

干细胞移植治疗心肌梗死

黎 健

(卫生部北京老年医学研究所, 北京市 100730)

[作者简介] 黎健, 1982 年毕业于中山大学, 获学士学位, 1990 年在中国协和医科大学获硕士学位, 之后分别前往美国 Baylor 医学院和瑞士日内瓦大学工作和学习并获博士学位。2003 年底回国后担任卫生部北京老年医学研究所所长、研究员、中国协和医科大学博士研究生导师。近十年来, 主要从事动脉粥样硬化分子发病机制与冠心病的基因治疗和细胞治疗研究, 先后获得国家、卫生部、解放军和北京市科技进步奖 9 项; 享受国务院特殊津贴; 被授予全国第二届医学科技之星和卫生部有突出贡献的中青年专家称号。联系电话为 010-65237929, E-mail: lijianli@yahoo.com



[关键词] 病理学与病理生理学; 干细胞; 心肌梗死/治疗; 细胞移植

[摘要] 近年来, 干细胞包括骨骼肌成肌细胞、胚胎干细胞和骨髓干细胞已被应用于心肌再生。心肌梗死动物模型的实验研究表明, 干细胞移植改善了梗死心肌的功能, 但其作用机制尚不十分清楚。本文对干细胞移植治疗心肌梗死研究中取得的成就、目前的研究焦点和有待解决的问题以及临床应用的潜力做一个总的评述。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Transplantation of Stem Cells for the Treatment of Myocardial Infarction

LI Jian

(Beijing Institute of Geriatrics, Ministry of Health, Beijing 100730, China)

[KEY WORDS] Stem Cells; Myocardial Infarction; Cell Transplantation

[ABSTRACT] During the last few years stem cells including skeletal myoblasts, embryonic stem cells and bone marrow-derived stem cells have been proposed for myocardial regeneration. The experimental studies in animal models of infarction have documented the efficacy of stem cell transplantation in improving function of infarcted myocardium although the mechanisms involved in this improvement are not elucidated. This comment will try to present an overview of encouraging data, focus and questions on stem cells for treatment of myocardial infarction. I also provide my insight into the clinical potential for stem cell implantation.

冠状动脉粥样硬化性心脏病如心肌梗死是由于冠状动脉闭塞导致心脏血流供应中断而形成的以心肌细胞坏死为特征的疾病。心肌细胞是一种终末分化细胞, 故心肌损伤后不能通过细胞再生获得修复, 而是形成纤维化瘢痕。随后, 梗死区心室壁延展变薄, 发生心室重构, 成为心肌梗死患者后期出现心功能不全和心源性死亡的主要原因。目前临床上应用的治疗方法如药物治疗(溶栓)、冠状动脉介入治疗和冠状动脉旁路搭桥术可以使闭塞血管再通, 梗死心肌血运重建, 一定程度上限制和减轻心室重构的进展, 改善了患者的症状, 降低了病死率。但由于这些疗法无法促使梗死的心肌再生, 使心肌梗死患者的远期预后不能得到显著改善。另一种治疗方法是心脏移植, 因存在供体来源缺乏、免疫排斥、有创性及代价昂贵等问题而在应用上受到很大限制。因此

迫切需要探寻能够修复与再生坏死心肌细胞、阻止或延缓心室重构和心功能衰竭发生的新疗法。

细胞心肌成形术(cellular cardiomyoplasty, CCM)便是这样一种新的治疗手段, 它是在干细胞研究的基础上应运而生的, 通过干细胞移植促进心肌细胞再生、防止心室重构和改善心脏功能。目前国内外已尝试应用多种类型的干细胞移植治疗心肌梗死, 包括骨骼肌卫星细胞、胚胎干细胞和骨髓干细胞等。虽然还有许多尚待解决的问题, 但是动物实验乃至临床研究结果都展现了干细胞移植治疗心肌梗死的广阔前景。

1 骨骼肌卫星细胞

卫星细胞(satellite cells)是一种未分化的骨骼肌成肌细胞(skeletal myoblasts, SM), 主要位于骨骼肌基底层下, 在适当条件下可分化成有收缩能力的肌细胞。虽然存在于骨骼

