

炎症性肠病及其干细胞移植再生修复

魏亚明, 聂玉强, 李瑜元, 沙卫红

■背景资料

炎症性肠病(IBD)在我国发病率逐步升高, 其相关病理学研究和再生修复成为研究的热点. 造血干细胞移植治疗IBD是最近出现的一种新型治疗方法, 自体与异体移植均有较好临床疗效, 基础研究已经证实移植的造血干细胞可以定居于肠道上皮, 但移植修复损伤肠道黏膜的详细机制则有待于深入研究.

魏亚明, 聂玉强, 李瑜元, 沙卫红, 广州医学院附属广州市第一人民医院消化科, 广州市临床医学研究所 广东省广州市 510180 广东省科技厅项目, No. 2004-139-50

通讯作者: 魏亚明, 510180, 广东省广州市, 广州医学院附属广州市第一人民医院消化科, 广州市临床医学研究所. weiyaming@163.com

电话: 020-81045568

收稿日期: 2006-03-03 接受日期: 2006-03-20

摘要

炎症性肠病(IBD)在我国发病率逐步升高, 其相关病理学研究和再生修复成为研究的热点. 炎症性肠病存在易感基因NOD2, 发病与感染、饮食、药物、肠道菌群变化及免疫因素有关. 肠道干细胞, 具有自我更新与增殖能力. 肠黏膜被破坏时, 陷窝残存的干细胞向外生长并移行, 重建绒毛直至肠黏膜恢复正常. 肠道干细胞的增殖和分化与多种细胞因子作用有关. 造血干细胞移植治疗IBD是最近出现的一种新型治疗方法, 自体与异体移植均有较好临床疗效, 基础研究已经证实移植的造血干细胞可以定居于肠道上皮, 但移植修复损伤肠道黏膜的详细机制则有待于深入研究.

关键词: 炎症性肠病; 病理; 免疫; 干细胞; 移植

魏亚明, 聂玉强, 李瑜元, 沙卫红. 炎症性肠病及其干细胞移植再生修复. 世界华人消化杂志 2006;14(13):1314-1317

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/1314.asp>

0 引言

近年来, 随着人民群众生活水平提高, 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)这种在欧美发病率较高的疾病, 在我国发病率正逐步升高^[1-2], 其中难治性IBD也显著增加. IBD包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD), 他们共同表现为肠黏膜炎症, 且相关肠癌发病率较高, 因此, 炎症性肠病的病理学基础和再生修复研究成为近年来消化领域研究的热点.

1 IBD病理学基础

IBD与遗传因素、免疫因素有关, 常以感染、饮

食、药物、肠道菌群失调等为诱因发病. 流行病学调查发现, IBD易感性在不同人种中区别较大, 黑人, 黄种人等有色人种发病率较低, 而白人较高, IBD近亲属中患病几率是其他人群的10-100倍^[3-4]. 在遗传因素方面, Hugot *et al*^[3]和Inohara *et al*^[4]在2001年几乎同时报告了IBD的第一个易感基因NOD2, 该基因主要表达于单核细胞中, 位于16号染色体着丝点附近, 他编码的NOD2蛋白含1040氨基酸, 参与细胞凋亡和核因子 κ B(NF- κ B)激活. 其N末端是半胱-天冬氨酸蛋白酶补充区域, 是IL-1受体, C末端包括caspase募集区, 核苷结合区及富含亮氨酸的重复序列区, 具有结合、识别细菌的脂多糖及激活NF- κ B功能, 而NF- κ B在IBD炎症反应过程起着信号通路作用. NOD2基因有3个易发突变位点, 突变使患者体内大量合成蛋白, 并结合相应抗原提呈给单核细胞, 将信号传递给肿瘤坏死因子(TNF)受体及其相关蛋白, 引起细胞内产生炎症因子的级联放大反应, 导致IBD. 同时, 人类白细胞抗原(HLA)的某些类型如DR2基因与UC有关, DR1和DQ5与Crohn病呈正相关. 其他易感标记物包括组织相容性复合体(MHC)、某些细胞受体、细胞因子、细胞黏附分子、免疫球蛋白等. 在免疫因素方面, 消化道黏膜本身起着免疫屏障和抗黏膜损伤作用, 肠道黏膜免疫系统存在辅助细胞亚群, 正常情况下可对肠道内容物和正常菌群产生免疫耐受, 对病原体则产生免疫反应. IBD时这种免疫耐受失衡, 可对肠道共生菌及化学物质产生免疫反应, 致使肠壁和外周血中激活的CD4+T细胞分泌大量炎症因子和化学趋化因子, CD4+T细胞可以分为Th1和Th2细胞, Th1细胞诱导肉芽肿性炎症, 白介素12(IL-12)和干扰素(IFN- γ)在炎症发展中起关键作用, 而Th2细胞则可诱导浅表黏膜炎症, 由IL-13起主导作用, 二者通过细胞因子相互调节^[5]. 因此, 也有人认为IBD是一种自身免疫性疾病, 临床采用细胞因子或免疫抑制剂治疗. 动物实验已经证实IL-12能够阻断IBD进展, 下调炎症反应因子. 环境诱因,

