

· 综述 ·

干细胞移植治疗心脏病的研究现状及进展

王有 刘海明 张晋 (综述) 王宇玫 (审校)

1 概况

急性心肌梗死及其所致的心力衰竭是当今全世界范围的主要死因^[1]。目前冠状动脉再血管化及一些药物治疗如 β 阻滞剂、血管紧张素转换酶抑制剂等虽能抑制心脏重构,但作用十分有限。现在利用干细胞的可增殖及再分化特性进行细胞移植,达到局限疤痕组织、外源性补充潜在的心肌前体细胞,促进心脏恢复和重建,逐渐成为心脏疾病特别是缺血性心脏病的新疗法。

1.1 细胞类型 已有不少类型的干细胞被用于心肌修复的研究。出于免疫考虑,目前用于临床的仍多为自体干细胞,包括来源于骨髓、外周血的各种干细胞和横纹肌来源的成肌细胞。

初步临床研究显示,对急性心肌梗死患者进行局部干细胞移植是安全的,且能改善患者的心脏功能状态和心肌灌注状况。骨髓中含有多种类型的干细胞,如造血干细胞、内皮前体细胞、间充质干细胞和多潜能成体干细胞。在动物试验和临床研究中,用于移植的细胞有非选择性的骨髓单个核细胞,也有其中的某一特定亚群。目前认为多种前体细胞混合体似乎比某一特定类型的干细胞更利于心脏修复^[2],其可能机制为:促进血管新生、促进疤痕形成、减少细胞凋亡、促进梗死后心肌恢复。

利用干细胞修复疤痕组织非常困难,因疤痕中缺乏足够的营养以及干细胞生存和迁移所必需的信号因子,一般的干细胞植入后大部分难以存活^[3]。成肌细胞具有稍强的耐缺氧能力,具有一定生存优势,因此更适合用于陈旧心梗及心衰的患者;另外,成肌细胞能够保持肌细胞特性,并极少与周围心肌细胞产生同步收缩^[4]。还有研究显示,成肌细胞还可通过旁分泌作用使周围心肌细胞保持繁殖潜能并

刺激心肌干细胞的分化^[5];但是,电机械偶联的缺乏所致心律失常是成肌细胞的主要缺陷^[6]。

1.2 移植方式 到目前为止,用于修复心肌的干细胞主要有以下几种移植方式:通过冠脉内注射、直接室壁注射、经皮心内膜下注射和外科心外膜下注射。

冠脉内注射可以最大限度地应用于干细胞,使干细胞通过血运到达损伤部位。这一注射方式多用于急性心肌梗死介入治疗过程中,通过导尿管腔内给药并利用球囊的膨胀使细胞最大限度地到达梗死相关动脉。但是对于无法灌注的区域这一方法无益。另外这种方式不适合用于成肌细胞的移植,因成肌细胞体积较大,容易产生远端堵塞。

直接注射是治疗慢性缺血性心脏病的较好途径。各种晚期心脏病往往伴有较多疤痕组织,局部一些影响干细胞功能的细胞因子如内皮细胞生长因子和干细胞趋化因子的表达水平较低,因此通过冠脉内的移植方式成功率较低^[7];而且直接注射对于体积较大的细胞如成肌细胞和骨髓间充质干细胞更合适。通过导管或在外科手术时将干细胞注射到疤痕组织和或者冬眠心肌区域,也可避免细胞类型的选择和栓塞问题。通过电机械标测注射的移植方法多用于注射到冬眠心肌中,心外膜下注射多用于冠脉搭桥附近的区域。近年报道了一项新的技术,通过冠状静脉用特殊的导管在荧光和血管内超声的引导下直接心肌注射^[8]。

