

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.02.010

文章编号: 1005-8982(2016)02-0047-04

临床论著

人脐带血干细胞经外周静脉、肝动脉移植治疗失代偿期肝硬化的患者近期疗效观察

朱理辉¹, 罗勇², 张琍¹, 李国庆¹, 廖文秋¹, 王正根¹

(南华大学附属第二医院 1.消化内科, 2.重症医学科, 湖南 衡阳 421001)

摘要: **目的** 比较人脐带血干细胞经外周静脉、肝动脉移植治疗失代偿期肝硬化的患者近期疗效。 **方法** 将该院 2010 年 1 月 - 2014 年 4 月收治的 40 例肝硬化失代偿期患者随机分成两组, 每组 20 例。在内科综合治疗的基础上, 分别经外周静脉和经股动脉穿刺至肝固有动脉, 移植相同数量的人脐带血干细胞, 观察两组患者术后临床症状变化, 检测术后 2、4、8 和 12 周患者血清总胆红素(TBIL)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、血清蛋白(ALB)、胆碱酯酶(CHE)、凝血酶原时间(PT)水平。 **结果** 两组在治疗后 2 周左右患者临床症状改善, 术后 4 周两组总胆红素、ALT、AST 开始逐渐下降, 血清白蛋白、胆碱酯酶逐渐上升, 凝血酶原时间缩短, 与术前比较差异有统计学意义。但外周静脉移植组各检测指标在术后 8 周与术后 12 周比较差异无统计学意义。经肝动脉组患者总胆红素、ALT、AST、血清白蛋白等指标改善呈时间依赖性, 至术后 12 周时最明显, 而凝血酶原时间术后 8 周和 12 周差异无统计学意义。 **结论** 经外周静脉、肝动脉移植人脐带血干细胞治疗肝硬化失代偿期患者近期疗效确切, 且经肝动脉移植人脐带血干细胞有时间依赖性。

关键词: 脐带血干细胞; 肝硬化; 移植; 外周静脉; 肝动脉

中图分类号: R742.5

文献标识码: A

Short-term effect of human umbilical cord stem cells transplanted via peripheral veins or hepatic artery in patients with decompensated cirrhosis

Li-hui Zhu¹, Yong Luo², Li Zhang¹, Guo-qing Li¹, Wen-qiu Liao¹, Zheng-gen Wang¹

(1. Department of Gastroenterology, 2. Intensive Care Unit, the Second Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

Abstract: **Objective** To determine and compare the short-term effect of human umbilical cord blood stem cell transplantation on the decompensated cirrhosis via peripheral veins or hepatic artery. **Methods** Forty patients with decompensated cirrhosis from 2010 to 2014 were randomly divided into peripheral-vein group and hepatic-artery group, and each group had 20 cases. They were injected with the same amount of human umbilical cord blood stem cells via peripheral veins or hepatic artery on the basis of comprehensive medicine treatment. The changes in clinical symptoms of the patients were observed. The levels of serum bilirubin, ALT, AST, albumin, cholinesterase and prothrombin time were determined 2, 4, 8 and 12 weeks after cell transplantation. **Results** The clinical symptoms of the patients in both groups were all improved 2 weeks after cell transplantation. The levels of serum bilirubin, ALT and AST decreased; albumin and cholinesterase increased; and prothrombin time was shortened 4 weeks after transplantation; which were statistically different from the preoperative levels. The changes between 8 weeks and 12 weeks after transplantation had no statistical differences in the peripheral-vein group. The serum bilirubin, ALT, AST and albumin were improved in a

收稿日期: 2015-07-23

[通信作者] 罗勇, E-mail: fordluo@qq.com; Tel: 18674766693

• 47 •

time-dependent manner, and most significantly 12 weeks after cell transplantation. The prothrombin time 8 weeks after transplantation had no statistical difference from that 12 weeks after transplantation. **Conclusions** The transplantation of human umbilical cord stem cells has short-term efficacy in patients with decompensated cirrhosis, and its efficacy in hepatic-artery group is time-dependent.

