

Transplantation of bone marrow stem cells via hepatic artery in treatment of hepatocirrhosis: a preliminary clinical application

ZHANG Qiang*, LI Jing-yu, XU Li-yang, LIU Ming, YAO Peng, WANG Shuai

(Department of Radiology, Beijing Army General Hospital, Beijing 100700, China)

ABSTRACT Objective To explore the probability and effect of bone marrow stem cells transplantation (BMSCT) via hepatic artery in treatment of hepatocirrhosis. **Methods** Twenty patients with hepatocirrhosis underwent BMSCT, 19 of them were with hepatitis B and one was alcoholic hepatocirrhosis. The number of Child-Pugh grade A, B and C were separately 2, 6 and 12. A total of 30—50 ml self bone marrow was taken and separated into bone marrow stem cells in the operation day. After selective hepatic artery catheterization and DSA, the bone marrow stem cells were injected into the liver. If a small HCC was found during DSA, a super selective TACE was performed firstly. Then, marrow stem cells were injected into the no tumor area via corresponded hepatic artery branch. The clinical symptoms and laboratory testing obtained before BMSCT and after that in one week, two week and one month were compared. **Results** All patients displayed the typical DSA characteristics of hepatocirrhosis. Two cases of small HCC were diagnosed by DSA finding. Fourteen cases were clinically effective, and 6 cases were inefficacy. Neither fever nor other complications were observed. **Conclusion** BMSCT is safe and feasible. Some patients of hepatocirrhosis can get curative effect by this treatment. Meanwhile, DSA process can probably find small HCC that other imaging methods are difficult to show.

KEY WORDS Bone marrow stem cells; Transplantation; Liver; Hepatocirrhosis; Hepatic artery; Therapy

经肝动脉骨髓干细胞移植治疗肝硬化的初步临床应用

张 强*, 李京雨, 徐力扬, 刘 明, 姚 鹏, 王 帅

(北京军区总医院放射诊断科, 北京 100700)

[摘 要] **目的** 探讨经肝动脉自体骨髓干细胞肝内移植治疗失代偿期肝硬化的临床应用可能性及效果。 **方法** 20 例失代偿期肝硬化患者, 乙型肝炎后肝硬化 19 例, 酒精性肝硬化 1 例。Child-Pugh 分级: A 级 2 例, B 级 6 例, C 级 12 例。所有患者术前均行影像学及肝脏功能等检查。移植术当日抽取患者自体骨髓 30~50 ml, 分离出骨髓干细胞, 经肝固有动脉注入。对于造影发现肝内有单发小肝癌者, 先行肝段超选择 TACE 治疗, 再选择性插管至正常肝动脉供血区, 注入骨髓干细胞。术后 1 周、2 周、1 月观察患者临床症状、体征, 复查肝功能等实验室指标。 **结果** 2 例造影发现合并单发小肝癌。20 例患者中, 14 例有效, 6 例无效。所有病例术后均未出现发热、过敏反应及其他不适。 **结论** 经肝动脉行自体骨髓干细胞移植安全可行; 部分肝硬化患者用此方法治疗近期有效; 治疗中通过肝动脉造影可能发现其他影像学检查未能显现的早期肝癌。

[关键词] 骨髓干细胞; 移植; 肝脏; 肝硬化; 肝动脉; 治疗

[中图分类号] R575.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-8475(2005)04-0261-03

0 引言

乙型肝炎性肝硬化及酒精性肝硬化是临床常见病, 进入失代偿后逐渐发展, 最终可能导致肝功能衰

竭。原位肝移植是目前治疗终末期肝病的最理想方法, 但缺乏供体、手术费高昂和长期使用免疫抑制剂等因素阻碍了其推广。目前, 干细胞研究已在医学领域取得了令人瞩目的成就, 也为终末期肝病的治疗提供了新思路。本组对失代偿期肝硬化患者采用自身骨髓干细胞经肝动脉途径移植的方法进行治疗, 取得了一定的疗效。

