



评述

干细胞治疗糖尿病的研究现状及展望

刘晓芳^{①†}, 王韞芳^{②†}, 李亚里^{①*}, 裴雪涛^{②*}

① 解放军总医院妇产科, 北京 100853;

② 军事医学科学院野战输血研究所干细胞与再生医学实验室, 北京 100850

† 同等贡献

* E-mail: Liyali301@yahoo.com.cn; peixt@nic.bmi.ac.cn

收稿日期: 2013-01-10; 接受日期: 2013-01-22

国家高技术研究发展计划(批准号: 2012AA020501)资助项目

摘要 糖尿病是一类伴有不同程度胰岛素分泌缺乏或胰岛功能障碍的代谢性疾病, 胰岛细胞替代治疗和再生治疗或将成为未来治愈糖尿病的有效途径之一. 目前, 除了从供体获得胰岛细胞外, 还可以通过分化、重编程、转分化等方法, 以胚胎干细胞、诱导多能干细胞、成体干细胞、间充质干细胞和/或肝干细胞等为来源获得有功能的胰岛素分泌细胞. 本文探讨了干细胞作为治疗糖尿病替代细胞的前景及面临的挑战.

关键词干细胞
糖尿病
细胞治疗
胰岛素分泌细胞

1 糖尿病概况及治疗现状

糖尿病是以血糖升高为特征, 由胰岛素分泌缺乏或功能障碍导致糖代谢紊乱引起的代谢性疾病. 目前, 世界上成人糖尿病患者约 3.46 亿, 预计 2030 年, 糖尿病发病人数将达到 40 亿^[1]. 根据发病原因将糖尿病分为 3 类: ① I 型糖尿病(type I diabetes mellitus, T1DM): 是 T 细胞介导的自体免疫性内分泌疾病. 目前普遍认为, 免疫功能紊乱是 T1DM 的主要发病机制, T1DM 有较强的遗传易感性, 当这类人群与环境诱发因素相接触后, 使 T 细胞功能改变, 分泌大量的白介素 2、 γ 干扰素等细胞因子触发自体胰岛的炎症反应, 致使胰岛 β 细胞破坏和功能损害, 胰岛素分泌缺乏引发 T1DM^[2]. ② II 型糖尿病(type II diabetes mellitus, T2DM): 在正常情况下, 胰岛素通过激活肌肉、肝脏、脂肪组织中的胰岛素信号通路达到降低血糖的功能. 但在 II 型糖尿病患者中, 胰

岛素的这一重要功能受损, 外周组织(肌肉、肝脏、脂肪组织等)对胰岛素敏感性下降, 早期表现为高胰岛素血症和胰岛素抵抗, 持续高血糖和 β 细胞过度刺激都会损伤 β 细胞, 导致严重的 β 细胞功能缺陷, 胰岛素分泌受损而发病. 胰岛素耐受及 II 型糖尿病的发病与遗传、肥胖和不良生活方式等因素相关, 但其分子机制至今尚不清楚^[3]. 尽管 T1DM 和 T2DM 的发病机制不同, 但其病理改变相似, 包括葡萄糖耐受不良、高血糖、高脂血症及相关脏器的并发症. ③ 妊娠糖尿病: 糖尿病的一种特殊类型. 妊娠导致生理性胰岛素耐受及各种抗胰岛素效应的激素分泌增多, 胰岛素的需求量相应增多, 在妊娠中期达到高峰, 由于胰岛素分泌受限, 孕妇不能维持代偿性的生理变化即可导致高胰岛素血症和高血糖症状, 血糖在胎儿出生后恢复正常. 糖尿病合并妊娠或妊娠期糖尿病, 会显著提高胎儿宫内死亡率和新生儿病死率, 影响母婴健康.

引用格式: 刘晓芳, 王韞芳, 李亚里, 等. 干细胞治疗糖尿病的研究现状及展望. 中国科学: 生命科学, 2013, 43: 291-297

英文版见: Liu X F, Wang Y F, Li Y L, et al. Research status and prospect of stem cells in the treatment of diabetes mellitus. Sci China Life Sci, 2013, 56: 306-312, doi: 10.1007/s11427-013-4469-1

尽管现代医学在治疗糖尿病方面有了长足进步, 但 T1DM 和部分 T2DM 仍终身需要外源性胰岛素治疗, 从而增加了感染、酮症酸中毒、低血糖及视网膜、神经、肾脏、心脑血管疾病^[4]等慢性并发症的危险. 尽管随着胰腺或胰岛移植等手段建立内源性胰岛素分泌系统已经取得了令人瞩目的进展^[5,6], 但供体器官的严重缺乏阻碍了它的广泛应用. 因此, 开发干细胞移植或许是根治 T1DM 的更好选择.

