

李欣悦,李倩,石桂英,等. 干细胞治疗2型糖尿病及其并发症的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(9): 96-102.

Li XY, Li Q, Shi GY, et al. Research progress on stem cell therapy for type2 diabetes mellitus and associated complications [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(9): 96-102.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2020.09.018

干细胞治疗2型糖尿病及其并发症的研究进展

李欣悦^{1#}, 李倩^{2#}, 石桂英¹, 黄艺滢¹, 雷雪裴¹, 白琳^{1*}

(1. 中国医学科学院医学实验动物研究所, 北京协和医学院比较医学中心, 国家卫生健康委员会人类疾病比较医学重点实验室, 北京市人类重大疾病实验动物模型工程技术研究中心, 北京 100021;

2. 北京师范大学生命科学学院, 北京 100875)

【摘要】 2型糖尿病是我国高发的慢性疾病, 发生机制为机体对胰岛素抵抗伴随胰岛β细胞功能缺陷引起的胰岛素相对缺乏。2型糖尿病为进展性疾病, 随自然病程发展对外源性血糖控制的依赖增大、导致多组织器官病变, 引起多种继发性并发症发生。传统治疗对药物依赖性大, 且口服药物和外源性胰岛素只能暂时维持血糖或暂时改善胰岛素敏感性, 无法根本治愈。随着干细胞研究的深入, 干细胞的自我更新和定向分化潜能为修复受损组织恢复胰岛功能进而治疗糖尿病开辟了新思路。本文从不同类型干细胞治疗2型糖尿病的方法、优缺点及研究进展进行综述, 希望对研究糖尿病和糖尿病并发症致病机理、应用干细胞移植技术恢复胰岛素独立性以及建立干细胞安全性和有效性的评价提供一定参考。

【关键词】 2型糖尿病; 细胞移植; 干细胞治疗

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 09-0096-07

Research progress on stem cell therapy for type 2 diabetes mellitus and associated complications

LI Xinyue^{1#}, LI Qian^{2#}, SHI Guiying¹, HUANG Yiyi¹, LEI Xuepei¹, BAI Lin^{1*}

(1. Institute of Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Sciences (CAMS); Comparative Medicine Center, Peking Union Medical College (PUMC); NHC Key Laboratory of Human Disease Comparative Medicine; Beijing Engineering Research Center for Experimental Animal Models of Human Critical Diseases, Beijing 100021, China.

2. Key Lab of Cell Proliferation and Regulation Biology of the Ministry of Education, Institute of Cell Biology, Beijing Normal University, Beijing 100875)

【Abstract】 Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a chronic disease with a high incidence in China. It occurs due to a relative lack of insulin because of insulin resistance and islet β-cell dysfunction. Type 2 diabetes is a progressive disease, and its dependence on exogenous glycemic control increases over the development of its natural course, leading to multiple tissue and organ diseases and causing various secondary complications. Traditional treatment relies heavily on drugs, yet oral drugs and exogenous insulin can only temporarily maintain blood glucose or temporarily improve insulin sensitivity; however, the disease cannot be cured fundamentally. With the deepening of stem cell research, the self-renewal and directional differentiation potential of stem cells have opened up new ideas for repairing damaged tissues and restoring islet function, thus treating diabetes. This article reviews the method, advantages, disadvantages, and research progress of different types of stem cells in the treatment of type 2 diabetes. We hope to provide reference for the study of the

【基金项目】北京市自然科学基金重点项目(5171001); 国家自然科学基金面上项目(31672374)。

【作者简介】李欣悦(1997—)女, 硕士研究生, 专业: 细胞生物学。E-mail: lxy415@126.com

李倩(1986—)女, 博士研究生, 专业: 细胞生物学。E-mail: iloveecho99@163.com #共同第一作者

【通信作者】白琳(1984—)女, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向: 干细胞治疗。E-mail: bailin49@163.com

pathogenesis of diabetes and its complications, and for applying stem cell transplantation technology to restore insulin independence, as well as to establish an evaluation of the safety and effectiveness of stem cell therapy.

