评述

心血管干细胞在心血管再生医学研究中的现状与展望

蒋鏊骏, 徐清波*

浙江大学医学院附属第一医院心血管病中心, 杭州 310003

* 联系人, E-mail: qingbo_xu@zju.edu.cn

收稿日期: 2019-04-12; 接受日期: 2019-05-10; 网络版发表日期: 2019-06-19

摘要 哈佛大学的Anversa等人被撤回30余项伪造研究的消息对心血管系统干细胞研究领域产生了令人沮丧的影响。通过骨髓细胞或成体心脏原位干/祖细胞分化再生心肌的理论已被否定。在过去的近20年中, 众多医生、学者和机构花费大量精力和财力投入这项目前看似“无所收益”的研究中, 但是心血管领域干细胞的研究成果是丰硕的, 不能因为Anversa事件而全盘否定心血管干细胞研究领域的成就。本文回顾了心血管干细胞在这场风波中的进程始末, 总结了目前心脏和血管干细胞的研究进展, 并对其今后的研究方向进行展望, 以重整和规划心血管干细胞和心血管再生医学领域正确的研究方向。

关键词 成体干细胞, 胚胎干细胞, 干细胞移植, 组织工程, 再生

目前充血性心力衰竭发病率逐年升高, 是65岁以上人群的首位住院原因, 也是心血管疾病死亡的主要原因^[1]。心肌梗死(myocardial infarction, MI)后心肌细胞大量且不可逆的坏死继而疤痕形成是心力衰竭的重要原因。我国有心力衰竭患者超过1100万, 5年死亡率40%, 重度心衰患者1年死亡率高达50%。

目前的药物、介入和器械等治疗手段能一定程度上改善心肌梗死患者的症状, 提高生活质量, 但不足以挽救坏死心肌, 只能延缓心力衰竭的发生发展。心脏移植是终末期心衰患者的唯一选择, 但因供体缺乏而不能广泛开展。因此, 心力衰竭亟待寻找新的治疗手段。干细胞移植疗法能通过促进心梗局部血管新生, 保护心肌细胞存活等多重作用促进衰竭心脏的功能恢复,

已成为心力衰竭非常有前景的治疗手段之一^[2]。

伴随著名学者Piero Anversa的30多篇论文被证实数据作假和撤稿, 虚假宣传了所谓“心脏干细胞”再生心肌细胞的临床应用前景, 将已经走过近19年的心血管疾病干细胞治疗推上了风口浪尖, 使公众对这一治疗领域的信心严重下降, 全球数百万终末期心脏病患者的希望濒临破灭(Oransky I, Marcus A. Harvard and the Brigham call for more than 30 retractions of cardiac stem cell research. STAT <https://www.statnews.com/2018/10/14/harvard-brigham-retractions-stem-cell/>. 2018). c-kit⁺细胞分化成心肌细胞被否定后, 是不是意味着所有干细胞在心血管疾病的成果都被否定了? 干细胞在心血管领域还值得研究吗? 本文通过回顾既往

引用格式: 蒋鏊骏, 徐清波. 心血管干细胞在心血管再生医学研究中的现状与展望. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 965–976

Jiang L J, Xu Q B. Current status and prospects of cardiovascular stem/progenitor cells in cardiovascular regenerative medicine (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2019, 49: 965–976, doi: [10.1360/SSV-2019-0066](https://doi.org/10.1360/SSV-2019-0066)

心脏和血管干细胞的研究进展, 希望可以理清目前该领域的研究方向, 为今后的研究提供理性参考, 避免悲剧的再次发生.

1 心脏干细胞的争议

长期以来, 病理学家们一直认为心脏是人体中再生能力最低的器官之一. 在20世纪90年代末, Anversa团队开始挑战这些传统理念, 取而代之的是, 他们认为心脏是一个可以自我更新的器官. 2003年, Anversa团队声称从成年大鼠心脏中分离出一类表达酪氨酸激酶c-kit, 但不表达其他造血标志物的干细胞群, 这类细胞具备自我更新, 克隆形成及多向分化潜能, 体内体外能分化为心肌细胞、血管平滑肌细胞及内皮细胞^[3]. 2007年, Anversa团队再次声称从人成体心脏分离出c-kit⁺细胞, 将这类细胞移植到梗死小鼠心脏中能改善左室功能, 移植细胞能形成含心肌和血管的心肌组织^[4]. 此后十几年, 受到Anversa团队研究的影响, 大量实验室与其展开合作研究, 包含Anversa团队在内的数个研究组, 均声称人及啮齿类c-kit⁺细胞移植能再生心肌^[5].

在成体心脏干细胞研究如火如荼进行的同时, 多个研究组则宣称难以证实心脏c-kit⁺细胞的分化能力. Menasché研究组^[6]报道, 在心力衰竭患者中, 心脏c-kit⁺细胞实际上是肥大细胞. Lee研究组^[7]通过一种高度敏感的多同位素质谱分析, 证明成年小鼠心肌更新非常缓慢, 仅约1%/年, 且这种更新完全是由于既存的心肌细胞分裂所致. 随着Cre-LoxP等重组系统和遗传工程小鼠构建技术的发展, 遗传谱系示踪技术日渐成熟, 通过该技术可直接在体内追踪细胞的来源和转分化命运, 因此迅速广泛应用于干细胞研究^[8]. 2014年, van Berlo等人^[9]在小鼠中采用遗传谱系示踪技术对c-kit⁺细胞进行追踪, 发现心脏内源性c-kit⁺细胞无论在心脏发育还是出生后心脏损伤和衰老过程中几乎无法产生新的心肌细胞(<0.03%). 换言之, c-kit⁺细胞是心肌祖细胞的说法是没有根据的. 尽管该结论得到了Anversa团队的驳斥, 但随后其他研究团队也证实c-kit⁺细胞, 甚至Sca-1⁺细胞并非心肌前体细胞, 无法向心肌分化^[10-12].

2016年, 中国科学院周斌团队^[13]采用新构建的c-kit CreER小鼠与Rosa-RFP报告基因小鼠结合对c-kit⁺细胞进行遗传谱系示踪, 揭示心脏c-kit⁺细胞在心

脏生理稳态和损伤修复再生中很少贡献心肌细胞(~0.35%). 2018年, 周斌团队进一步通过更为精准的遗传谱系示踪技术, 利用双同源重组技术同时标记心肌细胞和所有非心肌细胞(不论是否带有何种表面标记物), 发现成体心脏在稳态维持和损伤修复过程中都不会发生非肌肉细胞向肌肉细胞的转分化. 换言之, 成体心脏中不存在具备心肌分化潜能的干细胞群^[14].

