

脐带间充质干细胞移植治疗遗传性痉挛性截瘫2例**

杨华强^{1,2}, 王云甫³, 李东升¹, 杜玲¹, 袁雅红¹, 姜铎²

Application of umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of two cases of hereditary spastic paraplegia

Yang Hua-qiang^{1,2}, Wang Yun-fu³, Li Dong-sheng¹, Du Ling¹, Yuan Ya-hong¹, Jiang Hua²

Abstract

BACKGROUND: Hereditary spastic paraplegia is a kind of nervous system genetic disease which has clinical and genetic heterogeneity. Now, the treatment effectiveness of this disease is poor.

OBJECTIVE: To observe the clinical effect and safety of umbilical cord mesenchymal stem cells (UC-MSCs) transplantation in the treatment of hereditary spastic paraplegia (HSP).

METHODS: Two patients with HSP received UC-MSCs transplantation which total cellular score of UC-MSCs was $(2-6) \times 10^7$ by intravenous infusion and lumbar puncture intrathecal injections. Both patients were followed up after transplantation. Clinical symptoms and various indexes were observed and literature review was performed.

RESULTS AND CONCLUSION: After transplantation, the clinical symptoms of both patients improved obviously: muscle tonus of both lower extremities reduced obviously, independent ambulation independent of crutches and another person's aid, and walking was stable. Various biochemical indicators were normal and both patients had no severe complications or clear side effects after transplantation. Both patients' conditions were continuously catabatic and no recurrence was found after one year follow up. These indicated that UC-MSCs transplantation is effective and can ameliorate clinical manifestations and delay progression of the disease in the treatment of HSP.

Yang HQ, Wang YF, Li DS, Du L, Yuan YH, Jiang H. Application of umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of two cases of hereditary spastic paraplegia. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(1):167-170. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 遗传性痉挛性截瘫是一种具有临床及遗传异质性的神经系统遗传病, 目前临床治疗无明显效果。

目的: 观察脐带间充质干细胞移植治疗遗传性痉挛性截瘫的效果及安全性。

方法: 将细胞总数为 $(2-6) \times 10^7$ 个人胎儿脐带间充质干细胞通过静脉输注和腰穿鞘内注射途径移植到自愿接受干细胞移植的2例遗传性痉挛性截瘫患者体内。移植后定期随访观察患者临床症状及各项指标的变化并进行综合分析。

结果与结论: 2例患者经脐带间充质干细胞移植治疗后临床症状均明显好转, 双下肢肌张力明显降低, 不需借助拐杖或他人帮助可独立行走, 并且步态平稳, 移植后各项生化指标正常, 未出现严重的并发症和明显的不良反应。随访1年余2例患者的症状持续缓解无复发。说明脐带间充质干细胞移植治疗遗传性痉挛性截瘫近期疗效明显, 可以改善患者的临床症状, 延缓病情的进展。

关键词: 遗传性痉挛性截瘫; 治疗; 干细胞移植; 脐带间充质干细胞

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.01.038

杨华强, 王云甫, 李东升, 杜玲, 袁雅红, 姜铎. 脐带间充质干细胞移植治疗遗传性痉挛性截瘫2例[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(1):167-170. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

遗传性痉挛性截瘫 (hereditary spastic paraplegia, HSP) 首先由Seeligmuller(1874年)报道, 而后Strumpell和Lorrain作了详细论述, 故又称为Strumpell-Lorrain病。该病主要以进行性双下肢肌张力增高、肌无力和剪刀步态为特征, 目前尚无特异治疗方法, 因此, 需要不断探索与研究新的治疗方法。

本院采用脐带间充质干细胞移植治疗2例HSP患者取得了较好效果, 并结合国内外相关文献进行复习, 以提高对本病的认识, 为患者带来希望。

1 病例介绍

干细胞来源: 人胎儿脐带间充质干细胞由深圳北科细胞工程研究所提供, 采用组织块培养法进行常规细胞培养, 并按1:3的比例传代。收集第3代细胞用于治疗, 细胞总数为 $(2-6) \times 10^7$ 。间充质干细胞治疗4~6次为1疗程, 每次间隔1周。

