

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

周诗君¹ 叶英^{1,2} 李家斌^{1,2}

摘要 目的 观察脐血干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的疗效及安全性。方法 收集失代偿期肝硬化患者 80 例,其中 50 例患者自愿选择脐血干细胞移植作为观察组,在内科保守治疗基础上给予脐血干细胞移植治疗;30 例患者选择内科保守治疗作为对照组。随访观察监测两组患者的一般情况、临床症状以及肝功能、凝血功能、甲胎蛋白等指标。对比分析两组患者治疗后 1、6、12 个月的疗效。结果 ① 治疗 12 个月后,观察组 76% (38/50) 患者治疗后精神状态、乏力、食欲等相关临床症状及黄疸、腹水等体征有所改善;对照组 40% (12/30) 患者经治疗后上述症状及体征有所改善;② 观察组在治疗后 1、6、12 个月时肝功能各项指标 [白蛋白 (ALB)、白蛋白/球蛋白 (A/G)、总胆红素 (TBil)、谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、凝血酶原活动度 (PTA) 与治疗前比较逐渐好转 ($P < 0.05$),而对照组治疗后 1、6、12 个月与治疗前相比上述各指标变化差异无统计学意义;③ 两组在治疗前各项指标差异无统计学意义,而 ALB、A/G、TBil、PTA 在治疗后 1、6、12 个月差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 脐血干细胞移植治疗失代偿期肝硬化疗效明显、安全性好,并且优于内科保守治疗。

关键词 失代偿期肝硬化;脐血干细胞;移植

中图分类号 R 575.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)07-1035-04

失代偿期肝硬化晚期治疗的唯一有效方式为肝移植,由于肝源紧张、配型困难、免疫排斥等原因使此类患者治疗大受限制。近年来,干细胞越来越多地用于治疗多种疾病,如血液系统疾病、肝脏功能衰竭、神经退行性疾病、心肌梗死、肺纤维化等^[1-3]。干细胞有多向分化的潜能和强大的自我复制能力,与其他治疗方式比较,脐血干细胞移植有更符合伦理要求、来源相对丰富、免疫排斥小、患者承受痛苦小等优势。通过随访观察采用脐血干细胞移植的失代偿期肝硬化患者 50 例及同期仅接受内科保守治

疗的失代偿期肝硬化患者 30 例,对比两组患者的临床症状改善情况、肝功能及凝血功能水平。

1 材料与方法

1.1 病例资料 收集安徽医科大学第一附属医院 2012 ~ 2014 年共收治的失代偿期肝硬化患者 80 例,其中男 65 例,女 15 例,年龄 23 ~ 72 (47.81 ± 11.84) 岁。其中慢性乙型病毒性肝炎后肝硬化 66 例、酒精性肝硬化 3 例、自身免疫性肝炎后肝硬化 1 例、混合型肝硬化 8 例、丙肝后肝硬化 1 例、原因不明肝硬化 1 例。病例纳入标准:① 年龄 20 ~ 75 岁;② 符合 2000 年病毒性肝炎防治方案肝硬化失代偿临床诊断标准^[4];③ 乙肝患者均使用抗病毒治疗,乙型肝炎病毒定量 (hepatitis B virus deoxyribonucleic acid, HBV DNA) $< 10^3$ IU/ml。脐血捐献者及脐血排除标准:① 既往有输血史、恶性肿瘤史;② 有内分泌疾病、神经系统疾病、胶原病、血液系统疾病等;③ 有乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV)、丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV)、人免疫缺陷病毒、人体 T 细胞白血病病毒、梅毒等感染病史;④ 孕期羊水检查有染色体异常;⑤ 孕期末满 34 周,新生儿体重低于 2.5 kg 者;⑥ 分娩过程中羊水浑浊、胎儿宫内窒息、早破水、新生儿畸形以及使用药物者;⑦ 脐血检测细菌、真菌阳性;⑧ 脐血中乙型肝炎病毒表面抗原、HCV 抗体、HIV 抗体、巨细胞病毒抗体、梅毒血清反应阳性。接受治疗患者排除标准:① 合并严重相关疾病;② 合并恶性肿瘤;③ 食管胃底静脉曲张破裂出血活动期;④ 门静脉主干有血栓形成,门静脉阻塞 $> 50\%$,代偿性海绵血管形成或肠系膜上静脉主干阻塞,肠道严重淤血;⑤ 肝性脑病活动期;⑥ 怀孕或哺乳期。此研究项目经卫生主管部门批准,医院伦理委员会审核通过,并取得患者、脐血捐献者充分理解同意后签署干细胞移植知情同意书及捐献同意书。

