

自体骨髓干细胞移植对失代偿期肝硬化患者肝纤维化指标的近期影响

刘朝霞, 刘浩雷, 胡杨, 吴清

■背景资料

失代偿期肝硬化是慢性肝病的终末期, 肝移植是治愈失代偿期肝硬化唯一有效方法, 但因缺乏肝源、手术并发症多、移植排斥和价格昂贵等阻碍了其临床广泛应用。自体骨髓干细胞移植因其疗效较好、并发症少被认为是治疗肝病的第2条“终极途径”, 为终末期肝病的治疗提供了新思路。

刘朝霞, 刘浩雷, 胡杨, 吴清, 南华大学附属南华医院消化内科 湖南省衡阳市 421002

刘朝霞, 副主任医师, 主要从事慢性肝病临床诊治的研究。

作者贡献分布: 文献检索、结果分析和论文撰写由刘朝霞与刘浩雷完成; 选题和审校由吴清完成; 临床操作和病例收集由刘朝霞与胡杨完成。

通讯作者: 吴清, 副教授, 主任医师, 硕士生导师, 421002, 湖南省衡阳市珠晖区东风南路336号, 南华大学附属南华医院消化内科. nhwuqing@163.com

电话: 0734-8358043

收稿日期: 2015-04-15 修回日期: 2015-05-06

接受日期: 2015-05-15 在线出版日期: 2015-06-28

Changes in biochemical markers of liver fibrosis in patients with decompensated liver cirrhosis after autologous bone marrow stem cell infusion

Zhao-Xia Liu, Hao-Lei Liu, Yang Hu, Qing Wu

Zhao-Xia Liu, Hao-Lei Liu, Yang Hu, Qing Wu, Department of Gastroenterology, Affiliated Nanhua Hospital of University of South China, Hengyang 421002, Hu'nan Province, China

Correspondence to: Qing Wu, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Nanhua Hospital of University of South China, 336 Dongfeng South Road, Zhuhui District, Hengyang 421002, Hu'nan Province, China. nhwuqing@163.com

Received: 2015-04-15 Revised: 2015-05-06

Accepted: 2015-05-15 Published online: 2015-06-28

Abstract

AIM: To evaluate the effect of autologous bone marrow stem cell infusion on biochemical markers of liver fibrosis in patients with decompensated liver cirrhosis.

METHODS: Fifty patients with decompensated liver cirrhosis were included in the study. The bone marrow harvested from the ilium of patients was isolated and purified, and the final bone marrow stem cells were administered *via* the hepatic artery. The levels of biochemical markers of liver fibrosis were examined before transplantation, 4 and 8 wk after transplantation. Clinical manifestations and complications of transplantation were recorded during the follow-up period.

RESULTS: The level of serum albumin and the extent of ascites were improved significantly at 4 and 8 wk after transplantation than before transplantation ($P < 0.05$). The levels of serum alanine aminotransferase, total bilirubin, and prothrombin activity were improved after transplantation, however, the changes were not statistically significant ($P > 0.05$). Biochemical markers of liver fibrosis such as procollagen type III, type IV collagen, laminin, and hyaluronic acid enzyme were decreased after treatment, of which procollagen type III and hyaluronic acid enzyme were improved significantly ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Biochemical markers of liver fibrosis are improved in patients with decompensated liver cirrhosis after autologous bone marrow stem cell infusion.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Autologous bone marrow stem cell infusion; Liver cirrhosis; Biochemical markers of

■同行评议者

赵铁建, 教授, 广西中医药大学基础医学院生理学教研室

liver fibrosis

Liu ZX, Liu HL, Hu Y, Wu Q. Changes in biochemical markers of liver fibrosis in patients with decompensated liver cirrhosis after autologous bone marrow stem cell infusion. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(18): 2966-2969 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/2966.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i18.2966>

摘要

目的: 探讨经肝动脉插管自体骨髓干细胞移植对失代偿期肝硬化患者肝纤维化指标的近期影响。

方法: 收治失代偿期肝硬化患者50例。从患者髂后上棘抽取骨髓, 体外分离纯化骨髓源性干细胞, 通过肝动脉插管注入肝脏, 在移植后4、8 wk复查肝功能和肝纤维化指标(III型前胶原、IV型胶原、层黏连蛋白、透明质酸酶), 观察实验室指标改善、腹水变化及不良反应情况。

