

干细胞治疗心力衰竭的研究进展

张开泰¹, 张淑芹², 刘华³

1. 青岛市海慈医疗集团急诊科, 山东 青岛 266000;
2. 枣庄市峰城区人民医院神经内科, 山东 枣庄 277300;
3. 枣庄市峰城区人民医院骨科, 山东 枣庄 277300

摘要: 心力衰竭是指心肌的收缩、舒张功能在各种致病因素的作用下发生障碍,使心排血量减少,不能满足组织代谢需求的病理生理过程,做为机体的一种适应性反应,其过程伴随神经激素和细胞因子的激活,使得心肌发生重构,最终造成不可逆的损伤。目前大多数抑制这个过程治疗策略以及心脏再同步化治疗,并取得了一定成功,但仍有进展到终末期心力衰竭的患者治疗效果不理想。而对于这些患者,干细胞疗法作为一种全新的治疗措施,或许有望缓解这一医学难题。

关键词: 心力衰竭; 胚胎干细胞; 成体干细胞; 骨髓; 间充质干细胞; 骨骼肌成肌细胞; 脂肪源性干细胞; 内源性心脏干细胞; 诱导多能干细胞

中图分类号: R 541.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2018)03-0427-03

干细胞是一类具有多种功能,能够自我更新并分化成一系列特定细胞类型的未分化的细胞。干细胞的分类具有多种方法,可以根据其解剖学、功能不同、细胞表面标记物、转录因子以及蛋白表达的不同等将其分类。人体中的干细胞分为两类,即全功能干细胞和多功能干细胞,多功能干细胞进一步特异分化产生专能干细胞。而根据其所处的发育阶段,可分为胚胎干细胞(ESCs)和成体干细胞。胚胎干细胞由于其高度分化,因此发育等级较高,属于全能干细胞;而成体干细胞则属于多能干细胞或专能干细胞。

心肌的收缩、舒张功能在各种致病因素(心肌缺血、缺氧、感染等)的作用下发生障碍,心排血量减少,不能满足组织代谢需求的病理生理过程称为心力衰竭。随着我国逐步进入老龄化社会,心力衰竭的发病逐年上升,其危害不容忽视,因此心力衰竭的防治已成为重要的公共卫生问题,其治疗水平不断提升,近年来,随着生物技术的发展,应用干细胞治疗心力衰竭成为研究的热点,并取得了一定成绩,本文就近年来干细胞治疗心力衰竭的进展进行综述。

1 干细胞的分类

1.1 胚胎干细胞 Evans 和 Kaufman 在 1981 年,第一次成功分离了小鼠的胚胎干细胞。胚胎干细胞具有可以分化成为内胚层、中胚层、外胚层中多种细胞组织的能力,却不能独自发展成为一个个体,此后,Thompson 开启了干细胞的研究领域,体内外研究证实,干细胞可以分化为机体的多种细胞类型,诸如动物的心脏、神经元细胞、胰腺细胞等。然而,胚胎干细胞的研究颇具争议,支持者认为该技术可以解决诸多医学难题,挽救生命,而反对者认为该研究有悖于道德伦理。

1.2 成体干细胞 成体干细胞存在于已分化组织中的未分化细胞,具有有限的自我更新和分化潜能,与胚胎干细胞相

比,其通过分化转化成各种特异的细胞类型较少。成体干细胞可以产生新的干细胞,亦可以按照一定的程序进行分化,形成新的功能细胞,从而维持组织器官生长、衰退的动态平衡。已经研究证实大脑、骨髓、外周血液、骨骼肌、皮肤、肝脏等成体组织中含有干细胞。目前尤以造血干细胞(HSC)的研究及临床应用最为成熟。随着技术的发展,对成体干细胞可塑性研究的不断深入,其服务于临床指日可待。