1 资料及方法

[作者简介] 张强(1964—), 男, 北京人, 医学学士, 副主任医师。研究方向: 介入放射学。

[通讯作者] 张强, 北京军区总医院放射诊断科, 100700。

[收稿日期] 2005-04-29 **[修回日期]** 2005-05-23

1.1 一般资料 2004 年 11 月—2005 年 2 月期间收治 20 例失代偿期肝硬化患者,其中男 17 例,女 3 例,年龄 29~70 岁,平均 48.5 岁。19 例为慢性乙型肝炎后肝硬化,1 例酒精性肝硬化。Child-Pugh 分级:A 级 2 例,B 级 6 例,C 级 12 例。术前均行腹部 B 超检查。16 例行 CT 检查。实验室检验包括血清谷丙转氨酶(ALT)、总胆红素(TB)、白蛋白(ALB)、凝血酶原时间(PT)及活动度(PA)。所有病例入院后均行内科对症治疗。

1.2 骨髓干细胞制备 移植术当日抽取患者自体骨髓 30~50 ml。用密度梯度离心法分离出骨髓干细胞,每例患者提取的骨髓干细胞总数均在 2×10^8 以上,置于 20 ml 生理盐水中,在 37℃ 恒温下保存于无菌瓶内,4 小时内进行骨髓干细胞移植术。

1.3 移植方法 经股动脉穿刺插管,先行选择性肝固有动脉造影,将含有骨髓干细胞的生理盐水稀释至 50 ml 后经导管缓慢注入。对于造影中发现肝内有单发小肝癌者,先用微导管插至尽量靠近肿瘤的肝段供血动脉行 TACE 治疗(超液态碘油+吡柔比星乳剂栓塞),再选择性插管至未包含肿瘤供血动脉的肝动脉内,缓慢注入含有骨髓干细胞的生理盐水。

1.4 疗效观察 术后观察临床症状、体征,术后 1 周、2 周、1 个月分别复查肝功能、PT、PA 和 B 超,合并肝癌行 TACE 者 1 个月后复查 CT。根据临床症状、体征和实验室检查结果,初步将患者疗效分为:有效(临床症状有 1 项以上减轻+体征有 1 项以上改善+实验室检查指标 2 项以上好转),无效(临床症状和体征没

有改善或仅有 1 项改善及实验室检查指标无好转或 2 项以下好转),恶化(临床症状或体征无好转、实验室检查指标好转少于 2 项者)。

2 结果

2.1 血管造影所见 20 例肝动脉造影,均有肝脏体积缩小、肝动脉卷发样迂曲等肝硬化典型表现(图 1)。2 例发现合并单发小肝癌,1 例位于肝左叶内侧段(直径约 2 cm),1 例位于肝右前叶外侧段近膈顶(直径约 1 cm)(图 2、3);术前 CT、B 超未发现肝内占位,AFP 阴性。

2.2 疗效 术后 1~2 个月的近期随访显示 14 例有效,6 例无效,无 1 例恶化。2 例伴发小肝癌者 TACE 1 个月后复查 CT 见肿瘤内碘油聚集良好(图 4)。所有病例术后均未出现发热、过敏反应及其他不适。

14 例治疗有效患者中有 3 例效果显著,其实验室检查结果见表 1。3 例患者均为中年男性,2 例乙型肝炎后肝硬化,1 例酒精性肝硬化;治疗前有明显乏力、纳差、尿黄症状及中度腹水,Child-Puch 分级均为 C 级。自体骨髓干细胞移植术后 1 个月,临床症状基本消失,B 超显示仅少量腹水,Child-Puch 分级改善为 A 级(1 例)或 B 级(2 例)。

3 讨论

近年来,随着细胞工程技术的发展,利用细胞移植治疗肝功能衰竭成为一个新的研究热点,但尚处于基础研究阶段,临床研究尚未见报道。目前实验研究治疗肝功能衰竭主要有三类细胞移植方法:肝细胞移植、肝干细胞移植和骨髓干细胞移植(bone marrow stem

