

· 短篇 ·

[文章编号]1000-8861(2015)01-0090-03; [DOI]10.13431/j.cnki.immunol.j.20150020

人脐带间充质干细胞移植治疗强直性脊柱炎

王亚莉*, 齐江彤, 崔玉华, 张 青, 曾忠友, 刘厚奇

[摘 要] 目的 观察人脐带间充质干细胞移植治疗强直性脊柱炎的疗效。方法 采用人脐带间充质干细胞治疗强直性脊柱炎病人 10 例, 对干细胞移植治疗的患者分别在移植治疗前后的临床症状评分和化验检查进行监测。结果 干细胞移植治疗后患者的 BASDAI、夜间疼痛 VAS 和 BASFI 较治疗前均有明显下降; 干细胞移植治疗后患者的血沉和免疫球蛋白 G 较治疗前有明显下降。结论 脐带间充质干细胞移植治疗强直性脊柱炎安全有效。

[关键词] 强直性脊柱炎; 脐带间充质干细胞; 疾病活动指数; 夜间疼痛; 综合功能评分

[中图分类号] R392.4

[文献标识码] B

Human umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of ankylosing spondylitis

WANG Yali¹, QI Jiangtong¹, CUI Yuhua¹, ZHANG Qing¹, ZENG Zhongyou¹, LIU Houqi²

1. Cell Therapy Center, Zhejiang Armed Police Hospital, Jiaxing 314000, China; 2. Institute of Developmental Biology, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

*Corresponding Author: WANG Yali, E-mail wangyali72@163.com

[Abstract] We reported the efficacy of umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in treatment in 10 cases of ankylosing spondylitis. After the stem cell transplantation treatment, BASDAI, VAS and BASFI of patients were obviously better than those before treatment; after the stem cell transplantation treatment, ESR and IgG were much lower than those before treatment. Thus umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of ankylosing spondylitis is a safe and effective.

[Key words] Ankylosing spondylitis; Umbilical cord mesenchymal stem cell; Bath ankylosing spondylitis disease activity index; Night pain visual analogue scale; Bath ankylosing spondylitis functional index

强直性脊柱炎 (ankylosing spondylitis, AS) 是一种进行性慢性自身免疫性疾病, 主要累及骶髂关节、脊柱及外周关节, 表现为不同程度的关节晨僵及疼痛, 严重者可出现关节的强直, 造成残疾。免疫抑制剂及非甾体类抗炎药是强直性脊柱炎传统治疗的主要方法, 但往往治疗效果不明显而且副作用较大。研究表明强直性脊柱炎患者骨髓间充质干细胞的免疫调节能力明显下降, 而间充质干细胞具有显著的免疫抑制和抗炎作用^[1], 为临床治疗强直性脊柱炎提供了新的治疗途径。本文报道采用人脐带间充质干细胞移植治疗 10 例强直性脊柱炎并随访 1 年的疗效。

1 对象与方法

1.1 临床资料 2011 年 2 月至 2012 年 2 月在我院就诊的强直性脊柱炎患者, 自愿接受人脐带间充质干

细胞移植的病人, 共 10 例, 其中男 5 例, 女 5 例, 平均年龄 (28.80±6.88) 岁, 平均病程 4.45 年, HLA-B27 均阳性, 详细资料见表 1。所有患者符合 1984 年修订的 AS 纽约标准^[2]。所有患者病程中未接受过生物制剂抗 TNF- α 药物治疗, 且肿瘤系列标志物检查均阴性。干细胞移植患者签署干细胞移植知情同意书, 该项治疗方案提请武警浙江省总队医院伦理委员会和科学委员会讨论通过, 治疗过程在伦理委员会监督下完成。

1.2 脐带间充质干细胞的制备

1.2.1 主要试剂、仪器 DMEM 低糖培养基 (Gibco BRL 公司), 胎牛血清 (Gibco BRL 公司), ITS (Insulin-Transferrin-selenium) (Gibco BRL 公司), 型胶原酶、0.05% 胰蛋白酶 (Gibco BRL 公司), 倒置显微镜 (OLYMPUS), CO₂ 培养箱 (Thermo, German), 流式细胞仪 (BD FACScanto 11), 流式细胞术抗体 (BD 公司)。

1.2.2 脐带间充质干细胞来源与制备 脐带的前期准备经我院伦理委员会批准, 脐带取自足月剖宫产健康孕妇, 并且孕妇 HBV 抗原、抗 HCV 抗体、抗 HIV 抗体、抗梅毒螺旋体抗体、支原体、抗巨细胞病毒抗体等