主要包括感染、饮食、药物和微生物。饮食不当, 吸烟, 或药物导致肠道菌群失调和免疫缺陷, 创伤或外科手术及感染时, 常伴肠道黏膜的通透性增高, 正常黏膜功能的下调, 会导致炎症级联放大反应和组织的损伤。

2 肠道干细胞研究进展

干细胞(stem cell, SC)具有终身自我更新能力, 可根据环境变化产生多种高度分化的子代细胞。肠道干细胞也称肠道上皮干细胞, 位于肠道隐窝内具有自我更新与增殖分化功能。解剖学上, 肠道干细胞位于在陷窝纵向切片第2至7层细胞之间。肠上皮干细胞通常发生不对称分裂, 生成一个子代干细胞和一个可继续分化的子细胞。但在发育时或损伤后则发生对称性分裂, 分裂成两个子代干细胞或两个可继续分化的子细胞。正常情况下约5%发生对称分裂, 即一个干细胞生成两个子代干细胞, 以完成陷窝内干细胞更替或凋亡^[6]。肠黏膜屏障被破坏时, 陷窝干细胞将产生溃疡相关细胞, 并逐渐向绒毛移行, 形成单独的导管结构, 分泌黏蛋白和表皮生长因子(EGF), EGF又可以促进这种细胞的生成, 通过这种残存的干细胞发生对称性分裂以再生陷窝, 重建绒毛直至肠黏膜恢复正常。肠黏膜修复速度取决于陷窝的干细胞数量、细胞周期时间、对称分裂的发生频率以及环境刺激给予的强度。肠道上皮干细胞自身基因表达和其所处的微环境是其增值和分化的决定因素, 在非对称分裂及向绒毛上移过程中逐渐失去干细胞功能。影响肠道干细胞的增殖和分化的因素十分复杂, 目前知道表皮生长因子是对陷窝上皮细胞增生最有效的细胞因子^[7]。T细胞因子-4(T cell factor-4, TCF-4), 可调节肠道干细胞增殖或上移^[5]。成纤维细胞生长因子可以促进上皮细胞的有丝分裂, 并调节细胞的分化, 其中碱性成纤维细胞生长因子作用于小肠隐窝细胞外基质, 通过与干细胞表面的酪氨酸蛋白激酶受体的结合而发挥作用。给予足量的外源性碱性成纤维细胞生长因子, 能够加快干细胞增殖分化速度, 促进干细胞进入增殖周期, 修复受损肠道上皮^[8]。TNF^[9]和角化细胞生长因子^[10]可有效地促进受损后的小肠干细胞分裂, 增加定向祖细胞的数量。胰岛素样生长因子可与其他生长因子协同作用促进干细胞增殖和分化^[11]。肝细胞生长因子, 作为一种促有丝分裂原, 其生物学机制与碱

