

# Fibroscan对自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的疗效评估

张在祺, 姚鹏, 杨大伟, 张成平

## ■背景资料

肝硬化是各种慢性肝病的终末期表现, 其最理想的治疗方法是原位肝移植, 但供体缺乏等多种因素限制了其应用。而干细胞在大量实验后广泛应用于晚期肝硬化的临床探索性治疗, 取得较好的效果, 目前尚缺乏较好的疗效评价体系。

张在祺, 姚鹏, 安徽医科大学北京军区总医院临床学院 北京市 100700

杨大伟, 张成平, 中国人民解放军北京军区总医院肝病治疗中心 北京市 100700

张在祺, 主治医师, 主要从事肝损伤和干细胞移植研究。

中国肝炎防治基金会王宝恩肝纤维化研究基金资助项目, No. CFHTC20090004

作者贡献分布: 此课题由姚鹏与张在祺设计; 病例选择和样本取材由张在祺与姚鹏完成; 自体骨髓干细胞移植由姚鹏完成; 病例随访和临床资料收集由张在祺、杨大伟及张成平完成; 数据分析和论文写作由张在祺完成; 文章审阅由姚鹏完成。

通讯作者: 姚鹏, 教授, 主任医师, 100700, 北京市东城区东四十条南门仓5号, 安徽医科大学北京军区总医院临床学院肝病治疗中心。pyao1@sohu.com

电话: 010-66721394

收稿日期: 2012-03-20 修回日期: 2012-05-08

接受日期: 2012-05-10 在线出版日期: 2012-06-28

## Evaluation of curative effect of autologous bone marrow stem cell transplantation on decompensated cirrhosis by Fibroscan

Zai-Qi Zhang, Peng Yao, Da-Wei Yang, Cheng-Ping Zhang

Zai-Qi Zhang, Peng Yao, Clinical College of General Hospital of Beijing Military Region, Anhui Medical University, Beijing 100700, China

Da-Wei Yang, Cheng-Ping Zhang, Institute of Liver Diseases, General Hospital of Beijing Military Region of Chinese PLA, Beijing 100700, China

Supported by: the Wang Bao-En Liver Fibrosis Foundation, Chinese Foundation For Hepatitis Prevention and Control, No. CFHTC20090004

Correspondence to: Peng Yao, Professor, Chief Physician, Institute of Liver Diseases, Clinical College of General Hospital of Beijing Military Region, Anhui Medical University, Beijing 100700, China. pyao1@sohu.com

Received: 2012-03-20 Revised: 2012-05-08

Accepted: 2012-05-10 Published online: 2012-06-28

## Abstract

**AIM:** To evaluate the efficacy of autologous bone marrow stem cell transplantation in the treatment of decompensated cirrhosis by Fibroscan combined with multiple parameters.

**METHODS:** A total of 58 patients with decompensated cirrhosis were divided into transplanta-

tion group ( $n = 27$ ) and control group ( $n = 31$ ). Baseline examinations, including liver biopsy and Fibroscan, were performed before therapy. Both groups underwent routine medical treatment, and the transplantation group additionally underwent autologous bone marrow stem cell transplantation. At 2, 4, 8, 12, 24 and 48 wk after therapy, liver function and coagulation function were measured. Fibroscan and FIB-4 tests were performed at 12, 24 and 48 wk. At 48 wk after therapy, some patients underwent a liver biopsy. Then the efficacy of autologous bone marrow stem cell transplantation in the treatment of cirrhosis and the role of Fibroscan in evaluation of the curative effect were analyzed comprehensively.

**RESULTS:** Successful transplantation was achieved in all the 27 patients. Seven patients from each group underwent a liver biopsy, and they were clearly diagnosed with cirrhosis by histopathology. At 8 wk after therapy, the improvement in symptoms and physical signs in the transplantation group was better than that in the control group. The liver function and coagulation function improved in both groups, and the improvement was more significant in the transplantation group than in the control group. The liver stiffness values in the transplantation group did not differ significantly between before treatment and 12 and 24 wk after transplantation ( $31.66 \text{ kPa} \pm 6.97 \text{ kPa}$  vs  $31.98 \text{ kPa} \pm 7.36 \text{ kPa}$ ,  $31.35 \text{ kPa} \pm 6.73 \text{ kPa}$ , both  $P > 0.05$ ), but were significantly higher at 48 wk than at other time points ( $31.78 \text{ kPa} \pm 7.35 \text{ kPa}$ ,  $P < 0.05$ ). The liver stiffness values in the control group increased gradually from  $32.05 \text{ kPa} \pm 9.09 \text{ kPa}$  at pretreatment to  $36.39 \text{ kPa} \pm 9.39 \text{ kPa}$  at 48 wk after therapy ( $P < 0.05$ ), and there was a statistical difference in the liver stiffness values between the two groups at 48 wk. The level of HA in the transplantation group decreased more significantly than that in the control group ( $P < 0.05$  at 24 wk).

**CONCLUSION:** Autologous bone marrow stem cell transplantation can significantly improve symptoms and liver function in patients with

## ■同行评议者

姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科

decompensated cirrhosis. Fibroscan is an important means of evaluating the curative effect of autologous bone marrow stem cell transplantation on decompensated cirrhosis.

