

自体造血干细胞回输治疗 I 型糖尿病 2 例

景 华, 陈文怡, 李克良, 甄二真

(解放军第 455 医院干细胞移植中心, 上海 200052)

[摘 要] 目的 观察采用自体造血干细胞回输治疗 I 型糖尿病的临床疗效。方法 提取自体造血干细胞后, 行 T 淋巴系统清除, 再行干细胞回输, 重建 T 淋巴系统, 以清除原免疫系统对胰岛细胞的自身免疫反应, 恢复胰岛细胞功能。结果 2 例患儿分别于干细胞回输后第 14 天、第 20 天停用胰岛素, 安全出院。随访 7 个月, 各项检查指标均正常。结论 T 淋巴系统清除和自体造血干细胞重建治疗为临床治疗 I 型糖尿病提供了一种新方法, 近期疗效好。

[关键词] I 型糖尿病; 自体造血干细胞移植; T 淋巴系统清除

中图分类号: R587.1 文献标识码: A 文章编号: 1672-271X(2009)03-0202-04

A new method of type 1 diabetes treatment: T lymphocytic series clearance and autologous hematopoietic stem cell transplantation (2 cases analysis)

JING Hua, CHEN Wen-yi, LI Ke-liang, XUE Er-zhen (Department of blood stem cell transplantation, the 455th Hospital of PLA, Shanghai 200052, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the safety and effect of T lymphocytic series clearance and autologous hematopoietic stem cell transplantation (AHSCT) for type 1 diabetes (T1D). **Methods** Two newly diagnosed T1D patients were managed by a low dose immuno-suppression regimen followed by AHSCT. **Results**

In the two cases, insulin injection was stopped at 14 days and 20 days respectively after AHSCT, and discharged safely. In 7-month follow-up, their blood glucose level was normal without insulin. **Conclusion** The clinical outcome showed that low-dose T lymphocytic series clearance and AHSCT were performed safely in two small patients with prolonged insulin independence.

[Key words] Type 1 diabete; Autologous hematopoietic stem cell transplantation; T lymphocytic series clearance

I 型糖尿病又称胰岛素依赖性糖尿病, 目前认为由 T 细胞异常攻击胰岛细胞引起, 是一种自身免疫性疾病。根据这一病因学说, 解放军 455 医院和中科院上海基因组医学中心合作, 开展了以 T 淋巴系统清除和自体外周造血干细胞移植治疗 I 型糖尿病的技术, 取得了良好的近期效果。现报告 2 例患儿情况如下, 并结合文献进行讨论。

1 病例资料

病例 1: 患儿, 男, 13 岁, 因多饮、多食、多尿 1 月余于 2008 年 5 月 10 日入院。既往体健, 于 2008 年 4 月初无明显诱因出现口干多尿、多饮、多食、伴消瘦。在当地医院查血糖 22.4 mmol/L, 尿检酮体 + + + , 谷氨酸脱羧酶抗体 (GAD) 阳性, 胰岛细胞

抗体 (ICA) 阳性, 诊断为 I 型糖尿病。予诺和灵 R 早、中、晚三餐前各 8 个单位皮下注射, 治疗后症状缓解, 监测空腹及三餐前后血糖控制好。入院查体: 体温、脉搏、呼吸、血压均正常, 身高 156 cm, 体重 55 kg。神志清楚, 查体合作, 全身皮肤无黄染, 全身浅表淋巴结无肿大。两肺呼吸音清, 未闻及干湿性啰音。心率 76 次/分, 律齐, 各瓣膜区未闻及病理性杂音。腹部平软, 无压痛及反跳痛, 肝、脾肋下未及, 未触及包块。双下肢无浮肿。入院后实验室检查: GAD 105.1 IU/ml (正常 < 10); ICA 517.7 IU/ml (正常 < 20); C 肽: 空腹 1.08 ng/ml (正常 0.6 ~ 3.8), 餐后 2 小时 3.15 ng/ml (正常 3.15 ~ 13.68); 糖化血红蛋白 (HbA1c) 10.0% (正常值 3.8% ~ 5.8%); 血糖 4.4 mmol/L; 血常规: WBC $3.8 \times 10^9/L$, N 55.2%,

