

脐血间充质干细胞移植治疗多系统萎缩20例☆

吴立克, 王晓娟, 许保磊, 刘双双, 褚赛纯, 程波

Umbilical cord blood mesenchymal stem cell transplantation in 20 patients with multiple system atrophy

Wu Li-ke, Wang Xiao-juan, Xu Bao-lei, Liu Shuang-shuang, Chu Sai-chun, Cheng Bo

Abstract

OBJECTIVE: To observe the outcomes of umbilical cord blood mesenchymal stem cell transplantation for treating neural function of multiple system atrophy (MSA) patients.

METHODS: A total of 20 MSA patients were selected at the Beijing Wu Stem Cells Medical Center from January to October 2008. All patients received treatment of vessel distention, anti-free radical, trophic nerve and cell membrane stabilization, as well as umbilical cord blood mesenchymal stem cell transplantation via intrathecal injection. Patients at left-lateral position, and body bent at hips, knees and necks. Acupuncture was conducted at the space of lumbar vertebra 3 and 4. Following local anesthesia, No. 9 needle was directly pricked into the subarachnoid cavity. 2 mg dexamethasone was slowly infused, and 5 mL (5×10^6 stem cells) umbilical cord blood mesenchymal stem cell injection was obtained and slowly infused into the subarachnoid cavity within 10 minutes, once per week, four times as a course, totally one course. We adopted Unified Multiple System Atrophy Rating Scale (UMSARS) to evaluate those MSA patients. The higher score represented a severe pathogenetic condition.

RESULTS: Compared with pretransplantation, the UMSARS score was significantly decreased in 20 patients 4 weeks following transplantation ($P < 0.01$). After the treatment, patient's clinical symptoms such as slow movement, balance disturbance, orthostatic hypotension, urinary and bowel disorders had full obvious improvement. Graft versus host disease was not found.

CONCLUSION: It is indicated that mesenchymal stem cell transplantation is effective, can partly improve MSA patients' clinical symptoms, and improve patients' life quality.

Beijing Wu Stem
Cells Medical Center,
Beijing 100070,
China

Wu Li-ke☆, Doctor,
Associate chief
physician, Beijing Wu
Stem Cells Medical
Center, Beijing
100070, China
wxjiangfang@sohu.
com

Received: 2009-07-20
Accepted: 2009-09-26

Wu LK, Wang XJ, Xu BL, Liu SS, Chu SC, Cheng B. Umbilical cord blood mesenchymal stem cell transplantation in 20 patients with multiple system atrophy. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009;13(45): 8975-8978.

[http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

目的: 观察脐血间充质干细胞移植治疗帕金森病患者神经功能的效果。

方法: 选择 2008-01/12 北京和众华信治疗中心收治的帕金森病患者 30 例, 均经过英国皇家医师学会帕金森病诊断与管理指南的帕金森病诊断标准确诊, 男 19 例, 女 11 例, 年龄 45~66 岁, 平均年龄 58 岁, Hoehn-Yahr 分级为 II~IV 级, 患者对治疗均签署知情同意书, 治疗方案经医院医学伦理委员会批准。所有患者均住院治疗, 第 1 周进行常规检查, 30 例患者血、尿、便常规、肝肾功能、多项肿瘤标记物、胸片等均正常。自第 2 周起患者应用脐带血间充质干细胞进行鞘内注射移植治疗, 以第 3, 4 腰椎间隙为穿刺点, 缓慢注入地塞米松 2 mg, 取脐血间充质干细胞注射液 5 mL (干细胞数 500 万), 在 10 min 内缓慢注入蛛网膜下腔, 1 次/周, 4 次为 1 个疗程, 共治疗 1 个疗程。采用帕金森病统一评分量表对患者移植前后神经功能进行评定, 分值越高表示神经功能缺损越严重。

结果: 30 例患者均进入结果分析, 中途无脱落。与移植前比较, 30 例患者移植后 3 个月帕金森病统一评分量表分值均明显降低 ($P < 0.01$), 患者震颤、强直、运动迟缓、姿势不稳等临床症状均得到明显改善, 均未出现移植植物抗宿主病。

