

· 综述 ·

细胞疗法在缺血性脑血管病治疗中的应用

黄怀 张旭 沈丹彤

缺血性脑血管病 (ischemic cerebrovascular disease, ICVD) 指由于各种原因引起脑血管堵塞, 导致脑血管功能障碍并引发相关临床症状。ICVD 是最常见的脑血管病类型之一, 常导致机体严重神经功能障碍。目前临床针对 ICVD 患者多常规采用溶栓、脱水、改善微循环、营养脑神经等传统治疗, 但在抑制神经细胞凋亡或死亡、促进神经损伤区功能恢复方面的效果有待提高, 如何更有效治疗 ICVD 患者仍是困扰临床的重要难题之一。

细胞疗法的概念及分类

近年来逐渐兴起的细胞疗法为改善 ICVD 疗效带来了希望。细胞疗法是以功能性细胞为主体的治疗方法, 所采用的材料包括由细胞因子或单克隆抗体活化的免疫细胞、树突状抗原呈递细胞、成体组织间充质细胞、血液-淋巴干细胞、人工诱导的多能干细胞等。其中干细胞通常由自体骨髓、脐带血中获取, 经专用的干细胞分离液提取、纯化后得到临床治疗所需干细胞, 采用静脉点滴、注射或介入等方式输入患者体内, 利用干细胞自我复制及分化能力来修复体内受损组织, 达到重建机体功能等目的。

干细胞是一类具有自我复制能力的多潜能细胞, 在一定条件下可分化为多种功能细胞。依据干细胞来源可分为胚胎干细胞 (embryonic stem cells, ESC) 和成体干细胞 (adult stem cell, ASC)。ESC 是从囊胚期细胞团内分离得到的干细胞, 是一种高度未分化细胞, 具有全能发育等特性, 理论上可诱导分化为体内任何一种类型细胞, 具有巨大发展潜能, 但由于目前国际上对胚胎细胞或组织的利用还存在伦理学争议, 其临床应用及研究均受到诸多限制。ASC 在许多成体组织中广泛存在, 亦具有多向分化潜能, 获取相对较容易, 而且 ASC 致癌风险较低, 在伦理学方面的争议亦较少, 故具有良好的科研及应用前景。

干细胞按分化潜能可分为三种类型: 全能性干细胞、单能性干细胞及多能性干细胞。全能性干细胞是指细胞具有很强的分化潜能, 可分化形成各种组织、器官或完整个体的相应细胞, 如胚胎干细胞等。多能性干细胞是指细胞具有较强的分化潜能, 可通过分化形成多种组织细胞, 但失去了发育成完整个体的能力, 如骨髓多能造血干细胞等。单能性干细胞是细胞只能向一种类型或密切相关的两种类型细胞分化, 故也称之为专能或偏能干细胞, 如上皮组织基底层干细胞、肌肉中的成肌细胞等^[1]。

目前国内、外在治疗 ICVD 时应用及研究较多的干细胞包括: 骨髓间充质干细胞 (bone mesenchymal stem cells, BMSCs)、脐带间充质干细胞 (umbilical cord mesenchymal stem cells, UCMSCs)、神经干细胞 (neural stem cells, NSCs) 和诱导性多潜能干细胞 (induced pluripotent stem cell, iPS cell) 等。成熟星形胶

质细胞 (astrocyte, AST) 虽然不属于干细胞, 但它在一定条件下可被激活并发挥内源性干细胞作用, 因此也常用于治疗 ICVD 患者。

骨髓间充质干细胞

一、细胞来源及特点

BMSCs 由中胚层细胞分化形成, 具有以下特点: ①存在于多种组织中, 以骨髓组织含量最为丰富, 取材方便; ②具有良好的自我复制能力、多向分化潜能、免疫调控功能及增殖能力, 在一定条件下可分化为神经细胞、造血细胞、肌腱细胞和骨细胞等; ③具有低免疫源性及良好的组织融合性, 可直接在手术中注入侧脑室或行腰椎穿刺进行椎管内注入, 也可通过静脉输入, 移植操作简便、易行, 经植入的干细胞可通过血脑屏障并发挥治疗作用; ④BMSCs 一般采用自体移植方式, 减少了免疫排斥反应, 具有较高的安全性^[2]。另外机体脑组织中存在一些神经生长因子, 能保护 BMSCs 在脑中不被破坏, 同时还能促其增殖、分化, 故 BMSCs 适合用来治疗缺血性脑梗死, 对加速微血管重建及脑梗死区神经组织修复具有重要意义^[3]。

