

间充质干细胞移植治疗心肌梗死的研究现状 及优化策略

杨佳伟^{1,2,3} 王宪云^{2,3,4} 王乐^{1,2,3} 尹亚娟^{1,2,3} 刘东月^{1,2,3} 丁理妮^{1,2,3} 郑明奇^{1,2,3} 刘刚^{1,2,3*}

¹河北医科大学第一医院心血管内科, 石家庄 050030; ²河北医科大学第一医院细胞治疗实验室, 石家庄 050030;

³河北省心脏与代谢重点实验室, 石家庄 050030; ⁴河北省结构性心脏病国际联合研究中心, 石家庄 050030)

摘要 心肌梗死(myocardial infarction, MI)仍然是世界范围内致死致残的主要原因之一, 尽管药物和介入治疗能够及时恢复心脏血供, 但心肌细胞极低的自我再生能力仍无法挽救急性受损的心肌组织, MI严重时可导致心脏衰竭乃至死亡的发生。目前, 基础与临床研究均显示间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)能够通过旁分泌等效应显著改善MI后的心功能修复且经特定条件优化改进的MSCs已经在MI等疾病的治疗中显得愈发重要。因此, 该文将从MSCs移植治疗MI的研究现状、修复机制、移植途径以及优化策略几方面分别进行综述。

关键词 间充质干细胞; 心肌梗死; 修复机制; 优化策略

The Research Status and Optimizing Strategy of Mesenchymal Stem Cells Therapy for Myocardial Infarction

YANG Jiawei^{1,2,3}, WANG Xianyun^{2,3,4}, WANG Le^{1,2,3}, YIN Yajuan^{1,2,3}, LIU Dongyue^{1,2,3},
DING Lini^{1,2,3}, ZHENG Mingqi^{1,2,3}, LIU Gang^{1,2,3*}

¹Department of Cardiology, the First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050030, China;

²Cell Therapy Laboratory, the First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050030, China;

³Key Laboratory, Hebei Provincial Cardiology and Metabolism, Shijiazhuang 050030, China;

⁴International Joint Research Center, Hebei Provincial Structural heart disease, Shijiazhuang 050030, China)

Abstract Heart failure after MI (myocardial infarction) remains one of the leading causes of death and disability worldwide. Although drugs and interventional therapy can restore blood supply to the heart timely, the regenerative capacity of myocardial cells is too low to improve damaged heart function, which can seriously lead to heart failure and even death. At present, both basic and clinical studies have shown that MSCs (mesenchymal stem cells) can effectively improve the repair of cardiac function after MI, and optimized and improved MSCs have become increasingly important in the treatment of MI and other diseases. Therefore, this article will respectively review the progress of the primary mechanism of MSCs, the recent status of MSCs and transplantation pathway and the optimizing strategy in the treatment of myocardial infarction.

收稿日期: 2022-01-10 接受日期: 2022-03-28

河北省重点研发计划项目(批准号: 203777117D、18272405D、19277757D)、河北省自然科学基金项目(批准号: C2018206037、H2021206399、H2021206031)、河北省政府资助临床医学优秀人才培养项目(批准号: LS202201、LS202209)、河北省卫生健康委重点科技研究计划项目(批准号: 20180224、20201159)和河北医科大学第一医院“星火”科研项目杰出基金(批准号: XH202214)资助的课题

*通讯作者。Tel: 18633889897, E-mail: cardio2004@163.com

Received: January 10, 2022 Accepted: March 28, 2022

This work was supported by the Key Research and Development Project of Hebei Province (Grant No.203777117D, 18272405D, 19277757D), the Natural Science Foundation of Hebei Province (Grant No.C2018206037, H2021206399, H2021206031), the Training Program for Clinical Medical Talents Funded by Hebei Provincial Government (Grant No.LS202201, LS202209), the Key Project of Hebei Provincial Health Commission (Grant No.20180224, 20201159), and the Outstanding Fund of Spark Scientific Research Project of the First Hospital of Hebei Medical University (Grant No.XH202214)

*Corresponding author. Tel: +86-18633889897, E-mail: cardio2004@163.com

Keywords mesenchymal stem cells; myocardial infarction; repair mechanism; optimizing strategy

心肌梗死(myocardial infarction, MI)是世界范围内致死致残的主要疾病之一,它主要是由于冠状动脉急性、持续性供血不足所引起的大量心肌细胞坏死或功能丧失进而导致的心功能减退和最终死亡^[1]。MI的发生会导致室壁应力的异质性增高,即未梗死区的心肌组织将代偿梗死区死亡或没有功能的心肌组织,这种负荷状态的改变是引起心室重构的重要因素^[2]。此外,心肌损伤后可诱导巨噬细胞、肥大细胞和淋巴细胞等免疫细胞被募集和激活,大量纤维化介质和细胞因子被激活释放,形成了梗死区域纤维化微环境,这可刺激正常心脏间质中的成纤维细胞转化为肌成纤维细胞,进而产生大量的细胞外基质蛋白,导致胶原沉积和心脏纤维化,从而诱发不良重构的发生^[3]。此外,醛固酮系统的激活会导致胶原基因的表达,使胶原合成增加,从而对心肌小节的数量、排列及心肌细胞直径大小等产生影响。心肌间质和部分血管周围胶原聚集,促进心肌间质纤维化,造成心室重构^[4]。现有药物及介入治疗虽可显著缓解病情的恶化,但急性严重的心肌缺血导致心肌细胞发生不可逆的损伤,进而引起的不良重构和心功能衰退,仍是MI威胁患者生命及生存质量的关键因素。目前,干细胞移植治疗MI已经在基础与临床研究中获得广泛认可,干细胞具有的多向分化潜能、自我更新能力、免疫调节和组织修复能力,使其成为继药物和介入手术等方法外非常有前景的治疗手段^[5]。

