

# 难治性复杂克罗恩氏肛周瘻管：自体微碎片脂肪组织注射的作用

\* *Silvio Laureti, MD, 博士, Paolo Gionchetti, MD, Alberta Cappelli, MD, Laura Vittori, MD, Federico Contedini, MD, Fernando Rizzello, MD, 博士, Rita Golfieri, MD, Massimo Campieri, MD, 和Gilberto Poggioli, MD*†‡\* § †‡†\*

**背景。** 复杂的肛周瘻管是克罗恩病最具挑战性的表现之一。今天，外科和医学结合生物药物治疗是一线治疗方案，但其疗效不超过60%。最近，新的治疗方法，如使用间充质基质细胞，已经显示出有希望的结果。脂肪组织丰富，易于获取来源。评价局部注射微碎片脂肪组织治疗难治性复杂性肛周克罗恩病(PCD)的有效性、安全性和可行性。

**方法。** 对15例经生物手术入路和随后的外科“抢救”修复后持续复杂的PCD患者进行了治疗。奥索拉-马尔皮吉医院，采用最小操作技术(Lipogems)在一个封闭的系统中制备了微碎片脂肪组织的单一局部给药。临床结果在24周随访中确定，评估成功率，定义为联合临床和放射缓解。

**结果。** 经24周临床检查，10例合并缓解(临床和X线)，4例好转，1例失败。所有患者的结果均通过盆腔MRI证实。无相关术后并发症及不良事件报道。

**结论。** 这些结果表明，局部注射自体微碎片脂肪组织是一种安全和有前途的“抢救治疗”患者的多重耐药复杂拳头化PCD。这种方法可以作为常规方法提出，因为它是负担得起的，是微创的，没有括约肌损伤的风险，并且可以在日间手术中进行。

关键词：肛周克罗恩病，复杂肛瘻，微碎片脂肪组织，间充质基质细胞，再生医学。

## 导言

肛周克罗恩病(PCD)影响高达42

有20年病史的CD诊断患者。<sup>1, 2</sup> 在他们的一生中，90%的CD患者直肠炎可能会受到肛周脓肿和/或肛门瘻管的影响。<sup>2</sup> 这些肛周脓毒性并发症是CD最具挑战性的表现之一，最终导致31%-50%的患者用永久性气孔切除直肠。<sup>3, 4</sup> PCD的治疗方案，特别是无牙疾病，传统上是为了缓解症状(主要是疼痛和引流)，提高患者的生活质量，推迟或避免永久性气孔。<sup>1</sup>

在过去的20年里，肿瘤坏死因子拮抗剂(抗肿瘤坏死因子- $\alpha$ )的引入从根本上改变了这一观点，将算法从简单的脓毒症控制转变为可能的愈合机会。生物治疗，当结合手术引流的肛周脓毒症，现在代表金标准的治疗拳头化PCD。<sup>1</sup> 在已发表的病例系列和对照试验中，已经证明了全身或局部给药抗TNF- $\alpha$ 药物的临床有效性。<sup>5</sup> 但总体成功率不超过60%。猪肠粘膜下层生物假体塞的有效性已在一些研究中进行了测试，在瘻PCD患者中有争议的结果。最近，在一项多中心随机对照试验中，Senejoux等人显示肛瘻塞后愈合率为33

收到2018年12月5日的出版物；2019年2月13日的编辑决定。

从\*外科的消化道，S。意大利博洛尼亚博洛尼亚医学外科大学奥索拉-马尔皮吉医院；

† 意大利博洛尼亚大学Orsola-Malpighi医院和医学和外科科学部IBD股；‡ 意大利博洛尼亚S.Orsola-Malpighi医院消化内科放射科；§ 意大利博洛尼亚大学Orsola-Malpighi医院整形外科和医学与外科科学部

作者贡献：PG和AC对这项工作做出了同样的贡献。在研究概念和设计、手术程序、数据采集、统计分析、数据解释、手稿撰写等方面，SL做出了贡献。PG对研究概念、设计和手稿写作做出了贡献。交流有助于研究概念和设计，MRI分析和数据解释。LV为外科手术、数据获取和手稿撰写做出了贡献。FC促进了外科手术。FR为研究理念、设计和稿件撰写做出了贡献。RG为研究理念和设计做出了贡献。MC对手稿的研究监督和批判性修订做出了贡献。全科医生为外科手术、学习监督和手稿的批判性修订做出了贡献。

通信地址：Silvio Laureti, 医学博士, 博士, 博洛尼亚大学外科副教授, 医学和外科科学系,

S.Orsola-Malpighi医院, 通过Massarenti9, 博洛尼亚, 意大利。电子邮件: 。西尔维奥。laureti2@unibo.it

©2019年克罗恩氏结肠炎基金会。由牛津大学出版社出版代表克罗恩氏和结肠炎基金会。

这是一篇根据Creative Commons Attribution Non-Commercial License License/by-nc/4.0/条款分发的开放访问文章，该文章允许在任何媒体中进行非商业重用、分发和复制，前提是原始作品被正确引用。(http://creativecommons.org/for-commer-

再次使用，请联系 journals.permissions@oup.com

DOI:

10.1093/ibd/izz051, 2019年3月28日在线发布

插入在拳头化PCD患者中,与单独切除SETON相比没有显著性差异。<sup>6</sup>应用内肛门粘膜推进皮瓣作为修复手术,取得了较好的效果。然而,这项技术,1998年由克利夫兰诊所集团描述,<sup>7</sup>只能尝试在高度选择的情况下,保留或治疗后愈合直肠粘膜和没有阴道瘘。

尽管生物治疗和手术结合,但无法实现完全关闭的患者的治疗仍然没有很好的定义。这些患者可能受益于创新的治疗方法,如间充质基质细胞(MSCs)。<sup>8-12</sup>间充质基质细胞已被报道具有血管周围起源(周细胞),并通过充当“站点调节的药物商店”来影响微环境。<sup>13</sup>通过营养、免疫调节和抗微生物作用,这些细胞“感觉”和“信号”改变了它们所在的微环境。<sup>14</sup>骨髓和脂肪组织是最容易获得的MSCs来源,脂肪组织更可取,因为它的丰富,容易获得,和简单的分离程序。<sup>15</sup>使用脂肪来源的MSCs(ASCs),或通过机械或酶处理获得的基质血管分数,<sup>16,17</sup>引起了很大的兴趣,因为体外和体内的研究都证实了它们的抗炎和再生特性。然而,酶处理和/或细胞膨胀受到复杂的调节问题。<sup>18,19</sup>因此,最小限度地操纵自体脂肪组织作为一种治疗方案的可用性将具有重要的临床意义。获取和处理脂肪组织的技术已经迅速发展,<sup>20</sup>公布的数据显示了使用脂肪及其衍生物的安全性和有效性。<sup>21</sup>