作者简介: 景 华 (1968-), 女, 河北邯郸人, 医学硕士, 副主任医师, 从事肿瘤、血液及干细胞移植专业。

L 33.7%, RBC $4.05 \times 10^{12}/L$, Hb 119 g/L, PLT $251 \times 10^9/L$; 肝肾功能正常。入院后常规全身检查, 排除潜在性感染, 并对各脏器功能进行评估。

5 月 11 日开始予皮下注射重组人体粒细胞集落刺激因子冻干粉(格拉诺赛特, Granocyte)行干细胞动员, 5 月 16 日外周血 CD34 阳性报告为 1.45%, 白细胞总数 $38.3 \times 10^9/L$, 单个核细胞数为 13.7%。使用 COBE 6.1 血细胞分离机采集干细胞, 血液处理量约为患者全血量的 3 倍, 采集物共 56 ml, 采集物涂片示有核细胞 $934 \times 10^9/L$, 单个核细胞 99%, CD34 阳性 3.5%, 由此计算出采集物中含单个核细胞 $12.4 \times 10^8/kg$, CD34 阳性细胞 $43.4 \times 10^6/kg$ 。采集过程中有轻度双上肢麻木, 无胸闷心悸, 予钙片口服后症状缓解, 采集过程顺利。随后采集物中加入血浆及二甲基亚砜各 7 ml 后, 采用程控降温仪, 将干细胞放入液氮中冻存。5 月 16 日至 25 日口服环孢素 A (Ciclosporin), 5 mg/(kg · d), 分 2 次服, 并口服盐酸伐昔洛韦 (valaciclovir hydrochloride)、氟康唑 (fluconazol)、复方磺胺甲噁唑 (Sulfamethox - azole - Trime - thoprim) 预防感染。5 月 26 日至 30 日给予静滴兔抗人胸腺细胞免疫球蛋白 (ATG) 25mg, 疗程 5 天, 同时口服氯雷他定 (Loratadine) 抗过敏治疗, 期间出现畏寒发热, 对症处理后体温正常。5 月 31 日回输自体造血干细胞, 过程顺利。回输后无发热、皮疹等不适。6 月 11 日复查 C 肽: 空腹 0.69 ng/ml, 餐后 2 小时 3.72 ng/ml。肝、肾功能正常, 回输后血糖控制好, 酌情调整胰岛素的用量, 6 月 14 日开始停用胰岛素, 血糖控制在 4.3 ~ 5.2 mmol/L 之间, 血像正常, 2008 年 6 月 18 日出院。出院后继续口服伐昔洛韦、氟康唑、复方新诺明预防感染。7 月 18 日复查血糖控制在 3.9 ~ 6.1 mmol/L 之间; C 肽: 空腹 1.08 ng/ml, 餐后 60 分钟 3.99 ng/ml, 餐后 120 分钟 4.62 ng/ml, 餐后 180 分钟 2.62 ng/ml; HBA1C 5.9%; 血常规: WBC $4.52 \times 10^9/L$, N 49.1%, L 37.3%; RBC $5.1 \times 10^{12}/L$, Hb 139 g/L; PLT $212 \times 10^9/L$ 。肝肾功能正常。继续随访 6 个月, 各项指标均正常, 未再使用胰岛素。

病例 2: 患儿, 男, 9 岁, 因多饮、多食、多尿 1 月余于 2008 年 3 月 31 日入院。既往体健, 经查诊断为 I 型糖尿病。予胰岛素皮下注射, 治疗后症状缓解。入院查体: 体温、脉搏、呼吸、血压正常, 身高 138 cm, 体重 33 kg。神志清楚, 查体合作。心肺检查未见异常。腹部平软, 无压痛及反跳痛, 肝、脾肋下未及, 未触及包块。入院后实验室检查: GAD

29.2 IU/ml; ICA 131.6 IU/ml; C 肽: 空腹 39 ng/ml, 餐后 2 小时 2.37 ng/ml; HBA1C 8.8%。于 4 月 15 日开始皮下注射格拉诺赛特行干细胞动员, 4 月 20 日外周血 CD34 阳性报告为 1.72%, 行自体外周血造血干细胞采集, 过程顺利。随后使用免疫抑制剂, 口服环孢素 A 及 ATG (20 mg/日, 连续 5 天) 治疗后, 回输自体造血干细胞(具体过程同前)。出院时复查 C 肽: 空腹 1.94 ng/ml, 餐后 2 小时 2.9 ng/ml。回输后 20 天停用胰岛素, 血糖控制在 4.5 ~ 5.9 mmol/L 之间, 血像正常。随访 4 月余, 复查 C 肽: 空腹 1.14 ng/ml, 餐后 120 分钟 2.65 ng/ml。HBA1C 5.6%; 血常规、肝肾功能各项指标均正常, 未再使用胰岛素。

