

# 骨髓基质干细胞移植对扩张型心肌病心衰大鼠 心功能改善作用机制的研究

周 瀛<sup>1)</sup> 白小涓<sup>2)\*</sup> 王 勃<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 中国医科大学附属第一临床医院循环内科, 沈阳 110001; <sup>2)</sup> 中国医科大学附属第一临床医院老年病科, 沈阳 110001

**摘要** 通过对心肌胶原纤维、微血管生成、血管内皮生长因子(VEGF)及其受体表达的研究, 探讨骨髓基质干细胞(BMSSCs)心肌内移植对扩张型心肌病心衰大鼠心功能的保护机制。应用阿霉素注射法建立扩张型心肌病心衰大鼠模型, 成功建模后移植 4', 6- 二乙酰基 -2- 苯基吲哚(DAPI)标记的 BMSSCs。分别于术后 1、2、3、4 周进行血流动力学检测, 利用免疫组化、RT-PCR 技术分析心肌胶原纤维、血管内皮生长因子(VEGF)及其受体 Flt-1、Flk-1 表达的改变, 以及微血管密度。结果显示, 移植细胞于术后 4 周通过免疫荧光可检测到存活。于术后 2 周开始, 移植组心功能较对照组改善, 表现为移植组收缩压(LVSP)、左心室内压最大上升或下降速率( $\pm dp/dt$ )较对照组显著升高, 舒张压(LVDP)显著下降,  $P < 0.05$ 。移植组心肌胶原纤维沉积减少, 光密度值比较  $P < 0.05$ 。移植组 VEGF、Flt-1、Flk-1 表达较同期对照组增加, 并张且与其受体达峰时间不同步。4 周时移植组微血管密度明显高于对照组。上述结果表明, BMSSCs 移植后可通过上调受体内 VEGF、Flt-1、Flk-1 的表达, 促进血管新生, 减少胶原纤维沉积, 从而改善受体心脏的功能。

**关键词** 骨髓基质干细胞, 扩张型心肌病, 心肌细胞成形术  
**学科分类号** R363

**DOI:** 10.3724/SP.J.1206.2012.00632

随着干细胞技术的深入发展, 骨髓基质干细胞(bone marrow stroma stem cell, BMSSCs)作为供体细胞移植到各种原因所致的心肌细胞受损的受体心脏内, 已成为治疗心力衰竭的新途径。研究表明, BMSSCs 能够促进缺血性心肌梗死和非缺血性心脏病所致心力衰竭的心功能恢复<sup>[1-2]</sup>。多数学者认为 BMSSCs 移植改善缺血心脏功能的机制与血管生成及其相关受体有关<sup>[3-4]</sup>, 但对于扩张型心肌病 BMSSCs 移植对心功能改善机制的研究目前报道较少。本研究应用阿霉素注射法建立扩张型心肌病心衰大鼠模型, 观察 BMSSCs 移植对受体心脏心肌胶原纤维沉积、血管内皮生长因子(VEGF)及其受体的表达的影响, 探讨 BMSSCs 移植改善扩张型心肌病心衰大鼠心功能的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂和抗体

DMEM(低糖型)培养液(Hyclon 公司); 标准胎牛血清(澳大利亚 - 天津灏洋生物有限公司); 羊抗

小鼠 IgGFITC 荧光标记试剂, 兔抗鼠 VEGF、Flk-1、Flt-1、CD34(武汉博士德生物工程有限公司); Masson 试剂盒, 免疫组化超敏 S-P 工作液试剂盒, DAB 显色试剂盒(福州迈新生物技术开发有限公司); 盐酸阿霉素(浙江海正药业股份有限公司); RT-PCR 试剂盒(宝生物工程大连有限公司)。

