

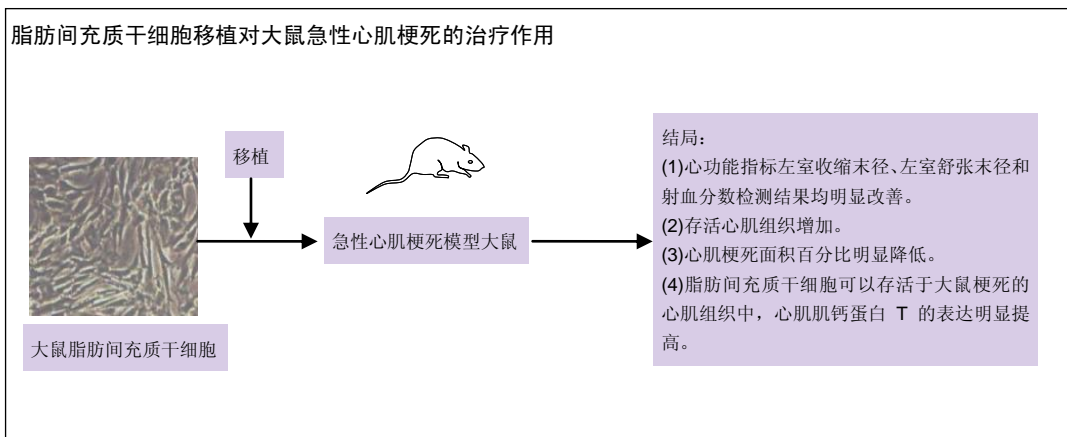
# 脂肪间充质干细胞移植急性心肌梗死区域对心肌组织的保护作用

王立忠<sup>1</sup>, 李燕<sup>2</sup>, 穆怀彬<sup>2</sup>, 黄琨<sup>2</sup>, 高峻<sup>2</sup>(河北医科大学附属唐山工人医院, <sup>1</sup>老年病一科, <sup>2</sup>心血管内科, 河北省唐山市063000)

引用本文: 王立忠, 李燕, 穆怀彬, 黄琨, 高峻. 脂肪间充质干细胞移植急性心肌梗死区域对心肌组织的保护作用[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(6):827-833.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.06.010 ORCID: 0000-0003-1396-7184(王立忠)

文章快速阅读:



王立忠, 1964年生, 男, 1999年河北医科大学毕业, 硕士, 河北省唐山市人, 汉族, 主任医师。

通讯作者: 王立忠, 河北医科大学附属唐山工人医院老年病一科, 河北省唐山市 063000

中图分类号: R394.2

文献标识码: B

文章编号: 2095-4344

(2016)06-00827-07

稿件接受: 2015-12-27

<http://www.crter.org>

文题释义:

**脂肪间充质干细胞:** 是脂肪组织中一类多能性干细胞。由于脂肪组织来源广泛、取材容易、不涉及伦理问题、便于自体移植, 日益受到研究者的重视。脂肪间充质干细胞已成功地在体内条件下, 将其诱导分化成为脂肪、骨、软骨、肌肉等组织类型细胞。

**心肌梗死:** 是冠状动脉闭塞、血流中断、使部分心肌因严重的持久性缺血而发生局部坏死。临床上有剧烈而较持久的胸骨后疼痛、发热、白细胞增多、红细胞沉降率加快, 血清心肌酶活力增高及进行性心电图变化, 可发生心律失常、休克或心力衰竭。

摘要

**背景:** 脂肪间充质干细胞来源丰富, 取材方便, 其移植可治疗急性心肌梗死。

**目的:** 探讨脂肪间充质干细胞移植对急性心肌梗死大鼠心肌组织的保护作用。

**方法:** 实验建立急性心肌梗死模型大鼠, 并移植脂肪间充质干细胞, 设置模型组和对照组进行对比。

**结果与结论:** (1) 超声心动图: 与模型组相比, 细胞移植组大鼠心功能指标左室收缩末径、左室舒张末径和射血分数检测结果均明显改善 ( $P < 0.05$ )。 (2) 苏木精-伊红染色: 模型组大鼠的心肌梗死区明显, 几乎无存活的心肌组织, 且梗死区的血管较少; 与模型组大鼠比, 细胞移植组可明显出现部分存活心肌组织和移植后的脂肪间充质干细胞。 (3) 心肌梗死面积: 细胞移植组心肌梗死面积百分比明显低于模型组 ( $P < 0.05$ )。 (4) 心肌组织免疫组织化学染色显微检测: 脂肪间充质干细胞可以存活于大鼠梗死的心肌组织中, 与模型组相比, 细胞移植组心肌特异性蛋白-心肌肌钙蛋白 T 的表达明显提高 ( $P < 0.05$ )。 (5) 结果证实: 脂肪间充质干细胞移植对梗死的心肌组织有保护作用, 可有效改善心功能。

