

· 专 论 ·

干细胞治疗及其临床应用:科学性、有效性、安全性、可控性

裴雪涛 王温芳

干细胞是具有自我复制、高度增殖和多向分化潜能的细胞群体,即这些细胞可以通过细胞分裂维持自身细胞群的大小,同时又可以进一步分化成为各种不同的组织细胞,从而构成机体各种复杂的组织器官。随着干细胞技术的发展以及干细胞本身所具有的特性,使得人类有可能在体外培养某些干细胞,定向诱导分化为我们所需要的各种组织细胞以供临床所需,并可体外构建成具有三维结构的组织,进而可“制造或再生”出结构与功能均较为复杂的器官,为细胞治疗、组织替代治疗、器官移植等提供新的技术途径。也可与基因工程技术相结合,利用外源基因导入、基因定点缺失与突变等进行更加有效的基因治疗,这为疾病、创伤、衰老和遗传等因素所致的组织器官损伤或功能障碍的治疗提供了新的思路。以此为目的的干细胞技术与干细胞治疗几乎涉及人体所有的重要组织和器官,也涉及人类面临的大多数医学难题,如心血管疾病、自身免疫性疾病、糖尿病、骨质疏松、恶性肿瘤、老年性痴呆、帕金森病、严重烧伤、脊髓损伤和遗传性缺陷等疾病的治疗。

干细胞始终存在于人体内,包括处于发育早期的胚胎干细胞和存在于胎儿或成年人体内的成体干细胞。胚胎干细胞具有发育的全能性,在一定条件下能够向三个胚层(内、中、外胚层)的组织和细胞分化。成体干细胞存在于多种人体组织中,包括造血干细胞、间充质干细胞、多潜能成体祖细胞、神经干细胞、表皮干细胞等等,这些成体干细胞也具有发育分化上的可塑性,在特定的条件下可以向血液、骨、软骨、皮肤、肌肉、神经、胰岛、肝、视网膜等细胞分化。干细胞的这些特征为疾病和衰老等所致的组织器官再生治疗提供了新的思路和技术手段。以缺血性心肌病的治疗为例,临床上对于急性心肌梗死和

心肌梗死后慢性心功能不全的常用治疗手段主要包括药物治疗、内科介入治疗、外科手术治疗,基因治疗尚处于临床实验阶段。但是这些方法大多只能通过缩小心肌梗死面积、恢复缺血心肌的血液供应、延缓左心室重构,但难以从根本上修复已坏死的心肌组织和恢复心脏的正常收缩功能。干细胞替代治疗是通过移植干细胞,替代、修复或加强受损的组织或器官的生物学功能,已成为治疗多种组织坏死性疾病的新策略。1994年,Soonpaa等将小鼠胚胎心肌细胞移植入成年小鼠心肌梗死模型中,证实胚胎干细胞能够长期存活,改善心功能,并与宿主心肌细胞形成闰盘结构,引入了细胞移植心肌再生的概念。由于骨髓来源的间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)取材方便,体外可以迅速增殖,具有多向分化潜能,通过骨髓穿刺收集 MSCs 供自体移植,避免了免疫排斥,因此,具有其他供体细胞不可比拟的优势,有望作为治疗冠心病心肌梗死、晚期心功能不全及心肌退行性疾病的理想的供体细胞。目前多数学者认为,细胞移植可取代坏死心肌细胞,改善心肌梗死区弹性,刺激血管新生,限制梗死区变薄,调整存活心肌细胞对梗死区的反应,防止左室扩大及进展性心衰。细胞移植作为一种治疗心肌梗死的新兴的生物学方法,它不仅只作用于梗死区,也不单单是对损伤心肌的取代,而且对整个心脏的重塑起到积极的生物学效应。因此,采用骨髓来源的干细胞进行自体心肌内移植,修复损伤心肌组织,已成为近年来心血管病研究与应用领域的一大热点。

随着干细胞研究的深入,心肌再生的小样本临床研究也逐渐展开。2002年德国的 Strauer 等对 10 例急性心肌梗死患者采用球囊导管技术将自体骨髓单个核细胞移植到梗死相关动脉中,随访 3 个月发现,细胞治疗组与常规治疗组比较,心脏功能明显提高,梗死面积减少,梗死区活动度上升,提示选择性冠脉内移植自体骨髓单个核细胞治疗急性心肌梗死在临床上是安全有效的,其疗效可能与心肌再生和血管新生有关。2004年3月,美国 FDA 已经批准德

