

DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20160301.006

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/46.1049.R.20160301.0936.012.html>

人脐带间充质干细胞辅助治疗对乙肝肝硬化患者肝功能、纤维化指标及炎症程度的影响

罗桂金, 雷平光

(广东省深圳市松岗人民医院消化内科, 广东 深圳 518105)

[摘要] 目的: 分析人脐带间充质干细胞辅助治疗对乙肝肝硬化患者肝功能、纤维化指标及炎症程度的影响。方法: 选取经本院诊治的乙肝肝硬化患者 80 例纳入研究, 按照接受治疗方式不同, 所有纳入对象被分为观察组及对照组各 40 例。对照组接受常规治疗, 观察组接受人脐带间充质干细胞辅助治疗, 对比两组肝功能指标、肝纤维化指标、炎症相关指标、病情相关指标水平差异。结果: 观察组治疗后血清 ALB、GLB、A/G 值高于对照组, $\alpha 2$ -M、TB、APO-A1、GGT 值低于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 观察组治疗后血清 HA、LN、CIV、PⅢ NP、PLD 值均低于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 观察组治疗后血清 TGF- $\beta 1$ 、PCT、WBC、SIL-2R 水平值均低于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 观察组治疗后血清 FT3、ADP 值高于对照组, NO、EGF、ADM、IR 值低于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 乙肝肝硬化患者接受人脐带间充质干细胞辅助治疗, 可以优化肝功能并抑制病情进展, 具有积极的临床意义。

[关键词] 乙肝肝硬化; 人脐带间充质干细胞; 肝功能

[中图分类号] R657.31 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-1237(2016)11-1069-04

Effect of human umbilical cord mesenchymal stem cell adjuvant therapy on liver function and fibrosis indicators as well as the degree of inflammation in patients with hepatitis B cirrhosis

LUO Gui-jin, LEI Ping-guang

(Gastroenterology Department, People's Hospital of Songgang District, Shenzhen City, Guangdong Province, 518105 China)

[Foundation Project]: This study was supported by technology and science plan project of Bao'an District of Shenzhen City (grant No. 2013220).

[Author]: LUO Gui-jin (1979-), Male, Laibin Guangxi, M.B., Attending physician (grant No. 2013220).

[Correspondence to]: LEI Ping-guang, Tel: 18002575273, E-mail: LPG2754@163.com.

Received: 2016-01-27 Revised: 2016-02-19

JHMC, 2016;22(11):1069-1072

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[ABSTRACT] **Objective:** To analyze the effects of human umbilical cord mesenchymal stem cell adjuvant therapy on liver function and fibrosis indicators as well as the degree of inflammation in patients with hepatitis B cirrhosis. **Methods:** A total of 80 patients diagnosed as hepatitis B cirrhosis and were treated in our hospital were included. According to different treatment methods, all included patients were divided into observation group ($n = 40$ cases) and control group ($n = 40$ cases). Control group underwent conventional treatment, observation group had human umbilical cord mesenchymal stem cell adjuvant therapy, and then differences in the levels of liver function indicators, liver fibrosis indicators, inflammation-related indicators and illness-related indicators were compared between two groups. **Results:** Serum ALB, GLB and A/G values of observation group after treatment were higher than those of control group, and $\alpha 2$ -M, TB, APO-A1 and GGT values were lower than those of control group ($P < 0.05$). Serum HA, LN, CIV, PⅢ NP and PLD values of observation group after treatment were lower than those of control group ($P < 0.05$). Serum TGF- $\beta 1$, PCT, WBC and SIL-2R levels of observation group after treatment were lower than those of control group ($P < 0.05$). Serum FT3 and ADP values of observation group after treatment were higher

[基金项目] 2013 年深圳市宝安区科技计划项目(2013220)

[作者简介] 罗桂金(1979-),男,广西来宾人,学士,主治医师,电话:0755-27469413、13530695054。

[通讯作者] 雷平光,电话:18002575273,E-mail:LPG2754@163.com。

[收稿日期] 2016-01-27 **[修回日期]** 2016-02-19 **网络出版时间:** 2016-3-1 09:36

than those of control group, and NO, EGF, ADM and IR values were lower than those of control group ($P < 0.05$). Conclusion: Human umbilical cord mesenchymal stem cell adjuvant therapy could improve liver function and inhibit disease progression for patients with hepatitis B cirrhosis which is beneficial for clinical treatment of the disease.

