

任良强,侯晓晓,乔平,等. 脐血单个核细胞对急性心肌梗死大鼠血管新生的促进作用及机制研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(5): 72-77.

Ren LQ, Hou XX, Qiao P, et al. Promotive effect and mechanism of umbilical cord blood mononuclear cells on angiogenesis in rats with acute myocardial infarction [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(5): 72-77.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2021.05.012

脐血单个核细胞对急性心肌梗死大鼠血管新生的促进作用及机制研究

任良强*, 侯晓晓, 乔平, 王圣, 廖旺, 李斌

(海南省人民医院心血管内科, 海口 570311)

【摘要】 目的 探讨脐血单个核细胞(HCMNCs)对急性心肌梗死(AMI)大鼠血管新生的促进作用及机制。**方法** 分离 HCMNCs 并用 BrdU 标记,选取 25 只大鼠采用冠状动脉结扎法建立急性心肌梗死大鼠模型,造模成功 20 只随机分为心梗组、HCMNCs 组,各 10 只,另取 10 只为假手术组。建模成功后,HCMNCs 组大鼠心肌梗死周围注入 HCMNCs,假手术组和模型组同部位注入 L-DMEM 培养基。移植 4 周后,超声心动图检测心功能,HE 染色观察心肌病理学变化,BrdU 染色检测移植细胞存活情况,免疫组化染色检测心肌梗死边缘微血管密度(MVD)、CD31、血管内皮生长因子(VEGF)蛋白表达,Western blot 法检测心肌组织中 CD31、VEGF 蛋白水平。**结果** 与假手术组比较,心梗组和 HCMNCs 组左室收缩末期内径(LVEDs)、左室舒张末期内径(LVEDd)水平升高,左室射血分数(LVEF)、左室短轴缩短率(FS)水平降低($P<0.05$);与心梗组比较,HCMNCs 组 LVEDs、LVEDd 水平降低,LVEF、FS 水平升高($P<0.05$)。HE 染色显示,假手术组心肌细胞结构正常,心梗组心肌细胞排列紊乱,有大量炎性细胞浸润;HCMNCs 组心肌细胞结构基本正常。BrdU 染色显示,假手术组和心梗组均未检测到 BrdU 标记的阳性细胞,HCMNCs 组梗死区可见散在分布的 BrdU 阳性细胞,参与血管壁的组成。与假手术组比较,心梗组和 HCMNCs 组 CD31、VEGF 蛋白光密度及蛋白相对表达量和 MVD 减少($P<0.05$);与心梗组比较,HCMNCs 组 CD31、VEGF 蛋白光密度及蛋白相对表达量和 MVD 增加($P<0.05$)。**结论** HCMNCs 能促进 AMI 大鼠侧支循环建立,诱导血管新生,对缺血性心功能有明显改善作用。

【关键词】 急性心肌梗死;脐血单个核细胞;血管新生

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2021)05-0072-06

Promotive effect and mechanism of umbilical cord blood mononuclear cells on angiogenesis in rats with acute myocardial infarction

REN Liangqiang*, HOU Xiaoxiao, QIAO Ping, WANG Sheng, LIAO Wang, LI Bin

(Department of Cardiovascular Medicine, Hainan Provincial People's Hospital, Haikou 570311, China)

【Abstract】 Objective To explore the promotive effect and mechanism of human cord blood mononuclear cells (HCMNCs) on angiogenesis in rats with acute myocardial infarction (AMI). **Methods** HCMNCs were isolated and labeled with BrdU. Twenty rats were selected to establish the acute myocardial infarction model by coronary artery ligation. The rats were randomly divided into myocardial infarction and HCMNC groups with 10 rats in each group. Another 10 rats

【基金项目】 海南省自然科学基金(817305)。

【作者简介】 任良强(1981—),男,硕士,副主任医师,研究方向:冠心病介入治疗。E-mail:Shbai_7@163.com

were used as the sham operation group. After successful model establishment, HCMNCs were injected around the myocardial infarction in the HCMNC group and L-DMEM was injected into the same site of sham operation and model groups. Four weeks after transplantation, echocardiography was used to assess cardiac functions, HE staining was used to observe myocardial pathological changes, BrdU staining was used to detect transplanted cell survival, and immunohistochemical staining was used to analyze the microvessel density (MVD) and protein expression of CD31 vascular endothelial growth factor (VEGF). Western blott was used to measure CD31 and VEGF protein levels in myocardial tissue.

