

述 评

脐带间充质干细胞的临床应用

王佃亮*

(火箭军特色医学中心药剂科组织工程与再生医学实验室 北京 100088)

2012年1月,韩国食品药品监督管理局(KFDA)批准 Medi-post 公司生产的 Cartistem 干细胞产品上市,主要用于治疗退行性关节炎和膝关节软骨损伤。这种干细胞产品来自新生儿脐带血,称为脐带血间充质干细胞(umbilical cord blood mesenchymal stem cell, UCBMSC);脐带间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cell, UCMSC)来自新生儿脐带组织,主要是从华通氏胶(Wharton's Jelly)中提取的;两种间充质干细胞尽管来源不同,但生物学特性是一致或相似的^[1-3]。2011年12月,原国家卫生部发布《关于开展干细胞临床研究与应用自查自纠工作的通知》(卫办科教函[2011]1177号)。在此之前,脐带间充质干细胞是作为第三类医疗技术在三级甲等医院进行临床研究和应用;通知发布之后,脐带间充质干细胞的临床应用全面停止。但是,可以通过国家卫生主管部门审批后开展临床研究。2017年8月18日,中山大学附属第三医院骨科病房,一位坐轮椅14年的64岁脊髓损伤、下肢瘫痪患者,经过鞘内注射人同种异体脐带间充质干细胞治疗,患者已经能够站立,治疗取得了明显效果。目前,包括脐带间充质干细胞在内的绝大多数干细胞临床应用被作为新药进行管理和审批,开创了干细胞临床应用的新时代。

1 脐带间充质干细胞临床治疗的机制

脐带间充质干细胞移植入体内后,发挥作用的机制是复杂的,有些机制至今也没有完全搞清楚^[3-6]。

1.1 通过归巢与多向分化潜能直接修复或再生损伤的组织器官

在一些全身性损伤(如放射伤、系统性红斑狼疮和创伤性多器官功能不全)和局部创伤等涉及组织细胞变性、坏死、缺失的疾病治疗中发现,无论是通过浅表静脉输入、血管介入、腔隙注射还是定位移植的脐带间充质干细胞均可见到有部分细胞迁移、归巢至损伤组织中,定植于损伤组织中的脐带间充质干细胞可在组织微环境诱导下分化为相应组织类型的功能细胞并整合到组织中,然而在没有组织损伤的健康对照动物体内几乎未见有间充质干细胞分布,说明植入损伤组织的脐带间充质干细胞参与了损伤组织的结构重建。

组织器官损伤后,释放的多种生物活性因子,引导外源的脐带间充质干细胞向损伤部位迁移和归巢,即受损组织器官产生的因子可与间充质干细胞表面的受体结合启动脐带间充质干细胞从血管进入组织并向损伤的组织器官迁移。在受损部位组织器官微环境的诱导下,脐带间充质干细胞进行分裂增殖、定向分化并整合到受损的组织器官中,进行修复或再生患病的组织器官。颅脑损伤、脊柱损伤等创伤性疾病,可以用脐带间充质干细胞治疗。当然,若在短期内达到较好的修复或再生效果,必须植入一定数量的脐带间充质干细胞;植入细胞过少,由于细胞在机体内会有一定数量的凋亡和死亡,会达不到治疗效果。

1.2 通过内分泌、远程分泌和旁分泌功能参与组织器官修复替代

脐带间充质干细胞的治疗作用,过去认为是由于脐带间充质干细胞归巢并定向分化为受损组织器官的功能细胞,来代替受损部位功能障碍的细胞发挥正常生理功能。但是,随着研究的深入,发现脐带间充质干细胞大部分停

收稿日期:2020-03-05

* 通讯作者,电子邮箱:wangdianliang@sina.com

留在肝、脾和肺,到达损伤部位的数量只有不到1%,而且几天后,已经到达靶组织的间充质干细胞大部分发生凋亡而消失,仅有少数间充质干细胞长期驻留在损伤部位。有研究者用基因命运图谱技术显示再生的细胞来自于模型中存活的固有细胞。这些信息提示间充质干细胞对组织器官的修复作用可能不是由于其多向分化能力。间充质干细胞的条件培养基能模拟间充质干细胞修复组织的功能表明,间充质干细胞可能是通过分泌营养因子以内分泌和(或)旁分泌的方式促进组织器官的修复替代。

