

脐血干细胞治疗下肢动脉慢性缺血性疾病

袁平, 潘扬*, 骆晓鸿

(贵州省人民医院 血管外科, 贵州 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 观察脐血干细胞移植治疗下肢动脉硬化性闭塞症的疗效。方法: 确诊严重的下肢动脉缺血性疾病患者, 采集脐血干细胞, 将干细胞混悬液肌肉注射进行双下肢移植, 观察3~5个月, 进行各项指标综合评估。结果: 脐血干细胞移植后, 患者疼痛、肢体冷感、间歇性跛行、溃疡均明显好转。移植5个月后, 数字减影下肢动脉造影结果显示, 闭塞动脉未见改变, 但侧枝血管形成明显增加, 未出现并发症和不良反应。结论: 脐血干细胞移植治疗下肢动脉慢性缺血, 是一种简单、有效的方法。

[关键词] 动脉硬化, 闭塞性; 血栓性脉管炎, 闭塞性; 脐血干细胞移植; 脐血

[中图分类号] R654.4 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1000-2707(2011)01-0060-02

脐血干细胞移植(Cord Blood Stem Cell Transplantation, CBSCT)是造血干细胞移植技术中的一个类型。从1988年法国人Gluckman^[1]应用脐血治疗第1例Fanconi贫血的5岁儿童成功后, 全世界已经完成了超过6 000例脐血干细胞移植(包括儿童和成人), 目前CBSCT技术治疗的疾病已达80余种。缺血性下肢血管病是一组严重危害人类健康、降低患者生活质量的疾病, 在我国随着人们生活模式的变化, 其发病率呈明显上升趋势, 尤其是下肢动脉流出道阻塞且未形成侧支的患者, 常导致足部溃疡或坏疽而截肢致残。近年来, 自体外周血干细胞(PBSC)移植血管再生技术受到国内外学者的关注, 由于自体外周血干细胞的采集受到很多因素的影响, 使得PBSC移植血管再生技术受到了一定的限制。脐血干细胞来源丰富, 采集方便, 患者不需进行骨髓干细胞动员, 可以广泛应用。干细胞移植治疗下肢动脉硬化是近年发展起来的一项新技术, 国内外文献研究表明干细胞植入缺血肢体可以促进局部血管生成, 并参与患者体内新的毛细血管的生成。因此, 应用脐血干细胞移植治疗下肢动脉硬化性闭塞症。2009年4月~2010年5月运用CBSCT治疗12例缺血性下肢血管病患者, 现将临床研究结果报告如下。

1 资料和方法

1.1 病例

12例均为我科住院患者, 均为男性, 年龄36~

80岁, 平均年龄70.1岁, 病程6个月~1年。动脉硬化闭塞症10例, 血栓闭塞性脉管炎2例。12例患者均不同程度的间歇性跛行, 行走距离仅100~300 m; 其中2例出现患(足)趾经久不愈溃疡, 8例表现有静息痛。12例患者均有不同程度的服用止痛药史。

根据病变累及动脉的范围, 下肢动脉慢性缺血分为3型: I型: 主-髂动脉型, 病变累及腹主动脉分叉段及髂总动脉, 典型的临床表现为Lerich征, 主要表现间歇性跛行, 因具有相对正常的髂动脉及其远侧动脉, 为施行旁路转流术提供了良好的流出道; II型: 主-髂-股动脉型, 病变涉及主动脉分叉段、髂总与髂外动脉及股动脉的近侧段, 以下肢间歇性跛行为主要症状, 通常腘动脉及其远侧动脉仍保持通畅; III型: 多节段阻塞型, 病变自主动脉分叉至胫-腓动脉的广泛范围内, 呈现多平面狭窄或阻塞, 包括股深动脉及3条小腿主干动脉的1支或多支, 因而临床表现严重, 出现严重的间歇性跛行或静息痛, 肢体远端缺血坏死或溃疡, 被迫截肢的危险相对较高。本组12例均为III型患者, 均存在截肢危险。

1.2 干细胞的采集

所有脐血均来自健康产妇, 无家族缺陷遗传史和传染病, 血化验检查、心电图、尿常规、B超均正常, 分娩方式、新生儿出生日期、性别、体质量、脐血采集时间、方法、条形码标记, 均详细记录。采集脐血量150~200 ml, 采集后脐血立即送细胞室, 在层流操作室内用加拿大威尔森公司有核细胞体外分

