

• 病例报告 •

转基因脐带间充质干细胞移植治疗类风湿关节炎一例

王秦 马丽辉 李军霞 张少然 陈俊伟 李芳 薛丽巾 白洁 李小峰

患者女,43 岁,主因“双手指关节反复肿痛 7 年,加重 2 周”于 2010 年 4 月到我院就诊。患者 7 年前无明显诱因出现双手小关节肿胀,疼痛,就诊于我院风湿科,实验室检查:类风湿因子(RF) 1:80 U/ml,双手 X 线提示双手指骨端骨质疏松,依据美国风湿病学会(ACR) 1997 年修订的类风湿关节炎(rheumatoid arthritis,RA)分类标准诊断为“RA”,予口服非甾体抗炎药(NAISDs)、帕夫林,来氟米特等药物,症状缓解。用药 3 个月后生化提示肝功能损坏(丙氨酸转氨酶>200 U/L,总胆红素 27 μmol/L),停用上述药物 1 个月后肝功能恢复正常,之后关节肿痛反复发作,换用甲氨蝶呤,羟氯喹等免疫抑制剂,均于用药 3~6 个月左右出现肝功能损坏等不良反应而停用,近 1 年因病情反复换用吗替麦考酚酯(骁悉)胶囊,临床症状控制不满意,近 2 周双手指关节疼痛明显,因患者对免疫抑制剂的治疗不能耐受,经患者同意后住院拟行间充质干细胞移植治疗。入院后实验室检查:RF 320 U/ml、抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体 587.6 RU/ml,抗核抗体、抗核周因子(APF)、抗角蛋白抗体(AKA)均为阴性,T 细胞亚群检测显示 CD34⁺CD19⁺ 66%,CD34⁺CD19⁺ 21%,CD3⁺CD4⁺ 34%,CD3⁺CD8⁺ 24%,RA 患者疾病活动(DSA28)评分 3.65。本研究程序符合本单位伦理委员会所制定的伦理学标准,并得到该委员会的批准,取得患者的知情同意。转基因脐带间充质干细胞(MSCs)由深圳北科生物有限公司提供,要求干细胞终制品有核细胞存活率必须大于 97%,MSCs 表型鉴定显示细胞表面表型 CD45 阴性,CD105、CD44、CD29 阳性,CD71 弱阳性。

移植方案:MSCs 移植,每周静脉滴注 1 次,连续 4 周,移植细胞数 1×10⁶/kg 体质量。移植前 MSC 用 0.25%胰蛋白酶消化,反复洗涤后加入 5%人体白蛋白溶液中静脉回输。移植后随访时间为 15 个月,对移植前后患者临床表现改善情况和实验室检查如血清 RF、抗 CCP 抗体、APF、AKA、免疫功能等指标进行比较以及移植相关并发症等方面进行评价。

MSCs 治疗 4 周后患者自觉关节症状明显改善,移植后 3 个月血清抗体较移植前明显降低。RF 80 U/ml、抗 CCP 抗体 102.6 RU/ml,CD34⁺CD19⁺ 58%,CD34⁺CD19⁺ 13%,CD3⁺CD4⁺ 25%,CD3⁺CD8⁺ 30%,移植后 6 个月患者再次出现左手掌指第 2 关节的单关节肿痛,RF 40 U/ml、抗 CCP 抗体 58.6 RU/ml,

移植后 9 个月 RF 106 U/ml、抗 CCP 抗体 69.5 RU/ml,CD34⁺CD19⁺ 47% CD34⁺CD19⁺ 45% CD3⁺CD4⁺ 26% CD3⁺CD8⁺ 19%。血清抗体水平较前升高,加用来氟米特及 NAISDs 等药,再度出现肝功能异常,移植后 14 个月 RF 40 U/ml、抗 CCP 抗体 98.5 RU/ml,CD34⁺CD19⁺ 82%,CD34⁺CD19⁺ 6%,CD3⁺CD4⁺ 61%,CD3⁺CD8⁺ 3%,目前换用重组人肿瘤坏死因子受体融合蛋白(商品名:益赛普)治疗,病情稳定。