Results Compared with the sham operation group, the left ventricular end systolic dimension (LVEDs) and left ventricular end diastolic dimension (LVEDd) were increased and the left ventricular ejection fraction (LVEF) and fraction shortening (FS) were decreased in myocardial infarction and HCMNC groups ($P<0.05$). Compared with the myocardial infarction group, LVEDs and LVEDd were decreased, and LVEF and FS were increased in the HCMNC group ($P<0.05$). HE staining showed that the structure of myocardial cells was normal in the sham operation group and the arrangement of myocardial cells was disordered in the myocardial infarction group with a large amount of inflammatory cell infiltration. The structure of myocardial cells in the HCMNC group was essentially normal. BrdU-positive cells were not detected in sham operation or myocardial infarction groups and scattered BrdU-positive cells were seen in the infarct area of the HCMNCs group, which were involved in formation of the blood vessel wall. Compared with the sham operation group, relative expression of CD31 and VEGF proteins and MVD were decreased in myocardial infarction and HCMNC groups ($P<0.05$), and compared with the myocardial infarction group, relative expression of CD31 and VEGF proteins and MVD were increased ($P<0.05$). **Conclusions** HCMNCs promote the establishment of collateral circulation in AMI rats, induce angiogenesis, and significantly improve ischemic heart functions.

【Keywords】 acute myocardial infarction; cord blood mononuclear cells; angiogenesis

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 是心内科常见危急重症, 指冠状动脉狭窄或阻塞引起的急性、持续性、缺血缺氧性心肌病, 临床主要表现为心率失常、持久而剧烈的胸骨后疼痛、急性循环功能障碍和发热等, 最终导致心力衰竭, 诱发死亡^[1]。AMI 临床治疗以开通梗死相关血管, 挽救濒死心肌为基本原则, 主要通过药物溶栓及经冠状动脉介入治疗等方法进行治疗, 但由于手术治疗的危险性以及术后血管再狭窄等问题限制了其在治疗 AMI 中的应用^[2]。近年来, 随着血管新生疗法理念的提出, 使干细胞移植治疗 AMI 得到广泛研究, 尤其是人脐血单个核细胞 (human cord blood mononuclear cells, HCMNCs) 在卵巢早衰等多种疾病的移植治疗中取得一定效果^[3]。HCMNCs 取材方便、免疫原性低、移植耐受性好, 富含造血干细胞、内皮祖细胞、间充质干细胞等, 是干细胞移植的重要来源^[4]。既往研究显示, HCMNCs 参与调节脑内血管生成过程, 并参与心肌梗死后缺血性心肌保护, 对缺血性心脑血管病表现出一定的治疗作用, 然而其作用机制尚不清楚^[5-6]。本研究通过观察 HCMNCs 对 AMI 大鼠血管新生的促进作用, 旨在探讨其治疗 AMI 的作用机制, 为临床治疗 AMI 提供新的治疗方法和依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

SPF 级雄性健康 Wistar 大鼠 35 只, 7~8 周龄, 体重 (250 ± 20) g, 由北京维通利华公司提供 [SCXK (京) 2016-0001]。大鼠购入后饲养于海南省药物安全性评价研究中心实验动物房 [SYXK (琼) 2016-0013], 保持温度 (20 ± 2) °C, 相对湿度 (55 ± 5) %, 12 h/12 h 明暗交替, 适应性饲养 1 周。本研究经海南省人民医院伦理委员会审核通过 (2018004160039)。研究过程遵循 3R 原则, 给予动物人道主义关怀。