肌中的卫星细胞较少,一般只有 3%~4%,但卫星细胞易于从骨骼肌中分离并能够在体外增殖,因此很容易得到足够数量的细胞用于细胞移植。科学家们在动物模型上做了骨骼肌卫星细胞移植治疗心肌梗死的尝试。他们结扎大鼠、新西兰白兔和小型猪左冠状动脉前降支远端,建立了急性前壁心肌梗死模型。再从同一动物的四肢骨骼肌中分离卫星细胞,经培养后通过心内膜下注射或经冠状动脉内注射进入梗死区边缘处。结果发现骨骼肌成肌细胞有效整合到受损心肌部位,改善了左心室的功能。免疫组织化学染色证实移植 2 个月 after 在梗死区有些细胞表达骨骼肌特异的肌浆球蛋白重链,超声心动图显示左心室射血分数增加 30%。动物实验的结果使人们认识到了卫星细胞移植在治疗心肌梗死中的潜在应用价值。此外,骨骼肌卫星细胞来源于受试的动物本身,不存在免疫排斥反应,也没有致癌的危险性。在实验研究基础上,一些学者开始了卫星细胞移植治疗心肌梗死的临床研究,他们在对急性心肌梗死存活者施行冠状动脉搭桥时经心外膜下心肌内注射骨骼肌卫星细胞或者应用心脏自动导航系统(NOGA)对不开胸的心肌梗死患者经心内膜下心肌内注射成肌细胞。这些卫星细胞取材于患者的股外肌,经分离、培养 2 周后再进行移植。超声心动图显示移植 3 个月 after 左心室射血分数从 26%±11% 增加到 40%±9%;MRI 显示左心室壁厚度从 0.9 mm 增加到 1.8 mm;PET 心肌显像证实移植后患者的梗死面积减少。这些结果表明,骨骼肌卫星细胞移植改善了心肌梗死患者左心室功能。然而,由于骨骼肌卫星细胞只能分化成骨骼肌细胞而非心肌细胞,在心肌内新生的骨骼肌细胞与宿主心肌细胞之间超微结构不同而无法直接形成电-机械耦联,与宿主心肌细胞收缩舒张不同步,导致心律失常,患者可能需要植入昂贵的心脏自动复律除颤起搏器。这些缺陷使人们对骨骼肌卫星细胞移植的有效性和安全性提出质疑。

2 胚胎干细胞

胚胎干细胞(embryonic stem cells, ES 细胞)是从胚胎发育过程中形成的胚泡内细胞团分离而来。ES 细胞具有两种特性:一是多潜能性,能分化成许多种类的细胞,包括心肌细胞。另一种特性为可增殖性。在胚胎成纤维细胞作为饲养细胞或者在白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)存在下,ES 细胞可以在体外增殖并维持非分化状态和保持其多潜能性。ES 细胞的这种特性受到转录因子 OCT4 和 STAT3 的调控。当 ES 细胞以胚小体(embryoid bodies, EB)的形式在没有 LIF 的条件下培养时,一些干细胞可以分化成心肌细胞。干细胞来源的心肌细胞表达一些收缩蛋白,例如心室肌肌球蛋白轻链 2(ventricular myosin light chain 2, MLC2V)和 β 肌球蛋白重链(β -myosin heavy chain, β -MHC)以及 α 肌动蛋白(α -actinin)等。因此在显微镜下可看到胚小体中有自发收缩的细胞团;电镜下观察到缝隙连接和桥粒,细胞内肌小节排列整齐;电生理也显示了典型的兴奋收缩耦联反应,表明这些已分化的具有收缩能力的细胞为成熟的心

肌细胞。业已证明,转录因子如肌细胞特异的增强因子 2C(myocyte specific enhancer factor 2C, MEF2C)、GATA4 和 NKX2.5 在心肌细胞分化过程中起关键作用,它们通过调控心肌特异的 MLC2V、 α -MHC、 β -MHC 等基因的表达促进 ES 细胞向心肌细胞分化。目前大部分实验室采用悬滴法(hanging drop)将 ES 细胞聚集成胚小体,在体外分化成心肌细胞。一般认为影响心肌细胞分化率的因素包括:(1)悬滴中的细胞数;(2)细胞培养基与胎牛血清;(3)生长因子如转化生长因子 β 1(transform growth factor- β 1, TGF- β 1)和胰岛素样生长因子 1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)等;(4)胚小体种植到 0.1% 明胶包被的培养皿的时间。此外,我们的研究结果发现,信号传导通路中的第二信使如钙离子和活性氧(reactive oxygen species, ROS)在心肌细胞分化中起重要作用。细胞内适当水平的钙离子和活性氧通过激活心肌特异的转录因子 MEF2C 调控心肌相关基因如 MLC2V 的表达,从而显著增强心肌细胞的分化。

