

- [5] Kirshblum SC, Burns SP, Biering-Sorensen F, et al. International standards for neurological classification of spinal cord injury (Revised 2011). J Spinal Cord Med, 2011, 34:535-546.
- [6] 南登崑. 康复医学. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004:74-81.
- [7] 汪军玉, 徐祝军. 脊髓损伤修复研究的进展. 中国康复医学杂志, 2010, 25:1106-1109.
- [8] 彭敏, 邹育庭, 廖公平, 等. 康复治疗对脊髓损伤患者恢复的影响. 中国现代医生, 2011, 49:155-156.
- [9] 李庆波, 王传英, 李丽, 等. 早期康复治疗对脊柱骨折合并脊髓损伤患者术后疗效的影响. 中华物理医学与康复杂志, 2007, 29:634-636.
- [10] 张引成, 王贵和, 张政华. 神经节苷脂 M1 介导神经生长因子对运动神经元再生的影响. 西安医科大学学报, 2001, 22:459-462.
- [11] Arthur B, Mary JR, Lynne CW. NGF message and protein distribution in the injured rat spinal cord. Exp Neurol, 2004, 188:115-127.
- [12] Qiao L, Vizzard MA. Up-regulation of tyrosine kinase (Trka, Trkb) receptor expression and phosphorylation in lumbosacral dorsal root ganglia after chronic spinal cord (T8-T10) injury. Comp Neurol, 2002, 449:217-230.
- [13] Stöckel K, Schwab M, Thoenen H. Comparison between the retrograde axonal transport of nerve growth factor and tetanus toxin in motor, sensory and adrenergic neurons. Brain Res, 1975, 99: 1-16.
- [14] 闫金玉, 李剑锋, 张旭. 鼠神经生长因子配合肌电生物反馈及中频电针治疗胸腰段椎体骨折致脊髓损伤 24 例. 内蒙古医学杂志, 2012, 44:7-10.
- [15] Zang DW, Liu J, Cheema S. Effect of neurotrophic factor and stem cell therapy on alregeration after spinal cord injury. J Clin Rehabil Tissue Eng Res, 2007, 11:2787-2791.
- [16] Schwartz M, Spirman N. Sprouting from chicken embryo dorsal root ganglia induced by nerve growth factor is specifically inhibited by affinity-purified antiganglioside antibodies. Proc Natl Acad Sci USA, 1982, 79:6080-6083.
- [17] Cuello AC, Garofalo L, Kenigsberg RL, et al. Gangliosides potentiate in vivo and in vitro effects of nerve growth factor on central cholinergic neurons. Proc Natl Acad Sci USA, 1989, 86:2056-2062.
- [18] Duchemin AM, Neff NH, Nadjicostantinou M. GM-1 increases the content and mRNA of NGF in the brain of aged rats. Neuroreport, 1997, 8:3823-3827.
- [19] Baumgartner WA, Redmond JM, Zehr KJ, et al. The role of the monosialoganglioside, GM1, as a neuroprotectant in an experimental model of cardiopulmonary bypass and hypothermic circulatory arrest. Ann NY Acad Sci, 1998, 845:382-390.
- [20] 黄飞, 王怀经, 邢毅, 等. 联合应用神经生长因子和神经节苷脂 1 对坐骨神经损伤大鼠脊髓神经元的保护作用. 解剖学杂志, 2005, 28:323-325.
- [21] 王英超, 孙红梅, 董振香. 注射用鼠神经生长因子. 中国新药杂志, 2007, 16:1538-1539.

(修回日期:2012-09-16)

(本文编辑:汪 玲)

