

• 指南与规范 •

干细胞移植规范化治疗肝硬化失代偿的专家共识(2021)

中华医学会医学工程学分会干细胞工程专业学组

关键词:肝硬化;干细胞移植;治疗学;共识

中图分类号:R575.2

文献标志码:B

文章编号:1001-5256(2021)07-1540-05

Expert consensus on standardized treatment of decompensated liver cirrhosis with stem cell transplantation (2021)

Group of Stem Cell Engineering, Medical Engineering Society of Chinese Medical Association

Key words: Liver Cirrhosis; Stem Cell Transplantation; Therapeutics; Consensus

肝硬化失代偿期是指各种慢性肝脏损害所导致的肝病晚期阶段,以门静脉高压和肝功能严重损伤为特征,患者常因并发腹水、原发性腹膜炎、消化道出血、肝性脑病、肝肾综合征及脓毒症等导致多脏器功能衰竭而死亡。引起肝硬化的常见病因包括慢性病毒性肝炎(HBV、HCV)、酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)、代谢相关脂肪性肝病[metabolic associated fatty liver disease, MAFLD;曾用名非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)]、自身免疫性肝病(原发性胆汁性胆管炎、自身免疫性肝炎、原发性硬化性胆管炎)以及遗传和代谢性疾病等^[1]。

在亚太地区,导致肝硬化的主要病因是 HBV (51.3%),其次为 ALD (20.8%) 和 HCV (15.7%), NAFLD 及其他病因占 12.1%^[2]。目前,我国慢性 HBV 感染者约 7000 万^[3],慢性 HCV 感染者约 1000 万^[4], NAFLD 估计影响 1.73 亿~3.38 亿人, ALD 估计至少影响 6200 万人^[5]。据此推算,我国有大约 700 万(或 0.5%)肝硬化患者^[5]。

肝硬化代偿期患者多无临床症状,肝生化检测也在正常范围内。但每年有 4%~12% 的肝硬化患者因出现腹水、静脉曲张出血、黄疸、肝性脑病等进展为失代偿期肝硬化。失代偿期肝硬化患者病死率明显升高。以静脉曲张出血为首发失代偿事件肝硬化患者 5 年死亡风险为 18%~20%;而以腹水、肝性脑病或黄疸为首发失代偿事件肝硬化患者 5 年病死率为 55%~80%;初次失代偿事件后进一步出现其他失代偿事件的肝硬化患者 5 年病死率可高达 88%^[6]。根据全球疾病负担报告,2017 年全球因肝硬化死亡的患者为 132 万例,占全球全因死亡的 2.4%^[7]。我国 2015 年因肝硬化死亡患者约为 16.1 万例^[1],据 2018 年统计我国肝硬化死亡率为 4.77/10 万人^[8]。

对于肝硬化失代偿期患者的治疗,主要是针对病因的药物、抗肝纤维化药物及补充白蛋白、利尿、内镜硬化或套扎、血液净化(人工肝)、血管介入等对症治疗。这些治疗虽然可以有效延缓患者疾病的进展,但无法完全逆转所有患者的肝脏功能减退。目前,肝移植仍然是治疗失代偿肝硬化最有效的手段。但由于供体肝脏来源缺乏,只有少数患者能得到移植治疗。我国 2018 年共完成肝移植手术 6272 例,远不能满足失代偿期肝

硬化治疗的临床需求。

干细胞是一类具备自我更新能力和多向分化潜能的细胞。2005 年,德国学者首次将干细胞用于肝病治疗,证实干细胞可以促进肝脏再生^[9]。随后,国内外学者进行了大量干细胞移植治疗肝脏疾病的临床探索研究。2014 年,中华医学会医学工程学分会干细胞工程学组发布了我国第 1 个干细胞移植规范化治疗失代偿期肝硬化的专家共识。共识发布以来,干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的临床证据不断积累。国家卫生健康委员会和国家药品监督管理局也陆续颁布了有关干细胞临床研究的指导政策,以规范并促进干细胞治疗临床研究及转化应用^[10-13]。为了进一步规范化、科学化和标准化我国干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的临床研究,中华医学会医学工程学分会干细胞工程学组组织有关专家对干细胞移植规范化治疗失代偿期肝硬化进行论证,更新共识,以期对今后的干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的临床工作提供参考和指导。

本共识所述干细胞是指人源性干细胞,包括人胚胎干细胞、成体干细胞和诱导形成的干细胞。干细胞移植是指应用人自体或异体来源的干细胞经体外操作形成产品制剂后输入(或植入)人体的临床操作。体外操作包括干细胞相关产品在体外的提取、分离、纯化、培养、扩增、基因编辑或基因修饰、诱导分化、冻存、复苏及运输等。

