

## 自体骨髓干细胞移植治疗终末期肝病15例疗效观察

王方<sup>1</sup>, 张俊<sup>1</sup>, 周一鸣<sup>2</sup>, 张晓岗<sup>3</sup>, 白海<sup>4</sup>, 印建国<sup>5</sup>, 张静<sup>1</sup> (1. 兰州军区总医院 感染科, 兰州 730070; 2. 兰州军区解放军第一医院 感染科, 兰州 730030; 3. 甘肃省中医院 骨科, 兰州 730000; 4. 兰州军区总医院 血液科, 兰州 730070; 5. 兰州军区总医院 放射科, 兰州 730070)

**摘要:** **目的** 探讨自体骨髓干细胞移植对终末期肝病患者的改善作用。**方法** 选择终末期肝病患者30例, 随机按1:1的比例分为2组, 一组行保肝保守治疗, 另一组在保肝保守治疗的基础上行自体骨髓干细胞移植治疗。于移植后1、2、4、8周动态检测肝功能、凝血机制、血常规、腹部B型超声等, 同时观察移植后患者临床症状改善情况, 对比两组间疗效有无差异。**结果** 移植后1周全部患者临床乏力、纳差症状明显改善, 而对照组只有9例(60%)患者乏力、纳差症状有改善; 移植后2周内腹水消退7例(45%), 腹胀减轻8例(55%), 而对照组分别为4例(26%)和7例(47%); 移植后82周, 治疗组PTA有不同程度升高, 由治疗前平均 $(31.21 \pm 15.90)\%$ 上升至 $(48.54 \pm 16.80)\%$ , 而对照组则由治疗前平均 $(30.45 \pm 17.20)\%$ 上升至 $(39.45 \pm 14.70)\%$  ( $P < 0.05$ ); 治疗组患者ALB逐渐升高, 由平均 $(25.12 \pm 12.50)$  g/L升至 $(31.21 \pm 13.50)$  g/L, 而对照组由平均 $(24.34 \pm 13.54)$  g/L升至 $(27.05 \pm 14.26)$  g/L ( $P > 0.05$ ); 治疗组患者ALT有下降, 由平均 $(113.20 \pm 11.80)$  U/L降至 $(51.31 \pm 15.48)$  U/L, 而对照组由平均 $(109.34 \pm 15.28)$  U/L降至 $(75.35 \pm 14.56)$  U/L ( $P < 0.05$ ); 治疗组患者TBil逐渐下降, 由平均 $(169.45 \pm 34.32)$   $\mu\text{mol/L}$ 降至 $(41.21 \pm 21.56)$   $\mu\text{mol/L}$ ; 而对照组由平均 $(163.54 \pm 23.12)$   $\mu\text{mol/L}$ 降至 $(62.34 \pm 23.89)$   $\mu\text{mol/L}$  ( $P < 0.05$ ); 治疗组患者有2例脾脏发生萎缩, 脾门处厚度平均缩小0.9 cm; 白细胞和血小板无明显变化。移植患者中除2例移植后第2天出现低热外, 未发现严重不良反应及并发症。**结论** 自体骨髓干细胞移植治疗终末期肝病患者有良好的疗效。

**关键词:** 终末期肝病; 自体骨髓干细胞; 细胞移植

### Observation of clinical effectiveness for transplantation of autologous marrow stem cells in patients with end-stage liver diseases

WANG Fang<sup>1</sup>, ZHANG Jun<sup>1</sup>, ZHOU Yi-ming<sup>2</sup>, ZHANG Xiao-gang<sup>3</sup>, BAI Hai<sup>4</sup>, YIN Jian-guo<sup>5</sup>, ZHANG Jing<sup>1</sup> (1. Department of Infectious Diseases, PLA General Hospital, Lanzhou Military Area Command, Lanzhou 730070, China; 2. Department of Infectious Diseases, the first PLA Hospital of Lanzhou Military Area Command, Lanzhou 730030, China; 3. Gansu Traditional Chinese Medicine Hospital, Lanzhou 730000, China; 4. Department of Hematology, PLA General Hospital, Lanzhou Military Area Command Lanzhou 730070, China; 5. Department of Radiology, PLA General Hospital, Lanzhou Military Area Command Lanzhou 730070, China)