[KEY WORDS] Hepatitis B cirrhosis; Human umbilical cord mesenchymal stem cell; Liver function

乙肝是我国肝硬化患者的首要病因,乙肝肝硬化患者病情进展迅速,终末期患者缺乏有效的药物治疗方式,最根本的治疗方式为肝移植。鉴于目前肝源紧张及移植技术制约,人脐带间充质干细胞移植成为替代肝移植的可靠方式之一^[1]。人脐带间充质干细胞是指存在于新生儿脐带组织中的一种多功能干细胞,具有多种组织细胞分化活性,取材方便且无伦理学争议,受到较多临床学者关注。肝硬化患者纤维化增生、肝细胞坏死,利用间充质干细胞的再生作用有望修复肝细胞进而重塑肝功能^[2]。本次研究主要分析人脐带间充质干细胞辅助治疗对乙肝肝硬化患者肝功能、纤维化指标及炎症程度的影响,现报道如下。

1 资料及方法

1.1 一般资料

选取2012年8月~2014年11月经本院诊治的乙肝肝硬化患者80例纳入研究,均经临床确诊且患者签署知情同意书。按照接受治疗方式不同,所有纳入对象被分为观察组及对照组各40例。对照组中男性23例,女性17例,年龄38~65岁,平均 (49 ± 7) 岁;观察组中男性22例,女性18例,年龄37~69岁,平均 (48 ± 8) 岁。两组基线资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 治疗方法

对照组接受一般护肝治疗,多烯磷脂酰胆碱胶囊2粒/次,口服,每日3次;熊去氧胆酸片50 mg/d,每日1次,以12

个月为一疗程。

观察组增加人脐带间充质干细胞辅助治疗,具体如下:人脐带间充质干细胞浓度 $(2 \sim 5) \times 10^7/\text{mL}$,共30 mL悬液。患者仰卧位,采用输液器从外周静脉途径输注,首先穿刺肘正中静脉并用0.9%生理盐水建立静脉通路,连接复温后的细胞袋输入人脐带间充质干细胞悬液,30 mL悬液在10 min内缓慢滴注完毕,再输入0.9%生理盐水10 mL冲洗管道。

1.3 观察指标

肝功能指标:白蛋白(ALB)、球蛋白(GLB)、A/G比值、 $\alpha 2$ -巨球蛋白($\alpha 2$ -M)、总胆红素(TB)、脂蛋白A1(APO-A1)、 γ -转氨酶(GGT)。纤维化指标:透明质酸(HA)、层连蛋白(LN)、IV型前胶原羧基端肽(CIV)、III型前胶原氨基末端肽(PⅢNP)、脯氨酸胺酶(PLD)。炎症相关指标:转化生长因子- β (TGF- $\beta 1$)、降钙素原(PCT)、白细胞(WBC)计数、可溶性白细胞介素-2受体(SIL-2R)、病情相关指标:甲状腺激素、一氧化氮(NO)、表皮生长因子(EGF)、肾上腺髓质素(ADM)、脂联素(ADP)、胰岛素抵抗(IR)。

1.4 统计学处理

所得数据均采用SPSS 23.0统计软件进行分析处理,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 肝功能指标

观察组在人脐带间充质干细胞辅助治疗后,血清ALB、GLB、A/G值高于对照组, $\alpha 2$ -M、TB、APO-A1、GGT值低于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组治疗后肝功能指标值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	ALB(g/L)	GLB(g/L)	A/G	$\alpha 2$ -M(g/L)	TB($\mu\text{mol/L}$)	APO-A1(g/L)	GGT(U/L)
观察组	34.28 ± 3.11	20.18 ± 1.76	1.76 ± 0.13	1.92 ± 0.14	30.27 ± 2.94	1.21 ± 0.11	78.39 ± 6.94
对照组	26.43 ± 2.45	14.39 ± 1.27	1.13 ± 0.12	2.45 ± 0.23	42.15 ± 3.76	1.59 ± 0.14	115.26 ± 10.48
t	7.536	6.093	5.223	5.893	8.394	5.382	11.293
P	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

2.2 肝纤维化指标

观察组治疗后血清HA、LN、CIV、PⅢNP、PLD值均低于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组接受不同治疗后的肝纤维化指标值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	HA (ng/mL)	LN (ng/mL)	CIV (ng/mL)	PⅢNP (ng/mL)	PLD (U/L)
观察组	198.26 ± 14.37	78.63 ± 7.54	121.73 ± 14.96	8.93 ± 0.76	974.28 ± 88.54
对照组	376.55 ± 30.86	132.59 ± 12.67	252.84 ± 22.07	17.65 ± 1.34	$1\ 834.82 \pm 176.39$
t	11.232	8.293	9.384	8.832	15.324
P	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