2 干细胞治疗心力衰竭的临床研究

2.1 骨髓 研究发现人类骨髓有许多细胞类型,这其中包括三种干细胞,HSC、间充质干细胞(MSC)和内皮祖细胞(EPCs)。迄今为止,许多有关人类干细胞的临床研究试验均涉及骨髓细胞。而骨髓的细胞成分中含有分化的细胞,如单核细胞、淋巴细胞等,以及未分化的细胞,如造血干细胞、间充质干细胞,正是这些未分化细胞,具有多向分化的功能,这将导致新的心肌和血管的生成。研究显示在心肌缺血的动物模型中,将单核骨髓干细胞移植到缺血的心肌,可以有效改善心肌灌注、血管的生成以及左心室的功能^[1]。目前,运用自体骨髓干细胞移植来改善人类心肌梗死后的心功能,被认为是安全的,可以有效的降低梗死面积和改善心肌摄氧能力,显著降低住院死亡率^[2-3]。

2.2 MSC MSC 是多能干细胞,由于骨髓是其主要来源,因此统称为骨髓 MSC,而最近发现,MSC 还可以从骨髓、脐带血、子宫、脂肪组织、外周血、输卵管、胎儿肝、肺等组织中分离出来。根据其黏附的特性,将 MSC 与其他骨髓干细胞分离。间充质干细胞在体内或体外特定的诱导条件下,可分化为脂肪细胞、骨细胞、软骨细胞、神经、肝、心肌等多种组织细胞。MSC 可以分化为心肌细胞,最近的研究证实,这些细胞表达心肌细胞特异性标志物。将 MSC 分化的心肌细胞移植到心肌损伤部位后,显示内源性心肌细胞显著增殖^[4-6]。然而,其他实验室的体内研究显示,在小鼠急性心肌梗死后的几个星期内,并没有观察到移植的 MSC,移植的 MSCs 存活率只有 2% 左

右,没有证据表明内源性心肌细胞的分化^[7-8]。目前,大多数体内研究报道了移植的 MSCs 在两周内死亡,很少或根本没有直接分化成心肌细胞^[9]。将 MSC 移植到梗死的心脏中可以促进心脏再生,却未融入心肌中;而旁分泌因子通过刺激心肌细胞增殖和新生血管的形成最终导致了心肌的再生^[10]。1995 年,开始了 MSC 的首次临床试验,将 MSC 注入患者的心脏,以检测其治疗的安全性。从此,开展了大量的研究,结果显示运用人类 MSC 治疗后的心肌再生和心脏功能得到了显著的提升^[11]。同时研究还显示了, MSC 治疗可以延缓心脏的衰老^[12]。

2.3 骨骼肌成肌细胞 骨骼肌成肌细胞是在成人骨骼肌组织中发现的在创伤后重建肌肉组织的前体细胞,其再生能力是公认的。有关骨骼肌成肌细胞的人体临床试验主要是由 Menasche 完成的,在一些单中心和多中心的临床研究,他和他的同事证实,通过成肌细胞移植可以减轻心室重构^[13]。在多中心研究中,97 名受试者在冠状动脉搭桥术中接受了培养的自体成肌细胞进入心外膜表面和梗死心肌周围区域^[14]。4 年后随访发现, PET 扫描显示将骨骼肌成肌细胞移植到心肌瘢痕组织,通过增加氟代脱氧葡萄糖 (FDG) 使患者获益, MRI 显示组织存活面积增加,超声心动图显示左室射血分数 (LVEF) 上升。然而,问题随之而来,由于骨骼肌成肌细胞不能形成细胞之间的缝隙连接,它们不能与原位的细胞以同样的速度传导电活动,因此不能和宿主的细胞同步收缩,同步性的失调可能导致室性心律失常的发生。Hagege 等^[15]认为,将来可能使成肌细胞表达缝隙连接,而在此之前,可以置入除颤器解决。但是,其昂贵的费用使其在目前的临床应用中受限。

