

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.15.030

脐血干细胞治疗失代偿期肝硬化的疗效及对门静脉血流动力学的影响*

王可敬¹ 赵山明² 王 方¹ 孙厚坦¹ 寇俊峰¹

(1 兰州军区总医院安宁分院感染科 甘肃 兰州 730070; 2 石家庄市空军 93498 部队卫生队 河北 石家庄 050071)

摘要 目的:观察脐血干细胞治疗失代偿期肝硬化的疗效及对门静脉血流动力学的影响。**方法:**选取 30 例失代偿期肝硬化患者,用负压收集法分离提取脐带血干细胞,经股动脉穿刺插管,从肝固有动脉缓慢注入。同时选择 20 例失代偿期肝硬化患者,分别于治疗前,治疗后 1 周、1 个月、3 个月、6 个月观察肝功能、凝血指标、AFP、CT 肝脏容积、门静脉血流动力学等指标。**结果:**干细胞治疗组与对照组同期比较:白蛋白治疗后 4、12、24 周明显改善,PT 治疗后 12、24 周降低;AFP 治疗后 4、12、24 周升高;两组患者治疗前后门静脉血流动力学参数变化差异无统计学意义;肝脏体积治疗组与对照组同期比较,肝脏体积有增大趋势但差异无统计学意义;治疗组 1 例第 10 周确诊为原发性肝细胞癌,与对照组比较差异无统计学意义。**结论:**脐血干细胞治疗失代偿期肝硬化可以改善肝脏的合成功能,促进肝组织再生,有新生血管重建情况发生,未发现门静脉血流动力学参数的改变。

关键词:脐血;干细胞;肝硬化

中图分类号:R575.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)15-2921-04

The Effect of Transplantation of Human Umbilical Cord Blood Stem Cell on Decompensated Cirrhosis*

WANG Ke-jing¹, ZHAO Shan-ming², WANG Fang¹, SUN Hou-tan¹, KOU Jun-feng¹

(1 Department of Infectious Diseases, Anning Branch of Lanzhou Military General Hospital, Lanzhou, Gansu, 730070, China;

2 Health team, The Air Force 93498 troops of Shijiazhuang, Shijiazhuang, Hebei, 050071, China)

ABSTRACT Objective: To explore the clinical effect of transplantation of umbilical cord blood stem cell on decompensated cirrhosis. **Methods:** Umbilical cord blood stem cells were transplanted by intervention via proper hepatic artery and intravenous infusion in 30 patients with decompensated cirrhosis. The changes of liver functions, such as total bilirubin(TBil), alanine aminotransferase (ALT), albumin (Alb) and prothrombin time (PT), the portal system hemodynamics, and hepatic volume were detected at the time point of pre-treatment and 1st, 4th, 12nd, and 24th week of post-treatment. **Results:** There were significant differences in levels of Alb between pre-and 4th, 12nd, and 24th week of post-operations in treated group, as well as PT and AFP; Compared with control group, there were also significant differences at levels of Alb between pre-treatment and 4th, 12nd, and 24th week of post-operations in treated group, as well as PT and AFP. The volume of liver in treatment group enlarged compared with that of control group; However, the portal system hemodynamics didn't change after transplantation of human umbilical cord blood stem cells. No obvious adverse reactions and complications were noted during or after operation. **Conclusion:** Umbilical cord blood stem cell transplantation is a safe treatment for decompensated cirrhosis and can play a temporary role in supporting liver.

Key words: Human umbilical cord blood; Stem cell; Decompensated cirrhosis

Chinese Library Classification: R575.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)15-2921-04

前言

肝硬化是一种临床常见的疾病,当其进入失代偿期时肝功能会逐渐的减退最终可能导致肝功能衰竭^[1,2]。终末期肝硬化在我国的发病率较高,对人民的健康有严重的危害,目前较有效的措施是原位肝移植,但是费用昂贵、有移植排斥反应并且肝源缺乏等因素限制了这种治疗方法的广泛应用。

近年来,干细胞的研究在医学领域得到了应用。干细胞是一类具有多向分化、高度增殖以及自我更新的细胞群体,具有很强的可塑性,在一定的微环境下可以分化为多种组织细胞^[3,4]。