2 干细胞治疗心脏疾病的临床研究

2.1 急性心肌梗死 Assmus等^[9]率先进行了临床自体骨髓干细胞治疗急性心肌梗死的临床试验,对10例急性心肌梗死患者在梗死后5~9d通过冠脉内途径注射骨髓单个核细胞。治疗后3个月随访结果显示,患者的梗死面积明显缩小,心脏功能显著改善,且无明显副作用,证明了干细胞移植方法的可行性、安全性和有效性。随后陆续进行了一系列小规模的研究,如TOPCARE-AMI、BOOST^[10,11]等。这些研究结果均显示在3~6个月的随访中,患者心功能改善,效果甚至可持续1年且无明显

收稿日期:2007-05-24

作者单位:122100 北京市,北票市第一人民医院心内科(王有、刘海明);
100071 北京市,解放军307医院心肾科(张晋)

作者简介:王有,男,1970年6月生,辽宁北票市人,医学学士,主治医师,心内科主任。Tel:13591862206, E-mail: wangd1969@yahoo.com.cn

副作用,但18个月后心脏功能变化的差异已不明显^[12]。

最近进行了 REPAIR-AMI 研究,采用严格的随机双盲安慰剂对照的方式,204名患者进入研究计划,在急性心肌梗死后的第3~7天给予移植骨髓前体细胞或者安慰剂。4个月的随访结果显示,在细胞移植组的心脏左室整体功能明显好于对照组^[13];1年后,冠脉内骨髓前体细胞移植组的联合终点事件如死亡和再发的心肌梗死以及再血管化治疗明显低于对照组。但与此结果相反,另一项近期发表的 ASTAMI 研究表明,6个月随访并未发现骨髓前体细胞移植对左室整体功能有改善^[14]。上述两个研究结果的差异原因尚不清楚,推测可能与不同的干细胞分离处理过程有关。

由于获取骨髓干细胞或者成肌细胞的过程为有创性,在 TOPCARE-AMI 中研究者尝试采用分离外周血中的前体细胞进行移植。由于外周循环中这类细胞数量不足,需要进行体外扩增或者用一些刺激因子进行动员,如干细胞因子或者粒细胞集落刺激因子 (granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)。G-CSF 在动员骨髓干细胞进入循环,同时将一些免疫细胞带入循环,增加一些非特异性的炎症反应。在 MAGIC 的随机研究中^[15],将27名急性心肌梗死患者分为干细胞移植组($n=10$)、仅用 G-CSF 组($n=10$)和对照组($n=7$)三组,结果 G-CSF 组和前体细胞组在短期内并未显现出明显的炎症反应增加。6个月后的运动试验、心肌灌注和收缩功能评估显示,细胞移植组的患者有显著改善,而注射 G-CSF 组有较高的血管再狭窄率。但一些其它类似的相关研究,未发现再狭窄的情况^[16]。FIRSTLINE-AMI 研究对急性心肌梗死介入重建血运的患者注射 G-CSF,12个月后 G-CSF 组患者的 LVEF 提高8%,而对照组却下降5%,研究中未有炎症反应增加、血栓形成、心电不稳定及再狭窄率增加的情况。近期另一项随机双盲安慰剂对照的 II 期临床研究显示,如择期进行血管介入治疗,则 G-CSF 的治疗未见益处。MAGIC 研究的2年随访结果显示,冠脉内注射 G-CSF 动员后的外周血前体细胞比单纯用 G-CSF 本身效果更好。提示仅用 G-CSF 本身尚不足产生足够的干细胞归巢到病变组织,如事先采用 G-CSF 动员后再将分离的外周血前体细胞通过冠脉注射,可以显著提高心室的整体功能并且降低心室容积^[17]。