**关键词:**

干细胞; 移植; 心肌梗死; 动物模型; 脂肪间充质干细胞; 急性心肌梗死; 大鼠; 心肌组织; 干细胞移植; 左室收缩末径; 左室舒张末径; 射血分数; 蛋白表达; 组织工程

**主题词:**

组织工程; 干细胞; 模型, 动物

**基金资助:**

唐山科技局 2011 年度的科学技术指导计划项目(111302100a)

Wang Li-zhong, Master,  
Chief physician,  
Department of Geriatrics,  
Tangshan Worker's  
Hospital of Hebei Medical  
University, Tangshan  
063000, Hebei Province,  
China

Corresponding author:  
Wang Li-zhong,  
Department of Geriatrics,  
Tangshan Worker's  
Hospital of Hebei Medical  
University, Tangshan  
063000, Hebei Province,  
China

## Adipose-derived mesenchymal stem cell transplantation protects the myocardial tissues from acute myocardial infarction

Wang Li-zhong<sup>1</sup>, Li Yan<sup>2</sup>, Mu Huai-bin<sup>2</sup>, Huang Kun<sup>2</sup>, Gao Jun<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Department of Geriatrics, <sup>2</sup>Department of Cardiovascular Medicine, Tangshan Worker's Hospital of Hebei Medical University, Tangshan 063000, Hebei Province, China)

### Abstract

**BACKGROUND:** Adipose-derived mesenchymal stem cells have rich sources that are easily obtained, which can be used to treat acute myocardial infarction.

**OBJECTIVE:** To investigate the therapeutic effect of adipose-derived mesenchymal stem cell transplantation on acute myocardial infarction in rats.

**METHODS:** Rat models of acute myocardial infarction were made and subjected to adipose-derived mesenchymal stem cell transplantation in comparison with model and control (sham operation) groups.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Echocardiography findings showed significant improvement in the left ventricular end-systolic diameter, left ventricular end-diastolic diameter and ejection fraction in the cell transplantation group compared with the model group ( $P < 0.05$ ). Hematoxylin-eosin staining showed that myocardial infarction was evident in the model group, in which, there were rarely viable myocardial tissues and few vessels in the infarcted region, but in the cell transplantation group, there were evident survived myocardial tissues and transplanted cells. The percentage of infarct size was significantly lower in the cell transplantation group than the model group ( $P < 0.05$ ). Immunohistochemical staining showed that adipose-derived mesenchymal stem cells were able to survive in the infarcted myocardial tissues, and the expression of cardiac troponin T in the cell transplantation group was significantly higher than that in the model group ( $P < 0.05$ ). Experimental data show that adipose-derived mesenchymal stem cell transplantation can protect the myocardial tissues after myocardial infarction, and effectively improve the myocardial function.

**Subject headings:** Tissue Engineering; Stem Cells; Models, Animal

**Funding:** the Scientific Guiding Project of Tangshan Science and Technology Department in 2011, No. 111302100a

**Cite this article:** Wang LZ, Li Y, Mu HB, Huang K, Gao J. Adipose-derived mesenchymal stem cell transplantation protects the myocardial tissues from acute myocardial infarction. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(6):827-833.

## 0 引言 Introduction

急性心肌梗死是冠状动脉急性、持续性缺血缺氧所引起的心肌坏死,是心血管疾病中死亡率高的疾病之一。此病病情发展迅速、临床死亡率高,并且常伴有多种并发症<sup>[1-2]</sup>,成为当今社会严重威胁人类健康的主要疾病之一。临床上对心肌梗死患者的治疗方法主要有溶栓药物治疗、冠状动脉旁路移植手术及介入治疗等<sup>[3-10]</sup>,虽然可以恢复部分梗死区域的供血功能,但不能使梗死的心肌细胞恢复,最终常导致心力衰竭,严重影响患者的生命健康,治疗效果并不如意。

近年来研究发现,心肌梗死的干细胞疗法为其提供了希望,胚胎干细胞、造血干细胞等已经被证实具有心肌细胞分化的潜能。脂肪间充质干细胞具有可增殖、多向分化的能力,且可以自我更新,在特定条件下可分化为心肌细胞,对受损的心肌组织具有一定的修复功能。脂肪间充质干细胞由于其独特的特性:多向分化、自我更新等,成为目前科学研究中最具潜力和价值的移植细

胞。因此,于心肌梗死区进行干细胞移植,使其存活并定向分化为心肌细胞,进一步改善和恢复心脏功能,是科研人员为心肌梗死患者治疗开辟了一条新的途径研究方向。以往多数研究关注于移植干细胞机体的炎症反应,但是并未对其心肌功能形态改变进行实验。

