

# 脐血单个核细胞移植对帕金森病的临床疗效研究

王未飞 于海燕 袁晓玲 赵敏 王敏 芦倩 王甜 宫殿荣

**【摘要】** 目的 观察经寰枕间隙侧方穿刺术移植人脐血单个核细胞(hUCB-MNCs)治疗帕金森病(PD)的临床疗效。方法 选取聊城市人民医院神经内科经寰枕间隙侧方穿刺术移植hUCB-MNCs治疗的31例PD患者,于治疗前及治疗后1、3、6、12个月,采用统一帕金森评估量表(UPDRS)第II部分、第III部分和帕金森非运动症状评价量表(NMSS)、匹兹堡睡眠质量指数量表(PSOI)对患者进行评分,并记录左旋多巴等效剂量(LED)。采用重复测量资料方差分析对治疗前后多个时间点的评分及左旋多巴等效剂量进行比较,两两比较采用Bonferroni检验。结果 (1)与治疗前比较,治疗后3、6、12个月UPDRS II评分[(17.75±6.81)分比(13.67±5.62)分、(12.54±4.39)分、(10.41±4.31)分]均降低;治疗后3、6、12个月UPDRS III评分[(28.53±14.75)分比(21.65±10.11)分、(19.37±9.26)分、(16.12±7.44)分]亦均降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。(2)与治疗前比较,治疗后1、3、6、12个月NMSS评分[(58.94±35.74)分比(50.27±31.06)分、(41.38±28.25)分、(38.42±25.73)分、(36.15±24.56)分]均降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。PSOI评分亦有相同变化趋势。(3)与治疗前比较,治疗后6、12个月LED[(629.57±205.33)mg/d比(435.54±160.62)mg/d、(300.71±135.83)mg/d]下降,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 经寰枕间隙侧方穿刺术移植hUCB-MNCs治疗能改善PD患者的运动及非运动症状,延缓病情的进展。

**【关键词】** 寰枕间隙侧方穿刺术; 脐血单个核细胞; 帕金森病

## Clinical effects of umbilical cord blood mononuclear cell transplantation on Parkinson's disease

Wang Weifei, Yu Haiyan, Yuan Xiaoling, Zhao Min, Wang Min, Lu Qian, Wang Tian, Gong Dianrong.

Department of Neurology, Liaocheng People's Hospital, Liaocheng 25200, China

Corresponding author: Gong Dianrong, Email: 13346256059@163.com

**【Abstract】 Objective** To observe the clinical efficacy of human umbilical cord blood mononuclear cell transplantation treatment for Parkinson's disease by lateral atlanto-occipital space puncture. **Methods** Thirty-one Parkinson's disease patients from the Department of Neurology in Liaocheng People's Hospital were treated with human umbilical cord blood mononuclear cell transplantation by lateral atlanto-occipital space puncture. The Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) II / III, Non-Motor Symptoms Scale for Parkinson's Disease (NMSS), and Pittsburgh sleep quality index (PSQI) were used for assessment of each patient before treatment and 1, 3, 6 and 12 months after treatment. Repeated measures analysis of variance was used to compare the scores of multiple time points before and after treatment and the Bonferroni test was used to compare the scores of each time in pairs. **Results** (1) Compared with that before treatment, the score of UPDRS- II in month 3, 6, 12 after treatment were decreased [(17.75±6.81) points vs (13.67±5.62) points, (12.54±4.39) points, (10.41±4.31) points]; the score of UPDRS- III in month 3, 6, 12 after treatment were also decreased [(28.53±14.75) points vs (21.65±10.11) points, (19.37±9.26) points, (16.12±7.44) points], and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). (2) Compared with that before treatment, the score of NMSS in month 1, 3, 6, 12 after treatment were decreased [(58.94±35.74) points vs (50.27±31.06) points, (41.38±28.25) points, (38.42±25.73) points, (36.15±24.56) points], and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The score of PSQI also showed a same change trend. (3) Compared with that before

treatment, the LED in month 6, 12 after treatment were decreased [(629.57±205.33) mg/d vs (435.54±160.62) mg/d, (300.71±135.83) mg/d], and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Human umbilical cord blood mononuclear cell transplantation treatment for Parkinson's disease by lateral atlanto-occipital space puncture can improve the motor and non-motor symptoms and retard the progression of the disease.