二、治疗作用机制

目前关于 BMSCs 治疗 ICVD 的作用机制主要包括: ①促进微血管、神经元再生。BMSCs 可影响基质细胞衍化因子和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factors, VEGF) 等各种神经营养因子分泌, 加速损伤区血管生成, 促进突触连接和受损轴突髓鞘再生, 抑制细胞凋亡, 同时还能通过旁分泌作用调节炎症反应^[4], 借助反馈调节机制促进干细胞动员和受损组织再生^[5], 为脑组织修复创造良好微环境。②营养作用。植入的 BMSCs 与损伤区周围神经组织相互作用, 能分泌神经营养因子、白细胞介素等细胞因子, 对诱导干细胞分化、促进受损神经、微血管功能恢复具有重要作用; 另外缺血神经组织可分泌脑源性神经生长因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF)、胶质细胞系来源神经营养因子 (glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)、神经生长因子 (nerve growth factor, NGF)、转化生长因子- $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 等^[6-7], 有助于神经干细胞存活、迁移及增殖。③趋化作用及重构。BMSCs 移植后通过趋化效应向病变组织移动、渗透、融合并分化, 从而替代受损细胞^[8], 达到重建神经组织的目的。关于 BMSCs 治疗 ICVD 的确切机制目前尚未明确, 移植途径及移植所需剂量与疗效间的关系还有待进一步研究。闻霞等^[9]研究发现, BMSCs 移植治疗脑缺血的机制可能是多种因素综合作用的结果, 如急性期可能与 BMSCs 分泌一些细胞因子、神经营养因子有关, 随后 BMSCs 激活病灶区细胞自我修复, 甚至取代已死亡的神经细胞组织, 提示上调缺血脑组织中神经生长因子、营养因子及生长导向因子水平可能是 BMSCs 移植治疗 ICVD 的早期重要机制。

三、相关应用及研究现状

目前临床上常规治疗很难促使较大的缺血性病灶修复,通过移植外源性 BMSCs 来修复、替代缺血坏死区神经组织已成为一个有效治疗策略,能促进缺血性脑梗死患者神经功能改善^[10-11]。Lee 等^[12]通过长期随访 85 例接受自体 BMSCs 移植的严重大脑中动脉脑梗死患者,发现 BMSCs 移植疗法具有良好的安全性及有效性,但治疗效果与患者病情密切相关。徐龙强等^[13]通过向成年大鼠移植体外原代培养的 BMSCs,发现移植后的 BMSCs 具有较强自我更新能力及多向分化潜能,在合适条件下可诱导分化为神经元及神经胶质细胞。近年来相关研究表明,BMSCs 其生命周期可通过增加端粒酶水平来延长,便于体外大量培养,因此在众多干细胞中 BMSCs 被认为是较理想的种子细胞之一^[14]。Seyfried 等^[15]将不同剂量的人 BMSCs 通过尾静脉注入到脑出血大鼠模型中,14 d 后发现大鼠脑损伤区聚集大量移植的 BMSCs,并且移植组大鼠脑软化灶体积显著缩小,其未成熟神经元、突触组织数量均较对照组明显增多。虽然 BMSCs 具有诸多优点并在临床上得到广泛应用,但该细胞同时还存在一定局限性,如捐骨髓者年龄越大,则所取干细胞数量及分化能力均明显不足^[16]。

脐带间充质干细胞

一、细胞来源及特点

脐带是胎儿时期连接母体与胎儿的索状结构,其外有羊膜覆盖,内有 2 条脐动脉和 1 条脐静脉,血管周围为来自胚外中胚层、含水量丰富的特殊粘液样结缔组织,称为华通氏胶(Wharton's jelly),从华通氏胶分离得到的基质细胞即为 UCMSCs。UCMSCs 既非胚胎干细胞、又非成体干细胞,是介于两者之间一类新的多能间充质细胞,通过体外诱导培养可向神经元、肝细胞、胰岛细胞、成骨细胞、脂肪细胞、成肌细胞等多种细胞分化,其体外扩增能力、细胞原始性均高于 BMSCs,并可向神经细胞分化,具有很强的可塑性^[17]。UCMSCs 具有以下特点:①细胞来源广泛,采集方便,不会造成供体损伤;②脐带血中的干/祖细胞较成人骨髓中的干/祖细胞更原始,具有更强的增殖分化能力;③脐带血中淋巴细胞免疫功能不够成熟,移植后抗宿主病发生率较低;④脐带血中不会有肿瘤细胞^[18]。

