

·病例报告·

间充质干细胞治疗重症胰腺炎一例

王瑾 王庆华 黄梁浒 陈津 罗芳 宋京翔 谭建明

急性重症胰腺炎是以胰腺弥漫性出血和组织坏死为特征,发病急骤,并发症和死亡率较高^[1]。传统治疗手段包括抗炎和抑制胰腺外分泌及胰酶活性,属于对症治疗,尚不能有效促进胰腺组织修复和再生。研究表明,间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)分泌多种细胞因子和生长因子,作用于周围组织发挥旁分泌作用,促进组织再生及防止纤维化形成。因此, MSCs可能成为治疗急性胰腺炎的新方法。

患者男,47岁,因饮酒后持续性中上腹痛2 d入院。患者有长期酗酒史,脂肪肝。入院时体温36.8℃。血常规:白细胞 $4.5 \times 10^9/L$,粒细胞百分比为76.94%,红细胞 $4.49 \times 10^{12}/L$,血红蛋白163.0 g/L,血小板 $95 \times 10^9/L$ 。生化指标:血淀粉酶137 U/L,尿淀粉酶1846 U/L,腹淀粉酶967 U/L, C反应蛋白653.0 mg/L。患者人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)、乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)和丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)检测结果均为阴性。查体:中上腹疼痛,阵发性加剧,并向腰背部放射,伴恶心、呕吐,无畏寒、发热,精神差。曾于发病当日在当地诊所治疗,给予补液扩容、醋酸奥曲肽注射液等抑制胰液分泌和改善微循环的处理,但未见好转。CT显示胰腺弥漫性扩大,邻近组织内见液体渗出密度影,腹腔内、腹膜后和双侧胸腔内见液体性密度影。结合临床表现,诊断为急性重症胰腺炎。

分离脐带间充质干细胞:分离并去除脐带外膜和血管组织,取脐带基质,将其剪碎,加入质量分数为0.1%胶原酶IV消化过夜。离心后,取下层沉淀再用0.25%胰蛋白酶37℃消化1h,过100目筛网,收集含细胞的滤液,离心后计数,接种于低糖DMEM无血清培养基中,置于37℃,5%CO₂培养箱培养。移植前所用脐带干细胞均经过检测:细胞呈纺锤状,病原学检查阴性(包括细菌和真菌等),具有典型的MSCs的免疫表型,内毒素试验阴性。

患者入院后行禁食、胃肠减压、抗炎、补液、抑制胃及胰液分泌等对症支持治疗。于第4天经外周静脉给予脐带间充质干细胞移植,细胞剂量为 72×10^6 个。随后2周,每周给予细胞移植1次,细胞剂量为 80×10^6 。干细胞移植后,血清淀粉酶和尿淀粉酶显著下降并维持在正常水平。CT显示患者胰腺体积基本恢复,渗出液逐渐吸收(图1)。血糖由8.3 mmol/L下降到正常水平并保持相对稳定。C反应蛋白是急性重症胰腺炎良好的指标,在入院时为653 mg/L,虽然尚未到正常水平(0~8 mg/L)但干细胞输注后已显著下降(表1),在干细胞移植的过程中未出现不良反应。

讨论 MSCs是间质来源的多潜能干细胞,可在骨髓、脐带等组织中分离出来^[2-4]。MSCs可保护胰腺免受严重损伤,并促进损伤组织再生,这主要依赖MSCs的特性:(1)MSCs免疫调节的特性:MSCs可通过与免疫细胞进行细胞-细胞接触或释放可溶性免疫抑制因子发挥免疫



注: a.入院时病人腹部CT:胰腺弥漫性扩大,邻近组织内见液体渗出密度影,腹腔内、腹膜后、双侧胸腔内见液体性密度影;b. MSCs 首次移植2周后CT:胰腺水肿减轻,胰腺周围渗出液逐渐吸收

图1 病人入院和首次输注干细胞2周后的腹部CT检查

表1 患者入院和首次输注干细胞2周后的实验室检查结果

	血清钙 (mmol/L)	血淀粉酶 (U/L)	尿淀粉酶 (U/L)	C反应蛋白 (mg/L)	血糖 (mmol/L)	血清AST (U/L)	血清LDH (U/L)	尿素氮 (mmol/L)	肌酐 (μ mol/L)	血清白蛋白 (g/L)
入院时	1.76~1.91	137	1846	653	8.3	107	752	13.9	149	28
2周后	2.3	74	256	23	5.1	30	208	1.8	76	39
参考范围	2.00~2.60	0~96	20~450	0~8	3.6~6.1	6~50	80~250	2.9~8.9	53~124	35~52

