

· 综 述 ·

胰岛移植治疗糖尿病的现状和进展

彭丹凤, 贾伟平

(上海交通大学附属上海市第六人民医院内分泌代谢科, 上海市糖尿病研究所, 上海市糖尿病临床医学中心, 上海 200233)

【摘 要】胰岛移植是治疗糖尿病尤其是 1 型糖尿病的一种简单有效的方法, 相较于胰腺移植, 它较为简单和方便, 但存在组织来源匮乏和免疫移植排斥等障碍。新的胰岛分离纯化方法提高了供移植的胰岛的纯度和活性。成体干细胞研究、异种移植研究, 有望解决移植的供源问题。Edmonton 方案在胰岛移植的临床应用中具有里程碑意义。新型的免疫抑制剂和免疫诱导剂的研究可以提高临床胰岛移植的成功率。

【关键词】胰岛移植; 糖尿病; 治疗

【中图分类号】 R587.1

【文献标识码】 A

【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2012.00222

Advances in pancreatic islet transplantation for the treatment of diabetes

PENG Danfeng, JIA Weiping

(Department of Endocrinology and Metabolism, Shanghai Diabetes Institute, Shanghai Clinical Center for Diabetes, Affiliated Sixth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China)

【Abstract】 Objective Pancreatic islet transplantation is effective in treating diabetes, especially in type 1 diabetes. It can provide diabetes management with good glycemic control and insulin independence. Compared to pancreas transplantation, islet transplantation is technically much simpler and safer. However, currently its clinical use is highly restricted by a series of influence factors, including lack of sufficient donor organs and the side effects of immunosuppressive therapy. With recent advances in methods of islet isolation and purification, we can get better donor organs. Deriving islet cells from other sources such as pigs, human pancreatic duct cells, fetal pancreatic stem cells, and embryonic stem cells will overcome shortage of donor organs. The use of the Edmonton protocol has been proved to be the key procedure of clinical islet transplantation. And study of new immunosuppressive drugs and immunomodulators can provide higher rate of success for clinical islet transplantation.

【Key words】 pancreatic islet transplantation; diabetes mellitus; therapy

糖尿病是一种由多基因遗传和环境因素共同作用造成的胰岛素分泌相对或绝对不足导致以慢性高血糖为主要表现的代谢疾病, 目前中国的糖尿病患者率高达 9.7%^[1]。相对于胰腺移植, 胰岛移植的手术创伤和风险小, 术后严重并发症发生率低。胰岛移植能够增加糖尿病患者体内胰岛素分泌细胞数量, 有效控制血糖, 减少和改善糖尿病的并发症, 甚至根治糖尿病; 同时能够避免由外源性胰岛素导致的低血糖和胰岛素抵抗。对于需要胰岛素终生治疗的 1 型糖尿病尤其意义重大。

1 胰岛移植的适应症

2005 年美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)临床胰岛移植协会制定了单纯胰岛

移植受者的筛选标准^[2]: (1) 1 型糖尿病; (2) 血清 C 肽刺激无反应 (C 肽 < 0.3ng/ml); (3) 需要强化糖尿病治疗 (血糖测定 ≥ 3 次/d, 注射胰岛素 ≥ 3 次/d, 或需装置胰岛素泵); (4) 近 3 年内发生 1 次以上严重低血糖事件。符合上述标准合并以下三项之一: (1) 低血糖性昏迷; (2) 显著的不稳定性高血糖^[3]; (3) 综合低血糖评分较高^[3]。排除标准: 糖化血红蛋白 > 10%; 存在增殖性视网膜病; 血压 > 160/100mmHg (1mmHg = 0.133kPa); 肾小球滤过率 (glomerular filtration rate, GFR) 女性 < 70ml/(min·1.73m²)、男性 < 80ml/(min·1.73m²); 大量蛋白尿病史; 血浆肾素活性 (plasma renin activity, PRA) > 20%; 严重的心脏疾病; 有妊娠要求 (女性受者); 对目前的治疗方法满意者。

