

干细胞治疗2型糖尿病及其并发症的可行性☆

王颜刚, 于江苏

青岛大学医学院
附属医院内分泌科,
山东省青岛市
266003王颜刚☆, 男, 山东
省青岛市人, 汉族,
2006年毕业于中
国科技大学同济医
学院, 主任医师, 主
要从内分泌与代谢
病研究。
wangyg1966@
yahoo.com.cn中图分类号:R318
文献标识码:B
文章编号:2095-4344
(2012)49-09276-07收稿日期:2012-03-02
修回日期:2012-03-05
(20120129002/G·S)Department of
Endocrinology,
Hospital Affiliated to
Medical College of
Qingdao University,
Qingdao 266003,
Shandong Province,
ChinaWang Yan-gang☆,
M.D., Chief
physician,
Department of
Endocrinology,
Hospital Affiliated to
Medical College of
Qingdao University,
Qingdao 266003,
Shandong Province,
China
wangyg1966@
yahoo.com.cnReceived: 2012-03-02
Accepted: 2012-03-05

文章亮点: 干细胞通过多种途径可促进胰岛 β 细胞的存活和再生, 减少凋亡, 达到治疗 2 型糖尿病的目的。而且还通过多向分化及释放旁分泌因子的方式治疗糖尿病心肌病、神经病变等并发症。其中成体干细胞, 尤其是间充质干细胞由于取材方便、免疫原性低、无伦理争议等优点, 更适合作为种子细胞, 将成为今后治疗 2 型糖尿病及其并发症的研究重点。

关键词: 干细胞; 间充质干细胞; 糖尿病; 并发症; 治疗

摘要

背景: 2 型糖尿病药物治疗有效, 但病情仍不断进展。近年来, 干细胞尤其间充质干细胞治疗 2 型糖尿病及其并发症倍受关注, 并在基础及临床开展了一系列研究。

目的: 总结分析近年来干细胞在治疗 2 型糖尿病及其并发症方面取得的进展, 为今后的临床研究提供方向。

方法: 由第一作者应用计算机检索 PubMed 数据库 1981 年 1 月至 2012 年 1 月有关干细胞治疗 2 型糖尿病及并发症的相关文章, 英文检索词为 “diabetic mellitus, stem cells, mesenchymal stem cells, complication, therapy”。排除重复性研究, 共保留 57 篇文献进行综述。

结果与结论: 干细胞通过多种途径促进胰岛 β 细胞的存活和再生, 减少凋亡, 达到治疗 2 型糖尿病的目的。而且还通过多向分化及释放旁分泌因子的方式治疗糖尿病心肌病、神经病变等并发症。其中成体干细胞, 尤其是间充质干细胞由于取材方便、免疫原性低、无伦理争议等优点, 更适合作为种子细胞, 成为目前及今后治疗 2 型糖尿病及其并发症的研究重点。

Stem cells therapy for treatment of diabetic mellitus and complications

Wang Yan-gang, Yu Jiang-su

Abstract

BACKGROUND: Type 2 diabetes mellitus can be effectively treated by drugs, but it still continues to progress. Recently, stem cells in particular mesenchymal stem cells for treatment of type 2 diabetes mellitus have been paid increasing attention, and a series of basic and clinical studies have been made.

OBJECTIVE: To summarize and analyze the research progress in stem cells therapy for treatment of type 2 diabetes mellitus and complications, which provide direction for future clinical studies.

METHODS: A computer-based online retrieval was performed by the first author in PubMed database for searching the papers describing stem cells therapy for treatment of type 2 diabetes mellitus and the complications published between January 1981 and January 2012 in English with the key word “diabetic mellitus, stem cells, mesenchymal stem cells, complication, therapy”. Repetitive studies were excluded and 57 papers were included in the final analysis.

RESULTS AND CONCLUSION: Stem cells can be used to treat type 2 diabetes mellitus by promoting pancreatic β -cell survival and regeneration and reducing apoptosis. Furthermore, stem cells can also be used to treat the complications of type 2 diabetes mellitus including diabetic cardiomyopathy and neuropathy. Adult stem cells, in particular mesenchymal stem cells, are more suitable for use as seed cells because of convenient harvest, low immunogenicity and no ethical disputes, and become the focus for current and future studies regarding treatment of type 2 diabetes mellitus and complications.

Wang YQ, Yu JS. Stem cells therapy for treatment of diabetic mellitus and complications. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(49):9276-9282.