二、治疗作用机制

UCMSCs 移植治疗 ICVD 的作用机制可能涉及诱导内源性 VEGF 表达,包括促进局部微血管增生及抑制细胞凋亡和免疫调节等^[19],与 BMSCs 的治疗作用机制类似^[20]。

三、相关应用及研究现状

同种异体 UCMSCs 鞘内移植是目前普遍采用的治疗方法,UCMSCs 能够有效迁移、分化,对缺血性脑损伤大鼠模型神经功能恢复具有促进作用^[21]。UCMSCs 经移植到大鼠纹状体或通过尾静脉注射后,发现 UCMSCs 可存活并迁移到缺血部位,分化为神经细胞及神经胶质细胞^[22]。Ding 等^[23]将 UCMSCs 移植到大脑中动脉栓塞模型大鼠脑皮质内,结果发现大鼠躯体不对称活动明显减少,而自发活动频率则明显增多;其脑梗死区皮质神经元的神经生化活性显著增强;缺血区巨噬细胞、胶质细胞数量及各种神经因子表达水平明显提高;缺血区微血管灌注、半暗带内神经血管密度以及缺血区皮质脑血流量均显著增加,且趋化因子-1、胶质酸、GDNF 和 BDNF 表达水平均为对照组的 2.0 ~ 3.5 倍,提示移植 UCMSCs 可通过分泌多种神经营养因子及加

速细胞修复发挥神经保护作用。Lin 等^[24]于术后 24 h 内将 UCMSCs 移植到大鼠缺血脑皮质内,发现接受 UCMSCs 移植治疗的大鼠与未给予干细胞移植处理的对照组大鼠比较,前者脑梗死体积及脑萎缩程度均明显优于对照组;此外治疗组大鼠运动功能也表现出明显改善。移植后的 UCMSCs 在脑梗死皮质区至少能存活 36 d,并释放出多种神经保护和生长相关细胞因子。Lim 等^[25]将 UCMSCs 移植入缺血性脑损伤大鼠脑内,发现移植细胞向缺血边缘区迁移并分化为胶质细胞、神经元和血管内皮细胞,加速缺血脑组织血管及神经再生,增强神经营养因子表达,提高缺血半球局部脑皮质血流量,可明显改善受损神经功能。与 BMSCs 比较,UCMSCs 具有更好的分化能力及增殖潜能,通过异体移植该细胞可产生免疫耐受性,同时该细胞发生肿瘤倾向分化、病毒或病原微生物感染及传播的可能性均较低,还易于外源基因转染和表达;另外 UCMSCs 在采集、储存和移植方面均较 BMSCs 更有优势^[26],因此具有更广阔的应用前景。

神经干细胞

一、细胞来源与特点

NSCs 是一类能分化为神经元、AST 或少突胶质细胞等神经细胞并具有分裂潜能及自我更新能力的母细胞。NSCs 属于多能干细胞,可从神经组织中分离获取,不同类型 NSCs 分裂产生的子代细胞种类不同,分布也不尽一致。在成年哺乳动物脑室下区等部位(尤其是邻近侧脑室最前部分、海马齿状回的颗粒下区)均存在极少量具有神经再生分化能力的 NSCs。正常情况下这些细胞多处于休眠状态,在出现某些病理变化时这些 NSCs 可被激活,发生迁徙、增殖并进行分化^[27]。由于内源性 NSCs 数量偏少且分化能力有限,通过移植外源性 NSCs 已成为治疗 ICVD 最具潜力的方法之一。NSCs 可来源于患者本人,经体外扩增后再移植到病损脑组织内,因而可避免免疫排斥反应发生。NSCs 植入到神经组织后可整合入神经通路,其分化产生的神经细胞将逐渐替代有缺陷或死亡的神经细胞,所以 NSCs 可能是治疗 ICVD 的理想载体^[28]。

