

· 临床研究 ·

# 自体骨髓干细胞移植联合脾脏切除断流术治疗失代偿期肝硬化的临床研究

王靖程, 龚建平, 涂 兵<sup>△</sup>

(重庆医科大学附属第二医院肝胆外科 400010)

**摘要:**目的 观察自体骨髓干细胞联合脾切除断流术治疗失代偿期肝硬化的疗效及不良反应。方法 选择肝胆外科失代偿期肝硬化(child-pugh C)患者 34 例,其中 17 例为治疗组,在一般治疗的基础上应用自体骨髓干细胞联合脾切除断流术治疗,另 17 例为对照组,仅行脾脏切除断流术。观察并比较两组的治疗结果。结果 术后干细胞治疗组天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)、总胆红素(TBIL),腹围等指标逐渐降低;白细胞(WBC)、血小板(PLT)、凝血酶原时间(PT)、血清清蛋白(ALB)、前清蛋白(PA)逐渐升高,程度优于对照组,可以提示治疗组患者肝功能明显改善优于对照组。结论 自体骨髓干细胞联合脾切除断流术治疗失代偿期肝硬化疗效显著,应属目前最有效治疗肝硬化方法之一。

**关键词:**干细胞移植;脾切除术;肝硬化

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.32.008

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)32-3375-02

## Clinical study on combined therapy of autologous bone marrow stem cells transplantation and splenectomy plus disconnection in decompensated liver cirrhosis

Wang Jingcheng, Gong Jianping, Tu Bing<sup>△</sup>

(Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

**Abstract: Objective** To observe the curative effect and side effects of combined therapy of autologous bone marrow stem cell transplantation and splenectomy plus disconnection in decompensated liver cirrhosis. **Methods** 34 patients with decompensated liver cirrhosis(child-pugh C) from department of hepatobiliary surgery were collected, 17 patients as the test group underwent combined therapy of autologous bone marrow stem cell transplantation and splenectomy plus disconnection, 17 patients as the control group were treated by appendectomy and disconnection only. Then we compared the treatment result of two groups. **Results** AST, ALT, TBIL and abdominal circumference in test group after treatment reduced gradually, but WBC, PLT, PT, ALB and PA increased gradually. The result was better than the control one. It showed that the liver function of the patients in test group improved obviously. **Conclusion** The curative effect combined therapy of autologous bone marrow stem cell transplantation and splenectomy plus disconnection in decompensated liver cirrhosis is significant. It's one of the best treatment to liver cirrhosis.

**Key words:** stem cells transplantation; splenectomy; liver cirrhosis

肝硬化是一种常见的慢性肝病,是各种肝损伤共同的终末阶段。因此,积极进行对肝硬化及其并发症的防治非常重要。目前肝硬化失代偿期尚缺乏特效的治疗手段,最好的治疗方式是肝移植,但是肝脏移植手术费用昂贵,供肝紧缺再加上术后免疫移植排斥反应需终生服药等诸多难题,极大限制了肝移植的临床应用。然而经过多年对干细胞的研究,骨髓干细胞(bone marrow stem cells, BM-SCs)移植已经在国内外得到广泛应用,近年来对自体 BM-SCs 移植治疗肝硬化的研究也逐渐深入。本文对 34 例失代偿期肝硬化患者实施手术治疗,现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 34 例诊断为失代偿期肝硬化病例均为本院 2011 年 1~8 月住院患者,一般症状明显,通过肝功能、血常规、胃镜及 B 超、CT 等影像学等检查,诊断明确,符合《病毒性肝炎防治方案》。诊断符合 child-pugh 分级 C 级标准,符合脾切除断流术手术指征。干细胞治疗组 17 例,其中,男 13 例,女 4 例;平均(56±13)岁。对照组 17 例,其中,男 11 例,女 6 例;平均(59±11)岁。

