

间充质干细胞移植治疗膝关节骨关节炎临床观察

甘凤英, 唐琛, 郭迪斌, 肖丽霞 (赣南医学院第一附属医院风湿免疫科, 江西 赣州 341000)

摘要: 观察脐带血来源的间充质干细胞移植治疗膝关节骨关节炎临床疗效。对 12 例符合要求的膝关节骨关节炎患者随机分为治疗组和对照组各 6 例。治疗组进行脐带血来源的间充质干细胞移植治疗, 对照组关节腔注射玻璃酸钠。比较治疗前及治疗 3、12 个月后膝关节的西安大略大学和麦克马斯特大学骨关节炎指数(WOMAC)总评分及膝关节的 Lequesne 指数评分。治疗 3 个月后治疗组及对照组的 WOMAC 总评分均较用药前有显著改善($P<0.05$), 但两组间比较差异不显著($P>0.05$)。治疗 12 个月后治疗组 WOMAC 总评分均较用药前有显著改善($P<0.05$), 对照组无明显变化($P>0.05$)。治疗 3 个月后, 两组 Lequesne 指数差异有统计学意义($P<0.05$), 都较前减小。治疗 12 个月后, 治疗组 Lequesne 指数较治疗前明显下降($P<0.05$), 但对对照组 Lequesne 指数无改善, 差异不显著($P>0.05$)。脐带血来源的间充质干细胞移植治疗膝关节骨关节炎可明显改善膝关节疼痛及功能, 可能成为膝关节骨关节炎治疗的新方法。

关键词: 干细胞; 脐带血来源的间充质干细胞; 骨关节炎; 膝关节

中图分类号: R87

文献标识码: B

文章编号: 1001-8174(2014)15-3512-01

膝关节骨关节炎(KOA)是临床上一种常见的慢性骨关节疾病, 具有膝关节软骨变性、破坏及骨质增生等特点, 有一定的致残性。目前该病的发生与衰老、炎症、关节过度使用及遗传等因素相关。治疗上早期一般以抗炎镇痛等对症处理为主, 晚期则行手术治疗缓解症状, 目前尚无特效疗法及根治方法, 故寻求新的治疗方法十分迫切。随着干细胞治疗在各个领域的日渐成熟及其显著的治疗效果, 已有部分学者开展干细胞移植治疗骨关节炎的动物实验研究, 且大多数实验表明干细胞移植治疗骨关节炎有效^[1]。目前越来越多的临床研究关注干细胞移植治疗骨关节炎, 也取得了一定的成绩。本研究采用脐带血来源的间充质干细胞(BMSC)移植治疗 KOA, 疗效比较满意, 报道如下。

1 对象与方法

1.1 对象 2011 年 9 月~2013 年 3 月我科住院的膝关节骨关节炎患者 12 例, 随机分为治疗组和对照组各 6 例。治疗组男 1 例, 女 5 例, 年龄(56.27±7.52)岁, 病程(6.21±2.34)年; 对照组男 2 例, 女 4 例, 年龄(55.96±6.93)岁, 病程(5.97±2.65)年, 两组在性别构成、年龄及病程等方面无显著学差异。纳入标准: 所有患者均符合美国风湿病协会 1995 年修订的膝关节骨关节炎分类标准中的《临床+放射学+实验室标准》。

1.2 方法

1.2.1 血小板裂解液的制备 取患者静脉血 400ml 后交由本院的实验科离心获取血小板裂解液, -80℃低温保存备用。

1.2.2 脐带血间充质干细胞分离及培养 研究所用的脐带血为足月产妇产后足月剖宫产婴儿及足月分娩儿, 每次采集脐带血 50~100ml。经密度梯度离心法联合差异贴壁法分离有核细胞, 在本院的细胞培养室进行 MSCs 培养, 干细胞表型鉴定为 CD29、CD44、CD73、CD90、CD105 等阳性, 且其阳性率不低于 95%, 而 CD34、CD45 等造血干细胞标志均为阴性, 经传代扩增后, 取第 3 代细胞分装超低温冻存备用。