**Key Words:** Liver stiffness; Bone marrow stem cells; Cirrhosis; Transplantation

Zhang ZQ, Yao P, Yang DW, Zhang CP. Evaluation of curative effect of autologous bone marrow stem cell transplantation on decompensated cirrhosis by Fibroscan. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(18): 1630-1637

## 摘要

**目的:** 评价自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的疗效。

**方法:** 选择58例住院治疗的失代偿期肝硬化患者, 分移植组27人和对照组31人。患者治疗前行肝穿刺活检与Fibroscan测肝脏弹性值等基线检查, 两组患者均行常规内科治疗, 移植组同时行自体骨髓干细胞移植治疗。于2、4、8 wk复查肝功能、凝血功能, 12、24、48 wk增加Fibroscan及肝纤维化指标检查, 48 wk时部分患者再行肝活检, 多角度分析自体骨髓干细胞移植治疗肝硬化的疗效以及Fibroscan在疗效评价中的作用。

**结果:** 27例手术成功率100%。两组各7例患者肝活检均符合肝硬化病理诊断。移植组第8周临床症状、体征改善优于对照组。两组患者肝功能及凝血功能均有所改善, 移植组效果优于对照组。移植组肝脏弹性测量值(liver stiffness measurement, LSM)在移植前、治疗后12、24、48 wk分别为 $31.66 \text{ kPa} \pm 6.97 \text{ kPa}$ 、 $31.98 \text{ kPa} \pm 7.36 \text{ kPa}$ 、 $31.35 \text{ kPa} \pm 6.73 \text{ kPa}$ 、 $31.78 \text{ kPa} \pm 7.35 \text{ kPa}$ , 48 wk时升高有统计学意义( $P < 0.05$ ); 对照组患者LSM值逐步升高, 由治疗前 $32.05 \text{ kPa} \pm 9.09 \text{ kPa}$ 升至48 wk时 $36.39 \text{ kPa} \pm 9.39 \text{ kPa}$ ( $P < 0.05$ ), 治疗后48 wk两组间差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。移植组HA较对照组下降明显, 24 wk时两组有显著差异( $P < 0.05$ )。

**结论:** 自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化有明显的改善作用, 近期效果安全可靠; Fibroscan可作为评价自体骨髓干细胞移植疗效的重要手段, 还可长期监测患者病情变化。

**关键词:** 肝脏硬度测量; 骨髓干细胞; 肝硬化; 移植

张在祺, 姚鹏, 杨大伟, 张成平. Fibroscan对自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的疗效评估. *世界华人消化杂志* 2012; 20(18): 1630-1637

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1630.asp>

[www.wjgnet.com](http://www.wjgnet.com)

## 0 引言

肝硬化目前尚无特别有效的治愈措施, 对于终末期肝病最理想的治疗方法是原位肝移植, 而肝供体缺乏、治疗费用昂贵等问题限制了其应用, 且肝移植3年生存率约为79%, 21%患者需再次行移植手术<sup>[1]</sup>。干细胞特别是骨髓干细胞具有高度增殖、自我更新和定向分化为肝细胞的特性<sup>[2]</sup>, 自2004年起广泛应用于晚期肝硬化的临床探索性治疗, 取得较好的效果, 但缺乏较好的疗效评价体系<sup>[3,4]</sup>。经皮肝脏穿刺活组织检查术是评价肝纤维化、肝硬化的“金标准”, 这项检查存在一定危险性和并发症, 对患者造成一定程度的损害<sup>[5]</sup>。近年开展的Fibroscan肝脏弹性/硬度测量相比肝脏穿刺活组织检查具有快速、无创、组内及组间重复性好等优点, 肝脏弹性测量值(liver stiffness measurement, LSM)与肝组织的硬度成正比, 肝脏硬化程度越高, LSM也越高<sup>[6-8]</sup>。本研究拟通过Fibroscan测量肝硬化患者在自体骨髓干细胞移植及常规治疗前后LSM值, 与治疗前后肝脏穿刺活检、生化指标及肝纤谱进行比较, 探讨LSM测量在自体骨髓干细胞移植疗效评价中的价值, 进一步评估自体骨髓干细胞移植治疗肝硬化的疗效, 为干细胞移植治疗肝病的临床应用提供更为科学直观的依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2010-01/2011-03我科住院治疗的失代偿期肝硬化患者共计58人, 诊断均符合2000年西安第10次全国病毒性肝炎防治及肝病学术会议讨论修订的肝硬化诊断标准<sup>[9]</sup>。分为自体骨髓干细胞移植治疗组(移植组)和常规治疗对照组(对照组), 其中: 移植组27人, 26-65岁, 平均年龄( $47.38 \pm 10.48$ )岁, 男22例, 女5例, 肝功能Child-Pugh分级B级16人, C级11人, 肝炎后肝硬化患者20例, 酒精性肝硬化4例, 隐源性肝硬化2例, 原发性胆汁性肝硬化1例; 对照组31人, 20-69岁, 平均年龄( $49.74 \pm 11.32$ )岁, 男24例、女7例, 肝功能Child-Pugh分级B级17人, C级14人, 肝炎后肝硬化患者23例, 原发性胆汁性肝硬化1例, 血吸虫肝硬化1例, 酒精性肝硬化6例。患者间性别、年龄、病程等差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。所有入组患者均无心脑肾等重要脏器功能不全, 未合并腹腔或其他系统感染及其他严重并发症(上消化道大出血、肝肾综合征), 凝血酶原活动度(prothrombin activity, PTA) $> 25\%$ 、白细胞 $> 1.5 \times 10^9/\text{L}$ , 无严重出血倾向、过敏体质等其

## ■ 研发前沿

Fibroscan肝脏硬度测量因具有快速、无创、组内及组间重复性好等优点成为研究热点, 而肝脏弹性测量值(LSM)随肝脏硬度增加而增大, 逐渐用于肝纤维化/肝硬化的无创诊断。

