

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.02.020

脐带间充质干细胞输注治疗难治性类风湿关节炎的疗效及安全性初探

高乐女, 钟兵, 王勇[△], 陈雪猛, 陈珏蓉, 方勇飞

(陆军军医大学/第三军医大学西南医院中西医结合科·风湿免疫中心, 重庆 400038)

[摘要] **目的** 探讨脐带间充质干细胞(UC-MSCs)输注治疗难治性类风湿关节炎(RA)的疗效和安全性。**方法** 2014年12月至2015年11月该院经改善病情抗风湿药(DMARDs)治疗无效的难治性RA住院患者4例,签署知情同意后予UC-MSCs混悬液静脉输注1次,细胞数为 1×10^6 个/kg。对比输注前后患者关节肿胀压痛数、血沉、C反应蛋白、28个关节疾病活动评分(DAS28)、疼痛视觉模拟评分(VAS)及相关安全性指标。**结果** UC-MSCs输注治疗后3名患者关节肿胀压痛数、血沉及DAS28(4)明显改善,另1名患者无效。所有患者均未发生过敏、排斥及其他严重不良反应,血常规肝肾功无异常变化。**结论** UC-MSCs输注治疗RA安全性良好,能在一定程度上改善部分难治性RA患者的病情。

[关键词] 间质干细胞;关节炎,类风湿;治疗效果;安全**[中图分类号]** R593.22**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2018)02-0206-03

Preliminary study on efficacy and safety of umbilical cord mesenchymal stem cells infusion for treating refractory rheumatoid arthritis

GAO Lenny, ZHONG Bing, WANG Yong[△], CHEN Xuemeng, CHEN Juerong, FANG Yongfei

(Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine · Center of Rheumatology and Immunology, Southwest Hospital of Army Military Medical University/Third Military Medical University, Chongqing 400030, China)

[Abstract] **Objective** To explore the efficacy and safety of umbilical cord mesenchymal stem cells(UC-MSCs) infusion in treating refractory rheumatoid arthritis(RA). **Methods** Four cases of refractory RA and invalid by improving disease condition and anti-rheumatic drugs in this hospital from December 2014 to November 2015 underwent once UC-MSCs suspension intravenous infusion after signing the informed consent. The cells number was 1×10^6 per kg. We evaluated the tender and swollen joints number, erythrocyte sedimentation rate(ESR), C-reactive protein(CRP), 28-joint disease activity score(DAS28), visual analog scale(VAS) pain score and related safety indices were compared between before and after infusion. **Results** After infusion treatment in 3 cases, the tender and swollen joints number, ESR and DAS28(4) score were significantly improved, but another case was ineffective. No anaphylaxis, rejection reaction or adverse events occurred in all cases and no abnormal change was found in routine blood, liver and kidney function. **Conclusion** The UC-MSCs infusion is has good safe for treating refractory RA and improves the disease condition to some extent.

[Key words] mesenchymal stem cells; arthritis, rheumatoid; treatment outcome; safety

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是以滑膜炎为主要病理特点的自身免疫系统疾病,可导致关节破坏和关节功能丧失。目前的治疗方法包括非甾体抗炎药、改善病情抗风湿药(disease-modifying anti-rheumatic drugs, DMARDs)、激素及生物制剂。大部分患者在接受上述治疗后病情可缓解,但仍有部分患者病情不能得到有效控制,成为难治性RA,预后较差。脐带间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cells, UC-MSCs)是存在于新生儿脐带组织中的一处多能干细胞,可被诱导分化为多种组织细胞,连续传代培养和冷冻保存后仍具有多向分化潜能,可用于组织器官损伤修复^[1]。该细胞能减少部分炎症细胞因子的分泌^[2-3],调节抑制T细胞的增殖^[2-4],还可促进关节骨、软骨的破损修复^[5-6]。近年来UC-MSCs输注治疗中重度RA被给予广泛关注^[7]。本研究旨在初步探讨UC-MSCs混悬液输注治疗难治性RA的疗效及安全性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究为临床注册研究,已在中国临床试验注册中心注册,注册号为:ChiCTR-OPB-15005956。选取2014年12月至2015年11月本院收诊的4例难治性RA患者,均符合2010年美国风湿病学会(American College of Rheumatol-

ogy, ACR)和欧洲抗风湿联盟(European League Against Rheumatism, EULAR)关于RA的分类诊断标准和评分系统^[8],其中1号患者同时患有慢性乙型病毒性肝炎;所有患者28个关节疾病活动评分(disease activity score in 28 joints, DAS28)均大于5.1分;所有患者在输注前均接受过DMARDs药物、甚至多种生物制剂治疗而疗效欠佳;所有患者均自愿签署知情同意书。在基线时完善血清血检查(类风湿因子、抗环瓜氨酸肽抗体)、炎症指标[红细胞沉降率(ESR)、C反应蛋白]、疼痛视觉模拟评分(visual analogue scale, VAS),安全性指标(肝功能、肾功、血常规、大小便常规)并行肿胀压痛关节数目及DAS28评分。

