

· 论 著 ·

# 自体骨髓干细胞移植治疗肝硬化患者血清 IL-18、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1、HGF 水平变化及临床意义

付汉东, 张爱华, 鲁 艳, 余小艳

(华中科技大学同济医学院附属孝感医院、湖北省孝感市中心医院中心实验室, 湖北孝感 432100)

**摘要:**目的 研究自体骨髓干细胞移植治疗肝硬化患者血清白细胞介素 18(IL-18)、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、转化生长因子  $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)、肝细胞生长因子(HGF)的水平变化及其临床意义。方法 对 36 例经自体骨髓干细胞移植治疗的失代偿期肝硬化患者,在术前及术后 2、4、8、12 周分别抽取静脉血,用 ELISA 法检测其 IL-18、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1、HGF 水平。结果 从术前到术后 12 周 IL-18、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1 呈下降趋势,而 HGF 呈现上升趋势,在不同时间段间比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 患者血清 IL-18、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1、HGF 检测对干细胞移植治疗肝硬化的效果评价有一定的临床意义。

**关键词:**干细胞移植; 白细胞介素 18; 肿瘤坏死因子  $\alpha$ ; 转化生长因子  $\beta$ 1; 肝细胞生长因子

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.03.019

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)03-0329-02

## The change of IL-8, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, and HGF in serum of liver cirrhosis patients accepted autologous bone marrow stem cell transplantation and its clinical value

Fu Handong, Zhang Aihua, Lu Yan, Yu Xiaoyan

(The Affiliated Xiaogan Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, The Central Laboratory of the Central Hospital of Xiaogan, Xiaogan 432100, China)

**Abstract:** Objective To study the change of IL-8, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, and HGF in serum of liver cirrhosis patients accepted autologous bone marrow stem cell transplantation and its clinical value. **Methods** Collected the venous blood samples of 36 liver cirrhosis patients in decompensation stage before and 2, 4, 8, 12 weeks after autologous bone marrow stem cell transplantation, respectively. Determinated the contents of IL-18, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, and HGF by ELISA. **Results** The contents of IL-18, TNF- $\alpha$ , and TGF- $\beta$ 1 showed downtrend, while the level of HGF presented uptrend and was significant different from the former( $P < 0.05$ ), compared in different time. **Conclusion** Detecting serum IL-8, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, and HGF of liver cirrhosis patients is significant to the evaluation of autologous bone marrow stem cell transplantation.

**Key words:** stem cell transplantation; interleukin-18; tumor necrosis factor-alpha; transforming growth factor beta1; hepatocyte growth factor

肝硬化(liver cirrhosis)是一种常见的慢性肝病,临床一直以来缺乏十分有效的治疗手段。干细胞具有无限期自我更新能力,具有多向分化潜能,在特定微环境中,对损伤有反应和修复能力<sup>[1]</sup>。干细胞移植治疗肝硬化是指抽取患者少量骨髓,分离提取干细胞,在介入条件下将分离出来的干细胞经肝动脉注入肝脏,在微环境调控下发育为肝干细胞、肝细胞及胆管细胞,以修复受损的肝组织和结构重建,改善肝合成、代谢及解毒功能,改善患者病情以及预后为目的的一种治疗方法。本文从患者骨髓中分离干细胞肝内移植治疗失代偿期肝硬化 36 例,在治疗过程中的不同时间段检测其血清白细胞介素 18(interleukin-18, IL-18)、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、转化生长因子  $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)水平,并探讨其变化与治疗效果的关系,报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 从 2008 年 10 月至 2010 年 3 月采用干细胞肝内移植治疗失代偿期肝硬化患者 36 例,诊断均符合第 5 次全国传染病及寄生虫病学术会议修订的肝硬化诊断标准,其中男 33 例,女 3 例,年龄 32~70 岁,平均 52 岁;乙肝后肝硬化 20 例、酒精性肝硬化 4 例、非酒精性脂肪性肝硬化 9 例、自身免疫性肝硬化 1 例、原因不明肝硬化 2 例。患者入院前均存在

明显的肝硬化症状和体征,入院后均进行对症治疗,并严格按自体骨髓干细胞移植要求进行术前准备、骨髓干细胞的采集、分离和经动脉移植,所有治疗措施和处理均告知患者及其家属并签署《知情同意书》。对照组 30 例,为健康体检人员。