## ■相关报道

近年对Fibroscan的研究逐渐从肝纤维化的分期诊断逐渐转向肝硬化及其并发症的预测及诊断方面,取得较好的临床效果。

他严重情况影响治疗,入组前半年来未行抗病毒治疗。两组患者均行腹部超声及CT检查排除肝癌,了解肝脏影像学变化。实验室检验包括血清丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、血清白蛋白(serum albumin, ALB)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、PTA、血浆纤维蛋白原(plasma fibrinogen, FIB)、LSM、透明质酸(hyaluronic acid, HA)、层粘连蛋白(laminin, LN)。入院后两组患者均予护肝、利尿、限制钠水摄入等常规内科治疗,所有处理措施征得患者本人同意,并签署知情同意书。

### 1.2 方法

1.2.1 肝脏穿刺活检:先行肝脏超声定位,在肝脏右叶远离大血管的部位做标记;常规皮肤消毒,局部麻醉,嘱患者呼气后屏住呼吸,使用16 G活检针,于超声引导下经皮肝穿刺活组织检查术;采集的肝组织标本长约2 cm,使用10%中性甲醛溶液固定,送病理科行病理组织学检查。

1.2.2 瞬时弹性成像测定肝脏硬度:使用法国Echosens公司Fibroscan仪测定肝右叶的硬度(弹性)。患者平卧位,右手置于头上部,将集中了一个单阵元的超声转换器和一个低频振动器的Fibroscan仪探头放在患者右腋前线与腋中线之间的第7、8、9肋骨间隙,此部位厚度至少在6 cm以上且没有大的血管结构,探头与肝右叶表面垂直,振动器带动探头释放低频率、低振动的振动波,连续检测,要求成功捕获10次回波,取其中位数为最终测定结果代表肝组织硬度,以弹性值kPa表示。结果有效标准:四分位间距小于中位数的1/3,成功率(成功捕获回波次数/总发射频数) $\geq 60\%$ 。

1.2.3 自体骨髓干细胞移植:(1)移植患者均于术前1 d行碘过敏实验,双侧腹股沟区备皮,备血、血浆,骨髓穿刺术前5-10 h对房间进行消毒,移植当日患者进隔离病房,术前4 h禁食水;(2)骨髓干细胞制备:患者皮肤消毒后局部麻醉,在无菌条件下以18号骨髓穿刺针从髂后上嵴进行骨髓穿刺,抽取骨髓50-100 mL入无菌离心管,4 000 U肝素抗凝;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,将骨髓轻柔加到密度为1.073 g/mL的Percoll分离液上,室温下1 200 r/min离心25 min,吸取中间界面细胞层,用生理盐水洗脱,1 500 r/min离心5 min,反复离心3次后生理盐水重悬细胞,制成体积为10 mL、镜下细胞计数为 $1.0 \times 10^9$ /mL的细胞悬

液<sup>[10]</sup>,置于37 ℃ CO<sub>2</sub>孵箱备用;全程谨防污染;(3)肝动脉导管干细胞移植:在数字血管减影造影术(DSA)下经股动脉穿刺插管至肝固有动脉,行肝固有动脉造影,观察肝内血管情况和是否存在肝脏占位性病变,确定无占位病变后将分离好的骨髓干细胞悬液经导管缓慢注入肝固有动脉的左右分支各5 mL,注意避开胆囊动脉,再用10 mL生理盐水冲管,术毕拔管后穿刺点加压包扎,穿刺侧髋关节呈伸直位并制动24 h。行肝动脉导管治疗后常规护理,预防性应用抗生素3 d。1.2.4 疗效观察及随访:两组患者治疗前均接受Fibroscan肝脏硬度检查,部分患者行肝穿刺活组织检查,治疗2、4、8、12、24、48 wk进行观察随访,注意患者症状和体征变化,2、4、8 wk时复查肝功能、凝血4项等常规生化检查,12、24、48 wk时增加Fibroscan肝脏硬度检查及肝纤维化指标检查,48 wk时同时行肝脏CT检查及行肝穿刺活组织检查;移植组需同时注意患者术后不良反应发生情况。

**统计学处理** 各组实验数据以mean $\pm$ SD表示,采用SPSS13.0统计软件进行分析,统计方法采用方差分析和t检验, $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

## 2 结果

2.1 手术成功率及不良反应 27例患者自体骨髓干细胞移植手术全部成功,手术成功率100%。移植患者中未出现严重并发症,术后有轻度恶心4例,发热3例,诉骨髓穿刺处疼痛6例,未见明显肝区疼痛,未并发出血、感染等情况。

2.2 随访 27例移植组患者中12 wk后死亡1例;31例对照组患者中1例12 wk后死亡,1例24 wk后死亡,3例患者均因并发上消化道大出血死亡。移植组7例、对照组7例患者治疗前及48 wk肝穿刺活组织检查均符合肝硬化病理诊断。

2.3 两组患者症状的改善 自体骨髓干细胞移植后大多数患者第8 wk有明显的临床症状、体征改善,其中乏力好转13例,腹胀减轻18例,食欲改善19例,胸水减少3例,腹水减少13例,下肢浮肿减轻15例。对照组乏力好转11例,腹胀减轻12例,食欲改善15例,胸水减少3例,腹水减少11例,下肢浮肿减轻15例(表1)。

2.4 两组患者肝功能的改变 两组患者ALT、TBIL均有所下降:移植组患者2、4、8、12 wk时ALT、TBIL明显下降,ALT由移植前150.93 U/L $\pm$ 25.21 U/L降至12 wk 72.11 U/L $\pm$ 20.87 U/L,24、48 wk逐渐回升至86.23 U/L $\pm$ 19.48 U/L,