我们使用了一个商业上可用的系统,术中在短时间内提供微碎片脂肪组织,而不进行扩张和/或酶处理,洗去促炎油和血液残留物,同时保持基质血管生态位。<sup>22</sup>由此产生的产品已被证明是有效的治疗不同的病理,包括骨关节炎,肛门失禁,和正颌外科矫正。<sup>23-29</sup>因此,我们的目的是在一个小的试点研究中评估它的潜力,当结合外科引流复杂的拳头化PCD。研究的主要终点是联合缓解,定义为临床评估关闭所有治疗的外部开口,在基线引流和没有收集>3毫米的治疗肛周瘘管评估的盆腔MRI后24周。

## 材料和方法

### 研究设计与人口

这是一项非营利性的前瞻性试点研究(临床试验。政府编号NCT03555773),其中15例对生物治疗难治性PCD的复杂瘘管患者采用自体微碎片脂肪组织治疗。病人被选中

根据以下纳入标准:18岁以上,经仪器和组织学方法证实的CD诊断,以及复杂的瘘化PCD不符合标准治疗的存在(脓毒症的手术引流和抗TNF- $\alpha$ 的局部/系统给药至少1年,随后通过肛门内粘膜皮瓣或生物插头放置进行手术“抢救”修复)。根据美国胃肠病协会定义了复杂瘘管<sup>30</sup>包括高跨括约肌,累及超过30%的内外肛门括约肌、上括约肌、外括约肌、马蹄肌和多个轨道。患者有1个以上的内部和3个外部开口,有肛门和直肠阴道瘘,人类免疫缺陷病毒(HIV)、丙型肝炎病毒(HCV)、乙型肝炎病毒(HBV)、结核病、脓毒症不受控制的情况、研究期间可能需要普通手术的CD的腹部急性定位以及肿瘤或淋巴增生性活动性疾病被排除在外。不能安全收获足够数量的硫酸盐(至少60cc)的患者也被排除在外。

同时治疗,如在注册前4周给药低生物利用度类固醇或甲胺,在注册前6个月给药氮硫唑嘌呤或6-巯基嘌呤,在研究期间和注册期间允许稳定剂量。

入学后,收集病史和临床资料,进行术前检查和实验室检查(血沉[ESR]和C反应蛋白[CRP]。所有患者均行盆腔MRI预处理。使用疾病特异性(炎症性肠病问卷[IBDQ])和通用(短表36健康调查[SF-36])问卷评估肛周疾病活动指数(PDAI)和与健康相关的生活质量。

### 脂肪组织的收获

选择下/外侧腹部或-最终-大腿内侧/外侧作为全身或脊髓麻醉下脂肪组织采集的供体部位。在收获之前,供体部位注射100毫升克萊因溶液(500毫升生理盐水,1毫升肾上腺素千分之一IU和40毫升利多卡因2%)使用一次性17G钝套管连接到60毫升Luer锁注射器。然后,脂肪被收获(50到100cc)使用13G钝套管连接到一个20米的LVacLok注射器。

### 脂肪组织的处理

收获的脂肪立即在Lipogems处理试剂盒(Lipogems国际水疗中心,米兰,意大利)中进行处理,如前所述。<sup>22</sup>脂肪是一种一次性设备,机械地减少脂肪组织簇的大小,同时消除油性物质和血液残留物,具有促炎症特性()。整个过程是在1个手术步骤中进行的,完全沉浸在无花果。<sup>1</sup>

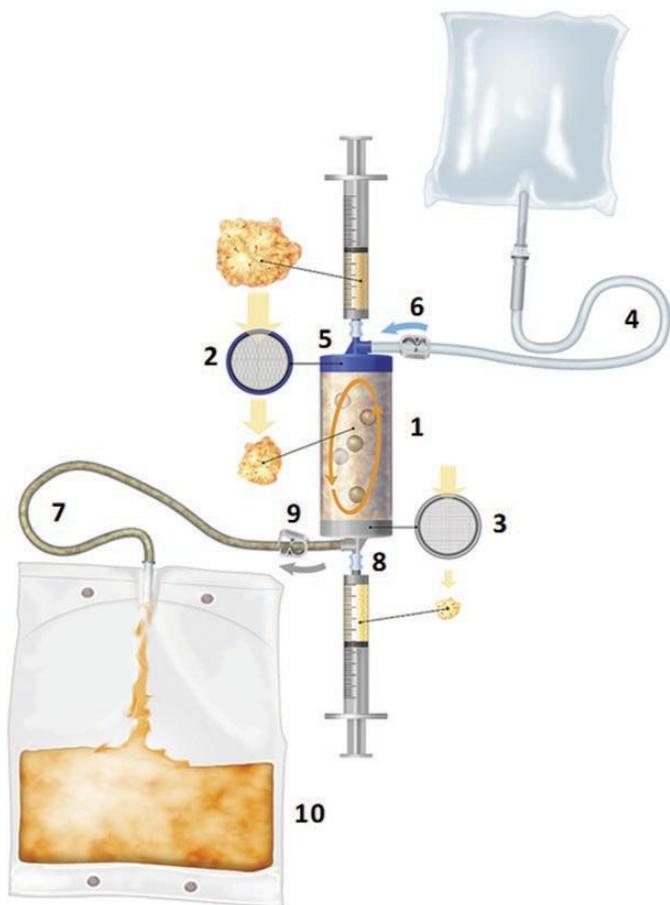


图1 Lipogems系统操作方案。该装置由(1)一个包含五个不锈钢球的加工单元;(2)一个输入筛子和(3)一个输出筛子;(4)一个生理盐水输入线, 连接到加工单元的蓝色侧;(5)一个带有Luer-锁连接的入口端口;(6)一个蓝色侧的自锁阀, 以装载硫酸磷酸盐;(7)一个连接到加工单元灰色侧的排水线;(8)一个带有Luer-锁连接的入口端口;(9)一个用于卸载加工材料的自锁阀;(10)一个废液收集袋。处理单元, 充满生理盐水溶液, 通过重力保持在流动状态。在盐水启动后, 插入装置中的脂肪组织通过输入筛子对脂质团簇进行第一次还原和微粉化。机械作用, 通过摇动加工单元, 允许乳化脂质质量, 从而减少聚集的。生理盐水溶液, 连续流动消除了油乳液和任何剩余血液成分的残留物。

