

临床论著

脐带间充质干细胞移植治疗急性
脊髓损伤的临床价值

张 陆, 刘志昂, 姜 岩, 刘 军
(郑州人民医院骨二科 450003 郑州市)

【摘要】目的:探讨脐带间充质干细胞移植(umbilical cord mesenchymal stem cells, UC-MSC)治疗急性脊髓损伤(acute spinal cord injury, ASCI)的临床价值。**方法:**选择 2017 年 1 月~2018 年 1 月我院收治的 50 例 ASCI 患者作为研究组,同时以同期的 50 例 ASCI 患者作为对照组。所有患者在受伤后 72h 内进行减压内固定术,对对照组患者给予抗炎、脱水、抗感染及神经营养等常规治疗,研究组患者在对照组的基础上采用腰穿鞘内注射脐带间充质干细胞。比较治疗前及治疗后 3、6、12 个月两组的功能指标恢复情况,包括 ASIA 分级与评分、Botsford 及脊髓损伤独立量表Ⅲ(spinal cord independence measure Ⅲ, SCIM-Ⅲ)评分、T 细胞亚群(CD3+、CD4+、CD8+、CD4+/CD8+)、免疫球蛋白(IgG、IgA、IgM),观察不良反应(头痛、发热、胃肠功能紊乱、尿路感染等)发生情况。**结果:**治疗后 3、6、12 个月,两组的 ASIA 等级改善率、ASIA 运动评分、ASIA 感觉评分、Botsford 评分及 SCIM-Ⅲ 评分均呈不断增高趋势($P<0.05$),CD3+、CD4+、CD4+/CD8+ 水平呈不断降低趋势($P<0.05$),CD8+、IgG、IgA、IgM 水平均无明显变化($P>0.05$),研究组的 ASIA 等级改善率、ASIA 运动评分、ASIA 感觉评分、Botsford 评分及 SCIM-Ⅲ 评分均明显高于对照组($P<0.05$),两组之间的 CD3+、CD4+、CD8+、CD4+/CD8+、IgG、IgA、IgM 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$);研究组与对照组的不良反应发生率分别为 18.0%、14.0%,两组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论:**间充质干细胞能够明显促进 ASCI 患者的神经功能恢复,不影响体液免疫且不增加不良反应发生率。

【关键词】急性脊髓损伤;脐带间充质干细胞;移植;功能恢复

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2019.03.09

中图分类号:R683.2, Q786 文献标识码 A 文章编号:1004-406X(2019)-03-0254-07

Clinical value of umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation in the treatment of acute spinal cord injury/ZHANG Lu, LIU Zhiang, JIANG Yan, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2019, 29(3): 254-260

【Abstract】 Objectives: To discuss the clinical value of umbilical cord mesenchymal stem cells (UC-MSC) transplantation in the treatment of patients with acute spinal cord injury(ASCI). **Methods:** 50 ASCI patients were selected as research group in our hospital from January 2017 to January 2018, while 50 ASCI patients were selected as control group in the same period. All the patients were carried out decompression and internal fixation within 72 hours after damaged, the patients were given the conventional treatment of anti-inflammatory, dehydration, anti-infection and neurotrophs in control group, the patients were injected umbilical cord mesenchymal stem cells by intravenous infusion combined with lumbar puncture based on conventional treatment in research group. The functional recovery index(ASIA grade and score, Botsford and FIM score), T cell subset(CD3+, CD4+, CD8+, CD4+/CD8+) and immune globulin(IgG, IgA, IgM) were compared between two groups before treatment and in the third, sixth, twelfth month after treatment. And the untoward effect (encephalalgia, fever, gastrointestinal dysfunction, urinary tract infection) was observed. **Results:** In the third, sixth, twelfth month after treatment, the ASIA grade improvement rate, ASIA movement score, ASIA sensory score, Botsford score and SCIM-Ⅲ score significantly increased continually in two groups($P<0.05$), the level of CD3+, CD4+, CD4+/CD8+ significantly decreased continually in two groups($P<0.05$), the level of CD8+ and

基金项目:河南省科技攻关项目基金(编号:172102310525)

第一作者简介:男(1968-),主任医师,研究方向:脊柱外科

电话:(0371)65390085 E-mail:zhanglu1968@163.com

level of IgG, IgA, IgM were not significantly changed in two groups ($P>0.05$). The ASIA grade improvement rate, ASIA movement score, ASIA sensory score, Botsford score and SCIM-III score of research group were higher than those of control group ($P<0.05$), there was no statistical significance on the level of CD3+, CD4+, CD8+, CD4+/CD8+, IgG, IgA, IgM between two groups ($P>0.05$). The occurrence rate of untoward effect was 18.0% and 14.0% in research group and control group, respectively and there was no statistical significance between the two groups ($P>0.05$). **Conclusions:** Umbilical cord mesenchymal stem cells could obviously promote the functional recovery of ASCI patients, and it did not affect the humoral immunity and increase the untoward effect.