脐带间充质干细胞能通过内分泌和远程分泌产生数百种细胞因子,包括:①生长因子类 干细胞生长因子(stem cell growth factor, SCGF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β , TGF- β 1)等;②集落刺激因子类 粒-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)、粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)、巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony-stimulating factor, M-CSF)等;③趋化因子 中性粒细胞趋化因子1(neutrophil chemotactic factor, CIWC-1)、单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemoattractant protein, MCP-1)等;④白细胞介素类 白细胞介素6(interleukin 6, IL-6)、白细胞介素8(interleukin 8, IL-8)等;⑤干扰素类 干扰素 γ (IFN- γ)、干扰素 α (TNF- α)、干扰素- β (TNF- β)等;⑥神经营养因子类 神经营养因子(neurotrophic factor, BDNF)、胶质源性神经营养因子(glial derived neurotrophic factor, GDNF)等;⑦酶类 组织基质金属蛋白酶抑制剂1(tissue inhibitor metalloproteinase, TIMP-1)、纤溶酶、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)等。细胞因子的特点是,含量甚微,但作用巨大。这些细胞因子参与细胞的生长、增殖、分化等功能活动,可促进受损组织器官中残留细胞的分裂增殖以及血管生成、神经生成等功能活动,发挥治疗作用。

脐带间充质干细胞还能向细胞外分泌和释放含有种类繁多的蛋白质、RNA、脂质等活性成分的外泌体(exosome, exo),进行细胞间信号传递、调节细胞功能等。许多活细胞都能产生外泌体,但间充质干细胞产生外泌体的能力最强。间充质干细胞产生的外泌体的悬浮密度为1.10~1.18g/ml,其膜表面富含胆固醇、鞘磷脂和神经酰胺脂筏脂质及信号蛋白,外泌体内含有种类繁多的蛋白质和RNA。在外泌体中发现的数百种蛋白质中,与治疗作用相关的可能包括表面受体(PDGFRB、EGFR、PLAUR)、信号分子(RRAS/NRAS、MAPK1、GNA13/GNA12、CDC42和VAV2)、粘附分子(FN1、EZR、IQGAP1、CD47、整合素、LGALS1/LGALS3)、多种细胞因子和间充质干细胞相关表面抗原。脐带间充质干细胞通过分泌的这些种类繁多的生物活性因子,对损伤的组织器官进行修复治疗。

1.3 通过免疫反应和炎症反应调节功能参与组织器官修复

脐带间充质干细胞具有强大的调节炎症反应和免疫反应功能。通过与免疫细胞治疗接触、分泌免疫调控因子等方式,脐带间充质干细胞发挥免疫调节作用。在体外培养体系中,脐带间充质干细胞与外周血单个核细胞接触或非接触培养,均能明显抑制刺激后的T、B淋巴细胞增殖和干扰素 γ 、白细胞介素2等细胞因子的释放,还发现前列腺素E2(PGE2)是脐带间充质干细胞发挥免疫调节作用的重要介导因子。炎症细胞因子干扰素 γ 、白细胞介素1等能显著上调间充质干细胞分泌前列腺素E2。脐带间充质干细胞还能抑制抗原提呈细胞树突状细胞(DC)的成熟和自然杀伤细胞(NK)的活性。在抗炎反应方面,给创伤性、感染性、中毒性、急慢性炎症反应的患者输入脐带间充质干细胞,都可发生炎症反应症状减轻或消失、组织内炎性细胞减少、移植组织细胞凋亡等现象。脐带间充质干细胞免疫原性低,对固有免疫和适应性免疫的多种效应细胞都具有显著的免疫调节作用。这种免疫调节作用并不是天然固有的,在很大程度上取决于所处微环境中炎症介质(inflammatory mediators)的种类、浓度等因素,具有双向调节的特点。脐带间充质干细胞通常表现出来的免疫抑制作用需要炎症微环境中大量促炎因子的诱导。当不同种类和浓度的炎症介质诱导脐带间充质干细胞时,会表现出截然相反的免疫调节作用,既可以促进也可以抑制免疫应答反应,表现出免疫调节的可塑性或双向调节^[7]。脐带间充质干细胞就像免疫环境的一个调和剂:当炎症反应加强时,它会抑制免疫反应;当炎症反应减弱时,它又会促进免疫反应。

