

自体骨髓间充质干细胞治疗乙型肝炎失代偿期患者：肝纤维化、肝功能、MELD评分及1年生存率分析

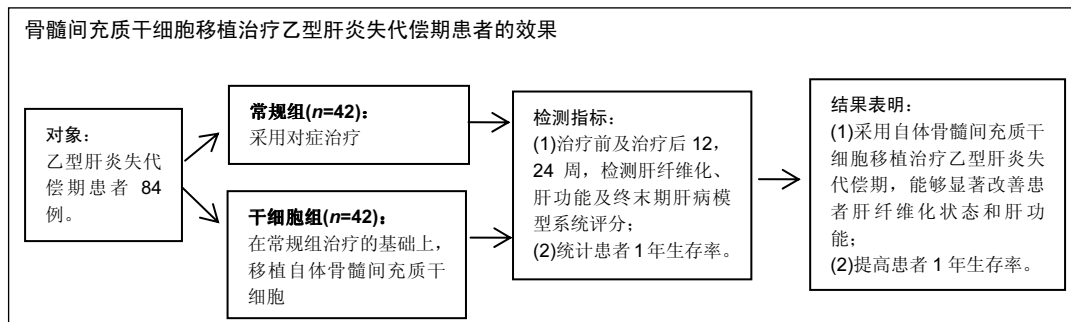
吴玉卓¹, 杨乐², 翟玉峰¹, 张怀宏¹, 霍丽亚¹ (¹郑州大学附属医院南阳市中心医院感染科, 河南省南阳市 473000; ²南阳医学高等专科学校基础医学部, 河南省南阳市 473000)

引用本文: 吴玉卓, 杨乐, 翟玉峰, 张怀宏, 霍丽亚. 自体骨髓间充质干细胞治疗乙型肝炎失代偿期患者: 肝纤维化、肝功能、MELD评分及1年生存率分析[J]. 中国组织工程研究, 2017, 21(13):2049-2055.

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.2017.13.014

ORCID: 0000-0002-7004-205X(吴玉卓)

文章快速阅读:



吴玉卓, 女, 1977 年生, 汉族, 河南省南阳市人, 2008 年兰州大学毕业, 硕士, 副主任医师, 主要从事各种肝病及感染性疾病的发病机制及诊断和治疗研究。

中图分类号:R394.2

文献标识码:B

文章编号:2095-4344

(2017)13-02049-07

稿件接受: 2016-12-16

文题释义:

骨髓间充质干细胞移植治疗肝脏疾病: 在特定环境下可以分化成肝干细胞和干细胞, 参与肝功能的修复和重建。研究表明, 间充质干细胞可以改善肝功能, 减少腹水、水肿, 缓解疲劳。Fitzpatrick 等研究发现, 间充质干细胞与肝细胞一起培养, 培养的第 5-25 天能够提高白蛋白的产量, 这一效应在第 15 天时最为显著, 其白蛋白产量是单一培养对照组的 10 倍, 说明肝细胞的存在对刺激间充质干细胞分泌促存活因子非常重要, 肝细胞与间充质干细胞联合移植能够极大地提高急性肝衰竭的治疗效果。

摘要

背景: 骨髓间充质干细胞在特定环境下可分化成肝干细胞, 参与肝功能的修复和重建。

目的: 分析自体骨髓间充质干细胞移植治疗失代偿期乙型肝炎的效果。

方法: 将 84 例乙型肝炎失代偿期患者随机分为 2 组, 常规组(n=42)采用对症治疗, 同时口服恩替卡韦、扶正化瘀胶囊; 干细胞组(n=42)在常规组治疗的基础上, 经肝左右动脉移植自体骨髓间充质干细胞 $1 \times 10^6/\text{kg}$ 。治疗前及治疗后 12、24 周, 检测肝纤维化、肝功能及终末期肝病模型系统评分, 统计患者 1 年生存率。

结果与结论: ①肝纤维化: 两组治疗后的透明质酸、层粘连蛋白、III型前胶原、IV型胶原蛋白水平均低于治疗前($P < 0.05$); 干细胞组治疗后 12、24 周的上述指标均低于常规组($P < 0.05$); ②肝功能: 两组治疗后的丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、总胆红素水平均低于治疗前($P < 0.05$), 白蛋白、胆碱酯酶、凝血酶原活动度水平均高于治疗前($P < 0.05$); 干细胞组治疗后 12、24 周的丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、总胆红素水平均低于常规组, 胆碱酯酶水平高于常规组($P < 0.05$); ③终末期肝病模型系统评分: 两组治疗后的终末期肝病模型系统评分均低于治疗前($P < 0.05$), 干细胞组治疗后 24 周的终末期肝病模型系统评分低于常规组($P < 0.05$); ④1 年生存率: 干细胞组 1 年生存率高于常规组(50%, 69%, $P < 0.05$); ⑤结果表明: 采用自体骨髓间充质干细胞移植治疗失代偿期乙型肝炎, 能够显著改善肝纤维化状态和肝功能, 提高患者 1 年生存率。

关键词:

干细胞; 移植; 乙型肝炎; 失代偿期; 间质干细胞移植; 恩替卡韦; 扶正化瘀胶囊; 治疗结果

主题词:

干细胞; 间质干细胞移植; 肝炎, 乙型; 组织工程

基金资助:

河南省卫生厅科研成果(宛科鉴字[2012]第 103 号 99)

Therapeutic effect of autologous bone marrow mesenchymal stem cells on hepatic fibrosis, liver function, MELD score and 1-year survival rate in patients with decompensated hepatitis B

Wu Yu-zhuo¹, Yang Le², Zhai Yu-feng¹, Zhang Huai-hong¹, Huo Li-ya¹ (¹Department of Infection, Nanyang Central Hospital of Zhengzhou University, Nanyang 473000, Henan Province, China; ²Department of Basic Medical Sciences, Nanyang Medical College, Nanyang 473000, Henan Province, China)

Wu Yu-zhuo, Master, Associate chief physician, Department of Infection, Nanyang Central Hospital of Zhengzhou University, Nanyang 473000, Henan Province, China

Abstract

BACKGROUND: Bone marrow mesenchymal stem cells can differentiate into hepatic stem cells in a specific environment, and participate in the repair and reconstruction of liver function.

