

碱性成纤维生长因子对脂肪干细胞分化为心肌细胞的影响

覃杰^{1*}, 闫翠², 陈极锋³, 李丹¹, 胡晓俊¹, 单鸿¹

(1.中山大学附属第三医院放射科,广东广州 510630;2.广州中医药大学附属第三医院心内科,广东广州 510405;3.中山大学医学院,广东广州 510800)

摘要:【目的】探讨碱性成纤维生长因子(bFGF)对脂肪干细胞(ADSC)分化为心肌细胞的影响。【方法】从 SD 大鼠中提取、分离、培养、鉴定 ADSC 后,评价 ADSC 分化能力。将成功建立心肌梗死(MI)模型的 60 只大鼠随机分 4 组($n = 15$ /组):PBS 组、bFGF 组、ADSC 组及 bFGF+ADSC 组。建立心梗 1 周后分别注射 PBS、bFGF、ADSC 及 bFGF+ADSC,4 周后用心脏超声测量心梗大鼠的左室射血分数(EF),取大鼠心脏检测左室梗死面积、微血管密度(MVD)及 ADSC 分化。【结果】成功分离 ADSC,流式细胞分析显示大多数 ADSC 表达 CD29 和 CD90,不表达 CD34 和 CD45。ADSC 能被诱导分化成脂肪、成骨细胞。bFGF+ADSC 组及 ADSC 组的 EF 高于 PBS 组和 bFGF 组($P < 0.01$),bFGF+ADSC 组的 EF 高于 ADSC 组($P < 0.01$),PBS 组和 bFGF 组的 EF 差别无统计学意义($P = 0.33$)。bFGF+ADSC 组及 ADSC 组的梗死面积小于 PBS 组和 bFGF 组($P < 0.01$),bFGF+ADSC 组的梗死面积小于 ADSC 组($P < 0.01$),PBS 组和 bFGF 组的梗死面积差别无统计学意义($P = 0.28$)。四组中 bFGF+ADSC 组的 MVD 最大($P < 0.01$)。ADSC 可分化为 cTnT 阳性细胞、SMA 阳性细胞及 fVIII 阳性细胞。【结论】bFGF 可促进 ADSC 分化成心肌细胞和新生血管,改善心脏功能。

关键词:心肌梗死;脂肪干细胞;碱性成纤维生长因子

中图分类号:R329 文献标志码:A 文章编号:1672-3554(2015)03-0346-06

Influence of Basic Fibroblast Growth Factor on Differentiation of Adipose Derived Stem Cells into Cardiomyocytes

QIN Jie^{1*}, YAN Cui², CHEN Ji-feng³, LI Dan¹, HU Xiao-jun¹, SHAN Hong¹

(1.Department of Radiology, The Third Affiliated Hospital of SUN Yat-sen University, Guangzhou 510630, China; 2.Department of Cardiology, The Third Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510240, China; 3.Zhongzhou School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou, 510080, China)

Corresponding to: QIN Jie, E-mail:jason020@163.com

Abstract: 【Objective】 To study the influence of basic fibroblast growth factor (bFGF) on differentiation of adipose derived stem cells (ADSC) into cardiomyocytes. 【Methods】 ADSC isolated from SD rats were cultured and characterized, then the differentiation of ADSC was verified. 60 rats with myocardial infarction (MI) were randomized into 4 groups (group PBS, group bFGF, group ADSC, and group bFGF+ADSC, ($n = 15$ /group)). PBS, bFGF, ADSC, and bFGF+ADSC were injected along peri-infarct zone at four injected foci respectively. Ejection fraction (EF), infarcted area, microvessel density (MVD) and ADSC differentiation were evaluated. 【Results】 ADSC were successfully isolated and most ADSC showed positive CD90, CD29 and negative CD45, CD34 by fluorescence-activated cell sorting (FACS). ADSC could be differentiated into adipogenic and osteogenic cells. Injections of ADSC or bFGF+ADSC significantly increased EF compared with PBS or bFGF, with implantation of bFGF+ADSC highest ($P < 0.01$). The infarcted area was significantly reduced by the injection of bFGF+ADSC compared with the injections of PBS, or bFGF, or ADSCs ($P < 0.01$). There was no difference in infarcted area between group PBS and group bFGF ($P = 0.28$). Injections of bFGF+ADSC significantly increased MVD compared with PBS, bFGF, or ADSC, with implantation of bFGF+ADSC highest ($P < 0.01$). ADSC could differentiate into cTnT positive cells or SMA positive and fVIII positive cells. 【Conclusion】 bFGF was able to improve heart function by promoting the differentiation of ADSC into cardiomyocytes and angiogenesis.

