

间充质干细胞治疗重症急性胰腺炎

申重阳¹ 曹琳琳²

【摘要】 急性胰腺炎通常是一种轻度的自限性疾病,10%~15%的病例会发展成重症急性胰腺炎,伴随系统性炎症反应及多器官衰竭。重症急性胰腺炎尚无有效的治疗手段,目前的治疗方案主要是提供对症支持治疗,耗费了巨大的卫生资源。间充质干细胞具有自我更新、增殖和多向分化潜能。研究发现间充质干细胞还具有免疫调节和促进组织修复功能,多项动物实验发现间充质干细胞治疗重症急性胰腺炎可以减轻胰腺组织炎症水平,缓解胰腺组织水肿,减少腺泡组织的凋亡。在中西医结合的基础上配合间充质干细胞治疗可以取得更加显著的治疗效果。间充质干细胞治疗重症急性胰腺炎的临床实验研究仅限与极少数病例,因此还需要进一步进行系统研究以确定间充质干细胞移植的最佳时机和有效剂量。虽然仍然存在着各种各样的问题,但是将间充质干细胞应用于重症急性胰腺炎的治疗已经展现出良好的应用前景。

【关键词】 间充质干细胞; 免疫调节; 重症急性胰腺炎; 移植途径

Therapeutic potential of mesenchymal stem cells for severe acute pancreatitis Shen Chongyang¹, Cao Linlin². ¹School Of Basic Medical Sciences, Chengdu Traditional Chinese Medicine University, Chengdu 611137, China; ²Hematological Department, Anhui Provincial Cancer Hospital, Hefei 230009, China
Corresponding author: Cao Linlin, Email: 157044501@qq.com

【Abstract】 Acute pancreatitis is a generally mild and self-limiting disease. However, about 10%~15% of patients with the condition can be severe, in whom a systemic inflammatory response and multiple organ failure occur. Despite huge improvements in intensive care treatment, no effective medical therapies are currently available to prevent this condition. Mesenchymal stem cells (MSCs) are capable of self-renewal, proliferation and differentiating into various cells, and they are being tested for their immunoregulatory activities and regenerative potential. Recently, MSCs have been reported as a stem cell-based therapy in experimental severe acute pancreatitis, which significantly reduced the inflammatory level, pancreatic edema and acinar cell degeneration. The combination of MSCs with Chinese herbal medicine has shown more potential for the treatment of severe acute pancreatitis. Thus, MSCs will be a promising tool for treatment of severe acute pancreatitis. However, in spite of these encouraging findings, the optimal dosage and detailed mechanisms need to be explored further.

【Key words】 Mesenchymal stem cells; Immunoregulatory; Severe acute pancreatitis; Route of transplantation

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是一种常见的炎症疾病,其中轻度急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP)为自限性系统性炎症反应,大概10%~15%的患者会发展成为重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP),其症状包括多器官衰竭,胰腺感染坏死等,病死

率可达30%~47%^[1]。临床上仍然缺乏有效的治疗SAP的药物,常规的治疗手段包括镇痛、解痉、营养支持以及内镜手术等^[2],然而常规治疗并不能显著的改变SAP的预后^[3]。现代医学的发展对SAP的发病机制有了普遍的认识,首先腺泡细胞内的胰蛋白酶原由多种因素被激活,进而破坏胰腺及邻近组织导致炎症因子白介素1(interleukin-1, IL-1)、IL-6、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)释放,而消化液和坏死组织液通过血液循环到达其他器官又可引发多器官衰竭^[4]。由于间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)具有免疫调节及促进组织修复的功能,因此应用间

