

间接血运重建联合自体骨髓干细胞动员及辛伐他汀治疗烟雾病

姜金豆 步星耀 程培训 周长江 张圣旭 刘 猛 李志营

摘 要 **目的** 探讨间接血运重建联合自体骨髓干细胞动员及辛伐他汀治疗烟雾病的临床疗效。**方法** 选取 59 例烟雾病患者,根据患者治疗选择分为:A 组,间接血运重建治疗对照组 27 例;B 组,间接血运重建联合自体骨髓干细胞动员及辛伐他汀治疗组 32 例。测定各组外周血 CD133⁺CD34⁺细胞数,并行日常生活能力评定(Barthel index)、中国卒中量表(CSS)评定、神经功能缺损评分(NIHSS 评分)等对比分析。**结果** 治疗后各时间点两组患者神经功能均有提高,B 组分别显著高于 A 组($P < 0.05$)。B 组外周血 CD133⁺CD34⁺细胞数显著高于 A 组($P < 0.05$)。整个研究过程中,所有患者均未出现明显不良反应。**结论** 间接血运重建联合自体骨髓干细胞动员及辛伐他汀治疗烟雾病,可促进神经功能的恢复,提高患者生活能力和质量,是烟雾病治疗的安全有效方法,值得临床推广。

关键词 骨髓干细胞 动员 辛伐他汀 SCI

Indirect Revascularization Combined with Bone Marrow Stem Cell Mobilization and Simvastatin for the Treatment of Moyamoya Disease.

Jiang Jindou, Bu Xingyao, Cheng Peixun, Zhou Changjiang, Zhang Shengxu, Liu Meng, Li Zhiying, Department of Neurosurgery, Henan Provincial People's Hospital, Henan 450052, China

Abstract Objective To assess the safety and efficacy of combination therapy of autologous bone marrow stem cells (BMSCs) and simvastatin for moyamoya disease. **Methods** 59 patients with moyamoya disease were enrolled and analyzed retrospectively. They were assigned into 2 groups according to the treatment: A group (indirect revascularization treatment as control), B group (BMSCs mobilization + simvastatin + indirect revascularization treatment). The patients underwent preoperative and follow-up neurological assessment using the Barthel Index (BI), the Chinese stroke volume table (CSS) and neurological impairment (NIHSS score). Peripheral blood CD133⁺CD34⁺ cells were analyzed with flow cytometer. **Results** All of the 59 patients were smoothly discharged. Compared with group A, significant functional improvement was seen (the CSS, Barthel index and NIHSS score) in group B. The CD133⁺CD34⁺ cells in group B were significantly higher compared with group A. No patients experienced serious complications during the treatment. **Conclusion** Indirect revascularization combined with bone marrow stem cell mobilization and simvastatin could enhance functional recovery in moyamoya patients which is an effective and safe strategy, and is worthy to apply in clinic.

Key words Bone marrow stem cells; Mobilization; Transplantation; Spinal cord injury; Simvastatin

烟雾病(MMD)即脑底异常血管网病,是一少见的原因不明的闭塞性脑血管病,病程多为进展性,致死致残率高,缺乏特异的内科治疗手段,其外科血管重建手术治疗近年来取得了实质性进展。研究发现,骨髓干细胞(BMSCs)具有多胚层方向分化潜能,在特定微环境下可分化为神经元细胞,神经胶质细胞,血管内皮细胞等,恢复和保护受损神经,加速受损功能重建;他汀类药物能动员骨髓内皮干细胞,促进神经损伤的修复^[1,2]。应用自体 BMSCs 动员治疗缺血性

脑血管病也已取得一定的进步^[2~4]。本研究应用间接血运重建联合自体干细胞动员及辛伐他汀治疗慢性缺血性脑血管病,评估其临床治疗安全性和疗效。

资料与方法

1. 临床资料:选取 2003~2009 年河南省人民医院神经外科收治的有完整资料的烟雾病患者 59 例,男性 23 例,女性 36 例;年龄 7~49 岁,平均 36.2 岁。纳入标准:①患者有局限性或弥漫性神经损害症状及影像学证据资料,临床诊断烟雾病明确;②无恶性肿瘤、心肌梗死等严重并发症;③患者及其家属知情,同意本治疗方案并签字。实验设计、干预实验及评估均为本文作者,全部经过正规培训,未使用盲法评估。治疗后每 3 个月随访 1 次,平均随访 12.7 个月。