1 干细胞移植治疗肝硬化失代偿临床应用的总体要求

干细胞移植治疗肝硬化失代偿期的临床研究,应在 2015 年国家卫生和计划生育委员会(现国家卫生健康委员会)和国家食品药品监督管理总局(现国家药品监督管理局)发布的《干细胞临床研究管理办法(试行)》、《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则(试行)》和《关于开展干细胞临床研究机构备案工作的通知》的政策指导下进行,临床机构、干细胞产品制备机构及干细胞产品、临床治疗方案都应满足以上政策的条件要求。

2 干细胞移植治疗肝硬化失代偿期的临床应用规范

2.1 临床方案 干细胞移植治疗肝硬化失代偿期的临床方案应尽可能采用随机对照试验(randomized controlled trial, RCT)。以往的研究中多数干细胞移植治疗肝硬化失代偿期的研究为病例报告、队列观察研究、单臂研究,近年来陆续有一些随机对照临床研究的报道^[14-28]。但是总体而言,现有临床研究的证据质量等级仍然有待提高。因此,良好的 RCT 是干细胞移植治疗肝硬化失代偿期临床研究优先推荐的设计方法;可采用安慰

DOI:10.3969/j.issn.1001-5256.2021.07.012

收稿日期:2021-05-28;修回日期:2021-06-08

通信作者:韩英, hanying@fmmu.edu.cn

剂联合最佳支持性治疗作为对照;应尽可能采用盲法;双盲或单盲的 RCT 可以消除受试者的基线差异、减少偏倚,有利于客观评价干细胞移植的治疗效果。

2.2 适应证 目前为止,干细胞移植已被用于治疗各种原因导致的肝硬化患者,大部分研究结果显示干细胞可以改善患者的肝脏生化指标。根据以往研究^[17-20,22-62],干细胞移植治疗肝硬化常见的适应证包括:(1)慢性病毒性肝炎(HBV、HCV、HDV等);(2)ALD;(3)免疫性肝病,包括原发性胆汁性胆管炎、自身免疫性肝炎、原发性硬化性胆管炎等;(4)MAFLD;(5)遗传代谢性肝病,如 Wilson 病、 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶缺陷症等;(6)其他原因所致肝硬化,如系统性疾病所致肝硬化和隐匿性肝硬化等。

干细胞移植治疗肝硬化失代偿期的临床研究,大多是针对 HBV、HCV 和 ALD 所致肝硬化,临床证据相对充分;在免疫性肝病及遗传代谢性肝病研究很少,且尚无研究比较干细胞移植对不同病因所致肝硬化的治疗效果。为避免不同病因导致的疗效差异,应尽量选择同一病因的患者,从而更准确客观评价干细胞移植的疗效。

2.3 纳入/排除标准

现有干细胞移植治疗肝硬化失代偿期的临床探索研究,在研究设计、治疗人群、干细胞类型、干细胞移植方法及试验终点等方面存在显著差异,所采取的纳入/排除标准差别较大。制定纳入/排除标准可参考以往的 RCT 研究^[14-28]。

2.3.1 纳入标准 患者应有明确的肝硬化失代偿期诊断依据。肝硬化诊断可参考以下标准:(1)明确的肝硬化组织学、内镜或影像学依据;(2)无组织学、内镜或影像学检查者需符合以下 4 条中 2 条:① $PLT < 100 \times 10^9/L$,无其他原因可解释;②白蛋白 $< 35 g/L$,排除营养不良或肾脏疾病;③ $INR > 1.3$ 或 PT 延长(停用溶栓或抗凝药 7 d 以上);④天门冬氨酸氨基转移酶与 PLT 比值指数 > 2 ;在此基础上出现门静脉高压相关并发症,如腹水、食管胃静脉曲张破裂出血、肝性脑病、肝肾综合征和脓毒症等可诊断为肝硬化失代偿期。

患者年龄方面,推荐以 18~75 岁为宜,除非肝硬化失代偿期的病因为代谢或遗传性疾病,且无法进行肝移植。干细胞移植治疗肝硬化失代偿期的以往研究中患者年龄范围最低为 16 岁,最高为 80 岁^[35,54]。Wehbe^[53]等报告了 1 例糖原贮积病的肝硬化失代偿患者,该患者分别在 16 岁和 17 岁接受 2 次自体骨髓干细胞移植,患者肝生化指标、腹水及肝脏组织学得到明显缓解。另外 1 项病例报告^[51]中,1 例 12 岁过敏性紫癜肝硬化患者在接受脐带间充质干细胞移植后肝生化指标恢复正常,肝硬化结节减小,脾脏肿大得到改善。上述病例报告都没有发现干细胞移植所致的严重不良事件,提示干细胞移植对于儿童或青少年可能是安全的。但是,干细胞移植对儿童及青少年患者可能存在长期影响,需要长期随访监测其生长和发育,在临床实施中存在较大困难,而且儿童及青少年肝硬化失代偿期患者肝移植长期获益更大。所以,一般不建议对儿童或青少年患者进行干细胞移植治疗。