Key words: myocardial infarction; adipose derived stem cell; basic fibroblast growth factor

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2015, 36(3):346-351]

收稿日期:2014-12-01

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金(81101096);广东省医学科研基金(B2011102)

作者简介:* 通信作者:覃杰,副教授,硕士生导师, E-mail:jason020@163.com

骨髓间充质干细胞、脐带血干细胞及心脏干细胞等已应用于治疗动物心肌梗死,结果显示心功能得到了不同程度的改善。但这些干细胞存在伦理、细胞来源有限及细胞免疫排斥等问题,阻碍了其广泛应用于心肌梗死的治疗^[1-3]。Yeh等^[3]报道脂肪干细胞(adipose derived stem cells, ADSC)可向多种细胞分化,并能分泌多种细胞因子。李博等^[4]报道ADSC能有效改善梗死后的心功能。与骨髓间充质干细胞、脐带血干细胞和心脏干细胞等相比,ADSC具有以下优势:来源广泛;容易取材,损伤较小;自体移植,无免疫排斥;体外增殖速度快^[3-4]。因此,使用ADSC移植可克服伦理、干细胞来源有限及异体干细胞免疫排斥等问题^[3-4]。但单纯使用ADSC移植治疗心肌梗死,效果欠佳^[2-4]。Zhang等^[5]报道碱性成纤维生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)可促进内皮细胞和平滑肌细胞增殖,增加新生血管,提高局部血流量。Yao等^[6]报道bFGF可提高梗死区域血管密度,减少梗死面积。少有文献报道bFGF对ADSC分化为心肌细胞的影响。为此,本研究使用bFGF及ADSC移植治疗心肌梗死,探讨bFGF对ADSC分化为心肌细胞的影响。

1 材料与方 法

1.1 ADSC的分离培养及标记

取大鼠腹股沟脂肪组织,以磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)冲洗碎片及血细胞。在37℃下用0.1 g/L I型胶原酶(Sigma)消化脂肪组织后离心、过滤、重悬,接种至培养皿培养,3 d后换液,弃除未贴壁细胞,每隔3 d换液,贴壁细胞长至90%时,使用胰酶消化传代。将携带融合荧光素酶和红色荧光蛋白(Flu-mRFP)报告基因的慢病毒感染第三代ADSC,使用流式细胞分选术获得稳定表达报告基因的ADSC细胞。经过验证证实报告基因不影响ADSC的细胞活性、增殖及多向分化能力,并且细胞数量和报告基因信号之间存在线性关系。

1.2 流式细胞分析

使用PE标记的抗大鼠CD29(Biolegend)、FITC标记的CD90(Biolegend)、FITC标记的CD45(Biolegend)以及PE标记的CD34(Santa Cruz)抗体进行流式细胞分析。4℃恒温避光孵育30 min后,PBS冲洗2次,离心弃上清液。用10 g/L多聚

甲醛(PFA)溶液固定,设同型对照,4 h内完成流式细胞仪(FACS)检测。

1.3 ADSC的分化潜能鉴定

成脂诱导:1.0 × 10⁵细胞/孔的密度接种于6孔培养板,待细胞密度大于90%后,加入含100 mL/L胎牛血清、1 μmol/L地塞米松、5 μg/mL胰岛素的H-DMEM成脂诱导液,于37℃、体积分数为5% CO₂恒温培养箱中继续培养,每3 d更换新鲜诱导液。诱导分化20 d后弃成脂诱导液,PBS洗3次×3 min,1 g/L中性甲醛室温固定1h,PBS清洗后加入油红O染色1h,蒸馏水冲洗,在显微镜(×400)下观察细胞内脂滴的形成情况。成骨诱导:以1.0 × 10⁵细胞/孔的密度接种于6孔培养板中。当细胞长至80%融合时,将培养基更换为含100 mL/L胎牛血清、1 μmol/L地塞米松、50 μg/mL维生素C、10 mmol/L β-磷酸甘油钠的成骨诱导液,于37℃、体积分数为5% CO₂恒温培养箱中继续培养,每隔3 d更换新鲜诱导液。诱导分化第14天吸去成骨诱导液,室温下用1 g/L中性甲醛固定30 min,PBS清洗后加入茜素红(pH=4)滴染3~5 min,在显微镜(×400)下观察成骨情况。

1.4 心肌梗死模型构建与细胞移植

65只SD大鼠由中山大学实验动物中心提供。本研究经中山大学附属第三医院伦理委员会批准。用戊巴比妥钠麻醉大鼠后,使用容量可调的动物呼吸机辅助呼吸。打开胸廓后,剪开心包,用6-0聚丙稀缝线在距起源2~3 mm的位置结扎左冠状动脉前降支(LAD)。结扎成功时LAD供血部位(左室前壁)立即变白,搏动减弱,心电图示ST-T段弓背抬高。心肌梗死(myocardial infarction, MI)造模1周后,死亡5只,将剩余60只大鼠随机分成4组(PBS组、bFGF组、ADSC组和bFGF+ADSC组),每组15只。心梗模型建立一周后,将大鼠麻醉、插管并机械通气。切开暴露心脏,在心梗边缘区选择四个注射位点(左心房下方、左心室中部近室间隔处、左心室中部游离壁和心尖部位)。使用30 μm注射针将预先准备好的100 μL PBS、含有100 μg bFGF的100 μL PBS悬液、含有5 × 10⁶ ADSC的100 μL PBS悬液及含有100 μg bFGF及5 × 10⁶ ADSC的100 μL PBS悬液分别注射于PBS组、bFGF组、ADSC组及bFGF+ADSC4组的大鼠。选择合适角度,以避免注射入左心室腔内,心肌颜色轻微变浅表明溶液进入了梗死心室壁。

