·综述·

成肌细胞移植治疗心肌梗死的研究进展

高伟 王士雯 邱芊 李泱

迄今为止的普遍观点认为,成熟个体的心肌属于终分化细胞,心脏局部没有足以恢复坏死心肌的幼稚细胞,心肌一旦坏死不能再生出成熟的心肌细胞进行修复,只能由瘢痕组织代替。而传统治疗心肌梗死的方法,包括应用药物扩张血管、溶栓、经皮冠状动脉腔内成形术、冠状动脉旁路移植术等只能恢复局部的血流再灌注,不能修复或逆转已坏死的心肌,心脏发生重构。部分患者进展为临床心力衰竭,甚至导致猝死。如何提高梗死区内心肌细胞数量以最大限度恢复心功能已成为一个重要的课题。由于心肌和骨骼肌同属横纹肌,均来自中胚层,胚胎发育期有一个共同的起始过程。而骨骼肌成肌细胞大量存在于成熟个体内,在骨骼肌受损后可以增生分化为骨骼肌细胞进行修复。同时骨骼肌成肌细胞尚具有向多种成熟肌细胞发育的潜力,所以自体骨骼肌移植治疗急性心肌梗死受到越来越多的重视。

1 成肌细胞的实验技术

1.1 心肌梗死模型的制备 为了了解成肌细胞移植治疗心肌梗死后心力衰竭的效果和可行性,人们分别采用鼠^[1]、兔^[2]、犬^[3]、猪^[4]、羊^[5]等动物作为实验对象,运用心肌局部冷冻^[2]、注射阿霉素^[6]、冠状动脉结扎^[7]和冠状动脉内栓塞^[4]技术制作了不同类型的心肌梗死动物模型,为探索心肌梗死后成肌细胞移植提供了多方面、多层次的前提条件。

1.2 成肌细胞的分离、增殖和纯化 研究者通常采用取股部肌肉或胸部肌肉分离成肌细胞,然后体外培养、扩增、标记后再移植到自体心肌梗死区,移植的细胞数量为 $10^6 \sim 10^9$ 不等^[1,3,4]。为了提高成肌细胞的纯度,有人采用免疫磁珠技术纯化原代培养的骨骼肌成肌细胞,效果良好,方法简便易行,所需

要的最初样本量也少^[8]。为了增加培养的成肌细胞收获量,取大鼠胫骨前肌成肌细胞做体外培养,至收获前2 d加入局部麻醉药布比卡因后,与对照组相比,实验组成肌细胞的收获量大大增加(1 683 147 vs 85 300; $P = 0.0013$)^[9]。同时作者得出结论,取骨骼肌成肌细胞未经体外扩增直接移植到梗死区对心功能改善效果不佳。提示进行细胞移植治疗心肌梗死或心力衰竭时,还应该进行体外培养扩增,然后再进行移植。

1.3 移植方式 动物模型移植主要采用开胸在梗死边缘区多个位点局部注射,也有在冠状动脉内注射成肌细胞移植的报道^[5,6]。为了减少对身体的损伤,有研究者选择经导管将特制的注射针送入心腔内,经标测确定梗死部位后,由心内膜多位点注射成肌细胞至心肌^[4]。

2 成肌细胞移植对心脏的影响

日前关于成肌细胞移植治疗心肌梗死的动物实验报告的主要内容集中在以下几个方面:成肌细胞移植后是否可以定向分化为心肌细胞和(或)血管内皮细胞;移植细胞之间以及移植细胞和原有心肌细胞之间是否能建立正常的细胞连接;成肌细胞移植后对心肌功能是否有所改善等。

2.1 成肌细胞移植后可以在局部存活与分化 Dib等^[4]用栓子阻断前降支血流制备猪心肌梗死模型。研究者采用导管经特制的注射针将在体外培养后的同种异体成肌细胞经心室腔注射到猪左室梗死区。10 d后取心脏进行组织学检查,证实梗死区域发现有存活的成肌细胞和多核的肌管形成。移植后的成肌细胞不仅可以在梗死区存活、生长为多核的肌管,而且还可以分化为横纹肌结构并建立闰盘连接。有作者将荧光标记的成肌细胞移植到梗死区,在治疗组心肌梗死区标本中发现带荧光的细胞核和肌纤维,排列方向大体一致,部分已分化为横纹肌并以闰盘相连,对照组无此发现^[10]。还有作者发现进行成

作者单位:100853 北京市,解放军总医院老年心血管病研究所

作者简介:高伟,男,在读医学博士,主治医师

通讯作者:高伟,电话:010-66936762

肌细胞移植后对梗死区心肌结构可以起到保护作用,在移植4~8周后观察到治疗组缺血区部分心肌细胞结蛋白分布恢复正常^[11]。

要达到临床治疗目的,不仅要增加梗死区存活的、有功能的心肌细胞,还要增加梗死区的血管网分布以改善血流。Suzuki等^[12]将人 VEGF(165)基因转染到原代培养的大鼠骨骼肌成肌细胞后移植,2周后成肌细胞分化为多核的肌管,心肌分泌 VEGF增高,局部的血管形成增加。

