

间充质干细胞移植治疗终末期肝衰竭研究进展

陈振娟, 曲乃方 (青岛市第六人民医院 肝病科, 山东 青岛 266033)

摘要: 对于终末期肝衰竭患者, 目前在临床中普遍应用的肝移植是较为有效的治愈方法之一。但肝移植存在手术费用昂贵、供体短缺以及术后需长期服用免疫排斥药物等诸多短期难以解决的问题, 导致许多肝衰竭患者得不到有效治疗而病死。近年来, 随着对间充质干细胞的深入研究, 为众多疾病尤其是终末期肝病的治疗提供了新思路及新疗法, 为再生医学开创了一个全新领域, 其有着巨大的发展和应用前景, 是肝衰竭患者尤其是终末期患者的福音。目前间充质干细胞作为较理想的移植细胞和基因移植治疗的种子细胞, 其研究进展倍受关注。本文拟对间充质干细胞移植治疗终末期肝衰竭的研究进展进行系统阐述。

关键词: 间充质干细胞; 细胞移植; 肝功能衰竭

Advances in mesenchymal stem cell transplantation in treatment of patients with late stage liver failure

CHEN Zhen-Juan, QU Nai-Fang (Department of Liver Diseases, the Sixth People's Hospital of Qingdao, Qingdao 266033, Shandong Province, China)

Abstract: For patients with end-stage liver failure, liver transplantation is the most direct and effective treatment options. However, there are many problems that are difficult to be solved in liver transplantation, such as high cost of operation, shortage of donors and long-term use of immunosuppressive drugs, which led to the death of patients. In recent years, the study of mesenchymal stem cells (MSCs) provides a new way to the treatment of many diseases, especially in the treatment of end-stage liver diseases, which has great development and application prospects and is the gospel for patients with end-stage liver diseases. Currently, as an ideal cell transplantation and gene therapy seed cells, the research of mesenchymal stem cells are highly concerned. In this paper, the research progress of mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of end-stage liver failure is reviewed.

Key words: Mesenchymal stem cells; Cell transplantation; Liver failure

肝脏被称为人体内的“加工厂”, 具有分泌、代谢、合成及生物转化等不可替代的作用, 是人体重要器官之一^[1-4]。诱发性因素如酒精、病毒和药物等易引起肝脏严重损害而致使肝细胞大量坏死, 从而导致肝功能出现严重障碍, 进而出现以腹水和乏力为主要表现的一系列临床症状, 称之为肝衰竭^[5,6]。肝衰竭是一种严重的肝脏损害, 由多种因素引起, 在我国主要病因为肝炎病毒, 其次是化学制剂和乙醇等肝毒性物质或药物, 造成肝细胞大量坏死, 严重损害肝功能。在欧洲等国家, 亚急性和急性肝衰竭主要是由药物导致, 而遗传性肝衰竭常见于儿童。肝衰竭对人体危害极大, 因其机制出现功能性障碍致患者体内解毒以及生物转化等代谢

功能出现严重异常, 主要临床表现为黄疸、肝性脑病及腹水等。肝衰竭主要包括慢性肝衰竭(chronic liver failure, CLF)、慢加急性肝衰竭(acute-on-chronic liver failure, ACLF)、急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)及亚急性肝衰竭(subacute liver failure, SALF)。患者临床表现为厌食、呕吐、恶心及腹胀等消化道症状, 且会感觉极度乏力。我国每年死于肝功能衰竭的患者可达30万, 病死率高达50%^[7], 肝衰竭尤其是终末期肝衰竭的治疗至今仍是医学界一个亟需解决的重大问题。

1 肝炎及肝硬化

肝脏疾病会使机体产生各种不良反应, 发病初期一般不易被察觉, 疾病本身无明显症状。通常表现为人体外表皮颜色异常, 皮肤发黄, 重症肝炎时可引起肝脏功能丧失, 产生一系列并发症, 危及患

者生命。重症肝炎的病因主要有病毒感染、药物作用以及经常饮酒等。重症肝炎多为病毒性肝炎,在我国以乙型肝炎居多,丙型、丁型肝炎次之,常见恶性梗阻性黄疸,腹腔出血等症状,几种病毒同时感染时,患病几率大幅增加。该病发病机制复杂,尽管已进行了大量临床研究,但其发病机制仍尚未阐明。肝脏干细胞通常表达HBV受体,使病毒通过受体入侵肝细胞,激活B细胞系统,产生特异性抗体,引发重症肝炎。当肝脏周围存在坏死细胞且胆管内少量胆汁集聚时会形成坏死型重症肝炎;当肝细胞出现肿胀、恶性梗阻性黄疸和腹水等情况时会形成水肿型重症肝炎,此时肝脏凝血功能较差。肝脏出现病变会使毒素在体内积累,出现代谢障碍、内毒素增高,从而间接影响肾功能。

