

脐血间充质干细胞移植治疗帕金森病30例☆

吴立克, 王晓娟, 褚赛纯, 许保磊, 程波

Using umbilical cord blood mesenchymal stem cell transplantation for Parkinson's disease in 30 patients

Wu Li-ke, Wang Xiao-juan, Chu Sai-chun, Xu Bao-lei, Cheng Bo

Abstract

OBJECTIVE: To observe the curative effect of umbilical cord blood mesenchymal stem cells (MSCs) implantation in treating Parkinson Disease.

METHODS: A total of 30 Parkinson's disease patients in Beijing Wu Stem Cells Medical Center, from January to December 2008, were selected, including 19 males and 11 females, aged 45-66 years, mean aged 58 years, II-IV grade according to Hoehn-Yahr classification. The informed consent was obtained from each patient, and the treating was approved by the Medical Ethics Committee. The routine examination showed all patients were at normal level at blood, urine, stool test, liver/renal function, as well as tumor markers at first week. From the second week, all patients received MSCs implantation by lumbar puncture via subarachnoid space, the 3, 4 lumbar was served as puncture points. Totally 5 mL (5 000 000 cells) MSCs were slowly injected within 10 minutes, once per week, for 4 successive weeks. Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) was used to evaluate those Parkinson patients' neural function, the greater scores, the severe damage.

RESULTS: All patients were included in the final analysis without loss. Compared to before transplantation, the UPDRS was significant decreased at 3 month after treatment ($P < 0.01$). The clinical symptoms, such as tremor, rigidity, slow movement, unstable posture had obvious improvement, in addition, there was no graft versus host disease occurred.

CONCLUSION: MSCs implantation can ameliorate clinical symptoms, as well as improve life quality of Parkinson's disease patients to some extent.

Beijing Wu Stem
Cells Medical Center,
Beijing 100070,
China

Wu Li-ke☆, Doctor,
Associate chief
physician, Beijing Wu
Stem Cells Medical
Center, Beijing
100070, China
wxjlangfang@sohu.
com

Received: 2009-07-14
Accepted: 2009-09-18

Wu LK, Wang XJ, Chu SC, Xu BL, Cheng B. Using umbilical cord blood mesenchymal stem cell transplantation for Parkinson's disease in 30 patients. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009;13(40): 7951-7954. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

目的: 观察脐血间充质干细胞移植治疗帕金森病患者神经功能的效果。

方法: 选择 2008-01/12 北京和众华信治疗中心收治的帕金森病患者 30 例, 均经过英国皇家医师学会帕金森病诊断与管理指南的帕金森病诊断标准确诊, 男 19 例, 女 11 例, 年龄 45~66 岁, 平均年龄 58 岁, Hoehn-Yahr 分级为 II~IV 级, 患者对治疗均签署知情同意书, 治疗方案经医院医学伦理委员会批准。所有患者均住院治疗, 第 1 周进行常规检查, 30 例患者血、尿、便常规、肝肾功能、多项肿瘤标志物、胸片等均正常。自第 2 周起患者应用脐带血间充质干细胞进行鞘内注射移植治疗, 以第 3, 4 腰椎间隙为穿刺点, 缓慢注入地塞米松 2 mg, 取脐血间充质干细胞注射液 5 mL (干细胞数 500 万), 在 10 min 内缓慢注入蛛网膜下腔, 1 次/周, 4 次为 1 个疗程, 共治疗 1 个疗程。采用帕金森病统一评分量表对患者移植前后神经功能进行评定, 分值越高表示神经功能缺损越严重。

结果: 30 例患者均进入结果分析, 中途无脱落。与移植前比较, 30 例患者移植后 3 个月帕金森病统一评分量表分值均明显降低 ($P < 0.01$), 患者震颤、强直、运动迟缓、姿势不稳等临床症状均得到明显改善, 均未出现移植植物抗宿主病。

