

· 综 述 ·

# 干细胞治疗重症急性胰腺炎的研究进展

刘梅综述, 邓明明<sup>△</sup>审校

(泸州医学院附属医院消化科, 四川泸州 646000)

关键词: 胰腺炎; 干细胞; 治疗

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.08.034

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)08-0809-03

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是由各种病因引起胰腺内的胰酶被激活,导致胰腺组织自身消化、水肿、出血和坏死的炎症反应,又称出血坏死性胰腺炎。SAP常继发感染性腹膜炎、休克、全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)和多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)等严重并发症,预后极差。而根据日本急性胰腺炎指南<sup>[1]</sup>,大约 1/3 到 1/2 的急性胰腺炎患者会并发胰腺的内、外分泌功能紊乱或障碍,如糖尿病、脂肪泄等。目前,临床上 SAP 的治疗,无论是内科保守治疗还是外科手术治疗,更多的是侧重维持患者生命,而没有太多关注胰腺本身功能的恢复。干细胞因其多向分化潜能,受到了众多学科的青睐。通过干细胞的移植最大限度恢复 SAP 患者胰腺的形态和功能的研究成为目前的热点。

## 1 干细胞的分类

自 1998 年 Thomson 等<sup>[2]</sup>首次从人类胚胎组织中提取培养出胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)株后,人类干细胞研究的帷幕便从此拉开。此后陆续又发现各种成体干细胞。根据干细胞所处不同发育阶段,可分为胚胎干细胞和成体干细胞 2 大类。胚胎干细胞来源于早期胚胎(原肠胚期之前)或原始性腺中,是一类高度未分化细胞,它具有体外培养无限增殖、自我更新和多向分化的特性,能分化出成体动物的所有组织和器官;成体干细胞是一群尚未分化的、具有不对称自我更新能力的细胞,在特定的环境下能分化形成已分化组织的细胞,其普遍存在于各种组织器官中,担负着机体的生理更新和受损器官的修复<sup>[3]</sup>。按干细胞的发育潜能又可分为 3 大类:全能干细胞、多能干细胞及定向干细胞。全能干细胞具有分化整个体的潜能,如胚胎干细胞、胚胎生殖脊细胞及胚胎瘤细胞等。多能干细胞不能发育为完整的个体,但能够分化出多种组织细胞,如骨髓多能造血干细胞、骨髓间充质细胞。定向干细胞亦称为单能干细胞,只能向一种类型或密切相关的 2 种类型的细胞分化,如上皮组织基底细胞、胰腺干细胞等。

## 2 胰腺干细胞及其特异性标志

Bonner-Weir 等<sup>[4]</sup>证实成人胰导管上皮细胞可进行体外扩增并被诱导分化为胰岛。Zulewski 等<sup>[5]</sup>研究发现,成年大鼠和人胰岛中均存在巢蛋白阳性细胞,该细胞具有干细胞的特性,体外培养可分化为胰腺内分泌细胞、外分泌细胞和导管细胞以及肝细胞。上述研究提示,成年胰腺组织尤其是胰导管上皮细胞中可能存在胰腺干细胞。Seaberg 等<sup>[6]</sup>通过研究小鼠的胰腺干细胞,认为胰腺干细胞为成体干细胞,具有高度增殖及多向分化能力,具备分化为胰腺内分泌细胞、腺泡细胞和导管细胞的潜能,胰腺干细胞不是起源于中胚层。