生理解决方案, 尽量减少对细胞和微结构的任何创伤作用。处理后的微碎片脂肪被收集在一个60cc注射器中, 并定位于分解多余的盐水溶液。最后, 将产品转移到几个10cc注射器中, 在病人()中重新注射。无花果。2

### 外科手术和微碎片脂肪组织注射

在麻醉下进行检查, 以确定所有瘘管和脓肿; 最终化脓

材料被排出, 瘘管被治愈。坏死和发炎的组织被切除使用“锥状”瘘管切除在每个瘘管。<sup>31</sup> 经肛周疾病局部手术引流后, 用21G针向内瘘口周围粘膜下层和沿残留瘘管()的肛周组织注射20cc微碎片脂肪组织。无花果。2

### 后续访问和成果措施

所有患者在术后2(T2)、4(T4)、8(T8)、12(T12)和24(T24)周进行评估。在所有随访期间, 进行实验室检查(ESR, CRP)和临床检查(温柔手指压迫时没有引流)。在同一调查员进行的所有后续访问中, 都完成了PDAI。此外, 还发放了IBDQ和SF-36问卷。第二次盆腔MRI在T24进行放射学评估结果。瘘管愈合的放射学定义是基于T2高信号消失和脓肿>3mm。<sup>32</sup>

治疗-紧急不良事件(TEAEs)记录到T24。

### 主要终点

研究的主要终点是联合缓解在T24, 定义为临床评估关闭所有治疗的外部开口, 在基线引流和没有收集>3毫米的治疗肛周瘘管评估盆腔MRI。

### 二级终点

第二个终点是T24的临床缓解(即关闭所有治疗的外部开口, 在基线时引流, 尽管手指压迫温和)。在这个时间点, CRP、ESR、PDAI、IBDQ和SF-36的变化也被评估。

其他次要终点包括24个月随访时的临床缓解和复发率, 其中复发被定义为临床评估的重新开放任何治疗的外部开口与积极引流。

### 磁共振成像

使用1.5TMRI(SignaHDxt, GE医疗系统, 密尔沃基, WI, 美国)和一个8通道相控阵体, 没有内肛门线圈。该方案包括轴向T1和T2加权快速自旋回波(T1-WFSE和T2-WFSE)序列的5mm厚切片采集, 以评估形态学特征, 并提供对括约肌解剖的良好总体评价(用于评估瘘管-内瘘的扩展所必需的), 以及轴向、矢状和冠状面STIR(短Tau内翻恢复)序列的3mm厚切片采集, 以提供瘘管和邻近组织之间的良好对比, 并更好地评估软组织水肿

https://academic.oup.com/ibdjournal/advance-article-abstract/doi/10.1093/ibd/1zz051/5421354 下载, 由客人于2019年4月8日



图2。左) Lipogems装置; 中) 加工的微碎片脂肪组织; 右) 手术程序: 微碎片脂肪组织沿内瘘口周围向粘膜下层注射, 沿残余瘘道向肛周组织注射。

组织和炎症过程在肛周和周围区域的延伸。为了更好的解剖评估, 在分析先前获得的瘘管方向后, 如果瘘管方向分别为后侧或前后, 则使用冠状T2-WFSE或矢状T2-WFSE。

根据文献, 未使用增强相。为了保证标准的操作程序, MRI检查是由同一位经验丰富的放射科医生(AC)进行的, 他对临床结果视而不见。

### 统计数字

鉴于研究的探索性, 没有进行正式的样本量计算。在方案设计中, 从临床角度考虑, 15名患者被认为是足够的, 以获得可靠的结果。数据表示为均值和标准差。使用SPSS统计25.0软件(IBM, 美国)进行统计分析)。对于统计比较,  $\chi^2$  对所有分类数据进行检验, 对未配对组进行学生t检验。值 $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

### 道德考虑

这项研究得到了道德委员会的批准

s. 奥索拉-马尔皮吉医院(Lipogems-crohn2号协议, 编号4/2016/U/Sper, 2016年1月19日)。本研究中提到的所有程序都是按照道德标准和2000年修订的1975年《赫尔辛基宣言》执行的。患者被告知风险和利益, 并签署知情同意书。

### 结果

详细描述了入学时的学习人口。表1 患者15例(男性7例[46.7%]

8名女性[53.3%]年龄在22至58岁之间,

平均年龄为40.1岁(SD11.7)。在15例患者中, 有6例(40%)曾接受过腹部手术(主要是回盲部切除和次全切除术), 3例(20%)有一次回肠造口术。所有患者都有一个持续的肛瘘( $n=21$ ), 尽管不同的多种手术治疗。在所有患者中, 至少一次用塞顿进行双切除术。在15例患者中, 12例(80%)采用粘膜推进皮瓣, 15例患者中有3例(20%)采用塞入法治疗肛周疾病%)。肛门下渗3例(20%), 均采用Hegar扩张器自我扩张治疗。

在研究开始和随访期间, 还对人群的药理史进行了调查。所有患者以前都用生物制剂治疗了至少1年: 英夫利昔单抗7例(46.7%), 阿达利莫单抗10例(66.7%), 韦多利单抗3例(20%)。

在15例患者中, 7例(46.7%)在研究期间使用药理学药物: 1例使用皮质类固醇, 4例使用美沙拉嗪, 2例使用硫唑嘌呤。

在最后的随访(T24)中, 14例(93.3%)患者在外口轻度手指压迫时出现无引流的临床缓解, 10例(66.7%)出现联合缓解(平均愈合时间: 10周, 和)。只有1例(6.6%)的瘘管持续引流失败。在24个月的随访中, 结果保持不复发。表2 无花果。3