2.2 成肌细胞移植对心脏功能的影响 现有的多数资料表明,成肌细胞移植后可以改善心脏功能。周非等^[13]将体外培养的骨骼肌成肌细胞移植到冷冻心肌梗死动物模型的梗死区。20只行成肌细胞心肌内自体移植的大鼠中,有6只成肌素(myogenin)染色阳性,证明成肌细胞在心肌瘢痕中可以存活。与移植失败者及对照组相比,移植成功者左心室重量、左心室重量/体重、心脏重量/体重及左心室舒张末期压力均降低。

Suzuki等^[6]分离出的大鼠骨骼肌成肌细胞在体外可以增殖、分化为多核肌管。单个肌纤维移植后显著改善了由阿霉素导致的大鼠心力衰竭。Ghosh等^[5]在羊的心肌梗死瘢痕区移植自体成肌细胞后,观察移植前、移植后4个月和12个月时的心功能指标。与对照组相比,左室射血分数($48 \pm 5\%$ vs $33 \pm 3\%$)和左室舒张末期容积(72 ± 8 ml vs 105 ± 13 ml)均有明显改善。还有人研究发现在排除了心肌梗死后服用ACE抑制剂的影响后,进行成肌细胞移植也有独立提高心脏功能的效应^[14]。

成肌细胞移植可以改善心肌梗死后各种水平的心功能不全,这在 Pouzet等^[15]的研究中得到证实。作者按照左室平均射血分数的不同将实验大鼠分为多个实验组,观察到只要注射足够数量的成肌细胞,在细胞移植后1~2个月,各心功能不全组的左室平均射血分数都有改善。左室射血分数 $<25\%$ 组从21.4%提高到了37.0%,左室射血分数为25%~35%组由29.0%提高到了43.8%,射血分数为35%~40%组从37.2%提高到了41.7%,和对照组相比, P 值分别为0.048、0.0057和0.034。但射血分数 $>40\%$ 一组与对照组相比没有显著性差异。

法国 Menasche等^[16]在给一位70岁的下壁心肌梗死患者行冠状动脉旁路移植术时,将患者自体的骨骼肌成肌细胞移植入无再灌注的梗死后瘢痕区,5个月通过超声心动图和正电子发射断层成像证实移植后的瘢痕区有收缩和存活的心肌细

胞,心功能状况有所提高。该患者在移植后17.5个月死亡,尸检发现在移植区内有发育良好的、有收缩成分的骨骼肌肌管结构。65%的肌管表现为慢收缩肌球亚型,33%同时有快和慢亚型表达。作者认为移植的成肌细胞可以在移植区存活并可以转化为慢肌纤维^[17]。

2.3 成肌细胞移植对心肌梗死后左室重构的影响 大面积急性心肌梗死后,左心室发生继发性扩张。这一过程称为左心室重构(left ventricular remodeling)。重构使心室扩张,心肌肥厚,增加心肌梗死并发症的发生率和死亡率。而成肌细胞移植不仅可以改善心功能,而且还可以减轻心肌梗死后的心室重构。Jain等^[7]观察到梗死区移植成肌细胞后提高了梗死后的心肌运动能力以及收缩功能,并且减轻了心室扩张。

3 其他种类干细胞移植

除了骨骼肌成肌细胞移植的研究以外,人们还进行了包括胎儿或新生儿心肌细胞、胚胎干细胞、脐血干细胞、骨髓间质干细胞移植治疗心肌梗死。心肌细胞和胚胎干细胞以及脐血干细胞移植存在以下不利因素:(1)为同种异体细胞,移植后存在免疫排斥反应;(2)来源有限;(3)胚胎干细胞移植后可能多方向分化为其他组织甚至肿瘤;(4)医学伦理学问题。而自体骨骼肌成肌细胞移植可以避免这些问题。骨髓间质干细胞可以从成人骨髓内大量获得,并且可以再生,可做到自体骨髓间质干细胞移植,是目前心肌梗死细胞移植治疗的另一个研究热点。但骨髓间质干细胞移植治疗的研究,目前仍存在治疗效果不确切的问题,尚未经过大量临床应用研究证实。