多个研究表明,干细胞在体内外均可以被诱导向肝系细胞分化。进行干细胞移植可以代偿一部分肝功能,有利于受伤肝组织的修复,是目前治疗肝病的一种新方法^[5,6]。而移植干细胞在脐血中的比例显著高于成人骨髓和外周血,且其具有繁殖速度快、能力强的特点^[7,8]。我们将脐血干细胞应用于治疗失代偿期肝硬化,有一定的疗效,现将成果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2011 年 1 月 -2012 年 1 月来我们就诊的失代偿期的

* 基金项目:甘肃省自然科学基金项目(1208RJZA062)

作者简介:王可敬(1969-),男,副主任医师,硕士研究生,从事肝脏肿瘤介入方向的研究

(收稿日期:2013-12-05 接受日期:2013-12-30)

肝硬化患者 30 例,其中男性 18 例,女性 12 例,年龄为 52~71 岁,平均年龄为 57.3 岁。患者按病因学进行分类其中 3 例为原发性胆汁性肝硬化、2 例为酒精性肝硬化、4 例为丙型肝炎肝硬化、21 例为乙型肝炎肝硬化。同时,选取失代偿期肝硬化患者 20 例作为对照组。

1.2 检测方法

所有的患者在术前、术后 1 周、1 个月、3 个月、6 个月行腹部 B 超检查以及 CT 检查,并抽静脉血检查血清 ALT、TBil、Alb、PT 以及 AFP 等。

1.3 门静脉血流动力学检测

患者取仰卧位,采用多普勒超声仪探测门静脉、脾静脉的左右径和前后径,分别用 A、B 表示,并根据公式计算血管的截断面积 $S=(A*B*\pi)$,血流速度用 V 表示,血流量参数 $Q=S*(0.57 \max)/\cos 60^\circ(\text{ml}/\text{min})$ 。并且在患者平静呼吸吸气位屏气时检测 Dpv、Dsv、Vpv、Vsv、Qpv、Qsv。

1.4 肝脏容积测量

采用 CT 机对肝脏容积进行扫描,行常规 3 期增强扫描,结束后对原始数据进行平扫,将数据输入软件中进行测量。

1.5 脐血采集

选取健康产妇,娩出胎儿,断脐后,采用密闭式采血法,每袋采血 60~140 mL。

1.6 脐血干细胞分离

按照试剂盒说明书进行操作,将脐血干细胞用等渗生理盐水进行稀释,每 15 ml 中含干细胞 $3.3 \times 10^8 \sim 8.7 \times 10^9$ 。

1.7 移植方法

对股动脉穿刺插管,造影排除肝癌后,将含脐血干细胞的氯化钠溶液按脉冲式方法从肝固有动脉缓慢注入。

1.8 统计学分析

数据采用 SPSS11.0 统计学软件进行分析,计量资料组内比较用 t 检验,多组间比较用方差分析,组间两两比较用 q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者治疗前后生化指标的变化

通过对两组患者治疗前后各项生化指标进行比较,发现在治疗组之间比较,Alb 治疗后 4、12、24 周明显改善,PT 治疗后 12、24 周降低;AFP 治疗后 4、12、24 周升高,见表 1。

表 1 两组患者治疗前后生化指标的比较

Table 1 Comparison of biochemical indicators between two groups before and after treatment

