

细胞移植治疗缓慢型心律失常的研究进展

徐志云*, 张 浩(第二军医大学长海医院胸心外科, 上海 200433)

[摘要] 心肌细胞电生理机制的阐明和细胞移植技术的迅速发展, 为治疗各类心脏疾病开辟了新的思路。近年来, 国外学者报道了多种细胞移植的方法, 以探索细胞移植治疗各类缓慢型心律失常的可行性, 如完全性心脏传导阻滞和病窦综合征等。目前已经取得了一定的研究成果。本文总结了现有方法各自存在的优势和不足, 并对生物起搏器的发展前景做一展望。

[关键词] 细胞移植; 心律失常; 心脏起搏器, 生物

[中图分类号] R 541.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)01-0001-03

Cell transplantation in treatment of bradyarrhythmias: an update

XU Zhi-yun*, ZHANG Hao (Department of Cardiothoracic Surgery, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ABSTRACT] The deepening of our understanding on the cardiac electrophysiology mechanism and the progress on cell transplantation technique have expanded our view in treating various kinds of cardiac diseases. Over the past few years literatures have reported many kinds of cell transplantation techniques for treating various types of bradyarrhythmias, such as complete heart block and sinoatrial node dysfunction, and impressive achievements have been made by far. This review discusses the advantages and flaws of the existing strategies and the future of biological pacemakers.

[KEY WORDS] cell transplantation; arrhythmia; pacemakers, biological

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(1): 1-3]

缓慢型心律失常(bradyarrhythmias)是由窦房结自律性低下或传导系统阻滞引起, 以心率减慢为特征的一类心脏传导系统疾病^[1]。目前对于药物治疗无效的缓慢型心律失常患者, 只能接受人工心脏起搏器植入治疗。其中完全性传导阻滞和窦房结功能障碍是植入人工心脏起搏器的主要指征。但是在人工心脏起搏器的应用过程中, 存在一些亟需解决的问题, 如电池寿命问题、心内电极植入风险、静脉血栓形成、不能接近强磁场以及缺乏对神经递质的自动反应性等^[2]。

心肌细胞电生理机制的阐明以及细胞移植技术的不断成熟, 为治疗心脏传导系统疾病提供了全新的思路。采用高自律性细胞移植技术, 可以为失去上位起搏点的心脏提供新的起搏点, 从而提高心室的搏动频率。因此, 将这一技术用于治疗各类缓慢型心律失常, 在提高心率的同时, 不存在以上电子心脏起搏器的缺陷, 具有重要的学术价值和临床应用价值。

移植细胞起搏心脏的关键是解决兴奋产生和传导的问题。兴奋的产生主要靠移植细胞的起搏能力, 这就需要移植具有高自律性的细胞, 同时也要保证移植细胞结构和功能的完整性; 兴奋的传导要求移植的细胞能够与原有心肌细胞形成稳定的电-机械耦联, 从而保证产生的兴奋能够快速的传播至整

个心室。

目前国内外已有部分学者对这一领域进行了有益的、开创性的探索, 这里我们对这些研究分别从移植细胞的选择、移植部位以及移植方法的选择等三个方面进行比较和总结。

1 移植细胞的选择

目前用于移植的细胞主要包括以下3种。

1.1 胚胎心肌细胞 由于包括窦房结细胞在内的心房肌细胞比心室肌细胞具有更高的自律性, 因此可以设想, 把结构和功能完整的心房肌细胞移植到心室后, 在心室形成较高节律的逸搏心律, 从而驱动心室搏动。为了证实这一假设, Ruhparwar等^[3]于2002年进行了以下实验: 将急性分离的胎犬心房肌细胞(含窦房结细胞)移植到性染色体遗传的肌营养不良成年犬(所有肌细胞不表达抗肌萎缩蛋白)的左室前壁, 对照组移植皮肤成纤维细胞。通过免疫染色抗肌萎缩蛋白的方法鉴别移植细胞, 以确定移植细胞存活并与宿主细胞结合。二者之间有缝隙连接蛋白——连接蛋白43(Connexin-43)表达。3~4周

[基金项目] 国家自然科学基金(30672075)。Supported by National Natural Science Foundation of China(30672075)。

[作者简介] 徐志云, 博士, 教授、主任医师, 博士生导师。

* Corresponding author. E-mail: zhiyunxu@hotmail.com

后射频消融房室结后,行电生理标测研究,在心肌细胞移植组发现起源于细胞移植部位的室性逸搏心律,对照组未发现。这一研究向人们展示了利用细胞移植技术重建心脏起搏点的可行性,为移植细胞的选择提供了新的思路。由于心房肌与心室肌细胞结构和功能上的相似性,因而移植后更易与受体心室肌细胞形成电-机械耦联,而有利于兴奋的传导。