由此可见, Anversa的研究声称c-kit⁺细胞可分化为心肌细胞实现心肌再生作用从而改善心功能, 而目前大量证据表明c-kit⁺细胞分化为心肌细胞的比例极少, 不能有效参与心肌再生, 这是Anversa研究受到质疑之处. 虽然c-kit⁺细胞不能分化为心肌细胞, 但并不意味其不存在, 其分化为血管细胞是已经被大量研究证实的. van Berlo等人^[9]发现, 心脏c-kit⁺细胞虽然不会分化成为心肌细胞, 但可以明确观察到其能在体分化为心脏内皮细胞, 可能参与心脏血管新生. 周斌团队亦通过遗传谱系示踪技术发现肺c-kit⁺细胞在稳态和肺损伤情况下均参与肺血管内皮形成^[15].

2 心脏干细胞研究不等同于心脏的干细胞研究

如前文所述, Anversa团队及其理论的追随者, 认为心脏内源性存在干细胞, 即所谓的心脏干细胞(cardiac stem cell, CSC). 尽管“心脏干细胞再生心肌”理论目前已被证伪, 那么近十余年不断发展的心脏疾病的干细胞研究是否也是“一纸空谈”? 心脏干细胞研究等同于心血管疾病的干细胞研究吗?

心脏疾病的干细胞治疗是指将具有自我更新和多向分化潜能的干细胞移植入心脏组织, 从而发挥改善心功能, 延缓患者病情发展的治疗手段. 用于移植的干细胞除了心脏干细胞外, 主要包括间充质干细胞为主的成体干细胞、胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)、多能诱导干细胞等. 因此, 显而易见的是, 心脏干细胞并不等同于心脏疾病的干细胞治疗, 事实上心脏干细胞仅仅是心脏疾病的干细胞研究领域中的一个非常小的分支而已.

2.1 成体干细胞

(1) 间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs). MSCs是一类最早来源于骨髓的非造血系干细

细胞, 表达CD73, CD90, CD105及STRO-1等, 但不表达造血系标志物如CD14/CD11b, CD34及CD45等, 能在体外大量扩增并维持其多向分化潜能, 在体内外特定条件下能分化为成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞及肌肉细胞等. 此外, MSCs不表达II型人白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA), 异体移植后无免疫排斥现象. MSCs凭借上述优势成为移植治疗心肌梗死后心力衰竭的优势细胞资源. 大量动物研究表明, MSCs能通过维持心肌细胞存活、促进血管新生、抑制炎症、改善恶性重构等多重机制, 促进梗死心肌的功能恢复^[2,16-19].

(2) 血管干细胞. 对于缺血性心血管系统疾病, 血管再生是除了心肌再生之外, 心血管疾病又一重点研究方向. 最早研究认为骨髓源性的或外周血的干/祖细胞(stem/progenitor cells, SPCs)是血管平滑肌细胞和内皮细胞的主要来源^[20], 这些干/祖细胞随血液循环迁移至损伤部位并分化为平滑肌细胞, 参与血管损伤性修复新生内膜的形成. 然而近年来血管损伤修复机制研究有了重大突破, 即发现血管壁本身存在多种多能干细胞及内皮、平滑肌祖细胞. 早在2004年, Hu等人^[21]

首次在ApoE基因缺陷小鼠(常用的高脂血症、动脉粥样硬化模式小鼠)主动脉外膜发现了大量的表达干细胞标记物(Sca-1, c-kit, CD34, KDR等)的细胞, 并发现大部分再生的内皮细胞为非骨髓细胞来源, 提供了非骨髓来源的干细胞可分化为内皮细胞的直接证据, 之后的数年内, 许多研究组也相继重复并证实了血管外膜干/祖细胞的存在, 并表明SPCs能在体内、体外定向分化成血管内皮细胞、血管平滑肌细胞及炎症细胞^[22].

除了常见的缺血性血管疾病外, 血管再生研究的另一重要方向是移植血管病(allograft vasculopathy, AV). AV是导致移植器官(特别是心脏移植)功能失调的主要原因, 是移植术后1~3年期间患者最主要的死亡原因. 大量研究已发现参与血管移植免疫损伤过程中, 平滑肌细胞来源于受体而非传统的骨髓细胞, 而移植血管修复过程中内皮细胞也可能部分来源于循环祖细胞^[23-25]; 同时在静脉移植模型中也证实大部分再生的内皮细胞为非骨髓细胞来源, 而是血管壁干/祖细胞来源^[21], 随后这些研究结果陆续被其他研究组在不同的动物模型和疾病模型中证实^[22](表1).

表 1 目前研究发现的血管原位干/祖细胞及其分化方向^[22a]
Table 1 Summary of vascular resident stem/progenitor cells and their differentiation directions^[22]

分类	常见表面标记	血管定位	分化潜能
原位内皮祖细胞	Sca-1 ⁺	内膜, 中膜, 外膜, 粥样硬化斑块, 新生内膜	内皮细胞
	CD34 ⁺	内膜, 中膜外膜交界区, 外膜, 新生内膜, 粥样硬化斑块	
	Flk-1 ⁺	HUVECs, HAECs, 内膜, 外膜, 粥样硬化斑块	
	c-kit ⁺	内膜, 中膜外膜交界区, 外膜, 新生内膜, 粥样硬化斑块	
平滑肌祖细胞	Sca-1 ⁺	中膜, 中膜外膜交界区, 外膜, 粥样硬化斑块, 新生内膜	平滑肌细胞
	CD34 ⁺	外膜, 粥样硬化斑块	
间充质干细胞	CD44 ⁺	中膜, 外膜	软骨、肌、脂肪系细胞
	CD29 ⁺	中膜, 外膜	
	CD90 ⁺ /CD105 ⁺	中膜, 外膜	
	CD34 ⁺	外膜	
	Sca-1 ⁺	中膜, 外膜	
	Gli ⁺	外膜	
	Nestin ⁺	外膜	
髓系祖细胞	Sca-1 ⁺	外膜, 粥样硬化斑块	髓系细胞(单核细胞、巨噬细胞等)
	CD34 ⁺	中膜外膜交界区, 外膜, 粥样硬化斑块	
	CD45 ⁺	中膜, 外膜	
	CD68 ⁺	中膜, 外膜	
	F4/80 ⁺	外膜	