Keywords: umbilical cord stem cell; cirrhosis; transplantation; peripheral vein; hepatic artery

失代偿期肝硬化是消化科最常见的慢性肝病,原位肝移植是治疗失代偿期的终末期肝硬化患者最理想的选择,但因供体紧缺、免疫排斥、费用高等原因,导致临床应用难以实施,不能成为患者常规的治疗手段。近年来随着对干细胞治疗研究的深入,发现自体骨髓干细胞治疗代偿期肝硬化等终末期肝病者可取得一定疗效^[1]。脐带血干细胞移植对于未接受肝移植的这类患者不失为一种可选的治疗方法。但因部分肝硬化患者受到血小板减少、凝血功能差及患者不能接受有创伤治疗等,无法通过肝动脉介入途径给予干细胞治疗。因此笔者通过对比肝动脉和外周血静脉两种途径给予脐带血干细胞移植治疗 40 例失代偿期肝硬化患者,观察两种方法治疗后患者的临床症状、肝功能和凝血功能的变化。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2010 年 1 月 -2014 年 4 月入住南华大学附属第二医院的失代偿期肝硬化患者 40 例,其中男 28 例,女 12 例,年龄 28 ~ 74 岁,平均(48.6 ± 4.5)岁。其中乙肝肝硬化 27 例,丙肝肝硬化 8 例,酒精性肝硬化 4 例,淤血性肝硬化 1 例。患者肝功能均属于 child-pugh C 级,排除感染、原发性肝癌和门静脉血栓形成等并发症。将患者随机分为 2 组,外周静脉组 20 例,肝动脉组 20 例。检测指标包括谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、总胆红素(TBIL)、血清白蛋白(ALB)、凝血酶原时间(PT)。本研究经医院伦理委员会讨论批准,患者及家属签署知情同意书后进行。

1.2 仪器及试剂

数字减影血管造影机、美森全自动生化分析仪。选择 HBsAg 阴性的健康产妇,分娩后马上取脐带血 100 ml,配血型合适后应用深圳市北科生物科技有限公司提供的试剂盒分离培养纯化的人脐带血干细胞 30 ml 悬液,细胞数 $>2 \times 10^7/\text{ml}$ 。

1.3 方法

所有患者入院后均行基本的内科综合治疗,禁饮酒、停止服用肝损害药物、期间不予输注白蛋白,

局部麻醉下改良 Seldinger 技术穿刺右侧股动脉插管至肝固有动脉行选择性肝动脉造影排除早期小肝癌。将人脐带血干细胞提取液 30 ml 经导管至肝固有动脉和外周较粗的静脉分别以 1 ml/min 的速度缓慢注入,注射完毕后,再以生理盐水冲洗管道,拔除导管,穿刺点加压包扎,肢体制动 24 h,观察患者的反应。

1.4 观察指标

术前 1 周、术后 2、4、8 及 12 周分别观察患者临床症状(乏力、纳差、腹水等)改善情况、ALT、TB、ALB 和 PT 水平变化,观察两组术后不良反应的发生情况。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计学软件进行数据分析,计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较用配对 *t* 检验,计数资料比较用 Fisher 确切概率法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床症状改善情况

两种途径进行脐带血干细胞移植治疗后,患者术后均无发热、腹痛等不适,术后 2 周后 40 例患者中有 28 例自觉乏力、纳差、腹胀好转,18 例患者注射部位皮肤青紫瘀斑较治疗前明显减轻,其中腹胀和下肢浮肿的症状随着治疗后时间延长而逐渐减轻,至第 12 周时自觉腹胀和下肢浮肿减轻最明显。

2.2 肝功能和凝血功能改善情况

两组患者术后 4 周总胆红素、ALT、AST 开始下降,血清白蛋白、CHE、PT 开始上升,与术前及术后 2 周比较差异有统计学意义。外周静脉组患者术后 8 周和术后 12 周比较,上述各项指标差异无统计学意义($P > 0.05$)。肝动脉组患者术后 12 周总胆红素下降、清蛋白升高、ALT、AST 下降,和术后 8 周比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),而术后 12 周时检测 PT 在该组和术后 8 周比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见附表。

