综述

文章编号:1000-5404(2006)06-0610-03

胰岛细胞移植治疗糖尿病现状与进展

郭俊召[1],陈 兵[2],别 平[3] ([1]解放军323医院病理科,西安 710054;第三军医大学西南医院:[2]内分泌科,[3]全军肝胆外科研究所,重庆 400038)

糖尿病是多基因遗传与环境因素长期共同作用所导致的一组以慢性高血糖为特征的代谢疾病;由于体内胰岛素相对或绝对不足或靶细胞对胰岛素敏感性降低(受体或受体后缺陷)所引起的内分泌代谢性疾病。目前全世界约有1.5亿糖尿病患者,预计到2025年将达到3亿。其中1型糖尿病患者终生需要胰岛素治疗,给患者生活带来极大的不便[1]。通过胰岛细胞移植来增加患者的胰岛素分泌细胞,可以有效地控制血糖代谢,减少和改善糖尿病的并发症,提高生活质量进而达到根治糖尿病的目的;同时可以避免外源性胰岛素治疗引起的低血糖和胰岛素抵抗[2]。因此胰岛细胞移植意义重大,现对胰岛细胞移植治疗糖尿病现状及进展等方面做综述如下。

1 胰岛细胞移植的现状

1.1 实验研究

研究表明异种移植似能避免糖尿病的自身免疫性攻击[1];sirolimus和IL-2联合治疗可以协同保护胰岛β细胞免受自身免疫的破坏,且作用可以长久保持[3];移植前少量多次的供者肝细胞和脾细胞输注可以降低异种胰岛细胞移植排斥反应的强度[4];PARP[poly(ADP-ribose) polymerase]抑制剂可以通过诱导浸润胰岛白细胞的凋亡和减少胰岛小团中的γ-IFN的表达而阻止NOD小鼠的自身免疫性糖尿病[5];TLM(Two-layer method UW & PFC perfuorochemical plus O_2)比单用UW(university of Wisconsin solution)保存人类胰腺的时间延长[6]且该冷储存法能够显著的提高胰岛细胞的复原以及增加人类胰腺经过长期缺血冷冻状态后移植的机会[7]。Molano等[8]对NOD大鼠进行同种异体胰岛移植后,运用Tacrolimus、Rapamycin和Anti-interleukin-2抗体方案(该方案是模仿临床实验成功的Edmonton方案),成功地使胰岛细胞存活时间延长。

对灵长类模型应用Edmonton免疫抑制方案进行肝内胰岛细胞移植的组织病理学研究得出结论[9]:胰岛移植30 d内可形成丰富的血供,这些血管在排斥反应后仍然存在,所以其细胞可能来自受体。在移植早期尚未能血管化时,实验动物仍然依赖胰岛素,因此在最初的数周内移植的胰岛细胞需要外源性胰岛素的支持,并且接受了同种异体胰岛细胞的受体的肝脏功能和结构必须紧密随访。而关于移植的标记了糖原的胰岛细胞的长期结局还需要进一步的研究。

综上所述,国内外的种种动物实验证明了胰岛细胞移植治疗糖尿病的可行性和可操作性,以及就一些具体的技术问题作了有益的探讨,为临床移植奠定了基础。

1.2 临床研究

目前国内外多家医疗单位都在开展这方面的研究和临床工作,在移植物和移植部位上做了种种尝试,且取得了很好的疗效,近期有报道28、32个月完全停用任何药物,远期的6年效果较肯定。同时也暴露了一些问题:胰岛细胞供体来源不足和移植后的免疫排斥问题等,有待我们进一步探索解决。

1.2.1 移植物及移植部位 移植物主要包括幼猪[1]、胎儿之胰腺组织。

目前国内外临床移植最常用的部位以腹腔内及肌肉内最多[10],主要包括三角肌、腹直肌、小网膜内、门静脉内、体静脉内和肾脂肪囊内等,较少见的有颅内移植。肌肉内移植方便、安全、创伤小,但肌肉不是免疫特惠区,影响长期疗效。网膜血供丰富,有利于移植物的存活和生长,胰岛素释放入门静脉系统符合生理途径,但网膜内胰岛移植对猪胰岛样细胞团(ICC)的需要量大。脑具有免疫特惠区特性。小网膜、肾囊内等部位的移植多采用手术移植,优点是部位准确,移植物分布均匀,血液供应好,移植物易存活。但手术是应激因素,术后糖尿病患者恢复较困难。

