

展望中药在心肌细胞移植中的作用

吴理茂 张荣利 刘 红 李连达[△]

20 世纪以来,各国先后建立了多种动物和人的胚胎干细胞系,同时干细胞和细胞移植技术也迅速发展,成为医药界的一个新热点。国外已经开始了心肌细胞移植的实验研究。本文将对心肌细胞移植现状进行综述,同时展望中药在心肌细胞移植中的作用。

1 可能应用的疾病类型

1.1 心肌梗死 心肌梗死后,坏死的心肌得不到补充,将导致心力衰竭和患者死亡。目前心肌细胞被认为是一种终末分化细胞,无法通过诱导周边心肌细胞增殖来修补。心脏移植已经很成功,但免疫排斥和供体心脏的短缺仍未得到解决。细胞移植为心肌坏死区的细胞重建及衰竭心脏的功能恢复提供了一种崭新的方法。理论上细胞移植可恢复心脏的正常结构和功能。

1.2 先天性心脏缺损修补 临床常用合成材料修补新生儿和儿童的先天性心脏缺损,但合成材料不能随着儿童的生长而增长,心肌细胞移植可解决这一难题。Sakai 等^[1]将心肌细胞种植到可降解材料,体外培养增殖后,植入心室缺损大鼠模型的心脏中,随着材料的降解,移植的心肌细胞修补好了缺损心脏。

1.3 某些遗传性心脏疾病 心肌细胞移植可作为一种基因治疗的载体,治疗心脏遗传病如家族性肥大型心肌病、家族性 Q-T 间期延长综合征等。

2 移植用细胞来源

2.1 同种异体细胞移植 1994 年 Soonpaa 等^[2]首次成功将胚胎心肌细胞移植到正常小鼠心肌中,并发现移植的心肌细胞与宿主细胞间形成间隙连接,且有新生血管形成。随后,许多学者报道胚胎心肌细胞和新生鼠的心肌细胞移植到心肌损伤模型动物的心肌中,能够修复损伤心肌,防止心肌重构和左室扩张,改善心功能。Leor 等^[3]通过检测胚胎心肌的 α -肌动蛋白,证实胚胎心肌细胞移植到心肌梗死组织存活达 65 天之久。Li 等^[4]认为出生后 22 天的大鼠心肌细胞移植后不能存活,新生鼠心肌细胞移植成功率只有

50%,胎鼠心肌细胞移植成功率达 90% 以上。Sakai 等^[5]将三种不同类型的胚胎细胞(即心肌细胞、平滑肌细胞和成纤维细胞)移植到损伤心肌的瘢痕中,发现它们均不同程度改善了心脏功能,而以心肌细胞效果最显著,平滑肌细胞其次。Scorsin 等^[6]用冠脉结扎心肌梗死大鼠模型,比较了骨骼肌细胞和胚胎心肌细胞移植对心功能的影响,两者均能提高心功能且无明显差异,但骨骼肌细胞和宿主心肌细胞无间隙连接,胚胎心肌细胞能与宿主细胞形成有效的信号联系通道。由此可见胚胎心肌细胞移植具有明显的优越性。

2.2 自体细胞移植 尽管细胞移植比器官移植的免疫反应小很多,但异体细胞移植的排异问题一直影响心肌细胞移植的进程,且在心肌疤痕区所形成的胚胎心肌组织中,随时间延长呈减少趋势,几个月后所剩无几,所以自体细胞移植被提上议事日程。Sakai 等^[7]报道,从大鼠自体心房获得细胞,体外培养,再移植到左心室冻伤疤痕中,能限制疤痕扩大,有效阻止左心室扩张和室壁变薄,明显改善心功能,且与原来细胞形成了有效连接。Li 等^[8]报道阻断猪冠脉左前降支造成心肌梗死模型,同时从室间隔获得细胞,体外培养,然后移植到心肌梗死区,能明显减少梗死区面积,提高心室收缩功能。但从心脏直接获得细胞较为困难,且数量较少,不可能满足日后的临床需要。已有学者正在研究其他组织细胞用于移植的可能性。Chiu 等^[9]将狗自体骨骼肌卫星细胞移植到狗的冻伤心脏中,卫星细胞可分化为心肌样细胞,彼此间可形成间隙连接和闰盘连接,并能提高心脏的收缩力。Kamihata 等^[10]给猪缺血心肌移植骨髓单个核细胞,结果显示局部供血改善,心功能改善。Tomita 等^[11]也观察到类似的结果。尽管不同来源的细胞体内都有可能分化成心肌细胞,但临床上一般要求移植的细胞不仅能产生心肌细胞,而且需要运载营养的血管和协调收缩与舒张的神经传导机制,所以有人提出多种细胞混合移植的观点。目前未见有关混合细胞移植修复受损心脏的报道。

