

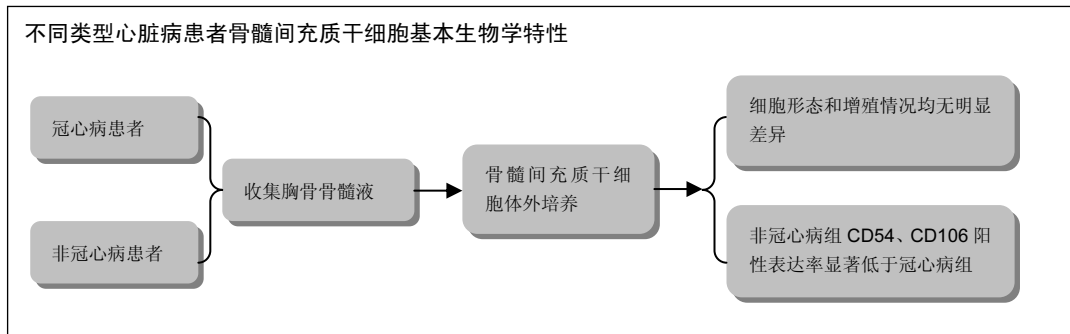
冠心病与非冠心病患者骨髓间充质干细胞基本生物学特性比较

侯永兰(新乡市中心医院心血管内一科, 河南省新乡市 453000)

引用本文: 侯永兰. 冠心病与非冠心病患者骨髓间充质干细胞基本生物学特性比较[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(50): 7481-7486.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.50.005 ORCID: 0000-0002-3496-3388(侯永兰)

文章快速阅读:



侯永兰, 女, 1980 年生, 汉族, 2007 年重庆医科大学毕业, 硕士, 主治医师, 主要从事高血压、冠心病、心力衰竭的药物治疗以及心律失常的介入治疗等。

中图分类号: R394.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344

(2016)50-07481-06

稿件接受: 2016-09-15

文题释义:

黏附分子: 是由细胞产生, 存在于细胞表面, 介导细胞与细胞间或细胞与基质间相互接触和结合的一类分子。CD54, CD106 同属于黏附分子免疫球蛋白家族, 参与了人体生理病理多个环节, 是目前研究的热点。

间充质干细胞的归巢方式: 外源性间充质干细胞在生物体中具有多组织归巢的能力, 其归巢的方式类似于白细胞的主动趋化、黏附及定植, 该方法为主动归巢, 主要向移植体中有炎症及损失的部位趋化、定植。另外还有可能被动的通过微循环中的毛细血管、微动脉及后静脉定植于组织, 这主要与干细胞的大小相关, 较大的间充质干细胞及相对较小的血管管径, 使得细胞流动速度减慢, 细胞与血管的相互作用而导致细胞的被动定植。

摘要

背景: 不同类型心脏病患者机体的差异是否会影响干细胞的特征和表现尚不清楚。

目的: 探讨不同类型心脏病患者骨髓间充质干细胞基本生物学特性。

方法: 纳入 27 例冠心病患者与 20 例非冠心病患者, 收集胸骨髓液采用密度梯度离心法进行骨髓间充质干细胞体外培养, 观察两组细胞的形态, 流式细胞术鉴定 CD13、CD34、CD44、CD45、CD54、CD106 阳性表达率, MTT 法检测细胞生长增殖情况, 描绘两组细胞的生长曲线。

结果与结论: ①两组患者骨髓间充质干细胞均呈现出长梭形纤维状, 形态无明显差异; ②两组患者骨髓间充质干细胞 CD34、CD45 阳性表达率均小于 3.0%, CD13、CD44 阳性率均大于 95.0%。非冠心病组 CD54、CD106 阳性表达率显著低于冠心病组 ($P < 0.05$); ③两组细胞的体外生长曲线基本一致, 非冠心病组的生长速度略快, 但与冠心病组比较差异无显著性意义; ④结果表明, 不同类型心脏病患者的骨髓间充质干细胞形态和增殖情况均无明显差异, 但是与功能相关的某些蛋白表达存在一定的差异。

