

# 重复测量分析脐带间充质干细胞移植治疗肝硬化的疗效

陈建华<sup>1</sup>, 胡祥<sup>2</sup>(<sup>1</sup>川北医学院药学院药理教研室, 四川省南充市 637000; <sup>2</sup>深圳市北科生物科技有限公司, 广东省深圳市 518057)

## 文章亮点:

- 1 脐带来源的间充质干细胞表达肝脏干细胞特有分子标志, 具有分化潜能大、增殖能力强、免疫原性低、取材方便、无道德伦理问题限制、易于工业化制备等特征, 已经成为最具临床应用前景的用于肝硬化治疗的多能干细胞之一。
- 2 国内外已有应用间充质干细胞治疗肝硬化的临床研究且取得了可喜的进步, 但在进行实际应用中, 经常会出现不同时点测量同一指标的资料误用 *t* 检验分析, 作者采用重复测量分析脐带间充质干细胞治疗肝硬化的疗效, 以期采用重复测量设计方案的临床和基础科研工作者提供可借鉴的统计学分析方法。

## 关键词:

干细胞; 移植; 脐带间充质干细胞; 重复测量; 肝硬化

## 主题词:

脐带; 间质干细胞移植; 肝硬化; 方差分析

陈建华, 女, 1978年生, 江苏省睢宁县人, 汉族, 2009年中山大学毕业, 硕士, 助教, 主要从事糖尿病并发症研究。

中图分类号:R394.2

文献标识码:B

文章编号:2095-4344

(2015)19-03027-05

稿件接受: 2015-04-09

http://www.crter.org

## 摘要

**背景:** 国内外已有应用间充质干细胞治疗肝硬化的临床研究且取得了可喜的进步, 但在实际应用中, 经常会误用 *t* 检验分析这类资料。

**目的:** 采用重复测量方法分析脐带间充质干细胞治疗肝硬化患者的有效性和安全性。

**方法:** 失代偿性肝硬化患者 27 例, 均行常规内科治疗, 包括护肝、对症治疗等。在入院 1 周后静脉移植脐带间充质干细胞(第 2-4 代), 细胞存活率  $\geq 90\%$ , 干细胞数量  $\geq 2 \times 10^7$  个, 共治疗 4 次, 每次间隔 5-7 d。使用重复测量方差分析脐带间充质干细胞移植治疗不同时间点的肝功能变化。

**结果与结论:** 单变量重复测量方差分析结果显示, 在治疗后 2, 3 个月时血清白蛋白升高、总胆红素降低, 与治疗前比较差异有显著性意义( $P < 0.05$ ); 治疗后 3 个月, 谷草转氨酶降低、胆碱酯酶升高, 与治疗前比较差异有显著性意义( $P < 0.05$ ), 所有患者在观察期内无肝脏及其他器官肿瘤发生。结果表明脐带间充质干细胞移植治疗肝硬化安全有效, 患者肝功能得到改善。

陈建华, 胡祥. 重复测量分析脐带间充质干细胞移植治疗肝硬化的疗效[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(19): 3027-3031.

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2015.19.013

## Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation for liver cirrhosis: a repeated measurement analysis

Chen Jian-hua<sup>1</sup>, Hu Xiang<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Department of Pharmacology, School of Pharmacy, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan Province, China; <sup>2</sup>Shen Zhen Beike Biotechnology Company, Shenzhen 518057, Guangdong Province, China)

## Abstract

**BACKGROUND:** The research for mesenchymal stem cells in the treatment of liver cirrhosis has made great progress. However, *t*-test analysis is often misused in clinical practice.

**OBJECTIVE:** To analyze the efficacy and safety of umbilical cord mesenchymal stem cell therapy for liver cirrhosis by repeated measurement method.

**METHODS:** A total of 27 patients with decompensated liver cirrhosis underwent conventional medical treatments, including liver protection treatment and symptomatic treatment. At 1 week after hospitalization, patients were given intravenous transplantation of umbilical cord mesenchymal stem cells (passages 2-4), cell viability  $\geq 90\%$ , stem cell counting  $\geq 2 \times 10^7$  cells, four times with an interval of 5-7 days. Analysis of variance based on repeated measurement data was performed to analyze the liver function changes at different time after umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation.