2.3 生物工程细胞移植 生物工程来源的心肌细胞易于控制和操纵,可通过分子生物学技术修改其免疫原性,避免细胞移植的免疫反应,易于体外增殖,容易获得足够数量的移植用细胞。随着干细胞技术进

中国中医研究院西苑医院基础室(北京 100091) [△]导师

通讯作者:吴理茂;Tel:010-62875599 转 6176;E-mail:WLM4840@

hotmail.com

入实用阶段,利用各种干细胞获得移植用心肌细胞将成为可能。Makino等^[12]用5-氨基胞苷从骨髓细胞诱导出类心肌细胞,电生理和电镜表明具有心肌细胞的形态和电生理特征,且表达心肌特有的蛋白。Izhak等^[13]最近从人胚胎干细胞培养分化出心肌细胞,此心肌细胞能自发节律收缩,并表达心肌特有的各种蛋白和因子,有心肌细胞的电生理特征。Nadia等^[14]从成年WB-F344雄性小鼠的肝脏中分离纯化,得到肝干细胞,标记了lac报告基因,植入雌性裸鼠心脏中,通过检测Y染色体和半乳糖苷酶的表达,证实肝干细胞能在心脏中分化成心肌细胞,且无肿瘤原性。这些实验显示,用自体其他部位的干细胞修补受损心脏是未来心肌细胞移植的发展方向之一。

3 实验动物模型 任何一种药物和治疗方法都离不开动物模型,心肌细胞移植也如此。目前较常用的动物模型有如下4种:心肌冷冻损伤模型、冠脉结扎心肌梗死模型、缺血再灌注模型、阿霉素诱发鼠心力衰竭模型。这些模型各有优缺点,可根据不同的实验需求灵活选用。

3.1 心肌冷冻损伤模型 即用超低温冷冻的探针,连续多次贴于左室壁,在左室壁上形成一稳定的心肌损伤区。用此方法造成的模型,坏死区与正常区边界清晰,易于评估。但此模型与临床不大相符。

3.2 冠脉结扎心肌梗死模型 结扎冠脉左前降支,在左心室造成一坏死区。用此方法造成的模型,与临床吻合性好,但坏死区常有变异,实验时较难把握,不易评价实验结果。

3.3 缺血再灌注模型 此模型较少使用,造模方法基本与前一模型类似。只是完全结扎改为结扎一段时间后,恢复冠脉血流。

3.4 阿霉素诱发心力衰竭模型 阿霉素为一心脏毒剂,能引起心肌细胞凋亡和坏死,连续大剂量给予阿霉素可导致大鼠心功能衰竭^[15]。此模型与临床上药源性心肌坏死吻合度高,应用此模型的实验研究尚少报道。

4 面临的问题和中药应用前景 心肌细胞移植治疗心脏疾病的实验研究已经取得了可喜的进展,不久的将来,将为冠心病、心肌梗死、心功能衰竭以及遗传性心脏病患者带来新的曙光。但要将此技术推向临床还有很长的路要走,需要逐步解决一系列的难题。

4.1 细胞凋亡问题 Zhang M等^[16]报道心肌梗死区一般缺少血液供应和营养成分,细胞移植到该区域后,绝大部分细胞都在7天内凋亡,少数细胞通过细胞之间的扩散获得营养成分而存活,他们给移植细胞

