

本文引用: 吴学平, 吕叶辉. 生物材料在心脏再生修复过程中的应用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(6): 539-546.
DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2024.06.012.

[文章编号] 1007-3949(2024)32-06-0539-08

· 文献综述 ·

生物材料在心脏再生修复过程中的应用

吴学平^{1,2}, 吕叶辉^{1,2}

上海健康医学院 1. 人体解剖与组织胚胎学教研室, 2. 创面防治研究所, 上海市 201318

[摘要] 心肌梗死是冠状动脉急性、持续性缺血缺氧所引起的心肌坏死, 发病率和死亡率居高不下。虽然通过冠状动脉介入或溶栓药物等治疗手段恢复血供, 能提高患者的生存率, 但难以挽救梗死区丢失的心肌细胞, 而成年哺乳动物心脏自身修复能力有限是造成心肌纤维化, 最终进展为心力衰竭的主要因素。长期以来, 已有的治疗手段难以逆转心肌梗死后的心力衰竭进程。细胞移植有望成为促进梗死修复与再生最有前景的治疗方法, 由于缺血缺氧微环境导致移植后有限的干细胞存活和保留, 结果不是很理想。而脱细胞生物材料以促进血管生成和减轻纤维化显示了临床前治疗潜力。该综述概述了各种脱细胞生物材料及通过微创的方式进行心外膜修复及心肌内注射促进心脏再生、改善心脏功能的利与弊, 为将来利用脱细胞生物材料结合优化的药物促进心肌再生提供参考。

[关键词] 缺血性心脏病; 脱细胞生物材料; 心脏手术; 心肌再生; 血管生成

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Application of biomaterials in cardiac regeneration and repair

WU Xueping^{1,2}, LÜ Yehui^{1,2}

1. Department of Anatomy, Histology and Embryology, 2. Institute of Wound Prevention and Treatment, Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 201318, China

[ABSTRACT] Myocardial infarction is myocardial necrosis caused by acute and persistent ischemia and hypoxia of coronary artery, with high incidence rate and mortality. Although the recovery of blood supply through coronary intervention or thrombolytic drugs can improve the survival rate of patients, it is difficult to rescue the lost cardiomyocytes in the infarcted area, and the limited self repair ability of the adult mammalian heart is the main factor that causes myocardial fibrosis and eventually progresses to heart failure. For a long time, the existing treatment methods are difficult to reverse the process of heart failure after myocardial infarction. Cell transplantation is a promising therapeutic method to promote the repair and regeneration of infarcts. Due to the ischemia and hypoxia microenvironment, the limited survival and retention of stem cells after transplantation are not ideal. And acellular biomaterials promoting angiogenesis and reducing fibrosis show the potential of preclinical treatment. This paper summarizes the advantages and disadvantages of various acellular biomaterials, epicardial infarct repair and intramyocardial injection in a minimally invasive manner to promote cardiac regeneration and improve cardiac function, and to promote myocardial regeneration by combining acellular biomaterials with optimized drugs in the future for reference.

[KEY WORDS] ischemic heart disease; acellular biomaterials; cardiac surgery; cardiac regeneration; angiogenesis

心肌梗死是导致终末期心力衰竭的常见原因, 已成为全球重大公共卫生问题^[1]。心肌细胞死亡和血管损伤引起广泛的炎症反应, 导致心脏成纤维细胞活化, 产生大量细胞外基质 (extracellular matrix, ECM), 胶原沉积^[2], 最终引起病理性心室重

构。随着病程延长, 成纤维细胞介导的 ECM 生成增加, 伴随着以心肌细胞的肥大性生长, 代偿日益增加的心功能。药物治疗和血运重建策略可改善患者的临床症状^[3-4]。然而, 由于缺乏直接进入和操纵心脏以减轻梗死后心肌重构的治疗手段, 加上成

[收稿日期] 2023-06-14

[修回日期] 2023-08-11

[基金项目] 上海健康医学院师资百人库项目(2021); 用于心肌梗死修复自组装纳米生物材料的研究(HXXM-20-08-002)

[作者简介] 吴学平, 医学博士, 副教授, 研究方向为心血管再生医学, E-mail: wuxp@sumhs.edu.cn.

年哺乳动物的心脏损伤后再生能力有限,丢失的心肌细胞被纤维瘢痕所取代,最终导致心力衰竭甚至死亡。因此,亟需寻找新的治疗策略突破心肌梗死这一重大难题。

内源性心肌再生是近年来的重大发现,成为研究者试图挽救已丢失心肌的重要手段^[5]。特别是生物材料的应用,促进心肌有效再生,有望为心肌梗死的治疗提供新策略。目前已经开发出了多种生物材料,这些生物材料类似于ECM特点,以利于细胞附着和物质交换,同时具有一定机械强度以承受心室应力。在心脏再生治疗中,促进缺血心肌修复的生物材料主要包括可注射水凝胶和心脏补片^[6-7]。相比可注射水凝胶的微创治疗方式,心脏补片的植入手术更具有侵入性,且创伤大,临床应用受限。因此,注射脱细胞生物材料在心脏再生治疗领域中更具吸引力,临床上有着广阔的应用前景^[8-9]。