注: AST为天冬氨酸转氨酶; LDH为乳酸脱氢酶

调节作用^[5],大量研究表明, MSCs 在体内、外可调节 B 细胞、T 细胞免疫应答,抑制 NK 细胞增殖、细胞因子分泌和细胞毒作用^[6-7]; (2) MSCs 旁分泌作用: MSCs 可分泌可溶性因子,包括各种细胞因子、化学因子和生长因子等,通过改善微环境从而调节受损胰腺的生物学功能^[8-9]; (3) MSCs 具有多系分化潜能: MSCs 能够在体内或体外诱导成多种间质来源的组织^[2],甚至可以向神经外胚层和内胚层(如肝细胞)转分化^[10-11]。Chao 等^[12] 成功将脐带来源的 MSCs 分化成为胰岛样细胞群,这些胰岛细胞群在体内、外具有分泌胰岛素的功能。然而, MSCs 直接在人体内分化成为胰岛细胞群还未见报道。此外,研究表明在动物体内输注 MSCs 可减轻或预防组织纤维化^[13-15]。

对于干细胞移植治疗重症胰腺炎的最佳治疗时机、细胞输注途径以及细胞剂量等因素,目前尚无统一的观点。干细胞移植时机可能直接影响治疗效果和 MSCs 在体内的存活。尚无文献报道在强烈炎症反应时输注 MSCs 是否引起未知或未预期的不良反应。此外,强烈炎症下大量炎症因子浸润、坏死组织、缺血或缺氧等的恶劣微环境可能导致干细胞存活率低,达不到预期的疗效。此例患者于住院后第4天,强烈的急性炎症有所缓解后,给予 MSCs 移植。多次输注可促进 MSCs 持续释放生长因子和细胞因子,有利于稳定和营养微环境,促进组织修复。本例输注剂量为 $(72 \sim 80) \times 10^6$ 个细胞,略高于 10^6 个细胞/kg 体重。作为探索性试验,许多因素尚待确定。本病例应用脐带干细胞经外周静脉输注3次,通过对患者临床症状和 CT 等指

标的综合评估,证明干细胞移植可用于重症胰腺炎的治疗,有利于促进胰腺组织恢复。

参考文献

- 1 Bank S, Singh P, Pooran N, et al. Evaluation of factors that have reduced mortality from acute pancreatitis over the past 20 years[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2002, 35(1):50-60.
- 2 Pittenger MF, Mackay MA, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells[J]. *Science*, 1999, 284(5411):143-147.
- 3 da Silva Meirelles L CP, Nardi NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues[J]. *J Cell Sci*, 2006, 119(11):2204-2213.
- 4 Pappa KI, Anagnou NP. Novel sources of fetal stem cells: where do they fit on the developmental continuum[J]. *Regen Med*, 2009, 4(3):423-433.
- 5 Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(9):726-736.
- 6 Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells[J]. *Blood*, 2007, 110(10):3499-3506.
- 7 Kode JA, Mukherjee S, Joglekar MV, et al. Mesenchymal stem cells: immunobiology and role in immunomodulation and tissue regeneration[J]. *Cytotherapy*, 2009, 11(4):377-391.
- 8 Gneocchi M, Zhang Z, Ni A, et al. Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy[J]. *Circ Res*, 2008, 103(11):1204-1219.
- 9 Xu YX, Chen L, Wang R, et al. Mesenchymal stem cell therapy for diabetes through paracrine mechanisms[J]. *Med Hypotheses*, 2008, 71(3):390-393.
- 10 Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo-Pelaez F, et al. Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro[J]. *Exp Neurol*, 2000, 164(2):247-256.
- 11 Schwartz RE, Reyes M, Koodie L, et al. Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells[J]. *J Clin Invest*, 2002, 109(10):1291-1302.
- 12 Chao KC, Chao KF, Fu YS, et al. Islet-Like clusters derived from mesenchymal stem cells in wharton's jelly of the human umbilical cord for transplantation to control type 1 diabetes[J]. *Plos One*, 2008, 3(1):e1451.
- 13 Moodley Y, Atienza D, Manuelpillai U, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells reduce fibrosis of bleomycin-induced lung injury[J]. *Am J Pathol*, 2009, 175(1):303-313.
- 14 Fang B, Shi M, Liao L, et al. Systemic infusion of FLK1 mesenchymal stem cells ameliorate carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice[J]. *Transplantation*, 2004, 78(1):83-88.
- 15 Ohnishi S, Sumiyoshi H, Kitamura S, et al. Mesenchymal stem cells attenuate cardiac fibroblast proliferation and collagen synthesis through paracrine actions[J]. *FEBS Lett*, 2007, 581(21):3961-3966.

(收稿日期:2011-04-21)

(本文编辑:吕艳萍)

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