2.3 炎症相关指标

观察组治疗后血清TGF- $\beta 1$ 、PCT、WBC、SIL-2R水平值均低于

对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组治疗后炎症相关指标值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	TGF- $\beta 1$ (ng/L)	PCT (ng/mL)	WBC ($\times 10^9/\text{L}$)	SIL-2R (pg/mL)
观察组	25.17 ± 2.34	0.23 ± 0.02	4.27 ± 0.35	154.98 ± 13.27
对照组	32.97 ± 3.06	0.54 ± 0.04	7.53 ± 0.69	317.55 ± 29.86
t	6.495	5.383	7.293	12.821
P	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

2.4 病情相关指标

观察组经治疗后血清FT3、ADP值高于对照组,NO、EGF、ADM、IR值低于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

表4 两组治疗后病情相关指标值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	FT3 (pmol/L)	NO (μ mol/L)	EGF (μ g/L)	ADM (ng/L)	ADP (mg/L)	IR
观察组	4.01 \pm 0.35	28.39 \pm 2.76	1.52 \pm 0.13	51.28 \pm 4.76	12.93 \pm 0.68	0.87 \pm 0.08
对照组	3.17 \pm 0.33	49.72 \pm 4.56	2.27 \pm 0.23	79.65 \pm 7.42	7.46 \pm 1.65	1.54 \pm 0.13
<i>t</i>	5.835	8.294	6.384	8.374	6.325	5.384
<i>P</i>	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

3 讨论

乙型肝炎肝硬化终末期的最佳治疗方式是肝移植,但是受到肝源缺乏、医疗技术不足等制约,目前仍难以广泛开展。干细胞移植技术近年受到诸多学者青睐,干细胞来源丰富、免疫性低、操作便捷,是目前可以逆转肝硬化结局的理想治疗方式^[3,4]。间充质干细胞广泛存在于骨髓、脐带、外周血中,其中人脐带源间充质干细胞属于天然生物资源,增殖能力强、产率高,目前已经成功应用于脑卒中、糖尿病、心肌梗死等治疗中。本次研究将脐带间充质干细胞辅助治疗技术应用于乙型肝炎肝硬化患者的治疗中,观察其为患者带来的肝功能及疾病相关因子水平等影响^[5]。

肝脏是人体功能最为丰富的脏器,自我代偿能力强,轻中度疾病时肝功能可无明显改变,当乙型肝炎肝硬化病情进展至一定程度时各项肝功能指标出现异常、肝代谢功能逐步走向衰竭。肝功能是反映肝细胞状态的最直观指标,也与患者的最终治疗结局关系密切。白蛋白(ALB)、球蛋白(GLB)、A/G比值、 α 2-巨球蛋白(α 2-M)、总胆红素(TB)、脂蛋白A1(APO-A1)、 γ -转氨酶(GGT)均是反映肝功能的常见指标。肝脏是蛋白质代谢的主要脏器,白蛋白及球蛋白主要在肝脏产生,当肝硬化发生时肝小叶形成、正常肝细胞功能受创,循环血中白细胞、球蛋白水平下降^[6,7]。GGT具有癌胚蛋白性质,较多研究发现GGT是独立于转氨酶及胆红素的肝硬化血清诊断标志物。 α 2-M是急性反应蛋白,当活动性肝炎或者纤维化发生时由肝细胞、中性粒细胞等产生,研究证实 α 2-M与肝纤维化程度具有良好的相关性,随着 α 2-M水平上升、患者肝功能逐步下降。APO-A1是一种独特的血浆脂蛋白,也主要肝脏产生,当肝功能下降、肝细胞受损时其产生减少,故较多研究显示APO-A1水平随纤维化分期增加呈下降趋势^[8]。上述研究结果显示观察组治疗后血清ALB、GLB、A/G值较高, α 2-M、TB、APO-A1、GGT值较低,提示人脐带间充质干细胞辅助治疗可以有效改善乙型肝炎肝硬化患者的肝功能。

慢性乙肝发生时机体的自我防御反应将作出清除病毒的指令,其中最主要的途径包括细胞凋亡。过多的细胞凋亡将导致组织病理性改变即肝纤维化形成,过度肝纤维化将导致肝脏正常组织重建、肝硬化发生^[9,10]。肝纤维化是乙型肝炎硬化的最主要改变,主要包括星状细胞激活、细胞外基质合成增加、