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (2011CB965101)

作者单位: 314000 嘉兴, 武警浙江省总队医院细胞治疗中心 (王亚莉, 齐江彤, 崔玉华, 张 青, 曾忠友); 200433 上海, 第二军医大学生物发育研究所 (刘厚奇)

* 通信作者: 王亚莉, E-mail: wangyali72@163.com

检测均阴性,孕妇孕期各项检查包括 TORCH、唐氏筛查等均正常。无菌条件下采集脐带后送往实验室,进行脐带间充质干细胞的培养和制备。

1.3 人脐带间充质干细胞移植治疗 将经过检测合格的细胞收集成间充质干细胞悬液 30 ml (内含间充质干细胞数 $2 \times 10^7 \sim 3 \times 10^7$),给患者外周静脉 30 min 输注。选择较粗静脉血管穿刺,保持静脉通畅,防止细胞聚团阻塞小血管,每间隔 4 周治疗 1 次,总疗程 4 次。所有患者输注过程无任何不良反应。

1.4 观察指标 主要观察患者治疗前和治疗后 1 个月、3 个月、6 个月、12 个月 BASDAI、夜间疼痛评分(VAS)和 BASFI 的变化,以及治疗前后血沉、CRP、免疫球蛋白 G 的变化。疾病活动指数和综合功能评分等所有评定由专人负责,评定结果入病案文档。接受干细胞治疗后患者停用所有非甾体抗炎药及免疫抑制剂治疗。数据以均数 $\pm$ 标准差形式呈现,采用 *t* 检验

比较差异的显著性。

2 结果

2.1 治疗后患者评分变化 干细胞移植治疗后 3 个月、6 个月、12 个月患者的 BASDAI、夜间疼痛评分(VAS)和 BASFI 均明显好于治疗前;治疗后 12 个月患者的夜间疼痛评分(VAS)较治疗后 6 个月有增加,见表 1,图 1。

2.2 治疗后患者化验检查变化 干细胞移植治疗后 3 个月、6 个月、12 个月患者的血沉较移植前有明显下降,免疫球蛋白 G 在干细胞移植治疗后 3 个月、6 个月较移植前有明显下降患者在移植前后 C 反应蛋白变化不明显,见表 2,图 2。

2.3 不良反应 移植组 10 例患者没有出现发热、呕吐等反应,1 例患者注射时有外渗,重新选择血管再次静脉注射,无任何反应。

表 1 干细胞治疗前后患者 BASDAI、夜间疼痛 VAS 和 BASFI 分析

Tab 1 BASDAI, night pain VAS and BASFI analysis

Group	BASDAI	<i>t</i>	<i>P</i>	VAS	<i>t</i>	<i>P</i>	BASFI	<i>t</i>	<i>P</i>
Pre-transplantation	5.09 $\pm$ 1.63			7.30 $\pm$ 2.58			35.00 $\pm$ 24.61		
Post-transplantation									
1 month	4.81 $\pm$ 1.63	0.38	>0.05	5.90 $\pm$ 1.85	1.6	>0.05	33.80 $\pm$ 24.67	0.11	>0.05
3 months	1.60 $\pm$ 0.77 ^a	6.12	<0.001	0.2 $\pm$ 0.42 ^a	10.68	<0.001	9.30 $\pm$ 3.02 ^b	3.28	<0.01
6 months	2.34 $\pm$ 1.38 ^a	4.07	<0.001	0.7 $\pm$ 1.57 ^a	8.05	<0.001	16.5 $\pm$ 13.22 ^c	2.09	<0.05
12 months	3.19 $\pm$ 0.78 ^b	3.33	<0.01	3.5 $\pm$ 2.17 ^a	4.16	<0.001	16.90 $\pm$ 8.02 ^c	2.21	<0.05

a) *P*<0.001, b) *P*<0.01, c) *P*<0.05, compared with pre-transplantation.

