doi:10.12289/j.issn.1008-0392.20517

·干细胞专题·

间充质干细胞治疗 2 型糖尿病的临床研究现状

刘 鹏[1],王从容[2]

(1. 上海交通大学附属第六人民医院内分泌代谢科,上海 200233;2. 同济大学附属东方医院干细胞转化医学产业基地,上海 200123)

【摘要】2 型糖尿病的发生、发展与胰岛 β 细胞功能缺陷、胰岛素抵抗密切相关,自身免疫系统介导的炎症反应在其中发挥重要作用。近年来,间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)移植成为治疗糖尿病的研究热点。关于干细胞移植治疗 2 型糖尿病的临床有效性和安全性,目前仍存在争议。本文综述国内外开展的 MSCs 治疗糖尿病及其并发症间的研究现状,总结研究中存在的相关问题和经验教训,为后续临床治疗提供新思路。

【关键词】2 型糖尿病;间充质干细胞;临床研究

【中图分类号】R587.1 【文献标志码】A 【文章编号】1008-0392(2021)02-0167-05

Therapeutic potential of mesenchymal stem cells in patients with type 2 diabetes mellitus

LIU Peng[1], *WANG Cong-rong*[2]

(1. Dept. of Endocrinology and Metabolism, Shanghai Jiao Tong University Affiliated Sixth People's Hospital, Shanghai 200233, China; 2. Translational Medical Center for Stem Cell Therapy, Shanghai East Hospital, School of Medicine, Tongji University, Shanghai 200123, China)

【**Abstract**】The pathogenesis and development of type 2 diabetes mellitus (T2DM) are closely related to pancreatic β-cells functional deficiencies and insulin resistance. The inflammatory response mediated by the autoimmune system plays an important role in this process. In recent years, mesenchymal stem cells (MSCs) transplantation has become a research hotspot in the treatment of diabetes. However, there are still controversies about the clinical effectiveness and safety of stem cell transplantation in the treatment of type 2 diabetes. This article reviews the current status of research in the field of MSCs therapy for diabetes and its complications at home and abroad, and aims to summarize the relevant problems and lessons learned and to provide new ideas for its further clinical application.

【**Key words**】type 2 diabetes mellitus; mesenchymal stem cells; clinical research

糖尿病一直是影响世界的公共卫生问题。据国际糖尿病联合会(IDF)最新统计,至 2019 年,全球糖尿病患者已有 4.63 亿,患病率高达 8.3%,预计到 2030 年,世界糖尿病发病人数将达到 5.78 亿,至 2045 年将达 7 亿[1]。2019 年,中国有 1.16 亿糖尿病患者,患者人数居世界首位[1]。根据 2013 年我国慢性病及其危险因素监测结果,18 岁及以上人群 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患病率为 10.4%[2]。T2DM 的主要病理生理特征为胰岛素抵抗伴随胰岛 β 细胞功能缺陷。2017 年门诊 T2DM 患者中,血糖、血脂、血压的综合达标率仅为 5.6%[2]。尽管通过生活方式干预及药物干预均有效降低血糖,显著降低糖尿病

收稿日期:2020-12-02

作者简介:刘 鹏(1993—),女,硕士研究生. E-mail:yupoong06@163.com

通信作者:王从容(1972—),女,博士,教授,主任医师,博士生导师,主要研究方向为干细胞治疗糖尿病的基础及临床. E-mail:crwang@tongji.edu.cn

微血管病变、心肌梗死的发生风险,仍有患者最终出现严重糖尿病慢性并发症,需转移至专科治疗[2]。因此,探索新的治疗方式是 T2DM 防治的主要方向。

1　间充质干细胞治疗 T2DM 的机制

由于人体组织和器官在病理状态下完全恢复其结构和功能的能力有限[3],T2DM 病程晚期亦需借助胰岛素注射来维持机体正常血糖水平。传统内科治疗并不能从源头上解决胰岛素抵抗及胰岛 β 细胞功能缺陷,为了克服这一现状,科学家们正逐步将研究重点转移至干细胞治疗糖尿病领域。干细胞是一类具有极强的自我更新能力及多向分化潜能的细胞,其独特的生物学特性使其成为修复胰岛病理状态的重要细胞来源[4]。根据干细胞的性质和起源,目前研究较多的干细胞类型有胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)、诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)及间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)[3]。ESCs 是来源于囊胚内部的细胞团,可形成 3 种胚层(外胚层、内胚层、中胚层),进而分化为人体所有细胞类型,但由于其致瘤性风险及容易引起免疫反应限制了其使用。ViaCyte 公司使用优化的 ESCs 体外分化方案在一定程度上减少了致瘤风险,并逐步开发了囊化装置作为隔离免疫的种植体[3]。多项研究表明,囊化封装可通过隔绝免疫反应保护植入的细胞,并可防止植入细胞扩散入体内[5]。目前,全球第 1 项胰腺内胚层囊化装置移植的临床研究正在进行中[3]。iPSCs 来源于体细胞,与 ESCs 具有相同的增殖分化能力[6]。由于其并非来源于活体胚胎,伦理问题较少。然而,iPSCs 根据其细胞来源及处理步骤不同,表现为不同的分化效率和致瘤性,且存在异种污染等安全性问题,因此使用尚存在较多困难[5]。

