

· 研究原著 ·

肿瘤坏死因子 α 预处理脐血间充质干细胞移植治疗心肌梗死

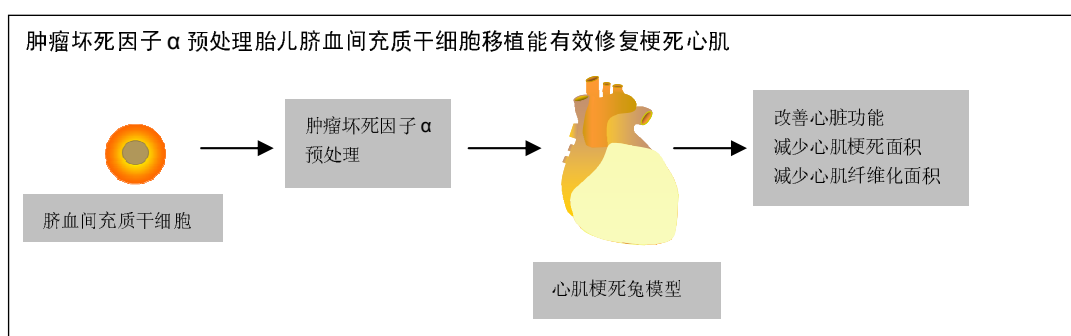
王巍¹, 李肖甫¹, 李中健²(¹郑州大学第三附属医院心电图室, 河南省郑州市 450052; ²郑州大学第二附属医院心电图室, 河南省郑州市 450000)

引用本文: 王巍, 李肖甫, 李中健. 肿瘤坏死因子 α 预处理脐血间充质干细胞移植治疗心肌梗死[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(32):4831-4837.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.32.018

ORCID: 0000-0002-4513-3726(王巍)

文章快速阅读:



王巍, 女, 1970年生, 山东省东明县人, 汉族, 1992年河南医科大学毕业, 硕士, 副主任医师, 研究方向为妇幼心电图。

中图分类号: R394.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344

(2016)32-04831-07

稿件接受: 2016-06-08

文题释义:

心肌缺血: 是指心脏的血液灌注减少, 导致心脏的供氧减少, 心肌能量代谢不正常, 不能支持心脏正常工作的一种病理状态。血压降低、主动脉供血减少、冠状动脉阻塞, 可直接导致心脏供血减少; 心瓣膜病、血黏度变化、心肌本身病变也会使心脏供血减少, 心肌缺血对心脏和全身可能带来许多危害。目前针对这种疾病治疗主要的作用机制包括: 降低心肌耗氧量, 提高耐缺氧能力, 清除自由基、抗氧化作用, 调节血栓素 A₂/前列环素, 调节一氧化氮细胞内皮素 1、抑制肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素的释放等。

脐血间充质干细胞移植: 移植成功最主要的障碍为移植后只有少量脐血间充质干细胞移植至心肌内并存活, 因此提高脐血间充质干细胞向心肌内迁移和定植及其存活率对治疗效果具有重要意义。移植前对脐血间充质干细胞进行肿瘤坏死因子 α 预处理, 发现肿瘤坏死因子 α 预处理脐血间充质干细胞移植治疗大白兔缺血性心脏病可以改善心脏功能、减少心肌梗死面积和心肌纤维化面积。

摘要

背景: 心肌缺血损伤后, 心肌细胞释放大炎症递质作为对心肌损伤的应答, 梗死及缺血区的炎症因子有助于心肌组织对损伤的修复和适应。

目的: 探讨肿瘤坏死因子 α 预处理脐血间充质干细胞移植治疗对心肌梗死兔心功能的效果。

方法: 将 36 只大白兔随机等分为 4 组, 假手术组、模型组、无肿瘤坏死因子 α 组和肿瘤坏死因子 α 组, 后 3 组建立心肌梗死模型。造模后 24 h, 模型组、无肿瘤坏死因子 α 组和肿瘤坏死因子 α 组分别在梗死中心区及边缘注射 PBS、未经肿瘤坏死因子 α 预处理的脐血间充质干细胞及经肿瘤坏死因子 α 预处理的脐血间充质干细胞。

结果与结论: 与模型组相比, 肿瘤坏死因子 α 组和无肿瘤坏死因子 α 组兔心脏功能明显恢复, 心肌梗死面积及心肌纤维化面积明显减小; 且肿瘤坏死因子 α 组的效果优于无肿瘤坏死因子 α 组。表明肿瘤坏死因子 α 预处理脐血间充质干细胞移植能有效治疗心肌梗死。