1.2 未成熟心肌细胞 Cai等^[4]获取新生 Yorkshire猪的心房肌细胞移植到成年 Yorkshire猪左室前壁,对照组仅注射细胞培养液。3周后射频消融房室结建立完全性房室传导阻滞动物模型。微电极技术记录细胞(或培养液)注射部位心肌的动作电位。免疫荧光方法证实移植细胞存活并与宿主心肌细胞形成缝隙连接。结果发现,建立完全性房室传导阻滞动物模型后,移植组室性逸搏心率明显高于对照组。应用异丙肾上腺素后移植组室性逸搏心率明显提高。微电极记录显示细胞移植组标本自主搏动频率明显高于对照组。免疫荧光观察发现移植细胞(DAPI 蓝荧光标记)之间以及移植细胞与宿主细胞(无荧光标记)均有绿色荧光标记的 Connexin-43和N型钙黏系(N-cadherin)形成,表明有缝隙连接结构形成。这些结果细胞移植后不仅能够提高心率,还能够对神经递质具有较好的反应性。然而,这一实验与Ruhparwar等的研究存在的共同不足是:由于异体细胞移植存在免疫排斥和细胞寿命的问题,研究者们均未对细胞移植后的远期效果进行进一步评价。但是,安全、稳定和长期有效的起搏是治疗缓慢型心律失常的必然要求。

1.3 胚胎干细胞 现有研究认为,胚胎干细胞具有分化成多种细胞的潜力,包括心肌细胞^[5]。2005年,Xue等^[6]将人胚胎干细胞来源的心肌细胞进行基因修饰后,可以在体外使静止的心室肌细胞产生节律性的电-收缩活动,体内实验可使豚鼠心室肌起搏,并证实电活动从注射部位向周围心肌的传播。但如何准确定向诱导胚胎干细胞向窦房结等自律细胞分化的问题尚有待明确。此外胚胎干细胞还存在致心律失常可能^[7]。另外应用胚胎干细胞本身还存在干细胞的相关问题,如免疫排斥、定向分化、肿瘤形成和伦理学等问题。

1.4 骨髓间充质干细胞 大量实验研究证实骨髓间充质干细胞和人胚胎干细胞一样可以分化成多种细胞,如肌肉骨骼组织和结缔组织等^[8],因此骨髓间充质干细胞在理论上可以分化成具有起搏功能的窦房结细胞。Potapova等^[9]使用起搏基因转染的人骨髓间充质干细胞注射到动物左室壁内。实验证明,

转基因的人骨髓间充质干细胞在体外能提高与其联合培养的新生鼠心室肌细胞的搏动频率,在体内可使迷走神经抑制的犬心脏产生较快的心室率。注射到犬心肌后能与犬心室肌细胞之间可以形成 Connexin-43 缝隙连接。Valiunas等^[10]还观察到 Connexin-40、Connexin-43和Connexin-45均高度表达。然而,使用骨髓间充质干细胞作为移植细胞时如何诱导其定向分化为起搏细胞仍有待进一步研究。采用自体骨髓间充质干细胞进行移植不存在免疫排斥问题,如能解决好向心肌细胞的定向分化,在今后的研究中则具有较高的应用价值。

2 移植部位的选择

2.1 左室前壁心外膜下 目前大部分学者均采用将移植细胞通过微注射器直接注射到左室前壁心外膜下的方法进行细胞移植^[3-4,6,9]。这一技术方法简单易行,可在直视下完成。缺点是心外膜下浦肯野纤维并不丰富,不能保证兴奋的传导,因而不是最理想的移植部位。

2.2 右心房心外膜下^[11] 这一位置位于心脏整个传导系统的上部,如果产生兴奋并能向下传导,则可以形成最符合生理传导的起搏点。但由于心房内的传导主要依靠3条结间束完成,而目前对于结间束的解剖位置尚不能准确定位,如果移植细胞不能与结间束形成稳定连接,就无法将兴奋快速有效的向下传导。

2.3 心内膜下左束支 Plotnikov等^[12]认为在这一位置重建起搏点可以最有效的激动心室,是目前较为理想的注射部位。因其分布有丰富的浦肯野纤维,可以将冲动快速传导至整个心室,但由于需在介入技术下完成,技术和设备要求较高。

3 移植方法的选择

3.1 直接注射 通常在开胸手术后,在直视下使结核菌素注射器针头略弯曲,将细胞悬液斜行注入心外膜下,退出针头后稍加压迫便可止血和防止细胞悬液溢出。这一方法简单易行,由于可在直视下进行,因而效果可靠,目前应用较多。

3.2 介入注射 Thompson等^[13]采用特制的导管经皮介入的方法将猪骨髓间充质干细胞经冠状窦注射至整个心室内(包括室间隔)。结果显示移植细胞在心室内存活,且无任何并发症,表明该技术是一种安全可靠的细胞移植方法,且由于细胞可以进入室间隔,从而可以同步起搏左右心室。但由于细胞较为分散,能否产生统一的起搏信号尚有待于进

一步验证,且操作过程复杂以及需要特制的注射导管,因而限制了其在目前研究中的应用。其他如冠状动脉内注射^[14]、心室内膜下注射^[15]等技术也由于各自缺陷而较少应用。

