

·论著·

脐血单个核细胞对缺血性脑卒中的临床干预

满勇¹ 王飞¹ 姬汴生² 李建斌³ 张大焕⁴ 马冀¹ 周璐¹ 李青¹ 丁金萍¹ 王晓鸣¹
单泓³ 李锦山¹ 李新民¹ 李金花⁴

【摘要】 目的 观察多份人脐血单个核细胞(MNC)静脉输注对缺血性脑卒中患者神经功能的改善作用。**方法** 选择2008年4月至2015年5月在郑州市第二人民医院、郑州大桥医院住院和门诊收治的缺血性脑卒中患者76例(参照第四届全国脑血管病学术会议修订的脑卒中诊断标准,并经CT、MRI确诊),按照治疗方案的不同分为脐血MNC组和对照组,急性期对照组采用常规治疗,慢性期对照组采用康复治疗,脐血MNC组在常规治疗或康复治疗的基础上加用脐血MNC手背浅静脉输入,每例输入6次,每次细胞数大于或等于 1×10^8 个,每次间隔1~7d。治疗前后神经功能缺损程度(NFD)、患侧肢体运动功能评价Fugl-Meyer (FMA)及日常生活评价(ADL)的比较采用配对 t 检验,组间比较采用独立 t 检验。**结果** 脐血MNC组急性期治疗后NFD评分(11.50 ± 2.58)明显低于急性期脐血MNC组治疗前(26.83 ± 5.55 , $t = 6.186$, $P < 0.01$)和对照组治疗后(24.33 ± 5.16 , $t = 5.442$, $P < 0.01$),脐血MNC组慢性期治疗后NFD评分(12.41 ± 3.83)明显低于慢性期脐血MNC组治疗前(23.10 ± 4.54 , $t = 10.184$, $P = 0.000$)和对照组治疗后(23.09 ± 3.94 , $t = 11.012$, $P < 0.01$);脐血MNC组急性期治疗后Fugl-Meyer (上肢 22.16 ± 2.63 , 下肢 32.00 ± 5.32)明显低于急性期脐血MNC组治疗前(上肢 11.66 ± 2.94 , $t = -6.505$, $P < 0.01$; 下肢 12.66 ± 3.01 , $t = -7.5386$, $P < 0.01$)和对照组治疗后(上肢 15.00 ± 3.63 , $t = -3.871$, $P = 0.003$; 下肢 16.83 ± 4.91 , $t = -5.048$, $P < 0.01$),脐血MNC组慢性期治疗后Fugl-Meyer (上肢 15.10 ± 2.08 , 下肢 15.03 ± 1.86)明显低于慢性期脐血MNC组治疗前(上肢 8.81 ± 2.19 , $t = -11.748$, $P < 0.01$; 下肢 8.84 ± 2.30 , $t = -12.619$, $P < 0.01$)和对照组治疗后(上肢 9.16 ± 2.60 , $t = -10.069$, $P < 0.01$; 下肢 9.69 ± 2.98 , $t = -11.441$, $P < 0.01$);脐血MNC组急性期治疗后Barthel指数评分(65.83 ± 7.35)明显低于急性期脐血MNC组治疗前(21.66 ± 5.57 , $t = -11.916$, $P < 0.01$)和对照组治疗后(42.50 ± 5.20 , $t = -6.387$, $P < 0.01$),脐血MNC组慢性期治疗后Barthel指数评分(63.40 ± 9.19)明显低于慢性期脐血MNC组治疗前(25.20 ± 3.81 , $t = -21.733$, $P < 0.01$)和对照组治疗后(29.90 ± 5.36 , $t = 20.361$, $P < 0.01$)。**结论** 多份人脐血MNC手背浅静脉移植,方法简便、安全有效,有望成为治疗缺血性脑卒中的有效手段。

【关键词】 脐血单个核细胞; 静脉输注; 缺血性脑卒中

Intravenous infusion of umbilical cord blood mononuclear cells in patients with ischemic stroke