在最后随访(T24)中, CRP、ESR和PDAI与基线(T0)值相比有所降低(CRP、 $1.1 \pm 1.0$ mg/dL在T24对 $1.7 \pm 1.1$ mg/dL在T0; ESR、 $26.7 \pm 12.8$ mm在T24对 $19.3 \pm 14.1$ mm在T0; PDAI、 $4.3 \pm 2.8$ 在T24对7.5和2.1在T0)。

IBDQ评分增加( $160.9 \pm 57.8$ 在T24对 $143.1 \pm 38.5$ 在T0), 而SF-36的身体(PCS)和精神评分(MCS)没有显著变化(PCS、 $40.1 \pm 10.8$ 在T24对 $41 \pm 9.2$ 在T0; MCS:  $39.1 \pm 12$ 在T24对 $33.7 \pm 11.3$ 在T0, , , , )。无花果。4a b c

虽然有临床相关的改善趋势

https://academic.oup.com/ibdjournal/advance-article-abstract/doi/10.1093/ibd/1zz051/5421354 下载, 由客人于2019年4月8日

表1. 研究人口在入学时的描述性特征

性别	年龄	狭窄	直肠炎	炎症	造口	CD诊断 (年)	手术	妇科切除术 (nr)	吻合	生物制剂 (几个月的治疗)	进行中治疗	拳头型
1	m	22				7		y	y	IFX	阿萨, 阿	后马蹄形跨括约肌
2		47				23		y	y	IFX (21),		后马蹄形跨括约肌
3	m	31				10		y	y	Adalim	阿	后马蹄形跨括约肌
4	m	47				13	n	y	y	威多利兹	类固醇	
5	m	29	n	y	n	13	次全结肠切除术 术分流回肠造口	(1)	(2)	IFX (30),	n	线性经括约肌后马蹄形
6		34				11	口	y	y	IFX (3)	阿	线性经括约肌
7	f	45	n	y	n	23	n	(3)	(1)	IFX (36), Adalim	阿萨	后马蹄形跨括约肌
8		55				38	肠切除回盲肠 切除次全切除术	y	y	(12) IFX (10)	阿	后马蹄形跨括约肌 ...
9	m	33				13	肠切除次全切除术 术分流回肠造口	y	y	Adalim		线性经括约肌
10		27				5	腹部手术	y	y	Adalim (12)	n	线性经括约肌线性
11	f	56	n	n	n	34	n	(1)	(1)	Adalim (12)	ASA, AZA	经括约肌
12	f	32	n	y	n	11	n		n	IFX (24), Adalim	阿萨	线性经括约肌
13		35				15	回盲部切除次全 切开术分流回肠造口	y	y	(16)		线性经括约肌
14		58				12	n	y	n	Adalim (84)	n	线性经括约肌
15	f	51	y	n	n	26	n	(2)	n		n	线性括约肌间

男性: F, 女性; n, 否; y, 是; nr, 编号; IFX, 英夫利昔单抗; Adalim, 阿达利美单抗; Vedoliz, vedolizumab; ASA, 美沙拉

表2. 人口在入学(T0)和最后随访(T24)时的辐射特征)

磁共振 成像 身份证 拳头	T0MRI瘘管类 型	T0对外排 水开口	t0t2 高强度	磁共振 成像 有问题 >0.3毫 米	T24外部排水 口	t24t2 高强度	T24核磁 共振 有问题 >0.3毫 米	合并离 职	
1	1个分支	经括约肌	2	温和的	缺席	0	缺席	缺席	是 的
2	1个分支	经括约肌	2	高	缺席	1	温和的	缺席	不
3	1个分支	经括约肌	2	缺席	缺席	1	温和的	缺席	不 是 的
4	1个线性	经括约肌	1	高	缺席	0	缺席	缺席	不 是 的
5	1个分支	经括约肌	2	高	现在	0	缺席	缺席	是 的
6	1个线性	经括约肌	1	温和的	缺席	0	缺席	缺席	是 的
7	1个分支	经括约肌	2	温和的	现在	0	缺席	缺席	是 的
8	1个分支	经括约肌	2	温和的	现在	0	缺席	缺席	是 的
9	1个线性	经括约肌	1	温和的	缺席	1	温和的	缺席	不 是 的
10	1个线性	经括约肌	1	温和的	现在	0	缺席	缺席	不 是 的
11	1个线性	经括约肌	1	温和的	现在	0	缺席	缺席	是 的
12	1个线性	经括约肌	1	高	缺席	1	温和的	现在	不 是 的
13	1个线性	经括约肌	1	温和的	缺席	0	缺席	缺席	不 是 的
14	1个线性	经括约肌	1	高	现在	1	高	现在	不 是 的
15	1个线性	括约肌间	1	高	缺席	0	缺席	缺席	不 是 的

表3 在联合缓解组()的这些参数中观察到, 由于样本量小, 这些变化没有统计学意义( $P>0.05$ )。因此, 有效性与特定患者特征(年龄、性别、以前使用生物制剂、类固醇治疗,

美沙拉嗪和/或硫唑嘌呤, 以及回肠造口分流、直肠炎、回肠炎、造口术)的存在均有评价, 但除肛门狭窄外, 无显著性差异( $P=0.018$ )。事实上, 3例(60%)没有达到联合缓解的患者在入学时出现肛门狭窄。