二、治疗作用机制

移植 NSCs 可取代受损神经元及神经胶质细胞,促进髓鞘、血管生成,增强神经突触可塑性,减轻炎症反应,加速神经功能改善^[29]。NSCs 治疗 ICVD 的可能机制与上述 BMSCs 的作用机制类似,包括营养、替代、重构及趋化作用。由 NSCs 分化的子细胞绝大多数表达神经元特异性标记物,如神经元特异性烯醇化酶、微管相关蛋白、神经细丝等^[30]。

三、相关应用及研究现状

Andres 等^[31]利用组织学及生物发光成像技术观察 NSCs 在大鼠脑组织急性缺血损伤后的迁移过程,发现部分趋化因子对干细胞向病灶方向迁移具有关键作用。有研究对脑缺血模型大鼠进行 NSCs 移植,发现不同鼠龄大鼠均能从 NSCs 移植治疗中获益^[30]。NSCs 经诱导后可选择性分化为小胶质细胞,分化细胞在体外扩增增生后植入脑中脱髓鞘区域,可促使绝大多数神经轴突髓鞘再生^[29]。对脑缺血模型大鼠进行 NSCs 移植,发现 NGF、BDNF、神经营养因子-3 基因表达及大鼠脑脊液中 NGF 蛋白表达均显著增强,其体感诱发电位检测结果亦较 NSCs 移植前明显改善^[32]。有研究显示,NSCs 移植能增强脑梗死大鼠脑室下区内源性细胞增殖并促进新生血管形成,如新生血管数量

较 NSC 移植前约增加了 46%^[33]。

诱导性多潜能干细胞

一、细胞来源及特点

iPS 细胞是由成人体细胞经简单基因改造后产生,一般通过逆病毒将不同因子导入未经遗传修饰的成纤维细胞,从而使该类细胞分化成与胚胎干细胞特征相似的干细胞。iPS 细胞具有能够分化为其它各种类型细胞的潜能,具备胚胎干细胞的物理性质、生长方式及遗传学特征。由于 iPS 细胞直接来源于成体细胞,获取方法相对简单,不需使用卵母细胞或胚胎,避免了伦理学问题。另外 iPS 细胞能够定向分化成个体特异的组织细胞,从而进行无免疫排斥反应的组织细胞移植治疗。iPS 细胞最大的优势是来源广泛且无排斥反应,但因其将病毒作为载体导入外源基因,可能会使细胞发生遗传修饰而具有潜在危险性^[34]。

二、治疗作用机制

iPS 细胞治疗 ICVD 的可能机制与 BMSCs 类似,但因其相关研究目前均处于初级阶段,故确切的作用机制还有待进一步探寻。

三、相关应用及研究现状

iPS 细胞虽然在分化性能及细胞来源方面具有优势,但因其技术尚未成熟,目前在治疗 ICVD 方面仍处于探索阶段。Wernig 等^[34]将由 iPS 细胞在体外诱导分化而来的神经前体细胞移植到胎鼠脑内,发现可进一步分化为胶质细胞和各种神经元,并具有成熟神经元活性。Kawai 等^[35]研究表明,将未分化 iPS 细胞直接移植到短暂性大脑中动脉闭塞模型小鼠缺血侧纹状体及脑皮质中,28 d 后发现移植组小鼠缺血脑区出现大量由 iPS 细胞分化的肾上腺皮质激素免疫阳性神经母细胞及一些神经胶质细胞,但同时发现 iPS 细胞在诱导转染过程中可诱发肿瘤形成。Chen 等^[36]将 iPS 细胞直接移植到脑缺血模型大鼠缺血侧脑皮质内,发现可显著缩小脑梗死体积并改善受损神经功能,移植 6 周后仍可检测到 iPS 细胞存活,但同样在缺血脑区观察到畸胎瘤形成;进一步研究显示,与单独移植 iPS 细胞比较,将 iPS 细胞与纤维蛋白胶一起通过硬脑膜下移植到脑缺血模型大鼠脑内,可进一步缩小脑梗死灶体积并改善神经功能,同时还发现炎症细胞因子表达减弱并伴有抗炎因子水平增强。上述研究结果表明,iPS 细胞联合纤维蛋白胶移植具有较大潜力,不仅能有效缩小脑梗死灶体积及改善神经功能,同时还能通过调节抗炎细胞因子水平减轻炎症反应,加速神经功能恢复。目前相关研究结果表明,采用 iPS 细胞移植治疗缺血性卒中中似乎是可行的,但在具体应用时还存在一些问题,尤其是诱导产生及定向分化方面还不够成熟,目前还没有一种十分高效、安全的诱导方法,也没有能够很好监控 iPS 细胞分化的技术。有很多研究发现,iPS 细胞在体内可分化形成畸胎瘤,这是 iPS 细胞应用于医学移植治疗时所面临的巨大挑战,亟待进一步研究及优化。