【Keywords】 type 2 diabetes mellitus; cell transplantation; stem cell therapy

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是一种因多种致病因素引起胰岛素分泌不足或胰岛素抵抗而导致患者出现慢性高血糖为主要特征的代谢性疾病。患病早期可通过胰岛素补充或促进胰岛素分泌控制恢复血糖正常,晚期胰岛 β 细胞损伤严重导致功能衰竭,糖、脂类、蛋白质代谢紊乱,累积神经系统、心血管、肾、眼器官,导致糖尿病脑病、糖尿病肾病、视网膜病等继发性并发症^[1]。根据美国糖尿病学会(ADA)分型方法可为1型糖尿病、2型糖尿病、妊娠期糖尿病及特殊类型糖尿病。2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)又称为非胰岛素依赖型糖尿病,由于胰岛素抵抗的背景下 β 细胞功能障碍,常伴随胰岛素分泌的逐渐减少^[2]。胰岛素的低敏感促使葡萄糖在肝中产生增加,肌肉和脂肪组织中吸收减少,引发高血糖症。 β 细胞功能缺陷影响了胰岛素敏感组织之间的反馈调节,造成葡萄糖稳态失衡^[3]。2型糖尿病占糖尿病患者总数的90%以上,其病因多样,致病机制尚不明确。

目前2型糖尿病患者血糖控制方式主要为口服降糖药物、外源性胰岛素补充。2型糖尿病治疗的一线药物为二甲双胍,且可在多药物联合治疗中作为基础用药^[4],可有效控制肝葡萄糖增加并改善外周胰岛素抵抗。对于二甲双胍不适用的治疗者,可联合不同机制降糖药物进行二联治疗或三联治疗^[4]。外源性胰岛素补充主要用于1型糖尿病的治疗。对于2型后期患者随病程进展,对二甲双胍不适用或联合胰岛素促泌剂或 α -糖苷酶抑制剂治疗血糖仍不达标的患者,应加用基础胰岛素或预混胰岛素进行多手段联合控制,以减少并发症的危险。依赖外源性胰岛素长期性注射的治疗方式会发生耐药性和急性低血糖的风险,对已经出现了广泛耐药性2型重度患者可通过胰岛移植治疗。对存在严重并发症导致器官功能损伤如糖尿病肾病肾衰竭者,需通过透析及胰-肾联合移植治疗。成功的同种异体移植可实现胰岛功能恢复^[5],为机体产生稳定的胰岛素提供了一种更长久的方法,但是它仍然面临着供体缺乏和终身免疫抑制的挑战。

糖尿病现阶段治疗仍受到终身服药和低血糖症风险的限制,近年来随着干细胞逐渐被用于多种重大疾病的临床治疗,干细胞治疗糖尿病的研究也

取得较大成果。通过功能性干细胞移植,修复胰岛素抵抗组织,保护和再生胰岛 β 细胞,以长期稳定恢复胰岛素独立性,改善胰岛损伤的代谢紊乱^[6]。可诱导分化为胰腺 β 细胞用于糖尿病治疗的常见干细胞有:胚胎干细胞、成体干细胞及诱导性多能干细胞。查询ClinicalTrials.gov有关干细胞治疗2型糖尿病及其并发症临床试验信息约76项,在中国、印度、美国等国家已进入1期/2期临床试验阶段,其中包括骨髓间充质干细胞、脂肪间充质干细胞、脐带血间充质干细胞,大多数干细胞对2型糖尿病治疗的研究还处于实验动物水平。表1列举了几项具有代表性的干细胞治疗2型糖尿病相关临床研究项目。

1 胚胎干细胞治疗

胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)是一类高度未分化的细胞,由早期胚胎或原始性腺中分离得到,可分化可形成体内不同类型细胞,发育成为内、中、外三个胚层的细胞组织,具有高度全能性,且在体外可长时间维持多能性和自我更新的能力。由于ESCs在细胞移植治疗中,具有低免疫原性,可以在体外经历多系分化,并产生一系列分化良好的后代^[7-8],因此被广泛应用于多种疾病的治疗中,并建立了多种动物的hESCs细胞系。研究早期对于ESCs的异常增殖特性关注较少,将其直接注射到成年小鼠体内会产生畸胎瘤,可被视为条件性肿瘤细胞^[9-10]。近些年来,利用定向诱导ESCs形成功能性 β 细胞团^[11]或胰岛素分泌细胞(IPCs)已成为恢复胰岛功能治疗糖尿病的研究热点。Lumelsky等^[12]通过五个阶段诱导完成小鼠ESCs向胰岛 β 细胞的分化,并皮下移植到链脲佐菌素(STZ)糖尿病小鼠测定ESCs分化的胰岛样细胞团的生存能力及体内功能,移植后的糖尿病小鼠可维持体重的减轻并存活更长的时间,证明了细胞移植的总体效果有益糖尿病动物的恢复,通过对ESCs的诱导分化可产生与天然胰岛相同的生理效果,但这些细胞的胰岛素表达量却远低于天然胰岛的胰岛素分泌水平,导致高血糖症状恢复不明显。Sui等^[13]用小鼠RIP-YFP质粒构建体稳定转染未分化的ES细胞系,测定了由ESCs分化的胰腺内分泌细胞其胰腺

