

# 脐血单个核细胞经静脉途径治疗 终末期心力衰竭的研究

高东学, 刘艳华, 王硕

**摘要:**目的 评价脐血单个核细胞经静脉途径治疗心力衰竭的安全性和有效性。方法 选择慢性终末期心力衰竭患者 21 例, 心功能分级(NYHA)Ⅳ级。行脐血单个核细胞经静脉途径治疗, 观察治疗前、治疗后 1、3 及 6 个月心功能、血浆 N 末端钠尿肽前体(NT-proBNP)、LVEF、左心室舒张末期内径(LVEDD)等指标。结果 21 例心力衰竭患者中, 20 例有效, 1 例无效, 30d 内死亡。心力衰竭患者治疗后 1、3 个月心功能Ⅱ、Ⅲ级比例较治疗前明显升高(90.5%, 95.2% vs 0%,  $P < 0.05$ ), NT-proBNP 水平较治疗前明显降低[(3045.3±103.8)ng/L, (3367.5±111.4)ng/L vs (5312.1±121.9)ng/L,  $P < 0.05$ ]。结论 脐血单个核细胞经静脉途径治疗终末期心力衰竭安全性高, 无明显副作用, 在一定时期内可改善心功能、缓解心力衰竭症状及提高患者生活质量。

**关键词:**胎血; 单核细胞; 心力衰竭; 干细胞移植

## Application of intravenous umbilical cord blood mononuclear cells in treatment of end stage heart failure

Gao Dongxue, Liu Yanhua, Wang Tian

(Department of Cardiology, Shandong Provincial Third Hospital, Jinnan 250031, Shandong Province, China)

**Abstract: Objective** To assess the safety and efficacy of intravenous umbilical cord blood mononuclear cells in treatment of end stage heart failure (HF). **Methods** Twenty-one end stage HF patients with cardiac function Ⅳ according to NYHA were treated with intravenous umbilical cord blood mononuclear cells. Their cardiac function was assessed, their NT-proBNP, LVEF, LVEDD were measured before and after treatment for 1 month, 3 months and 6 months. **Results** Umbilical cord blood mononuclear cells were effective for 20 patients and ineffective for 1 patient who died within 30 days after treatment. The rate of improved cardiac function Ⅱ and Ⅲ was significantly higher while the serum NT-proBNP level was significantly lower after treatment for 1 month and 3 months (90.5%, 95.2% vs 0%,  $P < 0.05$ ; 3045.3±103.8 ng/L, 3367.5±111.4 ng/L vs 5312.1±121.9 ng/L,  $P < 0.05$ ). **Conclusion** Intravenous umbilical cord blood mononuclear cells are safe for end stage HF patients, alleviate their symptoms, improve their cardiac function and quality of life with no significant side effect.

**Key words:** fetal blood; monocytes; heart failure; stem cell transplantation

终末期心力衰竭是指慢性心力衰竭的终末期, 优化常规药物治疗心力衰竭仍难以控制。随着人口老龄化, 终末期心力衰竭发病率不断增高, 成为心脏病患者死亡的主要原因<sup>[1]</sup>。目前药物治疗不能逆转坏死心肌, 心脏移植是唯一有效的方法, 因心脏供者的不足, 心脏移植在临床上很难得到广泛应用。为此人们把目光转向了细胞再生医学, 干细胞移植成

为心力衰竭一种新的治疗方法<sup>[2]</sup>。本研究采用脐血来源的单个核细胞经静脉途径治疗终末期心力衰竭, 评价其临床治疗效果。

### 1 资料与方法

**1.1 研究对象** 选择 2008 年 3 月~2011 年 4 月山东省立第三医院心内科住院的慢性终末期心力衰竭患者 21 例, 其中男性 13 例, 女性 8 例, 平均年龄(72.6±9.5)岁。缺血性心肌病 14 例, 老年退行性心脏瓣膜病 3 例, 药物性心肌病 2 例, 先天性心脏病