2.4 脂肪源性干细胞 脂肪源性干细胞是近年来从脂肪组织中分离得到的一种具有多向分化潜能的多能干细胞,其可以分化成软骨,血管和肌肉组织,包括心肌细胞。关于脂肪干细胞向心肌细胞分化有多种报道,其中包括从大鼠心肌细胞核和细胞质提取治疗性脂肪干细胞^[16]。有趣的是,这些细胞在没有经过任何预处理的情况下,能够自发地分化成为心肌细胞^[17]。在脂肪干细胞分化成心肌细胞中,还发现其他的显著特点是横纹肌横纹外观、多核化,这一切都强烈支持脂肪干细胞功能分化为心肌细胞。

2.5 内源性心脏干细胞 Anversa 及其同事于 2002 年首次发现心肌中存在具有分化、自我更新的干细胞^[18]。心脏干细胞的特点是具有干细胞的抗原受体 c-kit, 细胞表面抗原 Sca-1 和 MDR 1, 不表达造血干细胞表面抗原 CD31、CD34、CD45、CD133 和 KDR, 同时,尚可表达心肌收缩蛋白和心脏电生理相关蛋白^[19]。通过在缺血动物模型中研究显示,这些细胞可以生成心肌细胞、平滑肌细胞、内皮细胞^[20]。心脏干细胞不同于骨髓中产生并迁移到心肌的循环中的内皮祖细胞,其分布在整个心脏,其中以左室心尖部和心房组织分布尤为密集,它们通过形成新的心肌细胞和毛细血管参与心脏细胞的正常代谢。自体干细胞注射治疗可降低宿主排斥反应的发生。国外的一项临床研究显示,冠状动脉搭桥术中,从右心耳采集心脏干细胞,其中 20 例患者 (LVEF $\leq 40\%$) 在搭桥术后平均 113 d 接受冠状动脉内输注心脏干细胞治疗,而对照组

13 例患者。研究显示 4 个月和 12 个月后,接受心脏干细胞治疗的患者 LVEF 明显上升,其中 6 位患者 1 年后随访,其梗死面积减小。在一项前瞻性随机临床试验中,其中 17 例 PCI 术后左心室功能不全 (LVEF 25% ~ 45%) 患者,随机接受梗死相关动脉输注自体心脏源性干细胞治疗 (≤ 90 d), 这些患者与随机分配的 8 例接受标准护理的患者 6 个月后比较显示,经自体心脏源性干细胞治疗的患者其舒张末期容积、收缩末期容积、LVEF 均没有明显改善,但其疤痕组织却相对减少,这一切尚有待 II 期临床试验进一步研究^[21]。

2.6 胚胎干细胞 (ESC) 与诱导多能干细胞 (iPSC) 在设定的条件下,通过细胞培养, ESC 能够分化成多种类型的细胞,如诱导产生心肌细胞,早期的研究方法是由其自发分化,结果导致分化的心肌细胞数量偏低,而当前的方法是在培养皿中常规用激活素 A 结合骨形态生成蛋白 4 (BMP4) 诱导产生心肌细胞^[22]。另有骨形态发生蛋白 2 (BMP2), 转化生长因子 β (TGF- β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 被用来诱导人类胚胎干细胞转化成心肌细胞的研究^[23]。此外,尚有关于应用 microRNA 诱导心肌细胞增殖,酪氨酸蛋白激酶激活受体、神经调节素 2 等可以显著提高心肌细胞的分化^[24]。研究显示 ESC 移植心脏的保留率非常低,且移植的 ESC 没有出现在心脏并长期存活^[25]。更糟糕的是 2 ~ 3 周后移植检测发现移植细胞数量更低^[26]。因此,许多研究人员得出结论,心肌梗死后心脏再生多半通过细胞的旁分泌效应^[27]。如果移植的细胞不是停留在心肌,而是通过血液循环或其他细胞运动的形式最终迁移至其他器官,这很有可能导致肿瘤的产生。为了解决这一问题,研究人员发明了一种“pro-survival cocktail”, 有助于提高移植到受体心脏后保留维持细胞的存活^[28]。另外一个潜在的问题是,使用人类胚胎干细胞生成的心肌组织,需要终身免疫抑制治疗,而运用源于相同动物或同一病人的 iPSC 则可能有助于消除这一免疫兼容的问题。人 iPSC 在功能上类似于人胚胎干细胞。心肌细胞分化的分子机制尚不清楚,因此,目前应用的分化方法多是经验性的。考虑到 ESC 和 iPSC 之间的相似性,认为二者分化为心肌细胞似乎可以用类似的方法。很显然,不管体外试验还是体内试验仍需要进一步研究,以确定最佳的方式来实现诱导分化的多能干细胞在体内形成正常功能的心肌组织。研究一旦成功,则该项技术可以使心脏病患者的心脏再生,甚至是完全恢复。