收稿日期:2004-10-19

作者单位:100850 北京市,军事医学科学院输血医学研究所

作者简介:裴雪涛,男,1962年5月生,云南省昆明市人,医学博士,教授,军事医学科学院输血医学研究所所长。Tel:010-66932240

克萨斯心脏研究所和 St. Luke's Episcopal 医院在巴西完成初步的临床试验后,正式在美国开展干细胞治疗心力衰竭的 I/II 期临床试验。

然而,在干细胞研究与应用不断取得新突破的兴奋中,我们依然有必要保持清醒和理智,任何浮躁和急功近利都有可能影响到这一新兴领域的发展,尤其是临床应用,更应慎之又慎,任何缺乏科学依据的冒进都是对患者的不负责任。我们知道,干细胞的众多特点和优势往往也是干细胞治疗的风险所在。干细胞的来源与种类、移植细胞数量、体外处理条件、移植治疗时机、植入途径、植入部位、疾病与病程的选择、观察时间与指标等等因素均会影响到干细胞治疗的疗效和安全性。此外,干细胞植入与分化证据、植入环境间细胞的相互作用、细胞存活时间、老化问题、恶性转化风险等也同样为人们所关注。我们的研究发现,在 MSCs 移植治疗心肌梗死动物模型的实验中,注射入梗死灶的 MSCs 将参与瘢痕的形成,而注入梗死周围组织的 MSCs 将整合入心肌组织,并参与心肌的组织修复重塑和血管的再生;我们实验室另一个小组的研究也表明,肝脏损伤后组织再生的需求、损伤肝脏局部的病理环境和移植的时机均是影响骨髓干细胞向损伤肝组织归巢并在其中增殖、分化为肝细胞、成熟乃至发挥功能代偿作用不可或缺的因素。由此可见,疾病类型、病程进展、治疗途径、治疗时机等的选择至关重要。

近年来,国内在干细胞研究与应用方面也取得了可喜进展,体细胞核移植与重编程取得突破,利用干细胞定向培育出血液、神经、胰岛、肝脏、心肌等细胞产品,有望用于癌症、心血管疾病、糖尿病、肝脏疾病、帕金森病、老年性痴呆等的替代治疗。但目前国内在干细胞的研究与应用上还存在一些不足之处,首先是干细胞研究呈小型分散,大多数小组只掌握单项技术,没有能力攻克重大战略目标;其次对干细胞生物学基础理论研究不够,从而影响干细胞研究的持续发展,且难以出现重大突破;在干细胞制备方面缺乏严格的标准化操作规程(SOP),没有合格的分离制备场地,甚至没有基本的实验数据,而仅仅依赖文献报道就开展临床治疗;在临床应用方面则缺乏科学的治疗方案和对照,缺乏有效性的可靠证据,缺乏治疗前后更确切的心功能参数对照,甚至对可能发生的“毒副作用”也缺乏足够的重视和应对措施。这一系列的问题直接反映出国内蜂拥而起的干细胞治疗缺乏真正的科学性、有效性、安全性和可控

性,这不仅仅会影响干细胞治疗这一新兴技术的健康发展,而且也是对患者的不负责任。

因此,一方面我们要积极推进干细胞的研究与应用,造福人类;另一方面也要加强基础与临床的合作,加强管理。本着对科学和患者生命负责任的态度,使干细胞治疗做到科学、有效、安全、可控。

1 干细胞来源、种类及操作处理科学化

如前所述,干细胞的来源与种类、移植细胞数量、体外处理条件等直接影响到治疗的有效性和安全性。例如当组织微环境受到严重破坏(坏死、缺损等)或发生器质性变化(纤维化、硬化等)时,干细胞简单移植入病灶可能效果较差,且不同种类干细胞或不同植入部位都将会出现不同的效果和远后效应,甚至出现与治疗目的相反的结果。

为了保证干细胞及其细胞工程产品安全合理的使用,许多研究机构制定了相关的规程。如美国 FDA 将干细胞的处理分为只对细胞进行分离、冻存等简单操作的“初处理”(minimal manipulation)和经过扩增、包装、活化、基因修饰等较复杂的加工,可能改变细胞原有生物学特性的“进一步处理”(more than minimal manipulation)两类,对后者要求进行包括化学、生物学、操作的对照研究,及进入市场前的安全性和有效性的确定。临床应用(包括临床试验)的干细胞及其细胞工程产品的处理必须严格按照现行 GMP(包括对操作、质控、仪器设备及工作人员的要求)标准进行。

2 疾病(病程)与治疗选择方案的合理化

微环境对干细胞分化调控的影响极为重要。干细胞处于三维空间结构中,受到细胞-细胞、细胞-细胞外基质间相互作用的影响,从而对新环境中的调节信号做出反应而进行重编程,甚至连机械作用力也可能影响干细胞分化的方向和进程。因而,疾病类型、病程进展的选择极其重要。毫无疑问,急性、亚急性肝损伤患者和严重肝纤维化者接受干细胞治疗的效果会大相径庭,因此,应制定并严格遵守干细胞移植治疗的适应证和禁忌证。