组别 Group		TBil($\mu\text{mol}/\text{L}$)	ALT(U/L)	Alb(g/L)	PT(s)	AFP($\mu\text{g}/\text{L}$)
对照组(n=20) Control group(n=20)	治疗前 Before treatment	45.7 $\pm$ 9.7	227.3 $\pm$ 74.3	27.3 $\pm$ 9.2	23.8 $\pm$ 4.7	6.9 $\pm$ 2.9
	治疗后 1 周 1 week after treatment	39.7 $\pm$ 10.2	219.3 $\pm$ 78.4	29.8 $\pm$ 9.6	23.9 $\pm$ 8.3	7.3 $\pm$ 3.1
	治疗后 4 周 4 week after treatment	34.1 $\pm$ 11.2	83.2 $\pm$ 29.3	29.6 $\pm$ 11.2	23.1 $\pm$ 9.3	6.8 $\pm$ 3.9
	治疗后 12 周 12 week after treatment	26.8 $\pm$ 8.9	47.1 $\pm$ 10.9	29.8 $\pm$ 8.4	22.8 $\pm$ 9.3	8.1 $\pm$ 5.6
	治疗后 24 周 24 week after treatment	23.4 $\pm$ 7.8	40.3 $\pm$ 10.8	28.9 $\pm$ 5.7	22.1 $\pm$ 5.9	8.9 $\pm$ 5.9
	F	4.621	16.352	3.283	4.281	2.193
	P	0.024	0.000	0.06	0.072	0.034
	治疗前 Before treatment	39.3 $\pm$ 14.1	255.3 $\pm$ 88.2	28.1 $\pm$ 7.4	22.4 $\pm$ 3.9	7.9 $\pm$ 2.4
	治疗后 1 周 1 week after treatment	40.2 $\pm$ 12.3	210.4 $\pm$ 83.2	28.1 $\pm$ 9.9	23.4 $\pm$ 8.5	7.3 $\pm$ 2.4
	治疗后 4 周 4 week after treatment	33.8 $\pm$ 9.7	89.3 $\pm$ 28.9	32.7 $\pm$ 10.2	21.8 $\pm$ 10.6	13.8 $\pm$ 5.3
治疗组(n=30) Treatment group(n=30)	治疗后 12 周 12 week after treatment	26.1 $\pm$ 8.9	49.3 $\pm$ 10.9	37.8 $\pm$ 11.9	17.1 $\pm$ 4.8	33.8 $\pm$ 10.4
	治疗后 24 周 24 week after treatment	24.8 $\pm$ 10.8	42.3 $\pm$ 10.6	37.1 $\pm$ 10.3	15.3 $\pm$ 6.8	30.9 $\pm$ 13.5
	F	3.286	11.283	3.291	13.626	31.226
	P	0.031	0.000	0.021	0.013	0.000

2.2 两组患者治疗前后门静脉血流动力学变化

通过对两组患者治疗前后的门静脉血流动力学改变进行观察,发现无论是对照组还是治疗组,在治疗前后的门静脉血流动力学改变差异均无统计学意义,见表 2。

2.3 两组患者治疗前后肝脏体积的变化

我们观察到治疗后的患者肝脏容积有增大的趋势,并且 AFP 轻度增高,提示可能是由于干细胞分化成肝细胞,并且提示有新生血管重建情况发生,见表 3。

表 2 两组患者治疗前后门静脉血流动力学比较

Table 2 Comparison of portal venous hemodynamics between two groups before and after treatment

组别 Groups		Dpv(cm)	Dsv(cm)	Vpv(cm/s)	Vsv(cm/s)	Qpv(mL/min)
对照组(n=20) Control group(n = 20)	治疗前 Before treatment	1.37± 0.27	1.21± 0.24	15.83± 5.38	13.29± 4.7	846.13± 212.9
	治疗后 1 周 1 week after treatment	1.47± 0.12	1.27± 0.16	16.28± 7.27	13.72± 5.3	857.3± 173.1
	治疗后 4 周 4 week after treatment	1.51± 0.22	1.25± 0.17	17.13± 6.38	12.84± 3.3	866.8± 233.9
	治疗后 12 周 12 week after treatment	1.49± 0.19	1.24± 0.13	14.28± 5.28	13.12± 6.3	888.1± 155.6
	治疗后 24 周 24 week after treatment	1.37± 0.27	1.29± 0.21	14.73± 4.27	14.11± 5.9	848.9± 125.9
	F	1.311	1.342	5.291	4.381	101.36
	P	0.091	1.231	1.221	1.921	0.052
	治疗前 Before treatment	1.51± 0.13	1.34± 0.22	15.1± 6.24	12.41± 3.7	835.9± 322.4
	治疗后 1 周 1 week after treatment	1.49± 1.32	1.29± 0.14	16.27± 3.9	13.4± 6.5	837.3± 332.4
	治疗后 4 周 4 week after treatment	1.52± 0.71	1.24± 0.17	17.27± 5.2	12.8± 5.6	813.8± 315.3
治疗组(n=30) Treatment group(n = 30)	治疗后 12 周 12 week after treatment	1.58± 0.89	1.26± 0.19	15.37± 6.9	13.1± 6.8	833.8± 310.4
	治疗后 24 周 24 week after treatment	1.48± 0.48	1.23± 1.26	16.1± 5.3	13.3± 7.4	830.9± 313.5
	F	1.216	1.331	1.231	11.575	213.24
	P	1.281	1.327	1.269	1.273	0.072