**RESULTS AND CONCLUSION:** The results of univariate repeated measurement showed that at 2 and 3 months after treatment, the serum albumin level was increased and the total bilirubin level in serum was decreased significantly ( $P < 0.05$ ); at 3 months after treatment, the content of aspartate aminotransferase decreased, and the content of cholinesterase increased significantly ( $P < 0.05$ ). No patient appeared to have liver and other organ tumors during the observation period. These findings indicate that umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation is effective and safe in the treatment of liver cirrhosis, which can significantly improve patient's liver functions.

Chen Jian-hua, Master, Assistant teacher, Department of Pharmacology, School of Pharmacy, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan Province, China

Accepted: 2015-04-09

**Subject headings:** Umbilical Cord; Mesenchymal Stem Cell Transplantation; Liver Cirrhosis; Analysis of Variance

Chen JH, Hu X. Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation for liver cirrhosis: a repeated measurement analysis. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2015;19(19):3027-3031.

## 0 引言 Introduction

终末期肝病目前最有效的治疗方法是肝移植, 由于供体来源有限且治疗费用较高, 移植后的免疫排斥反应也限制了其大规模应用<sup>[1]</sup>。干细胞移植治疗肝病已成为医学领域的研究热点之一<sup>[2-3]</sup>, 作者于2012年曾做过美国NIH 临床试验登记注册网站 <http://www.clinicaltrials.gov> 的干细胞临床试验病种统计分析, 发现肝硬化已成为干细胞治疗的主要病种之一<sup>[4]</sup>。间充质干细胞是非造血干细胞, 来源于发育早期中胚层的一类多能干细胞, 具有自我更新和跨胚层多向分化能力, 并且扩增20-30代后仍保持其多向分化能力<sup>[5]</sup>, 已在不同的动物模型上证实其可向肝源性细胞分化<sup>[6]</sup>。近几年的研究表明间充质干细胞不仅具有支持造血的功能, 而且没有免疫原性, 能够诱导免疫耐受, 对同种异体免疫反应具有负调节作用<sup>[7]</sup>。间充质干细胞可来自骨髓, 但骨髓源受年龄、取材等问题的影响, 使其临床应用受到限制。脐带来源广泛, 病毒感染概率小, 对供者无不良影响, 克服了骨髓源随年龄增长而分化能力下降等缺点<sup>[8]</sup>, 所有这些特性使脐带有可能替代骨髓, 成为间充质干细胞的主要来源之一。将人蜕膜来源的间充质干细胞与鼠肝匀浆共培养, 分析其向肝细胞样形态改变、表型和三维结构, 发现其表达肝特异性标记: 白蛋白、肝细胞生长因子受体、甲胎蛋白和细胞角蛋白18, 形成的肝样细胞具有肝细胞的功能。多数动物实验证实, 干细胞移植能减轻肝纤维化、改善肝生化指标及不同程度转化为肝细胞<sup>[9-10]</sup>。脐带来源的间充质干细胞表达肝脏干细胞特有分子标志, 具有分化潜能大、增殖能力强、免疫原性低、取材方便、无道德伦理问题的限制、易于工业化制备等特征, 已经成为最具临床应用前景的用于肝硬化治疗的多能干细胞之一。

重复测量统计方法广泛应用于生命科学中, 特别是在临床上, 医生通过对患者复查以了解患者病情的发展变化或治疗的效果。国内也有不少关于重复测量统计方法理论介绍, 但在实际应用中, 经常会误用配对 $t$  检验或成组 $t$  检验, 从而增大了一类错误<sup>[11]</sup>。配对 $t$  检验与重复测量两种统计方法产生不同结果的原因: 若观察了 $n$ 个不同的时间点, 配对 $t$  检验需要进行 $n-1$ 次比较, 增加了犯假阳性错误的概率为 $1-(1-0.05)^{n-1}$ 。用方差分析, 在 $\alpha=0.05$ 的情况下, 犯假阳性错误的概率是0.05。如果控制假阳性错误的概率仍为0.05, 用 $t$  检验进行比较, 就要调整 $\alpha$ 水准, 即 $1-(1-\alpha)^{n-1}=0.05$ , 检验的次數越多, 则求解出的 $\alpha$  越小。若此时 $\alpha$ 仍选0.05, 则会把原来检验出没有统计意义的, 误认为有意义。