DOI: 10.3969/j.issn.1009-0126.2018.04.012

作者单位: 250031 济南, 山东省立第三医院心内科

通信作者: 刘艳华, Email: sdyxliuyanhua@163.com

1 例, 扩张型心肌病 1 例。入选标准: 心功能分级 (NYHA) IV 级; 患者经过优化心力衰竭药物治疗, 但心功能不全症状仍然未能控制者; 超声心动图检查提示, LVEF  $\leq 40\%$ ; 血浆 N 末端 B 型钠尿肽前体 (NT-proBNP)  $\geq 500$  ng/L。排除标准: 既往或当前肿瘤史或其他可能影响短期存活的致死性疾病; 活动性感染; 当时存在血流动力学不稳定和休克。研究方案经医院伦理委员会批准。

**1.2 方法** 基础药物治疗: 按照心力衰竭治疗指南给予血管紧张素转换酶抑制剂或血管紧张素受体拮抗剂、螺内酯、 $\beta$  受体阻滞剂、利尿剂。根据患者症状, 个体化给予正性肌力药物。缺血性心肌病可给予阿司匹林及他汀类药物。所需脐血单个核细胞由深圳北科公司山东省立第三医院细胞实验室负责培养及进行质量控制。制备成脐血单个核细胞悬浮注射液: 30 ml 细胞悬液 ( $2 \sim 5 \times 10^6$ /ml)。每例患者将在筛选和基线期 (0 d), 第 1 次细胞治疗前、第 2 次细胞治疗前、第 3 次细胞治疗前、第 4 次细胞治疗前, 第 4 次细胞治疗后 1 周, 3、6 个月进行随访, 记录观察结果和不良事件。接受 2~4 次的脐血单个核细胞治疗, 每次治疗间隔 7 d。用药期间密切观察用药反应。为保障患者在试验期间得到安全有效的治疗, 均给予优化抗心力衰竭药物, 直至试验结束。

### 1.3 评价指标

**1.3.1 安全性评价** 患者符合下列任何一项或以上者, 均应该中止或退出研究: (1) 经静脉脐血单个核细胞治疗后 6 h 内, 出现已知原因不能解释的临床症状明显加重或恶化时, 应中止试验, 并进行适当处理, 退出病例纳入临床疗效评价, 计入无效; (2) 治疗期间及治疗后 6 h 内, 出现已知原因不能解释的下列情况: 严重低血压, 收缩压下降  $\geq 20$  mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa) 或收缩压  $< 90$  mm Hg; 恶性心律失常, 应中止试验; (3) 治疗期间及治疗后 6 h 内, 出现已知原因不能解释的发冷、发热 (体温  $\geq 39^\circ\text{C}$ )、皮疹、头痛、腰痛等症状者, 应中止试验; (4) 出现严重不良事件应中止试验; (5) 细胞治疗后实验室检查与治疗前比较有明显异常, 应中止试验。

**1.3.2 有效性评价** 主要终点: 研究主要终点是比较试验开始前 (基线 0 d) 与开始后 (35  $\pm$  3) d、(90  $\pm$  3) d 及 (180  $\pm$  3) d 心功能变化及临床症状。按照心功能分级标准对患者心功能分级。次要终点: 所有患者在试验开始前及开始后 (35  $\pm$  3) d、(90  $\pm$  3) d 及 (180  $\pm$  3) d 进行 ELISA 法测定血浆 NT-proBNP, 由资深的心脏彩色超声诊断医师测量 LVEF 和左心室舒张末期内径 (LVEDD)。

**1.4 统计学方法** 采用 SPSS 16.0 统计软件, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用配对 *t* 检验, 计数资料采用百分率表示,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 心力衰竭患者治疗前后心功能分级变化** 21 例心力衰竭患者中, 20 例有效, 1 例无效, 30 d 内死亡。治疗后 1 个月心功能 II 级 11 例, III 级 8 例, IV 级 1 例; 治疗后 3 个月心功能 II 级 14 例, III 级 6 例; 治疗后 6 个月心功能 II 级 2 例, III 级 6 例, IV 级 12 例。心力衰竭患者治疗后 1、3 个月心功能 II、III 级比例较治疗前明显升高 (90.5%, 95.2% vs 0%,  $P < 0.05$ )。细胞治疗后利尿剂未加量情况下尿量明显增加, 1 例 24 h 内尿量为 6000 ml, 随后患者心功能逐渐改善, 症状缓解。