实验以此观察脂肪间充质干细胞移植对急性心肌梗死SD大鼠的心肌梗死区域组织的影响。

## 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 于2014年2月至2015年7月在河北医科大学附属唐山工人医院实验室完成。

1.3 材料 健康七八周龄SPF雄性SD大鼠35只,体重(230±20)g,购自于河北省实验动物中心,在温度(25±2)℃、湿度(50±5)%条件下适应性喂养1周。其中5只SD大鼠,同样由上海交能大学医学院实验动物中心提供,用于提取肠系膜脂肪组织,进行脂肪间充质干细

胞的分离及培养。实验对SD大鼠的处置均符合2006年中华人民共和国科学技术部颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》标准<sup>[11]</sup>。

#### 1.4 实验方法

**1.4.1 急性心肌梗死模型大鼠的构建** 先给予SD大鼠以1.5 mL/kg腹腔注射体积分数2%戊巴比妥钠(Sigma公司)进行麻醉,再给予大鼠50 mg/kg氯胺酮腹腔注射,然后将SD大鼠固定于手术操作台面上。操作区域消毒,清洁大鼠颈部和胸部的毛,用体积分数2%碘伏溶液局部消毒,无菌操作。把大鼠颈部气管切开,插管,连接呼吸机,以呼吸频率60次/min,潮气量5 mL/min,吸呼比1:3给大鼠进行机械通气,辅助大鼠机械正压通气。连接心电图,记录SD大鼠的心电图。于大鼠肋间横切开胸,剪断上缘骨,刺破胸膜,剪开心包膜,使大鼠心脏充分露出,用拉钩固定住。对照Olivette的操作方法<sup>[12]</sup>,在左冠状动脉根部下方约2 mm处,穿过左前降支深部,以6-0无损伤线结扎左前降支近端和小束心肌。观察心电图动态变化,当心电图上表现出心肌梗死波,且出现室性心律失常,同时结扎区左心室前壁心肌颜色变白,局部心肌活动减弱,才能确定实验所用SD大鼠急性心肌梗死模型制备成功。确认无出血及清除残余血液后,排出胸腔气体,逐层缝合肌肉及皮肤。当SD大鼠苏醒,且可以完全自主呼吸平衡后,停止机械辅助呼吸,缝合颈部皮肤,伤口消毒。然后把大鼠放回鼠笼中喂养。术后3 d,给予大鼠连续为以每日 $20 \times 10^4$  U的青霉素钠。

**1.4.2 脂肪间充质干细胞的分离和培养** 取SD大鼠5只,腹腔注射氯胺酮,无菌条件从大鼠腹部取脂肪组织,用含青链霉素的PBS冲洗,剪碎,置于离心EP管中,加入体积分数0.08%胰酶溶液5 mL消化10 min,反复消化3次,吸出含有单个核细胞的胰酶溶液,100目滤网过滤,以3 000 r/min离心10 min,磷酸盐缓冲液润洗2遍,再离心收集细胞。加入体积分数10%胎牛血清的培养液使细胞悬浮,移入培养瓶中,于37 °C、95%湿度及体积分数5%CO<sub>2</sub>的培养箱(BPH-9042 CO<sub>2</sub>恒温细胞培养箱,上海一恒)中孵育。用倒置显微镜密切注意观察细胞的生长状态,约每2 d根据实验情况进行换液。实验移植用细胞为第3代脂肪间充质干细胞。

**1.4.3 脂肪间充质干细胞的鉴定及BrdU标记** 加入5 mL体积分数0.08%的胰酶对第3代脂肪间充质干细胞进行消化,再用磷酸盐缓冲液润湿洗涤4次后以备细胞计数,加入培养基制成脂肪间充质干细胞悬液,样本的细胞浓度约为 $2 \times 10^9$  L<sup>-1</sup>,分别加入CD117-FITC,

CD44-PE, CD29PE, CD45-FITC单克隆抗体标记(Sigma公司)的单克隆抗体,避光于37 °C培养箱中培养60 min,用磷酸盐缓冲液洗涤5次,采用流式细胞仪(BD FACSCalibur流式细胞仪,美国)进行检测。

取第3代的脂肪间充质干细胞,在其培养基中加入20 μL的BrdU溶液(Sigma公司),最终浓度约5 mg/L,遮光于37 °C培养箱中培养30 h,弃去上清液,磷酸盐缓冲液润洗后加入培养基(含血清)继续于37 °C培养箱中培养。脂肪间充质干细胞移植前,第3代标有BrdU的脂肪间充质干细胞进行细胞免疫化学荧光染色,然后置于荧光显微镜下观察脂肪间充质干细胞BrdU的标记情况。

**1.4.4 实验分组及脂肪间充质干细胞移植** 将SD大鼠30只随机分为3组,每组10只。对照组:大鼠进行开胸手术,但不结扎左前降支近端和小束心肌;模型组:大鼠开胸结扎左前降支近端和小束心肌形成急性心肌梗死1 h后,心肌梗死部位注射0.3 mL培养基;细胞移植组:大鼠开胸结扎左前降支近端和小束心肌形成急性心肌梗死1 h后,在心肌梗死周边3个点分别注射移植脂肪间充质干细胞悬液,每个点约含有细胞数 $1 \times 10^6$ 个,随后每日给予大鼠肌肉注射青霉素钠 $10^5$  U,持续1周。