关键词:

干细胞; 骨髓干细胞; 骨髓间充质干细胞; 心脏病; 冠心病; 细胞增殖; 细胞表面标记

主题词:

骨髓; 间质干细胞; 冠状动脉疾病; 组织工程

Hou Yong-lan, Master,
Attending physician,
Department of Cardiology,
Xinxiang Central Hospital,
Xinxiang 453000, Henan
Province, China

Biological characteristics of bone marrow mesenchymal stem cells in patients with or without coronary heart disease: a comparative study

Hou Yong-lan (Department of Cardiology, Xinxiang Central Hospital, Xinxiang 453000, Henan Province, China)

Abstract

BACKGROUND: It is unclear whether the body differences in patients with different types of heart diseases affect the characteristics and performance of stem cells.

OBJECTIVE: To explore the biological characteristics of bone marrow mesenchymal stem cells from patients with different types of heart diseases.

METHODS: Bone marrow mesenchymal stem cells were extracted using density gradient centrifugation from the bone marrow of 27 patients with coronary heart diseases and 20 patients with other heart diseases. Cell morphology was observed in the two groups. CD13, CD34, CD45, CD54, CD106 and CD44 positive expression was detected by flow cytometry. Cell proliferation was detected by MTT method, and the *in vitro* cell growth curves of the two groups were described.

RESULTS AND CONCLUSION: The bone marrow mesenchymal stem cells of the two groups showed a long spindle shape, and there was no significant difference in the cell morphology between the two groups. In all the patients, the positive rates of CD34 and CD45 were less than 3.0%, while the positive rates of CD13 and CD44 were higher than 95.0%. However, the positive rates of CD54 and CD106 were higher in patients with coronary heart disease as compared with those with other heart diseases ($P < 0.05$). The *in vitro* growth curves of cells in the two groups were basically consistent, and the cell proliferation was only a little higher in the patients with other heart diseases compared with those with coronary heart disease. Experimental results show that different types of heart diseases in patients have no influence on morphology and proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells, but some function-related proteins may exhibit certain difference in their expressions.

Subject headings: Bone Marrow; Mesenchymal Stem Cells; Coronary Disease; Tissue Engineering

Cite this article: Hou YL. Biological characteristics of bone marrow mesenchymal stem cells in patients with or without coronary heart disease: a comparative study. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(50):7481-7486.

0 引言 Introduction

根据症状和起因不同,可将心脏病分为冠心病、风湿性心脏病、先天性心脏病、心肌炎和心肌病等。心肌细胞是终末分化细胞,几乎无增殖能力,心肌细胞的损伤无法通过自身修复,只能通过幸存的心肌细胞肥大来代偿或以纤维瘢痕来代替,使具有收缩功能的心肌细胞数目减少,最终发展为充血性心力衰竭。血管紧张素转化酶抑制剂和肾上腺能受体阻断剂虽可提高充血性心衰患者的存活率,但生存率低。心脏移植虽能取代受损的心脏,但供者来源有限,费用高,且存在严重的免疫排斥反应及伦理问题,临床难以推广。近年来,干细胞移植成为治疗各种心脏疾病的重要手段。间充质干细胞是存在于骨髓、脂肪、脐血、脐带等组织中的一种多潜能干细胞,能够分化成神经细胞、心肌细胞、肝细胞、骨和软骨细胞等多种组织细胞^[1-2]。骨髓间充质干细胞具有来源广泛、取材方便、分化能力强、免疫原性低、可实现自体移植等且不存在伦理学制约等优点,是组织工程研究中的重要种子细胞^[3-5]。有研究将猪的骨髓间充质