干细胞是一群具有高度自我更新和多向分化潜能的细胞, 理论上具有分化为人体所有组织器官类型细胞的能力, 因而是再生医学和组织工程的理想细胞来源. 自从发现干细胞可以补充成熟器官中的衰老、损伤或死亡细胞以来, 已被越来越广泛地尝试用于多种终末期、难治性疾病(如心肌梗死、严重烧伤、神经系统退行性病变等)的研究中. 本文总结了近年来干细胞来源的胰岛素分泌细胞(insulin product cell, IPC)用于治疗糖尿病的研究进展.

2 糖尿病的干细胞替代治疗研究现状

自从 1920 年发现并分离胰岛素以来, 外源胰岛素替代已经成为控制血浆葡萄糖水平的主要治疗手段. 糖尿病源于特定类型细胞功能的丢失, 理论上讲, 胰腺移植可以实现以细胞替代为基础的治疗, 弥补损失的β细胞功能. 从 1966~2008 年, 共开展了超过

30000 个胰腺的移植手术^[7]. 由于胰腺移植手术操作复杂, 术后并发症多, 进一步开展了胰岛移植的研究, 证实移植后血清 C 肽水平提高. 胰岛移植具有操作简单和微创优势. 2000 年, Edmonton 方案使 7 个患者实现了平均 11.9 个月摆脱胰岛素治疗^[8]. 尽管胰腺移植和胰岛移植均取得了良好的治疗效果, 但均无法避免所有器官移植共同面临的供体来源的严重缺乏问题.

虽然胰腺移植和胰岛移植不能成为治疗复杂糖尿病的常规治疗手段, 但是β细胞移植的成功为干细胞的治疗开启了一扇大门. 干细胞的多向分化潜能和自我更新的特性, 使其在细胞替代治疗、发育生物学等领域的研究中有着独特的作用和优越性. 干细胞治疗糖尿病具有以下优势: 不受供体来源的限制; 可以提供功能性β细胞的长期来源; 自体干细胞来源的胰岛细胞可避免同种异体移植带来的排斥反应, 从而减少免疫抑制治疗的需要; 分泌多种细胞因子, 改善病变胰腺的局部微环境从而改善预后. 目前用于β细胞替代的干细胞来源包括: 胰腺干细胞、肝干细胞、间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)、胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)和诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)等(表 1).

2.1 胰腺干细胞

胰岛包含 4 种不同类型的功能细胞: 分泌胰高血

表 1 各类干细胞在糖尿病细胞治疗研究中的运用

干细胞类型	来源	诱导分化策略	体外功能验证 (糖反应性)	IPC 移植数量及途径	体内功能验证 (糖反应性)	有利因素	局限性
胚胎干细胞 CyT49, H8, H9 ^[9,10]	内细胞团	分阶段诱导	有, 弱	(2~7)×10 ⁶ 经肾包囊, (0.15~1)×10 ⁷ 经附睾脂肪垫	有	数量无限制; 利于发育生物学研究	免疫排斥; 成瘤性; 伦理学限制
诱导多能干细胞 ^[11,12]	皮肤成纤维细胞、胰腺细胞、精原细胞	分阶段诱导	有, 弱	(2~7)×10 ⁶ 经肾包囊	有	自体来源的细胞; 无免疫原性; 无伦理学限制	表观遗传学基因修饰
肝干细胞 ^[13~15]	肝卵圆细胞、肝胆管细胞、WB 细胞	腺病毒感染	未检测、有	无	有	取材方便; 与胰岛细胞具有共同的干祖细胞, 易于诱导分化	扩增效率低; 表观遗传学基因修饰
成体干细胞 ^[16~18]	胰腺 胰管细胞、胰岛细胞、外分泌腺细胞	流式细胞术分选 PDX1 细胞; 腺病毒感染	未检测、有	350~500 胰腺祖细胞球, (2~7)×10 ⁶ 经肾包囊	有	理论上可直接应用, 不需诱导分化	增殖效率低, 无良好的扩增方法
间充质干细胞 ^[19~21]	骨髓、脂肪、脐带、脐血、骨膜	体外分阶段诱导	有, 弱	4.2×10 ⁷ 经尾静脉, 2×10 ⁶ 经肾包囊和远端脾静脉	有	取材方便; 移植后可调节全身免疫反应; 改善局部微环境	诱导后长期体外培养有恶性转化倾向; 体内移植有成瘤风险; 直接移植后是否能在体直接分化成 IPC 仍有争议

