

• 临床经验 •

肝动脉自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化 30 例

姚 鹏, 王 帅, 胡大荣, 闻 炜, 周一鸣, 龚丽娟

姚鹏, 王帅, 胡大荣, 闻炜, 周一鸣, 龚丽娟, 北京军区总医院肝病治疗中心
北京市 100700

通讯作者: 姚鹏, 100700, 北京东四南门仓 5 号, 北京军区总医院肝病治疗
中心. pyao1@sohu.com

电话: 010-66721394

收稿日期: 2005-05-08 接受日期: 2005-05-30

摘要

目的: 探讨肝动脉插管自体骨髓干细胞移植的可行性及其对肝硬化患者肝功的改善作用。

方法: 肝硬化失代偿期患者 30 例, 分离其自体骨髓干细胞, 行肝动脉插管自体干细胞移植治疗。患者于移植后 1、2、4、8 wk 和 12 wk 进行肝功能等检测, 并观察其移植后临床症状的改善情况及术后的不良反应。

结果: 移植 1, 4, 8 wk 和 12 wk 后, 22 例(73.3%)患者 ALT 逐渐降低, 由平均 180.35 ± 15.6 U/L 降至 70.36 ± 21.3 U/L; 21 例(70%)患者 TBIL 逐渐下降, 由平均 155.32 ± 23.1 $\mu\text{mol/L}$ 降至 80.19 ± 18.4 $\mu\text{mol/L}$; 23 例(76.6%)患者 ALB 逐渐升高, 由平均 26.36 ± 16.3 g/L 升至 32.64 ± 12.8 g/L。移植后全部(100%)患者 PTA 不同程度升高, 由治疗前平均 $26.18 \pm 13.9\%$ 上升至治疗 12 wk 后的 $51.63 \pm 22.7\%$ 。移植后大多数患者临床症状有明显改善: 移植后 12 wk 内腹水减轻的 14 例(46%); 食欲改善的 22 例(73%); 乏力好转 18 例(60%); 腹胀减轻 13 例(43%); 在 30 例移植患者中未发现严重不良反应及并发症。

结论: 自体骨髓干细胞移植作为治疗肝硬化的一种新的措施安全有效。

姚鹏, 王帅, 胡大荣, 闻炜, 周一鸣, 龚丽娟. 肝动脉自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化 30 例. 世界华人消化杂志 2005;13(13):1639-1640
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1639.asp>

0 引言

对于各种终末期肝病, 原位肝移植是最理想的治疗选择, 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该种治疗方法的临床应用, 故迫切需要建立一种简便、安全并有效的治疗方法。骨髓干细胞移植是肝功能衰竭治疗的一个新的研究方向。本研究采用肝动脉导管自体骨髓干细胞移植进行失代偿期肝硬化治疗, 旨在探讨该治疗方法的疗效、可行性、安全性和实用性。

1 材料和方法

1.1 材料 2004-10/2005-02 我科住院患者 30 例, 临床诊断为肝硬化失代偿期(Child C 级), 其中女 11 例,

男 19 例, 26-65 岁, 平均年龄 47.3 岁。诊断均 2000 年病毒性肝炎防治方案诊断标准^[1]。

1.2 方法

1.2.1 术前准备 所有患者均于术前 1 d 行碘过敏实验, 双侧腹股沟备皮, 术前 4 h 禁食水。

1.2.2 自体骨髓干细胞分离制备 患者行局部麻醉消毒, 在无菌条件下, 以 18 号骨髓穿刺针从髂后上棘进行穿刺, 抽取骨髓 50-100 mL, 以 4000 U 肝素抗凝, 避免污染。参考 Kai Wollert 的方法^[2], 患者骨髓离心去除脂肪层, 用等量 DMEM 培养液稀释骨髓, 制成细胞悬液。将骨髓轻轻加到密度 1.073 g/mL 的 Percoll 分离液上, 1200 r/min 离心 25 min(室温下)。吸取界面细胞层, 用生理盐水洗脱, 1 500 r/min 离心 5 min, 共 3 次, 生理盐水重悬细胞, 镜下计数所用细胞为 1.0×10^{11} /L, 置于 37℃ 二氧化碳孵箱待用。