2 讨论

按照国际糖尿病联盟的估计, 现在全世界的糖尿病患者人数已超过 1.94 亿, 其中大约 5% ~ 10% 是 I 型糖尿病患者, Susan 等^[1]预测到 2010 年全世界的糖尿病患者预计将超过 3.5 亿。因此, 如何让糖尿病达到完全治疗, 受到了世界医学界的广泛关注, 对它的研究也随之加深。通常采用皮下注射胰岛素来治疗 I 型糖尿病, 但胰岛素注射不能完全控制血糖和远期并发症, 因此常有血糖波动和低血糖发生发展, 是现代医学难题, 而且患者难免遭受注射所带来的不便和痛苦。多年来人们一直在尝试用胰岛或胰岛细胞移植来代替单纯注射胰岛素, 但效果都不是很理想, 而且供体来源缺乏和移植排斥阻碍了胰岛细胞移植的应用^[2]。

目前认为 I 型糖尿病绝大多数是自身免疫性疾病, 遗传因素和环境因素共同参与其发病过程。某些外界因素作用于有遗传易感性的个体, 激活 T 淋巴细胞介导的一系列自身免疫反应。有学者认为, I 型糖尿病是自身免疫性胰岛破坏和胰岛再生失衡的结果, 一旦终止自身免疫性破坏, 就有可能通过胰岛自身的再生潜能, 以及一些促进胰岛再生的物质, 逆转 I 型糖尿病^[3,4]。目前对免疫系统疾病的治疗还没有特效药物, 通过自体造血干细胞移植, 能重建自身免疫系统, 清除对胰岛细胞的自身免疫攻击机制, 可以治愈 I 型糖尿病。

Voltarelli 等^[5]治疗了 15 例初诊 I 型糖尿病患者, 采用环磷酰胺抑制淋巴细胞同时联合集落刺激因子动员骨髓后, 自外周血采集自体造血干细胞, 再予大剂量环磷酰胺联合抗淋巴细胞球蛋白预处理, 最后将采集的自体造血干细胞静脉回输。结果 14

例患者停用胰岛素,最者已达35个月,其中13例患者HBA1C水平维持在7%以下;移植后6个月C肽释放反应的曲线下面积比移植前明显增加,GAD水平降低;仅1例在治疗1年后再次需要胰岛素治疗。提示:AHST可使大多数I型糖尿病患者胰岛β细胞功能得到改善,从而延长不依赖胰岛素的时间。张传仓等^[6]采用自体骨髓干细胞移植治疗I型糖尿病1例,具体方法为环磷酰胺及粒细胞集落刺激因子动员骨髓干细胞到外周血中,来修复损伤的胰腺β细胞,结果该患者胰岛素用量减少64%,空腹C肽水平恢复正常。已有研究证实,骨髓来源的干细胞可横向分化为胰岛素分泌细胞、血管内皮细胞等组织细胞类型。据讯国内山东大学齐鲁医院的研究小组正在开展胰腺血管插管移植自体骨髓干细胞治疗I型糖尿病的研究,其研究结果有待发表^[7]。