1 促进心肌组织再生的生物材料

众多研究表明,用于心脏组织工程的生物材料负载生长因子或细胞因子能够为移植细胞提供较好的生存环境,提高细胞存活率。理想的生物材料应当具有较好的生物相容性、低免疫原性及仿生性。近年来,脱细胞生物材料通过促进血管生成和抗纤维化作用被证明具有心脏再生的潜力^[10]。此类生物材料主要来源于天然ECM或类似ECM的成分,具有优异的生物相容性和生物降解性,在骨、软骨、皮肤、神经和心脏再生方面被广泛研究。尽管细胞移植越来越受欢迎,并在临床前研究中显示出良好的应用前景,但植入后细胞存活率低和免疫排斥反应,临床应用有效性和可行性效果不佳。生物材料作为3D载体有利于细胞附着增加存活率,包括但不限于生长因子释放和ECM关键成分的恢复,已显示出临床前治疗潜力。

ECM,尤其是胶原蛋白,在不同物种间具有较好的生物相容性、低免疫原性及仿生性,因此脱细胞成分通常不会引起显著的免疫反应。ECM生物材料主要由胶原、透明质酸、硫酸软骨素、硫酸肝素等多种糖胺聚糖组成。目前临床应用的生物材料由不同组织来源的脱细胞ECM通过化学(酸碱、渗透压、乙醇)、生物(胶原酶、胰蛋白酶、核酸酶)、物理(温度、机械磨损、压力)和上述技术的组合形成的各种生物材料^[11]。这些生物材料中虽然没有细胞,但含有FGF-2、VEGF和HGF等多种生长因子,这可

能会产生再生效应^[12]。

ECM、重组胶原蛋白、蛋白聚糖、藻酸盐和合成聚合物^[8]形式的水凝胶在心脏再生应用中具有广阔的应用前景。水凝胶呈液态,可通过心肌内注射(intramyocardial injection, IMI)的方式促进再生,主要通过提供生长因子或补充受损蛋白质来实现。近几十年来,各种各样的纳米材料被设计出来,并在预防、诊断、治疗疾病或修复动物受损组织模型方面进行了广泛的研究。由于其独特的多功能性,在血管内和血管外系统中都具有生物活性和流动性。为药物和显像剂的靶向递送,还可以避免被网状内皮系统清除,显示出巨大的应用潜力。此外,纳米材料提供了不同类型的靶向配体,纳米粒(nanoparticle, NP)可与功能性配体结合,如小分子肽或药物可与纳米粒结合,避免被宿主免疫系统清除^[13],通过靶向输送到达病变部位,为再生修复提供良好的载体。

目前,脱细胞生物材料通过外科治疗策略以促血管生成和抗纤维化作用来改善梗死后心脏重构。本文分析了各种脱细胞生物材料及通过微创的方式进行心外膜修复(epicardial infarct repair, EIR)及心肌内注射促进心脏再生、改善心脏功能的利与弊,为将来利用脱细胞生物材料结合优化的药物促进心肌再生提供参考。

2 经心外膜修复的生物材料

心外膜修复是一种新兴的外科技术,采用一种新型心脏“创口贴”——心脏补片。通过将生物活性补片材料缝合在心外膜上,以调节再生途径^[7,14-15]。贴片既能与心外膜直接接触,又能根据材料释放生长因子。直接接触和生长因子释放都可能通过调节心外膜内多种类型细胞表型转化,促进血管生成和减轻纤维化。

心外膜修复介导再生的关键因素是促进心外膜源性祖细胞(epicardial derived progenitor cell, EP-DC)经历上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),分化为心肌细胞类型,包括成纤维细胞、血管平滑肌细胞,可能还有心肌细胞和内皮细胞^[16]。因此,通过心外膜修复,促进EPDC分化,以取代那些因缺血而失去的心肌组织。此外,诸如VEGF和FGF-2等生长因子抑制心脏成纤维细胞活化以减轻不良重塑。HUANG等^[10]通过利用脱细胞猪心脏ECM(myoECM)携带有心脏基质细胞分泌物的可降解颗粒,设计并生产了一种“即用型”人工心

脏补片 (artificial cardiac patch, artCP), 作为新型心脏补片, artCP 虽然不含任何活细胞, 却可以通过其微粒及 myoECM 网状结构, 直接向其覆盖的心肌梗死区域缓慢释放其内部的细胞因子和外泌体等活性物质, 达到治疗的目的。心脏补片的应用, 还应该考虑心脏修复的其他重要因素, 如机械刺激、炎症反应的调节和促血管生成效应等。迄今为止, 还没有能同时对梗死心肌发挥综合治疗作用的心脏补片, 还有待于进一步研究。

