



嗅鞘细胞移植治疗脊髓损伤临床试验的初步报告

黄红云,王洪美,修波,王锐,卢明,陈琳,亓树彬
陈林,张泽华,武海青,苟成青,程建铎,陆晓白,刘宗惠
(海军总医院神经外科,北京 100037)

摘要:目的 开展嗅鞘细胞移植治疗脊髓损伤的临床试验,探讨其对脊髓损伤晚期患者是否有帮助脊髓神经功能恢复的作用。方法 取胚胎嗅球,消化成单个嗅鞘细胞后,培养 2~3 周,然后将其移植到脊髓损伤部位的上下处。共治疗 23 例伤后时间为 0.5~8.5 年的脊髓损伤患者,其中 19 例为完全性脊髓损害,4 例为不完全性脊髓损害。结果 嗅鞘细胞移植后 2 周~2 个月时随访,23 例患者的脊髓功能均有改善,且呈继续改善趋势。结论 嗅鞘细胞移植能帮助脊髓损伤晚期患者的脊髓神经功能恢复。

关键词: 嗅鞘细胞 移植 治疗 脊髓损伤 临床试验

中图分类号:R651.2 文献标识码:B 文章编号:1009-3427(2002)01-0018-04

Preliminary Report of Clinical Trial for Olfactory Ensheathing Cell Transplantation Treating the Spinal Cord Injury

HUANG Hong-yun, WANG Hong-mei, XIU Bo, et al

(Department of Neurosurgery, Naval General Hospital, Beijing 100037, China)

Abstract Objective To develop clinical trial for olfactory ensheathing cells (OEC) transplantation treating the spinal cord injury, and to explore whether it would help the patients with spinal cord injury in late time to recover their spinal cord function. **Methods** Olfactory bulb was got and trypsinized to be single OECs; which were cultured for 2~3 weeks, then transplanted OECs into the upper and lower sites between injury and normal spinal cord. 23 patients with the spinal cord injury were treated half year to eight and half years after injury. Among them 19 patients expressed complete spinal cord injury and other 4 with incomplete spinal cord injury. **Results** Followed-up between 2 weeks and 2 months after OECs transplantation, all 23 patients recover their spinal cord function. And they present the trend of continuing recovery. **Conclusion** OECs transplantation can help patients with spinal cord injury in late time to recover their spinal cord function.

Key words: Olfactory ensheathing cell; Transplantation; Treat; Spinal cord injury; Clinical trial

既往认为脊髓损伤后,将引起损伤段以下永久性感觉运动和括约肌功能丧失。然而近年来的基础研究发现^[1-13],脊髓损伤后,采用细胞移植、IN-1 抗体注入、神经营养因子注入或移植能分泌神经营养因子的转基因纤维母细胞等方法能改变脊髓损伤局部环境,促使损伤神经再生和恢复脊髓部分神经功能。但在临床工作中,完全性脊髓损伤晚期的神经功能恢复仍处在零点上,尚无有效治疗办法。作者在动物实验研究的基础上^[8],将嗅鞘细胞移植治疗脊髓损伤的方法应用于临床,目前已治疗 19 例临床

表现为完全性脊髓损伤患者和 4 例不完全性脊髓损伤患者。现将初步结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 细胞培养 取四个月以上中期引产胚胎的嗅球,细胞分离后,培养在含有 10% 小牛血清的 D/F 培养液内 3~4 天。然后换 DMEM 纯化嗅鞘细胞培养液内继续培养 2~3 周。消化细胞并制成单细胞悬液,其细胞浓度 1×10^7 ml 左右。

1.2 患者情况 23 例患者,男 16 例,女 7 例,年龄

为 2.5 ~ 55 岁,受伤原因为创伤性脊髓损伤和硬膜外血肿造成的急性压迫性损害;19 例患者临床表现为完全性,4 例为不完全性脊髓损伤;伤后时间为 0.5 ~ 8.5 年。脊髓损伤部位:17 例为颈段,6 例为胸段。其中 21 例患者伤后曾行脊髓减压手术;23 例患者均接受过不同种类的神经营养或神经生长因子治疗。