1.2 移植术前检查 患者入院时进行入院常规检查:血常规、肝功能、凝血功能、甲胎蛋白、免疫四项、乙肝五项定量、HBV DNA、HCV RNA、肝脏 B 型超声/CT、胃镜、心电图。

2016-03-23 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81172737)

作者单位:¹安徽医科大学第一附属医院感染科,合肥 230022

²安徽省细菌耐药监控中心,合肥 230022

作者简介:周诗君,女,硕士研究生;

叶英,女,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: yeying2@139.com

1.3 移植术前准备 常规给予患者抗病毒治疗及保肝、降酶、退黄、利尿、输白蛋白(albumin ,ALB) 等对症治疗。

1.4 干细胞采集、质量控制标准、移植方法 将从产房采集的新鲜脐血用 4 ℃ 冰桶运送至无菌细胞分离室,使用骨髓/脐血干细胞体外分离试剂盒(宁夏中航生物有限责任公司) ,用负筛选法、密度梯度离心法获取脐血干细胞 5 ml ,从中取出 0.5 ml 送至检验实验室进行细胞计数。采集过程严格按照无菌操作要求;采集干细胞数量 $\geq 1.0 \times 10^9$ /L;所有观察组患者干细胞分离数目的平均值为 7.67×10^9 /L。采集后 4 h 内在数字减影血管造影术下行经股动脉,由肝固有动脉注入干细胞混悬液。密切观察患者术后不良反应。

1.5 术后随访 建立随访数据库,分别在干细胞移植术后 1、6、12 个月定期随访,评估患者一般情况、临床症状改善情况、肝功能及凝血功能、是否有肿瘤危险性(甲胎蛋白水平) 、以及肝脏形态学改变和门静脉是否有血栓形成(B 型超声、CT) 。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。由于监测指标有自相关性,故两组随访监测指标均先采用重复测量方差分析方法,组内对比采用配对样本 *t* 检验,两组治疗后各指标对比采用独立样本 *t* 检验,分类资料采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 术后患者一般情况 临床观察显示,治疗后观察组 38 例患者(38/50 ,76%) 在精神状态、乏力、食欲、肝性脑病等相关临床症状及黄疸、腹水等体征均有所改善;而对照组中只有 12 例患者上述症状及体征有所改善(12/30 ,40%) ,并表现出病情易反复的特点。

2.2 实验室检查 两组在治疗前各指标差异无统计学意义,见表 1。与治疗前比较,观察组在治疗后 1、6、12 个月时各项指标如 ALB($F = 15.648$, $t = 0.000$)、白蛋白/球蛋白(albumin/globulin , A/G) ($F = 9.677$, $t = 0.000$)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase ,ALT) ($F = 3.450$, $t = 0.024$)、总胆红素(total bilirubin , TBil) ($F = 3.398$, $t = 0.025$)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase , AST) ($F = 6.394$, $t = 0.001$)、凝血酶原活动度(prothrombin activity , PTA) ($F = 12.117$, $t = 0.000$) 均显示逐渐好转($P < 0.05$) ,见表 2。而对照组在治疗后 1、6、12

个月与治疗前相比上述各项指标除 ALT 外,变化差异无统计学意义,见表 3。ALB、A/G、TBil、PTA 在治疗后 1、6、12 个月在两组中差异有统计学意义($P < 0.05$) ,见表 4。患者甲胎蛋白在治疗后 6 个月均在正常水平。

表 1 对照组和观察组治疗前各指标比较($\bar{x} \pm s$)

指标	观察组($n=50$)	对照组($n=30$)	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁 $\bar{x} \pm s$)	47.70 \pm 10.95	48.00 \pm 13.40	3.134	0.081
性别(男/女 n)	41/9	24/6	1.028	0.824
ALB(g/L $\bar{x} \pm s$)	30.99 \pm 5.01	31.44 \pm 5.02	0.912	0.343
A/G($\bar{x} \pm s$)	1.01 \pm 0.31	1.01 \pm 0.40	3.155	0.080
TBil(log ₁₀ μ mol/L $\bar{x} \pm s$)	1.59 \pm 0.37	1.54 \pm 0.48	1.822	0.181
ALT(log ₁₀ U/L $\bar{x} \pm s$)	1.66 \pm 0.40	1.83 \pm 0.52	3.101	0.082
AST(log ₁₀ U/L $\bar{x} \pm s$)	1.80 \pm 0.31	1.82 \pm 0.40	2.728	0.103
PTA(% $\bar{x} \pm s$)	52.03 \pm 13.22	55.44 \pm 14.11	1.025	0.314