**Abstract: Objective** To observe the curative effect and safety for transplantation of autologous marrow stem cells in patients with end-stage liver diseases. **Methods** Thirty cases with end-stage liver diseases were randomly divided into control group (conventional therapy) and study group (with transplantation of autologous marrow stem cells on the base of conventional therapy). The clinical effectiveness, test items and adverse events after 1, 2, 4, 8 weeks were observed, respectively. **Results** All patients in study groups have obvious

基金项目: 甘肃省自然科学基金项目(3ZS061-A25-090); 甘肃省科技支撑计划项目(2007GS04524)

通讯作者: 王方 Email: kaixin919@163.com

improvement in clinical symptom after transplantation while only about half of the patients improved in control group. The level of prothrombin activity and albumin were increased from  $(31.21 \pm 15.90) \%$  to  $(48.54 \pm 16.80) \%$ , from  $(25.12 \pm 12.50) \text{ g/L}$  to  $(31.21 \pm 13.50) \text{ g/L}$ , respectively, in study groups, and from  $(30.45 \pm 17.20) \%$  to  $(39.45 \pm 14.70) \%$  ( $P < 0.05$ ), from  $(24.34 \pm 13.54) \text{ g/L}$  to  $(27.05 \pm 14.26) \text{ g/L}$  ( $P > 0.05$ ), respectively, in control group. Alanine aminotransferase and total bilirubin declined from  $(113.20 \pm 11.80) \text{ U/L}$  to  $(51.31 \pm 15.48) \text{ U/L}$ , from  $(169.45 \pm 34.32) \mu\text{mol/L}$  to  $(41.21 \pm 21.56) \mu\text{mol/L}$ , respectively in study groups, and from  $(109.34 \pm 15.28) \text{ U/L}$  to  $(75.35 \pm 14.56) \text{ U/L}$  ( $P < 0.05$ ), from  $(163.54 \pm 23.12) \mu\text{mol/L}$  to  $(62.34 \pm 23.89) \mu\text{mol/L}$ , respectively in control group ( $P < 0.05$ ). There were two cases with spleen thickness drawn back about 0.9 cm in study group, while no case in control group. Three cases in study group have low fever after transplantation and there was no severe adverse events observed. **Conclusions** The curative effect of transplantation of autologous marrow stem cells in patients with end-stage liver diseases is safe and stable.

**Key words:** End-stage liver disease; Autologous marrow stem cells; Cell transplantation

到目前为止, 终末期肝病的治疗一直没有令人满意的进展, 临床上治疗仍以保肝对症及预防并发症为主, 总体效果不甚理想。已证实肝细胞移植有助于急性肝损伤的恢复, 在代谢性疾病, 肝细胞移植可纠正代谢酶的缺乏, 但由于存在肝源同样有限, 而分离的肝细胞寿命很短, 冻存后活性明显降低等原因, 严重阻碍了其临床应用<sup>[1-5]</sup>。近年来, 全球掀起了有关干细胞的研究热潮, 为疾病的治疗提供了崭新思路。干细胞定向分化为功能细胞并应用于器官损伤的治疗, 一直是人类医学的梦想及追求目标, 其中造血干细胞移植治疗血液系统疾病较为成熟, 并自体骨髓干细胞移植治疗心肌梗死, 间充质干细胞治疗造血功能低下、帕金森氏病以及构建组织工程骨, 这些临床应用都收到了良好效果。本研究采用肝动脉导管自体骨髓干细胞移植治疗终末期肝病, 以期探讨该治疗方法的疗效和安全性。

