

干细胞移植与消化系统疾病治疗的进展

牟静岚¹, 时永全^{2*} (第四军医大学: ¹口腔医学系十三队, ²西京医院消化内科, 陕西 西安 710032)

[关键词] 干细胞移植; 肝脏; 胃肠; 胰

[中图分类号] R570.5; Q813.69 [文献标识码] A

干细胞是具有自我更新、高度增殖和特异或多向分化潜能的细胞群体^[1], 即这些细胞既可通过细胞分裂维持自身细胞群的大小, 又可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。按照作用不同干细胞分为3类: 全能干细胞、多能干细胞及专能干细胞; 按照细胞起源的阶段, 大致又划分为胚胎干细胞和成体干细胞。胚胎干细胞具有分化的“全能性”, 即能分化成为任何类型的组织和器官, 而成体干细胞则是某一类组织或某一胚层组织器官的定向分化细胞, 如骨髓造血干细胞、骨髓基质干细胞及内皮祖细胞等。干细胞用于人类疾病的治疗是一个全新且十分有价值的领域, 尤其对于消化系统疾病, 具有广阔的应用前景。目前的研究和应用方向, 主要集中在肝硬化肝癌、胃癌、个别胰腺疾病和晚期实体肿瘤的治疗或辅助治疗上。

1 干细胞的类型

1.1 肝脏干细胞 肝脏干细胞根据来源分为肝源性与非肝源性干细胞。肝源性肝脏干细胞包括成熟的肝细胞和卵圆细胞, 当肝脏受损而被切除时, 成熟的肝细胞首先分裂修复^[2], 而当肝细胞再生机制障碍时, 位于终末胆管的卵圆细胞被激活并增生, 随后移行到肝实质。由于肝源性干细胞的采集分离非常困难, 人们对非肝源性肝脏干细胞的关注日渐增多。最近研究表明, 在成人骨髓中存在多向分化潜能的干细胞, 在肝损伤及肝细胞再生的过程中, 骨髓干细胞是肝细胞重要的肝外来源^[3]。骨髓干细胞有众多的阳性标志物, 有文献证实实体分子 Clq受体 (ClqRp)等可作为从骨髓细胞中选择具有肝细胞分化潜能细胞的阳性标志^[4], 具体分离多采用密度梯度离心法及免疫磁珠阴性选择法, 因为这两种方法不会造成干细胞大量丢失。另外, Avital等^[5]从人和大鼠的骨髓中已分离出骨髓基质细胞 (marrow stromal cell MSC), 它是骨髓干细胞的重要组成部分, 将其通过门静脉移植到同系大鼠体内后, 发现它们整合到受体肝内并分化为成熟的肝细胞。在肝细胞生长因子的作用下, 将 MSC体外培养发现其能合成尿素, 具有肝细胞的超微结构, 用免疫组化染色法检测出 MSC能表达白蛋白 (ALB)、甲胎蛋白 (AFP)及抗细胞角质蛋白-18

(CK18)等特异性标记物^[6]; 近10年来, 胚胎干细胞移植的发展十分迅速, 大量实验及临床资料证明, 在特定的条件下, 胚胎干细胞向肝细胞分化是非常可能的^[7-8]。不过, 在肝脏微环境中干细胞分化为类肝样细胞的过程, 是横向分化还是细胞融合的结果? 尚有争议, 但以上的研究至少可为肝脏晚期病变的治疗提供一个新思路。