Man Yong¹, Wang Fei¹, Ji Biansheng², Li Jianbin³, Zhang Dahuan⁴, Ma Ji¹, Zhuo Lu¹, Li Qing¹, Ding Jinping¹, Wang Xiaoming¹, San Hong³, Li Jinshan¹, Li Xinming¹, Li Jinhua⁴. ¹Neurosurgery Department of the Second People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450052, China; ²Key Laboratory of Natural Medicine and Immune Engineering of Henan University, Kaifeng 475004, China; ³Henan Provincial Red Cross Blood Center, Zhengzhou 450012, China; ⁴Obstetrical Department of the Hospital of Zhengzhou Bridge, Zhengzhou 450053, China

DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2017.06.005

基金项目: 郑州市科技局领军人才项目(131PLJRC681)

作者单位: 450052 郑州市第二人民医院神经外科¹; 475004 开封, 河南大学天然药物与免疫工程重点实验室²; 450012 郑州, 河南省红十字血液中心³; 450053 郑州大桥医院产科⁴

通信作者: 满勇, Email: mrmayong@126.com

Corresponding author: Man Yong, Email: mrmanyong@126.com

【Abstract】 Objective To study the effect of multiple human umbilical cord blood mononuclear cells (HCMNC) on the neurological and motor function as well as living activities in patients with ischemic stroke via intravenous transplantation. **Methods** According with the Fourth National Conference on cerebrovascular disease, 76 cases of ischemic stroke patients confirmed by CT and MRI, and in the second people's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou bridge hospital and outpatient from April 2008 to May 2015 were collected and divided into treatment group and controls according to the clinical trial protocol. The control groups in the acute and chronic stage were treated routinely and treated with rehabilitation therapy, respectively. On the basis of conventional therapy or rehabilitation therapy, the treatment group was treated with HCMNC of umbilical cord blood which were intravenously infused into the superficial vein of the back of the hand. Each patient received averagely 6 copies (cell number over 1×10^8 /each), each time interval lasted 1 to 7 days, average 4 days. The comparison for the difference of the NFD, FMA and ADL before and after therapy was performed using paired *t* test and the comparison between groups was made using independent-samples *t* test. **Results** In acute stage, the NFD scores in HCMNC group after treatment with HCMNC (12.41 ± 3.83) were significantly lower than those in before treatment group (26.83 ± 5.55 , $t = 6.186$, $P < 0.01$) and control group (24.33 ± 5.16 , $t = 5.442$, $P < 0.01$); In restoration stage, the NFD scores in HCMNC group after treatment with HCMNC (12.41 ± 3.83) were significantly lower than those in before treatment group (23.1 ± 4.54 , $t = 10.184$, $P < 0.01$) and control group (23.09 ± 3.94 , $t = 11.012$, $P < 0.01$); In acute stage, Fuel-Meyer in HCMNC group after treatment with HCMNC (upper limbs 22.16 ± 2.63 , lower limbs 32 ± 5.32) were significantly lower than those in before treatment group (upper limbs 11.66 ± 2.94 , $t = -6.505$, $P < 0.01$; lower limbs 12.66 ± 3.01 , $t = -7.5386$, $P < 0.01$) and control group (upper limbs 15 ± 3.63 , $t = -3.871$, $P = 0.003$; lower limbs 16.83 ± 4.91 , $t = -5.048$, $P < 0.01$); In restoration stage, Fuel-Meyer in HCMNC group after treatment with HCMNC (upper limbs 15.10 ± 2.08 , lower limbs 15.03 ± 1.86) were significantly lower than those in before treatment group (upper limbs 8.81 ± 2.19 , $t = -11.748$, $P < 0.01$; lower limbs 8.84 ± 2.30 , $t = -12.619$, $P < 0.01$) and control group (upper limbs 9.16 ± 2.60 , $t = -10.069$, $P < 0.01$; lower limbs 9.69 ± 2.98 , $t = -11.441$, $P < 0.01$); In acute stage, Barthel index scores in HCMNC group after treatment with HCMNC (12.41 ± 3.83) were significantly lower than those in before treatment group (21.66 ± 5.57 , $t = -11.916$, $P < 0.01$) and control group (42.5 ± 5.2 , $t = -6.387$, $P < 0.01$); In restoration stage, Barthel index scores in HCMNC group after treatment with HCMNC (63.4 ± 9.19) were significantly lower than those in before treatment group (25.2 ± 3.81 , $t = -21.733$, $P < 0.01$) and control group (29.9 ± 5.36 , $t = 20.361$, $P < 0.01$). **Conclusion** The intravenous transplantation of multiple human umbilical cord blood mononuclear cells has been proved a suitable method for the treatment of ischemic stroke with advantages of simpleness, safety and effectivity.