性成纤维细胞生长因子类似, 体内外试验均证明对肠道干细胞有明显的促增殖作用^[12]。其他生长因子对肠道干细胞增殖分化的作用尚在进一步研究中。

3 造血干细胞移植根治炎症性肠病

传统IBD治疗方有: 糖皮质激素、水杨酸制剂结合局部灌肠及全身用药。症状重或顽固者可用免疫抑制剂如硫唑嘌呤、环磷酰胺、环孢菌素等。近年迅速发展的IBD生物学治疗^[13], 用TNF- α 单抗等促炎因子拮抗剂和抗炎因子等细胞因子治疗, 在临床疗效显著。其次是用反义核酸等小分子干扰技术为主的基因治疗, 尚处于临床前实验研究阶段。而最近新出现的一种IBD治疗新方法——干细胞移植(hematopoietic stem cell transplantation, HSCT), 使IBD临床治疗出现了全新的思路。最初HSCT移植的病例报告来自于淋巴瘤或白血病合并IBD的移植患者, Ditschkowski *et al*^[12,14]随访11例施行异基因外周血HSCT的白血病合并CD或UC患者, 发现移植后中位时间34 mo时, 存活10例均未表现IBD活动性。Lopez *et al*^[15]报道6例恶性血液病合并CD的患者行异基因HSCT取得类似疗效。1例日本非霍奇金淋巴瘤合并UC患者^[16], 1例瑞典UC和白血病患者^[17]行自体HSCT后, 长期随访也取得了完全治愈的结果。2003年Burt *et al*^[18]和Kreisel *et al*^[19]以CD为指征共对3例难治性CD患者进行自体外周血HSCT, 随访1 a, 患者病情缓解(CD活动指数CDAI评分<100)。以上报道提示无论自体或异体HSCT对IBD都有较好的临床疗效, 但HSCT对肠黏膜的损伤修复机制尚未明了。

按照器官移植理论, IBD所造成的肠道黏膜损伤, 其移植治疗的最佳干细胞来源自然应是肠道上皮干细胞。但由于肠道上皮干细胞来源数量有限, 在体外尚不能长期培养和扩增, 因而目前临床IBD移植干细胞均来自造血干细胞。造血干细胞移植按干细胞来源分为骨髓移植(bone marrow transplantation, BMT), 外周血造血干细胞移植(peripheral blood stem cell transplantation, PBSCT), 脐带血干细胞移植(cord blood stem cell transplantation, CBSCT)等, 按遗传背景又分为自体(auto-)干细胞移植和异体(allo-)干细胞移植。近年来, 随着重组人干细胞因子在干细胞动员中的应用和分离采集技术的进步, 除脐带血干细胞移植外, 自体与异体的干细胞移

■同行评价

IBD发病率正逐步升高, 治疗效果差, 易复发。干细胞是生物医学研究热点, 用于IBD治疗取得一定效果。该文对干细胞用于IBD治疗实验和临床研究进行了综述, 文章结构合理, 观点新颖。

植已几乎全部采用外周血干细胞移植技术来进行. 在预处理方案上除沿用传统大剂量化疗加全身放疗外, 现在又发展了非清髓性移植或小移植技术^[20], 大大增加了移植成功率和降低了移植相关死亡率. Oyama *et al*^[21]分别用环磷酰胺(cyclophosphamide)和粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)作动员剂, 进行自体HSCT, 观察一年半以上, 共计12例中11例持续缓解(CDAI<100), 仅1例复发. Garcia-Olmo *et al*^[22]用自体脂肪间充质干细胞移植治疗CD瘻管患者, 6/9得到治愈. 鉴于IBD病因涉及免疫遗传方面, 而HSCT则有利于重建和恢复患者免疫遗传系统, 这无疑为IBD的治疗提供了新的选择. IBD虽有易感基因, 但并不是遗传性疾病, 就像HSCT治疗自身免疫性疾病^[23]一样, 自体干细胞移植因不存在干细胞来源和移植排斥反应, 因而疗效较好, 在难治性炎症性肠病治疗中有着良好的应用前景^[24-25].

异体干细胞移植虽然在血液病伴IBD的患者中取得了较好的效果, 但尚未得到大样本临床资料证实. 考虑到IBD是慢性渐进性疾病, 绝大多数CD患者经相应传统治疗后, 可获得一定好转, 发病15 a后约半数尚能生存, 急性重症病例近期病死率低于10%, 其中半数以上患者需要手术治疗; UC患者经传统治疗后, 多得到某种程度的康复, 轻型者康复率90%, 重型症状减轻和好转率超过50%, 保守治疗无效还可手术治疗, 而全结肠型UC的病死率可达25%左右^[26-27]. 相对于自体干细胞移植而言, 异体干细胞移植增加了移植排斥反应风险, 存在HLA相合供体干细胞来源缺乏, 移植成功后患者免疫抑制剂的使用和生活质量等问题, 除非有完全配合的供者, 否则选择异体HSCT治疗IBD在获得大规模临床验证前, 应严格掌握适应证. 尽管如此, 应用HSCT治疗IBD的探索已成为趋势, 而要使HSCT治疗IBD取得更大的临床应用, 甚至成为重症IBD患者的常规疗法, 不仅需要更多患者进行治疗研究和长期随访, 不断完善临床移植方案, 移植机制研究尽快取得突破性进展也是关键.