特异性基因表达,发现这些胰岛素分泌细胞共表达了 *INS1*、*INS2*、*Islet1*、*MafA*、*IA1* 等胰岛 β 细胞的表型标志物,表明 ESCs 分化的胰腺内分泌细胞与体内成熟的胰岛 β 细胞有相似的基因表达模式,建立了从 ESCs 到胰腺内分泌细胞系的有效分化策略。同时还证明了锌作为的介导细胞胰岛素分泌上调的诱导剂可显著促进诱导 ESCs 向胰岛素分泌细胞的分化,为 ESCs 分化功能的调节提供了新思路。

ESCs 向胰岛样细胞分化用于治疗糖尿病还存在多种问题:细胞转化效率低,诱导分化产生的 IPCs 数量有限;IPCs 胰岛素分泌量少,其胰岛素分泌功能仅能达到体内成熟胰岛 β 细胞的 1/50;IPCs 诱导周期长,从 ESCs 分化至 IPCs 需经历向限定内胚层细胞、后部前肠细胞、胰腺内胚层细胞、胰岛前体细胞的诱导过程,最终分化成为胰岛素分泌细胞,此诱导周期需要约 28~32 d。因此,研究胚胎干细胞向胰岛素分泌细胞方向分化调控机制,提高 ESCs 来源的 IPCs 分化效率,以获得高浓度高纯度的成熟胰岛素,成为应用 ESCs 治疗糖尿病的重点问题。目前已发现通过生长因子(如 bFGF)及诱导因子激活素 A (Activin A)^[14]、丁酸钠、唾液素 4 (Exendin 4)、尼克酰胺 (Nic)、转录因子 PDX1 等可促进 ESCs 向 IPCs 的分化及成熟^[11]。

ESCs 移植治疗糖尿病的研究还处于临床前阶

段,ESCs 的体外诱导分化机制尚未阐明,安全性还无法保证,且 ESCs 用于临床试验的伦理问题还存在争议,因此建立安全可靠的临床级 ESCs 系,有效解决异种移植排斥等技术问题有待进一步解决。

2 成体干细胞治疗

2.1 胰腺干细胞治疗

胰腺干细胞为能够自我复制增殖的,未达到终末分化状态的前体细胞群,能被定向诱导为具有胰岛素分泌功能的类胰岛细胞,形成胰岛组织结构,维持血糖水平恒定^[15]。一直以来胰腺中存在具胰岛再生潜能的祖细胞的说法并未得到验证,2018 年 Qadir 等^[16]证实了成年人类胰腺中存在祖细胞,提出了导管和腺体网络中特定的解剖位置,并证实了在特定刺激下其增殖分化为葡萄糖反应 β 细胞的潜能。目前胰腺干细胞的分离获取主要来源于胰岛实质、胰腺导管上皮及胰腺腺泡等组织^[17]。但对于胰腺干细胞的鉴定尚无统一方法,在其增殖分化不同生理阶段,其分子标记物随基因在不同时期的表达呈现一定差异,其细胞形态也存在改变^[18]。目前的研究中常采用胰腺细胞所表达的蛋白作为标志物对其鉴定,如胰十二指肠同源框基因-1 (*PDX-1*) 编码的 PDX1 蛋白、在发育过程中的胰腺内胚层上皮细胞存在高表达的细胞角蛋白 19 (CK19)、巢

表 1 2 型糖尿病干细胞移植治疗相关临床研究

Table 1 Clinical study on the treatment of type 2 diabetic stem cells

完成国家 Countries	细胞类型 Cell types	项目编号 Clinical Trials.gov Identifier
中国 China	BM-MSCs	NCT01719640 NCT01677013
	UC-MSCs	NCT01415726 NCT01954147
	AD-MSCs	NCT00703612 NCT03658655
印度 India	Stem Cells From Human Exfoliated Teeth	NCT00644241
	BM-MSCs	NCT00644241
美国 United States	AD-MSCs	NCT03840343
以色列 Israel	BM-MSCs	NCT01686139
越南 Vietnam	BM-MSCs	NCT03343782
菲律宾 Philippines	AD-MSCs	NCT00703612
泰国 Thailand	Peripheral blood-derived mesenchymal stem cells	NCT02286128
墨西哥 Mexico	Hematopoietic stem cell	NCT00730561