目前临床上开展较多的研究是 MSCs 移植治疗糖尿病。MSCs 是一类来源于中胚层的多能干细胞,最早由前苏联科学家 Friedenstein 在骨髓中检测到,具有三系分化潜能(成脂、成骨、成软骨)[3]。MSCs 还可从其他组织包括脂肪、肌肉、脐带和胎盘等中分离得到,可分泌多种细胞因子,生长因子和细胞外基质,调节血管再生以及免疫和炎症反应[3]。骨髓来源间充质干细胞(bone marrow-derived mese-nchymal stem cells, BM-MSCs)为重要的 MSCs 群体,可自我更新,用于促进髓外组织的修复。但 BM-MSCs 的使用时需注意供者年龄、疾病状态等因素对细胞质量的影响[6]。另一种国内外研究较多的 MSCs 类型为脐带华通胶(Wharton's Jelly)分离得到的脐带间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cells, UC-MSCs)。与 BM-MSCs 相比,UC-MSCs 具有诸多优势:(1) UC-MSCs 的采集过程为无创性,减少了因采集细胞而造成的伤口感染[7];(2) UC-MSCs 增殖潜力较骨髓、脂肪、尿液等来源 MSCs 更强[8];(3) 研究表明 UC-MSCs 具有低免疫原性,其表面缺乏 MHCⅡ类分子和集落刺激因子,将 UC-MSCs 移植到同种异体的未接受免疫抑制的受体内,未产生免疫排斥[7];(4) 与骨髓、脂肪等来源的 MSCs 相比,从华通胶中提取的 MSCs 产量更高、稳定性更好[9]。

T2DM 的发生与胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞功能缺陷相关,炎症机制在其中发挥重要作用。研究表明,UC-MSCs 治疗 T2DM 的主要机制为免疫调节作用。Yin 等[10]在小鼠模型中发现 UC-MSCs 对 T2DM 小鼠受损胰岛存在免疫调节和和抗炎作用,输注过 UC-MSCs 的糖尿病小鼠胰岛中巨噬细胞趋化因子 MCP-1 表达下调。UC-MSCs 通过分泌 IL-6 调节巨噬细胞极化,从而改善胰岛细胞功能,维持血糖稳定。另外,该研究团队还发现用荧光标记的 UC-MSCs 静脉输注入 T2DM 小鼠体内 6 h 后能归巢到受损胰腺组织,而正常小鼠的胰腺组织在 7 d 的观察期间内未观察到标记的 UC-MSCs。免疫荧光共定位实验结果表明,UC-MSCs 对糖尿病小鼠的降血糖作用并非通过直接分泌胰岛素而实现[11]。

此外,胰岛 β 细胞去分化是胰岛 β 细胞功能衰竭的重要原因,去分化的胰岛 β 细胞丧失部分或全部胰岛素分泌能力。最近的研究表明,UC-MSCs 可通过白介素 1 受体拮抗剂(IL-1Ra)介导的方式逆转胰岛 β 细胞去分化,以此减轻胰岛 β 细胞功能障碍。Wang 等[12]观察到 T2DM 患者胰岛表达的促炎因子可引起 MSCs 分泌 IL-1Ra,后者作用于胰岛功能受损的胰岛,通过逆转胰岛 β 细胞去分化进而改善胰岛素分泌功能。然而,正常人的胰岛并未观察到以上现象,因此提示 MSCs 与 T2DM 患者胰岛之间存在"对话应答"。进一步研究选取两种动物模型作为 MSCs 移植受体,一方面,将 MSCs 与 T2DM 患者胰岛共同移植入免疫缺陷糖尿病小鼠肾包膜下,发现 UC-MSCs 可逆转 T2DM 患者胰岛去分化;另一方面,将 MSCs 静脉单独输注到 db/db 小鼠体内,并发现 UC-MSCs 对 db/db 小鼠也具有逆转胰岛 β 细胞去分化的效应,同时糖尿病动物血糖改善。上述研究证明,逆转胰岛 β 去分化可能是