**【Key words】** Lateral atlanto-occipital space puncture; Human umbilical cord blood mononuclear cell; Parkinson disease

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是仅次于阿尔茨海默病的全球第二大神经系统退行性变性疾病,其主要病理特征为脑内黑质多巴胺能神经元大量变性丢失,导致纹状体多巴胺含量的缺乏,引起静止性震颤、肌强直、运动迟缓、姿势步态异常和自主神经功能紊乱等一系列临床表现。目前,PD的发病机制尚不十分明确,线粒体功能紊乱、氧化应激和免疫炎症反应等众多因素参与了PD的发生发展过程<sup>[1-2]</sup>。近年来多项研究发现肠道微生物通过脑-肠轴影响神经系统调节,与PD存在密切联系<sup>[3]</sup>。虽然PD的发病机制研究有了长足的进步,但目前仍无切实有效的治疗手段,无论药物或手术,均只能改善症状,不能有效地阻止病情的发展,更无法治愈。

干细胞移植治疗PD是目前的研究热点,涵盖了胚胎干细胞、神经干细胞、骨髓间充质干细胞、脂肪间充质干细胞和诱导多能干细胞等。人脐血单个核细胞(human umbilical cord blood mononuclear cells, hUCB-MNCs)含有一定量干细胞及丰富的神经营养因子,有研究发现其在中风和脊髓损伤等动物模型中发挥很好的治疗作用<sup>[4-5]</sup>,并且本课题组应用hUCB-MNCs治疗多系统萎缩患者取得了良好的治疗效果,但其对PD疗效尚无相关报道<sup>[6]</sup>。本研究采用宫殿荣教授独创的寰枕间隙侧方穿刺术移植hUCB-MNCs治疗PD患者,并对患者的临床及随访资料进行总结分析,以期为临床治疗PD提供参考。

## 资料与方法

### 一、研究对象

选择2010年12月至2018年12月聊城市人民医院神经内科应用寰枕间隙侧方穿刺术移植hUCB-MNCs治疗的31例PD患者。其中男19例,女12例;年龄51~73岁,平均(63.5±7.2)岁;病程5~12年,中位时间为8年;服用左旋多巴等效剂量405~1500 mg/d,平均(629.57±205.33) mg/d。入组标准:(1)符合英国脑库PD诊断标准;(2)诊断原发性PD≥5年;(3)对左旋多巴药物有反应性,现药效逐渐减退,或出现药物治疗无效的症状波

动(开关现象)和(或)异动症。排除标准:(1)各种继发性帕金森综合征、帕金森叠加综合征以及其他非原发性PD;(2)既往曾接受PD手术治疗(包括脑深部电刺激术和毁损术);(3)合并严重心脑血管疾病或者消化、呼吸、血液等其他系统重大疾病;(4)合并有肿瘤或者既往肿瘤病史;(6)合并有其他严重神经、精神系统疾病无法合作者。本研究得到医院伦理委员会批准(批号:2010067)并得到所有受试者或其家属的知情同意。

### 二、方法

1. hUCB-MNCs制备:无菌条件下采集我院产科健康剖宫产产妇自愿捐献的新鲜脐带血约150 mL(乙肝五项、丙肝、艾滋病、梅毒等其他相关传染性指标均呈阴性),经院伦理委员会批准,无伦理学争议。由我院中心实验室专业人员用脐带血处理试剂盒(加拿大威尔森公司研制,宁夏中联达生物有限公司生产,规格:SCR-2001)分离提取hUCB-MNCs,得到hUCB-MNCs悬液5 mL [(2~3)×10<sup>8</sup>/mL],检测细胞活率≥98%,立即由0℃~4℃低温运输箱送达病房,1 h内移植到患者体内。

2. hUCB-MNCs注射:采用寰枕间隙侧方穿刺术<sup>[7]</sup>注射hUCB-MNCs。具体操作如下:患者去枕平卧,头置正中,颈伸直,取乳突最高点的下、后各1 cm。常规消毒铺洞巾,局部麻醉,穿刺针与外耳道假想连线平行,与颈椎纵轴垂直,沿枕骨下缘进针,穿刺过程中有2次落空感,一旦出现突破感,拔出针芯有脑脊液流出,即进入枕大池,为穿刺成功。留取脑脊液送检,将已经复温处理的hUCB-MNCs 5 mL缓慢注入枕大池,拔出穿刺针,按压穿刺点,无菌敷料覆盖。操作过程严格遵循无菌原则,术后患者去枕卧位6~8 h。

3. 评价方法:统计患者的性别、年龄、病程及左旋多巴等效剂量(levodopa equivalent dose, LED)。LED的换算公式如下:100 mg左旋多巴=125 mg多巴丝肼=100 mg吡贝地尔=100 mg金刚烷胺=1 mg普拉克索=5 mg罗匹尼罗=10 mg司来吉兰=133 mg卡左双多巴。采用统一帕金森评估量表(unified Parkinson disease rating scale, UPDRS)第

