

## 细胞移植治疗心血管疾病研究现状

黄佐<sup>1\*</sup>, 葛均波<sup>2</sup>

(1. 第二军医大学长征医院心血管内科, 上海 200003; 2. 复旦大学附属中山医院心脏内科, 上海市心血管病研究所, 上海 200032)

**[摘要]** 现代药物治疗在阻止心室重构和充血性心衰进展方面还十分有限, 通过细胞移植替代或使心肌细胞再生的心脏细胞重建技术, 为阻止心肌梗死后心室重构和充血性心衰进展提供了一种全新的治疗策略。最近的研究热点主要集中于未分化的多潜能干细胞, 它可进一步分化为包括心肌细胞和内皮细胞在内的各种类型细胞。现今干细胞移植的大部分资料主要来源于动物实验, 证实干细胞治疗能替代缺失的心肌(心肌再生)和促进心脏再血管化(血管新生)。这些研究成果很快被用于人类的研究, 但仍存在很多问题亟待解决。虽然早期的一期临床研究结果有效和安全, 但规模还很小, 尚处于早期, 有待大规模随机对照临床研究来证实心脏细胞重建治疗的短期和长期效果。

**[关键词]** 细胞移植; 干细胞; 心血管疾病

**[中图分类号]** R 540.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2004)09-0929-04

### Current research on cell transplantation for cardiovascular diseases

HUANG Zuo<sup>1\*</sup>, GE Jun-Bo<sup>2</sup> (1. Department of Cardiology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China; 2. Department of Cardiology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai Institute of Cardiovascular Diseases, Shanghai 200032)

**[ABSTRACT]** The current pharmacotherapy is inadequate in preventing the progression of ventricular remodeling and congestive heart failure. Cellular cardiomyoplasty, through cell transplantation or regeneration of cardiomyocytes is a potential therapeutic approach to prevent left ventricular remodeling and the development of congestive heart failure after myocardial infarction. Recent research has focused on stem cells, which are undifferentiated pluripotent cells and can differentiate into a wide variety of cells including cardiac myocytes and endothelial cells. The majority data on stem cell transplantation were pre-clinical animal studies, all showing that stem cell therapy may replace lost heart muscle (myogenesis) and enhance cardiovascular revascularization (angiogenesis and vasculogenesis). These findings have been rapidly applied to human trials, but there were many questions remain to be solved. Although the results are interesting and safe, early phase I clinical studies are small in scale and very preliminary. Data from large, randomized controlled trials are needed to confirm the short- and long-term effects of cellular cardiomyoplasty.

**[KEY WORDS]** cell transplantation; stem cell; cardiovascular disease

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2004, 25(9): 929-932]

\* 心肌梗死(心梗)、心力衰竭一直是影响人类健康的主要疾病, 在西方发达国家被认为是人类死亡的第一杀手, 占死亡原因的第1位。在我国, 由于生活水平的提高和社会环境的改变, 其发病率也有上升趋势。以前认为这些疾病引起的破坏是不可逆的, 因为成人心肌细胞大多数是终末分化, 丧失细胞分裂能力, 梗死心肌的再生力很小, 一旦损伤只能由瘢痕组织代替。但随着干细胞技术的出现与成熟, 人们在这一领域取得了前所未有的进步, 细胞移植为病损心脏的细胞重建及衰竭心脏的功能恢复提供了一种全新的治疗策略。

细胞, 恢复心功能一直是从根本上治疗心梗、心力衰竭的最理想方法。在理论上理想的细胞移植治疗需要满足以下几个条件: (1) 移植细胞在心肌瘢痕组织中存活; 新分化细胞的肌小管应具有电-机械耦合功能, 可与心脏原有的心肌细胞形成机电连接并同步收缩或舒张, 增强心肌收缩力。(2) 增加心肌毛细血管密度, 改善心肌供血; 最终达到替代坏死心肌细胞, 恢复心功能的目的。(3) 安全可行, 易于操作, 不违背社会伦理观念。近年来, 国内外许多学者为实现此梦想, 进行了一系列的实验及临床研究, 该领域也已经成为世界心血管病研究的热点和焦点之一。

### 1 理想的细胞移植

通过有效的细胞移植代替受损坏死的心肌细

\* [作者简介] 黄佐(1958-), 男(汉族), 博士, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师