胰腺干细胞的分布及来源有 3 种假说:位于胰腺导管、位于胰岛中以及胰腺导管和胰岛中都存在。目前,认为导管上皮

是胰腺干细胞的主要来源,少数来源于胰岛。

迄今为止,已发现多个比较特异的胰腺干细胞分子标志,这些分子标志使通过分离胰腺导管上皮细胞来获得大量的具有分化潜能的干细胞成为可能。目前,较为肯定的胰腺干细胞分子标志有:(1)胰腺十二指肠同源异型盒 1(pancreatic and duodenal homeobox 1, PDX-1):PDX-1 为胰腺干细胞发育过程中表达最早的分子标记,Taguchi 等<sup>[7]</sup>研究了表达 PDX-1 阳性的分化细胞在急性坏死性胰腺炎的细胞增殖与分化过程中的作用,结果证实表达 PDX-1 阳性的导管上皮细胞在总导管的分化中所起的作用至关重要。(2)巢蛋白:巢蛋白是一种最早发现于神经干细胞的高分子量中间丝蛋白,研究发现巢蛋白阳性细胞在胰腺的腺泡、胰岛、导管以及间质中均有表达<sup>[8]</sup>。Ishiwata 等<sup>[9]</sup>通过腹腔内注射 L-精氨酸诱导大鼠胰腺炎,使用免疫印迹法发现巢蛋白在上皮细胞及星状细胞周围管状结构中的表达增加,结果表明巢蛋白可表达于使 L-精氨酸诱导的胰腺炎胰腺组织再生的干细胞或祖细胞上。但有研究发现巢蛋白只是在胰腺腺泡和导管中有表达,而并没有表达在胰腺内分泌细胞来源的上皮内<sup>[10]</sup>,提示胰腺成体干细胞可能存在其他来源。另有学者认为巢蛋白可能是广泛存在于多种干细胞的较重要的功能性蛋白质,而不太适合作为胰腺干细胞的分子标志<sup>[11]</sup>。(3)细胞角蛋白 20(cytokeratin 20, CK20):CK 代表胰族 20 多个不同的多肽,可表达 CK18 和 CK8,其中 CK7 和 CK19 由分化稍差的导管细胞表达,而 CK20 由能定向分化成为内、外分泌细胞的原分化上皮细胞表达,CK20 是成熟导管细胞的特异性标志<sup>[12]</sup>。(4)神经元素 3(neurogenin 3, Ngn3):Ngn3 是胰腺干细胞发育过程中重要的转录因子,郑宗梅等<sup>[13]</sup>发现在 12~14 周人胚胎胰腺中均有巢蛋白和 Ngn3 阳性细胞,分布在导管、腺泡、胰岛及间充质组织散在的细胞中。据此推测巢蛋白和 Ngn3 可能存在某种必然联系,其具体机制有待进一步研究。(5)其他如葡萄糖转运蛋白 2(glucose transporter type 2, GLUT2)、酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)、葡萄糖激酶(glucokinase, GK)及 P48 蛋白等亦可以作为胰腺干细胞的辅助标志<sup>[12]</sup>。

## 3 用于治疗 SAP 的干细胞

骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, MSCs)是存在于骨髓的成体干细胞,在特定条件下可诱导分化为多种组织细胞,如心肌细胞、神经细胞和肝细胞等<sup>[14-16]</sup>。MSCs 作为一种新型干细胞,其重要的免疫调节功能是其对机体产生治疗作用的基础,MSCs 对免疫系统的作用机制目前仍在研究中,可能与其低免疫原性、免疫抑制、旁分泌/自分泌等重要的免疫及生物学特性有关<sup>[17]</sup>。Cui 和 Bai<sup>[18]</sup>向 SAP 大鼠模型移植 MSCs 或注射粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony stimulating factor, G-CSF),结果显示治疗组大鼠

<sup>△</sup> 通讯作者, Tel: 13568626558; E-mail: mingming390@sina.com。

血淀粉酶水平明显低于对照组,且治疗组胰腺病理损伤程度也轻于对照组,提示 MSCs 有助于减轻 SAP 的病情,为治疗 SAP 提供了新的方法。陆贝等<sup>[19]</sup>分别给予 SAP 大鼠模型 MSCs 移植、G-CSF 注射及二者联合治疗,结果发现治疗组大鼠病死率有所降低,肝脏病理损伤也有不同程度减轻,肝脏凋亡指数明显降低,各血清指标明显下降,其中联合治疗组大鼠治疗 48 h 后较其他组对各指标的改善更显著,其实验表明联合自体 MSCs 移植与动员能有效保护 SAP 时肝脏的损伤,这可能与 MSCs 的病理再生修复、抑制炎症介质产生及细胞凋亡等机制有关。新近有报道<sup>[20]</sup>,人骨髓间质干细胞能够减轻大鼠的急性胰腺炎炎症和病情,其机制可能与抑制淋巴细胞的炎症反应和上调叉头蛋白 3(forkhead box protein 3, FoxP3)在胰腺组织的表达有关。