心外膜修复是一种新兴的外科技术, 在材料选择方面可以利用非固定化的生物材料, 如脱细胞猪小肠黏膜下 ECM (SIS-ECM) 是心脏外科最常用的非固定化生物材料, 体外研究表明, 无细胞猪 SIS-ECM 通过 FGF-2 释放, 抑制 TGF- β 1 促纤维化通路, 抑制成纤维细胞活化, 促血管生成达到抗纤维化的作用^[17]。在大鼠心肌梗死模型中, 超声心动图结果显示心功能明显改善; 组织学也显示梗死区和梗死边缘区的新生血管明显增加^[18]。MRI 显示猪心肌梗死模型中静息心肌灌注增加, 补片治疗区域心壁增厚。此外, 临床前模型显示, 应用 4 层冻干 SIS-ECM 不影响心脏舒张期舒张 (代表左心室顺应性)。可见, 非固定化生物材料作为补片, 在抑制心脏纤维化、促进血管新生、改善心脏功能方面发挥积极作用。

此外, 固定化生物材料也常用于心脏外科手术中, 通过增加生物材料的抗拉强度固定化生物材料, 使其有助于心脏重建。如戊二醛固定异种心包或自体心包是心脏外科常用的生物材料制备方法, 通常用于包括房(室)间隔缺损/破裂, 以及感染性心内膜炎而导致的瓣膜缺失的重建等^[19]。临床前研究表明, 戊二醛固定的猪 SIS-ECM 不具有促血管生成或抗纤维化作用, 与未固定的 SIS-ECM 相比, 戊二醛固定的 SIS-ECM 在大鼠梗死模型中不具有促血管生成或抗纤维化作用, 表明戊二醛能部分中和或降低 SIS-ECM 的生物效应。在大鼠模型中, 通过心外膜修复使用戊二醛固定的 SIS-ECM 治疗, 超声心动图显示心功能未见明显改善, 组织学显示无明显血管生成等^[19]。

由于戊二醛固定具有生物毒性、容易钙化、耐久性差等缺点, 促使人们寻求一种更好的替代方法, 其中光固定 (染料介导的光氧化固定) 是一种很有应用前景的方法。染料介导光氧化固定方法比较简单, 把需要固定的组织浸泡于含有光敏染料的缓冲液中光照。相比戊二醛固定, 具有生物毒性低, 不易钙化的优点, 并且与戊二醛固定一样, 具有

生物稳定性高、免疫原性低的特点。利用光氧化技术开发的材料已用于多种形式的心脏和血管重建, 如先天性右心室流出道重建、肺动脉重建、间隔缺损重建、上腔静脉重建、主动脉弓重建和瓣膜重建, 但可能伴有轻微的免疫相关排斥反应^[20]。

非固定化或固定化生物材料均显示出各自的优点, 小肠黏膜下组织来源的补片在心脏外科有多种临床用途, 包括室间隔修补术、房间隔缺损修补术、主动脉根部扩大术、二尖瓣修补术、三尖瓣修补术、心内膜炎结构性并发症修补术和小儿心脏手术^[21]。尽管成人的耐受性相对较好, 但在小儿病例中发现它会引起免疫反应, 导致小儿并发症的局部炎症^[22]。生物瓣膜中使用戊二醛固定生物材料最终会导致钙化^[23]。染料介导氧化或光固化固定生物材料出现明显退化^[24]。由于严重退化, 光固化贴片的并发症发生率较低^[25], 但持续时间相对较短, 治疗效果受限。

综上所述, 由于技术或其他因素, 目前的心脏补片不仅易碎, 而且十分昂贵和制备周期长等缺陷。以往文献中最相关的并发症可能是钙化和局限性炎症、贴片与宿主心肌的不当电耦合可能导致心律失常^[26]; 细胞连续体转化为生物力学完整性, 对斑块同化也很重要^[27], 这可能会影响心脏舒缩功能 (表 1)。尽管在临床应用中出现不同并发症, 但上述生物材料仍用于重建和提供功能支持。另一方面, 在心外膜修复中的应用补片, 利用其生物诱导特性实现心脏再生的载体材料。

3 经心肌内注射的生物材料

心肌内注射是通过向浅表心肌注射水凝胶, 以促进血管新生和减轻病理重塑^[12]。利用外科手术直接将水凝胶注射到损伤部位达到治疗目的, 这种方法无需缝合, 因此通过微创手术就能完成。这些生物材料通过提供生长因子和补充 ECM 蛋白或在梗死区域促进新生血管和减轻纤维化。此外, 通过靶向细胞移植触发内源性修复机制显示良好的应用前景^[28]。本节将重点介绍脱细胞材料的应用, 包括注射动物源性 ECM、重组人蛋白和其他含有生长因子的水凝胶。

可注射水凝胶是心脏组织工程的主要组成部分, 不仅要满足生物相容性、低免疫原性及可调机械性等特点, 还可经导管输注到心肌进行微创治疗。水凝胶是以聚合物为基础的 3D 载体, 能吸收、

