

自体骨髓间充质干细胞移植 治疗失代偿期肝硬化的疗效

彭蕾, 汤磊, 叶珺, 郜玉峰, 邹桂舟 (安徽医科大学第二附属医院 肝病科, 合肥 230601)

摘要: **目的** 探讨自体骨髓间充质干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的疗效和安全性。**方法** 收集于本院住院的失代偿期肝硬化患者90例, 其中50例患者在内科保守治疗的基础上给予自体骨髓间充质干细胞移植, 作为移植组; 另外40例进行内科保守治疗的患者作为对照组, 观察治疗24周后患者的一般情况、临床症状、肝功能及凝血功能等指标, 分析两组患者的疗效。**结果** 治疗24周后, 移植组84% (42/50) 患者自觉纳差、困乏以及腹胀等临床症状及黄染、水肿等体征显著改善, 对照组中仅35% (14/40) 患者上述症状及体征稍见好转; 移植组治疗后24周患者的ALT、AST、ALB、TBil、PT及PTA水平较治疗前均有显著改善 (F 值分别为5.187、9.288、11.236、10.739、7.865、11.148, P 均 < 0.001), 对照组患者治疗后24周的ALB、PT及PTA与治疗前相比差异无统计学意义 (F 值分别为2.417、1.652、1.737, P 值分别为0.527、0.566、0.601); 两组患者在治疗后24周的ALB、TBil、PT及PTA水平差异有统计学意义 (t 值分别为4.312、9.198、12.211、4.672, P 值分别为0.002、 < 0.001 、 < 0.001 、0.004)。**结论** 自体骨髓间充质干细胞移植治疗失代偿期肝硬化疗效明显、安全性好, 值得临床推广。

关键词: 骨髓间充质干细胞; 干细胞移植; 失代偿期肝硬化

Efficacy of autologous transplantation of bone marrow derived mesenchymal stem cells in treatment of decompensated cirrhosis

PENG Lei, TANG Lei, YE Jun, GAO Yu-feng, ZOU Gui-zhou (Department of Hepatopathy, the Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601, China)

Abstract: **Objective** To investigate the therapeutic efficacy and safety of autologous transplantation of bone marrow derived mesenchymal stem cells in treatment of decompensated cirrhosis. **Methods** Total of 90 inpatients with decompensated cirrhosis in our hospital were selected. Patients in transplantation group (50 cases) were treated with autologous transplantation of bone marrow derived mesenchymal stem cells on the basis of conservative treatment of internal medicine, and patients in control group (40 cases) were only given conservative treatment of internal medicine. The postoperative symptoms, signs and blood biochemistry after 24 weeks of treatment were observed, and the clinical efficacy of two groups were compared. **Results** After 24 weeks of treatment, the clinical symptoms and signs of 84% (42/50) patients in transplantation group improved, which was only 35% (14/40) in control group. Compared with the previous treatment, ALT, AST, ALB, TBil, PT and PTA were significantly improved at 24 weeks after treatment in transplantation group ($F = 5.187, 9.288, 11.236, 10.739, 7.865, 11.148; P < 0.001$), while ALB, PT and PTA had no statistically significant differences in control group ($F = 2.417, 1.652, 1.737; P = 0.527, 0.566, 0.601$). The differences of ALB, TBil, PT and PTA were statistically significant at 24 weeks after treatment between the two groups ($t = 4.312, 9.198, 12.211, 4.672; P = 0.002, < 0.001, < 0.001, 0.004$). **Conclusion** The effects and safety of autologous transplantation of bone marrow derived mesenchymal stem cells in treatment of decompensated cirrhosis is obvious and is worthy of clinical application.