【Key words】 Umbilical cord blood mononuclear cells; Intravenous infusion; Ischemic stroke

脑卒中高致残率给家庭和社会带来了沉重的负担,是神经科学领域研究和治疗的重点、难点。由于低灌注及继发内源性毒物的产生,使神经细胞在短时间内死亡,目前对于缺血性脑卒中的内科治疗仅限于改善脑循环,营养脑细胞,清除氧自由基等对症治疗,甚至目前组织纤溶酶原激活剂作为惟一被美国食品和药物管理局(FDA)批准治疗急性缺血性脑卒中的药物,也因为治疗的时间窗窄及增加颅内出血的风险等原因,临床应用受到很大限制。卒中多数患者经短期治疗病情好转出院后仍留下不同

程度的偏瘫、感觉障碍、言语障碍、认知障碍、行为异常、精神症状、性格改变及吞咽困难等后遗症,使脑卒中后3个月康复过程变得缓慢、复杂而困难。目前,脐血细胞已广泛用于治疗血液系统疾病,而用于缺血性脑卒中治疗的报道较为少见。由于脐血具有污染率低,易收集和保存、抗原性弱等特点,脐血单个核细胞用于中枢退行性疾病的治疗已成为国内外学者研究的热点^[1]。本研究将人脐血单个核细胞(human cord blood mononuclear cell, HCMNC)经手背浅静脉输注缺血性脑卒中患者,观察对神经功

能、运动功能及日常生活能力(ADL)的作用及安全性的影响,为其用于临床缺血性脑卒中的治疗提供依据。

资料与方法

一、资料

选取2008年4月至2015年5月在郑州市第二人民医院、郑州大桥医院门诊和住院的符合入选标准病例76例。急性期患者12例,分为脐血MNC组和对照组各6例,脐血MNC组中男3例,女3例,年龄65~81岁,平均73.5岁,病程14~18 d,平均15.3 d,其中高血压病2例,糖尿病2例,高血压合并糖尿病2例;主要梗死部位:中脑1例,基底节区5例,合并多发腔隙性脑梗塞3例。对照组:男2例,女4例;年龄60~79岁,平均68.5岁;病程14 d,伴有高血压3例,糖尿病2例;主要梗死部位:基底节区6例,合并多发腔隙性脑梗塞2例。以上2组一般资料差异均无统计学意义;慢性期患者64例随机分为脐血MNC组和对照组各32例。脐血MNC组中男13例,女19例;年龄60~84岁,平均72.7岁;病程3~6个月,平均4.8个月;伴有高血压25例,糖尿病15例;主要梗死部位:顶叶2例,颞叶3例,中脑2例,桥脑3例,基底节区22例,合并多发腔隙性脑梗塞23例。对照组:男15例,女17例;年龄60~83岁,平均71.5岁;病程3~6个月,平均4.5个月;合并糖尿病13例,高血压病27例;主要发病部位:基底节区梗死22例,完全前循环梗死(TACI)2例,顶叶区3例,颞叶区5例,32例患者伴有多发腔隙性脑梗塞者25例。上述2组一般资料差异无统计学意义。脑梗死的临床诊断标准,参照中华神经科学会于1996年制定的《各类脑血管疾病诊断要点》^[2],全部经影像学检查证实确诊。