3 展 望

众所周知,心脏病是导致世界各国人口死亡的主要原因,另外,每年有数百万人心脏病发作,在急性心肌梗死或相关的心脏疾病过程中,由于心肌损伤导致心肌功能受损,而心脏组织在受伤后不能再生,许多幸存者的体力活动、生活质量明显下降。临床试验中,通过使用干细胞治疗受损的心肌组织,主要将骨髓单个核细胞作为输注细胞,通过多种给药途径和给药剂量,评价患者也主要为急性心肌梗死,但也有慢性缺血性和非缺血性心力衰竭患者。目前认为,干细胞疗法的主要机制是通过旁分泌作用,包括细胞因子、趋化因子和生长因子的释放,抑制细胞凋亡和纤维化,增强收缩力,激活内源性再生

机制等。目前临床试验的研究方向有许多,然而这其中最有前景的领域是运用富含干细胞群的内源性心脏干细胞和心脏球形结构干细胞来修复受损心肌。运用干细胞治疗心力衰竭,其临床应用前景广阔,随着技术的不断进步,这有望彻底改变目前心衰的治疗现状。

参考文献

- [1] Waksman R, Baffour R. Bone marrow and bone marrow derived mononuclear stem cells therapy for the chronically ischemic myocardium[J]. Cardiovasc Radiat Med, 2003, 4(3): 164-168.
- [2] Nuri MM, Hafeez S. Autologous bone marrow stem cell transplant in acute myocardial infarction[J]. J Pak Med Assoc, 2012, 62(1): 2-6.
- [3] Strauer BE, Steinhoff G. 10 years of intracoronary and intramyocardial bone marrow stem cell therapy of the heart: from the methodological origin to clinical practice[J]. J Am Coll Cardiol, 2011, 58(11): 1095-1104.
- [4] Konstantinou D, Lei M, Xia Z, et al. Growth factors mediated differentiation of mesenchymal stem cells to cardiac polymicrotissue using hanging drop and bioreactor[J]. Cell Biol Int, 2015, 39(4): 502-507.
- [5] Hafez P, Jose S, Chowdhury SR, et al. Cardiomyogenic differentiation of human sternal bone marrow mesenchymal stem cells using a combination of basic fibroblast growth factor and hydrocortisone[J]. Cell Biol Int, 2016, 40(1): 55-64.
- [6] Hatzistergos KE, Quevedo H, Oskouei BN, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells stimulate cardiac stem cell proliferation and differentiation[J]. Circ Res, 2010, 107(7): 913-922.
- [7] Iso Y, Spees JL, Serrano C, et al. Multipotent human stromal cells improve cardiac function after myocardial infarction in mice without long-term engraftment[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 354(3): 700-706.
- [8] Leiker M, Suzuki G, Iyer VS, et al. Assessment of a nuclear affinity labeling method for tracking implanted mesenchymal stem cells[J]. Cell Transplant, 2008, 17(8): 911-922.
- [9] Murry CE, Palpant NJ, MacLellan WR. Cardiopoietic in motion: primed mesenchymal stem cells for ischemic cardiomyopathy[J]. J Am Coll Cardiol, 2013, 61(23): 2339-2340.
- [10] Gallina C, Turinetti V, Giachino C. A new paradigm in cardiac regeneration: the mesenchymal stem cell secretome[J]. Stem Cells Int, 2015, 2015: 765846.
- [11] Chimenti I, Smith RR, Li TS, et al. Relative roles of direct regeneration versus paracrine effects of human cardiosphere-derived cells transplanted into infarcted mice[J]. Circ Res, 2010, 106(5): 971-980.
- [12] Mansilla E, Roque G, Sosa YE, et al. A rat treated with mesenchymal stem cells lives to 44 months of age[J]. Rejuvenation Res, 2016, 19(4): 318-321.