1.2.3 肝动脉导管干细胞移植 X 光透视下, 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有无占位病变后, 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 24 h 插管侧髋关节呈伸直位并制动, 预防性应用抗生素 3 d。行肝动脉导管治疗后常规护理。

1.2.4 术后观察 术后 1、4、8 wk 及 12 wk 分别复查谷丙转氨酶(ALT)、总胆红素(TBI1)、白蛋白(ALB)、凝血酶原活动度(PTA)等。并注意观察患者乏力、纳差、腹胀等症状的改善情况及不良反应发生情况。

2 结果

2.1 手术成功率 30 例患者手术全部成功, 手术成功率为 100%。

2.2 临床检验结果 移植 1, 4, 8 wk 和 12 wk 后, 22 例(73.3%)患者 ALT 逐渐降低, 由平均 180.35 ± 15.6 U/L 降至 70.36 ± 21.3 U/L; 21 例(70%)患者 TBIL 逐渐下降, 由平均 155.32 ± 23.1 $\mu\text{mol/L}$ 降至 80.19 ± 18.4 $\mu\text{mol/L}$; 23 例(76.6%)患者 ALB 逐渐升高, 由平均 26.36 ± 16.3 g/L 升至 32.64 ± 12.8 g/L。移植后全部(100%)患者 PTA 不同程度升高, 由治疗前平均 $26.18 \pm 13.9\%$ 上升至治疗 12 wk 后的 $51.63 \pm 22.7\%$ 。

2.3 临床症状 移植后大多数患者临床症状有明显改善: 移植后 12 wk 内腹水减轻的 14 例(46%); 食欲改善的 22 例(73%); 乏力好转 18 例(60%); 腹胀减轻 13 例(43%)。

2.4 不良反应 30 例移植患者中未发现严重不良反应及并发症。术后轻度恶心 1 例, 发热 1 例。未见明显 WBC 下降、肝区疼痛、出血等并发症。

3 讨论

干细胞是指一类具有自我更新和分化能力的细胞^[3-5],干细胞的增殖及定向分化具有巨大的应用潜能,已成为细胞生物学以及整个生命科学的研究热点。

干细胞定向分化为功能细胞并且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,研究表明,在肝损伤及肝细胞再生的过程中^[6-7],干细胞起着重要的作用,而骨髓干细胞是肝细胞的重要的肝外来源^[8-9]。骨髓干细胞在特定环境下可分化成肝干细胞及肝细胞,从而参与肝功能的修复和重构^[10-11]。为探索骨髓干细胞对人类肝损伤的治疗作用,我们在大量研究的基础上,首次将骨髓干细胞应用于肝病治疗。本研究采用患者自体骨髓干细胞作为供体,在体外分离纯化后移植患者体内,观察骨髓干细胞移植能否使损伤的肝功能得以改善和恢复。

我们对30例肝硬化失代偿期的患者顺利进行了自体骨髓干细胞移植治疗。观察发现,在移植12 wk后,22例(73.3%)患者ALT逐渐降低,21例(70%)患者TBIL逐渐下降,23例(76.6%)患者ALB逐渐升高,移植后全部(100%)患者PTA不同程度升高,表明,骨髓干细胞移植治疗后,患者肝脏功能明显改善。我们还观察了自体骨髓干细胞移植后患者临床症状的变化,发现移植后大多数患者有明显的改善。在30例移植患者中未发现严重不良反应及并发症。

重症肝病的治疗一直以来并没有令人满意的进展,临床上主要仍以保肝对症及预防并发症为主。尤其是终末期肝病的治疗总体效果不甚理想。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。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^[12-13],已经引起广泛关注,并具有巨大的应用前景^[14-15]。