a) HAEC: 人动脉内皮细胞; HUVEC: 人脐静脉内皮细胞

2.2 包括胚胎干细胞和诱导性多能干细胞在内的多能干细胞

ESCs来源于植入前囊胚的内细胞团^[26], 具备强大的自我更新及多向分化潜能, 是分化获得心血管谱系细胞的最佳来源。多项研究表明, ESCs衍生心肌细胞与成年心肌细胞的形态相似, 具备一定排列的肌节结构, 表达心肌特异性转录因子如Nkx2.5, GATA4, MEF2C等, 并能自发搏动, 呈现心房、心室及窦房结动作电位^[27,28]。诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)则是通过Yamanaka四因子体系(OCT3/4, SOX2, KLF4及c-MYC)重编程成纤维细胞而获得^[29]。iPSCs呈现与ESCs相似的细胞形态、表面标志物表达和增殖特性, 具备与ESCs相似的心肌分化潜能, 其分化而成的心肌细胞具备典型的心肌特征, 如自发搏动、收缩节律及离子通道蛋白的表达^[30]。相对于ESCs而言, iPSCs可通过患者成纤维细胞重编程获得, 不存在伦理学及免疫排斥问题。

3 干细胞参与心血管疾病的功能和机制研究

3.1 心脏干细胞参与心血管疾病的功能和机制研究

(1) 心脏干细胞的功能研究。直接心肌分化, 替代梗死心肌。干细胞移植是否通过心肌分化来替代梗死组织一直是国际上争论的焦点。就MSCs而言, 早期研究认为MSCs移植后能通过分化为心肌细胞或血管内皮及平滑肌细胞来发挥移植疗效^[31-33]。然而, 后期更多的研究包括MSCs移植治疗非人灵长类心肌梗死的研究, 发现MSCs移植后驻留及存活率极低, 且未发现移植细胞向心肌细胞或内皮细胞分化, MSCs移植疗效主要是通过旁分泌作用促进内源性心肌细胞增殖、血管再生、改善心脏能量代谢、减少心肌细胞凋亡、调节免疫炎症反应等^[19,34,35]。

相对于成体干细胞, 包括ESCs及iPSCs在内的多能干细胞在体外特定条件下, 能分化为心肌细胞。在小动物及大动物心肌梗死模型中, 研究发现ESCs衍生心肌谱系细胞移植后能进一步分化为成熟的心肌细胞, 与宿主心肌组织整合, 并改善左室功能^[36,37]。然而, 近期有研究发现, 人ESCs/iPSCs衍生心肌细胞移植能

显著改善心梗小鼠的心功能, 但因移植细胞驻留率极低, 且移植小鼠的心肌组织表达更高的促迁移、促血管新生及抗凋亡因子, 认为ESCs/iPSCs衍生心肌细胞主要通过旁分泌作用来改善心脏功能, 而非再生梗死心肌^[38]。

hESC衍生细胞移植治疗非人灵长类心肌缺血的研究也呈现不同的结果。Charles Murry团队^[39,40]证实hESC衍生心肌细胞移植能有效改善心梗后的左室功能, 移植三个月后射血分数提高20%, 且移植细胞能大面积再生梗死心肌, 并与宿主心肌形成功能耦联, 但hESC衍生心肌细胞移植会导致非致死性的心律失常发生。Zhu等人^[18]通过hESCs衍生心血管前体细胞(hESC-derived cardiovascular progenitor cells, hESC-CVPCs)治疗非人灵长类心肌梗死的研究, 排除了人多能干细胞衍生心血管前体细胞直接整合宿主心肌组织来改善心功能的可能性, 证实了hESCs衍生心血管前体细胞主要通过旁分泌效应减少内源性心肌细胞凋亡, 显著提高心脏射血分数。移植细胞的不同表现可能在于下述原因: (i) 移植细胞量不同(hESC衍生细胞: $>5 \times 10^8 \sim 10 \times 10^8$ vs. hESCs衍生心血管前体细胞: 1×10^7); (ii) 细胞成熟度不同(hESC衍生细胞vs. hESCs衍生心血管前体细胞)。大剂量的趋于成熟的hESC衍生细胞移植可能更易于再生梗死心肌, 并与宿主心脏功能整合, 但有致心律失常风险。

(2) 心脏干细胞的机制研究。旁分泌作用。旁分泌作用是干细胞移植改善心脏功能的主要机制。在缺氧或缺血条件下, 干细胞能分泌大量细胞因子及生长因子如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、基质细胞衍生因子(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、胰岛素生长因子-1(insulin-like growth factor 1, IGF-1)、血管生成素-1(angiotensinogen 1, Ang-1)、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)及白细胞介素-6(interleukin 6, IL-6)等, 减少缺血区心肌细胞凋亡, 促进血管新生, 形成的新生血管进一步保证氧气和营养物质运输至缺血心肌组织, 维持心肌细胞存活, 抑制左室重构^[2,35,41]。2005年, Gneccchi等人^[42,43]将Akt过表达间充质干细胞的条件培养基注射到小鼠心梗局部, 发现其能显著减少梗死面积, 改善心功能, 首次证实了干细胞能通过

旁分泌效应促进心脏功能恢复. 随后, 多个研究组证实骨髓MSCs移植后, 通过分泌多种生物活性分子如miR-21-5p^[44], CTRP9^[45]等, 影响损伤后心脏功能.

外泌体作为一类包裹蛋白、细胞因子、micro-RNAs(miRs)的功能性囊泡, 是干细胞发挥旁分泌作用的重要组成部分. 大量小动物研究发现, 干细胞来源的外泌体移植入缺血心脏也能通过多重机制有效改善心功能, 延缓恶性重构^[46-48].

目前, Marban团队开展了首个外泌体移植治疗心肌梗死的大动物临床前研究, 证实猪急性或慢性心肌梗死模型中, 经心肌内注射心肌球干细胞(cardiosphere-derived cells, CDCs)来源的外泌体能够通过促进血管新生、减少胶原沉积及心肌肥大等机制, 减少梗死面积, 延缓恶性重构, 改善心脏功能^[49], 该研究进一步推动干细胞来源的外泌体作为重要的旁分泌因子向临床应用转化.

