

• 病例报告 •

脐带间充质干细胞治疗 1 型糖尿病远期疗效观察三例报告

谭晓俊 王镇 李晓莹 侯旭 王颜刚

Long term therapeutic effects of human umbilic mesenchymal stem cells transplantation: A study of 3 cases with type 1 diabetes in adults Tan Xiaojun*, Wang Zhen, Li Xiaoying, Hou Xu, Wang Yangang. *Department of Endocrinology, Affiliated Yidu Central Hospital of Weifang Medical College, Weifang 262500, China
Corresponding author: Wang Yangang, Email: wangyg1966@126.com

现代医学认为,1 型糖尿病是一种 T 细胞介导的自身免疫性疾病。成人隐匿性自身免疫糖尿病 (latent autoimmune diabetes in adults, LADA) 作为一种缓慢起病的 1 型糖尿病,属于免疫相关性糖尿病一种亚型的观点也被大多数研究者所接受。对上述疾病,目前最为有效的治疗方案为胰岛素强化治疗,患者需终身使用胰岛素,且不能完全阻断糖尿病并发症的发生。因此,保护残存的胰岛功能,甚至部分恢复胰岛功能,延缓并发症的发生、发展成为其治疗的重要研究方向。而对间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 治疗的研究无疑为 1 型糖尿病及 LADA 患者的治疗带来了新的希望。青岛大学附属医院内分泌科于 2010 年 10 月至 2011 年 10 月成功开展了 3 例异体人脐带 MSCs 静脉输注治疗 1 型糖尿病——其中包括 1 例 LADA,取得了较为满意的临床效果,现报告如下。

3 例病例中,1 型糖尿病符合 1999 年世界卫生组织 (WHO) 关于 1 型糖尿病的诊断标准及分型体系^[1]。LADA 诊断标准参考 2005 年国际糖尿病免疫学会 (IDS) 提出的诊断标准并结合中华医学会糖尿病学分会 (CDS) 2012 成人隐匿性自身免疫糖尿病诊疗共识,即:(1)符合 1999 年 WHO 糖尿病诊断标准;(2)起病年龄 ≥ 18 岁;(3)胰岛相关抗体至少有 1 种阳性,即胰岛细胞抗体 (ICA)、谷氨酸脱羧酶抗体 (GAD)、胰岛素自身抗体 (IAA) 3 种任意之一;(4)诊断糖尿病后至少 6 个月内不需要胰岛素治疗。

患者 1,女性,23 岁,因发现血糖高 1 年余于 2010 年 10 月 22 日以 1 型糖尿病入本院。患者既往健康,无糖尿病家族史。胰岛素用量 $0.13 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,体重指数 23.51 kg/m^2 ,腰臀比 0.74。HbA_{1c} 9.3%,平均血糖波动幅度 (mean amplitude of glycemic excursions, MAGE) 3.9,空腹 C 肽 1.78 ng/ml ,0.5 h C 肽 2.53 ng/ml ,1 h C 肽 3.46 ng/ml ,2 h C 肽 3.58 ng/ml ,C 肽曲线下面积 $6.10 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{h}$,胰岛相关自身抗体 GAD、IAA、ICA、尿微量白蛋白、尿酮体均为阴性。眼底检查、血管超声、心电图均未见明显异常。入院后给予胰岛素皮下注射降糖治疗及 MSCs 静脉输注,细胞数 $4 \times 10^5/\text{kg}$,输注后无明显不适。之后皮下注射胰岛素用量逐渐减少,至干细胞治疗后 3 个月停用

胰岛素。2012 年顺利妊娠、分娩 1 名健康女婴,妊娠期间及分娩前后血糖平稳,未应用胰岛素治疗。2014 年血糖再次升高,开始小剂量胰岛素治疗。干细胞治疗后 4.5 年复查见,患者胰岛素用量 $0.16 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,HbA_{1c} 5.7%,MAGE 4.1,空腹 C 肽 1.75 ng/ml ,0.5 h C 肽 2.47 ng/ml ,1 h C 肽 3.39 ng/ml ,2 h C 肽 3.57 ng/ml ,C 肽曲线下面积 $6.00 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{h}$ 。余指标较前无明显变化。无糖尿病并发症出现。