干细胞移植治疗脊髓损伤的影响因素初步分析

卢桂兰 胡祥 王高岸 史丽 吉贞料 曾志文

【摘要】目的 通过观察和比较脐血干细胞治疗脊髓损伤(SCI)显效和非显效病例资料,分析探讨影响脐血干细胞治疗 SCI 疗效的主要因素。**方法** 将 22 例 SCI 患者按脐血干细胞治疗疗效分为显效组(10 例)和非显效组(12 例),回顾性观察和分析 2 组患者肌力、肌张力、感觉、反射、膀胱直肠功能、移植疗程等指标的情况,采用 Barthel 指数、改良 Ashworth 量表、美国脊髓损伤学会(ASIA)制订的 ASIA 残损分级等评分标准对 2 组患者进行功能评定,并进行统计学对比分析。**结果** 显效组的平均病程(13 个月)明显短于非显效组(50 个月),且 2 组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。SCI 平面双下肢或四肢肌力显效组 0 级 4 例(4/10,40%),小于 3 级 4 例(4/10,40%),大于 3 级 2 例(2/10,20%);非显效组 0 级 7 例(7/12,58%),小于 3 级 5 例(5/12,42%)。受损脊髓平面以下深浅感觉显效组缺失 3 例(3/10,30%),减退 7 例(7/10,70%),非显效组缺失 8 例(8/12,67%),减退 4 例(4/12,33%)。肛门周围感觉显效组存在 10 例(10/10,100%),非显效组 3 例(3/12,25%)。尿便失禁显效组 8 例(8/10,80%),非显效组 11 例(11/12,92%)。显效组患者的 Barthel 指数、ASIA 运动和感觉评分与非显效组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。ASIA 残损分级:显效组 B 级 3 例, C 级 5 例, D 级 2 例;非显效组 A 级 9 例, B 级 1 例, C 级 2 例。**结论** 影响脐血干细胞移植治疗 SCI 疗效的主要因素是在 SCI 早期治疗,特别是临床症状轻的不完全性 SCI 患者给予干细胞移植加康复综合训练治疗,预后较佳;多个疗程干细胞移植治疗可提高疗效。

【关键词】 脐血干细胞; 脊髓损伤; 移植

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)的修复一直是神经科学研究领域的一大难题,传统治疗效果往往不佳,而神经干细胞

移植对 SCI 患者的康复具有一定的疗效,并且尚未见不良反应报道^[1]。干细胞移植治疗 SCI 是通过移植体内干细胞分化为神经元和神经细胞以及激活损伤部位的内源性修复反应等途径达到对神经细胞的修复作用,可以减少瘢痕形成,降低炎症反应,保护解剖结构完整而轴突失去功能连接的脱髓鞘细胞,帮助重建突触联系^[2-3]。本研究旨在探讨影响脐血干细胞移植

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2013.03.007

作者单位:570005 海口,海南省农垦总医院康复科(卢桂兰、王高岸、史丽、吉贞料、曾志文);深圳北科细胞工程研究所(胡祥)

治疗 SCI 疗效的因素。

资料与方法

一、一般资料

选取 2007 年 10 月至 2012 年 5 月海南省农垦总医院收治的 SCI 接受脐血干细胞治疗患者 22 例(外籍 7 例,中国籍 15 例),按脐血干细胞治疗的疗效^[4-5]分为显效组和非显效组,显效组 10 例,非显效组 12 例。显效组:男 6 例,女 4 例,年龄 22~56 岁,平均 29 岁;平均病程 13 个月(2~6 个月 6 例,1~4 年 4 例);颈髓损伤 5 例,胸髓损伤 2 例,腰髓损伤 3 例。非显效组:男 8 例,女 4 例,年龄 20~39 岁,平均 29 岁;平均病程 50 个月(1.5~6 个月 3 例,1~5 年 7 例,13 年 2 例);颈髓损伤 5 例,胸髓损伤 3 例,腰髓损伤 4 例。2 组病程经统计学分析比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),余数据经统计学分析比较,2 组差异均无统计学意义($P > 0.05$);2 组病例均有外伤史,干细胞移植治疗前均在当地或家里一直行常规康复训练治疗,入院后在康复综合训练的基础上加上脐血干细胞治疗,经脊髓 MRI 检查,明确 SCI,均已行椎体内固定手术治疗,无干细胞移植治疗禁忌证。

二、干细胞来源及治疗方法

干细胞来自健康分娩孕妇的脐带血(检测艾滋病病毒、梅毒抗体、肝炎标志物 5 项、抗弓形虫抗体、抗风疹病毒抗体、抗巨细胞病毒抗体、抗单纯疱疹病毒 I 抗体、抗单纯疱疹病毒 II 抗体等),经由深圳市北科细胞工程研究所进行分离。每份细胞数量约达 $(1.5 \sim 3.0) \times 10^7/\text{ml}$,其中约 80% 间质干细胞,20% 神经前体细胞,患者移植前均签署干细胞治疗知情同意书。