1.5 左室射血分数检测

在移植后第 4 周,使用西门子 SEQUOIA 512 彩超仪(14.0 MHz, Acuson, Germany)检测左室射血分数(ejection fraction, EF)。麻醉大鼠后置于左侧卧位,在乳头肌水平记录二维超声和 M 型超声数据。M 型超声可以记录左室舒张末期的直径(LVEDD)和左室收缩末期的直径(LVESD)。左室射血分数计算如下: $EF\% = [LVEDD3 - LVESD3] / LVEDD3 \times 100$ 。采用 3 ~ 6 个心动周期所测量的数据,取其均值。

1.6 ADSC 移植后生物发光成像

在细胞移植后第 1、3、7、14 和 28 天,用 Xenogen 体外成像系统对 ADSC 组和 bFGF+ADSC 组 30 只大鼠进行生物发光成像(bioluminescence imaging, BLI)。将麻醉后的大鼠放入成像室中,向大鼠腹膜内注射报告探针 D-荧光素(400 mg/kg)后,间隔 2 min 观察峰信号。多角度测量心前区感兴趣区 BLI 信号。

1.7 心脏组织学检测

心脏超声检查后处死动物,迅速取出心脏并冻存于新鲜的 OCT 冰冻培养基中或者固定于多聚甲醛溶液,用于制备冰冻或者石蜡切片。标本在 Masson's trichrome 染色后,利用 RS Image Pro 图像分析软件(version 4.5; USA)测量心梗大小,每个标本取 5 个心梗部位的切面,取平均值。梗死面积计算:心梗区域的左室心内膜长度/左室完整心内膜周长 $\times 100\%$ 。

1.8 免疫荧光与免疫组织化学染色

组织切片以抗心肌肌钙蛋白 T(Cardiac troponin T, cTnT, Santa Cruz)、抗平滑肌肌动蛋白(smooth muscle actin, SMA, 美国 Sigma)、抗 fVIII (factor VIII, 丹麦 Dako)进行免疫染色。免疫组化染色采用 DAB 显色法。在 fVIII 染色的切片上测量梗死区微血管密度(microvessel density, MVD):先在 100 倍镜下识别梗死区,后在 200 倍下计数血管的数量。每一标本取 5 个代表性切片,每一切片在光学显微镜下计数 5 个代表性视野,取平均值。

1.9 统计学分析

采用 SPSS 20.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。4 组大鼠的性别比率采用 χ^2 检验,若总体率有差别则采用 Bonferroni 方法进行组间比较。4 组大鼠的体质量、EF 及 BLI 信号等均数的组间比较采用方差分析,若总体均数不全相

同则用 LSD 检验进行两两比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 4 组大鼠的基本情况

65 只大鼠 MI 造模后死亡 5 只,剩余 60 只随机平分到 PBS 组、bFGF 组、ADSC 组和 bFGF+ADSC 组,每组 15 只。4 组大鼠的总体性别比率差异无统计学意义($P=0.23$),总体体质量均数差异无统计学意义($P=0.17$;表 1)。

表 1 大鼠的基本情况

Groups	Male	Mass/g
PBS	9	261.24 \pm 17.28
bFGF	8	249.46 \pm 19.46
ADSC	8	253.42 \pm 21.12
bFGF+ADSC	7	258.22 \pm 22.68

2.2 ADSC 特征及诱导

成功分离 ADSC(图 1A)。流式细胞分析结果显示大多 ADSC 表达 CD29 和 CD90,不表达 CD34 和 CD45。成脂诱导分化 20 d 后,油红 O 染色结果见成簇脂肪滴形成(图 1B)。成骨诱导分化 14 d 后,茜素红染色结果见大量骨组织(图 1C)。