患者 2,男性,39 岁,因体重下降 3 个多月,口干、多饮半个多月,于 2011 年 10 月 28 日以 LADA 入本院。患者既往健康,无糖尿病家族史。胰岛素用量 $0.23 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,体重指数 24.22 kg/m^2 ,腰臀比 0.90。HbA_{1c} 6.5%,MAGE 3.7,空腹 C 肽 1.18 ng/ml ,0.5 h C 肽 1.80 ng/ml ,1 h C 肽 3.42 ng/ml ,2 h C 肽 4.86 ng/ml ,C 肽曲线下面积 $6.19 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{h}$,胰岛相关自身抗体 GAD、IAA、ICA 均为阳性。尿微量白蛋白、尿酮体均为阴性。患者无明显肢端麻木、疼痛、冷感等自觉症状,肌电图示神经源性损害 (轻度),考虑为早期糖尿病性周围神经病变。眼底检查、血管超声均未见明显异常。入院后给予胰岛素皮下注射降糖治疗及 MSCs 静脉输注,细胞数 $4 \times 10^5/\text{kg}$,输注后无明显不适。之后皮下注射胰岛素用量逐渐减少,干细胞治疗后 3 个月停用胰岛素。2013 年血糖再次升高,开始小剂量胰岛素治疗。干细胞治疗后 3 年复查见,患者胰岛素用量 $0.06 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,HbA_{1c} 5.5%,MAGE 3.6,空腹 C 肽 2.20 ng/ml ,0.5 h C 肽 1.94 ng/ml ,1 h C 肽 4.01 ng/ml ,2 h C 肽 5.42 ng/ml ,C 肽曲线下面积 $7.24 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{h}$ 。胰岛相关自身抗体 GAD、IAA、ICA 均转为阴性。患者仍无明显肢端麻木、疼痛、冷感等自觉症状,复查肌电图恢复正常。余指标较前无明显变化,无其他糖尿病并发症出现。

患者 3,男性,55 岁,因发现血糖升高 20 余年,伴视物模糊 6 年于 2011 年 11 月 6 日以 1 型糖尿病、糖尿病性视网膜病变入本院。患者既往高血压病病史 19 年,冠心病病史 10 年,无糖尿病家族史。胰岛素用量 $0.33 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,体重指数 26.22 kg/m^2 ,腰臀比 0.90。HbA_{1c} 8.6%,MAGE 10.9,空腹 C 肽 $<0.01 \text{ ng/ml}$,0.5 h C 肽 $<0.01 \text{ ng/ml}$,1 h C 肽 $<0.01 \text{ ng/ml}$,2 h C 肽 $<0.01 \text{ ng/ml}$,C 肽曲线下面积 $<0.02 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{h}$,胰岛相关自身抗体 (GAD、IAA、ICA)、尿微量白蛋白、尿酮体均为阴性。眼底检查见视网膜明显渗出,血管超声、心电图均未见明显异常。入院后给予胰岛素皮下注射降糖治疗及 MSCs 静脉输注,细胞数 $4 \times 10^5/\text{kg}$,输注后无明显不适。干细胞治疗后 4 年

DOI:10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2016.12.011

作者单位:262500 潍坊医学院附属益都中心医院内分泌科 (谭晓俊),眼科 (王镇),门诊部 (李晓莹);266003 青岛大学附属医院内分泌科 (侯旭,王颜刚)

通信作者:王颜刚,Email: wangyg1966@126.com

复查见,患者血压平稳,无胸闷、胸痛,胰岛素用量 $0.31 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, $\text{HbA}_{1\text{C}}$ 6.0%, MAGE 5.4, 空腹 C 肽 $<0.01 \text{ ng/ml}$, 0.5 h C 肽 $<0.01 \text{ ng/ml}$, 1 h C 肽 $<0.01 \text{ ng/ml}$, 2 h C 肽 $<0.01 \text{ ng/ml}$, C 肽曲线下面积 $<0.02 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{h}$ 。眼底检查视网膜渗出明显减轻。余指标较前无明显变化,无其他糖尿病并发症出现。

