

# 脐带间充质干细胞移植对帕金森病的临床疗效观察

赵堂亮<sup>1</sup> 吴正敏<sup>2</sup> 王萍<sup>2</sup> 谭建明<sup>2</sup>

**【摘要】** 目的 探讨脐带间充质干细胞 (UC-MSC) 移植治疗帕金森病(PD) 的临床效果及安全性。方法 选择福州总医院干细胞治疗科收治的 20 例经鞘内注射 UC-MSC 治疗原发性 PD 患者为实验组, 本院神经内科收治的 20 例经口服左旋多巴治疗原发性 PD 患者为对照组。采用 PD 统一评分量表(UPDRS) 对患者治疗前及治疗后 1 个月、3 个月、6 个月进行量化评分。采用两独立样本 *t* 检验进行统计分析比较实验组与对照组差异。结果 实验组 20 例患者临床症状缓解程度较对照组明显, 实验组与对照组治疗前 UPDRS 评分与治疗前 1 个月、3 个月、6 个月的 UPDRS 评分的差值分别为 [ (11.45 ± 2.01) 分, (6.25 ± 1.07) 分,  $t = 26.12, P = 0.00$  ], [ (16.1 ± 2.65) 分, (7.6 ± 1.47) 分,  $t = 23.19, P = 0.00$  ], [ (20.45 ± 3.28) 分, (8.45 ± 1.85) 分,  $t = 20.44, P = 0.00$  ], 差异均有统计学意义。结论 鞘内注射 UC-MSC 治疗 PD 的临床疗效优于单纯口服左旋多巴片治疗 PD。

**【关键词】** 帕金森病; 脐带; 间质干细胞; 干细胞移植

**Efficacy and safety of umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation on the treatment of Parkinson's disease** Zhao Tangliang<sup>1</sup>, Wu Zhengmin<sup>2</sup>, Wang Ping<sup>2</sup>, Tan Jianming<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Department of Urology, Fuzhou general hospital of the Second Military Medical University, Fuzhou, 350025, China; <sup>2</sup>Department of Stem cell therapy, Fuzhou general hospital, Fuzhou, 350025, China

Corresponding author: Tan Jianming, Email: tanjm156@xmu.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To evaluate the efficacy and safety of umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation on the treatment of Parkinson's disease. **Methods** Twenty patients with Parkinson's disease were treated with umbilical cord mesenchymal stem cells through the intrathecal injection; 20 cases with Parkinson's disease treated with levodopa served as control. Patients were evaluated by unified Parkinson disease rating scale at baseline, 1 month, 3 months, and 6 months after the treatment. *t*-test was used to analyze the difference. **Results** The experimental group had have greater improvement than the control group at 1 month, 3 months, 6 months, The difference values(d) of the scores before the treatment and 1 month, 3 months, 6 months after the treatment of experimental group and control group are respectively (11.45 ± 2.01, 6.25 ± 1.07,  $t = 26.12, P = 0.00$ ), (16.1 ± 2.65, 7.6 ± 1.47,  $t = 23.19, P = 0.00$ ), (20.45 ± 3.28, 8.45 ± 1.85,  $t = 20.44, P = 0.00$ ), the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Umbilical cord mesenchymal stem cell through the intrathecal injection was more effective than levodopa in treating Parkinson's disease.

DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2015.04.007

作者单位: 350025 福州, 第二军医大学福州总医院临床医学院泌尿外科<sup>1</sup>; 350025 福州, 南京军区福州总医院干细胞治疗科<sup>2</sup>

通讯作者: 谭建明, Email: tanjm156@xmu.edu.cn

**【Key words】** Parkinson Disease; umbilical cord; mesenchymal stem cell; stem cell transplantation

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 为常见的神经系统变性疾病,主要病理改变为脑黑质多巴胺能神经元的变性死亡,导致纹状体多巴胺含量显著减少而致病<sup>[1]</sup>,临床表现主要包括静止性震颤、运动迟缓、肌强直和姿势步态障碍,同时患者可伴有抑郁、便秘和睡眠障碍等非运动症状,严重影响患者的生命健康及生活质量。传统的药物及手术治疗均无法逆转神经变性,无法增加多巴胺能神经细胞的数目。近年来,随着干细胞技术的发展,脐带间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cell, UC-MSC)的多向分化潜能逐渐应用于PD的临床治疗中。目前国内有报道运用骨髓间充质干细胞、UC-MSC经颈动脉穿刺移植治疗PD,但考虑到血脑屏障可能对治疗效果产生影响,我科开展采用UC-MSC经鞘内注射治疗20例PD患者的研究,观察其临床疗效和安全性。

研究分实验组与对照组,以治疗前以及治疗后1个月、3个月、6个月PD统一评分量表(unified Parkinson disease rating scale, UPDRS)量化评分作为主要指标来评价鞘内注射UC-MSC对PD的临床疗效。