1.2 方法

1.2.1 UC-MSCs的增殖和输注 选用UC-MSCs,均取自于签署知情同意书的健康产妇正常生产后。每批细胞至少经过5次无菌、内毒素、支原体检测及艾滋梅毒、梅毒、乙肝表面抗原的检测;同时需满足以下检测要求:有效性检测包括细胞表型检测,阴性指标(CD11b、CD19、CD34、CD45、HLA-DR) $< 1\%$,阳性指标(CD73、CD90、CD105、CD44) $> 90\%$ 、细胞数量检测、细胞活力检测:细胞活力大于90%。UC-MSCs混悬液

作者简介:高乐女(1982—),主治医师,硕士,主要从事风湿性疾病的中西医结合治疗及发病机制研究。 [△] 通信作者, E-mail: wangyongjhy@

表 1 4 例患者的基线特征(n)

项目	1 号	2 号	3 号	4 号
年龄(岁)	45	52	57	40
性别	女	女	女	女
病程(月)	108	96	96	28
病情				
压痛关节数(个)	7	6	12	4
肿胀关节数(个)	7	6	11	4
VAS 评分(分)	20	30	40	20
ESR(mm/h)	49	70	22	4
DAS28(4)评分(分)	5.50	5.45	5.59	5.31
C 反应蛋白(mg/L)	4.0	8.7	3.6	10.2
输注前治疗药物	甲氨蝶呤	激素 来氟米特	激素 火把花根片 英夫利昔单抗	甲氨蝶呤(停用 2 个月) 托珠单抗
输注后治疗药物	甲氨蝶呤	激素减量 火把花根片	激素 甲氨蝶呤	4 月后加用激素 甲氨蝶呤

静脉输注的细胞数为 1×10^6 个/kg。

1.2.2 随访及观察指标 在输注结束后每 2~3 个月定期复诊,对关节肿胀及压痛数、ESR、VAS、C 反应蛋白、DAS28(4)、血常规、肝功及肾功进行评估和检测。 $DAS28(4) = 0.56 \times \sqrt{\text{压痛关节计数}} + 0.28 \times \sqrt{\text{肿胀关节计数}} + 0.70 \times \ln(\text{ESR}) + 0.014 \times (\text{VAS 评分})$ 。DAS28: <2.6 分可认为临床缓解, $\geq 2.6 \sim 3.2$ 分表示疾病活动度低, $>3.2 \sim 5.1$ 分表示疾病中度活动, >5.1 分表示疾病活动度高。

2 结 果

2.1 一般情况 所有患者均为女性,年龄 40~57 岁,平均 (48.50 ± 7.51) 岁,病程 28~108 个月,平均 (82.00 ± 36.44) 个月,在输注结束后随访 4~10 个月,平均 (7.75 ± 2.87) 个月。所有患者在进行 UC-MSCs 输注前后的药物使用情况,见表 1。

2.2 药物方案的调整 所有患者在 UC-MSCs 输注后均继续接受原口服药物方案治疗。3 个月后 1 号患者因出现白细胞下降停用甲氨蝶呤,并在 10 个月后用加用甲泼尼龙片 4 mg/d 治疗。2 号患者于第 4 个月将甲泼尼龙片由 8 mg/d 减量至 6 mg/d。3 号患者未再使用生物制剂。4 号患者因前期出现肝功异常停用甲氨蝶呤 2 个月后肝功恢复正常,输注前患者未服用甲氨蝶呤,后因关节肿痛加重,在第 4 个月时恢复甲氨蝶呤并加用甲泼尼龙片 8 mg/d,同时予关节腔注射复方倍他米松注射液。

