

干细胞治疗甲状腺功能低下的研究进展

吴兆宇 赵金鹏

哈尔滨医科大学附属第四临床医学院 普外四科 (黑龙江 哈尔滨 150001)

【摘要】不可逆性甲状腺功能低下(简称甲减)患者的治疗,一直以服用甲状腺激素药物为主,而长期服药可能造成心脏衰竭等,已经成为困扰甲减患者的难题。随着近年对干细胞的研究,在体外诱导下胚胎干细胞成功分化为甲状腺细胞,然而胚胎干细胞应用的伦理问题限制了其进一步发展;而体外诱导骨髓间充质干细胞分化为甲状腺干细胞获得成功。成体干细胞诱导移植技术的应用将为甲低患者治疗提供更好的前景。

【关键词】甲状腺功能低下·细胞分化·干细胞移植

【中图分类号】R653

【文献标识码】A doi:10.3969/j.issn.1009-9905.2013.04.017

【文章编号】1009-9905(2013)04-0305-04

近年来随着甲状腺疾病发病率(如结节性甲状腺肿及甲状腺恶性肿瘤等)的提高,治疗疾病采取的甲状腺大部或次全切除术所导致的甲状腺功能低下(以下简称甲减)及服用¹³¹I治疗甲状腺功能亢进引起的甲状腺滤泡破坏过多引起的甲减,还有先天性甲状腺功能不全所引起的甲减等,这些原因都使得甲减患者增多。现在治疗甲减的主要方法是替代疗法,即服用甲状腺素片,甲状腺素片虽然能在一定程度上治疗甲减的症状,但长期服药引起的副作用不容忽视,尤其是对心脏的影响。干细胞移植技术的发展使这一难题有望被解决。自1909年Halsted提出应用内分泌腺组织自身移植的方法,治疗因内分泌腺疾病自身全切或次全切除引起的功能障碍,到现在提出用成体干细胞诱导移植治疗甲减,大体出现了3种治疗甲减的方案,其主要内容有以下几方面。

1 内分泌腺自身移植

内分泌自身移植即通过甲状腺自身的移植,此方案的成功提出是通过了动物和人体试验的验证。

1.1 动物试验 Papazilogas 等^[1]将38只家兔的甲状腺实施了全切除术,手术后将切下的甲状腺组织切成小叶,分别移植到实验动物不同部位,例如右侧股四头肌、右侧腹直肌以及右侧骶背肌内,通过观察在不同时间内实验动物体内甲状腺激素各项指标,对实验组与对照组进行比较分析,在一定时间内可以观察到甲状腺激素在体内的各项指标。Gal等^[2]对12条狗实施了甲状腺全切除术,并将部分切下的甲状腺组织切成碎片保存,1周后将解冻的甲状腺组织移植到甲状腺全切后的实验狗的胸锁乳突肌内及大网膜处,对实验动物体内甲状腺各项指标不同时期监测,以及应用同位素扫描方法可见移植区有显著的放射性浓聚,组织学也表明移植部位存在甲状腺组织。上述各动物实验结果同时说明:1)甲状腺自体移植可以很好存活,并且可以发挥内分泌作用;2)内分泌腺的移植部位对移植发挥内分泌作用影响不大。实验还有不足之处,主要在于实验都是将正常动物的甲状腺切除而建立的动物模型,而这些动物模型的建立与要研究的因甲状腺

【作者简介】吴兆宇(1986-11~),男,河北唐山人,硕士,研究方向:甲状腺乳腺。

Tel:18249516607 E-mail:wuzhaoyu1111100@163.com

疾病行甲状腺切除或¹³¹I治疗的患者有着本质的不同:实验动物体内没有甲状腺疾病患者体内的免疫功能、内分泌功能紊乱的状态,因此通过这些动物模型身上而得出来的结论是否适用于甲减患者,尚待进一步研究。