素蛋白(nestin)及神经元素 3(NGN3)^[19]。

在胰腺干细胞治疗中,移植部位的选择仍需进一步研究。刘智伟等^[20]分别于门静脉肝内手术移植胰岛细胞和胰腺干细胞,对两组移植大鼠血糖浓度、胰岛素水平、血清 C 肽水平进行监测,并比较术后移植数目、纯度、活性及存活时间的差异。实验结果显示,胰腺干细胞移植组较胰岛细胞降糖作用缓慢,且胰岛素分泌量低于胰岛细胞移植组,但术后一段时间后随胰岛干细胞分化血糖水平明显下降,胰岛素分泌量持平。经分离过程,胰腺干细胞与胰岛细胞存活率相近但分离纯度较低,移植晚期胰腺干细胞移植组仍可保持较长的存活时间,此时胰腺干细胞移植组胰岛素分泌量高于胰岛细胞移植组。可推断糖尿病大鼠胰腺干细胞移植治疗效果优于胰岛细胞,具有持续降糖能力,且诱导分化后经门静脉注射移植可更有效地发挥疗效。

2.2 间充质干细胞治疗

脂肪间充质干细胞(adipose derived mesenchymal stem cells, AD-MSCs)在体外经多次传代仍保持其多潜能性,可向脂肪细胞、神经细胞、心肌细胞、成骨细胞、软骨细胞、胰岛细胞等方向诱导分化,具有免疫调节功能,取材简单来源丰富,应用潜力巨大。Cao 等^[21]的研究中发现,高脂饮食诱导的肥胖小鼠经静脉注射脂肪来源的间充质干细胞后,体内葡萄糖水平维持在稳态,胰岛素抵抗作用明显降低。Timper 等^[22]将人源脂肪间充质干细胞分化为 IPCs,表达出胰岛素,生长抑素和胰高血糖素,并发现增殖的 ADMSCs 存在胰岛 β 细胞发育转录因子 PAX6 和 Isl-1 的表达。

骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BM-MSCs)移植排斥反应较弱,具有免疫调节及抗炎作用,在自身免疫病治疗中有着重要地位,因此可能对于 1 型糖尿病具有较好的治疗作用。有研究表明,在链脲佐菌素糖尿病的动物模型中,采用 BMSCs 分化为胰岛细胞或胰导管细胞进行治疗可以有效降低血糖^[23-24]。Xie 等^[25]成功将人 BM-MSCs 诱导分化为 IPCs,这些 IPCs 表达了与胰岛 β 细胞发育及功能相关的多个基因,包括 Glut2、PAX6、巢蛋白、PDX1、NGN3、NKX6.1、ISL-1、Beta2 / Neurod、胰岛素和胰高血糖素。Gabr 等^[26]也通过移植成熟骨髓间充质干细胞控制链脲佐菌素裸鼠的糖尿病。

自体骨髓源性干细胞移植已进入临床试验阶

段。2007 年, Bhansali 等^[27]筛选 10 名对三种口服抗糖尿病药物(磺酰脲、二甲双胍和 TZD)均产生抵抗且病情持续时间达到 5 年的 T2DM 患者,通过股动脉途径在十二指肠动脉处对其进行骨髓间充质干细胞移植治疗。治疗 6 个月后,胰岛素需求减少了 50%以上, HbA1c 降低,胰高血糖素刺激的 C 肽水平有所改善,且没有发现严重的不良反应。表明自体骨髓源性干细胞移植有望作为改善 T2DM 患者 β 细胞功能的一种安全有效的治疗方法。

脐带血间充质干细胞(umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells, UCB-MSCs)为中胚层发育而来的原始间充质细胞群,其具有与骨髓间充质细胞相似的生物学特征,但其增殖能力比骨髓来源的间充质细胞快数倍。因其易快速增殖、具有多向分化潜能,且多来源于生产废物,无伦理限制,具有重要临床应用价值。Gao 等^[28]团队在高葡萄糖,视黄酸,烟酰胺,表皮生长因子和 exendin-4 的条件下,经 15 d 将人脐带血间充质干细胞体外分化为胰岛样细胞簇,分化后约 9 d 开始表达相关胰腺细胞标志物,包括胰岛素,胰高血糖素, Glut-2, PDX1, PAX4 和 NGN3。Sun 等^[29]通过缺氧治疗从脐带血来源的间充质干细胞成功获得了功能性 IPCs,并阐明了缺氧诱导 β 细胞的发育途径,即低氧诱导时 c-Met 启动了 MSCs 向 IPCs 的早期分化, HGF 通过诱导 NGN3 的表达调控 IPCs 的完全分化,证明了 c-Met 与 HGF 之间的相互作用可增强 MSCs 分化为 IPCs 的功能,提高 IPCs 的生存能力。