**2.2 心力衰竭患者治疗前后心功能各指标比较** 心力衰竭患者治疗前与治疗后 1、3、6 个月 LVEF 和 LVEDD 比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。心力衰竭患者治疗后 1、3 个月 NT-proBNP 水平较治疗前明显降低 ( $P < 0.05$ ), 6 个月 NT-proBNP 水平已基本恢复, 与治疗前比较无统计学差异 ( $P > 0.05$ , 表 1)。

表 1 心力衰竭患者治疗前后心功能指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 项目   | LVEF (%)       | LVEDD (mm)     | NT-proBNP (ng/L)                |
|------|----------------|----------------|---------------------------------|
| 治疗前  | 34.3 $\pm$ 2.1 | 68.2 $\pm$ 5.5 | 5312.1 $\pm$ 121.9              |
| 治疗后  |                |                |                                 |
| 1 个月 | 36.7 $\pm$ 3.4 | 65.9 $\pm$ 4.5 | 3045.3 $\pm$ 103.8 <sup>a</sup> |
| 3 个月 | 35.6 $\pm$ 3.3 | 63.1 $\pm$ 5.6 | 3367.5 $\pm$ 111.4 <sup>a</sup> |
| 6 个月 | 37.4 $\pm$ 1.5 | 67.2 $\pm$ 3.7 | 5067.4 $\pm$ 127.4              |

注: 与治疗前比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$

**2.3 不良反应** 2 例患者出现发热, 体温  $\leq 38^\circ\text{C}$ , 给予物理降温, 6 h 内恢复正常。所有患者无其他不良反应。

## 3 讨论

终末期心力衰竭经常规休息, 限制水钠摄入, 给予利尿剂、强心剂和扩血管治疗后, 心力衰竭仍难以控制者, 甚至有进展者, 往往需要反复或长时间住院治疗。最近国外研究提示, 同种异体间充质干细胞治疗缺血性心力衰竭能改善左心室收缩功能, 提高患者生活质量, 且与自体间充质干细胞相比, 无严重不良反应, 安全有效<sup>[3]</sup>。脐血单个核细胞可以经济便捷地从人体脐带血中分离出来, 并且它富含多种干细胞, 比如造血干细胞、内皮干细胞、淋巴母细胞、小胚胎干细胞、白细胞、内皮细胞、淋巴细胞和骨髓

细胞<sup>[4]</sup>。干细胞移植治疗缺血性心脏病相关研究主要干细胞来源为骨髓干细胞,已经进入临床研究阶段<sup>[5]</sup>。临床研究如 STIM 和 SWISS 急性心肌梗死等试验均显示,自体来源的骨髓间充质干细胞经冠状动脉注入治疗急性心肌梗死患者,可明显改善患者 LVEF<sup>[6]</sup>。这种作用在重度心功能不全患者更加明显。但以上研究均为冠状动脉内注射或心肌内注射骨髓间充质干细胞。费用高、危险性大,患者不易接受。异体干细胞移植免疫原性存在争议,自体干细胞移植不存在免疫原性的问题,因此现阶段研究基本都采用自体干细胞移植。

脐血干细胞具有来源丰富,免疫原性低,可以直接用于异体移植,对供者没有伤害,移植后抗宿主病发生率低等优点<sup>[7]</sup>。一些研究证实了脐血来源的单个核细胞有修复受损心肌细胞的作用<sup>[8]</sup>。Cayla 等<sup>[9]</sup>研究证明,脐血来源的间充质干细胞具有同骨髓来源的骨髓间充质干细胞相类似的生物学特性。

因此,我们尝试经静脉途径给予脐血单个核细胞治疗终末期心力衰竭。虽然经静脉移植还存在争议,但已经有改善心脏功能和症状的益处报道。我们观察患者治疗后尿量增加,症状改善,且无毒副作用发生,提示经静脉移植安全有效。虽然 LVEF 有所增加,但是差异无统计学意义。