MSCs 发挥作用的另一重要机制。

另有研究表明脂肪来源 MSCs 可减轻 T2DM 小鼠体重，改善脂代谢[13]。此外，已有研究报道脂肪 MSCs 可改善 T2DM 动物脂肪细胞氧化损伤，但机制尚不明确[14]。

2　MSCs 治疗 T2DM 的临床应用

近年来，各国学者对干细胞移植治疗糖尿病进行了深入研究。截至 2020 年 4 月，以“diabetes”和“stem cell”为关键词，检索美国 NIH 全球最大的临床试验数据库（www. ClinicalTrials. gov），结果显示全球范围内干细胞治疗糖尿病的临床试验共计 211 项，其中关于 T1DM 共 62 项，T2DM 共 74 项，糖尿病并发症 85 项。干细胞类型包括异体 UC-MSCs、自体骨髓单个核细胞、自体或异体 BM-MSCs、自体或异体脂肪 MSCs、异体牙髓 MSCs 等。在中国范围内开展的干细胞治疗糖尿病病临床试验共计 39 项，其中，使用 UC-MSCs 进行治疗研究的共 9 项，3 项为 UC-MSCs 治疗 T2DM 的研究。

先后已有中国、美国、印度等国家报道了 MSCs 治疗 T2DM 的临床研究结果（表 1）。2008 年，Jiang 等[15]对胎盘来源 MSCs 用于糖尿病的治疗进行了探索。研究人员以静脉注射方式将 1.35×10^6/kg MSCs 分 3 次注入 10 例患者体内，每次输注间隔时间为 1 个月。10 例患者于移植后 6 个月出现胰岛素需求量显著减少，减量幅度为（29±5. 3）IU，4 例患者胰岛素减量超过 50%。平均糖化血红蛋白（HbA1c）由移植前 9. 8%降至移植后 6. 7%，C 肽和胰岛素水平均改善显著，所有患者术后均未出现发热、寒战、肝损伤、免疫排斥等反应。2010 年 5 月，Liu 等[16]采用 UC-MSCs 治疗 22 例 T2DM 患者，开展了 1 项为期 12 个月的自身前后对照试验。该研究选用外周静脉和脾动脉两种 MSCs 移植途径，两次移植以 5 d 为间期，共输注 1×10^6/kg MSCs。HbA1c 的下降程度在治疗后 3 个月时显著减缓，由移植前（8. 20±1. 69）%降低至（6. 89±0. 90）%；空腹血糖在 MSCs 移植后不同监测时间点均有不同程度下降，在 6 个月时差异最为显著，并在 12 个月随访期内维持在较低水平。口服葡萄糖耐量试验（oral glucose tolerance test，OGTT）2 h 血糖在术后 1 个月达到最低。空腹 C 肽在术后 1 个月开始增加，并在 6 个月时达到峰值。HOMA-2B（homeostasis model assessment）从移植前的（65. 99±23. 49）%增加至 6 个月时的（98. 86±43. 91）%，在 12 个月随访期恢复至（86. 0±37. 1）%。所有需使用胰岛素的患者注射剂量均较移植前显著减低，并在 12 个月内维持较低水平；29%（5/17）患者胰岛素注射剂量减少超过 50%；41%（7/17）患者在术后 2~6 个月停用外源性胰岛素，达到完全缓解状态并平均维持（9. 3±3. 8）个月。此外，5 例口服降糖药的患者中，有 1 例停用口服降糖药。

表 1　间充质干细胞移植治疗 2 型糖尿病的临床研究结果

Tab. 1　Summary of clinical studies using mesenchymal stem cells as a treatment for type 2 diabetes

作者	*n*	入组标准	干细胞来源	剂量方法	主要研究终点	结果	副作用
Liu 等[16]	22	T2DM； 年龄 18~70 岁；近 3 个月内使用降糖药或胰岛素	脐带	1×10^6/kg，共 2 次 外周静脉注射 1 次 脾动脉介入 1 次	HbA1c 和 C 肽水平	77%（17/22） 获得 CR	发热、皮下血肿、恶心、呕吐、头痛
Bhansali 等[17]	30	T2DM； 年龄 30~60 岁； 病程≥5 年； HbA1c≤7. 5%	自体骨髓	ABM-MSCs 组 （Group Ⅰ）：1×10^6/kg ABM-MNCs 组 （Group Ⅱ）：1×10^9 安慰剂组：Vit B 均经胰腺动脉介入	胰岛素使用减少≥50%； HbA1c<7. 0%	60%达到主要研究终点	局部血液外渗
Jiang 等[15]	10	年龄 30~85 岁； T2DM 确诊≥3 年； 每日需注射胰岛素≥0. 7 U/kg，持续≥1 年	胎盘	共 1.35×10^6/kg 分 3 次静脉注射， 每次间隔 1 个月	每日胰岛素需求量减少≥50%超过 3 个月	胰岛素用量、HbA1c、C 肽均得到改善	未出现明显异常改变
Skyler 等[18]	60	年龄<80 岁； 7. 0≤HbA1c≤10. 5%； 单独用二甲双胍或联用其他降糖药物治疗不少于 3 个月	异体骨髓	0.3×10^6/kg（n=15） 1.0×10^6/kg（n=15） 2.0×10^6/kg（n=15） 单次静脉注射	HbA1c 降低	33%患者达到 HbA1c<7%的研究终点，对照组无改善	1 例患者出现严重腹痛，无严重不良事件发生