疾病的严重程度: 采用McMonagle等^[1]建议标准对疾病的严重程度进行分级: 0级: 基因携带者但无体征; 1级: 无症状但病理征阳性; 2级: 轻度症状; 3级: 行走需单手扶拐杖; 4级: 行走需双手扶拐杖; 5级: 行走不能。

¹Cell Therapy Center,
²Department of Hematology,
³Department of Neurology, Taihe Hospital Affiliated to Hubei Medical University, Shiyan 442000, Hubei Province, China

Yang Hua-qiang*, Master, Associate chief physician, Cell Therapy Center, Taihe Hospital Affiliated to Hubei Medical University, Shiyan 442000, Hubei Province, China; Department of Hematology, Taihe Hospital Affiliated to Hubei Medical University, Shiyan 442000, Hubei Province, China yanghuaqiang2004@126.com

Supported by: the Youth Science and Technology Talent Foundation of Hubei Province, No. QJX2008-38*

Received: 2010-09-10
Accepted: 2010-10-10

湖北医药学院附属太和医院, ¹细胞治疗中心, ²血液科, ³神经内科, 湖北省十堰市 442000

杨华强*, 男, 1973年生, 湖北省十堰市人, 汉族, 2006年武汉大学医学院毕业, 硕士, 副主任医师, 主要从事干细胞基础和临床应用研究。 yanghuaqiang2004@126.com

中图分类号:R394.2
文献标识码:B
文章编号:1673-8225 (2011)01-00167-04

收稿日期:2010-09-10
修回日期:2010-10-10 (20100910016/GW Q)

肌肉痉挛程度分级: 根据Ashworth痉挛评定标准对肢体痉挛程度进行分级^[2]: 0级: 无肌张力的增加; I级: 肌张力轻度增加: 受累部位被动屈伸时, 在关节活动度之末时呈现最小阻力或出现突然卡住和释放; I⁺: 肌张力轻度增加: 在关节活动度后50%范围内出现突然卡住, 然后在关节活动度的后50%均呈现最小阻力; II: 肌张力较明显地增加: 通过关节活动度的大部分时, 肌张力均较明显地增加, 但受累部分仍能较易被移动; III: 肌张力严重增高: 被动运动困难; IV: 僵直: 受累部位被动屈伸时, 呈现僵直状态而不能动。

病例1: 女性, 25岁, 因双下肢无力、走路不稳20余年, 加重3个月入院。患者20余年前无明显诱因出现双下肢无力、走路不稳, 无发热及肢体感觉异常, 无头痛、抽搐及意识障碍, 曾在四川华西医院、武汉同济医院就诊, 临床诊断为“HSP”, 给予解痉、物理疗法及支持对症治疗后上述症状无明显好转, 3个月前患者上述症状逐渐加重, 现不能独立行走。

既往史: 患者父母为近亲结婚, 其弟有类似症状, 现行走需单手扶持拐杖, 但未行特殊诊治。

入院体检: 神志清楚, 平车推入病房, 检查合作, 心肺听诊未闻及异常, 肝脾各肋缘下未及肿大, 双下肢无水肿。颅神经检查正常, 双上肢肌力、肌张力正常, 双下肢僵硬、肌张力明显增高(Ashworth痉挛评定分级: III级)、腱反射亢进、近端肌力III级、远端肌力II级, 双侧巴彬斯基征及踝阵挛阳性, 肢体肌肉无萎缩和肌束震颤, 双足可见内翻畸形。

辅助检查: 入院后血液分析、肝肾功能及心肌酶谱均正常; 头颅及颈胸段脊髓MRI提示胼胝体变薄, 颈髓和胸髓不同程度的变细; 尿氨基酸筛查阴性; 肌电图呈神经源性损害, 周围神经传导速度正常; 脑脊液检查正常。