Key words: Bone marrow mesenchymal stem cells; Stem cells transplantation; Decompensated cirrhosis

失代偿期肝硬化患者的肝细胞长期受到损害,病情逐渐恶化,治疗困难,严重威胁着人类的健康^[1,2]。其病理改变主要表现为纤维组织大量增生,形成再生结节和假小叶,被认为是不可逆的病理过程,故当前肝病专家认为最理想的治疗方法是肝移植,但由于目前手术费用高,匹配的肝源紧张,加上术后患者存在难以避免的各种排斥反应,使得其在临床开展相当困难,无法真正普及^[3]。目前治疗方法主要是内科护肝及对症支持治疗,但疗效均不理想。

目前对自体骨髓间充质干细胞(auto-genous bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BM-MSC)的研究越来越多,深入探索发现干细胞具有强大功能,对临床上多种疾病均有一定治疗效果,如肝脏相关疾病、血液系统疾病及心肺疾病等^[4,5]。因其整个操作过程简易,不良反应少,患者无明显痛苦,且治疗费用相对较低,现已成为临床上常用的治疗手段,也成为治疗失代偿期肝硬化的一种新途径,可降低患者病死率,改善预后。本研究将常规给予内科保守治疗的40例失代偿期肝硬化患者与50例给予自体骨髓间充质干细胞移植的失代偿期肝硬化患者进行观察比较,评估两者疗效的差异,具体如下。

1 资料及方法

1.1 研究对象 选择2014年1月至2016年1月于本院肝病科住院的失代偿期肝硬化患者90例,其中男性68例,女性22例,年龄35~69岁,平均年龄51岁。乙型肝炎后肝硬化69例,酒精性肝硬化13例,自身免疫性肝炎后肝硬化4例,丙型肝炎后肝硬化4例。给予内科常规治疗40例患者作为对照组,另外50例患者在内科治疗基础上行自体骨髓间充质干细胞移植术,作为移植组。移植组患者术前均完善血常规、肝脏增强CT检查,明确肝硬化诊断后,需排除相关并发症,如肝脏占位性病变、静脉曲张破裂出血、自发性腹膜炎、肝性脑病、肝肾综合征及严重心肺疾病等,术前签署手术知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 自体骨髓间充质干细胞的收集和处理 征求患者同意后,首先进行自体骨髓间充质干细胞标本的采集,在层流室内严格按照无菌操作实施。告知患者相关注意事项后行骨髓穿刺术。嘱患者取俯卧位,以双侧髂后上棘作为骨髓穿刺点,进行局部皮肤碘伏消毒,局部浸润麻醉,一般抽取骨髓约200 ml,随后立即予以4000单位的肝素进行抗凝处理,运用密度离心法将采集的骨髓液纯化,通过流式细胞仪检测表面抗原标记为CD34⁺、CD45⁺、CD90⁺及CD44⁺的单个核细胞并进行分离和纯化。最后得到约20 ml干细胞悬

浊液,干细胞悬浊液的存活率需在95%以上,每次进行移植前提取的单核细胞数总量为 $1 \times 10^9 \sim 2.9 \times 10^9$ /L。用冰桶进行保温储藏,在1小时内移植入失代偿期肝硬化患者体内。

1.2.2 自体骨髓间充质干细胞的移植过程 在导管室内,患者术前在数字减影血管造影X线帮助下,采用经股动脉入腹腔干造影术,先了解患者肝左右动脉的各自走行、有无畸形等,沿导管将收集的BM-MSC悬浊液缓慢推入肝左动脉中,速度为1 ml/min左右,静脉推注完毕后用生理盐水10 ml进行冲管,最后拔出股动脉内的导管,注意进行穿刺点处按压、加压包扎,嘱患者穿刺侧下肢制动24小时,常规给予抗感染、保肝利尿等处理。

1.2.3 监测相关指标 两组研究对象均观察随访6个月以上,主要观察患者精神状态、食欲及腹胀等一般情况有无改善以及术后有无新发不适,记录治疗4周、12周和24周后的ALT、AST、TBil、ALB、PT及PTA等指标。

1.3 统计学处理 采用SPSS 17.0软件进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组治疗后各指标的对比采用独立样本 t 检验,同组治疗后不同时间各指标比较采用单因素 F 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者术前一般资料比较 两组肝硬化患者的年龄、性别、肝功能指标以及凝血时间在治疗前均无统计学差异,见表1。