长期弥漫性肝损害终末阶段即为肝硬化,主要致病机制为肝细胞变性纤维化,坏死、纤维组织增生及再生结节等作用于患者肝脏,导致肝组织弥漫性纤维化、假小叶及再生结节形成,进而导致肝脏形体异常及质地变硬。临床上将肝硬化分为肝功能代偿期和肝功能失代偿期,肝硬化晚期患者多易引发自发性腹膜炎,会大大降低肝硬化患者的生存率,是导致肝硬化患者病死的重要原因之一。肝硬化合并自发性腹膜炎患者的预后较差,早期的诊断治疗及对影响患者生存的预测因素进行分析有助于改善患者病情。因此早期的准确诊断对采取积极有效的干预措施、延缓肝硬化进展、预防上消化道出血等并发症、提高患者治疗效果及延长患者生存时间有重要意义。

2 肝衰竭的治疗方法

目前,肝移植、干细胞移植治疗、生物人工肝治疗及内科药物治疗等是治疗肝衰竭的4种主要手段。但内科药物治疗的效果有限,至今尚无完全根治的特效药物^[8],治疗的主要方法是针对不同病因综合应用相应措施,防治临床综合型并发症^[9]。人工生物肝治疗是通过选用生物材料培养肝细胞,形成体外人工肝,然后移植给肝病患者的治疗手段。1987年,Matsumura等^[10]第1次应用兔的肝细胞悬液治疗1例由胆管癌诱发的肝衰竭患者,随着该项技术的不断成熟,生物人工肝治疗逐渐成为肝衰竭患者的一个可供选择的有效治疗手段。但遗憾的是,可应用的肝细胞来源困难,这一原因直接致使生物人工肝这一治疗方法在全球的研究走向衰落。肝移植是治疗肝衰竭最直接有效的方法^[11],且该项治疗技术已基本成熟,可显著提高移植手术的成功率。但因供受体免疫功能排斥、供体来源短缺及临床费

用昂贵等诸多因素的影响,其临床应用受到较大限制^[12]。近年来,细胞移植治疗肝衰竭兴起,该方法操作比其他常用方法简单且治疗费用低,重要的是其可重复进行。国内外均已报道了多例取得极好效果的细胞移植治疗终末期肝衰竭的病例^[13]。循证医学已经证实细胞移植是可行的且术后生存率非常值得期待的临床治疗方法。其根本原理在于将患者所需的有活性且呈游离态的干细胞移植到受体的合适部位,进而达到替换原坏死肝细胞,从而使患者肝功能恢复至常态,达到治疗预期效果,减轻患者负担。

3 间充质干细胞

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)于1970年首次于人体骨髓中被发现,是干细胞大家族中极为重要的成员,现已证实间充质干细胞在体外具有分化为对应注射部位组织细胞的能力^[14]。最初在骨髓中发现的间充质干细胞随着年龄的增加,其细胞数量快速下降^[15],随后在人体生长发育过程的许多组织如胚胎和脐带中也发现了干细胞。因间充质干细胞可“无限”增殖,在体内外均具有支持和调节人体造血的功能,同时具有诸如根据移植部位而分化成相应的组织细胞和可免疫调控等特点,其多向分化潜能、造血支持及促进干细胞植入、免疫调控和自我复制等特点日益受到人们的关注,具有重要的应用价值^[16]。即使经过冷冻保存和连续传代培养,间充质干细胞的应用性仍不会受到损害,因此对于各种因素引起的组织器官损伤的修复,其无疑是作为种子细胞的最佳选择^[17]。干细胞的来源渠道较广,可以方便地从存在肝细胞的许多组织中分离出来,然后进行扩增培养,且不会导致细胞肿瘤的形成。从患者自体内骨髓提取的间充质干细胞可免除免疫排斥等问题,在许多疾病的组织修复治疗与研究中已开始应用。