3.2 血管干/祖细胞参与血管疾病的功能和机制研究

(1) 血管干/祖细胞的功能研究. 内皮修复与再生. 血管内皮层损伤和内皮功能障碍/死亡通常是动脉粥样硬化等血管损伤的起始步骤, 进而导致血管狭窄和疾病进展. 在正常动脉中, 正常血流的高剪切应力上调转录因子Krueppel样因子(KLF)2和4, 通过抑制PFKFB3减少葡萄糖摄取和糖酵解, 增加内皮细胞分子VE-cadherin的表达, 收紧血管屏障, 维持内皮细胞

表型: 低增殖、抗炎和抗血栓形成. 在病变区域, 紊乱的血流和氧化型低密度脂蛋白(oxidized lowdensity lipoprotein, oxLDL)通过诱导miR-92a等抑制KLF2的表达, 导致内皮细胞屏障功能丧失和局部炎症反应, 从而在病变易发区域诱导内皮细胞表现出较高的更新率和较短的细胞寿命^[50,51]. 这种内皮细胞转换被认为是导致内皮渗漏、功能障碍和脂蛋白内流的原因.

血管损伤后, 再内皮化是血管的一种自身修复过程, 以维持内皮在血管壁的保护作用, 这其中包括邻近完整内皮细胞的增殖和迁移, 活化和动员血管壁祖细胞和从骨髓募集干细胞. 尽管研究表明, 在血管疾病中可检测到循环内皮细胞和内皮祖细胞数量增加, 但血管壁祖细胞来源的内皮细胞已被证实对血管再内皮化更有效. Zengin等人^[52]提出存在血管发生区, 位于外膜和中膜之间, 聚集有CD34⁺KDR⁺CD31⁻祖细胞, 其能够分化为内皮细胞, 形成血管并参与疾病进展. Campagnolo等人^[53]从人隐静脉中分离出CD34⁺/CD31⁻细胞, 并将这些细胞肌肉注射到免疫缺陷小鼠的缺血肢体中, 观察到新生血管形成和血供改善(图1).

(2) 血管干/祖细胞的功能研究. 新生内膜平滑肌形成. 传统观点认为, 血管损伤后新生内膜形成过程中的血管平滑肌来源于血管壁成熟平滑肌的表型转化, 从成熟的收缩型转变为增殖型、分泌型等, 并向损伤部位迁移增殖, 最终形成血管局部增生. 然而, 血管干祖细胞也可能在新生内膜形成中起作用. 例如, Hu等人^[23]揭示移植血管新生内膜病变中平滑肌的来源

图1 血管壁干/祖细胞参与内皮细胞形成和内皮修复^[22](网络版彩图)

Figure 1 Vascular wall resident stem/progenitor cells are involved in endothelial cell formation and endothelial repair^[22] (color online)

不是骨髓祖细胞, 而是管壁局部来源的宿主细胞. 这些发现随后在动脉粥样硬化性疾病的研究中得到进一步支持. Bentzon等人提出存在血管平滑肌的局部管壁来源, Iwata等人则表明骨髓细胞仅参与血管损伤后的炎症反应, 但不会分化为血管平滑肌^[22]. 新近的研究则揭示, 通过血管c-kit⁺干细胞遗传谱系示踪技术, 在机械损伤内膜增生的自然病程中, 仅有极少量的c-kit⁺干/祖细胞分化为了内皮细胞或平滑肌细胞, 而绝大部分的c-kit⁺干/祖细胞转化为免疫炎症细胞参与血管重构, 抑制c-kit⁺干/祖细胞可减少血管损伤后炎症反应和内膜增生^[54]. Tsai等人^[55]进行了一项研究, 在小鼠颈动脉移植去细胞血管, 形成新生内膜病变. 结果在病变中发现Sca-1⁺, c-kit⁺和CD34⁺细胞, 并具有多向分化能力. 另有报道显示, 股动脉损伤后, >50%的新生内膜平滑肌来源于外膜干/祖细胞^[56](图2).

(3) 血管干/祖细胞的功能研究. 脂质代谢. 动脉粥样硬化特异性的脂质代谢异常能够引起血管外膜干/祖细胞生物学功能的变化. 近期的研究显示, 采用先进的单细胞测序技术比较血管外膜Sca-1⁺干/祖细胞在正常及脂质代谢紊乱小鼠中的表型差异, 发现ApoE基因敲除小鼠的Sca-1⁺干/祖细胞更多地分布在血管内膜, 进一步研究证实高脂模型能够导致Sca-1⁺干/祖细胞呈

现出更高的迁移能力, 但是抑制其向平滑肌及内皮细胞的分化^[57], 同时, 另一研究还发现瘦素(一种脂肪因子)水平的上调能通过瘦素受体依赖的信号通路STAT3-Rac1/Cdc42-ERK-FAK通路调控血管外膜Sca-1⁺干/祖细胞的迁移能力, 最终导致血管损伤后新生内膜的增加^[58].

(4) 血管壁干/祖细胞分化的机制研究. 最近的研究揭示了IV型胶原、整合素 $\alpha 1$, $\alpha 5$, $\beta 1$ 以及PDGF受体等途径参与血管壁干/祖细胞分化调控^[59]. 此外, 最新的研究发现, 细胞因子样蛋白DKK3(Dickkopf 3)在调控血管壁干/祖细胞分化方向上起重要作用. DKK3是一种分泌型糖蛋白, 在内皮和肌肉中高表达^[60-63], 且与部分诱导多能干细胞的分化有关. Yu等人^[64]报道DKK3是一种动脉粥样硬化保护性细胞因子. 另一项研究表明, DKK3的缺失导致动脉粥样硬化斑块易损^[65]. 体外研究显示, DKK3可通过激活TGF/ATF6和Wnt信号通路诱导 Sca-1⁺血管干/祖细胞分化为平滑肌细胞. Wang等人^[63]也证实DKK3可以通过激活ATF6和促进myocardin表达来诱导小鼠干细胞分化为平滑肌. 另一方面, DKK3可通过VEGF/miR-125a-5p/Stat3通路高效诱导成纤维细胞直接转分化为血管内皮细胞, 并且在体外组织工程血管支架上, 这些由成纤维细胞转

图2 血管壁干/祖细胞参与血管疾病病变形成^[22](网络版彩图)

Figure 2 Vascular wall resident stem/progenitor cells participate in the progress of vascular disease^[22] (color online)