[Key words] Acute spinal cord injury; Umbilical cord mesenchymal stem cells; Transplantation; Functional recovery

[Author's address] The Second Department of Orthopaedics, Zhengzhou People's Hospital, He'nan, 450003, China

急性脊髓损伤 (acute spinal cord injury, ASCI) 是由于高能量、高爆发暴力引起的移位椎体或骨折残片侵入椎管, 导致脊髓受到严重的机械性损伤, 受损的神经节段及其下游神经的支配区的运动及感觉功能发生不同程度的丧失是脊髓损伤的主要临床症状^[1]。ASCI 的临床预后较差, 因为 ASCI 会导致水肿、炎症等细胞、组织的过激活动, 从而引起分子水平的瀑布式级联反应^[2]。72h 内前后路椎管内减压内固定术是 ASCI 的早期临床干预手段, 但是患者仍存有脊柱的运动、感觉功能障碍, 对患者本身的生活质量及精神产生了严重影响, 同时也给家庭带来了巨大经济负担^[3]。由于 ASCI 患者的活动受限、长期卧床, 会导致压疮、肺部感染等不良反应的发生, 严重影响了患者的身心健康^[4]。所以及时使用有效药物促进功能恢复, 改善各种临床症状, 抑制炎症反应同样是 ASCI 临床治疗的重要部分。脐带间充质干细胞来源于脐带沃顿胶, 易于分离和体外大量扩增, 免疫原性低, 适于临床应用。前期临床试验研究报道, 将体外扩增的脐带间充质干细胞鞘内注射治疗脊髓损伤患者, 显示脐带间充质干细胞鞘内注射是安全有效的^[5-6]。本研究将探讨脐带间充质干细胞治疗 ASCI 的临床价值, 以期为临床方案的制定提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2017 年 1 月~2018 年 1 月我院收治的 50 例 ASCI 患者作为研究组, 同时以同期的 50 例 ASCI 患者作为对照组。病例纳入标准: (1) 所有患者均符合 2013 年《CNS/AANS 急性颈椎和脊髓损

伤管理指南》与《中国医师协会骨科医师分会骨科循证临床诊疗指南: 成人急性下颈段脊柱脊髓损伤循证临床诊疗指南》中关于 ASCI 的诊断标准; (2) 年龄 18~60 岁; (3) 在受伤后 72h 内进行减压内固定术; (4) 临床资料完整, 依从性较好者; (7) 经医院医学伦理委员会审核批准, 均签署知情同意书。病例排除标准: (1) 伴有内出血患者; (2) 合并严重心脑血管病者、肝肾功能不全、凝血功能及精神异常者; (3) 对研究药物过敏者; (4) 孕妇及哺乳期妇女。病例脱落标准: (1) 死亡、更换治疗方案、转院及失访者; (2) 由于严重不良反应终止治疗者。UC-MSc 移植治疗均经医院伦理委员会批准、在上级卫生行政主管部门备案并且在患者知情同意情况下进行。两组的一般资料比较差异无统计学意义 ($P>0.05$, 表 1)。

1.2 治疗方法

患者的手术, 脐带间充质干细胞移植等治疗均在郑州人民医院进行。脐带由郑州人民医院产科提供, 产妇知情同意并签署知情同意书。脐带间充质干细胞为郑州人民医院细胞治疗中心制备, 采用贴壁培养法分离培养。脐带间充质干细胞传代到第 3 代, 细胞总数为 $(2\sim6)\times 10^7/\text{ml}$, 镜下观察细胞贴壁良好, 融合密度达 85%。流式细胞仪检测细胞表型并确定为脐带间充质干细胞 (图 1、2)。

所有患者在受伤后 72h 内进行减压内固定术, 对照组患者给予抗炎、脱水、抗感染及神经营养等常规治疗。研究组患者在对照组的基础上采用腰穿鞘内注射脐带间充质干细胞。取足月剖宫产健康胎儿的脐带, 使用 PBS 冲洗液进行充分冲洗, 将脐动静脉剔除, 再将间质组织切割成组织块