降解减少,肝纤维化的进程将直接决定了疾病最终的结局。肝纤维化的血清学标志物较多,目前被广泛认可的包括透明质酸(HA)、层连蛋白(LN)、IV型前胶原羧基端肽(CIV)、III型前胶原氨基末端肽(PⅢNP)、脯氨酸胺酶(PLD)等。HA由结缔组织合成,在肝血窦内被透明质酸酶降解而成。肝细胞受损时血窦通透性增加,HA降解减少,进而出现血清HA水平上升。LN是沉积于肝血窦内皮的糖蛋白,具有使肝血窦毛细血管化的作用。LN在肝硬化时水平上升,特异性及敏感性均在90%以上。CIV属于血管基底膜的组成成分,有研究认为CIV可能是最早增生的纤维,当肝功能变差时其降解速度降低,血清含量上升,对于肝纤维化的早期诊断价值高于其他指标^[11]。PⅢNP合成于细胞内并被分泌至细胞外、脱氨基及羧基后沉积于细胞外间质。PⅢNP与肝脏胶原合成情况具有直接相关关系,持续增高的PⅢNP水平提示有肝硬化可能或者肝硬化病情加重。PLD广泛存在于组织及细胞中,对胶原合成及细胞生长中的脯氨酸再循环发挥重要作用。国外研究显示慢性肝炎或者肝硬化时,PLD水平上升,可以作为诊断或者预防肝硬化的监测指标。上述研究结果显示观察组治疗后血清HA、LN、CIV、PⅢNP、PLD值降低,提示人脐带间充质干细胞辅助治疗在缓解肝硬化患者纤维化进程中具有积极意义。

转化生长因子- β (TGF- β 1)是重要的免疫调控因子,可以抑制肝细胞增生、诱导细胞外基质形成,通过检测血清TGF- β 1含量可以间接反映肾脏损伤程度。降钙素原(PCT)是高敏感性、特异性的炎症指标,当乙型肝炎肝硬化患者全身炎症加重时PCT水平可迅速上升^[12]。白细胞(WBC)是粒细胞、单核细胞及淋巴细胞的总称,是机体防御性系统的主要组成成分,可聚集于病原体部位并将其包围、吞噬。显著上升的WBC计数说明机体炎症反应的存在,对于乙型肝炎肝硬化患者而言,WBC水平的上升也意味着病情加重^[13]。可溶性白细胞介素-2受体(SIL-2R)是机体免疫系统被激活的敏感指标,可以中和活化T淋巴细胞周围的IL-2,促进机体内病毒清除,还可以与IL-2竞争性结合,加重机体免疫功能紊乱,促进肝炎病毒感染持续存在。上述研究结果显示观察组患者的治疗后血清TGF- β 1、PCT、WBC、SIL-2R水平值均较低,提示人脐带间充质干细胞辅助治疗

可以有效抑制乙肝肝硬化患者的全身炎症状态,抑制乙肝病毒对肝细胞的进一步损害。

肝脏是甲状腺激素代谢及功能执行的主要脏器,80%的FT3由T4在肝脏5-脱碘酶作用下获得,故当肝细胞代谢异常、肝功能下降时,T4转化为T3变少,FT3水平下降。FT3水平下降还与肝功能受损时患者食欲下降、碳水化合物摄入减少,5-脱碘酶活性降低等相关^[14]。内源性一氧化氮(NO)是人体十分重要的信号分子,主要在肝细胞、骨骼肌细胞内合成,当肝脏受到病原体侵袭并产生内毒素时,血管内皮可以产生大量NO并参与病理进程中。已经有研究证实慢性乙肝患者的血清NO浓度高于健康对照组,提示NO在判断肝病中的价值。表皮生长因子(EGF)是一种促细胞增生的有丝分裂原,EGF表达上调可以刺激胆管上皮细胞及肝细胞增生,同时促进肝星形细胞分离。EGF在体内可以促进多种离子的跨膜转运、刺激肝细胞鸟嘌呤循环,是目前公认的肝纤维化直接刺激因子^[15]。肾上腺髓质素(ADM)广泛分布于人体各个系统内,在肝硬化动物模型中发现ADM及其受体表达量均增加,在临床研究中亦发现ADM水平随着肝硬化门脉高压加重而上升,可能与血管内皮破坏增加、肺肾功能不良排泄减少相关。脂联素(ADP)是来源于脂肪组织的蛋白质,除了糖脂代谢还具备抗炎、抗肿瘤等作用。目前研究认为ADP与肝纤维化存在紧密联系,ADP从多种途径发挥抗肝纤维化及保护肝功能的作用。目前已经有较多研究显示肝硬化患者存在一定程度的胰岛素抵抗(IR)。可以发展为肝源性糖尿病,可能与肝纤维化进展、肝硬化病情加重相关。有研究认为脂肪代谢异常可能与IR的根源,多种脂肪因子参与调节内分泌稳定,形成脂肪-胰岛素轴,当肝硬化发生时脂肪因子水平改变,加上炎症及病毒的直接作用,IR逐步形成,也成为间接反映肝硬化严重程度的特异性指标。上述研究结果显示观察组治疗后血清FT3、ADP值较高,NO、EGF、ADM、IR值较低,提示人脐带间充质干细胞辅助治疗可以有效抑制乙肝肝硬化病情进展。