而成组 $t$  检验与重复测量两种统计方法产生不同结

果的原因是因为误用成组 $t$  检验进行多次比较, 需要满足两组样本独立性, 而同一患者不同时间的检查结果, 存在高度相关性, 同时犯假阳性错误的概率也增加了, 进行组间比较, 成组 $t$  检验犯假阳性错误的概率为 $1-(1-0.05)^n$ 。

在进行重复测量方差分析时, 首先通过球形检验(Mauchly's sphericity)的结果判断重复测量数据之间是否存在相关性, 如存在相关性( $P \leq 0.05$ ), 采用Greenhouse-Geisser的校正结果; 计算个体内(within-subject)变异, 分析时间因素有无效应, 使用其自带的多重比较Bonferroni检验法, 对治疗前后指标进行两两比较<sup>[12]</sup>。

本研究使用重复测量分析脐带间充质干细胞治疗肝硬化患者的有效性和安全性, 以期为其他采用类似重复测量设计的研究者进行资料分析提供借鉴和参考。

## 1 对象和方法 Subjects and methods

**设计:** 自身前后对照的描述性研究。

**时间及地点:** 2010年3月至2012年9月在海南农垦总医院消化内科完成。

**对象:** 收集脐带间充质干细胞治疗的失代偿性肝硬化患者27例, 其中男17例, 女10例; 年龄18-71岁, 平均(45.22±9.06)岁; 乙肝性肝硬化15例、丙肝性肝硬化7例、酒精性肝硬化3例、血吸虫性肝硬化2例; Child-Pugh分级: B级16例, C级11例。

27例患者治疗前均有肝硬化常见症状和体征, 如纳差、乏力、腹胀, 黄疸, 部分患者有腹水, 经腹部B超或腹部CT检查明确诊断肝硬化。采用保肝药物益肝泰、降酶、退黄、利尿、输白蛋白、血浆及支持对症治疗, 但病情无明显改善而采用脐带间充质干细胞移植治疗。治疗前实验室检查血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶、总胆红素、血浆白蛋白、凝血酶原时间, 部分患者还检测血氨、甲胎蛋白及血脂水平。

**纳入标准:** ①所有病例诊断均符合《肝脏病和感染病诊疗指南2010》。②半年内没有使用过间充质干细胞治疗。③理解并签署知情同意书者。

**排除标准:** ①恶性肿瘤或血液系统疾病患者。②过敏体质、曾有对血制品过敏史。③孕妇、哺乳期妇女。④合并腹腔、肺部或其他系统感染。⑤心、肺、肾等重要脏器功能不全或衰竭以及不能配合治疗者。

**方法:** 脐带来源的间充质干细胞由深圳市北科细胞工程研究所实验室制备。患者入院1周后移植脐带间充质干细胞(第2-4代), 细胞存活率 $\geq 90\%$ , 干细胞数量 $\geq 2 \times 10^7$ 个,

表1 脐带间充质干细胞移植治疗后肝硬化患者肝功能指标描述性分析

( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 The descriptive statistics of liver function after umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation for liver cirrhosis

时间	白蛋白(g/L)	胆碱酯酶(U/L)	谷草转氨酶(U/L)	谷丙转氨酶(U/L)	总胆红素( $\mu$ mol/L)	凝血酶原时间(s)
治疗前	26.23 $\pm$ 5.31	1 996.23 $\pm$ 202.24	52.38 $\pm$ 9.40	59.46 $\pm$ 9.25	75.46 $\pm$ 7.79	19.48 $\pm$ 5.36
治疗后1个月	29.48 $\pm$ 8.31	1 981.65 $\pm$ 196.32	50.66 $\pm$ 8.76	52.24 $\pm$ 10.58	70.53 $\pm$ 19.06	21.75 $\pm$ 7.63
治疗后2个月	30.26 $\pm$ 6.64	1 945.83 $\pm$ 233.61	58.67 $\pm$ 7.21	49.26 $\pm$ 14.53	47.53 $\pm$ 10.27	17.69 $\pm$ 8.27
治疗后3个月	36.85 $\pm$ 7.09	2 396.77 $\pm$ 386.67	40.11 $\pm$ 12.37	56.07 $\pm$ 13.23	51.32 $\pm$ 15.49	18.38 $\pm$ 6.92

表2 脐带间充质干细胞移植治疗肝硬化重复测量方差分析

Table 2 The repeated measurement analysis of variance for liver function during umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of liver cirrhosis