(直径 1~2mm), 将其放置于 DMEM 培养液中, 于培养箱中培养(条件: 5%浓度的 CO₂、温度 37℃,

表 1 两组一般资料的比较 (n=50)
Table 1 Comparison of general information of the two groups

指标 Index	研究组 Research group	对照组 Control group
男/女 Male/female	30/20	28/22
平均年龄(岁) Average age(years)	41.26±9.74	42.89±10.30
ASIA 分级 ASIA grade		
B	16	15
C	20	22
D	14	13
损伤节段 Damaged segments		
T10	10	12
T11	18	20
T12	14	12
L1	8	6
受伤距手术时间(h) Time from trauma to operation	6.55±2.43	6.80±2.66
使用激素者 Glucocorticoids user	31	29

饱和湿度), 当细胞达到 80% 汇合以后, 采用胰酶/EDTA(0.2%)进行消化并按照 1:3 的比例进行传代。对第三代细胞进行收集, 细胞总数为 (2~6)×10⁷/ml, 采用流式细胞仪对细胞表型进行检测, 对脐带间充质干细胞进行确定, 细胞数量为 (3~4)×10⁷/ml, 其中 80% 属于间充质干细胞, 20% 属于神经前体细胞。采用腰穿鞘内注射的途径对脐带间充质干细胞进行移植治疗。移植治疗的疗程为: 4~6 次为一个疗程, 每次间隔 1 周, 每次治疗后的 24h 内严密监测患者生命体征变化。

1.3 观察指标

比较两组治疗前及随访后 3、6、12 个月的功能恢复指标、T 细胞亚群 (CD3+、CD4+、CD8+、CD4+/CD8+)、免疫球蛋白 (IgG、IgA、IgM) 变化情况。功能恢复指标包括: ASIA 分级与评分、Botsford 及 SCIM-III 评分。

术前美国脊髓损伤协会 (ASIA) 损伤分级 (AIS) A 级 9 例, B 级 3 例, C 级 3 例。等级改善率=(等级改善人数/总人数)×100%。ASIA 评分包