通过胚小体自然分化得到的心肌细胞较少,一般只占 5%。因此需要从胚小体分化的众多类型细胞中筛选和富集心肌细胞。应用 percoll 密度梯度离心法能够富集一定纯度的心肌细胞,但如果直接用这些细胞进行细胞移植,将存在致癌的危险性。因此还需通过其它方法进一步纯化。一些实验室将心肌细胞特异的启动子与特殊表达基因如新霉素抗性基因或绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)基因融合,构建成真核表达载体。将启动子和表达基因导入 ES 细胞后,由于启动子只能特异地在心肌细胞中被激活,所以只有那些向心肌细胞分化的 ES 细胞能够表达新霉素抗性蛋白或 GFP。ES 细胞经体外分化后,可通过 G418(geneticin, 新霉素)筛选得到纯度>99%的心肌细胞或通过荧光激活细胞分类术(fluorescence activated cell sorting, FACS)得到 GFP 阳性的心肌细胞。目前已应用的特异启动子包括 α -MHC 启动子、 α 肌动蛋白(α -actin)启动子和 MLC2V 启动子,其中以 MLC2V 启动子的应用效果最佳,因为 α -MHC 启动子在所有心脏细胞中都起作用,包括心房肌细胞、起搏细胞等,所以经过 G418 或 FACS 筛选的细胞,是多种心脏细胞类型的混合物。与此相似,用 α -actin 启动子筛选得到的也是多种心脏细胞的混合物。这种混合细胞移植后,很可能导致心律不齐,不利于长期心功能的维持。而 MLC2V 启动子只可特异地在心室肌细胞中被激活,因此通过 FACS 筛选可得到纯化的心室肌细胞,为细胞移植治疗心肌梗死提供了很好的细胞源。

由于 ES 细胞在体外能定向分化为结构和功能典型的具有收缩能力的心肌细胞,而且这些分化的心肌细胞能够被富集和纯化,所以国外一些学者尝试在动物模型上应用 ES 细胞源性心肌细胞治疗心肌梗死。结果发现,将含有 GFP 基因的 ES 细胞源性心肌细胞移植到大鼠梗死的心脏,6 周后大鼠的心功能有显著改善。免疫荧光证实 GFP 基因在心脏表达,说明移植的心肌细胞能够在体内存活。GFP 和心肌特异的肌钙蛋白 I(Cardiac troponin I, cTnI)双染色阳性提

示移植的细胞已分化为成熟的心肌细胞。心肌细胞移植后促进心功能的恢复,得益于有功能的心肌细胞取代了瘢痕细胞而使梗死面积减少。另外,移植的细胞可以释放一些细胞保护因子,如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等,可以促进新生血管形成,改善心肌缺血,修复缺血组织。但有人根据体外实验结果认为 ES 细胞来源的心肌细胞其动作电位与正常心肌细胞有所差异,最大上升速率下降,动作电位间歇期延长,容易触发心律失常,并不适合于细胞移植。然而体内移植实验并未观察到此类现象。迄今为止,ES 细胞移植治疗心肌梗死还未用于临床研究。主要原因包括:(1) ES 细胞定向分化心肌细胞的效率低,难以纯化得到足够数量的心肌细胞;(2) ES 细胞移植后产生免疫排斥反应;(3) ES 细胞来源于囊胚期胚胎,对其进行研究和应用涉及到伦理学问题;(4) ES 细胞存在致瘤性,其安全性需进一步研究。鉴于这些原因,一些科学家探索应用骨髓干细胞治疗心肌梗死的可能性。

3 骨髓干细胞

骨髓干细胞包括造血干细胞(hematopoietic stem cells)和间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC),其中 MSC 是中胚层来源的具有多向分化能力的干细胞,在一定的诱导条件下能分化为骨细胞、脂肪细胞、成纤维细胞、血管内皮细胞、平滑肌细胞及心肌细胞等。与骨骼肌卫星细胞和胚胎干细胞相比,骨髓干细胞具有其特有的优势:(1)在一定条件下可诱导分化为心肌样细胞,这些新形成的细胞与宿主心肌细胞之间形成有效的电-机械耦联;这能弥补骨骼肌卫星细胞移植的缺点;(2)容易从自体采集,体外扩增也比较容易,避免了胚胎干细胞移植面临的伦理问题和致瘤的危险性;(3)自体骨髓干细胞移植不存在免疫排斥反应。因此,骨髓干细胞是用于治疗心肌梗死的较为理想的细胞来源。