表 2 干细胞治疗前后患者血沉、免疫球蛋白 G、C 反应蛋白分析

Tab 2 Analysis of ESR, CRP, and IgG in patients before and after transplantation

Group	ESR	<i>t</i>	<i>P</i>	CRP	<i>t</i>	<i>P</i>	IgG	<i>t</i>	<i>P</i>
Pre-transplantation	45.3 $\pm$ 1.63			3.28 $\pm$ 3.19			16.85 $\pm$ 2.76		
Post-transplantation									
1 month	33.2 $\pm$ 19.06	1.12	>0.05	2.42 $\pm$ 1.97	0.73	>0.05	15.78 $\pm$ 2.58	0.90	>0.05
2 months	18.10 $\pm$ 14.51 ^a	2.74	<0.01	1.23 $\pm$ 1.06	1.93	>0.05	13.39 $\pm$ 1.13 ^a	3.67	<0.01
6 months	15.30 $\pm$ 6.27 ^a	3.33	<0.01	1.31 $\pm$ 0.76	1.90	>0.05	13.38 $\pm$ 1.50 ^a	3.19	<0.01
12 months	19.90 $\pm$ 9.02 ^a	2.74	<0.01	1.23 $\pm$ 0.88	1.95	>0.05	16.50 $\pm$ 2.74	0.28	>0.05

a) *P*<0.05, compared with pre-transplantation

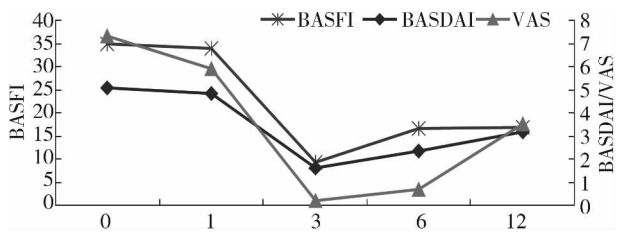


图 1 治疗前后患者 BASDAI、夜间疼痛 VAS 和 BASFI 变化
Fig 1 BASDAI, night pain VAS and BASFI change of patients before and after treatment

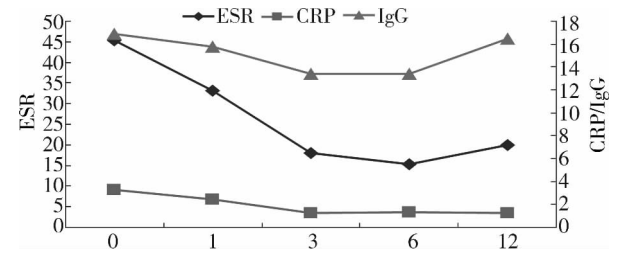


图 2 干细胞治疗前后患者血沉、免疫球蛋白 G、C 反应蛋白的变化
Fig 2 The changes of ESR, IgG, and CRP in patients before and after stem cell therapy

3 讨论

现在随着环境污染等因素, 强直性脊柱炎的发生率呈逐渐上升的趋势。以往的治疗以免疫抑制、非甾体类抗炎药等对症治疗为主, 经常无法阻止疾病的免疫反应及进展。最新的研究表明^[1] AS 患者体内存在着自身免疫调节异常, 患者的骨髓间充质干细胞存在明显的免疫调节异常, 所以 AS 本身就是干细胞病。研究发现^[3] AS 患者体内存在着 T 淋巴细胞亚群的失衡, 即 Th17 细胞明显升高而 Treg 细胞明显降低。AS 患者骨髓间充质干细胞明显下降的免疫调节功能极可能是 AS 病理发生的起始因子。

越来越多的证据表明, 间充质干细胞是人类自身免疫性疾病细胞治疗的理想细胞选择^[4-5]。间充质干细胞发挥免疫调节功能主要是通过上调 Treg 细胞功能从而抑制 T 细胞增殖、抑制 B 细胞增殖分化、调节 NK 细胞活性和阻止树突状细胞(dendritic cells, DCs)成熟实现的。另外, 间充质干细胞可抑制 B 细胞向浆细胞分化, 减少免疫球蛋白的生成, 理论上间充质干细胞的这种免疫调节作用可以很好的应用于自身免疫性疾病的治疗^[6], 本研究也发现患者在脐带间充质干细胞移植治疗后 IgG 有明显下降。最新研究^[7]也证实间充质干细胞对移植物抗宿主病、类风湿性关节炎、糖尿病和多发性硬化症等免疫相关性疾病具有免疫调节治疗作用, 所以脐带 MSCs 的免疫调节功能给包括 AS 在内的自身免疫性疾病的细胞治疗带来了曙光。为这类疾病的治疗提供了新的思路。脐带间充质干细胞来自脐带, 脐带是胎儿出生后的废弃物, 无伦理问题, 具有多向分化潜能、低免疫原性和很好的免疫调节特性, 容易进行体外培养扩增, 并且具有非常肯定的免疫调节作用。

