

干细胞治疗糖尿病:未来可期

王岳鹏^{1,2} 臧丽¹ 母义明¹

¹解放军总医院第一医学中心内分泌科,北京 100853;²南开大学医学院,天津 300071

通信作者:母义明,Email:muyiming@301hospital.com.cn

【摘要】 干细胞以其自我更新和多向分化的生物学优势,通过免疫调节功能、组织修复功能及分化功能,在糖尿病的治疗中展现出良好的应用前景。间充质干细胞移植对1型和2型糖尿病患者有一定疗效,但临床结果不能令人满意,需要提高间充质干细胞体内存活时间及疗效。干细胞诱导分化的胰岛素分泌细胞为胰岛衰竭型糖尿病的治疗提供了理想的胰岛细胞补充来源,但免疫排斥及安全性问题仍是干细胞诱导分化的胰岛素分泌细胞应用中面临的主要问题,尚需开展临床研究探索其有效性及安全性。

【关键词】 糖尿病; 胰岛素分泌细胞; 间充质干细胞; 外泌体; β 细胞替代

Stem cell therapy in diabetes: a promising future

Wang Yuepeng^{1,2}, Zang Li¹, Mu Yiming¹

¹Department of Endocrinology, the First Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China; ²School of Medicine, Nankai University, Tianjin 300071, China

Corresponding author: Mu Yiming, Email: muyinming@301hospital.com.cn

全球糖尿病患病率迅速增加,中国糖尿病患者人数占全球第一,但糖尿病的控制率并不理想^[1]。过去几十年里,学者对糖尿病的病理生理学进行了深入的探索,发现包括肝脏和脂肪组织在内的胰岛素敏感性受损、脑神经递质功能障碍、微生态失常,以及免疫失调等机制参与了糖尿病的发生及发展^[2]。针对这些机制也研发了多种新型降糖药物,并在临床上取得了较好的疗效。尽管这些降糖药物可以有效改善高血糖,或暂时改善靶组织的胰岛素敏感性,但均缺少逆转胰岛素抵抗和进行性胰岛 β 细胞功能衰竭的证据。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)虽缺少分化成为胰岛素分泌细胞(insulin-producing cells, IPCs)的证据,但可改善胰岛素抵抗、逆转 β 细胞的去分化,修复受损胰岛 β 细胞,在2型糖尿病(T2DM)及其并发症治疗中具有潜在价值。但目前存在治疗效果

不稳定、疗效持续时间有限的问题。近日,美国CellTrans公司研发的同种异体来源的胰岛产品获得了美国食品药品监督管理局批准,用于重度低血糖反复发作且糖化血红蛋白(HbA_{1c})不达标的成人1型糖尿病(T1DM)患者,成为T1DM治疗首款获批的细胞产品。但由于胰岛移植需终身使用免疫抑制剂、成本高以及供体短缺,胰岛细胞移植治疗T1DM应用仍然受限。由于单个 β 细胞即可感知细胞外葡萄糖的变化并分泌胰岛素,因此利用干细胞获取足够的IPCs植入体内,理论上可实现胰岛功能衰竭型糖尿病的治愈。随着技术的进步,这种IPCs距离临床转化越来越近。2023年美国糖尿病协会科学会议上,在干细胞来源的IPCs治疗T1DM的临床研究中,可观察到胰岛素分泌恢复和严重低血糖事件的减少。国内在干细胞来源的IPCs研究领域亦取得突出进展。糖尿病的干细胞疗法仍任

DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20230626-00332

收稿日期 2023-06-26 本文编辑 赵景辉

引用本文:王岳鹏,臧丽,母义明. 干细胞治疗糖尿病:未来可期[J]. 中华内科杂志, 2023, 62(9): 1039-1042. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20230626-00332.