2. 治疗方法:依治疗方案不同将 59 例烟雾病患者分为两组:A 组,间接血运重建治疗对照组 27 例,即在常规药物治疗

基金项目:河南省科技攻关重点项目(0424410054)

作者单位:450003 郑州,河南省人民医院神经外科

通讯作者:步星耀,电子信箱:Buxingyao 126.com

基础上,给予硬脑膜翻转脑-颞肌-颞浅动脉贴敷手术治疗。B 组,间接血运重建联合自体骨髓干细胞动员及辛伐他汀治疗 32 例,即在 A 组治疗基础上,手术后 1 周开始应用重组人粒细胞集落刺激因子(rhG-CSF)和重组人粒-巨噬细胞集落刺激因子(rhGM-CSF)(厦门特宝生物工程股份有限公司),2.5μg/kg 皮下注射,1 次/3 天,两种交替,连续 21 天。每次应用动员剂前常规复查血常规和凝血功能,若白细胞数升高 $<20\times 10^9/L$,继续使用;若白细胞数 $\geq 20\times 10^9/L$,暂停注射,隔日复查后根据情况应用,治疗一个疗程后复查肝肾功能。同时行辛伐他汀 10mg/d 口服,自术后 3 天开始实施,治疗期间每周检测肝功能。

3. 疗效评定指标:以基本日常生活活动能力(Barthel 指数)评估患者日常活动能力恢复情况,行中国卒中量表(CSS)评定,神经功能缺损评分(NIHSS 评分,评估患者神经功能缺损程度。采用流式细胞仪测定 CD133⁺CD34⁺细胞,即造血祖细胞(EPCs),通过检测其在外周血单个核细胞(MNCs)中的比例来判断动员的 BMSCs 数量多少及其分化情况。密切观察治疗中出现的不良反应。

4. 统计学方法:统计学处理由第一和第三作者完成。SPAA 12.0 统计软件包。应用 SPSS 17.0 进行统计分析,结果中计量资料采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间均数比较采用单因素方差分析 *F* 检验,取 $\alpha=0.05$ 作为检验水准,以 $P<0.05$ 表示有统计学意义。

结 果

1. Barthel 指数:各组患者治疗前 Barthel 指数无统计学差异($P>0.05$)。治疗后 1 个月、3 个月、6 个月时 A、B 组 Barthel 指数均呈递增趋势;在同一时间点,A、B 组 Barthel 指数依次升高差异显著($P<0.05$)(表 1)。

表 1 各组不同时间点 Barthel 指数($\bar{x}\pm s$)

组别	治疗前	治疗后 1 个月	治疗后 3 个月	治疗后 6 个月
A	31.74±13.39	39.29±11.37	64.17±11.56	66.17±12.48
B	31.93±13.21	41.95±11.37	72.17±14.27	74.97±9.71

2. 神经功能缺损评分(NIHSS 评分):两组患者治疗前 NIHSS 评分差异不具有统计学意义($P>0.05$)。治疗后 6 个月、12 个月 A、B 组 NIHSS 评分均呈递减趋势($P<0.05$);A、B 两组相比,在术后 6 个月及术后 12 个月时统计学差异显著($P<0.05$)(表 2)。

表 2 各组不同时间点 NIHSS 评分($\bar{x}\pm s$)

组别	治疗前	治疗后 6 个月	治疗后 1 年
A	20.16±2.71	12.37±2.74 ^{*△}	9.38±2.73 ^{*△}
B	19.91±3.24	9.80±1.87 ^{*△}	7.71±2.19 ^{*△}

与同组治疗前比较,^{*} $P<0.05$;与对照组比较,[△] $P<0.05$

3. 评定:两组患者治疗后 1 个月 CSS 评分均有所下降,B 组下降较 A 组明显,但无统计学意义($t=0.424,P>0.05$);治疗后 3 个月,间接血运重建联合自体骨髓干细胞动员及辛伐他汀治疗组 CSS 评分显著下降,与 A 组比较统计学差异显著($t=2.029,P<0.05$)(表 3)。

表 3 缺血性脑血管病患者治疗前后 CSS 评分($\bar{x}\pm s$)