### 1.2 细胞的分离培养标记及鉴定

按照之前研究的方法<sup>[5-6]</sup>。取雄性 Wistar 大鼠, 体重 130~150 g, 麻醉后剥离双后肢皮肤肌肉, 于髌关节处剪断, 无菌条件下冲洗取到胫、股骨的骨髓细胞, 离心弃上清, 混悬离心后加入 DMEM 充分吹打, 接种于培养瓶, 置于培养箱中温育, 通过换液去除未贴壁的造血干细胞, 待细胞生长到 80%~90%融合时, 胰酶消化传代。取传至一代的 BMSSCs, 用于鉴定 CD34、CD44、CDw90。移植前

\* 通讯联系人。

Tel: 024-83282770, E-mail: xjuanbai@hotmail.com

收稿日期: 2013-01-04, 接受日期: 2013-05-15

将培养的 BMSSCs 用 PBS 冲洗后, 加入培养液及 1/10 体积的 10 mg/L 4', 6- 二乙酰基 -2- 苯基吲哚 (DAPI) 37°C 孵育 30 min, PBS 洗去未结合的 DAPI, 胰酶消化, 重悬于无血清的 DMEM 培养液中, 调整细胞浓度至  $2.5 \times 10^4/\mu\text{l}$ , 冰上保存不超过 1 h.

### 1.3 实验动物分组、模型制备及细胞移植

取体重 200~250 g 雌性 Wistar 大鼠 120 只, 由中国医科大学实验动物部提供, 随机分为正常组、移植组和对照组, 每组 40 只. 移植组和对照组大鼠每只每周给予盐酸阿霉素注射液 2 mg/kg 腹腔注射给药, 共计 6 周, 正常组给予等体积生理盐水<sup>[7]</sup>. 6 周后观察大鼠的一般行为和死亡率. 应用超声仪检测大鼠射血分数判断模型是否成功.

模型组建模成功后, 移植组大鼠心肌内移植标记后的 BMSSCs<sup>[6]</sup>. 手术时麻醉大鼠后气管插管用小动物呼吸机有氧正压通气, 逐层开胸暴露心脏将 DAPI 标记的细胞  $2.5 \times 10^4/\mu\text{l}$  分 5 点注入左心室游离壁, 每处 40  $\mu\text{l}$ . 对照组给予等体积无血清 DMEM, 正常对照组只开胸而不注射细胞.

### 1.4 血流动力学检测

分别于移植术后 1、2、3、4 周, 应用 8 导生理记录仪, 通过压力转换器测定大鼠左心室收缩压 (LVSP)、舒张压 (LVDP) 及左心室内压最大上升和下降速率 ( $\pm dp/dt$ )<sup>[6]</sup>.

### 1.5 移植细胞存活的荧光检测

于移植 4 周后取冰冻切片, 荧光观察移植细胞的存活情况.

### 1.6 心肌胶原纤维的测定

于术后 1、4 周取材, 取心肌组织石蜡切片, Masson 法染色, 应用 OLMPUS 显微图像分析系统, 通过光密度值测定在选定区域内绿色胶原与观察下的整个面积的比例, 作为胶原容积分数 (collagen volume fraction, CVF).

### 1.7 RT-PCR 检测 VEGF、Flt-1、Flk-1 mRNA 的表达

分别于术后 1、2、3、4 周各时间点取材, 以 RT-PCR 检测 VEGF、Flt-1 和 Flk-1 mRNA 的表达,  $\beta$ -Actin 为内参行半定量分析. 采用 Trizol 一步法提取细胞中的总 RNA, 按照 TAKARA 公司 RT-PCR 试剂盒说明书进行. 先 30°C 10 min、42°C 30 min、99°C 5 min 合成 cDNA, 再 94°C 变性 2 min, 接着扩增 35 个循环 (94°C 40 s, 58°C 40 s,