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)具备来源广泛、易于分离扩增和免疫原性低等优点,已经成为目前治疗MI的理想种子细胞之一。基础研究表明, MSCs移植治疗MI主要通过旁分泌作用发挥促进血管形成、抑制纤维化及改善免疫调节等效应^[6-7]。临床研究结果显示, MSCs对受损心肌的有限修复效果主要与移植后细胞较低的心肌归巢率、存活率和滞留率等相关,为了改善治疗效果,包括适当提高干细胞移植剂量、心肌内注射、跨心内膜移植等多种手段被广泛研究,为干细胞移植治疗的发展带来了新的曙光^[8-9]。此外,如物理刺激、药物预处理、基因修饰及与生物材料结合等许多优化策略也被广泛探讨^[7,10],以期提高移植后MSCs对MI后受损心肌的修复作用,促进MSCs能够安全有效地改善

心梗患者的心功能及生活质量。

1 MSCs移植治疗心肌梗死的研究现状

MSCs是一类可自我更新的、具有强大增殖能力和多向分化潜能的多能干细胞,主要表达CD73、CD90、CD105和CD44等细胞表面标记物,缺乏表达CD45(白细胞)、CD34(造血干细胞和内皮细胞)、CD19(B细胞)、HLADR(抗原呈递细胞和淋巴细胞)、CD11b和CD14(单核和巨噬细胞)等,培养早期时其外观呈成纤维细胞样而被称为“成纤维细胞集落生成单位”,在特定因子诱导下其能够分化为骨细胞、脂肪细胞和软骨细胞^[11]。MSCs来源广泛,主要包括骨髓、脂肪、脐带、胎盘、牙髓等。其中,脐带来源的间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cells, UC-MSCs)因其取材方便、来源广泛及免疫原性低等特性,被认为是移植治疗多种疾病最理想的来源之一。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSCs)具有较高的促血管生成活性及无伦理学争议等特性,但对于特殊危急重症患者的骨髓采集仍面临采集困难及细胞活性差等问题,这也限制了其临床转化应用。脂肪来源间充质干细胞(adipose-derived mesenchymal stem cells, AD-MSCs)具备较其他干细胞更强的免疫调节特性,已被广泛应用于免疫系统疾病的研究及临床应用^[12]。由此可见,不同组织来源的MSCs在采集、增殖、分化及功能调控等方面具备不同的特点,但值得肯定的是, MSCs的组织修复和免疫调节功能已经在基础与临床研究中展现出对MI治疗的良好应用前景。

1.1 基础研究

MSCs移植治疗在动物中的研究结果表明,无论何种来源(自体、异体)及何种给药方式均大多可以在不同程度上对受损的心肌组织起到修复作用^[13-15]。目前,单纯MSCs移植治疗效果有限,将MSCs与其他细胞联合治疗能够进一步促进受损心肌修复,如将BM-MSCs与诱导多能干细胞衍生的心肌细胞(induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes, iPSCM)联合移植治疗MI的结果显示,联合移植组较单纯MSCs移植组具有更好和更持续的心功能修复效果^[16-17]。此外,细胞外基质(extracellular matrix,

ECM)水凝胶以及电纺丝等材料作为载体与干细胞结合后可显著改善移植细胞的存活率,提高治疗效果,促进受损心肌的修复^[18-19]。将聚己内酯与明胶共混形成电纺纳米纤维支架后与BM-MSCs共培养9天结果显示,电纺纳米纤维支架上的细胞存活率远高于单纯孔板培养,且将干细胞与电纺纳米纤维支架结合形成心脏补片植入MI大鼠心肌梗死边缘区后4周的超声心动图结果显示,补片组的左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)明显高于对照组^[20]。外泌体(exosomes)作为干细胞修复损伤组织时最重要的旁分泌组分,与其母细胞具有显著相似的免疫调节和修复特性,并发挥了与其相似的心肌保护作用,使MSCs来源的外泌体成为治疗MI的一种非常有前景的干细胞替代疗法^[21-23]。总之,传统的干细胞移植疗法正在被科学家多方位地进行优化,以促使干细胞移植治疗MI的疗效得到最大程度的发挥。

1.2 临床研究

MSCs治疗MI的临床研究也已经初步取得了令人鼓舞的结果,有研究表明,心内膜注射不同剂量的BM-MSCs均可有效减小受损心肌的纤维化程度,但只有高剂量组(1×10^6 个)的LVEF升高显著,心功能改善明显^[24]。此外一项随机双盲对照研究结果表明,经心肌注射移植自体BM-MSCs 6个月后, MSCs组左心室收缩末期容积(left ventricular end-systolic volume, LVESV)降低,而安慰剂对照组LVESV明显升高,表明MSCs移植能够抑制不良重构的发生^[25]。冠状动脉注射不同剂量(3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 个)的UC-MSCs至心肌受损患者体内,随访24个月结果显示均无严重不良事件(冠状动脉血运重建、急性心肌梗死和死亡)发生,且患者心肌梗死面积显著减小,纤维化程度得到改善, LVEF得到显著升高^[26]。在急性前壁MI患者中,冠状动脉注射BM-MSCs 4个月后结果显示,移植组LVEF较对照组显著升高^[27]。综上所述, MSCs治疗MI的临床研究均提示MSCs移植是安全和有效的,作为一种很有潜力的治疗手段, MSCs正在逐步为MI患者带来希望。