## 资料与方法

### 一、病例选择

实验组入组标准:本院干细胞治疗科收治的20例原发性PD患者,采用鞘内注射UC-MSC治疗PD。对照组入组标准:本院神经内科收治的20例原发性PD患者,采用口服左旋多巴片治疗PD。实验组与对照组中患者均为PD Hoehn-Yahr分级为3-5级者,并排除合并恶性肿瘤,全身感染、局部严重感染、结核感染,心、肺、肝、肾等重要脏器的功能障碍者等,对治疗及试验方案知情同意,并且通过医院伦理委员会批准。

### 二、方法

1. UC-MSC制备:用于治疗PD的UC-MSC均由福建省移植生物重点实验室自行制备。产妇知情同意,通过伦理委员会批准,获取足月妊娠的产妇脐带。分离UC-MSC:分离并去除脐带外膜和血管组织,取脐带基质,将其剪碎,加入质量分

数为0.1%胶原酶消化过夜。离心后,取下层沉淀再用0.25%胰蛋白酶37℃消化1h,过100目筛网,收集含细胞的滤液,离心后计数,接种于低糖DMEM无血清培养基中,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱培养。移植前所用脐带干细胞均经过检测:细胞呈纺锤状,病原学检查阴性(包括细菌和真菌等),具有典型的间充质干细胞的免疫表型,内毒素试验阴性<sup>[2]</sup>。

2. 准备工作:实验组、对照组患者在实验前一直规律服用左旋多巴片治疗PD1年以上,病情稳定。实验组在实验中运用UC-MSC鞘内注射,每周1次,共治疗4次;对照组在实验中继续规律服用左旋多巴片,无其他特殊治疗。实验后随访阶段两组患者均继续规律服用左旋多巴片治疗PD。

3. 实验组患者行UC-MSC鞘内注射:选择第3、4腰椎间隙为穿刺点,行常规消毒铺巾后,用2%利多卡因行局部麻醉,然后用穿刺针垂直穿刺入蛛网膜下腔,注射器回抽见脑脊液,测量颅内压,收集5ml脑脊液行实验室检查,再取准备好的UC-MSC注射液5ml[干细胞数:体重(kg)×10<sup>6</sup>个],于6~8min内缓慢注入蛛网膜下腔,干细胞鞘内注射完毕后,缓慢鞘内注射5mg地塞米松。然后拔出穿刺针,行局部皮肤消毒,无菌敷料敷盖创面,平卧观察10min,患者无任何不适后,去枕平卧6h。在干细胞移植治疗的同时,给予心电监护、扩张血管、营养神经及对症等综合治疗。

### 三、评估标准

实验组和对照组分别于治疗前和治疗后1个月、3个月、6个月,采用统一PD评分量表(UPDRS),主要从精神、行为和情绪,日常生活活动,运动检查,并发症4个方面进行评价。分值越高表示神经功能缺损越严重。

### 四、统计学分析方法

运用SAS统计软件,患者年龄、体重、病史以及两组患者治疗前与治疗1个月、3个月、6个月UPDRS评分计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,并采用两独立样本t检验进行统计分析比较实验组与对照组差异,两组患者男女比例,伴随疾病情况计数资料用 $\chi^2$ 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表1 实验组、对照组患者基本情况

组别	性别		年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$ )	体重 (kg, $\bar{x} \pm s$ )	病史 (年, $\bar{x} \pm s$ )	实验前用药	伴随疾病(例)			
	男/总数	女/总数					原发性 高血压	型 糖尿病	高脂 血症	高尿酸 血症
实验组	12/20	8/20	58.8 ± 7.01	62.15 ± 6.05	5.2 ± 2.65	左旋多巴片 (0.25g, 口服, 3/日)	3	2		1
对照组	10/20	10/20	60.8 ± 6.80	62.55 ± 6.73	5.55 ± 2.78	左旋多巴片 (0.25g, 口服, 3/日)	2	3	1	
统计量	$\chi^2 = 0.10$		$t = -0.92$	$t = -0.20$	$t = -0.41$		$\chi^2 = 2.4$			
P 值	0.75		0.37	0.84	0.69		0.49			

表2 两组患者治疗前后 UPDRS 总分对比(分,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	治疗前	治疗后1个月	治疗后3个月	治疗后6个月
实验组	20	85.45 ± 4.41	74.00 ± 4.32	69.35 ± 3.94	65.00 ± 3.74
对照组	20	86.80 ± 3.76	80.35 ± 3.50	79.00 ± 2.99	78.15 ± 3.91
t 值		-0.89	-5.11	-8.69	-10.87
P 值		0.38	0.00	0.00	0.00