干细胞移植至心肌梗死区,能够显著改善心脏的收缩功能^[6]。当前,冠心病已成为威胁人类健康较为严重的疾病之一。冠心病患者大多会合并不同程度的糖代谢和脂代谢紊乱现象^[7]。关于不同类型心脏疾病所存在的机体差异是否会影响移植骨髓间充质干细胞的特征,目前相关的研究和报道较少。为此,探讨不同类型心脏病患者骨髓间充质干细胞的生物学特征,希望为心脏病的治疗提供一定的实验依据。

1 对象和方法 Subjects and methods

1.1 设计 细胞学体外观察。

1.2 时间及地点 于2015年5月至2016年5月在新乡市中心医院完成。

1.3 对象 纳入27例冠心病患者,男17例,女10例,年龄35-78岁,平均年龄(64.30±3.45)岁;病程7个月-12年,平均病程(4.04±2.34)年;合并高脂血症15例,糖尿病10例,心衰8例。20例非冠心病患者,男13例,女7例,年龄37-80岁,平均年龄(65.25±4.11)岁;病程1-8

年, 平均病程(3.85±2.15)年, 其中风湿性瓣膜病12例, 先天性心脏病6例, 老年性瓣膜病2例。所有患者均没有严重的肝肾疾病、风湿性疾病和他汀类药物过敏史等。两组患者的性别、年龄、病程等进行统计学分析, 差异无显著性意义($P > 0.05$), 具有可比性。经过新乡市中心医院伦理委员会讨论, 并且患者或家属签署知情同意后, 采用骨髓穿刺法收集胸骨骨髓。

1.4 试剂和仪器 人淋巴分离液(济南亚康力诺生物工程有限公司); DMEM培养液(上海雅心生物技术有限公司); 胎牛血清(北京寰宇科创生物科技发展有限公司); 胰蛋白酶(上海西宝生物科技有限公司); CD13、CD34、CD44、CD45、CD54、CD106单克隆抗体(上海宝曼生物技术有限公司); MTT液(北京驰明瑞生物技术有限公司); 二甲基亚砜(深圳市百恩维生物技术有限公司); 酶标仪(上海西宝生物科技有限公司); CO₂孵育箱(广州聚能生物技术有限公司)。

1.5 方法

1.5.1 骨髓间充质干细胞分离、培养^[8-9] 采用密度梯度离心法体外培养骨髓间充质干细胞。收集两组患者的胸骨骨髓液约3 mL, 添加等量PBS混合均匀, 然后缓慢加入装有Percoll分离液的离心管中, 2 000 r/min离心20 min, 收集中间的单个核细胞层, PBS洗涤后, 加入含体积分数为10%胎牛血清的DMEM培养液, 置于37℃, 体积分数为5%CO₂饱和湿度培养箱中进行培养。连续培养2 d后进行半量换液, 之后每3 d换液1次, 观察细胞生长情况, 待细胞融合率达到80%以上时用0.25%胰蛋白酶消化, 传代。

1.5.2 骨髓间充质干细胞表面标记鉴定^[10-13] 收集第3代骨髓间充质干细胞, 用0.25%胰蛋白酶消化, 1 200 r/min离心5 min, 制备单细胞悬液, 调整细胞浓度为 $1 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$, 添加CD34、CD44、CD45、CD54、CD106单克隆抗体室温反应20 min, PBS洗涤2次, 与FITC或PE标记的二抗避光反应30 min, 上流式细胞仪检测细胞表型。