2.3 不良反应的发生率

附表 不同时期肝动脉和外周静脉组患者肝功能和凝血功能改变 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	TBIL/($\mu\text{mol/L}$)	ALT/(u/L)	ALB/(g/L)	CHE/(u/L)	PT/s
肝动脉组	术前	52.3 ± 15.8	68.4 ± 28.7	28.2 ± 4.6	1 823.7 ± 294.1	21.5 ± 3.9
	术后 2 周	48.8 ± 12.3	62.1 ± 30.2	29.0 ± 4.2	1 915.4 ± 283.8	19.5 ± 2.4
	术后 4 周	41.2 ± 11.9 ¹⁾	51.8 ± 24.9 ¹⁾	29.5 ± 3.4 ¹⁾	2 142.2 ± 302.5 ¹⁾	18.8 ± 2.0 ¹⁾
	术后 8 周	32.5 ± 13.4 ¹⁾	40.6 ± 19.5 ¹⁾	31.7 ± 3.8 ¹⁾	2 546.3 ± 315.8 ¹⁾	17.5 ± 3.2 ¹⁾
	术后 12 周	24.6 ± 10.2 ¹⁾²⁾	36.7 ± 15.3 ¹⁾²⁾	33.6 ± 4.3 ¹⁾²⁾	2 738.6 ± 314.7 ¹⁾²⁾	15.2 ± 3.6 ¹⁾³⁾
外周静脉组	术前	54.4 ± 17.1	64.5 ± 29.4	27.5 ± 3.9	1 904.4 ± 264.6	21.9 ± 3.3
	术后 2 周	49.8 ± 11.6	60.1 ± 28.2	28.0 ± 2.4	1 944.5 ± 280.7	20.5 ± 3.0
	术后 4 周	42.3 ± 10.0 ¹⁾	50.6 ± 20.8 ¹⁾	29.7 ± 3.1 ¹⁾	2 201.2 ± 283.4 ¹⁾	18.1 ± 2.5 ¹⁾
	术后 8 周	43.7 ± 9.4 ¹⁾	49.2 ± 21.5	30.2 ± 3.3	2 246.3 ± 301.9 ¹⁾	17.8 ± 3.1 ¹⁾
	术后 12 周	45.2 ± 10.6 ¹⁾³⁾	52.2 ± 23.4 ¹⁾³⁾	28.2 ± 2.7 ¹⁾³⁾	2 215.0 ± 290.5 ¹⁾³⁾	17.0 ± 2.8 ¹⁾³⁾

注:1)与术前组比较, $P < 0.05$; 2)与术后 8 周比较, $P < 0.01$; 3)与术后 8 周比较, $P > 0.05$

术后两组患者均无明显腹痛、发热、皮疹等不适。股动脉穿刺部位无血肿形成、感染等,术后 8 周和术后 12 周复查肝脏 B 超均未见肝脏新生占位病灶。

3 讨论

肝硬化失代偿期患者每年有数十万人死于各种严重并发症,常见的包括消化道出血、肝性脑病、原发性肝癌及并发感染等。目前,肝移植仍是肝硬化等终末期肝病的唯一有效的治疗方法^[2-3]。肝干细胞按其来源可分为肝源性干细胞和非肝源性干细胞,非肝源性肝干细胞指骨髓间充质干细胞、脂肪间充质干细胞、脐带间充质干细胞和脐血间充质干细胞等。由于终末期肝病患者能够进行肝移植治疗较少,脐血间充质干细胞作为非肝源性肝干细胞的一种,含有多种谱系的干细胞,比骨髓源性干细胞更原始,具有低免疫原性、来源丰富、增生分化能力高于骨髓的特点,在特定肝脏微环境中可分化为肝组织和干细胞,具有长时间持续扩增的能力,有表达肝细胞特异性标志物及相关功能,从而参加肝组织的修复与重建^[4-5],这为移植脐血间充质干细胞治疗终末期肝病提供了实验依据。临床上有研究报道,通过肝动脉途径给予人脐血干细胞移植治疗术后观察到其在改善凝血功能、恢复肝功能、提升白蛋白等方面亦有很好的疗效^[6-7]。但因部分肝硬化患者受到血小板减少、凝血功能差及患者不能接受有创伤治疗等,无法通过肝动脉介入途径给予干细胞治疗。因此,本研究通过对比了肝动脉和外周血静脉两种途径给予脐带血干细胞移植治疗 40 例失代偿期肝硬化患者,观察了相关疗效,具有临床实际意义,这在国内尚无相关

的临床报道。

与术前比较,两种途径给患者干细胞移植后 2 周自觉乏力等症状好转,但肝功能和凝血功能无明显变化,与术前比较差异无统计学意义。相关研究表明干细胞定植在肝脏后分化为功能细胞需约 1 个月的时间^[8-9],因此,患者干细胞移植后肝功能及凝血功能无明显变化可能与干细胞移植到肝脏局部 2 周这么短的时间内不能很好进行定植、分化、融合有关。4 周后经肝动脉和外周血静脉干细胞移植后患者的肝功能 ALT、TBIL 均明显下降,ALB、CHE 等明显上升,凝血功能得到改善,说明通过这两种方法注入脐带血干细胞发挥了修复肝硬化患者肝脏的合成功能,且经外周静脉进行干细胞移植治疗肝硬化患者具有可行性。近年来国内外研究发现,干细胞移植治疗能改善肝脏合成功能,具体机制尚不清楚,可能有:能减少肝细胞凋亡^[10-11],干细胞分泌一些如肝细胞生长因子、表皮生长因子和神经生长因子等刺激肝细胞增殖并维持肝细胞功能^[12],降低肝脏炎症、促进肝细胞再生降低肝纤维化^[13-15]。本研究还发现,外周静脉组患者干细胞移植术后 8 周与术后 12 周肝功能和凝血功能改善比较,差异无统计学意义,提示无明显时间依赖性。而肝动脉组患者术后 8 周开始肝功能改善呈时间依赖性,至术后 12 周时最明显,推测这可能与脐带血干细胞经肝动脉介入治疗后更容易到达肝脏局部定植、融合,进而分化增殖成有功能的肝细胞有关。因此,如果患者通过外周血静脉进行脐带血干细胞移植治疗肝硬化失代偿期患者可考虑缩短间隔时间,来达到更好的治疗效果。

