伦理冲突的内容。

**作者声明:** 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

### 4 参考文献

- [1] Friedenstien AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. Cell Tissue Kinet. 1970;3:393-403.
- [2] Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells: the International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy. 2006;8:315-317.
- [3] Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. Mol boil cell. 2002;13: 4279-4295.
- [4] 张美, 吕国枫. 骨髓间充质干细胞向软骨的诱导分化[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(45):8483-8486.
- [5] Worster AA, Brower-Toland BD, Fortier LA, et al. Chondrocytic differentiation of mesenchymal stem cells sequentially exposed to transforming growth factor-beta 1 in monolayer and insulin-like growth factor-1 in a three-dimensional matrix. J Orthop Res. 2001;19(4):738-749.
- [6] 邓进, 彭吾训, 王蕾, 等. 骨髓间充质干细胞二维培养条件下向软骨细胞诱导分化的实验研究[J]. 中国现代医学杂志, 2008, 18(16): 2340-2343.
- [7] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science. 1999;284:143-147.
- [8] 徐道华, 周晨慧, 刘钰瑜, 等. 大鼠骨髓间充质干细胞分化成脂肪细胞的定向诱导[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(1): 125-128.
- [9] Xu M, Wani M, Dai YS, et al. Differentiation of bone marrow stromal cells into the cardiac phenotype requires intercellular communication with myocytes. Circulation. 2004;110:2658-2665.
- [10] Deans RJ, Moseley AB. Mesenchymal stem cells: Biology and potential clinical uses. Exp Hematol. 2000;28:875-884.
- [11] Klyushnenkova E, Mosca JD, Zemetkina V, et al. T cell responses to allogeneic human mesenchymal stem cells: immunogenicity, tolerance and suppression. Biomed Sci. 2005;12:47-57.
- [12] Di Nicola M, Carlo-Stella C, Magui M, et al. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. Blood. 2002; 99:3838-3843.
- [13] Basara N, Kiehl MG, Fauser AA. New therapeutic modalities in the treatment of graft-versus-host disease. Crit Rev Oncol Hematol. 2001;38(2):129-138.

- [14] Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2008;8:726-736.
- [15] Spaggiari GM, Capobianco S, Becchetti S, et al. Mesenchymal stem cell-natural killer cell interactions; evidence that activated NK cells are capable of killing MSCs, whereas MSCs can inhibit IL-2-induced NK-cell Proliferation. *Blood.* 2006;107:1484-1490.
- [16] Raffaghello L, Bianchi G, Bertolotto M, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit neutrophil apoptosis: a model for neutrophil preservation in the bone marrow niche. *Stem Cells.* 2008;26:151-162.
- [17] Bingisser RM, Tilbrook PA, Holt PG, et al. Macrophage-derived nitric oxide regulates T cell activation via reversible disruption of the Jak3/STAT5 signaling pathway. *J Immunol.* 1998; 160 (12): 5729-5734.
- [18] Meisel R, Zibert A, Laryea M, et al. Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation. *Blood.* 2004;103:4619-4621.
- [19] Spaggiari GM, Abdelrazik H, Becchetti F, et al. MSCs inhibit monocyte-derived DC maturation and function by selectively interfering with the generation of immature DCs: central role of MSC-derived prostaglandin E2. *Blood.* 2009;113:6576-6583.
- [20] Wehner R, Wehrum D, Bornhauser M, et al. Mesenchymal stem cells efficiently inhibit the proinflammatory properties of 6-sulfo LacNAc dendritic cells. *Haematologica.* 2009;94:1151-1156.
- [21] Németh K, Leelahavanichkul A, Yuen PS, et al. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E(2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production. *Nat Med.* 2009;15:42-49.
- [22] Sato K, Ozaki K, Oh I, et al. Nitric oxide plays a critical role in suppression of T-cell proliferation by mesenchymal stem cells. *Blood.* 2007;109(1):228-234.
- [23] Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. *Exp Hematol.* 2002; 30(1): 42-48.
- [24] 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;103:525-536.
- [25] Quevedo HC, Hatzistergos KE, Oskouei BN, et al. Allogeneic mesenchymal stem cells restore cardiac function in chronic ischemic cardiomyopathy via trilineage differentiating capacity. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106:14022-14027.
- [26] Schuleri KH, Feigenbaum GS, Centola M, et al. Autologous mesenchymal stem cells produce reverse remodeling in chronic ischaemic cardiomyopathy. *Eur Heart J.* 2009;30: 2722-2732.
- [27] 程芮, 王士雯, 张友荣, 等. 3种不同途径移植自体骨髓间充质干细胞治疗急性心肌梗死效果比较[J]. *中华实验外科杂志*, 2005, 22(12): 1504-1506.
- [28] Luo Z, Diaco M, Murohara T, et al. Vascular endothelial growth factor attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg.* 1997;64:993-998.
- [29] Tang YL, Zhao Q, Qin X, et al. Paracrine Action Enhances the Effects of Autologous Mesenchymal Stem Cell Transplantation on Vascular Regeneration in Rat Model of Myocardial Infarction. *Ann Thorac Surg.* 2005;80:229-237.
- [30] Tang YL, Zhao Q, Zhang YC, et al. Autologous mesenchymal stem cell transplantation induce VEGF and neovascularization in ischemic myocardium. *Regul Pept.* 2004;117:3-10.
- [31] Xu MF, Uemura R, Dai Y, et al. In vitro and in vivo effects of bone marrow stem cells on cardiac structure and function. *J Mol Cell Cardiol.* 2007;42(2):441-448.
- [32] Bhakta S, Hung P, Koc O. The surface adhesion molecule CXCR4 stimulates mesenchymal stem cell migration to stromal cell-derived factor-1 in vitro but does not decrease apoptosis under serum deprivation. *Cardiovasc Revasc Med.* 2006;7(1):19-24.
- [33] Sürder D, Schwitler J, Moccetti T, et al. Cell-based therapy for myocardial repair in patients with acute myocardial infarction: rationale and study design of the SWISS multicenter Intracoronary Stem cells Study in Acute Myocardial Infarction (SWISSAMI). *Am Heart J.* 2010;160:58-64.
- [34] Hare JM, Traverse JH, Henry TD, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54: 2277-2286.
- [35] Trachtenberg B, Velazquez DL, Williams AR, et al. Rationale and design of the Transendocardial Injection of Autologous Human Cells (bone marrow or mesenchymal) in Chronic Ischemic Left Ventricular Dysfunction and Heart Failure Secondary to Myocardial Infarction (TAC-HFT) trial: a randomized, double-blind, placebo-controlled study of safety and efficacy. *Am Heart J.* 2011;161:487-493.