进行干细胞移植之前,患者原发性肝病应得到基本控制。肝硬化的治疗中,针对原发性肝病的治疗及其治疗反应可以显著影响肝硬化进展及患者预后。如乙型肝炎肝硬化无论是代偿期和失代偿期,经过有效的抗病毒治疗,有相当一部分患者能够出现肝硬化逆转,门静脉高压减低,食管静脉曲张显著改善。慢性病毒性肝炎肝硬化患者在启动干细胞治疗前,需要考虑患

者 HBV/HCV 的病毒载量及对抗病毒治疗的应答情况。一项随机对照临床试验^[18]显示,HBV 抗病毒治疗与自体骨髓干细胞移植联用对乙型肝炎肝硬化失代偿期患者的疗效优于单纯抗病毒治疗,并且抗病毒治疗可以促进干细胞的作用。我国的一项研究^[63]发现,异基因造血干细胞移植可以促进 HBV 的清除。国外的一项临床研究^[57]中,2 例治疗前对干扰素和利巴韦林抗病毒方案不应答的 HCV 肝硬化失代偿期患者,在接受自体骨髓间充质干细胞移植后,HCV RNA 转为阴性。虽然上述研究只是个例报道,但不能排除干细胞移植通过调节免疫,影响机体对肝炎病毒的免疫反应。干细胞移植对不同病毒载量的患者的治疗作用可能存在差异。最近的一项多中心随机对照临床研究^[28],要求 HCV 患者的基线病毒载量为阴性。ALD 肝硬化患者的干细胞移植临床试验的纳入患者一般需戒酒 6 个月或以上,也是为了避免患者原发性肝病对干细胞治疗效果的影响^[17,26-27,43,45,50,56,58]。

应根据患者自身条件和状态确定所用干细胞类型及移植途径。如需要动员和采集自体骨髓来源干细胞,需要考虑患者年龄对骨髓动员的影响;对于需要进行血管介入等有创操作的患者需要考虑所涉及操作及麻醉对肝功能、凝血功能、PLT 计数的要求;异体干细胞移植需要考虑患者是否存在高敏体质,虽然既往研究未发现患者对间充质干细胞的超敏反应。

2.3.2 排除标准 根据既往的临床研究^[14-28],建议排除标准中包含以下内容:(1)合并肝脏或其他脏器的恶性肿瘤;(2)未控制的消化道出血、自发性腹膜炎、肝性脑病、肝肾综合征以及急性感染;(3)有严重的心、肺、肾、血液等系统疾病;(4)怀孕或哺乳期妇女;(5)药物成瘾或酒精滥用者;(6)一般身体状况较差不能耐受干细胞移植术者;(7)不能提供知情同意者。

2.4 干细胞类型的选择

根据来源和干细胞类型,可以选择的干细胞主要有 6 种:自体骨髓干细胞、自体外周血干细胞、自体脂肪间充质干细胞、异基因脐血干细胞、异基因间充质干细胞和胚胎干细胞。这些干细胞都已经在肝硬化失代偿期患者的治疗中进行过临床应用探索研究。

2.4.1 自体骨髓干细胞 自体骨髓干细胞是来源于自体骨髓组织的干细胞的总称。我国已经有许多自体骨髓干细胞移植治疗肝硬化的临床报道^[64-79]。骨髓内存在多种干细胞类型,主要包括:造血干细胞、间充质干细胞和多能前体细胞等。已经被应用于肝硬化失代偿期的骨髓干细胞种类包括:未分类的骨髓细胞^[18,31,38]、骨髓单个核细胞^[33-34,36]、骨髓造血干细胞^[22,24,26]、骨髓间充质干细胞^[19-20,25,30,43-44,48-50,57]。其中,骨髓单个核细胞是包括单核细胞、淋巴细胞、造血干细胞和前体细胞在内的具有单个核的细胞混合群体,一般采用密度梯度离心从骨髓中分离获取。骨髓造血干细胞是骨髓干细胞的主要成分,表达 CD34 或 CD133 等标志分子。通常借助 CD34 或 CD133 抗体和免疫磁珠从骨髓血中分离造血干细胞,也可借助流式细胞仪分选 CD34 或 CD133 阳性的造血干细胞,之后在体外对造血干细胞进行扩增。骨髓间充质干细胞在骨髓细胞中比例较小,需对骨髓干细胞进行贴壁培养,去除不贴壁的造血干细胞,并在培养过程中添加间充质干细胞生长因子进行扩增。骨髓间充质干细胞表达 CD73、CD90、CD105 等标志分子,可通过流式细胞仪或免疫磁珠方法分选纯化。为提高骨髓干细胞的含量,一般采集骨髓前使用粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)进行骨髓动员。