结论: 脐血间充质干细胞移植可以一定程度地改善帕金森病患者的临床症状, 提高患者生活质量。

关键词: 脐血间充质干细胞; 移植; 帕金森病; 神经变性

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2009.40.029

北京和众华信治
疗中心, 北京市
100070

吴立克☆, 男,
1963 年生, 北京
市人, 朝鲜族,
2005 年河北医科
大学毕业, 博士,
副主任医师, 主要
从事神经变性病
和神经修复方面
的研究。
wxjlangfang@
sohu.com

中图分类号:R394.2
文献标识码:B
文章编号:1673-8225
(2009)40-07951-04

收稿日期:2009-07-14
修回日期:2009-09-18
(20090714010/
ZS-Z)

吴立克, 王晓娟, 褚赛纯, 许保磊, 程波. 脐血间充质干细胞移植治疗帕金森病 30 例[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(40):7951-7954. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

帕金森病是一种中老年人常见的神经系统变性疾病, 主要表现为震颤、强直、运动迟缓和体位不稳。传统的药物治疗和外科手术治疗均不能逆转神经变性, 不能重新增加多巴胺能神经细胞的数目。相反由于多巴的神经毒性、电极的刺激还会使神经细胞的数目进一步减少, 因此寻求一种从病因上提高神经系统细胞数目的治疗具有重要意义。

传统观点认为, 中枢神经系统的神经细胞是一种终末细胞, 创伤、中毒、缺血缺氧等病理过程引起的神经元丢失是一个不可逆的过程。

成体干细胞的多潜能性为帕金森病的治疗提供了新的思路和方法^[1]。

实验使用脐血间充质干细胞移植治疗帕金森病患者, 观察脐血间充质干细胞移植改善帕金森病患者神经功能的效果。

1 病例介绍

1.1 对象 选择2008-01/12北京和众华信治疗中心收治的帕金森病患者30例, 均经过英国皇家医师学会帕金森病诊断与管理指南的帕金森病诊断标准确诊, 男19例, 女11例, 年龄45~66岁, 平均年龄58岁, Hoehn-Yahr分级为II~IV级。按2005年国务院《医院管理条例》第33条规定对患者的治疗及风险进行如实告知^[2], 患者对治疗均签署知情同意书, 治疗方案经医院医学伦理委员会批准。

干细胞移植适应证: 原发性帕金森病, Hoehn-Yahr分级在II~IV级, 排除其他神经系统变性疾病, 无其他系统重大疾病。

干细胞移植相对禁忌证: ①高度过敏体质或者有严重过敏史者。②合并恶性肿瘤。③全身感染或局部严重感染。④并发心、肺、肝、肾等重要脏器的功能障碍。⑤凝血功能障碍, 如血友病。⑥血清学检查阳性者, 如艾滋病、乙肝、梅毒等。

1.2 方法

临床检查: 所有患者均住院治疗, 第1周进行常规检查, 30例患者血、尿、便常规、肝肾功能、多项肿瘤标志物、胸片等均正常; 3例患者血糖略高, 经饮食控制及口服拜糖平治疗后血糖控制良好; 5例患者血脂包括胆固醇或三酰甘油升高, 给予降脂治疗后血脂控制正常。

脐血间充质干细胞的分离培养^[3]: 脐血间充质干细胞由北京科宇联合干细胞公司提供, 经脐血采集、分离、扩增后, 向神经干细胞诱导, 传至4~6代。细胞数量为 $1 \times$

10^9 L^{-1} , 其中约80%为CD34⁺细胞, 20%属于神经前体细胞。

脐血间充质干细胞的移植^[4]: 自第2周起患者应用脐血间充质干细胞进行鞘内注射移植治疗, 1次/周, 4次为1个疗程, 共治疗1个疗程。患者取左侧卧位, 屈髋屈膝屈颈, 以第3, 4腰椎间隙为穿刺点, 常规消毒铺巾, 以2%利多卡因局麻, 以9号穿刺针垂直刺入蛛网膜下腔, 缓慢注入地塞米松2 mg, 取脐血间充质干细胞注射液5 mL(干细胞数目500万), 在10 min内缓慢注入蛛网膜下腔, 观察患者无不适应症状后, 拔出穿刺针, 局部皮肤消毒, 敷以无菌辅料, 嘱患者去枕平卧6 h, 治疗结束。