2 MSCs移植治疗心肌梗死的主要机制

2.1 促进新生血管形成

据报道, MSCs主要通过分泌生物活性因子来促进心肌梗死区域新生血管形成和损伤心肌的修

复^[28-29]。MSCs分泌的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)在促进受损心肌修复过程中发挥重要作用。其中VEGF作为一种内皮特异性因子,可刺激内皮细胞的增殖、迁移和存活; FGF可以抑制受损心肌细胞凋亡并促进血管生成,从而减轻心肌损伤^[30-31]。有研究表明,经MSCs处理的动物的VEGF和FGF水平显著增加,且正常MSCs较低表达VEGF的MSCs显示出对受损心肌产生更强的保护作用^[32]。联合VEGF移植BM-MSCs对MI大鼠的新生血管生成及心肌修复效果明显优于单纯BM-MSCs组,且移植细胞存活数量也明显增加^[33]。与单纯AD-MSCs组相比,转染了FGF1的AD-MSCs组可显著促进人脐静脉内皮细胞管状结构的形成,进而诱导血管生成改善循环状态^[34]。由此可见, MSCs分泌VEGF、FGF等因子促进新生血管生成对MI后受损心肌的修复。

2.2 免疫调节

当MI发生时,血管内皮细胞完整性和屏障功能受损,伴有大量心肌细胞的死亡或丢失,导致微环境改变进而激活免疫系统引发免疫反应。同时,受损心肌细胞释放的趋化因子与相应受体结合促进免疫细胞的浸润,而趋化因子(肿瘤坏死因子、白细胞介素等)的上调又增强炎性细胞与内皮细胞之间的黏附作用,导致大量炎性细胞向梗死心肌内转移^[35]。作为MI后免疫调节的重要部分,巨噬细胞可以根据内环境细胞因子和细胞外信号分化为经典的促炎M1表型或抗炎M2表型, MI急性期可上调M1型巨噬细胞标志物的表达,而对M2型巨噬细胞没有显著影响,提示MI急性期可导致M1型巨噬细胞水平显著升高进而引发炎症; MI修复时, M2型巨噬细胞分泌抗炎和促纤维化的细胞因子,如白介素10(interleukin 10, IL10)和转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF β)促进心脏不良重构的发生,这些过程表明免疫因子可能成为治疗急性心肌梗死和预防心力衰竭的重要靶点^[36-37]。将BM-MSCs与T细胞共培养时, BM-MSCs表达的PD-L1和PD-L2配体可激活T细胞的PD-1受体,导致促炎细胞因子如干扰素- γ 、肿瘤坏死因子- α 和白细胞介素-2的产生量减少。同时, MSCs可将B细胞的成熟阻滞在 G_0/G_1 期,降低这些细胞的趋化活性,从而减少炎症反应的发生^[38]。由此可见, MSCs对心梗区域的免疫细胞起到非常重要的

调控作用, 通过抑制炎症反应和降低心肌纤维化起到抑制不良心脏重构和促进心功能修复的作用。

2.3 对心肌细胞的保护

尽管MSCs移植后对心肌细胞的增殖能力改善有限, 却可以显著抑制心肌细胞的凋亡。早期研究表明, 急性MI小鼠注射MSCs可通过激活干细胞因子途径动员骨髓前体细胞向梗死区域的迁移, 进而抑制心脏不良重构和促进收缩功能的显著改善^[39]。近期研究表明, 移植后的MSCs主要通过旁分泌效应进行内源性修复, 比如骨髓间充质干细胞的外泌体(bone marrow mesenchymal stem cells exosome, BM-MSC-Exo)能够抑制H₂O₂诱导的心肌细胞凋亡, 进而刺激大鼠心肌细胞的增殖, 改善受损心脏功能^[40]。总之, 移植后的MSCs可以通过改善梗死区域微环境抑制心肌细胞凋亡, 进而发挥对宿主心肌细胞的保护作用。

3 移植方式对疗效的影响

决定MSCs治疗成功的一个重要因素是细胞的移植途径, 它将直接影响到移植细胞的存活、增殖以及功能效应, 进而影响治疗效果。移植途径主要有: 经冠状动脉注射、心内膜注射、心外膜注射以及静脉注射, 下面就以上各种方法的效果及利弊分别予以阐述。

3.1 冠状动脉内注射

经冠状动脉移植干细胞的方式, 多伴随经皮冠状动脉介入(percutaneous coronary intervention, PCI)治疗的进行, 是目前研究较为广泛的细胞移植技术。研究发现, 经冠状动脉或经心内膜移植ADMSCs的植入率相似, 但冠状动脉移植较经心内膜给药显著增加了新生血管密度^[41]。近期随机临床对照试验对26例急性ST段抬高前壁心肌梗死PCI成功患者进行冠状动脉MSCs移植治疗(对照组=12, BM-MSCs组=14), 4个月后心脏核磁显示BM-MSCs组的整体LVEF较对照组明显升高, 可见冠状动脉移植BM-MSCs治疗显著改善了急性ST段抬高前壁心肌梗死患者的心功能和预后^[27]。尽管如此, 在许多晚期冠心病患者或急性MI患者中, 由于血管分布走向不同而造成的某些心肌区域的不可及性, 因此难以将细胞通过冠状动脉输送的方式送至目标区域, 此外, 经冠状动脉注射移植的细胞可能导致微血管阻塞从而诱发心肌缺血坏死。

