

脐带间充质干细胞治疗脑瘫 51例疗效观察

王金刚, 尹忠民, 闻华, 王连仲, 陈哲

【摘要】 目的 总结分析脐带间充质干细胞治疗脑瘫的效果。方法 2009—2010年解放军第四六三医院神经外科应用脐带间充质干细胞治疗脑瘫患者 229例, 选择其中无智力障碍、一直进行康复治疗, 近一年无明显进展的 51例患者, 进行日常生活活动能力 (ADL) 评估。比较治疗前与治疗 1 个疗程 (21~28 d进行 4次脐带间充质干细胞治疗) 后 ADL得分, 评估疗效。结果 治疗前后 ADL总分、步行动作、床上运动、认识交流动作得分比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 脐带间充质干细胞对无智力障碍脑瘫患者治疗有效。

【关键词】 脑性瘫痪; 间质干细胞移植; 治疗

【中图分类号】 R 742.3 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1007-9572 (2011) 07-2446-02

Application of Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells in Cerebral Palsy Treatment: Report of 51 Cases WANG Jin-gang, YIN Zhong-min, WEN Hua, et al. Department of Neurosurgery, the 463rd Hospital of PLA, Shenyang 110042, China

【Abstract】 Objective To review the effects of umbilical cord mesenchymal stem cells in treatment of cerebral palsy. Methods A total of 229 cases had received treatment with umbilical cord mesenchymal stem cells at our facility from 2009 to 2010, and 51 out of them without mental retardation had undergone rehabilitation therapy all the time without significant progress in the past year were enrolled with their activities of daily living (ADL) assessed. ADL scores before treatment and one treating course (21~28 days during which umbilical cord mesenchymal stem cell therapy was taken out four times) later were compared to evaluate the efficacy. Results ADL scores, walking movement, bed movement, understanding exchange rates movements before and after treatment were significantly different ($P < 0.05$). Conclusion Umbilical cord mesenchymal cells is effective in treating cerebral palsy patients without mental retardation.

【Key words】 Cerebral palsy; Mesenchymal stem cell transplantation; Treatment

小儿脑瘫 (cerebral palsy) 简称脑瘫, 主要临床症状是中枢性运动功能障碍和发育落后、姿势异常、肌力和肌张力异常、反射异常, 早期症状主要表现为运动发育落后和神经系统发育异常的症状及体征。国际上统计脑瘫的发病率为 1‰~5‰, 是继脊髓灰质炎控制后近代最常见的儿童致残性疾病^[1]。我国脑瘫的发病率在 1.8‰~4.0‰。由于人口基数庞大, 脑瘫患儿也给家庭和社会造成了巨大的负担。近年干细胞在脑瘫治疗中的应用, 为此类患者的治疗提供了新途径。

1 资料与方法

1.1 一般资料

作者单位: 110042辽宁省沈阳市, 解放军第四六三医院神经外科 (王金刚, 尹忠民, 闻华, 王连仲); 深圳北科公司 (陈哲)

通讯作者: 尹忠民, 110042 辽宁省沈阳市, 解放军第四六三医院神经外科;

E-mail: 13504908551@163.com

四六三医院神经外科应用脐带间充质干细胞治疗的脑瘫患者 229例, 选择其中无智力障碍 (通过“智能 MMSE量表”判定)、入院前一直在进行康复治疗, 近一年无明显进展的患者 51例为研究对象。其中男 29例, 女 22例; 年龄 20~38岁, 平均 (12.9±7.2) 岁。

1.2 细胞来源 均由深圳北科公司生物技术实验室提供, 经采集, 分离, 扩增及向神经干细胞诱导传代 4~6代。细胞数量 (3~4) × 10⁶ / L

1.3 治疗方案 经腰椎穿刺、鞘内注射脐带间充质干细胞 3次, 1次/周; 经外周静脉注射脐带间充质干细胞治疗 1次。共 4次 (1次/周) 脐带间充质干细胞治疗为一疗程。

1.4 观察指标及标准 应用脐带间充质干细胞治疗前、后, 分别由多年资临床医师与康复师进行日常生活活动能力 (ADL) 评分, 结果取平均值。ADL评价表包括: 个人卫生动作 (5项)、进食动