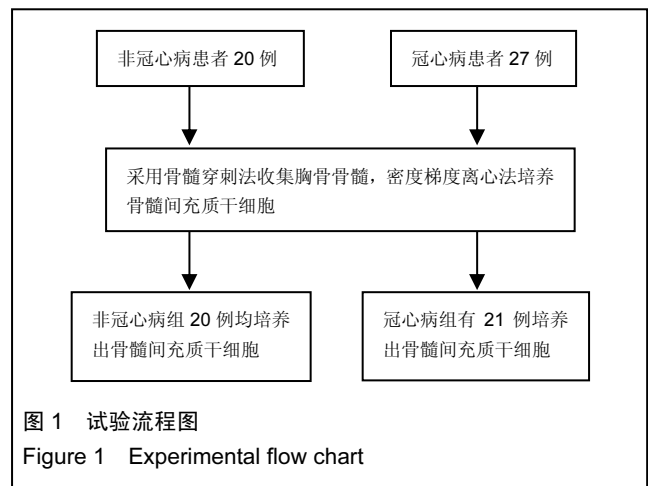
1.5.3 MTT法检测骨髓间充质干细胞体外增殖情况^[14-15] 取第3代骨髓间充质干细胞, 常规消化、离心后, 以 1×10^3 /孔细胞密度接种于96孔培养板, 设5个复孔, 于培养箱中培养24 h后, 每孔添加MTT液(5 g/L) 5 μL, 培养4 h弃掉上清液添加100 μL二甲基亚砜, 振荡溶解10 min后用酶标仪测量每孔490 nm处吸光度(A)值, 连续检测10 d, 以时间为横坐标, 吸光度值为纵坐标绘制细胞生长曲线。

1.6 主要观察指标 两组骨髓间充质干细胞形态、表面标记物阳性表达率、生长增殖情况。

1.7 统计学分析 利用SPSS 18.0软件予以统计学处理, 两组各指标比较采用配对t检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 试验流程图 图1。



2.2 两组患者骨髓间充质干细胞培养结果 原代培养3 d可见部分细胞贴壁生长, 呈圆球形, 培养6-8 d细胞逐渐伸出伪足, 大多数为成纤维样梭形或多边形, 细胞增殖迅速, 随后细胞呈漩涡状或平行状生长, 可见细胞分裂现象, 逐渐铺满培养瓶(图2), 传代培养细胞24 h完全贴壁, 随着传代次数增多, 细胞变大, 形态没有明显变化。冠心病组有6例无法体外培养出骨髓间充质干细胞。

2.3 两组骨髓间充质干细胞表面标记物检测结果 两组骨髓间充质干细胞CD34、CD45阳性表达率均小于3.0%, CD44 阳性率均大于95.0%。非冠心病组CD54、CD106阳性表达率显著低于冠心病组($P < 0.05$), 见表1, 图3, 4。

表1 两组患者骨髓间充质干细胞表面标记物检测结果比较 ($\bar{x} \pm s$, %)

Table 1 Comparison of surface markers of bone marrow mesenchymal stem cells in two groups

| 指标 | 冠心病组 | 非冠心病组 |
|-------|------------|-------------------------|
| CD34 | 2.10±0.23 | 1.98±0.25 |
| CD44 | 99.50±5.13 | 98.10±5.89 |
| CD45 | 2.08±0.31 | 2.02±0.25 |
| CD54 | 42.51±3.15 | 18.25±1.02 ^a |
| CD106 | 65.23±4.15 | 40.29±3.88 ^a |

表注: 与冠心病组比较, ^a $P < 0.05$ 。

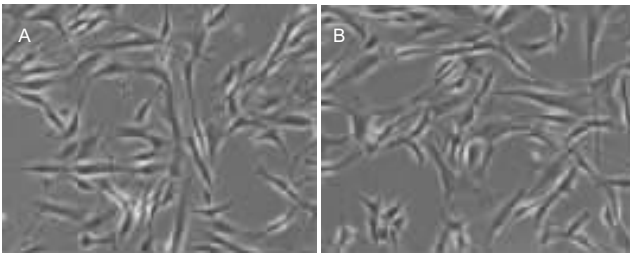


图2 两组患者骨髓间充质干细胞形态($\times 200$)

Figure 2 Morphology of bone marrow mesenchymal stem cells in two groups ($\times 200$)