72°C 1 min), 最后 72°C 延伸 10 min. 上述产物长度及退火温度为: Flk-1, 415 bp 52.3°C; Flt-1, 198 bp 51.4°C; VEGF, 463 bp 56°C;  $\beta$ -Actin, 701 bp 56.5°C. 引物 (由大连宝生物工程有限公司合成) 序列为: VEGF, 5' GCAACACCAAGTCCGAATG 3'/5' GCCTACAGAATGGAGCAAAT 3'; Flt-1, 5' CGTGTATGGCATCCCTC 3'/5' GTGCTAACCGTCTTATTGG 3'; Flk-1, 5' CACGGTTGGGCTACTGC 3'/5' ACCTTCTGCCATCACG 3';  $\beta$ -Actin, 5' GCCAACCGTGAAAAGATG 3'/5' CCAGGATAGAGCCACCAAT 3'.

### 1.8 微血管密度检测

取 4 周心肌组织石蜡切片, DAB 法作 CD34 抗原免疫组织化学染色检测微血管密度. 普通光学显微镜 400 倍视野下, 任选 5 个视野, 在每个视野中任选 4 个单位面积 (500  $\mu\text{m}^2$ ) 计数微血管数量, 取平均值, 具有较厚肌壁的大血管及管腔大于 50  $\mu\text{m}$  的血管不在计数之内<sup>[8]</sup>.

### 1.9 统计学分析

结果以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 组间对比采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  为差异有显著性.

## 2 结 果

### 2.1 BMSSCs 免疫组化鉴定及移植细胞存活荧光标记

传至一代的 BMSSCs CD34 染色阴性, CD44 染色阳性, CDw90 免疫荧光染色阳性, 提示传代的细胞为 BMSSCs, 而非造血干细胞. 通过荧光观察, 术后 4 周仍可见 DAPI 标记的细胞, 与之前的研究结果一致<sup>[5-6]</sup>.

### 2.2 BMSSCs 移植后对心功能的影响

大鼠给予阿霉素后活动能力减弱, 有腹水生成, 与正常对照组比较, 心功能下降, 射血分数 (EF) 明显降低 [(61.2  $\pm$  6.3) vs (82.5  $\pm$  3.9),  $P < 0.05$ ]; LVDP 显著增加 [(13.6  $\pm$  2.1) vs (11.1  $\pm$  1.1),  $P < 0.05$ ], 提示模型建立成功. 造模后死亡率为 6% (5/80); 其对手术耐受性减低, 术后生存率为 77% (58/75), 其中心衰对照组术后存活率 81% (30/37), 细胞移植组术后生存率为 74% (28/38). 细胞移植组动物术后心功能改善, 表现为左室收缩压 (LVSP)、左室内压力最大上升及下降速率 ( $\pm dp/dt$ ) 较对照组显著升高 ( $P < 0.05$ ), 而左室舒张压 (LVDP) 则显著下降 ( $P < 0.05$ ), 见表 1.

**Table 1 Comparison of heart function value between transplant group and control group**

(mmHg,  $\bar{x} \pm s$ )

		Observation time			
		1w	2w	3w	4w
LVSP	Control group	105.96 ± 1.66	108.74 ± 1.96	110.36 ± 14.81	112.61 ± 12.59
	Transplant group	106.40 ± 5.30	108.96 ± 6.35	125.82 ± 18.42*	132.46 ± 10.17*
LVDP	Control group	28.68 ± 10.47	29.36 ± 7.92	24.71 ± 8.59	25.38 ± 8.22
	Transplant group	26.58 ± 6.87	21.33 ± 6.34*	19.750 ± 4.29*	17.13 ± 6.04*
+dp/dt	Control group	1 310.42 ± 170.24	1331.67 ± 91.71	1687.50 ± 149.23	2378.86 ± 351.10
	Transplant group	1 464.17 ± 108.50	1552.67 ± 87.74*	2341.14 ± 168.82*	3129.61 ± 214.90*
-dp/dt	Control group	1 187.90 ± 226.46	1223.50 ± 159.41	1463.80 ± 343.07	1994.78 ± 160.10
	Transplant group	1 426.67 ± 106.38	1452.92 ± 94.64*	2026.85 ± 146.40*	2344.85 ± 114.45*

\*P < 0.05.

