

doi:10.3969/j.issn.1002-7386.2012.10.033

人脐带间充质干细胞经外周静脉移植治疗失代偿期肝硬化的疗效和安全性研究

王娟 郭庆 邵丽春 武威 宋业朋 王孟岩 张军 陈哲 周波 庄玲

【摘要】目的 探讨人脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cells, HUCMSCs)经外周静脉移植治疗失代偿期肝硬化的临床疗效及安全性。方法 对 21 例肝硬化失代偿期患者采用 HUCMSCs 移植治疗,移植术后 2、4、8、12 周观察血清转氨酶(ALT)、总胆红素(TB)、凝血酶原时间(PT)、白蛋白(ALB)和纤维蛋白原(FIB)水平变化,同时观察临床症状和体征的改善情况及不良反应。结果 除 PT 在术后 8、12 周指标有显著改善($P < 0.05$),术后 4、8、12 周各项肝功能指标均有显著改善($P < 0.05$)。移植后 12 周食欲改善者 15 例(71.4%),乏力好转 12 例(57.1%),腹水减轻 11 例(52.3%)。移植术中和术后未见明显不良反应。结论 HUCMSCs 经外周静脉移植是治疗失代偿期肝硬化是一种有效安全的方法,可以显著改善失代偿期肝硬化患者肝功能及临床症状和体征。

【关键词】肝硬化;人脐带间充质干细胞;移植;治疗

【中图分类号】R 657.31 【文献标识码】A 【文章编号】1002-7386(2012)10-1505-02

失代偿性肝硬化严重危害人类的健康,虽然肝移植是目前最有效的治疗方法,但由于供肝的缺乏,手术技术的复杂和费用的昂贵及术后的免疫排斥等因素限制了其开展的规模,细胞治疗的研究为肝硬化的治疗带来新的治疗前景。2010 年 12 月至 2011 年 8 月,我们采用经周围静脉移植人脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cells, HUCMSCs)治疗失代偿期肝硬化 21 例,以观察移植术后临床症状和肝功能的改善及安全性,报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2010 年 12 月至 2011 年 8 月我科收治的失代偿期乙型肝炎肝硬化患者 21 例,Child-Pugh 分级 C 级,诊断符合 2005 年《病毒性肝炎防治方案》标准。其中男 19 例,女 2 例;年龄 39~56 岁,平均年龄(46 ± 8)岁;平均病程(9 ± 7)

年。无感染、活动性上消化道出血、严重肝昏迷、肝肾综合征、肝癌患者。CT、核磁共振(MRI)或彩超影像学检查均为重度肝硬化、脾大、门脉高压患者,经过内科治疗疗效差。实验室检查包括血清谷丙转氨酶(ALT)、总胆红素(TB)、凝血酶原时间(PT)、白蛋白(ALB)、纤维蛋白原(FBC)、白细胞、血小板。同时给予综合基础治疗。经过医院伦理委员会审查批准,在患者知情同意的情况下,签定《知情同意书》。随访患者至 HUCMSCs 移植后第 12 周。

1.2 脐带间充质干细胞制备 UCMSCs 悬液由深圳北科生物科技有限公司用静脉内酶消化法分离、培养、扩增、纯化后提供,干细胞浓度($2 \sim 5$) $\times 10^7$ /ml,悬液量 30 ml。

1.3 移植途径及方法 患者取仰卧位,采用外周静脉途径使用输血器输注,取肘正中静脉穿刺先用 0.9% 氯化钠溶液建立静脉通道,再连接复温的细胞袋输注 UCMSCs 悬液。滴入的时候注意控制滴速,30 ml 悬液滴注 10 min,再滴入 0.9% 氯化钠溶液 10 ml 冲洗管道。

作者单位:110042 辽宁省沈阳市,中国人民解放军第 463 医院消化内科(王娟、郭庆、邵丽春、武威、宋业朋、王孟岩) 深圳市北科细胞工程研究所(张军、陈哲、周波、庄玲)

1.4 术后观察 术后 2、4、8、12 周观察 ALT、TB、PT、ALB、FBG、白细胞、血小板水平变化,观察临床症状(食欲、精神、体力、腹胀、腹水、下肢水肿)改善情况及不良反应。移植后 4、8、12 周行对肝胆脾行 CT、核磁共振(MRI)或彩超影像学检查

1.5 统计学分析 应用 SPSS 13.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 移植成功率及不良反应 21 例患者均成功输入 HUCMSCs 悬液,除 2 例有低热外,无呼吸困难、静脉炎等其他并发症发生。

2.2 实验室指标 经外周静脉移植 HUCMSCs 后肝功指与移植前比较均有好转($P < 0.05$),白细胞和血小板与移植前比较也有明显改变($P < 0.05$)。见表 1、2。

表 1 HUCMSCs 移植前后实验室检测结果 $n = 21, \bar{x} \pm s$

项目	移植前	移植后 2 周	移植后 4 周	移植后 8 周	移植后 12 周
ALT (U/L)	92 ± 20	85 ± 25	61 ± 22 *	51 ± 19 *	42 ± 21 *
TB (μmol/L)	86 ± 24	79 ± 32	66 ± 19 *	62 ± 19 *	56 ± 18 *
PT(s)	20.0 ± 5.1	19.6 ± 6.4	17.3 ± 9.8	14.7 ± 1.7 *	14.8 ± 3.3 *
ALB (g/L)	27.1 ± 3.2	27.9 ± 4.1	30.1 ± 1.5 *	31.2 ± 2.5 *	32.0 ± 3.1 *
FBG (g/L)	1.6 ± 0.3	1.6 ± 0.3	2.0 ± 0.4 *	2.2 ± 0.5 *	2.2 ± 0.4 *