脐带间充质干细胞调节免疫反应和炎症反应的作用机制异常复杂,迄今并没有完全搞清楚,可能的调节机制

包括:细胞与细胞之间的直接接触;通过旁分泌功能和分泌微囊泡等对免疫细胞进行调节;激活细胞内多条信号通路。这些因素可能协同作用,形成一个综合调控网络,对免疫系统进行精细调节^[8]。

通过对免疫反应、炎症反应的调节作用,脐带间充质干细胞可以治疗一些自身免疫性疾病和各种炎症性疾病,譬如器官移植后的免疫排斥反应、造血干细胞移植后的移植物抗宿主病(GVHD)、系统性红斑狼疮、糖尿病、关节炎、类风湿性关节炎、创伤性系统性炎症反应、感染性脓毒血症、急性过敏、特发性紫癜等,都具有较好的治疗效果。

1.4 通过抗氧化应激功能参与疾病治疗

多种内外在因素通过氧化应激、DNA损伤、端粒及端粒酶调控系统、衰老相关ARF/p53及p16INK4a/RB信号通路激活等途径调控了间充质干细胞的衰老,导致一些衰老性疾病的发生。通过植入患者体内活力正常的脐带间充质干细胞,可以重建或恢复患病组织器官里衰老的间充质干细胞,进行疾病治疗。

这些外源性脐带间充质干细胞可通过分泌超氧化物歧化酶、过氧化氢酶等抗氧化剂及其他途径,缓解了因氧化应激造成的各种损伤。在给亚健康人群输入脐带间充质干细胞后,发现精神状态变好、睡眠改善、食欲增加、体能增强等现象,其机制除了脐带间充质干细胞分泌的各种细胞因子发挥作用外,还可能与提升抗氧化应激能力和调控某些基因表达有关。

1.5 血管再生机制

脐带间充质干细胞是一群异质细胞,其中表达某些抗原标志的亚群细胞可分化为内皮细胞,这些细胞进入损伤部位后具有血管再生作用。同时,脐带间充质干细胞本身能够分泌血管内皮生长因子(VEGF),可以有效地促进血管再生作用,改善血液循环。此外,脐带间充质干细胞还能通过趋化作用,促进损伤修复。

脐带间充质干细胞发挥治疗作用是以上多种因素综合作用的结果。通过多种因素协调作用,从结构和功能上修复或替代受损的组织器官,使其发挥正常生理功能,达到治疗目的。

2 脐带间充质干细胞移植治疗的分类、途径和方法

2.1 移植治疗的分类

依据移植治疗的组织器官种类或疾病性质,可将脐带间充质干细胞移植治疗划分为血液病干细胞移植、神经系统疾病干细胞移植、心脑血管病干细胞移植等。这种分类方法与医院临床科室设置相似,符合患者就医习惯。但是,种类弹性大,严谨性差,很多疾病还不能或没有必要利用干细胞移植进行治疗。

