

[文章编号] 1007-3949(2006)14-07-0585-05

• 实验研究 •

## 骨髓间充质干细胞治疗心肌梗死后心功能衰竭的远期疗效

徐瑾, 王彬尧, 何奔, 王长谦, 陈颖敏, 李慧丽

(上海交通大学医学院附属仁济医院心内科, 上海市 200001)

[关键词] 内科学; 骨髓间充质干细胞; 2'-脱氧 5-氮杂胞苷; 细胞移植; 心肌梗死; 心功能衰竭; 慢性实验

[摘要] 目的 采用 2'-脱氧 5-氮杂胞苷诱导的骨髓间充质干细胞移植于心肌梗死后心功能衰竭大鼠心肌中, 评价其存活、分化及对心功能的保护作用, 并研究其慢性演变。方法 体外培养的 Wistar 大鼠骨髓间充质干细胞, 用 0.3 μmol/L 的 2'-脱氧 5-氮杂胞苷体外两次诱导第二代骨髓间充质干细胞, 并用溴脱氧尿苷标记后植入心肌梗死 10 天心功能衰竭大鼠的心肌疤痕中, 同时以注射无血清培养基的实验动物为对照。移植前及移植后 1、2、3 个月通过心脏射血分数等指标评价其对心功能的保护作用, 同时通过双重免疫组织化学及电镜观察对移植细胞的存活和分化进行 3 个月的慢性动态观察。结果 移植后 1 个月, 骨髓间充质干细胞移植组大鼠射血分数(83.3% ± 8.1%, n = 13) 高于无血清培养基移植组(47.2% ± 11.8%, n = 12) (P < 0.01); 并且细胞移植组移植后较移植前心功能(64.3% ± 10.4%) 也有改善(P < 0.01)。细胞移植组移植后第 2 个月(射血分数为 83.1% ± 14.4%, n = 7)、第 3 个月(射血分数为 86.3% ± 3.7%, n = 6) 心功能改善情况继续保持, 与无血清培养基移植组第 2 个月(射血分数为 51.6% ± 11.2%, n = 6)、第 3 个月(射血分数为 49.1% ± 7.7%, n = 6) 差异均有显著性(P < 0.01)。移植的骨髓间充质干细胞在心肌及疤痕中存活, 双重免疫组织化学证实其溴脱氧尿苷及肌钙蛋白 T 均阳性。电镜观察提示移植后 1 个月其在疤痕中具心肌样细胞部分特点, 但分化细胞核大浆少, 未形成明显肌小节及 Z 带; 移植后 3 个月, 可见明显 Z 带样结构。结论 经 2'-脱氧 5-氮杂胞苷诱导的骨髓间充质干细胞可改善心肌梗死后心功能衰竭大鼠的心功能, 并能长期保持(观察 3 个月); 其能在心肌梗死后心功能衰竭大鼠心肌及疤痕中存活, 并能逐渐向心肌细胞分化。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### The Protective Efficacy of Mesenchymal Stem Cells Transplantation on Infarction-Induced Heart Failure of Rats

XU Jin, WANG Bin-Yao, HE Ben, WANG Chang-Qian, CHEN Ying-Min, and LI Hui-Li

(Department of Cardiology, Renji Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200001, China)

[KEY WORDS] Mesenchymal Stem Cells; 5-Aza-2'-Deoxycytidine; Cell Transplantation; Myocardial Infarction; Heart Failure; Chronic Experiment

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the survival and differentiation of mesenchymal stem cells (MSC) in infarcted myocardium induced by 5-aza-2'-deoxycytidine (5-aza-CdR) and their effects on infarction-induced heart failure of rats. The chronic development was also studied. **Methods** MSC of Wistar rat were cultured in vitro and the second passage MSC were incubated together with 5-aza-CdR (0.3 μmol/L) for twice. Then the induced MSC labeled with bromodeoxyuridine (BrdU) were transplanted into the infarcted myocardium of rats in the model of infarction-induced heart failure. The rats receiving serum-free medium injection were used as controls. Before transplantation and 1, 2, 3 month (s) after transplantation, the parameters of heart function, such as ejection fraction (EF), were examined by echocardiography and the survival and differentiation of transplanted MSC were observed by double-label immunohistochemistry and electric microscope. Chronic changes were observed for 3 months. **Results** One month after transplantation, the EF value of MSC transplanted group (83.3% ± 8.1%, n = 13) was higher than that of control group (47.2% ± 11.8%, n = 12) (P < 0.01). The heart function of MSC transplanted group was also improved compared with that before transplantation (EF = 64.3% ± 10.4%, P < 0.01). The heart function of MSC transplanted group sustained during 3 months' observation. The EF value was 83.1% ± 14.4% (n = 7) and 86.3% ± 3.7% (n = 6) respectively 2 and 3 months after transplantation. While in serum-free medium transplanted group, the EF value was 51.6% ± 11.2% (n = 6) and 49.1% ± 7.7% (n = 6) respectively 2 and 3 months after transplantation. There was significant difference between two groups 2 and 3 months after transplantation (P < 0.01). The Transplanted cells were survival in myocardial scar. Double-label immunohistochemistry showed that BrdU and TroponinT of them were positive. Electric microscope showed