OBJECTIVE: To investigate the therapeutic effect of autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation on decompensated hepatitis B.

METHODS: Eighty-four patients with decompensated hepatitis B were randomly divided into two groups: normal group ($n=42$) with symptomatic treatment, and oral entecavir, *Fuzheng Huayu* Capsule; stem cell group ($n=42$) with the left and right hepatic artery transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells ($1 \times 10^6/\text{kg}$) based on conventional treatments. Degree of liver fibrosis, liver function and score on Model for End-Stage Liver Disease (MELD) system, 1-year survival rate of patients were detected and analyzed with statistics before and 12, 24 weeks after treatment.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Liver fibrosis after treatment in two groups: hyaluronic acid, laminin, type III collagen and type IV collagen levels after treatment were lower than those before treatment in both two groups ($P < 0.05$), while these indexes in the stem cell group were lower than those in the normal group at 12 and 24 hours after treatment ($P < 0.05$). (2) Liver function: after treatment, decreased alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, and total bilirubin levels were found in both two groups ($P < 0.05$), and albumin, cholinesterase, prothrombin activity levels were higher than those before treatment ($P < 0.05$). The alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, and total bilirubin levels in the stem cell group were lower than those in the normal group at 12 and 24 weeks after treatment, while the cholinesterase level was higher in the stem cell group ($P < 0.05$). (3) MELD scores: MELD scores were both decreased in the two groups after treatment ($P < 0.05$), and lower in the stem cell group compared with the normal group at 24 weeks after treatment ($P < 0.05$). (4) The 1-year survival rate was higher in the stem cell group (69%) than the normal group (50%; $P < 0.05$). To conclude, the use of autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of hepatitis B can significantly improve the patients' liver fibrosis and liver function, and improve the 1-year survival rate of patients.

Subject headings: Stem Cells; Mesenchymal Stem Cell Transplantation; Hepatitis B; Tissue Engineering

Funding: the Scientific Research Fund of Henan Provincial Health Department, No. [2012]103-99

Cite this article: Wu YZ, Yang L, Zhai YF, Zhang HH, Huo LY. Therapeutic effect of autologous bone marrow mesenchymal stem cells on hepatic fibrosis, liver function, MELD score and 1-year survival rate in patients with decompensated hepatitis B. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2017;21(13):2049-2055.

0 引言 Introduction

肝脏对维持机体健康具有重要作用。中国采用接种疫苗、重点人群检测、科学宣教防治等措施,使乙肝表面抗原携带率近年维持在7.18%左右,属于中等流行国家水平,但中国人口基数大,因此防治工作仍较为严峻^[1]。由于对疾病认识不足、依从性差、抗病毒治疗经济负担重等因素,导致乙肝患者不能进行科学、规范的治疗,最终发展至慢性乙肝、肝硬化,而乙型肝炎失代偿期患者5年生存率仅为14%–35%^[2],因此对乙肝型肝炎失代偿期患者进行合理治疗显得尤为重要。对乙肝型肝炎失代偿期患者缺乏有效的治疗手段,药物治疗主要为抑制病毒复制,减少肝纤维化、细胞炎性坏死的发生,肝移植为有效治疗手段,但供体缺乏,后续治疗费用较高。干细胞具有自我复制能力,能够分化成多种功能细胞。Fitzpatrick等^[3]研究发现,肝细胞的存在对于刺激间充质干细胞分泌促存活因子非常重要,肝细胞与间充质干细胞联合移植能够极大地提高急性肝衰竭的治疗效果。

研究通过自体骨髓间充质干细胞移植治疗乙型肝炎失代偿期患者,探讨其对免疫、肝功能、终末期肝病模型系统评分(model for end-stage liver disease score, MELD)的影响,并对临床效果进行评价。

1 对象和方法 Subjects and methods

1.1 设计 前瞻性研究。

1.2 时间及地点 试验于2014年3月至2016年2月在郑州大学附属医院南阳市中心医院完成。

1.3 对象 选择2014年3月至2016年2月在郑州大学附属医院南阳市中心医院住院治疗的乙型肝炎失代偿期患者84例,其中男49例,女35例;年龄32–60岁,平均 (49 ± 11) 岁;Child-Pugh分级,B级65例,C级19例;临床表现,腹水81例,电解质紊乱35例,原发性腹膜炎21例,胸腔积液17例,肝性脑病13例,胸膜炎9例。采用随机数字表将患者分为常规组和干细胞组,每组42例。

入选标准: ①入选患者均符合“慢性乙型肝炎防治指南(2015年版)”相关诊断标准^[4]; ②Child-Pugh分级B级及以上; ③患者年龄 ≤ 60 岁; ④腹水量控制在中等及以下水平; ⑤患者和(或)家属知情同意,并签署知情同意书。