容纳水并随着水膨胀^[29],表现出类似组织的特性,但对于心肌内注射来说,其主要优势是首先能够作为液体,分布到现有组织中,然后自我组装成一个更为半刚性的结构。基础材料包括动物源性 ECM、重组人蛋白质和合成材料。自组装是水凝胶的主要特征,可通过多种方式实现,包括非共价离子相互作用、共价交联和热转变等。根据制备策略,水凝胶已被用作心肌填充剂、提供治疗的载体或两者的组合应用,广泛用于临床前研究和少量的人体研究。中国科学院遗传与发育生物学研究所研究员戴建武团队与南京鼓楼医院教授王东进团队合作完成的一项研究,开展了国际上第一个可注射支架材料结合干细胞移植治疗缺血性心脏病的临床研究,并首次证明可注射材料联合干细胞用于心脏病治疗的临床安全性及可行性,显示出良好的应用前景^[30]。且经过3年多的努力,完成了44例陈旧性心肌梗死患者的术后1年随访,结果表明,细胞及材料移植安全性良好,恶性事件发生率、生物化学指标、免疫指标等方面与对照组无明显差别。相比于对照组,胶原材料联合干细胞移植在1年后就可显著减小患者心肌梗死体积,使患者的生活质量及心脏评级得到改善。为后续大样本临床试验奠定了基础。

注射型 ECM 水凝胶在心肌内注射中得到了广泛的关注。将不同 ECM 成分(包括胶原、蛋白多糖和生长因子)注射到心肌中。在小鼠心肌梗死模型中,非固定的猪 SIS-ECM 注射到心肌部位,超声心动图显示射血分数增加,心功能明显改善,组织学显示梗死面积减少、血管新生增加^[31]。

研究表明,未固定的异种生物材料可能会引起患者的不良免疫反应,这可能是由于内毒素等动物活性分子引起的^[12],而不是使用动物源性 ECM 引起的不良反应。在小鼠心肌梗死模型中,加入硫酸软骨素水凝胶并与 N-乙基-N-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺和 N-羧基琥珀酰亚胺交联的重组人 I 型和 III 型胶原基质,促进了梗死区边缘区的血管新生,并明显减轻了纤维化^[12]。所以,重新引入正常结缔组织蛋白(如胶原蛋白)可以恢复 ECM,并可能具有三维结构效应,恢复受损的心脏功能^[12]。此外,注射重组人 I 型和 III 型胶原基质促进 M2 型巨噬细胞分化并下调巨噬细胞 MMP-1 mRNA 的表达,促进沉积的基质蛋白降解,减轻纤维化,改善局部微环境,有助于心脏再生。因此,利用重组人脱细胞材料进

行治疗是一项很有前景的新技术。

蛋白多糖如透明质酸和壳聚糖常制成心肌内注射水凝胶,已被证明能有效地容纳生长因子,通过心肌内注射应用,净负电荷能吸附带正电荷的生长因子,一旦注射到心肌中就能够缓慢递释。海藻酸盐或聚乙二醇制成人造水凝胶,可结合生长因子或药物用于心肌内注射。在大鼠心肌梗死模型中,注射富含 FGF-2 的 N-异丙基丙烯酰胺、2-甲基丙烯酸羟乙酯和右旋糖酐制成的人工交联水凝胶,增加梗死部位血管新生、减少胶原沉积和改善心功能^[32]。这些以氨基酸为原料材料能够自组装形成纳米纤维,其降解产物仍为氨基酸,故不会引起免疫反应。自组装肽是一种新型合成材料,能够自组装形成自组装肽纳米纤维(self-assembling peptide nanofiber, SPNF),在心肌梗死治疗中的应用已引起人们的广泛关注^[33-36]。自组装肽的最大特点是能够根据实际需要进行功能基修饰,合成具有特定功能的新型自组装肽。在生理条件下能够自组装形成排列良好的三维纳米纤维支架,与天然的 ECM 相似。近年来,通过对自组装肽进行修饰,构建功能性多肽纳米纤维支架,有助于缓释细胞因子、小分子药物等^[37]。有利于降低小分子药物的毒性作用、维持药物有效浓度和延长作用时间、实现药物的缓释等方面具有无可比拟的优势,成为近年来的研究热点。本课题组通过设计并合成一种具有良好的生物相容性新型功能化自组装肽,缓释 serelaxin 用于心肌梗死修复治疗,观察到 SPNF 在机械压力之下其键会断裂,更具流动性,可以用注射器或导管给药,通过微创手术注射到心肌中;当压力解除时,SPNF 能自我修复,凝胶键还能重新形成,使其保留在心肌组织内,进而形成一个支架,促进细胞重新填充到心脏病发作受损的心肌组织区域进行修复并可能提供生物化学信号,维持心脏功能。临床上,通过微创手术注射到患者的心肌中,此外,心功能小于 45% 的患者需要进行搭桥手术,在搭桥手术同时注射良好的生物相容性的凝胶材料结合 serelaxin 为临床治疗心肌梗死开辟了新途径(研究结果未发表)。其他临床前研究也显示,使用非动物和非人类水凝胶的人工水凝胶,大鼠心肌梗死模型中显示新生血管明显增加,猪心肌梗死模型中显示瘢痕明显减少。使用海藻酸钠凝胶,显示射血分数、左心室舒张期末内径和左心室收缩期末功能方面短期内明显改善,但目前还没有长期改善的数据