[收稿日期] 2005-07-20 [修回日期] 2006-06-23

[基金项目] 上海市自然科学基金(02ZB14038)

[作者简介] 徐瑾, 博士, 主治医师, 研究方向为干细胞移植在心血管疾病中的应用, E-mail 为 glactxujin@163.com。王彬尧, 主任医师, 博士研究生导师, 主要从事冠心病及心肌病心衰的研究。何奔, 主任医师, 博士研究生导师, 主要从事冠心病及心肌病心衰的研究。

that they had some peculiarity of cardiomyocytes 1 month after transplantation. But the nuclear was big and the cytoplasm was little. No sarcomeres and Z-bands could be found. 3 months after transplantation, Z-bands could be found in the transplanted cells. **Conclusion** 5-azacCdR induced MSC could improve the function in infarction induced heart failure of rats, and the effect could sustain during 3 months' observation. They could survive in the infarct scar of rats and differentiate into cardiomyocytes gradually.

冠心病急性心肌梗死后, 梗死区域心肌细胞丢失, 局部心肌丧失舒缩功能, 促发心力衰竭; 心室重构进一步加重心功能恶化。细胞移植可能提供心肌梗死后心功能衰竭治疗的新策略。骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC) 是骨髓中除造血干细胞以外的另一类干细胞, 离体在 5-氮杂胞苷类(5-azacytidine, 5-azacR) 物质诱导下, 能向心肌细胞分化<sup>[1]</sup>。文献[2]报道, MSC 在心肌中可向心肌细胞分化, 而在心肌梗死疤痕中则向成纤维细胞演变, 不具备心肌细胞样结构。但另有报道<sup>[3]</sup> MSC 在心肌梗死中能向心肌细胞分化, 肌浆球蛋白重链及肌钙蛋白 iv 染色阳性, 但不改善心功能。经 5-azacR 诱导后, MSC 能改善心功能, 但肌浆球蛋白重链染色阴性<sup>[4,5]</sup>。本研究将经 2' 脱氧 5-氮杂胞苷(5-azac2'-deoxycytidine, 5-azacCdR) 诱导后的 MSC 植入心肌梗死 10 天左右心功能衰竭大鼠心肌梗死中, 进行 3 个月的慢性观察, 通过双重免疫组织化学和电镜检查, 分析 MSC 体内分化转归, 并用心脏超声对心功能改善进行动态监测。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

同基因背景近交系 Wistar 大鼠, 雄性, 51 只(中科院上海实验动物中心提供)。2 只(200~250 g) 提供 MSC, 49 只(250~300 g) 建立动物模型作为移植对象。供体细胞和受体均取自该种动物可模拟自体移植效果。

### 1.2 细胞分离与培养

骨髓间充质干细胞分离培养基本按 Caplan 方法<sup>[6]</sup>。将 Wistar 大鼠麻醉致死, 无菌条件下取股骨、胫骨, 剔净肌肉后剪去长骨两端, 用 DMEM 培养基(购于 Gibco, 15% 胎牛血清) 冲洗骨髓腔获取骨髓细胞, 离心、混悬 2 次后以  $5 \times 10^9/L$  接种, 37℃、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度培养箱内培养。细胞每 3 天换液 1 次, 弃去非贴壁细胞, 生长到 80%~90% 汇合时用 0.25% 胰酶+0.02% EDTA 消化, 1:3 传代。传代 2 次后细胞用于进一步诱导、标记、鉴定及移植。