重而道远,但未来可期。

一、MSCs 移植治疗糖尿病

(一) MSCs 治疗糖尿病的机制

因 MSCs 具有损伤趋化和多向分化潜能,且 MSCs 输注可以使胰岛细胞团增加并改善 C 肽水平^[3],早期学者认为, MSCs 可通过迁移至受损胰岛并分化为胰岛素分泌细胞,改善血糖紊乱。但动物荧光追踪显示, MSCs 静脉输注后,大多数归巢到淋巴器官中^[4],只有极少量细胞归巢到胰腺,且干细胞存活时间仅为 7 d 左右^[5],缺少强有力的证据支持 MSCs 可以分化为 IPCs。动物实验证实, MSCs 可改善 T2DM 动物胰岛素抵抗^[6], MSCs 抑制 CD4⁺T 细胞向辅助性 T 细胞(Th)1 及 Th17 分化,促进其向 Th2 分化,促进调节性 T 细胞复制,同时抑制 CD8⁺T 细胞的复制,减少促炎因子分泌,增加抗炎因子的分泌;此外, MSCs 可抑制 β 细胞活化,减少抗体生成,改善胰岛 β 细胞功能^[4],证实 MSCs 在糖尿病的治疗上有一定的潜力。

尽管更多的临床前证据是基于骨髓来源的 MSCs(BM-MSCs),但脐带来源的 MSCs(UC-MSCs)表现出多种优势:(1) BM-MSCs 的收集是从抽吸的骨髓中分离,这类侵入性操作存在不适及感染等问题;(2) UC-MSCs 从废弃的脐带中获取,无伦理问题;(3) 由于组织源性的不同, UC-MSCs 较 BM-MSCs 有更佳的体外增殖能力^[7],在细胞生产方面存在优势;(4) 体外扩增的 UC-MSCs 似乎有更小异质性^[8],这使得 UC-MSCs 在不同的批次间的疗效更稳定。在比较 BM-MSCs 和 UC-MSCs 用于治疗 T1DM 的研究中, UC-MSCs 用于糖尿病治疗效果相对更好^[9]。因此, UC-MSCs 可能是治疗糖尿病更有应用价值的候选细胞。

(二) MSCs 治疗糖尿病存在的问题

已有多项的临床研究证实了不同细胞来源的 MSCs 治疗糖尿病的安全性及有效性,并取得了一定的临床疗效,但 MSCs 治疗糖尿病存在以下问题。

第一,由于 MSCs 的提取及实验室培养影响因素众多,批次间存在差异,在临床用量及治疗周期方面亦存在不统一的问题。因此制定更加详细的细胞鉴定标准非常关键,亦需临床研究比较不同输注频次及剂量的疗效差别,探索最佳输注方案。

第二, MSCs 治疗糖尿病的效果具有较大的异质性。根据治疗效果的不同,可将接受 MSCs 治疗的结果大体归纳为以下 3 种:(1) MSCs 治疗 T2DM 的效果相对较好,表现为血糖改善、胰岛素用量减少以及 C 肽水平升高,且在中长期的观察中具有持续的疗

效^[10-11];(2) 虽然 MSCs 输注后,受试者 3 个月内的 C 肽水平、胰岛素用量和 HbA_{1c} 得到改善,但 C 肽及 HbA_{1c} 在随后的观察中有再次上升的趋势,即 MSCs 治疗存在中长期失效问题^[11];(3) 在 T2DM 受试者输注 MSCs 后,受试者的 C 肽水平、HbA_{1c} 和胰岛素用量变化缺少统计学意义,即受试者对 MSCs 输注反应不佳^[12]。

(三) MSCs 治疗糖尿病的创新策略

延长 MSCs 的体内存活时间、提高其疗效、维持效能稳定是 MSCs 临床应用中亟待解决的问题。许多创新策略已经用于提升 MSCs 的治疗效果,如通过协同如吉西他滨等药物治疗^[13]、对 MSCs 缺氧或抗氧化预处理,以及对 MSCs 基因修饰等。这些方式可以提高 MSCs 的存活时间,并改善 MSCs 的抗炎能力。在一项使用慢病毒载体过表达胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 类似物 Exendin-4 的 MSCs 研究中,通过 GLP-1 受体的激活,延长了 MSCs 的存活时间,并抑制了 T2DM 小鼠的胰腺 β 细胞的衰老和凋亡^[14]。日前,我国学者研发的过表达 GLP-1、成纤维细胞生长因子 21 双因子的自体脂肪来源的 MSCs 治疗 T2DM 已获批临床。改造 MSCs 以提升治疗糖尿病的疗效仍大有可为。