2.2 移植治疗的途径

目前,脐带间充质干细胞移植治疗的途径主要有:①静脉内注射 将脐带间充质干细胞注入血管内,通过血液循环到达病变的组织器官,进行替代、修复治疗。技术操作简单,按常规静脉输入法输入细胞,创伤小、易被患者接受,注射过程中避免损伤正常组织,通过反复多次移植来弥补到达病灶区干细胞少的缺陷。可用于全身性疾病、阿尔茨海默病、帕金森病、老年退变、自身免疫性疾病等的治疗。②动脉内注射 通过将注射针穿刺入动脉内,将脐带间充质干细胞注入患者体内,经血液循环到达疾病部位,利用脐带间充质干细胞促进组织器官再生、调节免疫等功能促进机体康复,达到治疗疾病的目的。与静脉内注射相比,动脉注射的脐带间充质干细胞直接通过动脉血液循环到达病变组织,减少了静脉内注射的循环路程、时间和细胞在血液循环中的损失,提高了干细胞的利用率和治疗效果。动脉内注射包括从浅表动脉穿刺法输入进行系统性治疗和通过微创导管介入法输入到靶组织或其附近动脉分枝中进行靶向组织治疗等。适合动脉内注射治疗的疾病包括早老性痴呆、帕金森病、肝硬化、卒中等,病情能得到改善。③定位注射 采用穿刺术建立通道,将脐带间充质干细胞定位注射到病变部位或周边组织中的一种精准干细胞治疗技术。深层组织或器官定位注射、靶向组织微创介入的局部注射治疗的方法是在影像导引下,利用穿刺针经皮、血管或自然通道将穿刺针或导管插入到病变组织部位,然后注入脐带间充质干细胞。常用于内脏器官特定部位和脑组织损伤的脐带间充质干细胞移植治疗,譬如经皮肝门静脉或肝组织穿刺注射治疗肝损伤和经股动脉插入导管至腹腔器官注射治疗胰腺、肝、肾损伤等。局部注射治疗广泛用于组织细胞变性、坏死的各种损伤、退变性疾病等,优点是将脐带间充质干细胞输入到病变组织中,细胞定位准确,富集于病灶的细胞多,疗效确切,操作简便,治疗时间短,患者易于接受,是各种脐带间充质干细胞移植治疗中首先选择的方法。④微创介入 通过微型穿

刺,将导管插入血管、管道、腔隙等,经导管将脐带间充质干细胞定位注射到特定病变组织中进行精准细胞治疗,特点是:创伤小、简便、安全、有效、并发症少、恢复快,可直接将脐带间充质干细胞输送到病变组织或器官中,明显缩短住院时间;不需要进行全身麻醉,只在局部麻醉状态下进行,患者痛苦小,降低了麻醉的风险;细胞定位准确,可大大提高移植细胞进入病变组织的机遇,提高疗效。⑤腔隙注射 包括腰椎穿刺蛛网膜下隙注射、脑室穿刺注射、枕大池穿刺注射等。腰椎穿刺蛛网膜下隙注射,是指通过蛛网膜下隙途径移植具有神经损伤修复功能的特定脐带间充质干细胞,治疗简单易行,患者容易接受,主要用于神经系统病变的修复治疗,譬如神经退行性疾病(帕金森病、阿尔茨海默病、肌萎缩侧索硬化症等)、脊髓损伤、脑卒中等。脑室穿刺注射,是指通过患者脑室穿刺,经穿刺针注射脐带间充质干细胞,通过脑脊液途径特异性的迁移至脑损伤区域,进行疾病治疗。脑室穿刺分为前角穿刺、侧角穿刺和后角穿刺三种,具有植入的脐带间充质干细胞移植点位于高位、作用路径短、细胞损失少、成活率高等优势,适于治疗脑瘫、脑出血、帕金森病、缺血性脑损伤等涉及脑神经细胞变性、坏死和缺失等疾病。枕大池穿刺注射,是从后枕部穿刺到枕大池注入脐带间充质干细胞,利用脐带间充质干细胞具有调节免疫、促进组织器官再生和机体康复等功效达到治疗疾病的目的。主要用于抽取脑脊液、引流、肿瘤、囊肿和炎症等的治疗,具有操作相对简单等优点,但一般仅用于动物实验,因为临床应用风险太大,可能造成脑干损伤,危及生命。⑥其他 包括呼吸道滴注、皮内或皮下注射等,也用于脐带间充质干细胞移植治疗,在临床应用上各有千秋,根据患者具体情况进行选择。

对于某一疾病,不同的移植治疗途径,可能在治疗效果上产生一定差异。由于从不同途径进入体内的脐带间充质干细胞到达损伤组织器官的数量可能明显不同,应尽量选择将干细胞直接移植于病变部位或支配病变组织的动脉血管内,对于组织已经坏死的疾病应移植于病变周围的组织内。