指标	源	III 型平方和	df	均方	F	Sig.
白蛋白	采用的球形度	145.258	3	41.657	2.502	0.029
	Greenhouse-Geisser	145.258	2.176	56.983	2.502	0.042
胆碱酯酶	采用的球形度	2 324 651.573	2	1 100 179.763	1.635	0.035
	Greenhouse-Geisser	2 324 651.573	1.414	1 556 562.537	1.635	0.034
谷草转氨酶	采用的球形度	5 902.975	2	2 951.487	1.378	0.041
	Greenhouse-Geisser	5 902.975	1.038	5 687.276	1.378	0.041
谷丙转氨酶	采用的球形度	1 692	3	564.000	1.366	0.274
	Greenhouse-Geisser	1 692	1.247	1 357.235	1.366	0.277
总胆红素	采用的球形度	4 205.012	3	1 401.671	0.843	0.042
	Greenhouse-Geisser	4 205.012	1.975	2 128.901	0.843	0.446
凝血酶原时间	采用的球形度	13.203	3	4.401	0.254	0.856
	Greenhouse-Geisser	13.203	1.062	12.437	0.254	0.660

表注: 首先通过球形检验(Mauchly's test of sphericity)的结果判断重复测量数据之间是否存在相关性, 如存在相关性( $P \leq 0.05$ ), 采用 Greenhouse-Geisser 的校正结果。

将其置于20 mL一次性无菌袋悬浮细胞。每个疗程4次, 每次间隔5-7 d。

**主要观察指标:** 收集患者一般临床数据, 包括治疗前1 d、治疗后1, 2, 3个月实验室检查指标血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶、总胆红素、血浆白蛋白、凝血酶原时间。

**统计学分析:** 使用SPSS 20.0统计软件包进行处理, 计量资料进行描述性统计, 变量用 $\bar{x}\pm s$ 表示; 治疗前后结果比较, 采用单因素重复测量方差分析, 若 $P < 0.05$ , 则进行治疗前与治疗后两两比较。

## 2 结果 Results

**2.1 参与者数量分析** 治疗2个月失访5例, 治疗3个月脱落7例, 其中3例死于上消化道出血, 4例未到医院进行复查。

**2.2 脐带间充质干细胞移植治疗肝硬化肝功能分析** 治疗前、治疗后1, 2, 3个月白蛋白、胆碱酯酶、谷草转氨酶、谷丙转氨酶、总胆红素、凝血酶原时间描述性分析, 见表1。

**2.3 脐带间充质干细胞移植治疗肝硬化重复测量方差分析** 治疗前、治疗后1, 2, 3个月白蛋白、胆碱酯酶、谷草转氨酶、谷丙转氨酶、总胆红素、凝血酶原时间比较, 使用重复测量方差分析方法, 若 $P < 0.05$ , 进行两两比较, 结果见表2。

**2.4 脐带间充质干细胞治疗后与治疗前比较** 根据重复测量方差分析, 若 $P < 0.05$ , 则进行两两比较。若 $P > 0.05$ , 说明治疗前与治疗后相比, 差异无显著性意义, 结果见表3。

表3 脐带间充质干细胞移植治疗后肝硬化各项指标与治疗前比较  
Table 3 Comparison of various indicators of liver function in liver cirrhosis patients before and after umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation

指标	治疗后-治疗前	均值差值	标准误差	Sig.
白蛋白(g/L)	1个月	3.25	1.906	0.238
	2个月	6.95	2.658	0.041
	3个月	10.62	2.704	0.026
胆碱酯酶(U/L)	1个月	-14.58	156.77	0.531
	2个月	-50.40	202.135	0.679
	3个月	400.54	386.252	0.026
谷草转氨酶(U/L)	1个月	-1.72	1.05	0.897
	2个月	6.29	2.54	1.000
	3个月	-12.27	3.38	0.036
总胆红素( $\mu$ mol/L)	1个月	-4.93	14.582	0.199
	2个月	-27.93	16.617	0.035
	3个月	-24.14	19.765	0.041

表注: 利用重复测量方差分析中的 Bonferroni 多重比较, 可知白蛋白、总胆红素治疗后2, 3个月与治疗前相比, 差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。胆碱酯酶、谷草转氨酶治疗后3个月与治疗前相比, 差别有显著性意义( $P < 0.05$ ), 其余时点差异无显著性意义。

