

• 病例报告 •

异基因脐带间充质干细胞移植治疗类风湿关节炎一例

王秦 马丽辉 李军霞 张少然 陈俊伟 李芳 薛丽巾 白洁 李小峰

患者女,43岁,主因“双手指关节反复肿痛7年,加重2周”于2010年4月到我科就诊。患者7年前无明显诱因出现双手小关节肿胀,疼痛,就诊于我院风湿科,实验室检查:类风湿因子(RF)1:80 U/ml,双手X线提示双手指骨端骨质疏松,依据美国风湿病学会(ACR)1997年修订的类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)分类标准诊断为“RA”,予口服非甾体抗炎药(NAISDs)、帕夫林,来氟米特等药物,症状缓解。用药3个月后生化提示肝功能损坏(丙氨酸转氨酶>200 U/L,总胆红素27 μ mol/L),停用上述药物1个月后肝功能恢复正常,之后关节肿痛反复发作,换用甲氨蝶呤,羟氯喹等免疫抑制剂,均于用药3~6个月左右出现肝功能损坏等不良反应而停用,近1年因病情反复换用吗替麦考酚酯(骁悉)胶囊,临床症状控制不满意,近2周双手指关节疼痛明显,因患者对免疫抑制剂的治疗不能耐受,经患者同意后住院拟行间充质干细胞移植治疗。入院后实验室检查:RF 320 U/ml、抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体587.6 RU/ml,抗核抗体、抗核周因子(APF)、抗角蛋白抗体(AKA)均为阴性,T细胞亚群检测显示CD34⁺CD19⁺66%,CD34⁺CD19⁺21%,CD3⁺CD4⁺34%,CD3⁺CD8⁺24%,RA患者疾病活动(DSA28)评分3.65。本研究程序符合本单位伦理委员会所制定的伦理学标准,并得到该委员会的批准,取得患者的知情同意。异基因脐带间充质干细胞(MSCs)由深圳北科生物有限公司提供,要求干细胞终制品有核细胞存活率必须大于97%,MSCs表型鉴定显示细胞表面表型CD45阴性,CD105、CD44、CD29阳性,CD71弱阳性。

移植方案:MSCs移植,每周静脉滴注1次,连续4周,移植细胞数 1×10^6 /kg 体质量。移植前MSC用0.25%胰蛋白酶消化,反复洗涤后加入5%人体白蛋白溶液中静脉回输。移植后随访时间为15个月,对移植前后患者临床表现改善情况和实验室检查如血清RF、抗CCP抗体、APF、AKA、免疫功能等指标进行比较以及移植相关并发症等方面进行评价。

MSCs治疗4周后患者自觉关节症状明显改善,移植后3个月血清抗体较移植前明显降低。RF 80 U/ml、抗CCP抗体102.6 RU/ml,CD34⁺CD19⁺58%,CD34⁺CD19⁺13%,CD3⁺CD4⁺25%,CD3⁺CD8⁺30%,移植后6个月患者再次出现左手掌指第2关节的单关节肿痛,RF 40 U/ml、抗CCP抗体58.6 RU/ml,

移植后9个月RF 106 U/ml、抗CCP抗体69.5 RU/ml,CD34⁺CD19⁺47% CD34⁺CD19⁺45% CD3⁺CD4⁺26% CD3⁺CD8⁺19%。血清抗体水平较前升高,加用来氟米特及NAISDs等药,再度出现肝功能异常,移植后14个月RF 40 U/ml、抗CCP抗体98.5 RU/ml,CD34⁺CD19⁺82%,CD34⁺CD19⁺6%,CD3⁺CD4⁺61%,CD3⁺CD8⁺3%,目前换用重组人肿瘤坏死因子受体融合蛋白(商品名:益赛普)治疗,病情稳定。