另外, MSCs 来源的外泌体提供了新的治疗策略。外泌体相较于 MSCs 本身,具有以下优势。(1) 疗效更佳:外泌体可直接与靶细胞发生融合,并发挥生物学效应,作用效率更高。(2) 性质稳定:外泌体将分子封装在膜内,可保护其内活性成分免遭降解。(3) 生产及保存更方便:外泌体可在培养基内大量富集,并可在 -20 °C 下储存 6 个月,在 -80 °C 下可长期保存,且不会损失其活性。(4) 外泌体的免疫原性和肿瘤形成的风险低。动物研究提示,与 BM-MSCs 移植相比, BM-MSCs 来源的外泌体注射至 T1DM 模型大鼠后的 4 周,胰岛素分泌明显改善,胰岛细胞的炎症和纤维化明显减少^[15]。UC-MSCs 的外泌体静脉注射到 T2DM 模型大鼠中,可通过促进肌肉中葡萄糖转运蛋白 4 的表达和转运,并增加肝糖原的储存,以逆转胰岛素抵抗^[16]。MSCs 及外泌体用于治疗糖尿病及其并发症可能是干细胞应用于糖尿病治疗的发展方向。未来需要进一步的临床研究证明外泌体在人体应用的价值。

二、干细胞分化为 IPCs 治疗糖尿病

(一) 干细胞分化为 IPCs 的临床进展

既往研究证明,通过全胰腺或胰岛移植的 β 细胞替代是治疗糖尿病的有效策略,大部分患者可以实现长期脱离胰岛素,且可几乎完全避免低血糖风

险^[17]。然而胰腺及胰岛来源始终是困扰器官移植的难点问题。寻找其他安全有效地替代胰岛β细胞的方法一直是T1DM领域的研究目标。研究人员尝试使用各种方法将不同干细胞分化成IPCs,并取得了瞩目的成绩。目前已经可以利用胚胎干细胞和诱导多能干细胞,经5步至7步化学法诱导,在每一步中使用2至6个分化信号的组合,重演了胚胎时期干细胞的主要路径,分化为胰腺祖细胞,最终分化为成熟的IPCs。

目前已有数项利用衍生IPCs的临床及临床前研究正在进行。Vertex公司生产的胚胎干细胞来源的胰岛细胞——VX-880走在了临床研究的最前列。随访第270天,经肝门静脉输注的干细胞诱导分化的VX-880细胞,可使C肽测不出、病程超过40年的T1DM男性受试者的HbA_{1c}从基线时的8.6%降至5.2%;葡萄糖目标范围内时间(time in range, TIR)从基线时的40.1%,增加至99.9%,并且不再需要外源性胰岛素^[18]。2023年,美国糖尿病协会科学会议公布了接受VX-880治疗的另外5名受试者的数据。这些受试者的临床疗效良好且具有一致性;总体耐受性良好,无治疗相关的严重不良事件。接受干细胞诱导分化的胰岛细胞的T1DM受试者实现了阶段性的功能治愈。长期的疗效以及安全性仍需进一步观察。

国内的相关临床及临床前研究亦取得优异进展。Du等^[19]以4只T1DM恒河猴模型作为实验对象,行经肝门静脉移植干细胞来源的IPCs的临床前研究。结果显示,所有受试动物均表现出空腹血糖下降,餐后C肽在移植后第8周由造模后的0.09 ng/ml升至0.37 ng/ml,外源性胰岛素用量平均减少49%,HbA_{1c}由移植前的7.2%下降到移植3个月后的5.4%。安全性方面,1只模型猴在移植后第176天出现淋巴组织增生性疾病,并在移植后第180天处以安乐死;1只模型猴在移植后第101天因结肠大量出血死亡。并发症考虑与免疫抑制剂的大量应用有关。天津市第一中心医院的沈中阳教授团队已于近期开展了首例自体多能干细胞分化的IPCs移植手术(中国临床试验注册号:ChiCTR2300072200),首位受试者的空腹C肽水平由术前无法测出增加至术后0.31 ng/ml;在术后的第10天,每日胰岛素需求量降至移植前的一半^[20]。