讨论 MSCs 具有自我更新和多向分化的潜能。综合目前的医学研究成果, MSCs 对 1 型糖尿病及其并发症的治疗作用可能机制及优势主要包括以下方面: (1) 体外及体内实验均证实, MSCs 具有潜在的免疫调节能力, 可以对包括 T 细胞、B 细胞、树突状细胞、NK 细胞在内的多种免疫细胞的功能进行调节^[2-5]。近年来被应用于包括 1 型糖尿病在内的多种疾病的治疗^[6]。通过诱导 T 细胞介导的免疫耐受, MSCs 可使 NOD 小鼠免于发生糖尿病^[7-10]。MSCs 可分泌多种生物活性因子、抑制 T 细胞介导的针对新生细胞的免疫反应, 为胰腺 β 细胞的激活、生存提供适宜的微环境^[11-12]。(2) 越来越多的研究显示, 炎症及受损伤的组织部位血管细胞黏附分子 1、基质细胞来源的细胞因子、单核细胞趋化蛋白 1、趋化因子 CX3CL1 及其同源受体 CX3CR1、趋化因子 CXCL12 及其同源受体 CXCR4 等趋化因子表达升高, 促使静脉输注后的 MSCs 向其迁移、定植, 发挥组织修复的作用^[13-16]。这不仅有助于原有胰腺功能的保存、新生胰岛 β 细胞的存活, 对糖尿病足、糖尿病周围神经病变、糖尿病视网膜病变、糖尿病肾病等并发症中相应器官损伤的修复亦可发挥重要作用^[17-22]。(3) MSCs 分泌多种细胞因子, 促进血管新生, 改善胰腺微环境, 诱导内源性胰腺干细胞分化为胰岛 β 细胞, 促进残存胰岛 β 细胞增殖、再生^[23-27]。(4) MSCs 具有自我更新潜能, 在实验室条件下可传代超过 60 代, 且移植后没有出现形成肿瘤组织的倾向^[28-30]。多项体外实验表明, MSCs 在特定条件下可诱导分化为胰岛素分泌细胞 (insulin-producing cells)^[31-33]。(5) 通过胰岛功能的改善, 减少血糖波动, 进而减少其带来的氧化应激对组织器官的损伤、保护内皮细胞, 从而进一步保护胰岛功能、减少并发症的发生, 形成疾病控制的良性循环^[34]。这也可以解释本研究病例 3 中视网膜病变的改善。(6) MSCs 细胞表面不表达或极低表达主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) I 类分子, 不表达 MHC II 类分子, 因此几乎不会产生免疫排斥反应, 移植时无需联合免疫抑制剂治疗^[35]。

本研究中病例 1、病例 2 均在糖尿病发病 1 年左右行干细胞治疗, 达到明显的保护残存胰岛功能、减少胰岛素用量、预防并发症的效果。病例 3 接受干细胞治疗时病史已达 16 年, 血糖波动幅度大, 胰岛功能已接近丧失, 已出现明显的糖尿病性视网膜病变, 其进行干细胞治疗后胰岛功能无明显改善考虑与给予干细胞治疗时的病史过长有关。这也提示干细胞治疗应及早进行, 以期获得最大程度的对残存胰岛功能的保护。

参 考 文 献

[1] Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation [J]. Diabet Med, 1998, 15 (7): 539-553. DOI: 10.

1002/(SICI)1096-9136 (199807) 15:7<539::AID-DIA668>3.0.CO;2-S.

[4] De Miguel MP, Fuentes-Julián S, Blázquez-Martínez A, et al. Immunosuppressive properties of mesenchymal stem cells: advances and applications [J]. Curr Mol Med, 2012, 12 (5): 574-591.

[3] Shi Y, Hu G, Su J, et al. Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression and tissue repair [J]. Cell Res, 2010, 20 (5): 510-518. DOI: 10.1038/cr.2010.44.

[4] Yagi H, Soto-Gutierrez A, Parekkadan B, et al. Mesenchymal stem cells: Mechanisms of immunomodulation and homing [J]. Cell Transplant, 2010, 19 (6): 667-679. DOI: 10.3727/096368910X508762.

[5] Sioud M. New insights into mesenchymal stromal cell-mediated T-cell suppression through galectins [J]. Scand J Immunol, 2011, 73 (2): 79-84. DOI: 10.1111/j.1365-3083.2010.02491.x.