## 1 资料和方法

**1.1 临床资料** 选择2006年10月至2007年8月我科住院的诊断肝硬化失代偿期(Child-Pugh B、C级)的终末期肝病患者30例, 生命体征平稳, 均无感染、肝性脑病、消化道出血等严重并发症; 其中男18例, 女12例, 年龄自26~62岁, 平均43岁, 诊断均符合2000年《病毒性肝炎防治方案》诊断标准。将患者随机按1:1的比例分为2组, 一组行保肝保守治疗(所用药物为肝水解肽100 mg加入5%葡萄糖注射液250 ml, 静脉点滴1次/天, 还原性谷胱甘肽1.2 g加入5%葡萄糖注射液100 ml

静脉点滴1次/天, 门冬氨酸钾镁注射液30 ml、ATP 40 mg、CoA 100 U、维生素C 3.0加入10%葡萄糖注射液250 ml 静脉点滴1次/天, 同时静卧休息, 限钠限水, 不用利尿剂治疗), 治疗组在同样保肝保守治疗的基础上行自体骨髓干细胞移植治疗。

## 1.2 方法

**1.2.1 术前准备** 所有患者均于术前1天行碘过敏实验, 双侧腹股沟备皮, 耐心细致地做好患者思想工作, 消除其紧张情绪; 填写自体骨髓干细胞移植知情同意书。

**1.2.2 自体骨髓干细胞的分离** 全部患者均选择髂后上棘为穿刺点, 局部麻醉下消毒, 在无菌条件下, 以18号骨髓穿刺针进行穿刺, 抽取骨髓约50 ml, 肝素抗凝, 轻轻加到Percoll分离液上, 室温下1200转/分钟离心25分钟, 吸取界面细胞层, 1500转/分钟离心5分钟, 用RPMI 1640液洗脱, 共3次, 生理盐水重悬细胞, 镜下计数所用细胞为 $10^8/\text{L} \sim 10^9/\text{L}$ 之间<sup>[6]</sup>。

**1.2.3 干细胞移植** 在介入引导下, 经股动脉插管至肝固有动脉, 注射造影剂, 观察肝内血管情况及无占位性病变后, 将分离好的骨髓干细胞悬液注入肝内, 穿刺点加压包扎。术后8小时插管侧髋关节呈伸直位并制动, 预防性应用抗生素3天, 行肝动脉导管治疗后常规护理。

**1.2.4 术后观察** 术后1、2、4、8周分别复查肝功能、凝血机制、血常规、腹部B型超声等, 了解患者谷丙转氨酶(ALT)、总胆红素(TBil)、血

蛋白(ALB)、凝血酶原活动度(PTA)、白细胞、血小板、肝脏和脾脏体积的大小,并观察患者乏力、纳差、腹胀等症状的改善情况及不良反应发生情况。

1.2.5 统计学处理 计数资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用成对资料 $t$ 检验,两率比较用校正的 $U$ 检验。

## 2 结果

2.1 手术成功率 15例患者手术全部成功。

2.2 临床症状 移植后1周全部(100%)患者临床乏力、纳差症状有明显改善,面色有了光泽,而对照组乏力、纳差症状改善的只有9例(60%)。

## 2.3 临床检验结果

2.3.1 移植后2周患者腹水和腹胀缓解情况 移植后2周内腹水消退的7例(45%),腹胀减轻8例(55%),而对照组分别为4例(26%)和7例(47%)。

2.3.2 移植后8周患者肝功能各项指标和PTA的变化 移植后8周,治疗组PTA有不同程度升高,■治疗前平均 $(31.21 \pm 15.90)\%$ 上升至 $(48.54 \pm 16.80)\%$ ,而对照组■治疗前平均 $(30.45 \pm 17.20)\%$ 上升至 $(39.45 \pm 14.70)\%$  ( $P < 0.05$ );治疗组患者ALT有下降,■平均 $(113.20 \pm 11.80)$  U/L降至 $(51.31 \pm 15.48)$  U/L,而对照组■平均 $(109.34 \pm 15.28)$  U/L降至 $(75.35 \pm 14.56)$  U/L ( $P < 0.05$ );治疗组患者TBil逐渐下降,