MSCs 同时也参与损伤胰腺的修复。Choi 等<sup>[21]</sup>切除大鼠胰腺的 60%,2 天后处死大鼠并取出残余胰腺进行加工处理,制成匀浆,离心后取其上清液,在 MSCs 已生长至融合时加入培养基,培养 1 周后得到的胰岛内分泌细胞不仅可表达胰岛素、胰高血糖素、生长抑素、胰多肽,并能感受葡萄糖刺激而分泌胰岛素。赵航等<sup>[22]</sup>观察急性坏死性胰腺炎大鼠原代培养的骨髓细胞克隆形成率,结果发现不同时间段,MSCs 数量和增殖能力经历了先增加后减少的变化,此前无胰腺炎时 MSCs 功能改变的报道,该研究为探讨胰腺炎的病理生理改变对骨髓的影响提供了依据。有学者通过对 Sprague-Dawley 大鼠胰腺再生的研究发现,MSCs 在自然情况下可以参与内胚层来源的胰腺再生及修复,正常情况下胰腺生理更新主要由胰腺干细胞完成,而在病理损伤时则由 MSCs 参与病理修复,提示自体 MSCs 可参与胰腺的生理更新和病理再生,尤其是在胰腺损伤修复中发挥重要作用<sup>[23]</sup>。

#### 4 干细胞治疗 SAP 的现状与展望

目前,普遍认为胰腺干细胞和 MSCs 都参与了胰腺的损伤修复,而胰腺干细胞主要完成胰腺的生理更新。虽然胰腺干细胞的分子标志对分离纯化干细胞至关重要,但仍处于动物试验研究阶段,将胰腺干细胞运用于临床治疗尚需时日<sup>[24]</sup>。

MSCs 可随血液循环到达全身其他器官,主要参与胰腺损伤修复,具有取材方便,创伤较小,低免疫原性,自体移植无免疫排斥,可在体外快速大量扩增等优点,对脏器的病理损伤都具有保护作用<sup>[25-26]</sup>。但其在胰腺损伤修复中是否能很好地增殖分化并且长期与机体生理需要量相平衡,能否满足临床需要,是否对其他脏器产生不良影响,是否会影响机体免疫功能及引起组织器官恶变等还不清楚,这些问题还有待进一步深入研究。

#### 参考文献:

- [1] Sekimoto M, Takada T, Kawarada Y, et al. JPN Guidelines for the management of acute pancreatitis: epidemiology, etiology, natural history, and outcome predictors in acute pancreatitis[J]. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*, 2006, 13(1): 10-24.
- [2] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts[J]. *Science*, 1998, 282(5391): 1145-1147.
- [3] Preston SL, Alison MR, Forbes SJ, et al. The new stem cell biology: something for everyone[J]. *Mol Pathol*, 2003, 56(2): 86-96.
- [4] Bonner-Weir S, Taneja M, Weir GC, et al. In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(14): 7999-8004.
- [5] Zulewski H, Abraham EJ, Gerlach MJ, et al. Multipotential nestin-positive stem cells isolated from adult pancreatic islets differentiate ex vivo into pancreatic endocrine, exocrine, and hepatic phenotypes[J]. *Diabetes*, 2001, 50(3): 521-533.
- [6] Seaberg RM, Smukler SR, Kieffer TJ, et al. Clonal identification of multipotent precursors from adult mouse pancreas that generate neural and pancreatic lineages[J]. *Nat Biotechnol*, 2004, 22(9): 1115-1124.
- [7] Taguchi M, Yamaguchi T, Otsuki M. Induction of PDX-1-positive cells in the main duct during regeneration after acute necrotizing pancreatitis in rats[J]. *J Pathol*, 2002, 197(5): 638-646.
- [8] Bonner-Weir S, Sharma A. Pancreatic stem cells[J]. *J Pathol*, 2002, 197(4): 519-526.
- [9] Ishiwata T, Kudo M, Onda M, et al. Defined localization of nestin-expressing cells in L-arginine-induced acute pancreatitis[J]. *Pancreas*, 2006, 32(4): 360-368.
- [10] Choi Y, Ta M, Atouf F, et al. Adult pancreas generates multipotent stem cells and pancreatic and nonpancreatic progeny[J]. *Stem Cells*, 2004, 22(6): 1070-1084.
- [11] 谢婷, 欧阳建. 干细胞诱导分化为胰岛素分泌细胞的研究与进展[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(25): 4931-4935.
- [12] Kume S. The molecular basis and prospects in pancreatic development[J]. *Dev Growth Differ*, 2005, 47(6): 367-374.
- [13] 郑宗梅, 程东明, 李凌松, 等. 巢蛋白和神经元素 3 在人胚胎胰腺中的表达和分布[J]. *中华外科杂志*, 2005, 43(23): 1537-1540.
- [14] Meirelles Lda S, Nardi NB. Murine marrow-derived mesenchymal stem cell: isolation, in vitro expansion, and characterization[J]. *Br J Haematol*, 2003, 123(4): 702-711.
- [15] Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo[J]. *Nat Med*, 2000, 6(11): 1229-1234.
- [16] Mezey E, Chandross KJ, Harta G, et al. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow[J]. *Science*, 2000, 290(5497): 1779-1782.
- [17] 刘妍锐, 刘洪彬, 石钊, 等. 骨髓间充质干细胞对慢性胰腺炎胰腺损伤修复的价值[J]. *现代中西医结合杂志*, 2010, 19(9): 1163-1166.
- [18] Cui HF, Bai ZL. Protective effects of transplanted and mobilized bone marrow stem cells on mice with severe acute pancreatitis[J]. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(10): 2274-2277.
- [19] 陆贝, 蔡阳, 封光华, 等. 骨髓干细胞移植联合干细胞动员对重症急性胰腺炎大鼠肝细胞的保护作用[J]. *中华急诊医学杂志*, 2009, 18(11): 1136-1140.
- [20] 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.