0 引言

糖尿病及其并发症的防治给各国造成了严重的经济负担和社会压力, 其防治已经成为刻不容缓的任务。在传统药物治疗的基础上, 近年来随着干细胞提取、分离及特性的研究, 在糖尿病及并发症的治疗上开展了系列基础及临床研究。本文通过对近 10 年来干细胞治疗糖尿病及并发症方面的研究成果进行归纳、分析, 以期为以后的深入研究提供方向。

1 资料和方法

1.1 资料来源 由第一作者检索 1981 至 2012 年 PubMed 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)。英文检索词为“diabetic mellitus, stem cells, mesenchymal stem cells, complication, therapy”。检索研究原著总计 96 篇。

1.2 纳入标准 干细胞治疗 2 型糖尿病及其并发症研究的一次文献。

1.3 排除标准 重复性研究。

1.4 数据的提取 计算机初检得到 96 篇文献, 阅读标题和摘要进行初筛, 排除因研究目的与本文无关及内容重复的研究 39 篇, 共保留其中的 57 篇归纳总结。

1.5 质量评估 符合纳入标准的 57 篇文献中, 文献 [1-9] 探讨了干细胞治疗糖尿病的机制, 文献 [10-36] 探讨了干细胞治疗糖尿病方面的研究及不足, 文献 [37-57] 探讨了干细胞治疗糖尿病并发症方面的研究及不足。

2 结果

2.1 干细胞治疗糖尿病原理 荟萃近来研究, 干细胞治疗糖尿病的可能机制为: ①在局部微环境作用下, 通过横向机制跨胚层分化为胰岛 β 细胞。骨髓间充质干细胞转染细胞发育途径中的关键转录因子 PDX-1, 或采用含有神经分化因子等的 4 步分化方案, 可促进间充质干细胞横向分化为有功能的胰岛样细胞^[1-2]。②分泌许多促血管新生因子如肝细胞生长因子、血管内皮生长因子 A, 分化为成熟的血管内皮细胞, 促进胰岛血管形成, 增加局部氧供及营养成分, 并为 β 细胞提供一微环境, 诱导胰岛发育期间的胰岛素基因的表达, 促进 β 细胞的增生^[3]。③能分泌一些营养因子,

如肝细胞生长因子、白细胞介素 6、血管内皮生长因子 A 和转化生长因子 β , 减少 β 细胞凋亡, 维持其存活及功能^[3]。④胰岛 β 细胞受损时, 体内还可能还存在内源性干细胞的修复。研究发现成年小鼠胰腺内存在内源性干细胞, 受损条件下, 能激活转录因子 NGN3, 促使胰腺组织内源性干细胞发育为有功能的细胞。⑤干细胞移植后能分布到淀粉样物质周围, 分泌蛋白水解酶(如胰岛素降解酶、脑啡肽酶、基质金属蛋白酶 9 和纤维蛋白溶解酶原)降解 β 淀粉样物质, 促进 β 淀粉样物质的清除及吞噬, 并分泌一些神经营养因子, 减轻其毒性^[4-5], 减少胰岛 β 细胞的凋亡。⑥能通过体内高水平的谷氨酰胺合成酶 x, 促进超氧化物歧化酶 1、超氧化物歧化酶 2、过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶 1 的高表达和活性增加, 有效清除过氧化物和过氧硝酸盐, 还能表达高水平的蛋氨酸基亚砷还原酶 A, 促进蛋白质氧化损伤的修复, 减轻氧化应激对组织的损伤^[6]。⑦能减少树突细胞白细胞介素 10、白细胞介素 12、 γ -干扰素、肿瘤坏死因子 α 的分泌, 抑制树突细胞的成熟和 B、T 淋巴细胞的增殖、分化, 增加 T 细胞抗炎因子白细胞介素 4 的产生, 加强抑制性 T 调节细胞的作用, 减弱自然杀伤细胞的作用, 发挥抗炎作用, 减轻对胰岛 β 细胞的破坏^[7-8]。⑧可能存在胰外降糖作用。Ho 等^[9]在间充质干细胞移植治疗大鼠肝脏发现了肝脏中央静脉周围约 50% 人细胞胰岛素表达阳性, 提示间充质干细胞可在体内其他组织器官分化为胰岛素分泌细胞, 从而降低血糖。

2.2 干细胞治疗糖尿病基础与临床研究

2.2.1 胚胎干细胞 胚胎干细胞源于囊胚内细胞团和桑椹胚之前的早期胚胎, 是一种全能干细胞, 能在体内分化为内、中、外 3 个胚层的细胞, 随后可再分化为机体各种组织器官的特定细胞。

胚胎干细胞是目前研究最广泛、最成熟的干细胞体系, 现已能在体外成功分离、培养, 并诱导为胰岛素分泌细胞。1981 年人们首先从小鼠中分离出了胚胎干细胞, 并在体外培养成功^[10]。1998 年 Thomason 等^[11]首次建立了 5 个人胚胎干细胞系, 2001 年 Assady 等^[12]首次报道人胚胎干细胞所形成的拟胚体中有 1%-3% 细胞胰岛素染色阳性, 证实人胚胎干细胞可分化为胰岛素分泌细胞。为了获得较高比例的胰岛素分泌细胞, 人们采取了多种体外定向诱导分化的策略, 包括将胰岛发育的转录调控因子导入到胚胎干细胞, 添加各种生物因子或小分子, 模拟体内胰岛的发育过程等方法, 诱导胚胎干细胞定向分化为胰岛素分