糖素的 α 细胞、分泌胰岛素的 β 细胞、分泌生长抑素的 δ 细胞和pp细胞. 促进已有的 β 细胞扩增是新生 β 细胞的最直接和便捷的来源. 在胎儿出生后的发育过程中, β 细胞大量的扩增, 并且可以随着生理性的变化, 如妊娠、肥胖而大量扩增, 成年大鼠行90%胰腺切除术后, 胰腺组织和 β 细胞可以显著再生^[22], 提示 β 细胞具有再生能力, 但是, 对于新生 β 细胞是由已有 β 细胞分裂增殖而来, 还是由胰腺干细胞分化而来仍存在较多争议.

Wang 等人^[16]通过结扎大鼠胰管后发现大量新生胰岛形成, 其主要成分是 β 样细胞, 且新生 β 细胞不能完全用已存在的 β 细胞增殖来解释, 因此推测新生的 β 细胞来源于干细胞, 并且很可能来源于胰管细胞的分化和增殖. Xu 等人^[23]也证明, 在胰管结扎术后会有神经元素3(neurogenin 3, NGN3)阳性的细胞出现, 并且这些细胞在体外适当的条件下可以分化为胰岛素分泌细胞. Inada 等人^[24]的研究也支持出生后的胰管、腺泡和胰岛均来源于胰管上皮细胞的理论. 尽管如此, 管腔上皮是 β 细胞来源的理论仍然争议不断. Furuyama 等人^[25]用谱系追踪方法, 采用多种体内刺激胰腺再生的实验, 均未发现胰管祖细胞来源的 β 细胞. 因此推测, 在胚胎发育过程中, 内分泌细胞从胰管的上皮细胞中分离出来后就与SOX9(SRY-related high mobility group-box gene 9)阳性的祖细胞分开了, β 细胞是通过已有的 β 细胞自我扩增来维持的. Solar 等人^[26]用仅在胚胎胰腺的管腔上皮中表达却不在成体胰腺的管腔中表达的肝细胞核因子1 β (hepatocyte nuclear factor 1 β , HNF1 β)做标记示踪, 证明了 β 细胞的非胰管起源. 当然, 目前所用的谱系追踪手段都有局限性, 能被标记的细胞效率非常低, 因此有大部分的管腔细胞未被标记, 所以管腔细胞中是否存在 β 细胞的祖细胞仍无确切答案.

科学家在人类和大鼠的胰岛中也发现了多潜能细胞, 它们可以分化成各种类型的胰腺内分泌细胞. 但是 Bonner-Weir 等人^[27]认为, 在一定程度上 β 细胞的生长和再生过程并未涉及到特异性的祖细胞, 主要是通过成熟 β 细胞缓慢复制产生的; Brennand 等人^[28]也证实, β 细胞是通过缓慢复制来自我维持的一群同源细胞. 如果能在自然条件下促进 β 细胞扩增是最理想的状态. 虽然已发现有很多分子通过不同的机制促进 β 细胞增殖, 如葡萄糖转运蛋白1(glucose transporter 1, GLP1)、促肾上腺皮质激素释放因子受

体1(corticotrophin releasing factor receptor type 1, CRFR1)等^[29], 但是真正的机制还不清楚. 因此, 从 β 细胞获得充足的新生 β 细胞目前还很困难. 阐明 β 细胞自我复制的机制是从 β 细胞获得新 β 细胞的关键. 尽管胰腺干细胞的来源存在争议, Smukler 等人^[17]已经利用谱系追踪和流式分选相结合的方法分离胰管和胰岛组织中的胰十二指肠同源盒基因1(pancreatic-duodenal homeobox 1, PDX1)阳性-胰岛素阳性-葡萄糖载体2(glucose transporter 2, GLUT2)阴性细胞, 在体外成球形扩增且分化为各种类型的胰腺细胞, 并改善STZ小鼠的高血糖症状. 因此, 将该群细胞定义为胰腺祖细胞.