### 1.3 细胞诱导与标记

第 2 代 MSC 传代后第 3 天于培养基中加入 5-azacCdR, 终浓度为 0.3 μmol/L, 24 h 后换液。移植前再予 5-azacCdR 处理 24 h。移植细胞用溴脱氧胞苷

(bromodeoxyuridine, BrdU) 标记便于在受体心肌中辨别。移植前 2 天在培养基中加入 BrdU, 终浓度为 0.01 g/L, 24 h 后换液, 继续培养 24 h(此时给予第 2 次 5-azacCdR 诱导) 后, 进行细胞鉴定、移植。

### 1.4 细胞免疫组织化学分析

将上述诱导标记后的 MSC 用 10% 中性福尔马林固定 10 min, PBS 液振荡 3 次, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 液 37℃ 10 min 阻断内源性过氧化物酶后与一抗 4℃ 孵化过夜。一抗包括 Vimentin(DAKO, 1:100 稀释)、CD34(DAKO, 即用型)、抗 BrdU 单抗(Sigma, 1:800 稀释)。加抗 BrdU 单抗前需 2 mol/L 盐酸 37℃ 30 min 进行 DNA 变性。PBS 液代替一抗作为阴性对照。其他步骤按即用型第二代免疫组织化学 EliVision™ plus 广谱试剂盒(福州迈新) 操作程序进行。最后苏木素复染, 脱水, 透明, 中性树胶封片, 镜检。400 倍的高倍视野下每张切片随机取 5 个视野, 计算每个视野中阳性与阴性细胞数, 取均值后计算阳性细胞所占比例。

### 1.5 心肌梗死后心功能衰竭模型建立及骨髓间充质干细胞移植

49 只 Wistar 大鼠, 随机分为假手术组(8 只) 和心肌梗死组(41 只)。大鼠在呼吸机支持下, 经左外侧开胸切口暴露心脏。假手术组撕开心包后即关胸。心肌梗死组于左冠状动脉前降支下置 6-0 缝合线结扎, 成功者可见左心室前壁心肌变紫变白并活动障碍, 心电图有 ST 段及(或) T 波改变。术后 10 天心脏超声检测心功能后, 心肌梗死组分成细胞移植组和假移植组, 经第 2 次开胸行心外膜注射移植。将诱导、标记后的 MSC 消化、离心, 用无血清 DMEM 稀释成  $2 \times 10^7/L$ , 分 3 点注入细胞移植组大鼠左心室疤痕上、中、下 3 处。假移植组给予等体积 DMEM。

### 1.6 超声多普勒检测心功能

动物造模后 10 天(移植前) 和移植后 1、2、3 个月用超声(HP5500) 检测心功能。以 HP 小动物超声探头(15 MHz) 在大鼠胸骨旁以二维超声和 M 型超声进行心脏形态和功能检测, 舒张期末和收缩期末左心室长轴面包括心尖部、后乳头肌、二尖瓣和主动脉瓣。测量指标有室间隔厚度(interventricular septal thickness, IVST)、左心室舒张期末内径(left ventricle end-diastole diameter, LVDd)、肺动脉嵌压(pulmonary artery wedge pressure, PW)、左心室收缩期末内径(left

ventricle end systolic diameter, LVSD)、二尖瓣和主动脉瓣血流峰值。射血分数(ejection fraction, EF)、左心室缩短分数(fractional shortening, FS)通过 M 型超声按 HP5500 的 Teich 模式获得。FS = (LVDD - LVSD)/LVDD × 100%。EF = (左心室舒张期末容积 - 左心室收缩期末容积)/左心室舒张期末容积 × 100%。

### 1.7 心肌双重免疫组织化学检查

移植后 1 个月, 超声检测心功能后, 两组分别随机处死 6 只大鼠做组织学检查, 所剩大鼠(细胞移植组 7 只, 假移植组 6 只)进一步随访。取出处死大鼠的心脏, 沿冠状沟剪去心房, 将心室沿长轴切成 4 段, 用 10% 中性福尔马林固定, 脱水, 石蜡包埋, 制成 4 μm 连续切片, 行 HE 染色和抗 BrdU、TroponinT 双重免疫组织化学检查。石蜡切片经脱蜡、水化后, 经 2 mol/L 盐酸 37 °C 30 min DNA 变性, 胰酶 37 °C 15 min 抗原修复, 其余步骤按 DouSP™ 免疫组织化学双染试剂盒(福州迈新)操作程序进行。第一次第一抗体为抗 BrdU 单抗(Sigma, 1: 800 稀释), 4 °C 孵化过夜, 采用 BCIP/NBT/碱性磷酸酶系统, 阳性显色为紫黑色。第二次第一抗体为 TroponinT (Neomarker, 1: 100 稀释), 4 °C 孵化过夜, 采用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/AEC/过氧化酶系统, 阳性显色为深红色。PBS 液代替一抗作为阴性对照。最后苏木素复染, 水冲洗返蓝, 水性封片剂封片, 烘干镜检。