## 结 果

### 一、患者基本情况(表1)

### 二、疗效评估

实验组治疗前 UPDRS 评分为(85.45 ± 4.41)分, 治疗后1个月、3个月、6个月 UPDRS 评分分别为(74.00 ± 4.32)分、(69.35 ± 3.94)分、(65.00 ± 3.74)分; 对照组治疗前 UPDRS 评分为(86.80 ± 3.76)分, 治疗后1个月、3个月、6个月 UPDRS 评分分别为(80.35 ± 3.50)分、(79.00 ± 2.99)分、(78.15 ± 3.91)分, 两组治疗后1个月、3个月、6个月 UPDRS 评分均下降, 但实验组下降程度较对照组明显, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ , 表2); 对实验组及对照组治疗前与治疗后1个月、3个月、6个月 UPDRS 评分差值(d)的差异进行统计分析, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ , 表3)。对精神、行为和情绪方面进行疗效评估, 实验组及对照组经治疗后 UPDRS 评分均下降, 治疗后1个月、3个月、6个月, 对照组 UPDRS 评分均下降程度大于实验组, 但差异无统计学意义( $P > 0.05$ , 表4)。对日常生活活动, 运动检查2个方面进行疗效评估, 经治疗后1个

表3 实验组与对照组治疗前、后 UPDRS 评分差值(d)比较(分,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	d <sub>1</sub>	d <sub>2</sub>	d <sub>3</sub>
实验组	20	11.45 ± 2.01	16.10 ± 2.65	20.45 ± 3.28
对照组	20	6.25 ± 1.07	7.60 ± 1.47	8.45 ± 1.85
t 值		26.12	23.19	20.44
P 值		0.00	0.00	0.00

注: d<sub>1</sub>: 治疗前 UPDRS 评分与治疗后1个月 UPDRS 评分的差值; d<sub>2</sub>: 治疗前 UPDRS 评分与治疗后3个月 UPDRS 评分的差值; d<sub>3</sub>: 治疗前 UPDRS 评分与治疗后6个月 UPDRS 评分的差值

月、3个月、6个月, 实验组及对照组 UPDRS 评分均下降, 实验组的临床疗效明显优于对照组, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ , 表5)。对并发症方面进行疗效评估, 治疗后1个月、3个月, 实验组 UPDRS 评分均下降程度大于对照组, 但差异无统计学意义( $P > 0.05$ , 表6), 在治疗后6个月, 实验组 UPDRS 评分下降程度大于对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ , 表6)。

### 三、安全性分析

经鞘内注射 UC-MSC 后, 患者出现乏力症状4例、低热(体温 37.1℃)1例、头痛1例、腰痛

表4 两组患者治疗前后精神、行为和情绪的 UPDRS 评分对比(分,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	治疗前	治疗后 1 个月	治疗后 3 个月	治疗后 6 个月
实验组	20	7.75 ± 0.97	6.45 ± 1.00	5.90 ± 0.79	4.90 ± 0.64
对照组	20	7.75 ± 0.97	6.00 ± 0.79	5.65 ± 0.75	5.30 ± 0.80
<i>t</i> 值		0	1.58	1.03	-1.74
<i>P</i> 值		1	0.12	0.31	0.09

表5 两组患者治疗前后日常生活活动和运动检查的 UPDRS 评分对比(分,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	日常生活活动				运动检查			
		治疗前	治疗后			治疗前	治疗后		
			1 个月	3 个月	6 个月		1 个月	3 个月	6 个月
实验组	20	27.65 ± 1.50	23.45 ± 1.96	21.40 ± 1.73	20.25 ± 1.37	36.80 ± 2.42	32.60 ± 2.44	30.80 ± 2.44	28.75 ± 2.30
对照组	20	28.20 ± 2.17	26.30 ± 1.63	25.90 ± 1.52	25.50 ± 1.82	37.65 ± 1.95	35.80 ± 1.79	35.25 ± 1.80	35.05 ± 1.96
<i>t</i> 值		-0.93	-5.01	-8.75	-10.30	-1.22	-4.73		
<i>P</i> 值		0.36	0.00	0.00	0.00	0.23	0.00	0.00	0.00

表6 两组患者治疗前后并发症的 UPDRS 评分对比(分,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	治疗前	治疗后 1 个月	治疗后 3 个月	治疗后 6 个月
实验组	20	13.25 ± 2.15	11.50 ± 1.70	11.25 ± 1.52	11.10 ± 1.65
对照组	20	13.00 ± 1.49	12.25 ± 1.37	12.20 ± 1.77	12.30 ± 1.98
<i>t</i> 值		0.43	-1.53	-1.83	-2.08
<i>P</i> 值		0.67	0.13	0.08	0.04