表 1 3 例显效患者治疗前后实验室检查结果

病例	ALT (U/L)			TB (μ mol/L)			ALB (g/L)			PT (S)			PA (%)		
	术前	术后 2 周	术后 1 月	术前	术后 2 周	术后 1 月	术前	术后 2 周	术后 1 月	术前	术后 2 周	术后 1 月	术前	术后 2 周	术后 1 月
1	82	7	10	171	67.5	39.9	31.2	38.8	42.3	19.4	16.1	14.8	39	56	62
2	45	38	43	107	62.9	62.8	24.6	26.6	32.3	19.9	19	21	38	44	42
3	21	32	16	239	96.5	48.6	25.3	29.5	29.8	21.3	19.6	17.5	34	40	46

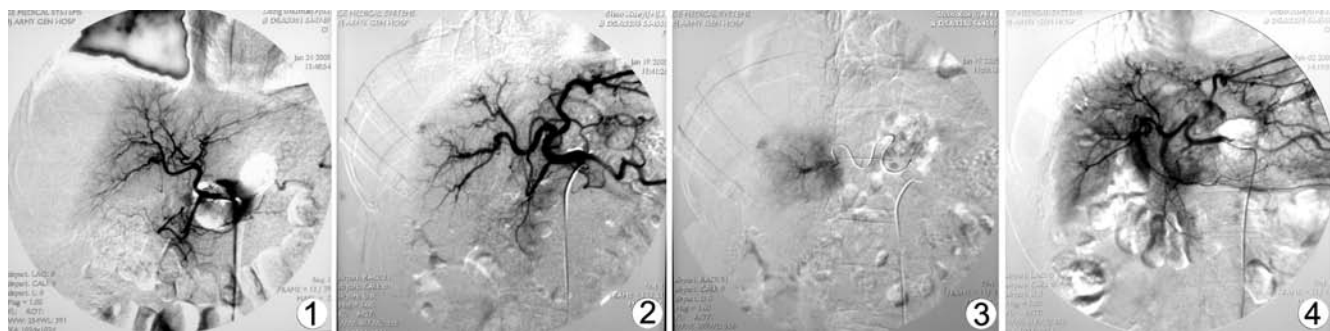


图 1 肝硬化 DSA 表现:肝动脉“卷发样”迂曲,肝脏体积明显缩小 图 2 肝动脉造影:肝右叶外侧段近膈顶见 1 cm 直径大小类圆形肿瘤染色 图 3 与图 2 同一病例,SP 微导管超选择性肝内肿瘤供血动脉造影 图 4 与图 2 同一病例,TACE 2 周后再次 BMSCT 时肝动脉造影:肝右叶病灶碘油聚集良好,肿瘤染色消失

cells transplantation, BMSCT)。前两种方法存在来源缺乏、移植细胞体内存活和增殖困难等问题^[1,2]。BMSCT 则来源方便,不受供体缺乏的限制,还可免除免疫排斥反应的发生^[3]。

骨髓内存在大量干细胞,包括造血干细胞、骨髓基质细胞和骨髓源基质细胞。目前许多研究表明骨髓干细胞具有向一些成体细胞(例如神经细胞、心肌细胞、血管内皮细胞及肝细胞等)分化的潜能^[4,5]。

Petersen^[6]首先通过实验发现,一部分大鼠骨髓细胞能够在肝脏生成卵圆细胞(即肝干细胞),并进一步分化为肝细胞和胆管细胞。周一鸣等^[7]报道,成年小鼠骨髓干细胞在肝细胞生长因子(HGF)单独作用下能诱导分化为肝细胞样细胞,诱导分化的最佳时期是 2~3 周。日本学者 Oh 等^[8]发现,在肝细胞生长因子的诱导作用下,体外培养的骨髓细胞可检测到类肝细胞及肝细胞的特异性标记物的表达。Avital 等^[9]从人和大鼠的骨髓中分离出骨髓基质细胞,并将其通过门静脉移植到同系大鼠体内后,发现它们整合到受体肝内并分化为成熟的肝细胞;将骨髓基质细胞体外培养后发现其能合成尿素,具有肝细胞的超微结构,免疫组化检测出它们能表达白蛋白等特异性标记物。