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2018.12.008

基金项目: 国家自然科学基金(81603478), 四川省教育厅基金(17ZB0149) 成都中医药大学校基金(ZRQN1612)。

作者单位: 611137 成都中医药大学基础医学院¹; 230031 安徽合肥, 安徽省肿瘤医院血液科

通信作者: 曹琳琳, Email: 157044501@qq.com

充质干细胞治疗 SAP 显示出良好的应用前景,并逐渐成为本领域的研究热点。

一、MSCs 的生物学术特性

MSCs 来源于胚胎发育早期的中胚层,具有自我更新和多向分化能力,在体外可以分化为成脂细胞、成骨细胞、成软骨细胞。在一定的条件下还可以分化为神经细胞、胰岛素分泌细胞、肝细胞等多种功能的成体细胞。除此之外, MSCs 还具有低免疫原性和免疫调节功能,不但能够逃避机体的免疫识别,同时还可以抑制免疫反应。

(一) MSCs 的免疫表型

MSCs 至今仍然缺乏特异性的分子标志物,不同组织来源的 MSCs 具有一定的组织特异性,其细胞表面分子表达也有不同。为了规范 MSCs 的免疫表型,国际细胞治疗协会给出了一个统一标准: CD73, CD90, CD105 阳性,表达率 > 95%; CD34, CD11b, CD19, CD45, HLA-DR 阴性,表达率 < 5%^[5]。MSCs 低表达人白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA) I 类分子,不表达 HLA II 类分子, Fas-L 和协同共刺激分子 CD40、CD80 和 CD86,因此无法激活 T 细胞第二信号通路,而 MSCs 独特的免疫表型也是其具有免疫逃逸功能并能够在临床应用的前提。

(二) MSCs 的免疫调节作用

多项研究发现 MSCs 具有免疫调节作用。MSCs 既可以通过调节天然免疫系统[作用于自然杀伤(natural killer, NK)细胞、树突细胞],也可以通过作用于特异性免疫系统(作用于 B 细胞、T 细胞等)来完成免疫调节的功能。MSCs 的免疫调节功能是通过直接细胞接触和旁分泌细胞因子来完成的。通过这些手段, MSCs 可以控制淋巴细胞的激活,并且能够在局部形成并维持一个免疫平衡的微环境,从而更有利于伤口愈合和组织修复。

1. MSCs 对 T 细胞的免疫调节作用: MSCs 可以抑制由抗原诱导的 T 细胞增殖^[6],抑制 T 细胞表达早期激活标志物 CD25、CD69,降低 T 细胞分泌的 IFN- γ 水平及细胞毒性^[7]。MSCs 对 T 细胞的抑制作用可能是首先通过 T 细胞释放 IFN- γ 和 TNF- α ,进而激活 MSCs,促使其释放免疫调节因子,如肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)、IL-10、前列腺素 E-2(prostaglandin E-2, PGE-2)、IL-6、基质金属蛋白酶 2(matrix metalloprotein 2, MMP2)、MMP9^[8]。体外实验发现, MSCs 可以通过释放 PGE-2, HLA-G5, TGF- β 1 和吲哚-2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)诱导调节性 T 细胞的增殖^[9]。将 MSCs 注射到异体肾移植小鼠体内,能够增加调节性 T 细胞的数量,并提高移植成功率^[10]。

2. B 细胞是参与特异性免疫应答的重要免疫细胞:体外实验研究发现, MSCs 可以抑制 B 细胞扩增,影响 B 细胞分化,并显著减少 IgM、IgG 和 IgA 的分泌^[11]。B 细胞

与 MSCs 共培养,虽然不会影响 B 细胞的抗原递呈作用,但是会通过下调 B 细胞表面驱化受体 CXCR4 和 CXCR5 的表达,降低 B 细胞向炎症部位迁移的能力^[12]。