随着现代影像技术发展、计算机模拟规划技术应用以及其他可视化精准治疗技术不断用于脐带间充质干细胞移植,技术复杂的定位移植技术将更加简便、快捷、准确,定位移植将逐渐成为脐带间充质干细胞移植治疗的主要方法。

2.3 移植治疗的方法

脐带间充质干细胞治疗又称为脐带间充质干细胞移植,或称脐带间充质干细胞移植治疗。由于使用的是同种异基因(allogene)的活细胞,可以在患者体内生长、增殖、分化,通过多种机制治疗疾病。

脐带间充质干细胞移植治疗的方法主要有:①微创介入 在超声等医学影像引导下,通过动静脉血管插入导管,经导管输送到患病的组织器官中;②局部注射 经皮穿刺后,直接将干细胞注射到病变部位,譬如立体定向脑内注射治疗脑组织损伤、脊髓局部注射治疗脊损伤、股骨头钻孔注射治疗股骨头坏死、眼底注射注射治疗视网膜黄斑病变、皮内注射治疗白癜风等;③系统性移植 通过静脉输入干细胞,主要是利用血液循环以及干细胞的迁移、归巢特性将干细胞传送到全身或病变组织;④腰椎和脑室穿刺注射 将干细胞穿刺注射到蛛网膜下隙中,通过脑脊液循环将干细胞传递脑损伤组织,用于治疗中枢神经系统的退变和损伤;⑤其他 主要有腹腔注射、皮下注射、呼吸道喷雾或滴注、枕大池穿刺注射、动脉注射等干细胞移植方法。

脐带间充质干细胞移植治疗方法,应尽量依据治疗目的优先选择定位准确、到达病变组织器官路径短、能够将干细胞移植到病变组织器官发挥作用的方法。

3 脐带间充质干细胞临床治疗的适应证和禁忌证

3.1 适应证

脐带间充质干细胞移植治疗的适应证很多,包括常见病、罕见病和难治性疾病在内,总共有一百多种。适应证的选择主要依据脐带间充质干细胞在患者体内的生物效应、作用机制和临床疾病的发生机制、治疗原则进行分析判断。脐带间充质干细胞可在临床上用于涉及组织细胞损害(变性、坏死、缺失)、自身免疫反应、炎症反应等引起的疾病的治疗。临床上大多数疾病持续发展的最终结果是导致组织细胞损害,都可采用脐带间充质干细胞移植治疗并都有可能产生一定疗效,但由于疾病发生的阶段不同细胞损害的程度也不同,疗效可能会有很大差别。

脐带间充质干细胞移植治疗的临床适应症主要有^[9-16]:①创伤性疾病 包括武器伤、交通及施工等意外伤、自然灾害等导致的各种类型机械性组织器官损伤,如颅脑损伤、脊髓损伤等;②中毒性疾病 包括酒精、食物、药物、毒剂、

环境等导致的肝细胞损害、肾功能不全、神经毒剂中毒性损害等;③缺血性疾病 包括急性心肌梗死、心肌缺血、血管栓塞、血管破裂、脑血管意外造成的组织缺血、缺氧损伤、股骨头缺血性坏死等;④炎症性疾病 包括局部或全身性慢性炎症、器官移植后的免疫排斥反应、急性系统性炎症综合征等;⑤自身免疫性疾病 包括系统性红斑狼疮、再生障碍性贫血、类风湿性关节炎、多发性硬化、自身免疫性肝病、淋巴水肿、过敏性紫癜、不明原因的皮肤瘙痒等;⑥退变性疾病 包括人体衰老后的全身组织器官功能退变及器官纤维化、骨质疏松、器官萎缩、动脉硬化、视网膜黄斑变性等;⑦代谢性疾病 包括糖尿病、甲状腺功能异常、高血酯征、高血压等,疗效可能是由于组织损伤修复和抑制免疫和炎症的间接作用,不是直接作用的结果;⑧放射性疾病 核事故或意外导致的各种辐射损伤;⑨组织缺损性疾病 主要用于组织缺损的局部再生以及人工组织构建和移植治疗,特别是利用3D打印、计算机辅助设计、仿生等技术设计制造各种形状、大小的个性化组织或器官用于修复替代治疗。⑩其他疾病 包括失眠、亚健康状态、肿瘤等^[11]。