- [21] Choi KS, Shin JS, Lee JJ, et al. In vitro trans-differentiation of rat mesenchymal cells into insulin-producing cells by rat pancreatic extract[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 330(4): 1299-1305.
- [22] 赵航, 许国铭, 李兆申, 等. 急性坏死性胰腺炎大鼠骨髓间充质干细胞增殖能力的变化[J]. 中华胰腺病杂志, 2009(3): 167-169.
- [23] 江学良, 李兆申, 崔慧斐. 骨髓间充质干细胞在胰腺生理更新和病理再生中的作用[J]. 世界华人消化杂志, 2006, 14(4): 398-404.
- [24] Casu A, Trucco M, Pietropaolo M. A look to the future:

prediction, prevention, and cure including islet transplantation and stem cell therapy[J]. Pediatr Clin North Am, 2005, 52(6): 1779-1804.

- [25] Rojas M, Xu J, Woods CR, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells in repair of the injured lung[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2005, 33(2): 145-152.
- [26] Deng YB, Yuan QT, Liu XG, et al. Functional recovery after rhesus monkey spinal cord injury by transplantation of bone marrow mesenchymal-stem cell-derived neurons [J]. Chin Med J (Engl), 2005, 118(18): 1533-1541.

(收稿日期: 2011-12-22 修回日期: 2012-02-01)

## 尼洛替尼治疗慢性粒细胞白血病的研究进展

颜新宇<sup>1</sup>综述, 姜世锋<sup>2</sup>审校

(1. 重庆医科大学附属第一医院血液内科 400016; 2. 重庆医科大学附属第二医院血液内科 400010)

**关键词:** 白血病, 粒细胞, 慢性; 尼洛替尼; 伊马替尼

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.08.035

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)08-0811-03

慢性粒细胞白血病(chronic myelogenous leukemia, CML)是一种起源于造血干细胞的恶性增殖性疾病, 占全部白血病的15%~20%, 发病率为1~2万/10万, 是较为常见的一种白血病类型。CML以t(9, 22)(q34, q11)染色体易位形成的断裂点簇集区(breakpoint cluster region, BCR)-艾贝尔逊白血病病毒(abelson leukemia virus, ABL)融合基因为主要标志, 此基因编码融合型蛋白P210, 后者为一种活性酪氨酸激酶, 能够导致髓系造血发生异常克隆性增殖, 这是导致CML的根本原因<sup>[1]</sup>。