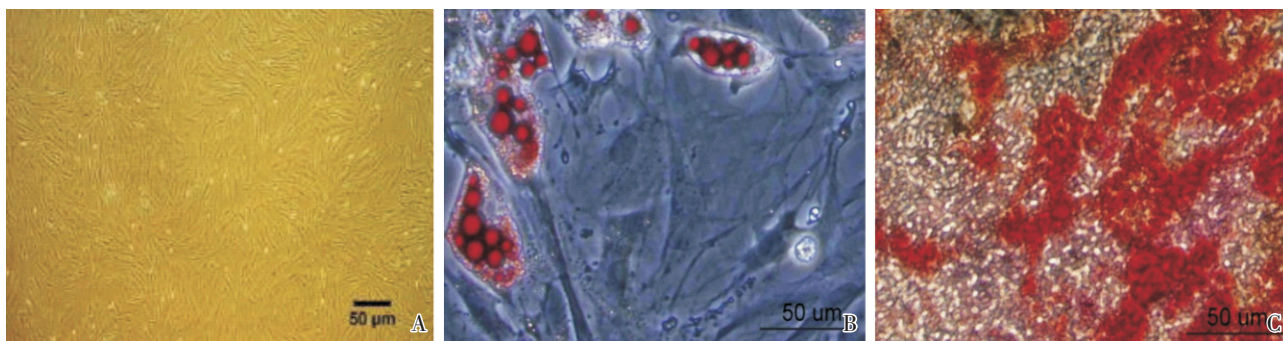
2.3 EF 检测

在移植后第 4 周,四组 EF 比较有差异($P < 0.01$)。其中,bFGF+ADSC 组及 ADSC 组的 EF 高于 PBS 组和 bFGF 组($P < 0.01$),bFGF+ADSC 组的 EF 高于 ADSC 组($P < 0.01$),PBS 组和 bFGF 组的 EF 差别无统计学意义($P = 0.33$;图 2A-E)。

2.4 ADSC 移植后 BLI

bFGF+ADSC 组和 ADSC 组的信号($\times 10^6 \text{ P} \cdot \text{S}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{Sr}^{-1}$)分别为:第 1 天(2.78 \pm 0.32、2.47 \pm 0.52, $P < 0.05$),第 7 天(1.24 \pm 0.22、0.45 \pm 0.35 $P < 0.05$),第 14 天(1.14 \pm 0.12、0.21 \pm 0.04, $P < 0.05$),第 28 天 bFGF+ADSC 组信号值为 4.1 \pm 0.32 $\times 10^5$,ADSC 组的信号几乎无法检测到。第 7、14、28 天 bFGF+ADSC 组的信号值高于 ADSC 组($P < 0.05$,图 3A,B)。结果表明随着时间的延长,两组的 ADSC 都流失或死亡,但 bFGF+ADSC 组的存活 ADSC 较多,提示 bFGF 可提高 ADSC 的存活率。

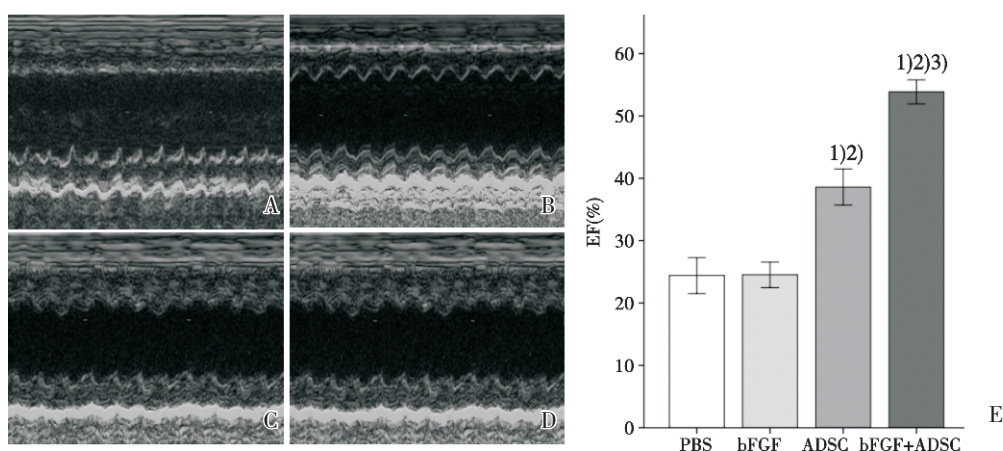
2.5 梗死面积



A: Normal appearance of ADSC. B: Oil red staining of the lipid deposition in isolated ADSC cultured in adipogenic medium. C: Alizarin red staining of the calcium nodules (red) in isolated ADSC cultured in osteogenic medium. Scale bars = 50 μm .

图1 ADSC的多向诱导分化

Fig.1 Differentiation potential of ADSC into osteocytes and adipocytes



A:FBP, B:bFGF, C:ADSC, D:bFGF+ADSC; Representative M-mode echocardiograms in each group at day 28 after myocardial infarction. Qualitative echocardiographic study showed that Group bFGF+ADSC had less LV structural and functional changes, typically manifested by less regional wall thinning, segmental wall motion abnormality and global LV dilatation as compared to other three groups. E. Quantitative analysis of EF. Statistical differences ($F = 146.45$, $P < 0.05$) are indicated from PBS¹⁾, bFGF²⁾, and ADSC³⁾.