辅助治疗: 常规给予扩张血管、抗自由基、营养神经、稳定细胞膜等治疗。

评估标准: 分别于移植前和移植后3个月, 采用帕金森病统一评分量表对患者进行评定, 主要从4个方面进行评价: 第1部分: 精神、行为和情绪; 第2部分: 日常活动; 第3部分: 运动功能; 第4部分: 治疗的并发症。分值越高表示神经功能缺损越严重。

统计学分析: 由第二作者采用SPSS 11.5软件包进行统计处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 行数据配对t检验分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

1.3 病例解析

参与者数量分析: 30例患者均成功移植, 中途无脱落, 按意向性进行结果分析。

脐血间充质干细胞移植前后患者功能独立性评分的变化: 本组30例患者移植前帕金森病统一评分量表平均为89分, 移植后3个月平均为56分, 差异有显著性意义($P < 0.01$), 见表1。

表1 脐血间充质干细胞移植前后30例帕金森病患者功能独立性评分的变化
Table 1 Changes of functional independence scoring of 30 cases prior to and after cell transplantation ($\bar{x} \pm s, n=30, \text{score}$)

Index	Prior to transplantation	3 month after transplantation	t	P
Mind, behavior and emotion	7.7±1.7	6.4±1.3	5.77	0.000
Daily activities	27.7±2.8	23.3±3.3	8.26	0.000
Motor function	37.9±3.7	32.9±3.6	12.3	0.000
Complication	16.3±2.6	13.2±2.5	12.0	0.000

体征的变化: 脐血间充质干细胞移植过程中及移植后患者的生命体征均平稳。

并发症和不良反应: 有3例患者出现移植后低热, 体温不超过38℃, 伴有头痛或腰痛等不良反应, 对症处理后均完全缓解。30例患者均未出现移植物抗宿主病。

病例报告项目清单:

病例	性别	年龄 (岁)	Hoehn-Yahr 分级	病程 (年)	UPDRS 评分 (分)		并发症
					治疗前	治疗后	
1	男	45	II	2.2	75	58	无
2	男	57	II	3.4	86	72	无
3	男	53	III	3.2	93	75	无
4	男	55	III	3.5	91	78	无
5	男	66	III	3.5	78	70	发热、头痛
6	男	62	IV	7.7	113	89	无
7	男	60	III	3.0	88	76	无
8	男	61	III	4.5	99	89	无
9	男	59	III	2.6	87	73	无
10	男	58	II	3.3	83	71	无
11	女	47	II	1.7	85	76	无
12	男	49	III	2.5	92	82	无
13	男	48	III	3.3	91	81	无
14	男	66	II	2.7	84	70	发热、头痛
15	男	65	III	4.3	95	72	无
16	男	58	III	3.5	95	74	无
17	男	57	III	3.7	99	85	无
18	男	63	III	2.6	93	75	无
19	男	62	II	2.5	75	62	无
20	女	64	III	3.3	93	77	无
21	女	59	III	3.0	90	77	无
22	女	56	IV	4.3	99	84	无
23	女	58	II	1.7	73	64	无
24	女	62	II	3.8	89	73	无
25	女	61	II	2.3	73	62	无
26	女	59	III	2.7	93	78	发热、头痛、腰痛
27	女	55	II	3.5	78	66	无
28	女	58	II	3.8	85	76	无
29	女	62	III	4.6	97	95	无
30	女	65	IV	5.7	106	86	无

2 讨论

帕金森病是一种以中脑黑质纹状体系统的多巴胺能神经元变性, 导致分泌的多巴胺递质降低, 引起静止震颤, 四肢僵硬、运动迟缓及体位不稳为主的锥体外系疾病, 目前临床以药物治疗和手术治疗为主^[5]。不论是递质替代还是外科手术均不能改善脑内环境, 不能增加多巴胺能神经元的数目, 相反由于多巴的神经毒性、电极的刺激还会使神经细胞的数目进一步减少, 因此寻求一种从病因上提高神经系统细胞数目的治疗具有重要意义^[6-7]。