泌细胞。Soria 等^[13]通过人胰岛素/Bgeo 基因和 pGK-hygr 基因转染小鼠胚胎干细胞, 诱导其分化为胰岛素分泌细胞。2006 年 D'Amour 等^[14]采用改良的 5 步法体外诱导定向分化方案(即人胚胎干细胞→定型内胚层→肠管内胚层→胰腺内胚层和内分泌前体细胞→表达激素的内分泌细胞)可将人胚胎干细胞诱导分化为能够产生胰岛素、胰高糖素、生长抑素、胰多肽及 Ghrelin 的胰腺内分泌细胞, 将诱导方案中胰腺内胚层阶段的细胞移植到糖尿病小鼠体内后, 移植细胞可在体内进一步分化成熟, 这些移植细胞在特异性转录因子表达、胰岛素原加工、成熟分泌颗粒等方面表现出功能性胰岛 β 细胞的特征, 不仅能分泌胰岛素和 C 肽, 而且可发挥明显的降血糖效应^[15], 进一步证实胚胎干细胞可以在体外分化为胰岛素分泌细胞。

目前, 已经证实人胚胎干细胞可以在体外大量扩增, 并诱导分化为胰岛样细胞, 为糖尿病患者的细胞替代治疗提供了来源, 但距离临床应用还有一定距离, 存在以下几个问题: ①诱导分化效率低且不稳定。②分化细胞的成熟度低。③患者对人胚胎干细胞分化的各种细胞和组织存在免疫排斥反应。

2.2.2 诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs) 2006 年 Takahashi 等^[16]将 Oct4、Sox2、Klf4、c-Myc4 个转录因子导入已分化的小鼠皮肤成纤维细胞, 获得了类似胚胎干细胞的多能性干细胞, 并将其命名为诱导多能干细胞。2007 年美国和日本两个研究小组分别宣布独立获得了人类诱导多能干细胞^[17-18]。目前建立的诱导多能干细胞与胚胎干细胞在许多生物学特征方面存在高度的相似性, 包括细胞形态、生长特性、表面标志物、DNA 甲基化、基因谱表达、可发育为 3 个胚层细胞的能力等。

由于诱导多能干细胞与胚胎干细胞具有极大的相似性及胚胎干细胞定向分化研究的积累, 诱导多能干细胞的应用基础研究迅速开展。Alipio 等^[19]将小鼠皮肤成纤维细胞制备的诱导多能干细胞诱导分化为胰岛素分泌细胞, 并经肝脏门静脉注入 2 型糖尿病小鼠体内, 提高了胰岛素分泌水平, 改善了小鼠的高血糖状态, 糖化血红蛋白水平趋于正常。2009 年 Zhang 等^[20]将人类诱导多能干细胞诱导分化为胰岛素分泌细胞, 胰岛素染色阳性细胞比例高达 25%。然而, 人类诱导多能干细胞来源的胰岛素分泌细胞移植到糖尿病动物模型体内是否具有降糖作用需要进一步研究。

诱导多能干细胞解决了胚胎干细胞研究的伦理争议和免疫排斥问题, 使干细胞研究的来源不再受

限, 在糖尿病领域的应用基础研究中显示出良好的前景, 但距离最终的临床应用还有很长的路要走。目前存在的问题主要包括: 不同的诱导多能干细胞系之间可能存在定向分化能力的差异, 诱导效率低、诱导周期长, 诱导多能干细胞分化而来的胰岛样细胞用于临床治疗的安全性尚不清楚等。

2.2.3 成体干细胞 成体干细胞是存在于机体某个组织或器官中的干细胞, 包括骨髓干细胞、神经干细胞、脂肪干细胞、脐血/带干细胞等, 能在一定条件下分化为特定类型的细胞。成体干细胞获取方便、移植后不存在免疫排斥, 是目前干细胞研究的重点。

间充质干细胞作为成体干细胞中的一种, 是多潜能、自我更新细胞, 几乎能在出生后的所有器官和组织中找到, 主要功能特征是免疫调节能力、自我更新及向中胚层器官组织分化的能力, 能分泌许多营养因子和免疫调节因子, 成为治疗糖尿病及并发症的一种很有潜力、新的治疗方法。

骨髓干细胞: 骨髓干细胞是一种被广泛研究和应用的成体干细胞, 包括造血干细胞、间充质干细胞、内皮祖细胞等多种干细胞亚群, 具有多向分化的潜能^[21]。近年来, 骨髓间充质干细胞被证明具有向多种细胞分化的能力, 成为干细胞研究的一个重点。