表 2 脐血干细胞移植前的各项指标与移植后不同时间比较($\bar{x} \pm s$)

指标	观察组	t 值	P 值
ALB(g/L)			
治疗后 1 个月	33.68 \pm 5.71	-3.497	0.001
治疗后 6 个月	36.11 \pm 6.56	-6.673	0.000
治疗后 12 个月	36.91 \pm 7.83	-6.562	0.000
A/G			
治疗后 1 个月	1.05 \pm 0.28	-1.221	0.228
治疗后 6 个月	1.18 \pm 0.37	-3.614	0.001
治疗后 12 个月	1.30 \pm 0.50	-5.220	0.000
TBil(log ₁₀ μ mol/L)			
治疗后 1 个月	1.52 \pm 0.36	2.261	0.028
治疗后 6 个月	1.43 \pm 0.35	3.217	0.002
治疗后 12 个月	1.42 \pm 0.37	3.063	0.004
ALT(log ₁₀ U/L)			
治疗后 1 个月	1.61 \pm 0.32	1.254	0.216
治疗后 6 个月	1.53 \pm 0.28	2.300	0.026
治疗后 12 个月	1.48 \pm 0.26	2.986	0.004
AST(log ₁₀ U/L)			
治疗后 1 个月	1.75 \pm 0.28	1.116	0.270
治疗后 6 个月	1.66 \pm 0.28	2.552	0.014
治疗后 12 个月	1.59 \pm 0.26	3.757	0.000
PTA(%)			
治疗后 1 个月	54.22 \pm 12.85	1.517	0.136
治疗后 6 个月	58.45 \pm 14.65	-4.337	0.000
治疗后 12 个月	61.35 \pm 15.38	-5.239	0.000

2.3 影像学改变 患者术后监测 B 型超声/CT 与术前相比未见肝脏大小、形态明显改变。患者 B 型超声/CT 均未提示血栓形成。

2.4 不良反应 1 例术后 24 h 内出现发热、皮疹,予以对症处理后好转,余无不适;监测患者甲胎蛋白及影像学均无肿瘤等并发症。

3 讨论

干细胞是一类有自我更新、扩增和多向分化潜

表3 对照组内科保守治疗前、后不同时间点各指标的比较($\bar{x} \pm s$)

指标	治疗前	治疗后1个月	治疗后6个月	治疗后12个月	F值	P值
ALB(g/L)	31.44 ± 5.02	32.22 ± 8.18	32.06 ± 4.39	31.13 ± 5.89	0.403	0.751
A/G	1.01 ± 0.40	1.04 ± 0.40	1.01 ± 0.24	1.00 ± 0.37	0.223	0.867
TBil(log 10 μmol/L)	1.54 ± 0.48	1.58 ± 0.58	1.56 ± 0.53	1.48 ± 0.52	2.429	0.087
ALT(log 10 U/L)	1.83 ± 0.52	1.74 ± 0.40	1.64 ± 0.45	1.59 ± 0.32	3.246	0.037
AST(log 10 U/L)	1.82 ± 0.40	1.85 ± 0.37	1.78 ± 0.34	1.71 ± 0.31	1.596	0.196
PTA(%)	55.44 ± 14.11	53.70 ± 17.28	57.64 ± 24.46	56.48 ± 23.81	0.674	0.575

表4 观察组和对照组治疗后各个时间点各指标比较($\bar{x} \pm s$)