图注: 图中 A 为冠心病组, B 为非冠心病组。连续培养 7 d, 两组细胞形态逐渐呈长梭形纤维状。

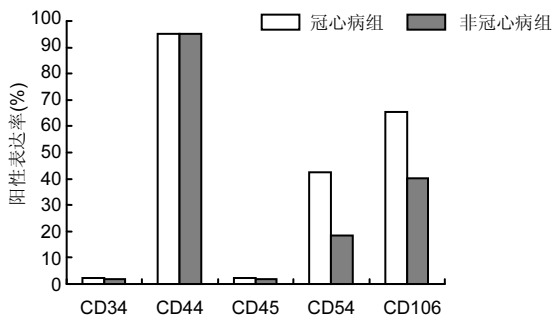


图4 两组患者骨髓间充质干细胞表面标记物检测结果

Figure 4 Surface markers of bone marrow mesenchymal stem cells in two groups

图注: 非冠心病组的 CD54、CD106 阳性表达率显著低于冠心病组 ($P < 0.05$)。

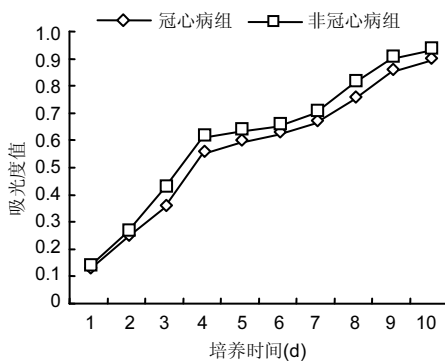


图5 两组患者骨髓间充质干细胞体外生长曲线

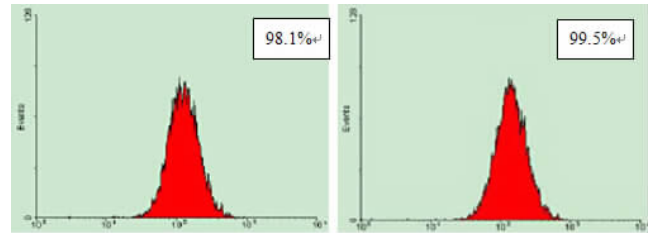
Figure 5 *In vitro* growth curves of bone marrow mesenchymal stem cells in two groups

图注: 两组细胞的体外生长曲线形态基本一致。

2.4 两组患者骨髓间充质干细胞增殖情况 MTT 法检测非冠心病组的吸光度值均高于冠心病组, 但经统计学比较差异无显著性意义 ($P > 0.05$), 见表 2。两组细胞的体外生长曲线趋势基本一致, 见图 5。

3 讨论 Discussion

随着干细胞移植技术的不断发展, 骨髓间充质干细胞移植成为治疗各种心脏疾病的重要手段^[16]。移植



非冠心病组

冠心病组

图3 流式细胞仪检测两组骨髓间充质干细胞 CD44 表达

Figure 3 The expression of CD44 in two groups detected by flow cytometry

表 2 两组患者骨髓间充质干细胞吸光度值 ($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Absorbance values of bone marrow mesenchymal stem cells in two groups by MTT method

| 时间 | 冠心病组 | 非冠心病组 |
|------|-------------------|-------------------|
| 1 d | 0.125 \pm 0.012 | 0.135 \pm 0.013 |
| 2 d | 0.245 \pm 0.011 | 0.263 \pm 0.012 |
| 3 d | 0.358 \pm 0.021 | 0.424 \pm 0.018 |
| 4 d | 0.551 \pm 0.013 | 0.612 \pm 0.014 |
| 5 d | 0.591 \pm 0.015 | 0.632 \pm 0.015 |
| 6 d | 0.622 \pm 0.012 | 0.652 \pm 0.014 |
| 7 d | 0.663 \pm 0.014 | 0.712 \pm 0.016 |
| 8 d | 0.756 \pm 0.013 | 0.815 \pm 0.015 |
| 9 d | 0.856 \pm 0.012 | 0.913 \pm 0.020 |
| 10 d | 0.891 \pm 0.015 | 0.932 \pm 0.021 |