**1.4.5 超声心动图功能测定** 利用超声诊断仪,同一实验检测人员,对SD大鼠分别于造模前、造模1周及造模5周进行超声心动图检查,以达到实验研究所用大鼠模型的科学合理。同时记录急性心肌梗死SD大鼠脂肪间充质干细胞移植前的心动图。急性心肌梗死大鼠的选择标准:一是左室射血分数不大于75%;二是SD大鼠的前壁室壁运动收缩功能显著性异常<sup>[3]</sup>,只有同时符合两点指标才可进入实验。

**1.4.6 苏木精-伊红染色观察梗死情况及TTC染色计算梗死面积** 各组SD大鼠在超声心动图检测心功能结束后,处死大鼠,开胸分离出心脏,观察心脏整体形态及颜色的改变。把分离的心脏组织标本放入中性甲醛中固定,包埋,切片,苏木精-伊红染色,在显微镜下观察苏木精-伊红染色的组织片,观察各组SD大鼠心肌组织的梗死情况。另外进行TTC染色,计算梗死面积所占百分比,计算公式如下:

$$\text{梗死面积百分比(\%)} = \frac{\text{梗死面积}}{\text{横切片总面积}} \times 100\%$$

**1.4.7 移植细胞存活及分化检测** 为证明脂肪间充质干细胞移植移植成功,进行移植前脂肪间充质干细胞用BrdU标记;取心肌组织制作连续冰冻切片,顺序加入一

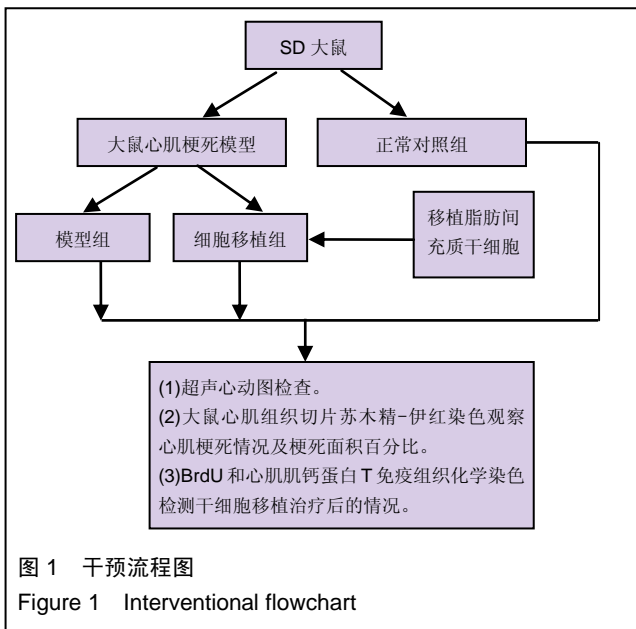
抗(1 : 1 000, Abcam公司)孵育过夜和二抗(1 : 5 000, Abcam公司)孵育2 h, 以非特异血清代替一抗作为阴性对照, 室温下孵育2 h, PBS洗片、封固。光学显微镜观察, 5-BrdU、心肌肌钙蛋白T(CardiactroponinT, cTnT)标记的对脂肪间充质干细胞的生长和分化进行检测, 免疫组织化学法对心肌组织进行检测, 在显微镜下观察脂肪间充质干细胞在心肌组织内的分布及分化。

1.5 主要观察指标 脂肪间充质干细胞的鉴定及BrdU标记, 超声心动图功能, 苏木精-伊红染色观察梗死情况, TTC染色计算梗死面积, 移植细胞存活及分化检测。

1.6 统计学分析 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 实验数据符合正态分布, 采用SPSS 17.0统计学软件进行统计学分析, 组间数据差异的比较采用单因素方差分析和LSD检验,  $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

## 2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 实验研究用SD大鼠35只, 其中5只SD大鼠, 用于提取肠系膜脂肪组织, 进行脂肪间充质干细胞的分离及培养, 然后对照组10只, 模型组10只, 细胞移植组10只, 全部进入结果分析。干预流程图见图1。



2.2 脂肪间充质干细胞细胞形态学特征和细胞表面鉴定结果 第3代细胞贴壁后开始正常分裂增殖, 呈现出梭形, 细胞汇合成单层, 排列出一定的方向性(图2)。细胞经流式细胞仪鉴定均可有效表达CD117-FITC, CD44-PE, CD29PE和CD45-FITC标记物。