### 1.8 电镜检查

移植后 1、3 个月, 随机取细胞移植组大鼠(各 2 只)左心室部分心肌(包括疤痕及周围心肌)用于电镜检查。组织取材迅速, 立即浸入 2% 戊二醛固定。组织块修成约 1 mm<sup>3</sup>。

### 1.9 统计学分析

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 统计学方法采用 *t* 检验。

## 2 结果

### 2.1 骨髓间充质干细胞的培养

细胞接种 24 h 后可见部分大圆形单核细胞贴壁, 36~ 48 h 后见贴壁的单核细胞增多, 经过 2~ 4 天休眠状态后, 细胞开始成指数形式快速增殖, 并长出突起而呈现梭形或扁平形, 绝大部分成纤维细胞样, 5~ 6 天形成分散的集落, 12~ 14 天后即达到 80%~ 90% 汇合, 予 1: 3 传代。传代后 MSC 呈圆形, 迅速贴壁、伸展, 重新变为梭形或扁平型细胞, 以后一般 7 天达 80%~ 90% 汇合而传代 1 次。造血干细胞非贴壁生长, 随着每次换液逐步减少, 一般 2

次传代后可获得较纯的 MSC。第二代 MSC 经 5-azacCdR 两次诱导后, 没有明显形态学改变, 经 BrdU 标记, 达 80%~ 90% 汇合后用于移植。移植前 MSC 免疫组织化学结果示: Vimentin 阳性(胞质染色阳性)率接近 100%(图 1A), CD34 染色阴性, BrdU 有效阳性(胞核染色阳性)标记率为(77.5 ± 1.3)%(图 1B)。

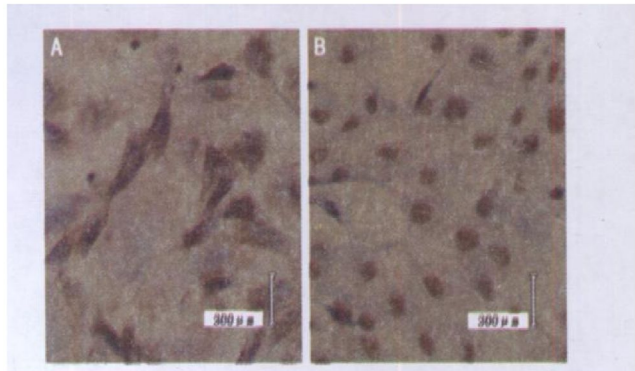


图 1. 骨髓间充质干细胞培养细胞 Vimentin 和 BrdU 免疫组织化学结果 (×200)

### 2.2 大鼠心功能测定及存活率情况

假手术组大鼠术后 10 天存活率 100% (8/8), 此时心功能 (EF = 91.6% ± 3.8%, FS = 58.7% ± 6.5%, *n* = 8) 与术前 (EF = 93.6% ± 1.9%, FS = 62.1% ± 3.9%, *n* = 8) 差异无显著性 (*P* > 0.05)。心肌梗死组大鼠术后 10 天存活率 78.0% (32/41), 此时 29 只大鼠 EF ≤ 80% (EF = 61.2% ± 12.0%, FS = 30.3% ± 8.0%, *n* = 29), 与假手术组术后 10 天相比心功能下降 (*P* < 0.01), 说明心肌梗死后心功能衰竭模型建立成功。将这 29 只大鼠随机分为细胞移植组 (EF = 61.8% ± 11.9%, FS = 29.7% ± 7.5%, *n* = 15) 和假移植组 (EF = 60.8% ± 12.6%, FS = 30.9% ± 8.8%, *n* = 14), 移植前两组心功能差异无显著性 (*P* > 0.05)。移植后 1 个月存活率分别为 86.7% (13/15) 和 85.7% (12/14), 心功能检测发现: 细胞移植组大鼠移植后较移植前心功能有改善 (*P* < 0.01, *n* = 13), 与假移植组相比, EF、FS 均有提高 (*P* < 0.01), 而假移植组大鼠移植后与移植前比心功能进一步恶化 (*P* < 0.01, *n* = 12) (表 1)。移植后 1 个月, 两组分别随机处死 6 只大鼠做组织学检查, 所剩大鼠进一步随访。移植后第 2、3 个月再次行心功能测定, 结果发现: 细胞移植组大鼠心功能改善情况继续保持, 与移植后 1 个月比差异无显著性 (*P* > 0.05), 并在相同随访期(第 1、2、3 个月), 其心功能明显优于假移植组 (*P* < 0.01); 而假移植组大鼠心功能随时间推移未发生改善, 与移植后 1 个月比差异无显