治疗方法:经静脉和腰椎穿刺术行干细胞移植治疗。治疗次数:4 次为 1 个疗程,每次间隔 5~7 d;治疗 2~3 个疗程。

三、观察指标及疗效判定标准

临床指标:肌力、肌张力、感觉、反射^[6-7]、膀胱直肠功能和移植疗程。

功能量表指标:于治疗前、后采用 Barthel 指数^[6]、改良 Ashworth 量表评分^[8]及美国脊髓损伤学会(American Spinal Injury Association, ASIA)残损分级^[5]分别对患者日常生活活动(activity of daily living, ADL)能力、肌痉挛及脊髓残损程度进行评定。

Barthel 指数评定^[6]:记分为 0~100 分。100 分视为患者可以自理,75~95 分为患者轻度依赖,50~70 分为患者中度依赖,25~45 分为患者重度依赖,0~20 分为患者完全依赖,完全不能自理。

改良 Ashworth 量表评分^[8]:0 级,无肌张力增加;I 级,肌张力轻度增加,受累部分被动屈伸时,在活动范围之末时出现最小阻力或突然出现的卡住和放松;I⁺级,肌张力轻度增加,在关节活动范围 50% 之内出现突然卡住,然后在关节活动范围 50% 之后均呈现最小阻力;II 级,肌张力增加较明显,关节活动范围的大部分肌张力均明显增加,但受累部分关节仍能较容易地被动活动;III 级,肌张力严重增高,被动活动困难;IV 级,肌挛缩,受累部分关节被动屈伸时呈挛缩状态而不能动。

ASIA 残损分级^[5]:①A 级完全性损伤,在骶段 L₄~L₅无任何感觉或运动功能保留;②B 级不完全性损伤,在神经平面以下包括骶段 L₄~L₅存在感觉功能,但无运动功能;③C 级不完全性

损伤,在神经平面以下存在运动功能,且平面以下一半以上的关键肌肌力 < 3 级(0~2 级);④D 级不完全性损伤,在神经平面以下存在运动功能,且平面以下至少一半的关键肌肌力 ≥ 3 级;⑤E 级,感觉和运动功能正常。

疗效判定标准:采用治疗后截瘫平面、感觉平面较治疗前降一个脊髓节段,肌力上升一级^[4]或 ASIA 残损分级上升一级视为显效^[5]。

四、统计学分析

采用 SPSS 11.0 版软件包进行统计学分析,数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用方差齐性检验,方差齐时用 t 检验,方差不齐时采用校正 t' 检验分析, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

结 果

一、临床指标

1. 肌力:显效组 SCI 平面双下肢或四肢肌力为 0 级 4 例(4/10,40%), < 3 级有 4 例(4/10,40%), > 3 级 2 例(2/10,20%);非显效组 SCI 平面双下肢或四肢肌力为 0 级 7 例(7/12,58%), < 3 级有 5 例(5/12,42%), > 3 级 0 例。

2. 肌张力:显效组增高 6 例(6/10,60%),降低 4 例(4/10,40%);非显效组增高 9 例(9/12,75%),降低 3 例(3/12,25%)。

3. 感觉:显效组受损脊髓平面以下深浅感觉缺失 3 例(3/10,30%),减退 7 例(7/10,70%),肛门周围感觉存在 10 例(10/10,100%);非显效组受损脊髓平面以下深浅感觉缺失 8 例(8/12,67%),减退 4 例(4/10,33%),肛门周围感觉存在 4 例(4/10,33%)。

4. 反射:显效组膝腱放射活跃 6 例(6/12,60%),减弱 4 例(4/10,40%),腹壁反射、球肛门反射、肛门反射存在有 7 例(7/10,70%),消失 3 例(3/10,30%);显效组 6 例男性患者中提睾反射存在 3 例,消失 3 例;非显效组膝腱放射活跃 9 例(9/12,75%),减弱 1 例(1/12,8%),消失 2 例(2/12,17%),腹壁反射、球肛门反射、肛门反射存在有 3 例(3/12,25%),消失 9 例(9/12,75%),非显效组 8 例男性患者中提睾反射存在 2 例,消失 6 例。