3 诱导性多能干细胞治疗

诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)是一种细胞类型及表观遗传学同胚胎干细胞相似,具有自我更新和多向分化潜能的一类细胞类型,来源于普通体细胞,利用病毒载体导入特定转录因子诱导其发生转化,重编程为具有多能性的细胞系。目前研究中诱导 iPSCs 定向分化为 IPCs 的形式主要有两种:一是于体外环境下加入特定诱导因子诱导 iPSCs 的定向分化;二是通过基因工程转入调控胰岛 β 细胞的转录因子,促使 iPSCs 的分化形成。Kunisada 等^[30]结合五个 hiPSCs 细胞系的研究发现,激活素 A 和 GSK3 β 抑制剂处理可有效增强内胚层分化,与视黄酸,骨形态发生蛋白抑制剂以及 TGF- β 抑制剂联合使用可诱导内胚层向胰腺干细胞的分化。在此过程中,胰腺干细胞标

记物 PDX1 和 NGN3 的表达显著增加,大部分细胞抗 PDX1 抗体呈阳性。同时该团队发现了几种化合物,包括毛喉素,地塞米松和 TGF- β 抑制剂,可诱导胰岛素产生细胞从胰腺干细胞分化。Gupta 等^[31]在 hiPSCs 细胞系的内源性 NKX6.1 基因座中插入 GFP 报告基因, NKX6.1-GFPiPSC 报告了 NKX6.1 在胰腺分化中的表达。通过 RNA 测序对基因表达谱分析并对细胞进行分选,结果表明来自分化的 NKX6.1 阳性细胞与人自然 β 细胞转录组图谱极为相似。王雷^[32]采用 PDX1、NeuroD 和 MafA 修饰的 iPSCs 对糖尿病小鼠进行移植治疗,证明了移植后的鼠源 iPSCs 基因胰岛素表达上调。而占小波^[33]通过实验证明了,

Pdx1 通过激活其下游基因 *Ngn3* 和 *Pax6* 促进 iPSCs 向胰岛素分泌性细胞分化。

iPSCs 相比较于胚胎干细胞应用于临床治疗更避免了伦理和移植问题。有研究显示,到 2015 年对人类诱导多能干细胞 (hPSCs) 的研究就超过了人类胚胎干细胞 (hESC) 的研究,并在此后逐年迅速增长,针对于特异性疾病临床级别 hESC 系也不断被建立和维持^[34]。目前没有针对 T2DM 的 hPSCs 临床治疗,而 4 项有关 hPSCs 制品 VC-01 和 VC-02 对 T1DM 患者的安全性、耐受性和疗效的临床试验已在美国和加拿大进入 1 期/2 期临床阶段。表 2 列举了以上几种干细胞治疗 T2DM 的对比。

表 2 不同来源干细胞移植治疗 T2DM 的研究对比

Table 2 Comparison of different sources of stem cell transplantation in the treatment of T2DM