纳入标准:(1)符合中华医学会神经病学分会编写的《中国急性脑缺血性脑卒中诊治指南2010》中的脑梗死的诊断标准;临床诊断为脑梗死,并经

影像学检查确诊,排除蛛网膜下腔出血和脑出血;(2)意识清楚,不影响神经功能评分者;(3)60~84岁住院患者,性别不限;(4)病程:急性期20 d以内,慢性期3~6个月以内;(5)未采取溶栓治疗者;(6)研究方案通过医院伦理委员会审核,并经相关患者及亲属同意。

排除标准:(1)不符合急性期患者纳入标准者;(2)合并严重心、肺、肝肾功能障碍者;(3)排除脑肿瘤、脑积水、癫痫、植物生存病例及其他中枢神经系统器质性病变;(4)严重精神疾病;(5)过敏体质。

二、方法

1. 设计、实施及评估者:实验设计、干预实施及结果评估人员均经过系统培训,未使用盲法评估。

2. 人脐血单个核细胞的采集与分离:新生儿脐血由郑州大桥医院提供,产妇及家属均签署知情同意书。脐血单个核细胞溶液由河南省红十字血液中心成分室提供,具体方法参考文献[3]。

3. 治疗方法:急性期患者:对照组给予常规治疗,主要包括控制血糖,降低血压,抑制血小板聚积,保护脑神经细胞,对症支持治疗等,治疗组在常规治疗基础上加用脐血MNC,通过手背浅静脉将血型相同脐血MNC输入脑卒中患者体内,每例输入6次,每次细胞数大于或等于 1×10^8 个,每次间隔1~7 d;慢性期患者:脐血MNC组在康复治疗基础上加用脐血MNC(方案同上),对照组采用康复治疗。

4. 评定方法:患者在治疗前后3至6个月,通过康复科医师评价。评价标准:(1)脑卒中患者临床神经功能缺损程度评分标准(neural function deficiency, NFD):包括意识、水平凝视、面瘫、言语、上肢肌力、手肌力、下肢肌力、步行能力,总分45分。(2)患侧肢体运动功能评价标准Fugl-Meyer (Fugl-Meyer assessment, FMA):含上下肢运动功能、平衡能力、感觉功能、关节活动度等,总分226分。(3)日常生活评价(ADL)的Barthel指数(Barthel

表1 脐血MNC静脉输注对急性缺血性脑卒中患者的影响($n=6, \bar{x} \pm s$)

分组	NFD 评分		Fugl-Meyer				Barthel 指数	
	治疗前	治疗后	治疗前		治疗后		治疗前	治疗后
			上肢	下肢	上肢	下肢		
对照组	28.00±4.42	24.33±5.16	11.66±2.50	11.83±2.48	15.00±3.63	16.83±4.91	28.33±6.05	42.50±5.20
脐血MNC组	26.83±5.55	11.50±2.58	11.66±2.94	12.66±3.01	22.16±2.63	32.00±5.32	21.66±5.57	65.83±7.35
<i>t</i> 值	0.649	5.442	0.000	-0.523	-3.871	-5.048	2.033	-6.387
<i>P</i> 值	0.405	0.000	1.000	0.612	0.003	0.001	0.069	0.000

表2 脐血 MNC 静脉输注对缺血性脑卒中慢性期患者的影响($n=32, \bar{x} \pm s$)

分组	NFD 评分		Fugl-Meyer				Barthel 指数	
	治疗前	治疗后	治疗前		治疗后		治疗前	治疗后
			上肢	下肢	上肢	下肢		
对照组	24.40±4.77	23.09±3.94	9.25±2.94	9.69±2.98	9.16±2.60	9.69±2.98	27.6±4.47	29.9±5.36
脐血 MNC 组	23.10±4.54	12.41±3.83	8.81±2.19	8.84±2.30	15.10±2.08	15.03±1.86	25.2±3.81	63.4±9.19
<i>t</i> 值	1.127	11.012	0.675	1.880	-10.069	-11.441	2.286	20.361
<i>P</i> 值	0.264	0.000	0.502	0.065	0.000	0.000	0.026	0.000

index, BI):含进餐、洗澡、修饰、穿衣、平衡行走、上下楼梯等,总分 100 分。评价标准参考文献^[4-6]。

三、统计学分析方法

采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析。NFD、FMA 及 BI 等数据评分以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用独立 *t* 检验,治疗前后比较采用配对 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、脐血 MNC 静脉输注对急性缺血性脑卒中患者各项指标的影响