转染了抗凋亡基因Akt,有助于细胞存活,探索中他们发现如果预先给细胞以热休克刺激,能大大提高细胞的存活率。中药能否在这方面有所作为?答案是肯定的,问题是用什么方法和技术去发掘。现有证据表明:许多中药具有抗凋亡、保护心肌细胞的作用。有些中药或其有效成分处理被移植的个体,能增加梗死区周围细胞的扩散能力,使移植在梗死区的细胞较易获得营养,或者用这些中药直接处理移植用的细胞,增强其耐缺氧和营养的能力,或者两种方法同时使用。有文献报道川芎嗪^[17]、广枣黄酮^[18]、丹参注射液^[19,20]等中药有效成分具有保护梗死区心肌细胞和抗细胞凋亡的作用。另外如养阴益气合剂^[21]、炙甘草汤^[22]等传统方剂都有保护心肌细胞的作用。

4.2 免疫排斥问题 免疫排斥一直是器官移植最头疼的问题,尽管细胞移植免疫排斥远小于器官移植,但移植细胞随着时间的推移,最后也所剩无几,尤其是同种异体移植更需解决这一问题。目前已有专家提出通过基因工程技术,修改细胞的免疫反应识别系统,降低免疫源性,但这种设想在短期内似乎难以实现。从已有的文献中看,中药免疫调节剂比比皆是,有人报道丹参注射液能延长小鼠同种异体移植心肌细胞的存活期^[23],也有人报道莪术、郁金香中的成分榄香烯能抑制免疫排斥^[24]。由此可见中药控制免疫排斥的成分或复方很有前景,有待发掘。

4.3 诱导分化问题 成年心肌细胞中是否有心肌干细胞,目前是一个有争议的领域。胚胎心肌细胞移植到梗死心肌中有可能保持胚胎的表型。同时因为道德伦理和来源问题,临床上不可能使用胚胎心肌细胞。因此有必要寻找高效的诱导分化剂,将其它组织的成年干细胞或胚胎干细胞诱导分化成心肌细胞,再用于移植。5-氨基胞苷可诱导骨髓细胞分化为心肌细胞,但诱导百分率较低。中药这一伟大宝库中有望找到诱导细胞分化的成分。最近霍玉书等^[25]从鹿茸中分得诱导神经干细胞增殖和分化的小分子多肽;日本发酵株式会社宣布从牛膝中分得细胞分化诱导剂。目前尚未见中药或中药有效成分诱导干细胞分化为心肌细胞的报道。

由此可见,心肌细胞移植的研究尚处于初级阶段,有许多问题仍未解决,如心功能的改善是由移植的细胞引起的,还是其分泌的细胞因子所引起?移植细胞能否和宿主细胞完全融合,而同步收缩?另外如心肌细胞移植时容易泄漏,手术植入常给患者带来较大的损伤和痛苦,是否能改为静脉注射、冠脉导管注入或其他方法呢?如果能从中药中找到有效成分,促进身体

其他组织的成年干细胞(如骨髓干细胞)向心肌梗死区聚集,并且诱导其分化为心肌细胞,修补坏死心肌,那将是中药最成功的范例之一。

干细胞技术和细胞移植无疑将推动医学界一场新的革命,而中医药要走向世界,走向现代化,无疑也需与现代生物医学新技术、新领域相结合。中医药介入细胞工程学领域如心肌细胞移植将是中医药走向现代化的一个切入点。我们已将中医药引入心肌细胞移植领域,最近我们完成了“中药与自体骨髓单个核细胞经心导管移植对小型猪心肌梗死的影响”的首创性研究,并获得可喜结果(研究报告将待发表)。