2.2 术后患者一般情况 治疗24周后移植组84%(42/50)的患者在精神、纳差、乏力等相关临床症状及黄疸、腹围等体征较治疗前显著改善,仅2例患者出现一过性皮疹、低热,对症处理后均迅速好转;对照组中35%(14/40)的患者自觉纳差、乏力及腹胀等有所好转,后期随访发现其病情仍易反复,需多次至医院就诊。

2.3 术后患者实验室指标的变化 移植组患者治疗后24周的ALT、AST、ALB、TBil、PT及PTA水平较治疗前均有显著改善(F 值分别为5.187、9.288、11.236、10.739、7.865、11.148, P 均 < 0.001),对照组治疗后24周的ALB、PT及PTA与治疗前相比差异无统计学意义(F 值分别为2.417、1.652、1.737, P 值分别为0.527、0.566、0.601),见表2。

2.4 两组患者治疗前后Child-Pugh评分比较 治疗24周后移植组较对照组Child-Pugh评分显著改善,差异有统计学意义($t = 3.752$, $P = 0.003$),见表3。

3 讨论

随着研究的不断深入,干细胞治疗在医学领域内

取得了令人瞩目的成就,为失代偿期肝硬化患者的治疗提供了新的方法。现多数采用的干细胞为脐血干细胞、自体骨髓干细胞和外周血造血干细胞等^[6],均已取得一定疗效^[7-9]。骨髓间充质干细胞是骨髓干细胞的主要组成部分,主要为一群能够分化成多种细胞、产生多种细胞因子和生长因子的成纤维细胞样细胞,具有造血支持、免疫调节和抗炎功能。

目前已有许多研究表明BM-MSc在治疗各种原因导致的失代偿期肝硬化中均取得了显著效果^[10,11],且其安全性和有效性已得到高度认可^[12,13]。张善红等^[14]通过对48例肝硬化患者行经肝动脉途径移植骨髓干细胞治疗,检测术后第2~24周肝功能相关指标及临床症状变化发现,按照肝硬化Child-Pugh分级

不同,疗效也有所不同。对Child-Pugh A级和B级的肝硬化患者,ALB和PTA水平较移植前有所改善,但胆红素水平变化无统计学差异,而Child-Pugh C级患者各检测指标的改善并不明显,但临床症状均得到不同程度的改善。难治性原发性胆汁性肝硬化患者后期病情易反复,内科治疗效果较差,有研究指出BM-MSc对其也有明显效果^[15]。Levine等^[16]用BM-MSc治疗酒精性肝硬化也取得显著疗效。吴锋等^[17]对17例失代偿期肝炎肝硬化患者在采用内科治疗的基础上加用骨髓干细胞移植,术后患者肝功能及肝纤维化指标均显著改善,疗效较好。此外还有许多研究都证实了自体BM-MSc对失代偿期肝硬化治疗的有效性和安全性^[18-21]。

表1 两组患者术前一般资料比较

组别	年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	性别 (男/女, 例)	ALT ($\bar{x} \pm s$, U/L)	AST ($\bar{x} \pm s$, U/L)	PT ($\bar{x} \pm s$, s)	PTA ($\bar{x} \pm s$, %)
移植组 ($n=50$)	50.1 \pm 8.7	37/13	83.24 \pm 27.75	61.19 \pm 31.08	21.09 \pm 4.83	51.89 \pm 12.97
对照组 ($n=40$)	49.6 \pm 7.2	31/9	78.36 \pm 32.45	59.28 \pm 36.47	23.94 \pm 3.53	48.92 \pm 11.83
统计量值	$t = -0.498$	$\chi^2 = 0.388$	$t = 0.536$	$t = 0.631$	$t = 0.187$	$t = 1.311$
P值	0.511	0.533	0.849	0.528	0.635	0.158