间充质干细胞移植的优势^[18]:①痛苦小;②间充质干细胞移植病程短,只需要较短的时间就可完成干细胞的采集、培养、纯化以及回输进患者体内这一完整的治疗过程;③费用低;④疗效较好,可在短时间内明显改善肌无力和皮肤硬化等症状;⑤不易引起感染。

4 干细胞移植治疗肝衰竭的研究现状

干细胞移植是指先分离培养并纯化干细胞,然后将处理好的干细胞转输给相应患者以治疗相关疾病的技术。自1990年以来,该技术发展迅速,已逐渐成为治疗各种肝病尤其是终末期肝衰竭的重要手段。干细胞移植现已具备较为完备的理论基础,且

经过大量研究验证了其可行性,在治疗器官衰竭等疾病方面蕴涵着巨大的潜能。

干细胞移植在治疗终末期肝衰竭中已得到广泛应用。有研究利用CCl₄构建肝硬化大鼠模型,通过对照实验评价脐血间充质干细胞治疗肝病的效果,其在实验中对肝硬化相关因子(如转化生长因子 β_1 、I型胶原、 α 平滑肌肌动蛋白和mRNA)进行测定,结果发现对大鼠输注脐血间充质干细胞半个月到1个月后,上述指标较对照组显著下降,天门冬氨酸氨基转移酶和丙氨酸氨基转移酶也显著下降,表明肝纤维化得到缓解,证实了脐带间充质干细胞对肝病患者的治疗有一定效果^[19]。

相关研究已证实了自体骨髓间充质干细胞移植治疗终末期肝病的疗效。如郭学军等^[20]采用骨髓单个核细胞治疗20例失代偿期的肝硬化患者,移植4周后患者的白蛋白由 (26.10 ± 5.17) g/L上升至 (31.71 ± 4.94) g/L,纤维蛋白原由 (1.53 ± 0.48) g/L上升至 (2.67 ± 0.47) g/L,凝血酶原时间由 (24.18 ± 5.33) 秒下降至 (16.94 ± 4.91) 秒。在干细胞移植中,有可能会出移植抗宿主现象,也就是所谓的排斥反应,而重度排斥反应是致死的。细胞移植中的排斥反应可能与Child-Turcotte-Pugh(CTP) B级患者肝功能储备较C级患者强有关,CTP B级患者移植后肝功评分下降较C级患者更显著^[21,22]。研究也证实,对于CTP C级或MELD分数较高(> 35 分)的患者,干细胞移植的疗效较差。随着移植后时间的延长,MELD评分也呈下降趋势。以上研究均表明,干细胞移植治疗对患者病情有明显帮助,甚至部分患者可避免肝移植,即使不能完全治愈,该方法也可延缓患者病情,为进一步治疗争取更多时间^[23]。

曹红翠^[24]以中国小型猪为研究对象,建立稳定的急性肝衰竭动物模型,通过人胎盘间充质干细胞(human placental mesenchymal stem cells, hPMSCs)移植研究胚胎间充质干细胞治疗的有效性 & 安全性,并对实验疗效进行了严格判断。文中将研究对象(中国小型猪)分为4组进行研究,分别为无细胞移植组、致死剂量X线照射的hPMSCs门静脉途径移植组、hPMSCs通过颈静脉途径移植组和hPMSCs门静脉途径移植组,最后得出结论:无论在体内还是体外,胎盘间充质干细胞均可定向分化为有功能的类肝细胞,通过细胞移植治疗可显著延长模型猪的存活时间,超声定位下的门静脉移植hPMSCs组的治疗效果最好,可作为治疗肝病的新方法,为肝衰竭的干细胞疗法提供实验基础。

5 干细胞移植面临的问题

虽然间充质干细胞治疗有诸多优势,但其在临床应用中仍存在问题:①效率问题。一般研究均为体外研究且实验对象是其他动物,但真正在人体进行研究过程中,干细胞移植后所处的内环境可能与体外培养及实验环境有所不同,导致移植治疗失败,故应加强对移植干细胞及植入肝脏后干细胞持续有效分裂和存活维持的研究^[25-29]。②时机问题。进行干细胞移植的时机选择十分重要,分化的早期阶段细胞尚未具备肝脏干细胞的重要标志或功能,而细胞分化晚期干细胞的增殖能力已大为降低,移植入肝脏内难以改善肝脏功能^[30]。如何选择干细胞的分化阶段进行体内移植以达到最佳效果至今仍未有合理的论证。③数量问题。在一般的动物实验中,干细胞移植数量一般在百万到千万级别,过少的干细胞移植难以发挥作用^[31]。④途径问题。选用的移植途径是否与患者相适应将对间充质干细胞移植治疗的效果产生直接影响^[32]。