胰腺中的主要细胞类型外分泌腺细胞也是替代 β 细胞的来源之一. PDX1是胰腺祖细胞阶段特异性转录因子, 还是一个可以自发诱导并自我加强表达的基因. 与内分泌细胞一样, 外分泌细胞同样起源于PDX1阳性的胰腺祖细胞, 而且在合适的条件下, 外分泌腺细胞可以被诱导出内分泌细胞的表型特征^[30]. 2008年, Zhou 等人^[18]利用3个转录因子PDX1, NGN3和巨噬细胞激活因子A(macrophage activating factor A, MafA)将胰腺外分泌细胞转分化成 β 样细胞. 虽然这些细胞在大小、形态和超微结构上与内在的 β 细胞有很大的不同, 但是可分泌胰岛素并减轻高血糖症状.

2.2 胚胎干细胞和诱导多能干细胞

早期对ESCs的研究主要集中于小鼠ESCs, 通过体外诱导分化仅可以获得少量胰腺细胞(1%~3%)^[31]. 应用ESCs的问题在于, 虽然体外诱导分化可以产生胰腺内分泌细胞, 但是分化的过程无法精确控制, 也无法判断细胞中的胰岛素是合成的还是从诱导培养基中摄取的^[32]. 目前, 普遍认为 β 细胞的功能维持依赖于胰岛中的微环境, 尤其是 β , α 和 δ 细胞间的相互作用. Kahan 等人^[33]证实, 鼠ESCs只有在其他胰岛细胞存在的情况下才能保持最佳的分化状态, 特别强调微环境在胚胎干细胞分化中的重要性. 基于此点, 科研人员将诱导到胰腺内分泌祖细胞阶段的胚胎干细胞移植入体内, 继续观察其成熟情况和治疗作用.

Brolen 等人^[32]将人ESCs诱导至胰腺祖细胞阶段, 尽管这些诱导细胞表达PDX1而被证实为胰腺祖细胞, 但是并不能分泌胰岛素, 也没有糖反应性, 而将PDX1阳性的胰腺祖细胞移植入体内后却可以继续分

化成熟, 具有合成和加工胰岛素的能力. 这些与 Kahan 等人相似的研究结果表明, 人 ESCs 可以对体内环境信号做出反应并分化形成胰岛内分泌细胞, 同时也为鼠体内环境和人细胞之间存在关联提供了证据, 提示在人和鼠之间存在胰岛发育的保守机制.

D'Amour 等人^[34]的成果是人们研究如何获得人 ESCs 来源的胰腺内分泌细胞的重要里程碑. 他们首次利用发育生物学知识, 根据胰腺的胚胎发育过程, 在体外模拟胰腺发育中的关键步骤, ESCs 的诱导分化历经定型内胚层期、原始消化管期、前肠后端胰腺前体期、胰腺内胚层期和内分泌内胚层期 5 个阶段, 进行相互区分又连贯的诱导, 最终获得胰岛素分泌细胞. 这类细胞具有同人类胚胎胰岛相近的胰岛素表达水平, 可以在氯化钾及多种促分泌剂的刺激下分泌胰岛素, 但遗憾的是对葡萄糖的刺激却没有反应. 葡萄糖刺激胰岛素分泌是评价 β 细胞功能成熟的一个重要指标, 新生儿的胰岛在出生后的 4 周左右才具有正常的功能, 说明 D'Amour 等获得的内分泌细胞处于尚未成熟的胰岛阶段. 由于对体内胰岛功能成熟机制的不了解, 人们始终没有发现在体外促进胰岛成熟的有效方法. Kroon 等人^[9]为了继续验证这群细胞的成熟能力和治疗效果, 将 ESCs 诱导到相当于胚胎 6~9 周的胰腺祖细胞阶段, 移植入小鼠体内使其进一步成熟, 在移植 40 天后, 给予葡萄糖刺激, 可以在受体小鼠体内检测到 C 肽释放, 提示在小鼠体内可以从头合成胰岛素. 更重要的是, 这些细胞可以纠正链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导的小鼠高血糖症. 上述研究表明, 在适当的诱导方案下, 体外可以获得分泌胰岛素的胰岛样细胞, 移植入体内后可以促进胰岛样细胞的继续成熟, 获得正常 β 细胞的功能. 在 D'Amour 等人研究后, 人们将更多的精力集中在如何提高 ESCs 向胰腺祖细胞的分化效率上. Chen 等人^[10]发现的小分子 Indolactam V 在体内外均可以促进人 ESCs 向 PDX1 阳性细胞分化, 这为如何获得大量的 ESCs 来源的 β 细胞提供了新的方法.