排除标准: ①患者有肝脏肿瘤,或罹患其他肿瘤; ②严重的全身感染,呼吸、循环衰竭患者; ③并发严重脑水肿或脑疝等患者; ④对治疗药物成分过敏者; ⑤3个月内有服用致肝损伤药物、免疫调节剂、干扰素者; ⑥严重出血倾向者; ⑦有家族遗传性肝病者; ⑧合并其他病毒性感染性肝病者; ⑨孕产妇和(或)哺乳期女性; ⑩患者有精神疾患或不配合诊疗者。

1.4 药物 恩替卡韦,商品名为博路定,0.5 mg/片,中美上海施贵宝制药有限公司产品,国药准字H20052237;扶正化癥胶囊,0.5 g/粒,上海黄海制药有限责任公司生产,国药准字Z20020074;促肝细胞生长素注射液,商品名为

威佳, 威海赛洛金药业有限公司产品, 国药准字 H20010003。

1.5 治疗方法

1.5.1 常规组 患者避免劳累, 保证充足时间休息; 以高热量、高蛋白(肝性脑病患者限制蛋白质饮食)和维生素丰富而易消化的食物为主。采用谷胱甘肽、多烯磷限制胆碱等进行护肝治疗, 腹水患者限制钠和水的摄取, 同时使用利尿药物, 也可对低蛋白血症患者定期输注白蛋白或血浆, 提高胶体渗透压, 促进腹水消退。餐前或餐后2 h空腹口服恩替卡韦, 1.0 mg/次, 1次/d, 连续24周; 口服扶正化癥胶囊, 3粒/次, 3次/d, 连续24周; 促肝细胞生长素注射液120 μg 加入5%葡萄糖250 mL, 静脉滴注, 1次/d, 30 d为1个疗程。

1.5.2 干细胞组 在常规组治疗基础上, 进行自体骨髓间充质干细胞移植治疗。选择患者髂后上棘为骨髓采集点, 患者取俯卧位, 常规消毒皮肤, 铺巾采用2%盐酸利多卡因进行局部麻醉, 18号骨髓穿刺针进行操作, 抽取骨髓80 mL左右, 采用肝素抗凝, 采用密度梯度离心法(Ficoll分离液法)分离出自体骨髓干细胞, 患者骨髓单核细胞总数 $\geq 2 \times 10^8$, 采用含体积分数5%CO₂、37 $^{\circ}\text{C}$ 、95%湿度常规培养, 24 h后更换新鲜培养液, 去除未贴壁细胞, 每3 d换液1次, 连续培养7 d, 获得骨髓间充质干细胞, 采用流式细胞仪检测干细胞数目为 1×10^{11} – $1 \times 10^{12} \text{ L}^{-1}$ 。对患者行股动脉穿刺和造影, 观察肝脏血管及其他情况, 然后经肝左右动脉按照 $1 \times 10^6/\text{kg}$ 缓慢注入干细胞悬液, 输注时间约1 h, 对穿刺部位进行加压包扎, 术侧制动6 h。促肝细胞生长素注射液120 μg 加入5%葡萄糖250 mL, 静脉滴注, 1次/d, 30 d为1个疗程。

干细胞的鉴定: 免疫组织化学结果显示, CD34、CD45阴性表达, CD90、CD44阳性表达。

1.6 主要观察指标

肝纤维化检测: 抽取患者住院时、治疗后12周、治疗后24周清晨空腹周静脉血5 mL, 采用肝纤维化酶联免疫试剂盒(上海冠泰生物科技有限公司)检测血清透明质酸、层粘连蛋白、III型前胶原、IV型胶原蛋白水平。

肝功能检测: 抽取患者住院时、治疗后12周、治疗后24周清晨空腹周静脉血5 mL, 采用肝功能检测试剂盒(合肥天-生物技术研究), 检测患者丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、白蛋白、总胆红素、胆碱酯酶和凝血酶原活动度。

MELD评分: 用来预测终末期肝病的病死率及术后生存时间, 评分越高风险越大, 生存率越低, 计算公式 $R=0.378\ln[\text{胆红素}(\text{mg/dL})]+1.121(\text{INR})+0.95\ln[\text{肌酐}(\text{mg/dL})+0.64(\text{病因: 胆汁性或酒精性0, 其他1})]$ 。

1年生存率: 随访观察两组患者治疗后1年生存率。

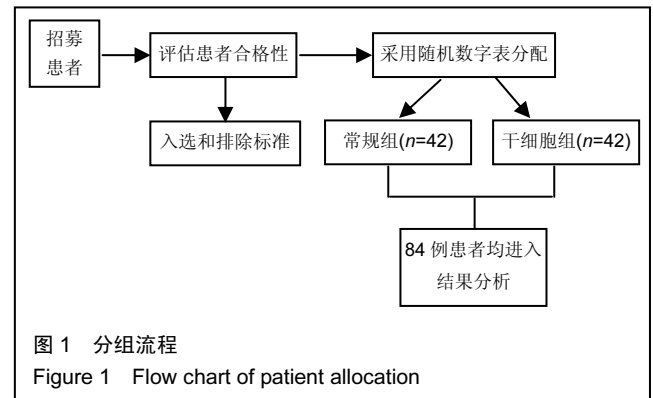
1.7 统计学分析 应用SPSS 19.0统计软件, 肝纤维化、肝功能、MELD评分均为正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,

组间比较采用 t 检验, 组内比较采用重复测量方差分析, 不良反应为计数资料采用 χ^2 检验, 2组生存率分析采用Kaplan-Meier分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 参与者数量分析 84例患者均进入结果分析。