成熟星形胶质细胞

一、细胞来源及特点

AST 是神经组织中数量最多的神经胶质细胞,其细胞突起参与血脑屏障构成,对神经元具有营养、支持及保护作用,并且

能够调控神经元活动^[37],在神经组织损伤修复过程中具有不可替代的作用。AST 在一定条件下可被激活,并进一步分化成神经元或其他类型的神经组织细胞,从而发挥内源性干细胞的作用。

二、治疗作用机制

AST 在一般情况下处于休眠状态,当神经组织遭受损伤后,AST 会反应性增生并产生许多生物活性物质,一方面对缺血受损神经元发挥保护作用,另一方面休眠的 AST 能在各种损伤因子刺激下重新激活、增殖并分化,从而产生新的神经元细胞,发挥神经修复作用。关于 AST 激活的机制目前尚未明确,可能与谷胱甘肽、胶原纤维酸性蛋白等细胞因子的调控作用有关^[38]。Amankulor 等^[39]研究证实,神经组织受损有可能引起相应的信号传导通路活化,使先前休眠的 AST 具有类似干细胞的特性,AST 活化后的增殖、分化机制与 BMSCs 类似。

三、相关应用与研究

有研究证实,AST 移植后可反应性分泌修复性神经营养因子,如向脑内注射胶质源性神经生长因子可对缺血病灶周围半暗带发挥明显保护作用^[39]。AST 在脑缺血性损伤后期可通过合成一定量的神经营养因子促进神经轴突再生;相关细胞实验也证实 AST 对神经细胞轴突生长确有促进作用^[40]。有研究指出,通过对 AST 进行刺激诱导,可促其激活并分化产生神经元细胞;另外 AST 可转化为内源性干细胞,表现为多潜能细胞前体状态,并能进一步分化为神经元或其他神经组织细胞,从而发挥 ICVD 治疗作用^[41]。

其他类型的干细胞移植研究

除上述几种常用及广泛研究的干细胞类型以外,目前还有许多其他来源的干细胞(如脂肪干细胞、骨髓干细胞等)正在研究及使用中。有研究采用从大鼠脂肪组织中分离出的脂肪干细胞对脑缺血大鼠进行移植治疗,发现移植细胞经诱导后可分化为神经细胞,对促进大鼠神经功能恢复具有一定疗效^[42]。骨髓干细胞、牙囊细胞拥有干细胞和神经干细胞的若干特性,它们在一定条件下可分化成各种组织细胞,如骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞、肌肉细胞、肝细胞等^[43]。目前脂肪来源干细胞正受到临床越来越多关注,有大量研究表明其在治疗 ICVD 方面确有一定优势^[42,44]。

问题与展望

目前采用干细胞移植治疗 ICVD 的研究虽取得一系列重大进展,但同时也存在不少问题^[7,45],包括:①干细胞来源问题。如干细胞含量低、难以分离、纯化,且随着年龄增长,机体干细胞数量减少且迁移、分化能力下降。②干细胞定向分化控制技术尚未完全解决。③免疫排斥反应,对于同种移植困难需进行异体移植时,仍存在免疫排斥问题。④干细胞的确切治疗机制尚未明确,如干细胞改善神经功能是通过直接分化为神经细胞或是通过释放神经营养因子促进内源性神经细胞再生而发挥作用等问题还在研究中^[43]。⑤植入方法的选择,目前植入干细胞的方法包括鞘内植入、颈动脉注射、介入、立体定向病灶植入、病毒载体、纤维蛋白胶或转基因细胞移植等,选取何种植入技术以及该植入方法是否恰当、高效目前尚无定论。⑥干细胞移植后生