**1.2 方法** 在术前及术后 2、4、8、12 周分别空腹抽取静脉血 5 mL,所有标本在 30 min 内,以离心半径 8 cm,经 4 000 r/min 离心 5 min 后取血清,保存在-80 ℃冰箱内待检,同时抽取对照组血清待检。检测采用 ELISA 法,IL-18、TNF- $\alpha$ 、HGF 试剂盒购自深圳晶美公司,TGF- $\beta$ 1 试剂盒购自上海森雄公司,检测操作均严格按照试剂盒操作说明书进行。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS13.0 统计软件包进行统计分析,数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较用  $t$  检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

干细胞移植后 2、4、8、12 周患者血清 IL-18、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1 水平是呈下降趋势,而 HGF 水平呈上升趋势,它们与术前比较有显著性差异( $P < 0.01$ );血清 IL-18、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1 水平术后 2 周与 4 周比较,术后 4 周与 8 周比较,术后 8 周与 12 周比较均呈显著性差异( $P < 0.01$ ),而 HGF 刚好相反,但手术后 12 周与对照组比较呈显著增高( $P < 0.01$ ),见表 1。

表 1 术前及术后患者血清 IL-18、TNF-α、TGF-β1、HGF 水平动态变化

| 组别      | IL-18(pg/L)   | TNF-α(ng/L) | TGF-β1(μg/L)  | HGF(pg/mL)     |
|---------|---------------|-------------|---------------|----------------|
| 术前      | 166.72±47.24  | 20.12±5.34  | 192.32±60.12  | 173.12±17.76   |
| 术后 2 周  | 134.13±27.43  | 15.44±2.58  | 158.31±41.15  | 212.55±21.72   |
| 术后 4 周  | 112.32±24.36  | 12.13±2.32  | 134.24±32.46  | 281.96±30.52   |
| 术后 8 周  | 96.44±21.22   | 10.05±2.21  | 117.35±29.87  | 343.27±34.14   |
| 术后 12 周 | 68.57±19.47*▲ | 8.97±2.06*▲ | 94.57±27.62*★ | 421.34±36.98*★ |
| 对照组     | 60.32±17.75   | 7.13±1.34   | 62.54±18.31   | 205.20±33.64   |

注:与术前比较,\* P<0.01;与对照组比较,▲P<0.05,★P<0.01。

### 3 讨 论

肝硬化发展过程受多种细胞因子调节,是非常复杂的病理过程,肝细胞因端粒缩短导致肝细胞复制活动消失,此时由骨髓干细胞产生的卵圆细胞是肝细胞再生的主要来源,骨髓干细胞迁移并分化生成肝细胞和胆管细胞<sup>[2]</sup>。经干细胞移植治疗后 2~3 月,绝大多数患者肝功能明显好转,腹水减少,下肢浮肿减轻,食欲增强,肝脏合成与修复功能明显改善,未出现严重并发症。本组中患者干细胞移植后 2、4、8、12 周血清 IL-18、TNF-α、TGF-β1 水平是呈下降趋势,而 HGF 水平呈上升趋势,它们与术前比较有显著性差异。IL-18 是一种多效能细胞因子,主要由活化的单核巨噬细胞和肝脏枯否细胞分泌产生,参与宿主免疫应答,在宿主防御和炎症反应中起重要作用<sup>[3]</sup>,血清 IL-18 水平升高与疾病严重程度密切相关,并随肝细胞损伤程度加重而升高<sup>[4]</sup>。TNF-α 又称恶液质素,由单核吞噬细胞、嗜中性粒细胞、NK 细胞、活化的 T 淋巴细胞、活化的血管内皮细胞以及其他细胞产生,具有广泛的生物活性,能促进 IL-1、IL-8、IL-18 等的产生,增强 T 细胞、B 细胞对抗原刺激的增殖反应,增强细胞毒 T 细胞的作用,是中性粒细胞功能的启动因子,其作为炎症细胞因子诱导肝细胞凋亡和坏死,在肝纤维化过程中起重要作用。HGF 是存在于急性肝损伤患者血浆中的蛋白因子,它不仅能促进肝细胞 DNA 合成和肝细胞增殖,还可提高肝细胞抗损伤能力,对肝细胞具有保护作用<sup>[5-7]</sup>。肝细胞损伤越重 HGF 血清水平也越低,因而 HGF 可作为判断病情及预后的参考指标<sup>[8]</sup>。TGF-β1 主要由肝星状细胞和枯否细胞产生,可促肝间细胞合成Ⅲ、Ⅳ等多种胶原蛋白、非胶原蛋白和多糖等,并抑制胶原酶及基质金属蛋白酶降解胶原,从而导致肝硬化的发展,肝硬化的肝组织中 TGF-β1 mRNA 明显增加,且与前 I 型胶原 mRNA、血清 II 型胶原水平及组织学活动指数相关<sup>[9]</sup>。TGF-β1 在肝硬化过程中抑制肝细胞 DNA 合成,从而对肝细胞再生起抑制作用<sup>[10]</sup>,且肝纤维化越重血清中 TGF-β1 水平越高<sup>[11]</sup>。肝硬化早期 TGF-β1 主要来源于肝间质细胞,肝细胞不表达 TGF-β1,到了肝硬化的晚期肝细胞成为 TGF-β1 表达的主要来源。HGF 有直接促进肝细胞再生,而 IL-18、TNF-α、TGF-β1 等有抑制肝细胞再生的作用,当自体骨髓干细胞移植到患者肝脏组织后,在肝脏微环境下分化为肝细胞,同时促进 HGF 的产生,抑制 IL-18、TNF-α、TGF-β1 分泌,对改善肝功能和降低肝纤维化有明显的效果。干细胞移植后,患者血清 IL-18、TNF-α、TGF-β1 水平下降而与 HGF 水平上升,与术前比较均有统计学意义差异(P<0.05)。同时患者的肝功能明显好,临床症状明显改善,表明经干细胞移植术后患者肝脏的炎症反应程度得到了有效控制,细胞损伤程度也得到了好转。