体外研究和动物实验显示, 骨髓来源的干细胞在体外和体内均可分化为胰岛素分泌细胞, 这些细胞具有类似胰岛的形态结构, 可表达胰岛素、胰高糖素等胰岛特异性基因产物, 具有成熟 β 细胞的超微结构, 存在葡萄糖刺激的胰岛素分泌反应, 移植后具有降血糖效应^[22-23]。2007 年 Sun 等^[24]将 10 例(1 型糖尿病、2 型糖尿病各 5 例)糖尿病患者的骨髓间充质干细胞, 通过 3 阶段方案诱导为胰岛素分泌细胞, 能表达 PDX-1、胰岛素、胰高糖素, 并能在葡萄糖刺激下分泌胰岛素。Xie 等^[25]将人骨髓间充质干细胞诱导分化为胰岛素分泌细胞后, 移植到链脲佐菌素诱导的糖尿病裸鼠模型体内后, 能改善血糖。2011 年 Ho 等^[9]将人骨髓间充质干细胞多次静脉移植到链脲佐菌素诱导糖尿病鼠体内后, 改善了血糖, 降低了全身氧化应激水平, 从第 11 周起人胰岛素生成明显增加, 6 个月末结束时, 组织病理检查发现肝脏组织, 尤其是在中央静脉周围约 51% 细胞表达人胰岛素, 指出其可能在长期降糖上发挥作用。以上研究为骨髓间充质干细胞在临床上的应用提供了依据。

骨髓干细胞已经在临床上开始应用来治疗糖尿病, 证实了具有在体内分化为胰岛素分泌细胞, 降低

血糖的能力。Bhansali 等^[26]选择了 5 年以上的 10 例 2 型糖尿病患者, 应用胰岛素 0.7 U/(kg·d) 1 年以上, 经胃十二指肠动脉注入自体骨髓干细胞。6 个月后随访时发现, 有 7 例患者胰岛素剂量减少了 75%, 3 例能持续或短时间脱离胰岛素; 平均糖化血红蛋白水平下降了 1%; 空腹和高糖刺激后 C 肽水平明显改善。Estrada 等^[27]应用自体骨髓干细胞胰腺移植联合高压氧治疗了 25 例 2 型糖尿病患者, 1 年后随访时空腹血糖、糖化血红蛋白、胰岛素需要量明显减少, 空腹 C 肽和 C 肽/血糖比也得到了改善。以上结果说明, 自体骨髓干细胞治疗能够改善 2 型糖尿病患者血糖控制、C 肽水平, 减少胰岛素的剂量。但作者也呼吁结果需要多样本随机对照临床试验来进一步证实。

自体骨髓干细胞治疗糖尿病在动物实验和小规模临床试验中均已取得了初步成果。然而, 在临床研究中还存在一些问题: ①各研究中心采集骨髓干细胞的方法不同, 导致各中心临床疗效的评价难以比较。②干细胞输注的部位不同, 胰腺动脉内输注可能更有效地促进干细胞归巢至胰腺。③某些临床试验存在若干的混杂因素, 影响了对骨髓干细胞治疗作用的评价。④目前临床试验的样本量偏小, 远期疗效和安全性尚不明确。

脐带/脐血来源干细胞: 脐带中含有大量的原始干细胞, 具有自我更新和多向分化潜能, 能分泌许多细胞因子, 发挥免疫调节功能, 且来源丰富、取材方便, 作为种子细胞更合适。

体外研究和动物实验证实, 脐带干细胞也具有在体外和体内均具有分化为具有胰岛素分泌细胞的能力^[28-30], 结构及特性均与胰岛 β 细胞相似。2008 年 Gao 等^[28]在体外成功将人脐血间充质干细胞分化为胰岛素分泌细胞, 能表达胰腺 β 细胞的标记(包括胰岛素、胰高血糖素、Glut-2、PDX-1、Pax-4 和 Ngn-3)。Parekh 等^[31]将人脐带血中分离的单个核细胞在体外扩增后, 移植到 NOD/SCID(无免疫活性)或 FVB/NJ(免疫活性)鼠体内, 9 周时能观察到 25% 的移植鼠胰岛素分泌细胞阳性。Kadam 等^[30]进一步证实人脐带间充质干细胞可在体外诱导为典型胰岛样簇, 胰岛素和胰高血糖素阳性, 在血糖刺激时能分泌胰岛素, 将典型胰岛样簇移植到链脲佐菌素诱导糖尿病模型鼠体内降低了血糖, 15 d 后实验性糖尿病得到逆转, 血糖低于 7.7 mmol/L 的水平。

胰腺干细胞: 胰腺干细胞是一类存在于胰腺组织, 具有干细胞标记(如巢蛋白、c-kit 等), 能进行自我更

新及向多种组织细胞分化。目前人们对胰腺干细胞的来源并不十分清楚, 大多数学者认为是由胰岛或胰腺导管细胞分化而来^[32]。

Noguchi 等^[33]采取密度梯度离心法从 8 周龄鼠的胰腺中分离出了胰腺干细胞, 能诱导分化为胰岛素分泌细胞。Zou 等^[34]首次从灵长类糖尿病动物模型的胰腺中分离和培养出了胰腺前体细胞, 在体外成功将这些前体细胞进行扩增和诱导分化为功能性胰岛细胞。Bonner-Weir 等^[35]将混合培养的成人胰导管上皮样干细胞诱导形成胰岛样细胞团。Gao 等^[36]将表达细胞角蛋白 19 的成人胰导管来源的干细胞诱导分化为胰岛样细胞, 这些细胞具有葡萄糖刺激的胰岛素分泌反应, 移植到裸鼠肾囊区可分化为胰腺内分泌细胞。以上研究为人胰腺干/祖细胞的分离、培养及临床应用提供了科学依据。