1.2 人体试验 Sheverdin^[3]对 246 例甲状腺功能亢进术后实施甲状腺组织自体移植患者进行了长期调查研究,结果显示,所有被观察者的甲状腺功能亢进症状均消失,术后大约有 3.2% 的患者在 6 个月内出现了轻度的甲减表现;而在未实施甲状腺自体移植的对照组,同期有 6.6% 的患者出现了术后甲减,2 组的甲减发生率差异具有统计学意义;调查结果表明术后甲减可能通过甲状腺组织的自体移植预防。Pankaj 等^[4]也对 15 例良性甲状腺疾病患者进行了调查研究,包括 7 例 Graves 病患者和 8 例结节性甲状腺肿患者,都是通过实施改良的甲状腺次全切除术进行了原始疾病的治疗,并将甲状腺组织移植部位选为患者的胸锁乳突肌;术后检测证明 8 例结节性甲状腺肿患者中有 6 例被移植的甲状腺组织有内分泌功能,7 例 Graves 病患者中有 4 例有功能;在移植后 6 个月内,8 例结节性甲状腺肿患者的甲状腺功能都保持在正常状态,而被证明的移植后甲状腺组织有功能的 4 例 Graves 病患者中仅有 1 例甲状腺功能保持在正常状态,另外的 3 例患者为保持正常的甲状腺功能不得不口服甲状腺激素维持;调查结果显示 Graves 病患者移植成功率较结节性甲状腺肿患者略低,可能与 Graves 病患者体内的免疫功能障碍,造成体内内环境紊乱有关。Shimizu 等^[5]报道,4 例患者均因甲状腺疾病实施了甲状腺次全切除术,术中部分甲状腺组织冷藏保存,术后服用左旋甲状腺素片,服用时间不等,解冻的甲状腺组织切成小的碎片,移植到患者的前臂肌肉内,移植术后,4 例患者的甲减症状均得到了改善,3 例患者停用甲状腺激素(thyroxin),另 1 例患者停用甲状腺激素半年后,促甲状腺激素释放激素(thyrotropin-releasing hormone, TSH)水平逐步升高,不得不继续运用药物治疗;4 例患者术后均无甲状腺功能亢进复发,移植术 1 年后对其中 2 例患者行¹²³I显像发现,患者的前臂肌肉内有明显的放射性核素聚集,通过病理结果和免疫组织化学结果以及¹²³I显像的结果来看,移植的甲状腺组织是有功能的,并且在术后甲状腺功能恢复上起作用,其中须继续替代治疗的患者,在移植后 1 年内血中促甲状腺素受体抗体(thyrotrophin receptor antibody, TRAb)水平

有升高的表现,在其后的时间内一直保持在正常状态,而其中 1 例患者移植后的 TRAb 水平一直保持在正常状态,但是 TSH 水平却在 20 uIU/mL 左右,证明此患者存在亚临床甲减,其余的 2 例患者,TRAb 水平逐步升高至 70%~80%,而这 2 例患者术后甲状腺功能都保持在正常状态;分析可能原因是患者体内升高的 TRAb 水平刺激了移植部位的甲状腺组织并使其释放甲状腺激素,而 TRAb 水平保持在正常状态下的 2 例患者,都有甲状腺激素分泌不足的现象,1 例再次服用了甲状腺激素,另 1 例则存在亚临床甲减。

通过对上述的文献分析和研究结果,不难看出,不可逆性甲减的治疗通过甲状腺组织自体移植的疗效是值得肯定的,但仍然存在缺点,例如,自体甲状腺组织移植的风险:需要移植多少克甲状腺组织才能使甲状腺功能维持在正常的状态,而又不引起机体甲状腺功能亢进复发?还需要更长时间地跟踪调查甲状腺自体组织移植后的长期效果。另外,¹²³I治疗甲状腺功能亢进日益普及,因应用¹²³I治疗引起的甲减患者日益增多,之后的研究应考虑到此类甲减患者。而且上述报道及研究的病例,甲状腺自体移植部位多选择在一些浅表的肌肉进行,并没有选择甲状腺生长的部位即甲状腺床区,应考虑是否可以进行甲状腺组织的原位移植,或者对同一研究个体实施多部位移植,都需要进一步研究分析。