综上所述,乙肝肝硬化患者接受人脐带间充质干细胞辅助治疗,可以优化肝功能并抑制病情进展,值得在日后临床实践中推广应用。

参考文献

- Lukashyk SP, Tsykunov VM, Isaykina YI, et al. Mesenchymal Bone Marrow-derived Stem Cells Transplantation in Patients with HCV Related Liver Cirrhosis[J]. J Clin Transl Hepatol, 2014, 2(4): 217-221.
- Eom YW, Shim KY, Baik SK. Mesenchymal stem cell therapy for liver fibrosis [J]. Korean J Intern Med, 2015, 30(5): 580-589.
- Jang YO, Jun BG, Baik SK, et al. Inhibition of hepatic stellate cells by bone marrow-derived mesenchymal stem cells in hepatic fibrosis [J]. Clin Mol Hepatol, 2015, 21(2): 141-149.
- Guo CH, Han LX, Wan MR, et al. Immunomodulatory effect of bone marrow mesenchymal stem cells on T lymphocytes in patients with decompensated liver cirrhosis [J]. Genet Mol Res, 2015, 14(2): 7039-7046.
- Kantarci o ğlu M, Demirci H, Avcu F, et al. Efficacy of autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with liver cirrhosis [J]. Turk J Gastroenterol, 2015, 26(3): 244-250.
- Song YM, Lian CH, Wu CS, et al. Effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cells transplanted via the portal vein or tail vein on liver injury in rats with liver cirrhosis [J]. Exp Ther Med, 2015, 9(4): 1292-1298.
- Tang WP, Akahoshi T, Piao JS, et al. Basic fibroblast growth factor-treated adipose tissue-derived mesenchymal stem cell infusion to ameliorate liver cirrhosis via paracrine hepatocyte growth factor [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2015, 30(6): 1065-1074.
- Fiore EJ, Bayo JM, Garcia MG, et al. Mesenchymal stromal cells engineered to produce IGF-I by recombinant adenovirus ameliorate liver fibrosis in mice [J]. Stem Cells Dev, 2015, 24(6): 791-801.
- Volarevic V, Nurkovic J, Arsenijevic N, et al. Concise review: Therapeutic potential of mesenchymal stem cells for the treatment of acute liver failure and cirrhosis [J]. Stem Cells, 2014, 32(11): 2818-2823.
- Ryu KH, Kim SY, Kim YR, et al. Tonsil-derived mesenchymal stem cells alleviate concanavalin A-induced acute liver injury [J]. Exp Cell Res, 2014, 326(1): 143-154.
- Lua I, James D, Wang J, et al. Mesodermal mesenchymal cells give rise to myofibroblasts, but not epithelial cells, in mouse liver injury [J]. Hepatology, 2014, 60(1): 311-322.
- Terai S, Takami T, Yamamoto N, et al. Status and prospects of liver cirrhosis treatment by using bone marrow-derived cells and mesenchymal cells [J]. Tissue Eng Part B Rev, 2014, 20(3): 206-210.
- Avritscher R, Abdelsalam ME, Javadi S, et al. Percutaneous intraportal application of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells using a balloon occlusion catheter in a porcine model of liver fibrosis [J]. J Vasc Interv Radiol, 2013, 24(12): 1871-1878.
- Seo KW, Sohn SY, Bhang DH, et al. Therapeutic effects of hepatocyte growth factor-overexpressing human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells on liver fibrosis in rats [J]. Cell Biol Int, 2014, 38(1): 106-116.
- Shao CH, Chen SL, Dong TF, et al. Transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells after regional hepatic irradiation ameliorates thioacetamide-induced liver fibrosis in rats [J]. J Surg Res, 2014, 186(1): 408-416.