3. MSCs 可以影响不同阶段 DC 细胞的成熟、分化和功能: MSCs 可以通过分泌 PGE-2 抑制单核细胞向未成熟 DC 细胞(immature DCs, iDCs)分化^[13-14]。当使用脂多糖诱导 iDCs 向成熟 DC(mature DCs, mDCs)分化时, MSCs 可以抑制 iDC 表达成熟标志物 CD83 和共刺激分子 CD80/B7-1、CD86/B7-2,使其仍处在未完全分化状态^[15]。当 mDCs 与 MSCs 共培养时, MSCs 可以降低 mDCs 表面 CD80/B7-1 和 CD86/B7-2 的表达水平,促使 mDCs 向 iDCs 分化^[13]。MSCs 还可以抑制 mDCs 分泌 TNF- α 和 IL-12, TNF- α 对于促进 mDCs 向淋巴结迁移以及抗原递呈作用非常重要,而 IL-12 的分泌不足会导致 T 细胞免疫耐受和免疫不应答^[16]。

4. NK 细胞作为天然免疫系统重要的免疫细胞可以清除体内被病毒感染的细胞和癌细胞: MSCs 能够抑制 NK 细胞的细胞毒性以及 IFN- γ 和 TNF- α 的释放。NK 细胞在 IL-2 的作用下,可释放小剂量的 IFN- γ 使 MSCs 的免疫调节功能活化,从而又抑制 NK 细胞分泌 IFN- γ 的水平^[17]。体外实验表明, MSCs 与 NK 细胞共培养能够抑制由 IL-2、IL-15 和靶细胞诱导的 NK 细胞的激活,降低 NK 细胞表面活化受体 CD56、NKG2D、NKp30 和 NKp44 的表达,并且能够通过释放 IDO、TGF- β 1、PGE-2 和 HLA-G5 降低 NK 细胞对靶细胞的细胞毒性^[9, 18-19]。与其他免疫细胞不同, MSCs 并不能抑制已经由 IL-2 或 IL-15 激活的 NK 细胞,而且 MSCs 会被 NK 细胞通过 NKp30 和 NKG2D 识别并杀伤^[20]。

二、MSCs 治疗 SAP 中的实验研究

MSCs 治疗作为一种新型的治疗手段,其免疫调节和组织修复功能是应用于 SAP 的治疗基础。MSCs 应用于 SAP 治疗的疗效依然会受到多种因素的影响,如细胞趋化能力、细胞活性和细胞存活时间等。因此需要对这部分问题进行进一步的研究。

(一) MSCs 的移植途径

由于 SAP 是始发于胰腺组织的自身消化性炎症反应,常继发感染性腹膜炎以及全身炎症反应,因此选择合适的 MSCs 移植途径对于病情的控制十分重要。2011 年 Jung 等^[21]首次发现尾静脉注射 MSCs 可以减轻 SAP 大鼠胰腺组织炎症,缓解胰腺水肿,减少腺泡组织的凋亡。其他的研究证实,通过大鼠尾静脉注射 MSCs 可以减轻系统性炎症反应,增加调节性 T 细胞的数量^[22],缓解胰腺炎引发的肺损伤^[23]和肾损伤^[24]。而 Yin 等^[25]却发现在治疗早期胰腺炎时,通过鼠尾静脉注射的 MSCs 大多分布在肺部,在 3 d 内很少能够趋化到胰腺、肾组织,当通过腹腔注射时, MSCs 则大部分分布在胰腺、肾组织,并且能够降低胰腺组织和

血清中 IL-1 α 、IL-6 和 TNF- α 的表达量。李霞等^[26] 分别通过尾静脉、胰腺局部注射和肠系膜上静脉注射 MSCs, 比较 3 种方式治疗胰腺炎的疗效, 尾静脉组只有极少量的 MSCs 迁移到胰腺内, 肠系膜上静脉组胰腺内 MSCs 数量稍多, 胰腺局部注射组不仅有较多的 MSCs, 而且血清淀粉酶和脂肪酶水平也显著性低于其他治疗组。通过尾静脉注射 MSCs 治疗 SAP 可能主要是通过 MSCs 的旁分泌作用来起到炎症调节和抗凋亡的作用, 大部分 MSCs 聚集在肺部组织可以缓解 SAP 引发的肺损伤。而通过胰腺组织局部介入移植 MSCs, 可以使大部分的 MSCs 定植在胰腺组织, 不仅可以通过旁分泌作用抑制炎症反应, 还有可能通过将 MSCs 分化为相应功能的细胞参与组织修复过程。因此在将来的临床治疗中, 针对不同的病情和并发症选择不同的 MSCs 移植途径可能会取得更好的治疗效果。