表 3 两组患者治疗前后肝脏体积的比较

Table 3 Comparison of liver volume between two groups before and after treatment

时间 Time	对照组(n=20) Control group(n = 20)	治疗组(n=30) Treatment group(n = 30)
治疗前 Before treatment	921.23± 104.27	904.37± 99.79
治疗后 1 周 1 week after treatment	916.29± 98.89	932.37± 106.21
治疗后 4 周 4 week after treatment	922.16± 101.37	977.38± 121.4
治疗后 12 周 12 week after treatment	907.27± 112.27	977.28± 110.28
治疗后 24 周 24 week after treatment	973.37± 110.36	1120.37± 109.38
F	0.384	1.384
P	0.058	0.063

2.4 患者脐血干细胞移植后的反应

30 例患者均为发现有发热、白细胞计数降低以及肝区疼痛等不良反应。

3 讨论

肝硬化是一种以肝组织弥漫性纤维化、再生结节形成以及

假小叶增生为主要特征的慢性肝病^[9-11]。目前在临床上对失代偿期的肝硬化主要是以对症治疗为主，仍缺少有效的治疗方法^[12-14]。

人脐血间充质干细胞是脐带以及胎盘近胎儿侧血管内的血液,包括间充质干细胞以及造血干细胞^[15-17]。其中间充质细胞是一种具有多向分化潜能以及高度自我更新能力的干细胞,广

泛分布于人体的结缔组织以及器官间质中。而脐血中的干细胞可移植的比例相对成人的外周血以及骨髓更高,且具有更强的繁殖能力以及繁殖速度^[18-20]。

我们采用负收集法分离得到脐血干细胞,对失代偿期肝硬化的患者进行回输。通过静脉回输脐血干细胞具有减少炎症反应、促进组织重塑以及减少胶原沉积等功能,有利于损伤肝脏的修复,但是通过这种方法移植的干细胞,经过全身的血液循环进入肝脏的数量可能较少。研究表明,移植途径的不同可能会影响干细胞在肝脏内生长分化的过程。通过新的方法研究,可能还可以找到更好的移植方法,提高移植的有效率。我们通过观察治疗前后两组患者的生化指标、门静脉血流动力学、肝脏体积的变化以及患者接受脐血干细胞移植后的反应。结果发现,在回输脐血干细胞后,患者的肝功能明显改善,尤其是 Alb 含量显著升高,并且同时 TBil、ALT 含量逐渐下降,提示脐血间充质干细胞可以有效改善肝脏的合成功能。

另外,我们还观察到治疗后的患者肝脏容积有增大的趋势,并且 AFP 轻度增高,提示可能是由于干细胞分化成肝细胞,并且提示有新生血管重建情况发生。同时,由于考虑到肝脏容积增大可能会导致门静脉高压,我们观测了门静脉血流动力学参数为发现增高。

干细胞具有在一定条件下无限增殖的特点,并且与肿瘤细胞不同的是,它受到机体的调控,且分化的细胞功能成熟。通过研究,我们发现脐血干细胞移植治疗失代偿期肝硬化患者有较好的疗效,可以有效的改善患者的临床症状以及肝功能,而对门静脉血流并无显著的影响,可以应用于临床治疗。

参考文献(References)