- [13] Menasché P, Hagege AA, Vilquin JT, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction[J]. J Am Coll Cardiol, 2003, 41(7): 1078-1083.
- [14] Menasché P, Alfieri O, Janssens S, et al. The Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathy (MAGIC) trial: first randomized placebo-controlled study of myoblast transplantation[J]. Circulation, 2008, 117(9): 1189-1200.
- [15] Hagege A, Menasché P. Cellular cardiomyoplasty: a new hope in heart failure? [J]. Heart, 2000, 84(5): 465-466.
- [16] Gaustad KG, Boquest AC, Anderson BE, et al. Differentiation of human adipose tissue stem cells using extracts of rat cardiomyocytes[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 314(2): 420-427.
- [17] Strem BM, Zhu M, Alfonso Z, et al. Expression of cardiomyocytic markers on adipose tissue-derived cells in a murine model of acute myocardial injury[J]. Cytotherapy, 2005, 7(3): 282-291.
- [18] Anversa P, Nadalginard B. Myocyte renewal and ventricular remodeling[J]. Nature, 2002, 415(6868): 240-243.
- [19] Smith RR, Barile L, Cho HC, et al. Regenerative potential of cardiosphere-derived cells expanded from percutaneous endomyocardial biopsy specimens[J]. Circulation, 2007, 115(7): 896-908.
- [20] Messina E, De Angelis L, Frati G, et al. Isolation and expansion of adult cardiac stem cells from human and murine heart[J]. Circ Res, 2004, 95(9): 911-921.
- [21] Michler RE. Stem cell therapy for heart failure[J]. Cardiol Rev, 2014, 22(3): 105-116.
- [22] Chong JJ, Yang X, Don CW, et al. Human embryonic-stem-cell-derived cardiomyocytes regenerate non-human primate hearts[J]. Nature, 2014, 510(7504): 273-277.
- [23] Hamidi S, Letourneur D, Aid-Launais R, et al. Fucoidan promotes early step of cardiac differentiation from human embryonic stem cells and long-term maintenance of beating areas[J]. Tissue Eng Part A, 2014, 20(7/8): 1285-1294.
- [24] Kochegarov A, Lemanski LF. New trends in heart regeneration: a review[J]. J Stem Cells Regen Med, 2016, 12(2): 61-68.
- [25] Zhang C, Jia P, Huang X, et al. Myofibril-inducing RNA (MIR) is essential for tropomyosin expression and myofibrillogenesis in axolotl hearts[J]. J Biomed Sci, 2009, 16: 81.
- [26] Yeghiazarians Y, Gaur M, Zhang Y, et al. Myocardial improvement with human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes enriched by p38MAPK inhibition[J]. Cytotherapy, 2012, 14(2): 223-231.
- [27] Ye L, Chang YH, Xiong Q, et al. Cardiac repair in a porcine model of acute myocardial infarction with human induced pluripotent stem cell-derived cardiovascular cells[J]. Cell Stem Cell, 2014, 15(6): 750-761.
- [28] Yeghiazarians Y, Gaur M, Zhang Y, et al. Myocardial improvement with human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes enriched by p38MAPK inhibition[J]. Cytotherapy, 2012, 14(2): 223-231.

收稿日期: 2017-09-18 修回日期: 2017-10-10 编辑: 周永彬