\* Corresponding author. E-mail: huangzub@yahoo.com.cn

## 2 细胞移植的临床应用及改善心功能的可能机制

目前细胞移植的临床应用领域主要包括治疗心肌缺血、心梗和慢性心功能不全等3个方面。

2.1 治疗心肌缺血 缺血心肌即“冬眠”心肌,如果重新给予正常血供,可使这些“冬眠”心肌转为正常心肌。CD34<sup>+</sup>内皮祖细胞促进新生血管形成的机制是通过自身的分化、增殖而形成新生血管,无须依赖原有的血管系统,类似于胚胎时期的血管发生过程,称为出生后的血管发生。它可以因缺血、缺氧损伤或细胞因子作用从骨髓造血组织中被动动员到外周血中,在缺血区形成新血管。提示对于临床上顽固性心绞痛行扩血管、抗血栓等治疗疗效不好的患者,可考虑细胞移植,在缺血局部形成新的毛细血管,建立侧支循环,改善血液供应,使缺血区心肌细胞凋亡减少,减轻心脏重塑<sup>[1]</sup>。

2.2 治疗心梗 尸检发现,心梗发生后存在着骨髓多能干细胞迁移至受损心肌内生成心肌细胞和新生血管的现象,但是由于迁移细胞的数量非常少,不能有效修复梗死心肌。如果能够采取恰当的措施使大量的骨髓干细胞进入心梗区,并定向分化为心肌细胞和血管,将取代由心梗造成的细胞丢失和瘢痕形成,从而在根本上改善心梗的预后。2001年8月,Strauer等<sup>[2]</sup>进行了首例经冠状动脉(冠脉)人自体骨髓单个核细胞移植治疗心梗的研究,患者心梗后6d,取自体骨髓的多能干细胞通过导管术移植入梗死相关动脉,在注射前和注射后10周,分别通过静息和运动状态下<sup>201</sup>Tl心肌灌注扫描,多巴胺心脏超声负荷试验,右心导管和放射性核素心室成像等检测,对左心功能、梗死面积、心室的几何形状和心肌灌注情况进行评估,结果干细胞移植治疗10周,梗死面积从24.6%下降至15.7%,射血分数、心脏指数、每搏量增加了20%~30%,运动时的舒张末期容量下降30%,左室充盈压相对下降。移植治疗后没有出现新的心肌缺血损害、炎症反应和恶性心律失常等不良反应。首次证明了经冠脉内输入自体骨髓单个核细胞治疗急性心梗是安全可行的<sup>[3]</sup>。

2.3 治疗慢性心功能不全 成人心肌细胞大多数是终末分化,梗死心肌的再生力很差。梗死之初,心肌细胞丢失,由存活心肌细胞肥大而代偿,这有助于维持心脏的结构和功能。但经过一段时间后,这些过程迟早会造成心室的适应不良性重塑,由此又逐渐进展为心衰。干细胞能分化为心肌细胞和内皮细胞,从而增加有效心肌数目,恢复心肌收缩力,促使局部新生血管形成,增加毛细血管密度,降低肥厚心肌的

细胞凋亡,减少胶原形成<sup>[4]</sup>。在瘢痕区行干细胞移植后,透壁瘢痕缩小,壁变厚,左室容积/质量比下降,心室延展受抑<sup>[5]</sup>。最近有报道<sup>[6]</sup>对因严重心肌缺血而没有血管重建治疗可选择的终末期心脏病患者进行了骨髓单个核细胞移植,并与药物标准治疗组对照,4个月后通过SPECT进行心功能评价,左室射血分数从20%增至29% ( $P=0.003$ ),心室收缩末期容量从174.1ml下降至133.5ml ( $P=0.03$ )。该研究推测,终末期心脏病患者心功能得到改善,除了心肌、血管再生,还可能与细胞因子、生长因子以及细胞间相互作用有关,但也不排除心肌直接注射细胞时刺激了新血管的生长。可以预想,骨髓单个核细胞移植必将有益于改善心室重构,有益于远期心功能的恢复。综上所述,细胞移植治疗心血管疾病改善心功能的机制主要包括促进血管新生和心肌再生、降低心肌细胞凋亡以及增加心肌胶原生成,从而增加梗死区内血流,阻止左室重构,达到改善心脏功能的目的。