干细胞治疗不是依赖经验,而应选择适合每个个体的确切的相对安全有效的治疗方法。需针对患者的特定病因、病型和病程选择适于其个体的干细胞移植治疗方案;同时,由于干细胞体外操作处理程

(下转第 304 页)

机化性肺炎。双侧胸腔积液:左胸腔 150 ml,右胸腔 400 ml,胃黏膜多灶糜烂伴出血:胃内见咖啡色液体 200 ml,全身多脏器(胃肠、肝、脾、肾上腺、肾)显著淤血;食道下段黏膜糜烂伴多量慢性炎细胞浸润;甲状腺右叶胶样腺瘤,直径 0.8 cm。

结合病理检查及临床病史,认为本例患者死因明确,系由于在陈旧性心肌梗死的基础上发生广泛急性心内膜下心肌梗死及局部透壁性心肌梗死,导致心源性休克,心功能衰竭死亡。

分析本病例特点为:(1)老年女性,起病急,病情进展迅速。(2)既往有高血压、陈旧性心肌梗死及脑血栓病史。(3)入院后先后发生不稳定性心绞痛,非透壁性心肌梗死,梗塞后心绞痛,梗塞延展,继而出现心源性休克,泵衰竭,最终死亡。由于心源性休克多在心肌梗死后发生在心肌坏死范围超过 40%时,故推断该患者心内膜下心肌梗死累及范围较大,血管病变较广泛,心肌供血主要依靠侧支循环,代偿能力较差,因此,虽然经过积极的扩冠、抗凝、IABP 植入等治疗,仍然引发严重的心血管事件。

老年患者发生非 ST 段抬高型心肌梗死时,预后

较年轻人差。许多因素如情绪应激、冠脉痉挛、便秘以及酸碱失衡、电解质紊乱等都可导致梗塞延展,此类患者应尽早选择介入治疗,重建血管,挽救存活的心肌,可明显改善预后。同时 IABP、呼吸机的时机选择恰当及时也可避免严重心性事件的发生。在诊断方面,若心电图显示下壁、前壁导联广泛的 ST 段压低、T 波倒置,同时存在 aVR 导联 ST 段抬高,多提示左主干病变或左主干等同病变,若及时尽早干预可明显改善预后。另本病例的冠脉病变特点也提示老年人冠脉病变多为硬斑块造成固定的严重狭窄,即使小血栓形成也可造成管腔的完全闭塞,同时累及范围较大,这些病理生理特点决定了此类患者不宜行溶栓治疗。回顾性和前瞻性研究结果都显示这些患者溶栓治疗可能会增加死亡率,但尽早行介入治疗则可以尽可能地挽救存活的心肌。而且老年人血管腔内的血栓多为白血栓,因此尤其要加强抗凝治疗,应用血小板聚集的抑制剂和他汀类药物可明显改善预后。

(马晶,赵玉生整理)

(上接第 245 页)

度不一,使得移植后效果、效果维持的时间、不良反应及最终的预后等相差甚远。因此,这项新技术的开展对临床医生的素质、对围绕该技术的配套医疗技术及实施医院的风险处理能力等均提出更高要求。

3 审批管理与临床试验法规化

在充分遵守流行病学随机、对照等原则的基础上,需确定切实可行的试验目标、选择合理的试验方法、招募有代表性的受试者、确立试验结果的评价指标、选用已充分验证的评价工具、决定最佳的治疗时间和随访期限、计算试验所需的样本量、规定数据处理原则、试验方案的实施,还要考察是否严格执行临床试验研究的伦理原则等,每一环节都与试验结果的可靠性息息相关。需要强调的是,训练有素的研

究人员和临床医生对操作过程、围移植期和随访情况的详细记录是十分必要的,人们可及时根据反馈信息对操作进行分析和改进,促进干细胞移植基础与临床研究的发展。

由于干细胞工程产品的“个体化、鲜活性、体内再生”等特征,与普通药物或一般体细胞治疗和基因治疗不同,但在体外进行处理过程中仍将接触器皿、培养基、血清、细胞因子、化学试剂、分离液等等,也存在病原体污染、热源等风险,也应有严格的操作标准,除注重此领域相关的伦理法规外,同样也需获得国家药品监督管理局(SFDA)的批准(不经体外处理的治疗方案除外)。同时,还应制定相关的临床准入条件、标准和管理办法,与“产品”报批结合,各有侧重,相辅相成,最终使“合法”产品应用于“准入”医院。