图2 超声评估心功能

Fig.2 Echocardiographic assessment of cardiac function

移植4周后,四组大鼠心肌梗死面积比较有差异($P < 0.01$)。其中,bFGF+ADSC组及ADSC组的梗死面积小于PBS组和bFGF组($P < 0.01$),bFGF+ADSC组的梗死面积小于ADSC组($P < 0.01$),PBS组和bFGF组的梗死面积差别无统计学意义($P = 0.28$)(图4 A-E)。

2.6 ADSC分化

移植4周后,共聚焦激光显微镜显示mRFP阳性细胞在梗死组织中表现为cTnT阳性、fVIII阳性和SMA阳性细胞(图5,见封二)。

2.7 梗死部位MVD

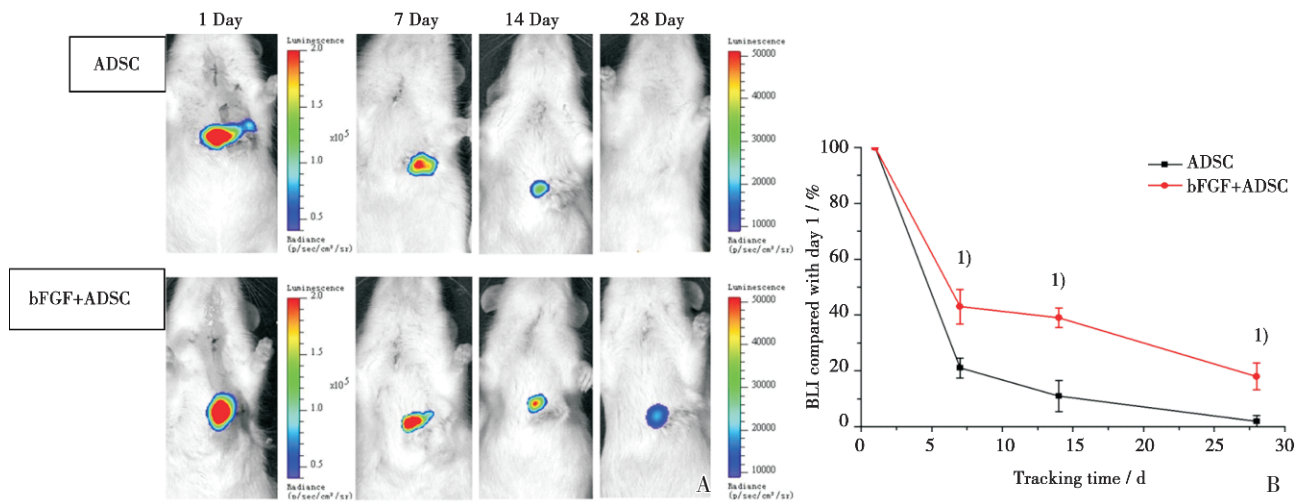
四组MVD比较有差异($P < 0.01$)。其中,Ⅷ因子免疫组化染色结果显示新生毛细血管密度由大到小依次为bFGF+ADSC组 235.26 ± 24.12 、ADSC

组 176.28 ± 20.22 、bFGF组 118.60 ± 21.46 及PBS组 64.58 ± 18.88 。各组间新生血管密度差别有统计学意义($P < 0.01$;图6,见封二)。

3 讨论

本研究结果显示大鼠ADSC可成功诱导为脂肪细胞、成骨细胞,说明ADSC具有多项分化潜力,与文献报道一致^[3-4]。因此,本研究采用ADSC可解决伦理、干细胞来源有限及异体干细胞免疫排斥等问题。