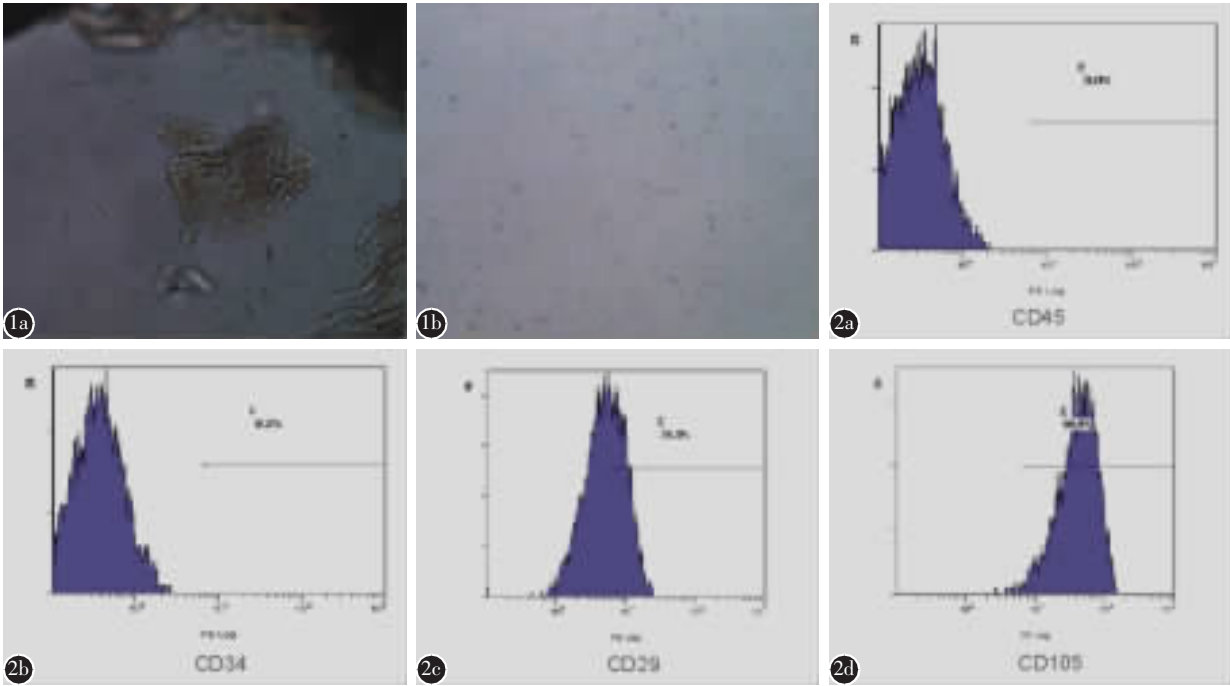


图 1 采用贴壁培养法分离培养获得的人脐带间充质干细胞(×20) a 培养 5d, 原代细胞从组织块中迁移出 b 培养 10d, 可见逐渐增多的贴壁细胞 图 2 a~d 流式细胞仪鉴定第 3 代人脐带间充质干细胞的表面标记物 CD45、CD34、CD29 及 CD105

Figure 1 Human umbilical cord mesenchymal stem cells were isolated and cultured by adherent culture (×20) a After cultured for 5d, primary cells were removed from the tissue mass b After cultured for 10 days, more adherent cells were observed Figure 2 a~d The surface markers CD45, CD34, CD29 and CD105 of umbilical cord mesenchymal stem cells were identified by flow cytometry

括运动评分与感觉评分;通过轻触躯干及四肢的皮肤感觉来进行 ASIA 感觉评分,感觉正常时单侧计分 56 分,双侧计分 112 分,全身最高计分 224 分。采用手法肌力检查 10 个肌节的关键肌进行 ASIA 运动评分,单侧最高计分 50 分,左右两侧计分 200 分。Botsford 评分感觉(10 分)、直肠功能(10 分)、膀胱功能(5 分)3 项内容,总计分 25 分。脊髓损伤独立量表Ⅲ(spinal cord independence measure Ⅲ, SCIM-Ⅲ)有 3 个领域的总计 17 个评估项目,总分为 100 分,其中 3 个领域包括自理能力(0~20 分)、呼吸和括约肌检查(0~40 分)、活动(0~40 分)。各种评分标准所得计侧计分 200 分。Botsford 评分感觉(10 分)、直肠功能(10 分)、膀胱功能(5 分)3 项内容,总计分 25 分。脊髓损伤独立量表Ⅲ(spinal cord independence measure Ⅲ, SCIM-Ⅲ)有 3 个领域的总计 17 个评估项目,总分为 100 分,其中 3 个领域包括自理能力(0~20 分)、呼吸和括约肌检查(0~40 分)、活动(0~40 分)。各种评分标准所得计分越高,表示功能恢复越好。

静脉取血 1ml,肝素抗凝。用流式专用试管,分别加入 CD3-PECY5、CD4-FITC、CD8-PE 荧光标记单克隆抗体(上海微蒙生物技术有限公司)20 μ l 及标本 100 μ l,混匀,室温暗处孵育 30min,然后加溶血素 50 μ l,室温避光 10min,观察溶血完全后,加入 500 μ l PBS 混匀,室温避光 10min,1500rpm 离心 5min,弃上清,加入 1ml PBS,重悬

细胞,4℃保存。采用流式细胞仪检测 CD3+、CD4+、CD8+、CD4+/CD8+比例。采用上海申能一德赛诊断技术有限公司的 IgG、IgA、IgM 液体试剂盒,采用免疫透射比浊法测定 IgG、IgA、IgM 水平。观察并记录所有不良反应发生情况。

1.5 统计学方法

应用 SPSS 18.0 软件进行统计分析,年龄、受伤到手术时间、ASIA 评分、Botsford 评分、SCIM-Ⅲ评分、免疫指标等计数资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;性别结构、评分、激素使用患者数、脊髓损伤节段等计数资料的组间比较采用 χ^2 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ASIA 分级的比较

所有研究对象均得到完整随访,无病例脱落。两组的 ASIA 等级改善率均呈不断增高趋势,在治疗后 3、6、12 个月,研究组的 ASIA 等级改善率均明显高于对照组($P < 0.05$,表 2)。

2.2 ASIA、Botsford、FIM 评分及 T 细胞亚群、免疫球蛋白水平的比较

治疗前,两组的 ASIA 运动评分、ASIA 感觉评分、Botsford 评分及 SCIM-Ⅲ评分比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后,两组的 ASIA 运动评分、ASIA 感觉评分、Botsford 评分及 SCIM-Ⅲ评分均均呈不断增高趋势($P < 0.05$);在治疗后 3、6、12 个月,研究组的 ASIA 运动评分、ASIA 感觉