II部分、第III部分、帕金森非运动症状评价量表(the non-motor symptoms scale for Parkinson's disease, NMSS)、匹兹堡睡眠质量指数量表(Pittsburgh sleep quality index, PSQI),对患者治疗前及治疗后1、3、6、12个月进行评分,所有评估项目均在药物“开”的条件下进行,即患者服用左旋多巴制剂后药效达到最佳状态下的情况。所有项目的评估均由不参加治疗的、有经验的神内科医生独立完成。

### 三、统计学分析方法

采用SPSS 20.0软件进行统计分析,UPDRS II/III、NMSS、PSOI评分及左旋多巴等效剂量采用Shapiro-Wilk检验,所有变量符合正态分布以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用重复测量方差分析对治疗前后多个时间点的评分进行比较,各个时间点评分的两两比较采用Bonferroni检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、经寰枕间隙侧方穿刺术移植hUCB-MNCs治疗对PD患者UPDRS II、III评分的影响

由重复测量方差分析结果可知,不同时间的UPDRS II、III评分差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。不同时间点的两两比较显示,与治疗前比较,治疗后3、6、12个月UPDRS II、III评分均下降,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ,表1)。

### 二、经寰枕间隙侧方穿刺术移植hUCB-MNCs治疗对PD患者非运动功能的影响

由重复测量方差分析结果可知,不同时间的NMSS评分及PSOI评分差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。不同时间点的两两比较显示,与治疗前比较,治疗后1、3、6、12个月NMSS及PSOI评分均下降,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ,表2)。

### 三、经寰枕间隙侧方穿刺术移植hUCB-MNCs治疗对PD患者左旋多巴等效剂量的影响

由重复测量方差分析结果可知,不同时间的LED差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。不同时间点的两两比较显示,与治疗前比较,治疗后6、12个月LED下降,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ,表2)。

### 四、治疗后不良反应

3例患者治疗后数小时开始出现发热,体温最高 $38^{\circ}\text{C}$ ,未予特殊处理,24h内体温逐渐恢复正常。2例患者治疗后出现头痛,程度轻微,24~48h内逐渐缓解。其余患者在术中及术后均无特殊不适感。所有患者成功随访1年,均未出现出血、感染等穿刺移植相关并发症。

## 讨 论

据统计,全球现有约580万PD患者,而我国患者人数约为260万,居世界第一<sup>[8]</sup>。老年人群PD发病率较高,随着社会老龄化的加重,我国PD患者将会逐年增多,极大地影响了患者的生活质量,给社会带来沉重的负担。因此,探索有效的治疗方法具有十分重要的意义。

干细胞移植是目前PD治疗研究的热点,这其中包括神经干细胞、胚胎的多巴胺能神经元移植,但因伦理学争议等一系列问题,限制了其在临床中的应用<sup>[9-10]</sup>。一项前瞻性研究对7例PD患者侧脑室立体定向注射自体骨髓间充质干细胞,术后随访观察10~36个月,发现3例患者的UPDRS评分持续改善,2例患者的左旋多巴等效剂量明显减少<sup>[11]</sup>。但是,骨髓间充质干细胞取材相对困难、细胞产率低。因此探索用于治疗PD的其他细胞来源成为重要问题。

表1 寰枕间隙侧方穿刺术移植脐血单个核细胞治疗前后UPDRS II、III评分比较(分,  $\bar{x} \pm s$ )

项目	例数	治疗前	治疗后				F值	P值
			1个月	3个月	6个月	12个月		
UPDRS II	31	17.75 ± 6.81	15.38 ± 6.14	13.67 ± 5.62	12.54 ± 4.39	10.41 ± 4.31	4.101	0.013
UPDRS III	31	28.53 ± 14.75	26.36 ± 14.03	21.65 ± 10.11	19.37 ± 9.26	16.12 ± 7.44	5.237	0.006

表2 寰枕间隙侧方穿刺术移植脐血单个核细胞治疗前后NMSS、PSOI评分和LED比较( $\bar{x} \pm s$ )

