

骨髓间充质干细胞移植修复大鼠慢性胰腺损伤☆

刘洪斌, 杨 静, 李东华, 王 蓓

Transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells for repair of chronic pancreatic injury in rats

Liu Hong-bin, Yang Jing, Li Dong-hua, Wang Qian

Abstract

BACKGROUND: Chronic pancreatitis is a chronic necroinflammatory process characterized pathologically by chronic inflammation and fibrosis in pancreas tissue. Bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) maybe play a potential role in treating chronic pancreatitis. However, few reports have addressed the use of MSCs in pancreatic regeneration.
OBJECTIVE: To investigate the effects and mechanisms of BMSCs for treating chronic pancreatitis in rats.
METHODS: BMSCs were isolated, cultured and identified *in vitro*. Chronic pancreatitis rat model was induced by infusion of oleic acid to bile-pancreas duct in Wistar rats. The Wistar rats were assigned randomly to sham operation group, model group and BMSCs group. BMSCs were transplanted to the rats from BMSCs group through caudal vein injection in the number of 3×10^6 /mL at 20 days after the model induction and the injection was repeated twice at 40 days and 60 days after model induction. For the model group, the equal volume of saline was injected into the caudal vein. For the sham operation group, duodenum puncture and infusion of oleic acid to bile-pancreas duct were not done. For all the rats, pancreatic tissues were collected and underwent histopathological examination. Pancreatic connective tissue growth factor (CTGF), transforming growth factor β (TGF- β), type I collagen, type III collagen and myeloperoxidase (MPO) activity were detected.
RESULTS AND CONCLUSION: The pathological injury and the fibrosis in the BMSCs group were ameliorated significantly. The contents of pancreatic CTGF, TGF- β , type I collagen, type III collagen and MPO were all decreased significantly ($P < 0.01$). These results suggested that BMSCs have obvious repairing effects on the injured pancreatic tissue of chronic pancreatitis rats, which may be related to the inhibition of CTGF, TGF- β release, decreased production of type I, type III collagen, and inhibition of inflammatory reaction.

Nankai Clinical College, Tianjin Medical University, Tianjin 300100, China

Liu Hong-bin☆, Doctor, Associate investigator, Nankai Clinical College, Tianjin Medical University, Tianjin 300100, China
jtsstj1@yahoo.com.cn

Received:2010-01-05
Accepted:2010-05-01

Liu HB, Yang J, Li DH, Wang Q. Transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells for repair of chronic pancreatic injury in rats. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(23): 4257-4261.
[http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 慢性胰腺炎是以胰腺慢性炎症损伤及纤维化为主要病理特征的慢性进展性疾病, 骨髓间充质干细胞可能在其治疗中具有潜在价值, 但目前这一领域的研究尚不多见。
目的: 观察骨髓间充质干细胞对慢性胰腺炎大鼠胰腺损伤的修复作用并探讨其治疗机制。
方法: 体外培养、扩增大鼠骨髓间充质干细胞并对其进行鉴定; 采用胆胰管逆行注射油酸法制备 Wistar 大鼠慢性胰腺炎模型, 随机数字表法分为假手术组、模型组、间充质干细胞治疗组。间充质干细胞治疗组造模后 20 d 经尾静脉注射间充质干细胞生理盐水细胞悬液 1 mL(含细胞 3×10^6), 第 40 天和第 60 天各重复 1 次; 模型组经尾静脉注射等体积生理盐水; 假手术组不进行十二指肠穿孔及胆胰管逆行注射, 其余操作同模型组。3 组动物均于治疗结束后取胰腺组织行病理组织学检查; 并检测胰腺组织内结缔组织生长因子、转化生长因子 β 、I、III 型胶原水平及髓过氧化物酶活性。
结果与结论: 间充质干细胞治疗的慢性胰腺炎大鼠胰腺病变程度及纤维化程度显著减轻; 胰腺组织内结缔组织生长因子、转化生长因子 β 、I、III 型胶原水平及髓过氧化物酶活性显著降低($P < 0.01$)。提示骨髓间充质干细胞对慢性胰腺炎大鼠胰腺损伤有显著的修复作用, 其机制可能和抑制结缔组织生长因子、转化生长因子 β 产生、抑制炎症反应、减少胶原增生有关。
关键词: 慢性胰腺炎; 骨髓间充质干细胞; 纤维化; 结缔组织生长因子; 转化生长因子 β
doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.23.018