存率偏低问题亟待解决。⑦各种神经营养因子对干细胞移植疗效的影响。如向脑室注入粒细胞集落刺激因子、干细胞因子能促进干细胞向病灶区迁移,加快机体功能改善^[3],但这些因子对干细胞的趋化作用尚未完全明确。⑧移植部位、剂量、时间窗的选择和干预措施。Rosenblum 等^[10]于急性脑缺血性损伤 3 d 后进行 NSCs 移植,发现干细胞能最大程度分化为 AST,如超过该时间窗进行移植,则有更多干细胞分化为神经元。⑨分化细胞是否具备原来神经元功能、能否与其他神经细胞建立联系、重建神经环路等问题尚未得到证实。⑩干细胞治疗的起效时间及对预后的影响目前尚缺乏系统研究证实。⑪开展进一步胚胎干细胞研究所涉及的伦理学难题短期内难以解决等。

参 考 文 献

- [1] Kolios G, Moodley Y. Introduction to stem cells and regenerative medicine. *Respiration*, 2013, 85: 3-10.
- [2] Lee JS, Hong JM, Moon GJ, et al. A long-term follow-up study of intravenous autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic stroke. *Stem Cells*, 2010, 28: 1099-1106.
- [3] Locatelli F, Bersano A, Ballabio E, et al. Stem cell therapy in stroke. *Cell Mol Life Sci*, 2009, 66: 757-772.
- [4] Vieira HL, Alves PM, Vercelli A, et al. Modulation of neuronal stem cell differentiation by hypoxia and reactive oxygen species. *Prog Neurobiol*, 2011, 93: 444-455.
- [5] Hamou C, Callaghan MJ, Thangarajah H, et al. Mesenchymal stem cells can participate in ischemic neovascularization. *Plast Reconstr Surg*, 2009, 123: S45-55.
- [6] Sadat S, Gehmert S, Song YH, et al. The cardioprotective effect of mesenchymal stem cells is mediated by IGF-I and VEGF. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 363: 674-679.
- [7] Gogel S, Gubernator M, Minger SL. Progress and prospects: stem cells and neurological diseases. *Gene Ther*, 2011, 18: 1-6.
- [8] Lin H, Shabbir A, Molnar M, et al. Adenoviral expression of vascular endothelial growth factor splice variants differentially regulate bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *J Cell Physiol*, 2008, 216: 458-68.
- [9] 闻霞, 孙锋, 王金春. 骨髓间充质干细胞移植治疗脑梗死的相关研究. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11: 6657-6660.
- [10] Rosenblum S, Wang N, Smith TN, et al. Timing of intra-arterial neural stem cell transplantation after hypoxia-ischemia influences cell engraftment, survival and differentiation. *Stroke*, 2012, 43: 1624-1631.
- [11] Honmou O, Onodera R, Sasaki M, et al. Mesenchymal stem cells: therapeutic outlook for stroke. *Trends Mol Med*, 2012, 18: 292-297.
- [12] Lee JS, Hong JM, Moon GJ, et al. A long-term follow-up study of intravenous autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic stroke. *Stem Cells*, 2010, 28: 1099-1106.
- [13] 徐龙强, 隋静, 丁钰, 等. 大鼠骨髓间充质干细胞体外培养转化为神经细胞的实验. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11: 1243-1246.
- [14] Piper SL, Wang M, Yamamoto A, et al. Inducible immortality in hTERT-human mesenchymal stem cells. *J Orthop Res*, 2012, 30: 1879-1885.
- [15] Seyfried D, Ding J, Han Y, et al. Effects of intravenous administration of human bone marrow stromal cells after intracerebral hemorrhage in rats. *J Neurosurg*, 2006, 104: 313-318.
- [16] Gala K, Burdzińska A, Idziak M, et al. Characterization of bone-marrow-derived rat mesenchymal stem cells depending on donor age. *Cell Biol Int*, 2011, 35: 1055-1062.
- [17] Shichinohe H, Kuroda S, Yano S, et al. Improved expression of gamma-aminobutyric acid receptor in mice with cerebral infarct and transplanted bone marrow stromal cells: an autoradiographic and histologic analysis. *J Nucl Med*, 2006, 47: 486-491.
- [18] Lee J, Kuroda S, Shichinohe H, et al. Migration and differentiation of nuclear fluorescence-labeled bone marrow stromal cells after transplantation into cerebral infarct and spinal cord injury in mice. *Neuropathology*, 2003, 23: 169-180.
- [19] Chen K, Wang D, Du WT, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells hUC-MSCs exert immunosuppressive activities through a PGE2-dependent mechanism. *Clin Immunol*, 2010, 135: 448-458.
- [20] Koh SH, Kim KS, Choi MR, et al. Implantation of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells as a neuroprotective therapy for ischemic stroke in rats. *Brain Res*, 2008, 1229: 233-248.
- [21] 唐映, 杨万章, 胡国恒, 等. 脐血干细胞移植治疗脑卒中的研究现状. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11: 9361-9664.
- [22] Lee OK, Kuo TK, Chen WM, et al. Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Blood*, 2004, 103: 1669-1675.
- [23] Ding DC, Shyu WC, Chiang MF, et al. Enhancement of neuroplasticity through upregulation of beta1-integrin in human umbilical cord-derived stromal cell implanted stroke model. *Neurobiol Dis*, 2007, 27: 339-353.
- [24] Lin YC, Ko TL, Shih YH, et al. Human umbilical mesenchymal stem cells promote recovery after ischemic stroke. *Stroke*, 2011, 42: 2045-2053.
- [25] Lim JY, Jeong CH, Jun JA, et al. Therapeutic effects of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells after intrathecal administration by lumbar puncture in a rat model of cerebral ischemia. *Stem Cell Res Ther*, 2011, 2: 38-51.
- [26] Fan CG, Zhang QJ, Zhou JR. Therapeutic potentials of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord. *Stem Cell Rev*, 2011, 7: 195-207.
- [27] Park DH, Eve DJ, Borlongan CV, et al. From the basics to application of cell therapy, a stepping stone to the conquest of neurodegeneration: a meeting report. *Med Sci Monit*, 2009, 15: 23-31.
- [28] 屈红林, 彭瑞. 神经干细胞研究现状及在运动医学领域中的应用. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12: 4941-4944.
- [29] Yao J, Mu Y, Gage FH. Neural stem cells: mechanisms and modeling. *Protein Cell*, 2012, 3: 251-261.
- [30] Jin K, Mao X, Xie L, et al. Delayed transplantation of human neural precursor cells improves outcome from focal cerebral ischemia in aged rats. *Aging Cell*, 2010, 9: 1076-1083.
- [31] Andres RH, Choi R, Pendharkar AV, et al. The CCR2/CCL2 interaction mediates the transendothelial recruitment of intravascularly delivered neural stem cells to the ischemic brain. *Stroke*, 2011, 42: 2923-2931.
- [32] Sun C, Zhang H, Li J, et al. Modulation of the major histocompatibility complex by neural stem cell-derived neurotrophic factors used for regenerative therapy in a rat model of stroke. *J Transl Med*, 2010, 8: 77-88.
- [33] Zhang P, Li J, Liu Y, et al. Human embryonic neural stem cell transplantation increases subventricular zone cell proliferation and promotes peri-infarct angiogenesis after focal cerebral ischemia. *Neuropathology*,