临床诊断: HSP。

干预治疗: 入院后给予解痉及支持对症治疗后上述症状无明显好转, 积极完善治疗前检查, 在征得医院医学伦理委员会的批准和患者知情同意的基础上给予每周1次, 共6次的脐带间充质干细胞移植治疗。首先通过静脉输注脐带间充质干细胞 2.6×10^7 , 其后采用腰穿鞘内注射脐带间充质干细胞 5.4×10^7 , 腰穿术后去枕平卧6~8 h, 24 h内严密观察患者生命体征的变化。治疗前后均常规行血液HIV-DNA抗体、梅毒抗体、肝炎标志物(甲、乙、丙、丁、戊IgM抗体)、Torch 5项检查, 免疫球蛋白(IgA、IgG、IgM)、补体C3、补体C4、T细胞亚群, 肝肾功能、血脂、血糖, 电解质、血清酶学(方法均按试剂盒要求进行), 尿尿常规检查。治疗前后均经过全面的临床评价, 均记录详细的登记表。

病情转归: 移植后患者临床症状明显好转: 双下肢肌张力明显降低(Ashworth痉挛评定分级: I级), 不需

借助拐杖或他人帮助可独立行走, 并且步态平稳。出院后至今随访1年零3个月, 症状持续缓解无复发。

病例1治疗前后症状及生化指标的变化:

项目	症状	Ashworth 痉挛 评定分级	血液分析	尿分析
治疗前	不能独立行走	III级	正常	正常
治疗后 1 年余	可以独立行走	I 级	正常	正常

项目	T 细胞 亚群	肝肾功能, 电解质	免疫球蛋白 定量	补体 C3, C4
治疗前	正常	正常	正常	正常
治疗后 1 年余	正常	正常	正常	正常

不良反应: 脐带间充质干细胞移植治疗后无发热、皮疹、头痛及其他不适。

干预点评: 说明脐带间充质干细胞治疗HSP近期有效, 不良反应小。

病例2: 男性, 21岁, 因双下肢无力、步态不稳6年, 加重2年入院。患者6年前无明显诱因出现双下肢无力、步态不稳, 易跌倒和上下楼梯困难, 因经济困难未行特殊诊治, 2年前上述症状逐渐加重, 现双手需要扶墙或借助拐杖才能缓慢行走, 步态呈剪刀步态。

既往史: 详细询问病史患者父母为近亲结婚, 其兄长有类似症状, 5岁时发病, 现因不能独立行走而长期卧床。

入院体检: 神志清楚, 扶入病房, 检查合作, 心肺听诊未闻及异常, 肝脾各肋缘下未及肿大, 双下肢无水肿。颅神经检查正常, 双上肢肌力、肌张力正常, 双下肢僵硬、肌张力明显增高(Ashworth痉挛评定分级: II级)、双下肢近端和远端肌力均为IV级、膝腱反射和跟腱反射亢进, 右下肢巴彬斯基征阳性, 双足可见弓形足。四肢肌肉无萎缩和肌束震颤, 无感觉障碍, 未见角膜色素环。

辅助检查: 入院后血液分析、肝肾功能及心肌酶谱均正常; 头颅MRI示大脑皮质萎缩, 胼胝体变薄; 脊髓MRI提示患者颈髓及上胸髓变细; 肌电图呈神经源性损害, 周围神经传导速度正常; 脑脊液检查正常。

临床诊断: HSP。

干预治疗: 入院后给予解痉、物理疗法及支持对症治疗后上述症状无明显好转, 在征得医院医学伦理委员会的批准和患者知情同意的基础上给予每周1次, 共4次的脐带间充质干细胞移植治疗。首先通过静脉输注间充质干细胞 2.4×10^7 , 其后采用腰穿鞘内注射干细胞的方法注射间充质干细胞总数 5.0×10^7 , 腰穿术后去枕平卧6~8 h, 24 h内严密观察患者生命体征的变化。治疗前

后检查同病例1。

病情转归：移植后患者临床症状明显好转：双下肢肌张力明显降低(Ashworth痉挛评定分级：I级)，不需借助拐杖或他人帮助可独立行走，并且步态平稳。出院后至今随访1年，症状持续缓解无复发。