脐带间充质干细胞用于疾病治疗时,可通过多种机制发挥综合治疗作用,对并发多种疾病的患者有“一药治多病”的效果。脐带间充质干细胞移植治疗的适应证范围很广,但发挥治疗作用具有一定的体内微环境选择性,需要有足够数量的脐带间充质干细胞到达损伤组织,只有在合适的组织微环境中才能按人们的预期的方向分化和发挥损伤修复作用,并且一旦分化成熟后,免疫与炎症调节功能和生长因子分泌功能也自然减退或消失,治疗时机和方法选择十分重要。此外,脐带间充质干细胞的疗效还与细胞活性、数量、疾病类型、疾病发展阶段和辅助治疗等有关。

值得注意的是,脐带间充质干细胞在免疫性疾病、肝脏疾病、骨及软骨系统疾病、心血管疾病、神经系统疾病、慢性腰痛等难治性疾病的临床研究较多,是未来研究的重要方向。

3.2 禁忌证

在临床上,某些人群不适合进行脐带间充质干细胞移植治疗。脐带间充质干细胞移植治疗的禁忌证包括:①高度过敏体质或有严重过敏史者;②全身感染或局部严重感染需抗感染康复后进行细胞移植;③晚期恶性肿瘤;④休克或全身衰竭生命体征不正常及不配合检查者;⑤合并心、肺、肝、肾等重要脏器的功能障碍;⑥艾滋病、乙肝、梅毒等血清学检查阳性者;⑦凝血功能障碍,如血友病等;⑧尚未明确诊断者;⑨极个别期望值过高,或者要求不切合实际的患者;⑩其他不适合移植的疾病,譬如有感染性疾病或有发热倾向的患者、染色体或基因缺陷的患者等。对于有禁忌证的患者,不能进行临床脐带间充质干细胞移植,确保临床治疗的安全性。

参考文献

- [1] Zhao J, Yu G, Cai M, et al. *Stem Cell Research and Therapy*, 2018, 9: 32.
- [2] Liu B, Ding F X, Hu D, et al. *Stem Cell Research and Therapy*, 2018,9:7.
- [3] John E D, John T W, Armand K. *Stem Cells Translational Medicine*, 2017, 6(7): 1620-1630.
- [4] Dong L Y, Pu Y N, Zhang L N, et al. *Cell Death Disease*, 2018, 9(2): 218.
- [5] Urvashi K, Upma B, Aruna R. *Journal of Translational Medicine*, 2018, 16: 31.
- [6] Hamze T, Karim S, Aliakbar M, et al. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2017, 7(4): 531-546.
- [7] Zhu S F, Hu H B, Xu H Y, et al. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2015, 19(9): 2108-2117.
- [8] 王佃亮. *转化医学杂志*,2018, 7(6):329-333.
- [9] Meng M Y, Liu Y, Wang W J, et al. *American Journal of Translational Research*, 2018, 10(1): 212-223.
- [10] Vladislav V, Bojana S M, Marina G, et al. *International Journal of Medical Sciences*, 2018, 15(1): 36-45.
- [11] Willie L, Yogi Chang-Yo Hsuan, Mao-Tsun L, et al. *Cell Transplant*, 2017, 26(11): 1798-1810.
- [12] Li C, Lin B, Li L, et al. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2018, 15(1): 1076-1080.
- [13] Wang H, Yan X, Jiang Y X, et al. *Molecular Medicine Reports*, 2018 Mar; 17(3): 4474-4482.
- [14] Liang M, Liu W G, Peng Z B, et al. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*,2019, 47(1):1357-1366.
- [15] Guo G, Zhuang X, Xu Q, et al. *Stem Cell Research & Therapy*, 2019, 12;10(1):84.
- [16] Wei J, Xu J Y. *Cell Proliferation*, 2020,53(1): e12712.