表 1 两组患者治疗第8周前后临床症状及体征变化 (n)

分组	n	乏力	腹胀	纳差	胸水	腹水	下肢浮肿
移植组							
术前	27	21	25	23	5	18	19
术后	27	8	7	4	2	5	4
对照组							
治疗前	31	25	27	26	7	21	23
治疗后	31	14	15	11	4	10	8

表 2 移植组与对照组肝功能变化

时间	移植组			对照组		
	ALT(U/L)	TBIL( $\mu$ mol/L)	ALB(g/L)	ALT(U/L)	TBIL( $\mu$ mol/L)	ALB(g/L)
治疗前	150.93 $\pm$ 25.21	60.32 $\pm$ 25.62	26.57 $\pm$ 4.96	140.22 $\pm$ 22.82	50.75 $\pm$ 19.94	27.59 $\pm$ 4.56
2 wk	133.26 $\pm$ 24.40	56.00 $\pm$ 24.23	27.13 $\pm$ 4.43	128.06 $\pm$ 20.88	51.93 $\pm$ 17.84	28.26 $\pm$ 4.00
4 wk	116.37 $\pm$ 16.23	45.46 $\pm$ 18.04	30.00 $\pm$ 3.90	108.26 $\pm$ 22.47	49.06 $\pm$ 18.37	28.11 $\pm$ 3.89
8 wk	89.22 $\pm$ 16.55	40.22 $\pm$ 12.42	31.49 $\pm$ 2.82	101.84 $\pm$ 24.03 <sup>a</sup>	47.51 $\pm$ 14.73 <sup>a</sup>	29.49 $\pm$ 3.58 <sup>a</sup>
12 wk	72.11 $\pm$ 20.87	38.83 $\pm$ 10.27	32.57 $\pm$ 3.69	80.81 $\pm$ 16.37 <sup>a</sup>	45.50 $\pm$ 13.55 <sup>a</sup>	28.79 $\pm$ 3.61 <sup>a</sup>
24 wk	80.81 $\pm$ 16.37 <sup>c</sup>	41.13 $\pm$ 13.44 <sup>c</sup>	31.41 $\pm$ 2.91 <sup>c</sup>	97.10 $\pm$ 19.54 <sup>ac</sup>	41.71 $\pm$ 11.66 <sup>c</sup>	29.88 $\pm$ 3.29
48 wk	86.23 $\pm$ 19.48 <sup>c</sup>	37.47 $\pm$ 10.42 <sup>c</sup>	30.66 $\pm$ 2.90 <sup>c</sup>	93.10 $\pm$ 18.93 <sup>c</sup>	42.49 $\pm$ 10.29	28.17 $\pm$ 3.66 <sup>ae</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 移植组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 治疗前; <sup>e</sup> $P < 0.05$  vs 治疗后24 wk.

对照组患者治疗前ALT 140.22 U/L  $\pm$  22.82 U/L降至48 wk 93.10 U/L  $\pm$  18.93 U/L, 两组间比较8、12、24 wk时有统计学意义( $P < 0.05$ ); 移植组TBIL由术前60.32  $\mu$ mol/L  $\pm$  25.62  $\mu$ mol/L降至37.47  $\mu$ mol/L  $\pm$  10.42  $\mu$ mol/L, 常规组TBIL由治疗前50.75  $\mu$ mol/L  $\pm$  19.94  $\mu$ mol/L降至42.49  $\mu$ mol/L  $\pm$  10.29  $\mu$ mol/L, 两组间比较8、12 wk时有统计学意义( $P < 0.05$ ); 移植组ALB 12 wk时由移植前26.57 g/L  $\pm$  4.96 g/L升至32.57 g/L  $\pm$  3.69 g/L, 后有所降低, 48 wk为30.66 g/L  $\pm$  2.90 g/L, 对照组小范围波动, 两组间比较8、12、48 wk时有统计学意义( $P < 0.05$ ). 治疗前与24 wk比较: 移植组3项 $P$ 值均 $< 0.05$ , 对照组ALT、TBIL值 $P < 0.05$ ; 治疗前与48 wk比较: 移植组3项 $P$ 值均 $< 0.05$ , 对照组仅ALT值 $P < 0.05$ ; 治疗24 wk与48 wk比较: 对照组ALB  $P < 0.05$ , 其余均 $P > 0.05$ (表2).

2.5 两组患者凝血功能的改变 移植组患者PT自第4周开始下降, 24 wk时由移植前21.62 s  $\pm$  4.15 s降至16.66 s  $\pm$  2.32 s( $P < 0.05$ ), 48 wk为16.85 s  $\pm$  2.42 s(24 wk与48 wk比较 $P > 0.05$ ); PTA由移植前46.26%  $\pm$  11.34%上升至24 wk 68.04%  $\pm$  11.61%( $P < 0.05$ ), 48 wk为67.54%  $\pm$  12.09%(24 wk与48 wk比较 $P > 0.05$ ); FIB自移植前1.83 g/L  $\pm$  0.96 g/L逐渐升至48 wk 2.57 g/L  $\pm$  0.49 g/L( $P < 0.05$ ), 24 wk

与48 wk比较 $P > 0.05$ . 对照组亦有一定程度好转趋势, 两组之间比较8、12、24、48 wk均具有统计学意义( $P < 0.05$ ), 移植组凝血功能改善明显优于对照组(表3).