的骨髓间充质干细胞可以在一定条件下分化为心肌细胞, 并分泌各种生长因子等, 达到修复损伤, 治疗疾病的目的^[17-20]。以往有学者指出, 骨髓干细胞移植到心肌梗死动物体内, 可以在局部分化为心肌细胞, 相应的心肌细胞具有正常的生理功能, 进而修复坏死心肌, 改善受损心脏功能^[21]。

心脏疾病与全身状态改变的关系可以大体分为 2 种类型, 一种是由于全身系统疾病导致的以心脏为突出表现的心脏病, 例如冠心病; 另一种是由原发于心脏异常引起的全身继发性改变^[22-25]。骨髓间充质干细胞具有来源广泛、取材方便、分化能力强、免疫原性低、可实现自体移植且不存在伦理学制约等优点, 是组织工程研究中的重要种子细胞^[26-29]。试验选择冠心病与非冠心病患者的骨髓进行体外培养, 两组患者的骨髓间充质干细胞均呈现出长梭形纤维状, 形态无明显差异。两组细胞的体外生长曲线基本一致, 非冠心病组的增长速度略快, 但与冠心病组比较差异无显著性意义。上述结果表明, 两组细胞的体外培养形态和生长情况基本一致。以往其他一些学者的研究结果也显示^[30], 冠心病与其他非冠心病心脏病患者骨髓间充质干细胞的生长曲线无明显差

别,且细胞的首次传代时间基本一致。

利用流式细胞仪检测两组细胞的不同表面分子标记物。目前,公认的干细胞表达抗原为 CD13 和 CD44,造血干细胞的特异性抗原为 CD34 和 CD45,在间充质干细胞均无表达^[31-32]。研究结果显示,两组患者的骨髓间充质干细胞 CD34、CD45 阳性表达率均小于 3.0%,CD13、CD44 阳性率均大于 95.0%。结果表明,两组细胞均为实验所需间充质干细胞而非造血干细胞,提示从不同类型心脏病患者胸骨骨髓液中均可以培养出间充质干细胞。研究结果还显示,非冠心病组骨髓间充质干细胞 CD54、CD106 阳性表达率低于冠心病组($P < 0.05$)。CD54 属于细胞间黏附分子,其表达的变化和细胞的黏附功能之间存在一定的关系。CD106 属于血管黏附分子,可以对细胞与细胞、细胞与胞外基质间相互接触和结合产生重要的介导作用。CD106 可以在骨髓间充质干细胞以及血管内皮细胞上表达,相关表达量与骨髓间充质干细胞归巢到心肌组织存在十分密切的联系^[33-34]。非冠心病组 CD54、CD106 阳性表达率显著低于冠心病组,表明机体内环境会对细胞的一些功能产生影响。对于冠心病患者而言,存在十分明显的代谢紊乱现象。因此,在相应的内环境条件下,干细胞可能更容易发生黏附,并与局部组织以及血管发生作用,或许能促进干细胞归巢与生存等^[35-36]。