结论: 脐血间充质干细胞移植可以一定程度地改善帕金森病患者的临床症状, 提高患者生活质量。

关键词: 脐血间充质干细胞; 移植; 帕金森病; 神经变性

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2009.45.033

北京和众华信治
疗中心, 北京市
100070

吴立克☆, 男,
1963 年生, 北京
市人, 朝鲜族,
2005 年河北医科
大学毕业, 博士,
副主任医师, 主要
从事神经变性病
和神经修复方面
的研究。
wxjiangfang@
sohu.com

中图分类号: R394.2
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225
(2009)45-08975-04

收稿日期: 2009-07-20
修回日期: 2009-09-26
(20090720002/
ZS-Q)

吴立克, 王晓娟, 许保磊, 刘双双, 褚赛纯, 程波. 脐血间充质干细胞移植治疗多系统萎缩 20 例[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(45):8975-8978. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

多系统萎缩是一组原因不明的中枢神经系统多部位萎缩变性疾病, 患者病情呈进行性进展, 逐渐出现的运动不能、震颤、平衡障碍、体位性低血压、痴呆等使患者丧失生活能力, 并且这种神经功能的丧失不能被逆转, 目前尚无有效治疗方法。

近年随着再生医学的发展, 干细胞移植治疗可为此类疾病提供新的手段^[1]。

通过移植干细胞治疗多系统萎缩已成为当前研究热点, 作者所在单位使用脐血间充质干细胞移植治疗多系统萎缩患者, 观察脐血间充质干细胞改善多系统萎缩患者神经功能的效果。

1 病例介绍

1.1 对象 选择2008-01/10北京和众华信治疗中心收治的多系统萎缩患者20例, 均根据1999年美国密执根大学Gilman等^[2]提出的多系统萎缩4组临床特征和诊断标准确诊, 男13例, 女7例, 年龄51~70岁, 平均年龄62岁。

按2005年国务院《医院管理条例》第33条规定对患者的治疗及风险进行如实告知^[3], 患者对治疗均签署知情同意书, 治疗方案经医院医学伦理委员会批准。

干细胞移植适应证: 多系统萎缩患者, 排除其他神经系统变性疾病, 无其他系统重大疾病。

干细胞移植相对禁忌证: ①高度过敏体质或者有严重过敏史者。②生命体征平稳者。③合并恶性肿瘤。④全身感染或局部严重感染。⑤合并心、肺、肝、肾等重要脏器的功能障碍。⑥凝血功能障碍如血友病。⑦血清学检查阳性者, 如艾滋病、乙肝、梅毒等。

1.2 方法

临床检查: 所有患者均住院治疗, 第1周进行常规检查, 20例患者血、尿、便常规、肝肾功能、多项肿瘤标记物、胸片等均正常; 2例患者血糖升高, 经饮食控制及口服降糖药治疗血糖控制良好; 3例患者血脂包括胆固醇或三酰甘油升高, 给以降脂治疗后血脂控制正常。

脐血间充质干细胞的分离培养^[4-5]: 脐血间充质干细胞由北京科宇联合干细胞公司提供, 经脐血采集, 分离, 扩增, 向神经干细胞诱导, 传4~6代, 细胞数量 $1 \times 10^9 L^{-1}$, 其中约80%为CD34⁺细胞, 20%属于神经前体细胞。

脐血间充质干细胞的移植^[6]: 自第2周起患者应用脐血间充质干细胞进行鞘内注射移植治疗, 500万/次, 1次/周, 4次为1个疗程, 共治疗1个疗程。患者取左侧卧位, 屈髋屈膝屈颈, 以第3, 4腰椎间隙为穿刺点, 常规消毒

铺巾, 以2%利多卡因局部麻醉, 以9号穿刺针垂直刺入蛛网膜下腔, 缓慢注入地塞米松2 mg, 取脐血间充质干细胞注射液5 mL(干细胞数目500万), 在10 min内缓慢注入蛛网膜下腔, 观察患者无不适症状后, 拔出穿刺针, 局部皮肤消毒, 敷以无菌辅料, 嘱患者去枕平卧6 h, 治疗结束。

辅助治疗: 常规给予扩张血管、抗自由基、营养神经、稳定细胞膜等治疗。

评估标准: 分别于脐血间充质干细胞移植前及移植后4周, 采用统一多系统萎缩评估量表对患者进行评定, 该量表评分由2部分组成: 统一多系统萎缩评估量表 I 为病史回顾(包括12个项目)、统一多系统萎缩评估量表 II 为运动检查评分(包括14个项目), 每一个项目从0分(正常)到4分(严重异常), 分值越高表示病情越严重。