2.2 分组流程图 见图1。



2.3 基线资料分析 两组性别比例、年龄、Child-Pugh分级和临床表现比较差异无显著性意义($P > 0.05$), 见表1。

表1 两组临床基线资料的比较

Table 1 Comparison of clinical baseline data of patients between two groups

项目		常规组	干细胞组	χ^2/t	P
性别(n/%)	男	24/57	25/60	0.409 0	0.824 8
	女	18/43	17/41		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)		50 $\pm$ 10	49 $\pm$ 11	5.161 9 [*]	0.000 0
Child-Pugh 分级(n/%)	B 级	33/79	32/76	0.068 0	0.794 2
	C 级	9/21	10/24		
临床表现(n/%)	腹水	40/95	41/98	0.000 0 [#]	1.000 0
	电解质紊乱	18/43	17/41	0.049 0	0.824 8
	原发性腹膜炎	11/26	10/24	0.063 5	0.801 1
	胸腔积液	8/19	9/21	0.073 7	0.786 0
	肝性脑病	7/17	6/14	0.091 0	0.762 9
	胸膜炎	4/10	5/12	0.000 0 [#]	1.000 0

表注: *为 t 值, #为Yates校正法。

2.4 两组治疗前后肝纤维化检测指标的比较 两组治疗12, 24周的透明质酸、层粘连蛋白、III型前胶原和IV型胶原蛋白水平均低于治疗前($P < 0.05$), 且治疗24周低于治疗12周($P < 0.05$); 2组治疗前透明质酸、层粘连蛋白、III型前胶原和IV型胶原蛋白水平比较差异无显著性意义($P > 0.05$); 干细胞组治疗12, 24周的透明质酸、层粘连蛋白、III型前胶原和IV型胶原蛋白水平平均低于常规组($P < 0.05$), 见表2, 3。

2.5 两组治疗前后肝功能检测指标的比较 两组治疗后12, 24周的丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、总胆红素水平低于治疗前($P < 0.05$), 白蛋白、胆碱酯酶、凝血酶原活动度水平高于治疗前($P < 0.05$); 两组治疗后24

表 2 两组治疗前后透明质酸、层粘连蛋白水平的比较

($\bar{x} \pm s$, $n=42$, $\mu\text{g/L}$)

Table 2 Comparison of hyaluronic acid and laminin levels between two groups before and after treatment

治疗时间	透明质酸			
	常规组	干细胞组	<i>t</i>	<i>P</i>
治疗前	315±51	319±53	0.352 4	0.725 4
治疗后 12 周	233±46 ^a	176±43 ^a	5.866 5	0
治疗后 24 周	165±38 ^{ab}	117±34 ^{ab}	6.100 7	0
<i>F</i>	115.37	233.82		
<i>P</i>	0	0		

治疗时间	层粘连蛋白			
	常规组	干细胞组	<i>t</i>	<i>P</i>
治疗前	164±56	165±54	0.083 3	0.933 8
治疗后 12 周	113±35 ^a	83±34 ^a	3.984 4	0.000 1
治疗后 24 周	82±30 ^{ab}	57±23 ^{ab}	4.286 0	0
<i>F</i>	41.06	87.01		
<i>P</i>	0	0		

表注: 与治疗前比较, ^a $P < 0.05$; 与治疗后 12 周比较, ^b $P < 0.05$ 。

表 3 两组治疗前后Ⅲ型前胶原、Ⅳ型胶原蛋白水平的比较

($\bar{x} \pm s$, $n=42$, $\mu\text{g/L}$)

Table 3 Comparison of type III collagen and type IV collagen levels between two groups before and after treatment

治疗时间	Ⅲ型前胶原			
	常规组	干细胞组	<i>t</i>	<i>P</i>
治疗前	164±44	163±45	0.103 0	0.918 2
治疗后 12 周	125±30 ^a	99±28 ^a	4.106 1	0.000 1
治疗后 24 周	91±22 ^{ab}	65±19 ^{ab}	5.796 6	0
<i>F</i>	50.64	98.42		
<i>P</i>	0	0		

治疗时间	Ⅳ型胶原蛋白			
	常规组	干细胞组	<i>t</i>	<i>P</i>
治疗前	152±26	153±27	0.172 9	0.863 2
治疗后 12 周	130±21 ^a	109±20 ^a	4.693 0	0
治疗后 24 周	113±16 ^{ab}	92±11 ^{ab}	7.009 3	0
<i>F</i>	35.09	99.89		
<i>P</i>	0	0		

表注: 与治疗前比较, ^a $P < 0.05$; 与治疗后 12 周比较, ^b $P < 0.05$ 。

周的丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、总胆红素水平低于治疗 12 周($P < 0.05$), 胆碱酯酶、凝血酶原活动度水平高于治疗后 12 周($P < 0.05$); 两组治疗前丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、白蛋白、总胆红素、胆碱酯酶、凝血酶原活动度水平比较差异无显著性意义($P > 0.05$); 干细胞组治疗后 12、24 周的丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、总胆红素水平均低于常规组($P < 0.05$), 胆碱酯酶水平高于常规组($P < 0.05$); 两组治疗后 12、24 周的白蛋白、凝血酶原活动度水平比较差异无显著性意义($P > 0.05$), 见表 4-6。

2.6 两组治疗前后 MELD 评分的比较 两组治疗后 12、24

表 4 两组治疗前后丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶水平的比较

($\bar{x} \pm s$, $n=42$, U/L)

Table 4 Comparison of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase levels between two groups before and after treatment