MSC 移植并发症:该例患者移植输注转基因 MSC 过程中及随访中未见不良反应发生。

讨论 RA 是一种高度致残性自身免疫性疾病,临床特征为对称性多关节炎,病理改变为滑膜炎、软骨及骨破坏,最终导致关节畸形。目前国际公认的 RA 的最佳治疗策略是早期联合使用改善病情的抗风湿药物,这些联合方案使 RA 患者的致残率有所下降,但其临床缓解率仅能达到 40%~70%。近年的研究发现 MSCs 具有免疫调节作用,这为调节 RA 患者机体免疫紊乱,以及修复受损的关节带来了新的希望^[1]。MSCs 存在于骨髓中的一类干细胞,能分化为分泌多种细胞因子、黏附分子的骨髓基质细胞,支持造血和调节免疫功能且无免疫原性。体内外研究均表明 MSCs 具有诱导免疫耐受和免疫调节的作用、抑制 T 细胞增殖、治疗移植宿主病(GVHD)等。同时 MSCs 具有趋化特性,可以阻止炎性介质的释放,减轻炎症反应,降低组织损伤,有利于阻止病情进展^[2]。

研究表明 MSC 功能异常在 RA 致病因素中占重要地位。Watanabe 等^[3]提出类风湿样滑膜纤维母细胞(RSFs)存在于 RA 患者关节滑膜中,由 MSC 分化而来。具有肿瘤样生长方式。Papadaki 等^[4]研究发现 RA 患者与健康人相比 CD34⁺细胞的数量减少,且凋亡的细胞数量增多,单核细胞和纯化 CD34⁺细胞的克隆潜力存在缺陷,在长期骨髓培养后的骨髓祖细胞重建的很少。患者的长期骨髓培养后形成的基质层不能支持正常的造血,并且产生大量的肿瘤坏死因子(TNF)-α。长期骨髓培养上清中 TNF-α 水平与 CD34⁺细胞及集落形成细胞的数量成反比,与 CD34⁺细胞的凋亡数量成正比。

我们前期对胶原诱导关节炎(collagen induced arthritis, CIA)模型及 RA 的研究中,也证实间质干细胞移植治疗胶原关节炎大鼠均无并发症,关节炎评分及关节病理有明显改善,检测 T 细胞亚群 Th17 及调节性 T 细胞均提示有免疫调控作用,其疗效肯定。进一步提示 MSCs 能调节 RA 患者机体免疫紊乱,阻止病情进展^[5]。因此在用转基因脐带 MSC 移植治疗胶原关节炎大鼠(CIA)有效的基础上,尝试用转基因 MSC 移植

DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1007-7480. 2012. 05. 018

作者单位:030001 太原,山西医科大学第一医院风湿免疫科(王秦);山西医科大学第二医院风湿免疫科(马丽辉、李军霞、陈俊伟、李芳、薛丽巾、白洁、李小峰);中华风湿病学杂志社(张少然)

通信作者:李小峰

治疗 RA, 其中 1 例患者为停用其他药物, 单独采用细胞移植治疗, 取得较好疗效。对淋巴细胞亚群的观察发现, 移植前后有一定的变化, 提示患者体内 T 细胞亚群在疾病的发生发展中可能有一定的作用, 但因病例数少, 还需继续观察。本研究目前为止未见明显不良反应的发生, 提示异体(异基因)MSC 移植是安全的。

异体脐带间质干细胞移植可治疗多种疾病, 其疗效肯定, 没有排斥反应, 不需要组织配型, 移植后不需要用抗排斥药物; 移植细胞来源丰富, 体外易大量培养扩增; 安全, 无明显不良反应, 此项新技术的全面开展, 将为 RA 及其他自身免疫病治疗提供新方法^[9], 为阐述 MSCs 在自身免疫性疾病发病中的作用及致病机制提供新的理论依据。

参考文献

- [1] Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood*, 2005, 105: 1815-1822.
- [2] Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, et al. Treatment of

severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet*, 2004, 363: 1439-1441.

- [3] Watanabe N, Ando K, Yoshida S, et al. Gene expression profile analysis of rheumatoid synovial fibroblast cultures revealing the overexpression of genes responsible for tumor-like growth of rheumatoid synovium. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 294: 1121-1129.
- [4] Papadaki HA, Kritikos HD, Gemtzi C, et al. Bone marrow progenitor cell reserve and function and stromal cell function are defective in rheumatoid arthritis: evidence for a tumor necrosis factor alpha-mediated effect. *Blood*, 2002, 99: 1610-1619.
- [5] Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood*, 2007, 110: 3499-506.
- [6] Ikehara S. Bone marrow transplantation: a new strategy for intractable diseases. *Drugs Today (Barc)*, 2002, 38: 103-111.