著性( $P > 0.05$ ) (表 2)。

表 1. 移植前与移植后 1 个月大鼠心功能测定结果

分 组	n	EF		FS	
		移植前	移植后 1 个月	移植前	移植后 1 个月
细胞移植组	13	64.3% ±10.4%	83.3% ±8.1% <sup>ab</sup>	31.5% ±6.4%	48.8% ±9.4% <sup>ab</sup>
假移植组	12	61.7% ±11.9%	47.2% ±11.8% <sup>a</sup>	31.6% ±8.6%	21.1% ±6.3% <sup>a</sup>

a 为  $P < 0.01$ , 与移植前比较; b 为  $P < 0.01$ , 与假移植组移植后 1 个月比较。

表 2. 移植后大鼠心功能随访情况

	细胞移植组 (n = 7)		假移植组 (n = 6)	
	EF	FS	EF	FS
移植前	64.0% ±3.0%	31.6% ±2.4%	63.9% ±5.0%	31.9% ±3.1%
移植后 1 个月	84.5% ±7.6% <sup>a</sup>	49.7% ±9.3% <sup>a</sup>	51.5% ±10.9%	23.4% ±6.0%
移植后 2 个月	83.1% ±14.4% <sup>a</sup>	50.7% ±15.4% <sup>a</sup>	51.6% ±11.2%	23.9% ±6.8%
移植后 3 个月	86.3% ±3.7% <sup>a</sup>	51.0% ±4.8% <sup>a</sup>	49.1% ±7.7%	22.1% ±4.2%

a 为  $P < 0.01$ , 与假移植组移植后同时期比较; 细胞移植组第 3 个月心功能测定为 6 只大鼠 (1 只死于麻醉意外)。

### 2.3 骨髓间充质干细胞在心肌内生长分化情况

2.3.1 心肌双重免疫组织化学结果 移植后 1 个月, 细胞移植组与假移植组大鼠心肌梗死区域均有纤维组织(疤痕), 在疤痕组织内可见心肌肌束形成的肌岛, 但在细胞移植组心肌梗死疤痕中的肌岛数目较假移植组多。在 6 只细胞移植组大鼠中均发现有 BrdU 标记阳性细胞, 进一步双重免疫组织化学染色分析发现, 有部分 BrdU 标记阳性细胞肌浆中 cTnT 染色阳性(图 2)。移植后 3 个月, 可能 BrdU 示踪标记存在衰减, 在移植心肌中未发现 BrdU 标记阳性细胞。

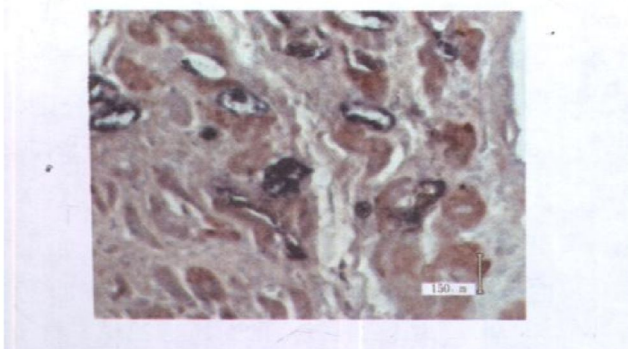


图 2. 心肌双重免疫组织化学结果( $\times 200$ ) 部分 BrdU 阳性细胞(胞核蓝黑色, 有染色质周边浓集现象)胞质 cTnT 染色阳性(胞质红色)。