收稿日期: 2012-05-25; 修回日期: 2012-08-22

通讯作者: 贾伟平, Tel: 021-24058924, E-mail: wpjia@yahoo.com

合并肾功能衰竭的 1 型糖尿病患者, 肾移植后需要接受免疫抑制治疗以维持移植肾功能, 适宜胰肾联合移植或肾移植后胰岛移植^[4]。Hathout 等^[5]认为已经接受免疫抑制治疗的儿童及存在低血糖、有生命危险的儿童糖尿病患者亦适合行胰岛移植。

2 胰岛供体的来源

2.1 同种异体移植

自 1974 年临床首例胰岛移植以来, 同种异体移植就是胰岛移植的主要方式。早期临床的供体为胚胎胰岛, 但近年来由于伦理学方面原因限制了其应用。目前, 临床胰岛移植供体主要来源于宣布脑死亡的患者或尸胰。1999 年加拿大 Alberta 大学提出了 Edmonton 方案, 使用该方案取得连续 7 例胰岛细胞移植的成功, 标志着胰岛移植进入了全新阶段^[6]。虽然有单个供源的胰岛移植获得成功的案例^[7], 但一般每个受体需要 2 个以上的供源, 而同种供体胰源有限, 故在一定程度上限制了同种异体移植的发展。

2.2 异种移植

由于猪胰岛素结构与人胰岛素最为相近, 猪的血糖调节与人类似, 获取简单方便, 因此异种胰岛移植研究多采用猪胰岛。动物实验证实猪胰岛移植能治疗哺乳动物的 1 型糖尿病^[7]。 α -1, 3-半乳糖苷转移酶基因敲除的新生猪的胰岛移植能明显降低移植后的急性排斥反应^[8], 但目前策略仍不能完全应对异种免疫排斥反应。此外, 猪内源性逆转录病毒被认为是异种移植的主要感染性障碍^[9], 如何排除这一风险尚需进一步研究。

2.3 干细胞移植

胰腺干细胞按照发育阶段不同可分为胚胎干细胞和成体干细胞。目前已有多项研究证实通过条件诱导培养或基因调控可将小鼠胚胎干细胞^[10,11]和人胚胎干细胞^[12,13]诱导分化为胰岛素分泌细胞。然而, 胚胎干细胞来源的胰岛素分泌细胞存在致瘤风险^[14], 且有分化细胞类型不纯、胰岛素分泌水平低、排斥反应强等缺点, 同时伦理学也限制了它的发展。近年来, 成体干细胞成为研究热点。Iskovich 等^[15]报道从人胰腺组织诱导分化出胰岛样细胞团。此外, 骨髓间充质干细胞^[16]、肝、脾及肠道干细胞^[17]体外增殖分化也能得到胰岛样细胞团。其中, 骨髓间充质干细胞易于获得、分选和体外培养, 具有良好的分化潜能和植入组织的能力, 已经成为

新的研究热点^[18]。成体干细胞来源的胰岛移植是未来临床胰岛移植的一个方向, 但目前仍存在诱导的细胞数量少、活性低等诸多问题, 要用成体干细胞诱导分化得到足够数量移植入体内保持存活并有相当于正常胰岛功能的胰岛细胞, 还需要对干细胞的生物学行为作更深入的研究。