刘洪斌, 杨静, 李东华, 王蓓. 骨髓间充质干细胞移植修复大鼠慢性胰腺损伤[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(23):4257-4261. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

天津医科大学南开临床学院, 天津市 300100

刘洪斌☆, 男, 1973 年生, 河北省曲阳县人, 汉族, 1996 年天津医科大学毕业, 博士, 副研究员, 主要从事肝胆胰疾病的基础研究。
jtsstj1@yahoo.com.cn

中图分类号:R394.2
文献标识码:B
文章编号:1673-8225
(2010)23-04257-05

收稿日期: 2010-01-05
修回日期: 2010-05-01
(20100105010/WL-Q)

0 引言

慢性胰腺炎病因复杂, 治疗棘手, 尚无十分理想的治疗方案, 各种治疗仅限于症状和并发症^[1-7]。骨髓间充质干细胞具有多向分化潜能, 研究证明其对多种损伤组织具有修复作用^[8-21]。近来研究提示间充质干细胞在胰腺组织修复中有重要价值, 其自我更新、多向分化潜能、独特的低免疫原性和免疫调节等作用可能为慢性

胰腺炎提供一种全新治疗方法, 但此领域研究尚处于初始阶段, 缺乏对其具体机制及存在问题的深入研究^[22-24]。本实验通过经体外培养、扩增的骨髓间充质干细胞对慢性胰腺炎大鼠进行治疗, 旨在观察其对慢性胰腺炎受损胰腺组织的修复作用并探讨作用机制。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 实验于 2009-08/12 在天津医科大学南开临床学院急腹症研究所药理学研究室完成。

材料: 1 个月龄 Wistar 大鼠用于制备骨髓间充质干细胞, 体质量 80~100 g; SPF 级 4 月龄 Wistar 大鼠 30 只, 体质量 220~250 g, 雌雄不拘, 由北京维通利华实验动物有限公司提供, 实验过程中对动物的处置符合中华人民共和国科学技术部 2006 年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》标准^[25]。

主要试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
CD90-PE, CD34-FITC, CD44-PE, CD11b/c-FITC 及其同型对照抗体, BD Caliber 流式细胞仪	美国 BD 公司
大鼠结缔组织生长因子、转化生长因子 β 、I 型胶原、III 型胶原 ELISA 检测试剂盒	美国 Usclnlife 公司
组织髓过氧化物酶检测试剂盒	南京建成生物技术公司
全蛋白提取试剂盒及蛋白定量检测试剂盒	南京凯基生物技术有限公司
ST-360 型酶标仪	上海科华科技公司

实验方法:

大鼠慢性胰腺炎模型的建立: 参考有关文献并改进^[26], 采用胆胰管逆行注射油酸诱发大鼠慢性胰腺炎。大鼠禁食不禁水 12 h 后, 以 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉。经固定后常规备皮, 铺消毒巾, 沿腹白线作正中切口, 于胆管出肝门端以无损伤小动脉夹暂时阻断胆管, 寻找到胆胰管十二指肠乳头开口处, 在其对系膜缘用 4 号注射针头刺一小孔, 用 PE50 导管经乳头逆行插入胆胰管 0.5 cm, 妥善固定, 通过微量注射器注射油酸 60 μ L, 在 5 min 内匀速注射完毕。去除动脉夹后 2 min 拔出 PE50 导管, 然后以无损伤缝线缝合十二指肠穿孔孔, 逐层缝合肌层和腹壁, 同时皮下注射生理盐水 5 mL。每天注射生理盐水 2 次, 6 mL/次, 直至大鼠能自由饮水。术后大鼠禁食 72 h, 禁水 48 h。