**1.2 观察指标** 包括临床表现(包括腹围),实验室检查指标[天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)、总胆红素

(TBIL)、白细胞(WBC)、血小板(PLT)、凝血酶原时间(PT)、血清清蛋白(ALB)、前清蛋白(PA)],干细胞治疗不良反应。

### 1.3 治疗方法

**1.3.1 一般治疗** 包括禁饮禁食,一般常规护理等。根据患者情况应用保肝药,利尿药等消除腹水,创造手术条件,乙型肝炎病毒感染患者行抗病毒治疗。

**1.3.2 手术方式** 治疗组:在一般治疗的基础上应用自体 BM-SCs 联合脾切除断流术治疗。每位患者全麻后在左右髂后上棘多点采集骨髓血量 60~120 mL,采用威尔森干细胞分离液试剂盒在细胞实验室进行分离,分离单个核细胞(MSC)数平均为 12.5×10 个。对单个核细胞进行活细胞计数、CD34<sup>+</sup>计数,进行细菌污染检查,合格后方在术中行脾切除断流术后,暴露门静脉,将移植用干细胞经门静脉缓慢输给患者,之后生理盐水冲管,速度为 1 mL/min<sup>[1-2]</sup>。对照组:患者仅进行脾切除手术治疗。治疗前及治疗后观察患者的 AST、ALT、TBIL、ALB、PA、WBC、PLT、PT。以患者手术 1 个月后指标进行分析比较。手术后治疗方式:手术后前 3 d 应用抗生素,并使用保肝药,止血药等对症支持治疗。

**1.4 统计学处理** 数据采用 SPSS19.0 软件进行统计分析,

<sup>△</sup> 通讯作者, Tel:13868036386 E-mail:assassin@126.com。

表 1 术后 1 个月干细胞治疗组与对照组肝功能指标比较结果( $\bar{x}\pm s, n=17$ )

组别	ALT(U/L)		PA(mg/L)		TBIL(mmol/L)		ALB(g/L)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
治疗组	141.0±15.0	41.0±22.0	138.0±54.0	134.0±49.0	35.8±4.3	14.3±5.6	31.3±2.9	35.3±4.7
对照组	140.0±15.0	78.0±21.0	144.0±48.0	102.0±36.0	36.5±4.7	18.0±6.8	30.1±2.9	29.7±3.1

表 2 术后 1 个月干细胞治疗组与对照组肝功能指标比较结果( $\bar{x}\pm s, n=17$ )

组别	AST(U/L)		PLT( $\times 10^9/L$ )		PT(s)		WBC( $\times 10^9/L$ )	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
治疗组	125.0±11.0	55.0±21.0	50.0±4.3	145.0±11.0	21.0±1.2	14.2±3.6	3.4±0.8	4.9±1.2
对照组	134.0±12.0	75.0±18.0	42.0±3.8	119.0±8.9	20.0±2.3	15.4±4.2	2.9±1.1	3.5±0.9

计量资料  $\bar{x}\pm s$  表示,采用  $t$  检验,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 临床表现及不良反应** 大多数患者在接受自体骨髓细胞移植联合脾切除断流术治疗后症状比治疗前明显好转,如乏力腹胀减轻,进食改善。恢复速度及程度明显优于仅接受脾切除断流术治疗的患者。未出现恶心,发烧等不良反应。

**2.2 肝功能指标比较分析** 干细胞治疗组与对照组各种数据参数于治疗前比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。治疗后腹围、AST、WBC、PLT、PT、ALT、PA、TBIL、ALB 参数治疗组与对照组比较差异有统计学意义( $P<0.01$ )。其中腹围、AST、PT、ALT、TBIL 治疗组显著低于对照组。WBC、PLT、PA、ALB 治疗组显著高于对照组。提示干细胞治疗组肝功能改善明显好于对照组。见表 1~3。

表 3 术后 1 月干细胞治疗组与对照组腹围比较结果( $\bar{x}\pm s, cm, n=17$ )

组别	治疗前	治疗后
治疗组	84.0±8.2	73.0±5.6
对照组	81.0±7.4	77.0±6.3

## 3 讨 论

干细胞是一种未经分化的,具有自我更新能力及能分化为多种细胞的潜能细胞。分为胚胎干细胞和成体干细胞。在成体器官及组织中存在多种干细胞。如肝干细胞、脂肪源性干细胞、外周干细胞、BM-SCs。骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)能分化为骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、肌细胞、心肌细胞、成纤维细胞、上皮细胞、神经细胞、非中胚层的胰岛细胞和肝细胞等<sup>[3-4]</sup>。肝细胞具有骨髓源性<sup>[5]</sup>, BM-SCs 分为造血干细胞(hemopoietic stem cells, HSCs)和 MSCs。一些学者提出骨髓间充质干细胞是最有效的肝细胞分化来源细胞<sup>[6]</sup>。研究表明,骨髓肝细胞不仅能通过再生肝细胞来部分恢复肝细胞代谢功能,还能分泌基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP),特别是 MMP-9,降解肝脏间质纤维组织来改善肝脏纤维化和肝硬化。陈国忠等<sup>[6]</sup>发现 BM-SCs 与肝星状细胞共培养能抑制肝星状细胞增殖及促进其凋亡。

BM-SCs 移植最常见的方式为外周静脉移植和经皮肝内门静脉移植,外周静脉移植方法简单安全,但是需经过外周血循环,归巢率无法保证,移植效率低<sup>[7-8]</sup>。门静脉移植虽然有出血可能,可是更符合肝脏的组织学及生理学特点,细胞更容易