表2 移植组及对照组患者治疗前后各指标变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	ALT (U/L)	AST (U/L)	TBil (μ mol/L)	ALB (g/L)	PT (s)	PTA (%)
移植组 ($n=50$)						
治疗前	83.24 \pm 27.75	61.19 \pm 31.08	45.26 \pm 3.87	28.65 \pm 3.18	21.09 \pm 4.83	51.89 \pm 12.97
治疗4周	71.12 \pm 21.31	54.43 \pm 25.67	42.45 \pm 5.17	28.74 \pm 5.43	20.12 \pm 5.65	53.32 \pm 10.76
治疗12周	58.35 \pm 18.92	45.34 \pm 26.65	38.43 \pm 1.24	30.13 \pm 4.56	18.49 \pm 3.43	57.35 \pm 13.43
治疗24周	49.96 \pm 29.56	41.72 \pm 22.94	32.38 \pm 1.17	35.11 \pm 5.89	17.52 \pm 1.39	59.26 \pm 13.71
F值	5.187	9.288	11.236	10.739	7.865	11.148
P值	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
对照组 ($n=40$)						
移植前	78.36 \pm 32.45	59.28 \pm 36.47	49.16 \pm 4.62	29.41 \pm 2.98	23.94 \pm 3.53	48.92 \pm 11.83
治疗4周	75.14 \pm 25.32	56.31 \pm 24.54	42.26 \pm 4.76	28.34 \pm 5.98	22.54 \pm 3.77	49.55 \pm 11.45
治疗12周	71.37 \pm 24.09	49.23 \pm 21.97	43.08 \pm 6.09	29.54 \pm 3.09	20.65 \pm 5.13	50.19 \pm 13.61
术后24周	68.18 \pm 30.65	48.52 \pm 28.76	42.79 \pm 2.04	30.42 \pm 4.93	19.59 \pm 2.01	50.54 \pm 9.69
F值	6.372	12.471	9.639	2.417	1.652	1.737
P值	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.527	0.566	0.601

注: 两组治疗24周后相比, ALT: $t = 0.579$, $P = 0.647$; AST: $t = 0.715$, $P = 0.467$; TBil: $t = 4.312$, $P = 0.002$; ALB: $t = 9.198$, $P < 0.001$; PT: $t = 12.211$, $P < 0.001$; PTA: $t = 4.672$, $P = 0.004$

表3 两组患者治疗前后 Child-Pugh 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	移植前	治疗4周	治疗12周	治疗24周
移植组 ($n=50$)	10.34 \pm 4.14	9.13 \pm 3.21	8.24 \pm 3.56	7.34 \pm 4.34
对照组 ($n=40$)	10.25 \pm 5.12	10.34 \pm 1.43	9.21 \pm 5.05	9.02 \pm 2.57
t值	0.081	2.291	3.668	3.752
P值	0.936	0.041	0.003	0.003

本研究通过对50例移植组和40例对照组患者随访观察24周后得出的结论与上述国内外研究结果具有一致性,移植组经过自体骨髓干细胞移植术后4周、12周和24周肝功能及凝血功能指标较治疗前均有显著改善,大多数患者临床症状及体征较治疗前显著好转,且移植过程顺利,未见明显不良反应,安全性高;对照组治疗前后各相关指标无显著差异,只有35%患者临床情况有所改善,且后期病情易反复发作,需住院治疗,提示骨髓干细胞移植作为一种新的治疗失代偿期肝硬化手段,疗效显著,值得临床推广。