细胞类型 Cell types	诱导分化方法 Methods of inducing differentiation	动物模型 Animal models	移植方式 Transplantation methods	移植数量 Number of cells transplanted	有效性 Effectiveness	存在问题 Problems	参考文献 References
胚胎干细胞 Embryonic stem cells, ESCs	诱导培养 Induced culture	C57BL/6J 小鼠 C57BL/6J mice	肾囊下方移植 Implant under the kidney capsule	5×10 ⁶ cells/ mouse	高血糖症状改善,体重恢复正常 Hyperglycemia symptoms improved; weight returned to normal	①伦理问题; ②诱导效率低,分化产生的 IPCs 数量有限; ③诱导周期长; ④IPCs 胰岛素分泌量少; Ethical issues; low induction efficiency; long induction period; low insulin secretion	[11, 35]
脂肪间充质干细胞 Adipose derived mesenchymal stem cells, AD-MSCs	诱导培养 Induced culture	C57BL/6 小鼠和 db/db 小鼠 C57BL/6 and db/db mice	尾静脉注射 Tail vein injection	5×10 ⁵ cells/ mouse	血糖水平降低; 胰岛素敏感性增强 Blood sugar levels decreased; insulin sensitivity increased	①增殖效率低; ②缺少调控胰岛素分泌量的功能 Low proliferation efficiency; lack of the function of regulating insulin secretion	[36]
骨髓间充质干细胞 Bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BM-MSCs	诱导培养 Induced culture	NOD 小鼠 NOD mice	尾静脉注射 Tail vein injection	3×10 ⁶ cells/ mouse	HbA1c 水平降低, C 肽改善, 糖耐量改善 胰岛素需求量降低 HbA1c level decreased, C-peptide improved, glucose tolerance improved, and insulin demand decreased	①细胞分离效率较低; ②随细胞代次增加,细胞潜能逐渐降低、免疫原性逐渐增加 Low isolation efficiency; the potential of cells decreased and immunogenicity increased as cell passage increased.	[27, 37]
脐带来源的间充质干细胞 Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells, UC-MSCs	直接输注 Direct infusion	C57BL/6J 小鼠 C57BL/6J mice	尾静脉注射 Tail vein injection	1×10 ⁶ cells/ mouse	血糖水平逐渐降低,同时血清胰岛素升高;治疗 1 周后, IPITT 改善;胰岛素敏感性显著增强;胰岛形态恢复 Blood glucose levels gradually decreased, serum insulin increased; IPITT improved after 1 week of treatment; insulin sensitivity increased; pancreatic islet morphology restored	①细胞分离率低 ②胰岛素分泌效率略低 Low isolation efficiency; low insulin secretion	[38]
诱导性多能干细胞 Induced pluripotent stem cells, iPSCs	三阶段诱导分化培养 Three-stage induced differentiation	C57BL/6 小鼠 C57BL/6 mice	尾静脉注射 Tail vein injection	2×10 ⁶ cells/ mouse	HbA1c 降低,血糖稳定,糖耐量改善 HbA1c level decreased, blood glucose stabilized, and glucose tolerance improved	①效率低 ②重编程机制不清,变异风险高 ③多潜能细胞致瘤性 Low efficiency; unclear reprogramming mechanism, high risk of mutation; potential tumorigenicity	[39]

4 总结与展望

糖尿病作为多因素导致的慢性代谢性疾病,伴随着多种并发症发生,治疗药物价格高昂、依赖性大且无法从根本上恢复胰岛素独立性。2 型糖尿病为进展性疾病,随自然病程发展对外源性血糖控制的依赖逐渐增大^[4],且无法有效避免多组织病变的并发症发生,存在着较大局限性。随着近年来干细胞研究的深入,通过干细胞移植疗法恢复胰岛功能给糖尿病的治疗提供了全新思路。干细胞具有高度全能性或多能性,可向着多种组织细胞分化,在体外可自我复制增殖,并维持与亲代细胞相同的种群特征,利用其定向诱导分化为具有产生胰岛素功能的胰岛素分泌细胞可减轻甚至摆脱患者对胰岛素的长期依赖。现已研究发现多种诱导蛋白(Activin A, Exendin 4 等)转录因子(PDX1、PAX6 和 Isl-1 等)对胰岛细胞的成熟和诱导分化起到调控作用,但大部分干细胞分化、胰岛细胞发育及其调控机制尚未得到解答,仍需进一步研究。

目前多种干细胞已在治疗 2 型糖尿病的相关研究中取得进展,包括了 ESCs、PSCs、MSCs 及 iPSCs。PSCs 分离困难;ESCs 和 iPSCs 具有较强的增殖分化潜能,但 ESCs 存在较大伦理限制,而 iPSCs 由重编程得到,存在一定安全问题;MSCs 具有较高安全性,且作为成体干细胞避免了伦理争议,但其细胞分离率、增殖效率较低并伴随代次衰老。干细胞用于 T2DM 及并发症治疗的研究大部分还停留在临床前阶段,这些不同类型干细胞在作用机制上有所区别,如骨髓间充质干细胞侧重于提高 β 细胞的再生能力,通过细胞输注刺激局部组织细胞再生,提供多种再生信号,增强修复作用,并改善炎症诱发病变的恢复^[37];而脂肪间充质干细胞侧重于改善胰岛素抵抗,提高胰岛素敏感性,增加葡萄糖输注率,降低肝脏葡萄糖的释放^[40]。

干细胞治疗 T2DM 的研究涉及多种方向,如优化细胞分化方案、发现新的免疫调节方法、对间充质干细胞预处理促进巨噬细胞极化和自噬修复以改善代谢控制^[37,41],及与基因编辑技术相结合,有望为患者带来革命性的治疗方法。

2 型糖尿病干细胞治疗研究中,不同类型干细胞到 IPCs 的分化仍缺少标准化的鉴定、诱导方法,且针对不同年龄段、不同临床表现的患者,其移植细胞种类及移植方式的选择仍需经大量长期的实