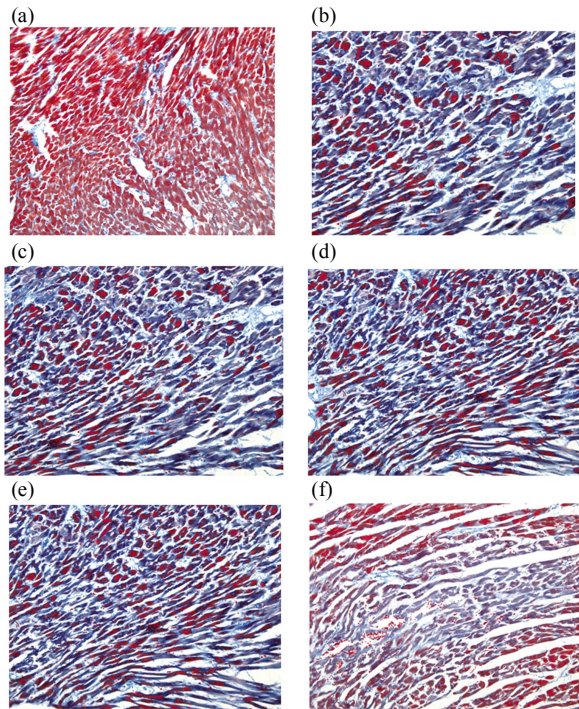
**2.3 心肌胶原纤维的检测**

术后1周~4周对照组胶原纤维沉积较多, 融合明显, 排列紊乱, 而移植组胶原纤维沉积减少, 融合现象较少, 排列基本处于有序状态(图1). 通过测定光密度值进行半定量分析显示, 移植组胶原沉积显著低于对照组, 具有统计学意义(表2).

**Table 2 Comparison of optical density of myocardial collagen fiber (A value)**

	Observation time	
	1w	2w
Transplant group	4.02 ± 0.69*	2.38 ± 0.49**
Control group	6.38 ± 0.61	6.23 ± 0.68

\*P < 0.05; \*\*P < 0.01.



**Fig. 1 Masson staining of myocardium in normal, control and transplant group**

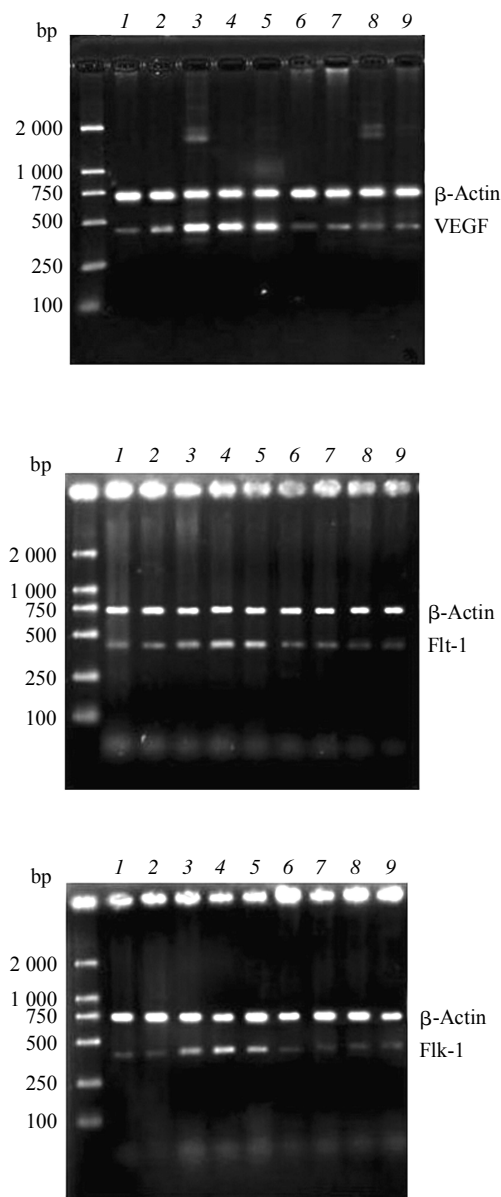
(a) In normal group. (b) In transplant group. (c) In control group one week after operation. (d) In control group four weeks after operation. (e) In transplant group one week after operation. (f) In transplant group four weeks after operation. Magnification 10x20.