治疗时间	丙氨酸氨基转移酶			
	常规组	干细胞组	<i>t</i>	<i>P</i>
治疗前	96.1±6.1	97.2±5.8	0.846 9	0.399 5
治疗后 12 周	53.2±4.2 ^a	45.6±3.8 ^a	8.696	0
治疗后 24 周	44.1±3.9 ^{ab}	36.4±2.3 ^{ab}	11.021 4	0
<i>F</i>	1 386.98	2 535.52		
<i>P</i>	0	0		

治疗时间	天门冬氨酸氨基转移酶			
	常规组	干细胞组	<i>t</i>	<i>P</i>
治疗前	102.4±11.3	103.0±12.1	0.234 9	0.814 9
治疗后 12 周	66.8±7.8 ^a	56.4±6.5 ^a	6.638 2	0
治疗后 24 周	51.3±6.6 ^{ab}	45.1±5.8 ^{ab}	4.573 1	0
<i>F</i>	372.68	533.90		
<i>P</i>	0	0		

表注: 与治疗前比较, ^a $P < 0.05$; 与治疗后 12 周比较, ^b $P < 0.05$ 。表 5 两组治疗前后白蛋白、总胆红素水平的比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=42$)

Table 5 Comparison of albumin and total bilirubin levels between two groups before and after treatment

治疗时间	白蛋白(g/L)			
	常规组	干细胞组	<i>t</i>	<i>P</i>
治疗前	25.9±4.0	26.1±4.2	0.223 5	0.823 7
治疗后 12 周	30.2±10.4 ^a	33.2±8.5 ^a	1.447 5	0.151 6
治疗后 24 周	31.4±10.6 ^a	34.5±11.0 ^a	1.315 1	0.192 1
<i>F</i>	4.46	12.21		
<i>P</i>	0.013 6	0		

治疗时间	总胆红素($\mu\text{mol/L}$)			
	常规组	干细胞组	<i>t</i>	<i>P</i>
治疗前	93.2±14.1	94.1±13.9	0.294 6	0.769 1
治疗后 12 周	62.3±12.0 ^a	52.7±10.2 ^a	3.950 3	0.000 2
治疗后 24 周	47.5±9.6 ^{ab}	42.7±9.4 ^{ab}	2.315 3	0.023 1
<i>F</i>	157.50	242.67		
<i>P</i>	0	0		

表注: 与治疗前比较, ^a $P < 0.05$; 与治疗后 12 周比较, ^b $P < 0.05$ 。

周的 MELD 评分均低于治疗前($P < 0.05$), 干细胞组治疗后 24 周的 MELD 评分低于治疗 12 周($P < 0.05$), 常规组治疗后 24 周的 MELD 评分与 12 周比较差异无显著性意义($P > 0.05$); 两组间治疗前、治疗后 12 周的 MELD 评分比较差异无显著性意义($P > 0.05$), 干细胞组治疗侯 24 周的 MELD 评分低于常规组($P < 0.05$), 见表 7。

2.7 两组 1 年生存情况分析 两组患者均随访 1 年, 无失访者, 常规组 1 年内死亡 23 例, 干细胞组死亡 15 例, 死亡原因均为肝衰竭。常规组 1 年生存率为 50%, 干细胞组 1 年生存率为 69%, 两组间比较差异有显著性意义($\chi^2=3.901$, $P < 0.05$), 见图 2。

表 6 两组治疗前后胆碱酯酶水平、凝血酶原活动度的比较

($\bar{x} \pm s$, $n=42$)

Table 6 Comparison of cholinesterase and prothrombin activity levels between two groups before and after treatment

治疗时间	胆碱酯酶(U/L)			
	常规组	干细胞组	<i>t</i>	<i>P</i>
治疗前	1 526±296	1 530±289	0.062 7	0.950 2
治疗后 12 周	2 087±186 ^a	3 042±233 ^a	20.759 4	0
治疗后 24 周	4 054±247 ^{ab}	5 011±231 ^{ab}	18.339 2	0
<i>F</i>	1 212.01	2 008.10		
<i>P</i>	0	0		
治疗时间	凝血酶原活动度(%)			
	常规组	干细胞组	<i>t</i>	<i>P</i>
治疗前	31.4±7.5	31.1±7.7	0.180 9	0.856 9
治疗后 12 周	41.8±9.6 ^a	44.7±9.8 ^a	1.370 0	0.174 4
治疗后 24 周	46.5±10.1 ^{ab}	49.6±9.9 ^{ab}	1.420 5	0.159 2
<i>F</i>	30.04	45.69		
<i>P</i>	0	0		

表注: 与治疗前比较, ^a $P < 0.05$; 与治疗后 12 周比较, ^b $P < 0.05$ 。

表 7 两组治疗前后的终末期肝病模型系统评分比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=42$)

Table 7 Comparison of scores on Model for End-Stage Liver Disease system between two groups before and after treatment

组别	治疗前	治疗后 12 周	治疗后 24 周	<i>F</i>	<i>P</i>
常规组	34±10	29±10 ^a	27±6 ^a	6.94	0.0014
干细胞组	33±11	26±9 ^a	22±5 ^{ab}	17.21	0
<i>t</i>	0.435 9	1.445 1	4.148 9		
<i>P</i>	0.664 0	0.152 2	0.000 1		