(二) MSCs 移植的时机和剂量选择

细胞因子风暴是造成 SAP 病情迅速加重的因素, 因此选择合适的时机进行 MSCs 移植干预能够提高疗效, 防止病情的进一步恶化。TNF- α 被认为是 AP 的始动因子, SAP 大鼠造模 3 h 后, TNF- α 浓度就由 (19.68 \pm 2.13) ng/L 升高到 (104.43 \pm 14.09) ng/L, 12 h 达到 (207.35 \pm 16.03) ng/L^[27]。Yang 等^[28] 通过比较在 SAP 造模后 0、1、6、12 h 四个时间点进行 MSCs 移植治疗, 发现 MSCs 治疗 SAP 呈现时间依赖性, 在 0 h 进行细胞治疗效果最好。在造模后 1 h 和 6 h 两个时间点移植 MSCs, 血清 TNF- α 和 IFN- γ 浓度与对照组相比均有显著性降低, 而造模后 12 h 移植 MSCs 组, 血清 TNF- α 和 IFN- γ 浓度与对照组相比则没有显著性差异。因此尽可能早的进行 MSCs 干预, 可能会减缓 SAP 病情进展。同时研究^[28] 还发现 MSCs 治疗 SAP 与剂量成正相关, 分别使用 5 \times 10⁴ cells/kg, 5 \times 10⁵ cells/kg, 5 \times 10⁶ cells/kg, 1 \times 10⁷ cells/kg 四组剂量的 MSCs 治疗 SAP 大鼠, 与对照组相比 5 \times 10⁶ cells/kg 和 1 \times 10⁷ cells/kg 组可以显著性降低血清 TNF- α 和 IFN- γ 浓度, 而 5 \times 10⁴ cells/kg 组与对照组相比差异无统计学意义。

(三) 联合治疗

中西医结合治疗 SAP 可以减少并发症、降低病死率。何亚丽^[29] 应用清胰汤中西医结合治疗 SAP 取得了较好的疗效。钟雄利等^[30] 发现大承气汤联合西医治疗可以有效缓解 SAP 患者的临床症状, 有利于恢复肠黏膜屏障功能和抑制炎症免疫反应。将 MSCs 和大承气汤共同应用于 SAP 早期治疗能发挥协同作用, 治疗效果好于单独治疗, 可以显著降低 TNF- α 、IL-6 的水平, 提高 IL-10 的浓度和调节性 T 细胞的数量, 促进胰腺组织损伤修复^[31]。

三、MSCs 治疗 SAP 中的临床研究

近年来, 一些临床研究将 MSCs 应用于 SAP 的治疗, 研究结果提示可以改善 SAP 的炎症反应, 对减轻病症产生了一定的有益影响。黄少雄等^[32] 利用 MSCs 治疗 SAP 患

者 10 例, 与常规治疗组相比, MSCs 治疗组患者的血清 TNF- α 、IL-6、IL-8 水平、CT 征象、血小板活化因子、淀粉酶、白细胞计数、C 反应蛋白等指标得到显著改善, 并发症及住院时间也明显缩短。另一例常规治疗效果不佳的 SAP 患者, 经过 3 次 MSCs 移植治疗后, 血糖、血清淀粉酶和尿淀粉酶显著下降并且能够维持在正常水平, 胰腺体积恢复正常, 渗出液逐渐被吸收, C 反应蛋白由治疗前的 653 mg/L 下降到 23 mg/L, 患者在接受过干细胞移植后未出现不良反应^[33]。