**2.4 RT-PCR 检测 VEGF、Flt-1、Flk-1 mRNA 的表达**

RT-PCR 琼脂糖凝胶电泳结果显示, β-Actin 在各组中表达水平基本一致(图2), 根据半定量分析结果显示, 细胞移植组 VEGF 表达于术后1、2、3周高于对照组, 于术后2周达到高峰, 以后逐渐减弱. Flt-1、Flk-1 的表达在术后也高于对照组, 表达高峰出现在术后3周, 以后减弱, 这与 VEGF 达峰时间不同步(表3).

**Table 3 Ratio of the optical density of VEGF, Flk-1, Flt-1 mRNA normalized to β-Actin ( $\bar{x} \pm s$ , %)**

		Observation time			
		1w	2w	3w	4w
VEGF	Transplant group	0.43	0.60	0.26	0.24
	Control group	0.28	0.24	0.22	0.22
Flk-1	Transplant group	0.30	0.32	0.44	0.26
	Control group	0.18	0.12	0.10	0.06
Flt-1	Transplant group	0.28	0.30	0.46	0.28
	Control group	0.16	0.10	0.08	0.08



**Fig. 2 Expression of VEGF, Flt-1, Flk-1 mRNA**

1: Normal group; 2~5: Transplantation group 1w, 2w, 3w, 4w; 6~9: Control group 1w, 2w, 3w, 4w.

### 2.5 微血管密度检测

4 周时, 移植组较对照组微血管生成明显增多,  $(51 \pm 7) vs (18 \pm 5)$ ,  $P < 0.05$ , 组间差异显著.

### 3 讨 论

利用骨髓基质干细胞移植治疗心血管疾病的基础及临床研究都取得了令人鼓舞的成果, 骨髓基质干细胞治疗心力衰竭有望在将来成为一种新的治疗

手段. 既往的研究针对的疾病主要是心肌梗死<sup>[9-10]</sup>, 而实际上, 以心肌弥漫性损害为特征的扩张型心肌病是另一类可引起充血性心力衰竭的重要心血管疾病, 扩张型心肌病所致的心肌细胞总量的减少将对心功能造成持续不良的影响, 最终导致心力衰竭的发生, 因此有效治疗此类疾病对治疗充血性心力衰竭同样具有重要的意义. 以骨髓基质干细胞为供体的心肌细胞成形术已被证实可促进心肌细胞的再生, 改善心室重塑, 从而改善宿主的心功能. 虽然干细胞移植的长期受益目前仍存在争议, 但大多数研究仍显示骨髓基质干细胞移植是安全和有效的. 其对受体心功能改善的机制仍有待于进一步研究, 但移植细胞向心肌细胞分化及促进宿主血管生成是其可能的机制.

本研究表明, 自体骨髓基质干细胞移植对阿霉素所致的扩张型心肌病心力衰竭大鼠的左心室收缩压, 左室内压力最大上升及下降速率较对照组显著升高, 而左室舒张压则显著下降, 提示骨髓基质干细胞自体移植后, 对受体的心功能有明显的改善作用. 而且本研究显示, 此种改善作用在移植 3 周后开始体现, 而在移植前 2 周对心功能的改善并不明显. 其可能的机制为骨髓基质干细胞移植入宿主体内后经历一系列复杂的过程, 包括向心肌样细胞分化, 与宿主心肌细胞形成电-机械偶联, 参与宿主心肌收缩, 促进宿主细胞分泌促进血管生成的细胞因子及改善宿主心脏局部结构, 提高局部心肌弹力所需的时间有关.