大鼠骨髓间充质干细胞的分离、培养: 参考有关文献^[27], 采用全骨髓培养法即贴壁筛选法进行: 取 1 个月龄 Wistar 大鼠, 脱颈处死, 浸入体积分数为 75% 乙醇中 5 min, 严格无菌条件下取出股骨、胫骨, 剔除脂肪组织, 用无菌剪刀去除股骨近端和胫骨远端, 暴露骨髓腔, 用 5 mL 含体积分数为 10% 胎牛血清的低糖 DMEM 培养液充分冲洗骨髓, 收集骨髓冲洗液, 充分混匀后, 1 000 r/min 离心 10 min, 去除上清, 细胞重悬于含体积分数为 10% 胎牛血清的低糖 DMEM 培养液, 1 只大鼠股骨及胫骨骨髓细胞量接种于 1 个包被多聚赖氨酸的 T-25 cm^2 塑料培养瓶内, 置 37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数为 5% CO_2 饱和湿度的细胞培养箱培养。24 h 后弃去未贴壁细胞,

更换培养液, 以后每 4 d 换液 1 次。每日在倒置显微镜下观察细胞的形态及生长情况。待细胞融合 80% 时, 用 0.125% 胰蛋白酶消化, 1:2~1:3 传代。

大鼠骨髓间充质干细胞的鉴定: 采用流式细胞仪检测骨髓间充质干细胞表面标志性分子。取达到 80% 融合后的第 6 代细胞, 用 0.125% 胰蛋白酶消化, PBS 洗涤 2 遍, 用 PBS 制成浓度为 $2 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ 的悬液, 经 300 目的尼龙网滤过。将细胞悬液分装至 8 只 1.5 mL 的 EP 管中, 分别加入 CD90-PE, CD34-FITC, CD44-PE, CD11b/c-FITC 及其同型对照各 10 μ L, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下避光反应 15 min, PBS 冲洗 2 遍后进行流式细胞仪检测。检测 CD90 阳性细胞数、CD44 阳性细胞数、CD34 阴性细胞数、及 CD11b/c 阴性细胞数。

分组及治疗方法: SPF 级 Wistar 大鼠 30 只, 随机数字表法分为假手术组、模型组、间充质干细胞治疗组, 每组 10 只, 雌雄各半。间充质干细胞治疗组在造模后 20 d 开始经尾静脉注射间充质干细胞生理盐水细胞悬液 1 mL (含细胞 3×10^6), 第 40 天和第 60 天各重复 1 次。模型组在造模后 20 d 开始经尾静脉注射等体积生理盐水, 第 40 天和第 60 天各重复 1 次。假手术组不进行十二指肠穿刺及胆胰管逆行注射, 其余操作同模型组。3 组动物均于造模开始后 80 d 处死取材。

取材: 大鼠禁食不禁水 12 h 后, 以 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉。完整切除胰腺组织, 一部分以体积分数为 10% 中性甲醛固定, 行苏木精-伊红染色病理组织学检查; 一部分 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冻存, 备测胰腺组织 I、III 型胶原、转化生长因子 β 、结缔组织生长因子及髓过氧化物酶水平。

检测指标:

病理组织学观察: 胰腺组织以体积分数为 10% 中性甲醛固定, 行苏木精-伊红染色病理组织学检查, 并按有关文献评分标准进行胰腺病理评分。

胰腺病变程度评分标准^[28]: ①炎性细胞浸润程度: 5 个高倍视野内均值 <5 个为 0 分, 6~20 个为 1 分, 21~40 个 2 分, >40 个为 3 分。②坏死程度: 无为 0 分, 小灶状坏死为 1 分, 小片状坏死为 2 分, 大片状坏死为 3 分。③结构破坏: 无为 0 分, 灶性结构破坏为 1 分, 部分结构破坏为 2 分, 大部分结构破坏为 3 分。④有无黏液水肿: 无为 0 分, 有为 1 分。⑤有无萎缩: 无为 0 分, 有为 1 分。胰腺病变程度评分为各单项评分的加合分值。

纤维化程度评分标准^[29]: 按纤维化改变占整个观察视野面积的百分比多少予以记分: 无变化, 0 分; <25%, 1 分; 25%~50%, 2 分; >50%, 3 分。

胰腺组织结缔组织生长因子、转化生长因子 β 、I、III 型胶原检测: 取冻存胰腺组织 100 mg, 加入全蛋白提取裂解液 2 mL, 以组织匀浆器进行匀浆, 按说明书提取组织总蛋白。上述指标采用 ELISA 法按试剂盒说明以酶标仪进行检测, 结果以组织的蛋白含量进行校正, 以 ng/g 或 IU/mg