参 考 文 献

- 1 Sakai T, Li RK, Weisel RD, et al. The fate of a tissue-engineered cardiac graft in the right ventricular outflow tract of the rat. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001 ;12(5):932—942.
- 2 Soonpaa MH, Koh GY, Klug MG et al. Formation of nascent intercalated disks between grafted fetal cardiomyocytes and host myocardium. *Science* 1994 ;264(5155):98—101.
- 3 Leor J, Patterson M, Quinones MJ, et al. Transplantation of fetal myocardial tissue into the infarcted myocardium of rat : a potential method for repair of infarcted myocardium? *Circulation* 1996 ;94(9 suppl): II 332- II 336.
- 4 Li RK, Mickle DAG, Weisel RD. In vivo survival and function of transplanted rat cardiomyocytes. *Circ Res* 1996 ;78:283—288.
- 5 Sakai T, Li RK, Weisel RD, et al. Fetal cell transplantation : a comparison of three cell types. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999 ;118(4):715—724.
- 6 Scorsin M, Hagege A, Vilquin JT, et al. Comparison of the effects of fetal cardiomyocyte and skeletal myoblast transplantation on postinfarction left ventricular function. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000 ;119(6):1169—1175.
- 7 Sakai T, Li RK, Weisel RD, et al. Autologous heart cell transplantation improves cardiac function after myocardial injury. *Ann Thorac Surg* 1999 ;68(6):2074—2080.
- 8 Li RK, Weisel RD, Mickle DA, et al. Autologous porcine heart cell transplantation improved heart function after a myocardial infarction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000 ;119(1):62—68.
- 9 Chiu RC, Zibaitis A, Kao RL. Cellular cardiomyoplasty : myocardial regeneration with satellite cell implantation. *Ann Thorac Surg* 1995 ;60(1):12—18.
- 10 Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, et al. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances col-

- lateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation* 2001 ;104(9):1046—1052.
- 11 Tomita S, Li RK, Weisel RD, et al. Autologous transplantation of bone marrow cells improve damaged heart function. *Circulation* 1999 ;100(19 Suppl): II 247—256.
- 12 Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J Clin Invest* 1999 ;103(5):697—705.
- 13 Izhak K, Dorit KK, Mirit S, et al. Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. *J Clin Invest* 2001 ;108(3):407—414.
- 14 Nadia NM, William BC, Joe WG, et al. Adult-derived stem cells from the liver become myocytes in the heart in vivo. *Am J Pathology* 2001 ;158(6):1929—1935.
- 15 Earm YE, Ho WK, So I. Effects of adriamycin on ionic currents in single cardiac myocytes of the rabbit. *J Mol Cell Cardiol* 1994 ;26(2):163—172.
- 16 Zhang M, Methot D, Poppa V, et al. Cardiomyocyte grafting for cardiac repair : graft cell death and anti-death strategies. *J Mol Cell Cardiol* 2001 ;33(5):907—921.
- 17 储利胜,施雪筠,席时芳,等.川芎嗪提高心脏保存效果的实验研究. *中药新药与临床药理* 2000 ;11(2):80—82.
- 18 张昕原,包保全,王志民,等.广枣总黄酮对阿霉素致大鼠心肌细胞过氧化损伤的保护作用. *中药材* 2001 ;24(3):185—187.
- 19 张萍,林敬明,李志梁,等.复方丹参注射液对兔急性心肌梗塞细胞凋亡的影响. *中药材* 2001 ;24(7):502—504.
- 20 周迎春,陈镜合.心肌细胞保护作用的中药研究进展. *中医药信息* 2000 ;17(6):26—28.
- 21 潘群皖,汪桐.养阴益气合剂抗实验性心律失常的研究. *皖南医学院学报* 1995 ;14(4):355—357.
- 22 陈奇,周丽娟,毕明,等.炙甘草汤有效成分甘草酸及其配伍对心肌细胞触发活动影响. *中药药理与临床* 2000 ;16(2):60—61.
- 23 王学,沈文律,谭建三,等.中药丹参延长小鼠同种移植心肌组织存活作用的研究. *华西医学* 1994 ;9(3):345—346.
- 24 李育强,刘敬国,田守智,等.中药榄香烯与过继免疫联合治疗肿瘤的临床观察. *中国实验临床免疫学杂志* 1997 ;9(3):60—63.
- 25 霍玉书,霍虹, Winters W D,等.鹿茸神经生长因子活性及促分化作用的研究. *中药新药与临床药理* 1997 ;8(2):79—81.

(收稿 2002-05-05 修回 2002-11-30)