结果: 移植前后白蛋白升高有统计学意义($P<0.05$)。丙氨酸氨基转移酶值较术前有下降, 凝血酶原活动度有不同程度升高, 但两项指标差异无统计学意义($P>0.05$)。术后腹水减轻或消失, 与术前比较有统计学意义($P<0.05$)。III型前胶原、IV型胶原、透明质酸酶和层黏连蛋白较术前均有下降, 其中III型前胶原和透明质酸酶下降明显($P<0.05$)。

结论: 自体骨髓干细胞移植可减轻失代偿期肝硬化患者的肝纤维化程度, 但需要进一步证实。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 自体骨髓干细胞移植; 肝硬化; 肝纤维化指标

核心提示: 研究发现, 自体骨髓干细胞移植除了提高患者血白蛋白水平和改善腹水症状外, 而且近期肝纤维化指标都较术前有下降趋势, 这些变化可以在一定程度上表明自体骨髓干细胞移植能减轻肝硬化患者的肝纤维化水平。

刘朝霞, 刘浩雷, 胡杨, 吴清. 自体骨髓干细胞移植对失代偿期肝硬化患者肝纤维化指标的近期影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(18): 2966-2969 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/2966.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i18.2966>

0 引言

失代偿期肝硬化是慢性肝病的终末期, 肝移植是治愈失代偿期肝硬化唯一有效方法, 但因缺乏肝源、手术并发症多、移植排斥和价格昂贵等阻碍了其临床广泛应用。自体骨髓干细胞移植(autologous bone marrow stem cell infusion, ABMI)因其疗效较好、并发症少被认为是治疗肝病的第2条“终极途径”^[1], 但对ABMI是否具有抗肝纤维化作用目前存在争议, 我们对ABMI治疗失代偿期肝硬化前后的肝纤维化指标进行了观察, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2009-07/2012-12收治的失代偿期肝硬化[诊断标准^[2]: 有明显的肝功能损害及门脉高压表现, Child-Pugh分级为B、C级, B超或计算机断层扫描(computed tomography, CT)提示肝硬化]患者50例, 其中男28例, 女22例, 年龄31.00-60.00岁(平均55.97岁)。37例为乙型肝炎肝硬化, 8例为丙型肝炎肝硬化, 5例为酒精性肝硬化。Child-Pugh分级: B级36例, C级14例。排除原发性肝癌、血肌酐值 $>265 \mu\text{mol/L}$, 对造影剂过敏、有活动性出血、自发性腹膜炎和严重心肺疾病者。

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 术前均行肝功能、凝血功能及肝纤维化指标检查, 包括: 血清丙氨酸氨基转移酶(alanine transaminase, ALT)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、血清白蛋白(albumin, ALB)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、凝血酶原活动度(prothrombin time activity percentage, PTA)、III型前胶原(procollagen III, PC III)、IV型胶原(collagen type IV, IV-C)、层黏连蛋白(laminin, LN)、透明质酸酶(hyaluronidase, HA)等, 并常规行腹部B超检查。术前皮下注射粒细胞集落刺激因子 $300 \mu\text{g} \times 2 \text{ d}$, 手术当日对患者隔离, 行碘过敏试验, 双侧腹股沟备皮, 备血浆。所有治疗在患者知情同意情况下进行, 签署知情同意书。

1.2.2 骨髓干细胞制备: 在百级层流手术室环境下(根据建设部《医院洁净手术部建筑技术规范(GB50333-2002)》^[3], 层流手术室空气洁净度可分为百级、千级、万级、十万级和三十万级五个级别, 百级为特别洁净手术室), 自患者髂后上棘多点抽取骨髓180-200 mL, 以