对于 BM-MSCs,Bhansali 等[17]开展了一项多中心、随机、单盲、安慰剂对照研究。研究者对 30 例 T2DM 患者分别通过胰腺动脉介入方式进行了自体骨髓来源间充质干细胞(autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells,ABM-MSCs)、自体骨髓来源单个核细胞(autologous bone marrow-derive-dmononuclear cells, ABM-MNCs)以及安慰剂治疗(每组 10 例患者)。2 个治疗组患者治疗 12 个月后,患者胰岛素需求量均减少。此外,葡萄糖钳夹试验显示,与 ABM-MSCs 移植组相比,ABM-MNCs 移植组第二时相 C 肽分泌反应性显著增加,而 ABM-MSCs 移植组胰岛素敏感性指数改善更为显著。在安全性方面,1 例患者在 MSCs 移植术后出现局部血液外渗,并于 1 周后症状消失。在整个研究期间,未发生严重低血糖事件。至随访结束,PET-CT 未发现任何患者身体异常。Skyler 等[18]用异体骨髓来源间充质前体细胞(allogeneic bone marrow-derived mesenchymal precursor cells, MPCs)移植治疗 T2DM 患者,并进行为期 12 周的多中心、随机、安慰剂对照研究。研究者将受试者按 3∶1 的比例随机分配至 MPCs 治疗组或安慰剂对照组,治疗组根据低、中、高静脉移植细胞剂量分为 3 组,每组 15 例患者,移植量分别为 0.3×10^6/kg、1.0×10^6/kg 及 2.0×10^6/kg。随访至 12 周时,低剂量移植组 13.3%(2/15)患者达到 HbA1c 治疗终点(<7%),中剂量移植组 6.7%(1/15)达到 HbA1c 治疗终点,而高剂量移植组达到 HbA1c 治疗终点的患者高达 33%(5/15),对照组无患者 HbA1c 达标,提示 MSCs 治疗糖尿病的疗效可能与移植剂量有关。

MSCs 移植的安全性问题也是临床及科研人员及患者最关心的问题。早期的临床前研究表明,将人源 UC-MSCs 通过尾静脉分 3 次、每次间隔 2 周注射入非人灵长类动物食蟹猴体内,未发现移植相关毒性,且所有观察到的注射点和器官均呈正常状态,未发现致瘤倾向[19]。此外,将人源 UC-MSCs 移植入大鼠模型的研究中,也未观察到移植相关免疫排斥和致瘤性[20]。在临床研究中,MSCs 输注治疗 T2DM 的不良反应报道较少。有报道移植 MSCs 后出现皮下血肿、恶心、呕吐的个案可能与胰腺动脉介入手术的移植方式有关[16]。已发表的 6 项关于 MSCs 移植治疗 T2DM 的临床研究中,有 4 项无严重不良反应报道[15-18,21-22]。此外,以上 6 项通过静脉输注的方式治疗 T2DM 的临床研究中,有 2 项研究报道少数患者移植术后出现发热症状[16,21],推测可能与静脉输液反应有关。

3 展　望

已开展的动物实验及小样本临床研究观察到 MSCs 移植可改善 T2DM 动物的胰岛 β 细胞功能,降低 T2DM 患者的胰岛素用量,改善 HbA1c 水平以及 C 肽分泌,为糖尿病患者血糖控制提供了一种治疗新策略。尽管我们目前对 MSCs 发挥功能的途径已有所了解,但尚未明确其具体作用机制。此外,现有的 MSCs 移植治疗糖尿病的临床研究随访时间尚短,长期随访的致瘤风险不明确。未来的研究应重点应聚焦于扩大样本量的多中心临床研究,观察 MSCs 治疗的远期效果,以进一步规范和优化 MSCs 治疗糖尿病的临床方案,降低其潜在风险。

【参考文献】

[1] SAEEDI P, PETERSOHN I, SALPEA P, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2019,157: 107843.