一项包含 662 例乙型肝炎肝硬化患者的荟萃分析^[80]显示自体骨髓干细胞移植可以显著改善患者的肝生化指标,改善 MELD 评分、Child-Pugh 评分,减少患者腹水,改善临床症状,降低肝纤维化标志物水平(如透明质酸、Ⅲ/Ⅳ型胶原)等。Ma 等^[81]对 7 项自体骨髓间充质干细胞移植治疗肝硬化的临床对照研究进行了荟萃分析,结果显示自体骨髓间充质干细胞移植可以显著改善患者的 MELD 评分,降低胆红素,提高白蛋白,改善凝血功能,且其治疗效果至少可以维持半年以上。但也有一项随机安慰剂对照的小样本研究发现,自体骨髓间充质干细胞经外周静脉回输对患者肝生化等临床指标无明显改善作用^[16]。

自体骨髓干细胞不存在免疫排斥和伦理问题,在肝硬化失代偿期的治疗中具有一定的疗效。需要注意的是,选择哪种骨髓干细胞目前尚无足够的临床数据支持。一项小样本的随机双盲对照研究^[24]比较了骨髓造血干细胞、骨髓单个核细胞经门静脉移植对肝硬化失代偿期患者的治疗效果,发现骨髓造血干细胞可以短暂改善患者 MELD 评分,而骨髓单个核细胞和安慰剂均无明显效果。由于此项研究病例数较少,无法对骨髓造血干细胞的优势做出明确结论。此外,有研究^[82]显示随着肝硬化的加重,患者骨髓造血干细胞的数量会逐渐减少。严重肝硬化患者可能无法获取足够的骨髓干细胞。最近的一项研究^[83]显示,与健康人群相比,肝硬化患者骨髓间充质干细胞在增殖、分化、线粒体活性等方面无明显差异。对于肝硬化失代偿期患者自体骨髓间充质干细胞是否是更合适的选择还需进一步研究。

2.4.2 自体外周血干细胞 正常情况下,外周血干细胞比例非常低。一般需要经过 G-CSF 刺激将骨髓干细胞动员到外周血,才能采集足够的外周血干细胞。目前治疗肝硬化最常用的外周血干细胞是外周血造血干细胞^[14,37,39,58,84-98]。G-CSF 动员后 CD34⁺ 细胞峰值期是第 5 天,依次为第 6、4、7 天。应用自动血细胞分离机分离采集外周循环血中的单个核细胞即可获得富集的自体外周血干细胞。

研究显示外周血干细胞移植可以改善患者的门静脉血流动力学^[85]。Sharma 等^[45]一项小样本研究发现,外周血干细胞移植 1 年后失代偿期肝硬化患者肝生化指标仍有改善,但 3 年后改善则不明显。另外一项大样本长期随访研究^[37]则发现,外周血干细胞移植后患者肝生化指标改善可以持续 3~5 年,且患者的总体生存率得以提高。也有一项多中心随机对照开放标签的临床研究^[28]显示,G-CSF 联用或不联用外周造血干细胞移植对于代偿期肝硬化患者无效,且不良事件增加。失代偿期肝硬化患者可能比代偿期患者更能从外周血干细胞移植获益。外周血干细胞不需要进行骨髓穿刺和体外扩增。由于外周血干细胞来源于骨髓,因此也受到患者骨髓造血储备能力的影响,造血储备能力越差,外周血干细胞动员的效果也越差。

2.4.3 自体脂肪间充质干细胞 自体脂肪间充质干细胞来自患者自身的脂肪组织。一般通过腹部、臀部或者其他部位吸取脂肪组织,去除脂肪后,经过消化和体外培养获取脂肪间充质细胞,进一步培养纯化得到脂肪间充质干细胞。动物研究^[99]显示,脂肪间充质干细胞可以减轻小鼠肝硬化,改善肝脏功能。至今,只有两项 I 期临床研究^[35,52]评估了自体脂肪间充质干细胞移植治疗肝硬化的安全性和有效性。这两项研究分别纳入了 2 例和 6 例肝硬化患者,随访时间分别为 1 年和半年。结果显示,自体脂肪间充质干细胞无严重不良事件,治疗 6 个月~1 年内患者肝生化指标改善。吸脂手术是有创操作,需要对患