1.2 胃肠干细胞 近年研究认为, 胃肠也存在干细胞。胃黏膜上皮细胞的更新是一个持续过程, 胃黏膜损伤后, 上皮细胞增生加速以使损伤愈合, 胃的多能干细胞参与了该过程^[9]。现普遍认为, 胃的干细胞位于胃腺的凹部, 当发生溃疡时, 在胃黏膜细胞的增殖和维持胃黏膜的完整性方面具有非常重要的作用。还有人认为, 胃干细胞与肠上皮化生和肿瘤的发生有密切关系^[10]。胃癌起源于胃肠道干细胞, 这些干细胞从胚胎发育开始始终处在一个未分化的状态, 或是起源于成熟细胞的去分化状态。如果真如此, 那么我们对于胃癌的防治就要重新考虑了。肠道干细胞位于肠黏膜隐窝的基底部, 其可分化为肠上皮的所有细胞系, 参与正常肠黏膜组织更新的生理过程及一些病理过程, 对于补充不断丧失的各种肠黏膜细胞具有重要意义。但这是一个极为复杂的过程, 影响因素及具体机制尚不明, 局部微环境可能在肠道干细胞的分化过程中起决定性作用。

1.3 胰腺干细胞 胰岛细胞的替代疗法是糖尿病治疗的新方向, 但由于受供体的限制难以推广, 因此, 关于胰腺干细胞的一系列研究很有实际意义^[11]。胰腺干细胞通过定向诱导可分化形成胰腺内外分泌组织的细胞, 对于急、慢性胰腺炎的发生、发展及治疗的研究具有重要意义; 其还能修复胰腺损伤导致的胰腺功能不全, 对胰腺癌的调控和治疗也具有重要的研究价值。近年研究表明, 胰腺干细胞有以下几种表面标志: 胰岛素促进因子 (insulin promoter factor 1, PDX-1)、nestin(一种中间丝蛋白)、抗角质蛋白-19 (CK-19)、端粒酶、 β 半乳糖苷酶、波形白 (vimentin)、胰岛素等, 通过这些特异的分子标志, 可鉴定、分离及纯化胰腺干细胞, 研究胰腺干细胞膜内外信号转导机制、信号因子与膜受体之间的相互作用、胰腺干细胞发育机制及诱导过程等^[12-13]。最近的研究多集中在多能胚胎干细胞上, 已证明对小鼠胚胎干细胞经诱导可分化为能分泌胰岛素的类胰岛组织细胞, 但如何对其体外扩增, 使之分化成熟, 尚待解决^[14]。除胚胎干细胞外, 从胰腺导管上皮细胞、肝脾及神经系统也可提取出胰腺干细胞, 将其体外培养成胰岛素分泌细胞后, 植入糖尿病小鼠的肾被膜下, 已证实可降低血糖、逆转糖尿病。

1.4 造血干细胞 造血干细胞包括: T细胞、B细胞、巨噬细胞、树突状细胞、中性粒细胞及NK细胞等祖细胞; CD34

收稿日期: 2006-03-02; 接受日期: 2006-04-07

作者简介: 牟静岚 (1984-), 女, 陕西西安人, 2002年级学员

Tel: 029-82502293; Email: mj178@yahoo.com

* Corresponding author. Email: shiyquan@fmmu.edu.cn

抗原可作为鉴定和分离造血干细胞的表面标志^[15]。近 20 年来,对于恶性肿瘤大剂量放疗后越来越多地采用外周血干细胞移植(peripheral blood stem cell transplantation, PBSCT)进行造血支持治疗^[16],如乳腺癌、卵巢癌、胃癌、小细胞肺癌和神经母细胞瘤的治疗。在不能手术的情况下,选择自体干细胞移植作为化疗的辅助治疗,可改善骨髓抑制,补充免疫因子,降低不良反应的发生。因此,大剂量的放疗联合造血干细胞移植已逐渐成为治疗多种恶性肿瘤的首选方案。与骨髓移植相比,较外周血干细胞具有采集方便,肿瘤细胞浸润少,移植后造血功能重建快,免疫功能恢复早及并发症轻等优点。PBSCT能有效恢复血中的细胞成分和各种重要的细胞因子(IL-2、 γ -IFN、IL-2R、sIL-2R和 γ -IFN等),重建患者的免疫功能。但面临的问题是,能否采集到真正足够的骨髓造血干细胞,能否长期恢复重建造血功能,恶性肿瘤患者外周血中肿瘤细胞污染比较严重,移植后的复发几率大。PBSCT在消化系统肿瘤(主要是胃癌)的辅助治疗,同样存在以上问题,并且还会出现新的问题,需要我们不断探索。此外,脐带血中含有丰富的造血干细胞和祖细胞,由于其中免疫细胞的抗原性较弱,祖细胞较少,移植后移植抗宿主反应的发生较骨髓和外周血干细胞的移植相对较少而轻,被认为是极具有潜力的新的干细胞来源。