2.3 各组SD大鼠心电图检测结果 造模手术前, 各组

SD大鼠心电图显示未出现异常; 造模后模型组及细胞移植组SD大鼠均表现为肢体导联显示出ST波段抬高波型。

2.4 各组SD大鼠左室收缩末径左室舒张末径和射血分数检测结果 超声心动图数据分析显示, 由表1可见, 各组超声心动图射血分数数据分析: 与对照组相比, 造模后模型组及细胞移植组射血分数值均明显低于对照组( $P < 0.05$ )。脂肪间充质干细胞移植治疗后, 细胞移植组射血分数值明显高于模型组和移植前( $P < 0.05$ )。由表2, 3可见, 与对照组大鼠比, 手术造模后, 模型组及细胞移植组左室收缩末径和左室舒张末径值均明显高于对照组( $P < 0.05$ )。脂肪间充质干细胞移植治疗后, 细胞移植组左室收缩末径和左室舒张末径值明显低于模型组( $P < 0.05$ ), 而细胞移植组移植后与造模后移植前相比, 移植治疗后左室收缩末径和左室舒张末径值明显低于造模后移植前( $P < 0.05$ )。

表1 各组SD大鼠建模前后超声心动图射血分数变化 ( $\bar{x} \pm s, n=10, \%$ )

Table 1 Changes in ejection fraction of Sprague-Dawley rats before and after modeling

组别	造模前	造模后移植前	移植后
对照组	89.11±5.23	88.34±6.85	89.02±3.45
模型组	88.75±6.01	69.23±4.79 <sup>a</sup>	70.09±4.61 <sup>a</sup>
细胞移植组	89.24±3.70	69.67±3.44 <sup>a</sup>	85.47±5.83 <sup>b</sup>

表注: 与对照组对比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组对比, <sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

表2 各组SD大鼠建模前后超声心动图左室收缩末径数据 ( $\bar{x} \pm s, n=10, \text{cm}$ )

Table 2 Changes in left ventricular end-systolic diameter of Sprague-Dawley rats before and after modeling

组别	造模前	造模后移植前	移植后
对照组	0.51±0.03	0.52±0.04	0.53±0.04
模型组	0.50±0.07	0.69±0.04 <sup>a</sup>	0.72±0.07 <sup>a</sup>
细胞移植组	0.51±0.02	0.68±0.06 <sup>a</sup>	0.58±0.03 <sup>b</sup>

表注: 与对照组对比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组对比, <sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

表3 各组SD大鼠建模前后超声心动图左室舒张末径值数据 ( $\bar{x} \pm s, n=10, \text{cm}$ )

Table 3 Changes in left ventricular end-diastolic diameter of Sprague-Dawley rats before and after modeling

组别	造模前	造模后移植前	移植后
对照组	0.18±0.01	0.19±0.02	0.19±0.03
模型组	0.17±0.02	0.41±0.02 <sup>a</sup>	0.41±0.02 <sup>a</sup>
细胞移植组	0.18±0.01	0.42±0.01 <sup>a</sup>	0.20±0.03 <sup>b</sup>

表注: 与对照组对比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组对比, <sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

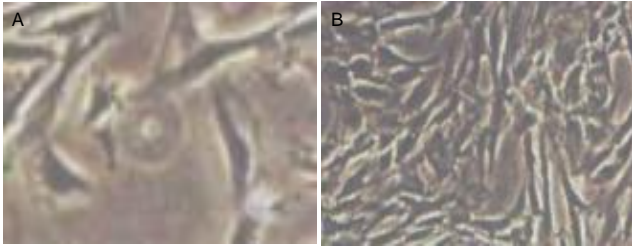


图2 培养的脂肪间充质干细胞形态  
Figure 2 Morphology of cultured adipose-derived mesenchymal stem cells

图注: 图A为原代脂肪间充质干细胞培养24h, 细胞成圆形, 正常贴壁, 可见有胞浆空场(x400); B为第3代细胞贴壁后开始正常分裂增殖, 呈现出梭形, 细胞汇合成单层, 排列出一定的方向性(x200)。

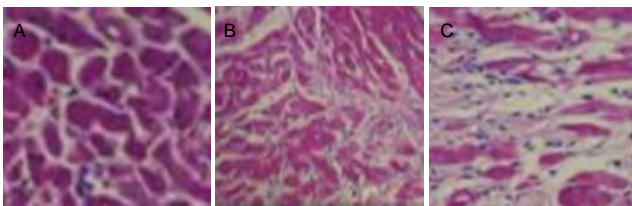


图3 各组大鼠心肌组织变化(苏木精-伊红染色, x200)  
Figure 3 Pathological changes of the rat myocardial tissues (hematoxylin-eosin staining, x200)

图注: 图中A为对照组, B为模型组, C为细胞移植组。模型组大鼠的心肌梗死区明显, 表现出几乎无存活的心肌, 且梗死区的血管较少; 脂肪间充质干细胞移植的细胞移植组SD大鼠的心肌梗死区不明显, 与模型组大鼠比, 心肌细胞有很大的改善, 可明显看到部分心肌组织和细胞。