3.2 心内膜注射

心内膜注射一般采用经皮股动脉途径进行, 一旦注射导管以逆行方式穿过主动脉瓣抵达心内膜表面, 细胞便可直接注射到左心室壁的任何区域^[42]。经导管心内膜内注射MSCs的方式已经被各种临床前和临床研究证明是安全和有效的。临床试验表明, 经心内膜注射MSCs可使局部血管密度显著增加且纤维化面积降低, 最终保护左心室射血能力和心功能, 虽然注射导管与心肌接触时发生了一过性室性心律失常, 但未导致严重不良事件的发生^[43], 表明经导管心内膜注射MSCs的安全性。此外, 经导管心内膜注射MSCs治疗慢性缺血性心肌病患者较治疗前的LVEF得到显著改善^[44], 不仅证明了心内膜导管注射的安全性及有效性, 也反映出MSCs对挽救缺血心肌和改善心室射血能力有很大帮助。

3.3 心外膜注射

心外膜注射干细胞已经被应用于临床, 这种方法往往需要切开胸骨, 将细胞直接注射到梗死边缘或瘢痕心肌区域, 注射后的干细胞局部滞留率及存活率很高。在一项临床研究中, 被诊断为MI后慢性心力衰竭并计划接受冠状动脉旁路移植术(coronary artery bypass grafting, CABG)患者通过心外膜注射自体BM-MSCs, 术后18个月心脏核磁显示, MSCs治疗组患者心室每搏量及左室射血分数显著增加, 瘢痕组织质量相较对照组明显减少^[45]。近期研究表明, 在开胸直视情况下对MI小鼠进行心包腔内注射BM-MSCs, 细胞滞留率明显高于直接心外膜注射, 且心包腔内注射组小鼠心肌细胞凋亡减少, 新生血管明显增多^[46]。这表明与心外膜注射相比, 心包腔内注射可能更利于细胞滞留并发挥其修复作用, 为解决干细胞移植后在梗死心脏中的低滞留问题提供了一个新思路。总之, 心外膜注射为干细胞移植提供了新的方法和思路, 而且在心脏直视手术(冠状动脉旁路移植、心脏瓣膜置换等)中, 心外膜注射干细胞的可行性及可接受度仍然较高。

3.4 静脉移植

静脉移植是将干细胞通过静脉注射的方式将干细胞运往全身, 临床研究表明, 分别对急性MI患者进行MSCs和安慰剂静脉移植后6个月结果显示, MSCs组较对照组的总体症状评分显著较高, 心脏核磁提示LVEF得到显著提升, 而两组之间的不良事件发生率相似, 肝肾功能等实验室指标无差异^[47]。这

表明干细胞静脉注射不仅具有安全性与有效性,且具有操作简单、侵入性小、成本低廉等优势。然而,由于静脉移植干细胞主要依赖受损心肌的归巢效应才能将干细胞迁移到梗死区域,多数细胞在迁移过程中被截留在肺、脾和肝脏等器官,导致其在心脏的归巢和滞留极其有限^[48]。

4 MSCs移植治疗心肌梗死的优化策略

移植的细胞必须存活并整合到宿主心肌中,才能发挥有益的作用,但心肌缺血、缺血再灌注损伤及免疫炎症等不利因素严重影响干细胞植入到梗死心肌后的存活率,因此有效提升移植MSCs的存活率对心梗后的治疗效果非常重要。目前,已经报道许多促进干细胞移植后细胞存活和分泌的优化方法,本文主要从以下几个方面进行阐述。

4.1 药物或环境刺激

预处理是指采用各种理化因素,如缺氧、热休克、药物等来增强或减弱细胞表面特定蛋白、酶或信号分子的表达能力。多项研究表明,预处理可改善移植细胞的存活情况,增强其旁分泌效应,并通过减少MI后的心肌纤维化和心肌细胞丢失,上调血管生成来保护心脏功能^[49]。低氧预适应(hypoxic preconditioning, HPC)可以显著提高MSCs移植后存活率,促进其增殖和分化^[50]。在手术诱导小鼠后肢缺血24小时后,经动脉注射于常氧或低氧条件(5% O₂)下培养的MSCs均可促进血运重建,但HPC-MSCs小鼠显示出更早的血流恢复;这可能与HPC的刺激可增加PI3K-Akt信号通路介导的抗凋亡因子的产生有关^[51]。此外,低氧条件可促进MSCs的增殖和维持它的分化潜能,抑制MSCs的衰老(升高OCT4、C-Myc、Nanog和Nestin等的表达水平)及促进内皮细胞增殖和血管生成(诱导HIF1- α 表达上调而促进VEGF水平升高)^[50,52]。总之,HPC能够促进移植后MSCs的存活和心肌组织血管形成,并抑制心肌细胞凋亡,改善心功能和心肌修复。此外,各种生物/化学制剂预处理MSCs也被应用于提高MSCs的治疗效果上。据报道,二甲基草酰甘氨酸预处理可显著提高移植干细胞的存活率且能稳定诱导HIF1- α 表达从而使MSCs的活性增强^[53]。曲美他嗪(TMZ)是一种有效的抗缺血性药物, TMZ预处理BM-MSCs移植治疗MI大鼠可显著上调MI大鼠中PAKT蛋白和Bcl-2蛋白的表达,并显著降低MI后心肌纤维化程度和改善心功能^[54]。他汀类药物是一组被认为可以减轻炎症和氧化应

激并改善内皮功能的降脂药物,当MI发生后,RhoA/ROCK/ERK通路被激活,ROCK的特异性底物磷酸化水平增加诱导炎症因子表达,导致细胞外微环境发生改变。而他汀类药物与ROCK抑制剂结构相似,可以结合底物减少磷酸化水平,从而发挥抑制炎症、促进MSCs存活和恢复心功能的作用。用阿托伐他汀预处理AD-MSCs移植治疗MI大鼠,RhoA/ROCK/ERK通路下游产物表达水平显著减少,从而达到增加移植细胞的存活率,提高干细胞疗法对心脏功能恢复的有益效果^[45,55]。由此可见,药物或环境预处理MSCs的方法不仅方便可行,而且有利于MSCs移植对心脏功能的修复。