2 临床应用

2.1 肝硬化和肝衰竭的治疗 肝炎肝硬化和酒精性肝硬化都是临床常见慢性肝脏疾病,病情经过一段时间往往发展为慢性肝功能衰竭,治疗起来更加棘手,常规疗法效果不佳,死亡率高。近年来,原位肝移植已成为终末期肝病最理想的治疗选择,但供体来源紧缺、移植后的免疫排斥反应及高额的治疗费用都限制了其临床应用。现临床上尝试使用骨髓干细胞移植作为肝功能衰竭治疗的一个方向。张强等^[17]对 20 例失代偿期肝硬化患者(19例慢性乙肝后肝硬化及 1例酒精性肝硬化)进行骨髓移植治疗。术后 1~2个月随访显示,14例有效(3例效果显著),6例无效,无 1例恶化。2例伴发小肝癌者,TACE治疗(超液态碘油 吡柔比星乳剂栓塞)1个月后 CT复查肿瘤内碘油聚集良好,所有病例术后均未出现发热、过敏反应或其他不适。姚鹏等^[18]选择 30例肝硬化失代偿期患者进行干细胞移植后 1、4、8、12周检查肝功,分别有 73.3%和 70%患者血清谷丙转氨酶(ALT)、总胆红素(TBIL)逐渐降低,76.6%和 100%的患者白蛋白(ALB)、凝血酶原活动度(PTA)不同程度的升高,移植后大多数患者的临床症状有明显改善,术后轻度恶心者 1例,发热者 1例,未出现严重的不良反应及并发症。另外,用自体骨髓 T细胞移植治疗,对肝硬化患者肝功的改善,也有明显效果。提示对于肝脏损害严重的肝硬化患者,肝内移植的骨髓干细胞可能更易转化为正常肝细胞,移植的效果会更好。如能掌握体外诱导骨髓干细胞和胚胎干细胞分化为肝细胞的条件,细胞疗法将有望替代肝移植,成为终末期肝脏疾病最有效的治疗方法。

2.2 胃癌的治疗 对于失去手术机会或不愿手术治疗的胃癌患者,通常进行化疗来消灭肿瘤细胞,但常规静脉化疗的疗效不佳,全身化疗的毒副作用大,患者难以接受。Suzuki等^[19]对 10例晚期胃癌患者在自体骨髓移植的支持下,进行高剂量的 EAP化疗($Vp-16$ 1200 mg/m²、表阿霉素 80 mg/m²及顺铂 120 mg/m²),结果显示,所有患者都能度过再障期而无严重的并发症,有效率达 89%。近年,采用超选择动脉化疗联合自体外周造血干细胞移植(autologous peripheral blood stem cell transplantation, APBSCT)来治疗中晚期胃癌的患者越来越多,并取得不错的近期疗效。Bentel等^[20]的二期初步临床研究报告,对 16例进展期上消化道癌在自身干细胞移植的支持下,术前采用 EAP化疗方案。初步实验显示,患者对其有较好的耐受性,且疗效提高,临床上具有很好的可行性。王龙等^[21]也选择过这种方法:治疗对象为晚期胃癌患者,设计治疗组和对照组,都给予超选择高剂量胃动脉 EAP化疗方案,治疗组于化疗 48 h后接受 APBSCT,一个疗程后观察肿瘤体积、腹水体积、免疫指标和不良反应,进行生存质量的评分,计算中位生存期及生存率。结果证实,在 APBSCT支持下,超选择高剂量胃动脉化疗治疗晚期胃癌,近期疗效佳,不良反应小,患者耐受性好,可显著改善患者的生存质量,提高其中位生存期和生存率。其他的研究也证明,自体造血干细胞支持疗法有利于胃癌患者化疗后机体免疫功能的恢复。而疗效提高,生存期延长。因此,在自体外周血干细胞移植支持下,辅助超高剂量选择性动脉介入化疗的治疗方法值得进一步研究并在临床上推广。