2.3.2 电镜检查结果 移植后 1 个月, 在心肌梗死疤痕中, 有外来移植细胞存在: 有的细胞较长, 胞核大, 两边钝圆, 类似心肌细胞核(不像成纤维细胞,

其核两边呈梭形), 内常染色质与异染色质共存, 异染色质比例较高, 细胞质不丰富, 内有线粒体与较多刚发育的肌丝, 排列不规则, 但未形成肌小节与 Z 带。移植后 3 个月, MSC 进一步向心肌细胞分化, 有类似心肌细胞的核象: 核呈椭圆形, 位于细胞中央, 核内常染色质比例明显增多, 核浆比例下降; 并在胞质中有部分排列规整的肌丝, 交错形成 Z 带(图 3)。

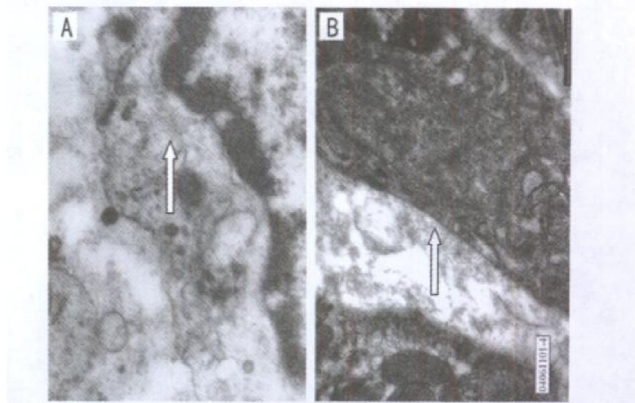


图 3. 心肌电镜检查结果 A 为移植后 1 个月( $\times 10\,000$ ); B 为移植后 3 个月( $\times 12\,250$ )。

### 3 讨论

进行心肌细胞<sup>[7]</sup>、骨骼肌卫星细胞<sup>[8]</sup>、平滑肌细胞<sup>[9]</sup>或 MSC<sup>[4]</sup>移植, 能改善受损心肌心功能, 但 MSC 取材方便, 并在体外能分化为心肌样细胞, 形成缝隙连接, 可能产生同步收缩<sup>[11]</sup>。体内研究结果不一, 对 MSC 能否向心肌细胞分化、改善心功能及对心肌连接蛋白 Connexin43 的表达均有不同报道<sup>[2-5]</sup>。

本研究发现, MSC 在体外经 5-azacCdR 预诱导后再植入心肌疤痕中, 1 个月后, 部分细胞具有心肌样细胞特点: 胞质中心肌特异性肌钙蛋白 T 呈阳性, 电镜观察发现胞质中排列不规则的肌丝结构; 但胞核大, 内常染色质与异染色质共存, 异染色质比例较高, 细胞质不丰富, 未发现肌小节与 Z 带形成, 说明是比较原始的心肌细胞。移植后 3 个月, MSC 进一步向心肌细胞分化, 有类似心肌细胞的核象: 核呈椭圆形, 位于细胞中央, 核内常染色质比例明显增多, 核浆比例下降; 并在胞质中有部分排列规整的肌丝, 交错形成 Z 带。说明 MSC 经过 2 次 5-azacCdR 体外预诱导, 在心肌疤痕这一微环境中也能向心肌细胞分化, 具有心肌细胞特点, 补充疤痕中的肌细胞, 形成更多的肌岛; 且随时间推移, 未出现排异反应, 反而更利于向心肌细胞分化, 形成 Z 带, 在 3 个月的观察期内, 能持续改善心功能。

目前认为 5-azacCdR 作为 DNA 脱甲基化物质, 可能改变基因表达<sup>[10]</sup>, MSC 体外经 5-azacCdR 2 次诱导后短期培养, 其肌性细胞的蛋白表型虽然阴性, 但在 DNA 或 RNA 水平可能已向心肌细胞分化, 随后将诱导后的 MSC 植入心肌梗死 10 天的大鼠心肌疤痕中, 局部的心脏环境可能进一步利于其向心肌细胞分化。各种因素包括心腔内的压力作用、心脏舒缩的牵拉作用以及电信号传导刺激等可能诱导 MSC 向心肌细胞分化, 促发细胞间的连接并改变细胞外的基质构成。