支持。

与心脏贴片生物材料不同,用于心肌内注射的水凝胶是通过导管输注到心肌进行微创治疗为目的的制备的。总的来说,并发症相对较少,部分心力衰竭患者,尤其是那些接受心室辅助装置的患者,注射部位有渗出。然而,基于细胞的治疗研究发现,在有限的病例中,这种并发症的发生率并没有增加^[38]。由于心肌内注射涉及将异物直接注入心

肌,理论上可能的风险是,如果凝胶通过心内膜破裂形成栓子,随血流导致神经系统和全身血管栓塞并发症。然而,由于可用的临床证据有限,在使用海藻酸钠水凝胶用于心力衰竭试验中,心肌内注射并未增加中风等灾难性栓塞并发症^[39](表 1)。总的来说,心肌内注射似乎是一种低并发症的治疗方法,但这种治疗的长期数据仍然很少。

表 1. 基于生物材料的心脏再生方法的比较

Table 1. Comparison of biomaterials-based approaches for cardiac regeneration

方法	优点	局限性
心脏贴片	更长时间的治疗成分输送 可提供机械支撑 促进细胞迁移和血管生成	需要开胸手术 仔细选择脚手架材料 低生物相容性和生物降解性 免疫原性反应 营养供应有限 不当电耦合可能导致心律失常
可注射水凝胶	治疗成分的定位和改善保留 为细胞和治疗提供机械支持,灵活的结构,可结合多种材料,方便传送	仔细选择材料 水凝胶组成和技术的标准化 注射部位有渗出,血管栓塞

4 生物材料应用评价

随着新的具有心外膜修复或心肌内注射的潜力生物材料不断涌现,在临床应用过程中需要从物理性质、体内及体外评价等一套可重复的评估模式来进行有效的评价。

在评估生物活性成分之前,可以检测生物材料的物理性质。通过单轴拉伸试验将贴片生物材料在外力作用下拉开,直到可以使用破坏来评估贴片生物材料的杨氏弹性模量和拉伸强度^[21]。拉伸强度也可用于评估缝合的坚固性。扫描电子显微镜可用于观察生物材料的表面和孔隙率,以帮助预测现有细胞将如何渗入材料中。由于可能对这些生物材料施加恒定或重复的力,黏弹性模量有助于表征力学响应,以评估生物材料随时间的应力-应变关系^[21]。用于心肌内注射的水凝胶还可以通过变性温度、凝胶时间、交联度、黏度和含水量进行评估。

由于多种生物材料可通过旁分泌机制发挥作用,因此,通过洗脱实验,以确定释放到预先指定的培养基中的生长因子。不同的生物材料之间进行比较,进行选择利用。此外,可以将成纤维细胞接种到生物材料上,以评估不同生物材料引起的外泌体修饰,并且可以检测培养基中的生长因子释放量,以了解成纤维细胞与材料的相互作用是如何影

响生长因子的产生^[40]。

不同的体外实验已经被用来证明生物材料的血管生成潜力。此前,将人脐静脉内皮细胞接种到贴片生物材料上,结果显示血管生成增加^[18]。因此,可通过表面接种,然后量化 3D 基质中的出芽结构和内皮细胞分散情况,对内皮细胞进行检测,分析心肌内注射水凝胶的血管生成潜能。

随着更先进的细胞培养技术不断发展,微型设备为心脏生物材料的体外评估提供了新的机会^[41]。为了模拟天然人体组织中存在的生理学和复杂的相互作用,器官芯片有助于推进体外组织培养^[42]。将细胞和生物材料结合的组织芯片模型,在控制和易变环境中模拟器官结构和功能^[43]。三维排列中多种细胞类型的共培养,比 2D 细胞培养更能预测体内疗效^[44],在上述模型中通过微流控血管化评估血管新生情况。目前,通过微流控血管化模型来模拟缺血性损伤,以便在机制水平上详细研究缺血性心脏损伤的机制和生物材料的治疗作用。与微流控装置相比,更大规模的微流控生物反应器,以促进人工灌注环境的实时成像,同时也使用基于阻抗和电阻的技术来检测细胞在流动中位置分布、细胞层的完整性^[45],适时反应细胞生物学状态以及内皮细胞功能。这些技术的应用,为脱细胞生物材料离体评估获得其他模型难以获得的量化数据。

评估心外膜修复和心肌内注射中的生物材料也可用体内模型进行评价。大鼠心肌梗死模型已用于评估注射生物材料后的心功能,使用超声心动图可以测定射血分数、左心室舒张期末内径、左心室收缩期末内径,评估左心室功能。猪等大型动物模型在解剖学和生理学上更类似于人类,且与心脏 MRI 兼容的动物模型,用于功能评估更接近人类。这两种模型都可以用于组织学检测,通过计算可视化视野中的血管数量来评估血管新生^[22]。小鼠、大鼠和猪等多种体内模型,用于评估心肌内注射的脱细胞生物材料的治疗效果,这些模型以便于通过超声心动图和心室压力-容积环检测来进行评估,此外,猪模型与 MRI 兼容,通过 MRI 扫描检测心肌灌注情况,可以更好地评价梗死边缘区和梗死区的血管重建情况。心肌延迟强化 (late gadolinium enhancement, LGE) 是心脏 MRI 的一个有价值的评估方法,当心肌发生凝固性坏死或纤维化时,细胞膜的完整性破坏,对比剂通过渗透的方式进入梗死的部位并聚积,其廓清时间较正常心肌慢,针对此特性,注射常规剂量的双倍顺磁性对比剂延迟至 8 ~ 30 min 后,使用 T1 加权序列行心脏短轴位和四腔心位增强成像。研究人员可以识别心肌中的瘢痕,并比较不同治疗组之间存活心肌和瘢痕大小的变化^[22]。此外,通过组织学和免疫组织化学检测新生血管、瘢痕沉积和心肌细胞成活情况。鉴于心肌内注射涉及可注射凝胶,荧光标记技术可用于追踪注射材料,以观察其在注射后组织内的变化及降解情况。