统计学分析: 由第二作者采用SPSS 11.5统计软件包对数据进行配对t 检验分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

1.3 病例解析

参与者数量分析: 20例患者均成功移植, 中途无脱落, 按意向性进行结果分析。

临床症状变化: 移植后4周, 20例患者的运动迟缓、平衡障碍、直立性低血压、尿便障碍等临床症状均得到明显改善。

多系统萎缩患者脐血间充质干细胞移植前后功能独立性评分的变化: 本组20例患者脐血间充质干细胞移植前统一多系统萎缩评估量表评分平均为(63.0±8.8)分, 移植后4周平均为(53.0±9.9)分, 移植前后比较差异有显著性意义($P < 0.01$), 见表1。

表1 脐血间充质干细胞移植前后20例多系统萎缩患者功能独立性评分的变化
Table 1 Score changes in 20 patients with multiple system atrophy before and after umbilical cord blood mesenchymal stem cell transplantation ($\bar{x} \pm s$, $n=20$, point)

Index	4 wk		t	P
	Pretransplantation	posttransplantation		
Medical record	28.0±3.5	24.0±3.8	8.37	0.000
Motion score	35.0±6.0	28.0±6.4	8.49	0.000

体征的变化: 脐血间充质干细胞移植过程中及移植后患者的生命体征均平稳。

并发症和不良反应: 有4例患者出现移植后低热, 体温不超过38 °C, 伴有头痛或腰痛等不良反应, 对症处理后均完全缓解。20例患者均未出现移植物抗宿主病。

病例报告项目清单:

病例	性别	年龄(岁)	移植前病程(年)	统一多系统萎缩评估量表评分(分)		不良反应
				移植前	移植后 4 周	
1	男	51	2.3	56	45	无
2	男	61	3.4	66	58	无
3	男	57	3.2	57	47	发热、头痛
4	男	68	3.7	74	67	无
5	男	70	2.5	65	56	无
6	男	59	2.7	62	52	发热、头痛、腰痛
7	男	62	2.7	55	52	无
8	男	64	1.5	60	58	无
9	男	69	2.6	67	55	无
10	男	67	3.3	54	48	无
11	男	65	1.7	64	54	发热、头痛
12	男	55	2.5	57	42	无
13	男	54	3.3	54	41	无
14	女	63	2.7	57	49	无
15	女	58	4.3	76	70	发热、头痛、腰痛
16	女	66	3.5	83	75	无
17	女	68	1.7	49	39	无
18	女	70	3.6	75	64	无
19	女	54	3.3	62	45	无
20	女	67	2.6	68	46	无

2 讨论

多系统萎缩是一组散发、进行性的累及锥体外系、锥体系、小脑和自主神经系统的神经系统变性疾病, 临床表型复杂多样, 主要包括自主神经功能障碍、帕金森综合征、共济失调和锥体系统功能损害等^[6-7]。基本病理表现为神经元缺失和胶质细胞增生, 其病理诊断的特异性标志是少突胶质细胞包涵体形成。包涵体的主要成份为 α -共核蛋白, 这一发现将多系统萎缩与帕金森病和 Lewy 体痴呆共同归为共核蛋白病。多系统萎缩患者多在发病后 2~5 年内部份或全部失去自主生活能力^[8], 迄今尚无有效的治疗多系统萎缩的方法。

干细胞是一类具有自我更新和多向分化潜能的细胞, 在适宜条件下能分化为各种不同类型的组织细胞包括神经细胞^[9-19]。近年有研究表明, 干细胞可以改善多系统萎缩患者的自主神经、小脑锥体外系和运动症状^[20]。一方面用于移植的间充质干细胞, 本身所具有复杂精细的控制系统, 可以防止蛋白质的错构和聚集, 如分子伴侣促进适当的蛋白质折叠, 防止非天然的蛋白质聚集^[21]。医疗控制可使处于错构的蛋白质会被泛素蛋白酶小体系统以及吞噬体溶酶体系统降解, 尤以泛素蛋白酶小体系统重要, 从而阻止疾病病程的进展。另一方面, 干细胞可以定位包绕在病变组织的周围, 并形成网络修复坏损的神经组织, 使患者能够恢复丧失的神经功能。