综上所述,冠心病与其他类型心脏病患者的骨髓间充质干细胞形态和增殖能力无明显差异,但是与功能相关的某些蛋白表达存在一定的差异。

作者贡献: 实验设计、实施、评估为侯永兰。

利益冲突: 所有作者共同认可文章内容不涉及相关利益冲突。

伦理问题: 试验方案经新乡市中心医院医学伦理部门批准,试验方案已经患者/家属知情同意。

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: 侯永兰对于研究和撰写的论文中出现的不良行为承担责任。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] Gentry T, Foster S, Winstead L, et al. Simultaneous isolation of human BM hematopoietic, endothelial and mesenchymal progenitor cells by flow sorting based on aldehyde dehydrogenase activity: implications for cell therapy. *Cytotherapy*. 2007;9(3):259-274.
- [2] 姚青,宋治远,马显光,等.脉冲微交流电刺激促进体外诱导大鼠骨髓间充质干细胞向心肌分化[J].第三军医大学学报,2008,30(5):410-413.
- [3] 何林静,邓伏雪,胡云凤,等.多层面验证共培养微环境诱导法诱导骨髓间充质干细胞心肌样分化[J].色谱,2016,34(4):414-421.
- [4] 潘啸东,李拥军,马根山,等.骨髓间充质干细胞移植治疗缺血性心脏病的研究进展[J].医学综述,2009,15(24):3714-3717.
- [5] Mathiasen AB, Jørgensen E, Qayyum AA, et al. Rationale and design of the first randomized, double-blind, placebo-controlled trial of intramyocardial injection of autologous bone-marrow derived Mesenchymal Stromal Cells in chronic ischemic Heart Failure (MSC-HF Trial). *Am Heart J*. 2012;164(3):285-291.
- [6] Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*. 2001;410(6829):701-705.
- [7] 盛小刚,冯建章,吴书林,等.骨髓间充质干细胞的肌源性诱导分化及转染VEGF基因的表达[J].第一军医大学学报,2004,24(3):290-294.
- [8] 张静,魏峰,王亭忠,等.体内心肌缺血微环境下大鼠骨髓间充质干细胞钾离子通道的表达[J].西安交通大学学报:医学版,2013,34(3):287-290,312.
- [9] 张秋艳,熊艳,叶启发,等.骨髓间充质干细胞修复肝脏缺血-再灌注损伤研究进展[J].中华实验外科杂志,2016,33(3):871-874.
- [10] 马莎.骨髓间充质干细胞治疗缺血性心脏病的研究进展[J].医学综述,2012,18(16):2557-2559.
- [11] Mathiasen AB, Haack-Sørensen M, Jørgensen E, et al. Autotransplantation of mesenchymal stromal cells from bone-marrow to heart in patients with severe stable coronary artery disease and refractory angina--final 3-year follow-up. *Int J Cardiol*. 2013;170(2):246-251.
- [12] Mathiasen AB, Haack-Sørensen M, Jørgensen E, et al. Autotransplantation of mesenchymal stromal cells from bone-marrow to heart in patients with severe stable coronary artery disease and refractory angina--final 3-year follow-up. *Int J Cardiol*. 2013;170(2):246-251.
- [13] 姚艳,杜昕,马长生,等.骨髓间充质干细胞治疗缺血性心脏病的机制和应用[J].心肺血管病杂志,2014,33(3):460-463.
- [14] 郑晨曦,隋秉东,胡成虎,等.维生素C增强衰老个体来源的骨髓间充质干细胞的增殖能力[J].南方医科大学学报,2015,35(12):1689-1693.

