诱导多功能干细胞在心血管疾病的应用研究进展

Study on application of induced pluripotent stem cells in cardiovascular diseases

刘渔凯[1],罗 虎[1],李泽桂[2] (第三军医大学:1. 学员旅 1 队;2. 药学院生药学教研室,重庆 400038)

[关键词] 心血管疾病;iPS 细胞;细胞移植;药物研究
[中图分类号] R654;Q813 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2011)06-0671-02

心血管疾病发病率高,而且其导致的心肌损伤发展到晚期大多伴有心肌重构以及舒缩功能下降,严重威胁着人类的生命。虽然有研究表明,损伤的心脏能够自行发生心肌细胞的增殖[1],但其增殖速度远不能满足心脏修复的需要。因此心肌受损后只能以瘢痕修复为主,从而可能发生电生理功能失常,以及舒缩功能障碍,最终引起心力衰竭。目前,常规的药物治疗仍然无法彻底修复受损的心肌,外科治疗虽然可采用心脏移植的方法,但由于供体来源少,以及免疫排斥等问题,这种方法也难以在临床大规模应用。因此应用细胞移植的办法,替换病变的心肌细胞,已经成为治疗心脏损伤的热门研究方向[2]。要实现这一治疗方法,需要一种具有很强增殖能力和良好分化潜能的多能干细胞。目前,传统应用于心血管疾病治疗研究的干细胞主要有胚胎干细胞、骨骼肌成肌细胞、骨髓间充质干细胞等,而新近发现的诱导多功能干细胞也以其独特的优势,成为了新兴的应用于细胞移植和药物研究的干细胞。

1 传统的多功能干细胞

1.1 胚胎干细胞

胚胎干细胞(embryonic stem cells,ESCs)来源于囊胚期的胚胎组织,是一种具有极强分化潜能和自我更新能力的多能干细胞,能分化成包括心肌细胞在内的多种细胞。在动物试验中,研究者通过对心肌梗死和非缺血性心肌病的动物模型移植入胚胎干细胞,使得受损心肌的功能和结构得到了显著改善[3-4]。但是胚胎干细胞要应用于临床仍然存在很多问题,比如胚胎干细胞产生的免疫排斥问题,以及其应用过程中面临的伦理道德障碍等。

1.2 骨髓间充质干细胞

骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells,MSCs)是属于中胚层的一类多能干细胞,主要存在于骨髓和器官间质中。研究表明,MSCs 能分化成有功能的心肌细胞,并且能改善左室功能和逆转心室重构[5]。除此之外,MSCs 还具有免疫调节功能,降低其免疫反应。但也有动物实验表明,冠状动脉内移植 MSCs 有造成微小梗死的可能。

1.3 骨骼肌成肌细胞 X

骨骼肌成肌细胞是成人骨骼肌组织中发现的在创伤后重建肌肉组织的前体细胞。Menasche 等[6] 发现,将 SMs 注入到梗死的心肌后可以减轻心力衰竭症状,增加心脏收缩能力。但是有质疑者认为 SMs 不能与宿主心肌细胞建立正常的电-机械耦合[7],将会导致严重的心律失常。因此,SMs 能否应用于临床还有待进一步研究。

2 诱导多功能干细胞

诱导多功能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSc)是在外源因子作用下,由分化成熟的细胞诱导出的一种具有干细胞特性的多功能细胞。它不但具有近乎 ES 细胞的自我更新能力和分化成各种器官的潜能,而且还拥有与患者一致的遗传物质,这不仅避免了免疫排斥反应,同时也为一些遗传相关疾病的研究提供了很好的模型。加上其来源丰富以及没有伦理学阻碍的优点,使得 iPS 细胞成为了非常具有潜力的干细胞来源。