2.3 其他疾病 目前,关于胰腺干细胞的研究非常热门,如果能够解决胰腺干细胞体外扩增和诱导其分化的问题,那么,对于糖尿病和其他胰腺疾病患者无疑是一个福音。I型糖尿病仍靠注射胰岛素生存,对于晚期胰腺癌的治疗也是在大剂量化疗的基础上辅以自身造血干细胞移植,帮助机体造血和免疫功能的重建。在炎症性肠炎的治疗应用中,现多为血液系统恶性疾病合并炎症性肠炎时进行干细胞移植的报道,流行病学调查证实,相关基因突变是发生炎症性肠炎的重要原因,而其蛋白表达可能位于造血干细胞内,从理论上讲,干细胞移植有可能重新组装免疫系统,抑制了不正常的免疫反应;同时,在干细胞动员和预处理时应用了超过常规剂量的免疫抑制剂,清除受体体内的肿瘤细胞和异常克隆细胞,阻断其发病机制,也具有一定的治疗作用。

3 结语

在干细胞与组织器官替代治疗的研究方面,存在着以下问题:(1)干细胞分裂、分化后的细胞,不仅要具备和特异性组织细胞相同的形态,更重要的是完整的功能,就肝干细胞而言,分化后的肝实质细胞能否真正起到分泌、代谢及具有解毒的作用,还需进一步证明。(2)成体干细胞的采集分离相对困难,扩增能力也相对有限。(3)胚胎干细胞具有极强的可塑性和生长力,但造成畸胎瘤等问题也较多,而且还

存在伦理学上的问题, 对其安全性与实用性的评价尚须慎重。虽然对于肝脏、胰腺、胃肠干细胞的研究已在不断深入, 但与普遍的临床应用还有一段距离。再者, 干细胞移植的不良反应和并发症问题, 尚待进一步研究。

参考文献:

- [1] Shostak S (Re) defining stem cells [J]. *Bioessays* 2006, 28(3): 301-308.
- [2] Cherian MG, Kang YJ. Metallothionein and liver cell regeneration [J]. *Exp Biol Med* (Maywood), 2006, 231(2): 138-144.
- [3] Grumpe M. Bone marrow-derived hepatocytes [J]. *Novartis Found Symp* 2005, 265: 20-27.
- [4] Donet GH, Luongo JL, Butler G, et al. Ck1 β defines a new human stem cell population with hematopoietic and hepatic potential [J]. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, 99: 10441-10445.
- [5] Avital I, Inderbitzin D, Aoki T, et al. Isolation, characterization and transplantation of bone marrow-derived hepatocyte stem cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2001, 288(1): 156-164.
- [6] Kramer J, Bohmsen F, Lindner U, et al. In vivo matrix-guided human mesenchymal stem cells [J]. *Cell Mol Life Sci* 2006, 63(5): 616-626.
- [7] Dasgupta A, Hughey R, Lancin P, et al. E-cadherin synergistically induces hepatospecific phenotype and maturation of embryonic stem cells in conjunction with hepatotrophic factors [J]. *Biotechnol Bioeng* 2005, 5: 92(3): 257-266.
- [8] Tang XP, Yang X, Zhang M, et al. Clinical and experimental study of the therapeutic effect of umbilical cord blood stem cell transplantation on liver failure and heart damage in severe viral hepatitis patients [J]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 2005, 13(4): 259-263.
- [9] Bierknes M, Cheng H. Multipotential stem cells in adult mouse gastric epithelium [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002, 283: 766-777.
- [10] Li HC, Stoicov C, Rogers AB, et al. Stem cells and cancer: Evidence for bone marrow stem cells in epithelial cancers [J]. *World J Gastroenterol* 2006, 21: 12(3): 363-371.
- [11] Roche E, Enseat W, Ase R, Reig JA, et al. Therapeutic potential of stem cells in diabetes [J]. *Handb Exp Pharmacol* 2006, (174): 147-167.
- [12] 金建, 郑景晨. 胰腺干细胞移植研究进展 [J]. *医学综述*, 2005, 11: 1012-1013.
- [13] 杨开明, 李爱冬, 羊惠君, 等. Nestin, CK-19及insulin等在胚胎胰腺发育中的表达 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2005, 21(3): 353-355.
- [14] Madsen OD. Stem cells and diabetes treatment [J]. *APMIS* 2005, 113(11-12): 858-875.
- [15] Ninos JM, Jefferies LC, Cogle CR, et al. The thrombopoietin receptor cMpl is a selective surface marker for human hematopoietic stem cells [J]. *J Transl Med* 2006, 16(4): 9.
- [16] Yamane T, Hirose A, Nakajima Y, et al. High-dose chemotherapy with autologous hematopoietic stem cell transplantation for non-hodgkin's lymphoma in complete response as consolidation therapy: second report [J]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2006, 33(2): 193-198.
- [17] 张强, 李京雨, 徐力扬, 等. 经动脉骨髓干细胞移植治疗肝硬化的初步临床应用 [J]. *中国介入影像与治疗学*, 2005, 2(4): 261-263.
- [18] 姚鹏, 王帅, 胡大荣, 等. 肝动脉自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化 30例 [J]. *世界华人消化杂志*, 2005, 15: 13.
- [19] Suzuki T, Ochiai T, Nagata M, et al. High-dose chemotherapy with autologous bone marrow transplantation in the treatment of advanced gastric cancer [J]. *Cancer* 1993, 72: 2537-2542.
- [20] Berdel WE, Helmman T, Thiel E. Long-term results of a phase-II pilot trial on preoperative high dose chemotherapy with stem cell rescue in patients with cancer of the upper gastrointestinal tract [J]. *Oncol Rep* 2001, 8: 341-342.
- [21] 王龙, 朱金水, 朱励, 等. APBSCT对超选择动脉化疗后晚期胃窦癌患者疗效及其免疫调节作用 [J]. *中国临床医学*, 2005, 2: 224-228.

《细胞与分子免疫学杂志》的获奖及感言

《细胞与分子免疫学杂志》(本刊)在2005年度的3次期刊评审中分别获头等奖: ①第4次全军医学期刊质量评比中获“优秀期刊(学术I类)奖”; ②陕西省出版物审读中心和陕西省科技期刊编辑学会联合对124种科技期刊进行审读、评优, 本刊获得“2004/2005年技术类优秀期刊”; ③西安地区军队院校协作中心组织的第2届西安地区军队院校期刊评比中, 本刊荣膺“特等奖”。

本刊继入选《M》Medline后, 能够在全军、陕西省及西安地区众多军校等范围的评审中获奖, 是对本刊坚持较高的业务水准和坚持高水平编辑质量两方面工作的肯定。是关心本刊的广大专家、作者、读者和编辑部同志共同努力的结果。兹对关心支持本刊工作的各位审稿专家、作者及读者表示由衷的谢意!

本刊自2000年由季刊改为双月刊后, 年年有起色, 年年上台阶。明年又将改为月刊。我们将会保持优势, 戒骄戒躁, 发挥主观能动作用, 树立期刊品牌理念, 坚持办刊方针和宗旨, 扎扎实实地工作, 为免疫学科的建设及医药卫生事业的发展, 为促进我国社会主义科技进步而进一步努力。

(本刊编辑部)