组别	治疗前	治疗后 1 个月	治疗后 3 个月
A	26.21±0.29	21.24±0.33 ^{*△}	16.34±0.31 ^{*△}
B	25.93±0.12	19.42±0.59 ^{*△}	14.97±0.34 ^{*△}

与同组治疗前比较,^{*} $P<0.05$;与对照组比较,[△] $P<0.05$

4. CD34⁺CD133⁺细胞计数:两组患者术前外周血 CD34⁺CD133⁺细胞在 MNCs 中的比例无统计学差异($P>0.05$),术后 3 周时,A、B 组分别显著高于术前($P<0.05$),A、B 两组相比,B 组显著高于 A 组($P<0.05$)(表 4)。

表 4 各组治疗前后 CD133⁺CD34⁺细胞计数(% MNC)

组别	治疗前	术后 3 周
A	0.13±0.04	1.79±0.19 ^{*△}
B	0.12±0.10	3.14±0.22 ^{*△}

与同组治疗前比较,^{*} $P<0.05$;与对照组比较,[△] $P<0.05$

5. 临床不良反应:整个研究过程中,所有患者均未出现明显不良反应;B 组患者中有 3 例出现凝血功能轻度异常,2 例发热, $T<39^{\circ}C$,1 例四肢肌肉关节酸痛,均在停用 rhG-CSF/ rhGM-CSF 后 3 天内恢复正常。所有病例随访观察期间无特殊异常情况发生,无肢体感觉及运动功能恶化,无呼吸功能异常,无新发脑出血及脑梗死,无精神状态异常。

讨 论

脑缺血的主要特征是病变血管支配区局灶性神经功能缺失,严重影响患者的生活质量。血管生成和神经发生是脑缺血后脑内两个主要的病理生理过程,两者在促进脑缺血损伤后的功能恢复方面都有重要作用。目前临床普遍采用将带血管蒂颞肌肌瓣直接贴敷在缺血缺氧脑组织表面,可降低致残率,效果显著。其机制可能在于带血管蒂颞肌肌瓣血供丰富,沟通颅内外血管,间接血管重建,为脑组织提供一定的血液来源,并促进脑组织侧支循环的建立,早期恢复脑血流供应,从而达到防止或减轻术后脑梗死的目的。另外带血管蒂颞肌肌瓣与硬膜相连,可增大硬膜供血,

使硬膜与脑血管间的连通供血量增加,且手术不用吻合血管,操作简单易行,风险小,并保存原有的侧支循环。本研究显示 27 例患者治疗后 1 个月 BI 和 NIH-HH, CSS 评分即有改善;治疗后 3 个月 BI 和 NIH-HH, CSS 评分均优于治疗前和同期的保守治疗对照组,日常生活活动能力明显改善。本研究结果表明间接血运重建手术可改善脑缺血区的血运,减少缺血灶区的脑损伤,促进脑功能的恢复。

研究表明,脑具有自我修复功能,成年脑内脑室下层(SVZ)和海马齿状回颗粒下层(SGZ)等区域存在具有自我更新和多种分化潜能的神干细胞,脑缺血可诱导内源性干细胞的增殖、分化,但因数量少,由此而诱导的自身修复能力有限^[5]。BMSCs 是一复杂的细胞群,包含造血干细胞、间充质干细胞、血管内皮祖细胞、巨噬细胞、淋巴细胞等。研究发现, BMSCs 具有神经保护和促进神经再生的功效^[6]。GM-CSF 和 G-CSF 是骨髓干细胞强有力的动员剂,可以大大提高外周血干细胞数量,且可向脑缺血部位迁移,在脑缺血的特定病理环境中向神经细胞分化,在脑缺血组织中抗细胞凋亡、促进血管生成和神经发生等多种机制修复损伤脑组织, GM-CSF 治疗能促使远端的软脑膜动脉侧支生长并减少大脑中动脉闭塞所致脑梗死面积从而起到神经保护作用^[7,8]。颞肌贴敷术联合自体骨髓干细胞动员治疗脑缺血的研究表明,颞肌贴敷术和自体骨髓干细胞动员两者有协同作用,通过抗细胞凋亡、促进血管重建和再生以及神经再生修复机制,发挥对缺血性脑血管病的治疗作用^[3]。Kim HS 等^[9]在脑-肌血管连通术治疗脑缺血的实验研究中,将骨髓间充质干细胞(BMSCs)移植于颞肌,发现 BMSCs 可加速脑-肌血管连通的血管生成。进一步的临床研究证实,外科手术联合自体骨髓干细胞动员治疗急性大面积脑梗死安全有效,简单易行,可显著改善患者神经功能和预后^[10]。