者全身麻醉,因此对患者的基础状态有一定要求。

2.4.4 异基因脐带血干细胞 脐带血干细胞是从胎儿脐带血液中分离获取的干细胞。脐带血内包含多种干细胞,如间充质干细胞、内皮前体细胞和造血干细胞等,其中造血干细胞为主要成分。国内有多项脐带血干细胞治疗肝硬化的研究报告^[63,68,100-123]。最近的一项荟萃分析^[124]包括了国内该领域 10 项研究,共 616 例患者,结果显示脐带血干细胞移植可以改善患者肝生化指标,缓解临床症状,提高患者生活质量。脐带血来源丰富、采集方便,采集过程对母婴均无危害,也不存在胚胎干细胞相关的伦理问题。脐带血造血干细胞移植已在临床广泛使用,安全性已得到验证^[125]。但脐带血所含干细胞较少,用于成年人治疗需要的脐带血量较大。脐带血干细胞移植对肝硬化失代偿期的治疗效果尚需要更多的大样本随机对照研究确定。

2.4.5 异基因间充质干细胞 由于间充质干细胞不表达或仅表达非常低水平的主要组织相容性复合物和 T 淋巴细胞共刺激因子 B7,免疫源性低,安全性高。而且间充质干细胞来源广泛,可从脂肪、骨髓、脐带、牙髓、胎盘、羊水、肌肉和胸腺等分离得到。具有易获取、易分离、可建系、可大规模扩增等特点。因此异基因间充质干细胞越来越得到重视。目前在肝病治疗中已进行人体试验的异基因间充质干细胞主要为脐带间充质干细胞^[23,46,54,56,62,126],我国学者也已尝试使用异基因骨髓间充质干细胞治疗原发性胆汁性胆管炎和肝硬化^[127-145]。已注册开展临床试验的其他的异基因间充质干细胞包括:月经血间充质干细胞、脂肪间充质干细胞、胎盘间充质干细胞、牙髓间充质干细胞、羊膜间充质干细胞等。脐带间充质干细胞可以通过贴壁培养或消化法从人脐带组织培养、扩增。2012 年我国学者的临床研究^[126]显示,脐带间充质干细胞可有效提高肝硬化患者的肝生化指标、减少腹水,且无不良副作用。最近的两项研究^[23,46]显示,脐带血间充质干细胞可以调节肝硬化患者体内的免疫细胞分化,增加 Treg 细胞数量,降低炎症因子,从而证实了异基因间充质干细胞在人体内的免疫调节作用。另外,异基因子宫内膜干细胞治疗肝硬化的研究也有报道,并且显示出良好的安全性和一定的治疗效果^[146-147]。

2.4.6 胚胎干细胞 胚胎干细胞来源于胚囊内层细胞团,可在体外非分化状态下“无限制地”自我更新,并且具有向三个胚层所有细胞分化的潜力,是一种具有全能分化能力的细胞。研究显示,胚胎干细胞可以分化为肝细胞样细胞,表达白蛋白等肝脏特异性基因^[148]。动物试验显示,胚胎干细胞诱导分化形成的肝细胞样细胞可以在小鼠肝脏定植,修复小鼠药物诱导的肝损伤^[149]。早期的一项研究对 25 例肝硬化失代偿期患者经肝动脉移植胚胎干细胞,患者 MELD 评分降低,肝生化指标和临床症状明显改善^[150]。Cardinale 等^[32]通过肝动脉对 2 例肝硬化失代偿患者进行了胚胎胆管树干细胞移植,结果显示,患者对胚胎胆管树干细胞无明显免疫排斥反应,术后肝生化及临床指标均得到缓解。人类胚胎干细胞可能通过下列方式获得:体外受精时多余的配子或囊胚、自然或自愿选择流产的胎儿细胞等。虽然动物研究和初步的人体试验显示胚胎干细胞对于肝硬化可能有效,且无免疫排斥反应,但胚胎干细胞的采集和临床应用存在较大伦理学争议,且其临床有效性和长期安全性的证据仍然缺乏。因此,对于肝硬化失代偿期患者一般不建议使用胚胎干细胞移植。

不同类型干细胞对肝硬化失代偿期的治疗效果差异尚无

明确证据。一项系统性综述^[151]显示,骨髓和脐带间充质干细胞效果优于其他类型。另外一项荟萃分析^[152]显示,骨髓间充质干细胞优于脐带间充质干细胞。我国两项研究^[68-69]发现,脐血干细胞和自体骨髓干细胞在治疗肝硬化的疗效方面无显著差异。但是以上研究分析的临床试验多数为小样本非随机对照研究,且实验设计差异显著,尚难以得出确切结论。