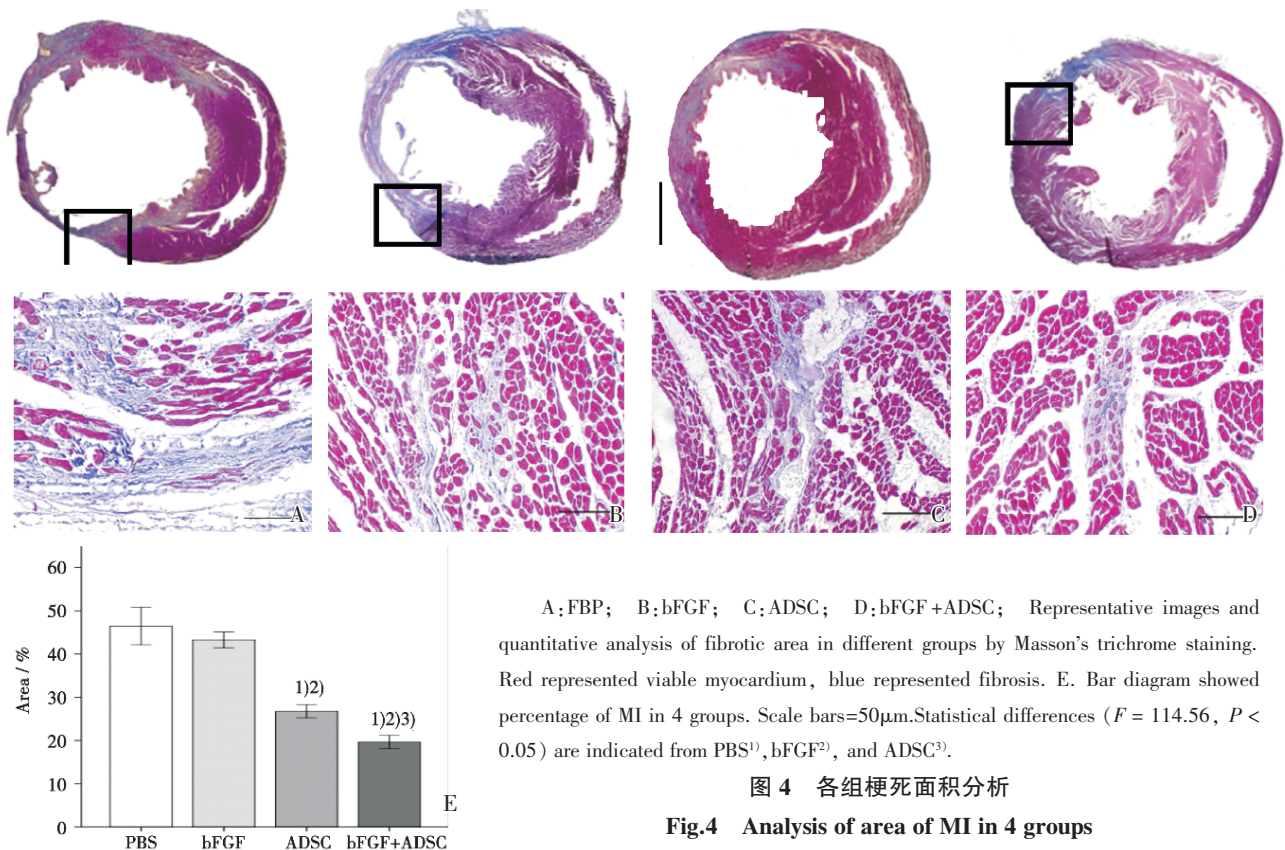
虽然早期动物实验显示干细胞治疗可提高左心功能,但近期Naumova等^[7]在动物实验中发现胚胎干细胞移植后左室射血分数略有增加的主要



A: Representative images of in vivo BLI at days 1, 7, 14, and 28. The BLI signal decreased gradually from day 1 to day 28 after cells injection in both groups. But the signals in group bFGF+ADSC were significantly higher than those in group ADSC. B: Quantitative analysis of serial BLI signal showed a moderate signal was still observed in group bFGF+ADSC at day 28 after transplantation. 1) $P < 0.05$

图 3 ADSC 移植后存活情况

Fig.3 Survival and engraftment of transplanted ADSC



A:FBP; B:bFGF; C:ADSC; D:bFGF+ADSC; Representative images and quantitative analysis of fibrotic area in different groups by Masson's trichrome staining. Red represented viable myocardium, blue represented fibrosis. E. Bar diagram showed percentage of MI in 4 groups. Scale bars=50 μ m. Statistical differences ($F = 114.56, P < 0.05$) are indicated from PBS¹⁾, bFGF²⁾, and ADSC³⁾.

图 4 各组梗死面积分析

Fig.4 Analysis of area of MI in 4 groups

原因是旁分泌作用，而不是干细胞分化为心肌细胞，因为只有少于 0.5%的胚胎干细胞分化为心肌细胞。我们前期动物实验结果亦显示骨髓间充质干细胞未能明显提高左心室射血分数，干细胞在 7 d 内大量死亡。REPAIR-AMI 及 BOOST 试验等

大型随机对照实验显示在短期及 12-18 个月随访中干细胞移植均未能明显改善心功能、减少梗死面积和瘢痕组织重塑^[8-9]。

干细胞治疗心肌梗死疗效低于预期的常见原因有宿主炎症反应、机械损伤、适应不良、缺血或

缺血再灌注损伤、细胞凋亡等^[8-10]。Yao等^[6]报道bFGF可提高梗死区域血管密度,减少心肌梗面积。在4组大鼠基本条件一致的基础上,本研究发现bFGF+ADSC组及ADSC组的EF高于PBS组和bFGF组,bFGF+ADSC组的EF高于ADSC组,PBS组和bFGF组的EF差别无统计学意义。此结果说明bFGF能促进ADSC改善心功能,而单纯bFGF并未能改善心脏功能。此外,bFGF+ADSC组及ADSC组的梗死面积小于PBS组和bFGF组,bFGF+ADSC组的梗死面积小于ADSC组,PBS组和bFGF组的梗死面积差别无统计学意义,提示bFGF能促进ADSC缩小梗死面积,改善心功能。