从临床用HSCT治疗IBD需要药物预处理以破坏IBD患者炎症的免疫反应环境, 纠正了异常的肠道菌群环境, 有利于肠道黏膜的修复. 但我们依然不清楚这种修复是依赖于“土壤”的变化还是“种子”的改变, 修复损伤的干细胞是来自植入细胞还是原有肠道干细胞, 或者是二者兼而有之? 我们已在UC大鼠动物模型中, 用

雄性大鼠Y染色体作为植入标志, 将雄性大鼠的骨髓间充质干细胞植入雌性大鼠, 发现其可以定居于受者肠道上皮^[28], 这一点也得到国外同行的认可^[29-30]. 这种定居于肠道上皮的间充质干细胞是否已转化为肠道上皮干细胞, 是否具有连续分裂分化成不同上皮细胞的能力尚无直接证据. 因此, 造血干细胞体外诱导分化成为上皮干细胞或不同分化阶段的上皮细胞, 以及追踪肠道损伤黏膜修复细胞的来源, 对于奠定造血干细胞移植治疗炎症性肠病的理论基础, 对以后造血干细胞移植用于治疗胃、食道疾病, 甚至癌症都会有重要的启示作用.

4 参考文献

- 1 李瑜元. 第四届亚太消化疾病州(APDW, 2004)会议纪要. 中华消化杂志 2004; 24: 700-702
- 2 欧阳钦. 我国炎症性肠病研究的概况和策略. 四川医学 2005; 26: 355-356
- 3 Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cezard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 599-603
- 4 Inohara N, Ogura Y, Chen FF, Muto A, Nunez G. Human Nod1 confers responsiveness to bacterial lipopolysaccharides. *J Biol Chem* 2001; 276: 2551-2554
- 5 Harber M, Sundstedt A, Wraith D. The role of cytokines in immunological tolerance: potential for therapy. *Expert Rev Mol Med* 2000; 2000: 1-20
- 6 Marshman E, Booth C, Potten CS. The intestinal epithelial stem cell. *Bioessays* 2002; 24: 91-98
- 7 Potten CS, Booth D, Haley JD. Pretreatment with transforming growth factor beta-3 protects small intestinal stem cells against radiation damage *in vivo*. *Br J Cancer* 1997; 75: 1454-1459
- 8 付小兵, 孙同柱, 孙晓庆, 杨银辉, 顾小曼, 盛志勇. EGF和bFGF在大鼠不同发育阶段肠道定位和表达特征的比较研究. 中国危重病急救医学 2001; 13: 407-409
- 9 Potten CS, Owen G, Hewitt D, Chadwick CA, Hendry H, Lord BI, Woolford LB. Stimulation and inhibition of proliferation in the small intestinal crypts of the mouse after *in vivo* administration of growth factors. *Gut* 1995; 36: 864-873
- 10 Booth D, Haley JD, Bruskin AM, Potten CS. Transforming growth factor-B3 protects murine small intestinal crypt stem cells and animal survival after irradiation, possibly by reducing stem-cell cycling. *Int J Cancer* 2000; 86: 53-59
- 11 MacDonald RS, Park JH, Thornton WH Jr. Insulin, IGF-1, and IGF-2 receptors in rat small intestine following massive small bowel resection. Analysis by binding, flow cytometry, and immunohistochemistry. *Dig Dis Sci* 1993; 38: 1658-1669
- 12 Igawa T, Matsumoto K, Kanda S, Saito Y, Nakamura T. Hepatocyte growth factor may function as a renotropic factor for regeneration in rats with acute