指标	观察组	对照组	t值	P值
ALB(g/L)				
治疗后1个月	33.68 ± 5.71	32.22 ± 8.18	4.301	0.041
治疗后6个月	36.11 ± 6.56	32.06 ± 4.39	4.782	0.032
治疗后12个月	36.91 ± 7.83	31.13 ± 5.89	4.186	0.044
A/G				
治疗后1个月	1.05 ± 0.28	1.04 ± 0.40	4.931	0.003
治疗后6个月	1.18 ± 0.37	1.01 ± 0.24	4.795	0.032
治疗后12个月	1.30 ± 0.50	1.00 ± 0.37	4.046	0.048
TBil(log 10 μmol/L)				
治疗后1个月	1.52 ± 0.36	1.58 ± 0.58	9.446	0.003
治疗后6个月	1.43 ± 0.35	1.56 ± 0.53	8.477	0.005
治疗后12个月	1.42 ± 0.37	1.48 ± 0.52	4.758	0.032
PTA(%)				
治疗后1个月	54.22 ± 12.85	53.70 ± 17.28	6.780	0.011
治疗后6个月	58.45 ± 14.65	57.64 ± 24.46	13.930	0.000
治疗后12个月	61.35 ± 15.38	56.48 ± 23.81	9.011	0.004

能的细胞,在一定的条件下可分化为多种功能细胞^[5]。干细胞可分为肝源性干细胞和非肝源性干细胞,而后者可分为骨髓源性干细胞、脐血干细胞、胰腺上皮细胞、神经干细胞^[6]。在肝损伤以及干细胞的再生过程中,干细胞扮演着重要的角色^[7-8],而骨髓干细胞作为重要的肝外来源,在一定的微环境下能分化为肝细胞^[9-10],参与肝脏的重构与修复^[11-12]。目前用于治疗失代偿期肝硬化干细胞移植的有骨髓干细胞、胎肝干细胞以及脐血干细胞等^[13]。对于捐赠者脐血采集较骨髓干细胞采集无痛苦、无风险;采集方法简单、方便;脐血中的干细胞较其它来源的干细胞更原始,浓度更高,受污染机会少,来源更丰富^[14-15]。动物实验中,在输入人脐血干细胞的急性肝损伤小鼠肝脏可以检测到人的X染色体DNA、甲胎蛋白及ALB^[15],说明脐血干细胞能在损伤肝脏中发挥作用。姚鹏等^[16]对失代偿期肝硬化患者采取自体骨髓干细胞移植取得了较好的疗效。

通过观察80例失代偿期肝硬化患者显示,在接受脐血干细胞移植的患者中有76%的患者出现腹胀、乏力、纳差、腹水等临床症状明显改善;而仅接受内科保守治疗的患者中,只有40%患者的上述临床

症状有所改善且病情易反复。在接受脐血干细胞移植以及内科保守治疗的50例患者中,治疗后肝功能及凝血功能逐渐好转;而在仅接受内科保守治疗的30例患者中,治疗后肝功能及凝血功能上下波动,差异无统计学意义。如在接受脐血干细胞移植的患者ALB、A/G、TBil、PTA在治疗后1、6、12个月与对照组比较,上述指标差异均有统计学意义,提示脐血干细胞移植有利于改善患者的肝功能,这与陈海鸥等^[17]的研究基本一致。由此说明脐血干细胞移植治疗能够明显改善患者肝脏的合成功能,脐血干细胞移植效果明显优于内科治疗。比较治疗后的ALT、AST变化,结果显示对照组和观察组差异无统计学意义。这是因为失代偿期肝硬化主要是由于肝脏合成功能差、门脉压力高,在排除合并肝坏死情况下,转氨酶的增加通常不明显。在研究中入选的病例均为失代偿期肝硬化患者,肝脏急性损伤并不明显,故ALT、AST升高的患者较少,经过内科常规保守治疗后,转氨酶逐渐好转,而脐血干细胞移植对降低转氨酶的作用并不明显。

由于脐血干细胞有多潜能的特点,在移植过程中有伴发肿瘤的可能。在近一年研究过程中,观察组患者的甲胎蛋白变化、影像学检查等均未提示有肝癌的发生;无死亡病例、未见门静脉和肝静脉主干血栓形成、未发生全身感染等并发症。提示脐血干细胞移植相对安全可行。

目前临床大部分是采用的内科保守常规治疗失代偿期肝硬化,如抗病毒治疗及保肝、降低转氨酶、消退黄疸、利尿以减少血容量、补充白蛋白等对症治疗,但难以逆转失代偿的肝功能。使用脐血干细胞移植为治疗失代偿期肝硬化提供了新的思路。

参考文献

- [1] De Miguel M P, Fuentes-Julían S, Blázquez-Martínez A, et al. Immunosuppressive properties of mesenchymal stem cells: advances and applications[J]. *Curr Mol Med*, 2012, 12(5): 574-91.
- [2] Shen L H, Li Y, Chen J, et al. Intracarotid transplantation of