四、问题与展望

MSCs 移植治疗 SAP 取得了较快的发展, 大量的动物实验对 MSCs 治疗 SAP 的机制和效果进行了详细的研究, 为 MSCs 治疗 SAP 的临床实验奠定了基础。在美国国立卫生研究院的 Clinical Trials 网站上还没有应用 MSCs 治疗 SAP 的临床实验被注册, 国内则有 2 例临床研究在开展, 其中黄少雄等开展的临床研究较为系统, 明确了 MSCs 治疗 SAP 的安全性和疗效, 但是仍然存在较多问题, 如 (1) 理想的 MSCs 来源; (2) 确定最佳的给药剂量、给药途径和给药时机; (3) 明确 MSCs 移植后的存活率及表型等, 有待进一步研究。相信随着 MSCs 基础理论的完善和发展, 应用 MSCs 治疗 SAP 一定会取得突破性进展。

参 考 文 献

- Petrov MS, Shanbhag S, Chakraborty M, et al. Organ failure and infection of pancreatic necrosis as determinants of mortality in patients with acute pancreatitis [J]. *Gastroenterology*, 2010, 139(3): 813-820.
- Wang CY, Zhao YP. The guidelines interpretation for diagnosis and treatment of severe acute pancreatitis [J]. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*, 2013, 51(3): 198-200.
- McKay CJ, Imrie CW. The continuing challenge of early mortality in acute pancreatitis [J]. *Br J Surg*, 2004, 91(10): 1243-1244.
- Frossard JL, Steer ML, Pastor CM. Acute pancreatitis [J]. *Lancet*, 2008, 371(9607): 143-152.
- Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement [J]. *Cytotherapy*, 2006, 8(4): 315-317.
- Le Blanc K, Tammik L, Sundberg B, et al. Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex [J]. *Scand J Immunol*, 2003, 57(1): 11-20.
- Le Blanc K, Rasmuson I, Gotherstrom C, et al. Mesenchymal stem cells inhibit the expression of CD25 (interleukin-2 receptor) and CD38 on phytohemagglutinin-activated lymphocytes [J]. *Scand J Immunol*, 2004, 60(3): 307-315.
- Tipnis S, Viswanathan C, Majumdar AS. Immunosuppressive properties of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells: role of B7-H1 and IDO [J]. *Immunol Cell Biol*, 2010, 88(8): 795-806.
- Selmani Z, Naji A, Zidi I, et al. Human leukocyte antigen-G5 secretion by human mesenchymal stem cells is required to suppress