1.1.2 脐血来源

脐血来源于本院产科健康产妇顺产后新生儿脐带静脉血, 收集 100 mL, 置于含有抗凝剂的收集袋中。所有产妇均无妊娠并发症, 均不携带乙肝、艾滋、梅毒等病毒, 无遗传性疾病家族史和血液系统疾病史, 无急性炎症和自身免疫性疾病。本研究经医院伦理委员会审核通过, 征求供者同意, 并签署知情同意书。

1.2 主要试剂与仪器

6% 羟乙基淀粉 (美国 Hospira 公司); 小鼠抗 BrdU 单抗 (美国 Neomarkers 公司); 二抗: 即用型免

疫组化广谱试剂盒、GE Ficoll-paque Plus 淋巴细胞分离液(北京百奥莱博科技有限公司);兔抗大鼠血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)多抗、CD31 多抗(美国 Abcam 公司);高分辨率小动物超声影像系统(加拿大 Visual Sonics Inc 公司);小动物呼吸机(美国哈佛仪器公司);多导生理信号记录仪(美国 BIOPAC 公司);M10125 型 PCR 仪、Experion 型电泳仪(美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 HCMNCs 的分离、标记及活性检测

取脐血和 6%羟乙基淀粉按 5:1 比例加入 50 mL 离心管中,静置 45 min,提取上层浑浊层,将提取液按 2:1 铺在淋巴细胞分离液上,2000 r/min(离心半径 10 cm)20℃条件下离心 25 min,弃上清,获得单个核细胞。将分离的 HCMNCs 置于含有 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 BrdU、10%胎牛血清的 L-DMEM 培养基中,于体积分数 5%的 CO_2 、37℃条件下常规培养 24 h。锥虫蓝染液染色,活细胞不着色,死细胞被染成蓝色,显微镜下观察活细胞占比 $\geq 98\%$,可用于移植。

1.3.2 CFSE 标记 HCMNCs

取 CFSE 溶液(2.5 $\mu\text{mol/mL}$)500 μL ,与 4×10^6 个细胞混匀,4℃条件下反应 30 min,荧光显微镜下观察染色率, $\geq 95\%$,且染色后细胞活性在 90%以上,可用于后续实验。

1.3.3 建模、分组及干预

随机选取 25 只大鼠,参照文献^[7],采用冠状动脉结扎法建立急性心肌梗死大鼠模型。大鼠按 40 mg/kg 体重腹腔注射 1%戊巴比妥钠麻醉,仰卧固定,连接呼吸机,记录心电图,颈部备皮,打开颈部皮肤,进行气管插管;在大鼠左侧胸部,第 4~5 肋间,切开皮肤,钝性分离胸肌,暴露心脏,在左心耳根部与肺动脉圆锥交界处下方 2 mm 处结扎冠脉左前降支,观察大鼠心电图及心肌颜色的改变,心电图出现 ST 段明显抬高,左室心肌颜色变白,局部心肌搏动减弱,视为造模成功。20 只大鼠造模成功,随机分为模型组 10 只,HCMNCs 组 10 只。剩余 10 只为假手术组,操作步骤同上,冠状动脉只穿线,不结扎。建模成功后,HCMNCs 组大鼠在心肌变白与正常心肌交界处取三个点,采用微量注射器注入 CFSE 标记的 HCMNCs,每点注射 50 μL (约 1×10^7 个细胞),假手术组和模型组同部位注入等量含有 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 BrdU、10%胎牛血清的 L-DMEM 培养基。

1.3.4 超声心动图检测心功能

细胞移植 4 周后,1%戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠,胸部备皮,仰卧固定后,行 M 型超声心动图检测大鼠心功能,探头频率为 15 MHz,记录左室舒张末期内径(left ventricular end diastolic dimension, LVEDd)、左室收缩末期内径(left ventricular end systolic dimension, LVEDs)、左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)和左室短轴缩短率(fraction Shortening, FS),选取 3 个心动周期进行监测,取平均值。

1.3.5 HE 染色观察心肌病理变化

超声完毕后,处死后迅速取心脏,生理盐水冲洗干净后,沿房室沟减去左右心房,除去大血管,剪去右心室,沿左心室长轴中间部分一分为二,一部分保存于 4%多聚甲醛中固定 24 h,经梯度浓度乙醇脱水、石蜡包埋、切片(片厚约 5 μm),常规 HE 染色,于显微镜下观察心肌组织病理学变化。