综上所述,虽然现有的细胞移植治疗缓慢型心律失常的研究报道较少,但取得的初步成果令人鼓舞。为重建符合生理的心脏起搏点,研究者从兴奋的产生和传导两个方面入手进行了以上有益的探索。尽管这些研究尚不够完善,但这些可喜的成果让人们对于这一技术充满期待。未来的研究应重点解决以下关键问题,即移植细胞起搏心脏的安全性(避免发生严重心律失常后果)和稳定性(远期效果的观察)。

此外,国外学者正在进行基因技术治疗缓慢型心律失常的相关研究,也取得了初步的研究成果。如上调起搏电流(I_f)^[11-12]、下调内向整流钾电流(I_{K1})^[16-17]等,使用的目的基因包括 HCN、MiRP1、Kir2.1 等。然而,利用基因技术构建具有起搏功能的细胞,还有待于对起搏基因的表达调控机制的进一步阐明。

尽管目前有关心脏传导系统疾病细胞治疗的研究还处在初步探索阶段,但这些开创性的研究已经向人们展示了其重建心脏起搏点以治疗缓慢型心律失常的可行性以及对于电子起搏器的优势。由于这一技术相对于现有电子心脏起搏器的明显优势,因而有望成为未来治疗心脏传导系统疾病的有效方法。

[参考文献]

[1] Sutton R, Clinical trials in pacing for bradyarrhythmias[J]. J Interv Card Electrophysiol, 2003, 9: 151-153.

[2] Gregoratos G, Abrams J, Epstein A E, et al. ACC/AHA/NASPE 2002 guideline update for implantation of cardiac pacemakers and antiarrhythmia devices[J]. J Am Coll Cardiol, 2002, 40: 1703-1719.

[3] Ruhparwar A, Tebbenjohanns J, Niehaus M, et al. Transplanted fetal cardiomyocytes as cardiac pacemaker[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2002, 21: 853-857.

[4] Cai J, Lin G, Jiang H, et al. Transplanted neonatal cardiomyocytes as a potential biological pacemaker in pigs with complete atrioventricular block[J]. Transplantation, 2006, 81: 1022-1026.

[5] Passier R, Denning C, Mummery C. Cardiomyocytes from human embryonic stem cells[J]. Handb Exp Pharmacol, 2006 (174): 101-122.

[6] Xue T, Cho H C, Akar F G, et al. Functional integration of electrically active cardiac derivatives from genetically engineered human embryonic stem cells with quiescent recipient ventricular cardiomyocytes: insights into the development of cell-based pacemakers[J]. Circulation, 2005, 111: 11-20.

[7] Zhang Y M, Hartzell C, Narlow M, et al. Stem cell-derived cardiomyocytes demonstrate arrhythmic potential[J]. Circulation, 2002, 106: 1294-1299.

[8] Caplan A I, Bruder S P. Mesenchymal stem cells: building blocks for molecular medicine in the 21st century [J]. Trends Mol Med, 2001, 7: 259-264.

[9] Potapova I, Plotnikov A, Lu Z, et al. Human mesenchymal stem cells as a gene delivery system to create cardiac pacemakers [J]. Circ Res, 2004, 94: 952-959.

[10] Valiunas V, Doronin S, Valiuniene L, et al. Human mesenchymal stem cells make cardiac connexins and form functional gap junctions[J]. J Physiol, 2004, 555 (Pt 3): 617-626.

[11] Qu J, Plotnikov A N, Danilo P Jr, et al. Expression and function of a biological pacemaker in canine heart[J]. Circulation, 2003, 107: 1106-1109.

[12] Plotnikov A N, Sosunov E A, Qu J, et al. A biological pacemaker implanted in the canine left bundle branch provides ventricular escape rhythms having physiologically acceptable rates [J]. Circulation, 2004, 109: 506-512.

[13] Thompson C A, Nasser B A, Makower J, et al. Percutaneous transvenous cellular cardiomyoplasty. A novel nonsurgical approach for myocardial cell transplantation[J]. J Am Coll Cardiol, 2003, 41: 1964-1971.

[14] Taylor D A, Silvestry S C, Bishop S P, et al. Delivery of primary autologous skeletal myoblasts into rabbit heart by coronary infusion: a potential approach to myocardial repair[J]. Proc Assoc Am Physicians, 1997, 109: 245-253.

[15] Fuchs S, Baffour R, Zhou Y F, et al. Transendocardial delivery of autologous bone marrow enhances collateral perfusion and regional function in pigs with chronic experimental myocardial ischemia[J]. J Am Coll Cardiol, 2001, 37: 1726-1732.

[16] Miale J, Marban E, Nuss H B. Biological pacemaker created by gene transfer[J]. Nature, 2002, 419: 132-133.

[17] Miale J, Marban E, Nuss H B. Functional role of inward rectifier current in heart probed by Kir2.1 overexpression and dominant-negative suppression[J]. J Clin Invest, 2003, 111: 1529-1536.

[收稿日期] 2006-12-15

[修回日期] 2007-01-08

[本文编辑] 曹静