- T lymphocyte and natural killer function and to induce CD4 + CD25highFOXP3 + regulatory T cells [J]. *Stem Cells*, 2008, 26(1): 212-222.
- 10 Ge W, Jiang J, Arp J, et al. Regulatory T-cell generation and kidney allograft tolerance induced by mesenchymal stem cells associated with indoleamine 2,3-dioxygenase expression [J]. *Transplantation*, 2010, 90(12):1312-1320.
- 11 Rosado MM, Bernardo ME, Scarsella M, et al. Inhibition of B-cell proliferation and antibody production by mesenchymal stromal cells is mediated by T cells [J]. *Stem Cells Dev*, 2015, 24(1): 93-103.
- 12 Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions [J]. *Blood*, 2006, 107(1): 367-372.
- 13 Spaggiari GM, Abdelrazik H, Becchetti F, et al. MSCs inhibit monocyte-derived DC maturation and function by selectively interfering with the generation of immature DCs: central role of MSC-derived prostaglandin E2 [J]. *Blood*, 2009, 113(26): 6576-6583.
- 14 Zhang W, Ge W, Li C, et al. Effects of mesenchymal stem cells on differentiation, maturation, and function of human monocyte-derived dendritic cells [J]. *Stem Cells Dev*, 2004, 13(3): 263-271.
- 15 Jiang XX, Zhang Y, Liu B, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells [J]. *Blood*, 2005, 105(10): 4120-4126.
- 16 Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses [J]. *Blood*, 2005, 105(4): 1815-1822.
- 17 Poggi A, Prevosto C, Massaro AM, et al. Interaction between human NK cells and bone marrow stromal cells induces NK cell triggering: role of Nkp30 and NKG2D receptors [J]. *J Immunol*, 2005, 175(10): 6352-6360.
- 18 Sotiropoulou PA, Perez SA, Gritzapis AD, et al. Interactions between human mesenchymal stem cells and natural killer cells [J]. *Stem Cells*, 2006, 24(1): 74-85.
- 19 Spaggiari GM, Capobianco A, Abdelrazik H, et al. Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2,3-dioxygenase and prostaglandin E2 [J]. *Blood*, 2008, 111(3): 1327-1333.
- 20 薛利敏, 薛群. 间充质干细胞免疫学特性及其在自身免疫病中的应用基础研究进展 [J/CD]. *中华细胞与干细胞杂志(电子版)*, 2012, 2(3): 201-207.
- 21 Jung KH, Song SU, Yi T, et al. Human bone marrow-derived clonal mesenchymal stem cells inhibit inflammation and reduce acute pancreatitis in rats [J]. *Gastroenterology*, 2011, 140(3): 998-1008.
- 22 Wang L, Tu XH, Zhao P, et al. Protective effect of transplanted bone marrow-derived mesenchymal stem cells on pancreatitis-associated lung injury in rats [J]. *Mol Med Rep*, 2012, 6(2): 287-292.
- 23 Wu Q, Wang F, Hou Y, et al. The effect of allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation on lung aquaporin-1 and -5 in a rat model of severe acute pancreatitis [J]. *Hepatogastroenterology*, 2012, 59(116): 965-976.
- 24 Chen Z, Lu F, Fang H, et al. Effect of mesenchymal stem cells on renal injury in rats with severe acute pancreatitis [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2013, 238(6): 687-695.
- 25 Yin G, Hu G, Wan R, et al. Role of bone marrow mesenchymal stem cells in L-arg-induced acute pancreatitis: effects and possible mechanisms [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(5): 4457-4468.
- 26 李霞, 庄丽维, 朱承雁, 等. 移植骨髓间充质干细胞治疗胰腺炎的最佳途径 [J]. *世界华人消化杂志*, 2016, 24(14): 2152-2160.
- 27 盛闽, 陈志耀, 黄鹤光, 等. 同种异体骨髓间充质干细胞移植治疗重症急性胰腺炎相关肺损伤 [J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(36): 6702-6709.
- 28 Yang B, Bai B, Liu CX, et al. Effect of umbilical cord mesenchymal stem cells on treatment of severe acute pancreatitis in rats [J]. *Cytotherapy*, 2013, 15(2): 154-162.
- 29 何亚丽. 清胰汤与大承气汤联合应用治疗重症急性胰腺炎的疗效评价 [J]. *中医临床研究*, 2014, 6(20): 63-64.
- 30 钟雄利, 谭小燕, 任伟旺, 等. 大承气汤联合西医治疗重症急性胰腺炎的疗效及其对肠黏膜屏障功能的影响 [J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2015, 23(4): 242-244.
- 31 孙发律, 李会朋, 滕勇生, 等. 大鼠骨髓间充质干细胞联合大承气汤对重症急性胰腺炎模型大鼠的保护作用及机制 [J]. *世界华人消化杂志*, 2015, 23(26): 4167-4176.
- 32 黄少雄, 常诚, 李文生, 等. 间充质干细胞治疗重症急性胰腺炎临床疗效的观察 [J/CD]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2012, 6(11):3093-3096.
- 33 王瑾, 王庆华, 黄梁浒, 等. 间充质干细胞治疗重症胰腺炎一例 [J/CD]. *中华细胞与干细胞杂志(电子版)*, 2011, 1(1): 86-88.

(收稿日期: 2018-05-01)

(本文编辑: 吴春风)

申重阳, 曹琳琳. 间充质干细胞治疗重症急性胰腺炎 [J/CD]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2018, 12(12): 688-691.