除了 ESCs, iPSCs 也为治疗糖尿病带来了希望, Bar-Nur 等人^[12]将 β 细胞来源的 iPSCs 诱导分化为分泌胰岛素的 β 样细胞, 这些细胞可以在葡萄糖刺激下分泌胰岛素, 在移植入 II 型糖尿病小鼠体内后, 可以分泌胰岛素, 使糖化血红蛋白水平正常并纠正高血糖, 为临床应用 iPSCs 治疗 I 型/II 型糖尿病提供了证据. 目前, 诱导 iPSCs 形成的普遍策略是利用病毒

的基因整合技术, 可使导入的基因自发重活化, 从而存在形成肿瘤的风险. 随着研究方法的改进, iPSCs 的安全性得到提高, 增强了临床应用的可能. Stadtfeld 等人^[35]建立了一种利用腺病毒产生 iPSCs 的方法, 可在细胞内短暂并高水平表达外源性基因, 却不会整合到宿主的基因组内, 确保了 iPSCs 临床应用的安全性. 另外一种产生 iPSCs 的方法, 是将精原干细胞通过在干细胞的培养基中加入合适的生长因子, 重编程为具有分化为 3 胚层细胞的多向潜能的 iPSCs^[36], 由于转化过程中没有利用到外源基因, 不存在外源基因整合的威胁. 在 2010 年美国细胞生物学协会年会上显示, 精原干细胞来源的 iPSCs 诱导得到的 β 样细胞, 可以在体外对生理水平的葡萄糖产生反应, 并且降低糖尿病小鼠体内的葡萄糖水平.

尽管有这些鼓舞人心的结果, 但这些研究仍停留在 ESCs 或 iPSCs 治疗糖尿病的早期阶段. 人们对胰腺内分泌细胞的定向分化和胰岛功能成熟的机制仍不清楚. 同时, 另一个需要关注的问题是, 目前的研究都缺少 ESCs 或 iPSCs 治疗糖尿病的长期疗效观察和安全性分析, 这意味着在开展人类的临床试验前还有大量的工作要做.

2.3 骨髓干细胞

骨髓中包含两种完全不同类型的干细胞, 造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)和间充质细胞. 已成功将这两种细胞分化为多种细胞类型, 提示它们都具有多向分化能力. 骨髓干细胞易于从临床操作中获得, 使骨髓细胞成为糖尿病细胞治疗的研究热点之一^[37].

目前, 利用骨髓干细胞治疗糖尿病的研究侧重于^[38]: ① 外周静脉注射 MSCs 抑制自身反应性 T 细胞, 改善 T1DM 的自身免疫反应. Urban 等人^[39]研究表明, MSCs 免疫调节作用是辅助 β 细胞再生的机制之一. 研究人员给 STZ-辐射损伤小鼠注入骨髓 HSCs 和 MSCs 混合物, 成功地使高血糖水平恢复正常, 值得注意的是他们发现, MSCs 可以抑制胰腺中 β 细胞特异的 T 细胞增殖, 减少 T 淋巴细胞对新生 β 细胞的破坏, 从而相对增加 β 细胞的再生. ② 联合胰岛移植, 可使移植细胞逃避免疫监视, 提高移植物的存活率. 骨髓 MSCs 被证实可以同时抑制自体免疫和同种异体免疫, Ding 等人^[40]利用这一特性, 将骨髓 MSCs 与异体胰岛共同移植, 可以延长移植胰岛的存活时间和

长期维持血糖正常, 推测 MSCs 通过合成和分泌基质金属蛋白酶 2 和 9(MMP2/9)到细胞外基质中, 发挥免疫逃逸作用保护移植胰岛的存活. ③ 将骨髓 MSCs 分化为 IPC 用于细胞替代治疗. 人们对骨髓干细胞治疗作用集中在其多能性方面, 不论是体内实验还是体外实验都证实, 骨髓 MSCs 具有分化为 IPC, 并纠正糖尿病小鼠高血糖的能力^[19,21]. 但是, 科学家对骨髓 MSCs 分化成 IPC 的能力提出质疑, 因为分化的骨髓细胞只占移植总数中极少的一部分^[20], 而且重要的是, 在 MSCs 来源的 IPC 出现之前就已经观察到血浆葡萄糖水平的降低和系统胰岛素水平的提高. 因此, 骨髓 MSCs 治疗糖尿病的机制, 很可能是通过内分泌或旁分泌机制辅助已有的 β 细胞, 刺激增殖和胰岛素分泌, 进行对血糖的控制, 而不是直接分化成 β 细胞.