胰腺干细胞是胰岛细胞替代治疗的一个很有希望的方法, 然而要应用于临床还需要做许多工作, 包括寻找其特异性标志分子、最佳的扩增及诱导方案、最佳的移植部位等。

其他成体干细胞: 羊水及脂肪中存在大量的干细胞, 表型特性与其他来源的干细胞相似, 尽管尚未在糖尿病治疗方面开展研究, 但由于取材方便、创伤小、相对丰富、分离容易、增殖速度快、多潜能性、不依赖血源等优点, 将来可能会成为新的研究重点。

2.3 间充质干细胞治疗糖尿病慢性并发症 由于间充质干细胞具有多向分化潜能, 能分化为多种类型的细胞, 包括心肌细胞、血管内皮细胞、神经细胞、肝细胞、内皮细胞和脂肪细胞, 以及其自我更新和免疫调节能力, 使其成为治疗糖尿病并发症的一种有潜力的、新的治疗方法^[37]。

2.3.1 间充质干细胞治疗糖尿病心肌病 糖尿病心肌病指存在冠状动脉病变、瓣膜性心脏病或高血压的糖尿病患者发生的心室功能失调, 以微循环缺陷、心肌细胞坏死和凋亡、间质纤维化为主要病理特征^[38-39]。慢性高血糖是引起心肌重塑, 糖尿病心肌病进展的一个关键因素, 以心肌细胞的肥大和凋亡, 细胞外基质量及构成改变、抗原沉积增加为特征。另外, 基质金属蛋白酶 2 及基质金属蛋白酶 9 活性的改变也是促使糖尿病心肌病发生的因素之一, 其中基质金属蛋白酶 2 活性下降引起胶原沉积增加, 促凋亡因子基质金属蛋白酶 9 活性增加, 主要引起内皮细胞的凋亡、毛细血管密度的减少和心肌灌注的减少^[39-41]。

间充质干细胞治疗糖尿病心肌病主要是由于: ①

能分泌许多促血管生成、促有丝分裂和抗凋亡因子(包括血管内皮生长因子、胰岛素样生长因子 1、AM、肝细胞生长因子)来诱导心肌和血管生成。骨髓来源的鼠间充质干细胞移植后能在糖尿病心肌病鼠体内分化为心肌细胞, 促进心肌和血管的生成。而且, 基质金属蛋白酶 2 活性明显增加, 基质金属蛋白酶 9 活性增加, 增加了心肌小动脉的密度, 减少了抗原含量, 使心肌重塑减轻及心功能改善^[42]。②能释放一些旁分泌因子来保护心肌, 这些因子主要包括 FRP-2、Bcl-2、人热休克蛋白 20、血管内皮生长因子、肝细胞生长因子、AM 和间质来源因子等^[43]。越来越多的证据表明, 这些因子能促使心肌重塑、再生、新生血管形成, 改善心肌收缩及活力^[43-48]。③能分化为心肌细胞和血管内皮细胞, 增加心肌细胞数量和血管生成, 改善心肌血供, 从而改善心功能。

2.3.2 间充质干细胞治疗糖尿病肾病 糖尿病肾病指由供应肾脏肾小球的微血管病变引起的进行性的肾脏疾病^[50], 是糖尿病的一种并发症。

研究表明, 间充质干细胞治疗糖尿病肾病主要依据为: ①在损伤的肾脏中, 能分化为肾细胞和内皮细胞, 促使肾小球结构再生, 还能调节免疫反应, 从而改善肾功能, 有效治疗糖尿病肾病^[49-50]。②能清除细胞毒性分子或促进血管再生^[43-48], 减轻对肾脏的损害, 改善肾脏供血。③还可能由于其能分化为胰岛素分泌细胞, 降低血糖、尿糖及损害肾细胞的重要因子^[49]。

2.3.3 间充质干细胞治疗糖尿病多发性神经病变 糖尿病多发性神经病变, 是糖尿病患者最常见的并发症, 以神经纤维的损害为特征, 自发性的疼痛、痛觉过敏和感觉减退为主要症状。糖尿病多发性神经病变发生发展的主要原因是神经细胞变性和神经血流量的减少^[51]。

