

间充质干细胞治疗糖尿病的研究进展

郭庆, 李冠琳, 李丹, 刘慧, 魏炜, 于洋(通信作者)

北京大学第三医院临床干细胞研究中心(北京 100191)

[摘要] 糖尿病是一种以血糖水平升高为主要特征的代谢紊乱性疾病, 长期高血糖状态可导致多种并发症, 对公众健康造成严重威胁。糖尿病的治疗方法包括改变生活方式、口服降糖药物、胰岛素替代治疗和胰腺移植等, 然而这些疗法均不能达到理想的治疗效果。因此, 探索治疗糖尿病、维持治疗效果的替代方法迫在眉睫。近年来, 干细胞移植被认为是治疗糖尿病的潜在方法, 间充质干细胞(MSC)因来源广泛、成瘤性低、伦理学争议少等优势广受学者青睐。本研究就间充质干细胞治疗糖尿病的研究进展作一综述。

[关键词] 间充质干细胞; 1型糖尿病; 2型糖尿病; 胰岛 β 细胞

[中图分类号] R322.491 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1002-2376(2023)06-0161-04

当前, 全世界有约 4.5 亿糖尿病患者, 其发病率呈逐年上升趋势^[1]。因此, 探索一种安全可靠的

基金资助: 国家自然科学基金项目(82101780); 北京大学第三医院临床重点项目(BYSYZD2021031)

收稿日期: 2022-12-29

认知需求, 再通过定期开设讲座, 提高患者自我护理意识; T 为时限性, 是通过加强与患者沟通, 提高完成护理目标的积极性, 从而在规定时间内完成目标。SMART 原则通过上述一系列规范的流程, 可循序渐进增强患者自护意识, 养成健康饮食、规律运动等健康行为, 提高自我护理能力, 有利于疾病的控制。同时, 穿刺部位出血、假性动脉瘤等是冠状动脉造影检查后常见并发症, 本研究采用多形式宣教的方法告知患者预防并发症发生, 促使患者检查后积极做好自我护理, 从而有效减少并发症的发生。基于 SMART 原则的安全管理通过随访制定新的目标, 可实现长期监管护理, 促使患者出院后仍能遵医嘱健康饮食、运动等, 有利于生活质量的提升。

综上所述, 基于 SMART 原则的安全管理用于行冠状动脉造影检查的冠心病患者中效果良好, 能够提升自我护理能力, 减少并发症的发生, 有利于生命质量的改善。

[参考文献]

- [1] 廉爱玲, 孙宽, 马丽娜. 基于移动网络信息平台的分级诊疗护理管理在冠心病患者康复护理中的应用 [J]. 中华现代护理杂志, 2022, 28(16): 2220-2225.
- [2] 王冬花. 冠状动脉造影及支架植入术后局部出血危险因素分析及护理分析 [J]. 中国药物与临床, 2021, 21(1): 178-180.
- [3] 张羿, 陈芬, 皮文婕, 等. 简化手指操对冠状动脉造影术后桡动脉闭塞及相关并发症的预防作用 [J]. 蚌埠医学院学报, 2022, 47(2): 278-280.
- [4] 郭源, 边钱钱, 王新宇, 等. 临床护理路径对冠状动脉介入术后患者造影剂肾病的预防效果 [J]. 中国实用护理杂志, 2020, 36(11): 801-806.
- [5] 柳玉华. 系统化护理干预对 64 排螺旋 CT 冠状动脉造影图像质量及患者不良情绪的影响 [J]. 国际护理学杂志, 2018, 37(13): 1851-1854.
- [6] 葛均波, 徐永健, 王辰. 内科学 [M]. 9 版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 218-227.
- [7] 朱燕波. 生命质量(QOL) 测量与评价 [M]. 人民军医出版社出版, 2010: 61-62.
- [8] 耿旭, 孙静华, 刘海霞. 螺旋 CT 冠状动脉血管造影检查过程中的护理干预及效果评价 [J]. 护士进修杂志, 2019, 34(15): 1402-1404.
- [9] 何莲, 张雪兰, 马霞, 等. 综合护理对改善冠状动脉造影患者血压、心率与术后并发症的效果 [J]. 国际护理学杂志, 2019, 38(12): 1854-1856.
- [10] 赵园媛. 冠状动脉造影术及支架植入患者日间手术的护理 [J]. 护士进修杂志, 2018, 33(8): 742-743.
- [11] 曹文美, 杨艳平, 陆玉蓉. 超早期手指操锻炼在经桡动脉冠脉造影术后患者中的应用 [J]. 中国临床研究, 2022, 35(2): 294-296.
- [12] 荣淑静, 刘海霞, 郑小红, 等. SMART 护理原则预防老年患者经桡动脉行冠脉造影后发生迟发性术肢血肿的价值 [J]. 西部医学, 2018, 30(5): 764-768.