5. 膀胱直肠功能:显效组尿便失禁 8 例(8/10,80%),1 例仅有尿失禁(1/10,10%),1 例无尿便失禁(1/10,10%);非显效组尿便失禁 11 例(11/12,92%),1 例无尿便失禁(1/12,8%)。

6. 干细胞移植疗程:显效组 2 例行 2 个疗程干细胞治疗,分别间隔 9 个月和 1 年,特点是第 1 个疗程疗效不明显,第 2 个疗程后明显改善,另 1 例行 3 个疗程干细胞治疗,间隔 6 个月再行 1 个疗程治疗,特点是在住院期间改善不明显,出院后逐渐改善;非显效组 1 例患者行 2 个疗程干细胞治疗,间隔时间是 1 年,第 1 个疗程无明显改善,第 2 个疗程后膀胱直肠功能有改善。

二、功能量表

1. Barthel 指数评定:显效组平均分与非显效组平均分比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),提示显效组 ADL 能力较非显效组好,详见表 1。

2. 改良的 Ashworth 量表评分:显效组 4 例偏低,6 例中 I 级 3 例,II 级以上 3 例;非显效组 3 例偏低, I 级 2 例, II 级以上 7 例,详见表 2。

表 1 显效组和非显效组的 Barthel 指数及 ASTA 评分比较(分, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	Barthel 指数 (分)	ASIA 评分	
			运动评分	感觉评分
显效组	10	40.20 $\pm$ 11.79 ^a	48.30 $\pm$ 11.25 ^a	103.90 $\pm$ 15.43 ^a
非显效组	12	25.90 $\pm$ 5.60	30.08 $\pm$ 4.06	83.10 $\pm$ 12.04

注:与非显效组比较,^a $P < 0.05$ **表 2** 显效组和非显效组的改良 Ashworth 评分及 ASIA 残损分级比较(例)

组别	例数	改良 Ashworth 量表评分(例)				ASIA 残损分级			
		偏低	I 级	II 级	III 级	A 级	B 级	C 级	D 级
显效组	10	4	3	3	0	0	3	5	2
非显效组	12	3	2	5	2	9	1	2	0

3. ASIA 残损分级评分:显效组运动和感觉评分与非显效组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),且显效组较非显效组好(见表 1),显效组 ASIA 残损分级分别为 B 级 3 例,C 级 5 例,D 级 2 例;非显效组 ASIA 残损分级分别为 A 级 9 例,B 级 1 例,C 级 2 例,详见表 2。

讨 论

神经干细胞(neural stem cells, NSCs)移植促进 SCI 的再生机制是由于 NSCs 本身能分泌一些神经营养因子,而 NSCs 自然分化而形成的神经元在神经通路重建及功能恢复方面也发挥重要作用^[9-10]。目前国内外临床研究表明,干细胞移植治疗 SCI 是有效的。Moviglia 等^[11]对 2 例 SCI 患者进行神经干细胞移植治疗,发现 2 例患者的运动和感觉功能均有明显改善;Mehta 等^[12]从蛛网膜下腔注射干细胞治疗神经障碍性疾病,发现 163 例 SCI 患者中有 54 例运动功能得到提高;王连仲等^[13]用骨髓干细胞治疗 SCI 患者 400 余例,发现干细胞治疗 SCI 是可行和有效的。

关于 SCI 干细胞治疗的最佳时机,Okano 等^[14]提出了“窗口期”的概念,认为 SCI 后存在一个“窗口期”,大约在 SCI 后的 7~14 d,在“窗口期”内进行 NSCs 移植治疗 SCI 可能取得更好的效果,这样既可避免急性损伤期的不利环境,又可及时为组织修复和 NSCs 再生创造良好的微环境,防止胶质瘢痕的形成。

本研究发现:①显效组病程较非显效组短($P < 0.05$),提示早期行干细胞治疗效果佳;显效组中有 1 例高位颈髓损伤患者,病程 56 d,行干细胞治疗前,双上肢肌力 III 级,右下肢肌力 II 级,左下肢肌力 III⁻级,经 1 个疗程(4 次)干细胞治疗后,患者四肢肌力提高至 V⁻级,能自己独立行走,说明 SCI 早期行干细胞治疗的疗效佳;②显效组有些 SCI 已 1~4 年的时间,但疗效仍佳,而非显效组中亦有早期治疗的病例,然而疗效不佳,说明干细胞治疗虽然与时间有相关性,但还与其它因素有关;显效组病例在临床指标和功能量表评分均优于非显效组,而且均为不完全性 SCI,而对完全性 SCI 而言,在干细胞移植治疗后,不完全性 SCI 在神经通路重建及功能恢复方面的疗效优于完全性 SCI;③显效组有 2 例患者行 2 个疗程治疗,1 例间隔 9 个月,另 1 例间隔 1 年,特点是第 1 个疗程疗效不明显,第 2 个疗程后明显改善;另 1 例患者行 3 个疗程干细胞治疗,间隔 6 个月再行 1 个疗程治疗,特点是在住院期间改善不明显,出院后逐渐改

