

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.18.015

## 干细胞移植对终末期肝病患者免疫、肝功能及相关指标的影响\*

吴玉卓<sup>1</sup>, 杨乐<sup>2</sup>, 翟玉峰<sup>1</sup>, 张怀宏<sup>1</sup>, 霍丽亚<sup>1</sup>

(1. 郑州大学附属医院南阳市中心医院感染科, 河南南阳 473000;

2. 南阳医学高等专科学校基础医学部, 河南南阳 473000)

**[摘要]** **目的** 探讨干细胞移植对终末期肝病(ESLD)前后患者免疫、肝功能及相关指标影响。**方法** 选取郑州大学附属医院南阳市中心医院 ESLD 患者 163 例, 随机单盲取法分为 2 组, 对照组 81 例给予常规、对症治疗, 观察组 82 例在对照组基础上给予骨髓间充质干细胞(BMSC)移植, 观察两组治疗前后免疫、肝功能及甲胎球蛋白(AFP)、凝血酶原活动率(PTA)、血浆总蛋白(TP)水平变化。**结果** 观察组治疗后免疫功能指标 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值、TP、PTA 水平均高于同组治疗前及对照组同期( $P < 0.05$ ), AFP、丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、总胆红素(TBIL)均低于同组治疗前及对照组同期( $P < 0.05$ )。两组患者并发症发生率比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论** BMSC 移植治疗 ESLD, 可改善患者免疫功能, 提高肝功能, 降低 AFP 水平。

**[关键词]** 骨髓; 间质干细胞移植; 终末期肝病; 免疫功能; 肝功能; 甲胎蛋白类; 血浆总蛋白; 凝血酶原活动率

**[中图分类号]** R575.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2017)18-2492-03

### Effects of stem cells transplantation on immune function, liver function and related indexes in patients with end-stage liver disease\*

Wu Yuzhuo<sup>1</sup>, Yang Le<sup>2</sup>, Zhai Yufeng<sup>1</sup>, Zhang Huaihong<sup>1</sup>, Huo Liya<sup>1</sup>

(1. Department of Infection, Nanyang Municipal Central Hospital, Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Nanyang, Henan 473000, China; 2. Department of Basic Medicine, Nanyang Medical College, Nanyang, Henan 473000, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of stem cells transplantation on immune function, liver function and related indexes in the patients with end-stage liver disease(ESLD). **Methods** A total of 163 cases of ESLD in Nanyang Municipal Central Hospital of Affiliated Hospital of Zhengzhou University were selected and divided into 2 groups by the randomized single blind method. Eighty-one cases in the control group were given the conventional symptomatic treatment, while 82 cases in the observation group received bone marrow mesenchymal stem cell(BMSC) transplantation based on the control group. The changes of immune function, liver function, alpha fetoprotein(AFP), rate of prothrombin activity(PTA) and plasma total protein(TP) level before and after treatment were observed in the two groups. **Results** The immune function indexes CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, TP and PTA levels after treatment in the observation group were significantly higher than those before treatment and in the control group ( $P < 0.05$ ), while the levels of AFP, alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase(AST) and total bilirubin(TBIL) were lower than those before treatment in the same group and the control group ( $P < 0.05$ ). There was no statistically significant difference in complication occurrence rate between the two groups ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** BMSC transplantation for treating ESLD can improve the immune function, improves the liver function and reduces the AFP level.

**[Key words]** bone marrow; end-stage liver disease; mesenchymal stem cell transplantation; immune function; liver function; alpha-fetoproteins; plasma total protein; prothrombin activity rate

终末期肝病(end-stage liver disease, ESLD)即肝硬化,是由各种病因长期作用于肝脏,使肝脏出现再生结节和假小叶改变,严重影响肝脏功能,且可促使门静脉发生高压,易引发肝性脑病及消化道大出血,危及患者生命健康<sup>[1]</sup>。临床多给予常规对症支持治疗,但疗效甚微,无法逆转疾病进程。随着干细胞移植技术的深入研究,发现干细胞具有自我更新、增殖、分化及扩增等潜能,且应用于临床均取得满意效果。骨髓间充质干细胞(BMSC)是临床最早发现的具有多向分化潜能的干细胞,且具有独特的免疫调控功能<sup>[2]</sup>。为进一步研究 BMSC 在 ESLD 临床效果及对免疫功能的影响,现将采用 BMSC 移植治疗 82