注:与移植前比较, * $P < 0.05$

表 2 HUCMSCs 移植前后白细胞及血小板变化 $n = 21, \times 10^9/L, \bar{x} \pm s$

项目	移植前	移植后 2 周	移植后 4 周	移植后 8 周	移植后 12 周
白细胞	2.41 ± 0.49	2.63 ± 1.25	3.47 ± 0.76	3.82 ± 0.63 *	4.05 ± 0.84 *
血小板	62 ± 20	60 ± 27	63 ± 15	110 ± 58 *	110 ± 81 *

注:与移植前比较, * $P < 0.05$

2.3 症状、体征改善情况 移植后大部分患者的临床症状和体征有所改善,12 周时改善明显。改善率分别为食欲改善 15/21(71.4%)、精神好转 16/21(76.2%)、体力增加 12/21(57.1%)、腹胀减轻 11/21(52.3%)、腹水减少或消失 11/21(52.3%),下肢水肿减轻或消失 10/21(47.6%)。

2.4 术后影像学表现 移植后 4、8、12 周肝胆脾 CT、核磁共振(MRI)或彩超影像学检查结果显示患者的左右肝叶大小和食道静脉曲张无显著改变。

3 讨论

3.1 HUCMSCs 作为干细胞治疗肝硬化的可行性 肝细胞损伤后再生修复主要来源于三种细胞系,肝细胞、肝内干细胞、肝外干细胞^[1]。作为肝外干细胞源干细胞治疗方法^[2],使用 HUCMSCs 移植治疗终末期肝硬化正成为一个研究热点。研究发现 HUCMSCs 在体外适宜的条件下可向靶细胞转化。在肝细胞生长因子(HGF)、成纤维细胞生长因子、表皮生长因子和其他细胞因子的刺激下,通过特殊的信号通路分化成形态、表型与肝细胞相似的细胞,并具备肝细胞的功能,移植后这些功能可以随之转移到受者^[3]。间充质干细胞具有自我更新和扩增的能力细胞,大量存在于脐带,并可以从中提取并具有低免疫原性特征^[4]。虽然骨髓间充质干细胞应用于临床治疗终末期

肝硬化较早,由于骨髓抽取有创,增加了患者痛苦及治疗过程的风险^[5]。而 HUCMSCs 具有来源丰富、获取无创等优点,成为干细胞治疗肝硬化的研究方向。21 例患者输入 HUCMSCs 悬液均获得成功,低热 2 例,无其他不良反应,安全可行。

3.2 HUCMSCs 移植治疗效果 本组病例在选择上除外了感染、活动性上消化道出血、严重肝昏迷、肝肾综合征、肝癌患者,为干细胞进入人体后供较好的生长环境。从表 1 HUCMSCs 移植后肝功各项指标的检测结果可见,移植后 4、8、12 周 ALT、TB 下降与移植前比较明显,PT 移植后 8、12 周与移植前有显著缩短,ALB、FBG 在移植后 4、8、12 周显著上升。以上指标与移植前比较,差异有显著性意义($P < 0.05$)。从表 2 可见患者外周白血细胞及血小板水平在移植后 8、12 周较术前上升明显,差异有统计学意义($P < 0.05$)。实验结果表明使用 HUCMSCs 经外周静脉移植治疗肝硬化可明显改善失代偿期肝硬化患者的部分症状和体征,使实验室指标好转。而对患者的肝脏的体积和食道静脉曲张近期无改善。

3.3 间充质干细胞移植途径选择 本组病例采用经外周静脉输注移植,优点是简单、安全。但 HUCMSCs 要经过全身血液循环才能到达肝脏,对肝脏定居分化的细胞数量可能会有影响。与经股动脉穿刺肝动脉插管输注相比,细胞未能直接到达肝脏,但输入操作风险较小,并发症发生率低,结果证实疗效可靠。

3.4 HUCMSCs 用于干细胞治疗肝硬化的优点 HUCMSCs 来源于临床分娩后废弃的脐带,其来源广泛,取材方便,数量充足。干/祖细胞更原始,增殖能力强,无致瘤性,易于控制病毒、病原微生物感染及传播,无医学伦理道德问题。经处理后,可获得大量的间充质干细胞,可在体外大量扩增并保持未分化状态,免疫原性低,具有向肝细胞分化的潜能。

本研究从临床角度证实 HUCMSCs 移植可以改善肝硬化患者的部分症状和体征及部分肝功能指标,但由于研究的样本小、指标少、观察时间短,HUCMSCs 移植治疗终末期肝硬化的长期疗效及不良反应还需要更多循证医学的证实。

参考文献

1 Weber A, Groyer-Picard MT, Franco D, et al. Hepatocyte transplantation in animal models. Liver Transpl, 2009, 15: 7-14.

2 Yagi K, Kojima M, Oyagi S, et al. Application of mesenchymal stem cells to liver regenerative medicine. Yakugaku Zasshi, 2008, 128: 3-9.

3 Campard D, Lysy PA, Najimi M, et al. Native umbilical cord matrix stem cells express hepatic markers and differentiate into hepatocyte-like cells. Gastroenterology, 2008, 134: 833-848.

4 任红英, 赵钦军, 邢文, 等. 脐带间充质干细胞体外分化为有功能的低免疫原性肝细胞样细胞. 中国医学科学院学报, 2010, 32: 190-194.

5 Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. Nature, 2002, 418: 41-49.

(收稿日期: 2011 - 11 - 24)