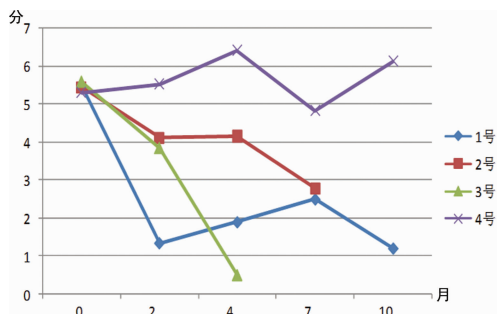


图 1 4 例患者的 DAS28(4)评分变化情况

2.3 临床疗效 1~3 号患者的关节肿胀、压痛数目,血沉均较输注前减少。1 号患者的 DAS28(4)评分在输注后第 2 个月

即降至 1.35 分临床缓解,并持续至输注后第 10 月。2 号患者在输注后第 7 月 DAS28(4)降低至 2.78 分,病情仅轻度活动,后期未再随访。3 号患者 DAS28(4)亦于输注后第 4 月直降至 0.49 分临床缓解,后期未再随访。但 4 号患者输注后 DAS28(4)未能下降,并在 9 个月后增至 6.13 分。4 例患者的 DAS28(4)、ESR、C 反应蛋白的变化情况分别见图 1~3。

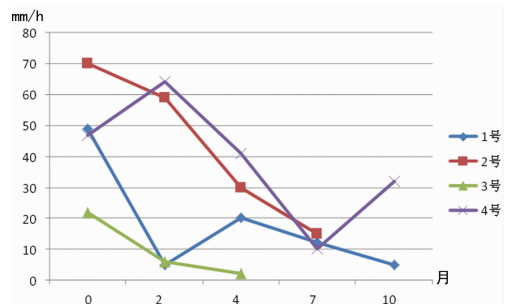


图 2 4 例患者的 ESR 变化情况

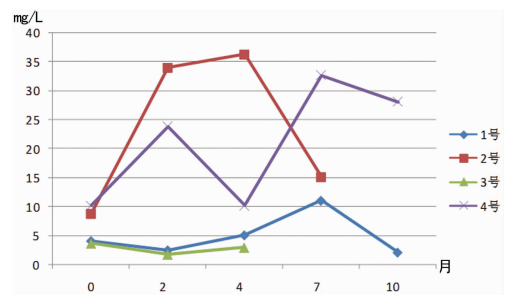


图 3 4 例患者的 C 反应蛋白变化情况

2.4 不良反应事件 所有患者在接受 UC-MSCs 输注治疗后短期内均未发生过敏、排斥、严重感染、恶性肿瘤或死亡事件。治疗前后常规及生化检查无异常。

3 讨 论

RA 发病机制尚不明确,目前认为可能与 T 细胞分化异常密切相关^[9-11]。CD4⁺T 细胞在不同细胞因子及微环境作用下可分化为辅助 T 细胞(Th)1、Th2、Th17 和调节性 T 细胞(Treg)等不同亚群^[11]。Th17 细胞可促进血管翳、破骨细胞及滑膜血管的生成,而 Treg 可抑制自身反应淋巴细胞,维持其内

稳态,故 Th17、Treg 细胞失衡被认为是 RA 发病的关键要素^[9]。而 UC-MSCs 能促进 Treg 分化^[2]并保持其免疫抑制能力^[12],能抑制白细胞介素(IL)-17、IL-22、干扰素(IFN- γ)、肿瘤坏死因子(TNF- α)等炎症因子,配体 CCR6 和趋化因子 CCL20 的生成^[2],能促进吲哚胺 2,3-双加氧酶的表达和可溶性免疫抑制因子如 IL-10、转化生长因子(TGF- β)和前列腺素 E2(PGE2)的生成^[4],通过降低 Th1/Th17 应答,增强调节性 T 细胞应答从而“重置”免疫系统^[13]。该细胞还能促进关节骨、软骨的破损修复^[5],提高软骨质量^[6]。间充质干细胞输注治疗安全性较好,国内外应用 UC-MSCs 治疗的报道均未出现过敏、排斥、关节肿块、感染或其他严重不良反应^[5,7]。

本研究发现,US-MSCs 输注治疗能减轻 3 例难治性 RA 患者的临床症状,但对另 1 例患者无效。1、2、3 号患者在输注 US-MSCs 前后均配合了 DMARDs 药物治疗,关节肿痛程度,ESR、C 反应蛋白水平及病情活动度均得到明显改善,但第 4 名患者输注 US-MSCs 前后均停用甲氨蝶呤,仅服用正痛风痛宁片及白芍苁蓉胶囊,考虑基础免疫调节力度不足,可能影响疗效。笔者推测,US-MSCs 输注可能通过抑制炎症因子的分泌,诱导 Treg 的分化并协同其发挥免疫抑制功能,同时促进软骨损伤修复而起到减轻关节炎及肿胀,促进关节骨及软骨破损修复,从而起到缓解 RA 症状的作用。但因本研究样本量少,尚不能明确该治疗的确切疗效及其起效的机制。