(二) 干细胞诱导分化IPCs临床应用的挑战

多能干细胞诱导分化IPCs初步临床结果预示了干细胞来源的IPCs在治疗T1DM的巨大前景。

然而,仍面对几大挑战亟待解决。

第一,目前的IPCs的体内存活仍需免疫抑制剂药物。考虑到这类药物免疫抑制的潜在副作用可能超过改善血糖控制的好处,就目前的干细胞来源IPCs疗法而言,其适应证仍然为具有严重复发性低血糖的T1DM患者,并不能简单地扩展到一般性的T1DM患者。预计在未来2~3年内,将有IPCs相关的临床研究在国内开展,届时研究者应严格把控受试者的适应人群。在免疫抑制方案没有根本性改变前,干细胞来源的IPCs治疗仍然考虑为T1DM终末期治疗手段,而非首选手段。研究者目前正采取几种策略,避免全身性应用免疫抑制剂,并保护IPCs免受自身免疫攻击。如采用封装或微囊化策略,在保证移植细胞周围快速新生血管的同时,阻止免疫细胞渗入装置;对干细胞进行基因改造,如删除人类白细胞抗原、过表达细胞程序性死亡-配体1、过表达白细胞介素10等策略,以诱导移植耐受并避免衍生的β细胞特异性破坏。

第二,移植后短期炎症可使移植胰岛丢失25%。为提升移植的效率,优化移植部位可减轻与移植手术后立即出现的缺氧和炎症,并改善移植后的营养供应。在传统的肝门静脉移植基础上,已经开发出肌肉内移植、大网膜移植、皮下移植等方案。最近Liang等^[21]在非人类灵长类动物实验中,腹直肌鞘下移植IPCs证明比在传统的肝门静脉、肌肉内或皮下移植的细胞存活率更高。另外,移植的IPCs微环境,包括内皮细胞及胰岛基底膜等的重建仍需一定的时间。因此探究移植后缩短成熟时间的方案,如探索移植后饮食诱导方案、分化诱导剂的在体应用等可能是有益的临床课题。

第三,尽管短期内未观察到严重不良事件,仍必须对干细胞来源的IPCs的安全性问题保持警惕。长期的免疫抑制也会增加感染及肿瘤的风险。当前诱导分化方案生成的IPCs的分化步骤中存在不需要的细胞副产物,如异常分化为肠嗜铬细胞的存在^[19, 22]。对分化方法的进一步改进可以帮助消除诱导分化IPCs临床产品中异常细胞的出现。利用流式细胞术和单细胞测序技术对最终IPCs产品进行鉴定是可行的策略,以确保问题细胞不会移植到受试者体内。

第四,干细胞重编程和定向分化为IPCs的成本高昂。预计干细胞诱导分化来源的IPCs的单次治疗定价将低于嵌合抗原受体T细胞免疫疗法,但仍价格不菲。因此探索如利用自体MSCs、肝细胞,

以及胃干细胞等作为新型干细胞来源、开发无免疫抑制药物的移植方案等,有利于降低成本,增加干细胞疗法的可及性。

三、结语

干细胞疗法在近年来取得了诸多突破性进展和鼓舞人心的成果,干细胞治疗糖尿病的理念正在由“修补式”向“治愈式”转变,并由梦想逐步走向现实。目前干细胞治疗糖尿病仍处于临床研究阶段,并且仍然存在诸多问题和挑战,如高成本、免疫排斥、疗效的异质性以及安全性等。这些问题正在逐一被解决。预计在未来 5 至 10 年内,干细胞治疗糖尿病会真正步入临床,并改变糖尿病的治疗格局。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