表 2 治疗前后两组 ASIA 分级的比较

($n=50$)

Table 2 Comparison of ASIA grading between two groups before and after treatment

组别 Groups	治疗前 ASIA 分级 ASIA grade before treatment	病例数 Cases	治疗后 ASIA 分级 ASIA grade after treatment		
			治疗后 3 个月 3 months after treatment	治疗后 6 个月 6 months after treatment	治疗后 12 个月 12 months after treatment
研究组 Research group	B	16	13	10	4
	C	20	17	11	14
	D	14	12	16	14
	E	0	8	13	18
	改善率 Improvement rate		15(30.00%) ^①	21(42.00%) ^①	27(54.00%) ^①
对照组 Control group	B	15	13	9	5
	C	22	19	16	15
	D	13	14	17	19
	E	0	4	8	11
	改善率 Improvement rate		10(20.00%)	14(28.00%)	20(40.00%)

注:①与同时时间对照组比较 $P < 0.05$

Note: ①Compared with control group at the same time, $P < 0.05$

评分、Botsford 评分及 SCIM-III 评分均明显高于对照组 ($P<0.05$, 表 3)。

治疗前, 两组的 CD3+、CD4+、CD8+、CD4+/CD8+ 比例及 IgG、IgA、IgM 水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。治疗后, 两组的 CD3+、CD4+、CD4+/CD8+ 水平均成明显下降趋势 ($P<0.05$), CD8+ 比例无明显变化 ($P>0.05$); 在治疗后 3、6、12 个月, 两组之间的 CD3+、CD4+、CD8+、CD4+/CD8+ 水平比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$); 治疗后, 两组的 IgG、IgA、IgM 水平均无明显变化 ($P>0.05$), 两组之间的 IgG、IgA、IgM 水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$, 表 3)。

2.3 不良反应的比较

研究组发生头痛 5 例、低至中等度发热 3 例、胃肠道功能紊乱 1 例, 不良反应发生率为 18.00%; 对照组发生尿路感染 1 例、头痛 4 例、胃肠道功能紊乱 2 例, 不良反应发生率为 14.00%; 2 组不良反应发生率比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。所有不良反应经对症治疗后均缓解。

3 讨论

ASCI 是脊柱损伤的一种严重并发症, 损伤节段及以下肢体容易发生严重的功能障碍, 如何提

高 ASCI 的治疗效果及改善其治疗、康复水平已经成为临床医师关注的重点^[7]。随着医学技术的不断发展, 吻合手术、减压手术、药物治疗、康复治疗等多种方法被用于 ASCI 的治疗, 这些治疗方法虽然能够不同程度地对脊髓损伤的病理改变进行缓解, 但是并不能够改变脊髓损伤造成大量患者截瘫这个局面, 给患者、家庭、社会带来了巨大的负担^[8]。近年来, 随着再生医学的迅猛发展, 以干细胞为基础的细胞疗法在神经系统疾病领域的治疗研究也应运而生^[9]。

间充质干细胞是源于中胚层, 且具有多向分化潜能的一类干细胞, 存在于新生儿的脐带、人体骨髓等组织中^[10]。研究^[11,12]证明, 间充质干细胞不仅具有能够分化为骨、脂肪细胞及成肌细胞地潜能, 还具有分化为神经元的潜能。由于间充质干细胞地来源比较丰富, 获取比较方便, 且具有较低免疫原性、扩增容易及多向分化潜能的特点, 其在神经系统疾病、心血管系统疾病及骨骼肌肉相关疾病等领域被广泛使用, 而且取得了较好的效果。有研究^[13]报道采用人源间充质干细胞对脊髓损伤模型大鼠进行了移植治疗, 在治疗后对大鼠的运动功能、体感诱发电位与运动诱发电位进行了评定, 同时还利用免疫组织化学染色对间充质干细胞的

表 3 治疗前后 2 组 ASIA、Botsford、FIM 评分的比较

($n=50$)

Table 3 comparison of ASIA, Botsford, FIM scores and level of T cell subsets, immunoglobulin between two groups before and after treatment