进入肝窦内<sup>[9-13]</sup>。脾切除断流术改善肝功能的机制为术后脾动脉无血流量,肝动脉血流量相应就增加,同时由于门静脉压力降低,使肠系膜静脉回流改善,从而提高肝组织的营养供应。脾切除断流术可改善外周血象、降低门脉高压、缓解曲张静脉、预防消化道出血、减轻腹水。肝功能衰竭为脾切除术后近期及延期主要并发症之一。BM-SCs 移植与脾切除断流术联合应用可以有减少低这一并发症的出现<sup>[14-15]</sup>。

目前临床上应用自体 BM-SCs 移植联合部分脾栓塞术治疗肝硬化,已取得了一定的成绩,其近期疗效也可在一定程度上降低门静脉压力,改善脾功能亢进症状。但是脾脏仍处于门静脉高压环境中,其远期疗效随着压力及血流量的增加,脾脏代偿性增生,是否会出现脾大脾亢复发仍需要进一步明确。

本研究在自体 BM-SCs 移植的基础上联合脾切除断流术,不仅在细胞水平上通过新生肝脏细胞来恢复肝功能,而且可以迅速改善门静脉高压及脾功能亢进,有效加速了术后肝功能的恢复,降低了肝功能衰竭发生的风险。同时该治疗具有高有效性及不良反应少的特点,具有独特的优势及广阔的应用前景。不过由于干细胞移植技术发展时间任然较短,存在一些仍未解决的问题,以及本研究涉及的病例数任然偏少,随访时间相对不长,所以在接下去的临床应用中,还需要长期随访,以评估干细胞移植是否会带来肿瘤细胞增殖和分化的风险,并不断完善和规范该治疗的适应证及禁忌证等各项标准,随着研究的深入,干细胞移植将在今后的临床治疗中扮演更重要的角色。

## 参考文献:

- [1] Term S, Ishikawa T, Omori K, et al. Improved liver function in patients with liver cirrhosis after autologous bone marrow cell infusion therapy [J]. Stem Cells, 2006, 24(10):2292-2295.
- [2] 柳林, 杨海山, 孙昱, 等. 自体脂肪间充质干细胞对晚期肝病影响的初步临床研究 [J]. 中国实验诊断学, 2007, 11(4):473-476.
- [3] Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. Mesenchymal stem cells: Revisiting history, concepts, and assays [J]. Cell Stem Cell, 2008, 2(4):313-319.
- [4] Mimeault M, Batra SK. Recent progress on normal and malignant pancreatic stem/progenitor cell research: Therapeutic implications for the treatment of type 1 or 2 diabetes mellitus and aggressive pancreatic cancer [J]. Gut, 2008, 57(10):1456-1468. (下转第 3379 页)

上(17q21),cDNA 的长度为 4.5 kb,编码的 C-erbB-2 蛋白是一种相对分子质量为  $185 \times 10^3$  的跨膜糖蛋白,其胞内区的羧基端含有多个酪氨酸,可以通过磷酸化而被激活,再与含有 SH2 结构域的蛋白结合。将胞外信号传到核内,最终在核内调节转录,从而发挥对细胞功能的调节作用。C-erbB-2 的表达与食管癌预后关系的报道尚不多。已有不少学者正致力于 C-erbB-2 肿瘤靶向治疗的研究<sup>[14]</sup>。

本研究显示,2 个或 2 个以上基因阳性表达与主要预后相关因素,即局部浸润、淋巴结转移情况、临床分期,均密切相关。提示联合检测 EGFR、GST- $\pi$  和 C-erbB-2 对判断食管鳞癌生物学行为、预后及指导治疗有重要意义。

#### 参考文献:

- [1] 张天彪,赵滢,关一夫. TNF- $\alpha$  和 EGFR 在胃癌中表达的相关性研究[J]. 山东医药,2010,50(20):63-64.
- [2] 冯丹,刘云鹏. GST- $\pi$  与恶性肿瘤多药耐药的研究进展[J]. 肿瘤防治杂志,2004,11(6):663-665.
- [3] 向丽,金先庆. 5 种经典耐药基因在儿童常见恶性肿瘤的表达及临床意义[J]. 重庆医学,2010,39(1):7-9,12.
- [4] Guo XF, Zhu XF, Zhong GS, et al. Lapatinib, a dual inhibitor of EGFR and HER2, has synergistic effects with 5-fluorouracil on esophageal carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2012,27(5):1639-1645.
- [5] He S, Liao TT, Chen YT, et al. Glutathione-S-transferase enhances proliferation-migration and protects against shikonin-induced cell death in breast cancer cells [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2011,27(11):477-484.
- [6] Wijnhoven BP, Tran KT, Esternan A, et al. An evaluation of prognostic factors and tumor staging of resected carci-

noma of the esophagus [J]. *Ann Surg*, 2007,245(5):717-725.