[2] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版)[J]. 中华糖尿病杂志,2018,10(1): 4-67.

[3] PÄTH G, PERAKAKIS N, MANTZOROS C S, et al. Stem cells in the treatment of diabetes mellitus-Focus on mesenchymal stem cells[J]. Metabolism, 2019, 90: 1-15.

[4] SHEN J, CHENG Y, HAN Q W, et al. Generating insulin-producing cells for diabetic therapy: existing strategies and new development[J]. Ageing Res Rev, 2013,12(2): 469-478.

[5] SHAHJALAL H M, ABDAL DAYEM A, LIM K M, et al. Generation of pancreatic β cells for treatment of diabetes: advances and challenges[J]. Stem Cell Res Ther, 2018,9(1): 1-19.

[6] BAKER N, BOYETTE L B, TUAN R S. Characterization of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in aging[J]. Bone, 2015,70: 37-47.

[7] LI T, XIA M X, GAO Y Y, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells: an overview of their potential in cell-based therapy[J]. Expert Opin Biol Ther, 2015,15(9): 1293-1306.

[8] ARUTYUNYAN I, ELCHANINOV A, MAKAROV A, et al. Umbilical cord as prospective source for mes-

enchymal stem cell-based therapy[J]. Stem Cells Int, 2016,2016: 6901286.

[9] MOREIRA A, KAHLENBERG S, HORNSBY P. Therapeutic potential of mesenchymal stem cells for diabetes[J]. J Mol Endocrinol, 2017, 59(3): R109-R120.

[10] YIN Y Q, HAO H J, CHENG Y, et al. Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells direct macrophage polarization to alleviate pancreatic islets dysfunction in type 2 diabetic mice[J]. Cell Death Dis, 2018,9(7): 760.

[11] YIN Y Q, CHENG Y, MU Y M, et al. The homing of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells and the subsequent modulation of macrophage polarization in type 2 diabetic mice[J]. Int Immunopharmacol. 2018,60: 235-245.

[12] WANG L, LIU T L, LIANG R, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate β cell dysfunction of human type 2 diabetic islets by reversing β cell dedifferentiation [J]. EBioMedicine, 2020,51: 102615.

[13] LIU G Y, LIU J, WANG Y L, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells ameliorate lipid metabolic disturbance in mice[J]. Stem Cells Transl Med, 2016,5(9): 1162-1170.

[14] SEN S, DOMINGUES C, ROUPHAEL C, et al. Genetic modification of human mesenchymal stem cells helps to reduce adiposity and improve glucose tolerance in an obese diabetic mouse model[J]. Stem Cell Res Ther,2015,6: 242.

[15] JIANG R H, HAN Z B, ZHUO G S, et al. Transplantation of placenta-derived mesenchymal stem cells in type 2 diabetes: a pilot study[J]. Front Med, 2011,5(1): 94-100.

[16] LIU X, ZHENG P, WANG X, Dai G, et al. A preliminary evaluation of efficacy and safety of Wharton's jelly mesenchymal stem cell transplantation in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Stem Cell Res Ther, 2014,5(2): 57.

[17] BHANSALI S, DUTTA P, KUMAR V, et al. Efficacy of autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells and mononuclear cells transplantation in type 2 diabetes mellitus: a randomized placebo-controlled comparative study[J]. Stem Cells Dev, 2017,26(7): 471-481.

[18] SKYLER J S, FONSECA V A, SEGAL K R, et al. Allogeneic mesenchymal precursor cells in type 2 diabetes: a randomized, placebo-controlled, dose escalation safety and tolerability pilot study[J]. Diabetes Care, 2015,38(9): 1742-1749.

[19] WANG Y, HAN Z B, MA J, et al. A toxicity study of multiple-administration human umbilical cord mesenchymal stem cells in cynomolgus monkeys[J]. Stem Cells Dev, 2012,21(9): 1401-1408.

[20] FAN C G, ZHANG Q J, ZHOU J R. Therapeutic potentials of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord[J]. Stem Cell Rev Rep, 2011,7(1): 195-207.

[21] KONG D X, ZHUANG X H, WANG D Q, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cell transfusion ameliorated hyperglycemia in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Clin Lab, 2014, 60(12): 1969-1976.

[22] HU J, WANG Y, GONG H, et al. Long term effect and safety of Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells on type 2 diabetes[J]. Exp Ther Med, 2016,12(3): 1857-1866.