项目	例数	治疗前	治疗后				F值	P值
			1个月	3个月	6个月	12个月		
NMSS(分)	31	58.94 ± 35.74	50.27 ± 31.06	41.38 ± 28.25	38.42 ± 25.73	36.15 ± 24.56	6.375	0.000
PSOI(分)	31	11.68 ± 5.27	6.53 ± 4.92	3.68 ± 2.45	2.87 ± 1.63	2.14 ± 1.02	7.428	0.000
LED(mg/d)	31	629.57 ± 205.33	593.35 ± 194.82	551.36 ± 190.14	435.54 ± 160.62	300.71 ± 135.83	4.061	0.015

hUCB-MNCs 来源丰富,免疫原性低,可以直接用于异体移植,对供者没有伤害<sup>[12]</sup>。hUCB-MNCs 含有一定量的干细胞及丰富的神经营养因子<sup>[13-14]</sup>,这使得其成为一种可以治疗神经退行性疾病很有潜力的细胞。有研究表明,与 hUCB-MNCs 有相似来源的脐带间充质干细胞移植后可改善 PD 模型鼠的行为学障碍,而且能够减少脑内神经元的损伤<sup>[15]</sup>。Karlupia 等<sup>[16]</sup> 研究发现,相较于脐带间充质干细胞, hUCB-MNCs 治疗更有利于缺血性脑卒中神经缺损功能恢复。由此,笔者团队对 hUCB-MNCs 移植对 PD 的治疗效果进行了深入探索。

本研究的另一项优势在于细胞治疗途径。目前中枢神经系统疾病的细胞治疗途径主要有静脉输注、侧脑室穿刺、腰椎穿刺和立体定向移植等,但均存在不同缺点。宫殿荣教授国际首创寰枕间隙侧方穿刺术(宫氏穿刺法),并将其作为 hUCB-MNCs 移植的独特途径,目前已成功完成 1 000 余人次穿刺,证明了其有效性和安全性<sup>[7]</sup>。理论上,寰枕间隙侧方穿刺术将细胞导入枕大池,在内源性迁移途径的引导下到达目标区域,避免直接植入损伤区炎症环境影响移植细胞的存活<sup>[17]</sup>,亦避免了细胞经静脉治疗途径中的肺部清除及腰椎穿刺注入的细胞在各神经根处丢失<sup>[18]</sup>。枕大池与第四脑室直接相通,寰枕间隙侧方穿刺治疗既可以达到侧脑室穿刺治疗同等效果,又能减少手术创伤和并发症<sup>[19]</sup>。

应用便捷易获得的 hUCB-MNCs, 结合独特的细胞移植途径,针对 PD 取得了良好的治疗效果。本研究结果显示,经寰枕间隙侧方穿刺术移植 hUCB-MNCs 治疗后 3 个月, PD 患者的运动功能评分改善,提高了患者的日常生活能力,于治疗后 6 个月左旋多巴等效剂量明显减少。PD 除表现为运动障碍外,同时可伴有心血管系统障碍、泌尿系障碍、性功能障碍、情绪与认知障碍等非运动症状,睡眠障碍在 PD 患者中亦很常见,文献报道 PD 患者睡眠障碍的发生率为 75%~98%<sup>[20]</sup>,这些非运动症状因为严重影响患者生活质量而受到研究者越来越多的关注。目前的药物及手术治疗均致力于改善患者的运动障碍,对非运动症状收效甚微。然而,本研究发现 PD 患者经寰枕间隙侧方穿刺术移植 hUCB-MNCs 治疗后 1 个月 NMSS 及 PSOI 评分均较治疗前显著下降,并在 12 个月的随访期间进行性改善,这提示经寰枕间隙侧方穿刺术移植 hUCB-MNCs 治疗对于 PD 患者非运动症状起效较快,并且疗效显著持久。目前其治疗机制尚不明确,推测其通过激活内源性

神经干细胞、改善脑内微环境、调节免疫机制和促进多种神经营养因子分泌等机制发挥治疗作用<sup>[21-22]</sup>。

综上所述,对于 PD 患者,寰枕间隙侧方穿刺术移植 hUCB-MNCs 治疗是一种有效的方法,尤其对于非运动症状起效快而显著。本研究纳入病例数较少,存在一定局限性,尚需扩大样本量,进行多中心的随机对照研究以进一步验证其疗效。