2 例, 给予对症处理后可完全缓解(表 7)。

表7 实验组患者并发症发生情况分析

项目	腰痛	头痛	乏力	发热
发生人数	2	1	4	1
严重程度	轻度	轻度	轻度	低热(体温 37.1℃)
处理	无	口服芬必得	无	物理降温
转归	治愈	治愈	治愈	治愈

## 讨 论

UC-MSC 是指存在于新生儿脐带组织中的一种多功能干细胞, 它能分化成许多种组织细胞, 在一定条件下可诱导分化为破骨样细胞、心肌样细胞和神经元样细胞<sup>[3]</sup>, 并有报道通过全反式维甲酸诱导可使脐血多能干细胞分化成为有功能的多巴胺能神经元, 这种诱导后产生的脐血多能干细胞来源的神经元起表达酪氨酸羟化酶及多巴胺转运体等多巴胺神经元特异性分子标志物, 为干细

胞诱导产生多巴胺能神经元治疗 PD 提供新的途径<sup>[4]</sup>, 具有广阔的临床应用前景。因为 UC-MSC 具备多向分化潜能和自我更新能力, 可在一定的条件下分化为神经细胞, 近些年, UC-MSC 移植作为治疗 PD 的最前沿方法, 其疗效备受瞩目。

UC-MSC 治疗的优势: (1) 伦理问题不突出, 来源广泛, 易采集, 易扩增; (2) 具有更强的增殖能力, 比骨髓间充质干细胞快数倍; (3) 是一种更原始的间充质干细胞群。

经过本实验的研究观察, 可得出结果: 鞘内注射脐带间充质干细胞治疗帕金森病的临床疗效优于单纯口服左旋多巴片治疗帕金森病。在精神、行为和情绪方面治疗后 1 个月、3 个月、6 个月以及并发症发面治疗后 1 个月、3 个月, 两组之间差异无统计学意义, 其原因不明, 需进一步研究其作用机制; 在日常生活活动, 运动检查方面经治疗后 1 个月、3 个月、6 个月以及并发症发面治疗 6 个月后, 实验组临床疗效明显优于对照组, 差异有

统计学意义。其作用机制可能为:(1)自我更新和定向分化为多巴胺能神经元,UC-MSc 移植后能够定向迁移到病变部位,表达替代缺损的神经元或神经胶质细胞,使其发挥正常的细胞功能,从而缓解 PD 的病症;(2)脐血干细胞进入脑部后,可以诱导分化并且替代受损细胞恢复神经系统的功能和传导通路,为脑内营造一个良好的局部微环境<sup>[5]</sup>;(3)分泌多种生物活性因子,具有神经营养、抗细胞凋亡、促进血管再生、免疫调控和抗炎作用等<sup>[6]</sup>;(4)调节细胞代谢,一项最近的研究发现间充质干细胞可调控细胞 ATP、NAD<sup>+</sup>/NADH 比率,降低高浓度谷氨酸对线粒体膜损伤,从而调节细胞能量代谢,减少神经细胞变性<sup>[7]</sup>。

本次研究的不足:(1)样本量小,为了得到更安全可靠临床疗效,还应进行大样本和长期的术后随访;(2)未采取盲法,实验组患者对鞘内注射 UC-MSc 知情同意,易产生偏移。

与传统的治疗方法相比,UC-MSc 治疗 PD 是一种新型且有效的治疗方法,具有广阔的前景,为 PD 的治疗提供了新的希望。

### 参 考 文 献

- 1 邱云,汪铮,路红社. 脐带间充质干细胞移植治疗帕金森病 8 例 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(36):6833-6836.
- 2 王瑾,王庆华,黄梁浒,等. 间充质干细胞治疗重症胰腺炎一例 [J]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2011,1(1):86-88.
- 3 Choong PF, Mok PL, Cheong SK, et al. Generating neuron-like cells from BM-derived mesenchymal stromal cells in vitro[J]. *Cytotherapy*, 2007, 9(2):170-183.
- 4 李晓红. 脐血多能干细胞对帕金森氏病的治疗潜能 [D]. 济南:山东大学,2012.
- 5 Yan M, Sun M, Zhou Y, et al. Conversion of human umbilical cord mesenchymal stem cells in Wharon's jelly to dopamine neurons mediated by the Lmx1a and neurturin in vitro: potential therapeutic application for Parkinson's disease in a rhesus monkey model [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5):e64000.
- 6 陈佳琦,陈慧敏. 间充质干细胞移植治疗帕金森病的作用机制研究进展 [J]. *生物学杂志*, 2015, 32(1):82-85.
- 7 Hao P, Liang Z, Piao H, et al. Conditioned medium of human adipose-derived mesenchymal stem cells mediates protection in neurons following glutamate excitotoxicity by regulating energy metabolism and GAP-43 expression [J]. *Metab Brain Dis*, 2014, 29(1):193-205.

(收稿日期:2015-09-26)

(本文编辑:陈媛媛)

中 华 医 学 会