指标 Index	治疗前 Before treatment		治疗后 3 个月 3 months after treatment		治疗后 6 个月 6 months after treatment		治疗后 12 个月 12 months after treatment	
	研究组 Research group	对照组 Control group	研究组 Research group	对照组 Control group	研究组 Research group	对照组 Control group	研究组 Research group	对照组 Control group
ASIA 运动评分 ASIA sports scores	59.76±5.23	60.33±5.18	67.33±6.18 ^②	65.17±5.20 ^②	74.90±5.43 ^{①②}	68.88±6.39 ^②	81.13±5.82 ^{①②}	70.85±4.76 ^②
ASIA 感觉评分 ASIA sense scores	61.57±5.10	61.12±4.24	66.84±4.35 ^②	64.97±5.11 ^②	72.36±5.44 ^{①②}	67.80±5.62 ^②	80.35±6.50 ^{①②}	69.22±6.31 ^②
Botsford 评分 Botsford scores	12.22±2.83	12.04±2.95	16.38±2.15 ^②	15.44±2.26 ^②	20.57±3.38 ^{①②}	17.26±2.55 ^②	22.45±2.11 ^{①②}	18.06±2.31 ^②
SCIM-III 评分 SCIM-III scores	40.84±6.59	41.72±6.32	52.22±5.37 ^{①#}	49.30±6.19 ^②	64.75±5.22 ^{①②}	54.86±5.30 ^②	72.53±4.32 ^{①②}	63.53±5.05 ^②
CD3+ (%)	81.43±8.01	79.63±7.03	78.34±8.25 ^②	77.19±6.90 ^②	76.34±8.25 ^②	75.33±6.18 ^②	74.12±6.50 ^②	74.65±6.54 ^②
CD4+ (%)	41.87±5.22	41.93±5.31	38.20±4.74 ^②	37.55±4.87 ^②	37.79±3.22 ^②	36.83±3.30 ^②	35.32±3.25 ^②	36.64±3.20 ^②
CD8+ (%)	28.14±7.82	29.25±7.91	27.65±6.20	28.19±5.17	28.43±6.55	29.10±5.64	27.16±6.58	28.98±5.62
CD4+/CD8+	1.70±0.82	1.64±0.82	1.42±0.55 ^②	1.41±0.38 ^②	1.20±0.19 ^②	1.18±0.44 ^②	1.05±0.66 ^②	1.07±0.47 ^②
IgG (g/L)	10.77±4.58	10.08±3.79	10.08±4.17	10.02±3.90	9.77±4.15	9.42±3.16	9.98±4.62	9.65±3.42
IgA (g/L)	1.92±0.58	1.88±0.79	1.90±0.30	1.84±0.55	1.85±0.73	1.82±0.61	1.83±0.62	1.79±0.42
IgM (g/L)	1.28±0.51	1.27±0.62	1.30±0.52	1.29±0.44	1.29±0.42	1.28±0.59	1.32±0.44	1.30±0.35

注: ①与同时时间对照组比较 $P<0.05$; ②与治疗前比较 $P<0.05$

Note: ①Compared with control group at the same time, $P<0.05$; ②Compared with before treatment, $P<0.05$

存活、迁移、分化进行了观察,结果显示人源间充质干细胞能够在脊髓损伤模型大鼠体内向少突胶质细胞、神经元等分化,促进脊髓损伤模型大鼠的神经功能恢复。有研究^[14]通过蛛网膜下腔注射间充质干细胞对模型大鼠的脊髓损伤进行修复,结果显示蛛网膜下腔注射间充质干细胞能够促进脊髓损伤模型大鼠的功能恢复。也有研究^[15]报道通过蛛网膜下腔注射或静脉注射骨髓间充质干细胞用于脊髓损伤患者的治疗,在治疗后的 7d、15d、30d、60d、90d 对患者的运动及感觉、膀胱功能、日常生活能力进行评定,发现患者的自主神经功能、运动与感觉均得到不同程度的改善,但与对照组比较差异不明显,这可能与病例数较少及随访时间较短有关。

本研究采用腰穿鞘内注射脐带间充质干细胞对 ASCI 患者进行治疗,随访 1 年后对患者的功能恢复指标(ASIA 分级与评分、Botsford 及 FIM 评分)、T 细胞亚群、免疫球蛋白及不良反应发生情况进行了观察,结果显示观察组的 ASIA 分级与评分、Botsford 及 FIM 评分明显高于对照组,说明脐带间充质干细胞治疗 ASCI 患者的效果比较显著;研究组与对照组的不良反应发生率为 18.0%、14.0%,两组的不良反应发生率比较差异无统计学意义,说明脐带间充质干细胞移植治疗不增加不良反应,安全性高。