体外培养、动物实验、人体研究均证实了骨髓干细胞移植治疗心肌梗死的潜力。大鼠骨髓 MSC 在体外经 5-氮胞苷(5-azacytidine)处理 2 周后可见有搏动的心肌细胞形成,电子显微镜下可见心肌细胞样超微结构,并可测到动作电位。细胞移植后 MSC 在受体心肌内生长良好,组织学检查可见 MSC 向心肌细胞转化并表达 MHC 和收缩蛋白以及心肌细胞特异转录因子 GATA4 和 NKx2.5,间隙连接蛋白 43(connexin43)阳性亦说明了与受体心肌细胞间形成了闰盘。MSC 植入后明显改善梗死后心肌的舒缩功能。在临床实践方面,Strauer 等首先将自体骨髓单核细胞移植应用于临床。在 10 名患者发生急性心肌梗死后 5~9 d 将细胞注入冠状动脉内,3 个月后进行观察。通过心肌单光子发射计算机断层(SPECT)、多巴胺负荷超声心动图和核素心室造影显示心肌梗死范围从 $30\% \pm 13\%$ 减少到 $12\% \pm 7\%$ ($P=0.005$),梗死壁活动速度从 2.0 ± 1.1 cm/s 增加到 4.0 ± 2.6 cm/s ($P=0.028$)。然而心脏射血分数虽然从 $51\% \pm 14\%$ 升高到 $53\% \pm 13\%$,但没有显著性差异。

目前,围绕着骨髓干细胞移植治疗心肌梗死的研究焦点主要包括几个方面:(1)细胞移植途径。目前有开胸后经心外膜心肌注射、应用 NOGA 系统经心内膜注射、外周静脉注

射、冠状静脉窦内注射和经冠状动脉导管梗死相关血管内注射等几种细胞移植途径,其中冠状动脉内注射较为直接同时创伤性少,可能是最有前途的移植途径。

(2)移植的细胞类型。目前用于移植的骨髓干细胞主要包括骨髓单核细胞、造血干细胞、MSC 和边缘细胞群(side population cells, SP 细胞)等。骨髓单核细胞不需要体外扩增和诱导分化,但由于混有大量的白细胞,可能会加重坏死心肌的炎症反应。骨髓造血干细胞数量较少,而且分离成本高。MSC 需要经过体外扩增、诱导及分化,但成本较低,且可获得大量细胞。SP 细胞是纯度高,组成均一的骨髓干细胞,可能将成为应用于移植的主要干细胞。此外,是选择单核细胞、MSC、造血干细胞和 SP 细胞还是定向诱导后的成熟细胞,抑或是处于这细胞之间的祖细胞来进行移植,还有待进行系统的比较研究。

(3)移植的时机。一般认为急性心肌梗死发生后的第 7~8 d 为细胞移植的最佳时机。一方面因为急性心肌梗死后引发炎症反应的高峰期在梗死发生后第 1~3 d,如果此时移植势必影响到移植细胞的存活。另一方面,心肌梗死发生 20 d 后梗死区域的肌血管壁将形成,从而妨碍移植细胞的迁移,因此在梗死后一周移植可以保障骨髓干细胞有效地迁移到梗死区域。此外,一些有助于干细胞迁移的生长因子如血管内皮生长因子的浓度在梗死后第 7 d 达到最高峰。

(4)影响骨髓干细胞迁移的因子。当机体发生心肌梗死时,一些因子能动员骨髓干细胞从骨髓迁移到受损心肌部位。这些因子包括干细胞因子(stem cell factor, SCF)、基质细胞源性因子 1(stromal cell derived factor 1, SDF-1)、粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)和 VEGF。