关键词:

干细胞; 脐血间充质干细胞; 心肌梗死; 心肌纤维化; 左室舒张末期前后径; 左室射血分数

主题词:

心肌缺血; 脐血干细胞移植; 组织工程

基金资助:

河南省科技厅基础科技攻关课题(122300410036)

Wang Wei, Master,
Associate chief physician,
Electrocardiographic
Room, Third Affiliated
Hospital of Zhengzhou
University, Zhengzhou
450052, Henan Province,
China

Tumor necrosis factor- α pretreated umbilical cord blood mesenchymal stem cell transplantation for treatment of myocardial infarction

Wang Wei¹, Li Xiao-fu¹, Li Zhong-jian² (¹Electrocardiographic Room, Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China; ²Electrocardiographic Room, Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, Henan Province, China)

Abstract

BACKGROUND: A large amount of inflammatory mediators from myocardial cells are secreted in response to myocardial injury after myocardial ischemia. Moreover, inflammatory cytokines in infarction and ischemia regions contribute to myocardial tissue repair and adaptation.

OBJECTIVE: To investigate the effect of tumor necrosis factor- α (TNF- α) pretreatment on cardiac function of myocardial infarction rabbits undergoing umbilical cord blood mesenchymal stem cell transplantation.

METHODS: Thirty-six white rabbits were equally randomized into sham, model, non-TNF- α , and TNF- α groups. Animal models of myocardial infarction were made in the latter three groups. Twenty-four hours after modeling, PBS, umbilical cord blood mesenchymal stem cells pretreated with or without TNF- α were injected at infarct center and border, respectively, in the model, TNF- α and non-TNF- α groups.

RESULTS AND CONCLUSION: Model rabbits in the TNF- α and non-TNF- α groups showed better cardiac function and lower size of myocardial infarction and fibrosis than those in the model group. Compared with the non-TNF- α group, moreover, the TNF- α group showed better outcomes in these indicators. These findings indicate that TNF- α pretreatment can markedly improve the therapeutic efficacy of umbilical cord blood mesenchymal stem cell transplantation on myocardial infarction.

Subject headings: Myocardial Ischemia; Cord Blood Stem Cell Transplantation; Tissue Engineering

Funding: the Scientific Research Project of Henan Provincial Science and Technology Department, China, No. 122300410036

Cite this article: Wang W, Li XF, Li ZJ. Tumor necrosis factor- α pretreated umbilical cord blood mesenchymal stem cell transplantation for treatment of myocardial infarction. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(32):4831-4837.

0 引言 Introduction

虽然随着药物和介入治疗的发展,心脏病患者的生存率有了很大提高,但心力衰竭患者的死亡率仍较高,在东亚地区心力衰竭患者的死亡率甚至高达2%-9%^[1]。缺血性心脏病是心力衰竭死亡的主要原因^[2]。缺血性心脏病中由于缺血缺氧导致心肌细胞不可逆的损伤和坏死,而心肌细胞本身不具备自我再生能力,进而导致的心力衰竭。

缺血性心脏病最早的治疗方法为药物治疗,药物治疗对抑制心肌重构有一定效果,但无法逆转和改善缺血坏死性心脏病发展为心力衰竭的进程;随后出现的血管重建技术虽可改善缺血坏死心肌的血液供应,挽救没有坏死的心肌细胞,但对已经发生坏死的心肌起不到作用。心脏介入治疗技术可以减少血管重建率,减少血管再狭窄的发生,但也对已发生坏死的心肌细胞起不到作用,因此未来心力衰竭治疗的关键是针对心肌再生的治疗^[3-4]。

干细胞疗法可以修复和再生心肌细胞,是预防心力衰竭治疗的一种主要手段,在美国干细胞治疗已使1亿多人受益^[5]。干细胞是具有分化能力的细胞,能够分化成某种特定的细胞,因而能够进行组织修复^[6-7]。间充质