之前的研究证实, 骨髓基质干细胞在移植入宿主体内 4 周后, 经检测有部分细胞表达心肌特异性蛋白——肌钙蛋白 T 等<sup>[6]</sup>, 提示移植入宿主体内的细胞在心肌微环境的诱导下可向心肌样细胞分化, 这与 Tomita 等<sup>[11]</sup>的研究结果相同. 骨髓基质干细胞移植入心肌内向心肌细胞分化的机制可能与心肌微环境中生物化学性因素和物理性因素有关<sup>[12]</sup>, 包括与心肌细胞直接接触, 细胞间的牵拉力及电生理环境有关, 同时细胞因子、激素、离子梯度及周围细胞产生的其他可溶性因子都可能刺激骨髓基质干细胞向心肌样细胞分化<sup>[13-15]</sup>, 从而达到改善心脏功能的作用.

我们在研究中发现, 骨髓基质干细胞移植可在一定程度上防止胶原纤维的融合, 保护心肌组织基本结构的有序排列, 从而提高心肌弹力, 增加心肌顺应性, 改善心功能. 胶原纤维的生成与沉积涉及

许多细胞因子, 如转化生长因子  $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$ )、胰岛素样生长因子 1(IGF-1)、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )等<sup>[6]</sup>, 这些因子通过调节纤维连接蛋白和组织胶原纤维的含量与组成, 达到保护心肌基本结构的作用, 使心肌局部弹力提高, 增加顺应性, 从而使全心功能得以改善. 骨髓基质干细胞移植对这些因子表达的影响将在今后的实验中进一步研究, 为将来减少心肌纤维化, 增加心室顺应性, 改善心功能提供理论依据.

研究显示, 在缺血缺氧的条件下, 低氧激活了低氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF-1 $\alpha$ )的表达, 而激活的 HIF-1 $\alpha$  诱导了 VEGF 的过量表达, 同时 VEGF 表达的增加又刺激了其两个特异的酪氨酸激酶受体即 Flk-1、Flt-1 的表达增加<sup>[7]</sup>. 虽然目前的研究尚不能完全解释 VEGF 的作用机制, 但 VEGF 同 Flk-1、Flt-1 相互作用, 激发细胞内一系列信号转导机制, 促进血管形成的积极作用早已被认可. 研究显示, VEGF 及其受体表达的上调对持续促进缺血心肌的血管生成起到重要作用<sup>[8]</sup>. 细胞移植所致的血管生成和心肌细胞再生对受体心功能有持续改善的作用, 因此我们考虑骨髓基质干细胞移植改善扩张型心肌病心功能的可能机制还涉及血管生成增加. 本研究比较了 VEGF 及其受体在骨髓基质干细胞移植前后表达的改变, 发现骨髓基质干细胞移植不仅能够上调血管内皮生长因子 VEGF 的表达, 而且上调了 VEGF 受体 Flt-1、Flk-1 的表达, 并且我们在实验中观察到 VEGF 与其受体表达的上调在时间上并非同步发生, VEGF 在移植后 2w 达到高峰, 而其受体的表达在 3w 后达到高峰, 这种不同步的上调表达, 提示在扩张型心肌病心衰模型中, 低氧促进了 VEGF 的高表达, 而 VEGF 的高表达又刺激了其受体的表达增加, 进一步促进了微血管的形成, 正如本研究结果所示, 细胞移植组微血管数量的增加提高了组织灌流量, 成为改善心功能的可能机制, 而在后期, 移植细胞引起的心肌细胞再生有助于进一步改善受体心脏功能<sup>[9]</sup>.