这些体内的研究详细阐述了骨髓干细胞刺激损伤胰腺组织中 β 细胞再生的潜能, 不同的研究侧面分别揭示了骨髓干细胞发挥作用的不同机制. 虽然还不能详尽阐明所有机制, 但是骨髓干细胞可以刺激受损胰腺中 β 细胞的再生, 抑或是诱导后成为替代 β 细胞来源, 对于糖尿病的治疗作用都是毫无疑问的, 骨髓干细胞是作为未来细胞治疗或治愈糖尿病的一个不错的选择.

2.4 肝干细胞

在发育生物学上, 肝脏和胰腺均起源于内胚层, 拥有共同的祖细胞, 所以人们推测肝脏细胞也可作为 β 细胞的替代来源之一^[41]. 科学家通过腺病毒将外源 PDX1 或 NGN3 导入小鼠肝内, 可以诱导一系列胰腺内分泌和外分泌基因的表达, 而且这些转分化细胞可以在肝内长期存活, 新生的胰腺组织会在肝中央静脉周围形成簇, 在释放胰岛素的同时不影响肝脏的正常功能; 更重要的是, 这些分泌胰岛素的肝脏组织可以纠正 STZ 诱导的高血糖状态, 正常血糖水平可维持 8 个月之久^[15,42]. 不过, Yang^[43]发现在某些情况, PDX1 重编程的肝组织只能形成胰腺祖细胞, 仅在体外较高葡萄糖或体内高血糖水平状态下, 才能进一步分化为有功能的 IPC. 截至目前, 还没有证据证明被修饰的肝细胞可在体外扩增, 并继而获得足够数量的功能细胞用于移植治疗.

尽管如此, 肝组织仍然具有良好的应用前景, 而且不像胰腺干细胞那样颇具争议. 因为肝组织易于从

活检中获得, 并具有较强的再生能力, 这些优点使肝组织成为理想的转分化种子细胞来源. 未来应找到一种扩增体外转分化肝组织的有效方法. 此外, 在人体内诱导肝组织转分化的安全性也需要进一步探讨.

3 细胞治疗应用于糖尿病面临的问题及展望

尽管有如此多的证据证实, 干细胞可以使糖尿病患者几年内不依赖胰岛素而维持正常的血糖水平, 但是, 将干细胞真正用于糖尿病的临床治疗还面临许多问题. 首先, 充足的细胞数量是干细胞治疗糖尿病的主要挑战之一. 每位受体需要移植大约 10 万个胰岛进行治疗, 所以需要在体外制备大量的替代细胞. 尽管多个研究团队已经获得多种将干细胞分化为 β 样细胞的方法, 但由于目的细胞的分化效率不高, 这些方法用于临床还远不能满足治疗的需求, 需要在进一步阐明胰岛发育分化机制的基础上, 寻求一种更为有效的促进干细胞分化为功能性 β 细胞的方法, 像工厂一样制备大量的可移植细胞; 其次, 干细胞治疗伴随的诸多副作用不容忽视. Kroon 等人^[9]研究表明, 小鼠体内移植了人胚胎干细胞来源的胰腺细胞后生成畸胎瘤或其他组织成分的概率超过 15%. 另有研究表明, 体外扩增的 MSCs 也会增加肿瘤形成和/或转移的风险^[44,45], 这些安全问题都必须在细胞治疗进入临床试验前认真考虑和评估, 并采取相应的应对措施; 再次, 干细胞治疗相关的免疫排斥问题^[46]. 患者接受异体细胞治疗后需要进行免疫抑制治疗, 而免疫抑制药物具有抵抗胰岛素和抑制胰岛素分泌的作用, 进而增加了植入细胞维持适当血糖水平的难度. 此外, 免疫抑制药物还会增加发生恶性肿瘤的危险(尽管只在肾移植中发现过). 如果用于治疗 T1DM, 自体来源的替代细胞移植后, 会快速地被自身抗体破坏, 除非找到保护这类细胞的方法; 如果用于治疗 T2DM, 也同样受到质疑, 其 β 细胞的功能缺失通常与基因异常或改变密切相关; 因此, 利用 T2DM 病人来源的 β 样细胞进行移植治疗或许并不能长期地控制血糖.

任何一种新的治疗方法用于临床治疗前都会面临许多问题, 尽管有这些问题存在, 但仍有理由相信, 胰岛细胞的替代治疗和再生医学终将应用于临床, 为糖尿病患者带来全新的临床疗效甚至治愈的希望, 减轻个人的痛苦和社会的负担.