传统观点认为, 中枢神经系统的神经细胞是一种终末细胞, 创伤、中毒、缺血缺氧等病理过程引起的神经元丢失是一个不可逆的过程。成体干细胞横向分化的多潜能性为帕金森病的治疗提供了新思路^[8-30]。移植多巴胺能神经元替代已经变性的神经元, 恢复黑质纹状体多巴系统的完整性并改善其功能, 很可能是一项非常有前途的治疗措施^[31-32]。近年来通过移植神经干细胞治疗帕金森病已经成为当前研究的热点, 但成人神经干细胞并不容易获得^[33-34]。胚胎的多巴胺能神经元移植可以减轻帕金森病动物模型的行为学缺失^[35], 但存在伦理学问题, 因此探索神经细胞的其他组织来源成为重要问题。

用于神经移植理想的细胞来源应具备^[36-37]: ①移植

的细胞在体外可大量繁殖和扩增。②安全可靠。③移植细胞能够分化为神经元和神经胶质细胞。④不需要长期使用免疫抑制剂。间充质干细胞具备这些特性, 决定了它可以作为移植治疗帕金森病的理想细胞来源。

除此之外, 间充质干细胞还具备以下优势: ①取材方便, 细胞来源比较充足。除脐血外, 骨髓、脐带等组织也存在间充质干细胞。②在一定培养条件下, 可在短时间内大量扩增。③易被外源基因转染。④能透过血脑屏障, 通过静脉内移植。⑤避免了伦理道德上的争议。这些优点使脐血间充质干细胞成为神经干细胞移植理想的种子细胞, 有着广泛的临床应用前景。

实验结果表明, 脐血间充质干细胞移植治疗, 在短期内有效的部分改善帕金森患者的震颤、强直、运动迟缓、体位不稳等临床症状。目前认为间充质干细胞治疗帕金森病的机制可能有: ①间充质干细胞移植入脑后, 能形成表达神经标志性蛋白的神经元样细胞或星形胶质细胞, 产生的细胞可在受损部位周围存活甚至移行至全脑^[38]。②间充质干细胞在中枢神经系统微环境下能分泌脑源性神经营养因子、碱性成纤维生长因子等营养因子, 或者刺激损伤部位产生内源性因子, 促进损伤组织的修复并减少细胞凋亡。③间充质干细胞是受损部位新生血管的主要组成细胞, 可分化成血管内皮细胞和细胞外基质, 帮助神经保护、促进血管发生。④在脑内创

造适宜的局部微环境, 通过体外扩增或不同因子诱导分化的方法使间充质干细胞分化为神经细胞后进行移植, 替代受损细胞重建神经功能区和传导通路。

关于间充质干细胞治疗帕金森病能否保持长期疗效, 且与目前存在的其他治疗方法相比是否具有优越性等问题, 还有待进一步分析。

3 参考文献

[1] Ye M, Wang XJ, Zhang YH, et al. Therapeutic effects of differentiated bone marrow stromal cell transplantation on rat models of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2007; 13(1):44-49.

[2] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance Suggestions for the Care and Use of Laboratory Animals. 2006-09-30. 中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见. 2006-09-30.

[3] Yuan Y, Yang SY, Han ZC, et al. *Zhonghua Shenjing Yixue Zazhi*. 2006;5(3):230-235. 袁源, 杨树源, 韩忠朝, 等. 人脐带间充质干细胞体外扩增和向神经元样细胞定向诱导分化的研究[J]. *中华神经医学杂志*, 2006, 5(3):230-235.

[4] Zhang RY, Zheng YR, Hu SS, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2006;10(9):138-139. 张儒有, 郑永日, 胡韶山, 等. 神经干细胞移植治疗脑卒中后遗症50例临床效果分析[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2006, 10(9):138-139.