分化形成的内皮细胞能够聚集形成类似生理血管内皮层的单细胞层^[66]。

4 干细胞治疗在心血管疾病中的应用

由于Anversa事件的影响, 心血管干细胞特别是心脏干细胞研究领域受到广泛质疑, 多项研究已明确提示成体心脏中并不存在能够分化为成熟的、有功能的心肌细胞的所谓“心肌干细胞”。因此, 许多非心血管专业研究者和大众都对心脏干细胞研究表达出疑惑和反对态度, 对整个干细胞和再生医学领域是一次重大打击。

然而, Anversa等人的研究主要集中在c-kit⁺细胞的生物学功能方面, 并不能以偏概全, 全盘否定心血管干细胞的其他研究。心血管干细胞研究并不局限于c-kit⁺细胞, 也不局限于所谓“心肌干细胞”, 干细胞旁分泌, 促进血管新生, 减少纤维化和氧化应激作用等, 都是心血管干细胞研究的方向。目前, 针对心血管干细胞和再生医学所面临的几个主要问题为: (i) 成体心血管疾病发生发展过程中, 是否存在, 或是否可以人为制备可以再生为有功能的心肌、血管及其他心血管组织细胞的干细胞? (ii) 在不存在自体干细胞或干细胞动员不足的情况下, 通过基因工程、组织工程等人为科技手段, 是否可以人为引入干细胞并诱导其定向分化, 并起到确切的治疗作用? (iii) 如何选取合适的干细胞来源, 作为干细胞治疗的最佳细胞对象? (iv) 干细胞治疗对疾病的治疗获益的机制如何? 是干细胞自身分化修补受损组织? 是通过分泌生物活性分子改善损伤组织细胞? 还是促进新生血管改善局部血供?

4.1 成体干细胞

以骨髓单个核细胞、MSCs为代表的成体干细胞移植治疗缺血性心脏病的临床前动物研究及临床试验已经开展了近16年。早期的BOOST及REPAIR-AMI临床试验证实, 经冠脉移植自体骨髓单个核细胞能改善心肌梗死患者的左室射血分数(left ventricular ejection fractions, LVEF), 然而随后的41个随机对照临床试验及荟萃分析却证实, 骨髓单个核细胞移植虽然安全, 但无论从短期还是长期而言, 均无法改善心肌梗死患者的LVEF及生活质量^[67]。与骨髓单个核细胞相比, 大量临床前研究及临床试验表明, MSCs移植治疗缺血性心

脏病安全、可行, 更为有效^[68]。同时MSCs具备异体移植无免疫排斥等优势, 无论是自体移植或异体移植, 无论是骨髓来源或非骨髓来源(如脐带血), MSCs移植能一定程度促进急性心梗或慢性缺血性心脏病患者的左室功能恢复, 且无严重不良事件的发生^[69,70]。

4.2 多能干细胞

尽管致癌性风险及伦理学问题一定程度限制了多能干细胞的临床应用前景, 但多个研究组致力于推动其向临床转化。就hESCs而言, 法国Menasche团队开展了首个hESCs衍生心脏前体细胞治疗严重缺血性心衰患者的I期临床试验, 初步证实hESCs衍生的Isl⁺, SSEA⁺的心脏前体细胞移植能一定程度上改善心衰患者的LVEF, LVESV及6 min步程, 并且无恶性心律失常、肿瘤形成及免疫排斥等不良事件发生^[71,72]。同时, 组织工程技术的发展为人为定向大规模生产心血管细胞/前体细胞提供了助力。今年最新的研究显示, 利用重组蛋白技术制备心脏特异性层黏连蛋白-221(LN-221), 诱导hESCs形成心血管前体细胞并注入小鼠心肌梗死区, 能够生成成熟的人心肌纤维和新生血管并改善心脏功能, 且减少成瘤性^[73]。

就iPSCs而言, Shiba等人^[74]也通过非人灵长类心肌梗死模型, 证实主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)匹配的异体iPSCs衍生心肌细胞移植能修复梗死心肌, 主要体现在移植细胞与宿主心脏电生理耦联, 并改善了心脏收缩功能。虽然iPSCs来源的心肌谱系细胞治疗心肌梗死后心力衰竭的临床试验尚未开展, 但iPSCs以其特有的优势, 将有助于推动精准医学及个性化治疗的发展。

综上所述, Anversa等人所谓“c-kit⁺心肌干细胞”已被证伪, 但目前仍存在多种其他来源心脏干细胞, 在基础研究和临床试验中均获得了部分可喜成果, 具有良好的发展前景(表2)。

4.3 血管干细胞

损伤血管的早期内皮修复可以有效延缓管腔狭窄, 减少平滑肌增生, 是血管疾病的研究和治疗重点。Toledo-Flores等人^[75]观察到Sca-1⁺/CD45⁺血管外膜细胞具有促血管生成能力, 可能是小鼠动脉粥样硬化中滋养血管扩张的来源。虽然体外Sca-1⁺细胞培养可以促进内皮标记物的表达, 但在血管疾病中(除心脏外)

表 2 “心肌干细胞”与其他来源干细胞的对比

Table 2 Comparison of the so-called “myocardial stem cells” with stem cells from other sources

类型	来源	标志物	机制	备注
心肌干细胞	心脏	c-kit	Anversa认为心脏内源性c-kit阳性细胞在体内能大量分化为心肌细胞, 该理论已被驳斥	遗传谱系示踪研究证实心脏中存在c-kit ⁺ 心脏干细胞, 这类细胞无法分化为心肌, 但能分化为血管
间充质干细胞	骨髓、脂肪、脐带血等成体组织	表达间充质标志物如CD29, CD44, CD90, CD105等, 不表达造血系标志物如c-kit, CD34, CD45等	旁分泌效应	
多能干细胞	胚胎干细胞来源于囊胚内细胞团 诱导多能干细胞来源于成纤维细胞重编程	Nanog, Oct4, Sox2等	心肌分化 旁分泌效应	