3 胰岛细胞的分离和纯化

供者的生前健康状况^[19]和死亡原因^[20]及胰岛分离的技术^[21]是影响胰岛产量和质量的主要因素。胰腺尽快摘取后冷藏于储藏液中, Niclaus 等^[22]发现 GLP-1 液, 和 UW 液、CS 液作为胰腺的储藏液, 三者的胰岛产量相当, 临床效果相似。胰岛的分离消化使用的是 Ricord 装置及消化酶, 消化酶主要包括胶原酶和蛋白酶。胰岛的纯化则使用 COBE2991 细胞分离机和密度不同的碘克沙醇液进行连续密度梯度离心。Balamurugan 等^[23]使用来自于溶组织梭状芽胞杆菌 (Ch) 的完整 C1/C2 胶原酶和中性蛋白酶 (ChNP) 的混合酶相较与其他胶原酶和中性蛋白酶组合, 能获得更高的胰岛产量及更高的胰岛当量 IEq/g 胰腺, 且胰岛的功能和移植后效果较好。目前公认, 符合移植条件的胰岛数量应该大于 8000 IEq/kg 患者体质量; 胰岛细胞纯度 $\geq 90\%$; 胰岛细胞活力 $\geq 70\%$; 胰岛细胞功能良好: 胰岛素释放试验中刺激指数 ≥ 2.0 (刺激指数指高糖 12.0 mmol/L 与低糖 2.8 mmol/L 刺激下胰岛素释放量之比)。

4 胰岛移植部位及方法

以简单、安全、有效为原则, 目前认为将胰岛移植到肝脏门静脉系统是最为实用的方法, 具体操作方法有 2 种: (1) 在 X 线和超声引导下经皮穿刺进入肝门静脉; (2) 腹腔镜下经肠系膜静脉分支插管进入肝门静脉系统。可能的并发症有: 出血、栓塞、一过性肝酶升高、胆道损伤等。相较于脾静脉、大网膜、肌肉等部位, 胰岛植入肝门静脉系统较为简单方便, 且释放的胰岛素能充分入血。但胰岛细胞直接暴露于血循环中, 引发即刻血液介导的炎症反应 (instant blood-mediated inflammatory reaction, IBMIR) 是早期胰岛细胞损害的主要原因^[24]。IBMIR 主要是组织因子的释放导致, 其特点是凝血系统和补体系统的快速激活, 血小板的大量消耗。研究发现使用肝素^[25]或尿激酶^[26]处理胰岛表面能够减少 IBMIR 的发生几率。

5 免疫抑制治疗

胰岛移植后的免疫抑制药物不仅要对抗自身免疫、异体免疫,还要尽量减小对移植胰岛的毒性。早期临床胰岛移植参考实体器官移植使用免疫抑制剂,如环孢素A,糖皮质激素等,这些药物可诱导胰岛素抵抗,且对移植的胰岛细胞有毒性作用。2000年Shapiro等^[6]报道了7例成功的胰岛移植,采用不含糖皮质激素的免疫抑制方案(雷帕霉素、低剂量他克莫司、白介素受体-2单抗,即Edmonton方案)获得成功。之后的临床实践多采用Edmonton方案或在其基础上进行改良。虽然免疫抑制剂有可能导致恶性肿瘤、非特异性感染等并发症,但目前胰岛移植患者仍需终生服用免疫抑制剂。研究者对自身免疫、异体免疫、免疫耐受、免疫隔离等方面亦做了大量研究。据报道,睾丸Sertoli细胞和胰岛细胞共移植可以诱导免疫耐受,改善移植效果^[27]。Dufrane等^[28]将微囊包裹的猪胰岛移植到哺乳动物体内,在不使用免疫抑制剂的情况下,观察到胰岛能维持6个月的存活,但长期效果仍待监测。 α 1-抗胰蛋白酶被报道作为辅助药物能缓解胰岛移植后的免疫排斥反应^[29]。间质干细胞和胰岛共移植,通过免疫调节和促进血管生成能增加胰岛移植的成功率和疗效。其免疫调节作用表现为抑制NK细胞、细胞毒性T细胞等免疫活性细胞,促进调节T细胞产生从而诱导免疫耐受^[30]。