表示。组织蛋白含量采用 Bradford 法进行测定。

胰腺组织髓过氧化物酶测定：取上述组织总蛋白样品，按试剂盒提供的方法检测髓过氧化物酶活性，检测结果以 $\times 16.67 \text{ nkat/g}$ 表示。

主要观察指标：各组动物胰腺组织行病理组织学检查；并检测胰腺组织内结缔组织生长因子、转化生长因子 β 、I、III型胶原水平及髓过氧化物酶活性。

设计、实施、评估者：实验设计为第一作者，干预实施为第二、三作者，评估为第一、四作者，均经过正规培训，所有测定及结果分析均采用盲法评估。

统计学分析：由第一、四作者采用 SPSS 11.0 软件完成统计处理，均数之间的差异采用 One-Way ANOVA，实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示， $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 纳入 Wistar 大鼠 30 只，截止到实验结束时(第 80 天)，模型组有 2 只死亡，余 8 只存活。共 28 只进入结果分析。

2.2 大鼠骨髓间充质干细胞形态学观察 全骨髓接种 24 h 后可见部分细胞贴壁，此时换液将未贴壁的细胞除去。48~72 h 后贴壁细胞明显增多，逐渐伸展成为梭形、多角形；3~5 d 可见小的集落形成；原代培养中，细胞贴壁生长是以分散的、克隆集落方式增殖。10~16 d，相邻集落融合成片达 80%以上，集落间可出现重叠。

传代培养的细胞于 2~4 h 开始贴壁，24 h 内完全贴壁，形态与原代细胞相似，但增殖速度明显增快，生长 3~5 d 即达融合，传代后间充质干细胞呈均匀分布的平均生长，第 3 代以后，细胞形态开始呈比较均一的成纤维状。连续传 6 代，细胞形态无明显变化，说明骨髓间充质干细胞得到了进一步的纯化，见图 1。



Figure 1 Morphology of bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs)

图 1 骨髓间充质干细胞形态学观察

2.3 骨髓间充质干细胞表面标志分子鉴定 流式细胞仪检测结果显示，CD90 阳性细胞为 96.25%；CD44 阳性细胞数为 99.02%；CD34 阴性细胞为 98.34%；CD11b/c 阴性细胞数为 85.02%，证明间充质干细胞纯度较高，见图 2。

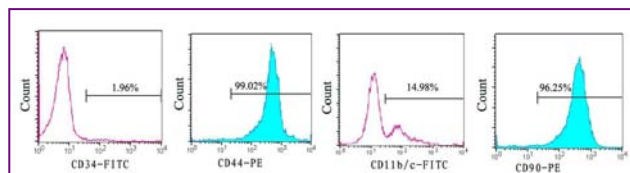


Figure 2 Surface molecular markers in bone marrow mesenchymal stem cells identified by flow cytometry

图 2 流式细胞仪检测骨髓间充质干细胞表面标志分子表达

2.4 大体病理观察 假手术组胰腺外观正常，无充血、肿大及增生；模型组胰腺明显肿胀增厚，质地较硬，有多处黄色病灶，胆胰管显著扩张，十二指肠系膜缘血管充血显著；间充质干细胞治疗组胰腺较假手术组明显增厚、充血明显，但较模型组显著减轻，胆胰管无明显扩张，见图 3。