2.6 两组患者肝穿刺时LSM及纤维化指标变化 肝穿刺组中移植组患者: LSM移植前、48 wk为29.80 kPa  $\pm$  4.46 kPa、30.34 kPa  $\pm$  4.55 kPa; HA移植前、48 wk为482.86  $\mu$ g/L  $\pm$  77.50  $\mu$ g/L、462.71  $\mu$ g/L  $\pm$  65.70  $\mu$ g/L; LN移植前、48 wk为181.00  $\mu$ g/L  $\pm$  28.38  $\mu$ g/L、173.43  $\mu$ g/L  $\pm$  14.64  $\mu$ g/L. 对照组LSM治疗前、48 wk为27.94 kPa  $\pm$  6.26 kPa、31.23 kPa  $\pm$  6.78 kPa; HA治疗前、48 wk为420.86  $\mu$ g/L  $\pm$  97.73  $\mu$ g/L、404.14  $\mu$ g/L  $\pm$  82.91  $\mu$ g/L; LN治疗前与48 wk为164.57  $\mu$ g/L  $\pm$  32.54  $\mu$ g/L、171.29  $\mu$ g/L  $\pm$  18.31  $\mu$ g/L. 移植组与对照组间变化比较无统计学意义( $P > 0.05$ ), 两组内比较, 仅对照组LSM变化具有统计学意义( $P < 0.05$ , 表4).

2.7 两组患者LSM及肝纤维化指标的改变 移植组LSM值在移植前、移植后12、24、48 wk分别为31.66 kPa  $\pm$  6.97 kPa、31.98 kPa  $\pm$  7.36 kPa、31.35 kPa  $\pm$  6.73 kPa、31.78 kPa  $\pm$  7.35 kPa, 基本无明显改变, 但24 wk与48 wk比较有统计学意义( $P < 0.05$ ); 对照组患者LSM值呈明显逐步升

## ■创新盘点

本课题创新性地应用Fibroscan测量肝硬化患者在自体骨髓干细胞移植前后的变化, 探讨肝脏弹性/硬度测量在自体骨髓干细胞移植疗效评价中的价值, 进一步评估自体骨髓干细胞移植治疗肝硬化的疗效.

## ■应用要点

Fibroscan检查可作为评价自体骨髓干细胞移植疗效的重要手段之一,可对肝硬化有关并发症作出有效预测,长期监测患者病情变化。

表 3 移植组与对照组凝血功能变化

时间	移植组			对照组		
	PT(s)	PTA(%)	FIB(g/L)	PT(s)	PTA(%)	FIB(g/L)
治疗前	21.62 ± 4.15	46.26 ± 11.34	1.83 ± 0.96	21.35 ± 4.69	48.03 ± 12.07	1.91 ± 0.88
2 wk	21.81 ± 4.04	48.48 ± 11.88	1.99 ± 0.80	21.01 ± 3.91	51.42 ± 12.46	2.01 ± 0.81
4 wk	21.13 ± 3.95	56.93 ± 11.16	2.15 ± 0.62	21.14 ± 4.35	51.06 ± 11.59	2.05 ± 0.72
8 wk	18.86 ± 2.71	61.04 ± 13.19	2.35 ± 0.64	20.53 ± 3.45 <sup>a</sup>	52.97 ± 10.17 <sup>a</sup>	2.02 ± 0.59 <sup>a</sup>
12 wk	17.57 ± 2.56	65.44 ± 12.81	2.51 ± 0.55	20.01 ± 3.05 <sup>a</sup>	54.74 ± 11.95 <sup>a</sup>	2.10 ± 0.70 <sup>a</sup>
24 wk	16.66 ± 2.32 <sup>c</sup>	68.04 ± 11.61 <sup>c</sup>	2.49 ± 0.58 <sup>c</sup>	19.21 ± 2.59 <sup>ac</sup>	55.10 ± 12.89 <sup>ac</sup>	2.03 ± 0.42 <sup>a</sup>
48 wk	16.85 ± 2.42 <sup>c</sup>	67.54 ± 12.09 <sup>c</sup>	2.57 ± 0.49 <sup>c</sup>	19.00 ± 2.69 <sup>ac</sup>	54.86 ± 14.56 <sup>ac</sup>	2.09 ± 0.47 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs 移植组; <sup>c</sup>*P* < 0.05 vs 治疗前。

表 4 两次肝穿刺时移植组与对照组LSM及纤维化指标变化

时间	移植组			对照组		
	LSM(kPa)	HA(μg/L)	LN(μg/L)	LSM(kPa)	HA(μg/L)	LN(μg/L)
治疗前	29.80 ± 4.46	482.86 ± 77.50	181.00 ± 28.38	27.94 ± 6.26	420.86 ± 97.73	164.57 ± 32.54
48 wk	30.34 ± 4.55	462.71 ± 65.70	173.43 ± 14.64	31.23 ± 6.78 <sup>a</sup>	404.14 ± 82.91	171.29 ± 18.31

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs 治疗前。

表 5 移植组与对照组LSM及纤维化指标变化

时间	移植组			对照组		
	LSM(kPa)	HA(μg/L)	LN(μg/L)	LSM(kPa)	HA(μg/L)	LN(μg/L)
治疗前	31.66 ± 6.97	503.56 ± 137.01	185.11 ± 37.91	32.05 ± 9.09	494.23 ± 130.91	192.42 ± 43.18
12 wk	31.98 ± 7.36	460.44 ± 104.35	176.30 ± 29.63	32.60 ± 8.10	472.68 ± 108.95	181.35 ± 32.42
24 wk	31.35 ± 6.73	432.81 ± 94.88 <sup>c</sup>	173.35 ± 30.14 <sup>c</sup>	34.28 ± 8.44 <sup>c</sup>	485.97 ± 100.35 <sup>ac</sup>	191.03 ± 34.92
48 wk	31.78 ± 7.35 <sup>a</sup>	476.77 ± 116.65 <sup>ce</sup>	174.88 ± 19.48	36.39 ± 9.39 <sup>ace</sup>	489.76 ± 139.68	185.66 ± 33.61