2 从胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)逐步诱导成甲状腺细胞并进行组织移植

ESC 之所以得到重视是因为其自我更新能力强和具有多种细胞分化潜能且免疫原性低的特征,研究源自 1981 年小鼠 ESC 建系成功,现在利用 ESC 诱导成为各种细胞的研究及用所诱导的细胞治疗疾病的研究日益增多, Lin 等^[6]将小鼠 ESC 接种于 DMEM 培养基,加入营养成分及所需因子,进行细胞培养,并对培养过程中出现的甲状腺干细胞进行收集,采用 RT-PCR 技术对具有甲状腺特异表达基因的细胞进行检测。结果表明,从第 6 天起,具有甲状腺细胞特异基因的 Na⁺/I⁻同向转运体(NIS)、甲状腺过氧化物酶(thyroid peroxidase, TPO)、甲状腺球蛋白(thyroglobulin, Tg)和 TSH 受体(TSH receptor, TSHR)的细胞出现了。Arufe 等^[7]将含 TSHR⁺ ESC 的培养基进行培养,可以得到甲状腺滤泡样细胞集落,培养出的细胞集落可以表现出甲状腺滤泡细胞的特性,且通过免疫荧光验证,培养出的滤泡样细胞集落同时可以表达 TSHR 和 NIS,而且这些细胞

还可以摄取碘。Lin 等^[6]和 Arufe 等^[7]的细胞培养研究证明培养基内的 ESC 可以定向分化为甲状腺滤泡细胞。刘雄英等^[8]将 E14 小鼠的 ESC 株在培养基内成功培养并诱导成甲状腺细胞,通过 RT-PCR 方法检测甲状腺细胞相关分子,结果显示诱导细胞中可见 TSHR、NIS 表达,而且同时有 TPO、Tg 等基因的表达,这证明诱导细胞中含有甲状腺细胞。可以证明 ESC 在适合的培养基下,在适合的诱导条件下可被定向诱导分化为甲状腺细胞,此实验的成功有望解决组织移植中自体组织不足的难题。但此研究仍存在着问题:1)ESC 供体的来源,涉及到道德伦理问题,未来的研究将受到限制;2)ESC 虽然能在一定条件下被定向诱导分化成甲状腺细胞,但还未发现有甲状腺细胞特有的表面标志分子的细胞,所以定向诱导成熟的甲状腺细胞,并具有高分泌功能还需更进一步研究。

3 从成体干细胞诱导成甲状腺细胞

所谓的成体干细胞是指存在于一种已经分化成成熟组织中的未分化细胞,这种细胞不同之处是具有自我更新能力并且能够在特定条件下形成成熟的细胞。机体的各种组织器官中均可存在成体干细胞。成年个体各种组织中存在的成体干细胞,在正常情况下大多处于休眠状态,在病理状态或在外因诱导下可以表现出不同程度的再生和更新能力。现利用骨髓间充质细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 诱导成甲状腺前体细胞已经有了初步进展。依据 Azizi 等^[9]的方法,张勤和刘东源^[10]取患者骨髓血,加入到 Percoll 淋巴细胞分层液中,在 LG-DMEM 培养液中培养。取第 3 代 BMSCs 培养液,向甲状腺细胞诱导,主要用含促甲状腺素等因子诱导,诱导培养结束后经胰酶消化诱导细胞,显微镜下关注细胞形态学变化,结果:胞核呈卵圆形,细胞呈克隆样生长,形成不同大小的集落。BMSCs 向甲状腺细胞诱导生成甲状腺细胞是一个多因子参与的过程,其中主要有促甲状腺素、胰岛素或类胰岛素生长因子等刺激因子,这些因子在甲状腺细胞发育、定向分化、具有基因表达功能(即内分泌功能)等方面具有不可替代的作用,BMSCs 定向诱导试验中还加入了 L-谷氨酰胺等促进因子,使 BMSCs 成功定向诱导成甲状腺细胞,此实验的优点在于:1)避免了 ESC 所产生的伦理问题;2)实验所需 BMSCs 取材相对较简单,且 BMSCs 经反复传代,仍能保持多向分化潜能。当然实验也有许多不足之处:1)怎样掌控微环境的调节,使 BMSCs 能定向分化成甲状腺细胞,并具有内分泌功能;2)怎样避