1.3 手术适应证 脊髓损伤伤后时间超过 0.5 年,脊髓损伤部位没有压迫性病变,脊髓没有横断性解剖断裂。

1.4 外科手术和细胞移植 全麻下行病变节段后方入路,切开硬膜,显露出脊髓。在脊髓损伤部位与正常脊髓上下交界处分两点各注入 0.05 ml 嗅鞘细胞悬液,约 5×10^5 个。术后给予止血、抗感染等处理。

1.5 脊髓神经功能评定 嗅鞘细胞移植后随访时间 2 周 ~ 2 个月。采用美国脊髓损伤学会制定的评分标准^[14],进行术前和术后随访评定对比。

2 典型临床病例介绍

2.1 病例 1 28 岁男性,因颈 5、6 椎体骨折脊髓外伤瘫痪 2 年入院,伤后曾行颅骨牵引和神经生长因子等治疗,症状无明显改善。四肢感觉丧失,双上肢活动差,双下肢无活动,大小便失禁,自觉呼吸困难。入院查体:颈 6 以下感觉丧失,肌张力高,肩肘肌力为 3 级,腕指及双下肢肌力为 0 级,腱反射亢进,病理征阳性。入院后在全麻下行颈 5 脊髓损伤处嗅鞘细胞移植术,术后 1 周左右开始感觉平面下移,运动功能改善。至术后 5 周余出院时,自觉呼吸困难消失,感觉平面降至胸 8 水平,肌张力增高较术前减轻,肩肘肌力为 4 级,腕部肌力为 3 级,右手中指和左手拇指肌力为 4 级,其它各指肌力为 3 级,双下肢肌力为 0 级,右足拇趾肌力为 1 级。

2.2 病例 2 54 岁男性,因颈 3 ~ 4 椎体脱位,脊髓外伤不全瘫痪近 3 年入院,伤后曾行颈前、后入路 2 次脊髓减压手术,并给予神经生长因子和其它神经营养药物等治疗,伤后头 0.5 年症状稍有改善。但四肢痛觉丧失,四肢活动差,小便失禁,有时自觉呼吸困难。入院查体:颈 3 以下痛觉丧失,肌张力高,肩肘肌力为 1 ~ 2 级,腕指及双下肢肌力为 2 ~ 3 级,腱反射亢进,病理征阳性;在别人抱扶下勉强行走。入院后在全麻下行颈 3 脊髓损伤处嗅鞘细胞移植术,术后 1 周左右开始痛觉平面下移,运动功能改善。至术后 3 周余时,自觉呼吸困难消失,四肢痛觉

恢复,肌张力增高较术前减轻,肩肘肌力为 2 ~ 3 级,腕指及双下肢肌力为 3 ~ 4 级;在别人搀扶一侧上肢的情况下,能自己行走。

2.3 病例 3 55 岁女性,因胸 8 椎体骨折脊髓外伤瘫痪近 3 年入院,伤后曾 3 次行胸脊髓减压手术,并给予神经生长因子注射和其它神经营养药物等治疗,伤后胸 10 以下感觉丧失,下肢活动差,小便失禁。入院查体:胸 10 以下感觉丧失,下肢肌张力高,双下肢肌力 0 级,腱反射亢进,病理征阳性。入院后在全麻下行胸 8 脊髓损伤处嗅鞘细胞移植术,术后 1 周左右开始感觉平面下移,运动功能改善。至术后 2 周,感觉平面降至右侧腰 1、左侧腰 5 水平,下肢肌张力增高较术前减轻,双下肢膝关节伸肌肌力为 2 级,其它关节肌力为 1 级。

