

• 临床检验研究 •

流式干细胞计数在终末期肝病脐血干细胞移植治疗中的应用

彭 燕¹, 王庆旭^{2#}, 吴丽娟¹, 刘毓刚¹, 蒋明德³, 曾维政³

(成都军区总医院:1. 检验科;2. 核医学科;3. 消化内科, 成都 610083)

摘 要:目的 探讨在干细胞移植治疗终末期肝病时,流式干细胞计数结果的应用价值。方法 采用流式细胞仪检测 58 例送检干细胞样本并根据结果进行分组,回输细胞数小于 $2 \times 10^6/L$ 共 34 例为 A 组,回输细胞数大于或等于 $2 \times 10^6/L$ 共 24 例为 B 组,对两组患者干细胞移植治疗前后的血液生化指标结果对比分析。结果 术后 1 个月 A 组 ALT 变化不明显,总胆红素下降明显,由 $(80.6 \pm 41.2) \mu\text{mol/L}$ 降至 $(62.5 \pm 37.2) \mu\text{mol/L}$, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$);术后 1 周 B 组总胆红素即有明显下降,由 $(89.3 \pm 45.1) \mu\text{mol/L}$ 降至 $(65.2 \pm 36.3) \mu\text{mol/L}$, 1 个月 ALT 明显下降,由 $(64.1 \pm 33.8) \text{IU/L}$ 降至 $(48.5 \pm 26.3) \text{IU/L}$, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);两组 AST 术后均逐渐下降,ALB 逐渐上升,PT 略微下降。结论 高浓度的干细胞移植能够在短时间内改善患者肝功能。

关键词:干细胞移植; 流式细胞术; 终末期肝病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.20.008

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)20-2315-02

Results of stem cell count analysis of stem cell transplantation for treatment of end-stage liver disease

Peng Yan¹, Wang Qingxu^{2#}, Wu Lijuan¹, Liu Yugang¹, Jiang Mingde³, Zeng Weizheng³

(1. Department of Medical Laboratory; 2. Department of Nuclear Medicine; 3. Department of Gastroenterology, Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, China)

Abstract: **Objective** To analyze the results of stem cell count of stem cell transplantation for treatment of end-stage liver disease. **Methods** Detecting stem cell samples of 58 patients by Beckman Coulter XL4 and grouped according to the results, 34 cases were grouped A which the total number of stem cells was less than $2 \times 10^6/L$, 24 cases were grouped B which the total number of stem cells was more than $2 \times 10^6/L$, and comparing the liver function of preoperative and postoperative of the 58 patients. **Results** 1 month after transplantation ALT of A group did not change significantly, TB decreased significantly from $(80.6 \pm 41.2) \mu\text{mol/L}$ decreased $(62.5 \pm 37.2) \mu\text{mol/L}$; 1 week after transplantation TB of B group was significantly decreased from $(89.3 \pm 45.1) \mu\text{mol/L}$ decreased $(65.2 \pm 36.3) \mu\text{mol/L}$, 1 month after transplantation ALT of B group was significantly decreased from $(64.1 \pm 33.8) \text{IU/L}$ decreased $(48.5 \pm 26.3) \text{IU/L}$; AST in both groups were decreased, ALB increased and prothrombin time decreased slightly. **Conclusion** High concentrations of stem cell transplantation can improve liver function in a short time.

Key words: stem cell transplantation; flow cytometry; end-stage liver disease

研究证实,脐血干细胞可以分化为肝细胞^[1]。目前已经有报道经肝动脉脐血造血干细胞移植治疗肝硬化获得了一定的疗效^[2-3]。但是在治疗中,大多仅对脐带血有核细胞总数进行计数,实际发挥作用的造血干细胞并未进行计数。本文根据脐血的造血干细胞计数进行分组,对 58 例在本院进行脐血干细胞移植的患者进行了治疗前后血液生化指标的比较,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2009 年 9 月至 2010 年 12 月在本院进行脐血干细胞移植治疗患者 58 例,其中男 42 例,女 16 例,年龄 20~73 岁,平均 48 岁;其中乙肝肝硬化 51 例,酒精性肝硬化 4 例,原发性胆汁性肝硬化 3 例。根据干细胞计数结果对 58 例患者进行分组, A 组小于 $2 \times 10^6/L$ 共 34 例,其中男 25 例,女 9 例,平均年龄 49 岁; B 组大于或等于 $2 \times 10^6/L$ 共 24 例,其中男 17 例,女 7 例,平均年龄 46 岁,两组男、女及年龄分布差异无统计学意义。