- 2011,31:384-391.
- [34] Wernig M, Zhao JP, Pruszk J, et al. Neurons derived from reprogrammed fibroblasts functionally integrate into the fetal brain and improve symptoms of rats with Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 5856-5861.
- [35] Kawai H, Yamashita T, Ohta Y, et al. Tridermal tumorigenesis of induced pluripotent stem cells transplanted in ischemic brain. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2010, 30:1487-1493.
- [36] Chen SJ, Chang CM, Tsai SK, et al. Functional improvement of focal cerebral ischemia injury by subdural transplantation of induced pluripotent stem cells with fibrin glue. *Stem Cells Dev*, 2010, 19:1757-1767.
- [37] Sofroniew MV, Vinters HV. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol*, 2010, 119:7-35.
- [38] Barreto G, White RE, Ouyang Y, et al. Astrocytes: targets for neuroprotection in stroke. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*, 2011, 11: 164-173.
- [39] Amankulor NM, Hambardzumyan D, Pyonteck SM, et al. Sonic hedgehog pathway activation is induced by acute brain injury and regulated by injury-related inflammation. *J Neurosci*, 2009, 29:10299-10308.
- [40] Li J, Li JP, Zhang X, et al. Expression of heparanase in vascular cells and astrocytes of the mouse brain after focal cerebral ischemia. *Brain Res*, 2012, 18:137-144.
- [41] Juopperi TA, Kim WR, Chiang CH, et al. Astrocytes generated from patient induced pluripotent stem cells recapitulate features of Huntington's disease patient cells. *Mol Brain*, 2012, 5:17-24.
- [42] Yang YC, Liu BS, Shen CC, et al. Transplantation of adipose tissue-derived stem cells for treatment of focal cerebral ischemia. *Curr Neurovasc Res*, 2011, 8:1-13.
- [43] Yalvac ME, Rizvanov AA, Kilic E, et al. Potential role of dental stem cells in the cellular therapy of cerebral ischemia. *Curr Pharm Des*, 2009, 15:3908-3916.
- [44] Ikegame Y, Yamashita K, Hayashi S, et al. Comparison of mesenchymal stem cells from adipose tissue and bone marrow for ischemic stroke therapy. *Cytotherapy*, 2011, 13:675-685.
- [45] Borlongan CV, Glover LE, Tajiri N, et al. The great migration of bone marrow-derived stem cells toward the ischemic brain: therapeutic implications for stroke and other neurological disorders. *Prog Neurobiol*, 2011, 95:213-228.