病例2治疗前后症状及生化指标的变化：

项目	症状	Ashworth 痉挛 评定分级	血液分析	尿分析
治疗前	需扶持才能行走	II级	正常	正常
治疗后 1 年余	可以独立行走	I级	正常	正常

项目	T 细胞 亚群	肝肾功能, 电解质	免疫球蛋白 定量	补体 C3, C4
治疗前	正常	正常	正常	正常
治疗后 1 年余	正常	正常	正常	正常

不良反应：第1次腰穿脐带间充质干细胞移植后发生轻微低颅压头痛，经平卧休息、补液及对症治疗后头痛缓解，无发热、皮疹及其他严重不良反应发生。

干预约点：治疗后临床症状明显好转，虽腰穿术后发生轻微低颅压头痛，但经支持对症治疗后好转，无发热、皮疹及其他不良反应发生，说明脐带间充质干细胞治疗HSP近期有效，不良反应小。

2 讨论

HSP 又称家族性痉挛性截瘫 (familial spastic paraplegia, FSP)，是一种罕见的以肌张力增高和无力为特征的神经系统遗传性疾病，其临床异质性和遗传异质性均十分明显，病情严重者可能会丧失行走能力，给社会和家庭带来沉重的经济负担和精神负担^[3]，由于本病的病理学改变以轴突变性为主，可伴有脱髓鞘和神经元脱失现象，使这类疾病在临床上缺乏行之有效的治疗方法。目前该病的治疗主要是对症治疗，以改善患者的临床症状为主，但不能完全治愈本病，正因为如此，不断探索与研究各种创新性治疗方法是必然趋势，由此干细胞疗法在神经系统疾病中的治疗研究也应运而生^[4]。

间充质干细胞是一种来源于中胚层，具有多向分化潜能的一类干细胞，存在于人体骨髓、脂肪组织、新生儿的脐带、胎盘等组织中，研究证明间充质干细胞不仅具有向骨、软骨、脂肪及成肌细胞分化的潜能，还具有向神经元分化的潜能。由于其具有获取方便，来源丰富、容易扩增、免疫原性低及多向分化潜能等优点，使得间充质干细胞广泛应用于心血管系统疾病、神经系统疾

病、骨骼肌肉相关疾病、肝病、糖尿病足等多种疾病的临床试验中，并且取得初步疗效，展示了其广泛的临床应用前景^[5-6]。范存刚等^[7]自剥除了脐带动静脉的人脐带沃顿胶组织块中培养出形态均一的间充质干细胞，他们还发现，如以碱性成纤维细胞生长因子、脑源性神经营养因子和胰岛素-转铁蛋白-硒进行诱导后，可见到表达神经元特异性烯醇化酶、胶质原纤维酸性蛋白和髓磷脂碱性蛋白的各种神经细胞。孙洪涛等^[8]也以类似的方法获得了该细胞群，并以 β -巯基乙醇预诱导、2%二甲基亚砷和丁羟基茴香醚正式诱导后，也可以实现脐带间充质干细胞向神经细胞方向的成功分化。Yang等^[9]分别将约 5×10^5 未经处理的、经过3 d或6 d神经元条件培养基共培养的人脐带间充质干细胞移植到完全性横贯性脊髓损伤大鼠模型的损伤部位附近，3周后细胞移植组大鼠运动功能有显著改善，病变周围皮质脊髓束再生轴突和神经丝阳性纤维的数目显著增加。Liao等^[10]使用脐带间充质干细胞移植治疗脑梗死模型大鼠并观察其疗效，结果发现移植的脐带间充质干细胞能显著减少脑梗死面积并促进大鼠神经功能恢复，还发现移植的脐带间充质干细胞能广泛地整合到大鼠大脑的脉管系统，并且部分脐带间充质干细胞能分化为内皮细胞，治疗组大鼠梗死侧大脑的血管密度、血管内皮生长因子和碱性成纤维细胞生长因子的表达水平显著增加。此外，Liao等^[11]把人脐带间充质干细胞移植入脑出血模型大鼠的大脑内，结果发现脐带间充质干细胞移植治疗能显著改善大鼠的神经功能缺陷和降低脑出血的损伤范围，细胞移植后3 d脑出血区域周围白细胞的浸润、小神经胶质的活化、基质金属蛋白酶的产生与对照组相比显著降低。Weiss等^[12]将人脐带间充质干细胞移植到未进行免疫抑制的帕金森病模型大鼠一侧纹状体中，结果发现大鼠的运动和行为异常得到显著改善，并且细胞移植大鼠未发现肿瘤形成迹象和明显的移植排斥反应。Liang等^[13]应用脐带间充质干细胞治疗1例难治进展性多发性硬化患者，结果表明移植后该患者临床症状明显好转，并且病情较前趋于稳定。