作 (5项)、更衣动作 (5项)、排便动作 (5项)、器具使用 (7项)、床上运动 (7项)、认识交流动作 (5项)、移动动作 (8项)、步行动作 (3项)。评分标准: 能独立完成 2.0分; 能独立完成, 但时间较长 1.5分; 能完成, 但需扶助 1.0分; 两项中完成一项 1.0分; 不能完成: 0分。总分 100.0分。

1.5 统计学方法 应用 SPSS 17.0 中文版, 计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 治疗前后得分比较采用配对 t 检验; 两变量间关系用直线相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 治疗前后 ADI 评分比较 51例患者治疗前后床上运动、认识交流动作、步行动作得分及总得分比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 而个人卫生动作、进食动作、更衣动作、排便动作得分比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$, 见表 1)。对于与精细动作和跨越障碍有关的

评定指标 (器具使用、移动动作) 早期暂无法评定。

2.2 疗效与年龄、性别的关系 脐带间充质干细胞治疗脑瘫患者 ADL总得分与其年龄、性别间均无直线相关 (值分别为 -2.38和 -0.15 $P>0.05$)。

3 讨论

小儿脑瘫的病因及发病机制目前不完全清楚, 一般认为与产伤、窒息、胆红素脑病及孕早期的病毒感染、早产儿、低体质量儿等有关。脑瘫存在不同程度的脑细胞损伤、脑发育不全等。脑瘫总的治疗原则是: (1) 早发现, 早治疗; (2) 及时、长期、正规的康复训练是治疗脑瘫的最主要方法。常规予以营养脑细胞的治疗, 可以促进神经元的生长, 可使受损脑细胞功能部分恢复和促进脑细胞的生长, 但脑瘫所致肢体残疾的疗效仍不满意。康复运动锻炼可以改善部分脑瘫患儿的肌张力和异常姿势, 促进中枢性的运动发育, 但对大多数患者而言疗效仍不如人意。神经干细胞的应用及发展开辟了脑瘫外科治疗的新天地。

神经干细胞 (neural stem cells, NSCs) 是具有自我更新和多向分化潜能的一类细胞, 在适当条件下可以分化为神经元、星形胶质细胞及少突胶质细胞, 开拓了中枢神经系统疾病治疗的新视野。研究发现, 在发育期胚胎和成年哺乳类动物的 NSCs都存在可自我更新和多向分化的 NSCs或神经前体细胞^[2]。1992年, Reynolds等^[3]首次用 NeuroSphere法成功地从成年小鼠纹状体分离出 NSCs, 这种细胞不但具有自我更新、增殖能力, 还可分化为神经系统大部分类型细胞, 对损伤和疾病具有反应能力。Uchida等^[4]报道小鼠中脑腹侧 (ventral mesencephalon VM) nestin-CFP表达明显, 对 nestin-CFP阳性细胞进行分离培养可形成神经球 (neuro-sphere), 能定向分化成多巴胺能神经元, 酪氨酸羟化酶 (TH) 和 (或) 多巴胺转运体 (DAT) 表达阳性, 将该种 nestin-CFP阳性细胞分离、培养后植入帕金森病 (Parkinson's disease PD) 小鼠纹状体, 纹状体内多巴胺能神经元有丝分裂明显, 同时患病小鼠功能恢复。PD主要表现为中脑多巴胺能神经元的选择性丢失, 这表明小鼠中脑腹侧的 NSCs参与了 PD患病小鼠功能的恢复。Lee

表 1 51例患者治疗前后 ADL评分比较 ($\bar{x} \pm s$ 分)

Table 1 Comparison of ADL score before and after treatment

	ADL评分	\bar{x} 的 95% CI	值	P值
个人卫生动作	-0.0098±0.0700	(-0.0295 0.0099)	-1.000	0.322
进食动作	-0.0294±0.1553	(-0.0734 0.0143)	-1.353	0.182
更衣动作	-0.0098±0.0700	(-0.0295 0.0099)	-1.000	0.322
排便动作	-0.0686±0.2649	(-0.1434 0.0059)	-1.850	0.070
床上运动	-0.7060±0.4020	(-0.8190 -0.5930)	-12.534	0.000
认识交流动作	-0.0390±0.1360	(-0.0770 -0.0010)	-2.063	0.044
步行动作	-0.3922±0.5685	(-0.5520 -0.2323)	-4.927	0.000
总分	-1.2549±0.8389	(-1.4908 -1.0190)	-10.683	0.000