1.2.2 移植效果 影响移植效果的主要因素包括胰岛细胞的质量和数量。其质量除与供体细胞质量有关外,还与分离技术和培养时间长短有关。一般而言,原代胰岛细胞培养7~14 d生长较旺盛、胰岛素分泌功能较好。关于移植所需的细胞数量众说纷纭,改良的微囊化新生猪胰岛细胞移植此种方法移植的必需量是10个新生猪胰的胰岛[11],国外报道需用两个捐献者的胰腺。①近期效果:据报道颅内移植术后两周左右患者血糖有所下降,所移植的病例均在15~27 d出现低血糖反应,2~3个月空腹血糖又有回升,但尿糖均为阴性。肾包囊内移植后未用免疫抑制剂随访3年的结果表明:未出现急性排斥反

作者简介:郭俊召(1983-),男,河南省邓州市人,医师,主要从事消化系统与内分泌系统常见疾病的组织形态学方面的研究。电话:(029)85432124-46548

通讯作者:陈 兵,电话:(023)68754139

收稿日期:2005-04-08;修回日期:2005-10-11

应，10 例中 8 例有效，其中 2 例效果明显，停止任何药物治疗分别达 28 及 32 个月，有效者合并症亦有好转，1 例蛋白尿完全消失。国外报道的 26 例 1 型糖尿病患者进行胰岛细胞移植，全部无需额外应用胰岛素。81%（21/26）的病例完全停用胰岛素达 1 年之久[12]。Ryan 等[13]的研究认为胰岛细胞移植后可以达到 33 个月的持续的胰岛素非依赖状态。17 个移植个体中 14 个血糖保持稳定，并且移植满 1 年时，80% 的患者仍然可以脱离胰岛素。②远期效果：对 107 例 1 型糖尿病患者予以人胎胰岛细胞移植治疗，并对其中 98 例进行 4～10 年的随访观察。结果多数患者在移植后前 6 年，血糖控制较稳定，C 肽水平上升，每日胰岛素用量减少，其糖尿病酮症酸中毒及肾病和视网膜病变的发生率降低，少数患者效果可维持 10 年[14]。

胰岛细胞移植治疗糖尿病近期疗效满意，远期可以达到减少胰岛素用量，减少和延缓各种急性和慢性并发症的发生的目的。但是病例数有限，仍待循证医学的证实。

1.2.3　面临的问题　虽然胰岛细胞移植给糖尿病患者带来了希望，然而它仍面临着不少问题，其最主要的两个问题是[2,15]：胰岛细胞来源不足和移植后的免疫排斥反应。

胰岛细胞组织可通过以下途径扩充：①异种移植：目前比较热门的是胚胎或新生猪的胰岛组织的研究，国外某单位利用新生猪仔胰腺组织进行了体内、体外的形态和功能的研究，证明其潜在的生长分化能力；②扩增胰腺 β 细胞及制造胰岛素分泌细胞株：在动物体内以及体外培养的人体胰腺组织中，有作者采用胰腺细胞生长因子成功地实现了 β 细胞的扩增。随着实验条件的完善，胰腺细胞的体外扩增将会变为现实。

免疫排斥反应的预防可通过下列方法：①减少胰岛的免疫源性：制备纯净的胰岛可有效的降低免疫源性。低温、冷冻、紫外线照射多伴有胰岛活性的损伤而影响移植效果。所以不作为防止排斥反应的首选措施。②免疫隔离胰岛移植物：利用人工装置将移植的胰岛和受体的免疫系统隔离的方法。主要包括：胶囊包被技术；管状膜或 chamber 状人工胰岛装置；将胰岛细胞移植到脑内、胸腺、睾丸等处以达到胰岛细胞的免疫隔离。③抑制受体的免疫反应：主要包括单克隆抗体的应用和免疫抑制剂的应用。到目前为止尚未有满意的方法解决这两个胰岛细胞移植的瓶颈。

2　胰岛细胞移植进展

众多学者开展了有益的探索来解决胰岛细胞来源不足及移植后的免疫排斥等问题，取得了可喜的成果。广州医学院第二附属医院外科在腹腔镜技术操作熟练的基础上，把此技术应用于临床移植，将移植物准确地注入小网膜内，达到了既准确置入移植物，又减少对病人影响，有利于移植物的存活和发挥作用[1]。