生物治疗必将成为 RA 治疗的一个重要手段。UC-MSCs 治疗是难治性 RA 治疗的一个新方法,有广泛的应用前景,但这一方法仍需要大样本量、多中心的随机对照临床研究来进一步证实其有效性。

参考文献

- [1] 张亚斌,解莉楠.人脐带间充质干细胞研究进展及应用前景[J].生物技术通讯,2013,24(3):437-440.
- [2] GHANNAM S, PÉNE J, MOQUET-TORCY G, et al. Mesenchymal stem cells inhibit human Th17 cell differentiation and function and induce a T regulatory cell phenotype[J]. J Immunol, 2010, 185(1):302-312.
- [3] AGGARWAL S, PITTENGER M F. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses [J]. Blood, 2005, 105(4):1815-1822.
- [4] DJOUAD F, CHARBONNIER L M, BOUFFI C, et al. Mesenchymal stem cells inhibit the differentiation of dendritic cells through an interleukin-6-dependent mechanism [J]. Stem Cells, 2007, 25(8):2025-2032.
- [5] WAKITANI S, OKABE T, HORIBE S, et al. Safety of autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation for cartilage repair in 41 patients with 45 joints followed for up to 11 years and 5 months[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2011, 5(2):146-150.
- [6] OROZCO L, MUNAR A, SOLER R, et al. Treatment of knee osteoarthritis with autologous mesenchymal stem cells: a pilot study [J]. Transplantation, 2013, 95(12):1535-1541.
- [7] LIANG J, LI X, ZHANG H Y, et al. Allogeneic mesenchymal stem cells transplantation in patients with refractory RA[J]. Clin Rheumatol, 2012, 31(1):157-161.
- [8] ALETAHA D, NEOGI T, SILMAN A J, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria; an American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative [J]. Arthritis Rheum, 2010, 62:2569-2581.
- [9] ALUNNO A, MANETTI M, CATERBI S, et al. Altered immunoregulation in rheumatoid arthritis: the role of regulatory T cells and proinflammatory Th17 cells and therapeutic implications [J]. Mediators Inflamm, 2015, 2015:751793.
- [10] LUO Q, DENG Z, XU C X, et al. Elevated expression of immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif (TIGIT) on T lymphocytes is correlated with disease activity in rheumatoid arthritis [J]. Med Sci Monit, 2017, 23:1232-1241.
- [11] 杨明峰, 丁瑜, 王艺文, 等. 二甲双胍通过腺苷酸活化蛋白酶-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路调节胶原诱导性关节炎大鼠辅助性 T 细胞 17/调节性 T 细胞的分化及细胞因子的表达[J]. 中华风湿病学杂志, 2016, 20(9):614-618.
- [12] DI I M, DEL P B, DE I M, et al. Mesenchymal cells recruit and regulate T regulatory cells [J]. Exp Hematol, 2008, 36(3):309-318.
- [13] MACDONALD G I, AUGELLO A, DE B C. Role of mesenchymal stem cells in reestablishing immunologic tolerance in autoimmune rheumatic diseases [J]. Arthritis Rheum, 2011, 63(9):2547-2557.

(收稿日期:2017-07-03 修回日期:2017-09-26)

(上接第 205 页)

- et al. The beneficial effect of extracorporeal shockwave myocardial revascularization in patients with refractory angina [J]. Cardiovasc Revasc Med, 2015, 16(1):6-11.
- [10] UWATOKU T, ITO K, ABE K. Extracorporeal cardiac shock wave therapy proves left ventricular remodeling after acute myocardial infarction in pigs [J]. Coron Artery Dis, 2007, 18(2):397-404.
 - [11] SKINNER T A, NORMAN R W. Variables influencing the likelihood of cardiac dysrhythmias during extracorporeal shock wave lithotripsy [J]. Can Urol Assoc J, 2012, 6

(2):107-110.

- [12] 张晔,尹亮,祁欣.体外超声震波治疗冠心病的能量传递过程及声场分布[J].中国医学物理学杂志,2015,32(6):826-829.
- [13] 羊超.体外心脏震波治疗冠心病的初步研究[D].昆明:昆明医学院,2010.
- [14] 王钰,郭涛,蔡红雁,等.体外心脏震波治疗冠心病的应用研究[J].中华心血管病杂志,2010,38(8):711-715.

(收稿日期:2017-07-11 修回日期:2017-09-18)