两组疗效比较脐血 MNC 组总有效率高于对照组,差异均具有统计学意义($t=5.442, P < 0.05$)。

脐血 MNC 组治疗后 NFD 评分明显低于治疗前和对照组(治疗前 $t=6.186$, 对照组 $t=5.442, P < 0.05$),说明脐血 MNC 能够促进急性缺血性脑卒中患者神经功能的恢复。脐血 MNC 组治疗后 Fugl-Meyer 和 BI 评分明显高于治疗前和对照组(Fugl-Meyer 治疗前上肢 $t=-6.505$, 下肢 $t=-7.5386$, 对照组上肢 $t=-7.5386$, 下肢 $t=-5.048$, BI 治疗前 $t=-11.916$, 对照组 $t=-6.387, P < 0.05$),说明脐血 MNC 能够促进卒中患者瘫痪肢体肌力恢复,提高患者整体生活质量。脐血 MNC 组和对照组治疗前差异无统计学意义(表 1)。

二、脐血 MNC 静脉输注对缺血性脑卒中慢性期患者各项指标的影响

两组疗效的比较脐血 MNC 组总有效率高于对照组,差异均具有统计学意义($t=11.012, P < 0.05$)。脐血 MNC 组治疗后 NFD 评分明显低于治疗前和对照组(治疗前 $t=10.184$, 对照组 $t=11.012, P < 0.05$),说明脐血 MNC 能够促进缺血性脑卒中慢性期患者神经功能的恢复。脐血 MNC 组治疗后 Fugl-Meyer 和 BI 评分明显高于治疗前和对照组(Fugl-Meyer 治疗前上肢 $t=-11.748$, 下肢 $t=-12.619$, 对照组上肢 $t=-10.069$, 下肢 $t=-11.441$, BI 治疗前 $t=-21.733$, 对照组 $t=20.361, P < 0.05$),说明脐血 MNC 能够促进卒中患者瘫痪肢体肌力恢复,提高患者整体生活质量。脐血 MNC 组和对照组治疗前无差异(表 2)。

讨 论

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)是一类来源于中胚层的多潜能干细胞,广泛存在于全身结缔组织和器官间质中。目前用于脑梗死治疗的 MSC 主要包括骨髓 MSC 和脐血 MSC。骨髓源性 MSC 取材不方便、易污染,并随供体年龄增加细胞增殖和分化力降低,很难应用于临床,因此干细胞研究专家正致力于探寻可取代骨髓 MSC 的干细胞源。

人脐血 MNC 主要包含造血干细胞和 MSC。造血干细胞作为脐血干细胞的主要成员,具有分化为各种血细胞前体细胞的能力。虽然脐血中的 CD34 阳性细胞仅占有核细胞的 1%,骨髓中 CD34 阳性细胞占有核细胞的 1%~3%。但最原始造血干细胞却不表达 HLA-DR 和 CD38, CD34⁺HLA-DR⁻ 和 CD34⁺CD38⁻ 细胞在脐血中的比例高于骨髓。所以,固然脐血中 CD34 阳性细胞数少于骨髓,但脐血中的造血干细胞更原始、增殖能力更强。脐血 MSC 是脐血中的非造血组织多能干细胞,不仅可分化为中胚层来源的多种细胞如脂肪细胞、成骨细胞及肌细胞等,还可分化为内胚层来源的肝细胞和外胚层来源的神经细胞。目前的研究结果证明,脐血间充质干细胞不仅具有多向分化潜能,还可联合造血干细胞,提高造血重建能力和发挥部分免疫调节作用^[7]。