**2.5 心肌梗死情况和梗死面积百分比** 苏木精-伊红染色显示, 对照组SD大鼠心肌的肌纤维排列整齐、成束状有一定的规则, 肌束间有直径大小不同的血管, 细胞核位于细胞的中央, 形状为卵圆形, 胞浆丰富。模型组急性心肌梗死后SD大鼠肌纤维排列紊乱、不规则, 部分可见多灶性的纤维化, 胞浆颜色明显减少, 细胞坏死, 肌细胞核消失。而细胞移植组脂肪间充质干细胞移植治疗后的SD大鼠心肌中位于小血管周围的细胞中部分胞浆染为深色, 呈现集落样分布。模型组SD大鼠的心肌梗死区明显, 表现出几乎无存活的心肌, 且梗死区的血管较少; 脂肪间充质干细胞移植的细胞移植组SD大鼠的心肌梗死区不明显, 与模型组大鼠比, 心肌细胞有很大的改善, 可明显看到部分心肌组织和细胞。见图3。

**2.6 细胞移植组干细胞存活及分化情况** 为证明脂肪间充质干细胞移植移植成功, 实验进行移植前BrdU标记, 以抗BrdU和抗cTnT对脂肪间充质干细胞的生长和分化进行检测。以免疫组织化学法对心肌组织进行检

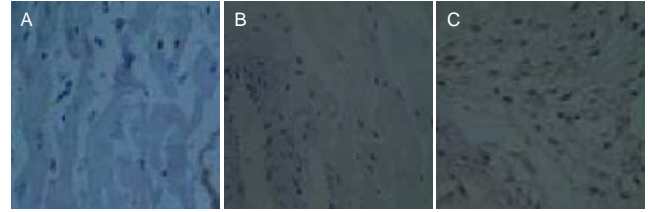


图4 各组心肌组织免疫组织化学染色结果比较(x500)  
Figure 4 Immunohistochemistry staining of the rat myocardial tissues (x500)

图注: 图中A为细胞移植组 BrdU 免疫组织化学染色结果, 蓝色细胞核为 BrdU 阳性表达; B, C 为细胞移植组和模型组 cTnT 免疫组织化学染色结果, 图 B、C 棕色细胞核为 cTnT 阳性表达。

测。图4结果显示, 脂肪间充质干细胞移植治疗后的SD大鼠的心肌组织切片中可看到呈点状散落分布的棕色颗粒。而对照组SD大鼠的心肌组织BrdU免疫组织化学染色显示为蓝色。细胞移植组SD大鼠的心肌组织切片cTnT的染色结果显示, 少部分心肌组织细胞质被染为棕色。而模型组SD大鼠心肌组织的切片cTnT免疫组织化学染色显示, 大部分组织被染为棕色。心肌组织免疫组织化学染色显微结果比较显示, cTnT的相对表达量: 对照组为(10.05±1.12)%, 模型组为(36.73±3.88)%, 细胞移植组为(11.78±2.11)%, 脂肪间充质干细胞可以存活于SD大鼠梗死的心肌组织中, 细胞移植组使心肌特异性蛋白表达与模型组相比减少( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论 Discussion

心肌梗死是由于冠状动脉粥样硬化所导致的冠状动脉的分支堵塞和血栓形成, 使心肌组织缺血而坏死, 进一步引发心衰、心律失常、休克甚至死亡。实验研究所用大鼠心肌梗死模型采用手术结扎冠脉法造成大鼠急性心肌梗死, 此模型与现实生活中患者心肌梗死发病过程更相似<sup>[30]</sup>。此模型科学合理, 可以满足实验的需要。

目前心肌梗死的治疗包括介入治疗(支架)、药物治疗和手术等。临床上对其治疗有药物治疗, 如替格瑞洛片, 一般用于治疗非ST段抬高心肌梗死或ST段抬高心肌梗死患者, 包括接受药物治疗和经皮冠状动脉介入治疗的患者, 其与氯吡格雷相比, 可降低心肌梗死复合终点的发生率, 但同时研究发现, 其与阿司匹林的联合用药时, 高剂量阿司匹林会降低替格瑞洛的临床疗效; 另外还有介入以及手术对患者进行治疗, 但一方面花费昂贵及带来的不良反应, 常会对患者造成二次伤害, 给患者及其家庭带来更大的负担, 另一方面并不能逆转已经坏死的心肌组织或细胞。这些手段均只能改善病症, 但是不能使坏死的心肌组织重生。