4.2 基因工程化修饰策略

对干细胞进行基因修饰以增强特定因子或蛋白的表达能力是提高移植细胞存活率和治疗效果的另一种有效方法。如IL-7、IL-33、IL-10等的过表达均可提升移植干细胞的存活率,且与单纯MSCs相比,过表达组较对照组能够更显著抑制MI大鼠的炎症水平、减少的梗死面积以及改善MI大鼠心功能^[56-57]。此外,过表达肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)的MSCs较单纯MSCs组细胞具有更好的存活性和旁分泌活性(VEGF和FGF等),过表达组可进一步有效改善心肌细胞的存活、增殖以及血管生成^[58]。由此可见,通过基因修饰改变MSCs中特定功能基因的表达,可针对性地促进心功能修复,为干细胞移植治疗MI提供更多的干预策略。

研究表明,心肌缺血可诱导特定miRNAs(microRNAs)表达水平增加,而miRNAs在心肌细胞的存活或凋亡、缺血后血管生成以及心肌纤维化过程中发挥着重要调节作用^[59]。研究表明,过表达miRNA-133的MSCs具备更强的低氧耐受能力,这导致炎症水平和梗死面积均显著改善^[60]。此外,在MI大鼠模型中,通过敲除内源性miRNA-377可提高移植后MSCs的存活率,以促进新生血管形成和心功能恢复^[61]。因此,特定miRNA在MSCs中的富集表达或抑制为MI临床治疗提供了新的思路和方法。

4.3 组织工程

4.3.1 水凝胶注射 可注射水凝胶已成为一种很有前途的生物材料,以用于干细胞和生物活性分子的治疗性输送。它是由交联亲水聚合物链组成的三维(3D)网络,几乎可以浇铸成任何大小或形状,从而提供类似于心脏组织的弹性支撑作用,此外水凝

胶有着良好的生物相容性,可有效避免免疫排斥反应的发生^[62]。此外,MI后梗死区域电传导速度减慢以及复极延迟,加入特殊材料制成的新型可导电水凝胶通过改变梗死区的电信号传输,不仅可以加速细胞与其周围环境之间的化学和能量交换,还能够帮助恢复MI后的心肌细胞同步收缩^[63-64]。在MI小鼠中,与单纯心肌内注射AD-MSCs相比,将转谷氨酰胺酶交联水凝胶包裹下的AD-MSCs注射到心肌后,移植细胞表现出更强的存活率,同时水凝胶组小鼠受损心肌新生血管数量明显高于对照组,且联合注射水凝胶改善了梗死区域微环境,明显抑制了炎症反应,有效促进了心功能恢复^[65]。将聚N-异丙基丙烯酰胺水凝胶与AD-MSCs结合可显著改善移植细胞在MI大鼠心肌中的存活,并增强移植治疗效果^[65]。总之,基于水凝胶的MSCs移植可提高MI后受损心肌中移植细胞的存活率、增强血管密度和改善心功能。

4.3.2 心脏补片技术 工程化的心肌补片由生物支撑材料与移植细胞组成,补片最终可以像天然生物结构一样发挥功能,其具有生长、修复和重塑的潜力,因此它可以显著改善受损心脏的功能^[66]。生物材料具有可伸缩性、延展性等特性,可以为MSCs等提供强大的支撑作用,且添加支撑材料使心脏补片发挥着特殊的细胞调节作用,如促进移植细胞的生长分泌功能等^[67]。将胶原蛋白与BM-MSCs结合构建的心脏补片移植到MI大鼠心肌梗死区,结果显示与单纯BM-MSCs相比,补片组细胞存活率得到提升,梗死区域新生血管明显增加,心肌灌注得到有效改善进而促进心功能的修复^[68]。静电纺丝是目前作为心脏补片的优质材料之一,例如以纤维素纳米纤维壳聚糖为基础的静电纺丝与AD-MSCs结合形成的心脏补片,通过抑制心肌纤维化从而对心梗后大鼠的不良重塑起到显著抑制作用,为MI后瘢痕组织的修复提供一种可行的解决方案^[69]。由PVDF所制备的新型纳米纤维支架材料由于其具有良好的亲水性及生物相容性,因此可以为干细胞的增殖和生物学功能的发挥提供良好的支撑作用^[70]。总之,多种生物材料的运用,使得心脏补片技术不断成熟,并使得心脏补片技术成为一种很有潜力的新型优化策略。

4.3.3 细胞片技术 细胞片技术于2002年首次被提出,细胞片技术是利用培养皿构建心肌修复细胞片的工程概念^[71]。早期研究显示,在冠状动脉结扎

4周后,将单层MSCs片移植到瘢痕心肌上,移植后移植细胞逐渐生长,形成厚层,厚层内含新生血管、未分化细胞和少量心肌细胞,因此认为该方法可能成为心脏组织再生的一种新的治疗策略^[71]。此外,将人脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cell, hUC-MSCs)制成的细胞膜片移植治疗MI小鼠,结果显示细胞片组显著提高了hUC-MSCs的保留率,减轻了梗死区域炎症反应,促进了心肌梗死边缘的血管生成,改善了心功能并减少了不良的心室重构^[72]。细胞片能够使细胞与损伤组织保持良好的黏附特性,且不同种类细胞如AD-MSCs与iPSCs、BM-MSCs与iPS-CM等联合构建的膜片具备更好的组织修复效果,加之其制备简便,使得该技术已经逐渐成为一种新兴的治疗手段。