自体骨髓干细胞移植不存在免疫排斥反应,副作用小,对失代偿期肝硬化治疗有效,能够在较短时间内改善患者肝功能,缩短治疗时间,但目前干细胞移植体内后,对细胞的分化增殖、细胞功能以及微环境的变化还缺乏有效监测方法,最常用的是采用荧光物对体内移植细胞进行示踪<sup>[12]</sup>。但需做肝组织病理切片,不能动态观察移植细胞在体内的连续性变化,不适合临床应用。所以,目前对所移植的干细胞在肝脏内定植与示踪、具体分化过程,肝细胞修复与生长、肝功能重建以及疗效评价还需要进一步研究。本文检测了患者血清 IL-18、TNF-α、TGF-β1、HGF 水平,可从另一角度说明干细胞移植体内后细胞因子的情况,对干细胞移植后的疗效评价有一定意义。

### 参考文献

- [1] 李金辉. 干细胞在肝病治疗中的应用[J]. 胃肠医学, 2008, 13(12):757-758.
- [2] De Silvestro G, Vicarioto M, Donadel C, et al. Mobilization of peripheral blood hematopoietic stem cells following liver resection surgery[J]. Hepatogastroenterology, 2004, 51:805-810.
- [3] 杜维波. 白细胞介素 18 与炎症性肝炎[J]. 临床肝胆病杂志, 2002, 18(13):151-152.
- [4] 蒋奕, 秦波. 细胞因子在脂肪肝病中的作用[J]. 国际消化病杂志, 2007, 27(2):115-117.
- [5] Kaido T, Imamura M. Hepatocyte growth factor: clinical implications in hepatobiliary pancreatic surgery[J]. J Hepatobiliary Pancreat Surg, 2001, 8:65-66.
- [6] 左国杰, 杨立群, 文莉, 等. 肝细胞生长因子对慢性肝损伤时肝部分切除术后肝再生和肝功能的影响[J]. 中国实验诊断学, 2005, 9(4):544-545.
- [7] 邱德凯, 沈敏, 熊伍军, 等. 重组肝再生增殖因子对大鼠肝纤维化的保护作用[J]. 肝脏, 2002, 7(1):14-16.
- [8] 张迁, 万谟彬, 李成忠, 等. 慢性重型肝炎患者血清肝细胞生长因子浓度变化的动态观察[J]. 临床肝胆病杂志, 2003, 19(1):18-19.
- [9] 陈梅, 周静, 石银珍. TGF-β 与肝脏疾病的关系[J]. 山东医药, 2009, 49(29):109-110.
- [10] 主余华, 张春清, 石军. 慢性乙型肝炎患者肝组织及血清 TGF-β1 表达及意义[J]. 山东医药, 2007, 47(26):25-26.
- [11] 邓存良, 盛云建. 慢性乙型肝炎患者血清转化生长因子 β1、肝细胞生长因子的检测的临床意义[J]. 临床荟萃, 2007, 22(14):1001-1002.
- [12] 王先宝, 蔡德鸿, 张桦, 等. 磁标记猪骨髓间充质干细胞肝脏移植示踪研究[J]. 广东医学, 2009, 30(3):336-338.

(收稿日期:2010-05-11)