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs 移植组; <sup>c</sup>*P* < 0.05 vs 治疗前; <sup>e</sup>*P* < 0.05 vs 治疗后24 wk。

高趋势,由治疗前32.05 kPa ± 9.09 kPa升至48 wk时36.39 kPa ± 9.39 kPa,且前后对比有统计学意义(*P* < 0.05)。移植组HA移植前、移植后12、24、48 wk分别为503.56 μg/L ± 137.01 μg/L、460.44 μg/L ± 104.35 μg/L、432.81 μg/L ± 94.88 μg/L、476.77 μg/L ± 116.65 μg/L,移植前与移植后24 wk、48 wk比较有统计学意义(*P* < 0.05);对照组治疗前HA为494.23 μg/L ± 130.91 μg/L,24 wk为485.97 μg/L ± 100.35 μg/L,两者之间变化具有统计学意义(*P* < 0.05)。移植组LN移植前、移植后12、24、48 wk分别为185.11 μg/L ± 37.91 μg/L、176.30 μg/L ± 29.63 μg/L、173.35 μg/L ± 30.14 μg/L、174.88 μg/L ± 19.48 μg/L,移植前与24 wk变化具有统计学意义(*P* < 0.05);对照组LN值变化无统

计学意义。移植组与对照组比较:24 wk时HA值与48 wk时LSM值改变具有统计学意义(*P* < 0.05,表5)。

### 3 讨论

研究表明骨髓干细胞具有生成胆管细胞和肝细胞的能力,在肝脏损伤修复过程中,能补充肝损伤减少的肝细胞数量,从而修复因损伤破坏的肝组织结构,参与代偿和恢复肝脏的生物合成、转化、排泄功能<sup>[11-13]</sup>。而在各种病因导致的肝硬化患者中,肝脏中干细胞及肝细胞增殖有缺陷<sup>[14]</sup>,临床研究显示移植具有同样功能的肝外来源自体骨髓干细胞,对失代偿期肝硬化等严重肝病患者的肝功能及凝血功能具有较好改善作用<sup>[3,15-17]</sup>。



近年来国内外学者通过肝穿刺活检与Fibroscan检查相比较,发现LSM值随着肝纤维化程度增加而增大,肝纤维化各期LSM的临界值因不同病因、不同地区也有所差异。Fibroscan对肝纤维化F3及F4期诊断敏感性和特异性较F1和F2期高,故Fibroscan诊断肝硬化界值仍有争议,普遍认为LSM正常上限值为6.1 kPa, <14.6 kPa可作为排除肝硬化的可靠界值指标,而较多学者认为超过17.5 kPa为诊断肝硬化可靠指标<sup>[18-22]</sup>。Fibroscan检查在一定程度上可替代肝穿刺活检评估肝纤维化程度<sup>[23]</sup>,对乙型病毒性肝炎患者肝纤维化评价优于AST与PLT比值指数(APRI)、FIB-4指数<sup>[24]</sup>。因其操作简单、无创、可重复性好,其检测值可作为连续性观察指标,对慢性乙型病毒性肝炎患者抗病毒治疗疗效进行评价并监测病情变化<sup>[25]</sup>。Fibroscan检查还可以有效预测肝硬化患者发生腹水、食管胃底静脉曲张及破裂出血的可能性,具有一定的临床应用价值<sup>[26-29]</sup>。当然, Fibroscan检查准确性可受到肝纤维化/肝硬化以外的一些因素诸如探头型号、位置、患者体质量、性别等的影响,在检测中应注意避免<sup>[20,30,31]</sup>。

我们的研究结果显示,自体骨髓干细胞移植后大多数患者第8周有明显的临床症状、体征改善,移植后2、4、8、12 wk时ALT、TBIL明显下降并伴有ALB逐渐上升,凝血功能中PT、PTA、FIB在移植后4 wk开始明显改善;与对照组比较,移植组治疗效果总体优于对照组,肝功能中ALT 8、12、24 wk时和TBIL 8、12 wk时及ALB 8、12、48 wk时两组间比较有统计学意义( $P<0.05$ ),凝血功能中PT、PTA、FIB变化自第8周开始两组间比较均有统计学意义( $P<0.05$ )。我们也观察到,移植组ALT与TBIL 24 wk时有轻度回升伴ALB轻度下降,凝血功能中PT、PTA 48 wk也有轻微变化,提示自体骨髓干细胞移植术的疗效可能随病程延长而有所减低。

进一步比较患者LSM值及纤维化指标变化情况:移植组部分患者LSM值下降,总体呈小范围内波动,对照组患者LSM值呈逐渐升高趋势,移植组与对照组比较第48周时有统计学意义( $P<0.05$ )。两组中行肝穿刺活组织检查患者LSM值基本都超过肝硬化诊断标准,且两次病理检查均为特征性肝硬化改变,但LSM值较整组患者低,考虑可能为行肝穿刺检查患者病情相对轻、稳定;常规治疗组患者LSM值升高幅度大,前后对比有明显统计学意义,干细胞移