1.3.6 荧光显微镜观察移植细胞数量

取心肌切片,在荧光显微镜下观察视野中绿色荧光面积与心梗面积比例,计算细胞局部存活率。

1.3.7 BrdU 染色检测移植细胞存活情况

取心肌组织切片,脱蜡至水,3% H_2O_2 室温孵育 10 min,封闭内源性过氧化物酶活性,蒸馏水冲洗,抗原修复后,按照免疫组化试剂盒说明书步骤进行染色,存活细胞 BrdU 染色阳性为深褐色颗粒,显微镜下观察存活细胞情况。

1.3.8 检测心肌梗死边缘微血管密度(microvessel density, MVD)和 CD31、VEGF 蛋白表达水平

取心肌组织切片,脱蜡至水,3% H_2O_2 室温孵育 10 min,封闭内源性过氧化物酶活性,蒸馏水冲洗,按照免疫组化试剂盒说明书,加入 1:100 稀释的 CD31、VEGF 一抗,孵育过夜,依次加入试剂 1 和试剂 2,DAB 显色,阴性对照以 PBS 代替一抗,CD31 阳性细胞呈棕黄色颗粒,显微镜下观察 CD31 阳性细胞表达情况,计算单位面积内 CD31 为阳性的微血管数目,梗死边缘随机选取 5 个视野,取平均值即为 MVD。细胞内出现棕黄色颗粒表示 VEGF 蛋白表达阳性,统计 CD31、VEGF 蛋白阳性表达光密度值,以光密度值高低代表蛋白阳性表达率。

1.3.9 Western blot 法检测心肌组织中 CD31、VEGF 蛋白相对表达水平

心肌另一部分保存于液氮中,取液氮中保存心肌组织,冰上研磨,提取总蛋白,BCA 法测定蛋白浓

度,采用 10% 聚丙烯酰胺凝胶分离目的蛋白,蛋白经电泳后,转至 PVDF 膜上,5% 脱脂奶粉封闭 2 h,洗膜后加入 1:1000 浓度的 CD31、VEGF、 β -actin 抗体,4℃ 孵育过夜,洗膜,加入 1:5000 稀释的 HRP 标记的二抗,室温孵育 2 h,洗膜,加入 ECL 化学发光液显影,曝光成像,采用 Image J 软件分析蛋白条带灰度值,VEGF 蛋白相对表达水平以其蛋白条带灰度值/内参蛋白条带灰度值表示。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 25.0 统计学软件分析数据,计量资料以平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多样本计量资料比较采用单因素方差分析,两两样本比较采用 LSD-*t* 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 心功能指标变化

LVEDs、LVEDd、LVEF、FS 水平组间比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。与假手术组比较,心梗组和 HCMNCs 组 LVEDs、LVEDd 水平升高,LVEF、FS 水平降低($P<0.05$);与心梗组比较,HCMNCs 组 LVEDs、LVEDd 水平降低,LVEF、FS 水平升高($P<0.05$)。见表 1。

2.2 心肌组织病理变化

HE 染色显示,假手术组心肌细胞排列整齐,走向规律;心梗组心肌细胞排列紊乱,有大量炎性细胞浸润;HCMNCs 组心肌细胞结构基本正常,心肌纤维排列较整齐,仍可见梗死区域。见图 1。

2.3 细胞存活率

荧光显微镜下显示,假手术组和心梗组均未见绿色荧光,HCMNCs 组 CSFE 阳性细胞,绿色荧光面积占心梗面积(38.59 ± 10.25)%。见图 2。

2.4 BrdU 标记细胞情况

BrdU 染色显示,假手术组和心梗组均未检测到 BrdU 标记的阳性细胞,HCMNCs 组梗死区可见散在分布的 BrdU 阳性细胞,参与血管壁的组成。见图 3。

2.5 免疫组化染色检测心肌组织 CD31 蛋白及 MVD 水平

CD31 蛋白及 MVD 水平组间比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。与假手术组比较,心梗组和 HCMNCs 组 CD31 蛋白光密度值和 MVD 减少($P<0.05$);与心梗组比较,HCMNCs 组 CD31 蛋白光密度值和 MVD 增加($P<0.05$)。见表 2,图 4。