表注: 与治疗前比较, ^a $P < 0.05$; 与治疗后 12 周比较, ^b $P < 0.05$ 。

2.8 不良反应 干细胞组未发生干细胞相关的不良反应。

3 讨论 Discussion

乙型肝炎失代偿期患者常有腹水、静脉曲张破裂出血、黄疸、肝癌、肝性脑病、感染等多种并发症, 预后较差^[5-7]。目前乙型肝炎失代偿期的治疗目标是最大限度地抑制或消除乙肝病毒, 减轻干细胞炎症坏死和肝纤维化, 延缓肝脏失代偿的发展, 改善患者生活质量和延长存活时间^[8]。研究采用抗病毒、保肝和自体骨髓间充质干细胞移植综合治疗, 取得了良好的治疗效果。

恩替卡韦是一种强效的核苷酸类抗病毒药物。研究发现, 乙肝失代偿患者分别采用恩替卡韦和阿德福韦酯进行系统治疗, 治疗 24、48 周时恩替卡韦组的血清乙肝病毒 DNA 水平、MELD 评分降幅、进展为肝细胞癌患者比例和累积死亡率均显著低于阿德福韦酯组($P < 0.01$)^[9]。一项荟萃分析发现, 恩替卡韦可改善乙型肝炎失代偿期患者总胆红素水平和 Child-Turcotte-Pugh 评分^[10]。Wong 等^[11]研究发现, 恩替卡韦可有效降低肝硬化患者并发症、肝细胞癌、肝脏相关死亡和全因死亡风险且持续抑制病毒。Liaw 等^[12]

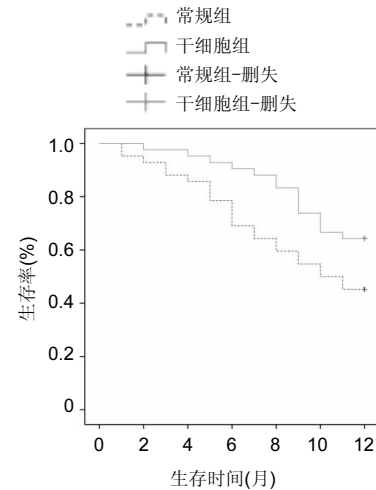


图 2 两组患者 1 年生存分析曲线

Figure 2 1-year survival curves of patients in the two groups

研究发现, 恩替卡韦治疗慢性乙肝失代偿患者任何不良事件、药物相关不良事件和严重不良事件发生率与患者基础疾病一致, 未出现新的安全性事件。胡晓平^[13]研究发现, 扶正化瘀胶囊可显著改善肝硬化失代偿期患者天门冬氨酸氨基转移酶、丙氨酸氨基转移酶、GGT 和肝纤维化等检测指标, 对肝功能和肝纤维化有良好的治疗作用。恩替卡韦和扶正化瘀胶囊联合应用治疗失代偿期乙型肝炎肝硬化患者, 可显著改善患者肝功能, 且效果优于单用恩替卡韦^[14]。研究发现, 常规组治疗后 12、24 周的透明质酸、层粘连蛋白、III 型前胶原和 IV 型胶原蛋白水平均低于治疗前($P < 0.05$), 且治疗 24 周低于治疗 12 周($P < 0.05$); 常规组治疗后 12、24 周的丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、总胆红素水平低于治疗前($P < 0.05$), 白蛋白、胆碱酯酶、凝血酶原活动度水平高于治疗前($P < 0.05$), 且治疗 24 周丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶水平低于治疗 12 周, 胆碱酯酶、凝血酶原活动度水平高于治疗 12 周($P < 0.05$)。常规组治疗后 12、24 周的 MELD 评分均低于治疗前($P < 0.05$)。说明恩替卡韦联合扶正化瘀胶囊治疗乙型肝炎失代偿期患者可改善患者肝纤维化、肝功能, 同时降低 MELD 评分。但国外有报道指出, 应用恩替卡韦治疗未达到病毒学应答的失代偿性肝硬化患者, 仍有肝细胞癌的风险, 尤其是 > 50 岁的男性, 即使接受强效抗病毒治疗, 也应当严密监测肝细胞癌的发展^[15]。

自体骨髓间充质干细胞在特定环境下可分化成肝干细胞和干细胞, 参与肝功能的修复和重建^[16-18]。研究表明, 间充质干细胞可改善肝功能, 减少腹水、水肿, 缓解疲劳^[19-31]。Fitzpatrick 等^[32]研究发现, 间充质干细胞与肝细胞一起培养, 培养第 5-25 天能够提高白蛋白的产量, 这一效应在第 15 天时最为显著, 其白蛋白产量是单一培养对照组的 10 倍, 说明肝细胞的存在对于刺激间充质干细胞