BCR-ABL酪氨酸激酶在细胞分化、分裂、细胞黏附和应激反应过程中发挥重要作用, 它的激活可导致白血病的发生。BCR-ABL激活的某些信号途径与造血生长因子激活的途径相似, 如Ras、磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)、酪氨酸激酶(Janus kinase, JAK)/信号转导子和转录激活子(signal transducers and activators of transcription, STAT)等途径。BCR-ABL的过度激活改变造血细胞的黏附性, 诱导细胞骨架功能异常, 通过多种途径干扰细胞周期和细胞黏附, 促进肿瘤的发生和发展<sup>[2]</sup>, 它在95%的CML患者的肿瘤细胞中表达, 而正常细胞中却并不表达BCR-ABL。于是, 采用特异性的BCR-ABL激酶抑制剂能够有效治疗CML。

### 1 治疗现状

伊马替尼(imatinib, 商品名Glivec)于2002年获得美国食品和药物管理局(food and drug administration, FDA)批准用于治疗CML和胃肠间质细胞瘤。伊马替尼是一种分子靶向的激酶抑制剂, 针对血小板源生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、C-kit和ABL激酶, 能够竞争性结合ABL激酶ATP结合位点而发挥作用, 从而有效治疗CML。随访5年的调查结果显示伊马替尼治疗后累积完全细胞遗传学缓解(complete cytogenetic remission, CCR)率为87%, 预计5年生存率为89%, 无进展生存率为93%<sup>[3]</sup>。高达98%的慢性期患者获得血液学缓解(hematological remission, HR), 86%的患者获得细胞遗传学缓解(cytogenetic remission, CR), 持续治疗1、2、3和4年后分别只有3.4%、7.5%、4.8%和1.5%的患者会

出现病情恶化。然而伊马替尼治疗加速期和急变期CML的有效率明显降低, 其HR/CR分别为53%/26%与29%/15%, 通常在1年内复发<sup>[4]</sup>。

尽管伊马替尼被认为是目前治疗CML最有效的药物, 但研究发现, 不同时期CML患者长期服用后有一部分人会产生耐药性, 根据耐药发生时间可分为原发性耐药(对最初的治疗毫无反应)和继发性耐药(在获得客观反应后出现疗效降低)。伊马替尼耐药可定义为治疗3个月未达到完全血液学缓解(complete hematological remission, CHR); 治疗6个月未达到CR; 治疗12个月未达到主要细胞遗传学缓解(major cytogenetic remission, MCR)<sup>[5-6]</sup>。耐药性产生的相关原因包括: BCR/ABL融合基因扩增; 信使核糖核酸(mRNA)和蛋白水平过表达; BCR/ABL发生点突变导致酪氨酸激酶再活化; 多重耐药基因表达上调; 存在其他的染色体异常或异常获得性细胞遗传学畸变; BCR/ABL区附近造血干细胞转化与基因组不稳定等。而其主要原因是BCR/ABL酪氨酸激酶区ABL的点突变和甾体类受体共激活因子(steroid receptor coactivator, SRC)家族激酶的过表达<sup>[7]</sup>。基于对伊马替尼合成物ABL区分子结构的认识, 新型ABL酪氨酸激酶抑制剂相继问世。

### 2 尼洛替尼的作用机制

尼洛替尼(Nilotinib, 商品名Tasigna)是一种新型高亲和力的以氨基嘧啶为基础的ATP竞争性抑制剂<sup>[8]</sup>, 与伊马替尼一样, 尼洛替尼也是与非活化形态的ABL酪氨酸激酶结合, 使P-环折叠覆盖ATP结合位点, 阻断了底物的结合, 不能完成ATP磷酸化, 进而抑制酶的催化活性, 形成BCR/ABL蛋白的无活性构象。尼洛替尼对表达野生型BCR/ABL蛋白的细胞增殖抑制能力至少比伊马替尼强20倍, 而对伊马替尼敏感的KBM5和KBM7细胞株, 尼洛替尼比伊马替尼分别强43倍和60倍。在体外, 尼洛替尼溶解表达BCR/ABL的细胞的有效性是伊马替尼的30倍<sup>[9]</sup>。尼洛替尼对33种伊马替尼耐药的BCR/ABL突变细胞株中的32种保持活性, 但对T315I突变无效<sup>[10]</sup>。