## 参 考 文 献

- Gelders G, Baekelandt V, Van der Perren A. Linking neuroinflammation and neurodegeneration in Parkinson's disease[J]. *J Immunol Res*, 2018, 2018:4784268.
- Sulzer D, Alcalay RN, Garretti F, et al. T cells from patients with Parkinson's disease recognize  $\alpha$ -synuclein peptides[J]. *Nature*, 2017, 546(7660):656-661.
- Sampson TR, Debelius JW, Thron T, et al. Gut microbiota regulate motor deficits and neuroinflammation in a model of Parkinson's disease[J]. *Cell*, 2016, 167(6):1469-1480.
- Newcomb JD, Ajmo CT, Sanberg CD, et al. Timing of cord blood treatment after experimental stroke determines therapeutic efficacy[J]. *Cell Transplant*, 2006, 15(3):213-223.
- Saporta S, Kim JJ, Willing AE, et al. Human umbilical cord blood stem cells infusion in spinal cord injury: engraftment and beneficial influence on behavior[J]. *J Hematother Stem Cell Res*, 2003, 12(3):271-278.
- 宫殿荣, 于海燕, 赵敏, 等. 寰枕间隙侧方穿刺移植脐血单个核细胞治疗多系统萎缩的临床观察[J/CD]. *中华细胞与干细胞杂志(电子版)*, 2016, 6(2):115-120.
- Gong D, Yu H, Yuan X. A new method of subarachnoid puncture for clinical diagnosis and treatment: lateral atlanto-occipital space puncture[J]. *J Neurosurg*, 2018, 129(1):146-152.
- Ascherio A, Schwarzschild MA. The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention[J]. *Lancet Neurol*, 2016, 15(12):1257-1272.
- Barker RA, Drouin-Ouellet J, Parmar M. Cell-based therapies for Parkinson disease—past insights and future potential[J]. *Nat Rev Neurol*, 2015, 11(9):492-503.
- Wang YK, Zhu WW, Wu MH, et al. Human clinical-grade parthenogenetic ESC-derived dopaminergic neurons recover locomotive defects of nonhuman primate models of Parkinson's disease[J]. *Stem Cell Reports*, 2018, 11(1):171-182.
- Venkataramana NK, Kumar SK, Balaraju S, et al. Open-labeled study of unilateral autologous bone-marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation in Parkinson's disease[J]. *Transl Res*, 2010, 155(2):62-70.
- Yang WZ, Zhang Y, Wu F, et al. Safety evaluation of allogeneic umbilical cord blood mononuclear cell therapy for degenerative conditions[J]. *J Transl Med*, 2010, 8:75.
- Weiss ML, Troyer DL. Stem cells in the umbilical cord[J]. *Stem Cell Rev*, 2006, 2(2):155-162.
- Zangiocomi V, Balon N, Maddens S, et al. Human cord blood-derived hematopoietic and neural-like stem/progenitor cells are attracted by the neurotransmitter GABA[J]. *Stem Cells Dev*, 2009, 18(9):1369-1378.
- Shetty P, Thakur AM, Viswanathan C. Dopaminergic cells, derived from a high efficiency differentiation protocol from umbilical cord derived

- mesenchymal stem cells, alleviate symptoms in a Parkinson's disease rodent model[J]. *Cell Biol Int*, 2013, 37(2):167-80.
- 16 Karlupia N, Manley NC, Prasad K, et al. Intraarterial transplantation of human umbilical cord blood mononuclear cells is more efficacious and safer compared with umbilical cord mesenchymal stromal cells in a rodent stroke model[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2014, 5(2):45.
- 17 Veizovic T, Beech JS, Stroemer RP, et al. Resolution of stroke deficits following contralateral grafts of conditionally immortal neuroepithelial stem cells[J]. *Stroke*, 2001, 32(4):1012-1019.
- 18 Amer MH, Rose F, Shakesheff KM, et al. Translational considerations in injectable cell-based therapeutics for neurological applications: concepts, progress and challenges[J]. *NPJ Regen Med*, 2017, 2:23.
- 19 Suzuki SO, Goldman JE. Multiple cell populations in the early postnatal subventricular zone take distinct migratory pathways: A dynamic study of glial and neuronal progenitor migration[J]. *J Neurosci*, 2003, 23(10):4240-4250.
- 20 Suzuki K, Miyamoto M, Miyamoto T, et al. Parkinson's disease and sleep/wake disturbances[J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2015, 15(3):8.
- 21 Lee HJ, Lee JK, Lee H, et al. Human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells improve neuropathology and cognitive impairment in an Alzheimer's disease mouse model through modulation of neuroinflammation[J]. *Neurobiol Aging*, 2012, 33(3):588-602.
- 22 Pan K, Deng L, Chen P, et al. Safety and feasibility of repeated intrathecal allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in patients with neurological diseases[J]. *Stem Cells Int*, 2019, 2019: 8421281.

(收稿日期:2020-03-17)

(本文编辑:蔡晓珍)

王未飞,于海燕,袁晓玲,等. 移植脐血单个核细胞治疗帕金森病的临床研究[J/CD]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2020, 10(6):341-345.