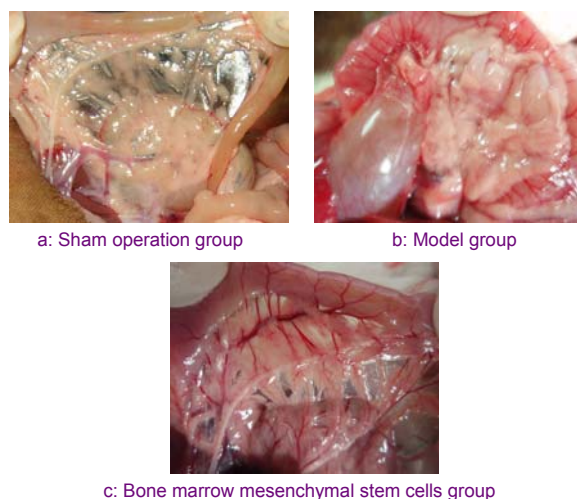


Figure 3 Gross pathology of the pancreatic gland of rats in each group

图 3 各组胰腺大体病理表现

2.5 病理组织学观察及病理评分 假手术组胰腺组织小叶结构基本正常，胰岛结构正常，腺泡和导管基本正常；模型组胰腺组织中胰腺小叶腺泡和导管基本消失，大量纤维组织增生，大量嗜中性粒细胞和淋巴细胞浸润；间充质干细胞治疗组胰腺组织中可见正常片状胰腺小叶腺泡和导管，间质纤维化较轻，炎细胞浸润程度较模型组减轻，见图 4。

各组胰腺组织病理评分见表 1。

2.6 各组胰腺组织结缔组织生长因子、转化生长因子 β 、I、III型胶原及髓过氧化物酶水平 见表 2。

与假手术组比，模型组结缔组织生长因子、转化生长因子 β 、I、III型胶原、髓过氧化物酶活性显著增高

($P < 0.01$); 与模型组比, 间充质干细胞治疗组结缔组织生长因子、转化生长因子 β 、I、III型胶原水平、髓过氧化物酶活性显著降低($P < 0.01$)。

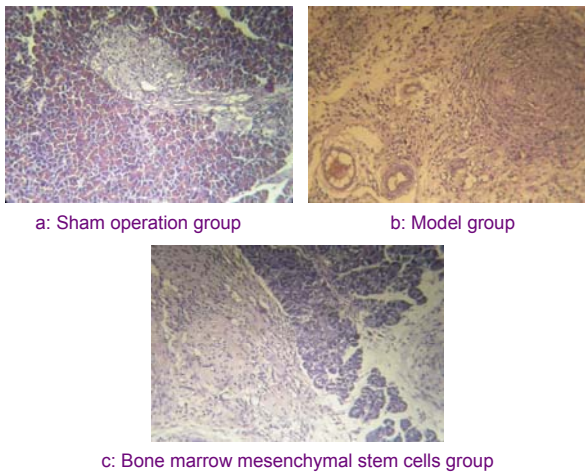


Figure 4 Histopathological examination in pancreatic gland in different groups (Hematoxylin-eosin staining, $\times 40$)
图 4 各组胰腺病理组织学检查(苏木精-伊红染色, $\times 40$)

表 1 各组胰腺组织病理学评分
Table 1 Histopathological scores of pancreatic tissue in all groups ($\bar{x} \pm s$, point)

Group	n	Pathological injury	Fibrosis
Sham operation	10	0	0
Model	8	8.54 ± 2.41^a	2.35 ± 0.68^a
Bone marrow mesenchymal stem cells	10	2.34 ± 0.53^b	0.68 ± 0.21^b

^a $P < 0.01$, vs. sham operation group; ^b $P < 0.01$, vs. model group

表 2 各组胰腺组织结缔组织生长因子、转化生长因子 β 、I、III型胶原及髓过氧化物酶水平
Table 2 Pancreatic connective tissue growth factor (CTGF), transforming growth factor β (TGF- β), type I, type III collagen and myeloperoxidase (MPO) levels in all groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	CTGF (ng/g)	TGF- β (ng/g)	Type I collagen (ng/g)
Sham operation	10	0.023 ± 0.004	0.010 ± 0.002	0.058 ± 0.010
Model	8	0.288 ± 0.015^a	0.052 ± 0.009^a	0.258 ± 0.043^a
Bone marrow mesenchymal stem cells	10	0.118 ± 0.019^b	0.021 ± 0.006^b	0.132 ± 0.033^b

Group	n	Type III collagen (mg/g)	MPO ($\times 16.67$ nkat/g)
Sham operation	10	0.015 ± 0.005	6.50 ± 1.67
Model	8	0.069 ± 0.009^a	36.84 ± 8.50^a
Bone marrow mesenchymal stem cells	10	0.030 ± 0.008^b	17.34 ± 3.50^b