人脐血 MNC 由外周血入脑主要与黏附分子介导的特异性转移、血脑屏障固有薄弱环节、血脑屏障通透性的改变及病变组织的趋化作用等有关^[8]。人

脐血内皮祖细胞(endothelial progenitor cell, EPC)能促进血管内皮形成管腔结构、加速缺血组织血管化,促进损伤部位的血管重建和血流改善^[9-11];多项实验研究发现体循环移植人脐血来源干细胞能提高缺血脑组织 VEGF 水平、抑制缺血后神经细胞凋亡、促进神经祖细胞增殖,最终促进神经组织的修复^[12-16]。

本研究采用无菌塑料采血袋密闭式采血方法采集脐血,并用无菌塑料袋分离人脐血 MNC,分离后每袋 MNC 的平均细胞数 $\geq 1 \times 10^8$ 个,红细胞残余量仅为 $(0.70 \pm 0.27) \times 10^9$ 个。通过手背浅静脉将血型相同脐血 MNC 输注入卒中患者体内,每例患者平均输注 6 份,每份间隔时间 1~7 d,结果显示:起效时间长短不一,大部分在治疗半月内出现治疗效果,如能提高患者的视力、听力,提高瘫痪肢体肌力,恢复其站立、运动行走能力,缓解肢体痉挛、改善睡眠障碍、减轻肢体和面部麻木,改善语言障碍,恢复患者远期记忆力,提高及恢复患者的认知功能及情感反应等。由于卒中的病理基础是脑动脉硬化,它是全身性动脉硬化闭塞性疾病在脑部的局部表现,因此这类患者处于动脉硬化闭塞性疾病所造成的机体多系统、多器官和组织长期慢性缺血缺氧的病理状态下,推测与脐血 MNC 经手背浅静脉进入机体循环系统,改善了患者血液系统、心肌功能、肝功能和免疫功能,从而改善了机体内环境,对机体各个系统及组织细胞的潜在性病变进行修复、替代,促进新生组织再生,从而改善和提高了患者全身整体的修复机能,并在病变缺血区、组织损伤部位形成新生血管,改善脑灌注,促进血流恢复和损伤修复,减轻了机体内皮细胞机能不全引起的微血管病变和局部炎症反应。

以往研究表明^[15],大脑中动脉阻塞大鼠 24 h 后输入人脐血来源干细胞能明显降低脑梗死体积,改善神经功能缺损评分,术后 1 周植入人脐血来源干细胞仅体现于神经功能缺损评分变化,前者缺血区脑组织脐血细胞数目高于后者。Darsalia 等^[17]研究发现,在脑卒中 48 h 内移植的细胞较 6 周后(恢复期)移植的细胞存活率高,但延迟移植并没有影响细胞迁移、增殖和神经元分化,并且过多的干细胞移植并不能增加细胞存活率和神经元分化。所以在脑卒中早期,尤其是炎症反应之前,移植细胞和选择适宜的细胞移植量直接影响移植的成功率,这对临床治疗具有很大的指导意义。对 6 例脑卒中患者进行早期治疗,入院后半个月病情稳定即用脐血 MNC

静脉输注,短期内可明显提高瘫痪肢体肌力,及早恢复其站立、运动行走功能,减轻肢体和面部麻木,改善语言障碍,因此早期移植或更有利于病情及早恢复,大样本临床资料的研究有待进一步完成。