2.6 免疫组化检测心肌组织中 VEGF 蛋白相对表达水平

假手术组、心梗组和 HCMNCs 组 VEGF 蛋白光密值分别为: (116.45 ± 11.62), (76.25 ± 9.16), (93.17 ± 10.24)。VEGF 蛋白光密值组间比较,差异有统计学意义($F=37.922, P<0.05$)。与假手术组比较,心梗组和 HCMNCs 组 VEGF 蛋白光密值减小($t=8.592, 4.753, P<0.001$);与心梗组比较,HCMNCs 组 VEGF 蛋白光密值增大($t=3.878, P<0.001$)。见表 2,图 5。

2.7 Western blot 法检测心肌组织中 CD31、VEGF 蛋白相对表达水平

CD31、VEGF 蛋白相对表达水平组间比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。与假手术组比较,心梗组和 HCMNCs 组 CD31、VEGF 蛋白相对表达水平降低($P<0.05$);与心梗组比较,HCMNCs 组 CD31、VEGF 蛋白相对表达水平升高($P<0.05$)。见表 3,图 6。

3 讨论

心肌组织持续性缺血缺氧发生 AMI,造成局部心肌细胞变性、坏死,继而引起心功能下降或丧失,残存的心肌细胞负荷增加,发生代偿性肥厚,导致心室扩张,发生心室重构,最终发展为心力衰竭,是 AMI 患者死亡的主要原因^[8]。如何促进梗死区心肌内血管新生,改善局部血液供应,恢复缺血区再灌注,减小梗死面积,保护心功能,成为治疗 AMI 的研究热点。随着 HCMNCs 在临床医学及再生医学中的广泛应用,HCMNCs 移植在肿瘤、免疫缺陷症以及代谢性疾病等移植治疗过程中发挥重要作用,其可向各种组织细胞定向分化,通过移植 HCMNCs 有望成为治疗 AMI 的新途径^[9-10]。

HCMNCs 来源充足,所含前体细胞种类丰富,与成年人组织中的干细胞相比,其具有更高增殖分化潜能,并且免疫原性极低,机体免疫系统难以识别,是当前再生医学重要的治疗工具。HCMNCs 具有强大的定向分化能力,刘子琳等^[11]通过移植 HCMNCs 治疗大鼠腓肠肌失神经损伤, Petukhova 等^[12]通过 HCMNCs 治疗阿尔兹海默病小鼠,都取得了一定效果,HCMNCs 可以分别向肌细胞和神经细胞方向分化,改善组织损伤,发挥治疗作用。本研究使用 BrdU 对 HCMNCs 进行标记,结果显示 HCMNCs 组大鼠心肌梗死边缘分布有 BrdU 标记阳性的细胞,表明 HCMNCs 在大鼠体内移植成功,并且

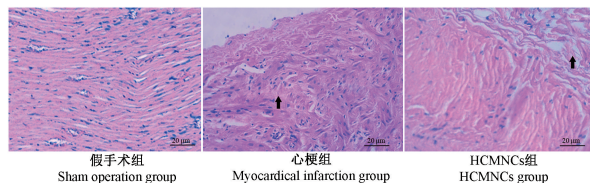
HCMNCs 组大鼠心功能指标及心肌病理变化得到一定改善,提示 HCMNCs 对 AMI 对大鼠具有改善心功能的作用。慢性终末期心力衰竭患者采用 HCMNCs 治疗后,心功能得到明显改善,血管性痴呆患者通过 HCMNCs 移植治疗后,脑部血流速度加快,认知

表 1 各组大鼠心功能指标 ($\bar{x} \pm s$), $n=10$
Table 1 Heart function indexes of rats in each group