进一步的研究有待于探讨细胞移植带来的其他益处, 包括细胞分泌的抗凋亡因子, 促肌蛋白合成因子及移植细胞的自分泌和旁分泌功能以及移植细胞在宿主体内的电生理特性, 而血管形成又是多因素调节多因子参与的复杂过程, 后续的研究将对细胞移植对低氧诱导因子(HIF-1 $\alpha$ )及碱性成纤维生长

因子(bFGF), 胰岛素样生长因子 1(IGF-1)等促进血管生成因子的调节作用做进一步研究. 毫无疑问, 这些研究将推动骨髓基质干细胞移植应用于心力衰竭的治疗.

## 参 考 文 献

- [1] Kobayashi T, Hamano K, Li T S, *et al.* Enhancement of angiogenesis by the implantation of self bone marrow cells in a rat ischemic heart model. *J Surg Res*, 2000, **89**(2): 189-195
- [2] Nagaya N, Kangawa K, Itoh T, *et al.* Transplantation of mesenchymal stem cells improves cardiac function in a rat model of dilated cardiomyopathy. *Circulation*, 2005, **112**(8): 1128-1135
- [3] Fuchs S, Baffour R, Zhou Y F, *et al.* Transendocardial delivery of autologous bone marrow enhances collateral perfusion and regional function in pigs with chronic experimental myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol*, 2001, **37**(6): 1726-1732
- [4] Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, *et al.* Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhance collateral perfusion and regional function *via* side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation*, 2001, **104**(9): 1046-1052
- [5] 周 瀛, 白小涓, 王 勃, 等. 骨髓基质干细胞向心肌样细胞分化的实验研究. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2007, **16**(6): 654-659  
Zhou Y, Bai X J, Wang B, *et al.* *Chin J Histochemistry and Cytochemistry*, 2007, **16**(6): 654-659
- [6] 周 瀛, 白小涓, 王 勃. 同种异体骨髓间充质干细胞移植对扩张型心肌病心功能衰竭大鼠左心室功能的影响. *中国动脉硬化杂志*, 2008, **16**(2): 117-120  
Zhou Y, Bai X J, Wang B. *Chin J Arteriosclerosis*, 2008, **16**(2): 117-120
- [7] Siveski-Hiskovic N, Hill M, Chow D A, *et al.* Proboccol protects against adriamycin cardiomyopathy without interfering with its antitumor effect. *Circulation*, 1995, **91**(1): 10-15
- [8] Shintani S, Murohara T, Ikeda H, *et al.* Augmentation of postnatal neovascularization with autologous bone marrow transplantation. *Circulation*, 2001, **103**(6): 897-903
- [9] Mollmann H, Nef H M, Kostin S, *et al.* Bone marrow-derived cells contribute to infarct remodeling. *Cardiovasc Res*, 2006, **71**(4): 661-671
- [10] Schachinger V, Erbs S, Elsässer A, *et al.* Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med*, 2006, **355**(12): 1210-1221
- [11] Tomita S, Li R K, Weisel R D, *et al.* Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function. *Circulation*, 1999, **100**(19): 247-256
- [12] Rangappa S, Entwistle J W, Wechsler A S, *et al.* Cardiomyocyte-mediated contact programs human stroma stem cells to express cardiogenic phenotype. *J Thorac Cardiovas Surg*, 2003, **126**(1): 124-132