参考文献

- [1] 方雪晴,张骏飞,宋海燕,等.间充质干细胞移植及其在失代偿期肝硬化中的研究进展[J].中华传染病杂志,2016,34(8):509-512.
- [2] 周诗君,叶英,李家斌.脐血干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的疗效及安全性评价[J].安徽医科大学学报,2016,51(7):1035-1038.
- [3] 曾芝雨,李东良,方坚,等.脐带间充质干细胞联合骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化:1年随访对照[J].中国组织工程研究,2015,19(10):1533-1538.
- [4] De Miguel MP, Fuentes- Julián S, Blázquez-Martínez A, et al. Immunosuppressive properties of mesenchymal stem cells: advances and applications[J]. Curr Mol Med,2012,12(5):574-591.
- [5] Si Y, Zhao Y, Hao H, et al. Infusion of mesenchymal stem cells ameliorates hyperglycemia in type 2 diabetic rats: identification of a novel role in improving insulin sensitivity[J]. Diabetes,2012,61(6):1616-1625.
- [6] 王方,寇俊峰,云升皓,等.两种途径移植自体骨髓干细胞治疗肝硬化患者疗效比较[J].临床肝胆病杂志,2013,29(11):844-847.
- [7] Suk KT, Yoon JH, Kim MY, et al. Transplantation with autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells for alcoholic cirrhosis: phase 2 trial[J]. Hepatology,2016,64(6):2185-2197.
- [8] Lin YC, Harn HJ, Lin PC, et al. Commercial production of autologous stem cells and their therapeutic potential for liver cirrhosis[J]. Cell Transplant,2016, PMID:27718343[Epub ahead of print].
- [9] Kim G, Eom YW, Baik SK, et al. Therapeutic effects of mesenchymal stem cells for patients with chronic liver diseases: systematic review and Meta-analysis[J]. J Korean Med Sci,2015,30(10):1405-1415.
- [10] Vainshtein JM, Kabarriti R, Mehta KJ, et al. Bone marrow-derived stromal cell therapy in cirrhosis: clinical evidence, cellular mechanisms, and implications for the treatment of hepatocellular carcinoma[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys,2014,89(4):786-803.
- [11] Bihari C, Anand L, Rooge S, et al. Bone marrow stem cells and its niche components are adversely affected in advanced cirrhosis of liver[J]. Hepatology,2016,64(4):1273-1288.
- [12] Forbes SJ, Sanjeev G, Anil D. Cell therapy for liver disease: From liver transplantation to cell factory.[J]. J Hepatol,2015,62(1 Suppl):S157-S169.
- [13] Ryu KH, Kim SY, Kim YR, et al. Tonsil-derived mesenchymal stem cells alleviate concanavalin A-induced acute liver injury[J]. Exp Cell Res,2014,326(1):143-154.
- [14] 张善红,姜春萌,李荣宽,等.自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的临床研究[J/CD].中华临床医师杂志(电子版),2012,6(4):1016-1018.
- [15] WANG L, LI J, LIU H, et al. Pilot study of umbilical cord-derived mesenchymal stem cell transplantation in patients with primary biliary cirrhosis[J]. J Gastroenterol Hepatol,2013,28(Suppl):85-92.
- [16] Levine P, McDaniel K, Francis H, et al. Molecular mechanisms of stem cell therapy in alcoholic liver disease[J]. Dig Liver Dis,2014,46(5):391-397.
- [17] 吴锋,蒲春文,张勇.自体骨髓间充质干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的临床疗效观察[J/CD].中国肝脏病杂志(电子版),2015,7(3):130-134.
- [18] 郑盛,杨涓,刘琼,等.经肝固有动脉自体骨髓间充质干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的疗效及安全性[J].肝脏,2016,21(2):95-99.
- [19] 蒋锐.自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的疗效观察[J].中国现代医学杂志,2014,24(12):30-34.
- [20] 王震凯,王少东,刘炯,等.肝硬化自体骨髓干细胞回输前后外周血免疫功能的变化[J].中华消化杂志,2014,34(3):189-190.
- [21] 欧阳石,刘树人,程涛,等.自体骨髓间充质干细胞肝动脉移植治疗失代偿期肝硬化[J].中国组织工程研究,2013,17(36):6455-6461.

收稿日期:2016-09-22

彭蕾,汤磊,叶珺,等.自体骨髓间充质干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的疗效[J/CD].中国肝脏病杂志(电子版),2017,9(1):83-86.