5 总结与展望

MSCs已经成为未来修复受损心肌组织的重要候选细胞。移植的MSCs可以减轻炎症反应和纤维化,促进新血管的形成,最终促进梗死心肌的修复和心功能的改善。然而,MSCs在缺血心肌中较低的靶向迁移能力和较差的存活率等问题依然限制其临床疗效,越来越多的研究证明基因修饰或生物材料结合显著促进了MSCs治疗MI的效果,但最佳的MSCs剂量、最优给药途径及生物材料的选择仍需要进一步研究。总之,MSCs移植治疗MI的优化策略正在逐步被广泛研究,我们相信随着科学的进步MSCs移植必将使广大心血管疾病患者受益。

参考文献 (References)

- [1] MADONNA R, VAN LAAKE L W, DAVIDSON S M, et al. Position Paper of the European Society of Cardiology Working Group Cellular Biology of the Heart: cell-based therapies for myocardial repair and regeneration in ischemic heart disease and heart failure [J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(23): 1789-98.
- [2] RICHARDSON W J, CLARKE S A, QUINN T A, et al. Physiological implications of myocardial scar structure [J]. *Compr Physiol*, 2015, 5(4): 1877-909.
- [3] FRANGOIANNIS N G. Cardiac fibrosis [J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(6): 1450-88.
- [4] HANIF W, ALEX L, SU Y, et al. Left atrial remodeling, hypertrophy, and fibrosis in mouse models of heart failure [J]. *Cardiovasc Pathol*, 2017, 30: 27-37.
- [5] AWADA H K, HWANG M P, WANG Y. Towards comprehensive cardiac repair and regeneration after myocardial infarction: Aspects to consider and proteins to deliver [J]. *Biomaterials*, 2016, 82: 94-112.
- [6] RAMESH S, GOVARTHANAN K, OSTROVIDOV S, et al.

- Cardiac differentiation of mesenchymal stem cells: impact of biological and chemical inducers [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2021, 17(4): 1343-61.
- [7] AHMED L A, AL-MASSRI K F. Directions for enhancement of the therapeutic efficacy of mesenchymal stem cells in different neurodegenerative and cardiovascular diseases: current status and future perspectives [J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2021, 16(7): 858-76.
- [8] HE X, WANG Q, ZHAO Y, et al. Effect of intramyocardial grafting collagen scaffold with mesenchymal stromal cells in patients with chronic ischemic heart disease: a randomized clinical trial [J]. *JAMA Netw Open*, 2020, 3(9): e2016236.
- [9] YAU T M, PAGANI F D, MANCINI D M, et al. Intramyocardial injection of mesenchymal precursor cells and successful temporary weaning from left ventricular assist device support in patients with advanced heart failure: a randomized clinical trial [J]. *JAMA*, 2019, 321(12): 1176-86.
- [10] WANG X, ZHANG J, ZHANG F, et al. The clinical status of stem cell therapy for ischemic cardiomyopathy [J]. *Stem Cells Int*, 2015, 2015: 135023.
- [11] DOMINICI M, LE BLANC K, MUELLER I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement [J]. *Cytotherapy*, 2006, 8(4): 315-7.
- [12] BAGNO L, HATZISTERGOS K E, BALKAN W, et al. Mesenchymal stem cell-based therapy for cardiovascular disease: progress and challenges [J]. *Mol Ther*, 2018, 26(7): 1610-23.
- [13] SCHULERI K H, FEIGENBAUM G S, CENTOLA M, et al. Autologous mesenchymal stem cells produce reverse remodelling in chronic ischaemic cardiomyopathy [J]. *Eur Heart J*, 2009, 30(22): 2722-32.
- [14] LIU C B, HUANG H, SUN P, et al. Human umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells improve left ventricular function, perfusion, and remodeling in a porcine model of chronic myocardial ischemia [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5(8): 1004-13.
- [15] VILAHUR G, ONATE B, CUBEDO J, et al. Allogenic adipose-derived stem cell therapy overcomes ischemia-induced microvessel rarefaction in the myocardium: systems biology study [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 52.
- [16] NEEF K, DREY F, LEPPERHOF V, et al. Co-transplantation of mesenchymal stromal cells and induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes improves cardiac function after myocardial damage [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 794690.
- [17] PARK S J, KIM R Y, PARK B W, et al. Dual stem cell therapy synergistically improves cardiac function and vascular regeneration following myocardial infarction [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 3123.
- [18] SHAFIQ M, ZHANG Y, ZHU D, et al. In situ cardiac regeneration by using neuropeptide substance P and IGF-1C peptide eluting heart patches [J]. *Regen Biomater*, 2018, 5(5): 303-16.
- [19] WALKER B W, LARA R P, YU C H, et al. Engineering a naturally-derived adhesive and conductive cardiopatch [J]. *Biomaterials*, 2019, 207: 89-101.
- [20] KAI D, WANG Q L, WANG H J, et al. Stem cell-loaded nanofibrous patch promotes the regeneration of infarcted myocardium with functional improvement in rat model [J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(6): 2727-38.
- [21] WANG X, TANG Y, LIU Z, et al. The application potential and advance of mesenchymal stem cell-derived exosomes in myocardial infarction [J]. *Stem Cells Int*, 2021, 2021: 5579904.
- [22] JOO H S, SUH J H, LEE H J, et al. Current knowledge and future perspectives on mesenchymal stem cell-derived exosomes as a new therapeutic agent [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3): 727.
- [23] PEGTEL D M, GOULD S J. Exosomes [J]. *Annu Rev Biochem*, 2019, 88: 487-514.
- [24] FLOREA V, RIEGER A C, DIFEDE D L, et al. Dose comparison study of allogeneic mesenchymal stem cells in patients with ischemic cardiomyopathy (the trident study) [J]. *Circ Res*, 2017, 121(11): 1279-90.
- [25] MATHIASSEN A B, QAYYUM A A, JORGENSEN E, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stromal cell treatment in patients with severe ischaemic heart failure: a randomized placebo-controlled trial (MSC-HF trial) [J]. *Eur Heart J*, 2015, 36(27): 1744-53.
- [26] LI X, HU Y D, GUO Y, et al. Safety and efficacy of intracoronary human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell treatment for very old patients with coronary chronic total occlusion [J]. *Curr Pharm Des*, 2015, 21(11): 1426-32.
- [27] KIM S H, CHO J H, LEE Y H, et al. Improvement in left ventricular function with intracoronary mesenchymal stem cell therapy in a patient with anterior wall st-segment elevation myocardial infarction [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2018, 32(4): 329-38.
- [28] SONG Y S, JOO H W, PARK I H, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived vascular endothelial growth factor attenuates cardiac apoptosis via regulation of cardiac miRNA-23a and miRNA-92a in a rat model of myocardial infarction [J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0179972.
- [29] MASSON-MEYERS D S, TAYEBI L. Vascularization strategies in tissue engineering approaches for soft tissue repair [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2021, 15(9): 747-62.
- [30] CARTLAND S P, GENNER S W, ZAHOOR A, et al. Comparative evaluation of TRAIL, FGF-2 and VEGF-A-induced angiogenesis *in vitro* and *in vivo* [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(12): 2025.
- [31] RAO Z, SHEN D, CHEN J, et al. Basic fibroblast growth factor attenuates injury in myocardial infarction by enhancing hypoxia-inducible factor-1 alpha accumulation [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 1193.
- [32] MARKEL T A, WANG Y, HERRMANN J L, et al. VEGF is critical for stem cell-mediated cardioprotection and a crucial paracrine factor for defining the age threshold in adult and neonatal stem cell function [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 295(6): H2308-14.
- [33] TANG Y, GAN X, CHEHELTANI R, et al. Targeted delivery of vascular endothelial growth factor improves stem cell therapy in a rat myocardial infarction model [J]. *Nanomedicine*, 2014, 10(8): 1711-8.
- [34] HOSEINI S J, GHAZAVI H, FOROUZANFAR F, et al. Fibroblast growth factor 1-transfected adipose-derived mesenchymal stem cells promote angiogenic proliferation [J]. *DNA Cell Biol*, 2017, 36(5): 401-12.
- [35] PRABHU S D, FRANGOGIANNIS N G. The biological basis for cardiac repair after myocardial infarction: from inflammation to fibrosis [J]. *Circ Res*, 2016, 119(1): 91-112.