4 成肌细胞移植存在的问题

尽管现在在多种动物模型上已经证明,骨骼肌成肌细胞移植可以在宿主心肌内存活数周到数月,并且和移植细胞相互之间可以形成细胞连接,但也有学者提出移植细胞和宿主心肌细胞之间的连接还没有令人信服的证明^[18]。也有学者报道成肌细胞移植后在局部存活较少,效果不理想。王立新等^[3]在冠状动脉结扎和冷冻造成的犬心肌梗死模型上移植了自体的肌卫星细胞,2周后在荧光显微镜下移植组模型上观察到梗死区有散在的被荧光标记的移植细胞。但是在光镜下和电镜下均未见横纹肌。作者认为肌卫星细胞移植的临床应用还不成熟。

5 展 望

目前原位心脏移植还是一种解决终末期心力衰竭的根本办法,但有限的供源和长期大量的抗免疫排斥药物的应用限制了它的推广。细胞移植有其独特的优势,和其他细胞类型相比,自体成人骨骼肌成肌细胞移植似乎最有临床相关性。它避免了大量免疫移植剂的应用,技术上也有很好的可行性,并且不存在伦理道德问题。现有的动物以及少量的人体实验也表明了骨骼肌成肌细胞移植能改善缺血心肌的功能。尽管有关机制还没有完全阐明,但成肌细胞移植还是一种很有潜力的治疗心肌梗死的措施之一。

参 考 文 献

- Scorsin M, Hagege A, Vilquin JT, et al. Comparison of the effects of fetal cardiomyocyte and skeletal myoblast transplantation on postinfarction left ventricular function. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2000, 119: 1169-1175.
- Taylor DA, Atkins BJ, Hungspreugs P, et al. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nat Med*, 1998, 4: 929-933.
- 王立新, 高长青. 自体骨骼肌成肌细胞心肌成形术的实验研究. *中华医学杂志*, 2002, 82: 100-103.
- Dib N, Diethrich EB, Campbell A, et al. Endoventricular transplantation of allogenic skeletal myoblasts in a porcine model of myocardial infarction. *J Endovasc Ther*, 2002, 9: 313-319.
- Ghostine S, Carrion C, Souza LC, et al. Long-term efficacy of myoblast transplantation on regional structure and function after myocardial infarction. *Circulation*, 2002, 106(12 Suppl 1): 1131-1136.
- Suzuki K, Murtuza B, Suzuki N, et al. Intracoronary infusion of skeletal myoblasts improves cardiac function in doxorubicin-induced heart failure. *Circulation*, 2001, 104(12 Suppl 1): I213-I217.
- Jain M, DerSimonian H, Brenner DA, et al. Cell therapy attenuates deleterious ventricular remodeling and improves cardiac performance after myocardial infarction. *Circulation*, 2001, 103: 1920-1927.
- Lequerica JL, Mirabet V, Montero JA, et al. *In vitro* proliferation, differentiation and immuno-magnetic bead purification of human myoblasts. *Ann Transplant*, 1999, 4: 103-108.
- Pouzet B, Vilquin JT, Hagege AA, et al. Intramyocardial transplantation of autologous myoblasts: can tissue processing be optimized? *Circulation*, 2000, 102(19 Suppl 3): 210-215.
- 钟纭, 朱洪生, 张臻, 等. 骨骼肌卫星细胞移植对心肌梗死区残存心肌细胞体积的影响. *中华胸心血管外科杂志*, 2001, 17: 296-298.
- 钟纭, 朱洪生, 张臻, 等. 梗死心肌骨骼肌卫星细胞移植后心肌细胞结蛋白变化. *中国胸心血管外科临床杂志*, 2000, 7: 245-248.
- Suzuki K, Murtuza B, Smolenski RT, et al. Cell transplantation for the treatment of acute myocardial infarction using vascular endothelial growth factor-expressing skeletal myoblasts. *Circulation*, 2001, 104(12 Suppl 1): I207-I212.
- 周非, 秦永文, 荆清, 等. 成肌细胞自体移植及其功能的实验研究. *中国循环杂志*, 2002, 17: 148-151.
- Pouzet B, Ghostine S, Vilquin JT, et al. Is skeletal myoblast transplantation clinically relevant in the era of angiotensin-converting enzyme inhibitors? *Circulation*, 2001, 104(12 Suppl 1): I223-I228.
- Pouzet B, Vilquin JT, Hagege AA, et al. Factors affecting functional outcome after autologous skeletal myoblast transplantation. *Ann Thorac Surg*, 2001, 71: 844-850.
- Menasche P, Hagege AA, Scorsin M, et al. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet*, 2001, 357: 279-280.
- Hagege AA, Carrion C, Menasche P, et al. Viability and differentiation of autologous skeletal myoblast grafts in ischemic cardiomyopathy. *Lancet*, 2003, 361: 491-492.
- Schwarz ER, Patterson M, Kloner RA, et al. Cardiomyocyte transplantation--a cell replacement for repair of myocardial infarction? *Z Kardiol*, 1998, 87: 1-7.

(收稿日期 2003-05-19)

(本文编辑 张和起)