3 结果

脊髓功能恢复评定:嗅鞘细胞移植术后 7 ~ 10 天,按美国脊髓损伤学会制定的评分标准检查患者,并与术前的检查结果对比,23 例患者损伤的脊髓功能均有改善。在随后 2 周 ~ 2 个月的随访观察中,仍呈继续改善趋势(评分结果见表 1)。

表 1 23 例患者术前术后的脊髓功能平均分

	术 前	术 后	增加值	P
运 动	32.3	39.5	7.2	<0.01
触 觉	42.0	56.3	14.3	<0.01
痛 觉	38.9	53.3	14.4	<0.01

4 讨论

4.1 脊髓损伤研究现状 既往认为中枢神经无再生能力。但近年来的基础研究发现,脊髓损伤后,改变局部环境,损伤的神经轴突可有再生能力并可恢复部分脊髓功能。胚胎脊髓组织移植^[1],周围神经移植^[2],干细胞^[3],雪旺氏细胞^[4],单核吞噬细胞^[5],嗅鞘细胞移植^[6-8],神经营养因子注入或转基因能分泌神经营养因子的纤维母细胞移植^[9,10],髓鞘相关神经生长抑制因子抗体(IN-1)^[11,12]和清除抑制细胞^[13]等方法均具有改变脊髓损伤局部环境并帮助损伤神经轴突再生的作用。其中有些方法尚有帮助脊髓神经功能部分恢复的作用。然而在临床工作中,促使完全性脊髓损伤晚期的神经功能恢复仍处在零点上,尚无有效治疗方法。因此将基础研究成果应用于临床治疗试验已成为这一领域的前沿和未来工作的重点。

4.2 嗅鞘细胞的特性 嗅鞘细胞起源于嗅基底膜,

分布在嗅球、嗅神经并可伴随嗅束迁徙入脑。它不同于星形细胞和雪旺氏细胞,但同时具有这两种细胞的特性,它存在并迁徙于周围神经和中枢神经^[15]。在嗅球内,它是唯一接触和被嗅神经轴突的胶质细胞。在整个中枢神经系统通路中,它包被嗅神经轴突,以防止它们与其它中枢神经系统细胞接触。嗅鞘细胞在其膜上表达出很多与细胞粘附和轴突生长相关的分子,如调控嗅神经轴突延长的 L1、PSA-N-CAM、N-CAM、laminin、fibronectin,促进神经生长因素的分子源自于胶质细胞的 nexin 和 S100。嗅鞘细胞能分泌大量不同种类的神经营养和支持因子,如血小板源生长因子、神经肽 Y、S100、神经生长因子、脑源性神经营养因子、神经营养因子-3 和神经营养因子-4 等^[16]。毫无疑问,嗅鞘细胞的这些特性为损伤神经修复和再生以及功能恢复建立了很好的内环境。

4.3 嗅鞘细胞治疗脊髓损伤的实验基础和作用机理 在皮质脊髓束局部损害^[6]、脊髓横切^[7]和模拟临床的脊髓挫裂伤^[8]等动物模型中,当嗅鞘细胞被移植入成年鼠的脊髓损伤区内,它们能与宿主神经实体组织结合为一体,帮助再生神经轴突穿过抑制屏障如髓鞘和胶质组织并随再生神经轴突迁徙到特殊靶点。在神经脱髓鞘的情况下,嗅鞘细胞能帮助神经髓鞘化和加速神经电生理传导速度^[17]。在上述不同实验模型中,嗅鞘细胞移植均具有帮助受损神经修复如髓鞘化和再生以及脊髓功能恢复的作用。我们在脊髓挫裂伤模型中所得的实验结果显示,嗅鞘细胞在伤后即刻和伤后 2 周移植均能促进神经轴突再生和穿过损伤瘢痕区到达损伤下段,并恢复损伤神经的部分功能。临床工作中,脊髓损伤患者多以挫裂伤为主,我们的动物实验模型与其相吻合,因此我们的实验结果为临床脊髓损伤患者嗅鞘细胞移植后的神经功能恢复,从理论上奠定了基础、提供了依据。结合实验研究我们认为,嗅鞘细胞移植后,脊髓损伤晚期患者神经功能恢复的机理在早期可能以脱髓鞘后髓鞘化等损伤修复作用为主,随后可能兼有损伤修复和神经再生两方面的作用,最后则可能以神经再生的作用为主。