例肝硬化患者的效果,报道如下。

#### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集郑州大学附属医院南阳市中心医院 2014 年 1 月至 2015 年 1 月收治的 ESLD 患者 163 例,患者均经肝脏增强 CT 等检查确诊,均有不同程度乏力、食欲缺乏、腹胀、下肢水肿及脾脏肿大等临床症状及体征,符合《实用内科学》相关诊断标准<sup>[3]</sup>。符合干细胞移植治疗要求,经研究说明,患者均自愿参加本次研究,并签订知情同意书。肝功能 Child-Pugh 评分(12.59±2.37)分,1 年内未经干扰素及激素疗法治疗,经本院医学伦理委员会审批同意。患者均排除肝脏肿瘤、

\* 基金项目:河南省卫生计生厅科研成果项目[宛科鉴字(2012)第 103 号 99]。 作者简介:吴玉卓(1977—),副主任医师,硕士研究生,主要从事各种肝病及感染性疾病的发病机制及诊治研究。

表 1 两组患者治疗前后免疫指标比较( $\bar{x}\pm s$ )

指标	观察组(n=82)		对照组(n=81)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
CD3 <sup>+</sup> (%)	84.73±11.26	89.84±7.05 <sup>ab</sup>	85.27±11.78	86.35±8.61
CD4 <sup>+</sup> (%)	32.46±6.91	46.35±10.12 <sup>ab</sup>	33.12±7.68	37.39±7.94 <sup>a</sup>
CD8 <sup>+</sup> (%)	18.85±6.14	27.10±3.54 <sup>ab</sup>	18.97±6.28	20.41±3.81 <sup>a</sup>
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	1.45±0.98	1.89±0.77 <sup>ab</sup>	1.46±1.07	1.62±0.84

<sup>a</sup>: $P<0.05$ ,与治疗前比较;<sup>b</sup>: $P<0.05$ ,与对照组治疗后比较。

严重心肺功能疾病、恶性病变患者,排除合并肝肾综合征、肝性脑病及对本次研究指标有影响的其他疾病。随机单盲取法分为 2 组,观察组 82 例,年龄(48.75±2.66)岁,男 50 例,女 32 例,其中乙型肝炎 23 例,酒精性肝炎 21 例,丙型肝炎 20 例,自身免疫性肝炎 18 例;Child-Pugh 评分 B 级 46 例,C 级 36 例;对照组 81 例,年龄(48.72±2.69)岁,男 48 例,女 33 例,其中乙型肝炎 26 例,酒精性肝炎 19 例,丙型肝炎 22 例,自身免疫性肝炎 14 例;Child-Pugh 评分 B 级 42 例,C 级 39 例。两组患者年龄、性病、病因等临床资料对比,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 对照组患者仅给予常规、对症治疗,均给予核苷类抗病毒药物阿德福韦酯胶囊(商品名:阿迪仙;批准文号:国药准字 H20070123;厂家:珠海联邦制药股份有限公司中山分公司;规格:10mg/粒)抗病毒治疗,1 粒/次,每天 1 次,连用 24 周。同时给予饮食调理、注意休息及对症治疗。观察组在对照组基础上给予 BMSC 移植治疗,BMSC 抽取位置为髂后上棘,抽取量约 180 mL 左右,进行分离、纯化及检测后 4℃ 冰箱保存备用。移植穿刺点为股动脉,肝脏血管造影后经置管注入促肝细胞生长素 150 μg 及备用干细胞,撤管并加压包扎穿刺点,术后制动 8 h。

1.2.2 观察指标 两组患者均于治疗前及治疗后 8 周抽取肘静脉空腹静脉血 5 mL 送检,由同组医护采集血液标本及送检,并由同组检验医师完成检查项目。检查项目包括:免疫指标(CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>并计算 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值)、血清甲胚球蛋白(AFP)、肝功能指标[丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、总胆红素(TBIL)]、血浆总蛋白(TP)及凝血酶原

活动率(PTA)。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件进行分析,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,组间比较采用  $t$  检验;计数资料以率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者治疗前后免疫功能比较 两组患者治疗前各项免疫指标比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),治疗后各项免疫指标与同组治疗前比较,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),两组患者治疗后各项免疫指标比较,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。