实验应用脐血间充质干细胞移植治疗多系统萎缩, 结果发现移植后患者各项神经功能改善明显, 特别是在锥体系和锥体外系症状方面改善尤为突出, 患者肌力增

强, 强直、震颤、迟缓等症状减轻, 小脑平衡功能及自主神经的血压和尿便控制上也有不同程度的改善。

干细胞可能是通过以下机制来发挥作用的: ①间充质干细胞移植入脑后, 能形成表达神经标志性蛋白的神经元样细胞或星形胶质细胞, 产生的细胞可在受损部位周围存活甚至移行至全脑^[22]。②间充质干细胞在中枢神经系统微环境下能分泌多种生长因子, 或者刺激损伤部位产生内源性因子, 促进损伤组织的修复并减少细胞凋亡^[23]。③间充质干细胞是受损部位新生血管的主要组成细胞, 可分化成血管内皮细胞和细胞外基质, 帮助神经保护、促进血管发生^[24]。④在脑内创造适宜的局部微环境, 通过体外扩增或不同因子诱导分化的方法使间充质干细胞分化为神经细胞后进行移植, 替代受损细胞重建神经功能区和传导通路^[25]。

从统一多系统萎缩评估量表评分可以看出, 利用脐血间充质干细胞移植治疗后, 多系统萎缩患者神经功能有明显恢复, 说明脐血间充质干细胞移植治疗多系统萎缩是有效的, 但其治疗效应尚有待进一步的随机对照加以证实。

3 参考文献

- [1] Lee PH, Kim JW, Bang OY, et al. Autologous mesenchymal stem cell therapy delays the progression of neurological deficits in patients with multiple system atrophy. *Clin Pharmacol Ther*.2008; 83(5):723-730.
- [2] Gilman S, Wenning GK, Low PA, et al. Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy. *Neurology*. 2008;71(9):670-676.
- [3] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance Suggestions for the Care and Use of Laboratory Animals. 2006-09-30. 中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见. 2006-09-30.

[4] Yuan Y, Yang SY, Han ZC, et al. Zhonghua Shenjing Yixue Zazhi. 2006;5(3):230-235.
袁源, 杨树源, 韩忠朝, 等. 人脐带间充质干细胞体外扩增和向神经样细胞定向诱导分化的研究[J]. 中华神经医学杂志, 2006, 5(3): 230-235.

[5] Zhang RY, Zheng YR, Hu SS, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2006;10(9):138-139.
张儒有, 郑永日, 胡韶山, 等. 神经干细胞移植治疗脑卒中后遗症50例临床效果分析[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2006, 10(9): 138-139.

[6] Hardy J. Multiple system atrophy: pathophysiology, treatment and nursing care. Nurs Stand. 2008;22(22):50-56.

[7] Yoshida M. Multiple system atrophy: alpha-synuclein and neuronal degeneration. Neuropathology. 2007;27(5):484-493.

[8] Jellinger KA, Seppi K, Wenning GK. Grading of neuropathology in multiple system atrophy: proposal for a novel scale. Mov Disord. 2005;20 Suppl 12:S29-36.

[9] Cho JW, Kim SY, Park SS, et al. The G2019S LRRK2 Mutation is Rare in Korean Patients with Parkinson's Disease and Multiple System Atrophy. J Clin Neurol. 2009;5(1):29-32.

[10] Lindvall O, Kokaia Z, Martinez-Serrano A. Stem cell therapy for human neurodegenerative disorders-how to make it work. Nat Med. 2004;10 Suppl:S42-50.

[11] Lindvall O, Kokaia Z. Stem cell therapy for human brain disorders. Kidney Int. 2005;68(5):1937-1939.

[12] Hou L, Hong T. Stem cells and neurodegenerative diseases. Sci China C Life Sci. 2008;51(4):287-294.

[13] Zhao B, Zhong M, Jin K. Neurogenesis and neurodegenerative diseases in human. Panminerva Med. 2008;50(1):55-64.

[14] Lacz SE, Barker RA. The future of cell-based transplantation therapies for neurodegenerative disorders. J Hematother Stem Cell Res. 2003;12(6):635-642.

[15] Le Belle JE, Svendsen CN. Stem cells for neurodegenerative disorders: where can we go from here? BioDrugs. 2002;16(6): 389-401.

[16] Björklund A, Lindvall O. Cell replacement therapies for central nervous system disorders. Nat Neurosci. 2000;3(6):537-544.