验观察进行综合判断。此外,对于 2 型糖尿病移植治疗过程中,还存在迁移并功能整合于受损组织的干细胞数量较少,输注干细胞转化为功能性细胞效率过低的问题,如何提高细胞胰岛素分泌量、调节宿主免疫应答、保证远期疗效稳定性及安全性问题也需更深入研究。本文从不同类型的干细胞治疗 2 型糖尿病的方法、优缺点和研究进展等方面进行综述,期望对 2 型糖尿病及其并发症致病机理研究、应用干细胞移植技术恢复胰岛功能以及建立干细胞安全性和有效性的评价提供一定参考。

参考文献:

- [1] Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutic [J]. Med Sci Monit, 2016, 12(7): RA130-RA147.
- [2] American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes; standards of medical care in diabetes - 2019 [J]. Diabetes Care, 2019, 42(1): S13-S28.
- [3] Kahn SE, Cooper ME, Prato SD, et al. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future [J]. The Lancet, 2014, 383(9922): 1068-1083.
- [4] 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]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(4): 292-344.
- [5] Kandaswamy R, Stock PG, Gustafson SK, et al. OPTN/SRTR 2016 annual data report: pancreas [J]. Am J Transplant, 2018, 18 (Suppl 1): 114-171.
- [6] Sneddon JB, Qizhi T, Peter S, et al. Stem cell therapies for treating diabetes: progress and remaining challenges [J]. Cell Stem Cell, 2018, 22(6): 810-823.
- [7] Alien KJ, Buck NE, Williamson R. Stem cells for the treatment of liver disease [J]. Transpl Immunol, 2005, 15(2): 99-112.
- [8] Doetschman TC, Eistetter H, Katz M, et al. The *in vitro* development of blastocyst-derived embryonic stem cell lines: formation of visceral yolk sac, blood islands and myocardium [J]. J Embryol Exp Morphol, 1985, 87(1): 27-45.
- [9] Papatsenko D, Waghay A, Lemischka IR. Feedback control of pluripotency in embryonic stem cells: Signaling, transcription and epigenetics [J]. Stem Cell Res, 2018, 29: 180-188.
- [10] Szot GL, Yadav M, Lang J, et al. Tolerance induction and reversal of diabetes in mice transplanted with human embryonic stem cell-derived pancreatic endoderm [J]. Cell Stem Cell, 2015, 16(2): 148-157.
- [11] Robert T, De Mesmaeker I, Stangé GM, et al. Functional beta cell mass from device-encapsulated hesc-derived pancreatic endoderm achieving metabolic control [J]. Stem Cell Re, 2018, 10(3): 739-750.
- [12] Lumelsky N, Blondel O, Laeng P, et al. Differentiation of embryonic stem cells to insulin-secreting structures similar to pancreatic islets [J]. Science, 2001(5520), 292: 1389-1394.