■平均 $(169.45 \pm 34.32)$   $\mu\text{mol/L}$ 降至 $(41.21 \pm 21.56)$   $\mu\text{mol/L}$ ;而对照组■平均 $(163.54 \pm 23.12)$   $\mu\text{mol/L}$ 降至 $(62.34 \pm 23.89)$   $\mu\text{mol/L}$  ( $P < 0.05$ );治疗组患者ALB逐渐升高,■平均 $(25.12 \pm 12.50)$  g/L升至 $(31.21 \pm 13.50)$  g/L,而对照组■平均 $(24.34 \pm 13.54)$  g/L升至 $(27.05 \pm 14.26)$  g/L ( $P > 0.05$ ),详见表1。

2.3.3 移植后其他指标的改变 治疗组患者有2例脾脏发生■缩,脾门处厚度平均缩小0.9 cm,■细胞和血小板计数无明显变化。

2.3.4 不良反应 移植患者中除2例移植后第2■出现低热第3天恢复正常外,未发现严重不良反应及并发症。

## 3 讨论

终末期肝病的治疗一直没有令人满意的进展,临床上治疗仍以保肝对症及预防并发症为主,总体效果不甚理想。近年来原位肝移植已成为终末期肝病最理想的治疗选择,但是供体的紧缺、移植后的免疫排斥反应以及高额的治疗费用限制了其临床应用,故迫切需要建立一种简便、安全并有效的治疗方法。骨髓干细胞移植作为肝功能衰竭治疗的一个新的研究方向<sup>[7,8]</sup>,已经引起广泛关注,并具有巨大的应用前景<sup>[9,10]</sup>。

动物实验领域有关骨髓干细胞移植治疗肝功能损伤的研究已有较多并取得初步疗效。Lagasse采用纯化的骨髓干细胞移植来治疗延胡索酰乙酰乙酸水解酶缺乏型小鼠,结果发现移植细胞组存

表1 移植后8周患者肝功能各项指标和PTA的变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	PTA (%)		ALT (U/L)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
治疗组	31.21 ± 15.90	48.54 ± 16.80*	113.20 ± 11.80	51.31 ± 15.48
对照组	30.45 ± 17.20	39.45 ± 14.70	109.34 ± 15.28	75.35 ± 14.56

表1 续表

组别	TBil ( $\mu\text{mol/L}$ )		ALB (g/L)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
治疗组	169.45 ± 34.32	41.21 ± 21.56*	25.12 ± 12.50	31.21 ± 13.50
对照组	163.54 ± 23.12	62.34 ± 23.89	24.34 ± 13.54	27.05 ± 14.26

注:治疗后两组间相比, \* $P < 0.05$ ; 两组治疗前的数据比较无显著性差异。

活率明显提高,并发现受体鼠肝脏几乎被正常的具有功能的肝细胞完全取代<sup>[11]</sup>。■本Terai等<sup>[12]</sup>对四氯化碳所致肝损伤小鼠给予骨髓干细胞移植,24小时后移植细胞即可移行至肝小叶外周,在移植后4周时可以替代受体鼠肝脏的25%,并发现受体鼠血清白蛋白明显升高。他们认为有望通过骨髓干细胞移植来进行肝病的临床治疗。

