

·综述·

肝细胞移植临床应用的研究现状

卢伟 李彦豪

R6 B

尽管移植和免疫学的不断发展,美国每年仍有 26 000 人死于终末期肝脏疾病。原位肝移植可以治疗各种原因(包括先天遗传因素或后天获得疾病)所致的急、慢性肝功能衰竭或代谢紊乱。但受肝脏来源限制、移植费用巨大、病死率高以及长期需应用免疫抑制剂等影响,使临床应用受到限制。肝细胞移植是将游离的、有活性的肝细胞大量移植到受体内,移植入的肝细胞在受体内生长、增殖并发挥正常肝细胞的作用,可代替部分肝功能并介导基因治疗。目前肝细胞移植在各类动物模型中被广泛运用,以研究其临床应用的有效性和安全性^[1-3]。近年来的临床资料已证实肝细胞移植在治疗肝功能衰竭、肝硬化失代偿期、先天性酶缺乏、血液病和基因缺陷病的价值。由于它是一种简单、有效、对机体影响较小的技术,临床上有着十分广阔的应用前景。本文就近年来肝细胞移植的临床应用研究进展作一综述。

一、肝细胞移植的适应证^[4,5]

肝细胞移植的适应证包括:①各种原因所致的急性肝功能衰竭;②原发性肝脏遗传性疾病包括家族性高胆固醇血症、 α_1 -抗胰蛋白酶缺乏症、凝血因子Ⅷ、Ⅸ缺乏症、S 和 C 蛋白缺乏症、遗传性果糖不耐受症、Wilson 病、基因突变所致的脂蛋白代谢紊乱、I 型酪氨酸血症、富马酰羟化酶缺乏症(α_1)、溶酶体缺少症、家族性淀粉样变、色素沉着症、X-连锁肾上腺脑白质营养不良、原卟啉病、Crigler-Najjar 综合征、Nimann-Pick 病和 Refsum 病;③慢性病毒性肝炎或自身免疫性肝炎所致的慢性肝功能衰竭;④体外基因治疗。

二、供肝来源

肝细胞可来源于:自体、同种异体(包括胎肝)和异种肝脏。自体肝细胞多为切除病灶周围分离的正常肝组织或为行体外基因治疗而切出的部分肝脏。最常用的为同种异体肝细胞,多为脑死亡患者的肝脏分离成悬液,利用冷冻保持其形态和功能。异种肝细胞很少应用于临床,有人用猪肝细胞作为供体移植,治疗急性肝功能衰竭。冻存的肝细胞经过解冻后移植入受体仍具有与新鲜肝细胞一样增殖的能

力和生化特性。冻存肝细胞在 4℃ 培养 3 天后具有正常形态和功能。鼠肝细胞在 -20℃ 到 -80℃ 保存 1 周其存活率 70%,在 -196℃ 的液氮中保存 1 月其活力仍有 70%,液氮保存 32 月,肝细胞活力降到 60%。同样,人类肝细胞保存 32 月活力仍保持在 51-75%,这些都为建立人类“肝细胞库”打下了基础。从一个供体内获得的肝细胞可以应用于多人,有望解决供肝来源不足的现象。

三、肝细胞移植免疫学

尽管肝细胞的免疫原性低,没有引起排斥反应的 MHC II 类分子。但是通过小鼠向异种移植观察发现,没有应用免疫抑制剂的动物,移植植物被快速排斥。将异基因鼠肝细胞移植到免疫缺陷或 T 细胞缺乏的受体鼠脾内则移植植物不被排斥,而移植到 B 细胞缺乏、含 CD4⁺ 或 CD8⁺ T 细胞鼠体内则表现为免疫排斥,由此可知免疫应答主要由 T 细胞介导的。把同种异体大鼠肝细胞悬液移植到脾脏同时植入胸腺,将可诱导受体免疫耐受,减少排斥反应发生。

肝细胞移植的安全性已得到证实,即使使用胎肝(含 1-2% 的 T 细胞)细胞,移植植物抗宿主反应(GVHD)的发生率低。而使用成熟肝细胞移植,无论动物还是临床均未见 GVHD 的发生。制备的新鲜的肝细胞悬液中仅含 0.1% 红细胞,因此一般不考虑供受体血型相符问题。