间充质干细胞可用来作为治疗糖尿病多发性神经病变的一种新的、有效的治疗方法, 主要是由于: ①能分泌碱性成纤维细胞生长因子和血管内皮生长因子, 增加肌纤维微血管比例, 改善痛觉过敏、神经纤维功能、运动神经传导速率、坐骨神经血流量、移植区轴突循环^[52]。②能分化为神经细胞, 如星形胶质细胞、少突胶质细胞和施万细胞, 然而糖尿病鼠间充质干细胞移植后是否存在尚未得到证实^[53]。

2.3.4 间充质干细胞治疗糖尿病创伤 由于生长因子生成减少、血管再生和胶原基质形成受损引起的长期、不能完全愈合的创伤, 可认为是糖尿病的一种并发症^[53-54]。糖尿病创伤的特征是血管生成减少,

存在大量的炎症浸润, 主要包括多形核白细胞和中性粒细胞的坏死组织的集聚^[53]。

全身和局部应用间充质干细胞均能促进糖尿病创伤的愈合, 主要机制为: ①能使创伤处胶原水平增加, 增加组织修复所需生长因子(转化生长因子 β 、角化细胞生长因子、表皮生长因子、血小板衍生生长因子、血管内皮生长因子), 这对于糖尿病创伤的愈合很关键^[55]。②能通过分化及融合促使损伤的上皮再生, 使糖尿病创伤愈合。③能提高创伤部位的微血管密度, 促进血管的再生及创伤愈合^[56]。

全身和局部应用间充质干细胞治疗对糖尿病创伤的愈合效果有所不同^[57]。局部应用间充质干细胞观察到更好的治疗效果, 可能是由于糖尿病皮肤中存在动静脉短路, 从而使全身应用的间充质干细胞向创伤处的迁移变得复杂^[57]。

2.3.5 间充质干细胞治疗的局限 目前有几个问题限制了间充质干细胞的治疗性应用。首先, 体内移植效果和分化受限是影响间充质干细胞应用的主要障碍。其次, 间充质干细胞分化为非治疗性间充质细胞系的潜力, 可能损害其治疗使用。再次, 间充质干细胞在体内可能存在恶性转化和细胞遗传畸变。

3 展望

干细胞是机体及其各种组织细胞的初始来源, 不仅具有自我更新、不断增殖和多向分化的潜能, 还有免疫调节、抗氧化应激、抗炎能力, 在医学应用上具有广泛的前景。目前所进行的研究中, 人胚胎干细胞由于面临伦理学争议和移植后的免疫排斥反应, 研究及应用上受到限制; 诱导多能干细胞具有与人胚胎干细胞相似的特点, 且避开了伦理学争议, 但距离临床应用还有很长的路要走; 成体干细胞由于取材方便、来源丰富、无伦理学争议及免疫排斥问题、成瘤风险低等优点, 研究较充分, 尤其是自体骨髓干细胞和脐带/血干细胞。脂肪组织、羊水干细胞等近年来也开始受到关注。

目前人们已成功将人胚胎干细胞和诱导多能干细胞诱导分化为胰岛素分泌细胞, 移植到动物模型体内后能分泌胰岛素, 降低血糖, 但尚未在临床上应用。成体干细胞除在体外诱导分化及动物模型研究上取得了相似的进展外, 骨髓干细胞和脐带/血干细胞已经开始在临床上小规模应用来治疗糖尿病及慢性并发症, 包括糖尿病心肌病变、糖尿病多发性神经病

变、糖尿病创伤等。本院已开始应用自体骨髓间充质细胞和脐带间充质干细胞治疗糖尿病及糖尿病下肢血管病变, 大多数患者在治疗后血糖得到了更好的控制, 胰岛功能得到了改善, 胰岛素剂量减少甚至脱离胰岛素, 下肢微血管生成增多, 缺血症状得到了改善。

尽管目前干细胞在基础研究及临床应用上取得了一些进展, 但仍有很多问题需要解决: ①如何更有效地诱导干细胞向胰岛样细胞分化。②干细胞治疗尤其间充质干细胞临床疗效及安全性评价尚需多中心、随机对照试验进一步来证实。③干细胞来源的胰岛样细胞用于治疗糖尿病的安全性。