2.1 iPS 的建立以及诱导技术的发展

2006 年,Yamanaka[8] 首次利用逆转录病毒将 Oct4、Sox2、C-Myc和 Klf4 四个基因整合到小鼠成纤维细胞的染色体中,使其发生重编程而变为具有干细胞特性的 iPS 细胞。1 年之后,Yu[9] 等人又利用 Oct4、Sox2、Nanog 和 Lin28 四个因子将人的成纤维细胞诱导成 iPS 细胞,使得 iPS 细胞应用于人体成为可能。随后,研究者们不但利用各种细胞诱导出了 iPS 细胞,而且也极大的提高了 iPS 细胞的安全性和诱导效率。在改善 iPS 细胞的安全性方面, Stadtfeld 等[10] 用非整合性病毒将转录因子注入受体细胞,使其暂时性表达,从而避免了转录因子整合到基因组引起插入突变。2009 年,Kim 等[11] 直接导入诱导重编程的蛋白就成功诱导出了 iPS 细胞,由于诱导过程中不用插入 DNA,这也使得 iPS 细胞的安全性进一步得到提高。在提高诱导效率方面,Hong 等[12] 发现,抑制 P53 基因可以提高 iPS 细胞的诱导效率。另外,有研究表明不同的细胞来源可表现出不同的诱导效率。

2.2 iPS 细胞在心血管细胞移植方面的进展

iPS 细胞具有近乎 ES 细胞的全能性,其分化成心肌细胞的能力在近期的研究中也逐渐得到了证实。2008 年,Schenke[13] 等人首次用小鼠成纤维细胞诱导出 iPS 细胞,通过形成胚状体(embryoid bodies,EBs)和分步诱导法分化出了心肌细胞。这种由 iPS 细胞诱导出来的心肌细胞不仅具有典型的心肌细胞标志物,而且还能产生收缩反应。同一年,Narazaki[14] 等也发现用小鼠的 iPS 细胞诱导的 Flk1(+)细胞不仅可以分化出具有

[基金项目] 第三军医大学创新基金资助项目(2007XG42)
[收稿日期] 2011-07-07 [修回日期] 2011-08-26

收缩能力的心肌细胞,而且还能分化出诸如动脉、静脉以及淋巴管的内皮细胞、血细胞等心血管系统的细胞。这也使得 iPS 细胞在心血管系统的应用前景更加广阔。2009 年,Zhang 等[15]也用形成 EBs 的方法,首次发现人体来源的 iPS 细胞也同样具有分化成心肌细胞的能力,并用免疫细胞化学、电生理学的方法证实了 iPS 细胞诱导出的心肌细胞与 ES 细胞诱导出的心肌细胞具有相同的特性。随后有多个研究团队也相继得到了相似的结论[16-17]。那么这种由 iPS 细胞分化而来的心肌细胞能否对心血管疾病具有治疗作用呢? Nelson 等[18]通过向心肌内注射 iPS 细胞治疗小鼠的心肌梗死,并对其效果进行了研究。结果发现,与单纯注入成纤维细胞的对照组相比,移植入 iPS 细胞的小鼠左心室收缩功能得到了明显改善,心室壁增厚和心室重构也都得到了抑制,同时还增加了其心电稳定性。这为 iPS 细胞的临床研究跨出了一大步。

2.3 iPS 细胞在心血管药物研究方面的进展

iPS 细胞不仅可以应用于心血管疾病的细胞治疗,对于药物的开发研究也有着广阔的应用前景。2009 年,有研究发现影响心肌细胞收缩频率和收缩性的药物可以对 iPS 细胞来源的心肌细胞产生同样的效应,并且其影响的效果与由 ES 细胞分化而来的心肌细胞一致[19]。这一结果使得 iPS 细胞有望成为心血管系统新药开发以及药物筛选的工具。现在,已经有研究者将 iPS 细胞应用于心脏药物的安全性测试和心肌再生药物的研究[20]。Asai 等[21]在研究抑制 HERG 离子通道对心肌细胞的影响时发现,由 iPS 细胞分化成的心肌细胞能通过体外实验准确反应体内心肌细胞的 QT 间期延长作用,避免了传统研究方法的假阴性结果。这也证明在某些药物的安全性测试中,iPS 细胞可能反应出更真实的情况。

3 前景展望

虽然 iPS 细胞应用于心血管疾病的研究取得了令人振奋的结果,但其能否真正应用于临床还有许多问题需要解决。首先,由于 iPS 细胞分化的心肌细胞有着与患者一致的遗传物质,在治疗诸如特发性扩张性心肌病、肥厚性心肌病等遗传倾向性较大的心脏疾病时,用这种细胞治疗后仍然存在复发的可能。另外,Nelson 的研究发现,注入小鼠体内的 iPS 细胞有着明显的成瘤性。因此,如何解决 iPS 细胞在治疗时的肿瘤形成问题也将是推动 iPS 细胞应用于临床的关键。这些问题能否解决,还有待进一步的观察和研究。

[参考文献]

[1] Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction[J]. N Engl J Med, 2001, 344(23): 1750 – 1757.