成。此外, MSC 又因具有免疫原性低, 伦理争议少等优点, 已被广泛应用于多种疾病的治疗研究中。本研究就 MSC 治疗糖尿病的研究进展综述如下。

1 糖尿病概述

糖尿病是一类以血糖水平升高为主要特征的慢性代谢性疾病, 持续的高血糖状态可导致多种微血管和大血管并发症, 进而引发人体多器官功能障碍, 严重危害患者健康和生命质量。目前, 临幊上最为普及的治疗糖尿病方法是口服降糖药物和皮下注射胰岛素, 但上述方法只能缓解症状, 并不能根治糖尿病, 且不能精确调控患者血糖水平; 同时, 长期注射胰岛素也会造成患者身体和心理上的双重负担。胰腺移植技术自问世以来, 就被众多学者公认为是治疗糖尿病和降低并发症风险的有效治疗策略, 但移植后的免疫排斥反应、供体供应不足、伦理学争议等因素成为制约其广泛应用的主要障碍。

2 MSC 治疗糖尿病的机制

由于 MSC 具有强大的自我更新能力和分化潜力, 一方面, 部分研究人员致力于在体外将 MSC 定向诱导分化为胰岛素分泌细胞 (insulinproducing cell, IPC) 后, 重新移植到患者体内, 替代受损 β 细胞治疗糖尿病; 另一方面, MSC 可分泌肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-6 (interleukin-6, IL-6)、转化生长因子- β (transforming growth factor β_1 , TGF- β)、表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 等多种可溶性因子, 并根据其在微环境中接收到信号的类型和强度, 调节炎症反应, 抑制 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、NK 细胞、树突状细胞、巨噬细胞和中性粒细胞的功能, 参与调节免疫应答。此外, 在组织修复过程中, MSC 还能通过旁分泌作用保护残余 β 细胞, 提升外周靶组织的胰岛素敏感性, 抑制氧化应激, 刺激毛细血管生成, 促进细胞增殖, 减少细胞凋亡。

3 MSC 治疗 1 型糖尿病

1 型糖尿病 (type 1 diabetes mellitus, T1DM) 多发于儿童和青少年, 其特征是胰岛 β 细胞, 发生自身免疫性破坏, 导致胰岛素分泌不足。T1DM 的发病机制是由遗传和免疫因素等共同作用, 胰岛 β 细胞被树突状细胞、巨噬细胞和 T 淋巴细胞浸润并破坏。因此, T1DM 的临床干预主要侧重于改变胰腺微环境以克服 T 细胞介导的自身免疫功能障碍, 保护 β 细胞并恢复免疫稳态, 以移植外源性 IPC 来替代受损的 β 细胞, 从而恢复糖代谢。

MSC 能够在移植早期减轻胰岛炎症损伤, 通过分泌调节性细胞因子控制自身反应性 T 细胞和同种异体反应性 T 细胞 (CD4 $^+$ 和 CD8 $^+$ T 细胞) 水平,