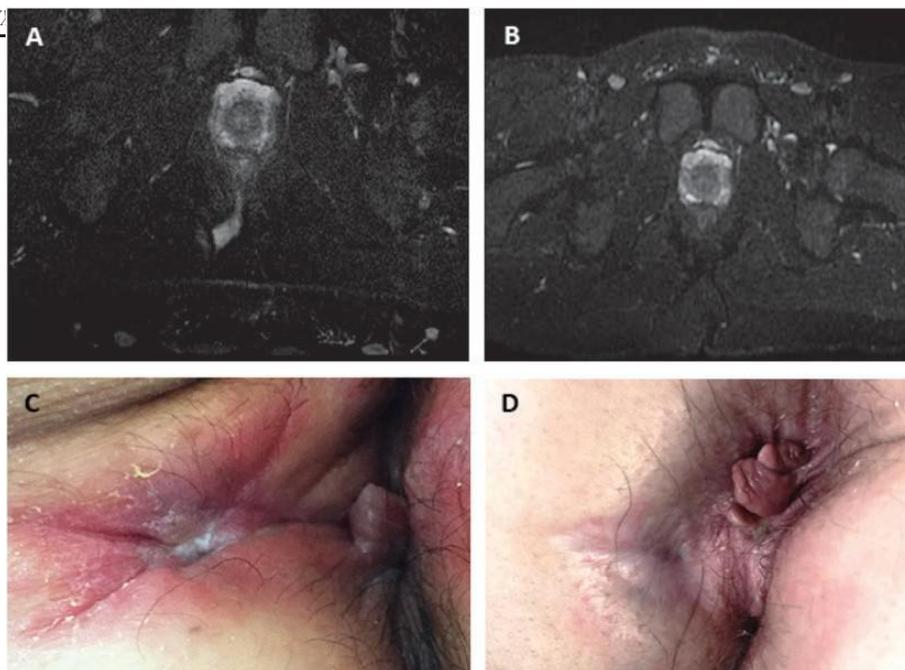


图3. 联合缓解患者的临床案例。 D. A, 男, 21岁。 外瘻口MRI(A, B)和数码照片(C, D)。 甲, 丙, 术前; 乙, 丁, 术后六个月。

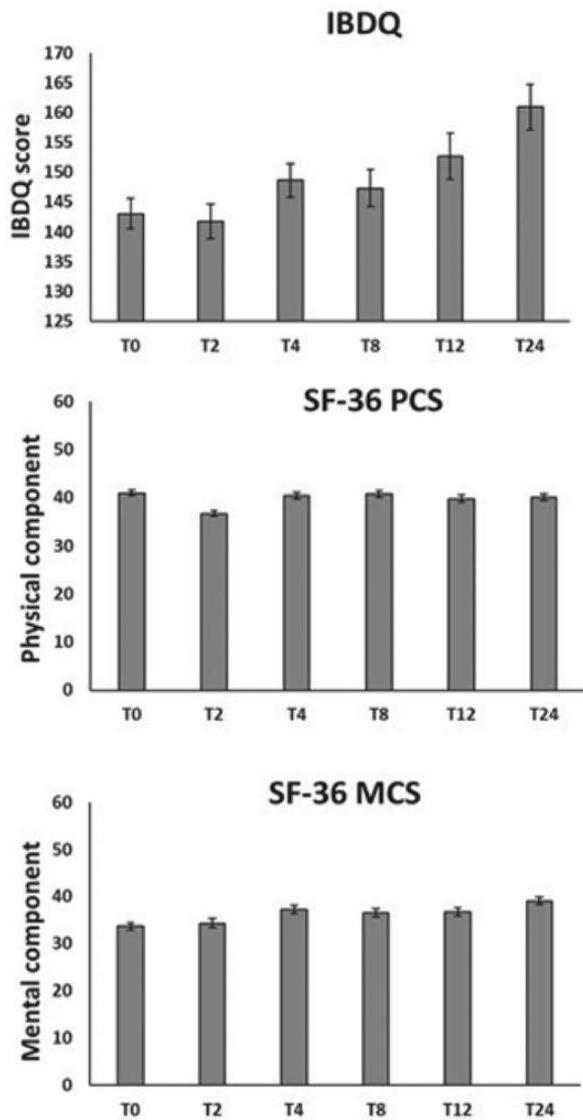


图4. 从基线到T24(手术后24周)健康相关生活质量的改善趋势)。炎症性肠病问卷(IBDQ)评分; B, 短式36个物理成分评分(PCS); C, 短式36个心理成分评分(MCS)。结果表示为均值和标准误差。黑条是联合缓解患者; 灰条是非联合缓解患者。

术后主要并发症均未发生。所有患者, 除1例肛周手术伤口出血, 经缝合后保守解决外, 均于术后次日出院。仅记录了与吸脂手术有关的轻微并发症。特别是, 大约20%的患者发生皮下血肿, 但没有一个需要额外的治疗, 所有这些都都在几周内自发解决。

表3. 结果摘要

	治愈(n=10)	未愈合(n=5)
<b>CRP (mg/d L)</b>		
基线	1.8 ± 1.0	1.6 ± 1.2
第24周	1.3 ± 1.1	0.6 ± 0.5
从基线变化	-0.5 ± 1.0	-1.0 ± 1.2
<b>ESR (mm)</b>		
基线	28.3 ± 11.5	23.4 ± 16.1
第24周	16.9 ± 9.2	24.0 ± 21.5
从基线变化	-11.4 ± 10.7	0.6 ± 24.8
<b>PDAI</b>		
基线	7.1 ± 1.9	8.2 ± 2.6
第24周	2.9 ± 1.9	7.2 ± 2.2
从基线变化	-4.2 ± 1.8	-1.0 ± 1.0
<b>ibdq</b>		
基线	150.0 ± 33.9	129.2 ± 47.2
第24周	175.3 ± 59.5	132.2 ± 46.8
从基线变化	25.3 ± 45.3	3.0 ± 21.6
<b>SF-36个人电脑</b>		
基线	42.8 ± 8.7	37.4 ± 10.2
第24周	41.2 ± 11.4	37.8 ± 10.3
从基线变化	-1.6 ± 7.8	0.4 ± 4.8
<b>SF-36MCS</b>		
基线	36.4 ± 8.2	28.4 ± 15.7
第24周	42.3 ± 10.3	32.8 ± 13.8
从基线变化	5.9 ± 7.8	4.4 ± 10.6

数据表示为均值±标准差。痊愈, 合并缓解的患者; 未痊愈, 未达到合并缓解的患者。

## 讨论

在本试验研究中, 我们首次报道了用非酶法在封闭系统中获得的自体微碎片脂肪组织的成功应用, 用于治疗复杂难治性瘘管PCD。

近年来, 在19例复杂特发性肛瘘患者中, 微量脂肪组织注射被测试为一线治疗或手术修复失败后的“抢救”治疗。作者报告了73.7%的愈合率, 定义为“关闭内外开口而不进行任何放电”。然而, 必须强调的是, 注射微碎片脂肪组织与通过内肛门粘膜皮瓣手术关闭内开口有关。

