

养后染色,显示大脑皮层神经元内普鲁士蓝染色呈阴性,干细胞为阳性(图 2,后插页 II)。

2.4 FE-PLL 对细胞活力的影响

与未标记细胞相比较,台盼蓝拒染活细胞计数显示 FE-PLL 对细胞活力无明显影响,都在 99%以上。

2.5 FE-PLL 对细胞增殖或分化的影响

在含 FE-PLL 的培养基中 BMSC 可继续增殖和分化,细胞形态没有发生明显的变化。BMSC 增殖分裂和分化后普鲁士蓝染色仍为阳性,增殖分裂后的 BMSC 细胞质内铁颗粒数量较增殖前变少(图 3,后插页 II);分化条件下这些细胞能分化成具有细长突起、多种形态的细胞,随着培养时间的延长,这些细胞突起相连并彼此发生联系,细胞排列成网状、辐射状化为神经元样细胞(图 4,后插页 II),部分为 NSE 阳性细胞(图 5,后插页 II)。

3 讨论

干细胞因其具有自我更新能力和多分化潜能而具有非常重要的实验研究与临床应用价值。Cho 等^[4]研究显示,BMSC 可以在适当条件下向神经元和神经胶质细胞方向分化。Woodbury 等^[5]指出由于骨髓干细胞容易获取,而且可以在体外大量扩增,并在一定条件下诱导成神经细胞,从而为 NSCs 的获得提供了来源,既克服了从脑组织获取 NSCs 的危险性和局限性,也避免了胎儿组织移植中存在的伦理和免疫排斥问题。因此,BMSC 在移植治疗神经损伤及其他神经系统疾病中具有广阔应用前景。采用非侵入性纳米分子影像学(nanomolecular imaging)技术来监测 BMSC 在脑内的生长、代谢及与宿主整合情况无疑是评估神经移植安全性和疗效的重要手段。

Feridex 是经过 FDA 认可的一种超顺磁性氧化铁(superparamagnetic iron oxide,SPIO),是临床上常用的磁共振对比剂之一。它是右旋糖酐超顺磁性氧化铁磁共振对比剂,其颗粒平均直径为 80nm,核心氧化铁直径为 20nm,外周为葡萄糖包裹,理化性质稳定。其对机体的安全性已被证实。作为细胞标记物,菲立磁的用量与临床应用剂量相比微乎其微,而且铁发生降解后会很快结合到正常铁血池中,参与体内铁的再利用。因此,菲立磁作为细胞标记物,其对机体的安全性基本可以肯定。

SPIO 磁共振对比剂标记细胞的历史可追溯到 10 年以前。1993 年 Shen 等^[6]利用葡聚糖包被 MION-46L 氧化铁微粒(dextran-coated MION-46L iron oxide nanoparticles)作为磁性探针进行淋巴系造影、寡突胶质前体细胞 CG-4 的标记。结果显示 MION-46L 可以与膜受体特异性结合进入细胞内。研究发现利用转染试剂 Dendrimmer 可以转运 SPIO 至细胞内,利用其他的转染试剂也可以完成这一过程^[3]。2003 年,Kraitchman 等^[7]利用 PLL 结合 Feridex 对心肌间充质细胞成功地进行在体标记。PLL 是一种多聚阳离子,可用来转染基因进入靶细胞内部。PLL 与 Feridex 形成复合体后,通过静电作用与细胞表面的配体结合,经内吞作用使 Feridex 进入细胞内部^[8]。本实验应用高分子量 PLL(分子量 400kU)结合 Feridex 进入 BMSCs 内。普鲁士蓝染色结果表明进入 BMSCs 内的铁粒子位于细胞质中。且标记后对骨髓基质细胞活力、增殖和分化能力无影响。免疫细胞化学染色结果表明,BMSC 已经向 NSC 转化,可以作为 NSC 的种子细胞。

SPIO 对细胞的毒副作用主要来自细胞内铁的含量。铁是人体内的正常成分,正常成年人体内铁的含量在 4g 左右,理论上铁类对比剂可以生物降解,可以被机体重新利用。Hoehn 等^[9]将超小顺磁性氧化铁(ultrasmall superparamagnetic iron oxide,USPIO)直接注射到大鼠的纹状体内,只在很短的时间内观察到了信号的改变,游离的 USPIO 很快通过细胞外间隙弥散,被机体清除。但如果人体内铁的含量太大时,就会有毒性问题。放射标记研究显示肝脏内的 SPIO 可以被肝内 Kupffer 细胞代谢并重新利用,作为红细胞内铁血池(iron blood pool)的来源之一^[10]。研究表明,正常人每克肝组织内铁含量达到 200 μ g 时就会发展为肝硬化和肝细胞癌,人体内铁的总量达到 15g 以上时,就会出现亚急性和慢性中毒。虽然我们用于标记干细胞的 SPIO 量不会造成机体整体的毒性,但标记细胞内的铁是否会对细胞产生长期的影响仍有待于进一步观察和研究。

4 参考文献

1. Croft AP, Przyborski SA. Generation of neuroprogenitor-like cells from adult mammalian bone marrow stromal cells in vitro[J]. Stem Cells Dev, 2004, 13(4):409-420.
2. 李贵涛,徐如祥,姜晓丹.异体和自体骨髓源神经干细胞周围神