其他可能用于肝病治疗的干细胞还有肝细胞或肝细胞样细胞、肝脏祖细胞、肝脏干细胞、羊膜内皮细胞、诱导多能干细胞等,但是尚未见人体试验报道。

2.5 干细胞移植的术前准备

2.5.1 知情同意 应向患者和/或近亲属对干细胞移植的治疗目的、方案、获益/风险、其他可供选择的治疗方法、可能的并发症与预防措施以及随访等做出详细说明和解释,治疗前需签署知情同意书。

2.5.2 术前化验检查 化验项目包括血常规、凝血功能、肝脏生化、肾功、血电解质、感染性疾病筛查、其他肝病筛查等;检查项目包括内镜检查、B超(包括弹性成像)、CT/MRI等。如有条件,建议进行肝活检、肝静脉压力梯度(hepatic venous pressure gradient, HVP)测定等,但需考虑相关检查的风险和获益及患者意愿。

2.5.3 患者准备 应根据干细胞移植的具体方案做好患者干细胞治疗前的术前准备。如对于需要抽取骨髓以及需要经肝动脉移植的患者,要对取骨髓和股动脉穿刺部位备皮。术前进行碘过敏试验。术前6h禁食水,通过静脉输液保证患者的基本营养和能量需求。

2.5.4 其他术前准备 如采用自体干细胞,应根据干细胞制备的流程做好术前准备。如需骨髓干细胞,应提前进行G-CSF动员。干细胞制备、质量控制、转运、储存、复苏等应按照标准流程进行。移植前应对干细胞的数量、活力等进行质量检测。

2.6 干细胞移植的方法

干细胞移植途径主要有经肝动脉移植、经门静脉移植、肝内注射、脾脏注射、外周静脉输注等途径。具体如下:

2.6.1 经肝动脉途径^[17,23,32,38-39,42,45,47,50,58,80] 在局麻下穿刺股动脉,放置动脉鞘管。用导丝和导管选择到肝固有动脉进行造影,观察肝内血管情况及其有无占位性病变,将干细胞悬液经左/右肝动脉缓慢注入,术毕拔管,穿刺点加压包扎。由于肝动脉血流速度较快,干细胞有可能被剪切力破坏,因此需要缓慢输注。肝动脉移植适用于各种类型干细胞,是自体干细胞移植最常用的方法。其优点在于可以将干细胞直接注入肝脏,理论上干细胞对肝脏局部作用更强。其缺点在于该方法属于有创操作,不适于多次治疗。

2.6.2 经门静脉途径^[21,24,27,31] 在B超或CT引导下经皮穿刺门静脉,通过门静脉血管导管进行干细胞输注。也有报道^[31]在脾切除术中预留网膜静脉通路进行干细胞移植。门静脉途径也是有创操作,并且,由于门静脉压力较高,需要注意门静脉内注射可能会加重门静脉高压,有导致出血的风险。

2.6.3 外周静脉途径^[19,22,28,33,40-41,51,54,57] 干细胞可以经肘正中静脉或前臂静脉输注。该方法操作简便,可反复输注,但细胞定植到肝脏的比例可能较低。根据以往研究报道,对于需要多次输注的干细胞如异基因间充质干细胞,该方法更加适用。

2.6.4 肝脏或脾脏内注射 直接向肝脏/脾脏内注射干细胞的临床报道较少^[35,153-154]。一般在超声引导下穿刺肝脏或脾

脏实质,缓慢注入干细胞悬液。此方法每次注射量有限,且肝硬化患者存在出血及脾脏破裂的风险。

目前无随机对照研究对不同途径干细胞移植在肝硬化治疗中的效果进行比较。一项病例报告研究^[155]对比了外周静脉输注和脾静脉输注干细胞的治疗效果,发现二者无明显差别;在另外一个病例报告^[156]中,经门静脉输注外周造血干细胞后,患者肝生化指标发生恶化,而经肝动脉移植患者未发生此状况。比较肝内注射和脾脏内注射的非随机对照试验发现二者治疗效果相当^[157]。Zhao等^[152]的荟萃分析发现,通过肝动脉途径移植间充质干细胞效果优于外周静脉输注。另外一项系统性综述^[151]则发现,外周静脉输注与血管介入方法移植干细胞对肝功能衰竭和肝硬化患者效果相当。由于现有干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的临床研究中研究人群、干细胞类型、干细胞剂量等方面均存在显著差异,尚不能确定哪种输注途径治疗效果最佳,需要进一步研究才能确定。