<sup>26</sup> 我们用一次微碎片脂肪组织获得的66.7%的完全愈合率是相当令人鼓舞的, 并且与以前使用不同方法在文献中描述的数据相比较。我们的结果是值得注意的, 如果我们考虑到极具挑战性的选定患者池, 他们已经通过联合生物外科方法和随后的多次修复手术治疗而不成功。

到目前为止, 复杂粉碎性PCD的一线治疗依赖于联合外科和医学治疗与生物药物的系统或局部使用, 这在一些控制试验中得到了证实, 愈合率在46%至75%之间。<sup>531, 33-37</sup> 然而, 尽管结合生物治疗和手术, 但无法实现完全关闭的患者的治疗尚未得到很好的定义。这些患者可能受益于利用间充质基质细胞(MSCs)的创新治疗方法<sup>8-12</sup> 因为这些细胞有能力作为一个“位点调节的药物储存”, 诱导炎症的减少和修复机制的激活。<sup>13, 14</sup> 自体骨髓间充质干细胞的瘘管给药<sup>9, 38</sup> 还有脂肪组织<sup>8, 10-12, 3940</sup> 已在第2阶段和第3阶段的临床试验中用于治疗难治性PCD, 无副作用。Garcia-Olmo等人将纤维蛋白胶与成人脂肪源性MSCs(ASCs)结合, 在70%以上的病例中获得短期成功, 长期下降到58%。<sup>11, 41</sup> 在随后的第三阶段随机对照试验中, 在整个西班牙的几个中心进行, 该小组确认了良好的结果, ASC增强纤维蛋白胶只有从主要作者的先锋中心。<sup>42</sup> 通过直接注射骨髓间充质干细胞, Ciccocioppo等人不仅取得了局部成功, 而且减轻了全身炎症。<sup>9, 38</sup> 在10例CD患者中, 通过ASC浸润治疗, Cho等人获得了44.4%的成功完全瘘管闭合率。<sup>8</sup> 最近, ADMIRECD组举行了一项第三阶段随机双盲安慰剂对照试验, 用于治疗对常规和/或生物治疗没有反应的患者的复杂PCD。Panes等人在24周时表现出50%的联合缓解率(临床评估所有治疗的外部开口关闭和没有收集>经蒙面的中央MRI证实的治疗肛周瘘管的2厘米), 在单一的局部给药同种异体扩张的ASCs(Cx601)后, 结合关闭内部开口与多胶质肌动蛋白可吸收的2/0针。<sup>43</sup>

尽管取得了令人鼓舞的结果, 这项技术还是被采用了

在所有这些试验中, 体外细胞扩增需要几个星期, 部分培养物因感染而丢失。这是一种昂贵和耗时的方法, 在日常临床实践中造成限制。与ASCs相比, 微碎片脂肪组织不需要任何酶处理, 从而不可避免地破坏基质血管壁龛。此外, 使用ASCs意味着与细胞扩张和广泛操作有关的复杂限制。<sup>18, 19</sup> 在这种情况下, 我们在本研究中选择的技术可能克服了上述所有问题, 因为它是1步, 微创, 并符合监管全景。注射的微碎片脂肪组织已被其他作者广泛研究和体外表征。<sup>22, 44</sup> 研究表明, 在完整的天然生态位中含有大量的细胞, 能够分泌多种生物活性分子

它通过旁分泌机制在靶组织中产生和维持血管生成、抗纤维化、抗凋亡和免疫调节反应。

与治疗相关的脓肿的发生, 由于瘘管的“假”关闭, 是PCD接受短期或长期英夫利昔单抗治疗的患者所关注的问题, 当“瘘管愈合”的定义仅基于临床检查, 并被定义为“在外口轻轻的手指压迫时没有引流;”复发的报告为12%<sup>45</sup> 和11%<sup>46</sup> 分别是案例。同样, Rasul等人证明, 虽然5毫克/千克英夫利昔单抗在8周时在49%的患者中产生临床缓解, 但只有6%的患者发生了完全的放射学愈合。<sup>47</sup> 在MSC和纤维蛋白胶的长期回顾性评估中,<sup>41</sup> 与治疗无关的MRI表现与临床瘘管状态之间没有对应关系, 很可能是因为闭合仅限于皮肤开口, 而不是整个瘘管。虽然PDAI提供了PCD严重程度的评估, 但它没有具体评估肛周瘘管的严重程度。此外, PDAI的一个限制是它可以受到腔内症状的影响, 因为它的5个结构域中有2个不是特殊的肛周。基于这些原因, 我们评估了结合稳健临床的愈合<sup>31</sup> 放射学MRI评估具有100%的准确性。<sup>43, 48</sup>

事实上, 没有病人报告治疗相关脓肿是重要的, 并证实了外科引流与瘘管切除术和再生治疗方法结合的有效性。注射是在将会阴部消毒后, 在粘膜周围的内孔和沿残余瘘管。用Lipogems装置获得的非常流动的脂肪, 可以很容易地通过精细的锋利针头(21至25G), 可以均匀地分布在促进内开口修复的目标组织中, 这是瘘管的真正来源, 可能随后关闭整个肠道。

最重要的是, 没有在内部开口处进行外科修复技术与微碎片脂肪注射相结合; 因此, 结果仅授予测试程序。由于样本量小, 无法确定与不成功结果相关的任何因素。分流造口、轻度直肠炎或空肠炎的存在对预后没有显著影响。只有肛门狭窄, 由于术后疤痕或炎症, 导致愈合的可能性显著降低; 事实上, 在5例没有获得完全关闭的患者中, 有3例在登记时表现为肛门下陷。这一发现与先前的研究一致, 这些研究定义了肛管狭窄, 特别是当与化脓性疾病相关时, 作为维持肠道连续性可能性的不良预后指标。<sup>4</sup>