植患者仅小幅度升高。两组患者肝纤维化指标HA、LN都处于高水平,因移植的骨髓干细胞可使基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)高表达,细胞外基质降解<sup>[32]</sup>,患者HA、LN有一定的下降,对照组下降不明显。结果表明仅接受常规治疗患者肝脏硬度随着病程进展有增加趋势,而接受骨髓干细胞移植虽不能降低肝脏硬度,但遏制硬度增加,其中机制不明。外文文献报道长时间观察慢性乙型肝炎患者使用核苷类药物抗病毒治疗后LSM值变化情况,发现在抗病毒治疗3年中LSM值明显下降,而抗病毒治疗3年以上LSM值无明显改变,说明抗病毒治疗可使肝纤维化一定程度上有效逆转,随着病程进展这种效果也逐渐减弱<sup>[25]</sup>。对于失代偿期肝硬化患者治疗后LSM改变情况较少有类似报道。在我们的研究中,患者均为失代偿期肝硬化、肝脏体积缩小、质地变硬,部分患者行病理检查,结果均显示假小叶形成,逆转可能性极小,为减少干扰因素而未行抗病毒及抗纤维化辅助治疗,从一定程度上又影响LSM、HA、LN值。我们也观察到移植组LSM值虽总体小范围波动,但有部分患者LSM值在24 wk有所下降,48 wk时LSM值有所增加,这部分患者相对病情较轻,预示病情较轻者骨髓干细胞移植有可能降低肝脏硬度。骨髓干细胞移植在早期肝硬化效果会更明显,对于最佳移植时期有待于进一步实验考证;结合国内外研究成果,我们的研究从另一方面也说明对于失代偿期肝硬化患者仍可考虑抗纤维化治疗,有抗病毒治疗指征患者可考虑抗病毒治疗。

总之,我们的研究结果表明自体骨髓干细胞移植对治疗失代偿期肝硬化总体上有明显的改善作用,近期效果安全可靠,远期效果有待于延长随访时间,进一步观察。Fibroscan检查可作为评价自体骨髓干细胞移植疗效的重要手段之一,可对肝硬化有关并发症作出有效预测,连续长期监测患者病情变化。我们将加大病例数、放宽骨髓干细胞移植指征、延长观察时间,由此建立一套完整的自体骨髓干细胞移植治疗肝硬化疗效评估体系。

#### 4 参考文献

- 1 Freeman RB, Steffick DE, Guidinger MK, Farmer DG, Berg CL, Merion RM. Liver and intestine transplantation in the United States, 1997-2006. *Am J Transplant* 2008; 8: 958-976
- 2 Astori G, Soncin S, Lo Cicero V, Siclari F, Sürder D, Turchetto L, Soldati G, Moccetti T. Bone marrow

#### ■名词解释

肝脏弹性测量值(LSM):通过法国Echosens公司Fibroscan仪测得肝脏弹性/硬度值,范围在2.5-75 kPa之间;LSM值随着肝脏硬度增加而增大,LSM值越大,预示肝脏硬化越严重,并发症增加;一般认为LSM正常上限值为6.1 kPa,超过17.5 kPa为诊断肝硬化可靠指标。