2.7 干细胞移植的剂量和次数 根据以往研究,干细胞移植每次使用的干细胞数量为 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7/\text{kg}$,可根据干细胞的类型和移植途径进行调整^[158-164]。干细胞移植的剂量是在进行干细胞移植时需要考虑的重要问题。如果细胞数量过多,输注过程中会发生细胞栓塞的风险,而如果细胞数量过少,则可能达不到治疗效果。一项小样本对照研究^[47]显示, $1 \times 10^6/\text{kg}$ 和 $2 \times 10^6/\text{kg}$ 造血干细胞移植对患者肝生化指标改善的效果优于 $5 \times 10^5/\text{kg}$,且 $2 \times 10^6/\text{kg}$ 组有2例患者HPVG下降。我国学者进行的一项干细胞剂量递增研究显示,外周静脉输注脐带间充质干细胞的最大耐受剂量为 $2 \times 10^8/\text{次}$ ^[132]。除此之外,尚未见其他大样本量干细胞剂量探索试验。

经有创途径(肝动脉、门静脉和肝内注射等)进行干细胞移植一般只进行1~2次移植,若移植2次,一般中间间隔1个月;而经外周静脉移植可多次移植^[17-20,22-62]。一项异基因脐带血干细胞移植治疗肝功能衰竭和肝硬化的研究^[54]显示,干细胞治疗效果随移植次数增加而增强;一项多中心随机对照开放标签的自体骨髓间充质干细胞经肝动脉移植临床试验^[25]中,酒精性肝硬化患者2次移植和1次移植后肝脏组织学和肝生化指标改善无明显差异。荟萃分析^[152]则发现,间充质干细胞1次移植效果优于多次移植。

2.8 观察指标

2.8.1 疗效指标 干细胞移植治疗肝硬化失代偿期的临床疗效终点是临床评价的基础,应当是直接反映临床获益的指标。患者生存是评价失代偿期肝硬化长期临床获益的客观指标;肝脏组织学变化可明确肝硬化的进展情况;HPVG是客观反应门静脉高压程度的指标;MELD评分、Child-Pugh分级等可用于判断失代偿期肝硬化患者临床预后。以上指标均可以作为干细胞移植的试验终点。既往研究以生存、肝脏组织学变化为终点的研究较少。一项研究^[36]对19例接受自体骨髓干细胞移植的肝硬化失代偿期患者进行了随访,5年后有5例患者因感染死亡,5例患者肝功一直保持Child-Pugh A级,但是该研究没有设立对照组,无法评估干细胞的疗效。另外2项分别包括27例和23例干细胞移植患者和对照患者分别随访3年和最长10年,结果显示两组生存无明显差别^[45,59];Guo等^[37]分析了2006年—2016年282例接受自体造血干细胞移植治疗的乙型肝炎肝硬化患者的临床资料,以同期286例未接受干细胞移植的乙型肝炎肝硬化患者作为对照,并进行了倾向评分匹配,分析结

果显示,自体造血干细胞移植患者 5 年生存率显著高于对照组。以肝脏组织学改变为研究终点的研究也比较少,主要集中于酒精性肝硬化^[17,26,50]。另外有一项研究^[47]将 HPVG 纳入了研究终点。

生物学活性指标如细胞因子或生物标志物的变化、合并用药或伴随治疗的减量或停止等通常不应作为干细胞移植的主要疗效评价标准。

2.8.2 安全性指标 应密切观察与干细胞及移植操作相关的不良事件。严重不良事件应按照临床试验要求进行报告,并积极处理。

目前,未发现与干细胞移植直接相关的严重不良事件。干细胞相关不良反应最常见的是发热和皮疹,一般不需要治疗可自行缓解。研究中报告的其他不良事件包括一过性寒战、恶心、局部疼痛、瘀斑、腹泻等,均无需特殊处理。干细胞移植临床试验的不良事件多数与操作过程有关,如 G-CSF 动员时的骨痛、血管介入操作过程的出血/血肿、外周血干细胞分离过程中的血流动力学不稳定等。大部分干细胞移植治疗肝硬化失代偿期的临床研究随访时间在 2 年以内,其长期安全性数据不足。Wang 等^[59]报道了最长随访 10 年的自体干细胞移植治疗的肝硬化患者($n=23$)的临床结局,结果显示,干细胞移植治疗的肝硬化患者肝细胞癌(HCC)的发生率为 47.8%,显著高于对照组患者($n=69$)的 HCC 发生率(21.7%)。大样本的长期随访数据和荟萃分析则显示干细胞治疗后 HCC 发病率与对照患者无显著差异^[37,162]。结合其他领域干细胞移植的数据,可以认为干细胞移植的致癌风险很低,但是继续积累更多长期随访数据对于明确干细胞移植的远期安全性仍然非常重要。