**2.5 不良反应** 输注过程中密切关注受试者体温、血压、脉搏及血氧饱和度, 询问其是否有不适; 输注干细胞后少数患者出现低热, 体温一般不超过38  $^{\circ}$ C, 不需特殊处理或仅需对症处理, 偶有腹胀、腹痛、恶心、呕吐、皮疹发生, 经对症处理, 均在1-3 d消失。所有患者在观察期内无肝脏及其他器官肿瘤发生, 这与国内外文献报道的一致<sup>[2-13]</sup>。

### 3 讨论 Discussion

通过对一组或多组受试者中的同一个体在不同时间进行多次测量以获取该组受试者的临床结局资料, 进行综合评价, 称之为重复测量设计。这种重复测量设计能反映在时间上处理因素对受试者临床结局的影响; 可以在时空维度上对受试者做出更为客观的综合评价, 也更能体现一些疾病特别是慢性疾病的发展转归和治疗效果<sup>[14]</sup>。不少临床资料都会对患者的实验室指标进行多次检测, 但在统计分析时仅处理和分析治疗前后的数据差异而忽略治疗期间各时点数据的连续性。为合理客观评价临床治疗效应, 要正确使用 $t$  检验和重复测量方差分析的适用条件。否则, 不仅浪费研究数据, 割裂了整体设计, 还增大第一类错误的概率, 使评价治疗效应时所下的结论有可能错误<sup>[15]</sup>。

本研究采用脐带间充质干细胞移植治疗肝硬化, 于治疗前、治疗后1, 2, 3个月复查肝功能, 利用SPSS 20.0软件进行重复测量方差分析, 应用一般线性模型的重复测量进行重复测量方差分析, 并进行治疗后与治疗前两两比较, 以评价脐带间充质干细胞移植治疗肝硬化的有效性和安全性。

通过分析发现, 与治疗前相比, 脐带间充质干细胞移植3个月后胆碱酯酶明显升高, 差异有显著性意义, 血清胆碱酯酶是肝病很好的标记物, 有较好的敏感性和特异性, 可做进展期肝病判断预后一个有价值的标记物, 其值越低, 预后越差<sup>[16]</sup>。对估计肝硬化患者肝脏储备功能, 了解患者病情变化及预后判断具有一定临床价值。从数据分析可以看出, 治疗后3个月血清胆碱酯酶浓度明显升高, 提示患者的肝功能得到改善。转氨酶升高是肝脏发生炎症和坏死的血清标志物, 主要分布在肝脏肝细胞内。当肝细胞受损时, 转氨酶会释放入血, 所以检测血液中的转氨酶会偏高<sup>[17]</sup>。转氨酶升高的程度与肝细胞受损的程度相一致。如果不及时治疗, 疾病会逐步恶化<sup>[18]</sup>, 复查肝功能, 3个月后谷草转氨酶水平有明显下降( $P < 0.05$ )。肝细胞是胆红素代谢的主要器官, 肝细胞的损伤会影响胆红素的摄取、分泌和排泄, 导致血清胆红素增高出现肝细胞性黄疸<sup>[19]</sup>。治疗后2, 3个月白蛋白、总胆红素水平与治疗前相比, 差异有显著性意义, 同时, 患者腹水减少, 乏力纳差等症状明显改善, 表明患者预后向好的方向发展, 肝功能得到一定改善。而脐带间充质干细胞移植治疗后有少数患者会出现低热, 体温一般不超过 $38^{\circ}\text{C}$ , 不需特殊处理或仅需对症处理即可, 个别患者出现高热寒战, 结合具体临床情况进行处理; 偶有恶心和呕吐、腹痛、皮疹发生, 经对症处理, 均在1-3 d内消失<sup>[20-21]</sup>, 故脐带间充质干细胞移植治疗肝硬化安全有效。

动物实验证实, 间充质干细胞移植能减轻肝纤维化、改善肝功能以及不同程度转化为肝细胞<sup>[22]</sup>。间充质干细胞除了能够抗纤维化外, 还能抑制肝细胞凋亡, 分泌抗凋亡因子以及抗炎因子等各种生物活性分子促进肝脏再生, 延迟胆囊结扎及四氯化碳诱导的肝硬化<sup>[23-24]</sup>。这些研究提示间充质干细胞有可能成为治疗肝纤维化的新来源。间充质