此外, 由于复杂的拳头化PCD对健康相关的生活质量有负面影响, 我们使用了2

验证问卷,以解决个人影响,一个疾病特异性(IBDQ)和另一个通用(SF-36)。肛门疼痛和不适是影响生活质量的不利因素,自我报告的抑郁症状经常同时观察,突出了对生活质量的负面影响。<sup>49</sup>此外,活动肛周瘻管患者由于其疾病而报告工作残疾率较高,这可能导致巨大的经济负担。<sup>50</sup>我们在这里已经证明,在微碎片脂肪注射后,与术前情况相比,愈合患者的IBDQ评分有所改善,尽管由于样本量小,而且可能是由于治疗后太早给药而变化不大。也许,由于肛周疾病的稳定缓解,12个月和24个月的管理局本可以对生活质量产生更明显的积极影响。

最后,同样重要的是,没有与脂肪组织收集和注射和/或手术治疗有关的副作用。我们只记录了1例患者术后12小时内手术伤口的轻微出血,需要缝合。

这当然只是一个初步的经验,处理少数病人没有对照组。然而,根据我们的临床经验,这些患者除了维持生活质量严重受损的塞顿或接受永久性造口术的直肠切除术外,没有其他治疗方法。

## 结论

局部注射自体微碎片脂肪组织治疗复杂的瘻化PCD是简单,可行,安全的。这项技术的常规应用可能会对那些反复、难治性和复杂的肛周瘻管患者产生重大影响,这些患者通常需要反复手术,并有括约肌损伤和大便失禁的风险,最终还需要随后进行直肠切除和永久性造口术。相比之下,注射微碎片脂肪组织是微创的,有较少的括约肌损伤风险,可以在日间手术设置。

虽然小样本量的限制和缺乏对照组,但这些结果证实了该技术的可行性和安全性。这种方法是一种很有前途的治疗方案,为复杂的拳头化PCD患者。确认这些数据可以减少长期治疗的费用,并最终需要随后的大手术、缺勤、卫生产品和心理咨询。然而,需要对更多的患者进行进一步的研究,这将使临床疗效得到确认,并可能扩大适应症范围。

## 参考资料

- Gionchetti P, Dignass A, Danese S, et al. ; ECCO. 3<sup>rd</sup> 欧洲基于证据的2016年克罗恩病诊断和治疗共识:第2部分:手术管理和特殊情况。*克罗恩氏结肠炎*. 2017;11:135-149.
- Peyrin-Biroulet L, Loftus EV Jr, Colombel JF, 等. 成人克罗恩病在人群中的自然史。*Am J Gastroenterol*. 2010;105:289-297.
- Mueller MH, Geis M, Glatzle J, 等. 复杂的肛周克罗恩病的粪便转移风险。*J Gastrointest Surg*. 2007;11:529-537.
- Galandiuk S, Kimberling J, Al-Mishlab TG, 等. 肛周克罗恩病:永久性转移需要的预测因子。*安·苏格*. 2005; 241: 796-801; 讨论801.
- 布古恩G, Siproudil S, GizardE, 等. 英利昔单抗治疗肛周拳头化克罗恩病的长期疗效。*克林胃肠肝胆系*. 2013年; 11: 975-981.e1.
- Senejoux A, Siproudhis L, Abramowitz L, 等. ; GETAID]. 瘻管病是一项随机对照试验。*克罗恩氏结肠炎*. 2016;10:141-148.
- 马尔切萨P, 赫尔TL, 法齐奥大众. 改良袖瓣治疗重度肛周克罗恩病。*Br J Surg*. 1998;85:1695-1698.
- Cho YB, Lee WY, Park KJ, 等. 自体脂肪组织来源干细胞治疗克罗恩瘻:一期临床研究。*细胞移植*. 2013;22:279-285.
- Ciccioppo R, Bernardo ME, Sgarella A, 等. 自体骨髓间充质基质细胞治疗瘻管病。*古特*. 2011;60:788-798.
- 德拉波蒂拉F, AlbaF, Garcia-OlmoD, 等. 扩张异基因脂肪来源干细胞(eASCs)治疗克罗恩病复杂肛周瘻管:多中心I/IIA临床试验的结果。*肠直肠疾病*. 2013;28:313-323.
- Garcia-OlmoD, HerrerosD, PascualI, 等. 扩张脂肪干细胞治疗复杂肛周瘻管: II期临床试验。*结肠直肠*. 2009;52:79-86.
- Lee WY, Park KJ, Cho YB, 等. 自体脂肪组织干细胞治疗克罗恩瘻具有良好和可持续的治疗效果。*干细胞*. 2013;31:2575-2581.
- 卡普兰·艾, 科雷亚·D. MSC: 一家受伤的药店。*细胞干细胞*. 2011;9:11-15.
- 卡普兰·艾, 丹尼斯·杰. 间充质干细胞作为营养介质。*J细胞生物化学*. 2006;98:1076-1084.
- 祖克·帕, 朱明, 阿什健P, 等. 人体脂肪组织是多能干细胞的来源。*莫尔生物细胞*. 2002;13:4279-4295.
- Aronowitz JA, Lockhart RA, Hakakian CS. 从脂肪组织中机械分离基质血管分数细胞与酶分离。*斯普林格公司*. 2015;4:713.
- 博拉P, 马朱达尔AS. 再生医学中脂肪组织来源的基质血管分数:生物学和翻译综述。*干细胞研究*. 2017;8:145.
- Ahrlund-Richter L, De Luca M, Marshak DR, 等. 适合人类治疗的细胞的分离和生产:未来的挑战。*细胞干细胞*. 2009;4:20-26.
- Sensebe L, Bourin P, Tarte K. 生产间充质干细胞/基质细胞的良好生产实践。*呼*. 2011;22:19-26.
- 奥伯鲍尔E, SteffenhagenC, WurzerC, 等. 脂肪组织源性细胞的酶和非酶分离系统:目前的最新进展。*细胞Regen(Lond)*. 2015;4:7.
- Gutowski KA; ASPS Fat Graft工作队. 自体脂肪移植的目前应用和安全性:ASPS脂肪移植工作队的报告。*Plast Reconstr Surg*. 2009;124:272-280.
- Bianchi F, Maioli M, Leonardi E, et al. 一种新的非酶方法和装置,通过来自人类脂肪海盜的温和机械力获得富含周细胞样元素的脂肪组织衍生物。*细胞移植*. 2013;22:2063-2077.
- Benzi R, Marfia G, Bosetti M, 等. 微裂纹脂质体可能有助于口腔骨和软组织再生:1例报告。*细胞RA*. 2015年; 3: e1583.
- Cattaneo G, De Caro A, Napoli F, 等. 微碎片脂肪组织注射与关节镜手术相关的症状性膝骨关节炎患者。*BMC Musculoskelet Disord*. 2018;19:176.
- Giori A, Tremolada C, Vailati R, 等. 微碎片脂肪移植(Lipogems)注射后肛门失禁功能恢复:前5例随访两年。*细胞RA*. 2015年; 3: e1544.
- Naldini G, Sturiale A, Fabiani B, et al. 微碎片脂肪组织注射治疗复杂肛瘻:一项获得安全性和可行性的试点研究。*科洛普洛托*. 2018;22:107-113.
- Raffaini M, Tremolada C. 微裂缝和纯化脂肪组织移植(Lipogems)可以改善正颌手术的美观和术后愈合效果。*细胞RA*. 2014年; 2: e1118.
- Russo A, Screpis D, Di Donato SL, 等. 自体微碎片脂肪组织治疗弥漫性退行性膝骨关节炎:3年随访更新。*J Exp矫形*. 2018;5:52.