并通过多方面免疫调节作用抑制胰岛炎症, 恢复糖代谢。已有动物实验结果表明, 在小鼠模型中, 静脉输注的骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC) 能够迁移到胰岛。使用链脲佐菌素 (Streptozotocin, STZ) 诱导非肥胖糖尿病 (non obese diabetic, NOD) / 重症联合免疫缺陷 (severe combined immunodeficient, SCID) 小鼠构建糖尿病模型, 发现尾静脉注射 BMSC 可延迟小鼠糖尿病发病进程, 使胰岛炎症减轻, 促进胰腺组织再生。在 NOD 小鼠模型上, 有学者证明了 MSC 可参与调节免疫反应, 防止 β 细胞被自身免疫系统攻击^[1]。在 2013 年的一项双盲研究^[2] 中, 研究人员对 T1DM 早期患者静脉输注脐带间充质干细胞 (Umbilical cord mesenchymal stem cell, UCMSC) 或生理盐水, 并进行 24 个月随访, UCMSC 治疗组在所有时间点的餐后血糖和糖化血红蛋白测定值均显著低于对照组, C 肽水平也更高。另一项使用患者自体 BMSC 治疗早期 T1DM 的完全对照研究中表明, 治疗组的 C 肽水平在一年内也得到了保持或改善^[3]。在糖尿病环境下, MSC 的存活、迁移、分化、增殖和旁分泌等能力, 均低于正常 MSC。因此, 为了成功进行糖尿病患者自体 MSC 治疗, 提高糖尿病 MSC 的增殖效率就显得尤为重要。Zare 等^[4] 采用波长为 632.8 nm 的氦氖激光, 能量密度为 0.5、1、2 J/cm², 辐射周期为 1、2、3 次, 处理大鼠 BMSC, 检测正常 MSC、糖尿病 MSC 和激光照射后糖尿病 MSC 的存活、增殖和凋亡情况; 结果显示糖尿病 MSC 的存活率和增殖率显著低于对照组, 群体倍增时间和凋亡率显著高于对照组, 而能量密度为 1 J/cm², 周期为 1~2 次的光生物调节, 对糖尿病 MSC 的存活、增殖和凋亡均有一定的促进作用, 提示光生物调节可作为糖尿病 MSC 自体移植前的预处理步骤, 以提高移植后的存活和增殖能力。

除 MSC 的免疫调节作用, 在特定条件下, MSC 可被诱导分化为 IPC, 从而发挥治疗 T1DM 的作用。有研究团队分别将 MSC 和 IPC 通过腹腔注射进入 STZ 诱导的大鼠模型体内, 比较二者治疗 T1DM 的潜力, 结果显示二者均可降低糖尿病大鼠的血糖水平, 但 IPC 治疗组的血糖水平可更早得到控制, 且在促进胰腺内源性再生方面, IPC 的能力也优于 MSC, 提示将 MSC 诱导分化为 IPC 治疗 T1DM 更具潜力^[5]。因此, 明确 BMSC 胰岛素表达调控的分子机制, 可为刺激 MSC 分化为 IPC 提供线索, 完善 T1DM 的治疗手段。Zhang 等^[6] 发现以小鼠 Ins2 基因启动子序列为模板, 鸡卵清蛋白上游启动子转录因子 I (chicken ovalbumin upstream promoter transcriptional factor I, COUP-TFI) 可与 Ins2 启动子特定区域结合, 从而负调控启动子的活性, 所以