- [1] Li Y, Teng D, Shi X, et al. Prevalence of diabetes recorded in mainland China using 2018 diagnostic criteria from the American Diabetes Association: national cross sectional study[J]. *BMJ*, 2020, 369: m997. DOI: 10.1136/bmj.m997.
- [2] Schwartz SS, Epstein S, Corkey BE, et al. The time is right for a new classification system for diabetes: rationale and implications of the β -cell-centric classification schema[J]. *Diabetes Care*, 2016, 39(2): 179-186. DOI: 10.2337/dc15-1585.
- [3] Yin Y, Hao H, 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. DOI: 10.1038/s41419-018-0801-9.
- [4] Ezquer F, Ezquer M, Contador D, et al. The antidiabetic effect of mesenchymal stem cells is unrelated to their transdifferentiation potential but to their capability to restore Th1/Th2 balance and to modify the pancreatic microenvironment[J]. *Stem Cells*, 2012, 30(8): 1664-1674. DOI: 10.1002/stem.1132.
- [5] Thakkar UG, Trivedi HL, Vanikar AV, et al. Insulin-secreting adipose-derived mesenchymal stromal cells with bone marrow-derived hematopoietic stem cells from autologous and allogenic sources for type 1 diabetes mellitus[J]. *Cytotherapy*, 2015, 17(7): 940-947. DOI: 10.1016/j.jcyt.2015.03.608.
- [6] Si Y, Zhao Y, Hao H, et al. Infusion of mesenchymal stem cells ameliorates hyperglycemia in type 2 diabetic rats: identification of a novel role in improving insulin sensitivity[J]. *Diabetes*, 2012, 61(6): 1616-1625. DOI: 10.2337/db11-1141.
- [7] Kern S, Eichler H, Stoeve J, et al. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue[J]. *Stem Cells*, 2006, 24(5): 1294-1301. DOI: 10.1634/stemcells.2005-0342.
- [8] Huang Y, Li Q, Zhang K, et al. Single cell transcriptomic analysis of human mesenchymal stem cells reveals limited heterogeneity[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(5): 368. DOI: 10.1038/s41419-019-1583-4.
- [9] Zhang W, Ling Q, Wang B, et al. Comparison of therapeutic effects of mesenchymal stem cells from umbilical cord and bone marrow in the treatment of type 1 diabetes[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 406. DOI: 10.1186/s13287-022-02974-1.
- [10] Liu X, Zheng P, Wang X, 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. DOI: 10.1186/scrt446.
- [11] Guan LX, Guan H, Li HB, et al. Therapeutic efficacy of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in patients with type 2 diabetes[J]. *Exp Ther Med*, 2015, 9(5): 1623-1630. DOI: 10.3892/etm.2015.2339.
- [12] Kong D, Zhuang X, Wang D, 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. DOI: 10.7754/clin.lab.2014.140305.
- [13] Xue J, Cheng Y, Hao H, et al. Low-dose decitabine assists human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in protecting β cells via the modulation of the macrophage phenotype in type 2 diabetic mice[J]. *Stem Cells Int*, 2020, 2020: 4689798. DOI: 10.1155/2020/4689798.
- [14] Zhang Y, Gao S, Liang K, et al. Exendin-4 gene modification and microscaffold encapsulation promote self-persistence and antidiabetic activity of MSCs[J]. *Sci Adv*, 2021, 7(27): eabi4379. DOI: 10.1126/sciadv.abi4379.
- [15] Sabry D, Marzouk S, Zakaria R, et al. The effect of exosomes derived from mesenchymal stem cells in the treatment of induced type 1 diabetes mellitus in rats[J]. *Biotechnol Lett*, 2020, 42(8): 1597-1610. DOI: 10.1007/s10529-020-02908-y.
- [16] Sun Y, Shi H, Yin S, et al. Human mesenchymal stem cell derived exosomes alleviate type 2 diabetes mellitus by reversing peripheral insulin resistance and relieving β -cell destruction[J]. *ACS Nano*, 2018, 12(8): 7613-7628. DOI: 10.1021/acsnano.7b07643.
- [17] Marfil-Garza BA, Imes S, Verhoeff K, et al. Pancreatic islet transplantation in type 1 diabetes: 20-year experience from a single-centre cohort in Canada[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2022, 10(7): 519-532. DOI: 10.1016/S2213-8587(22)00114-0.
- [18] Cheah YS. Islet cell transplantation[J]. *Br J Diabetes*, 2022, 22 Suppl 1: S48-S51. DOI: 10.15277/bjd.2022.364.
- [19] Du Y, Liang Z, Wang S, et al. Human pluripotent stem-cell-derived islets ameliorate diabetes in non-human primates[J]. *Nat Med*, 2022, 28(2): 272-282. DOI: 10.1038/s41591-021-01645-7.
- [20] 天津市第一中心医院. 聚焦临床 | 天津市第一中心医院联合北京大学干细胞中心获重大临床突破!成功完成国际首例 CiPSC 诱导的胰岛细胞移植 [EB/OL]. 2023-07-06[2023-07-10]. <https://mp.weixin.qq.com/s/-RDkdr-l9wU9FbBQ8Sz-pQ>.
- [21] Liang Z, Sun D, Lu S, et al. Implantation underneath the abdominal anterior rectus sheath enables effective and functional engraftment of stem-cell-derived islets[J]. *Nat Metab*, 2023, 5(1): 29-40. DOI: 10.1038/s42255-022-00713-7.
- [22] Veres A, Faust AL, Bushnell HL, et al. Charting cellular identity during human in vitro β -cell differentiation[J]. *Nature*, 2019, 569(7756): 368-373. DOI: 10.1038/s41586-019-1168-5.