干细胞移植在作为新技术用于心肌梗死治疗的研究越来越受到临床及科研人员的关注,其能够使心肌细胞再生。干细胞作为原始细胞,具有很强的自我更新及潜在的分化能力。国内外研究发现,移植的干细胞可替代已经坏死的心肌细胞,增加心肌梗死区域心肌细胞数量,改善心功能<sup>[13-14]</sup>。近年来研究发现,间充质干细胞具有可增殖,多向分化的能力,且可以自我更新,在特定条件下可分化为心肌细胞,对受损的心肌组织具有一定的修复功能<sup>[15-22]</sup>。脂肪间充质干细胞也称为胶脂细胞,具有与骨髓间充质干细胞类似的功能,脂肪间质干细胞是脂肪组织中一类多能性干细胞。由于脂肪组织来源广泛、取材容易、不涉及伦理问题、便于自体移植、给患者带来的痛苦较小,因此日益受到研究者的重视。多项研究证实脂肪间充质干细胞由于其独特的特性:多向分化和自我更新等,在体外有向心肌、神经等组织分化的能力<sup>[23-29]</sup>。

研究显示,胚胎干细胞等干细胞移植治疗对动物心脏有一定的修复,能恢复心脏功能作用,减少炎症反应,从而起到治疗作用<sup>[31-37]</sup>。但是大多实验并没有关注移植后心肌功能变化,及心肌梗死区域脂肪间充质干细胞的靶向作用。实验通过建立大鼠急性心肌梗死模型,对其进行脂肪间充质干细胞移植,探讨脂肪间充质干细胞移植对大鼠急性心肌梗死的治疗作用。实验研究显示,脂肪间充质干细胞培养 24 h 在显微镜下观察,细胞成圆形,正常贴壁,可见有胞浆空场,第 3 代细胞贴壁后开始正常分裂增殖,呈现出梭形,细胞汇合成单层,排列出一定的方向性,证明细胞体外培养成功,与文献结果类似<sup>[38]</sup>。造模后模型组及细胞移植组 SD 大鼠均表现为肢体导联显示出 ST 波段抬高波型,证明心肌梗死大鼠模型造模成功。脂肪间充质干细胞移植后,与模型组相比,细胞移植组 SD 大鼠心功能指标左室收缩末径和左室舒张末径和射血分数检测结果均明显优于模型组;通过苏木精-伊红染色显示模型组 SD 大鼠的心肌梗死区明显,表现出几乎无存活的心肌,且梗死区的血管较少;脂肪间充质干细胞移植的细胞移植组 SD 大鼠的心肌梗死区不明显,与模型组大鼠比,心肌细胞有很大的改善,可明显看到部分心肌组织和细胞。大鼠心肌梗死面积检测结果显示,细胞移植组 SD 大鼠的心肌梗死面积百分比约为(21.7±2.4)%,而模型组 SD 大鼠的心肌梗死面积百分比约为(33.5±4.2)%,细胞移植组与对照组比,心肌梗死面积百分比明显低于模型组。心肌组织免疫组织化学染色显微结果比较显示,通过 BrdU 标记脂肪间充质干细胞可以存活于 SD 大鼠梗死的心肌组织中,并

使心肌特异性蛋白表达减少,心肌特异性蛋白作为一种高特异性心肌损伤标志物,当移植脂肪间充质干细胞后修复心肌损伤组织,减少 cTnT 的表达。

实验结果提示,脂肪充质干细胞可以在急性心肌梗死 SD 大鼠心肌内存活,且可以分化为心肌细胞,显著性减少大鼠心肌梗死的面积百分比,对 SD 大鼠心肌梗死区域有修复作用,减少心肌特异性蛋白表达,改善心肌梗死后的病理进程,从而起到治疗 SD 大鼠心肌梗死的治疗作用。

**作者贡献:** 王立忠进行实验设计。实验实施为王立忠、李燕、穆怀彬、黄琨和高峻。实验评估为王立忠和李燕。资料收集为黄琨和高峻。穆怀彬审核。

**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:** 实验对大鼠的处置均符合 2006 年中华人民共和国科学技术部颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》标准。

**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:** 本刊实行双盲外审制度,文章经国内小同行外审专家审核,符合本刊发稿宗旨。

**作者声明:** 文章第一作者对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] Groopman JE, Molina JM, Scadden DT. Hematopoietic growth factors. Biology and clinical applications. *N Engl J Med*. 1989;321(5):1449.
- [2] 吴兆苏,赵冬.世纪之交的心血管流行病学和人群防治研究[J].中华心血管病杂志,1998,2(9):3-4.
- [3] 曹月娟,许静,付乃宽,等.干细胞治疗年龄相关性心肌梗死研究进展[J].天津医药,2010,38(7):635-637
- [4] 吴世凯,丁长才,柏芸,等.成体干细胞临床应用研究[J].现代生物医学进展,2010,10,(14):2763-2767.
- [5] 施志雄.骨髓干细胞移植治疗急性心肌梗死研究进展[J].医学信息:中间刊,2011,24(5):2015-2016.
- [6] 商保军,白炎亮.移植自体骨髓间充质干细胞治疗急性心肌梗死[J].中国实用医药,2010,5(15):120-121.
- [7] 周瑶,褚海涛,史记.干细胞治疗缺血性心脏病的临床价值[J].中医临床研究,2011,3(13):115-116.