- [36] KIM Y, NURAKHAYEV S, NURKESH A, et al. Macrophage polarization in cardiac tissue repair following myocardial infarction [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(5): 2715.
- [37] SONG N, SCHOLTEMEIJER M, SHAH K. Mesenchymal stem cell immunomodulation: mechanisms and therapeutic potential [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2020, 41(9): 653-64.
- [38] XIONG Y Y, GONG Z T, TANG R J, et al. The pivotal roles of exosomes derived from endogenous immune cells and exogenous stem cells in myocardial repair after acute myocardial infarction [J]. *Theranostics*, 2021, 11(3): 1046-58.
- [39] MALLIARAS K, IBRAHIM A, TSELIU E, et al. Stimulation of endogenous cardioblasts by exogenous cell therapy after myocardial infarction [J]. *EMBO Mol Med*, 2014, 6(6): 760-77.
- [40] SHAO L, ZHANG Y, LAN B, et al. MiRNA-sequence indicates that mesenchymal stem cells and exosomes have similar mechanism to enhance cardiac repair [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 4150705.
- [41] RIGOL M, SOLANES N, FARRE J, et al. Effects of adipose tissue-derived stem cell therapy after myocardial infarction: impact of the route of administration [J]. *J Card Fail*, 2010, 16(4): 357-66.
- [42] SUNCION V Y, GHERSIN E, FISHMAN J E, et al. Does transendocardial injection of mesenchymal stem cells improve myocardial function locally or globally? An analysis from the Percutaneous Stem Cell Injection Delivery Effects on Neomyogenesis (POSEIDON) randomized trial [J]. *Circ Res*, 2014, 114(8): 1292-301.
- [43] TAO B, CUI M, WANG C, et al. Percutaneous intramyocardial delivery of mesenchymal stem cells induces superior improvement in regional left ventricular function compared with bone marrow mononuclear cells in porcine myocardial infarcted heart [J]. *Theranostics*, 2015, 5(2): 196-205.
- [44] GUIJARRO D, LEBRIN M, LAIREZ O, et al. Intramyocardial transplantation of mesenchymal stromal cells for chronic myocardial ischemia and impaired left ventricular function: results of the MESAMI 1 pilot trial [J]. *Int J Cardiol*, 2016, 209: 258-65.
- [45] KARANTALIS V, DIFEDE D L, GERSTENBLITH G, et al. Autologous mesenchymal stem cells produce concordant improvements in regional function, tissue perfusion, and fibrotic burden when administered to patients undergoing coronary artery bypass grafting: the Prospective Randomized Study of Mesenchymal Stem Cell Therapy in Patients Undergoing Cardiac Surgery (PROMETHEUS) trial [J]. *Circ Res*, 2014, 114(8): 1302-10.
- [46] LI J, LÜ Y, ZHU D, et al. Intrapericardial hydrogel injection generates high cell retention and augments therapeutic effects of mesenchymal stem cells in myocardial infarction [J]. *Chem Engineer J*, 2021(2): 131581.
- [47] HARE J M, TRAVERSE J H, HENRY T D, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 54(24): 2277-86.
- [48] GOLPANIAN S, SCHULMAN I H, EBERT R F, et al. Concise review: review and perspective of cell dosage and routes of administration from preclinical and clinical studies of stem cell therapy for heart disease [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5(2): 186-91.
- [49] SHAFIQ M, JUNG Y, KIM S H. Insight on stem cell preconditioning and instructive biomaterials to enhance cell adhesion, retention, and engraftment for tissue repair [J]. *Biomaterials*, 2016, 90: 85-115.
- [50] KWON S Y, CHUN S Y, HA Y S, et al. Hypoxia enhances cell properties of human mesenchymal stem cells [J]. *Tissue Eng Regen Med*, 2017, 14(5): 595-604.
- [51] ROSOVA I, DAO M, CAPOCCIA B, et al. Hypoxic preconditioning results in increased motility and improved therapeutic potential of human mesenchymal stem cells [J]. *Stem Cells*, 2008, 26(8): 2173-82.
- [52] DI MATTIA M, MAURO A, CITERONI M R, et al. Insight into hypoxia stemness control [J]. *Cells*, 2021, 10(8): 2161.
- [53] DING H, GAO Y S, WANG Y, et al. Dimethylxaloylglycine increases the bone healing capacity of adipose-derived stem cells by promoting osteogenic differentiation and angiogenic potential [J]. *Stem Cells Dev*, 2014, 23(9): 990-1000.
- [54] MA N, BAI J, ZHANG W, et al. Trimetazidine protects against cardiac ischemia/reperfusion injury via effects on cardiac miRNA21 expression, Akt and the Bcl2/Bax pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(5): 4216-22.
- [55] HUANG P, WANG L, LI Q, et al. Atorvastatin enhances the therapeutic efficacy of mesenchymal stem cells-derived exosomes in acute myocardial infarction via up-regulating long non-coding RNA H19 [J]. *Cardiovasc Res*, 2020, 116(2): 353-67.
- [56] HANEEF K, ALI A, KHAN I, et al. Role of interleukin-7 in fusion of rat bone marrow mesenchymal stem cells with cardiomyocytes in vitro and improvement of cardiac function *in vivo* [J]. *Cardiovasc Ther*, 2018, 36(6): e12479.
- [57] CHEN Y, ZUO J, CHEN W, et al. The enhanced effect and underlying mechanisms of mesenchymal stem cells with IL-33 overexpression on myocardial infarction [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 295.
- [58] PARIZADEH S M, JAFARZADEH-ESFEHANI R, GHANDEHARI M, et al. Stem cell therapy: a novel approach for myocardial infarction [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(10): 16904-12.
- [59] BOON R A, DIMMELER S. MicroRNAs in myocardial infarction [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2015, 12(3): 135-42.
- [60] CHEN Y, ZHAO Y, CHEN W, et al. MicroRNA-133 overexpression promotes the therapeutic efficacy of mesenchymal stem cells on acute myocardial infarction [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 268.
- [61] WEN Z, HUANG W, FENG Y, et al. MicroRNA-377 regulates mesenchymal stem cell-induced angiogenesis in ischemic hearts by targeting VEGF [J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e104666.
- [62] MARTENS T P, GODIER A F, PARKS J J, et al. Percutaneous cell delivery into the heart using hydrogels polymerizing in situ [J]. *Cell Transplant*, 2009, 18(3): 297-304.
- [63] CHEN Y, LI C, LI C, et al. Tailorable hydrogel improves retention and cardioprotection of intramyocardial transplanted mesenchymal stem cells for the treatment of acute myocardial infarction in mice [J]. *J Am Heart Assoc*, 2020, 9(2): e013784.
- [64] STOPPEL W L, KAPLAN D L, BLACK L D, 3RD. Electrical and mechanical stimulation of cardiac cells and tissue constructs [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 96: 135-55.
- [65] LI X, ZHOU J, LIU Z, et al. A PNIPAAm-based thermosensitive hydrogel containing SWCNTs for stem cell transplantation in