## 3 移植细胞的来源和种类是细胞移植的关键环节

目前研究较多的主要为细胞同种异体移植及细胞自体移植。细胞同种异体移植的种类有骨骼肌细胞、平滑肌细胞和心肌细胞。骨骼肌成肌细胞一旦受损可激活分化合成骨骼肌细胞。虽然已证实骨骼肌细胞移植可提高心功能,但骨骼肌移植细胞与宿主细胞之间不能形成闰盘连接,骨骼肌细胞相互之间不能同步收缩,与心肌细胞的电生理特性不同,存在心律失常可能。同种异体胚胎心肌细胞移植随时间的推移,移植组织逐渐缩小,须终身使用免疫抑制剂。即使每天应用环孢素A,移植后仍有显著的淋巴细胞介导的排斥反应存在,一定程度上限制了同种异体细胞移植的发展。另外还存在伦理学上的问题。自体移植最大优点是不需使用免疫抑制剂,其主要种类为骨骼肌卫星细胞移植、平滑肌细胞及心肌细胞移植。但骨骼肌卫星细胞来源有限,纯化困难,其数量和有丝分裂的潜能随年龄增长而进行性下降,因而获得充足数量的卫星细胞很困难。

随着干细胞在体外和体内特定环境下定向分化为心肌细胞和新生血管过程的证实,干细胞已作为一种新型的细胞移植供体,成为细胞移植治疗心血管疾病研究中的主要对象。胚胎干细胞研究的兴起为心肌再生提供了另一种可能的细胞来源。研究表明,胚胎干细胞-衍生的心肌细胞能够移植入受损心肌。但胎儿、新生儿或胚胎干细胞用于心脏再生治疗存在着严重的伦理、道德和法律上的限制。这些细胞

的取得十分受限,在技术上不易做到重复、始终如一的扩增。移植数天后,常发生排斥,提示需要辅以免疫抑制治疗。采用有分化为心肌细胞潜能的成人、自我更新的自体祖细胞可望克服上述胚胎、胎儿组织的一些问题。另一类干细胞是骨髓干细胞,它是多种细胞及组织的多潜能前体细胞,属于成体干细胞,它包含有诸如间充质干细胞、造血干细胞和内皮祖细胞之类的干细胞,既具有分化潜能,又能释放某些细胞因子促进血管新生,同时,它具有容易从自体采集、操作简单和不存在免疫排斥反应等优势,比较适合应用于临床,已成为临床试验研究的主要细胞来源。骨髓干细胞可引起血管新生,具有较强的可行性。随着研究的深入,如骨髓干细胞的培养、定向分化,有可能从根本上解决细胞移植的来源问题。骨髓源性干细胞已开始小样本应用于临床,并取得了初期疗效,有着诱人的前景。骨髓干细胞可逆转急性心梗所致损伤心肌的心脏功能,或增强被多年充血性心力衰竭严重削弱的的心脏功能。研究人员认为,目前干细胞修复心肌的研究工作虽然仍处于早期,但它最终将引起心脏病治疗方面的根本性变革。因此干细胞修复心肌治疗被美国心脏学会评为2003年度十大研究进展之一。

#### 4 细胞移植的途径和最佳时间窗亟待明确

目前,心脏干细胞的移植方式包括经冠脉输注、经心外膜行心肌内注射、经心内膜行心肌内注射和经静脉输注。对弥漫性或多支病变的冠心病患者,在进行胸科手术时,可于心肌内直接注射,但该方法具有创伤性,有显著的围术期危险,并且不适用于心梗患者。因此众多学者正寻求一种无创伤、安全的移植方式。有试验显示心梗后冠脉内注入带标记的骨髓干细胞,干细胞呈点状或线状分布在左冠脉供血的心肌各层,优于直接心肌内注射<sup>[7]</sup>。1次冠脉内注射,所有细胞均能通过梗死区和梗死周边区心肌,冠脉内注射始终能获得最多数量的干细胞。同时,干细胞定向分化为各种类型的心肌细胞,需要一个比较固定的、有调控活性的微环境和组织,称之为“龕”,它使细胞间保持的距离适合于细胞与细胞相互作用,适合于短距离调节因子的产生和传递,干细胞必须在“龕”内才能增殖,才能保持自我更新的特性,为了提供干细胞最多机会去寻求心肌中的“龕”,冠脉内注射是最佳选择<sup>[3]</sup>。此外,冠脉内注射还具有不需要开胸手术、定位准确和临床操作简单等优点,有利于在目前的医疗设备条件下开展临床研究。另一种血管内移植方式是经静脉输注细胞,它适宜于不宜开胸和冠