本文2例患者经常规治疗临床症状无明显改善而采用脐带间充质干细胞移植治疗，治疗后2例患者的临床症状均明显缓解并且随访1年余症状持续缓解无复发，说明该治疗方法近期有效。结合国内外学者的动物实验和临床研究结果，作者分析脐带间充质干细胞治疗HSP的可能机制是：①移植的间充质干细胞可以自我分辨并迁移到损伤的神经部位，通过细胞替代作用更换机体已经死亡或受损的神经细胞，修复受损神经网络。②中枢神经系统(包括脑和脊髓)损伤后，损伤中心周边的大量神经细胞虽然健存，但受到损伤的影响，转入休眠或功能抑制状态。移植的干细胞可以分泌大量神经营养因子，激活这些神经细胞，从而改善机体的神经功能^[14-16]。干细胞和再生医学是目前医学研究热点，本文2例HSP

患者采用UC-MSC移植治疗获得了较好效果,提示可以在立足于基础研究,经过认真严格的预实验,进行大量谨慎、安全地选择病种的基础上,对于传统治疗方法疗效不好的神经系统疑难疾病可以在力所能及的范围内进行一些主动尝试,利用间充质干细胞在再生医学中的治疗技术,让那些绝望的患者和家属看到希望和光明。本文由于受病例数量限制和随访时间较短,其远期疗效及副作用还需要进一步观察。

4 参考文献

[1] McMonagle P, Byrne PC, Fitzgerald B, et al. Phenotype of AD-HSP due to mutations in the SPAST gene: comparison with AD-HSP without mutation. *Neurology*.2000;55(12): 1794-1800.

[2] Liu YL,Gao W,Tan WY. Guowai Yixue:Wuli Yixue yu Kangfuxue Fence.2003;23(2):60-62.
刘雅丽,高伟,谭维溢.痉挛的评定[J].国外医学:物理医学与康复学杂志, 2003,23(2):60-62.

[3] Che FY, Wang GB, Gao PH, et al. *Zhonghua Yixue Yichuanxue Zazhi*. 2009;26(5): 697.
车峰远,王贵宾,高佩虹,等. 常染色体隐性遗传的遗传性痉挛性截瘫一家系[J].中华医学遗传学杂志, 2009,26(5):697.

[4] Kim SU, de Vellis J. Stem cell-based cell therapy in neurological diseases: a review. *J Neurosci Res*.2009;87(10):2183-2200.

[5] Harris DT. Non-haematological uses of cord blood stem cells. *Br J Haematol*. 2009; 147(2):177-184.

[6] Xu YW,Feng K,Shi BY. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*.2009;13(36):7163-7166.
许怡薇,冯凯,石炳毅.干细胞在再生医学领域的临床应用现状及前景[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,13(36):7163-7166.

[7] FAN Cun-gang, ZHANG Qiang-jun, HAN Zhong-chao. *Chin J Neurosurg*. 2005;21(7):388-392.
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.

[8] Sun HT,Liu XZ,Zhang S.*Zhonghua Shenjing Waike Jibing Yanjiu Zazhi*. 2008;7(2):132-135.
孙洪涛,刘晓智,张赛.脐带间充质干细胞分离、鉴定与神经分化[J].中华神经外科疾病研究杂志,2008,7(2):132-135.