参考文献

- 1 Scully T. Diabetes in numbers. *Nature*, 2012, 485: S2–S3
- 2 van Belle T L, Coppieters K T, von Herrath M G. Type 1 diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies. *Physiol Rev*, 2011, 91: 79–118
- 3 Luan B, Zhao J, Wu H, et al. Deficiency of a beta-arrestin-2 signal complex contributes to insulin resistance. *Nature*, 2009, 457: 1146–1149
- 4 Nathan D M, Cleary P A, Backlund J Y, et al. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med*, 2005, 353: 2643–2653
- 5 Berney T, Johnson P R. Donor pancreata: evolving approaches to organ allocation for whole pancreas versus islet transplantation. *Transplantation*, 2010, 90: 238–243
- 6 Fridell J A, Rogers J, Stratta R J. The pancreas allograft donor: current status, controversies, and challenges for the future. *Clin Transplant*, 2010, 24: 433–449
- 7 Vardanyan M, Parkin E, Gruessner C, et al. Pancreas vs. islet transplantation: a call on the future. *Curr Opin Organ Transplant*, 2010, 15: 124–130
- 8 Shapiro A M, Lakey J R, Ryan E A, et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med*, 2000, 343: 230–238
- 9 Kroon E, Martinson L A, Kadoya K, et al. Pancreatic endoderm derived from human embryonic stem cells generates glucose-responsive insulin-secreting cells *in vivo*. *Nat Biotechnol*, 2008, 26: 443–452
- 10 Chen S, Borowiak M, Fox J L, et al. A small molecule that directs differentiation of human ESCs into the pancreatic lineage. *Nat Chem Biol*, 2009, 5: 258–265
- 11 Alipio Z, Liao W, Roemer E J, et al. Reversal of hyperglycemia in diabetic mouse models using induced-pluripotent stem (iPS)-derived pancreatic beta-like cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 13426–13431
- 12 Bar-Nur O, Russ H A, Efrat S, et al. Epigenetic memory and preferential lineage-specific differentiation in induced pluripotent stem cells derived from human pancreatic islet beta cells. *Cell Stem Cell*, 2011, 9: 17–23
- 13 Cardinale V, Wang Y, Carpino G, et al. The biliary tree—a reservoir of multipotent stem cells. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2012, 9: 231–240
- 14 Liu J, Liu Y, Wang H, et al. Direct differentiation of hepatic stem-like WB cells into insulin-producing cells using small molecules. *Sci Rep*, 2013, 3: 1185
- 15 Yechoor V, Liu V, Espiritu C, et al. Neurogenin3 is sufficient for transdetermination of hepatic progenitor cells into neo-islets *in vivo* but not transdifferentiation of hepatocytes. *Dev Cell*, 2009, 16: 358–373
- 16 Wang R N, Kloppel G, Bouwens L. Duct- to islet-cell differentiation and islet growth in the pancreas of duct-ligated adult rats. *Diabetologia*, 1995, 38: 1405–1411
- 17 Smukler S R, Arntfield M E, Razavi R, et al. The adult mouse and human pancreas contain rare multipotent stem cells that express insulin. *Cell Stem Cell*, 2011, 8: 281–293
- 18 Zhou Q, Brown J, Kanarek A, et al. *In vivo* reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to beta-cells. *Nature*, 2008, 455: 627–632
- 19 Ho J H, Tseng T C, Ma W H, et al. Multiple intravenous transplantations of mesenchymal stem cells effectively restore long-term blood glucose homeostasis by hepatic engraftment and beta-cell differentiation in streptozocin-induced diabetic mice. *Cell Transplant*, 2012, 21: 997–1009
- 20 Hess D, Li L, Martin M, et al. Bone marrow-derived stem cells initiate pancreatic regeneration. *Nat Biotechnol*, 2003, 21: 763–770
- 21 Kim S J, Choi Y S, Ko E S, et al. Glucose-stimulated insulin secretion of various mesenchymal stem cells after insulin-producing cell differentiation. *J Biosci Bioeng*, 2012, 113: 771–777
- 22 Bonner-Weir S, Baxter L A, Schuppin G T, et al. A second pathway for regeneration of adult exocrine and endocrine pancreas. A possible recapitulation of embryonic development. *Diabetes*, 1993, 42: 1715–1720
- 23 Xu X, D'Hoker J, Stange G, et al. Beta cells can be generated from endogenous progenitors in injured adult mouse pancreas. *Cell*, 2008, 132: 197–207
- 24 Inada A, Nienaber C, Katsuta H, et al. Carbonic anhydrase II-positive pancreatic cells are progenitors for both endocrine and exocrine pancreas after birth. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 19915–19919
- 25 Furuyama K, Kawaguchi Y, Akiyama H, et al. Continuous cell supply from a Sox9-expressing progenitor zone in adult liver, exocrine pancreas and intestine. *Nat Genet*, 2011, 43: 34–41
- 26 Solar M, Cardalda C, Houbracken I, et al. Pancreatic exocrine duct cells give rise to insulin-producing beta cells during embryogenesis but