尚缺乏证据表明其在体内有向内皮细胞谱系分化。然而, Sca-1⁺祖细胞可以通过向其导入基因ETV2在体外和体内分化为内皮细胞^[76]。在ETV2转导后, Sca-1⁺外膜细胞在mRNA和蛋白水平均显著增加了早期内皮细胞基因的表达, 包括 VE-cadherin, Flk1和Tie2。ETV2过表达也通过表观遗传方式(通过DNA修饰酶、10~11转位双加氧酶的表达下调介导)下调平滑肌细胞和间质细胞基因表达。将Sca-1⁺细胞移植于机械损伤后的股动脉外膜侧, 与未移植的对照动脉相比, 接受移植的股动脉血管内膜增生增加。相反地, 在接种ETV2转导后的Sca-1⁺细胞后, 动脉内膜增生则减少^[76]。因此, 对血管祖细胞进行基因调控是内皮损伤后改善血管功能的一个有前景的方法。此外, 采用类似于iPS细胞的基因操控技术, 将四个转录因子(OCT4, SOX2, KLF4及c-MYC)转入血管平滑肌或成纤维细胞中, 可使其去分化为祖细胞状态, 并可定向培养分化为内皮细胞, 具有内皮细胞的典型表面标记物及生理学功能^[62,77,78]。

5 展望

Anversa事件的代价是巨大的, 巨额的研究经费遭受浪费, 原本可以支持更有前景的心肌修复技术, 并且动摇了公众对心血管疾病的干细胞治疗的信心, 甚至

会给成千上万的心血管病患者带来潜在危害, 在虚假表象下接受风险不明的临床手术。但不可否认的是, 干细胞治疗心血管疾病自2000年至今已走过近19年, 积累了大量坚实的临床前动物研究数据, 证实干细胞移植能通过促进心梗局部血管新生, 保护心肌细胞存活等多重作用改善衰竭心脏的功能。与此同时, 大量的心血管病专家倾注心血, 积极推动干细胞治疗的临床转化。多个大样本、多中心随机对照临床试验也证实了干细胞移植的安全性及可行性, 尽管移植疗效有待加强。

为了更好地发展心血管疾病的干细胞治疗, 基础研究与临床转化应双管齐下, 一方面从寻找优势干细胞资源, 探讨最佳移植剂量及途径, 开展大样本、长周期的临床前大动物评价出发, 建立最佳细胞移植方案及规范化的安全性评价体系; 一方面应结合先进的生物学技术如遗传谱系示踪等, 研究移植细胞的命运转归, 探讨干细胞促进心脏功能恢复的潜在机制; 另一方面, 积极开发新一代促进心脏功能恢复的策略, 包括多能干细胞衍生细胞、结合组织工程的心肌补片、携带功能基因及非编码RNA的外泌体及心肌成纤维重编程为心肌细胞等。Anversa事件更应像一剂警醒, 鞭策心血管疾病干细胞治疗的从业者, 以更为严谨、求实的科学态度出发, 为造福晚期心力衰竭患者而努力。

参考文献

1 Towbin J A, Bowles N E. The failing heart. *Nature*, 2002, 415: 227–233
2 Wen Z, Zheng S, Zhou C, et al. Repair mechanisms of bone marrow mesenchymal stem cells in myocardial infarction. *J Cell Mol Med*, 2011, 15:

1032–1043

- 3 Beltrami A P, Barlucchi L, Torella D, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*, 2003, 114: 763–776
- 4 Bearzi C, Rota M, Hosoda T, et al. Human cardiac stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 14068–14073
- 5 Dawn B, Stein A B, Urbanek K, et al. Cardiac stem cells delivered intravascularly traverse the vessel barrier, regenerate infarcted myocardium, and improve cardiac function. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 3766–3771
- 6 Pouly J, Bruneval P, Mandet C, et al. Cardiac stem cells in the real world. *J Thoracic Cardiovascul Surg*, 2008, 135: 673–678
- 7 Senyo S E, Steinhauser M L, Pizzimenti C L, et al. Mammalian heart renewal by pre-existing cardiomyocytes. *Nature*, 2013, 493: 433–436
- 8 Kretzschmar K, Watt F M. Lineage tracing. *Cell*, 2012, 148: 33–45
- 9 van Berlo J H, Kanisicak O, Maillet M, et al. c-kit⁺ cells minimally contribute cardiomyocytes to the heart. *Nature*, 2014, 509: 337–341
- 10 Sultana N, Zhang L, Yan J, et al. Resident c-kit⁺ cells in the heart are not cardiac stem cells. *Nat Commun*, 2015, 6: 8701
- 11 Vagnozzi R J, Sargent M A, Lin S C J, et al. Genetic lineage tracing of Sca-1⁺ cells reveals endothelial but not myogenic contribution to the murine heart. *Circulation*, 2018, 138: 2931–2939
- 12 Neidig L E, Weinberger F, Palpant N J, et al. Evidence for minimal cardiogenic potential of stem cell antigen 1-positive cells in the adult mouse heart. *Circulation*, 2018, 138: 2960–2962
- 13 Liu Q, Yang R, Huang X, et al. Genetic lineage tracing identifies *in situ* kit-expressing cardiomyocytes. *Cell Res*, 2016, 26: 119–130
- 14 Li Y, He L, Huang X, et al. Genetic lineage tracing of nonmyocyte population by dual recombinases. *Circulation*, 2018, 138: 793–805
- 15 Liu Q, Huang X, Zhang H, et al. c-kit⁺ cells adopt vascular endothelial but not epithelial cell fates during lung maintenance and repair. *Nat Med*, 2015, 21: 866–868
- 16 Hu X, Wu R, Jiang Z, et al. Leptin signaling is required for augmented therapeutic properties of mesenchymal stem cells conferred by hypoxia preconditioning. *Stem Cells*, 2014, 32: 2702–2713
- 17 Xiao C, Wang K, Xu Y, et al. Transplanted mesenchymal stem cells reduce autophagic flux in infarcted hearts via the exosomal transfer of miR-125b. *Circ Res*, 2018, 123: 564–578
- 18 Zhu K, Wu Q, Ni C, et al. Lack of remuscularization following transplantation of human embryonic stem cell-derived cardiovascular progenitor cells in infarcted nonhuman primates. *Circ Res*, 2018, 122: 958–969
- 19 Hu X, Xu Y, Zhong Z, et al. A large-scale investigation of hypoxia-preconditioned allogeneic mesenchymal stem cells for myocardial repair in nonhuman primates. *Circ Res*, 2016, 118: 970–983
- 20 Sata M. Circulating vascular progenitor cells contribute to vascular repair, remodeling, and lesion formation. *Trends Cardiovascul Med*, 2003, 13: 249–253
- 21 Hu Y, Zhang Z, Torsney E, et al. Abundant progenitor cells in the adventitia contribute to atherosclerosis of vein grafts in ApoE-deficient mice. *J Clin Invest*, 2004, 113: 1258–1265
- 22 Zhang L, Issa Bhaloo S, Chen T, et al. Role of resident stem cells in vessel formation and arteriosclerosis. *Circ Res*, 2018, 122: 1608–1624
- 23 Hu Y, Davison F, Ludewig B, et al. Smooth muscle cells in transplant atherosclerotic lesions are originated from recipients, but not bone marrow progenitor cells. *Circulation*, 2002, 106: 1834–1839
- 24 Hu Y, Mayr M, Metzler B, et al. Both donor and recipient origins of smooth muscle cells in vein graft atherosclerotic lesions. *Circulat Res*, 2002, 91: 13
- 25 Hu Y, Davison F, Zhang Z, et al. Endothelial replacement and angiogenesis in arteriosclerotic lesions of allografts are contributed by circulating progenitor cells. *Circulation*, 2003, 108: 3122–3127
- 26 Thomson J A, Itskovitz-Eldor J, Shapiro S S, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 1998, 282: 1145–1147
- 27 Kehat I, Kenyagin-Karsenti D, Snir M, et al. Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. *J Clin Invest*, 2001, 108: 407–414
- 28 He J Q, Ma Y, Lee Y, et al. Human embryonic stem cells develop into multiple types of cardiac myocytes. *Circulat Res*, 2003, 93: 32–39
- 29 Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, 126: 663–676
- 30 Mummery C L, Zhang J, Ng E S, et al. Differentiation of human embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells to cardiomyocytes. *Circ Res*, 2012, 111: 344–358