综上所述,经外周静脉、肝动脉移植人脐带血干

细胞治疗肝硬化失代偿期患者近期疗效确切,能改善患者的肝功能及凝血功能,且经肝动脉移植人脐带血干细胞治疗效果有时间依赖性,对于部分失代偿期肝硬化患者不能进行肝动脉移植术,可采取缩短间隔时间的方法进行脐带血干细胞移植治疗,这为部分肝硬化患者制定干细胞移植治疗方案提供初步的理论依据。

参 考 文 献:

- [1] 王方, 张小岗, 张静, 等. 自体骨髓干细胞治疗失代偿期肝硬化患者 50 例疗效观察[J]. 实用肝脏病杂志, 2010, 13(4): 272-274.
- [2] 吕素莉, 马勇, 丁体龙. 骨髓间充质干细胞移植在肝纤维化治疗中的应用[J]. 临床肝胆病杂志, 2012, 28(11): 819-823.
- [3] Russo FP, Parola M. Stem cells in liver failure[J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2012, 26(1): 35-45.
- [4] Uppalapati D, Ohta N, Zhang Y, et al. Identification and characterization of unique tumoricidal genes in rat umbilical cord matrix stem cells[J]. Mol Pharm, 2011, 8(5): 1549-1558.
- [5] Khan AA, Parveen N, Mahaboob VS, et al. Safety and efficacy of autologous bone marrow stem cell transplantation through hepatic artery for the treatment of chronic liver failure: a preliminary study[J]. Transplant Proc, 2008, 40(4): 1140-1144.
- [6] Kawabata A, Ohta N, Sella G, et al. Nave rat umbilicalcord matrix stem cells significantly attenuate mammary tumor growth through modulation of endogenous immune responses[J]. Cytotherapy, 2013, 15(5): 586-597.
- [7] 金波, 孟繁平, 冯宇, 等. 肝动脉超选灌注自体骨髓干细胞治疗失代偿期乙型肝炎肝硬化的临床研究[J]. 传染病信息, 2011, 24(3): 143-146.
- [8] Galun E, Axelord JH. The role of cytokines in liverfailure and regeneration:potential new molecular therapies[J]. Biochem Biophys Acta, 2002, 1592(3): 345-358.
- [9] Lin SZ, Chang YJ, Liu JW, et al. Transplantation of human Wharton's Jelly-derived stem cells alleviates chemically induced Liver fibrosis in rats[J]. Cell Transplant, 2010, 19(11): 1451-1463.
- [10] Cui L, Shi Y, Han Y, et al. Immunological basis of stem cell therapy in liver diseases[J]. Expert Rev Clin Immunol, 2014, 10(9): 1185-1196.
- [11] Lin H, Xu R, Zhang Z, et al. Implications of the immunoregulatory functions of mesenchymal stem cells in the treatment of human liver diseases[J]. Cell Mol Immunol, 2011, 8(1): 19-22.
- [12] Li Q, Zhou X, Shi Y, et al. In vivo tracking and comparison of the therapeutic effects of MSCs and HSCs for liver injury[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e62363.
- [13] Forbes SJ, Newsome PN. New horizons for stem cell therapy in liver disease[J]. J Hepatol, 2012, 56(2): 496-499.
- [14] Tanimoto H, Terai S, Taro T, et al. Improvement of liver fibrosis by infusion of cultured cells derived from human bone marrow[J]. Cell Tissue Res, 2013, 354(3): 717-728.
- [15] Iwamoto T, Terai S, Hisanaga T, et al. Bone-marrow-derived cells cultured in serum-free medium reduce liver fibrosis and improve liver function in carbon-tetrachloride-treated cirrhotic mice[J]. Cell Tissue Res, 2013, 351(3): 487-495.

(张西倩 编辑)