1.2.3 治疗方法 治疗组脐带血间充质干细胞移植治疗, 对照组进行玻璃酸钠 25mg 膝关节腔注射治疗 5 次, 1 次/w。

1.2.4 脐带血间充质干细胞移植 移植前 1 周关节腔注射 4ml 解冻后激活的血小板裂解液, 移植前选择存活率不低于 90%, 且无 EBV、HBV、HCV、HIV 污染的细胞进行复苏且临用前行胰蛋白酶收集、激活的血小板裂解液重悬处理后混匀分装。常规消毒、铺洞巾, 持 5ml 无菌注射器进入关节腔后抽出适量关节液, 保留针头, 拔出针筒, 连接上装有混匀 MSCs 的针筒, 缓慢注入 3ml, 术毕无菌纱布压迫覆盖针眼, 仰卧 20min, 期间间断屈伸膝关节数十次。MSCs 移植 1w 后再次注射 4ml 解冻后激活的血小板裂解液。

1.3 疗效评定 (1)WOMAC 总评分: 治疗前后均在医生指导下完成 10mm 的 VAS 24 项 WOMAC 量表评分, 但不得替代患者做评分, 详细记录各项分数。(2)膝关节 lequesne 指数评分: 治疗前后分别进行膝关节 Lequesne 指数评分, 用于膝关节骨关节炎的严重程度、疾病活动及膝关节功能的判断。

1.4 统计学方法 运用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析。对不符合正态分布数据资料的两组间膝关节 WOMAC 总评分的比较采用 Wilcoxon 秩和检验, 符合正态分布数据资料的两组间膝关节 Lequesne 指数的比较采用两独立样本 t 检验。组内膝关节 Lequesne 指数治疗前后行配对 t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ (双侧)

2 结果

2.1 WOMAC 总评分 治疗 3 个月后治疗组及对照组的 WOMAC 总评分均较用药前有显著改善($P<0.05$), 但两组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗 12 个月后治疗组 WOMAC 总评分较前明显下降, 但对对照组无变化。见表 1。

表 1 两组膝关节 WOMAC 总评分比较

	治疗组	对照组	u	P
治疗前	674±54	601±56	0.708	>0.05
治疗 3 个月后	264±26*	242±28*		
治疗 12 个月后	212±18*	182±22		

注: 与治疗前比较, *: $P<0.05$

2.2 膝关节 Lequesne 指数评分 治疗前, 两组 Lequesne 指数比较, 差异无统计学意义。治疗 3 个月, 两组 Lequesne 指数差异两组均有统计学意义, 都较前减小, 且治疗组减小更明显; 治疗 2 个月后, 只有治疗组 Lequesne 指数较治疗前下降, 对照组无变化。见表 2、3。

表 2 两组膝关节 Lequesne 指数评分比较

	治疗组	对照组	t	P
治疗前	17.67±1.49	18.19±1.56	0.321	0.534
治疗 3 个月后	9.24±1.32	12.38±1.42	24.774	0.035
治疗 12 个月后	4.13±1.01	17.93±1.27	27.342	0.000

表 3 两组膝关节 Lequesne 指数评分治疗前后比较

		差值	t 值	P 值
治疗组	d1	9.12±0.86	5.973	0.000*
	d2	13.88±1.02	4.774	0.000*
对照组	d1	6.43±0.79	6.768	0.023*
	d2	1.18±0.82	10.235	0.092

注: d1=3 个月-治疗前, d2=12 个月-治疗前

3 讨论

骨关节炎是一种常见的慢性退行性疾病, 主要的病理改变为关节软骨退行性改变和关节边缘、软骨下骨质反应性增生。目前的主要治疗以对乙酰氨基酚、NSAIDs 类药物、润滑剂及类固醇激素关节腔注射、软骨保护剂为主, 但这些治疗方法的疗效有限, 且不能阻止疾病的进展。