2.9 干细胞移植的术后处理 (1)术后 24 h 内密切观察患者生命体征,必要时进行心电、血压检测;(2)经有创途径进行干细胞移植者应卧床、制动,密切观察穿刺部位有无出血和血肿,并关注患者有无并发症及血流动力学改变;(3)密切监测患者血常规、凝血和肝生化指标等变化情况。

2.10 术后随访 可在患者干细胞移植后 1、3、6、12 个月进行随访,之后每 1 年随访 1 次。具体随访计划应根据研究人群、干细胞类型和研究终点合理制定。根据以往研究结果和国家干细胞政策要求,建议对自体非间充质干细胞移植患者至少随访 1 年以上,对于间充质干细胞或者异体干细胞进行不少于 2 年的随访,以观察成瘤性等迟发性安全风险。

3 干细胞移植治疗肝硬化失代偿期的研究重点

3.1 加强干细胞移植治疗肝硬化失代偿期系统性研究 以往的干细胞移植治疗失代偿期肝硬化的研究多数为单中心、小样本研究,高质量的随机双盲对照研究很少。虽然这些研究为干细胞移植的疗效提供了初步证据,但仍需更高等级证据明确干细胞移植的效果。国内已经有 123 家研究机构通过了干细胞临床研究机构的备案,应广泛合作开展多中心随机盲法对照临床试验,提高我国干细胞治疗在肝病领域的国际影响力。

3.2 继续探索新的干细胞类型 国内外动物实验和临床前试验已经对多种类型干细胞在肝病领域的作用进行了研究,很多新的干细胞产品已经完成临床前研究。如:异体脂肪间充质干细胞、异体骨髓间充质干细胞、月经血间充质干细胞、骨髓间充

质干细胞、胎盘间充质干细胞、原始间充质干细胞、诱导多能干细胞、肝细胞祖细胞等。这些新的干细胞有可能对肝硬化失代偿期患者有治疗效果,应鼓励开展新型干细胞的临床前研究和 I 期临床研究,加快干细胞的临床转化。

3.3 继续优化干细胞移植治疗肝硬化失代偿期的方案 干细胞移植治疗失代偿期肝硬化,目前国际没有公认的治疗方案。细胞类型的选择、细胞剂量、移植途径、适宜人群等问题都有待研究确定。参考既往的研究开展量效关系、移植方法比较、不同干细胞之间比较的临床试验,将有助于进一步明确治疗肝硬化失代偿期的最佳干细胞移植方案。

3.4 继续深化细胞移植治疗肝硬化的机制研究 干细胞在肝脏疾病中的作用机制虽然有大量的基础研究和动物研究数据,但其在人体的作用机制仍不清楚。干细胞移植后在人体内的分布、分化及作用还需明确。我国学者已经积累了一定数量的肝硬化干细胞移植临床研究的数据和标本。利用这些标本和数据,并在此基础上进一步深入研究干细胞移植后在人体内发挥作用的分子机制,对于将来研发更安全更有效的治疗方法具有重要作用。

总之,干细胞移植治疗失代偿期肝硬化虽然处于起步阶段,但是已经显现出了光明前景。既往临床探索研究之间的巨大差异,使得获取准确可靠的数据分析相当困难。只有在国家相关政策指导下,进一步规范干细胞产品的制备和质控,设计并开展高质量的临床试验,以生存期或肝脏组织学变化等临床终点为观测指标,并且密切关注干细胞移植的短期及长期安全性,才能推动干细胞移植成为规范治疗肝硬化失代偿期的有效措施。

执笔人:韩英、郭长存、时永全(空军军医大学第一附属医院)

参加人员:本专家共识由中华医学会医学工程学分会干细胞工程专业学组颁布,经过国内干细胞研究、消化、肝病等专业付小兵(院士)、韩忠朝、谷涌泉、袁宝珠、谭建明、张传森、段钟平、韩涛、周新民、郭晓钟、陈煜、江应安、辛绍杰、汪芳裕等 30 余名专家反复讨论共同修改完成。



参考文献见二维码

引证本文:Group of Stem Cell Engineering, Medical Engineering Society of Chinese Medical Association. Expert consensus on standardized treatment of decompensated liver cirrhosis with stem cell transplantation (2021) [J]. J Clin Hepatol, 2021, 37(7): 1540-1544.

中华医学会医学工程学分会干细胞工程专业学组. 干细胞移植规范化治疗肝硬化失代偿的专家共识(2021) [J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37(7): 1540-1544.

(本文编辑:刘晓红)