1.2 仪器与试剂 Beckman Coulter XL4 流式细胞仪、Olympus AU2700 全自动生化仪, Sysmex CA1500 全自动凝血功能检测仪,试剂均采用原配套试剂。

1.3 方法

1.3.1 造血干细胞计数 由从事细胞分离的专业人员按要求分离脐血干细胞后, 半小时内送达检验科由 XL-4 流式细胞仪进行计数, 具体方法见参考文献[6]执行。

1.3.2 血液生化指标检测 在脐血干细胞移植术前及术后第 1、4、12、24 周空腹采集静脉血后, 半小时内送达检验科, 立即按照相关项目要求处理样本, 由 Olympus AU2700 全自动生化仪、Sysmex CA1500 全自动凝血功能检测仪在 2 h 内检测谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、清蛋白(ALB)、总胆红素(TBIL)、凝血酶原时间(PT)等指标。

1.4 统计学处理 数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据采用 SPSS 13.0 统计软件处理, 组间比较采用 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

与术前检测结果比较, 两组 ALT 术后 1 周均有所上升, A 组由 $(60.6 \pm 30.4) \text{IU/L}$ 升至 $(66.9 \pm 31.2) \text{IU/L}$, B 组由 $(65.3 \pm 33.5) \text{IU/L}$ 升至 $(64.1 \pm 33.8) \text{IU/L}$, 差异无统计学意义, 术后 1 个月 A 组 ALT 水平变化不明显, B 组明显下降, 由 $(64.1 \pm 33.8) \text{IU/L}$ 降至 $(48.5 \pm 26.3) \text{IU/L}$, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 其后两组数据比较差异无统计学意义; 两组 AST 水平术后均逐渐下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 同

共同第一作者。

时,期内 B 组比 A 组下降幅度更大,术后 1 周两组下降幅度比较差异有统计学意义($P<0.05$),其余时间段两组下降幅度比较无统计学意义;A 组总胆红素术后 1 周略有上升,由(74.8±44.5) $\mu\text{mol/L}$ 升至(80.6±41.2) $\mu\text{mol/L}$,差异无统计学意义,B 组总胆红素术后 1 周下降明显,由(89.3±45.1) $\mu\text{mol/L}$ 降至(65.2±36.3) $\mu\text{mol/L}$,差异有统计学意义($P<0.01$),A 组术

后 1 个月总胆红素下降明显由(80.6±41.2) $\mu\text{mol/L}$ 降至(62.5±37.2) $\mu\text{mol/L}$,B 组继续下降,差异均有统计学意义($P<0.01$),术后 3~6 个月差异无统计学意义;两组清蛋白术后均开始逐渐上升,术后 6 个月明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$);两组凝血酶原时间术后均有不同程度改善,但与术前比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 58 例干细胞移植患者血液生化指标变化($\bar{x}\pm s$)

时间	组别	丙氨酸氨基转移酶(IU/L)	天门冬氨酸氨基转移酶(IU/L)	总胆红素($\mu\text{mol/L}$)	清蛋白(g/L)	凝血酶原时间(s)
术前	A 组	60.6±30.4	89.3±41.1	74.8±44.5	27.1±3.9	17.8±4.3
	B 组	65.3±33.5	82.6±42.6	89.3±45.1	26.9±2.9	16.9±3.8
术后 1 周	A 组	66.9±31.2	70.2±38.6*	80.6±41.2	30.3±3.8	18.2±4.6
	B 组	64.1±33.8	61.3±37.2*	65.2±36.3*	28.1±3.2	17.3±4.1
术后 4 周	A 组	61.2±30.1	52.3±30.2*	62.5±37.2*	32.5±3.5	17.6±4.1
	B 组	48.5±26.3*	48.9±29.6*	43.2±31.2*	31.4±3.1	17.1±3.9
术后 12 周	A 组	50.3±29.6*	50.2±25.3*	40.3±26.3*	32.3±3.8	16.8±4.0
	B 组	46.5±27.3*	46.3±24.1*	41.2±28.5*	32.1±3.0	16.1±3.5
术后 24 周	A 组	38.5±23.5*	48.6±26.5*	39.2±24.1*	35.6±3.6*	16.4±3.2
	B 组	36.2±21.5*	45.3±25.3*	38.0±25.3*	37.1±3.4*	15.9±3.3