## ■同行评价

本文设计合理, 方法采用得当, 结果可信, 讨论恰当, 结论客观, 具有很好的临床意义。

- 3 姚鹏, 王帅, 胡大荣, 闻伟, 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: 1639-1640
- 4 Gilchrist ES, Plevris JN. Bone marrow-derived stem cells in liver repair: 10 years down the line. *Liver Transpl* 2010; 16: 118-129
- 5 Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pyrsopoulos NT, Feng ZZ, Reddy KR, Schiff ER. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2614-2618
- 6 Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F, Christidis C, Ziol M, Poulet B, Kazemi F, Beaugrand M, Palau R. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29: 1705-1713
- 7 Foucher J, Chanteloup E, Vergniol J, Castéra L, Le Bail B, Adhoute X, Bertet J, Couzigou P, de Ledinghen V. Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (FibroScan): a prospective study. *Gut* 2006; 55: 403-408
- 8 Vergniol J, de Ledinghen V. [Transient elastography (FibroScan): a new tool in hepatology]. *Presse Med* 2009; 38: 1516-1525
- 9 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. 中华肝脏病杂志 2000; 8: 324-329
- 10 Levicar N, Pai M, Habib NA, Tait P, Jiao LR, Marley SB, Davis J, Dazzi F, Smadja C, Jensen SL, Nicholls JP, Apperley JF, Gordon MY. Long-term clinical results of autologous infusion of mobilized adult bone marrow derived CD34+ cells in patients with chronic liver disease. *Cell Prolif* 2008; 41 Suppl 1: 115-125
- 11 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
- 12 Sato Y, Araki H, Kato J, Nakamura K, Kawano Y, Kobune M, Sato T, Miyanishi K, Takayama T, Takahashi M, Takimoto R, Iyama S, Matsunaga T, Ohtani S, Matsuura A, Hamada H, Niitsu Y. Human mesenchymal stem cells xenografted directly to rat liver are differentiated into human hepatocytes without fusion. *Blood* 2005; 106: 756-763
- 13 Choi D, Kim JH, Lim M, Song KW, Paik SS, Kim SJ, Cheong HJ, Jeon JS, Park HS, Song YS, Khang H, Won JH. Hepatocyte-like cells from human mesenchymal stem cells engrafted in regenerating rat liver tracked with in vivo magnetic resonance imaging. *Tissue Eng Part C Methods* 2008; 14: 15-23
- 14 Stutchfield BM, Forbes SJ, Wigmore SJ. Prospects for stem cell transplantation in the treatment of hepatic disease. *Liver Transpl* 2010; 16: 827-836
- 15 Khan AA, Parveen N, Mahaboob VS, Rajendraprasad A, Ravindrakrishna HR, Venkateswarlu J, Rao SG, Narasu ML, Khaja MN, Pramila R, Habeeb A, Habibullah CM. Safety and efficacy of autologous bone marrow stem cell transplantation through hepatic artery for the treatment of chronic liver failure: a preliminary study. *Transplant Proc* 2008; 40: 1140-1144
- 16 Salama H, Zekri AR, Zern M, Bahnassy A, Loutfy S, Shalaby S, Vigen C, Burke W, Mostafa M, Medhat E, Alfi O, Huttering E. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in 48 patients with end-stage chronic liver diseases. *Cell Transplant* 2010; 19: 1475-1486
- 17 Jiang J, Fan P, Li DL, Chen SX, He XH, Wang MY, He WX, Xu TT. [Autologous transplantation of bone marrow stem cells versus peripheral blood stem cells for treatment of decompensate liver cirrhosis: a comparative study of 30 cases.] *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2011; 19: 136-137
- 18 Ganne-Carrié N, Ziol M, de Ledinghen V, Douvin C, Marcellin P, Castera L, Dhumeaux D, Trinchet JC, Beaugrand M. Accuracy of liver stiffness measurement for the diagnosis of cirrhosis in patients with chronic liver diseases. *Hepatology* 2006; 44: 1511-1517
- 19 Takemoto R, Nakamuta M, Aoyagi Y, Fujino T, Yasutake K, Koga K, Yoshimoto T, Miyahara T, Fukuizumi K, Wada Y, Takami Y, Saitsu H, Harada N, Nakashima M, Enjoji M. Validity of FibroScan values for predicting hepatic fibrosis stage in patients with chronic HCV infection. *J Dig Dis* 2009; 10: 145-148
- 20 朱霞, 唐红. 瞬时弹性扫描仪在肝纤维化诊断中的应用价值. 世界华人消化杂志 2010; 18: 906-912
- 21 Sporea I, Sirli R, Deleanu A, Tudora A, Popescu A, Curescu M, Bota S. Liver stiffness measurements in patients with HBV vs HCV chronic hepatitis: a comparative study. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4832-4837
- 22 Roulot D, Costes JL, Buyck JF, Warzocha U, Gambier N, Czernichow S, Le Clesiau H, Beaugrand M. Transient elastography as a screening tool for liver fibrosis and cirrhosis in a community-based population aged over 45 years. *Gut* 2011; 60: 977-984
- 23 Malekzadeh R, Poustchi H. Fibroscan for assessing liver fibrosis: An acceptable alternative for liver biopsy: Fibroscan: an acceptable alternative for liver biopsy. *Hepat Mon* 2011; 11: 157-158
- 24 Zhu X, Wang LC, Chen EQ, Chen XB, Chen LY, Liu L, Lei XZ, Liu C, Tang H. Prospective evaluation of FibroScan for the diagnosis of hepatic fibrosis compared with liver biopsy/AST platelet ratio index and FIB-4 in patients with chronic HBV infection. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 2742-2749
- 25 Ogawa E, Furusyo N, Murata M, Ohnishi H, Toyoda K, Taniai H, Ihara T, Ikezaki H, Hayashi T, Kainuma M, Hayashi J. Longitudinal assessment of liver stiffness by transient elastography for chronic hepatitis B patients treated with nucleoside analog. *Hepatol Res* 2011; 41: 1178-1188
- 26 de Franchis R, Dell'Era A, Primignani M. Diagnosis and monitoring of portal hypertension. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 312-317
- 27 Bureau C, Metivier S, Peron JM, Selves J, Robic MA, Gourraud PA, Rouquet O, Dupuis E, Alric L, Vinel JP. Transient elastography accurately predicts presence of significant portal hypertension in patients with chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 1261-1268
- 28 Castéra L, Le Bail B, Roudot-Thoraval F, Bernard PH, Foucher J, Merrouche W, Couzigou P, de Ledinghen V. Early detection in routine clinical practice of cirrhosis and oesophageal varices in chronic hepatitis C: comparison of transient elastography (FibroScan) with standard laboratory tests and non-invasive scores. *J Hepatol* 2009; 50: 59-68
- 29 韩萍, 纪冬, 张健, 李梵, 李冰, 邵清, 陈国凤. 瞬时弹性成像检测对肝硬化腹水的预测作用研究. 解放军医学杂志 2011; 36: 1143-1144

- 30 Ingiliz P, Chhay KP, Munteanu M, Lebray P, Ngo Y, Roulot D, Benhamou Y, Thabut D, Ratzu V, Poynard T. Applicability and variability of liver stiffness measurements according to probe position. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3398-3404
- 31 de Lédinghen V, Wong VW, Vergniol J, Wong GL, Foucher J, Chu SH, Le Bail B, Choi PC, Chermak F, Yiu KK, Merrouche W, Chan HL. Diagnosis of liver fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement: comparison between M and XL probe of FibroScan®. *J Hepatol* 2012; 56: 833-839
- 32 Sakaida I, Terai S, Nishina H, Okita K. Development of cell therapy using autologous bone marrow cells for liver cirrhosis. *Med Mol Morphol* 2005; 38: 197-202

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》修回稿须知

**本刊讯** 为了保证作者来稿及时发表, 同时保护作者与世界华人消化杂志的合法权益, 本刊对修回稿要求如下.

#### 1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版版权转让给本刊编辑部.

#### 2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改, 而作者必须于15 d内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料寄回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回的, 作重新投稿处理.

#### 3 版权

本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期); 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有. 编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布; 作者允许该文章被美国《化学文摘》、《荷兰医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、《中国生物学文摘》等国内外相关文摘与检索系统收录.