■研究前沿

动物实验已经证实骨髓间充质干细胞具有转化为卵圆细胞, 并进一步分化为肝细胞和胆管上皮细胞的潜能, 所以利用特定的微环境诱导骨髓干细胞分化为肝前体细胞和成熟肝细胞可以改善肝功能。临床试验也发现自体骨髓干细胞移植(autologous bone marrow stem cell infusion, ABMI)在提高白蛋白水平和改善腹水症状方面效果明显, 但ABMI是否具有抗纤维化作用目前存在争议。

■相关报道

周伟等通过动物实验发现ABMI可通过上调转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)和Smad3的表达有促进肝纤维化的进展; 而焦艳等在四氯化碳诱导大鼠肝纤维化模型上进行骨髓间充质干细胞移植, 采用Scheuer炎症活动度评分法和Schmid M纤维化评分法进行评价, 认为ABMI能减轻肝脏炎症, 改善肝纤维化程度。

应用要点

本文通过临床实践观察证实自体骨髓干细胞移植不仅能改善失代偿期肝硬化患者近期的肝功能, 而且在一定程度上能减轻肝纤维化, 但远期效果有待进一步观察。

表 1 自体骨髓干细胞移植术前实验指标变化 (mean ± SD)

指标	术前	术后4 wk	术后8 wk
ALB(g/L)	30.13 ± 3.58	32.12 ± 3.32 ^a	34.54 ± 3.15 ^{ad}
TBIL(μmol/L)	53.45 ± 18.69	54.12 ± 13.92	52.11 ± 17.43
ALT(U/L)	135.27 ± 54.36	122.43 ± 45.37	98.67 ± 51.30
PTA(%)	38.45 ± 9.59	41.64 ± 8.52	43.12 ± 9.78
PCIII(ng/mL)	320.0 ± 141.0	314.7 ± 108.0	291.6 ± 98.0 ^a
IV-C(ng/mL)	158.3 ± 49.4	144.4 ± 50.6	147.2 ± 42.3
LN(ng/mL)	256 ± 128.3	249 ± 112.3	250 ± 123.5
HA(ng/mL)	726 ± 317	723 ± 221	720 ± 189 ^a

^a*P*<0.05 vs 术前组; ^d*P*<0.01 vs 术后4 wk. ALT: 丙氨酸氨基转移酶; TBIL: 总胆红素; ALB: 白蛋白; PTA: 凝血酶原活动度; PCIII: III型前胶原; IV-C: IV型胶原; LN: 层粘连蛋白; HA: 透明质酸酶。

表 2 自体骨髓干细胞移植术前腹水变化 *n*(%)

腹水症状	术前	术后4 wk	术后8 wk
轻度或消失	8(16.0)	19(38.0) ^a	34(70.0) ^{bd}
中度	35(70.0)	26(52.0) ^a	13(26.0) ^{bd}
重度	7(14.0)	5(10.0) ^a	3(6.0) ^{bd}

^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 术前组; ^d*P*<0.01 vs 术后4 wk.

7500 U肝素抗凝, 骨髓、脐带血有核细胞体外分离液(宁夏中联达生物有限公司)分离出骨髓干细胞, 稀释至5 mL生理盐水中, 提取的骨髓干细胞总数为(3-11.3)×10⁹/mL, 4℃保存, 1 h内进行骨髓干细胞移植术。

1.2.3 经肝动脉移植: 在数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)下经右股动脉穿刺插管, 先选择性肝固有动脉造影, 将含有骨髓干细胞的生理盐水经导管缓慢注入肝固有动脉左右支, 各2.5 mL, 用生理盐水冲管, 术毕拔管, 加压包扎穿刺点, 术后右下肢制动6 h, 禁食4 h后改流质饮食, 3 d内避免剧烈运动。

1.2.4 疗效观察: 术后4、8 wk分别检查血清ALT、TBIL、ALB、PT、PTA、PCIII、IV-C、LN、HA, 并常规复查腹部B超。

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件进行统计学分析。计量资料用mean±SD表示, 同一患者治疗前后比较采用配对*t*检验。治疗前后腹水程度比较采用秩和检验。*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ABMI治疗前后临床症状及实验室指标