6 胰岛移植的临床疗效

大量基础和临床研究证明胰岛移植能有效改善1型糖尿病的代谢紊乱,甚至使患者摆脱外源性胰岛素,达到根治糖尿病的效果。2000年后,胰岛移植在欧洲、美国等中心广泛开展,2000至2010年,世界各地接近35个中心的数据显示胰岛移植后1年不依赖外源性胰岛素的概率为60%~80%,但这个数据逐年下降,移植5年后仅为10%,令人欣慰的是回归胰岛素治疗的患者的胰岛素用量较移植前减少^[31]。如何提高胰岛移植的长期疗效仍任重而道远。

7 目前存在的问题和展望

虽然胰岛移植已经显示出其巨大的临床价值和研究前景,但仍存在一些问题有待进一步研究和解决。在供源方面,提高分离和培养技术,实施单供体移植;加快异种移植的研究步伐;深入干细胞相关研究,为供源提供另一个可能;此外,免疫耐受

方面的研究有望给胰岛移植带来更好的效果。相信随着胰岛移植的基础和临床研究的进展,临床胰岛移植的效果必将提高,有望造福于更多的糖尿病患者,提高糖尿病患者的生活质量甚至治愈糖尿病将不仅仅是个梦想。

【参考文献】

- [1] Yang W, Lu J, Weng J, *et al.* Prevalence of diabetes among men and women in China[J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(12): 1090-1101.
- [2] Merani S, Shapiro AM. Current status of pancreatic islet transplantation[J]. *Clin Sci*, 2006, 110(6): 611-625.
- [3] Ryan EA, Shandro T, Green K, *et al.* Assessment of the severity of hypoglycemia and glycemic lability in type 1 diabetic subjects undergoing islet transplantation[J]. *Diabetes*, 2004, 53(4): 955-962.
- [4] Vantyghem MC, Pattou F, Girardot C. Eligibility of diabetic patients receiving dialysis for islet after kidney transplantation[J]. *Transplant Proc*, 2004, 36(4): 1103-1105.
- [5] Hathout E, Lakey J, Shapiro J. Islet transplantation: an option for childhood diabetes[J]? *Arch Dis Child*, 2003, 88(7): 591-594.
- [6] Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, *et al.* Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen[J]. *N Engl J Med*, 2000, 343(4): 230-238.
- [7] Hering BJ, Cooper DK, Cozzi E, *et al.* The International Xenotransplantation Association consensus statement on conditions for undertaking clinical trials of porcine islet products in type 1 diabetes-executive summary[J]. *Xenotransplantation*, 2009, 16(4): 196-202.
- [8] Thompson P, Badell IR, Lowe M, *et al.* Islet xenotransplantation using gal-deficient neonatal donors improves engraftment and function[J]. *Am J Transplant*, 2011, 11(12): 2593-2602.
- [9] Schmidt P, Forsman A, Andersson G, *et al.* Pig islet xenotransplantation: activation of porcine endogenous retrovirus in the immediate post-transplantation period[J]. *Xenotransplantation*, 2005, 12(6): 450-456.
- [10] Naujok O, Francini F, Picton S, *et al.* Changes in gene expression and morphology of mouse embryonic stem cells on differentiation into insulin-producing cells *in vitro* and *in vivo*[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2009, 25(5): 464-476.
- [11] Boyd AS, Wood KJ. Characteristics of the early immune response following transplantation of mouse ES cell derived insulin-producing cell clusters[J]. *PLoS One*, 2010, 5(6): e10965.
- [12] Hui H, Tang YG, Zhu L, *et al.* Glucagon like peptide-1-directed human embryonic stem cells differentiation into insulin-producing cells *via* hedgehog, cAMP, and PI3K