脉造影的患者,但经静脉输注,可能会引起干细胞在其他多个脏器的种植,会导致其他不良反应。

而针对细胞移植的最佳时间窗的研究还较少。现今骨髓单个核细胞治疗急性心梗主要在急诊冠脉介入治疗术后1周。细胞移植是否像血运重建一样,越早越好?还是选在心梗后炎症反应剧烈有利于干细胞归巢时?或是选在心梗后炎症病理反应消退的时候?所有这些问题仍需进一步深入研究。

#### 5 安全性仍是最需关注的问题

尽管国内外针对细胞移植治疗心血管疾病已进行了大量的实验研究,而且也有临床应用成功的报道,但是干细胞治疗心肌缺血坏死的研究目前还处于起步阶段。以细胞移植为主的再生治疗尚有许多问题亟待解决,比如选择哪种类型的移植细胞才能获益最大?多少细胞较妥?细胞组成成分如何组成最好?祖细胞的动员、在移植处的归巢、整合和生存机制是什么?然而,干细胞/祖细胞治疗方案的安全性是最重要的问题,需要有进一步的研究。

目前人们比较关心的安全性问题主要有以下几点:(1)如果移植的细胞分化为成纤维细胞而不是心肌细胞,瘢痕增加的结果可能会导致心室功能恶化和心律失常;已有成骨骼肌细胞移植后出现恶性室性心律失常而植入埋入式心脏复律装置(ICD)的报道。(2)用骨髓中全能干细胞进行体内治疗,可能会增加肿瘤的发生率。(3)经冠脉灌注的方法有形成心肌梗死及在冠脉内形成栓子的可能。最近有研究显示在狗冠脉注射骨髓干细胞后可出现急性心肌缺血和亚急性心肌微梗死现象,这提示在骨髓干细胞常规地注射入患者的动脉循环之前,应全面研究其可能发生的并发症<sup>[8]</sup>。(4)其他潜在的隐患。最近研究又发现经冠脉内滴注骨髓单个核细胞,虽可促进血管生成,改善心梗患者的心功能,但却加重冠脉血管重建术后的再狭窄<sup>[9]</sup>。以至于有些学者担心,细胞移植可能像特洛伊木马一样,外面看上去是安全的,但一旦进入人体,它就没完没了地制造问题。

虽然仍有以上安全性问题需要进一步研究,但最近有关经冠脉内输入自体骨髓单个核细胞移植治疗急性心梗的临床研究显示,治疗后并没有出现新的心肌缺血损害、炎性反应和恶性心律失常等不良反应。骨髓单个核细胞移植在治疗顽固性心绞痛、心梗和晚期心功能不全方面有光明的临床应用前景,但在现今循证医学时代,我们需要警惕,勿过早地轻率应用于临床,尚需大规模多中心随机临床研究证实。

[参考文献]

[1] Kawamoto A, Gwon HC, Iwaguro H, et al Therapeutic potential of *ex vivo* expanded endothelial progenitor cells for myocardial ischemia[J]. *Circulation*, 2001, 103(5): 634-637.

[2] Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al Intrakoronare, humane autologe stammzelltransplantation zur myokardregeneration nach herzinfarkt [Intracoronary human autologous stem cell transplantation for myocardial regeneration following myocardial infarction][J]. *Dtsch Med Wochenschr*, 2001, 126(34-35): 932-938.

[3] Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans[J]. *Circulation*, 2002, 106(15): 1913-1918.

[4] Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, et al Neovascularization of ischemic myocardium by human bone marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function[J]. *Nat Med*, 2001, 7(4): 430-436.

[5] Tomita S, Li RK, Weisel RD, et al Autologous transplantation

of bone marrow cells improve damaged heart function[J]. *Circulation*, 1999, 100(19 Suppl): II 247- II 256.

[6] Emerson CP, Hans FRD, Radovan B, et al Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure[J]. *Circulation*, 2003, 107(18): 2294-2302.