干细胞是干细胞的一种,具有营养作用、多向分化潜能、促进血管形成及免疫抑制作用^[8-16],因此间充质干细胞有望成为治疗退行性疾病的有效方法^[17]。胎儿脐血间充质干细胞由于取材方便,来源丰富,不断受到人们重视。动物实验结果表明,胎儿脐血间充质干细胞对病变心肌有修复和再生作用,减轻左室壁变薄及心肌收缩力受损,改善心脏功能^[18-19]。但是只有少量脐血间充质干细胞可以成功移植至心肌内并且存活下去^[20],因此提高脐血间充质干细胞向心肌内迁移和定植及其存活率对治疗效果具有重要意义。

对间充质干细胞进行炎症因子预处理可以对心肌梗死的治疗有积极影响,移植肿瘤坏死因子 α 预处理的间充质干细胞能够促进心肌梗死心脏功能恢复^[21-22]。实验拟对肿瘤坏死因子 α 预处理的脐血间充质干细胞移植治疗心肌梗死的效果进行评价。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 实验于2014年7月至2015年6月在

郑州大学第二附属医院实验室完成。

1.3 材料

实验动物: 清洁级雄性健康新西兰大白兔36只, 体重2 500~3 500 g, 购自河南省实验动物中心, 动物许可证号: SCXK(豫)20140035。实验经过郑州大学第二附属医院动物伦理学委员会批准。

脐血: 经父母同意后选取足月分娩的10名健康新生儿的脐血。实验经过郑州大学第三附属医院伦理学委员会批准, 并签署知情同意书。

细胞移植治疗心肌梗死使用的主要试剂和仪器:

试剂及仪器	来源
D-Hanks液	吉诺生物公司
低糖DMEM干粉培养基	美国Gibcero公司
肿瘤坏死因子 α	美国Peprotech公司
EDTA、BrdU、胰蛋白酶、抗BrdU抗体、抗CD31抗体、辣根过氧化物酶标记的兔抗山羊	美国Sigma公司
MEM-F12培养基	辽宁生物技术有限公司
荧光标记细胞表面分子CD24, 荧光标记细胞表面分子CD44, 荧光标记细胞表面分子CD45, 荧光标记细胞表面分子CD69, 荧光标记细胞表面分子CD105, 荧光标记细胞表面分子CD166, 流式细胞计数器	美国BD公司
多聚甲醛, PBS	广州赛业生物技术有限公司
Percoll液	美国Amersham Biosciences公司
胎牛血清	天津四季生物研究所
青霉素	沈阳东药集团公司
链霉素	哈药集团制药总厂
超净工作台	辽宁高新净化设备仪器工程技术有限公司
倒置显微镜	日本 Olympus 公司
离心机	上海安亭科学仪器厂
动物心电图	上海茂生科技发展有限公司
心脏彩超	飞利浦公司

1.4 方法

1.4.1 脐血间充质干细胞的分离、培养及鉴定 50 mL脐血加入肝素摇匀, 离心后, 取白色膜状的细胞层移至试管内, 加D-Hanks液稀释, 离心, 吸去上清液, 洗涤后再离心, 用干细胞原代培养液制成细胞悬液。

将上述制备的脐血间充质干细胞接种到含胎牛血清的原代培养基中, 接种后2 d时进行首次半量换液,

去除非贴壁生长细胞。随后每3 d进行一次换液, 待培养基中的细胞达90%以上融合时, 加入胰蛋白酶进行消化, 加入培养液终止消化, 吹打贴壁细胞, 并将其移至离心管中离心, 弃去上清液, 加入培养液制成脐血间充质干细胞悬液, 接种到培养瓶中进行传代培养, 显微镜下观察细胞生长情况, 待细胞达到90%融合时进行重复传代。

观察第3代脐血间充质干细胞形态, 并将脐血间充质干细胞用PBS洗涤, 然后用流式细胞仪进行检测CD34, CD45, CD40, CD44, CD166, CD56, CD106和CD102等细胞表面物的表达鉴定脐血间充质干细胞。

1.4.2 脐血间充质干细胞肿瘤坏死因子 α 预处理 将部分上述制备的胎儿脐血间充质干细胞置入Transwell小室的上层, 下层加入培养基, 培养基中加入肿瘤坏死因子 α (20 μ g/L), 培养24 h后取出, 显微镜下进行观察。