组别 Groups	左室收缩 末期内径 (mm)LVEDs	左室舒张 末期内径 (mm)LVEDd	左室射 血分数 (%)LVEF	左室短 轴缩短率 (%)FS
假手术组 Sham operation group	4.96±0.55	6.03±0.66	71.26±7.14	43.28±4.45
心肌梗组 Myocardial infarction group	7.38±0.72 ^a	8.76±0.85 ^a	43.27±5.29 ^a	26.27±3.52
HCMNCs 组 HCMNCs group	6.32±0.67 ^{ab}	7.32±0.74 ^{ab}	58.94±6.18 ^{ab}	34.51±4.16
<i>F</i>	34.768	32.804	50.393	43.855
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与心肌梗组比较,^b $P<0.05$ 。

Note. Compared with sham operation group, ^a $P<0.05$. Compared with myocardial infarction group, ^b $P<0.05$.

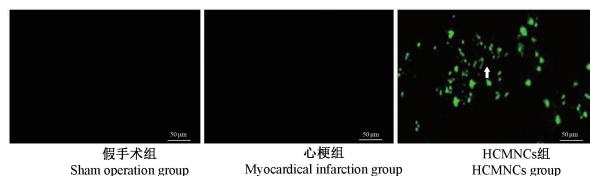


注:箭头所指为梗死部位。

图 1 心肌组织 HE 染色

Note. The arrow points to the infarct site.

Figure 1 HE staining of myocardial tissue

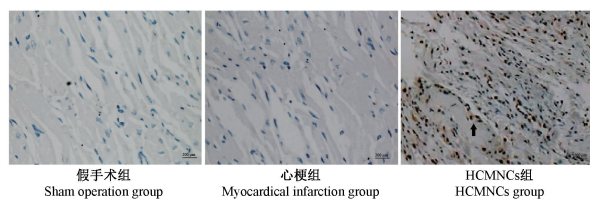


注:箭头所指为 CSFE 阳性细胞。

图 2 CSFE 阳性细胞表达情况

Note. The arrow points to CSFE positive cells.

Figure 2 Expression of CSFE positive cells



注:箭头所指为 BrdU 阳性细胞。

图 3 BrdU 标记细胞情况

Note. The arrow points to BrdU positive cells.

Figure 3 BrdU labeled cells

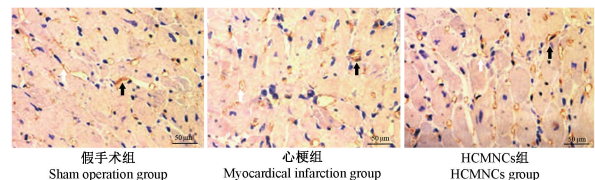
功能提高,表明 HCMNCs 对心血管疾病有一定治疗作用^[13-14]。本研究结果与 Saha 等^[15]在缺血缺氧性脑损伤中的效果一致,提示通过 HCMNCs 移植治疗 AMI 大鼠,可减轻心室扩张,具有一定改善心功能的作用。

表 2 心肌组织 CD31 蛋白及 MVD 水平 ($\bar{x} \pm s$), $n=10$
Table 2 CD31 protein and MVD levels in myocardial tissue

组别 Groups	CD31	微血管密度 (number/mm ²) MVD
假手术组 Sham operation group	93.26±9.24	8.56±0.85
心肌梗组 Myocardial infarction group	43.35±7.28 ^a	4.15±0.62 ^a
HCMNCs 组 HCMNCs group	75.16±8.41 ^{ab}	6.92±0.73 ^{ab}
<i>F</i>	91.593	90.897
<i>P</i>	<0.001	<0.001

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与心肌梗组比较,^b $P<0.05$ 。

Note. Compared with sham operation group, ^a $P<0.05$. Compared with myocardial infarction group, ^b $P<0.05$.

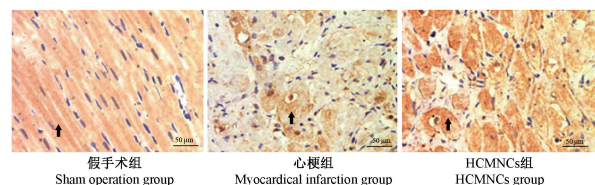


注:黑色箭头所指为 CD31 阳性表达,白色箭头所指为微血管。

图 4 心肌组织 CD31 免疫组化结果

Note. The black arrow points to the positive expression of CD31, the white arrow points to the capillaries.