5 理想的脱细胞生物材料

综上所述,理想的心血管补片等生物材料,应当来源充足、易于处理、生物相容性好、耐久性强、无抗原性、不与周围组织产生粘连,不产生血管斑块和血栓,不带来与其有关的并发症,具有一定的韧性和抗拉性,最好能达到与同源自然组织相匹配的机械强度,心肌组织还应当有一定的电传性。心脏补片能直接将细胞送到心肌梗死部位达到治疗,具有临床应用前景。基于心外膜修复和心肌内注射两种方法的理想特性脱细胞生物材料,最好使用能够调节细胞活性和外泌体的生物活性材料来招募细胞以促进再生。此外,考虑到许多终末期心力衰竭患者接受后续手术,包括移植和心室辅助装置植入,非免疫原性和非钙化材料可能有利于减轻心包内粘连的形成。在心外膜修复中,采用拉伸强度

和弹性之间平衡好的材料,并且不影响心脏舒张功能。黏度是需要考虑的另一个重要特征,因为理想的水凝胶能够从多个微注射部位渗透,覆盖梗死区和边缘区,但仍然能够以半固态形式作为结构支撑。此外,降解速率也需要考虑,因为在梗死后愈合过程中,更理想的水凝胶能较长时间保留在心肌中。

6 结论与展望

利用生物活性材料促进梗死后心脏再生为心血管领域提供了新的治疗策略。随着血管重建和药物治疗进展,外科医生可以通过利用直接操纵心脏的独特机会,进行心外膜修复或心肌内注射治疗,促进梗死心肌再生。

虽然心外膜修复和心肌内注射都是为了促进心脏再生而发展起来的,但这两种方法之间存在着关键的区别。由于心外膜修复在心外膜表面放置贴片,而心肌内注射直接引入在心脏组织中重新分布的水凝胶,这些技术证明了生物材料可以用不同掺入方式^[46-47]。由于与心外膜直接接触,心外膜修复心脏贴片可提供缺血心脏组织外部支持,同时有利于 EPDC 细胞的招募,促进细胞再生。而心肌内注射的水凝胶浸入心肌改善结构完整性,有利于生长因子的释放和 ECM 成分直接进入心肌,增强损伤部位稳定性。水凝胶在心肌内注射后会随着时间的推移而降解,降解可使水凝胶提供生物活性作用,然后在产生再生作用后降解,而生物材料贴片可能会持续更长时间或完全不降解,长期保留可使心脏得到长期支持。另一方面,长期不降解的生物材料具有增加炎症或钙化的可能性。由于缺乏关于死亡率和中风的长期数据,目前的临床前研究没有心外膜缝合生物活性贴片相关的并发症如生物活性斑块的钙化或炎症发生的报道^[41]。在心肌内注射中,目前的数据并未表明水凝胶破裂进入循环后死亡率或灾难性栓塞相关并发症。本课题组在以往的研究中,对心肌梗死小鼠模型采用接种间充质干细胞的心外膜补片治疗^[7]、纳米粒结合 Thymosin β 4^[48] 及 SPNF 缓释 serelaxin 心肌内注射 (结果未发表),结果均显示:心脏功能明显改善、梗死面积明显减小,未见钙化和炎症的出现。因此,心外膜修复和心肌内注射这些技术的前临床研究表明,如果操作得当,它们都是安全的。

随着再生领域的不断发展,未来用于心脏再生的生物材料不仅仅用于缺血性心脏病。随着临床

研究的进一步深入,这些材料可能会应用于其他非缺血性心力衰竭患者,甚至改善其他心脏手术后的心脏重构,将有望为这类患者带来更多“再生”的希望。

[参考文献]