- 26 Kondo A, Kato K, Kanai S, et al. Bladder dysfunction secondary to tethered cord syndrome in adults: is it curable[J]? J Urol, 1986, 135(2): 313-316.
27. Gupta SK, Khosla VK, Sharma BS, et al. Tethered cord syndrome in adults[J]. Surg Neurol, 1999, 52(4): 362-370.
28. Phuong LK, Schoeberl KA, Raffel C. Natural history of tethered cord in patients with meningomyelocele[J]. Neurosurgery, 2002, 50(5): 989-995.
29. Pinto FC, Fontes RB, Leonhardt Mde C, et al. Anatomic study of the filum terminale and its correlations with the tethered cord syndrome[J]. Neurosurgery, 2002, 51(3): 725-730.
30. McLone DG. The adult with a tethered cord[J]. Clin Neurosurg, 1996, 43: 203-209.
31. Quinones-Hinojosa A, Gadkary CA, Gulati M, et al. Neurophysiological monitoring for safe surgical tethered cord syndrome release in adults[J]. Surg Neurol, 2004, 62(2): 127-135.
32. Schneider SJ, Rosenthal AD, Greenberg BM, et al. A preliminary report on the use of laser-Doppler flowmetry during tethered spinal cord release [J]. Neurosurgery, 1993, 32(2): 214-218.
33. Aliredjo RP, de Vries J, Menovsky T, et al. The use of Gore-Tex membrane for adhesion prevention in tethered spinal cord surgery: technical case reports [J]. Neurosurgery, 1999, 44(3): 674-678.
34. Phi JH, Lee DY, Jahng TA, et al. Tethered cord syndrome in adulthood: reconsidering the prognosis[J]. J Korean Neurosurg Soc, 2004, 36(3): 114-119.
- (收稿日期: 2007-06-22 修回日期: 2007-08-06)
(本文编辑 彭向峰)

(上接第 869 页)



图 1 外院腰椎 MRI 示椎管无狭窄, 未见充填缺损和占位性病变 图 2 本院胸椎 MRI 示多椎体和附件呈斑片状长 T2 信号, 边缘不清, 部分棘突有膨大 图 3 本院腰椎 MRI 示 L1~L4 椎体 T2 呈高信号, L1、L2 及 L4 椎弓根呈高信号, 椎体形态尚在正常范围

巴细胞 32.00%, 成熟淋巴细胞 19.00%。白细胞分布在片尾, 淋巴细胞异常增生, 原始及幼稚淋巴细胞占 52%, 胞体大小不一, 呈圆形或椭圆形, 胞浆量较少, 呈天蓝色, 核形较规则, 核染色质较细致, 核仁 1~3 个, 粒系、红系比例少, 粒/红比值为 3.14, 巨核细胞分布少, 血小板分布稀(图 5)。诊断为急性淋巴细胞白血病(L2 型)。

确诊后转当地医院血液科行 VP(长春新碱+强的松)方案化疗, 2 周后体温趋正常。但 3 个月后再次高热不退, 终因多器官功能衰竭而死亡。

讨论 急性淋巴细胞白血病表现为原始与幼稚淋巴细胞在造血组织中恶性增生, 临床表现常有发热、贫血、出血及肝、脾、淋巴结肿大, 以腰痛为首发症状的并不多见。此例患者首诊时腰背部疼痛剧烈, 有深压痛及叩击痛, 脊柱活动受限, 白细胞计数和血沉增高, 这些表现支持“化脓性脊柱炎”的诊断, 但患者早期未出现高热、畏寒、神志不清、昏迷、呕吐、腹胀等急性全身中毒症状或亚急性表现。化脓性脊柱炎在 X 线片上表现椎体骨质疏松, 边缘模糊不清, 椎间隙变窄, 遗憾的是发病初期未行腰椎 X 线检查, MRI 检查由于分辨率不高, 亦未能及时做出正确提示。转

入我院后经各种检查方做出正确诊断。

回顾本例患者的诊疗过程, 患者发热持续不退, 对三代广谱抗生素治疗效果不佳, 说明“化脓性脊柱炎”的诊断值得怀疑。患者症状加重, 末梢血白细胞计数反而不高, 且有轻度贫血的症状, 血清乳酸脱氢酶明显升高, 血清铁蛋白偏高, 总铁结合率降低, 铁粒幼红细胞百分数增高。这些均提示严重全身性疾病, 而并非单一化脓性脊柱炎所能解释。MRI 检查示脊柱多椎体有浸润, 椎体及附件有弥漫性水肿信号改变, 无明显脓肿形成, 化脓性脊柱炎的诊断证据不足。骨髓检查是确立诊断的重要依据。本例患者骨髓增生活跃, 分类以原始和幼稚淋巴细胞为主, 达到 52%, 粒/红比值为 3.14。确诊为急性淋巴细胞白血病(L2 型)。由于患者病情严重, 虽然转科进行化疗, 但预后不良。脊柱外科医生要提高对本病的认识和警惕, 不能只局限于本专业疾病, 应多考虑是否为其他系统疾病, 全面分析病例特点, 进行必要的辅助检查, 避免误诊、误治。

(收稿日期: 2008-06-23 修回日期: 2008-07-24)

(本文编辑 卢庆霞)