目前对于移植脐血 MNC 后神经功能改善的具体机制还不清楚。大多数学者认为,脐血干细胞修复神经功能的机制可能与血管再生、神经重塑、分泌营养因子和减轻炎症反应有关。对于“横向分化”是否存在,作者认为脐带血尽管来源于中胚层,而神经干细胞来源于外胚层,但 3 个胚层的区分是人为的,各个胚层之间存在着相互联系,即脐带血中也含有来源于外胚层的神经干细胞,因此脐带血 MNC 能够分化为神经干细胞,并非由中胚层中的细胞横向分化而来,而是其固有的、有关联的外胚层细胞纵向分化而来。动物实验也证实脐血中含有更原始的细胞如 CD133⁺ 细胞,而 CD133⁺ 细胞能够分化为神经元和神经胶质细胞样的表型细胞,同时移植脐血 MNC/MSCs 能够透过血脑屏障在宿主中枢神经系统中存活、分化为神经细胞,并迁移到病变部位与宿主神经细胞在形态结构和功能上形成整合而改善感觉、运动和认知等神经功能的缺损。基于上述论点,神经功能的改善可能是由脐血 MNC 分化而来的神经细胞与宿主脑组织整合并参与神经环路的重建,或者脐血干细胞含有大量的造血集落形成细胞、血小板生成素和白细胞介素 11,造血集落形成细胞可产生造血因子集落刺激因子 1,这些营养因子是中枢神经系统的生长因子,促进了脑卒中患者损伤的局部神经祖细胞的增殖以及分化,抑制细胞凋亡,降低神经损伤,促进了功能恢复。也可能是由这些细胞分泌的营养因子在起作用,因为生长因子是机体调节细胞生存、增生、分化的分子机制,在梗死后应用外源性神经营养因子能限制急性神经缺血损伤的扩展及有助于功能的恢复。Seaberg 等^[18]认为:成体中枢虽保留了一些有分化潜能的干细胞,但它们通常处于“静止”状态,只有在某些因素作用下或者受到损伤刺激时才被激活,重新进入细胞增殖周期,并进一步分化为特定功能的神经细胞。因此脐血 MNC 很可能通过自身的合成与分泌功能使静止的神经干细胞激活并促进神经组织的自我修复,从而改善了中枢神经和周围神经系统功能^[19]。

笔者曾对 18 例卒中患者治疗半年前后 CT、MRI 影像部分参数进行测量:(1) 哈氏值(前角间最大与最小距离之和);(2) 脑室指数(侧脑室脉络丛间距离与前角最大距离之商);(3) 三脑室宽度

(三脑室最大横径);(4)脑沟宽度(最上方3个层面中4条最宽脑沟宽度之和);(5)病灶体积测定:病灶体积=长×宽×层数/2。多发病灶总体积等于各病灶体积之和。对比结果发现,脐血MNC静脉移植治疗能缓解大面积脑梗死、脱髓鞘情况,从而提高生活质量,脑萎缩不能缓解,但能延缓病情发展^[20]。目前脑损伤动物模型都是新鲜损伤,而应用脐血MNC多次治疗陈旧性脑损伤模型的动物实验有待进一步研究。

在细胞移植中,重建的免疫系统将受体的组织器官视为“外来物质”而对其产生免疫排斥反应,即移植对宿主的排斥,是在细胞移植中对生命最具威胁的影响因素之一,而脐血MNC移植由于其免疫细胞尚未发育成熟,免疫原性较弱,较少发生严重的免疫排斥反应,从而使移植的成功率大大提高。发生免疫排斥反应的必要条件是宿主免疫状态被强力(化疗)所充分抑制。本实验治疗过程中未使用任何免疫抑制剂,即患者免疫系统是正常的,脐血MSC中免疫细胞未发育成熟,抗原性弱,分离后的脐血MNC不扩增、不培养及分化,况且相同血型单次输注细胞数量较少,宿主产生明显的排异反应和过敏反应的概率极低。

本实验治疗过程中应用多次脐血MNC静脉输注,随访至今未发现不良反应,表明了脐血细胞确实具有“免疫逃逸”作用以及“局部专一诱导性分化”(site-specific differentiation)现象^[21]。

综上所述,人脐血MNC是一种极具潜力的替代细胞来源,分离后的脐血MNC不扩增、不培养及分化,安全性好,血型相同直接由浅静脉输注疗法为缺血性脑卒中等中枢神经系统疾病开拓了广阔的应用前景。由于本组急性期治疗病例较少,评定间隔时间尚短,临床疗效持续性及其副作用尚需大量样本进行长期随访及统计学分析,植入的人脐血来源干细胞如何长期存活并与宿主脑组织整合,最佳的移植细胞数、治疗时间窗,移植细胞和体内存活细胞的比例是多少,机体又如何发挥调控作用,确切的作用机制以及是否能够预防脑卒中等还有待进一步探索。

参 考 文 献

- 1 Man Y, Li J, Yang B, et al. Vein transplantation using human umbilical cord blood stem cells in the treatment of stroke sequela[J]. Neural

Regener Res, 2006, 1(7):618-621.