- [1] TSAO C W, ADAY A W, ALMARZOOQ Z I, et al. Heart disease and stroke statistics-2022 update: a report from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2022, 145(8): e153-e639.
- [2] CEAUŞU Z, SOCEA B, COSTACHE M, et al. Fibroblast involvement in cardiac remodeling and repair under ischemic conditions[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 21(3): 269.
- [3] HERBERT T, RIZZOLO D. The role of percutaneous coronary intervention in managing patients with stable ischemic heart disease[J]. *JAAPA*, 2020, 33(6): 18-22.
- [4] YURISTA S R, MATSUURA T R, SILLJÉ H H W, et al. Ketone ester treatment improves cardiac function and reduces pathologic remodeling in preclinical models of heart failure[J]. *Circ Heart Fail*, 2021, 14(1): e007684.
- [5] BASSAT E, MUTLAK Y E, GENZELINAKH A, et al. The extracellular matrix protein agrin promotes heart regeneration in mice[J]. *Nature*, 2017, 547(7662): 179-184.
- [6] KUROTSU S, SADAHIRO T, FUJITA R, et al. Soft matrix promotes cardiac reprogramming via inhibition of YAP/TAZ and suppression of fibroblast signatures [J]. *Stem Cell Reports*, 2020, 15(3): 612-628.
- [7] WANG Q L, WANG H J, LI Z H, et al. Mesenchymal stem cell-loaded cardiac patch promotes epicardial activation and repair of the infarcted myocardium[J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(9): 1751-1766.
- [8] SUGIYAMA A, ITO R, OKADA M, et al. Long-term administration of recombinant canstatin prevents adverse cardiac remodeling after myocardial infarction[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 12881.
- [9] GIL-CABRERIZO P, SCACCHETTI I, GARBAYO E, et al. Cardiac tissue engineering for myocardial infarction treatment [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2023, 185: 106439.
- [10] HUANG K, OZPINAR E W, SU T, et al. An off-the-shelf artificial cardiac patch improves cardiac repair after myocardial infarction in rats and pigs[J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(538): eaat9683.
- [11] FERNG A S, CONNELL A M, MARSH K M, et al. Acellular porcine heart matrices: whole organ decellularization with 3D-bioscaffold & vascular preservation [J]. *J Clin Transl Res*, 2017, 3(2): 260-270.
- [12] CÉSPEDES-VALENZUELA D N, SÁNCHEZ-RENTERÍA S, CIFUENTES J, et al. Novel photo-and thermo-responsive nanocomposite hydrogels based on functionalized rGO and modified SIS/chitosan polymers for localized treatment of malignant cutaneous melanoma[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, 10: 947616.
- [13] WU W Q, PENG S, SONG Z Y, et al. Collagen biomaterial for the treatment of myocardial infarction: an update on cardiac tissue engineering and myocardial regeneration [J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2019, 9(5): 920-934.
- [14] WANG M D, HOU D Y, LV G T, et al. Targeted in situ self-assembly augments peptide drug conjugate cell-entry efficiency[J]. *Biomaterials*, 2021, 278: 121139.
- [15] SVYSTONYUK D A, MEWHORT H E M, HASSANABAD A F, et al. Acellular bioscaffolds redirect cardiac fibroblasts and promote functional tissue repair in rodents and humans with myocardial injury[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 9459.
- [16] HUANG S X, LEI D, YANG Q, et al. A perfusable, multifunctional epicardial device improves cardiac function and tissue repair[J]. *Nat Med*, 2021, 27(3): 480-490.
- [17] YUAN P, CHEEDIPUDI S M, ROUHI L, et al. Single-cell RNA sequencing uncovers paracrine functions of the epicardial-derived cells in arrhythmogenic cardiomyopathy [J]. *Circulation*, 2021, 143(22): 2169-2187.
- [18] MEWHORT H E M, SVYSTONYUK D A, TURNBULL J D, et al. Bioactive extracellular matrix scaffold promotes adaptive cardiac remodeling and repair [J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2017, 2(4): 450-464.
- [19] MEWHORT H E M, TURNBULL J D, MEIJNDERT H C, et al. Epicardial infarct repair with basic fibroblast growth factor-enhanced CorMatrix-ECM biomaterial attenuates postischemic cardiac remodeling[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2014, 147(5): 1650-1659.
- [20] SCHLACHTENBERGER G, DOERR F, BREZINA A, et al. Perigraft reaction and incorporation of porcine and bovine pericardial patches [J]. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2021, 32(4): 638-647.
- [21] NEETHLING W M L, PULS K, REA A. Comparison of physical and biological properties of CardioCel® with commonly used bioscaffolds [J]. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2018, 26(6): 985-992.
- [22] COX J L, HAMMEL J M, RADIO S J. Evaluation of cellular ingrowth within porcine extracellular matrix scaffolding in congenital heart disease surgery[J]. *Cardiovasc Pathol*, 2019, 39: 54-60.
- [23] WOO J S, FISHBEIN M C, REEMTSMA B. Histologic examination of decellularized porcine intestinal submucosa extracellular matrix (CorMatrix) in pediatric congenital heart surgery[J]. *Cardiovasc Pathol*, 2016, 25(1): 12-17.
- [24] BONETTI A, MARCHINI M, ORTOLANI F. Ectopic mineralization in heart valves; new insights from *in vivo* and *in vitro* procalcific models and promising perspectives on noncalcifiable bioengineered valves[J]. *J Thorac Dis*,