干细胞可以分化为肝细胞, Yu等<sup>[25]</sup>用慢病毒将绿色荧光蛋白转染至间充质干细胞, 绿色荧光蛋白阳性的间充质干细胞表达高水平的HLA I, CD13, CD105, CD73, CD90, CD44, 但HLA II, CD45, CD31, CD34, CD133, CD271, CD79不表达。该细胞呈现出成脂、成骨和肝细胞分化潜能。绿色荧光蛋白阳性的间充质干细胞同时显示出明显的肝细胞表型。间充质干细胞治疗肝硬化的临床试验也显示, 短期治疗后患者生活质量和肝功能有一定程度改善<sup>[26]</sup>, 间充质干细胞可作为一个很好的选择用于治疗肝硬化<sup>[27]</sup>。

作者采用回顾性研究方法, 对脐带间充质干细胞移植治疗肝硬化患者的肝功能进行不同时点回访。通过重复测量统计方法, 结果表明脐带间充质干细胞移植后患者的肝功能得到改善, 腹水、乏力、纳差症状得到改善, 与文献报道结论一致<sup>[28-29]</sup>。

尽管脐带间充质干细胞移植治疗肝病已取得可喜的成果, 但是这些研究尚处于起步阶段, 也缺乏合理设计的多中心随机对照临床研究验证疗效及长期随访数据了解移植可能发生的不良反应或并发症<sup>[30]</sup>, 但仍有理由相信通过深入研究, 可以安全地把间充质干细胞的基础研究转为临床上的应用, 为疑难杂症的治疗带来更为广阔的前景。

**致谢:** 感谢海南农垦总医院消化内科韦玲、谢会忠在临床病例选择及患者后期管理方面提供的大力支持, 使研究得以顺利进行。

**作者贡献:** 陈建华负责试验设计、资料的收集和整理, 文章的撰写; 胡祥负责干细胞的分离培养与纯化。

**利益冲突:** 文章及内容不相关利益冲突。

**伦理要求:**

**知情同意:** 参与试验的患病个体及其家属自愿参加, 对试验过程完全知情同意, 在充分了解治疗方案的前提下签署“知情同意书”; 干预及治疗方案获医院伦理委员会批准。

**医生资质:** 因干细胞临床试验国家无相关的政策法规, 故无相关资质, 只是公司所合作的医院均为三级甲等医院。细胞移植均由具有长期临床工作经验的消化内科医生完成。

**学术术语:** 重复测量设计-通过对一组或多组受试者中的同一个体在不同时间进行多次测量以获取该组受试者的临床结局资料, 进行综合评价, 称之为重复测量设计。

**作者声明:** 文章为原创作品, 无抄袭剽窃, 无泄密及署名和专利争议, 内容及数据真实, 文责自负。

### 4 参考文献 References

- [1] 陈建华, 徐玉琴, 张军. 间充质干细胞移植治疗终末期肝病前后血清甲胎球蛋白的变化[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2015, 7(2): 111-113.
- [2] Ma XR, Tang YL, Xuan M, et al. Transplantation of autologous mesenchymal stem cells for end-stage liver cirrhosis: a meta-analysis based on seven controlled trials. *Gastroenterol Res Pract*. 2015;2015:908275.
- [3] 董燕慧, 脐带血干细胞及脐带间充质干细胞对失代偿期肝炎后肝硬化患者肝功能恢复的研究[D]. 张家口: 河北北方学院, 2013.