既往研究发现软骨退化是骨关节炎发病中的重要原因, 随着年龄的增长软骨退化有增加的趋势, 这与软骨细胞自身功能的退化息息相关。研究显示, BMSCs 也具有强大的抗炎作用和免疫调节作用, 能通过多种因子的分泌和细胞间相互作用来调节关节局部微环境和激活内源性祖细胞, 而起到发挥修复受损组织的作用, 这使 BMSCs 有可能成为治疗骨性关节炎理想的种子细胞。骨髓间充质干细胞是发现最早的间充质干细胞, 在骨组织工程中已有广泛的应用^[2]。它是具有多种能力的基质细胞, 可向脂肪细胞、软骨细胞、骨细胞等分化的能力, 且容易体外扩增。在培养液中加入不同的诱导剂可

诱导其向特定的间质细胞分化, 如软骨细胞, 且其向软骨分化能力的较强^[3,4]。在骨关节炎的周围组织中发现增多的 MSC 可能使软骨细胞再生。

本研究发现, 经自体 MSCs 移植治疗 3、12 个月后其膝关节 WOMAC 总评分及膝关节 Lequesne 指数评分均较前下降明显, 而玻璃酸钠注射组只有在治疗 3 个月有效, 治疗 12 个月无明显变化。自体 MSCs 移植治疗无论在治疗的早期还是晚期其临床症状均有改善, 而玻璃酸钠注射治疗只在早期起效, 长期治疗效果不显著, 故自体 MSCs 移植治疗不失作为常规治疗无效的骨关节炎患者治疗的新的选择。但也有研究发现, 滑膜间充质干细胞的软骨形成能力可能优于骨髓间充质干细胞, 有望成为骨组织工程理想的种子细胞来源, 在骨组织的再生修复中发挥重要作用^[5]。但也有研究已经发现 BMSCs 不仅可以逃避免疫系统的检测和消除, 而且可以通过对大多数主要免疫细胞的调节来实现强大的免疫抑制和抗炎功能^[6,7]。本研究由于条件所限, 科室合作跨度大, 样本量较少, 且观察的时间也比较短, 长期疗效及稳定性尚不知结合间充质干细胞治疗问题的复杂性, 故需要进一步的研究证实。

参考文献:

- [1] 许健炜, 申长清, 赵芳芳, 等. 骨髓间充质干细胞对大鼠佐剂性关节炎防治的实验研究[J]. 重庆医学, 2013, 42(29): 3472-3475.
- [2] 林昭伟, 李奇. 骨髓间充质干细胞在骨缺损修复中的应用[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(19): 9271-9275.
- [3] 刘时璋, 凌鸣, 易智. 间充质干细胞在兔骨关节炎关节腔内移植的研究[J]. 陕西医学杂志, 2013, 21(11): 1450-1452.
- [4] 丁志, 杨松林. 间充质干细胞生物学特性及其分化潜能[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(1): 147-150.
- [5] 张帆, 王友. 骨关节炎患者骨髓干细胞特征及治疗进展[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(19): 3606-3610.
- [6] 芮云峰, 林禹丞, 陈辉, 等. 晚期骨关节炎患者膝关节滑膜间充质干细胞的体外成骨分化[J]. 中国组织工程研究, 2013, 24(45): 7840-7846.
- [7] 邹剑, 黄相杰. 膝关节骨性关节炎非手术治疗研究进展[J]. 中国民族民间医药, 2011, 20(2): 11-13.

收稿日期: 2014-05-21

经验不同根管填充糊剂输送方式治疗有瘻型慢性根尖周炎效果比较

盛小卫 (靖江市人民医院口腔科, 江苏 靖江 214500)

摘要: 收治有瘻型慢性根尖周炎患者 146 例 150 颗牙, 均给予氢氧化钙碘仿糊剂行根管消毒, 以随机数字表法分为 A 组 (72 例 75 颗牙) 和 B 组 (74 例 75 颗牙), 分别采用加压注射器和螺旋输送器输送进入根管; 比较两组封药后 2w 总有效率和根管填充成功率等。A 组和 B 组封药后 2w 总有效率分别为 96.00%, 81.33%; B 组总有效率显著优于 A 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); A 组和 B 组根管填充成功率分别为 93.33%, 80.00%; B 组根管填充成功率显著优于 A 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。氢氧化钙碘仿糊剂用于有瘻型慢性根尖周可显著缓解疼痛, 消除瘻管, 提高生活