2.2 两组患者治疗前后血清 AFP 水平比较 两组患者治疗前 AFP 比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );治疗后与同组治疗前比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),两组患者治疗后 AFP 比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 2。

表 2 两组患者治疗前后血清 AFP 水平比较( $\mu\text{g/L}$ , $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	治疗前	治疗后
观察组	82	11.62±4.27	7.40±4.06 <sup>ab</sup>
对照组	81	10.69±3.48	8.57±4.24 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: $P<0.05$ ,与治疗前比较;<sup>b</sup>: $P<0.05$ ,与对照组治疗后比较。

2.3 两组患者治疗前后肝功能及凝血功能指标水平比较 治疗前两组患者 ALT、AST、TBIL、TP、PTA 水平比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),治疗后 ALT、AST、TBIL、PTA 与同组治疗前比较比,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),观察组治疗后 TP 与同组治疗前比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),观察组治疗后 ALT、AST、TBIL、TP、PTA 与对照组比较差异有统计学意义( $P>0.05$ ),见表 3。

表 3 两组患者治疗前后肝功能及凝血功能指标比较( $\bar{x}\pm s$ )

指标	观察组(n=82)		对照组(n=81)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
ALT(U/L)	87.64±16.72	46.78±12.64 <sup>ab</sup>	86.24±15.39	72.46±13.68 <sup>a</sup>
AST(U/L)	92.43±18.56	46.84±13.46 <sup>ab</sup>	91.75±20.41	60.57±16.42 <sup>a</sup>
TBIL(U/L)	58.39±12.16	41.22±12.73 <sup>ab</sup>	57.46±13.24	50.36±13.27 <sup>a</sup>
TP( $\mu\text{mol/L}$ )	63.41±8.75	66.24±7.52 <sup>ab</sup>	63.57±7.69	64.13±7.41
PTA(%)	51.38±9.43	66.41±12.24 <sup>ab</sup>	50.35±8.75	56.42±10.43 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: $P<0.05$ ,与治疗前比较;<sup>b</sup>: $P<0.05$ ,与对照组治疗后比较。

2.4 两组患者不良反应比较 两组治疗期间均未见大出血、休克及感染等严重不良反应。观察组有 3 例胃肠反应;对照组

有 2 例胃肠反应,2 例发热患者,均给予对症治疗好转。两组患者并发症发生率比较,差异无统计学意义( $\chi^2=0.162$ , $P>$

0.05)。

### 3 讨 论

ESLD 引发原因较多,最终可因低蛋白血症、凝血功能障碍等并发症导致患者死亡,部分患者可形成肝恶性肿瘤<sup>[4]</sup>。传统观点认为 ESLD 不可逆转,随着研究深入,已证实 ESLD 受严重度影响,但均有一定“回归”<sup>[5]</sup>。临床研究证实,ESLD 患者存在一定免疫功能损害,其引发原因可能为肝纤维化产生大量炎性因子及自由基等,加重肝功能损害进程,同时可造成凝血功能损害及肝脏恶变可能<sup>[6-7]</sup>。故研究 ESLD 患者免疫功能、肝功能、AFP 及凝血功能对疾病的治疗具有指导意义,可反映患者预后。

干细胞自我复制、多向分化等潜能已广泛用于受损严重组织、器官修复<sup>[8-9]</sup>。BMSC 是干细胞的一种,肝内特定条件下可分化为肝脏细胞,完成肝脏组织修复与重建,是 ESLD 治疗的新途径<sup>[10]</sup>。BMSC 移植技术具有操作简单,移植途径相对较多,其中以经门静脉及肝动脉途径进入肝脏干细胞数量最多,故成为临床常用途径<sup>[11-12]</sup>。