分泌促存活因子非常重要,肝细胞与间充质干细胞联合移植能够极大地提高急性肝衰竭的治疗效果。Liu等^[33]利用成年人皮肤和血液中提取的干细胞培育出肝脏细胞治疗肝硬化小鼠,发现其可帮助肝脏再生且能分泌人特定的肝脏蛋白,同时在7个月的观察中未发现移植小鼠体内有肿瘤产生,说明干细胞诱导多功能细胞不会诱发肿瘤。郑盛等^[34]通过对肝硬化失代偿期患者进行自体骨髓间充质干细胞移植,发现移植组患者临床症状、肝功能有明显改善,可以作为肝移植的有益补充。研究发现,干细胞组治疗12、24周透明质酸、层粘连蛋白、III型前胶原、IV型胶原蛋白、丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、总胆红素水平均低于常规组($P < 0.05$),胆碱酯酶水平高于常规组($P < 0.05$);干细胞组治疗后12、24周的白蛋白、凝血酶原活动度水平与常规组无差异($P > 0.05$)。干细胞组治疗后24周的MELD评分明显低于常规组($P < 0.05$)。2组患者均随访1年,无失访者,常规组1年内死亡23例,干细胞组死亡15例,死亡原因均为肝衰竭。常规组1年生存率为50%,干细胞组为69%,两组比较差异有显著性意义($P < 0.05$)。说明干细胞组能够显著改善乙型肝炎失代偿期患者肝纤维化程度、肝功能和生存率。Kharaziha等^[35]对肝脏疾病终末期患者进行自体间充质干细胞移植发现,在治疗后患者耐受良好,终末期肝病评分、血清肌酐、白蛋白、凝血酶原国际标准化比率等均有显著改善。但Peng等^[36]对53例乙型肝炎引起的肝功能衰竭患者进行自体间充质干细胞治疗,发现其近期疗效确切,但随访192周中长期结果没有明显改善。同时Kim等^[37]对14项研究的448例患者进行荟萃分析发现,骨髓间充质干细胞移植对患者肝功能、腹水、脑病有较好的改善作用,特别是MELD评分,血清白蛋白、总胆红素水平有显著改善,但缺乏相应的组织学、并发症等研究。Xue等^[38]研究发现,人脐带间充质干细胞移植治疗终末期肝病,对患者肝功能、凝血功能、MELD评分有显著改善作用,但超声检查发现门静脉和脾静脉血流动力学无显著改善。研究仅对治疗后肝纤维化指标、肝功能、MELD评分进行研究,同时观察了1年生存率,但未进行相关影像学检查评估和远期效果评价,后续会进行相关研究。

综上所述,采用自体骨髓间充质干细胞治疗乙型肝炎失代偿期患者,能够显著改善患者肝纤维化状态和肝功能,降低患者MELD评分,提高患者1年生存率,是目前受限于供体肝脏来源,不能广泛开展肝移植的有益补充。

作者贡献: 吴玉卓进行试验设计,试验实施为吴玉卓、杨乐,试验评估为翟玉峰,资料收集为张怀宏,吴玉卓成文,霍丽亚审核。

利益冲突: 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题: 试验方案经郑州大学附属医院南阳分院医院伦理委员会批准,批准号为 201404278,试验方案已经患者/家属知情同意,郑州大学附属医院南阳分院医院具有干细胞移植治疗资质。临床试验

研究的实施符合《赫尔辛基宣言》和医院对人体研究的相关伦理要求。文章的撰写与编辑修改后文章遵守了《随机对照临床试验研究报告指南》(CONSORT 指南)。参与实验的患病个体及其家属为自愿参加,所有供者、受者均对实验过程完全知情同意,在充分了解本治疗方案的前提下签署“知情同意书”。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审,符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者吴玉卓对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁,可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。根据《知识共享许可协议》“署名-商业性使用-相同方式共享3.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] 中华人民共和国卫生部.2006-2010年全国乙型病毒性肝炎防治规划[J].中国实用乡村医生杂志,2006,13(8):1-4.
- [2] Fattovich G, Bortolotti F, Donato F. Natural history of chronic hepatitis B: special emphasis on disease progression and prognostic factors. J Hepatol. 2008;48(2):335-352.
- [3] Fitzpatrick E, Wu Y, Dhadda P, et al. Coculture with mesenchymal stem cells results in improved viability and function of human hepatocytes. Cell Transplant. 2015; 24(1): 73-83.
- [4] 中华医学会肝病学分会,中华医学会感染病学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2015年版)[J].中国肝脏病杂志(电子版),2015,7(3): 1-18.
- [5] 李海军,杨新英,李东,等.乙型肝炎肝硬化失代偿期临床指标与预后关系研究[J].人民军医,2008,51(4):222-223.
- [6] 耿明凡,高方媛,谷莉莉,等.终末期肝病的模型与评价指标的研究进展[J].中国肝脏病杂志(电子版),2014,6(3):98-100.
- [7] 杨方,魏倪.乙型肝炎肝硬化失代偿期预后因素分析及预后模型的建立[J].中华传染病杂志,2008,26(12):750-753.
- [8] Jang JW, Choi JY, Kim YS, et al. Long-term effect of antiviral therapy on disease course after decompensation in patients with hepatitis B virus-related cirrhosis. Hepatology. 2015; 61(6):1809-1820.
- [9] Liaw YF, Raptopoulos-Gigi M, Cheinquer H, et al. Efficacy and safety of entecavir versus adefovir in chronic hepatitis B patients with hepatic decompensation: a randomized, open-label study. Hepatology. 2011;54(1):91-100.
- [10] Ye XG, Su QM. Effects of entecavir and lamivudine for hepatitis B decompensated cirrhosis: meta-analysis. World J Gastroenterol. 2013;19(39):6665-6678.
- [11] Wong GL, Chan HL, Mak CW, et al. Entecavir treatment reduces hepatic events and deaths in chronic hepatitis B patients with liver cirrhosis. Hepatology, 2013,58(5): 1537-1547.
- [12] Liaw YF, Sheen IS, Lee CM, et al. Tenofovir disoproxil fumarate (TDF), emtricitabine/TDF, and entecavir in patients with decompensated chronic hepatitis B liver disease. Hepatology. 2011;53(1):62-72.