Theise 等^[10]对 2 例女性骨髓移植患者(男性骨髓供体)和 4 例男性原位肝移植患者肝脏标本进行研究,发现人类肝细胞部分是由循环中的干细胞(可能是骨髓造血干细胞)转化来补充肝实质细胞,这些患者肝内约 4%~43%的肝细胞和 4%~38%的胆管细胞来源于骨髓干细胞的横向分化,而这种细胞的转化量似有随肝脏损伤的程度和时间的增加而增加的倾向。Mitchell 等^[11]亦认为,只有在肝功能继续损害的前提下,骨髓干细胞才会向肝细胞转化而可能达到治疗作用。本组肝硬化患者有轻、中、重之分,但 3 例显效患者均为肝硬化晚期(Child-Pugh C 级),似乎也提示肝脏损害严重的肝硬化患者肝内移植的骨髓干细胞可能更易转化为正常肝细胞,移植的效果会更好。

本组 20 例失代偿期肝硬化患者,经 BMSCT 治疗后近期有效率达 70%,疗效可喜。但判断一种治疗方法对患者客观效果时,应除外其他影响因素。本组所有患者均同时进行了内科对症治疗,不能排除内科药物有一定效果,但就内科医师临床经验观察,本组病例疗效明显好于以往单纯内科药物治疗,且有效的患者住院时间均缩短。

本组中 2 例合并肝癌者在 TACE 后,选择不包含肿瘤供血动脉的肝动脉供血区行 BMSCT,是因为在含肝癌的肝段内行选择性 TACE 后,局部缓释的化疗

药物可能对移植的骨髓干细胞有杀灭作用。在不含肝癌的正常肝段内行 BMSCT,有助于提高骨髓干细胞的转化及成活率。

目前应用经肝动脉自体 BMSCT 仅是作为治疗肝硬化的一种新途径加以探索。由于开展此项工作不久,病例数量尚少、随访时间也短,虽然近期取得了一定效果,其远期疗效如何尚需观察,对于 BMSCT 总的疗效评价还需大量的病例数,并与内科药物治疗组进行对照及统计学处理。此外,虽然大量实验研究已证实动物骨髓干细胞可在肝内存活、转化为肝实质细胞并发挥作用,但人类是否如此尚需进一步研究。

本组结果提示,经肝动脉行自体骨髓干细胞移植是安全可行的;部分肝硬化患者用此方法治疗近期有效;在肝硬化患者中通过肝动脉造影可能发现其他影像学检查未能显现的早期肝癌。

[参考文献]

- [1] Li L, Teng GJ. Study on the isolation, culture, cryopreservation, and thawing of rat hepatocyte in hepatocyte transplantation experimental research. Chin J Radiol (Chinese), 2002, 36(4):369-372.
- [2] Malhi H, Gupta S. Hepatocyte transplantation: new horizon and challenges. J Hepatobiliary Pancreat Surg, 2001, 8(1):40-50.
- [3] Avital I, Feraresso C, Aoki T, et al. Bone marrow-derived liver stem cell and mature hepatocyte engraftment in livers undergoing rejection. Surgery, 2002, 132(2):384-390.
- [4] Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. Nature, 2002, 418(6893):41-49.
- [5] Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. Nature, 2001, 410(6829):701-705.
- [6] Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. Science, 1999, 284(5417):1168-1170.
- [7] Zhou YM, Hu DR, Yao P, et al. Study of mouse marrow cells differentiation into a hepatocyte lineage in vitro. Chin J Hepatol (Chinese), 2004, 12(12):722-725.
- [8] Oh SH, Miyazaki M, Kouchi H, et al. Hepatocyte growth factor induces differentiation of adult rat bone marrow cells into a hepatocyte lineage in vitro. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 279(2):500-504.
- [9] Avital I, Inderbitzin D, Aoki T, et al. Isolation, characterization and transplantation of bone marrow-derived hepatocyte stem cells. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 288(1):156-164.
- [10] Theise ND, Badve S, Saxena R, et al. Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myelablation. Hepatology, 2000, 31(1):235-240.
- [11] Mitchell C, Fausto N. Bone marrow derived hepatocytes: rare but promising. Am J Pathol, 2002, 161(2):349-350.