Nat Med 报道了从糖尿病前期小鼠的胰腺中提取胰岛干细胞，经过体外培养诱导了 PDX-1、Reg、Betz2/NeuroD 等 β 细胞发育分化相关基因的表达以及胰岛素分泌。这些体外培养的同种异体细胞逃避了自身免疫这个 1 型糖尿病的主要病理损伤[2]。研究表明大鼠胚胎干细胞（ES）可以分化出使糖尿病大鼠血糖正常化的细胞[11]，并且人类 ES 细胞也可以分化成能分泌胰岛素的细胞，而且 GRIP 细胞（glucose-responsive insulin-producing cell）也可以从人类器官中的内源性干细胞获得。如果来源充足，那么能分化出具有 GRIP 功能细胞的干细胞将使治疗 1 型糖尿病的细胞移植变得可行。早期的研究已经辨别出存在人类胰腺的 nestin 阳性的 NIPs 细胞（nestin-positive islet-derived progenitor cell）。Huang 等[16]分离并且培养了表达干细胞标记 ABCG2/BCRP1 的人类胚胎 NIPs。在培养基内，NIPs 形成了 3 个胰岛细胞样的细胞集落（ICCs）。NIPs 细胞可以被复制并且长期保存在培养基里。

尽管理想的干细胞工程模式和其广阔的应用前景非常诱人，但是其临床应用还是面临一些难题[17]：一是对原始的干细胞进行体外增殖的维持和扩增还比较困难；二是 ES 细胞的定向分化机制还未明了，这成为限制 ES 细胞研究与应用的重要因素。用核移植技术建立病人胚胎干细胞系是克服组织配型困难的理想方法。但是如何将杂核的胚胎干细胞定向分化为成熟的功能细胞仍然是一个悬而未决的问题。所以应用干细胞技术来扩增胰岛细胞还为时尚早。

成人胰腺中小细胞形态的观察表明这些小细胞可能是潜在的起源细胞[18]。它们表达在不到 1% 的胰岛细胞中，体积小、形态原始且静止，免疫组化 PDX-1、Syn、insulin、Glucagon、somatostatin、alpha－fetaprotein 和 Bcl-2 阳性，cytokeratin 19 和 nestin 阴性。胰岛素分泌试验显示这些小细胞分泌的胰岛素具有降糖作用，但是不像成熟 β 细胞一样表达促分泌素如 IBMX 和精氨酸等。

另有研究表明 Ad5RGDpk7（adenoviral vectors arginie-glycine-aspartame polylysine）显示了更高的转染率[19]，它使感染超过 80% 胰岛细胞的病毒数量显著减少。所以这种方法可以成功地修饰孤立的胰岛细胞。缺乏任何内在的致糖尿病潜力的 T 细胞治疗胰岛素依赖性糖尿病开创了基因治疗的先河[20]；微囊胰岛细胞的免疫分离程序的改进[21]将对胰岛细胞的移植产生巨大的影响；Luca 等[22]研究表明：应用了维生素 D_3 和 E 的胰岛细胞有功能存活时间显著延长，其另一项研究表明[23]附加有滋养细胞（sertoli cell）的胰岛细胞能促进成人 β 细胞反转为婴儿样的状态，因此提供了一个新的、潜力强大的工具来显著增强糖尿病患者移植的胰岛细胞的功能。对胰岛细胞各组分（α、β、δ and pp cells）形态功能以及其生理学的充分理解的基础上，可以用工程学的方法扩增新的胰岛细胞以解决胰岛细胞供体不足的问题[24,25]。

3 展望

胰岛细胞移植治疗糖尿病已经显示了巨大的临床价值和前景。随着基因治疗、细胞治疗等的研究,以及细胞工程学的发展,将逐步解决目前困扰移植的两个难题:供体不足和免疫抑制剂的副作用。提高糖尿病患者的生活质量甚至彻底治愈糖尿病将不仅仅是个梦想。

关键词:胰岛细胞移植;糖尿病

中图法分类号:R587.105 **文献标识码**:A

参考文献:

[1] 姚燕丹, 章乐红, 胡以则. 猪胰岛细胞移植治疗糖尿病临床应用研究[J]. 广州医学院报, 2000, 28(1): 83-86.

[2] 徐刚, 袁敏生, WEIR G C. 胰岛细胞移植现状[J]. 中国糖尿病杂志, 2001, 9(3): 188-190.

[3] RABINOVITCH A, SUAREZ PINZON W L, SHAPIRO A M, *et al*. Combination therapy with sirolimus and interleukin-2 prevents spontaneous and recurrent autoimmune diabetes in NOD mice[J]. Diabetes, 2002, 51(3): 638-645.

[4] 唐天华, 李春林, 郭良君, 等. 肝细胞和脾细胞单独或联合输注对异种胰岛细胞移植排斥反应的影响[J]. 中华器官移植杂志, 2002, 23(5): 273-275.

[5] SUAREZ PINZON W L, MABLEY J G, POWER R, *et al*. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibition prevents spontaneous and recurrent autoimmune diabetes in NOD mice by inducing apoptosis of islet-infiltrating leukocytes[J]. Diabetes, 2003, 52(7): 1683-1688.