- 2019, 11(5): 2126-2143.
- [25] DEUTSCH O, BRUEHL F, CLEUZIQU J, et al. Histological examination of explanted tissue-engineered bovine pericardium following heart valve repair[J]. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2020, 30(1): 64-73.
- [26] YANAMANDALA M, ZHU W Q, GARRY D J, et al. Overcoming the roadblocks to cardiac cell therapy using tissue engineering[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2017, 70(6): 766-775.
- [27] JACKMAN C P, GANAPATHI A M, ASFOUR H, et al. Engineered cardiac tissue patch maintains structural and electrical properties after epicardial implantation[J]. *Biomaterials*, 2018, 159: 48-58.
- [28] BAIRD C W, MYERS P O, PIEKARSKI B, et al. Photo-oxidized bovine pericardium in congenital cardiac surgery: single-centre experience[J]. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2017, 24(2): 240-244.
- [29] ALAGARSAMY K N, YAN W A, SRIVASTAVA A, et al. Application of injectable hydrogels for cardiac stem cell therapy and tissue engineering[J]. *Rev Cardiovasc Med*, 2019, 20(4): 221-230.
- [30] HE X J, WANG Q, ZHAO Y N, 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.
- [31] HUNTER J D, JOHNSON T D, BRADEN R L, et al. Injectable ECM scaffolds for cardiac repair[J]. *Methods Mol Biol*, 2022, 2485: 255-268.
- [32] ERCAN H, ELÇIN A E, ELÇIN Y M. Preliminary assessment of an injectable extracellular matrix from decellularized bovine myocardial tissue[J]. *Z Naturforsch C J Biosci*, 2021, 76(11/12): 491-501.
- [33] ZHU H L, LI X Y, YUAN M J, et al. Intramyocardial delivery of bFGF with a biodegradable and thermosensitive hydrogel improves angiogenesis and cardio-protection in infarcted myocardium[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(4): 3609-3615.
- [34] 朴明慧, 曲文博, 刘冰, 等. 纳米载药在心肌梗死及其并发症防治中的应用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(11): 989-994.
- PIAO M H, QU W B, LIU B, et al. Application of nano-drug delivery for treatment of myocardial infarction and its complications[J]. *Chin J Arterioscler*, 2021, 29(11): 989-994.
- [35] TOKUNAGA M, LIU M L, NAGAI T, et al. Implantation of cardiac progenitor cells using self-assembling peptide improves cardiac function after myocardial infarction[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2010, 49(6): 972-983.
- [36] FRENCH K M, SOMASUNTHARAM I, DAVIS M E. Self-assembling peptide-based delivery of therapeutics for myocardial infarction[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 96: 40-53.
- [37] GELAIN F, LUO Z L, ZHANG S G. Self-assembling peptide EAK16 and RADA16 nanofiber scaffold hydrogel[J]. *Chem Rev*, 2020, 120(24): 13434-13460.
- [38] 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): 1176-1186.
- [39] MANN D L, LEE R J, COATS A J S, et al. One-year follow-up results from AUGMENT-HF: a multicentre randomized controlled clinical trial of the efficacy of left ventricular augmentation with Algisyl in the treatment of heart failure[J]. *Eur J Heart Fail*, 2016, 18(3): 314-325.
- [40] HUANG D Y, HUANG Y, XIAO Y, et al. Viscoelasticity in natural tissues and engineered scaffolds for tissue reconstruction[J]. *Acta Biomater*, 2019, 97: 74-92.
- [41] OSAKI T, SERRANO J C, KAMM R D. Cooperative effects of vascular angiogenesis and lymphangiogenesis[J]. *Regen Eng Transl Med*, 2018, 4(3): 120-132.
- [42] ZHANG B Y, RADISIC M. Organ-on-a-chip devices advance to market[J]. *Lab Chip*, 2017, 17(14): 2395-2420.
- [43] AHADIAN S, CIVITARESE R, BANNERMAN D, et al. Organ-on-a-chip platforms: a convergence of advanced materials, cells, and microscale technologies[J]. *Adv Healthc Mater*, 2018, 7(2): 1700506.
- [44] ZHANG B Y, MONTGOMERY M, CHAMBERLAIN M D, et al. Biodegradable scaffold with built-in vasculature for organ-on-a-chip engineering and direct surgical anastomosis[J]. *Nat Mater*, 2016, 15(6): 669-678.
- [45] CACOPARDO L, COSTA J, GIUSTI S, et al. Real-time cellular impedance monitoring and imaging of biological barriers in a dual-flow membrane bioreactor[J]. *Biosens Bioelectron*, 2019, 140: 111340.
- [46] MEWHORT H E M, TURNBULL J D, SATRIANO A, et al. Epicardial infarct repair with bioinductive extracellular matrix promotes vasculogenesis and myocardial recovery[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2016, 35(5): 661-670.
- [47] PARK D S J, MEWHORT H E M, TENG G Q, et al. Heparin augmentation enhances bioactive properties of acellular extracellular matrix scaffold[J]. *Tissue Eng Part A*, 2018, 24(1/2): 128-134.
- [48] WANG Y L, YU S N, SHEN H R, et al. Thymosin β 4 released from functionalized self-assembling peptide activates epicardium and enhances repair of infarcted myocardium[J]. *Theranostics*, 2021, 11(9): 4262-4280.