敲除 COUP-TFI 基因可促进 BMSC 向 IPC 分化, 可能为 MSC 治疗 T1DM 提供一种新思路。而另一项研究^[7]表明, BMSC 与胰岛干细胞 (pancreatic stem cell, PSC) 共培养后, BMSC 中 PSC 标志物巢蛋白 (Nestin) 和神经元素 3 (Neurogenin3, Ngn3) 的 mRNA 和蛋白表达水平均显著升高, 表明它们被成功地靶向诱导为 PSC; 此外, 靶向诱导的 BMSC 对糖尿病大鼠血清糖化白蛋白水平、糖原含量及胰岛形态均有改善作用, 除增加胰岛的胰岛素生成外, 还对血清胰岛素和 C 肽含量有显著影响; 该研究证明 PSC 可靶向诱导 BMSC, 且诱导后的 BMSC 对糖尿病大鼠的胰腺有一定的修复作用。近年来, 有多项研究证明, 采用转基因、microRNA 和补充生长因子等方法, 可将 MSC 诱导分化为 IPC 的步骤简化, 缩短分化时间, 但其诱导效率和生物安全性仍然是悬而未决的, 还需更多研究进一步明确。

4 MSC 治疗 2 型糖尿病

2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 是最常见的糖尿病类型, 发病率占所有成人 (20~79 岁) 糖尿病患者的 90% 以上, 其发病机制与肝脏、脂肪和肌肉等胰岛素靶向组织细胞对胰岛素的反应性降低有关, 最初会使胰岛素分泌增加, 以维持血糖稳态, 随着病程发展, β 细胞会逐渐发生功能障碍和死亡。T2DM 常见的病理表现包括空腹血糖升高、由于胰岛 β 细胞耗尽而从最初的高胰岛素血症转变为低胰岛素血症、脂质代谢调节激素水平改变、相关器官炎症增加以及相关组织中发生脂质堆积或纤维化。因此, 提高胰岛素敏感性、改善 β 细胞的功能及促进 β 细胞存活和增殖是治疗 T2DM 的关键。

胰岛素抵抗作为 T2DM 的初始发病因素, 在 T2DM 的发展过程中起着至关重要的作用。正常情况下, 胰岛素通过刺激葡萄糖转运蛋白 4 (glucose transporter 4, GLUT4) 转位调控脂肪组织和骨骼肌吸收葡萄糖, 维持血糖稳态, 当出现胰岛素抵抗时, GLUT4 表达水平下降, MSC 可促进 T2DM 大鼠 GLUT4 的表达和转位, 提高外周靶组织的胰岛素敏感性。此外, MSC 还可通过促进巨噬细胞由促炎功能的 M1 型向抗炎功能的 M2 型转变, 缓解胰岛素抵抗。 β 细胞功能障碍和死亡是 T2DM 的另一个主要特征, 常发生于糖尿病发作数年的患者。动物实验证明, 多次输注 BMSC 可提高高脂饮食小鼠胰岛素敏感性的同时, 促进高血糖和胰岛细胞凋亡的持续降低。在人类临床试验^[8]中, 经 MSC 注射后, T2DM 患者的胰岛 β 细胞功能也得到了改善, 糖尿病并发症发生率降低。长期以来, 2 型糖尿病一直被认为是一种慢性炎症性疾病。炎症因子长期过度刺激, 会导致胰岛 β 细胞分泌胰岛素的功能受损。Pan 等^[9]发现移植 UCMSC 后, T2DM 树鼩血