- pathways[J]. *Pancreas*, 2010, 39(3): 315-322.
- [13] Zhang D, Jiang W, Liu M, *et al.* Highly efficient differentiation of human ES cells and iPS cells into mature pancreatic insulin-producing cells[J]. *Cell Res*, 2009, 19(4): 429-438.
- [14] Fujikawa T, Oh SH, Pi L, *et al.* Teratoma formation leads to failure of treatment for type I diabetes using embryonic stem cell-derived insulin-producing cells[J]. *Am J Pathol*, 2005, 166(6): 1781-1791.
- [15] Iskovich S, Goldenberg-Cohen N, Stein J, *et al.* β -Cell neogenesis: experimental considerations in adult stem cell differentiation[J]. *Stem Cells Dev*, 2011, 20(4): 569-582.
- [16] Neshati Z, Matin MM, Bahrami AR, *et al.* Differentiation of mesenchymal stem cells to insulin-producing cells and their impact on type 1 diabetic rats[J]. *J Physiol Biochem*, 2010, 66(2): 181-187.
- [17] Yang L, Li S, Hatch H, *et al.* *In vitro* trans-differentiation of adult hepatic stem cells into pancreatic endocrine hormone-producing cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(12): 8078-8083.
- [18] Volarevic V, Arsenijevic N, Lukic ML, *et al.* Concise review: Mesenchymal stem cell treatment of the complications of diabetes mellitus[J]. *Stem Cells*, 2011, 29(1): 5-10.
- [19] Niclauss N, Bosco D, Morel P, *et al.* Influence of donor age on islet isolation and transplantation outcome[J]. *Transplantation*, 2011, 91(3): 360-366.
- [20] Takita M, Matsumoto S, Noguchi H, *et al.* One hundred human pancreatic islet isolations at Baylor Research Institute[J]. *Proc(Bayl Univ Med Cent)*, 2010, 23(4): 341-348.
- [21] Bertuzzi F, Cainarca S, Marzorati S, *et al.* Collagenase isoforms for pancreas digestion[J]. *Cell Transplant*, 2009, 18(2): 203-206.
- [22] Niclauss N, Wojtuszczyz A, Morel P, *et al.* Comparative impact on islet isolation and transplant outcome of the preservation solutions Institut Georges Lopez-1, University of Wisconsin, and Celsior [J]. *Transplantation*, 2012, 93(7): 703-708.
- [23] Balamurugan AN, Loganathan G, Bellin MD, *et al.* A new enzyme mixture to increase the yield and transplant rate of autologous and allogeneic human islet products[J]. *Transplantation*, 2012, 93(7): 693-702.
- [24] van der Windt DJ, Bottino R, Casu A, *et al.* Rapid loss of intraportally transplanted islets: an overview of pathophysiology and preventive strategies[J]. *Xenotransplantation*, 2007, 14(4): 288-297.
- [25] Cabric S, Sanchez J, Lundgren T, *et al.* Islet surface heparinization prevents the instant blood-mediated inflammatory reaction in islet transplantation[J]. *Diabetes*, 2007, 56(8): 2008-2015.
- [26] Teramura Y, Iwata H. Islets surface modification prevents blood-mediated inflammatory responses[J]. *Bioconjug Chem*, 2008, 19(7): 1389-1395.
- [27] Mital P, Kaur G, Dufour JM. Immunoprotective sertoli cells: making allogeneic and xenogeneic transplantation feasible[J]. *Reproduction*, 2010, 139(3): 495-504.
- [28] Dufrane D, Goebbels RM, Gianello P. Alginate macroencapsulation of pig islets allows correction of streptozotocin-induced diabetes in primates up to 6 months without immunosuppression[J]. *Transplantation*, 2010, 90(10): 1054-1062.
- [29] Lewis EC, Mizrahi M, Toledano M, *et al.* Alpha1-antitrypsin monotherapy induces immune tolerance during islet allograft transplantation in mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(42): 16236-16241.
- [30] Sakata N, Goto M, Yoshimatsu G, *et al.* Utility of co-transplanting mesenchymal stem cells in islet transplantation[J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(47): 5150-5155.
- [31] Langer RM. Islet transplantation: lessons learned since the Edmonton breakthrough[J]. *Transplant Proc*, 2010, 42(5): 1421-1424.
- (编辑: 周宇红)