- 31 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: 1128–1135
- 32 Toma C, Pittenger M F, Cahill K S, et al. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation*, 2002, 105: 93–98
- 33 Dai W, Hale S L, Martin B J, et al. Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in postinfarcted rat myocardium. *Circulation*, 2005, 112: 214–223
- 34 Mazhari R, Hare J M. Mechanisms of action of mesenchymal stem cells in cardiac repair: potential influences on the cardiac stem cell niche. *Nat Rev Cardiol*, 2007, 4: S21–S26
- 35 Gneocchi M, Zhang Z, Ni A, et al. Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy. *Circ Res*, 2008, 103: 1204–1219
- 36 Ménard C, Hagège A A, Agbulut O, et al. Transplantation of cardiac-committed mouse embryonic stem cells to infarcted sheep myocardium: A preclinical study. *Lancet*, 2005, 366: 1005–1012
- 37 Caspi O, Huber I, Kehat I, et al. Transplantation of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes improves myocardial performance in infarcted rat hearts. *J Am College Cardiol*, 2007, 50: 1884–1893
- 38 Tachibana A, Santoso M R, Mahmoudi M, et al. Paracrine effects of the pluripotent stem cell-derived cardiac myocytes salvage the injured myocardium. *Circ Res*, 2017, 121: e22
- 39 Chong J J H, Yang X, Don C W, et al. Human embryonic-stem-cell-derived cardiomyocytes regenerate non-human primate hearts. *Nature*, 2014, 510: 273–277
- 40 Liu Y W, Chen B, Yang X, et al. Human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes restore function in infarcted hearts of non-human primates. *Nat Biotechnol*, 2018, 36: 597–605
- 41 Sanganalath S K, Bolli R. Cell therapy for heart failure. *Circ Res*, 2013, 113: 810–834
- 42 Gneocchi M, He H, Liang O D, et al. Paracrine action accounts for marked protection of ischemic heart by Akt-modified mesenchymal stem cells. *Nat Med*, 2005, 11: 367–368
- 43 Gneocchi M, He H, Noiseux N, et al. Evidence supporting paracrine hypothesis for Akt-modified mesenchymal stem cell-mediated cardiac protection and functional improvement. *FASEB J*, 2006, 20: 661–669
- 44 Mayourian J, Ceholski D K, Gorski P A, et al. Exosomal microRNA-21-5p mediates mesenchymal stem cell paracrine effects on human cardiac tissue contractility. *Circ Res*, 2018, 122: 933–944
- 45 Yan W, Guo Y, Tao L, et al. C1q/tumor necrosis factor-related protein-9 regulates the fate of implanted mesenchymal stem cells and mobilizes their protective effects against ischemic heart injury via multiple novel signaling pathways. *Circulation*, 2017, 136: 2162–2177
- 46 Khan M, Nickoloff E, Abramova T, et al. Embryonic stem cell-derived exosomes promote endogenous repair mechanisms and enhance cardiac function following myocardial infarction. *Circ Res*, 2015, 117: 52–64
- 47 Wang Y, Zhang L, Li Y, et al. Exosomes/microvesicles from induced pluripotent stem cells deliver cardioprotective miRNAs and prevent cardiomyocyte apoptosis in the ischemic myocardium. *Int J Cardiol*, 2015, 192: 61–69
- 48 Yu B, Kim H W, Gong M, et al. Exosomes secreted from GATA-4 overexpressing mesenchymal stem cells serve as a reservoir of anti-apoptotic microRNAs for cardioprotection. *Int J Cardiol*, 2015, 182: 349–360
- 49 Gallet R, Dawkins J, Valle J, et al. Exosomes secreted by cardiosphere-derived cells reduce scarring, attenuate adverse remodelling, and improve function in acute and chronic porcine myocardial infarction. *Eur Heart J*, 2016, 379: ehv240
- 50 Foteinos G, Hu Y, Xiao Q, et al. Rapid endothelial turnover in atherosclerosis-prone areas coincides with stem cell repair in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*, 2008, 117: 1856–1863
- 51 Eelen G, de Zeeuw P, Treps L, et al. Endothelial cell metabolism. *Physiol Rev*, 2018, 98: 3–58
- 52 Zengin E, Chalajour F, Gehling U M, et al. Vascular wall resident progenitor cells: A source for postnatal vasculogenesis. *Development*, 2006, 133: 1543–1551
- 53 Campagnolo P, Cesselli D, Al Haj Zen A, et al. Human adult vena saphena contains perivascular progenitor cells endowed with clonogenic and proangiogenic potential. *Circulation*, 2010, 121: 1735–1745
- 54 Chen Q, Yang M, Wu H, et al. Genetic lineage tracing analysis of c-kit⁺ stem/progenitor cells revealed a contribution to vascular injury-induced neointimal lesions. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 121: 277–286
- 55 Tsai T N, Kirton J P, Campagnolo P, et al. Contribution of stem cells to neointimal formation of decellularized vessel grafts in a novel mouse