本研究首次尝试采用T淋巴系统清除和自体造血干细胞重建的方法治疗I型糖尿病,治疗后2例患者停用胰岛素,血糖恢复正常,C肽水平正常。

治疗体会:①早期诊断、早期治疗效果最好,最好发病半年内。对于已发病的I型糖尿病患者,理论上最适合的移植时机是“蜜月期”^[8],此时阻断自身免疫就可能使“蜜月期”长期维持。一部分I型糖尿病患者在胰岛素治疗后一段时间内病情部分或完全缓解,胰岛素剂量减少或可以完全停用,称为“糖尿病蜜月期”,通常持续数周至数月,原因可能与开始发病的数年内,患者胰腺尚残留一定数量的有功能的β细胞有关。Nelson等^[9]曾报道3例处于“蜜月期”的T1DM患者因恶性肿瘤接受骨髓移植,术后随访7年糖尿病未复发。②注意采集时间的选择,移植细胞数量的多少影响细胞能否存活,过少则移植失败,不能达到治疗I型糖尿病的目的。我们的经验是外周血CD34阳性>1%或CD34阳性细胞峰值位于 $(20 \sim 40) \times 10^6/L$,可行造血干细胞采集,采集物检测CD34阳性细胞数 $(4 \sim 6) \times 10^6/kg$ 或单个核细胞数 $(4 \sim 6) \times 10^8/kg$ ^[10]。③选用程控降温仪,将采集的干细胞放入液氮中冻存,防止细胞破坏。④ATG是用入胸腺淋巴细胞免疫动物等制成的一种抗血清,在补体协同下,可抑制T细胞介导的免疫作用,通过单核-巨噬细胞系统清除外周血淋巴细胞;同时还可阻断释放与中和免疫细胞因子,封闭识别抗原受体,达到免疫抑制作用^[11-12]。临床广泛用于预防器官移植排斥反应、移植植物抗宿主病或治疗自身免疫性疾病。ATG的使用前须做皮试,使用中严格控制滴速,浓度0.05~0.1 mg/ml,第1

天10~15滴/分,第2、3、4、5天为15~25滴/分,同时使用抗组胺药至少2周,防止血清病的发生。⑤ATG为超长半衰期药物,半衰期为29天,体内有效的血药浓度至少维持90天,可造成体内蓄积^[13-14],因此注意随访,定期复查,预防感染,使用预防细菌、病毒、霉菌的药物1~3个月。

干细胞是近年来生物学上最有趣、最复杂,也最有吸引力的领域之一。随着人们对干细胞潜能的挖掘及其增殖、分化机理的研究,相信干细胞最终可以用于疾病的组织器官替代治疗、细胞和基因治疗。目前造血干细胞治疗I型糖尿病的研究已经取得了一些进展,为I型糖尿病患者带来了希望,达到临床治愈是有希望的,但这项研究尚处于初期阶段,许多问题还未研究清楚,应用干细胞的潜力似乎和干细胞的分化潜力一样,是非常巨大的。但客观地说,这一领域的研究还刚刚起步,缺乏统一的疗效判断标准,还需要更多更严格的研究,尤其是对远期疗效、复发率及干细胞动员的安全性、ATG的使用等问题作出可靠的评价,对造血干细胞的预处理方案、干细胞保存及纯化等问题进一步探索,以提高治疗I型糖尿病的效果。

参考文献

- [1] Susan BW, Monica T, Gordon C, et al. In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(14): 7999-8004.
- [2] Todd Z. Islet transplants not yet ready for prime time [J]. Science, 2000, 289(5479): 531-533.
- [3] Norihiko O, James FL, Joel FH, et al. Cure of overt diabetes in NOD mice by transient treatment with anti-lymphocyte serum and exendin-4 [J]. Diabetes, 2004, 53(7): 1700-1705.
- [4] Couri CE, Foss MC, Voltarelli JC. Secondary prevention of type 1 diabetes mellitus: stopping immune destruction and promoting? - cell regeneration [J]. Braz J Med Biol Res, 2006, 39(10): 1271-1280.
- [5] Voltarelli JC, Couri CE, Stracieri AB, et al. Autologous Nonmyeloablative Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Newly Diagnosed Type 1 Diabetes Mellitus [J]. JAMA, 2007, 297(14): 1568-1576.
- [6] 张传仓,朱为国,封志纯. 自体骨髓干细胞移植治疗I型糖尿病的初步研究 [J]. 广东医学, 2004, 25(12): 1398-1399.
- [7] 洪天配. 干细胞用于治疗糖尿病的研究: 梦想与现实的距离 [J]. 中国糖尿病杂志, 2008, 16(2): 65-67.
- [8] 陆在英,钟南山. 内科学 [M]. 北京:人民军医出版社, 2008: 786.
- [9] Nelson JL, Torrez R, Louie FM, et al. Pre-existing autoimmune disease in patients with long-term survival after allogeneic bone marrow transplantation [J]. J Rheumatol Suppl, 1997, 24(48): 23-