[6] Machado CV, Telles PD, Nascimento IL. Immunological characteristics of mesenchymal stem cells [J]. Rev Bras Hematol Hemoter, 2013, 35 (1): 62-67. DOI: 10.5581/1516-8484.20130017.

[7] Kota DJ, Wiggins LL, Yoon N, et al. TSG-6 produced by hMSCs delays the onset of autoimmune diabetes by suppressing Th1 development and enhancing tolerogenicity [J]. Diabetes, 2013, 62 (6): 2048-2058. DOI: 10.2337/db12-0931.

[8] Fiorina P, Jurewicz M, Augello A, et al. Immunomodulatory function of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in experimental autoimmune type 1 diabetes [J]. J Immunol, 2009, 183 (2): 993-1004. DOI: 10.4049/jimmunol.0900803.

[9] Madec AM, Mallone R, Afonso G, et al. Mesenchymal stem cells protect NOD mice from diabetes by inducing regulatory T cells [J]. Diabetologia, 2009, 52 (7): 1391-1399. DOI: 10.1007/s00125-009-1374-z.

[10] Zanone MM, Favaro E, Miceli I, et al. Human mesenchymal stem cells modulate cellular immune response to islet antigen glutamic acid decarboxylase in type 1 diabetes [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2010, 95 (8): 3788-3797. DOI: 10.1210/jc.2009-2350.

[11] Bell GI, Broughton HC, Levac KD, et al. Transplanted human bone marrow progenitor subtypes stimulate endogenous islet regeneration and revascularization [J]. Stem Cells Dev, 2012, 21 (1): 97-109. DOI: 10.1089/scd.2010.0583.

[12] Lu Y, Jin X, Chen Y, et al. Mesenchymal stem cells protect islets from hypoxia/reoxygenation-induced injury [J]. Cell Biochem Funct, 2010, 28 (8): 637-643. DOI: 10.1002/cbf.1701.

[13] Hannoush EJ, Sifri ZC, Elhassan IO, et al. Impact of enhanced mobilization of bone marrow derived cells to site of injury [J]. J Trauma, 2011, 71 (2): 283-289; discussion 289-291. DOI: 10.1097/TA.0b013e318222f380.

[14] Lin P, Chen L, Li D, et al. Dynamic analysis of bone marrow mesenchymal stem cells migrating to pancreatic islets using coculture microfluidic chips: An accelerated migrating rate and better survival of pancreatic islets were revealed [J]. Neuro Endocrinol Lett, 2009, 30 (2): 204-208.

[15] Lee RH, Seo MJ, Reger RL, et al. Multipotent stromal cells from human marrow home to and promote repair of pancreatic islets and renal glomeruli in diabetic NOD/scid mice [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103 (46): 17438-17443. DOI: 10.1073/pnas.0608249103.

[16] Sordi V, Malosio ML, Marchesi F, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells express a restricted set of functionally active chemokine receptors capable of promoting migration to pancreatic islets [J]. Blood, 2005, 106 (2): 419-427. DOI: 10.1182/blood-2004-09-3507.