29. Zeira O, Scaccia S, Pettinari L, et al. 自发性骨关节炎犬自体微碎片脂肪组织的关节内给药: 安全性、可行性和临床结果。 *干细胞转化医学*。 2018;7:819 - 828.
30. 桑伯恩WJ, 法齐奥大众, 费根BG, 等。 美国胃肠病学临床实践委员会。 AGA关于肛周克罗恩病的技术综述。 *胃肠病学*。 2003;125:1508 - 1530.
31. Poggioli G, Laureti S, Pierangeli F, 等。 局部注射英利昔单抗治疗肛周克罗恩病。 *结肠直肠*。 2005;48:768 - 774.
32. Van Assche G, Vanbeckevoort D, Bielen D, 等。 英利昔单抗对肛周拳头化克罗恩病影响的磁共振成像。 *Am J Gastroenterol*。 2003;98:332 - 339.
33. Asteria CR, Ficari F, Bagnoli S, 等。 局部注射TNF- $\alpha$  抗体治疗克罗恩病肛周瘘管, 在选定的病例中有良好的临床反应: 一项试点研究。 *Scand J Gastroenterol*。 2006;41:1064 - 1072.
34. El-Gazzaz G, Hull T, Church J. 生物免疫调节剂可提高经手术治疗的肛周克罗恩病的愈合率。 *结直肠疾病*。 2012;14:1217 - 1223.
35. Haennig A, Staumont G, Lepage B, et al. 塞顿引流联合抗tnf $\alpha$  治疗克罗恩病肛瘘的结果。 *结直肠疾病*。 2015;17:311 - 319.
36. Poggioli G, Laureti S, Pierangeli F, 等。 局部注射阿达利莫单抗治疗肛周克罗恩病: 优于英利昔单抗? *炎症性肠病*。 2010;16:1631.
37. Tonelli F, Giudici F, Asteria CR. 局部阿达利莫单抗注射治疗肛周克罗恩病的有效性和安全性: 一项试点研究。 *结肠直肠*。 2012;55:870 - 875.
38. Ciccicioppo R, Gallia A, Sgarella A, 等。 *骨髓间充质干细胞局部注射后克罗恩病瘘管的长期随访梅奥临床论文集, 第一卷*. 宾夕法尼亚州费城90: Elsevier, 2015年, 747-755.
39. Garcia-Olmo D, Garcia-Arranz M, Garcia LG, 等。 自体干细胞移植治疗肛周克罗恩病直肠阴道瘘: 一种新的细胞治疗方法。 *肠直肠疾病*。 2003;18:451 - 454.
40. Garcia-Olmo D, Garcia-Arranz M, Herreros D, 等人。 脂肪间充质干细胞移植治疗克罗恩病的I期临床试验。 *结肠直肠*。 2005;48:1416 - 1423.
41. 瓜达拉哈拉H, 赫雷斯D, De-La-QuintanaP, 等。 长期随访患者接受脂肪源性成人干细胞治疗复杂肛周瘘管。 *肠直肠疾病*。 2012;27:595 - 600.
42. Herreros MD, Garcia-Arranz M, Guadalajara H, 等。 FATT协作组。 自体扩张脂肪干细胞治疗复杂隐窝肛周瘘: III期随机临床试验(FATT1: 瘘管晚期治疗试验I)和长期评价。 *结肠直肠*。 2012;55:762 - 772.
43. Panes J, Garcia-Olmo D, Van Assche G, et al. 干细胞治疗克罗恩病患者复杂肛周瘘管的长期疗效和安全性(Cx601)。 *胃肠病学*。 2017;154:1334 - 1342.
44. Ceserani V, Ferri A, Berenzi A, 等。 微碎石脂肪组织及其衍生间充质基质细胞的血管生成和抗炎特性。 *Vasc细胞*。 2016;8:3.
45. Sands BE, Anderson FH, Bernstein CN, 等。 英利昔单抗维持疗法治疗克罗恩病。 *N Engl J Med*。 2004;350:876 - 885.
46. 目前DH, RutgeertsP, TarganS, 等。 英利昔单抗治疗克罗恩病患者瘘管。 *N Engl J Med*。 1999;340:1398 - 1405.
47. 拉苏尔I, 威尔逊SR, MacRaeH, 等。 英利昔单抗治疗肛周瘘克罗恩病后的临床和放射学反应。 *Am J Gastroenterol*。 2004;99:82 - 88.
48. Schwartz DA, Wiersema MJ, Dudiak KM, 等。 内镜超声、磁共振成像和麻醉检查对克罗恩肛周瘘管评价的比较。 *胃肠病学*。 2001;121:1064 - 1072.
49. Mahadev S, Young JM, Selby W, 等。 肛周克罗恩病的自我报告抑郁症状和自杀感觉。 *结直肠疾病*。 2012;14:331 - 335.
50. van der Valk ME, Mangen MJ, Severs M, 等。 : COIN研究组和荷兰克罗恩病和结肠炎倡议。 炎症性肠病两年随访费用的演变。 一号。 2016年; 11: e0142481.