- 29.
- [10] 陈运贤. 现代造血干细胞移植[M]. 广州: 广东科技出版社, 2004: 50-51.
- [11] Bashey A. Immunosuppression with limited toxicity the characteristics of nucleoside analogue and anti - lymphocyte antibodies used in nonmyeloablative hematopoietic cell transplantation[J]. Cacer Treat Res, 2002, 1(10): 39-49.
- [12] Remberger M, Aschan J, Barkholt L, et al. Treatment of severe acute graft - versus - host disease with anti - thymocyte globulin [J]. Clinical transplantation, 2001, 15(3): 147-153.
- [13] Guttman RD, Caudrelier P, Alberici G, et al. Pharmacokinetics,

foreign protein immune response, cytokine release and lymphocyte subsets in patients receiving thymoglobulin and immunosuppression[J]. Trasplant Proc, 1997, 29(7A): 24-26.

- [14] Gaber AO, First MR, Tesi RJ, et al. Results of the double - blind, randomized, multicenter, phase III clinical trial of thymoglobulin versus atgam in the treatment of acute graft rejection episodes after renal transplantation[J]. Transplantation, 1998, 66(1): 29-37.

(收稿日期: 2008-12-03, 修回日期: 2009-02-13)

(本文编辑: 潘雪飞; 英文编辑: 王建东)

· 短 篇 ·

CT 检查急性胰腺炎 25 例

万水治, 胡敢峰, 李 琳, 郝 青

(解放军 86 临床部医学影像科, 安徽当涂 243100)

[关键词] 急性胰腺炎; CT; 疗效

中图分类号: R576.1 文献标识码: B 文章编号: 1672-271X(2009)03-0205-02

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床上常见的急腹症,起病急,病情来势凶险,并发症多,病死率高,因而对此病的早期诊断、病程的进展、疗效的观察尤为重要,由于 CT 的敏感性高、特异性强、图像的解剖结构显示清晰等特点,所以 CT 检查对急性胰腺炎的诊断和疗效评价有着重要的价值^[1-2],尤其 CT 增强扫描是判断胰腺坏死最有效的方法^[3]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2006 年 4 月~2008 年 10 月我院确诊为急性胰腺炎 25 例,男 11 例,女 14 例,年龄 20~83 岁,平均 57 岁。临床表现为不同程度的上腹部持续性疼痛,多数位于中上腹部,并向腰背部放射,发热、恶心、呕吐(胃内物或胆汁);9 例出现黄疸,全部患者血清淀粉酶、尿淀粉酶明显增高,均大于正常值上限的 3 倍及 1 倍。

1.2 CT 检查方法 设备为 GE ProSpeed AI 螺旋 CT。采用螺旋 CT 平扫+部分动态增强的方法,扫描范围自膈顶起向下至胰腺各部显示,或视病灶情况而定,层厚 10 mm,15~20 层。动态增强扫描动脉期开始时间为静脉注射后 25~30 s,速率 2.5~3.0 ml/s,专扫描胰腺,门静脉期扫描开始时间为 30 s 后,扫描范围自膈顶开始向下至胰腺各部显示为

止。

1.3 AP 的 CT 分级标准 采用 Balthazar CT 分级标准^[4]。

1.4 AP 的疗效标准 ①痊愈:肿大的胰腺恢复正常;②有效:肿大的胰腺缩小,胰周积液减少;③无效:胰腺缩小不明显,有假性囊肿或炎性肿块形成。

2 结果

2.1 AP 分级 A 级 2 例(正常胰腺);B 级 3 例(胰腺单纯弥漫性肿大或局限性肿大);C 级 5 例(胰腺体内异常伴有胰周模糊及胰周脂肪组织的炎性改变);D 级 9 例(除胰腺改变外,有单一的胰周积液);E 级 6 例(胰腺或临近区域有两处以上的境界不清的积液或积气)。

2.2 疗效观察 痊愈 10 例(A 级 2 例,B 级 3 例,C 级 5 例);有效 11 例(D 级 9 例,E 级 2 例);无效 4 例(E 级 4 例)。

3 讨论

急性胰腺炎病理学上分为急性水肿型和出血坏死型两种类型^[5]。水肿型主要是胰腺间质水肿及胰周脂肪坏死,无胰腺实质的坏死改变。出血坏死型胰腺炎表现为胰周及胰腺广泛的(下转第 208 页)