- Nikeghbalian S, Pournasr B, Aghdami N, et al. Autologous transplantation of bone marrow-derived mononuclear and CD133 (+) cells in patients with decompensated cirrhosis[J]. Arch Iran med, 2011, 14(1): 12-17
- Guan R, Lui HF. Treatment of hepatitis B in decompensated liver cirrhosis[J]. Int j hepatol, 2011, 2011: 918017
- Calatrava-Ferreras L, Gonzalo-Gobernado R, Herranz AS, et al. Effects of intravenous administration of human umbilical cord blood stem cells in 3-acetylpyridine-lesioned rats[J]. Stem cells int, 2012, 2012: 135187
- Golden JE, Shahaduzzaman M, Wabnitz A, et al. Human Umbilical Cord Blood Cells Alter Blood and Spleen Cell Populations After Stroke[J]. Transl Stroke Res, 2012, 3(4): 491-499
- Aijo T, Edelman SM, Lonnberg T, et al. An integrative computational systems biology approach identifies differentially regulated dynamic transcriptome signatures which drive the initiation of human T helper cell differentiation[J]. Bmc Genomics, 2012, 13: 572
- Cahill AG, Roehl KA, Odibo AO, et al. Association of atypical decelerations with acidemia[J]. Obstet Gynecol, 2012, 120(6): 1387-1393
- De Schauwer C, van de Walle GR, Piepers S, et al. Successful isolation of equine mesenchymal stromal cells from cryopreserved umbilical cord blood-derived mononuclear cell fractions[J]. Equine vet j, 2013, 45(4): 518-522
- Heider A, Danova-Alt R, Egger D, et al. Murine and human very small embryonic-like cells: a perspective[J]. Cytometry A, 2013, 83(1): 72-75
- Cabibbo G, Palmeri L, Palmeri S, et al. Should cirrhosis change our attitude towards treating non-hepatic cancer? [J]. Liver Int, 2012, 32(1): 21-27
- 王晓辉, 崔立红, 浦江, 等. 生长抑素联合奥美拉唑治疗肝硬化并发上消化道大出血的疗效分析[J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(5): 898-900, 965
Wang Xian-jun, Cui Li-hong, Pu Jiang, et al. Analysis on Therapeutic Effect of Somatostatin Plus Omeprazole on Upper Gastrointestinal Hemorrhage with Cirrhosis[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2013, 13(5): 898-900, 965
- Sibulesky L, McKinney JM, Nguyen JH, et al. Hepatic encephalopathy without cirrhosis[J]. Am J Transplant, 2013, 13(11): 3045-3047
- Koch A, Horn A, Duckers H, et al. Increased liver stiffness denotes hepatic dysfunction and mortality risk in critically ill non-cirrhotic patients at a medical ICU[J]. Crit Care, 2011, 15(6): R266
- Samiullah S, Memon MS, Memon HG, et al. Secondary gastric varices in hepatic cirrhosis[J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2011, 21(10): 593-596
- 朱明慧, 刘旭华, 韩际奥, 等. 人脐带间充质干细胞治疗失代偿期肝硬化的疗效观察 [J]. 郑州大学学报 (医学版), 2013, 48(1): 117-120
Zhu Ming-hui, Liu Xu-hua, Han Ji-ao, et al. Curative effect of human umbilical cord mesenchymal stem cells on patients with decompensated cirrhosis[J]. Journal of Zhengzhou University (Medical Sciences), 2013, 48(1): 117-120
- Szablowska-Gadomska I, Sypecka J, Zayat V, et al. Treatment with small molecules is an important milestone towards the induction of pluripotency in neural stem cells derived from human cord blood[J]. Acta neurobiol exp, 2012, 72(4): 337-350
- Wang F, Maeda N, Yasuhara T, et al. The therapeutic potential of human umbilical cord blood transplantation for neonatal hypoxic-ischemic brain injury and ischemic stroke[J]. Acta med Okayama, 2012, 66(6): 429-434
- 王琪, 刘宪民, 祖启明, 等. 人脐血间充质干细胞与 β -磷酸三钙的生物相容性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(29): 5375-5378
Wang Qi, Liu Xian-min, Zu Qi-ming, et al. Biocompatibility of human umbilical cord blood derived mesenchymal stem cells and beta-tricalcium phosphate [J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2011, 15(29): 5375-5378
- Pierro M, Ionescu L, Montemurro T, et al. Short-term, long-term and paracrine effect of human umbilical cord-derived stem cells in lung injury prevention and repair in experimental bronchopulmonary dysplasia[J]. Thorax, 2013, 68(5): 475-84
- Roura S, Bago JR, Soler-Botija C, et al. Human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells promote vascular growth in vivo[J]. PloS one, 2012, 7(11): e49447
- 郑鹏飞, 陈雷, 董展, 等. 共培养诱导人脐血间充质干细胞向软骨细胞分化[J]. 中国组织工程研究, 2013, (23): 4196-4203
Zheng Peng-fei, Chen Lei, Dong Zhan, et al. Chondrogenic differentiation of co-cultured human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells [J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2013, (23): 4196-4203