[7] Toma C, Pittenger MF, Byrne BJ, et al A adult human mesenchymal stem cells differentiate to a striated muscle phenotype following arterial delivery to the murine heart[J]. *Circulation*, 2000, 102(Suppl II): II 683.

[8] Vulliamy PR, Greeley M, Halloran SM, et al Intra-coronary arterial injection of mesenchymal stromal cells and microinfarction in dogs[J]. *Lancet*, 2004, 363(9411): 783-784.

[9] Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, et al Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomised clinical trial[J]. *Lancet*, 2004, 363(9411): 751-756.

[收稿日期] 2004-08-18 [修回日期] 2004-08-24

[本文编辑] 邓晓群

· 个案报告 ·

恶性胰岛素瘤一例报告

Malignant insulinoma: a case report

包睿, 鲁瑾, 邹大进, 刘瑞, 何天霖 (第二军医大学长海医院内分泌科, 上海 200433)

[关键词] 胰岛素瘤; 癌

[中图分类号] R 736.7 [文献标识码] B [文章编号] 0258-879X(2004)09-0932-01

\*1 临床资料 患者, 女性, 57岁, 因反复头昏、心悸、意识障碍6个月入院。6个月间上述症状共发作67次, 均为上午9:00~10:00之间发生。最后一次发作时在外院查血糖1.5 mmol/L, 予静滴葡萄糖溶液后好转。查体: 一般情况好, 全身皮肤、黏膜未见黄染及出血点, 浅表淋巴结未及肿大。心肺未见异常。腹部软, 未触及肿块, 无压痛、反跳痛, 肝脾肋下未及。空腹血糖2.5 mmol/L。延长糖耐量试验: 空腹血糖3.0 mmol/L, 胰岛素52.63 mU/L, C肽2.97 ng/ml。口服葡萄糖75 g后30 min 血糖6.4 mmol/L, 胰岛素97.94 mU/L, C肽6.77 ng/ml; 60 min 血糖6.3 mmol/L, 胰岛素96.03 mU/L, C肽7.39 ng/ml; 120 min 血糖6.5 mmol/L, 胰岛素89.41 mU/L, C肽6.00 ng/ml; 180 min 血糖3.3 mmol/L, 胰岛素50.39 mU/L, C肽3.78 ng/ml; 240 min 血糖2.6 mmol/L, 胰岛素43.00 mU/L, C肽3.89 ng/ml; 300 min 血糖2.1 mmol/L, 胰岛素56.69 mU/L, C肽3.93 ng/ml; 360 min 血糖2.3 mmol/L, 胰岛素45.90 mU/L, C肽2.98 ng/ml; 420 min 血糖2.4 mmol/L, 胰岛素47.59 mU/L, C肽2.44 ng/ml。试验过程中患者未出现不适症状。CT示胰腺颈部部局限膨隆, 密度不均, 但高于正常胰腺组织, 提示肿瘤可能, 相邻

肠系膜淋巴结肿大(图1A); 肝右叶1.5 cm × 1.5 cm 大小低密度结节样影(图1B)。转普外科于10月29日行剖腹探查术。术中肝脏可扪及多个米粒大小结节, 肝十二指肠韧带及肠系膜根部触及多个肿块, 大小约2 cm × 2 cm, 胰头可触及4枚大小不等圆形质硬结节, 大小约1 cm × 1 cm ~ 3 cm × 3 cm。切除肝脏及肠系膜根部肿块送冰冻切片, 病理报告: (肝)未见恶性病变, (肠系膜根部)纤维结缔组织中见肿瘤细胞呈巢状浸润, 倾向胰源性肿瘤。考虑手术切除率低且创伤大, 容易引起较严重的并发症, 遂放弃手术。术后病理诊断为: (肝、肠系膜根部)转移性恶性肿瘤, 结合免疫组化结果符合恶性胰岛细胞瘤转移。

2 讨论 本例以反复发作头昏、心悸、意识障碍入院, 查空腹血糖2.5 mmol/L, 提示低血糖症。正常情况下, 血糖低于2.5 mmol/L时胰岛素停止分泌, 如此时血胰岛素浓度大于6 mU/L, 一般可诊断为高胰岛素血症。该患者延长糖耐量试验在空腹及口服葡萄糖数小时后血糖水平很低的情况下, (下转第935页)

\* [作者简介] 包睿(1979-), 女(汉族), 硕士生