(收稿日期: 2011-06-05)

(本文编辑: 张军锋)

神经性肌强直一例

霍静 张永锋 郑毅

患者女, 62 岁。主因“四肢肌肉疼痛, 吞难困难 1 个月, 加重伴饮水呛咳 1 周”于 2010 年 11 月入院。入院前 1 个月无明显诱因出现四肢肌肉疼痛, 两侧对称, 屈侧明显, 双手手指不能伸直, 双腕关节活动障碍, 抬臂无受限, 伴吞咽困难, 肌酸肌酶 902 U/L。入院前 1 周上述症状加重, 并出现发音困难, 饮水呛咳, 憋气, 双侧手指、肘关节、双足足趾不能伸直, 无关节肿胀, 伴大汗。复查肌酸激酶 877 U/L。为进一步诊治以“肌酶升高”收入我院。查体: 体温 36.7 °C, 血压 120/70 mm Hg (1 mm Hg=0.133 kPa), 脉搏 90 次/min, 呼吸 18 次/min。神志清楚, 构音障碍, 双侧瞳孔等大等圆, 直径 3 mm, 光反射灵敏, 双眼动充分, 无眼震。双侧面纹对称, 伸舌居中。四肢近端肌力 V 级, 远端 IV 级, 四肢远端肌张力高。双侧腱反射减弱, 双侧病理征未引出。双侧肢体针刺觉对称, 双侧指鼻试验稳准, 双侧跟膝胫试验欠合作。颈无抵抗。双侧手指、肘关节屈曲, 双足足趾不能伸直, 双腕、双踝关节僵直, 各关节区无红肿、压痛。双肺呼吸音清, 未闻及干湿性啰音, 心律齐, 腹软, 全腹无压痛反跳痛。辅助检查: IgG: 20 100 mg/L; IgA、IgM 均正常; 抗核抗体、抗双链 DNA(dsDNA)抗体均阴性; 类风湿因子(RF)阴性, 抗角蛋白抗体(AKA), 抗核周因子(APF), 抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体均阴性; 双手正位(含腕关节)片: 左侧第

3~4 远侧指间关节及右手第 2 近侧指间关节伸展不良, 考虑肌肉病变所致, 双手部分指骨及右侧第 1 掌骨远端轻度骨质增生; 头 CT: 老年性脑改变。肌电图见纤颤波及正锐波。本患者入院后逐渐出现呼吸困难加重, 复查肌酸激酶 223 U/L, 完善肺 CT、心脏彩色多普勒超声、心电图均不支持肺部疾病及心功能障碍, 故呼吸困难不考虑为肺脏、心脏病变所致, 未给予特殊治疗, 肌酶自行下降, 呼吸困难无缓解。结合手部挛缩样改变及 X 线表现, 考虑其呼吸困难、吞咽和发音困难、关节挛缩可能为神经病变导致的肌肉改变。神经内科会诊诊断神经性肌强直明确。予地塞米松 15 mg/d 静脉滴注 10 d, 后减量至停药。同时予卡马西平、巴氯芬、维生素 B₁、维生素 B₁₂ 治疗。患者症状逐渐好转, 肌酸激酶恢复正常。6 个月后患者发音困难、饮水呛咳、憋气, 均完全缓解。四肢肌强直较前明显缓解。

讨论 神经性肌强直是一种由周围神经病变引起的自发性连续性肌肉活动综合征。1961 年首先由 Isaacs 报道, 故又称 Isaacs 综合征。本病诊断主要依靠临床表现和肌电图, 其特征包括^[1-3]: ①任何年龄均可发病, 多发于 20 岁左右, 男性多见, 病程数月至数年, 少数有家族遗传史; ②持续性的肌束震颤和肌僵硬, 静息和睡眠状态不缓解, 伴有疼痛, 股部、小腿、肩部肌肉最易累及, 有时出现手足畸形, 波及延髓支配的肌肉时, 出现咀嚼、吞咽、发音困难, 亦可累及胸肌、呼吸肌出现呼吸困难、肺活量下降; ③随意运动后肌松弛困难, 腱反射可因

DOI: 10.3760/ema.j.issn.1007-7480.2012.05.019

作者单位: 100020 首都医科大学附属北京朝阳医院风湿免疫科
通信作者: 郑毅, Email: zzyy90@sina.com