1.4.3 脐血间充质干细胞的BrdU标记 取生长良好的第3代脐血间充质干细胞进行标记, 将肿瘤坏死因子 α 预处理的脐血间充质干细胞和没有进行肿瘤坏死因子 α 预处理的脐血间充质干细胞分别接种到培养瓶中, 加入BrdU共同培养72 h, 然后用胰蛋白酶进行消化。对标记的脐血间充质干细胞进行免疫组化染色: 将BrdU标记的脐血间充质干细胞经PBS洗涤, 多聚甲醛固定, PBS洗涤, H_2O_2 -甲醇灭活过氧化物酶, PBS洗涤, 正常血清进行封闭, 甲酰胺变性核酸, 加入BrdU一抗孵育, PBS洗涤, 加入二抗孵育, PBS洗涤, 加入辣根酶标记链霉卵白素工作液进行孵育, PBS洗涤, DAB显色, 计算BrdU标记的阳性细胞比例, 取8个视野进行观察, 结果取平均值。

1.4.4 心肌梗死兔模型的建立 将36只大白兔随机等分为4组: 假手术组、模型组、无肿瘤坏死因子 α 组和肿瘤坏死因子 α 组。

大白兔麻醉成功后, 固定到手术台上, 常规消毒, 打开胸腔, 切开心包, 分离左冠状动脉, 假手术组在距离左冠状动脉开口1 cm处只穿线不结扎, 其他3组兔在距离左冠状动脉开口1 cm处缝扎左冠状动脉左前降支。大白兔的左侧心室前壁搏动减弱, 颜色发白, 则表示大白兔心肌梗死模型建造成功。建模后1 d, 对兔进行心电图检查。

1.4.5 脐血间充质干细胞移植 造模成功后24 h, 进行移植, 肿瘤坏死因子 α 组在大白兔的梗死中心区及边缘注入共1 mL经肿瘤坏死因子 α 预处理的脐血间充质干细胞(1×10^7 个细胞); 无肿瘤坏死因子 α 组在大白兔的梗死

中心区及边缘注入共1 mL未经肿瘤坏死因子 α 预处理的脐血间充质干细胞(1×10^7 个细胞);对照组和模型组在相应区域注入等量的PBS。

1.4.6 心电图检查 大白兔麻醉,固定到手术台上,将动物心电图的电极插入大白兔的皮下和胸前导联,描记大白兔的心电图情况。

1.4.7 大白兔心脏功能监测 移植后4周通过心脏彩超测定大白兔的左室舒张末期前后径和左室射血分数。

1.4.8 取材 在移植后4周心功能测定后处死大白兔,取出心脏,多聚甲醛固定,石蜡包埋,以5 μm 的厚度进行切片。

1.4.9 苏木精-伊红染色 将大白兔心肌切片进行脱蜡,冲洗,进行苏木精染色,水洗后,伊红染色,乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封固。用Image J图像分析软件(National Institutes of Health)计算心肌梗死面积,每张切片取8个视野进行观察,结果取平均值。

1.4.10 Masson's染色 将大白兔心肌切片进行脱蜡,冲洗,进行苏木精染色,水洗,加入丽春红复染,冰醋酸浸洗,磷钼酸分化,冰醋酸浸洗,亮绿染液浸染,冰醋酸浸洗,乙醇脱水,透明,封固。用Image J图像分析软件计算大白兔的心肌纤维化面积,每张切片取8个视野进行观察,结果取平均值。

1.5 主要观察指标 ①左室舒张末期前后径和左室射血分数。②心肌梗死和心肌纤维化面积。

1.6 统计学分析 采用SPSS 18.0统计软件进行数据分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验和单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 脐血间充质干细胞的形态 胎儿脐血间充质该细胞在培养48 h时开始出现贴壁生长,3 d时有细胞集落生成,细胞呈纺锤形或者梭形,培养7 d时开始形成大的细胞集落,细胞呈成纤维样,形态比较均一,排列有一定的方向性(图1A)。

传代培养4 h细胞便出现完全贴壁生长,生长速度比较快,细胞培养至第3代时,细胞生长比较旺盛,增殖能力非常强,细胞呈梭形,向外延伸,方向比较一致(图1B)。

2.2 胎儿脐血间充质干细胞的鉴定结果 胎儿脐血间充质干细胞的流式细胞仪鉴定结果显示,细胞呈CD24、CD44、CD45及CD69阳性,CD105和CD166阴性。符合胎儿脐血间充质干细胞的细胞免疫表型特点,表明分