我们观察 21 例患者中,20 例心功能明显改善,症状明显缓解,可维持 2~3 个月。主要表现为利尿剂恢复敏感性,尿量明显增加,尤其是细胞治疗后 3~4 d 内,利尿剂用量明显减少。患者活动耐量增加,3 个月后,疗效逐渐消失。LVEDD 治疗后有改善趋势,但差异无统计学意义,提示细胞治疗不能改善左心室重构。1 例扩张型心肌病无效,30 d 内死亡。但例数少,无法进行统计学分析。据我们观察,心力衰竭所致疾病类型对干细胞治疗反应性差异较大。药物性心肌病反应最敏感,心功能改善明显,其次为结构性心脏病,缺血性心肌病反应略差,扩张型心肌病几乎无效。

干细胞移植治疗心功能不全机制目前不完全清楚,很多学者认为,干细胞移植治疗缺血性心脏病是干细胞移植进入梗死心肌后,通过分化为心肌细胞、内皮细胞形成血管来提高心脏功能,防止心室重构,并称为细胞替代机制。我们分析,应该以干细胞分泌各种细胞因子及增加心肌毛细血管数量有关,因为患者 2~3 个月内疗效最好,以后作用逐渐消失,故干细胞通过其归巢性增加心肌细胞数量,改善心功能机制不能解释临床变化。这与何志裕和陆东风<sup>[10]</sup>的研究结论一致。

对疾病类型反应差异我们猜测主要为患者本身心肌细胞数量有关,如对扩张型心肌病效果较差,对药物性心肌病效果明显,可能扩张型心肌病病因主要为心肌细胞凋亡,心肌间质纤维化较重。而药物性心肌病可能主要为心肌细胞代谢异常,细胞凋亡不严重。干细胞分泌因子主要对改善心肌细胞代谢起作用,对纤维组织则不起作用。以上仅根据有限的病例推测,需要大量病例及动物实验证实。

参考文献

[1] von Haehling S. Co-morbidities in heart failure beginning to sprout-and no end in sight[J]? Eur J Heart Fail, 2017, 19 (12):1566-1568. DOI:10.1002/ehf.1098.

[2] 魏瑾. 干细胞移植有望治疗扩张型心肌病[J]? 临床心血管病杂志, 2013, 29 (2): 81-82. DOI: 10.13201/j.issn.1001-1439.2013.02.001.

[3] Perin EC, Borow KM, Silva GV, et al. A phase II dose-escalation study of allogeneic mesenchymal precursor cells in patients with ischemic or nonischemic heart failure[J]. Circ Res, 2015, 117 (6): 576-584. DOI: 10.1161/CIRCRESA-HA.115.306332.

[4] 陈超, 段婧, 申爱芳, 等. 脐带血单个核细胞对大鼠帕金森病的治疗效果观察[J]. 中华细胞与干细胞杂志电子版, 2017, 7 (2):71-76. DOI:10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2017.02.002.

[5] Subraja K, Dkhar SA, Priyadharsini R, et al. Genetic polymorphisms of CYP2C19 influences the response to clopidogrel in ischemic heart disease patients in the South Indian Tamilian population[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2013, 69(3):415-422. DOI:10.1007/s00228-012-1381-8.

[6] Krampera M, Galipeau J, Shi Y, et al. Immunological characterization of multipotent mesenchymal stromal cells--The International Society for Cellular Therapy (ISCT) working proposal[J]. Cytotherapy, 2013, 15 (9): 1054-1061. DOI: 10.1016/j.jcyt.2013.02.010.

[7] 陈琳, 谢小燕, 聂纪芹, 等. 脐血单个核细胞体外诱导分化为粒系细胞的研究[J]. 中华血液学杂志, 2017, 38(6):532-536. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.06.013.

[8] Ye L, Zhang S, Greder L, et al. Effective cardiac myocyte differentiation of human induced pluripotent stem cells requires VEGF[J]. PLoS One, 2013, 8(1): e53764. DOI:10.1371/journal.pone.0053764.

[9] Cayla G, Hulot JS, O'connor SA, et al. Clinical, angiographic, and genetic factors associated with early coronary stent thrombosis[J]. JAMA, 2011, 306(16):1765-1774. DOI:10.1001/jama.2011.1529.

[10] 何志裕, 陆东风. 急性心肌梗死大鼠移植入人脐带血间充质干细胞后心肌组织检测[J]. 血栓与止血学, 2015, 21(5):262-265. DOI:10.3969/j.issn.1009-6213.2015.05.002.

(收稿日期:2017-11-27)

(本文编辑:马卫东)