文献[5]报道, BrdU 标记的移植细胞在心肌梗死疤痕中 4 周后能分化为 cTnI 阳性细胞, 并形成 Z 带及肌小节。但该结论是通过连续切片分别作 BrdU 染色与 cTnI 染色对比得出的, 且没有电镜支持, 可能不很确切。双重免疫组织化学染色是在同一张切片上进行同一细胞两种蛋白表型的分析, 两种蛋白表型在细胞中需定位不同才能分辨。BrdU (阳性染色部位在胞核) 与 cTnI (阳性染色部位在胞质) 的双重免疫组织化学染色对研究移植细胞的分化情况具有较准确的价值。本研究通过双重免疫组织化学染色发现, 移植后 1 个月心肌梗死疤痕中有移植的 MSC (BrdU 阳性) 分化为心肌样细胞 (cTnI 阳性), 但未发现形成 Z 带与肌小节, 电镜检查也支持该现象。在心肌疤痕中存在肌小节 (cTnI 阳性) 构成的肌岛, 肌细胞中间夹杂 BrdU 阳性细胞形成的血管与之紧邻, 如通过连续切片对比分析的方法, 可能会得出移植的 MSC (BrdU 阳性) 能形成具有 Z 带与肌小节的

肌岛的错误结论。

本研究发现细胞移植组心肌梗死疤痕中形成的肌岛明显多于假移植组, 除与 MSC 向心肌细胞分化有关外, 可能还与 MSC 分化为血管内皮细胞有关。新生的血管内皮细胞形成微血管, 改善微循环, 使大量冬眠心肌复苏而恢复舒缩活力, 避免了冬眠心肌缺血、缺氧而凋亡。可能正是由于 MSC 在心肌梗死疤痕中分化出类心肌细胞进行肌细胞补充, 以及在缺血区再生侧支微小血管改善局部血液灌注, 使冬眠心肌恢复舒缩功能, 改变了心肌梗死后左心室重构的过程, 使心肌梗死后心功能衰竭大鼠的心功能有明显改善。移植后 1 个月, 细胞移植组大鼠 EF 较假移植组明显提高 ( $P < 0.01$ ); 并且细胞移植组移植后 1 个月心功能较移植前也有改善 ( $P < 0.01$ )。在 3 个月的观察期内这一改善作用持续保持, 细胞移植组大鼠移植后第 2、3 个月心功能在相同随访期内明显优于假移植组 ( $P < 0.01$ )。

本研究发现 MSC 移植于心肌梗死后心功能衰竭大鼠心肌梗死区域, 能分化为心肌样细胞, 形成 Z 带; 并且可长期改善心功能, 这为今后临床进一步应用带来无限信心与希望。

#### [参考文献]

- [1] Makine S, Fukuda K, Miyoshi S, Konishi F, Kodama H, Pan J, et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro [J]. *J Clin Invest*, 1999, **103** (5): 697-705
- [2] Wang JS, ShumTim D, Chedrawy E, Chin RC. The coronary delivery of marrow stromal cells for myocardial regeneration: pathophysiologic and therapeutic implications [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2001, **122** (4): 699-705
- [3] Tomita S, Li RK, Weisel RD, Mickle DA, Kim EJ, Sakai T, et al. Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function [J]. *Circulation*, 1999, **100** (19suppl): II247-II256
- [4] Tomita S, Mickle DA, Weisel RD, Jia ZQ, Tumiati LC, Allidina Y, et al. Improved heart function with myogenesis and angiogenesis after autologous porcine bone marrow stromal cell transplantation [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2002, **123** (6): 1132-1140
- [5] Bittira B, Kuang JQ, Al-Khalidi A, ShumTim D, Chiu RC. In vitro preprogramming of marrow stromal cells for myocardial regeneration [J]. *Ann Thorac Surg*, 2002, **74** (4): 1154-1160
- [6] Caplan AI. Mesenchymal stem cells [J]. *J Orthop Res*, 1991, **9** (4): 641-650
- [7] Li RK, Weisel RD, Mickle DA, Jia ZQ, Kim EJ, Sakai T, et al. Autologous porcine heart cell transplantation improved heart function after a myocardial infarction [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2000, **119** (1): 62-68
- [8] Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P, Jones TR, Reedy MC, Hutcherson KA, et al. Regeneration functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation [J]. *Nat Med*, 1998, **4** (10): 929-933
- [9] Li RK, Jia ZQ, Weisel RD, Merante F, Mickle DA. Smooth muscle cell transplantation into myocardial scar tissue improves heart function [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1999, **31** (3): 513-522
- [10] Taylor SM. 5-Azaz-2-deoxycytidine: cell differentiation and DNA methylation [J]. *Leukemia*, 1993, **7** (Suppl 1): 3-8

(此文编辑 许雪梅)