等^[5]通过喹啉酸 (quinolinic acid) 纹状体注射复制亨廷顿病 (huntington's disease HD) 大鼠, 将人 NSC静脉注入患病大鼠体内, 人 NSC可迁移到纹状体损伤区, 纹状体萎缩明显减轻, HD鼠功能恢复。NSC不仅可修复神经元的缺失, 还可修复损伤的神经胶质细胞, 将克隆的成人神经前体细胞植入脱髓鞘损伤的小鼠脊髓内, 发现神经前体细胞可分化为少突胶质细胞和雪旺细胞, 形成与髓鞘十分相似的结构, 基本恢复了神经冲动的传导功能。NSC又受到取材困难, 不易获得, 易被污染及伦理、法律方面问题的影响, 且随着年龄增长其干细胞数量和增殖能力也显著下降^[6]。范存刚等^[7]则以组织块培养法成功地分离出脐带 MSCs, 不仅方法简便易行, 可更好地保持细胞活力并减少了污染机会。此外, 在培养体系中, 几乎见不到造血、内皮或平滑肌等细胞的混杂。细胞增殖分析表明, 脐带源 MSCs的倍增时间约为 30 h, 细胞周期分析表明 8%以上的细胞处于 G₀~G₁ 期, 流式细胞学检测提示这些细胞表达 CD₃、CD₂₀、CD₄₄、CD₉₀、CD₁₀₅和 CD₁₆₆等表面标志而不表达造血和内皮细胞标志。但骨髓 MSCs不仅含量低 (仅占骨髓单个核细胞的 1/104~1/105), 而且增殖力的变异也很大, 如部分可扩增达 15代以上, 而另一些却仅能扩增 4代左右。与之相比, 脐带 MSCs则含量丰富、易于分离并且在传至 23代时仍保持形态和增殖力的稳定, 表明这些 NSCs具有良好的自我更新能力。

本组患者在接受脐带间充质干细胞治疗后早期取得了较好的疗效, 日常生活能力有所提高, 但远未达到一般正常人的水平, 远期疗效还有待进一步随访观察, 与

患者及家属的要求还有较大的差距。但随着脐带间充质干细胞的培养及提取技术的不断进步, 相信脐带间充质干细胞治疗将会让脑瘫患者的未来光明灿烂, 给家庭和社会带来更好的希望。

参考文献

- 1 中国康复医学会儿童康复专业委员会, 中国残疾人康复协会小儿脑瘫康复专业委员会. 小儿脑瘫的定义、分型和诊断条件 [J]. 中华物理医学与康复杂志, 2007, 29 (5): 309-311.
- 2 Meier C, Middelkamp J, Wasieleski B, et al. Spastic paresis after perinatal brain damage in rats is reduced by human cord blood mononuclear cells [J]. Pediatr Res, 2006, 59 (2): 244-249.
- 3 Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system [J]. Science, 1992, 255 (5052): 1707-1710.
- 4 Uchida K, Moniyama T, Okano H, et al. Potential functional neural repair with grafted neural stem cells of early embryonic neuroepithelial origin [J]. Neurosci Res, 2005, 52 (3): 276-286.
- 5 Lee ST, Chu K, Park JE, et al. Intravenous administration of human neural stem cells induces functional recovery in huntington's disease model [J]. Neurosci Res, 2005, 52 (3): 243-249.
- 6 张丽欣, 邢利和, 张丽丽, 等. 脐血干细胞治疗小儿脑瘫的临床安全性研究 [J]. 中国全科医学, 2010, 13 (6): 1868.
- 7 范存刚, 张庆俊, 韩忠朝. 人脐带间充质干细胞向神经细胞分化的研究 [J]. 中华神经外科杂志, 2005, 21 (7): 388-392.

(收稿日期: 2011-04-05;

修回日期: 2011-06-10)

(本文编辑: 丁云)