4.4 嗅鞘细胞移植治疗脊髓损伤的临床状况 在本研究中,19 例临床表现为完全性和 4 例不完全性脊髓损伤患者,嗅鞘细胞移植后的初步结果表明,脊髓神经功能均有不同程度的改善,且呈继续改善趋势。本研究中选择病人的标准是:外伤时间超过 0.5 年,脊髓除原发损伤外,没有压迫性因素。这 23

例患者,伤后最短者有 0.5 年,大多数患者为 1.5 年以上,最长者为 8.5 年,因此本研究中嗅鞘细胞移植后受损脊髓功能改善这一结果,可排除脊髓功能自身恢复的可能性。这 23 例患者,其中 21 例曾接受过手术减压和给予神经营养药物等常规性治疗,但都未有明显效果;因此嗅鞘细胞移植后受损脊髓功能改善,也可排除脊髓减压作用的可能性,这一研究结果还表明脊髓挫裂损伤晚期受损脊髓仍有修复、再生和神经功能恢复的能力,这为临床更晚期脊髓损伤患者的神经功能恢复也带来一线希望。

5 结论

本研究中治疗的 23 例患者均显示,嗅鞘细胞移植对脊髓损伤晚期患者的脊髓神经功能恢复有帮助作用,但因本研究病例数尚少,随访期也短,目前还不能断定其大宗病例的疗效和最终的恢复程度,因此还需要进一步观察和研究。但这一研究结果的重要意义是,将可能改变目前脊髓损伤晚期功能恢复临床尚无有效治疗方法的现状。

参考文献:

- [1] Bregman BS, Broude E, McAtee M, *et al.* Transplants and neurotrophic factors prevent atrophy of mature CNS neurons after spinal cord injury [J]. *Exp Neurol*, 1998, 149(1):13-27.
- [2] Cheng H, Cao Y, Olson L. Spinal cord repair in adult paraplegic rats, partial restoration of hind limb function [J]. *Science*, 1996, 273(5274):510-513.
- [3] McDonald JW, Liu ZX, Qu Y, *et al.* Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord [J]. *Nat Med*, 1999, 5(12):1410-1412.
- [4] Xu XM, Guenard V, Kleitman N, *et al.* A combination of BDNF and NT-3 thoracic spinal cord [J]. *Exp Neurol*, 1995, 134(2):261-272.
- [5] Rapalino O, Lazarov Spiegler O, Agranov E, *et al.* Implantation of stimulated homologous macrophages results in partial recovery of paraplegic rats [J]. *Nat Med*, 1998, 4(7):814-821.
- [6] Li Y, Field PM, Raisman G. Repair of adult rat corticospinal tract by transplants of olfactory ensheathing cells [J]. *Science*, 1997, 277(5334):2000-2002.
- [7] Ramon Cueto A, Cordero MI, Santos Benito FF, *et al.* Functional recovery of paraplegic rats and motor axon regeneration in their spinal cords by olfactory ensheathing glia [J]. *Neuron*, 2000, 25(2):425-435.
- [8] 黄红云, 刘凯, 黄文成, 等. 嗅鞘细胞促使脊髓挫裂伤后神经再生和功能恢复的研究 [J]. *海军总医院学报* 2001, 14(2):65-67.