本文 10 例患者为临床确诊 AS, 病程均较长, 患者应用脐带间充质干细胞经外周静脉输注, 移植治疗结束随访 1 年, 结果显示移植组治疗后 3 个月、6 个月、12 个月患者的 BASDAI、夜间疼痛评分(VAS)和 BASFI 均明显好于治疗前; 治疗后 1 年发现患者的夜间疼痛评分(VAS)较治疗后 6 个月有增加。提示患者接受干细胞移植治疗后临床评分指数改善在治疗 1 个月后逐渐出现, 治疗后 3 个月、6 个月作用持续体现, 在治疗后 12 个月患者再次出现夜间疼痛, 但较移植治疗之前要明显减轻的。血沉、IgG 也显示与临床疾病活动指数以及夜间疼痛和功能评分相似的效果体现。患者在移植前后 C 反应蛋白变化不明显。IgG 在治疗后 12 个月再次出现上升, 夜间疼痛再次出现。提示患者脐带干细胞移植的免疫抑制及调节作用可能会持续半年左右, 病人需要继续接受干细胞移植

治疗进一步巩固疗效。在几个疗程治疗后也可动态随访血沉、免疫球蛋白及 C 反应蛋白来进一步确定患者的治疗方案及疗程。笔者^[8-9]采用自体骨髓间充质干细胞转化神经干细胞治疗脑瘫时也发现这样的规律, 患者自体骨髓干细胞移植治疗后 1 个月效果明显, 治疗后 6 个月运动功能持续改善, 6 个月后进步幅度减小, 甚至停止不前, 但不会出现倒退现象, 再次干细胞移植治疗继续有效。虽然有报道^[10]认为 AS 患者血沉和 BASDAI 评分之间无关联, 对判断 AS 病情活动价值不大, 但本文显示两者有较好的关联性。本研究发现脐带间充质干细胞移植治疗有很好的临床效果, 但病人治疗的疗程, 远期效果, 骶髂关节的病变是否可以逆转等等问题尚需进一步探索、随访。

【参考文献】

- [1] 刘 鹄, 任明亮, 王潇婷, 等. 强直性脊柱炎患者骨髓间充质干细胞的生物学及免疫学特性[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2012, 22(6): 559-566.
- [2] Braun J, Brandt J, Listing J, et al. Long-term efficacy and safety of infliximab in the treatment of ankylosing spondylitis: an open, observational, extension study of a three-month randomized placebo-controlled trial [J]. Arthritis Rheum, 2003, 48(8): 2224-2233.
- [3] Nistala K, Wedderburn LR. Th17 and regulatory T cells: rebalancing pro and antiinflammatory forces in autoimmune arthritis[J]. Rheumatology (Oxford), 2009, 48(6): 602-606.
- [4] Parekkadan B, van Poll D, Megeed Z, et al. Immunomodulation of activated hepatic stellate cells by mesenchymal stem cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 363(2): 247-252.
- [5] Gonzalez MA, Gonzalez Rey E, Rico L, et al. Treatment of experimental arthritis by inducing immune tolerance with human adipose derived mesenchymal stem cells[J]. Arthritis Rheum, 2009, 60(4): 1006-1019.
- [6] 黄志芳, 黄 烽. 间充质干细胞在炎性关节炎中的应用前景[J]. 中华风湿病学杂志, 2013, 17(9): 641-644.
- [7] 龚飞翔, 汪 泱, 邓志锋, 等. 间充质干细胞移植治疗免疫性疾病的研究进展[J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2013, 33(2): 235-241.
- [8] 王亚莉, 陈国军, 方 凤, 等. 自体 MSC-NSCs 治疗小儿急性播散性脑脊髓炎后瘫痪 1 例[J]. 免疫学杂志, 2012, 28(8): 730-731.
- [9] Chen G, Wang Y, Xu Z, et al. Neural stem cell-like cells derived from autologous bone mesenchymal stem cells for the treatment of patients with cerebral palsy [J]. J Transl Med, 2013, 11:21.
- [10] 刘 斌, 郭传友, 刘文曲, 等. 血沉及 C 反应蛋白判定强直性脊柱炎病情活动的价值[J]. 中华内科杂志, 2005, 44(8): 566-569.

(收稿日期: 2014-09-24; 修回日期: 2014-10-23)

(编辑 李海鸥)