

胰岛移植热点问题展望

刘永锋 程颖

中国医科大学附属第一医院器官移植科暨肝胆外科, 沈阳 110001

【摘要】 胰岛移植作为 β 细胞替代治疗手段之一, 近年来已成为治疗糖尿病的有效手段, 但还面临包括供体胰腺短缺、移植胰岛术后早期大量死亡/凋亡、长期功能不确切等问题。最近研究显示通过提高胰岛分离纯化率、提高移植胰岛的定植率等手段有望改善胰岛移植效果。此外随着干细胞、异种移植、基因编辑技术的发展, 有望提供“不限量”的 β 细胞, 实现“按需”细胞移植治疗糖尿病。

【关键词】 胰岛移植; 糖尿病; 异种移植; 干细胞

DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0254-1785. 2019. 09. 001

早在 1967 年, 人们就开始了胰岛移植的实验研究, 但早期胰岛移植的效果却差强人意。2000 年, Edmonton 中心取得突破性进展, 植入的胰岛 1 年存活率超过 85%, 使研究者看见了曙光。此后, 全球开始了大规模的多中心研究。近 10 年临床胰岛移植的疗效取得了显著提高^[1], 一些中心数据显示, 胰岛移植后 5 年胰岛素脱离的比例可达到 60%^[2-3]。

目前胰岛移植仍存在供胰短缺、移植后早期胰岛损失等问题, 近年的研究也聚焦在增加供者来源、提高分离纯化技术、选择最佳植入部位等方面, 以进一步提高胰岛移植的临床疗效。

一、提高分离纯化技术, 增加胰岛产量

移植足够数量的有活力的胰岛对提高胰岛移植疗效至关重要。虽然胰岛分离标准化研究取得了很大进展, 但仍需进一步改进。胰岛分离过程严重损伤胰腺细胞和非细胞部分。胰腺消化过程是胰岛制备的核心步骤, 目前主要依赖经验性操作。如何提高消化酶的稳定性并根据供者特征(年龄、体重指数等)、胰腺的组织形态等信息制定胰岛分离的标准化流程, 对于提高分离效果、消除不同中心间差距非常重要。

胰岛纯化是胰岛制备过程中的难点。影响纯化效果的因素较多, 例如胰岛是否存在水肿、消化过程中是否产生明显 DNA 损伤等。尤其是在消化的过程中许多被少量外分泌组织包裹的胰岛, 由于其密度与外分泌组织比较接近, 所以在纯化过程中不易与外分泌组织区分开。这就要求在胰岛消化的过程中获得更多的“纯净”胰岛, 另外还需要根据消化程度的不同, 采用合适的密度梯度液来进行纯化。

鉴于此, 根据国内胰岛分离经验, 建立我国胰岛

分离纯化的标准化流程对于提高胰岛分离纯化整体质量、促进我国胰岛移植发展非常必要。

二、优化胰岛植入部位, 提高移植定植率

尽管肝脏是目前临床胰岛移植最常见的位置, 但肝脏并非最理想的位置。肝内门静脉胰岛移植可能存在移植后出血以及血栓形成等风险, 同时胰岛在接触血液后会发​​生经血液介导的即时炎症反应, 可能造成胰岛大量丢失。

理想的胰岛植入部位应同时具备与血液不直接接触、便于植入与活检、利于移植胰岛再血管化等优势。目前应用较多的, 如皮下、肾被膜下、脾脏、大网膜、腹腔等都不完全满足胰岛移植的需求, 但对这些部位进行改建, 尤其是借助生物工程技术, 有望形成胰岛移植的理想移植部位。

最近的研究表明, 大网膜血供丰富, 并且回流进入门静脉系统, 可能是比较理想的胰岛移植部位, 如借助生物材料可以进一步提高胰岛移植的疗效。有研究在糖尿病大鼠和非人灵长类动物模型中评估在大网膜使用生物支架植入胰岛的效果^[4], 并进行了同种异体胰岛的 I/II 期临床移植试验(NCT02213003), 报告了一例胰岛素不依赖的病例。

皮下胰岛移植具有接受性更好、移植物可移除、更安全等优点, 但由于血管化不良、氧合作用低, 移植物存活率极低。研究者在皮下植入含有促进血管生成的支架、使皮下预先血管化, 造成适合胰岛生存的环境可能是增加移植物存活的有效途径。预先血管化还可能导致局部肉芽组织形成, 其中包含抑制移植物免疫反应的调节性 T 淋巴细胞^[5], 有助于减轻胰岛移植物免疫损伤。