比较 患者移植后4、8 wk, ALB在术后第4周即明显上升, 由术前的30.13 g/L±3.58 g/L升至32.12 g/L±3.32 g/L, 第8周升至34.54 g/L±3.15 g/L, 移植前后ALB升高有统计学意义(*P*<0.05); TBIL、ALT及PTA均在术后有不同程度的改变, 但差异不具有统计学意义(*P*>0.05)(表1)。术后患者临床症状明显改善, 其中食欲改善、体力好转46例(92.0%); 根据B超检查结果判断腹水减轻或消失, 与术前比较差异有统计学意义(*P*<0.05)(表2)。

2.2 ABMI对肝纤维化指标的影响 PCIII、IV-C、HA和LN较术前均有下降, 其中PCIII、HA下降明显(*P*<0.05), IV-C和LN下降不明显, 差异无统计学意义(*P*>0.05)(表1)。

2.3 不良反应 50例患者手术全部成功, 无严重手术相关并发症。

3 讨论

动物实验已经证实骨髓间充质干细胞具有转化为卵圆细胞, 并进一步分化为肝细胞和胆管上皮细胞的潜能, 利用特定的微环境诱导骨髓干细胞分化为肝前体细胞和成熟肝细胞从而改善肝功能^[4]。临床试验也发现ABMI在提高

ALB水平和改善腹水症状方面效果明显^[5,6]。但ABMI是否具有抗纤维化作用目前存在争议,周伟等^[7]通过动物实验发现ABMI可通过上调转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)和Smad3的表达有促进肝纤维化的进展;而焦艳等^[8]在四氯化碳诱导大鼠肝纤维化模型上进行骨髓间充质干细胞移植,采用Scheuer炎症活动度评分法和Schmid M纤维化评分法进行评价,认为ABMI能减轻肝脏炎症,改善肝纤维化程度。

血清PCIII、IV-C、HA和LN是反映肝纤维化的指标,与肝组织病理分期呈正相关,与不同的肝纤维化发展阶段具有一致性^[9]。HA为基质成分,是肝纤维化和肝硬化的敏感指标,有人认为HA较肝活检更能反映出肝全貌^[10]。PCIII则是III型胶原的前体,反映了肝内胶原合成情况和炎症的活动性。LN和IV-C均是基底膜成分,是早期肝纤维化指标,另外LN还与门静脉压力呈正相关性^[11]。我们通过ABMI治疗失代偿期肝硬化发现除了提高患者血ALB水平和改善腹水症状外,PCIII、IV-C、HA和LN都较术前有下降趋势,其中PCIII和HA下降明显($P<0.05$)。通过我们的观察,这些肝纤维化指标的变化可以在一定程度上表明ABMI能减轻肝硬化患者的肝纤维化水平,目前对ABMI逆转肝纤维化的机制不是很清楚,可能途径有:(1)骨髓干细胞抑制肝星状细胞的活化,促进肝星状细胞的凋亡^[12]。研究^[13]发现骨髓干细胞移植入肝脏后能分泌HGF等细胞因子,激活JNK途径从而促进肝星状细胞的凋亡;(2)骨髓干细胞分化为肝细胞,修复受损的肝组织^[14,15];(3)骨髓干细胞迁移至肝脏后能产生和分泌一些抗纤维因子如基质金属蛋白酶-9^[16]。基质金属蛋白酶有较强的降解细胞外基质的作用,从而减轻肝纤维化^[17,18]。

总之,从我们的研究发现ABMI不仅能改善失代偿期肝硬化患者近期的肝功能,而且在一定程度上能减轻肝纤维化,但远期效果有待进一步观察。同时我们的研究样本较小,缺乏对照,还需要大样本、随机对照试验进一步证实。

4 参考文献

- 1 邢秀伟, 李建生. 干细胞移植治疗肝脏疾病的研究进展. 中国组织工程研究 2012; 16: 1115-1118
- 2 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病分会. 慢性乙型肝炎防治指南. 中国临床医生 2012; 40: 66-78