分化成多种血细胞是造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSC)的一大主要功能,其主要存在于骨髓、外周血和脐带血中,临床中主要用来治疗免疫性疾病及相关血液病。造血干细胞应用过程中具有易感染性和免疫原性,移植前需要配型,移植后需使用免疫抑制剂抗排斥,其复发率高且治疗费用昂贵,因此目前临床上治疗肝衰竭应用较为广泛的是间充质干细胞。

基于此,细胞移植法治疗肝衰竭中的最优选择为间充质干细胞移植,其移植至肝脏后既可直接分化为肝细胞又具有免疫调节机制^[33]。目前通过动物实验及部分临床试验已获得许多有用的证据,取得了一定效果^[34]。

随着医学界对该问题的不断研究,间充质干细胞治疗肝病的机制终将被阐明,上述问题也将被克服^[35-37]。间充质干细胞移植将成为治疗终末期肝衰竭的另一有效手段并广泛应用于临床,为肝衰竭患者尤其是终末期患者带来新的希望。

参考文献

- [1] Hwang JH, Shergill AK, Acosta RD, et al. The role of endoscopy in the management of variceal hemorrhage[J]. *Gastrointest Endosc*, 2014, 80(2): 221-227.
- [2] Colli A, Gana JC, Turner D, et al. Capsule endoscopy for the diagnosis of oesophageal varices in people with chronic liver disease or portal vein thrombosis[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014, (10): CD008760.
- [3] CAO HC, MA J, YANG JF, et al. A metabolomics study of Chinese miniature pigs with acute liver failure treated with transplantation of placental mesenchymal stem cells[J]. *Metabolomics*, 2014, 10(4): 651-662.