免 BMSCs 的过度诱导及分化,甚至导致瘤样变不良后果等;3)BMSCs 提取时疼痛,且费用相对昂贵,患者不容易接受等。

基于对此的考虑,外周血造血干细胞诱导成甲状腺细胞成为了又一种可行手段,景华等^[11]在治疗 1 型糖尿病合并甲减时,应用外周血造血干细胞的再输注的方法,2 例患者糖尿病症状缓解的同时,其甲减的症状也有一定的好转,这一报道说明再输注外周造血干细胞对缓解 2 例患者甲减的症状起到了一定作用,分析可能原因为再输注的外周造血干细胞对甲状腺功能有一定影响,或是促使甲状腺分泌功能增强,或是其本身再生为具有分泌功能的甲状腺细胞,但具体原因有待进一步实验证明。

4 结语

再生医学主要分 2 步:第一步把已分化的细胞(如皮肤的细胞)退回多潜能状态的细胞(多能干细胞);第二步把多能干细胞变成需要的细胞(比如肾脏的细胞)。前面所阐述的主要是第二步的研究,而 2012 年诺贝尔生理学或医学奖获得者 Gurdon 研究的是分化的细胞是否能退回多能细胞,山中伸弥研究的是用什么分子可以将分化的细胞退回多能干细胞。虽然现在还不能非常清楚 2 位学者的成果最后应用意义有多大,但其为将来再生医学选择细胞的范畴扩大到了人体的任何细胞。在新的世纪里再生医学必将有更多突破,医学前景将无限光明。

参 考 文 献

- [1] Papaziogas B, Antoniadis A, Lazaridis C, et al. Functional capacity of the autograft, an experimental study[J]. J Surg Res, 2002,103(2): 223-227.
- [2] Gal I, Miko I, Furka, et al. Autotransplantation of cryopreserved thyroid tissue in dogs[J]. Magy Seb, 2005,58(2):93-99.
- [3] Sheverdin I. The results of a 15-year observation of patients with an autotransplant of thyroid gland fragments performed to prevent postoperative hypothyroidism [J]. Vestn Khir Im II Grek, 1992,148(2):152-156.
- [4] Pankaj GR, Mandeep SS, Tej KT, et al. Fate of human thyroid tissue autotransplants[J]. Surgery Today, 2003,33(8):571-576.
- [5] Shimizu K, Kumita S, Kutamura Y, et al. Trial of autotransplantation of cryopreserved thyroid tissue for postoperative hypothyroidism in patients with Graves disease[J]. J Am Coll Surg, 2002,194(1):14-22.
- [6] Lin RY, Kubo A, Keller GM, et al. Committing embryonic stem cells to differentiate into thyrocyte-like cell in vitro [J]. Endocrinology, 2003,144(6):2644-2649.
- [7] Arufe MC, Lu M, Kubo A, et al. Directed differentiation of mouse embryonic stem cells into thyroid follicular cells [J]. Endocrinology, 2006,147(6):3007-3015.

- [8] 刘雄英,蒋宁一,张绪超,等.体外诱导胚胎干细胞分化为甲状腺细胞的初步研究结果[J].中国热带医学,2008(47):2122-2124.
- [9] Azizi SA, Stokes D, Augelli BJ, et al. Engraftment and migration of human bone marrow stromal cells implanted in the brains of albino rats—similarities to astrocyte grafts [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998,95(7):3908-3913.
- [10] 张勤,刘东源.成人骨髓间充质干细胞向甲状腺细胞诱导分化[J].中国组织工程研究即临床康复,2011,15(06):951-954
- [11] 景华,陈文怡,李克良,等.自体造血干细胞回输治疗1型糖尿病2例[J].东方国防医药,2009,11(3):202-206.

(收稿日期:2012-11-09)
(本文编辑:周立波;技术编辑:张珂)