2.2 慢性缺血性心脏病 Menasche 等^[5]首先报道

了用成肌细胞移植治疗严重的缺血性心肌病。平均随访时间10.9个月,移植组患者心脏的左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)明显提高,但4/10的患者出现了持续性室速,必须植入埋藏式自动除颤器(implantable cardioverter defibrillator, ICD),同时还可见到明显的再血管化现象。17个月后其中1人死于非心脏疾病,尸检心脏时发现了移植的骨骼肌细胞,显示了这些细胞在局部环境中的存活能力。患者的临床表现和 LVEF 的改善一直持续,而在随后的中位随访时间为56个月的过程中,患者因心衰所致再住院率明显降低,但部分患者须通过药物和植入 ICD 控制心律失常。其他一些 I 期临床研究结果也提示自体成肌细胞移植可行,具有很好的安全性,为终末期心脏病患者提供了一个新的治疗手段^[18]。在一项随机双盲安慰剂对照的 II 期临床研究中^[19],97例患者在心脏搭桥的过程中分别移植低剂量、高剂量干细胞和安慰剂,结果干细胞移植组并未显现出节段性和整体的功能改善,也未增加心律失常的危险,在高剂量细胞组可以看到有左室重构的逆转和局部射血分数的改善。但仍需进行更大规模的临床对照研究。

除成肌细胞外,骨髓单个核细胞也被用来作为缺血性心肌病的细胞治疗探讨。Stamm 等^[19]进行了初期的临床研究,取骨髓 CD133 阳性细胞在搭桥手术时注射到梗死的边界区域,节段性室壁运动分析显示注射的局部心肌血供有明显改善,左室内径和 LVEF 有所提高,且未见明显的副作用如室性心律失常和肿瘤。另一项随机对照研究给18例患者经冠脉内进行干细胞移植^[20],3个月随访显示心梗面积缩小30%,LVEF 和室壁运动速度明显增高,梗死组织葡萄糖摄取率和最大氧耗也有所改善,而对照组无明显改善。提示梗死心肌和组织慢性衰亡区域的确出现了细胞移植后功能和代谢上的恢复。一些 I 期临床研究用电标测方法经皮通过心内膜下移植干细胞^[21~23],移植后患者症状、心肌功能和缺血区域功能均有所改善,且无明显的副作用,如心律失常、心肌炎症以及瘢痕的增加。

3 干细胞治疗中尚未解决的问题

临床前期的研究对干细胞移植治疗心脏疾病提出了许多重要的问题,如干细胞移植的时机、方式、适应证,以及长期疗效的判定和其可能的机制,这些有希望在随后的大规模临床研究中得到证实和逐渐解决。目前正在进行的一些临床研究^[24,25]将进一

步验证干细胞在心脏功能的标记如 LVEF、心肌灌注和运动耐量的效果以及此项操作技术的长期安全性。

虽然在许多干细胞治疗的前期临床研究中观察到一些益处,但是仍有不少重要的问题如不同疾病中所用的细胞类型、数量和移植时机都需要进一步探讨。理论上,细胞移植的时间可能会因太早而被炎症的环境吞噬,太晚又难以在瘢痕组织中建立干细胞和心肌细胞的有效连接。关于干细胞移植后的长期命运尚无长期的实验观察。此外,还需发展细胞的标记显示技术以便追踪患者体内的干细胞,观察其滞留、分布以及与功能结果的关系。药物和基因的干预可能会对干细胞的存活、移植、分化和旁分泌能力产生影响,但这些都需进行深入的研究^[25]。

4 小结

干细胞移植治疗对缺血性心脏病目前仍属于研究性治疗技术,虽然前期和小规模临床研究显示其能够恢复心肌梗死后的心脏功能,但对于技术本身、安全性和长期的临床效果尚不肯定。因此,干细胞移植目前尚不能作为心血管疾病治疗的一项选择,还需要大规模随机对照的临床研究来验证干细胞治疗的短期和长期疗效以及临床适应证。