为了揭示bFGF对ADSC分化为心肌细胞的影响,我们在ADSC移植4周后取大鼠心脏做免疫组织荧光染色及fⅧ免疫组化染色。免疫荧光染色显示在注射部位出现mRFP阳性且cTnT阳性、SMA阳性和fⅧ阳性细胞,表明ADSC具有分化为心肌细胞、内皮细胞以及血管平滑肌细胞的多向分化能力。fⅧ免疫组化染色结果显示,毛细血管密度由大到小依次为bFGF+ADSC组、ADSC组、bFGF组及PBS组,各组间新生血管密度差别有统计学意义。BLI结果显示bFGF+ADSC组的信号随时间衰减慢于ADSC组,表明bFGF+ADSC组的存活ADSC较多,提示bFGF可提高ADSC的存活率。因此,fⅧ因子免疫组化染色及BLI结果说明bFGF能促进ADSC分化为新生毛细血管,提高心梗部位的供血及移植细胞存活率,促进心梗愈合,缩小梗死面积,提高心功能。但有文献报道bFGF易诱导干细胞向纤维细胞分化,且诱导分化为纤维细胞的比例远高于心肌细胞^[5]。目前干细胞研究领域尚未能解决该问题,因此bFGF用量应适当。

本研究尚存一些不足。首先,本研究未设置假手术组,因此未能判断bFGF及ADSC联合移植疗效能否达到无心梗大鼠心功能水平。其次,本研究随访观察时间较短,未能远期示踪ADSC及评估心功能。最后,本研究使用大鼠心梗模型,有别于人的心肌梗死,将来应使用大型动物心梗模型。

(本文图5~6见封二)

参考文献

[1] Zhou B, Ma Q, Rajagopal S, et al. Epicardial progenitors contribute to the cardiomyocyte lineage in the developing heart[J]. *Nature*, 2008, 454(7200): 109-113.

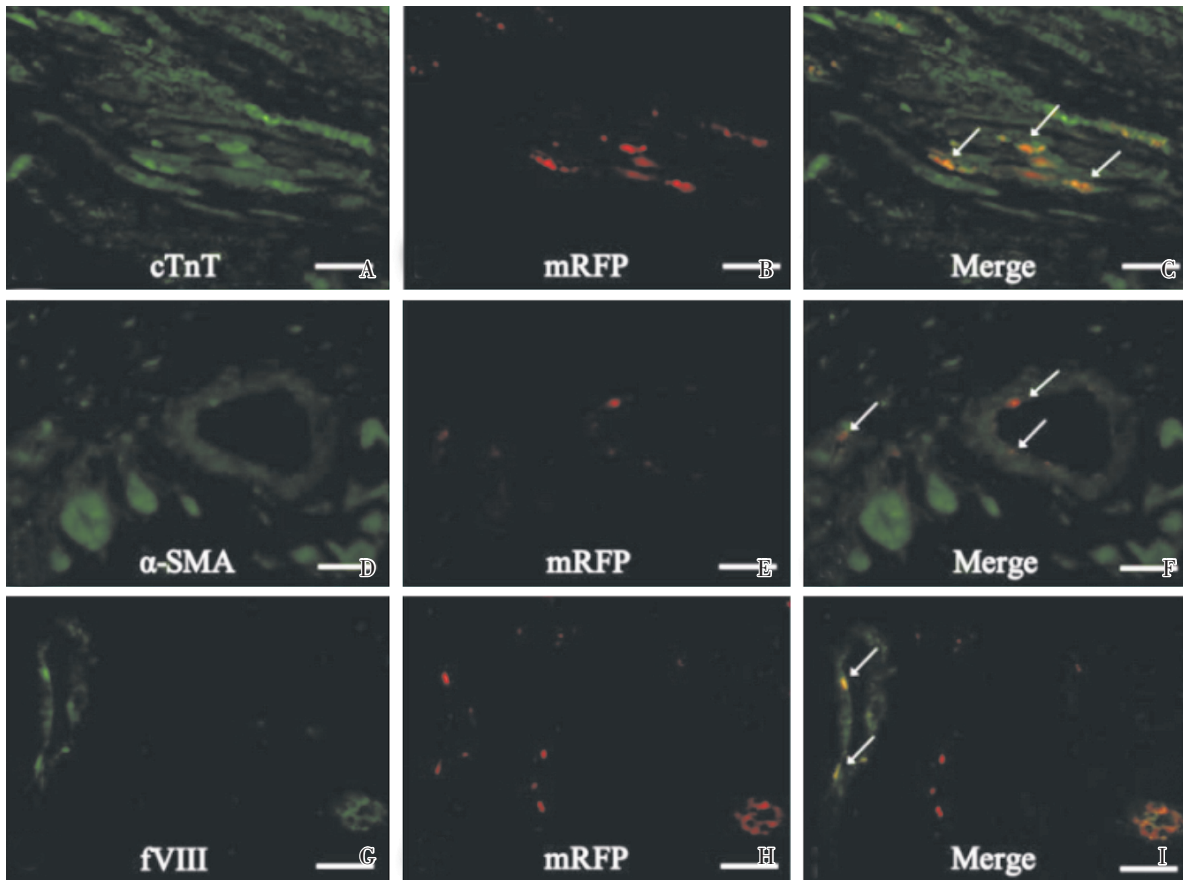
- [2] Chen XQ, Chen LL, Fan L, et al. Stem cells with FGF4-bFGF fused gene enhances the expression of bFGF and improves myocardial repair in rats[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 447(1): 145-151.
- [3] Yeh TS, Fang YH, Lu CH, et al. Baculovirus-transduced, VEGF-expressing adipose-derived stem cell sheet for the treatment of myocardium infarction[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(1): 174-184.
- [4] 李博, 陈庆良, 陈晓波, 等. XIAP修饰的脂肪间充质干细胞在心肌梗死治疗中的作用[J]. *中华胸心血管外科杂志*, 2013, 29(2): 91-95.
- Li Bo, Chen QL, Chen XB, et al. XIAP modified adipose-derived stem cells improve cardiac function following myocardial infarction [J]. *Chin J Thorac Cardiovasc Surg*, 2013, 29(2): 91-95.
- [5] Zhang YH, Zhang GW, Gu TX, et al. Exogenous basic fibroblast growth factor promotes cardiac stem cell-mediated myocardial regeneration after miniswine acute myocardial infarction[J]. *Coron Artery Dis*, 2011, 22(4): 279-285.
- [6] Yao HC, Liu T, Meng XY, et al. Effect of basic fibroblast growth factor on the myocardial expression of hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor following acute myocardial infarction [J]. *Heart Lung Circ*, 2013, 22(11): 946-951.
- [7] Naumova AV, Reinecke H, Yarnykh V, et al. Ferritin overexpression for noninvasive magnetic resonance imaging-based tracking of stem cells transplanted into the heart[J]. *Mol Imaging*, 2010, 9(4): 201-210.
- [8] Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, et al. Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: eighteen months follow-up data from the randomized, controlled BOOST(bone marrow transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) trial [J]. *Circulation*, 2006, 113(10): 1287-1294.
- [9] Lunde K, Solheim S, Aakhus S, et al. Autologous stem cell transplantation in acute myocardial infarction: The ASTAMI randomized controlled trial. Intracoronary transplantation of autologous mononuclear bone marrow cells, study design and safety aspects [J]. *Scand Cardiovasc J*, 2005, 39(3): 150-158.
- [10] Valina C, Pinkernell K, Song YH, et al. Intracoronary administration of autologous adipose tissue-derived stem cells improves left ventricular function, perfusion, and remodeling after acute myocardial infarction [J]. *Eur Heart J*, 2007, 28(21): 2667-2677.