清 IL-6 和 TNF- α 水平均显著降低, 提示 MSC 可通过调节炎症因子的分泌来减轻炎症。

最近, 越来越多的研究人员使用 MSC 与药物联合治疗 T2DM, 并取得了一些成果。利拉鲁肽作为一种人胰高糖素样肽 -1 类似物, 主要用于治疗 T2DM。Chen 等^[10]发现, 利拉鲁肽可减轻胰岛 β 细胞凋亡, 并可诱导 UCMSC 向 IPC 分化, 与利拉鲁肽或 UCMSC 单独治疗相比, 二者联合治疗可显著改善 T2DM 大鼠的糖代谢, 抑制胰岛 β 细胞凋亡。地西他滨被广泛应用于血液恶性肿瘤患者抗肿瘤治疗, 是一种 DNA 甲基转移酶抑制剂, 在动脉粥样硬化和急性心肌梗死模型中均发现其可通过促进巨噬细胞向 M2 型极化发挥抗炎作用。Gao 等^[11]采用与人类临床推荐相似的低剂量地西他滨与 MSC 联合治疗, 发现可延长和增强 MSC 的抗糖尿病作用, 有效缓解 T2DM 小鼠的胰岛素抵抗, 而这种作用正是通过过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 依赖途径促进巨噬细胞向 M2 极化实现的。众所周知, 二甲双胍是一类最常见的用于治疗 T2DM 的药物。研究^[12]表明, 经二甲双胍预处理的脂肪 MSC 可降低 T2DM 小鼠的高血糖, 效果显著优于单用二甲双胍和单用 ASC, 且小鼠肌肉组织中 GLUT4 基因水平显著上调, 表明该组小鼠肌肉葡萄糖摄取增强。而在另一项体外实验^[13]中, 研究人员却发现, 在与二甲双胍共同孵育 14 d 后, 人 BMSC 的血管内皮细胞生长因子受体 2 和酪氨酸激酶受体 -2 表达下调, 血管内皮细胞钙粘蛋白表达水平较对照组降低, 表明 BMSC 经二甲双胍长时间孵育后血管生成能力下降。二甲双胍对 MSC 的矛盾作用, 可能与实验方案不同有关, 未来还需更多研究明确二甲双胍对 MSC 的作用机制。

MSC 可以合成大量生物活性分子, 如细胞因子、生长因子、趋化因子等, 并通过旁分泌信号通路参与组织修复。体外条件下, 这些营养因子广泛存在于干细胞的培养基中, 这种培养基被称为条件培养基, 越来越多的证据支持间充质干细胞条件培养基 (mesenchymal stem cell conditioned medium, MSC-CM) 具有缓解 T2DM 的作用。Kim 等^[14]在分化的 小鼠 3T3-L1 脂肪细胞中建立体外诱导胰岛素抵抗模型, 使用犬脂肪组织来源的 MSC-CM 处理后, 检测发现与胰岛素抵抗模型相比, GLUT4 的 mRNA 和蛋白表达水平升高, 提示体外模型的胰岛素抵抗得到改善。研究^[15]发现, MSC-CM 可促进 STZ 诱导的 T2DM 小鼠胰岛细胞增殖, 甲状腺来源的 MSC-CM 可改善高脂饲料诱导的 T2DM 小鼠葡萄糖耐受不良情况, 并在 MSC-CM 中鉴定出多种蛋白质, 为今后研究 MSC 的旁分泌作用提供基础。另一方面, 除了营养因子外, MSC 还可产生一种含有 mRNA、miRNA、DNA 和蛋白质等多种物质的微小囊泡,

即 MSC 来源的外泌体，可参与细胞间信号传递，具有与 MSC 相似的生物学功能和作用。UCMSC 来源的外泌体可以通过增强自噬来改善 T2DM 大鼠肝脏糖脂代谢，从而有效缓解高血糖，为其在临床治疗 T2DM 的作用提供了新的证据。糖尿病增加了患者中风的风险，促进炎症反应，并加剧了中风后血管和神经白质损伤，阻碍了患者功能恢复。动物实验^[16]表明，与 T2DM 病人对照组相比，经 BMSC 来源的外泌体治疗的 T2DM 病人中大鼠表现出紧密连接蛋白表达显著增加和血脑屏障功能改善，大鼠神经功能显著恢复，这可能与外泌体通过 miR-9/三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 (ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1) 通路参与神经白质重塑和抗炎反应有关。由此，以上研究证明，无论是条件培养基，还是外泌体，MSC 的旁分泌作用均可作为治疗 T2DM 的新靶点。

5 结语

随着生活水平的日益提高，糖尿病的发病率逐年上升，且呈年轻化趋势，至今尚未找到彻底治愈的方法。MSC 不但在基础研究方面有着巨大潜力，在临床应用方面也有广阔的前景，无论是将其定向诱导分化为 IPC，还是利用它的免疫调节或旁分泌等作用，都为糖尿病的治疗提供了新的思路。然而，目前还有一系列相关问题亟待解决，如 MSC 的注射剂量、频率、方式等尚无统一标准，其长期安全性和有效性评价也需要长时间随访评估确定。相信随着研究的不断深入，MSC 将会在治疗糖尿病领域有更多贡献。