- [4] 陈建华,张军,胡祥. 干细胞在非肿瘤性疾病中的注册临床研究[J]. 分子诊断与治疗杂志,2012, 4(6):400-407.
- [5] Lee AY, Lee J, Kim CL, et al. Comparative studies on proliferation, molecular markers and differentiation potential of mesenchymal stem cells from various tissues (adipose, bone marrow, ear skin, abdominal skin, and lung) and maintenance of multipotency during serial passages in miniature pig. *Res Vet Sci.* 2015 Mar 16. [Epub ahead of print]
- [6] Dueñas F, Becerra V, Cortes Y, et al. Hepatogenic and neurogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells from abattoir-derived bovine fetuses. *BMC Vet Res.* 2014;10:154.
- [7] Swartzlander MD, Blakney AK, Amer LD, et al. Immunomodulation by mesenchymal stem cells combats the foreign body response to cell-laden synthetic hydrogels. *Biomaterials.* 2015;41:79-88.
- [8] Jung KH, Shin HP, Lee S, et al. Effect of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in a cirrhotic rat model. *Liver Int.* 2009;29(6):898-909.
- [9] Bornstein R, Macias MI, de la Torre P, et al. Human decidua-derived mesenchymal stromal cells differentiate into hepatic-like cells and form functional three-dimensional structures. *Cytotherapy.* 2012;14(10):1182-1192.
- [10] Banas A, Teratani T, Yamamoto Y, et al. IFATS collection: in vivo therapeutic potential of human adipose tissue mesenchymal stem cells after transplantation into mice with liver injury. *Stem Cells.* 2008;26(10):2705-2712.
- [11] 张晓冬,宗英,陆国才,等. 药物长期毒性试验血液和生化指标的统计处理[J]. 中国新药杂志,2010,19(4):270-272,289.
- [12] 邱宏,金国琴,金如锋,等. 水迷宫重复测量数据的方差分析及其在SPSS中的实现[J]. 中西医结合学报,2007,5(1):101-105.
- [13] 师丽娜,脐血干细胞移植治疗失代偿期肝硬化临床有效性观察以及疗效指标意义观察[D]. 济南:山东大学, 2013.
- [14] 温泽淮. 中药临床试验重复测量设计与分析方法的探讨[D]. 广州: 广州中医药大学,2006.
- [15] 陈平雁. 定量数据重复测量的方差分析[J]. 中华创伤骨科杂志, 2003,5(1):67-70.
- [16] Ramachandran J, Sajith KG, Priya S, et al. Serum cholinesterase is an excellent biomarker of liver cirrhosis. *Trop Gastroenterol.* 2014;35(1):15-20.
- [17] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)[J]. 中华肝脏病杂志,2011,19(1):13-24.
- [18] Zhang Z, Lin H, Shi M, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells improve liver function and ascites in decompensated liver cirrhosis patients. *J Gastroenterol Hepatol.* 2012;27 Suppl 2:112-120.
- [19] 刘璐,廉恒丽. 熊去氧胆酸胶囊治疗肝硬化黄疸80例疗效分析[J]. 中国现代医药杂志,2015,17(2):64-65.
- [20] 李浩,人脐血干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的临床研究[D]. 合肥:安徽医科大学, 2014.
- [21] 王方,云升皓,周新人,等. 经肝动脉自体骨髓或脐带血干细胞移植治疗失代偿期肝硬化患者的安全性和近期疗效比较[J]. 实用肝脏病杂志,2014,17(4):356-359.
- [22] Yu J, Cao H, Yang J, et al. In vivo hepatic differentiation of mesenchymal stem cells from human umbilical cord blood after transplantation into mice with liver injury. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;422(4):539-545.
- [23] Meier RP, Mahou R, Morel P, et al. Microencapsulated human mesenchymal stem cells decrease liver fibrosis in mice. *J Hepatol.* 2015;62(3):634-641.
- [24] Ahmed SK, Mohammed SA, Khalaf G, et al. Role of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells in the Treatment of CCL4 Induced Liver Fibrosis in Albino Rats: A Histological and Immunohistochemical Study. *Int J Stem Cells.* 2014;7(2): 87-97.
- [25] Yu J, Su X, Zhu C, et al. GFP Labeling and Hepatic Differentiation Potential of Human Placenta-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Cell Physiol Biochem.* 2015; 35(6):2299-2308.
- [26] Pan XN, Zheng LQ, Lai XH. Bone marrow-derived mesenchymal stem cell therapy for decompensated liver cirrhosis: a meta-analysis. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(38):14051-14057.
- [27] Berardis S, Dwisthi Sattwika P, Najimi M, et al. Use of mesenchymal stem cells to treat liver fibrosis: current situation and future prospects. *World J Gastroenterol.* 2015; 21(3):742-758.
- [28] Salama H, Zekri AR, Medhat E, et al. Peripheral vein infusion of autologous mesenchymal stem cells in Egyptian HCV-positive patients with end-stage liver disease. *Stem Cell Res Ther.* 2014;5(3):70.
- [29] Liu WH, Song FQ, Ren LN, et al. The multiple functional roles of mesenchymal stem cells in participating in treating liver diseases. *J Cell Mol Med.* 2015;19(3):511-520.
- [30] Zhao W, Li JJ, Cao DY, et al. Intravenous injection of mesenchymal stem cells is effective in treating liver fibrosis. *World J Gastroenterol.* 2012;18(10):1048-1058.