^a $P < 0.01$, vs. sham operation group; ^b $P < 0.01$, vs. model group

3 讨论

慢性胰腺炎是目前公认的难治性疾病。它是指由各种原因引发胰腺实质的节段性或弥漫性进展的慢性炎

症, 其缓慢发展的病变最终可引起胰腺坏死、纤维化, 腺泡和胰岛细胞萎缩消失, 导致胰腺结构破坏和胰腺内、外分泌功能不全。持续性胰腺腺泡细胞被结缔组织替代最终导致纤维化是慢性胰腺炎的主要病理变化。

慢性胰腺炎治疗非常复杂, 不同治疗手段各有利弊^[30-33]。治疗主要着眼于控制腹痛, 解除胰管梗阻, 纠正消化不良及并发症的控制, 保护残存的胰腺功能。手术对缓解慢性胰腺炎患者顽固性疼痛效果较好, 但对内外分泌功能不全的改善不尽如人意, 长期病死率仍较高。实际上很多慢性胰腺炎患者胰腺呈弥漫性慢性炎症病变, 并不适合手术治疗, 因此, 寻找能够延迟或预防胰腺实质和功能损害的治疗新方法仍是今后研究工作的主要方向。

近年, 有学者在骨髓间充质干细胞对胰腺损伤修复方面进行了初步研究^[23-24]。例如有研究应用核染料 Hoechst33258 标记 SD 大鼠的自体骨髓间充质干细胞, 并回输到急性胰腺炎和正常大鼠的骨髓腔中。结果发现, 造模后 2 周, 标记的间充质干细胞即可出现在正常胰腺组织和损伤胰腺组织中, 在正常胰腺组织中偶见, 而在损伤胰腺组织中多见, 提示自体骨髓间充质干细胞可参与胰腺的生理更新和病理再生, 特别是在胰腺损伤修复中发挥重要作用。另有研究通过移植骨髓间充质干细胞的方法治疗 L-精氨酸诱导的重型胰腺炎, 结果治疗组 48 h 和 72 h 测得的血淀粉酶水平明显低于对照组, 病理检查结果显示治疗组胰腺损伤程度亦轻于对照组, 提示骨髓间充质干细胞有助于减轻重型胰腺炎病情, 为治疗重型胰腺炎提供了新的方法。

因此, 可以设想, 在临床治疗中, 利用骨髓(或脐带)间充质干细胞可体外大量培养扩增, 并且取材方便、创伤性小、不受伦理道德和移植免疫排斥的影响等优点, 可在胰腺病理损伤和损伤修复中发挥重要作用。

本实验采用体外培养、扩增的骨髓间充质干细胞对慢性胰腺炎大鼠进行 3 次间充质干细胞移植治疗, 大体及病理组织学检查均显示胰腺损伤程度及纤维化程度显著减轻; 标志胰腺组织纤维化的指标结缔组织生长因子、转化生长因子 β 、I 型胶原、III型胶原均显著降低; 同时反映胰腺组织内炎症反应的指标——髓过氧化物酶也显著降低。

关于骨髓间充质干细胞治疗慢性胰腺炎的机制, 推测有以下几点: ①骨髓间充质干细胞作为“种子”细胞可定植于慢性胰腺炎受损的胰腺并可转化成为胰腺“靶组织细胞”胰腺干细胞、导管细胞、腺泡细胞、胰岛(样)细胞而发挥组织修复作用。②骨髓间充质干细胞除直接转化为“靶组织细胞”起到组织修复作用外, 还可通过旁/自分泌方式分泌多种生物活性分子(如干细胞特异性生长因子等), 拮抗炎症因子的释放和病理作用、抑制诸如胰腺星状细胞的活化而起到促进组织修复、改善组织

器官功能。③骨髓间充质干细胞可通过发挥其免疫调节作用(可通过旁/自分泌方式),抑制T淋巴细胞、抑制细胞毒性T淋巴细胞和自然杀伤细胞等而起到减轻病变胰腺组织内免疫炎症反应的治疗作用。