本研究结果显示,BMSC 对免疫指标具有改善作用。患有肝病后,CD8<sup>+</sup> 水平相对增高,可产生大量代谢产物,促使肝细胞受损加重,逐渐形成 ESLD<sup>[13]</sup>。干细胞移植后,干细胞复制或繁殖为肝细胞,促进固有肝细胞修复功能。同期可对免疫细胞具有调控作用,促进免疫细胞增殖及成熟,促使 CD3<sup>+</sup> 总量提高,促使 CD4<sup>+</sup> 及 CD8<sup>+</sup> 水平恢复动态平衡,“校正”CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值,从而达到改善免疫作用<sup>[14]</sup>。免疫功能改善,阻断 CD8<sup>+</sup> 对肝组织继续损害,可促进  $\gamma$  干扰素及生长因子分泌,促进固有肝细胞修复,从而使肝功能恢复。本研究观察组治疗后肝功能指标均高于同组治疗前及对照组治疗后 ( $P < 0.05$ )。表明 BMSC 具有促进及修复肝功能作用。张超等<sup>[15]</sup> 研究显示,骨髓间充质干细胞对血液系统及降低肝性脑病、肝肾综合征及消化道出血疗效欠佳。但本研究结果显示,观察组治疗后 TP、PTA 水平均高于同组治疗前及对照组治疗后 ( $P < 0.05$ )。与其研究结果不符,可能为常规、对症治疗导致,有待于进一步研究。但也可说明常规、对症治疗在 ESLD 中仍有一定治疗价值,可改善患者凝血及造血功能等。

AFP 在肝脏受损过程中,卵圆细胞、增生细胞细胞质内可产生 AFP。形成肝癌后,肝癌细胞也可产生。故 AFP 水平可反映 ESLD 发生、发展过程,也可反映疾病治疗情况。本研究观察组治疗后 AFP 水平低于同组治疗前及对照组治疗后 ( $P < 0.05$ ),表明 BMSC 移植治疗 ESLD 可促使其“回归”。

综上所述,BMSC 移植治疗 ESLD,可改善患者免疫功能,提高肝功能,降低 AFP 水平。

### 参考文献

[1] Jiang H, Gao JR, Wang YZ, et al. Panax notoginseng saponins ameliorates experimental hepatic fibrosis and hepatic stellate cell proliferation by inhibiting the Jak2/Stat3 pathways[J]. *J Tradit Chin Med*, 2016, 36(2): 217-224.

[2] 苏冬娜, 吴诗品. Smad7 修饰的骨髓间充质干细胞对肝硬化大鼠治疗及其机制研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2016, 32(5): 692-696.

[3] 王玲, 朱英. 骨髓间充质干细胞移植治疗终末期肝病研究进展[J]. *肝脏*, 2013, 18(4): 262-266.

[4] Scheiner B, Mandorfer M, Schwabl P, et al. The impact of PNPLA3 rs738409 SNP on liver fibrosis progression, portal hypertension and hepatic steatosis in HIV/HCV coinfection[J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0143429.

[5] 雷香丽, 佟明华, 张建, 等. 不同途径移植大鼠骨髓间充质干细胞对大鼠肝硬化的作用研究[J]. *华南国防医学杂志*, 2012, 26(3): 195-200.

[6] 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.

[7] Liu F, Wang XW, Wu G, et al. Coffee consumption decreases risks for hepatic fibrosis and cirrhosis: a meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0142457.

[8] Solari C, Echegaray CV, Cosentino MS, et al. Manganese superoxide dismutase gene expression is induced by Nanog and Oct4, essential pluripotent stem cells' transcription factors[J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0144336.

[9] Murray IR, Péault B, Q&A: Mesenchymal stem cells - where do they come from and is it important[J]. *BMC Biol*, 2015, 13(1): 99.

[10] Chang WJ, Niu XP, Hou RX, et al. LITAF, HHEX, and DUSP1 expression in mesenchymal stem cells from patients with psoriasis[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(4): 15793-15801.

[11] Lee HN, Ko KN, Kim HJ, et al. Ferritin is associated with neural differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells under extremely low-frequency electromagnetic field[J]. *Cell Mol Biol(Noisy-le-grand, France)*, 2015, 61(7): 55-59.

[12] Mu MW, Zhao ZY, Li CG. Comparative study of neural differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells by different induction methods[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(4): 14169-14176.

[13] 徐玲珑, 吴迪炯, 邵科钉, 等. 骨髓间充质干细胞下调免疫性血小板减少症患者 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞及 Th1 类细胞因子表达的体外研究[J]. *浙江中医药大学学报*, 2016, 40(4): 245-252.

[14] Young EL, An J, Lee KH, et al. The synergistic local immunosuppressive effects of neural stem cells expressing indoleamine 2, 3-dioxygenase (IDO) in an experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) animal model[J]. *PLoS one*, 2015, 10(12): e0144298.

[15] 张超, 李宏宇, 郭晓钟, 等. 自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的临床效果分析[J]. *现代生物医学进展*, 2015, 15(10): 1873-1876.