【参考文献】

- [1] 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.
- [2] Hu JX, Yu XL, Wang ZC, et al. Long term effects of the implantation of Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells from the umbilical cord for newly-onset type 1 diabetes mellitus [J]. Endocrinology, 2013, 160(3): 347–357.
- [3] Carlsson PO, Schwarcz E, Korsgren O, et al. Preserved beta-Cell Function in Type 1 Diabetes by Mesenchymal Stromal Cells [J]. Diabetes, 2015, 64(2): 587–592.
- [4] Zare F, Bayat M, Aliaghaei A, et al. Photobiomodulation therapy compensates the impairments of diabetic bone marrow mesenchymal stem cells [J]. Laser Med Sci, 2020, 35(3): 547–556.
- [5] Domouky AM, Hegab AS, Al-shahat A, et al. Mesenchymal stem cells and differentiated insulin producing cells are new horizons for pancreatic regeneration in type I diabetes mellitus [J]. Int J Biochem Cell B, 2017, 87: 77–85.
- [6] Zhang T, Li XH, Zhang DB, et al. Repression of COUP-TFI Improves Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cell Differentiation into Insulin-Producing Cells [J]. Mol Ther-Nucl Acids, 2017, 8: 220–231.
- [7] Zhang J, Mao RN, Wang XY, et al. Targeted induction of bone marrow mesenchymal stem cells to have effectiveness on diabetic pancreatic restoration [J]. In Vitro Cell Dev-An, 2019, 55(6): 453–461.
- [8] Hu JX, Wang YG, Gong HM, et al. Long term effect and safety of Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells on type 2 diabetes [J]. Exp Ther Med, 2016, 12(3): 1857–1866.
- [9] Pan XH, Huang X, Ruan GP, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cells are able to undergo differentiation into functional islet-like cells in type 2 diabetic tree shrews [J]. Mol Cell Probe, 2017, 34: 1–12.
- [10] Wang W, Wu RD, Chen P, et al. Liraglutide combined with human umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation inhibits beta-cell apoptosis via mediating the ASK1/JNK/BAX pathway in rats with type 2 diabetes [J]. Diabetes Metab Res Rev, 2020, 36(2): e3212.
- [11] Gao J, Cheng Y, Hao H, et al. Decitabine assists umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in improving glucose homeostasis by modulating macrophage polarization in type 2 diabetic mice [J]. Stem Cell Res Ther, 2019, 10(1): 259.
- [12] Shree N, Bhonde RR. Metformin preconditioned adipose derived mesenchymal stem cells is a better option for the reversal of diabetes upon transplantation [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2016, 84: 1662–1667.
- [13] Montazersaheb S, Kabiri F, Saliani N, et al. Prolonged incubation with Metformin decreased angiogenic potential in human bone marrow mesenchymal stem cells [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 108: 1328–1337.
- [14] Kim HJ, Li Q, Song WJ, et al. Fibroblast growth factor-1 as a mediator of paracrine effects of canine adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on in vitro-induced insulin resistance models [J]. BMC Vet Res, 2018, 14(1): 351.
- [15] Lee Y, Shin SH, Cho KA, et al. Administration of tonsil-derived mesenchymal stem cells improves glucose tolerance in high fat diet-induced diabetic mice via insulin-like growth factor-binding protein 5-mediated endoplasmic reticulum stress modulation [J]. Cells, 2019, 8(4): 368.
- [16] Venkat P, Zacharek A, Landschoot-ward J, et al. Exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells harvested from type two diabetes rats promotes neurorestorative effects after stroke in type two diabetes rats [J]. Exp Neurol, 2020, 334: 113456.