- [15] 杨进福,周文武,唐滔,等.血管内皮生长因子转染骨髓间充质干细胞心肌移植对心肌梗死后大鼠心功能及血管新生的作用[J].中华医学杂志,2006,86(15):1027-1034.
- [16] 李林岭.骨髓间充质干细胞在缺血性心脏病中的作用机制及其应用[J].国际病理科学与临床杂志,2011,31(2):181-184.
- [17] Yang YJ, Qian HY, Huang J, et al. Combined therapy with simvastatin and bone marrow-derived mesenchymal stem cells increases benefits in infarcted swine hearts. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29(12):2076-2082.
- [18] 舒琚,周欣,任宁,等.骨髓间充质干细胞和苯妥英钠中介的旁分泌机制在心肌梗死后组织修复中的作用[C].天津:2007第三届海河之滨全国心脏病学进展学术会议,2007:83-84.
- [19] Zhu H, Song X, Jin LJ, et al. Comparison of intra-coronary cell transplantation after myocardial infarction: Autologous skeletal myoblasts versus bone marrow mesenchymal stem cells. *J Int Med Res.* 2009;37(2):298-307.
- [20] 张志辉,程军,宋治远,等.兔骨髓间充质干细胞mHNC4基因修饰后异体心外膜下移植区细胞形态学动态演变[J].中国心脏起搏与心电生理杂志,2009,23(6):524-527.
- [21] 孙玉河.骨髓间充质干细胞向心肌样细胞分化的研究进展[J].实用医学杂志,2011,27(19):3612-3613.
- [22] 江志羔,黄裕立,麦炜颐,等.Wnt信号系统对骨髓间充质干细胞向心肌细胞分化的作用[J].国际内科学杂志,2009,36(11):628-631,642.
- [23] Behfar A, Yamada S, Crespo-Diaz R, et al. Guided cardiopoiesis enhances therapeutic benefit of bone marrow human mesenchymal stem cells in chronic myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2010;56(9):721-734.
- [24] 侯炳波,王挹青.骨髓间充质干细胞通过旁分泌作用治疗心肌缺血研究进展[J].中国分子心脏病学杂志,2007,7(2):117-120.
- [25] 尹戴佳佳,农耀明,宋治远,等.大鼠骨髓间充质干细胞体外诱导分化的心肌样细胞内Ca²⁺和CaMK II的变化[J].第三军医大学学报,2006,28(9):926-928.
- [26] Friis T, Haack-Sørensen M, Hansen SK, et al. Comparison of mesenchymal stromal cells from young healthy donors and patients with severe chronic coronary artery disease. *Scand J Clin Lab Invest.* 2011;71(3):193-202.
- [27] Xu H, Yang YJ, Qian HY, et al. Rosuvastatin treatment activates JAK-STAT pathway and increases efficacy of allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in infarcted hearts. *Circ J.* 2011;75(6):1476-1485.
- [28] 陈惠刚.PFT- α 联合BMP-2诱导大鼠骨髓间充质干细胞分化为心肌样细胞的研究[D].石家庄:河北医科大学,2015.
- [29] 关海旺.骨髓间充质干细胞移植治疗冠心病的研究进展[J].医学综述,2012,18(2):168-171.
- [30] 周芳,张馥敏,杨志健,等.自体骨髓间充质干细胞和单个核细胞移植治疗冠心病的临床研究[J].中国介入心脏病学杂志,2004,12(5):270-273.
- [31] Stillwell EE, Wessler JD, Rebolledo BJ, et al. Retrospective outcome data for hematopoietic stem cell transplantation in patients with concurrent coronary artery disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011;17(8):1182-1186.
- [32] 杨陆蒙.大鼠骨髓间充质干细胞培养方法的比较及细胞鉴定[D].乌鲁木齐:新疆医科大学,2012.
- [33] Nartprayut K, U-Pratya Y, Kheolamai P, et al. Cardiomyocyte differentiation of perinatally-derived mesenchymal stem cells. *Mol Med Rep.* 2013;7(5):1465-1469.
- [34] Karantalis V, DiFede DL, Gerstenblith G, et al. Autologous mesenchymal stem cells produce concordant improvements in regional function, tissue perfusion, and fibrotic burden when administered to patients undergoing coronary artery bypass grafting: The Prospective Randomized Study of Mesenchymal Stem Cell Therapy in Patients Undergoing Cardiac Surgery (PROMETHEUS) trial. *Circ Res.* 2014;114(8):1302-1310.
- [35] 刘宇,刘涛,薛晓东,等.糖尿病与非糖尿病冠心病患者骨髓间充质干细胞治疗大鼠急性心肌梗死的比较[J].中华胸心血管外科杂志,2014,30(2):86-89.
- [36] 雷蓉,罗勇.骨髓间充质干细胞移植入心脏后存活率的研究进展[J].中华临床医师杂志:电子版,2013,(14):6605-6607.