离的细胞为胎儿脐血间充质干细胞。

2.3 实验动物数量分析 36只兔均未出现死亡,均进入实验分析。

2.4 心肌梗死大白兔模型构建结果 造模后第1天,假手术组兔心电图变化不明显。

心肌梗死模型兔的心电图出现ST段抬高,表现为心肌梗死心电图波形,表明心肌梗死大白兔模型建造成功(图2)。

2.5 心脏功能 与假手术组相比,模型组大白兔左室舒张末期前后径明显增大($P < 0.05$),且左室射血分数降低($P < 0.05$)。

肿瘤坏死因子 α 组和无肿瘤坏死因子 α 组大白兔的左室舒张末期前后径明显小于模型组($P < 0.05$),左室射血分数大于模型组($P < 0.05$)。

肿瘤坏死因子 α 组大白兔的左室舒张末期前后径明显小于无肿瘤坏死因子 α 预处理移植($P < 0.05$),左室射血分数大于无肿瘤坏死因子 α 预处理移植($P < 0.05$;表1)。

2.6 心肌梗死形态 苏木精-伊红染色结果显示,移植后4周,模型组、肿瘤坏死因子 α 组和无肿瘤坏死因子 α 组大白兔左心室均可见心肌细胞的变性坏死,心肌梗死区域周围有岛状分布的正常心肌细胞,其中在模型组大白兔的左心室间脂肪大量增生。

肿瘤坏死因子 α 组和无肿瘤坏死因子 α 预处理移植大白兔的心肌梗死面积明显低于模型组($P < 0.05$),且肿瘤坏死因子 α 组大白兔的心肌梗死面积明显低于无肿瘤坏死因子 α 组($P < 0.05$;图3,表2)。

2.7 心肌纤维化面积 Masson's染色结果显示,移植后4周,模型组、肿瘤坏死因子 α 组和无肿瘤坏死因子 α 组大白兔左心室均可见纤维瘢痕。

肿瘤坏死因子 α 组和无肿瘤坏死因子 α 预处理移植大白兔的心肌纤维化面积明显低于模型组($P < 0.05$),且肿瘤坏死因子 α 组大白兔的心肌纤维化面积明显低于无肿瘤坏死因子 α 预处理移植的心肌梗死面积($P < 0.05$;图4,表3)。

3 讨论 Discussion

随着缺血坏死心肌细胞的增加,心肌正常细胞被缺血坏死细胞代替,并逐渐纤维化,纤维化后的缺血坏死细胞被胶原纤维细胞代替,心室出现瘢痕并重构,重构后的心脏逐渐出现失代偿,最终发展为心力衰竭。动物实验证实间充质干细胞移植治疗缺血性心脏病有促进心肌修复和心肌细胞再生的作用,是安全可靠的。但间

充质干细胞移植在治疗临床缺血性心脏病患者方面仍处于早期临床研究阶段。

在心肌缺血早期, 发生急性炎症反应, 心肌组织释放大量的炎症因子, 间充质干细胞可以分泌炎症因子受体; 分泌金属蛋白酶, 促进间充质干细胞置入梗死心肌内; 释放细胞因子和细胞生长因子, 保护受损的心肌细胞^[22]。大量研究表明胎儿脐血间充质干细胞对心肌细胞有修复和再生作用, 可能的机制为直接分化为心肌细胞^[23], 刺激内源性心肌干细胞生长^[24], 旁分泌作用诱导心肌细胞增长^[25], 刺激心肌细胞循环^[26], 动员瘢痕周边内生祖细胞, 诱发移植细胞与定居细胞的融合。有动物实验表明脐血间充质干细胞移植后 1 周, 梗死后的动物心脏重构和左心室射血功能开始恢复, 移植后 1 个月时心脏功能有所恢复^[27-28]。但脐血间充质干细胞移植的成功受多方面因素影响, 其中最主要的障碍为移植后只有少量脐血间充质干细胞移植至心肌内并存活, 因此提高脐血间充质干细胞向心肌内迁移和定植及其存活率对治疗效果具有重要意义。

近年来有研究表明对间充质干细胞进行炎症因子预处理可以对心肌梗死的治疗有积极影响^[21, 29-35]。实验结果发现肿瘤坏死因子 α 预处理的间充质干细胞移植治疗后大白兔的左室舒张末期前后径和左室射血分数明显改善, 心肌梗死面积及心肌纤维化面积明显减少。说明肿瘤坏死因子 α 预处理的胎儿脐血间充质干细胞移植能有效治疗心肌梗死。