参考文献

- [1] Cohn JN, Bristow MR, Chien KR, et al. Report of the National Heart, Lung and Blood Institute special emphasis panel on heart failure research. *Circulation*, 1997, 95: 766-770.
- [2] Wollert KC, Drexler H. Cell based therapy for heart failure. *Curr Opin Cardiol*, 2006, 21: 234-239.
- [3] Dowell JD, Rubart M, Pasumarthi KB, et al. Myocyte and myogenic stem cell transplantation in the heart. *Cardiovasc Res*, 2003, 58: 336-350.
- [4] Memon IA, Sawa Y, Fukushima N, et al. Repair of impaired myocardium by means of implantation of engineered autologous myoblast sheets. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2005, 130: 1333-1341.
- [5] Menasché P, Hagege AA, Vilquin JT, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol*, 2003, 41: 1078-1083.
- [6] Lee MS, Lill M, Makkar RR. Stem cell transplantation in myocardial infarction. *Rev Cardiovasc Med*, 2004, 5: 82-98.
- [7] Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, et al. Transcatheter, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation*, 2003, 107: 2294-2302.
- [8] 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: 1913-1918.
- [9] Assmus B, Schachinger V, Teupe C, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation*, 2002, 106: 3009-3017.
- [10] Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, et al. Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction; eighteen months' follow-up data from the randomized, controlled BOOST (bone marrow transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) trial. *Circulation*, 2006, 113: 1287-1294.
- [11] Schachinger V, Assmus B, Britten MB, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction; final one-year results of the TOPCARE-AMI Trial. *J Am Coll Cardiol*, 2004, 44: 1690-1699.
- [12] Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, et al. Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med*, 2006, 355: 1210-1221.
- [13] Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, et al. Improved clinical outcome after intracoronary administration of bone-marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction; final 1-year results of the REPAIR-AMI trial. *Eur Heart J*, 2006, 27: 2775-2783.
- [14] Seeger FH, Tonn T, Krzossok N, et al. Cell isolation procedures matter: a comparison of different isolation protocols of bone marrow mononuclear cells used for cell therapy in patients with acute myocardial infarction. *Eur Heart J*, 2007, 28: 766-772.
- [15] Ince H, Petzsch M, Kleine HD, et al. Prevention of left ventricular remodeling with granulocyte colony-stimulating factor after acute myocardial infarction; final 1-year results of the Front-Integrated Revascularization and Stem Cell Liberation in Evolving Acute Myocardial Infarction by Granulocyte Colony-Stimulating Factor (FIRSTLINE-AMI) Trial. *Circulation*, 2005, 112(9 Suppl): I73-I80.
- [16] Jorgensen E, Ripa RS, Helqvist S, et al. In-stent neo-intimal hyperplasia after stem cell mobilization by granulocyte-colony stimulating factor. Preliminary intracoronary ultrasound results from a double-blind randomized placebo-controlled study of patients treated with percutaneous

- coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction (STEMMI Trial). *Int J Cardiol*, 2006, 111: 174-177.
- [17] Hagege AA, Marolleau JP, Vilquin JT, et al. Skeletal myoblast transplantation in ischemic heart failure; long-term follow-up of the first phase I cohort of patients. *Circulation*, 2006, 114(1 Suppl): I108-I113.
- [18] Menasce P. Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathy (MAGIC) trial. *Clin Cardiol*, 2007, 30: 98.
- [19] Stamm C, Westphal B, Hans-Dieter K, et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003, 361: 45-46.
- [20] Perin EC, Dohmann H, Borjevic R, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003, 107: 2294-2302.
- [21] Tse HF, Kwong YL, Chan J, et al. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet*, 2003, 361: 47-49.
- [22] Fuchs S, Satler LF, Kornowski R, et al. Catheter-based autologous bone marrow myocardial injection in no-option patients with advanced coronary artery disease: a feasibility study. *J Am Coll Cardiol*, 2003, 41: 1721 - 1724.
- [23] Nyolczas N, Gyongyosi M, Beran G, et al. Design and rationale for the Myocardial Stem Cell Administration After Acute Myocardial Infarction (MYSTAR) Study: a multicenter, prospective, randomized, single-blind trial comparing early and late intracoronary or combined (percutaneous intramyocardial and intracoronary) administration of nonselected autologous bone marrow cells to patients after acute myocardial infarction. *Am Heart J*, 2007, 153: 212. e1-e7.
- [24] Hirsch A, Nijveldt R, Van der Vleuten PA, et al. Intracoronary infusion of autologous mononuclear bone marrow cells or peripheral mononuclear blood cells after primary percutaneous coronary intervention; rationale and design of the HEBE trial—a prospective, multicenter, randomized trial. *Am Heart J*, 2006, 152: 434-441.
- [25] Fazel S, Tang GH, Angoulvant D, et al. Current status of cellular therapy for ischemic heart disease. *Ann Thorac Surg* 2005, 79: S2238-S2247.