[17] Elsharawy MA, Naim M, Greish S. Human CD34+ stem cells promote

- healing of diabetic foot ulcers in rats [J]. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2012, 14 (3): 288-293. DOI: 10.1093/icvts/ivr068.
- [18] Maxson S, Lopez EA, Yoo D, et al. Concise review: role of mesenchymal stem cells in wound repair [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2012, 1 (2): 142-149. DOI: 10.5966/scrm.2011-0018.
- [19] Shibata T, Naruse K, Kamiya H, et al. Transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves diabetic polyneuropathy in rats [J]. *Diabetes*, 2008, 57 (11): 3099-3107. DOI: 10.2337/db08-0031.
- [20] Kim H, Park JS, Choi YJ, et al. Bone marrow mononuclear cells have neurovascular tropism and improve diabetic neuropathy [J]. *Stem Cells*, 2009, 27 (7): 1686-1696. DOI: 10.1002/stem.87.
- [21] Mottaghi S, Larijani B, Sharifi AM. Atorvastatin: an efficient step forward in mesenchymal stem cell therapy of diabetic retinopathy [J]. *Cytotherapy*, 2013, 15 (3): 263-266. DOI: 10.1016/j.jcyt.2012.11.002.
- [22] Abdel AMT, Wassef MA, Ahmed HH, et al. The role of bone marrow derived-mesenchymal stem cells in attenuation of kidney function in rats with diabetic nephropathy [J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2014, 6 (1): 34. DOI: 10.1186/1758-5996-6-34.
- [23] Hasegawa Y, Ogiwara T, Yamada T, et al. Bone marrow (BM) transplantation promotes beta-cell regeneration after acute injury through BM cell mobilization [J]. *Endocrinology*, 2007, 148 (5): 2006-2015. DOI: 10.1210/en.2006-1351.
- [24] Xu YX, Chen L, Hou WK, et al. Mesenchymal stem cells treated with rat pancreatic extract secrete cytokines that improve the glycometabolism of diabetic rats [J]. *Transplant Proc*, 2009, 41 (5): 1878-1884. DOI: 10.1016/j.transproceed.2009.01.087.
- [25] Urbán VS, Kiss J, Kovács J, et al. Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes [J]. *Stem Cells*, 2008, 26 (1): 244-253. DOI: 10.1634/stemcells.2007-0267.
- [26] Nikolova G, Jabs N, Konstantinova I, et al. The vascular basement membrane: a niche for insulin gene expression and Beta cell proliferation [J]. *Dev Cell*, 2006, 10 (3): 397-405. DOI: 10.1016/j.devcel.2006.01.015.
- [27] Dor Y, Brown J, Martinez OI, et al. Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation [J]. *Nature*, 2004, 429 (6987): 41-46. DOI: 10.1038/nature02520.
- [28] Poloni A, Maurizi G, Serrani F, et al. Human AB serum for generation of mesenchymal stem cells from human chorionic villi: comparison with other source and other media including platelet lysate [J]. *Cell Prolif*, 2012, 45 (1): 66-75. DOI: 10.1111/j.1365-2184.2011.00799.x.
- [29] Mazzini L, Mareschi K, Ferrero I, et al. Mesenchymal stromal cell transplantation in amyotrophic lateral sclerosis: a long-term safety study [J]. *Cytotherapy*, 2012, 14 (1): 56-60. DOI: 10.3109/14653249.2011.613929.
- [30] Weil BR, Herrmann JL, Abarbanell AM, et al. Intravenous infusion of mesenchymal stem cells is associated with improved myocardial function during endotoxemia [J]. *Shock*, 2011, 36 (3): 235-241. DOI: 10.1097/SHK.0b013e318225f6ae.
- [31] Wang HS, Shyu JF, Shen WS, et al. Transplantation of insulin-producing cells derived from umbilical cord stromal mesenchymal stem cells to treat NOD mice [J]. *Cell Transplant*, 2011, 20 (3): 455-466. DOI: 10.3727/096368910X522270.
- [32] Tsai PJ, Wang HS, Shyr YM, et al. Transplantation of insulin-producing cells from umbilical cord mesenchymal stem cells for the treatment of streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *J Biomed Sci*, 2012, 19: 47. DOI: 10.1186/1423-0127-19-47.
- [33] Kim SJ, Choi YS, Ko ES, et al. Glucose-stimulated insulin secretion of various mesenchymal stem cells after insulin-producing cell differentiation [J]. *J Biosci Bioeng*, 2012, 113 (6): 771-777. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2012.02.007.
- [34] Chang CM, Hsieh CJ, Huang JC, et al. Acute and chronic fluctuations in blood glucose levels can increase oxidative stress in type 2 diabetes mellitus [J]. *Acta Diabetol*, 2012, 49 (Suppl 1): S171-S177. DOI: 10.1007/s00592-012-0398-x.
- [35] Bai J, Hu Y, Wang YR, et al. Comparison of human amniotic fluid-derived and umbilical cord Wharton's Jelly-derived mesenchymal stromal cells: Characterization and myocardial differentiation capacity [J]. *J Geriatr Cardiol*, 2012, 9 (2): 166-171. DOI: 10.3724/SP.J.1263.2011.12091.

(收稿日期: 2016-05-19)

(本文编辑: 朱梅华)