[5] Lees AJ, Hardy J, Revesz T. Parkinson's disease. *Lancet*. 2009; 373(9680):2055-2066.

[6] Greene P. Cell-based therapies in Parkinson's disease. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2009;9(4): 292-297.

[7] Poncelet AJ, Denis D, Gianello P. Cellular xenotransplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2009;14(2):168-174.

[8] Lindvall O, Kokoaia Z. Prospects of stem cell therapy for replacing dopamine neurons in Parkinson's disease. *Trends Pharmacol Sci*. 2009;30(5):260-267.

[9] Lindvall O. Stem cells for cell therapy in Parkinson's disease. *Pharmacol Res*. 2003;47(4):279-287.

[10] Brundin P, Strecker RE, Widner H, et al. Human fetal dopamine neurons grafted in a rat model of Parkinson's disease: immunological aspects, spontaneous and drug-induced behaviour, and dopamine release. *Exp Brain Res*. 1988;70(1):192-208.

[11] Nakao N, Shintani-Mizushima A, Kakishita K, et al. Transplantation of autologous sympathetic neurons as a potential strategy to restore metabolic functions of the damaged nigrostriatal dopamine nerve terminals in Parkinson's disease. *Brain Res Rev*. 2006;52(2): 244-256.

[12] Nakao N, Shintani-Mizushima A, Kakishita K, et al. The ability of grafted human sympathetic neurons to synthesize and store dopamine: a potential mechanism for the clinical effect of sympathetic neuron autografts in patients with Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 2004;188(1):65-73.

[13] Winkler C, Bentlage C, Nikkha G, et al. Intranigral transplants of GABA-rich striatal tissue induce behavioral recovery in the rat Parkinson model and promote the effects obtained by intrastriatal dopaminergic transplants. *Exp Neurol*. 1999;155(2):165-186.

[14] Levy YS, Stroomza M, Melamed E, et al. Embryonic and adult stem cells as a source for cell therapy in Parkinson's disease. *J Mol Neurosci*. 2004;24(3):353-386.

[15] Arenas E. Engineering a dopaminergic phenotype in stem/precursor cells: role of Nurr1, glia-derived signals, and Wnts. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1049:51-66.

[16] Sortwell CE, Collier TJ, Sladek JR Jr. Co-grafted embryonic striatum increases the survival of grafted embryonic dopamine neurons. *J Comp Neurol*. 1998;399(4):530-540.

[17] During MJ, Kaplitt MG, Stern MB, et al. Subthalamic GAD gene transfer in Parkinson disease patients who are candidates for deep brain stimulation. *Hum Gene Ther*. 2001;12(12):1589-1591.

[18] Taylor H, Minger SL. Regenerative medicine in Parkinson's disease: generation of mesencephalic dopaminergic cells from embryonic stem cells. *Curr Opin Biotechnol*. 2005;16(5):487-492.

[19] Kanaan NM, Collier TJ, Marchionini DM, et al. Exogenous erythropoietin provides neuroprotection of grafted dopamine neurons in a rodent model of Parkinson's disease. *Brain Res*. 2006;1068(1):221-229.

[20] Collier TJ, Sortwell CE, Elsworth JD, et al. Embryonic ventral mesencephalic grafts to the substantia nigra of MPTP-treated monkeys: feasibility relevant to multiple-target grafting as a therapy for Parkinson's disease. *J Comp Neurol*. 2002;442(4):320-330.

[21] Isacson O, Bjorklund LM, Schumacher JM. Toward full restoration of synaptic and terminal function of the dopaminergic system in Parkinson's disease by stem cells. *Ann Neurol*. 2003;53 Suppl 3:S135-146.

[22] Terpstra BT, Collier TJ, Marchionini DM, et al. Increased cell suspension concentration augments the survival rate of grafted tyrosine hydroxylase immunoreactive neurons. *J Neurosci Methods*. 2007;166(1):13-19.