■前骨髓干细胞移植治疗肝损伤已经从动物实验进入临床治疗,■外■前只在英■有5例临床资料,■内也首先开展了此项治疗,采用自体骨髓干细胞移植治疗急、慢性肝功能衰竭的患者,结果发现骨髓干细胞移植组在症状改善和病死率降低方面均明显优于对照组<sup>[6, 13, 14]</sup>。对15位终末期肝病患者进行了自体骨髓干细胞移植治疗,在移植8周后,全部患者消化道症状有不同程度的改善,尤其是腹胀和乏力症状,多数患者黄疸有不同程度的下降,凝血酶原时间有不同程度的缩短,血浆白蛋白水平有不同程度的提升,2例脾脏有不同程度的■缩,病程中白细胞和血小板计数无明显变化。在15例移植患者中未发现严重不良反应及并发症,术后仅轻度发热2例,第3天体温恢复正常,未见肝区疼痛、出血等并发症。综上所述,自体骨髓干细胞移植治疗终末期肝病,具有很好的安全性和应用前景。

移植的骨髓干细胞在肝内发挥作用的机制尚不明确。■前移植的细胞数量约为肝实质细胞总数的0.01%,如此低比例的移植细胞是如何发挥保肝作用的?是否还存在其他的治疗机制?肝动脉内移植的干细胞定植在肝脏后如何分化?移植细胞在体内的转归问题还有待进一步探讨,移植细胞对肝组织损伤的修复作用如何等问题需要笔者进一步研究和阐明。

#### 参考文献

- [1] Ikebukuro H, Inagaki M, Mito M, et al. Prolonged function of hepatocytes transplanted into the spleens of Nagase analbuminemic rats [J]. *Eur Surg Res*,1999,31:39-47.
- [2] Nakazawa F, Sawa M, Jiang B, et al. Functional assessment of proliferation hepatocytes stimulated by hepatic stimulatory substance in ascorbic acid biosynthetic enzyme-deficient rats [J]. *Hepatology*,1997,26:437-443.
- [3] Kobayashi N, Fujiwara T, Westerman KA, et al. Prevention of acute liver failure in rats with reversibly immortalized human hepatocytes [J]. *Science*,2000,18:1258-1262.
- [4] Fox IJ, Chowdhury JR, Kaufman SS, et al. Treatment of the Crigler-Najjar syndrome type I with hepatocyte transplantation [J]. *N Engl J Med*,1998,338:1422-1426.
- [5] Strom SC, Chowdhury JR, Fox IJ. Hepatocyte transplantation for the treatment of human disease [J]. *Semin Liver Dis*,1999,19:39-48.
- [6] 姚鹏,王帅,胡大荣,等.肝动脉自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化30例[J]. *世界华人消化杂志*,2005,13:1639-1640.
- [7] Schwartz RE, Reyes M, Koodie L, et al. Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells [J]. *J Clin Invest*,2002,109:1291-1302.
- [8] Kushida T, Inaba M, Hisha H, et al. Crucial role of donor-derived stromal cells in successful treatment for intractable autoimmune diseases in MRL/lpr mice by BMS via portal vein [J]. *Stem Cell*,2001,19:226-235.
- [9] Wang X, Al-Dhalimy M, Lagasse E, et al. Liver repopulation and correction of metabolic liver disease by transplanted adult mouse pancreatic cells [J]. *Am J Pathol*,2001,158:571-579.
- [10] Sukhikh GT, Shtil AA. Stem cell transplantation for treatment of liver diseases: from biological foundations to clinical experience (review) [J]. *Int J Mol Med*,2003,11:395-400.
- [11] Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo [J]. *Nat Med*,2000,6:1229-1233.
- [12] Terai S, Sakaida I, Yamamoto N, et al. An uncomfortable silence while we all search for a better reporter gene in adult stem cell biology [J]. *Hepatology*,2004,39:1143-1146.
- [13] 周一鸣,胡大荣,姚鹏,等.肝脏干细胞生长及凋亡特性的研究[J]. *中国现代医学杂志*,2005,15:1210-1213.
- [14] 姚鹏,胡大荣,王帅,等.自体骨髓干细胞移植治疗慢性肝衰竭研究[J]. *肝脏*,2005,10:171-173.

收稿日期:2008-01-08