4 参考文献

- [1] Li L, Li F, Qi H, et al. Coexpression of Pdx1 and beta cell insulin in mesenchymal stem cells could promote the differentiation of nestin-positive epithelium-like progenitors and pancreatic islet-like spheroids. *Stem Cells Dev.* 2008; 17(4):815-823.
- [2] Chang CF, Hsu KH, Chiou SH, et al. Fibronectin and pellet suspension culture promote differentiation of human mesenchymal stem cells into insulin producing cells. *J Biomed Mater Res A.* 2008;86(4):1097-1105.
- [3] Ciceri F, Piemonti L. Bone marrow and pancreatic islets: an old story with new perspectives. *Cell Transplant.* 2010; 19(12): 1511-1522.
- [4] Simard AR, Soulet D, Gowing G, et al. Bone marrow-derived microglia play a critical role in restricting senile plaque formation in Alzheimer's disease. *Neuron.* 2006;49(4):489-502.
- [5] Lee JK, Jin HK, Endo S, et al. Intracerebral transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells reduces amyloid-beta deposition and rescues memory deficits in Alzheimer's disease mice by modulation of immune responses. *Stem Cells.* 2010;28(2):329-343.
- [6] Valle-Prieto A, Conget PA. Conget. Human mesenchymal stem cells efficiently manage oxidative stress. *Stem Cells Dev.* 2010;19(12):1885-1893.
- [7] Waterman RS, Betancourt AM. Treating Chronic Pain with Mesenchymal Stem Cells: A Therapeutic Approach Worthy of Continued Investigation. *J Stem Cell Res Ther.* 2011 S2:001. doi:10.4172/2157-7633.
- [8] Iyer SS, Rojas M. Anti-inflammatory effects of mesenchymal stem cells: novel concept for future therapies. *Expert Opin Biol Ther.* 2008;8(5):569-581.
- [9] Ho JH, Tseng TC, Ma WH, et al. Multiple intravenous ransplantations of mesenchymal stem cells effectively restore long-term blood glucose homeostasis by hepatic engraftment and beta cell differentiation in streptozocin-induced diabetic mice. *Cell Transplant.* 2012;21(5):997-1009.
- [10] Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature.* 1981; 292: 154-156.
- [11] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science.* 1998; 282: 1145-1147.
- [12] Assady S, Maor G, Amit M, et al. Insulin production by human embryonic stem cells. *Diabetes.* 2001;50:1691-1697.
- [13] Soria B, Roche E, Berná G, et al. Insulin-secreting cells derived from embryonic stem cells normalize glycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes.* 2000;49(2): 157-162.
- [14] D'Amour KA, Bang AG, El iazer S, et al. Production of pancreatic hormone-expressing endocrine cells from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol.* 2006; 24: 1392-1401.
- [15] Kroon E, Martinson LA, Kadoya K, et al. Pancreatic endoderm derived from human embryonic stem cells generates glucose-responsive insulin-secreting cells in vivo. *Nat Biotechnol.* 2008; 26: 443-452.
- [16] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell.* 2006;126: 663-676.
- [17] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell.* 2007; 131: 861-872.
- [18] Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science.* 2007;318:1917-1920.
- [19] Alipio Z, Liao W, Roemer EJ, et al. Reversal of hyperglycemia in diabetic mouse models using induced-pluripotent stem (iPS)-derived pancreatic beta-like cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107:13426-13431.
- [20] Zhang D, Jiang W, Liu M, et al. Highly efficient differentiation of human ES cells and iPS cells into mature pancreatic insulin-producing cells. *Cell Res.* 2009; 19: 429-438.
- [21] Herzog EL, Chai L, Krause DS. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood.* 2003; 102: 3483-3493.
- [22] lanus A, Holz GG, Theise ND, et al. In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion. *J Clin Invest.* 2003; 111:843-850.
- [23] Zhao M, Amiel SA, Ajami S, et al. Amelioration of streptozotocin-induced diabetes in mice with cells derived from human marrow stromal cells. *PLoS One.* 2008;3:e2666.
- [24] Sun Y, Chen L, Hou XG, et al. Differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells from diabetic patients into insulin-producing cells in vitro. *Chin Med J (Engl).* 2007;120(9):771-776.
- [25] Xie QP, Huang H, Xu B, et al. Human bone marrow mesenchymal stem cells differentiate into insulin-producing cells upon microenvironmental manipulation in vitro. *Differentiation.* 2009;77(5):483-491.
- [26] Bhansali A, Upreti V, Khandelwal N, et al. Efficacy of autologous bone marrow-derived stem cell transplantation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Stem Cells Dev.* 2009; 18: 1407-1416.
- [27] Estrada EJ, Valacchi F, Nicora E, et al. Combined treatment of intrapancreatic autologous bone marrow stem cells and hyperbaric oxygen in type 2 diabetes mellitus. *Cell Transplant.* 2008; 17:1295-1304.
- [28] Gao F, Wu DQ, Hu YH, et al. In vitro cultivation of islet like cell clusters from human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells. *Transl Res.* 2008;151(6):293-302.