- not after birth. *Dev Cell*, 2009, 17: 849–860
- 27 Bonner-Weir S, Li W C, Ouziel-Yahalom L, et al. Beta-cell growth and regeneration: replication is only part of the story. *Diabetes*, 2010, 59: 2340–2348
- 28 Brennand K, Huangfu D, Melton D. All beta cells contribute equally to islet growth and maintenance. *PLoS Biol*, 2007, 5: e163
- 29 Huisling M O, van der Meulen T, Vaughan J M, et al. CRFR1 is expressed on pancreatic beta cells, promotes beta cell proliferation, and potentiates insulin secretion in a glucose-dependent manner. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 912–917
- 30 Baeyens L, De Breuck S, Lardon J, et al. *In vitro* generation of insulin-producing beta cells from adult exocrine pancreatic cells. *Diabetologia*, 2005, 48: 49–57
- 31 Mfopou J K, Chen B, Sui L, et al. Recent advances and prospects in the differentiation of pancreatic cells from human embryonic stem cells. *Diabetes*, 2010, 59: 2094–2101
- 32 Brolen G K, Heins N, Edsbagge J, et al. Signals from the embryonic mouse pancreas induce differentiation of human embryonic stem cells into insulin-producing beta-cell-like cells. *Diabetes*, 2005, 54: 2867–2874
- 33 Kahan B W, Jacobson L M, Hullett D A, et al. Pancreatic precursors and differentiated islet cell types from murine embryonic stem cells: an *in vitro* model to study islet differentiation. *Diabetes*, 2003, 52: 2016–2024
- 34 D'Amour K A, Bang A G, Eliazar S, et al. Production of pancreatic hormone-expressing endocrine cells from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol*, 2006, 24: 1392–1401
- 35 Stadtfeld M, Nagaya M, Utikal J, et al. Induced pluripotent stem cells generated without viral integration. *Science*, 2008, 322: 945–949
- 36 Golestaneh N, Kokkinaki M, Pant D, et al. Pluripotent stem cells derived from adult human testes. *Stem Cells Dev*, 2009, 18: 1115–1126
- 37 Pileggi A. Mesenchymal stem cells for the treatment of diabetes. *Diabetes*, 2012, 61: 1355–1356
- 38 Moore R F. Utility of mesenchymal stem cell therapy in type 1 diabetes. *Stem Cell Cancer Stem Cell*, 2012, 6: 197–203
- 39 Urban V S, Kiss J, Kovacs J, et al. Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes. *Stem Cells*, 2008, 26: 244–253
- 40 Ding Y, Xu D, Feng G, et al. Mesenchymal stem cells prevent the rejection of fully allogenic islet grafts by the immunosuppressive activity of matrix metalloproteinase-2 and -9. *Diabetes*, 2009, 58: 1797–1806
- 41 Zaret K S, Grompe M. Generation and regeneration of cells of the liver and pancreas. *Science*, 2008, 322: 1490–1494
- 42 Ber I, Shternhall K, Perl S, et al. Functional, persistent, and extended liver to pancreas transdifferentiation. *J Biol Chem*, 2003, 278: 31950–31957
- 43 Yang L J. Liver stem cell-derived beta-cell surrogates for treatment of type 1 diabetes. *Autoimmun Rev*, 2006, 5: 409–413
- 44 Tang D Q, Wang Q, Burkhardt B R, et al. *In vitro* generation of functional insulin-producing cells from human bone marrow-derived stem cells, but long-term culture running risk of malignant transformation. *Am J Stem Cells*, 2012, 1: 114–127
- 45 Vajdic C M, van Leeuwen M T. Cancer incidence and risk factors after solid organ transplantation. *Int J Cancer*, 2009, 125: 1747–1754
- 46 Halban P A, German M S, Kahn S E, et al. Current status of islet cell replacement and regeneration therapy. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95: 1034–1043