[9] Yang CC, Shih YH, Ko MH,et al. Transplantation of human umbilical mesenchymal stem cells from Wharton's jelly after complete transection of the rat spinal cord. *PLoS One*.2008;3(10): e3336.

[10] Liao W, Xie J, Zhong J, et al. Therapeutic effect of human umbilical cord multipotent mesenchymal stem cells in a rat model of stroke. *Transplantation*,2009;87(3):350-359.

[11] Liao W, Zhong J, Yu J,et al. Therapeutic benefit of human umbilical cord derived mesenchymal stromal cells in intracerebral hemorrhage rat: implications of anti-inflammation and angiogenesis. *Cell Physiol Biochem*.2009; 24(3-4):307-316.

[12] Weiss ML, Medicetty S, Bledsoe AR,et al. Human umbilical cord matrix stem cells: preliminary characterization and effect of transplantation in a rodent model of Parkinson's disease. *Stem Cells*.2006; 24(3):781-792.

[13] Liang J, Zhang H, Hua B, et al. Allogeneic mesenchymal stem cells transplantation in treatment of multiple sclerosis. *Mult Scler*.2009;15(5): 644-646.

[14] Yamasaki TR, Blurton-Jones M, Morrissette DA, et al. Neural stem cells improve memory in an inducible mouse model of neuronal loss. *J Neurosci*. 2007;27(44):11925-11933.

[15] Pueyo R, Junqué C, Vendrell P, et al. Neuropsychologic impairment in bilateral cerebral palsy. *Pediatr Neurol*. 2009;40(1): 19-26.

[16] Leu S, Lin YC, Yuen CM, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells markedly attenuate brain infarct size and improve neurological function in rats. *J Transl Med*.2010;8(1):63-67.

来自本文课题的更多信息--

基金资助: 湖北省青年科技人才基金资助项目 (QJX2008-38)。

作者贡献: 第二、六作者进行实验设计,实验实施为第一作者,实验评估为第五作者,资料收集为第三、四作者,第一作者成文,第三作者审校,第一作者对文章负责。

致谢: 感谢深圳北科细胞工程研究所提供对干细胞相关技术的支持。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理批准: 2例患者对干细胞治疗知情同意,均签署“知情同意书”。标本的提供者对实验完全知情同意,实验经医院伦理委员会批准。该2例患者治疗实施者均为硕士研究生,大多数为副高级以上职称,具备多年从事干细胞治疗的临床经验,临床经验丰富、治疗成功率高。

本文创新性: 以“遗传性痉挛性截瘫,治疗,干细胞移植,脐带间充质干细胞, Hereditary spastic paraplegia, Treatment, Stem cell transplantation, Umbilical cord mesenchymal stem cells”为关键词检索中国知网及PubMed数据库2008-01/2010-08相关文章,未检索到相关文章。

遗传性痉挛性截瘫治疗上主要以对症治疗为主,目前无特效治疗方法。间充质干细胞已经被广泛应用于多种神经系统疾病的临床试验中,本文创新性地提出采用脐带间充质干细胞治疗遗传性痉挛性截瘫的全新治疗方法,证明这种治疗方法的近期疗效。

医学英语单词例句: 本刊英文部

Diminish

vt. 减少, 变小, 减损

vi. 变少, 逐渐变细

词义辨析:

decrease, diminish, lessen, reduce, dwindle

这些词的共同含义是“减少, 变少”。

decrease: 指逐渐地、不断地减少。

diminish: 侧重大小、数量和重要性的不断减小, 强调减小的部分。

lessen: 普通用词, 与decrease近义。指数目、程度、价值、实力等的减少。

reduce: 普通用词, 含义广。指数量、程度的降低或减少。

dwindle: 与decrease同义, 指逐渐减小, 但强调变得越来越少终至全无。

英英解释:

①decrease in size, extent, or range

同义词: decrease, lessen, fall

②lessen the authority, dignity, or reputation of

同义词: belittle

本刊例句:

The left leg developed diminished muscular tonicity, and the left foot exhibited impaired dorsiflexion and sole-toe-flexion reflex.