- model. *Am J Pathol*, 2012, 181: 362–373
- 56 Kramann R, Goettsch C, Wongboonsin J, et al. Adventitial MSC-like cells are progenitors of vascular smooth muscle cells and drive vascular calcification in chronic kidney disease. *Cell Stem Cell*, 2016, 19: 628–642
- 57 Kokkinopoulos I, Wong M M, Potter C M F, et al. Adventitial Sca-1⁺ progenitor cell gene sequencing reveals the mechanisms of cell migration in response to hyperlipidemia. *Stem Cell Rep*, 2017, 9: 681–696
- 58 Xie Y, Potter C M F, Le Bras A, et al. Leptin induces Sca-1⁺ progenitor cell migration enhancing neointimal lesions in vessel-injury mouse models. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37: 2114–2127
- 59 Xiao Q, Zeng L, Zhang Z, et al. Stem cell-derived Sca-1⁺ progenitors differentiate into smooth muscle cells, which is mediated by collagen IV-integrin $\alpha_1/\beta_1/\alpha_v$ and PDGF receptor pathways. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007, 292: C342–C352
- 60 Kawano Y, Kypta R. Secreted antagonists of the Wnt signalling pathway. *J Cell Sci*, 2003, 116: 2627–2634
- 61 Cruciat C M, Niehrs C. Secreted and transmembrane Wnt inhibitors and activators. *Cold Spring Harbor Perspect Biol*, 2013, 5: a015081
- 62 Karamariti E, Margariti A, Winkler B, et al. Smooth muscle cells differentiated from reprogrammed embryonic lung fibroblasts through DKK3 signaling are potent for tissue engineering of vascular grafts. *Circ Res*, 2013, 112: 1433–1443
- 63 Wang X, Karamariti E, Simpson R, et al. Dickkopf homolog 3 induces stem cell differentiation into smooth muscle lineage via ATF6 signalling. *J Biol Chem*, 2015, 290: 19844–19852
- 64 Yu B, Kiechl S, Qi D, et al. A cytokine-like protein dickkopf-related protein 3 is atheroprotective. *Circulation*, 2017, 136: 1022–1036
- 65 Karamariti E, Zhai C, Yu B, et al. DKK3 (Dickkopf 3) alters atherosclerotic plaque phenotype involving vascular progenitor and fibroblast differentiation into smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38: 425–437
- 66 Chen T, Karamariti E, Hong X, et al. DKK3 (Dkkopf-3) transdifferentiates fibroblasts into functional endothelial cells—Brief report. *ATVB*, 2019, 39: 765–773
- 67 Nguyen P K, Rhee J W, Wu J C. Adult stem cell therapy and heart failure, 2000 to 2016. *JAMA Cardiol*, 2016, 1: 831
- 68 Lalu M M, Mazzarello S, Zlepniĳ J, et al. Safety and efficacy of adult stem cell therapy for acute myocardial infarction and ischemic heart failure (SafeCell Heart): A systematic review and meta-analysis. *STEM Cells Translat Med*, 2018, 7: 857–866
- 69 Hare J M, Fishman J E, Gerstenblith G, et al. Comparison of allogeneic vs. autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells delivered by transendocardial injection in patients with ischemic cardiomyopathy. *JAMA*, 2012, 308: 2369–2379
- 70 Heldman A W, DiFede D L, Fishman J E, et al. Transendocardial mesenchymal stem cells and mononuclear bone marrow cells for ischemic cardiomyopathy. *JAMA*, 2014, 311: 62–73
- 71 Menasché P, Vanneau V, Fabreguettes J R, et al. Towards a clinical use of human embryonic stem cell-derived cardiac progenitors: A translational experience. *Eur Heart J*, 2015, 36: 743–750
- 72 Menasché P, Vanneau V, Hagège A, et al. Human embryonic stem cell-derived cardiac progenitors for severe heart failure treatment: First clinical case report. *Eur Heart J*, 2015, 36: 2011–2017
- 73 Yap L, Wang J W, Moreno-Moral A, et al. *In vivo* generation of post-infarct human cardiac muscle by laminin-promoted cardiovascular progenitors. *Cell Rep*, 2019, 26: 3231–3245
- 74 Shiba Y, Gomibuchi T, Seto T, et al. Allogeneic transplantation of iPS cell-derived cardiomyocytes regenerates primate hearts. *Nature*, 2016, 538: 388–391
- 75 Toledo-Flores D, Schwarz N, Di Bartolo B, et al. Murine adventitial Sca-1⁺CD45⁺ progenitor cells are proangiogenic and give rise to vasa vasorum in atherosclerosis. *Heart Lung Circul*, 2016, 25: S17
- 76 Le Bras A, Yu B, Issa Bhaloo S, et al. Adventitial Sca1⁺ cells transduced with ETV2 are committed to the endothelial fate and improve vascular remodeling after injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38: 232–244
- 77 Margariti A, Winkler B, Karamariti E, et al. Direct reprogramming of fibroblasts into endothelial cells capable of angiogenesis and reendothelialization in tissue-engineered vessels. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 13793–13798
- 78 Hong X, Margariti A, Le Bras A, et al. Transdifferentiated human vascular smooth muscle cells are a new potential cell source for endothelial regeneration. *Sci Rep*, 2017, 7: 5590

Current status and prospects of cardiovascular stem/progenitor cells in cardiovascular regenerative medicine

JIANG LiuJun & XU QingBo

Department of Heart and Vascular Center, School of Medicine, First Affiliated Hospital of Zhejiang University, Hangzhou 310003, China

The retraction of more than 30 falsified studies by Anversa et al. from Harvard University has a frustrating impact on cardiovascular stem cell research. The theory of regenerating myocardium by differentiation of bone marrow cells or adult heart resident stem/progenitor cells has been denied while countless researchers have spent a lot of energy and financial resources on this seemingly “no income” research in the past 20 years. But the achievements of stem/progenitor cells in cardiovascular research are abundant, and should not be denied because of Anversa et al. This article reviews the controversy in the “Anversa events”, summarizes the current research progress of cardiac and vascular stem/progenitor cells, and prospects for future research directions.

adult stem cells, embryonic stem cells, stem cell transplantation, tissue engineering, regeneration

doi: [10.1360/SSV-2019-0066](https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2019-0066)