[2] Dimmeler S, Zeiher AM, Schneider MD. Unchain my heart: the scientific foundations of cardiac repair[J]. J Clin Invest, 2005, 115(3): 572 – 583.

[3] Behfar A, Terzic A. Cardioprotective repair through stem cell-based cardiopoiesis[J]. J Appl Physiol, 2007, 103(4): 1438 – 1440.

[4] Yamada S, Nelson TJ, Crespo Diaz RJ, et al. Embryonic stem cell therapy of heart failure in genetic cardiomyopathy[J]. Stem Cells, 2008, 26(10): 2644 – 2653.

[5] Mazhari R, Hare JM. Mechanisms of action of mesenchymal stem cells in cardiac repair: potential influences on the cardiac stem cell niche[J]. Nat Clin Pract Cardiovasc Med, 2007, 4 Suppl 1: S21 – S26.

[6] Menasche P, Hagege AA, Scorsin M, et al. Myoblast transplantation for heart failure[J]. Lancet, 2001, 357(9252): 279 – 280.

[7] Rubart M, Soonpaa MH, Nakajima H, et al. Spontaneous and evoked intracellular calcium transients in donor-derived myocytes following intracardiac myoblast transplantation[J]. J Clin Invest, 2004, 114(6): 775 – 783.

[8] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors[J]. Cell, 2006, 126(4): 663 – 676.

[9] Yu J, Vodyanik MA, Smuga Otto K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells[J]. Science, 2007, 318(5858): 1917 – 1920.

[10] Stadtfeld M, Nagaya M, Utikal J, et al. Induced pluripotent stem cells generated without viral integration[J]. Science, 2008, 322(5903): 945 – 949.

[11] Kim D, Kim CH, Moon JI, et al. Generation of human induced pluripotent stem cells by direct delivery of reprogramming proteins[J]. Cell Stem Cell, 2009, 4(6): 472 – 476.

[12] Hong H, Takahashi K, Ichisaka T, et al. Suppression of induced pluripotent stem cell generation by the p53-p21 pathway[J]. Nature, 2009, 460(7259): 1132 – 1135.

[13] Schenke LK, Rhodes KE, Angelis E, et al. Reprogrammed mouse fibroblasts differentiate into cells of the cardiovascular and hematopoietic lineages[J]. Stem Cells, 2008, 26(6): 1537 – 1546.

[14] Narazaki G, Uosaki H, Teranishi M, et al. Directed and systematic differentiation of cardiovascular cells from mouse induced pluripotent stem cells[J]. Circulation, 2008, 118(5): 498 – 506.

[15] Zhang J, Wilson GF, Soerens AG, et al. Functional cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells[J]. Circ Res, 2009, 104(4): e30 – e41.

[16] Zwi L, Caspi O, Arbel G, et al. Cardiomyocyte differentiation of human induced pluripotent stem cells[J]. Circulation, 2009, 120(15): 1513 – 1523.

[17] Freund C, Davis RP, Gkatzis K, et al. The first reported generation of human induced pluripotent stem cells (iPS cells) and iPS cell-derived cardiomyocytes in the Netherlands[J]. Neth Heart J, 2010, 18(1): 51 – 54.

[18] Nelson TJ, Martinez FA, Yamada S, et al. Repair of acute myocardial infarction by human stemness factors induced pluripotent stem cells[J]. Circulation, 2009, 120(5): 408 – 416.

[19] Yokoo N, Baba S, Kaichi S, et al. The effects of cardioactive drugs on cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 387(3): 482 – 488.

[20] Yamashita JK. ES and IPS cell research for cardiovascular regeneration[J]. Exp Cell Res, 2010, 316(16): 2555 – 2559.

[21] Asai Y, Tada M, Otsuji TG, et al. Combination of functional cardiomyocytes derived from human stem cells and a highly-efficient microelectrode array system: an ideal hybrid model assay for drug development[J]. Curr Stem Cell Res Ther, 2010, 5(3): 227 – 232.

(编辑:雷 艳)