- [4] Shin SU, Lee JM, Yu MH, et al. Prediction of esophageal varices in patients with cirrhosis: usefulness of three-dimensional MR elastography with echo-planar imaging technique[J]. *Radiology*, 2014, 272(1): 143-153.
- [5] HU Z, LI Y, LI C, et al. Using ultrasonic transient elastometry (FibroScan) to predict esophageal varices in patients with viral liver cirrhosis[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2015, 41(6): 1530-1537.
- [6] D'Amico G, Pasta L, Morabito A, et al. Competing risks and prognostic stages of cirrhosis: a 25-year inception cohort study of 494 patients[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2014, 39(10): 1180-1193.
- [7] 陈倩倩, 万军, 阎丽, 等. 绿色荧光蛋白小鼠骨髓间充质干细胞培养及其示踪的可行性[J]. *军医进修学院学报*, 2012, 33(5): 506-508.
- [8] 范敬静, 李东良. 骨髓间充质干细胞治疗急性肝衰竭的研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2011, 19(20): 2141-2145.
- [9] Asrani SK, Kamath PS. Prediction of early mortality after variceal bleeding: score one more for MELD[J]. *Gastroenterology*, 2014, 146(2): 337-339.
- [10] Matsumura KN, Guevara GR, Huston H, et al. Hybrid bioartificial liver in hepatic failure: preliminary clinical report[J]. *Surgery*, 1987, 101(1): 99-103.
- [11] QI XS, BAO YX, BAI M, et al. Nonselective beta-blockers in cirrhotic patients with no or small varices: A meta-analysis[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(10): 3100-3108.
- [12] 袁璐萍, 宋水川, 马炬明. 自体骨髓干细胞移植治疗肝硬化的研究进展[J]. *浙江临床医学*, 2011, 13(11): 1279-1280.
- [13] 吴贻琛, 万志红, 辛绍杰. 干细胞移植治疗肝功能衰竭的研究进展及应用前景[J]. *肝脏*, 2015(3): 251-254.
- [14] BAI M, QI X, YANG M, et al. Combined therapies versus monotherapies for the first variceal bleeding in patients with high-risk varices: a meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2014, 29(3): 442-452.
- [15] Seo YS, Park SY, Kim MY, et al. Lack of difference among terlipressin, somatostatin, and octreotide in the control of acute gastroesophageal variceal hemorrhage[J]. *Hepatology*, 2014, 60(3): 954-963.
- [16] Wells M, Chande N, Adams P, et al. Meta-analysis: vasoactive medications for the management of acute variceal bleeds[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2012, 35(11): 1267-1278.
- [17] Lee YY, Tee HP, Mahadeva S. Role of prophylactic antibiotics in cirrhotic patients with variceal bleeding[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(7): 1790-1796.
- [18] Jang WS, Shin HP, Lee JI, et al. Proton pump inhibitor administration delays rebleeding after endoscopic gastric variceal obturation[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(45): 17127-17131.
- [19] 孙慧聪, 张国尊, 郭金波, 等. 脐带源间充质干细胞移植治疗肝纤维化及肝硬化的相关机制[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(41): 6638-6645.
- [20] 郭学军, 林晓燕, 何玉卓. 自体骨髓单个核细胞肝内移植治疗失代偿期肝硬化[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(23): 4367-4370.
- [21] Lo GH. The optimal interval of endoscopic variceal ligation: an issue of controversy[J]. *Gastrointest Endosc*, 2015, 81(3): 774.
- [22] Vorobioff JD, Groszmann RJ. Prevention of portal hypertension: from variceal development to clinical decompensation[J]. *Hepatology*, 2015, 61(1): 375-381.
- [23] ZOU LY, ZHENG BY, FANG XF, et al. HBx co-localizes with COXIII in HL-7702 cells to upregulate mitochondrial function and ROS generation[J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(5): 2461-2467.
- [24] 曹红翠. 胎盘来源间充质干细胞在肝衰竭治疗中的应用及其代谢组学机制研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [25] Wang K. Molecular mechanisms of liver injury: apoptosis or necrosis[J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2014, 66(8): 351-356.
- [26] Weinberg SE, Sena LA, Chandel NS. Mitochondria in the regulation of innate and adaptive immunity[J]. *Immunity*, 2015, 42(3): 406-417.
- [27] LI G, ZHANG P, WANG J, et al. Cardiovascular mortality, all-cause mortality, and diabetes incidence after lifestyle intervention for people with impaired glucose tolerance in the Da Qing diabetes prevention study: a 23-year follow-up study[J]. *Lancet Diabetes Endo*, 2014, 2(6): 474-480.
- [28] Schellenberg ES, Dryden DM, Vandermeer B, et al. Lifestyle interventions for patients with and at risk for type 2 diabetes: a systematic review and meta analysis[J]. *Ann Intern Med*, 2013, 159(8): 543-551.
- [29] 王冬冬, 陈刚, 胡宗强, 等. 不同来源间充质干细胞治疗肝纤维化的研究进展[J]. *临床肝胆病杂志*, 2016, 32(3): 597-600.
- [30] Ryden L, Grant PJ, Anker SD, et al. ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD: the Task Force on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and developed in collaboration with the European Association for the Study of Diabetes (EASD)[J]. *Eur Heart J*, 2013, 34(39): 3035-3087.
- [31] 邱秀霞, 左苗, 孙鹏, 等. 脂肪肝与代谢障碍综合征的相关性分析[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*, 2012, 4(3): 6-8.
- [32] Dănilă M, Sporea I. Ultrasound screening for hepatocellular carcinoma in patients with advanced liver fibrosis. An overview[J]. *Med Ultrason*, 2014, 16(2): 139-144.
- [33] Lim TS, Kim do Y, Han KH, et al. Combined use of AFP, PIVKA-II, and AFP-L3 as tumor markers enhances diagnostic accuracy for hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2016, 51(3): 344-353.
- [34] Su YH, Lin SY, Song W, et al. DNA markers in molecular diagnostics for hepatocellular carcinoma[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2014, 14(7): 803-817.
- [35] Rapti I, Hadziyannis S. Risk for hepatocellular carcinoma in the course of chronic hepatitis B virus infection and the protective effect of therapy with nucleos(t)ide analogues[J]. *World J Hepatol*, 2015, 7(8): 1064-1073.
- [36] Ashtari S, Pourhoseingholi MA, Sharifian A, et al. Hepatocellular carcinoma in Asia: Prevention strategy and planning[J]. *World J Hepatol*, 2015, 7(12): 1708-1717.
- [37] Song P, Feng X, Zhang K, et al. Screening for and surveillance of high-risk patients with HBV-related chronic liver disease: promoting the early detection of hepatocellular carcinoma in China[J]. *Biosci Trends*, 2013, 7(1): 1-6.

收稿日期: 2016-04-19

陈振娟, 曲乃方. 间充质干细胞移植治疗终末期肝衰竭研究进展[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*, 2017, 9(1): 7-10.