- 3 中华人民共和国建设部. 医院洁净手术部建筑技术规范(GB50333-2002). 中国计划出版社, 2002
- 4 Souza BS, Nogueira RC, de Oliveira SA, de Freitas LA, Lyra LG, Ribeiro dos Santos R, Lyra AC, Soares MB. Current status of stem cell therapy for liver diseases. *Cell Transplant* 2009; 18: 1261-1279 [PMID: 19660179 DOI: 10.3727/096368909X470522]
- 5 孙厚坦, 杨峰, 赵威武, 闫保华, 陈朝旻, 徐晓燕. 超声引导经皮门静脉穿刺干细胞移植治疗肝硬化顽固性腹水的疗效观察. 中华临床医师杂志(电子版) 2012; 6: 3185-3189
- 6 傅念, 阳学风, 胡杨, 吴清, 彭飞. 经肝动脉自体骨髓干细胞移植联合奥曲肽治疗肝硬化顽固性腹水14例. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2376-2380
- 7 周伟, 陈鹏飞, 吴小翎, 姜蓉, 徐艳华. 骨髓间充质干细胞对实验性肝纤维化大鼠的作用及其机制. 中国生物制品学杂志 2012; 25: 176-177
- 8 焦艳, 朱月永, 郑琦, 刘景丰, 江家骥. 骨髓间充质干细胞移植对大鼠肝纤维化的作用. 肝脏 2008; 13: 23-26
- 9 谢仕斌, 郑树森. 血清肝纤维化指标水平与肝组织纤维化图象分析的关系. 中华肝脏病杂志 2000; 8: 203-205
- 10 蔡卫民, 郑敏, 翁红雷, 刘荣华. 慢性肝病患者血清纤维化指标的检测及其意义. 中华内科杂志 2001; 40: 448-451
- 11 崔东来, 姚希贤. 肝纤维化的血清学检测. 世界华人消化杂志 2000; 8: 683-684
- 12 Wang X, Zhao W, Wang J, Shi K, Qin X, Kong Q, Wang G, Mu L, Li H, Sun B, Shi L. Bone Marrow Stromal Cells Inhibit the Activation of Liver Cirrhotic Fat-Storing Cells via Adrenomedullin Secretion. *Dig Dis Sci* 2015; 60: 1325-1334 [PMID: 25445161 DOI: 10.1007/s10620-014-3423-9]
- 13 Shi L, Li G, Wang J, Sun B, Yang L, Wang G, Wang D, Mu L, Chen H, Jin L, Kostulas N, Li H. Bone marrow stromal cells control the growth of hepatic stellate cells in vitro. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 2969-2974 [PMID: 18351465 DOI: 10.1007/s10620-008-0227-9]
- 14 Ke Z, Mao X, Li S, Wang R, Wang L, Zhao G. Dynamic expression characteristics of Notch signal in bone marrow-derived mesenchymal stem cells during the process of differentiation into hepatocytes. *Tissue Cell* 2013; 45: 95-100 [PMID: 23116754 DOI: 10.1016/j.tice.2012.09.008]
- 15 Tan Y, Xiao EH, Xiao LZ, Yuan YH, Ma C, Shang QL, Bian DJ, Li YH, Chen Z, Chang Q. VEGF(165) expressing bone marrow mesenchymal stem cells differentiate into hepatocytes under HGF and EGF induction in vitro. *Cytotechnology* 2012; 64: 635-647 [PMID: 22476563 DOI: 10.1007/s10616-012-9439-0]
- 16 Sakaida I, Terai S, Yamamoto N, Aoyama K, Ishikawa T, Nishina H, Okita K. Transplantation of bone marrow cells reduces CCl4-induced liver fibrosis in mice. *Hepatology* 2004; 40: 1304-1311 [PMID: 15565662 DOI: 10.1002/hep.20452]
- 17 陈瑞明, 田淑霞, 邢练军, 郑培永, 季光. 基质金属蛋白酶纤溶系统在大鼠酒精性肝纤维化形成中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1595-1601
- 18 欧阳阳阳, 郭津生. 活化肝星状细胞的信号传导. 中华肝脏病杂志 2012; 20: 238-240

同行评价

本文探讨了ABMI对失代偿期肝硬化患者肝纤维化指标的近期影响,有很好的临床指导意义。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