(修回日期:2013-04-16)

(本文编辑:易浩)

· 短篇论著 ·

龙氏正骨手法结合银质针治疗神经根型颈椎病的疗效观察

肖志刚 杨世忠 谢国水 邱建强 姚明

随着人们生活方式的变化,颈椎病的发病率逐年增高,且趋于年轻化。神经根型颈椎病是最常见的一种类型,且绝大多数患者不具备手术指征,需保守治疗。目前临床上治疗颈椎病的保守治疗方法较多,但均存在疗效欠佳或持续性不长等缺点。我科采用龙氏正骨手法结合银质针治疗神经根型颈椎病,取得满意疗效。现报道如下。

一、对象与方法

(一)一般资料

共选取 2010 年 8 月至 2012 年 3 月在我院疼痛门诊就诊的神经根型颈椎病患者 120 例,采用随机数字表法将患者分为治疗组及对照组,每组 60 例,治疗过程中,治疗组失访 3 例,对照组失访 5 例。入选标准:①均符合 1993 年第二届全国颈椎病专题座谈会修订的神经根型颈椎病诊断标准^[1]及 2008 年第三届全国颈椎病专题座谈会纪要中的修改标准^[2];②具有较典型的根性症状,如手臂疼痛及麻木等,范围与颈脊神经所支配的区域相一致;③患者颈部活动功能受限,病变脊椎棘突、椎旁、

患侧肩胛骨内上角有压痛;④压颈试验和(或)臂丛神经牵拉试验阳性;⑤影像学所见与临床表现相符合。排除标准:①严重器质性疾病患者;②严重骨质疏松、强直性脊柱炎、肿瘤、骨折等病变患者;③不配合研究者。2 组患者一般情况详见表 1,表中数据显示 2 组间差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

表 1 2 组患者一般情况

组别	例数	年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	性别(例)		病程 (月, $\bar{x} \pm s$)
			男	女	
治疗组	57	41.85 $\pm$ 10.46	26	31	6.78 $\pm$ 3.37
对照组	55	42.39 $\pm$ 11.02	26	29	6.62 $\pm$ 3.32

(二)治疗方法

对照组采用龙氏正骨手法治疗,治疗组先进行银质针肌肉松解术,待针眼愈合后开始正骨治疗。

1. 龙氏正骨手法^[3]:对患者进行详细定位,确定病变位置及错位类型,以揉、按、弹拨等手法,施术于患者颈、肩、背部,使软组织充分放松。根据患者病变及自身情况,分别采用仰头摇正、低头摇正、侧头摇正、侧卧摇肩、俯卧冲压、牵引下正骨等手法。每周治疗 3 次,隔日进行,共 3 周。

2. 银质针肌肉松解术:参照《银质针导热治疗软组织痛》中颈肩痛的布针方法^[4],在病变部位选择并标出安全的进针点,常规皮肤消毒,在进针点以 0.5% 利多卡因作皮肤浸润麻

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2013.05.029

基金项目:浙江省中西医结合重点学科建设基金资助项目(2012-XK-A31)

作者单位:314000 嘉兴,武警浙江总队嘉兴医院麻醉科(肖志刚、杨世忠、谢国水、邱建强);浙江省嘉兴市第一人民医院疼痛科(姚明)