- 2 中华神经学会. 中华神经外科学会. 各类脑血管疾病诊断要点[J]. 中华神经科杂志, 1996, 29(6):60-61.
- 3 李建斌, 满勇, 单泓, 等. 多联袋无菌制备脐带血间质干细胞的方法及效果[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(24):4781-4784.
- 4 全国第四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(1995)[J]. 中华神经科杂志, 1996, 12(6):381-383.
- 5 缪鸿石, 朱镛连. 脑卒中的康复评定和治疗[M]. 北京: 华夏出版社, 1996:141.
- 6 燕铁斌. 日常生活活动评定及临床应用进展[J]. 中国康复医学杂志, 1993, 8(5):235-236.
- 7 刘婕, 张国华. 脐血干细胞治疗脑卒中的作用与机制[J]. 中国组织工程研究, 2017, 21(9):1470-1476.
- 8 王昌铭, 王景周. 人脐血单个核细胞透过血脑屏障的可能性[J]. 中国临床康复, 2005, 9(30):164-166.
- 9 满勇, 李建斌, 尹卫伟, 等. 人脐血单个核细胞移植治疗老年人血管性痴呆[J/CD]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2012, 2(3):191-197.
- 10 Akihiko Taguchi, Toshihiro Soma, Hidekazu Tanaka, et al. Administration of CD34⁺ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model[J]. J Clin Invest, 2004, 114(3):330-338.
- 11 赵瑞, 黄清海, 赵文元, 等. 内皮祖细胞与缺血性脑血管疾病的治疗[J]. 中国组织工程研究, 2012, (41):7752-7761.
- 12 欧雅莉, 余国龙, 杨天伦. 经体循环脐血细胞移植治疗脑梗死机制及其疗效影响因素[J]. 心血管病学进展, 2010, 31(5):733-735.
- 13 赵红, 王苏平. 脐血干细胞移植治疗脑卒中的作用与机制[J]. 中国组织工程研究, 2012, (19):3584-3587.
- 14 Willing AE, Lixian J, Milliken M, et al. Intravenous versus intrastriatal cord blood administration in a rodent model of stroke[J]. J Neurosci Res, 2003, 73(3):296-307.
- 15 Chen J, Sanberg PR, Li Y, et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats[J]. Stroke, 2001, 32(11):2682-2688.
- 16 Ay I, Sugimori H, Finklestein SP. Intravenous basic fibroblast growth factor (bFGF) decreases DNA fragmentation and prevents downregulation of Bcl-2 expression in the ischemic brain following middle cerebral artery occlusion in rats[J]. Brain Res Mol Brain Res, 2001, 87(1):71-80.
- 17 Darsalia V, Allison SJ, Cusulin C, et al. Cell number and timing of transplantation determine survival of human neural stem cell grafts in stroke-damaged rat brain[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2011, 31(1):235-242.
- 18 Seaberg RM, Van der Kooy D. Adult rodent neurogenic regions: the ventricular subependyma contains neural stem cells, but the dentate gyrus contains restricted progenitors[J]. J Neurosci, 2002, 22(5):1784-1793.
- 19 满勇, 李建斌, 马冀, 等. 多份人脐血单个核细胞静脉移植治疗老年期血管性痴呆18例[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, (47):9359-9362.
- 20 张孟荣, 满勇. 脐血单个核细胞治疗血管性痴呆的影像分析[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2009, (17):77-78.
- 21 唐佩弦. 我国造血干细胞基础研究的新进展兼论干细胞可塑性(英文)[J]. 中国实验血液学杂志, 2003, 11(1):1-6.

(收稿日期:2017-01-06)

(本文编辑:蔡晓珍)