[6] MATSUMOTO S, QUALLEY S A, GOEL S, *et al*. Effect of the two-layer (University of Wisconsin solution-prefluorochemical plus 02) method of pancreas preservation on human islet isolation, as assessed by the Edmonton Isolation Protocol[J]. Transplantation, 2002, 74(10): 1414-1419.

[7] TSUJIMURA T, KURODA Y, KIN T, *et al*. Human islet transplantation from pancreases with prolonged cold ischemia using additional preservation by the two-layer (UW solution/perfluorochemical) cold-storage method[J]. Transplantation, 2002, 74(12): 1687-1691.

[8] MOLANO R D, PILEGGI A, BERNEY T, *et al*. Long-term islet allograft survival in nonobese diabetic mice treated with tacrolimus, rapamycin, and anti-interleukin-2 antibody[J]. Transplantation, 2003, 75(11): 1812-1819.

[9] HIRSHBERG B, MOG S, PATTERSON N, *et al*. Histopathological study of intrahepatic islets transplanted in the nonhuman primate model using edmonton protocol immunosuppression[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2002, 87(12): 5424-5429.

[10] 朴松山, 李香俊, 金鹤万, 等. 经门静脉肝内胰岛细胞移植[J]. 延边大学医学学报, 1998, 21(4): 223-225.

[11] KACZOROWSKI D J, PATTERSON E S, JASTROMB W E, *et al*. Glucose-responsive insulin-producing cells from stem cells[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2002, 18(6): 442-450.

[12] OWEN R J, RYAN E A, O'KELLLY K, *et al*. Percutaneous transhepatic pancreatic islet cell transplantation in type I diabetes mellitus: radiologic aspects[J]. Radiology, 2003, 229(1): 165-170.

[13] RYAN E A, LAKEY J R, PATY B W, *et al*. Successful islet transplantation: continued insulin reserve provides long-term glycemic control[J]. Diabetes, 2002, 51(7): 2148-2157.

[14] 晏 辉, 张胜兰, 姜兆顺, 等. 人胎胰岛细胞移植对Ⅰ型糖尿病的远期治疗效果[J]. 前卫医药杂志, 2000, 17(2): 76-78.

[15] BERNA G, LEON QUINTO T, ENSENAT WASER R, *et al*. Stem cells and diabetes[J]. Biomed Pharmacother, 2001, 55(4): 206-212.

[16] HUANG H, TANG X. Phenotypic determination and characterization of nestin-positive precursors derived from human fetal pancreas[J]. Lab Invest, 2003, 83(4): 539-847.

[17] 岳 文, 裴雪涛. 以胚胎干细胞作为启动细胞的造血干细胞工程及其应用前景[J]. 中国输血杂志, 2002, 15(6):429-431.

[18] PETROPAVLOVSKAIA M, ROSENBERG L. Identification and characterization of small cells in the adult pancreas: potential progenitor cells[J]? Cell Tissue Res, 2002, 310(1): 51-58.

[19] CONTRERAS J L, WU H, SMYTH C A, *et al*. Double genetic modification of adenovirus fiber with RGD polylysine motifs significantly enhances gene transfer to isolated human pancreatic islets[J]. Transplantation, 2003, 76(1): 252-261.

[20] YAMAMOTO A M, CHERNAJOVSKY Y, LEPAULT F, *et al*. The activity of immunoregulatory T cells mediating active tolerance is potentiated in nonobese diabetic mice by an IL-4-based retroviral gene therapy[J]. J Immuno, 2001, 166(8): 4973-4980.

[21] OPARA E C, KENDALL W F Jr.. Immunoisolation techniques for islet cell transplantation[J]. Expert Opin Biol Ther, 2002, 2(5): 503-511.

[22] LUCA G, NASTRUZZI C, BASTA G, *et al*. Effects of anti-oxidizing vitamins on *in vitro* cultured porcine neonatal pancreatic islet cells[J]. Diabetes Nutr Metal, 2002, 13(6): 301-307.

[23] LUCA G, CALVITTI M, NERI L M, *et al*. Sertoli cell-induced reversal of adult rat pancreatic islet beta-cells into fetal-like status: potential implications for islet transplantation in type I diabetes mellitus[J]. J Investig Med, 2000, 48(6): 441-448.

[24] SORIA B, ANDREU E, BERNA G, *et al*. Engineering pancreatic islets[J]. Pflugers Arch, 2000, 440(1): 1-18.

[25] 李青菊, 田晨光, 李鹏诺, 等. 短期胰岛素泵治疗2型糖尿病胰岛β细胞功能的影响[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2005, 40(4): 644-646.

(编辑 薛国文)