作者贡献: 王巍进行实验设计, 实验实施为王巍, 实验评估为王巍、李肖甫, 资料收集为王巍、李中健, 王巍成文, 王巍审校。

利益冲突: 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题: 实验方案经郑州大学第二附属医院伦理委员会批准, 实验方案已经产妇/家属知情同意。实验方案经郑州大学第二附属医院大学动物实验伦理委员会批准。实验动物在戊巴妥钠麻醉下进行所有的手术, 并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算

机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] Guo Y, Lip GY, Banerjee A. Heart failure in East Asia. *Curr Cardiol Rev*. 2013;9(2):112-122.
- [2] Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, et al. Heart disease and stroke statistics—2013 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2013;127(1):e6-e245.
- [3] Laflamme MA, Murry CE. Heart regeneration. *Nature*. 2011;473(7347):326-335.
- [4] Assmus B, Zeiher AM. Early cardiac retention of administered stem cells determines clinical efficacy of cell therapy in patients with dilated cardiomyopathy. *Circ Res*. 2013;112(1):6-8.
- [5] Harris DT. Non-haematological uses of cord blood stem cells. *Br J Haematol*. 2009;147(2):177-184.
- [6] Rehman J. Empowering self-renewal and differentiation: the role of mitochondria in stem cells. *J Mol Med (Berl)*. 2010;88(10):981-986.
- [7] Wagers AJ. The stem cell niche in regenerative medicine. *Cell Stem Cell*. 2012;10(4):362-369.
- [8] Caplan AI, Dennis JE. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *J Cell Biochem*. 2006;98(5):1076-1084.
- [9] Zhang M, Mal N, Kiedrowski M, et al. SDF-1 expression by mesenchymal stem cells results in trophic support of cardiac myocytes after myocardial infarction. *FASEB J*. 2007;21(12):3197-3207.
- [10] Govindasamy V, Ronald VS, Abdullah AN, et al. Differentiation of dental pulp stem cells into islet-like aggregates. *J Dent Res*. 2011;90(5):646-652.
- [11] Sasaki M, Abe R, Fujita Y, et al. Mesenchymal stem cells are recruited into wounded skin and contribute to wound repair by transdifferentiation into multiple skin cell type. *J Immunol*. 2008;180(4):2581-2587.
- [12] Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, et al. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation*. 2002;105(1):93-98.
- [13] Martens TP, See F, Schuster MD, et al. Mesenchymal lineage precursor cells induce vascular network formation in ischemic myocardium. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2006;3 Suppl 1:S18-22.
- [14] Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood*. 2005;105(4):1815-1822.

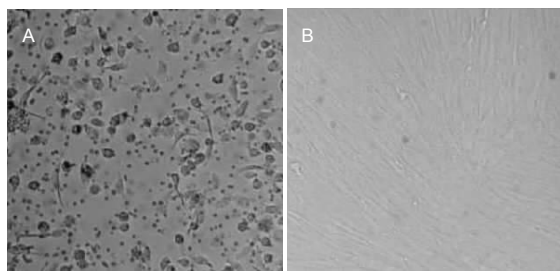
图1 胎儿脐血间充质干细胞的形态($\times 100$)

Figure 1 Morphology of umbilical cord blood mesenchymal stem cells ($\times 100$)

图注: 图中 A 为胎儿脐血间充质干细胞原代培养 7 d 时的形态; B 为第 3 代胎儿脐血间充质干细胞的形态。

表2 肿瘤坏死因子 α 预处理胎儿脐血间充质干细胞移植对大白兔心肌梗死面积的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=9$)

Table 2 Comparison of myocardial infarct size among groups

组别	心肌梗死面积
模型组	26.48 $\pm$ 1.22
肿瘤坏死因子 α 组	18.73 $\pm$ 1.34 ^a
无肿瘤坏死因子 α 组	21.37 $\pm$ 1.69 ^{ab}
<i>P</i>	0.000