(上接第 275 页)

继发性两类,原发性肺部并发症都发生在手术后 1 周内,继发性肺部并发症可以出现在手术后的任何时间^[4]。继发性肺部并发症的危害要远大于原发性肺部并发症,而肺部并发症被认为是食管切除术后死亡的主要原因^[5]。糖尿病患者术前使用或改用正规胰岛素治疗,控制血糖接近正常水平。(2)加强术中管理:麻醉选用气管内双腔导管插管较为安全。但术中不能为方便操作而过多依赖单肺通气,以避免老年人因耐受性差缺氧而导致心律失常。本组 2 例曾在术中单肺通气时出现严重心律失常,最后采用药物加胸内心脏按摩及体外除颤才得以挽救生命,教训深刻。患者术后麻醉完全清醒后方能拔管,拔管前彻底清除气道分泌物,拔管后继续给氧。(3)提高外科手术技术,缩短手术时间。以往对食管切除后并发症防治的注意力大多集中在手术前病例的选择和手术后减少内科并发症,而手术本身造成的并发症注意的较少。目前,传统的食管胃手工吻合技术已经逐渐被食管胃肠吻合器吻合所取代,本组患者中机械吻合 64 例,平均出血量 300ml,平均手术时间 2.5h,术后并发肺部感染 2 例,残胃瘘 2 例;手工吻合 31 例,平均出血量 500ml,平均手术时间 4.5h,术后并发吻合口瘘 4 例,肺部感染 9 例,房颤 16 例。但机械吻合的费用问题目前仍是制约临床广泛开展机械吻合的关键所在。另外,在根治的前提下,尽量避免不必要的扩大手术,减少创伤。近年来老年医学研究进展迅速,现代化的临床监护仪也不断更新、完善及普及,手术技巧逐步提高,食管癌切除术后并发症和手术死

亡率与 30 年前相比有了明显下降^[6]。因此,老年食管癌手术同中、青年食管癌一样应受到重视,高龄因素不再成为手术的禁忌证。早期诊断、早期治疗是提高老年食管癌疗效的重要前提。

参考文献

- [1] 徐泽. 重视老年人腹部外科手术期的监护及处理. *腹部外科杂志*, 1997, 10: 1-2
- [2] Murthy SC, Law S, Whooley BP, et al. Atrial fibrillation after esophagectomy is a marker for postoperative morbidity. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2003, 126: 1162-1167.
- [3] Sabel MS, Smith JL, Nava HR, et al. Esophageal resection for carcinoma in patients older than 70 years. *Ann Surg Oncol*, 2002, 9: 210-214.
- [4] Fang W, Kato H, Tachimori Y, et al. Analysis of pulmonary complications after three-field lymph node dissection for esophageal cancer. *Ann Thorac Surg*, 2003, 76: 903-908.
- [5] Urvic M, Petrosic N, Depolo A, et al. Transhiatal esophagectomy for carcinoma of the esophagus—our ten years experience. *Zentralbl Chir*, 2002, 127: 956-959.
- [6] Hofstetter W, Swisher SG, Correa AM, et al. Treatment outcomes of resected esophageal Cancer. *Ann Surg*, 2002, 236: 376-384.