- [9] Bregman BS , McAtee M , Dai HN , *et al.* Neurotrophic factors increase axonal growth after spinal cord injury and transplantation in the adult rat [J]. *Exp Neurol* , 1997 , 148(2) : 475-494.
- [10] McTigue DM , Horner PJ , Stokes BT , *et al.* Neurotrophin-3 and brain-derived neurotrophic factor induce oligodendrocyte proliferation and myelination of regenerating axons in the contused adult rat spinal cord [J]. *J Neurosci* , 1998 , 18(14) : 5354-5365.
- [11] Bregman BS , Kunkel Bagden E , Schnell L , *et al.* Recovery from spinal cord injury mediated by antibodies to neurite growth inhibitors [J]. *Nature* , 1995 , 378(6556) : 498-501.
- [12] Z 'Graggen WJ , Metz GA , Kartje GL , *et al.* Functional recovery and enhanced corticofugal plasticity after unilateral pyramidal tract lesion and blockage of myelin-associated neurite growth inhibitors in adult rats [J]. *J Neurosci* , 1998 , 18(12) : 4744-4757.
- [13] Popovich PG , Guan Z , Wei P , *et al.* Depletion of hematogenous macrophages promotes partial hindlimb recovery and neuroanatomical repair after experimental spinal cord injury [J]. *Exp Neurol* , 1999 , 158(2) : 351-365.
- [14] International standards for neurological and functional classification of spinal cord injury [S]. Revised , 1992. American spinal cord injury association , International medical society of paraplegia-ASIA/IMSOP , 1992.
- [15] Ramon Cueto A , Valverde F. Olfactory bulb ensheathing glia : a unique cell type with axonal growth-promoting properties [J]. *Glia* , 1995 , 14(3) : 163-173.
- [16] Ramon Cueto A , Avila J. Olfactory ensheathing glia : properties and function [J]. *Brain Res Bull* , 1998 , 46(3) : 175-187.
- [17] Imaizumi T , Lankford KL , Waxman SG , *et al.* Transplanted olfactory ensheathing cells remyelinate and enhance axonal conduction in the demyelinated dorsal columns of the rat spinal cord [J]. *J Neurosci* , 1998 , 18(16) : 6176-6185.

关节镜下诊断与治疗滑膜软骨瘤病

孙笑非 阮狄克 邱 强 王亦舟
(海军总医院骨科 北京 100037)

摘要 :1996~2000 年对 24 例 26 个关节(膝、肘、踝关节)的滑膜软骨瘤病人施行了关节镜下手术,22 例 24 个关节获得平均 24.5 个月随访,效果满意。所有病人都施行了镜下软骨瘤摘除术和病变滑膜切除术,仅有两个病人遗漏了 2 个游离体,无其它并发症。关节镜下游离体摘除和滑膜切除术是治疗滑膜软骨瘤病的良好方法。

关键词 滑膜软骨瘤病;关节;关节镜术

中图分类号 :R684 ;R738.5

文献标识码 :B

文章编号 :1009-3427(2002)01-0021-03

Diagnosis and Treatment of the Arthroscopy with Synovial Chondromatosis of the Joints

SUN Xiao-fei , RUAN Di-ke , QIU Qiang , *et al*

(Department of Orthopaedic Surgery , Naval General Hospital , Beijing 100037 , China)

Abstract : Between 1996 and 2000 , arthroscopy was performed in 24 patients (26 joints) with synovial chondromatosis of the knee , elbow , ankle ; 22 of these patients (24 joints) were followed an average of 24.5 months . A good result was obtained in these cases . Removal of loose bodies and synovectomy were carried out in all joints . No arthroscopic operation was performed secondarily . Only two patients omitted two loose bodies . The essential prognostic factor for a good functional result is the condition of the femorotibial cartilage . The present results showed that arthroscopic removal of cartilaginous bodies with synovectomy is a good choice for synovial chondromatosis of the joints .

Key words : Synovial chondromatosis ; Joint ; Arthroscopy

滑膜软骨瘤病为滑膜较少见的增殖性病变,在 关节镜下进行诊治国外报道不多,国内报道更少^[1]。