- [29] Prabakar KR, Domínguez-Bendala J, Molano RD, et al. Generation of glucose-responsive, insulin-producing cells from human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells. *Cell Transplant*. 2012;21(6):1321-1339.
- [30] Kadam SS, Bhonde RR. Islet neogenesis from the constitutively nestin expressing human umbilical cord matrix derived mesenchymal stem cells. *Islets*. 2010;2(2):112-120.
- [31] Parekh VS, Joglekar MV, Hardikar AA. Differentiation of human umbilical cord blood-derived mononuclear cells to endocrine pancreatic lineage. *Differentiation*. 2009;78(4):232-240.
- [32] Suen PM, Leung PS. Pancreatic stem cells: a glimmer of hope for diabetes? *JOP*. 2005; 6(5):422-424.
- [33] Noguchi H, Matsumoto S, Ueda M, et al. Method for isolation of mouse pancreatic stem cells. *Transplant Proc*. 2008;40(2):422-423.
- [34] Zou C, Suen PM, Zhang Y, et al. Isolation and in vitro characterization of pancreatic progenitor cells from the islets of diabetic monkey models. *Int J Biochem Cell Biol*. 2006;38:973-984.
- [35] Bonner-Weir S, Taneja M, Weir GC, et al. In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000; 97: 7999-8004.
- [36] Gao R, Ustinov J, Pulkkinen MA, et al. Characterization of endocrine progenitor cells and critical factors for their differentiation in human adult pancreatic cell culture. *Diabetes*. 2003; 52: 2007-2015.
- [37] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 1999;284:143-147.
- [38] Poomima IG, Parikh P, Shannon RP. Diabetic cardiomyopathy: The search for a unifying hypothesis. *Circ Res*. 2006;98:596-605.
- [39] Yoon YS, Uchida S, Masuo O, et al. Progressive attenuation of myocardial vascular endothelial growth factor expression is a seminevent in diabetic cardiomyopathy: Restoration of microvascular homeostasis and recovery of cardiac function in diabetic cardiomyopathy after replenishment of local vascular endothelial growth factor. *Circulation*. 2005;111:2073-2085.
- [40] Jesmin S, Sakuma I, Hattori Y, et al. Role of angiotensin II in altered expression of molecules responsible for coronary matrix remodeling in insulin-resistant diabetic rats. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:2021-2026.
- [41] Camp TM, Tyagi SC, Senior RM, et al. Gelatinase B (MMP-9) an apoptotic factor in diabetic transgenic mice. *Diabetologia*. 2003;46:1438-1445.
- [42] Zhang N, Li J, Luo R, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells induce angiogenesis and attenuate the remodeling of diabetic cardiomyopathy. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2008; 116:104-111.
- [43] Wang X, Zhao T, Huang W, et al. Hsp20-engineered mesenchymal stem cells are resistant to oxidative stress via enhanced activation of Akt and increased secretion of growth factors. *Stem Cells*. 2009;27:3021-3031.
- [44] Hare JM, Traverse JH, Henry TD, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54:2277-2286.
- [45] Lee JS, Hong JM, Moon GJ, et al. A long-term follow-up study of intravenous autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic stroke. *Stem Cells*. 2010;28:1099-1106.
- [46] Amin AH, Abd Elmageed ZY, Nair D, et al. Modified multipotent stromal cells with epidermal growth factor restore vasculogenesis and blood flow in ischemic hind-limb of type II diabetic mice. *Lab Invest*. 2010;90:985-996.
- [47] Comerota AJ, Link A, Douville J, et al. Upper extremity ischemia treated with tissue repair cells from adult bone marrow. *J Vasc Surg*. 2010;52:723-739.
- [48] Fazan R Jr, Dias da Silva VJ, Ballejo G, et al. Power spectra of arterial pressure and heart rate in streptozotocin-induced diabetes in rats. *J Hypertens*. 1999;17:489-495.
- [49] Ezquer FE, Ezquer ME, Parrau DB, et al. Systemic administration of multipotent mesenchymal stromal cells reverts hyperglycemia and prevents nephropathy in type 1 diabetic mice. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008;14:631-640.
- [50] Lee RH, Seo MJ, Reger RL, et al. Multipotent stromal cells from human marrow home to and promote repair of pancreatic islets and renal glomeruli in diabetic NOD/scid mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103:17438-17443.
- [51] Vinik AI, Park TS, Stansberry KB, et al. Diabetic neuropathies. *Diabetologia*. 2000;43:957-973.
- [52] Shibata T, Naruse K, Kamiya H, et al. Transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves diabetic polyneuropathy in rats. *Diabetes*. 2008;57:3099-3107.
- [53] Medina A, Scott PG, Ghahary A, et al. Pathophysiology of chronic nonhealing wounds. *J Burn Care Rehabil*. 2005;26:306-319.
- [54] Spanheimer RG. Correlation between decreased collagen production in diabetic animals and in cells exposed to diabetic serum: Response to insulin. *Matrix*. 1992;12:101-107.
- [55] Kwon DS, Gao X, Liu YB, et al. Treatment with bone marrow-derived stromal cells accelerates wound healing in diabetic rats. *Int Wound J*. 2008;5:453-463.
- [56] Wu Y, Chen L, Scott PG, et al. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis. *Stem Cells*. 2007;25:2648-2659.
- [57] Le Blanc K, Pittenger M. Mesenchymal stem cells: Progress toward promise. *Cytotherapy*. 2005;7:36-45.

来自本文课题的更多信息——

作者贡献: 第一作者构思并设计本综述, 同时分析并解析相关数据, 经3次修改, 所有作者共同起草, 第一作者对本文负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的资助。

伦理要求: 无涉及伦理冲突的内容。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。