本研究中,我们初步探讨了自体骨髓干细胞移植对失代偿期肝硬化患者肝功改善的作用,结果令人满意。以上30例患者治疗后情况似乎提示:自体骨髓干细胞移植治疗对肝硬化患者肝功改善、治疗时间缩短等有明显效果。然而,自体骨髓干细胞在人受体肝脏内定植、生长分化及肝脏病理学改变情况还有待进一步研究。我们首次应用患者自体骨髓干细胞作为供体,对肝硬化患者进行治疗,探索干细胞在严重肝病患者的临床应用。这将为肝病治疗探索崭新的途径,为干细胞治疗的进一步研究打下基础。

4 参考文献

1 中华医学会传染病与寄生虫病分会、肝病学会。病毒性肝炎

防治方案。中华肝脏病杂志 2000;8:324-329

- 2 Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, Fichtner S, Korte T, Hornig B, Messinger D, Arseniev L, Hertenstein B, Ganser A, Drexler H. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomized controlled clinical trial. *Lancet* 2004;364:141-148
- 3 Yao P, Zhan Y, Xu W, Li C, Yue P, Xu C, Hu D, Qu CK, Yang X. Hepatocyte growth factor-induced proliferation of hepatic stem-like cells depends on activation of NF-kappaB. *J Hepatol* 2004;40:391-398
- 4 姚鹏, 詹轶群, 许望翔, 李长燕, 杨晓明, 胡大荣. 细胞生长因子体外对大鼠肝干细胞的影响. 中华肝脏病杂志 2003;11:33-36
- 5 Oh SH, Miyazaki M, Kouchi H, Inoue Y, Sakaguchi M, Tsuji T, Shima N, Higashio K, Namba M. Hepatocyte growth factor induces differentiation of adult rat bone marrow cells into a hepatocyte lineage in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;279:500-504
- 6 Lee KD, Kuo TK, Whang-Peng J, Chung YF, Lin CT, Chou SH, Chen JR, Chen YP, Lee OK. In vitro hepatic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Hepatology* 2004;40:1275-1284
- 7 Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, Boggs SS, Greenberger JS, Goff JP. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 1999;284:1168-1170
- 8 Miyazaki M, Akiyama I, Sakaguchi M, Nakashima E, Okada M, Kataoka K, Huh NH. Improved conditions to induce hepatocytes from rat bone marrow cells in culture. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;298:24-30
- 9 Schwartz RE, Reyes M, Koodie L, Jiang Y, Blackstad M, Lund T, Lenvik T, Johnson S, Hu WS, Verfaillie CM. Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. *J Clin Invest* 2002;109:1291-1302
- 10 Theise ND, Badve S, Saxena R, Henegariu O, Sell S, Crawford JM, Krause DS. Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation. *Hepatology* 2000;31:235-240
- 11 Cantz T, Sharma AD, Jochheim-Richter A, Arseniev L, Klein C, Manns MP, Ott M. Reevaluation of bone marrow-derived cells as a source for hepatocyte regeneration. *Cell Transplant* 2004;13:659-666
- 12 Schwartz RE, Reyes M, Koodie L, Jiang Y, Blackstad M, Lund T, Lenvik T, Johnson S, Hu WS, Verfaillie CM. Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. *J Clin Invest* 2002;109:1291-1302
- 13 Kushida T, Inaba M, Hisha H, Ichioka N, Esumi T, Ogawa R, Iida H, Ikehara S. Crucial role of donor-derived stromal cells in successful treatment for intractable autoimmune diseases in MRL/lpr mice by BMS via portal vein. *Stem Cell* 2001;19:226-235
- 14 Wang X, Al-Dhalimy M, Lagasse E, Finegold M, Grompe M. Liver repopulation and correction of metabolic liver disease by transplanted adult mouse pancreatic cells. *Am J Pathol* 2001;158:571-579
- 15 Sukhikh GT, Shtil AA. Stem cell transplantation for treatment of liver diseases: from biological foundations to clinical experience (review). *Int J Mol Med* 2003;11:395-400

编辑 王谨晖 审读 张海宁