- renal injury. *Am J Physiol* 1993; 265: F61-F69
- 13 Travis S. Advances in therapeutic approaches to ulcerative colitis and Crohn's disease. *Curr Gastroenterol Rep* 2005; 7: 475-484
- 14 Ditschkowski M, Einsele H, Schwerdtfeger R, Bunjes D, Trenchel R, Beelen DW, Elmaagacli AH. Improvement of inflammatory bowel disease after allogeneic stem-cell transplantation. *Transplantation* 2003; 75: 1745-1747
- 15 Lopez-Cubero SO, Sullivan KM, McDonald GB. Course of Crohn's disease after allogeneic marrow transplantation. *Gastroenterology* 1998; 114: 433-440
- 16 Koike K, Kohda K, Kuga T, Nakazawa O, Ando M, Takayanagi N, Matsunaga T, Sakamaki S, Niitsu Y. Ulcerative colitis after autologous peripheral blood stem cell transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 2001; 28: 619-621
- 17 Soderholm JD, Malm C, Juliusson G, Sjodahl R. Long-term endoscopic remission of crohn disease after autologous stem cell transplantation for acute myeloid leukaemia. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 613-616
- 18 Burt RK, Traynor A, Oyama Y, Craig R. High-dose immune suppression and autologous hematopoietic stem cell transplantation in refractory Crohn disease. *Blood* 2003; 101: 2064-2066
- 19 Kreisel W, Potthoff K, Bertz H, Schmitt-Graeff A, Ruf G, Rasenack J, Finke J. Complete remission of Crohn's disease after high-dose cyclophosphamide and autologous stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2003; 32: 337-340
- 20 Burt RK, Verda L, Oyama Y, Statkute L, Slavin S. Non-myeloablative stem cell transplantation for autoimmune diseases. *Springer Semin Immunopathol* 2004; 26: 57-69
- 21 Oyama Y, Craig RM, Traynor AE, Quigley K, Statkute L, Halverson A, Brush M, Verda L, Kowalska B, Krosnjak N, Kletzel M, Whittington PF, Burt RK. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with refractory Crohn's disease. *Gastroenterology* 2005; 128: 552-563
- 22 Garcia-Olmo D, Garcia-Arranz M, Garcia LG, Cuellar ES, Blanco IF, Prianes LA, Montes JA, Pinto FL, Marcos DH, Garcia-Sancho L. Autologous stem cell transplantation for treatment of rectovaginal fistula in perianal Crohn's disease: a new cell-based therapy. *Int J Colorectal Dis* 2003; 18: 451-454
- 23 Marmont AM. Stem cell transplantation for autoimmune disorders. Coincidental autoimmune disease in patients transplanted for conventional indications. *Best Pract Res Clin Haematol* 2004; 17: 223-232
- 24 Lashner BA. Autologous hematopoietic stem cell transplantation for Crohn's disease: high risk for a high reward. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 778-779
- 25 Folwaczny C, Glas J, Folwaczny M, Torok HP. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in refractory Crohn's disease: a feasible therapeutic approach? *Gastroenterology* 2005; 128: 2180
- 26 Whelan G, Farmer RG, Fazio VW, Goormastic M. Recurrence after surgery in Crohn's disease. Relationship to location of disease (clinical pattern) and surgical indication. *Gastroenterology* 1985; 88: 1826-1833
- 27 Farmer RG, Whelan G, Fazio VW. Long-term follow-up of patients with Crohn's disease. Relationship between the clinical pattern and prognosis. *Gastroenterology* 1985; 88: 1818-1825
- 28 段进粮, 聂玉强, 李瑜元, 杜艳蕾, 沙卫红, 何慧华, 董伟华. 大鼠骨髓间充质干细胞移植后在溃疡性结肠炎模型肠道的定位. *广州医学院学报* 2006;(印刷中)
- 29 Okamoto R, Watanabe M. Molecular and clinical basis for the regeneration of human gastrointestinal epithelia. *J Gastroenterol* 2004; 39: 1-6
- 30 Okamoto R, Watanabe M. Cellular and molecular mechanisms of the epithelial repair in IBD. *Dig Dis Sci* 2005; 50 Suppl 1: S34-S38

电编 韩江燕 编辑 潘伯荣

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

全国胃黏膜癌前病变与癌前疾病诊治研讨会

本刊讯 全国胃黏膜癌前病变与癌前疾病诊治研讨会将于2006年秋季在重庆举行, 现将征文通知公布如下:

1 稿件要求及截稿日期

全文及摘要800字(附软盘), 2006-07-15截稿.

2 联系方式

重庆市第三军医大学西南医院消化科赵晶京收(邮编: 400038); E-mail: zhaojingjing-1@sina.com.