他汀类药物为羟甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶抑制剂,具有调节血脂,延缓动脉粥样硬化作用,还能够抑制血管内皮炎症反应,有抗血栓,稳定内皮细胞,免疫调节等作用。近年研究发现,辛伐他汀亦能动员骨髓内皮干细胞,诱导内源性细胞增殖,增强神经细胞的可塑性,促进血管生成,增加局部组织供血, BMSCs 和他汀类药物的联合应用可协同促神经损伤的修复及神经功能恢复^[2]。临床应用显微手术联合自体骨髓干细胞动员及辛伐他汀治疗高血压脑出血的结果表明,显微外科手术联合自体骨髓

干细胞动员及辛伐他汀治疗高血压脑出血安全显著^[11]。本研究将间接血运重建联合自体干细胞动员及辛伐他汀用于治疗脑缺血,结果显示,间接血运重建联合自体 BMSCs 及辛伐他汀治疗组患者神经功能改善显著优于单独间接血运重建治疗组,外周血 CD133⁺CD34⁺细胞数亦显著提高,而且整个研究过程中,所有患者均未出现明显不良反应。表明间接血运重建联合自体 BMSCs 动员及辛伐他汀治疗缺血性脑血管病,可以促进神经功能的恢复,减小缺血性脑血管病致残率,提高患者生活能力和质量,是治疗缺血性脑血管病安全有效方法,值得临床推广。

参考文献

- 1 步星耀,张峰,张圣旭,等. 缺血性脑损伤的骨髓间质干细胞移植治疗研究. 河南医学研究, 2007,16(4):302-306
- 2 Mahmood A, Goussev A, Lu D, *et al.* Long - Lasting Benefits after Treatment of Traumatic Brain Injury (TBI) in Rats with Combination Therapy of Marrow Stromal Cells (MSCs) and Simvastatin. J Neurotrauma, 2008, 25(12):1441-1447
- 3 张圣旭,步星耀,刘猛,等. 颞肌贴附联合自体骨髓干细胞移植治疗大鼠脑缺血[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版 2009,3(5):771-775
- 4 Alexandrov G, Krouglyakov P, Fedotova O, *et al.* Mesenchymal stem cells transplantation could be beneficial for treatment of experimental ischemic stroke in rats. Brain Res, 2008, (3):203-213
- 5 Yata K, Matchett GA, Tsukubawa T, *et al.* Granulocyte - colony stimulating factor inhibits apoptotic neuron loss after neonatal hypoxia - ischemia in rats. Brain Res, 2007, 5(11):1145:227-238
- 6 Hess D C, Hill W D, Martin - Studdard A, *et al.* Bone Marrow as a Source of Endothelial Cells and NeuN - Expressing Cells After Stroke. Stroke, 2002, 33(5):1362-1368
- 7 Todo K, Kitagawa K, Sasaki T, *et al.* Granulocyte - macrophage colony - stimulating factor enhances leptomeningeal collateral growth induced by common carotid artery occlusion. Stroke, 2008, 39(6):1875-1882
- 8 Sehara Y, Hayashi T, Deguchi K, *et al.* Potentiation of neurogenesis and angiogenesis by G - CSF after focal cerebral ischemia in rats. Brain Res, 2007, 1151:142-149
- 9 Kim HS, Lee HJ, Yeu IS, *et al.* The neovascularization effect of bone marrow stromal cells in temporal muscle after encephalomyosynangiosis in chronic cerebral ischemic rats. J Korean Neurosurg Soc, 2008, 44(4):249-255
- 10 张圣旭,步星耀,刘猛,等. 外科手术联合自体骨髓干细胞动员治疗急性大面积脑梗死疗效观察 中国误诊学杂志, 2009, 9(33):8065-8067
- 11 步星耀,程培训,姜金豆,等. 显微手术联合自体骨髓干细胞动员及辛伐他汀治疗高血压脑出血. 中华实用诊断与治疗杂志, 2010, 24(12):1175-1178

(收稿:2010-12-20)