(编辑 孙慧兰)

碱性成纤维生长因子对脂肪干细胞分化为心肌细胞的影响

覃 杰等

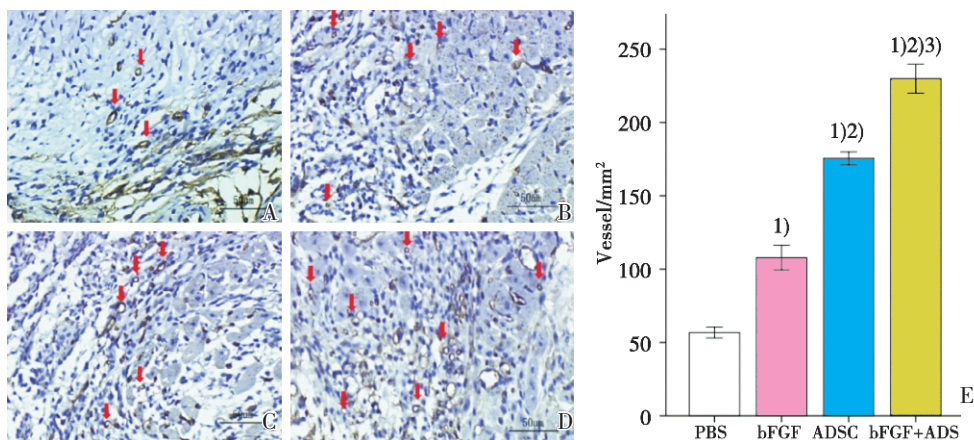
(正文见第 346 页)



Confocal laser microscopic images showed positive mRFP, cTnT, fVIII and SMA cells. Scale bars = 50 μ m.

图 5 ADSC 分化为心肌细胞及内皮细胞的共聚焦显微镜图

Fig.5 Confocal laser microscopic images of differentiation of ADSC into cardiomyocytes and endothelial cells



A:FBP, B:bFGF, C:ADSC, D;bFGF+ADSC. The MVD was evaluated with immunohistochemistry. E. Data showed transplantation of bFGF+ADSC promoted angiogenesis. Scale bars = 50 μ m. Statistical differences ($F = 519.20$, $P < 0.05$) are indicated from PBS¹⁾, bFGF²⁾, and ADSC³⁾.

图 6 各组的新生血管密度比较

Fig.6 Comparison of myocardial microvascular density (MVD)