Figure 4 CD31 immunohistochemical results of myocardial tissue



注:箭头所指为表 VEGF 阳性表达。

图 5 心肌组织 VEGF 免疫组化结果

Note. The arrow points to the positive expression of VEGF.

Figure 5 VEGF immunohistochemical results of myocardial tissue

表 3 心肌组织 CD31、VEGF 蛋白相对
表达水平 ($\bar{x} \pm s$), $n=10$

Table 3 Relative expression level of CD31 and VEGF
protein in myocardium

组别 Groups	CD31	血管内皮生长因子 VEGF
假手术组 Sham operation group	0.73±0.06	0.62±0.06
心肌梗组 Myocardial infarction group	0.21±0.04 ^a	0.14±0.04 ^a
HCMNCs 组 HCMNCs group	0.35±0.05 ^{ab}	0.25±0.04 ^{ab}
<i>F</i>	91.593	90.897
<i>P</i>	<0.001	<0.001

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与心肌梗组比较,^b $P<0.05$ 。

Note. Compared with sham operation group, ^a $P<0.05$. Compared with myocardial infarction group, ^b $P<0.05$.

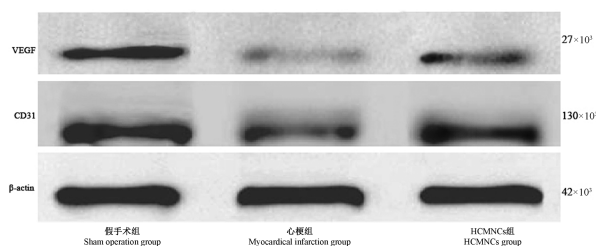


图 6 心肌组织 CD31、VEGF 蛋白表达

Figure 6 Expression of CD31 and VEGF protein in myocardium

心肌发生梗死后,梗死区周围微血管循环功能发生障碍,血管数量减少,进而加重心功能衰退,通过血管新生,内皮细胞形成新的血管,可促进缺血心肌血氧灌注,减少心肌细胞死亡,改善心功能^[16]。CD31 是血管内皮细胞标志物,其标记的 MVD 是反应侧支循环的最可靠指标,VEGF 是血管生成的关键调节因子,通过激活下游因子,促进内皮细胞分化和增殖,参与调节毛细血管循环和内皮组织修复^[17]。研究显示,采用 HCMNCs 移植治疗视网膜病变小鼠,可促进视网膜新血管形成;治疗缺血性脑卒中大鼠,VEGF 水平明显升高,表明 HCMNCs 具有促进血管新生的作用^[18-19]。本研究免疫组化显示 HCMNCs 组 CD31 和 VEGF 表达较心梗组明显增加,且 MVD 水平明显升高,进一步 Western bolt 检测,CD31 和 VEGF 蛋白相对表达水平显著升高,提示 HCMNCs 可促进心肌梗死区域侧支循环的建立,诱导血管新生,改善心功能。

综上所述,HCMNCs 能促进 AMI 大鼠侧支循环建立,诱导血管新生,对缺血性心功能有明显改善作用,对 AMI 具有一定治疗意义,为临床治疗急性心肌梗死提供理论依据。

参考文献:

- [1] Sepehrvand N, James SK, Stub D, et al. Effects of supplemental oxygen therapy in patients with suspected acute myocardial infarction: a meta-analysis of randomised clinical trials [J]. Heart, 2018, 104(20): 1691-1698.
- [2] Mao TF, Bajwa A, Muskula P, et al. Incidence of left ventricular thrombus in patients with acute ST-Segment elevation myocardial infarction treated with percutaneous coronary intervention [J]. Am J Cardiol, 2018, 121(1): 27-31.
- [3] 包秀芳,王智慧,郭琛,等.人脐血单个核细胞移植对卵巢早衰大鼠卵巢功能的影响[J].中国妇产科临床杂志,2019,20(3): 268-269.
- [4] Lepage SIM, Lee OJ, Koch TG. Equine cord blood mesenchymal stromal cells have greater differentiation and similar immunosuppressive potential to cord tissue mesenchymal stromal cells [J]. Stem Cells Dev, 2019, 28(3): 227-237.
- [5] 魏林涓,姚星宇,张国华,等.左心室移植人脐血单个核细胞治疗大鼠脑出血的 microPET-CT 评价及机制[J].中国组织工程研究,2018,22(25): 4059-4064.
- [6] Huang L, Liu Y, Lu J, et al. Intraarterial transplantation of human umbilical cord blood mononuclear cells in hyperacute stroke improves vascular function [J]. Stem Cell Res Ther, 2017, 8(1): 74.
- [7] Yang M, Xiong J, Zou Q, et al. Chrysin attenuates interstitial fibrosis and improves cardiac function in a rat model of acute myocardial infarction [J]. J Mol Histol, 2018, 49(6): 555-565.
- [8] Torrado J, Cain C, Mauro AG, et al. Sacubitril/valsartan averts adverse post-infarction ventricular remodeling and preserves systolic function in rabbits [J]. J Am Coll Cardiol, 2018, 72(19): 2342-2356.
- [9] 赵瑞东,邱英,云霏雨,等.脐血单个核细胞诱导分化的免疫细胞对小细胞肺癌患者免疫功能的影响[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2018,25(8): 810-816.
- [10] Kaya-Sezginer E, Yilmaz-Oral D, Gur S. Administration of human umbilical cord blood mononuclear cells restores bladder dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Low Urin Tract Symptoms, 2019, 11(4): 232-240.
- [11] 刘子琳,李栋,时庆,等.人脐血单个核细胞对大鼠腓肠肌神经损伤的治疗作用[J].山东大学学报(医学版),2019,57(2): 61-69.
- [12] Petukhova EO, Mukhamedshina YO, Salafutdinov II, et al. Effects of transplanted umbilical cord blood mononuclear cells overexpressing gdnf on spatial memory and hippocampal synaptic proteins in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. J Alzheimers Dis, 2019, 69(2): 443-453.
- [13] 高东学,刘艳华,王瑾.脐血单个核细胞经静脉途径治疗终末期心力衰竭的研究[J].中华老年心脑血管病杂志,2018,20(4): 382-384.
- [14] 李茹,姜满,苏宁,等.人脐血单个核细胞移植治疗血管性痴呆患者脑血流及炎症细胞因子的影响[J].脑与神经疾病杂志,2020,28(5): 289-292.
- [15] Saha A, Patel S, Xu L, et al. Human umbilical cord blood monocytes, but not adult blood monocytes, rescue brain cells from hypoxic-ischemic injury: Mechanistic and therapeutic implications [J]. PLoS One, 2019, 14(9): e0218906.
- [16] Hausenloy DJ, Bøtker HE, Ferdinandy P, et al. Cardiac innervation in acute myocardial ischaemia/reperfusion injury and cardioprotection [J]. Cardiovasc Res, 2019, 115(7): 1167-1177.
- [17] Li Q, Xia S, Fang H, et al. VEGF treatment promotes bone marrow-derived CXCR4⁺ mesenchymal stromal stem cell differentiation into vessel endothelial cells [J]. Exp Ther Med, 2017, 13(2): 449-454.
- [18] Wang D, Zhang B, Shi H, et al. Effect of endothelial progenitor cells derived from human umbilical cord blood on oxygen-induced retinopathy in mice by intravitreal transplantation [J]. Int J Ophthalmol, 2016, 9(11): 1578-1583.
- [19] Ramli Y, Alwahdy AS, Kurniawan M, et al. Intra-arterial transplantation of human umbilical cord blood mononuclear cells in sub-acute ischemic stroke increases VEGF expression in rats [J]. J Stem Cells Regen Med, 2018, 14(2): 69-79.

[收稿日期]2020-07-24