器官及组织移植不可避免地存在移植排斥反应,移植排斥反应是指宿主免疫系统识别移植抗原并产生免疫应答。充质干细胞可产生多种免疫调节因子,产生的多种免疫调节因子之间可通过协同或拮抗发挥作用,不仅参与免疫反应的调控,而且还参与炎症反应的应答和组织损伤修复等多个生物学进程^[16]。T 细胞按 CD4 和 CD8 的表面标志分为 CD4+ 细胞和 CD8+ 细胞两个亚群。辅助性 T 细胞(Th 细胞)和抑制性 T 细胞(Ts 细胞)分属于 CD4+ 和 CD8+ 细胞,机体内的免疫平衡主要由这两大类细胞相互影响来维持^[17,18]。CD3+ 细胞代表外周血成熟 T 细胞总数,其比例增多表示 T 细胞免疫功能增强,反之则异;CD4+ 细胞可辅助 B 细胞产生抗体及分泌一些细胞因子,具有调节增强免疫反应的作用,CD4+ 细胞比例增多提示机体免疫系统活性增强,反之则异^[19];CD8+ 细胞具有免疫抑制作用和细胞毒性作用;CD4+/CD8+ 细胞比值表示与之间功能平衡状态,

是人体免疫系统内环境稳定最重要指标,如两者比值降低,则提示机体免疫功能降低^[20]。本研究中两组的 CD3+、CD4+、CD4+/CD8+ 水平明显降低,CD8+ 水平均无明显变化,说明脐带间充质干细胞移植没有刺激淋巴细胞的增殖,表明没有诱发免疫应答,用于临床移植是安全的,不会引起移植物抗宿主病;脐带间充质干细胞对宿主细胞免疫有一定的负向调节作用,能通过抑制细胞免疫,减少自然杀伤细胞对外源性以及内源性干细胞的攻击作用,这将有利于发挥其生长与修复的潜力,为短期内修复受损的神经元创造良好的微环境。

免疫球蛋白(Ig)是指抗体活性或化学结构上与抗体相似的球蛋白,是免疫应答中产生的重要效应分子^[21],因此我们将其作为监测体液免疫的主要指标。IgG 是再次免疫应答产生的主要免疫球蛋白,发挥调理作用,可引起 II、III 型超敏反应的抗体以及封闭性抗体;IgM 是初次体液免疫应答早期阶段产生的主要免疫球蛋白,IgA 具有抗菌、抗毒素、抗病毒作用^[22,23]。本研究中,两组的 IgG、IgA、IgM 水平无明显变化及差异,说明脐带间充质干细胞没有刺激免疫球蛋白增殖,没有诱发免疫应答及超敏反应,因此移植从体液免疫的角度而言是安全的。

综合临床研究及动物实验的结果,分析了脐带间充质干细胞移植治疗 ASCI 的可能机制是:(1)脐带间充质干细胞被移植后能够迁移到受损的神经部位,能够通过细胞替代作用将受损或者死亡的神经细胞进行更换,对受损的神经网络进行修复;(2)脊髓受损后,虽然受损部位周围的神经细胞还健存,但是由于受到损伤的影响转入休眠或功能抑制状态,脐带间充质干细胞能够通过其分泌的大量神经营养因子,对这些神经细胞进行激活,从而对神经功能进行改善;(3)脐带间充质干细胞被移植入受损脊髓内后能持续分泌多种神经营养因子[脑源性神经营养因子(BDNF)等],这些营养因子可长期、持续为失神经的肌肉提供营养,减轻失神经导致的骨骼肌萎缩,也可清除兴奋性氨基酸、自由基以减少神经细胞离子失衡、改善细胞内微循环;同时对受体自身的以及处于休眠状态或者受损的神经细胞起到激活作用,从而改善患者的临床症状^[24,25]。

目前,再生医学及干细胞治疗已经成为医学研究的热点,本研究中采用脐带间充质干细胞治

疗对 ASCI 患者取得较好效果,提示可以立足基础研究,严格制定临床治疗方案,进行一些主动尝试,利用脐带间充质干细胞在再生医学中的治疗技术给患者及社会带来希望。由于研究病例数量有限及随访时间的问题,脐带间充质干细胞移植治疗 ASCI 患者的远期疗效及其副作用还需进一步研究。