四、肝细胞移植临床应用及效果

(一)急性肝功能衰竭 Soriano 等^[6]给 3 例急性肝功能衰竭患儿留置门静脉插管,反复输注解冻的低温保存的肝细胞,应用环孢素抑制免疫,注射期间门脉压力一过性升高,未发生与移植有关的并发症。移植后肝功能均改善。其中 1 例接受相当于自身 1/3 的肝细胞,2 周后恢复良好,无需再行原位肝移植。Bilir 等^[7]报道 5 例严重急性肝功能衰竭分别行脾内(4 例)和(或)肝内(2 例)异体肝细胞移植,其中 2 例于 24 h 内死亡,另 3 例分别于 14、28 和 52 d 死亡。尸检均发现移植部位供体肝细胞存活。其中 1 例肝昏迷 IV 期、完全无尿等待肝移植患者行肝细胞移植,经脾动脉灌注 1.3×10^9 冻存肝细胞,72 h 后患者神志清醒,EEG 和脑 CT 明显改善,凝血酶原时

作者单位:510515 第一军医大学南方医院介入治疗所

间由 72 s 降至 40 s, 但移植后 14 d 出现败血症和 ARDS 死亡。尸检发现脾内有多发性小梗死灶, 移植肝细胞在脾髓的血管内。因此脾动脉灌注应避免发生脾梗死。Bilir 等^[8]经颈静脉途径穿刺门脉 (TIPS 途径) 输注肝细胞的取得成功, 尽管有少数细胞进入肺内, 但临床上不会出现严重并发症。

(二) 慢性肝功能衰竭 早期国内许多报道经静脉应用胎肝细胞移植治疗失代偿期肝硬化, 取得肯定疗效。国外多采用腹腔、脾或门脉输注。对于慢性肝硬化, 肝细胞移植可抑制肝细胞增大, 胆管细胞增生和肝硬化小结节形成, 纠正肝性脑病。等待肝移植的患者可以接受简单的细胞移植, 防止肝衰竭。Strom^[9]对 5 例肝移植慢性终末期的肝衰竭患者行经皮脾穿刺肝细胞移植, 所有肝生化指标明显改善, 血氨下降。移植后 2~10 d 撤除大部药物治疗病情仍稳定。Mito 等^[10]给肝硬化 Child C 级患者行脾内注射自体肝细胞悬液, 术后腹水消失, 血氨下降。

(三) 肝先天遗传性疾病 近年来, 临床上利用肝细胞移植治疗肝先天性酶缺乏症取得了较好疗效。显示出良好的应用前景。1996 年 Reves 等^[11]报道给 1 例 5 岁先天性鸟氨酸甲酰转移酶 (OTC) 缺乏并肝功能衰竭的患儿行异体肝细胞移植, 经皮穿刺门脉输注 10 亿个¹¹¹In 标记肝细胞, 可见 95% 存留在肝内, 4% 在脾内, 1% 在骨髓内。患者临床症状明显缓解, 肝活检测 OTC 活性由 0.4 升至 80.6 $\mu\text{mol/g}$ 肝组织, 用 PCR 法可以检出供体肝细胞的人类白细胞抗原 (HLA)。1998 年 Fox 等^[12]对 1 例 Crigler-Najjar 综合征 I 型的 10 岁患儿行同种异体移植, 15 h 内经门脉输注正常肝细胞 (7.5 亿), 给予 FK506 和泼尼松移植免疫。结果血清未结合胆红素由 408~459 $\mu\text{mol/L}$ 降至 180.2~238 $\mu\text{mol/L}$, 胆红素-UDP-葡萄糖醛基转移酶活性由仅能测出 (0.4%) 升至正常 (5.5%), 胆汁中由葡萄糖苷酸胆红素分泌, 光照时间由每日 10~12 h 降至 6~8 h。患儿症状持续缓解达 1 年时间。多数学者认为尽管还有许多问题亟待解决, 但肝细胞移植显然为肝脏疾病细胞和基因治疗开辟了一条新途径。

(四) 细胞移植和活体外基因治疗 肝脏活体外基因治疗同样也可采用肝细胞移植, 有效的病毒介质系统的建立, 使这一新治疗设想——将基因引入获得可能。肝脏的基因治疗特别常用逆转录病毒和腺病毒。许多研究小组建立了活体-基因治疗策略, 方法是首先获取原代肝细胞, 进行培养并选用基因行体外转染, 接着移植到受体内。经大量动物实

验证其应用价值后, 已进入了临床试用阶段。

Grossman 等^[13]采用自体肝细胞移植对 5 例纯合子家族性高胆固醇血症进行了体外基因治疗。首先部分切除患者肝脏 (15%), 分离、培养, 用转染有人 LDL 受体基因插入子的逆转录病毒载体感染肝细胞, 筛选成功转染者经门脉回输。结果患者 LDL-胆固醇稳定下降 20%, 无并发症发生。

肝细胞移植已从动物实验阶段进入人体应用阶段, 临床应用特别是纠正代谢缺陷已取得满意效果。在急性肝功能衰竭、急性肝损伤、肝硬化等病症, 体外基因治疗已取得初步成功, 有待进一步改善、推广。