- myocardial repair [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(22): 5679-88.
- [66] WU K H, MO X M, LIU Y L, et al. Stem cells for tissue engineering of myocardial constructs [J]. *Ageing Res Rev*, 2007, 6(4): 289-301.
- [67] ARJMAND B, ABEDI M, ARABI M, et al. Regenerative medicine for the treatment of ischemic heart disease; status and future perspectives [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 704903.
- [68] MAUREIRA P, MARIE P Y, YU F, et al. Repairing chronic myocardial infarction with autologous mesenchymal stem cells engineered tissue in rat promotes angiogenesis and limits ventricular remodeling [J]. *J Biomed Sci*, 2012, 19: 93.
- [69] CHEN J, ZHAN Y, WANG Y, et al. Chitosan/silk fibroin modified nanofibrous patches with mesenchymal stem cells prevent heart remodeling post-myocardial infarction in rats [J]. *Acta Biomater*, 2018, 80: 154-68.
- [70] ARUMUGAM R, SRINADHU E S, SUBRAMANIAN B, et al. beta-PVDF based electrospun nanofibers: a promising material for developing cardiac patches [J]. *Med Hypotheses*, 2019, 122: 31-4.
- [71] MIYAHARA Y, NAGAYA N, KATAOKA M, et al. Monolayered mesenchymal stem cells repair scarred myocardium after myocardial infarction [J]. *Nat Med*, 2006, 12(4): 459-65.
- [72] GUO R, WAN F, MORIMATSU M, et al. Cell sheet formation enhances the therapeutic effects of human umbilical cord mesenchymal stem cells on myocardial infarction as a bioactive material [J]. *Bioact Mater*, 2021, 6(9): 2999-3012.