- [13] Sperr W R, Bankl H C, Mundigler Q, *et al.* The human mast cell: localization, isolation, phenotype, and functional characterization. *Blood*, 1994, **84**(11): 3876–3884
- [14] Deten A, Volz H C, Briest W, *et al.* Cardiac cytokine expression is upregulated in the acute phase after myocardial infarction: Experimental studies in rats. *Cardiovasc Res*, 2002, **55**(2): 329–340
- [15] Orlic D, Hill J M, Arai A E. Stem cells for myocardial regeneration. *Circ Res*, 2002, **91**(12): 1092–1099
- [16] Wei G C, Sirois M G, Qu R, *et al.* Effect of quinapril on myocardial function, ventricular remodeling and cardiac cytokine expression in congestive heart failure in the rat. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2002, **16**(1): 29–36
- [17] Mu D, Jiang X, Sheldon R A, *et al.* Regulation of hypoxia-inducible factor 1 alpha and induction of vascular endothelial growth factor in a rat neonatal stroke model. *Neurobiol Dis*, 2003, **14**(3): 524–534
- [18] Bauer E P, Kuki S, Arras M, *et al.* Increased growth factor transcription after pulmonary artery banding. *Eur J Cardiothorac Surg*, 1997, **11**(5): 818–823
- [19] Factor S M, Robinson T F. Comparative connective tissue structure-function relationships in biologic pumps. *Lab Invest*, 1988, **58**(2): 150–156

## The Study on The Mechanism of Cardiac Function Improvement of Dilated Myopathy in Rats By Transplantation of Bone Marrow Stroma Stem Cell

ZHOU Ying<sup>1)</sup>, BAI Xiao-Juan<sup>2)\*</sup>, WANG Bo<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, China;

<sup>2)</sup> Department of Gerontology and Geriatrics, The First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, China)

**Abstract** Bone marrow stroma stem cells (BMSSCs) have shown promising future in repairing injured myocardium. However, few studies have explored the potential mechanism of BMSSCs transplantation for dilated cardiomyopathy (DCM). In this study we aimed to examine whether BMSSCs transplantation can improve the cardiac function of dilated cardiomyopathy of rats and investigate the possible mechanism of BMSSCs transplantation improving the cardiac function of dilated cardiomyopathy according to investigate the collagen fiber deposition, capillary density, VEGF and its receptor expression. Global heart failure in Wistar rats was induced by means of adriamycin administration, after labeled with DAPI, BMSSCs were transplanted into the myocardium of rats which were divided into transplantation group and control group. At 1w, 2w, 3w, 4w after transplantation, heart function was measured by hemodynamic, the deposition of collagen fiber, expressions of VEGF and its receptor and capillary density were checked by immunohistochemistry and RT-PCR. Immunofluorescence microscopy revealed that the transplanted BMSSCs were visible at four weeks after transplantation. Compared with the control group, the transplantation group had a significantly higher maximum rate of rise and decline ( $\pm dp/dt$ ) of left ventricular pressure and left ventricular systolic pressure ( $P < 0.05$ ), as well as a significantly lower rate of left ventricular diastolic pressure ( $P < 0.05$ ). The deposition of collagen fibers in the myocardium of transplantation group was reduced, according to A value in transplant group is less than control group ( $P < 0.05$ ). The expression of VEGF and its receptor were significantly higher than those of control group, and the upregulation of VEGF and its receptors was unsynchronized, the capillary density is higher in transplantation group than control group after four weeks. Taken together, our results suggest that BMSSCs transplantation can improve dilated cardiomyopathy's heart function of rats, we found that BMSSCs transplantation prevented the fusion of collagen fibers to some extent, decrease the deposition of collagen fiber and maintained the orderly structural arrangement of myocardial tissue. BMSSCs transplantation can also promote the angiogenesis, in our study we found that capillary density increased, BMSSCs transplantation not only upregulated the expression of VEGF, but also upregulated the expression of VEGF receptors. Unsynchronized upregulation of VEGF and its receptors was observed which may promote angiogenesis continuously and steadily.

**Key words** bone marrow stroma stem cell, dilated cardiomyopathy, cellular cardiomyoplasty

**DOI:** 10.3724/SP.J.1206.2012.00632

\*Corresponding author.

Tel: 86-24-83282770, E-mail: xjuanbai@hotmail.com

Received: January 4, 2013 Accepted: May 15, 2013