*: $P<0.05$,与术前比较。

3 讨 论

脐带血干细胞以其独特的生物学特性、资源优势及广泛的移植适应证等优势弥补了骨髓及外周血干细胞移植的某些不足,成为近十几年来造血干细胞移植领域的研究热点^[4]。干细胞移植成功与否,与其浓度和质量的高低密切相关^[5],对肝干细胞来说,只有移植一定数量的细胞才可能具有改善脏器的衰弱状态,所以干细胞计数对于干细胞移植治疗的效果评价至关重要。

本研究表明,所有患者在经过脐血干细胞移植治疗 6 个月后,ALT、AST、TB 均明显下降,ALB 明显上升,治疗前后差异有统计学意义($P<0.05$),说明脐血干细胞移植治疗失代偿期肝硬化是有效的,PT 改变不明显,治疗前后差异无统计学意义($P>0.05$),这与国内的报道是相符的^[2-3],可能是由于本文选取的病例最长跟踪检测期限仅为 6 个月,而凝血酶原时间的恢复需要较长时间。

但是,与 A 组比较,B 组在术后 1 周 AST、TB 即已出现明显下降,术后 1 个月 ALT 有明显下降,与 A 组比较,差异均有统计学意义,说明高水平的干细胞移植能够在短时间内改善患者肝功能,这对于身体状况较差的终末期肝脏病患者来说,无疑是一个希望的信号^[6]。

目前,脐血干细胞移植治疗肝硬化尚处在探索阶段,治疗病例数量较少,追踪患者各项指标的时间也较短,其远期疗效、不良反应等尚需进一步观察及研究。

参考文献

[1] Kakinuma S, Tanaka Y, Chinzei R, et al. Human umbilical cord blood as a source of transplantable hepatic progenitor cells[J]. Stem Cells, 2003, 21(1): 217-227.

[2] 杨宏丽, 于发涛, 李桂杰, 等. 脐血干细胞移植治疗失代偿期肝硬化 86 例疗效观察[J]. 山东医药, 2010, 50(45): 16-17.

[3] 胡小宣, 陈海鸥, 钱林, 等. 经肝动脉脐血干细胞移植治疗肝硬化的临床应用[J]. 中华全科医师杂志, 2011, 10(1): 58-60.

[4] 黄钢丁. 人脐血干细胞的特性及其肝细胞分化的研究进展[J]. 医学文选, 2005, 24(1): 109-111.

[5] 王亮, 李梅君. 造血干细胞移植在肝脏疾病治疗中的应用与进展[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(45): 8983-8986.

[6] 吴丽娟. 临床流式细胞学检验技术[M]. 北京: 人民军医出版社, 2010: 50-52.

(收稿日期: 2011-08-08)

(上接第 2314 页)

et al. Differential cytotoxic T-lymphocyte responsiveness to the hepatitis B and C viruses in chronically infected patients[J]. J Virol, 1996, 70(10): 7092-7102.

[5] Daar ES, Lynn H, Donfield S, et al. Relation between HIV-1 and hepatitis C viral load in patients with Hemophilia[J]. J Acquir Immune Defic Syndr, 2001, 26(5): 466-472.

[6] Greub G, Ledergerber B, Battegay M, et al. Clinical progression,

survival, and immune recovery during antiretroviral therapy in patients with HIV-1 and hepatitis C virus coinfection: the Swiss HIV cohort study[J]. Lancet, 2000, 356(9244): 1800-1805.

[7] 李太生, 邱志峰. HIV 感染和 AIDS 患者 T 淋巴细胞免疫病理改变的研究[J]. 中华医学杂志, 2002, 82(20): 1391-1395.

(收稿日期: 2011-08-08)