- [8] 汤成春.心脏自身干细胞的研究进展[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(19):3560-3564.
- [9] 晏凯利,陈苏,刘汉华.自体骨髓干细胞动员对急性心肌梗死患者心功能的影响[J].中华医学杂志,2008,32(5):335-337.
- [10] 刘德峰,刘建平.骨髓间质干细胞移植与心肌再生[J].岭南心血管病杂志,2010,16(1):74-75.
- [11] 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] Olivetti G, Capasso JM, Meggs LG, et al. Cellular basis of chronic ventricular remodeling after myocardial infarction in rat. *Circ Res*. 1991;68(11):856-869.
- [13] 陆东风,吴昊,黄璟,等.新生SD大鼠心脏干细胞的体外分离培养与鉴定[J].南方医科大学学报,2006(11):97-100.
- [14] Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation*. 2002;106(15):1913-1918.
- [15] Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J Clin Invest*. 1999;103(5):697-705.
- [16] Kadivar M, Khatami S, Mortazavi Y, et al. In vitro cardiomyogenic potential of human umbilical vein derived mesenchymal stem cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;340(2):639-647.
- [17] Cheng F, Zou P, Yang H, et al. Induced differentiation of human cord blood mesenchymal stem progenitor cells into cardiomyocyte-like cells in vitro. *Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*.2003;23(2):154.
- [18] 罗凯,单根法,钟兹,等.脐血间充质干细胞肌源性诱导分化的研究[J].上海第二医科大学学报,2005,25(2):134-137.
- [19] Huang JL, Yang SX. Differentiation of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord into cardiomyocytes. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuangkangfu*. 2008;12(47):9367-9370.
- [20] 冯应君,汤天军.脐带血干细胞诱导分化为心肌样细胞电生理特性的实验研究[J].实用医学杂志,2007,23(5):613-616.
- [21] Gang EJ, Jeong JA, Hong SH, et al. Skeletal myogenic differentiation of mesenchymal stem cells isolated from human umbilical cord blood. *Stem Cells*. 2004; 22(34): 617-624.
- [22] Siepe M, Akhyari P, Lichtenberg A, et al. Stem cells used for cardiovascular tissue engineering. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2008;34(2):242-254.
- [23] Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell*. 2002;13(4):4279-4295.
- [24] Mizuno H, Zuk PA, Hu M, et al. Myogenic differentiation by human processed lipoaspirate cells. *Plast Reconstr Surg*. 1999;109(8):199-209.
- [25] Rangappa S, Fen C, Lee EH, et al. Transformation of adult mesenchymal stem cells isolated from the fatty tissue into cardiomyocytes. *Ann Thorac Surg*. 2003; 75(7):775-779.
- [26] Winter A, Breit S, Parsch D, et al. Cartilage-like gene expression in differentiated human stem cell spheroids: a comparison of bone marrow-derived and adipose tissue-derived stromal cells. *Arthritis Rheum*. 2003; 48(1):418-429.
- [27] Safford KM, Hicok KC, Safford SD, et al. Neurogenic differentiation of murine and human adipose-derived stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002; 294(31):371-379.
- [28] Ashjian PH, Elbarbary AS, Edmonds B, et al. In vitro differentiation of human processed lipoaspirate cells into early neural progenitors. *Plast Reconstr Surg*. 2003;111(21):1922-1931.
- [29] Guo H, Fang B, Zhao RC, et al. Hemangioblastic characteristics of fetal bone marrow-derived FIK1(+)/CD31(-)/CD34(-) cells. *Exp Hematol*. 2003; 31(31):650-658.
- [30] Bai X, Yan Y, Song YH, et al. Both cultured and freshly isolated adipose tissue-derived stem cells enhance cardiac function after acute myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2010;31(2):489-501.
- [31] Shi Q, Rafii S, Wu MH, et al. Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. *Blood*. 1998; 92(1):362-367.
- [32] Ferrari G, Cusella De Angelis G, et al. Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science*. 1998;279(45):1528-1530.
- [33] Brazelton TR, Rossi FM, Keshet GI, et al. Blua for marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science*. 2000;290(37):1775-1779.
- [34] Petersen BE, Bowen WC, Petrenea KD, et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science*. 1999;284(11):1168-1170.
- [35] Christopher RR, Rodney RL, Bernt RA, et al. Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. *Science*. 1999;283(11): 534-537.
- [36] Buartwald E, Bristow MR. Congestive heart failure: fifty years of progress. *Circulation*. 2000;102(32): IV14-IV23.
- [37] Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2001;344(2):1750-1757.
- [38] Gronthos S, Franklin DM, Leddy HA, et al. Surface protein characterization of human adipose tissue-derived stromal cells. *Cell Physiol*. 2001; 189(9):54-63.