- [13] 胡晓平.扶正化瘀胶囊对肝硬化失代偿期的临床疗效[J].现代中西医结合杂志,2007,16(15):2038-2039.
- [14] 张先俊,杨力,胡建国.恩替卡韦联合扶正化瘀胶囊治疗失代偿期乙型肝炎肝硬化临床观察[J].中华实用诊断与治疗杂志,2010,24(12):1217-1219.
- [15] Kim SS,Hwang JC,Lim SG,et al.Effect of virological response to entecavir on the development of hepatocellular carcinoma in hepatitis B viral cirrhotic patients: comparison between compensated and decompensated cirrhosis.Am J Gastroenterol.2014;109(8):1223-1233.
- [16] 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.
- [17] Uccelli A,de Rosbo NK.The immunomodulatory function of mesenchymal stem cells: mode of action and pathways.Ann N Y Acad Sci.2015;1351:114-126.
- [18] Volarevic V,Nurkovic J,Arsenijevic N,et al.Concise review: Therapeutic potential of mesenchymal stem cells for the treatment of acute liver failure and cirrhosis.Stem Cells.2014;32(11):2818-2823.
- [19] El-Ansary M,Abdel-Aziz I,Mogawer S,et al.Phase II trial:undifferentiated versus differentiated autologous mesenchymal stem cells transplantation in Egyptian patients with HCV induced liver cirrhosis.Stem Cell Rev.2012;8(3):972-981.
- [20] Amer ME1,El-Sayed SZ,El-Kheir WA,et al.Clinical and laboratory evaluation of patients with end-stage liver cell failure injected with bonemarrow-derived hepatocyte-like cells.Eur J Gastroenterol Hepatol.2011;23(10):936-941.
- [21] 焦煜全,李雪丽,吕杰,等.自体骨髓间充质干细胞移植治疗代偿期肝硬化疗效观察[J].中国继续医学教育,2016,8(4):105-106.
- [22] 于双杰,陈黎明,吕飒,等.人脐带间充质干细胞治疗失代偿性乙型肝炎肝硬化的安全性与疗效[J].中华肝脏病杂志,2016,24(1):51-55.
- [23] 吴锋,蒲春文,张勇.自体骨髓间充质干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的临床疗效观察[J].中国肝脏病杂志(电子版),2015,7(3):130-134.
- [24] 方雪晴,张骏飞,宋海燕,等.间充质干细胞移植及其在失代偿期肝硬化中的研究进展[J].中华传染病杂志,2016,34(8):509-512.
- [25] Xuan J,Feng W,An ZT,et al.Anti-TGFβ-1 receptor inhibitor mediates the efficacy of the human umbilical cord mesenchymal stem cells against liver fibrosis through TGFβ-1/Smad pathway.Mol Cell Biochem.2017.doi: 10.1007/s11010-017-2940-1.[Epub ahead of print]
- [26] Chen L,Zhang C,Chen L,et al.Human Menstrual Blood-Derived Stem Cells Ameliorate Liver Fibrosis in Mice by Targeting Hepatic Stellate Cells via Paracrine Mediators.Stem Cells Transl Med.2017;6(1):272-284.
- [27] Ezquer F,Bahamonde J,Huang YL,et al.Administration of multipotent mesenchymal stromal cells restores liver regeneration and improves liver function in obese mice with hepatic steatosis after partial hepatectomy.Stem Cell Res Ther. 2017;8(1):20.
- [28] Fang XQ,Zhang JF,Song HY,et al.Effect of umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation on immune function and prognosis of patients with decompensated hepatitis B cirrhosis.Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi. 2016;24(12):907-910.
- [29] Liu Y,Xiong Y,Xing F,et al.Precise Regulation of miR-210 is Critical for the Cellular Homeostasis Maintenance and Transplantation Efficacy Enhancement of Mesenchymal Stem Cell in Acute Liver Failure Therapy.Cell Transplant.2016.doi: 10.3727/096368916X694274. [Epub ahead of print]
- [30] Zhang YC,Liu W,Fu BS,et al.Therapeutic potentials of umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells for ischemic-type biliary lesions following liver transplantation. Cytotherapy.2017;19(2):194-199.
- [31] Jin S,Li H,Han M,et al.Mesenchymal Stem Cells with Enhanced Bcl-2 Expression Promote Liver Recovery in a Rat Model of Hepatic Cirrhosis.Cell Physiol Biochem. 2016;40(5):1117-1128.
- [32] Fitzpatrick E,Wu Y,Dhadda P,et al.Coculture with mesenchymal stem cells results in improved viability and function of human hepatocytes.Cell Transplant.2015; 24(1):73-83.
- [33] Liu H,Kim Y,Sharkis S,et al.In vivo liver regeneration potential of human induced pluripotent stem cells from diverse origins. Sci Transl Med.2011;3(82):82ra39.
- [34] 郑盛,杨涓,刘琼,等.经肝固有动脉自体骨髓间充质干细胞移植治疗肝硬化失代偿期患者[J].中华移植杂志(电子版),2015,9(4):165-169.
- [35] Kharaziha P,Hellström PM,Noorinayer B,et al. Improvement of liver function in liver cirrhosis patients after autologous mesenchymal stem cell injection: a phase I-II clinical trial.Eur J Gastroenterol Hepatol.2009;21(10):1199-1205.
- [36] Peng L,Xie DY,Lin BL,et al.Autologous Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Liver Failure Patients Caused by Hepatitis B: Short-Term and Long-Term Outcomes.Hepatology.2011;54(5):1891-1892.
- [37] Kim G, Eom YW, Baik SK, et al. Therapeutic Effects of Mesenchymal Stem Cells for Patients with Chronic Liver Diseases: Systematic Review and Meta-analysis.J Korean Med Sci.2015;30(10):1405-1415.
- [38] Xue HL,Zeng WZ,Wu XL,et al.Clinical therapeutic effects of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells transplantation in the treatment of end-stage liver disease. Transplant Proc.2015;47(2):412-418.