4 参考文献

1. Bao FP, Zhang HG, Zhu SM. Anesthetic considerations for patients with acute cervical spinal cord injury[J]. Neural Regeneration Research(NRR), 2017, 12(3): 499-504.
2. Christian, A Bowers, Bornali, et al. Methylprednisolone for acute spinal cord injury: an increasingly philosophical debate [J]. Neural Regeneration Research, 2016, 11(6): 882-885.
3. 张军卫, 孙天胜, 海涌, 等. 早期康复干预对脊髓损伤后康复时间的影响[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2015, 25(2): 115-121.
4. 赵鹏飞. 甲泼尼龙联合单唾液酸四己糖神经节苷脂治疗急性脊髓损伤的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(9): 699-701.
5. 刘静, 韩冬梅, 薛梅, 等. 脐带间充质干细胞鞘内注射治疗脊髓损伤的长期临床观察[J]. 组织工程与重建外科, 2017, 13(6): 313-317.
6. 张赞, 代广辉, 刘学彬, 等. 脐带间充质干细胞移植治疗脊髓损伤疗效观察[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2015, 29(5): 478-480.
7. Lu GB, Niu FW, Zhang YC, et al. Methylprednisolone promotes recovery of neurological function after spinal cord injury: association with Wnt/ β -catenin signaling pathway activation[J]. Neural Regeneration Research, 2016, 11(11): 1816-1823.
8. Li XG, Lin XJ, Du JH, et al. Combination of methylprednisolone and rosiglitazone promotes recovery of neurological function after spinal cord injury[J]. Neural Regeneration Research, 2016, 11(10): 1678-1684.
9. 陈胜, 金正帅. 不同时期局部移植人脐带间充质干细胞修复脊髓损伤的组织学观察 [J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(45): 6714-6719.
10. 马娇, 张雪梅. 骨髓间充质干细胞治疗脊髓损伤的分子机制 [J]. 脑与神经疾病杂志, 2016, 24(2): 117-119.
11. 张超. 骨髓间充质干细胞移植修复慢性期脊髓损伤的基础研究和转化探索[D]. 天津医科大学. 2016.
12. 宋志文, 余常麟, 丁亚, 等. PTEN 参与神经干细胞调控及脊髓损伤修复的研究进展[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2016, 26(6): 555-558.
13. 李季, 蔡锦芳, 邹林, 等. 骨髓间充质干细胞移植对脊髓损伤模型大鼠 Toll 样受体 4 表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(1): 147-151.
14. 武玉江, 侯英诺, 张子檀, 等. 早期运动训练联合神经干细胞移植对脊髓损伤模型大鼠后肢运动功能的影响[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(6): 876-882.
15. 杨华强, 张荣环, 杜玲, 等. 脐带间充质干细胞移植治疗脊髓损伤的临床研究[J]. 现代生物医学进展, 2012, 12(3): 518-521.
16. 刘贵艳, 李芳, 李小峰. 间充质干细胞在自身免疫疾病治疗中的研究进展[J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2016, 10(18): 2772-2775.
17. 张超, Chekhonin VP, Bryukhovetskiy AS, 等. 间质干细胞移植修复脊髓损伤: 从基础研究到临床转化[J]. 中华骨科杂志, 2016, 36(6): 370-377.
18. 杨新明, 胡长波, 成彦昱. 脊髓损伤机制及骨髓间充质干细胞移植治疗机制的研究进展[J]. 生物骨科材料与临床研究, 2016, 13(6): 68-71.
19. 龚九妹, 余丽梅. 间充质干细胞免疫学特性研究进展[J]. 生命的化学, 2016, 36(2): 203-207.
20. 边培育, 雷迎峰, 叶传涛, 等. 间充质干细胞免疫调控作用可塑性的研究进展[J]. 微生物学免疫学进展, 2016, 44(6): 89-92.
21. 曹凯, 章涛. 间充质干细胞的免疫调节可塑性研究进展[J]. 医学综述, 2018, 24(1): 34-39.
22. 王雨, 陈龙菊. 脐带间充质干细胞免疫调节功能的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2017, 33(7): 1001-1006.
23. 向旭, 康健, 张萍, 等. Toll 样受体对间充质干细胞功能调控的研究进展[J]. 医学综述, 2017, 23(14): 2735-2739.
24. 唐超, 钟德君. 诱导多能干细胞及其移植治疗脊髓损伤的研究进展[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2017, 27(4): 368-371.
25. 郭卫春, 周升, 熊敏. 骨髓间充质干细胞治疗脊髓损伤的研究现状[J]. 医学综述, 2017, 23(5): 882-886.

(收稿日期:2018-12-06 修回日期:2019-02-13)

(英文编审 孙浩林/贾丹彤)

(本文编辑 彭向峰)