MSC移植并发症:该例患者移植输注异基因MSC过程中及随访中未见不良反应发生。

讨论 RA是一种高度致残性自身免疫性疾病,临床特征为对称性多关节炎,病理改变为滑膜炎、软骨及骨破坏,最终导致关节畸形。目前国际公认的RA的最佳治疗策略是早期联合使用改善病情的抗风湿药物,这些联合方案使RA患者的致残率有所下降,但其临床缓解率仅能达到40%~70%。近年的研究发现MSCs具有免疫调节作用,这为调节RA患者机体免疫紊乱,以及修复受损的关节带来了新的希望^[1]。MSCs存在于骨髓中的一类干细胞,能分化为分泌多种细胞因子、黏附分子的骨髓基质细胞,支持造血和调节免疫功能且无免疫原性。体内外研究均表明MSCs具有诱导免疫耐受和免疫调节的作用、抑制T细胞增殖、治疗移植抗宿主病(GVHD)等。同时MSCs具有趋化特性,可以阻止炎性介质的释放,减轻炎症反应,降低组织损伤,有利于阻止病情进展^[2]。

研究表明MSC功能异常在RA致病因素中占重要地位。Watanabe等^[3]提出类风湿样滑膜纤维母细胞(RSFs)存在于RA患者关节滑膜中,由MSC分化而来。具有肿瘤样生长方式。Papadaki等^[4]研究发现RA患者与健康人相比CD34⁺细胞的数量减少,且凋亡的细胞数量增多,单核细胞和纯化CD34⁺细胞的克隆潜力存在缺陷,在长期骨髓培养后的骨髓祖细胞重建的很少。患者的长期骨髓培养后形成的基质层不能支持正常的造血,并且产生大量的肿瘤坏死因子(TNF)- α 。长期骨髓培养上清中TNF- α 水平与CD34⁺细胞及集落形成细胞的数量成反比,与CD34⁺细胞的凋亡数量成正比。

我们前期对胶原诱导关节炎(collagen induced arthritis, CIA)模型及RA的研究中,也证实间充质干细胞移植治疗胶原关节炎大鼠均无并发症,关节炎评分及关节病理有明显改善,检测T细胞亚群Th17及调节性T细胞均提示有免疫调控作用,其疗效肯定。进一步提示MSCs能调节RA患者机体免疫紊乱,阻止病情进展^[5]。因此在用异基因脐带MSC移植治疗胶原关节炎大鼠(CIA)有效的基础上,尝试用异基因MSC移植

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-7480.2012.05.018

作者单位:030001 太原,山西医科大学第一医院风湿免疫科(王秦);山西医科大学第二医院风湿免疫科(马丽辉、李军霞、陈俊伟、李芳、薛丽巾、白洁、李小峰);中华风湿病学杂志社(张少然)

通信作者:李小峰

治疗 RA, 其中 1 例患者为停用其他药物, 单独采用细胞移植治疗, 取得较好疗效。对淋巴细胞亚群的观察发现, 移植前后有一定的变化, 提示患者体内 T 细胞亚群在疾病的发生发展中可能有一定的作用, 但因病例数少, 还需继续观察。本研究目前为止未见明显不良反应的发生, 提示异体(异基因)MSC 移植是安全的。

异体脐带间质干细胞移植可治疗多种疾病, 其疗效肯定, 没有排斥反应, 不需要组织配型, 移植后不需要用抗排斥药物; 移植细胞来源丰富, 体外易大量培养扩增; 安全, 无明显不良反应, 此项新技术的全面开展, 将为 RA 及其他自身免疫病治疗提供新方法^[6], 为阐述 MSCs 在自身免疫性疾病发病中的作用及致病机制提供新的理论依据。

参考文献

- [1] Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood*, 2005, 105: 1815-1822.
- [2] Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet*, 2004, 363: 1439-1441.
- [3] Watanabe N, Ando K, Yoshida S, et al. Gene expression profile analysis of rheumatoid synovial fibroblast cultures revealing the overexpression of genes responsible for tumor-like growth of rheumatoid synovium. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 294: 1121-1129.
- [4] Papadaki HA, Kritikos HD, Gemetzi C, et al. Bone marrow progenitor cell reserve and function and stromal cell function are defective in rheumatoid arthritis: evidence for a tumor necrosis factor alpha-mediated effect. *Blood*, 2002, 99: 1610-1619.
- [5] Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood*, 2007, 110: 3499-506.
- [6] Ikehara S. Bone marrow transplantation: a new strategy for intractable diseases. *Drugs Today(Barc)*, 2002, 38: 103-111.

(收稿日期: 2011-06-05)

(本文编辑: 张军锋)