表注: 与模型组相比, ^a $P < 0.05$; 与肿瘤坏死因子 α 组相比, ^b $P < 0.05$ 。

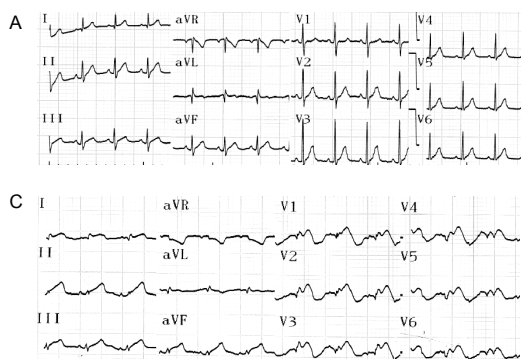


图2 大白兔心肌梗死建模前后的心电图情况

Figure 2 Electrocardiogram findings before and after myocardial infarction in rabbits

图注: 图中 A 为造模前大白兔的正常心电图; B 为假手术组大白兔损伤后心电图; C 为大白兔心肌梗死后的心电图。

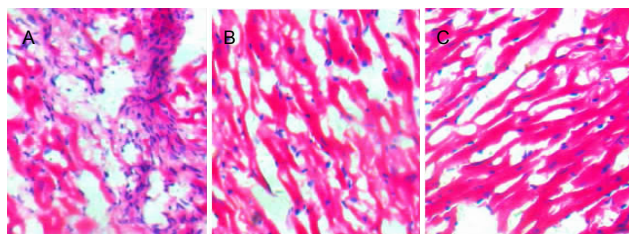
图3 肿瘤坏死因子 α 预处理胎儿脐血间充质干细胞移植对大白兔心肌梗死细胞的影响(苏木精-伊红染色, $\times 200$)

Figure 3 Effect of tumor necrosis factor- α pretreated umbilical cord blood mesenchymal stem cell transplantation on infarcted myocardial tissues in rabbits ($\times 200$)

图注: 图中 A 为模型组; B 为无肿瘤坏死因子 α 组; C 为肿瘤坏死因子 α 组。3 组大白兔左心室可出现见心肌细胞的变性坏死。梗死面积: 模型组>无肿瘤坏死因子 α 组>肿瘤坏死因子 α 组。

表1 肿瘤坏死因子 α 预处理胎儿脐血间充质干细胞移植对心肌梗死大白兔心脏功能的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=9$)

Table 1 Effects of tumor necrosis factor- α pretreatment on cardiac function in rabbits with myocardial infarction undergoing umbilical cord blood mesenchymal stem cell transplantation

组别	左室舒张末期前后径(mm)	左室射血分数(%)
假手术组	12.37 $\pm$ 1.12	68.75 $\pm$ 4.62
模型组	16.98 $\pm$ 1.43 ^a	53.23 $\pm$ 3.57 ^a
肿瘤坏死因子 α 组	13.79 $\pm$ 1.64 ^{ab}	64.26 $\pm$ 3.09 ^{ab}
无肿瘤坏死因子 α 组	15.32 $\pm$ 1.87 ^{abc}	59.48 $\pm$ 3.87 ^{abc}

表注: 与假手术组相比, ^a $P < 0.05$; 与模型组相比, ^b $P < 0.05$; 与肿瘤坏死因子 α 组相比, ^c $P < 0.05$ 。

表3 肿瘤坏死因子 α 预处理胎儿脐血间充质干细胞移植对心肌梗死大白兔心肌纤维化面积的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=9$, %)

Table 3 Comparison of myocardial fibrosis size among groups

组别	心肌纤维化面积
模型组	19.42 $\pm$ 2.05
肿瘤坏死因子 α 组	13.23 $\pm$ 1.79 ^a
无肿瘤坏死因子 α 组	15.44 $\pm$ 1.38 ^{ab}
<i>P</i>	0.000

表注: 与模型组相比, ^a $P < 0.05$; 与肿瘤坏死因子 α 组相比, ^b $P < 0.05$ 。

图4 肿瘤坏死因子 α 预处理胎儿脐血间充质干细胞移植对心肌梗死大白兔心肌纤维化的影响(Masson's 染色, $\times 200$)

Figure 4 Masson's staining showed myocardial fibrosis in rabbits after tumor necrosis factor- α pretreated umbilical cord blood mesenchymal stem cell transplantation ($\times 200$)

图注: 图中 A 为模型组; B 为无肿瘤坏死因子 α 组; C 为肿瘤坏死因子 α 组。3 组大白兔左心室均可见纤维瘢痕。心肌纤维化面积: 模型组>无肿瘤坏死因子 α 组>肿瘤坏死因子 α 组。棕色为弹性纤维, 绿色为胶原纤维, 红色为纤维素和肌纤维。