三、增加供体胰腺来源,实现按需移植

供体胰腺需求量大是胰岛移植面临的另一大难题。异种(猪)胰岛和干细胞来源的细胞有望克服供体胰腺短缺,成为供胰的新来源。

1. 异种移植

猪是胰岛异种移植理想的来源,可按需饲养,且在伦理上易于接受^[6],但超急性排斥反应和猪内源性逆转录病毒人畜共患感染是异种胰岛移植进入临床前必须克服的障碍。近几年通过基因技术对猪进行改造,取得了瞩目的进展,有望在未来培育出适合异种移植的基因修饰猪并进行小规模临床研究。 $\alpha 1,3$ -半乳糖基转移酶基因敲除(GTKO)猪克服了异种移植的第一道屏障,使移植成为可能。而针对胰岛移植特点的多基因改造可能会制造出合格的供猪。Bottino 等人进行了四项基因改造,包括GTKO、表达hCD46、表达组织因子途径抑制物(hTFPI)、CTL4-Ig,以达到抗炎、预防血栓形成和抑制细胞免疫反应的目的,取得了初步成效,在猪-猴的胰岛移植模型中,胰岛存活超过1年^[7]。CRISPR/Cas9 基因组编辑技术的最新进展可能在不久的将来成为改造异种移植供体的主要途径。

对于异种胰岛移植,可以充分借助基因工程、细胞包被等新技术,降低异种移植排斥反应。例如在大洋洲和南美洲进行了使用微囊进行腹膜内猪胰岛移植的临床试验^[8],微囊为异种胰岛提供了一个相对免疫隔离的环境,而其半透膜的属性又允许胰岛素和营养物质的交换。

2. 干细胞诱导分化

近年来,来源于ES、iPS的类胰岛(胰岛素分泌细胞)移植的研究进展迅速。在小动物实验模型中,已经显示出治愈糖尿病的可能性。干细胞诱导分化联合应用胰岛包被技术,有望成为提供大量有功能的胰岛素分泌细胞的新方法。采用宏观封装装置将诱导分化的干细胞植入皮下,可减轻肿瘤形成的风险,并保护细胞免受同种异体免疫和自身免疫的侵扰^[9]。此外,已经开发了能够促进胚胎干细胞(ESC)来源的 β 细胞血管生成的第二代装置,并开始临床试验(NCT03162926)。

胰岛移植已经成为治疗糖尿病的有效手段。随

着胰岛分离技术的发展、胰岛植入方法的改进,预计在不久的将来胰岛移植效果会有进一步的改善。此外,随着替代移植部位的发展和新的细胞来源,包括猪胰岛细胞和ES/iPS来源的类胰岛,以及生物材料在胰岛移植中的应用,有望在未来建立糖尿病的“按需”和“无限制”细胞疗法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Foster ED, Bridges ND, Feurer ID, et al. Improved health-related quality of life in a phase 3 islet transplantation trial in type 1 diabetes complicated by severe hypoglycemia [J]. *Diabetes Care*, 2018, 41 (5): 1001-1008. DOI: 10.2337/dc17-1779.
- [2] Pepper AR, Bruni A, Shapiro AMJ. Clinical islet transplantation: is the future finally now[J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2018, 23 (4): 428-439. DOI: 10.1097/MOT.0000000000000546.
- [3] Qi M, Kinzer K, Danielson KK, et al. Five-year follow-up of patients with type 1 diabetes transplanted with allogeneic islets: the UIC experience[J]. *Acta Diabetol*, 2014, 51(5): 833-843. DOI: 10.1007/s00592-014-0627-6.
- [4] Berman DM, Molano RD, Fotino C, et al. Bioengineering the endocrine pancreas: intraomental islet transplantation within a biologic resorbable scaffold[J]. *Diabetes*, 2016, 65(5): 1350-1361. DOI: 10.2337/db15-1525.
- [5] Kuwabara R, Hamaguchi M, Fukuda T, et al. Long-term functioning of allogeneic islets in subcutaneous tissue pretreated with a novel cyclic peptide without immunosuppressive medication[J]. *Transplantation*, 2018, 102(3): 417-425. DOI: 10.1097/TP.0000000000001923
- [6] Schuetz C, Anazawa T, Cross SE, et al. β Cell replacement therapy: the next 10 years[J]. *Transplantation*, 2018, 102(2): 215-229. DOI: 10.1097/TP.0000000000001937.
- [7] Bottino R, Wijkstrom M, van der Windt DJ, Hara H, Ezzelarab M, Murase N, et al. Pig-to-monkey islet xenotransplantation using multi-transgenic pigs. *Am J Transplant* (2014) 14:2275-2287. DOI: 10.1111/ajt.12868
- [8] Matsumoto S, Abalovich A, Wechsler C, et al. Clinical benefit of islet xenotransplantation for the treatment of type 1 diabetes [J]. *EBioMedicine*, 2016, 12: 255-262. DOI: 10.1016/j.ebiom.2016.08.034.
- [9] Agulnick AD, Ambruzs DM, Moorman MA, et al. Insulin-producing endocrine cells differentiated in vitro from human embryonic stem cells function in macroencapsulation devices in vivo[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4(10): 1214-1222. DOI: 10.5966/sctm.2015-0079.

(收稿日期:2019-07-10)