综上所述,本实验初步证实了间充质干细胞对慢性胰腺炎大鼠的治疗价值,但其治疗机制还需进一步的研究,以期骨髓间充质干细胞今后可能的临床应用提供重要理论依据。

4 参考文献

- [1] Diaconu B. Risk factors in chronic pancreatitis. Rom J Intern Med. 2009;47(1):3-8.
- [2] DiMagno MJ, DiMagno EP. Chronic pancreatitis. Curr Opin Gastroenterol. 2009;25(5):454-459.
- [3] Pezzilli R. Etiology of chronic pancreatitis: has it changed in the last decade? World J Gastroenterol. 2009;15(38):4737-4740.
- [4] Behrman SW, Fowler ES. Pathophysiology of chronic pancreatitis. Surg Clin North Am. 2007;87(6):1309-1324.
- [5] Witt H, Apte MV, Keim V, et al. Chronic pancreatitis: challenges and advances in pathogenesis, genetics, diagnosis, and therapy. Gastroenterology. 2007;132(4):1557-1573.
- [6] Talukdar R, Saikia N, Singal DK, et al. Chronic pancreatitis: evolving paradigms. Pancreatol. 2006;6(5):440-449.
- [7] Dite P. Chronic pancreatitis—a disease we can treat but cannot cure. Vnitr Lek. 2004;50(Suppl 1):S98-102.
- [8] Guhathakurta S, Subramanyan UR, Balasundari R, et al. Stem cell experiments and initial clinical trial of cellular cardiomyoplasty. Asian Cardiovasc Thorac Ann. 2009;17(6):581-586.
- [9] Venkataramana NK, Kumar SK, Balaraju S, et al. Open-labeled study of unilateral autologous bone-marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation in Parkinson's disease. Transl Res. 2010;155(2):62-70.
- [10] Tay CY, Yu H, Pal M, et al. Micropatterned matrix directs differentiation of human mesenchymal stem cells towards myocardial lineage. Exp Cell Res. 2010;316(7):1159-1168.
- [11] Yang YJ, Qian HY, Huang J, et al. Combined therapy with simvastatin and bone marrow-derived mesenchymal stem cells increases benefits in infarcted swine hearts. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2009;29(12):2076-2082.
- [12] Battilwalla M, Hematti P. Mesenchymal stem cells in hematopoietic stem cell transplantation. Cytotherapy. 2009;11(5):503-515.
- [13] Huang NF, Lam A, Fang Q, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells in fibrin augment angiogenesis in the chronically infarcted myocardium. Regen Med. 2009;4(4):527-538.
- [14] Lee PH, Park HJ. Bone marrow-derived mesenchymal stem cell therapy as a candidate disease-modifying strategy in Parkinson's disease and multiple system atrophy. J Clin Neurol. 2009;5(1):1-10.
- [15] Glavaski-Joksimovic A, Virag T, Chang QA, et al. Reversal of dopaminergic degeneration in a parkinsonian rat following micrografting of human bone marrow-derived neural progenitors. Cell Transplant. 2009;18(7):801-814.
- [16] Bahat-Stroomza M, Barhum Y, Levy YS, et al. Induction of adult human bone marrow mesenchymal stromal cells into functional astrocyte-like cells: potential for restorative treatment in Parkinson's disease. J Mol Neurosci. 2009;39(1-2):199-210.
- [17] Barzilay R, Ben-Zur T, Bulvik S, et al. Lentiviral delivery of LMX1a enhances dopaminergic phenotype in differentiated human bone marrow mesenchymal stem cells. Stem Cells Dev. 2009;18(4):591-601.
- [18] Abdallah BM, Kassem M. The use of mesenchymal stem cells for treatment of degenerative diseases: current status and future perspectives. J Cell Physiol. 2009;218(1):9-12.
- [19] Gan Y, Dai K, Zhang P, et al. The clinical use of enriched bone marrow stem cells combined with porous beta-tricalcium phosphate in posterior spinal fusion. Biomaterials. 2008;29(29):3973-3982.
- [20] Kassem M, Abdallah BM. Human bone-marrow-derived mesenchymal stem cells: biological characteristics and potential role in therapy of degenerative diseases. Cell Tissue Res. 2008;331(1):157-163.
- [21] Yang F, Leung VY, Luk KD, et al. Mesenchymal stem cells arrest intervertebral disc degeneration through chondrocytic differentiation and stimulation of endogenous cells. Mol Ther. 2009;17(11):1959-1966.