参考文献

- 1 Mito M, Kusano M, Ohnishi T, et al. Hepatocellular transplantation. *Gastroenterol JPN*, 1978, 13: 480-490.
- 2 Sundback CA, Vacanti JP. Alternatives to liver transplantation: from hepatocyte transplantation to tissue-engineered organs. *Gastroenterology*, 2000, 118: 438-442.
- 3 Dunn TB, Kumins NH, Raofi V, et al. Multiple intrasplenic hepatocyte transplantations in the dalmatian dog. *Surgery*, 2000, 127: 193-199.
- 4 Tietge UJF, Schmidt HH, Manns MP. Leberzelltransplantation als somatische gentherapie. *Dtsch Med Wschr*, 1996, 121: 1271-1275 (Ger).
- 5 蒋继贫, 叶启发. 肝细胞移植作为体细胞基因治疗. *德国医学*, 1998, 15: 35-37.
- 6 Soriano HE, Gest AL, Bair DK, et al. Transplantation of human hepatocyte. *Hepatology*, 1997, 26: 239A.
- 7 Bilir BM, Guenette D, Ostrowska A, et al. Percutaneous hepatocyte transplantation in liver failure. *Hepatology*, 1997, 26: 252A.
- 8 Bilir B, Durham JD, Krystal J, et al. Transjugular intra-portal transplantation of cryopreserved human hepatocytes in a patient with acute liver failure. *Hepatology*, 1996, 24: 308A.
- 9 Strom SC, Fisher RA, Thompson MT, et al. Hepatocyte transplantation as a bridge to orthotopic liver transplantation in terminal liver failure. *Transplantation*, 1997, 63: 559-566.
- 10 Mito M, Kusano M. Hepatocyte transplantation in a man. *Cell Transplant*, 1993, 24: 3052-3053.
- 11 Reves J, Rubinstein WS, Micles L, et al. The use of cultured hepatocyte infusion via the portal vein for the treatment of ornithine transcarbamoylase deficiency by transplantation of enzymatically competent ABO/Rh-matched cell. *Hepatology*, 1996, 24: 308A.
- 12 Fox IJ, Chowdhury JR, Kaufman SS, et al. Treatment of the Crigler-Najjar syndrome type I with hepatocyte transplantation. *N Engl J Med*, 1998, 338: 1422.
- 13 Grossman M, Raper SE, Kozarsky K, et al. Successful ex vivo gene therapy directed to liver in a patient with familial hypercholesterolemia. *Nat Genet*, 1994, 6: 335-341.

(收稿日期: 2001-12-09)

作者: 卢伟, 李彦豪
作者单位: 510515, 第一军医大学南方医院介入治疗所
刊名: 介入放射学杂志 **ISTIC PKU**
英文刊名: JOURNAL OF INTERVENTIONAL RADIOLOGY
年, 卷(期): 2002, 11(6)
被引用次数: 0次

参考文献(13条)

1. Mito M, Kusano M, Ohnishi T Hepatocellular transplantation 1978
2. Sundback CA, Vacanti JP Alternatives to liver transplantation: from hepatocyte transplantation to tissue-engineered organs 2000
3. Dunn TB, Kumins NH, Raofi V Multiple intrasplenic hepatocyte transplantations in the dalmation dog 2000
4. Tietge UJF, Schmidt HH, Manns MP Leberzelltransplantation als somatische gentherapie 1996(121)
5. 蒋继贫, 叶启发 肝细胞移植作为体细胞基因治疗 1998(01)
6. Soriano HE, Gest AL, Bair DK Transplantation of human hepatocyte 1997
7. Bilir BM, Guenette D, Ostrowska A Percutaneous hepatocyte transplantation in liver failure 1997
8. Bilir B, Durham JD, Krystal J Transjugular intra-portal transplantiation of cryopreserved human hepatocytes in a patient with acute liver failure 1996
9. Strom SC, Fisher RA, Thompson MT Hepatocyte transplantation as a bridge to orthotopic liver transplantation in terminal liver failure 1997
10. Mito M, Kusana M Hepatocyte transplantation in a man 1993
11. Reves J, Rubinstein WS, Mieles L The use of cultured hepatocyte infusion via the portal vein for the treatment of ornithine transcarbomylase deficiency by transplantation of enzymatically competent ABO/Rh-matched cell 1996
12. Fox IJ, Chowdhury JR, Kaufman SS Treatment of the Crigler-Najjar syndrome type I with hepatocyte transplantation 1998
13. Grossman M, Raper SE, Kozarsky K Successful ex vivo gene therapy directed to liver in a patient with familial hyper-cholesterolaemia 1994

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_jrfsxzz200206029.aspx

授权使用: qkahy(qkahy), 授权号: dddd4876-c973-4dea-9e81-9e38016c35a1

下载时间: 2010年11月24日