- [7] 曹学全,杨朝晖,章辉,等. 食管鳞癌组织中 talin mRNA 的表达及其与浸润转移的关系[J]. 实用医学杂志,2010,26(5):767-769.
- [8] Wiwanitkit V. Combination of EGFR and COX-2 inhibitors in breast cancer patient[J]. *Tumor Biol*, 2012,33(4):1261.
- [9] Vaughn MP, Biswal Shinohara D, Castagna N, et al. Humanizing  $\pi$ -class glutathione S-transferase regulation in a mouse model alters liver toxicity in response to acetaminophen overdose[J]. *PLoS One*, 2011,6(10):e25707.
- [10] Jones BA, Christensen AR, Wise JP, et al. Glutathione S-transferase polymorphisms and survival in African-American and white colorectal cancer patients[J]. *Cancer Epidemiol*, 2009,33(3/4):249-256.
- [11] 刘映. C-erbB-2、Ki67 及 GST- $\pi$  在乳腺癌中的表达及相互关系[J]. 中国现代医药杂志,2006,8(6):9-12.
- [12] 印国兵,孙治君,郭丹,等. Pgp, MRP1 和 GST 介导乳腺癌细胞对 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 耐药的初步研究[J]. 重庆医学,2010,39(7):812-814.
- [13] 吴慧,樊青霞,陈奎生. 食管鳞癌组织 GST- $\pi$  和 TOPO-II 表达及其相关性研究[J]. 中华肿瘤防治杂志,2010,17(9):669-672.
- [14] Krop I, Winer EP. Further progress in HER2-directed therapy[J]. *Lancet Oncol*, 2012,13(1):2-3.

(收稿日期:2012-02-20 修回日期:2012-07-08)

(上接第 3376 页)

- [5] Agarwal S, Holton KL, Lanza R. Efficient differentiation of functional hepatocytes from human embryonic stem cells[J]. *Stem Cells*, 2008,26(5):1117-1127.
- [6] 陈国忠,姜海行,陆正峰,等. 骨髓间充质干细胞共培养对肝星状细胞增殖、凋亡和 RohA 表达的调控[J]. 世界华人消化杂志,2010,18(6):1643-1649.
- [7] Gojo S, Gojo N, Takeda Y, et al. In vivo cardiovascularogenesis by direct injection of isolated adult mesenchymal stem cells[J]. *Exp Cell Res*, 2003,288(1):51-59.
- [8] Fan TX, Hisha H, Jan TN, et al. Successful allogeneic bone marrow transplantation(BMT) by injection of bone marrow cells via portal vein; stromal cells as BMT-facilitating cells[J]. *Stem Cells*, 2001,19(2):144-147.
- [9] Snykers S, Vanhaecke T, Papeleu P, et al. Sequential exposure to cytokines reflecting embryogenesis; the key for in vitro differentiation of adult bone marrow stem cells into functional hepatocyte-like cells[J]. *Toxicol Sci*, 2006,94(2):330-341.
- [10] Seo MJ, Suh SY, Bae YC, et al. Differentiation of human adipose stromal cells into hepatic lineage in vitro and in vivo[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005,328(1):258-264.

- [11] Sgodda M, Aurich H, Kleist S, et al. Hepatocyte differentiation of mesenchymal stem cells from rat peritoneal adipose tissue in vitro and in vivo[J]. *Exp Cell Res*, 2007,313(13):2875-1886.
- [12] Banas A, Teratani T, Yamamoto Y, et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a source of human hepatocytes[J]. *Hepatology*, 2007,46(1):219-228.
- [13] Sato Y, Araki H, Kato J, et al. Human mesenchymal stem cells xenografted directly to rat liver are differentiated into human hepatocytes without fusion[J]. *Blood*, 2005,106(2):756-763.
- [14] Popp FC, Slowik P, Eggenhofer E, et al. No contribution of multipotent mesenchymal stromal cells to liver regeneration in a rat model of prolonged hepatic injury[J]. *Stem Cells*, 2007,25(3):639-645.
- [15] di Bonzo LV, Ferrero I, Cravanzola C, et al. Human mesenchymal stem cells as a two-edged sword in hepatic regenerative medicine: engraftment and hepatocyte differentiation versus profibrogenic potential[J]. *Gut*, 2008,57(2):223-231.

(收稿日期:2012-03-09 修回日期:2012-06-23)