[23] Frodl EM, Duan WM, Sauer H, et al. Human embryonic dopamine neurons xenografted to the rat: effects of cryopreservation and varying regional source of donor cells on transplant survival, morphology and function. *Brain Res*. 1994;647(2):286-298.

[24] Vinuela A, Hallett PJ, Reske-Nielsen C, et al. Implanted reuptake-deficient or wild-type dopaminergic neurons improve ON L-dopa dyskinesias without OFF-dyskinesias in a rat model of Parkinson's disease. *Brain*. 2008;131(Pt 12):3361-3379.

[25] Collier TJ, Sortwell CE, Daley BF. Diminished viability, growth, and behavioral efficacy of fetal dopamine neuron grafts in aging rats with long-term dopamine depletion: an argument for neurotrophic supplementation. *J Neurosci*. 1999;19(13):5563-5573.

[26] Kupsch A, Oertel WH, Earl CD, et al. Neuronal transplantation and neurotrophic factors in the treatment of Parkinson's disease—update February 1995. *J Neural Transm Suppl*. 1995;46: 193-207.

[27] Bjorklund LM, Sánchez-Pernaute R, Chung S, et al. Embryonic stem cells develop into functional dopaminergic neurons after transplantation in a Parkinson rat model. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(4):2344-2349.

[28] Carvey PM, Ling ZD, Sortwell CE, et al. A clonal line of mesencephalic progenitor cells converted to dopamine neurons by hematopoietic cytokines: a source of cells for transplantation in Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 2001;171(1):98-108.

[29] Redmond DE Jr, Vinuela A, Kordower JH, et al. Influence of cell preparation and target location on the behavioral recovery after striatal transplantation of fetal dopaminergic neurons in a primate model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*. 2008;29(1):103-116.

[30] Hagell P, Brundin P. Cell survival and clinical outcome following intrastriatal transplantation in Parkinson disease. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2001;60(8):741-752.

[31] Hou L, Hong T. Stem cells and neurodegenerative diseases. *Sci China C Life Sci*. 2008; 51(4):287-294.

[32] Newman MB, Bakay RA. Therapeutic potentials of human embryonic stem cells in Parkinson's disease. *Neurotherapeutics*. 2008;5(2):237-251.

[33] Astradsson A, Cooper O, Vinuela A, Isacson O. Recent advances in cell-based therapy for Parkinson disease. *Neurosurg Focus*. 2008;24(3-4):E6.

[34] Li JY, Christophersen NS, Hall V, et al. Critical issues of clinical human embryonic stem cell therapy for brain repair. *Trends Neurosci*. 2008;31(3):146-153.

[35] Trzaska KA, Rameshwar P. Current advances in the treatment of Parkinson's disease with stem cells. *Curr Neurovasc Res*. 2007;4(2):99-109.

[36] Goya RL, Kuan WL, Barker RA. The future of cell therapies in the treatment of Parkinson's disease. *Expert Opin Biol Ther*. 2007; 7(10):1487-1498.

[37] Wu LK, Wang XJ. *Guowai Yixue: Laonian Yixue Fence*. 2008;29(4): 182-183. 吴立克, 王晓娟. 骨髓基质干细胞治疗帕金森病的研究进展[J]. *国外医学:老年医学分册*, 2008, 29(4): 182-183.

[38] Jin GZ, Cho SJ, Choi EG, et al. Rat mesenchymal stem cells increase tyrosine hydroxylase expression and dopamine content in ventral mesencephalic cells in vitro. *Cell Biol Int*. 2008;32(11): 1433-1438.

来自本文课题的更多信息——

文后思索与分析: 实验缺少前瞻性的病例对照, 其治疗效果尚有待进一步的随机对照加以验证。此外, 脐血间充质干细胞移植治疗帕金森病, 所观察到的临床效果值得从分子角度深入思考, 如 α 共核蛋白和 tau 蛋白是神经变性疾病的主要分子基础, 探讨脐血间充质干细胞在 α 共核蛋白和 tau 蛋白中的作用, 将对神经变性疾病的发病机制、诊断及治疗产生积极影响。