- [15] Chen X, Armstrong MA, Li G. Mesenchymal stem cells in immunoregulation. *Immunol Cell Biol.* 2006;84(5): 413-421.
- [16] Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood.* 2007;110(10): 3499-3506.
- [17] 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(4):315-317.
- [18] Yu YS, Shen ZY, Ye WX, et al. AKT-modified autologous intracoronary mesenchymal stem cells prevent remodeling and repair in swine infarcted myocardium. *Chin Med J (Engl).* 2010;123(13): 1702-1708.
- [19] Zhuang Y, Chen X, Xu M, et al. Chemokine stromal cell-derived factor 1/CXCL12 increases homing of mesenchymal stem cells to injured myocardium and neovascularization following myocardial infarction. *Chin Med J (Engl).* 2009;122(2):183-187.
- [20] Gavira JJ, Perez-Illarbe M, Abizanda G, et al. A comparison between percutaneous and surgical transplantation of autologous skeletal myoblasts in a swine model of chronic myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 2006;71(4):744-753.
- [21] Ding J, Ghali O, Lencel P, et al. TNF-alpha and IL-1beta inhibit RUNX2 and collagen expression but increase alkaline phosphatase activity and mineralization in human mesenchymal stem cells. *Life Sci.* 2009;84(15-16):499-504.
- [22] 樊志刚, 刘芳. TNF- α 预处理脐血间充质干细胞移植心肌梗死大鼠心功能影响[J]. 现代仪器与医疗, 2015(4): 4-7, 18.
- [23] Carlin R, Davis D, Weiss M, et al. Expression of early transcription factors Oct-4, Sox-2 and Nanog by porcine umbilical cord (PUC) matrix cells. *Reprod Biol Endocrinol.* 2006;4:8.
- [24] Williams AR, Hare JM. Mesenchymal stem cells: biology, pathophysiology, translational findings, and therapeutic implications for cardiac disease. *Circ Res.* 2011;109(8):923-940.
- [25] Gneccchi M, Zhang Z, Ni A, et al. Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy. *Circ Res.* 2008;103(11):1204-1219.
- [26] Malliaras K, Zhang Y, Seinfeld J, et al. Cardiomyocyte proliferation and progenitor cell recruitment underlie therapeutic regeneration after myocardial infarction in the adult mouse heart. *EMBO Mol Med.* 2013;5(2): 191-209.
- [27] Xiong Q, Ye L, Zhang P, et al. Functional consequences of human induced pluripotent stem cell therapy: myocardial ATP turnover rate in the in vivo swine heart with postinfarction remodeling. *Circulation.* 2013;127(9):997-1008.
- [28] Li T, Ma Q, Ning M, et al. Cotransplantation of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells and umbilical cord blood-derived CD34⁺ cells in a rabbit model of myocardial infarction. *Mol Cell Biochem.* 2014;387(1-2):91-100.
- [29] Guo J, Lin GS, Bao CY, et al. Anti-inflammation role for mesenchymal stem cells transplantation in myocardial infarction. *Inflammation.* 2007;30(3-4):97-104.
- [30] Egea V, von Baumgarten L, Schichor C, et al. TNF- α respecifies human mesenchymal stem cells to a neural fate and promotes migration toward experimental glioma. *Cell Death Differ.* 2011;18(5):853-863.
- [31] Böcker W, Docheva D, Prall WC, et al. IKK-2 is required for TNF-alpha-induced invasion and proliferation of human mesenchymal stem cells. *J Mol Med (Berl).* 2008;86(10):1183-1192.
- [32] Perng DW, Yang DM, Hsiao YH, et al. miRNA-146a expression positively regulates tumor necrosis factor- α -induced interleukin-8 production in mesenchymal stem cells and differentiated lung epithelial-like cells. *Tissue Eng Part A.* 2012;18(21-22): 2259-2267.
- [33] Du YY, Zhou SH, Zhou T, et al. Immuno-inflammatory regulation effect of mesenchymal stem cell transplantation in a rat model of myocardial infarction. *Cytotherapy.* 2008;10(5):469-478.
- [34] 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.
- [35] Lencel P, Delplace S, Pilet P, et al. Cell-specific effects of TNF- α and IL-1 β on alkaline phosphatase: implication for syndesmophyte formation and vascular calcification. *Lab Invest.* 2011;91(10):1434-1442.