(5)骨髓干细胞的分化机制。这是目前最具争议的焦点问题。Orlic 等认为骨髓 MSC 移植后可分化成心肌细胞,其分化由两个关键因素决定,即损伤的组织环境和足够数量的多能干细胞。另外的研究表明,MSC 通过冠状动脉到达心肌损伤部位,在特殊微环境下形成心肌细胞的同时,也向成纤维细胞方向分化,促进瘢痕形成。最近, Nygren 等提出相反观点,他们的研究发现,移植后的骨髓干细胞不是分化成心肌细胞而是与心肌组织中的心肌细胞发生细胞融合。因此,骨髓干细胞能否分化成心肌细胞这一焦点问题还有待通过大规模深入的研究来阐明。

(6)骨髓干细胞的作用机制。动物实验和临床研究均证实,骨髓干细胞移植改善心脏功能,其作用机制可能涉及以下几个方面:①骨髓干细胞分化为血管内皮细胞和血管平滑肌细胞,直接形成新的血管来恢复缺血心肌的血液供应,拯救濒临凋亡的心肌细胞;②少数移植细胞可能分化成心肌细胞,改善心室功能;③移植细胞与宿主心肌细胞融合,直接参与宿主心脏收缩;④移植细胞能分泌促血管生长的细胞因子如 VEGF 和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF),促进侧支循环建立;⑤刺激宿主心肌组织分泌 VEGF,促进原血管系统的再生。

(7)骨髓干细胞移植的安全性。虽然自体骨髓干细胞移植避免了致瘤的危险性,但其安全性还需长期观察。最新的动物实验发现,经过骨髓干细胞移植后存活的急性心肌梗死

大鼠中有 28.5% 的心脏出现严重的钙化现象, 其机制尚未完全清楚。

4 展望

虽然干细胞移植为治疗心肌梗死提供了一种很有潜力的新手段。但要真正用于临床还需先解决一些应用中的关键问题。

由于骨骼肌卫星细胞移植存在致心律失常的危险性, 随着胚胎干细胞和骨髓干细胞研究的深入以及移植技术的不断完善, 骨骼肌卫星细胞移植将可能逐渐被摒弃。

胚胎干 (ES) 细胞能在体内外分化成功能良好的心肌细胞, 为细胞治疗提供优质充足的原材料。ES 细胞移植存在致瘤危险性的问题可以通过体外诱导 ES 细胞分化成心肌细胞并用纯化的心肌细胞进行移植来解决。因此 ES 细胞移植面临的首要问题就是免疫排斥。使用大量免疫抑制药物固然可以保证移植成功, 但会引起许多副反应如药物毒性反应、移植后淋巴组织增生、出现恶性肿瘤等, 所以单纯使用免疫抑制剂绝非上策。对 ES 细胞进行适当的改造, 例如将抑制免疫的分子如 Fas 配体整合进 ES 细胞或应用 RNA 干扰技术抑制 ES 细胞的主要组织相容性抗原 (MHC) 的表达, 就可以减少或消除宿主对移植细胞的免疫排斥。另外, 建立胚胎干细胞库也是一种选择, 估计只要建立 4000 个人 ES 细胞系就可以基本解决免疫配型问题。细胞核转移技术也能够成功解决免疫排斥问题。取宿主正常体细胞, 将其细胞核转入已去核的卵母细胞。体外培养发育到囊胚后就可以分离得到与宿主基因完全一致的 ES 细胞。用这种细胞移植, 基本上可以避免免疫排斥的发生。尽管技术难度很大, 但已有成功报道。相信, 随着克隆技术的发展, 这种方法定能发挥重要作用。此外, 另一个需要解决的问题是研究心脏发育机制, 使 ES 细胞能高效地分化成心肌细胞, 以得到能应用于临床的大量细胞。

在骨髓干细胞移植方面, 将来的发展方向可能有几个方面: 将细胞移植与传统治疗方法相结合, 例如细胞移植与心血管介入治疗或冠状动脉搭桥术联合应用不仅能改善心肌供血, 也能通过再生心肌细胞改善心室功能, 提高患者的生活质量, 延长其寿命; 细胞移植与药物如血管紧张素酶抑制剂或血管紧张素受体抑制剂联合应用, 可以重建梗死组织血管, 明显减少与心梗后左心室重塑相关的病残率和病死率; ④研究骨髓干细胞分化成心肌细胞的机制, 优化骨髓干细胞体外分化心肌细胞的条件, 最终应用自体骨髓干细胞来源的心肌细胞作为移植的细胞源; ⑤骨髓干细胞移植与基因治疗技术联合应用, 例如将促血管生成的基因如 VEGF 或增强细胞保护的基因如 IGF-1 导入骨髓干细胞, 以增强细胞治疗的效果。