- [13] Sui J, Jiang FX, Shi BY. Differentiation of mouse embryonic stem cells into insulin-secreting cells *in vitro* [J]. J Med Colleg PLA, 2011, 26(1): 1-12.
- [14] Kubo A, Shinozake K, Shannon JM, et al. Development of definitive endoderm from embryonic stem cells in culture [J]. Development, 2004, 131(7): 1651-1662.
- [15] Thatava T, Kudva YC, Edukulla R, et al. Inpatient variations in type 1 diabetes-specific ipsc cell differentiation into insulin-producing cells [J]. Mol Ther, 2013, 21(1): 228-239.
- [16] Qadir M M F, Álvarez-Cubela, Silvia, Klein D, et al. P2RY1/ALK3-expressing cells within the adult human exocrine pancreas are BMP-7 expandable and exhibit progenitor-like characteristics [J]. Cell Rep, 2018, 22(9): 2408-2420.
- [17] Bonner Weir S, Taneja M, Weir Gc, et al. *In vitro* cultivation of human islets from expanded ductal tissue [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97(14): 7999-8004.
- [18] 王海林, 戴睿武. 胰腺干细胞组织来源与分子标记物的研究进展 [J]. 肝胆外科杂志, 2017, 25(6): 477-480.
- [19] Chen B, Wang L, Hu S, et al. Would pancreas duct epithelium derived stem/progenitor cells enhance islet allograft survival by means of islets recruitment and tolerance induction in Edmonton protocol era? [J]. Med Hypotheses, 2008, 70(3): 661-664.
- [20] 刘智伟, 张冲, 王进, 等. 胰腺干细胞和胰岛细胞在糖尿病大鼠治疗中的疗效观察 [J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(6): 1-8.
- [21] Cao M, Pan Q, Dong H, et al. Adipose - derived mesenchymal stem cells improve glucose homeostasis in high -fat diet -induced obese mice [J]. Stem Cell Res Ther, 2015, 6: 208.
- [22] Timper K, Seboek D, Eberhardt M, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells differentiate into insulin, somatostatin, and glucagon expressing cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 341(4): 1135-1140.
- [23] Boumaza I, Srinivasan S, Witt WT, et al. Autologous bone marrow-derived rat mesenchymal stem cells promote PDX-1 and insulin expression in the islets, alter T cell cytokine pattern and preserve regulatory T cells in the periphery and induce sustained normoglycemia [J]. J Autoimmun, 2009, 32(1): 33-42.
- [24] Hess D, Li L, Martin M, et al. Bone marrow-derived stem cells initiate pancreatic regeneration [J]. Nat Biotechnol, 2003, 21(7): 763-770.
- [25] Xie QP, Huang H, Xu B, et al. Human bone marrow mesenchymal stem cells differentiate into insulin-producing cells upon microenvironmental manipulation *in vitro* [J]. Differentiation, 2009, 77(5): 483-491.
- [26] Gabr MM, Zakaria MM, Refaie AF, et al. Insulin-producing cells from adult human bone marrow mesenchymal stem cells control streptozotocin-induced diabetes in nude mice [J]. Cell Transplant, 2013, 22(1): 133-145.
- [27] Bhansali A, Upreti V, Khandelwal N, et al. Efficacy of autologous bone marrow-derived stem cell transplantation in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Stem Cells Dev, 2009, 18(10): 1407-1416.
- [28] Gao F, Wu DQ, Hu YH, et al. *In vitro* cultivation of islet-like cell clusters from human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells [J]. Transl Res, 2008, 51(6): 293-302.
- [29] Sun B, Meng XH, Liu R, et al. Mechanism study for hypoxia induced differentiation of insulin-producing cells from umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 466(3): 444-449.
- [30] Kunisada Y, Tsubooka-Yamazoe N, Shoji M, et al. Small molecules induce efficient differentiation into insulin-producing cells from human induced pluripotent stem cells [J]. Stem Cell Res, 2012, 8(2): 274-284.
- [31] Gupta SK, Wesolowska-Andersen A, Ringgaard AK, et al. NKX6.1 induced pluripotent stem cell reporter lines for isolation and analysis of functionally relevant neuronal and pancreas populations [J]. Stem Cell Res, 2018, 29: 220-231.
- [32] 王雷. 多基因修饰 iPS 细胞分化为胰岛素分泌细胞的实验研究 [D]. 南通: 南通大学, 2012.
- [33] 占小波. Pdx1 激活 Ngn3 和 Pax6 诱导 iPS 细胞向胰岛 β 细胞分化的作用及其机制研究 [D]. 广州: 广州医科大学, 2014.
- [34] Guhr A, Kobold S, Seltmann S, et al. Recent trends in research with human pluripotent stem cells: impact of research and use of cell lines in experimental research and clinical trials [J]. Stem cell rep, 2018, 11(2): 485-496.
- [35] Liang D, Zhang Y, Han J, et al. Embryonic stem cell-derived pancreatic endoderm transplant with MCT1-suppressing miR-495 attenuates type II diabetes in mice [J]. Endocr J, 2015, 62(10): 907-920.
- [36] Wang M, Song L, Strange C, et al. Therapeutic effects of adipose stem cells from diabetic mice for the treatment of type 2 diabetes [J]. Mol Ther, 2018, 26(8): 1921-1930.
- [37] Si Y, Zhao Y, Hao H, et al. Infusion of mesenchymal stem cells ameliorates hyperglycemia in type 2 diabetic rats [J]. Diabetes, 2012, 61(6): 1616-1625.
- [38] Yaqi Y, Haojie H, Yu C, 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.
- [39] Alipio Z, Liao W, Roemer EJ, et al. Reversal of hyperglycemia in diabetic mouse models using induced-pluripotent stem (iPS)-derived pancreatic beta-like cells [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(30): 13426-13431.
- [40] Yu S, Cheng Y, Zhang L, et al. Treatment with adipose tissue-derived mesenchymal stem cells exerts antidiabetic effects, improves long-term complications, and attenuates inflammation in type 2 diabetic rats. Stem Cell Res Ther, 2019, 10(1): 333.
- [41] 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.