- bone marrow stromal cells increases axon-myelin remodeling after stroke [J]. *Neuroscience* 2006 ,137(2): 393-9.
- [3] 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): 1616-25.
- [4] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. *肝脏* 2011 ,16(1): 2-16.
- [5] Flohr T R, Bonatti H Jr, Brayman K L, et al. The use of stem cells in liver disease [J]. *Curr Opin Organ Transplant* ,2009 ,14(1): 64-71.
- [6] 翁敬飏,阮海兰,韦玲等. 人脐带干细胞外周静脉移植治疗失代偿期肝硬化的临床疗效[J]. *武汉大学学报(医学版)* , 2010 ,31(4): 541-3.
- [7] Lee K D, Kuo T K, Whang-Peng J, et al. *In vitro* hepatic differentiation of human mesenchymal stem cells [J]. *Hepatology* , 2004 ,40(6): 1275-84.
- [8] Petersen B E, Bowen W C, Patrene K D, et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells [J]. *Science* ,1999 ,284(5417): 1168-70.
- [9] Miyazaki M, Akiyama I, Sakaguchi M, et al. Improved conditions to induce hepatocytes from rat bone marrow cells in culture [J]. *Biochem Biophys Res Commun* ,2002 ,298(1): 24-30.
- [10] Schwartz R E, 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(10): 1291-302.
- [11] Theise N D, Badve S, Saxena R, et al. Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation [J]. *Hepatology* ,2000 ,31(1): 235-40.
- [12] Cantz T, Sharma A D, Jochheim-Richter A, et al. Reevaluation of bone marrow-derived cells as a source for hepatocyte regeneration [J]. *Cell Transplant* ,2004 ,13(6): 659-66.
- [13] Ilan Y, Roy-Chowdhury N, Prakash R, et al. Massive repopulation of rat liver by transplantation of hepatocytes into specific lobes of the liver and ligation of portal vein branches to other lobes [J]. *Transplantation* ,1997 ,64(1): 8-13.
- [14] Rocha V, Cornish J, Sievers E L, et al. Comparison of outcomes of unrelated bone marrow and umbilical cord blood transplants in children with acute leukemia [J]. *Blood* ,2001 ,97(10): 2962-71.
- [15] 唐晓鹏,杨旭,张旻等. 脐血干细胞移植治疗肝功能衰竭及心肌损害的临床与实验研究[J]. *中华肝脏病杂志* ,2005 , 13(4): 259-63.
- [16] 姚鹏,胡大荣,王帅等. 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(13): 1639-40.
- [17] 陈海鸥,胡小宣,刘洪娟等. 脐血干细胞移植治疗肝硬化的疗效观察[J]. *中华肝脏病杂志* 2010 ,18(7): 537-8.

Evaluation of therapeutic effect and safety of the umbilical blood stem cell transplantation on patients with end-stage cirrhosis

Zhou Shijun¹, Ye Ying^{1,2}, Li Jiabin^{1,2}

(¹Dept of Infectious Diseases, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022;

²Anhui Center for Surveillance of Bacterial Resistance, Hefei 230022)

Abstract Objective To observe the therapeutic effect and safety of the umbilical blood stem cell transplantation on patients with end-stage cirrhosis. **Methods** We chose 80 patients diagnosed with end-stage cirrhosis. All the related contraindications were excluded. Communicated with all the patients, 50 patients chose the umbilical blood stem cell transplantation and conservative treatment, and 30 patients only chose conservative treatment. The 50 patients were defined as observation group and the left were defined as control group. After transplantation, clinical symptoms and laboratory data were recorded at the 1 month, 6 month, and 12 month. **Results** ① 12 months after transplantation, clinical symptoms were improved in 38 cases (76%) in the observation group and that in 12 cases (40%) in the control group. ② The laboratory data, including ALB, TBiL, ALT, AST, PTA were improved after transplantation in observation group ($P < 0.05$). No significant difference was found in the control group after therapy. ③ After transplantation, the improvement of ALB, A/G, TBiL, PTA in observation group was higher than the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** After transplantation of the umbilical blood stem cell transplantation, the liver function and life quality of patients are significantly improved. This method is better than conservative treatment. The method is safe and effective in the treatment of patients with end-stage cirrhosis.

Key words end-stage cirrhosis; umbilical blood stem cell; transplantation