善,而且每次治疗后在运动感觉、膀胱直肠功能方面均有改善,提示多次疗程干细胞治疗可能会对 SCI 有益;④患者出现的疗效到底是干细胞的作用还是康复训练等综合治疗的作用,本研究能对此作出很好的解释,因为本研究的 2 组患者全部在当地或在家行康复治疗,从未间断,因此在治疗前就是一个非常好的对照组,在干细胞移植加康复训练后出现的各种功能的进一步改善,应归因于干细胞的作用,而且 SCI 的肢体残障较重,康复治疗非常重要,需伴随终生。

综上所述,脐血干细胞治疗 SCI 疗效的主要因素是在 SCI 早期,对临床症状较轻的不完全性 SCI 患者行干细胞移植加康复综合训练治疗;多个疗程干细胞移植治疗亦可提高疗效。由于本研究病例数尚少,目前还不能断定其大宗病例的疗效和最终的恢复程度;干细胞移植后在人体存活率、与人体的嵌合情况以及最佳的干细胞移植数量、移植途径、移植后免疫排斥等因素都会影响其治疗效果,因此还需要进一步观察和研究。

参 考 文 献

- [1] Pal R, Venkataramana NK, Bansal A, et al. Ex vivo-expanded autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in human spinal cord injury/paraplegia: a pilot clinical study. *Cytotherapy*, 2009, 11: 897-911.
- [2] Claikie DI, Johansson CB. Generalized potential of adult neural stem cell. *Science*, 2000, 288: 1660-1663.
- [3] Morgenstern DA, Asher RA, Fawcett JW. Chondroitin sulphate proteoglycans in the CNS injury response. *Prog Brain Res*, 2006, 137: 313-332.
- [4] 黎启福, 赵金平, 王宏新, 等. 丹参川芎嗪注射液联合甲泼尼龙治疗胸腰段脊髓损伤. *齐齐哈尔医学院学报*, 2012, 33: 450-451.
- [5] American Spinal Injury Association. Standards for neurological classification of spinal injury patients. Chicago: American Spinal Injury Association, 1996: 1-3.
- [6] 全国第 4 届脑血管病学术会议. 脑卒中患者临床神经功能缺损程度评分标准. *中华神经科杂志*, 1996, 29: 381-383.
- [7] 吴江. *神经病学*. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 62-74.
- [8] Wade DT. *Measurement in Neurological Rehabilitation*. Oxford: Oxford University Press, 1996: 162.
- [9] Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma*, 1995, 12: 1-21.
- [10] Yan J, Welsh AM, Bora SH, et al. Differentiation and tropic effects of exogenous neural precursors in the adult spinal cord. *J Comp Neurol*, 2004, 480: 101-114.
- [11] Moviglia GA, Fernandez-Viña R, Brizuela JA, et al. Combined protocol of cell therapy for chronic spinal cord injury. Report on the electrical and functional recovery of two patients. *Cytotherapy*, 2006, 8: 202-209.
- [12] Mehta T, Thakkar U, Vanikar A, et al. Subarachnoid placement of stem cells in neurological disorders. *Transplant Proc*, 2008, 40: 1145-1147.
- [13] 王连仲, 王永才, 闻华, 等. 干细胞移植治疗脊髓损伤的临床应用现状. *中国组织工程研究与临床康复杂志*, 2009, 13: 7193-7196.
- [14] Okano H, Ogawa Y, Nakamura M, et al. Transplantation of neural stem cells into the spinal cord after injury. *Semin Cell Dev Biol*, 2003, 14: 191-198.

(修回日期: 2012-11-26)

(本文编辑: 汪 玲)