[17] Conti L, Reitano E, Cattaneo E. Neural stem cell systems: diversities and properties after transplantation in animal models of diseases. Brain Pathol. 2006;16(2):143-154.

[18] Pluchino S, Zanotti L, Deleidi M, et al. Neural stem cells and their use as therapeutic tool in neurological disorders. Brain Res Brain Res Rev. 2005;48(2):211-219.

[19] Sugaya K. Potential use of stem cells in neuroreplacement therapies for neurodegenerative diseases. Int Rev Cytol. 2003;228:1-30.

[20] Lee PH, Park HJ. Bone marrow-derived mesenchymal stem cell therapy as a candidate disease-modifying strategy in Parkinson's disease and multiple system atrophy. J Clin Neurol. 2009;5(1): 1-10.

[21] Kan I, Melamed E, Offen D. Autotransplantation of bone marrow-derived stem cells as a therapy for neurodegenerative diseases. Handb Exp Pharmacol. 2007;(180):219-242.

[22] Jin GZ, Cho SJ, Choi EG, et al. Rat mesenchymal stem cells increase tyrosine hydroxylase expression and dopamine content in ventral mesencephalic cells in vitro. Cell Biol Int. 2008;32(11): 1433-1438.

[23] Dezawa M. Insights into autotransplantation: the unexpected discovery of specific induction systems in bone marrow stromal cells. Cell Mol Life Sci. 2006;63(23):2764-2772.

[24] Kim YJ, Park HJ, Lee G, et al. Neuroprotective effects of human mesenchymal stem cells on dopaminergic neurons through anti-inflammatory action. Glia. 2009;57(1):13-23.

[25] Bouchez G, Sensebé L, Vourc'h P, et al. Partial recovery of dopaminergic pathway after graft of adult mesenchymal stem cells in a rat model of Parkinson's disease. Neurochem Int. 2008;52(7): 1332-1342.

来自本文课题的更多信息——

文章倚或不足: 实验为回顾性分析, 缺少前瞻性的病例对照设计, 治疗效应尚有待进一步的随机对照加以验证。需要纳入一定量的病例数, 随访一定时间, 进行系统的统计学分析, 以确定临床治疗效果。

此外, 脐血间充质干细胞移植治疗多系统萎缩所观察到临床效果值得从病理学金标准及分子角度深入思考, 如 α -共核蛋白和 tau 蛋白是神经变性疾病的主要分子基础, 探讨脐血间充质干细胞在 α -共核蛋白和 tau 蛋白中的作用, 将对神经变性疾病的发生机制、诊断及治疗产生积极影响。

供临床借鉴的意义: 脐血间充质干细胞移植为这种神经变性疾病提供了新的治疗手段, 但针对这一类难治性的神经变性疾病的治疗模式是否相同, 是否都有疗效还需深入分析。

不同的疾病有不同的病理生理机制, 临床预处理为干细胞功能的表达提供了必要条件, 所起到的作用及机制需要更科学的设计和随访。

干细胞医学词汇中英文对照

中文	缩略	英文
淋巴细胞功能相关抗原	LFA	lymphocyte function associated antigen
无白血病存活期	LFS	leukemia free survival
低度恶性淋巴瘤	LGL	low grade lymphoma
淋巴细胞归家功能受体	LHR	lymphocytic homing function receptor
白血病抑制因子	LIF	leukemia inhibition factor
杂合性丢失	LOH	loss of heterozygosity
淋巴细胞为主型	LP	lymphocyte predominance
肺抗性相关蛋白	LRP	lung resistance related protein

医学英文句型正误辨析

中文	修后	修前
老年人, 尤其是携带 ApoE ϵ 4 基因型老年患者慎用吸入性麻醉气体。	Elderly patients, especially those <u>expressing the</u> ApoE ϵ 4 gene, should <u>be</u> cautiously <u>exposed to</u> gas anesthesia.	Elderly patients, especially those <u>with</u> ApoE ϵ 4 gene, should use gas anesthesia.
大部细胞核为圆形蓝荧光(33342 染色)。	Cells were <u>again stained with</u> Hoeschst 33342, <u>with the majority of</u> round nuclei <u>staining blue</u> .	Cells <u>under</u> Hoeschst 33342 staining. A majority of round nuclei <u>showed</u> blue fluorescence.