理想的细胞心肌成形术应既能再生心肌, 又能促进心肌微血管生成, 实现心肌的主体修复, 以减少新生心肌细胞在缺血微环境中的电生理异常, 甚至再次损伤坏死。干细胞移植的研究将会沿着这个方向发展, 相信在不久的将来, 我们将真正看到干细胞移植治疗心肌梗死的时代到来。

[参考文献]

- [1] Hughes S. Cardiac stem cells. *J Pathol*, 2002, **197** (4): 468-478
- [2] Orlic D, Hill JM, Arai AE. Stem cells for myocardial regeneration. *Circ Res*, 2002, **91** (12): 1 092-102
- [3] Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P, Jones TR, Reedy MC, Hutcheson KA, et al. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nat Med*, 1998, **4** (8): 929-933
- [4] Menasche P, Hagege AA, Scorsin M, Pouzet B, Desnos M, Duboc D, et al. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet*, 2001, **357** (9252): 279-280
- [5] Smits PC, van Geuns RJ, Poldermans D, Bountiukos M, Onderwater EE, Lee CH, et al. Catheter-based intramyocardial injection of autologous skeletal myoblasts as a primary treatment of ischemic heart failure: clinical experience with six-month follow-up. *J Am Coll Cardiol*, 2003, **42** (12): 2 063-069
- [6] Siminiak T, Kalawski R, Fiszler D, Jerzykowska O, Rzeznicki J, Rozwadowska N, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for the treatment of postinfarction myocardial injury: phase I clinical study with 12 months of follow-up. *Am Heart J*, 2004, **148** (3): 531-537
- [7] Thompson RB, Emani SM, Davis BH, van den Bos EJ, Morimoto Y, Craig D, et al. Comparison of intracardiac cell transplantation: autologous skeletal myoblasts versus bone marrow cells. *Circulation*, 2003, **108** (Suppl 1): II264-271
- [8] Boheler KR, Czyz J, Tweedie D, Yang HT, Anisimov SV, Wobus AM. Differentiation of pluripotent embryonic stem cells into cardiomyocytes. *Circ Res*, 2002, **91** (3): 189-201
- [9] 蔡文杰, 朱依纯. 胚胎干细胞治疗心肌梗死的研究进展. *生理科学进展*, 2004, **35** (3): 205-209
- [10] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 1998, **282** (5391): 1 145-147
- [11] Doss MX, Koehler CI, Gissel C, Hescheler J, Sachinidis A. Embryonic stem cells: a promising tool for cell replacement therapy. *J Cell Mol Med*, 2004, **8** (4): 465-473
- [12] Li J, Pucaat M, Perez-Terzic C, Mery A, Nakamura K, Michalak M, et al. Calreticulin reveals a critical Ca²⁺ checkpoint in cardiac myofibrillogenesis. *J Cell Biol*, 2002, **158** (1): 103-113
- [13] 张少衡, 郭静莹, 周春燕, 张萍. 骨髓干细胞移植治疗心肌梗死的研究进展. *中华心血管病杂志*, 2003, **31** (3): 231-232
- [14] Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*, 2001, **410** (6829): 701-705
- [15] Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Kostering M, Hernandez A, Sorg RV, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation*, 2002, **106** (15): 1 913-918
- [16] Stamm C, Westphal B, Kleine HD, Petzsch M, Kittner C, Klinge H, et al. Autologous bone marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet*, 2003, **361** (9351): 45-46
- [17] Kocher AA, Schuster MD, Szabo MJ, Takuma S, Burkoff D, Wang J, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med*, 2001, **7** (4): 430-436
- [18] Nygren JM, Jovinge S, Breitbart M, Sawen P, Roll W, Hescheler J, et al. Bone marrow-derived hematopoietic cells generate cardiomyocytes at a low frequency through cell fusion, but not transdifferentiation. *Nat Med*, 2004, **10** (5): 494-501
- [19] Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, Nakajima H, Nakajima HO, Rubart M, et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature*, 2004, **428** (6983): 664-668
- [20] Yoon YS, Park JS, Tkebuchava T, Luedeman C, Losordo DW. Unexpected severe calcification after transplantation of bone marrow cells in acute myocardial infarction. *Circulation*, 2004, **109** (25): 3 154-157

(此文编辑 胡必利)