- [22] Li ZS. Weichangbingxue. 2007;12(3):129-131.
李兆申.干细胞与重症急性胰腺炎[J].胃肠病学, 2007, 12(3): 129-131.
- [23] Jia Z, Feng GH. Yixue Yanjiu Zazhi. 2008;37(8):22-24.
贾忠, 封光华.骨髓间充质干细胞移植对重症急性胰腺炎早期炎症级联反应的调控机制[J].医学研究杂志, 2008, 37(8): 22-24.
- [24] Jiang XL, Li ZS, Cui HF. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi. 2006;14(4):398-340.
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): 398-340.
- [25] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance suggestion of caring laboratory animals. 2006-09-30.
中华人民共和国科学技术部.关于善待实验动物的指导性意见. 2006-09-30.
- [26] Zhao ZZ, Sun SM, Yuan Y, et al. Anhui Yiyao. 2008;12(1):13-14.
赵战朝, 孙绍梅, 袁咏, 等.油酸诱导慢性胰腺炎大鼠肝脏细胞GLUT2蛋白表达的改变[J].安徽医药, 2008, 12(1): 13-14.
- [27] Luo ZJ, Liu JG, Liu CJ, et al. Zhongguo Laonianxue Zazhi. 2008;28(8):752-754.
罗宗键, 刘建国, 刘长剑, 等.大鼠骨髓间充质干细胞体外分离培养及生物学特性研究[J].中国老年学杂志, 2008, 28(8): 752-754.
- [28] Liu XQ, Yang ZL, Liang S. Shiyong Yufang Yixue. 2007;14(3):682-685.
柳兴其, 样竹林, 梁珊.DBTC诱导SD大鼠慢性胰腺炎及血清AMS、TNF- α 含量测定[J].实用预防医学, 2007, 14(3): 682-685.
- [29] Su SB, Li YQ, Shen HY, et al. Zhongxiyi Jiehe Xuebao. 2006;4(4):358-362.
苏式兵, 李益群, 沈红艺, 等.中药对大鼠自发性慢性胰腺炎的干预作用及其方证病态基础[J].中西医结合学报, 2006, 4(4): 358-362.
- [30] Vardanyan M, Rilo HL. Pathogenesis of chronic pancreatitis-induced pain. Discov Med. 2010;9(47):304-310.
- [31] Stroescu C, Dima S, Scarlat A, et al. Surgical treatment of chronic pancreatitis—a 14 years experience. Chirurgia (Bucur). 2010;105(1):21-30.
- [32] Keck T, Wellner UF, Riediger H, et al. Long-term outcome after 92 duodenum-preserving pancreatic head resections for chronic pancreatitis: comparison of Beger and Frey procedures. J Gastrointest Surg. 2010;14(3):549-556.
- [33] Andersen DK, Frey CF. The evolution of the surgical treatment of chronic pancreatitis. Ann Surg. 2010;251(1):18-32.

来自本文课题的更多信息—

利益冲突: 无利益冲突。

课题的意义: 骨髓间充质干细胞以其自我更新、多向分化潜能以及独特的低免疫原性和免疫调节等作用为慢性胰腺炎提供一种全新的治疗方法, 可能在胰腺组织修复中有重要价值, 目前此领域的研究尚处于初始阶段, 缺乏对其具体机制及存在问题的深入研究, 实验通过经体外培养、扩增的骨髓间充质干细胞对慢性胰腺炎大鼠进行治疗, 旨在观察其对慢性胰腺炎受损胰腺组织的修复作用并探讨作用机制。

课题评估的“金标准”: 慢性胰腺炎大鼠模型及慢性胰腺炎病理组织学评分有文献依据, 为学术界公认标准。

设计或课题的偏倚与不足: 慢性胰腺炎在人类是一种慢性迁延性疾病, 并且病因复杂, 而以化学法制作的动物模型原因单一, 而且只能模拟很短的一段病变时期, 这也是模型局限性所在。本实验是否能应用于人类还需要深入研究。

提供临床借鉴的价值: 骨髓(或脐带)间充质干细胞移植已在临床治疗中应用, 安全性是有保证的, 加之其在体外大量培养扩增, 并且取材方便、创伤性小、不受伦理道德和移植免疫排斥的影响等优点, 可能在胰腺病理损伤和损伤修复中发挥重要作用。