* 通讯作者 E-mail: 5576pan@vip.sina.com

离试剂盒进行分离,分离后采集的干细胞用流式细胞仪计数以及细胞成活率的检测。

1.3 体征的评价标准及患肢冷感(皮温)分级

体征的评价标准。0级:无疼痛;1级:偶有疼痛;2级:疼痛经常出现但能耐受,不需或偶用一般止痛剂;3级:疼痛经常出现,经常使用止痛剂;4级:静息疼痛影响睡眠,一般止痛剂难以缓解,甚需用麻醉镇痛剂。

患肢冷感(皮温)分级。0级:无冷感;1级:偶有受累肢体发凉、怕冷的感觉;2级:经常有受累肢体发凉、怕冷的感觉;3级:受累肢体有明显的冷凉感觉,需要采用局部保温措施,症状才能得到一定缓解;4级:受累肢体有明显的冷凉感觉,即使采用局部保温措施,症状也无明显缓解。

本组病例体征的评价标准及患肢冷感均在3~4级。所有患者均行CT血管造影(CTA),对下肢动脉闭塞部位、性质、程度和范围,以及侧支循环建立情况进行全面评估,特别是流入道和流出道评估,明确均无血管旁路手术的条件。

1.4 治疗方法

收集的脐血干细胞悬液在患者的同侧小腿肌肉局部注射:分别在内侧比目鱼肌和外侧腓肠肌选取多点(30~40点)进行注射,进针深度约为1.0 cm,针间距2 cm,每点注射1~1.5 ml,注射时避开血管,总计量约为30~50 ml,干细胞移植总量 $(3\sim5)\times10^9$ /肢,局部注射点按摩后,患肢用无菌敷料包扎,术后3 d应用抗生素并对症处理,常规药物治疗。

2 结果

术后第3~5天患肢温度较前明显升高,疼痛减轻,术后3个月随访,下肢症状完全缓解,2例溃疡愈合,行走距离>1 000 m,患者已恢复正常活动、生活,并均无需服用止痛药。2例患者术后3个月再次行CT血管造影(CTA),发现小腿主干闭塞动脉并无明显改变,但其周围有较多的新生的侧枝血管。结果显示,12例患者下肢动脉病变都有不同程度的改善,患者术后的心电图和肝肾功能无特殊改变,出凝血时间正常,未出现其他不良反应。

3 讨论

随着生活水平的提高和老龄人群的增多,肢体缺血性疾病患者在逐渐增加,虽然新的药物不断出现,手术方法不断改进,介入治疗也在发展,仍然有

许多患者的缺血肢体最终要截肢,近年来逐步发展的干细胞移植为这类患者带来了治疗希望。而且这类治疗无论在国内还是国外已进入了临床应用阶段^[2,3]。本组患者多处于动脉闭塞的晚期,药物治疗无效,CT血管造影提示闭塞远端流出道不好,不适应手术治疗,濒临截肢的边缘。经过脐血干细胞移植治疗后,患者能在短期内使疼痛减轻,无需服用止痛药物,溃疡愈合,进行的脐血干细胞移植治疗下肢缺血的临床试验获得满意效果。

自体外周血干细胞移植虽然目前已经成为治疗下肢缺血性疾病的一种有效手段,但移植之前的干细胞动员还是存在一定风险的,尤其是潜伏在脑血管系统中的危险因素最为引人关注,有文献报道,在干细胞动员时引起外周血白细胞显著升高及血液流变学改变,出现心梗、脑梗等并发症^[4]。下肢缺血性疾病患者中绝大多数为中老年,其中患糖尿病、高血压、高血脂比例非常大,为心脑血管疾病的高发人群,干细胞动员过程中发生意外的可能性要明显高于正常人群,采用脐血干细胞移植就能够避免这些风险。尤其是在白细胞明显增多时,可影响毛细血管血流灌注,引起缺血性疾病的发展或加重^[5]。

脐血干细胞具有特殊的生物学特性,其中含有大量的造血干细胞、丰富的间充质干细胞(Cluster-Designation, CD),CD₃₄抗原是造血干细胞分离纯化的主要标记,脐血中CD₃₄⁺细胞占有核细胞的比例与骨髓相似,高于外周血。其中早期造血前体细胞CD₃₄⁺CD₃₈⁻和CD₃₄⁺Thy-1+lin⁻亚群比例高于骨髓和外周血,具有更强的增殖和分化能力^[4]。脐血中高增殖潜能集落形成细胞(HPP-CFC)传代达5代,在第5代仍可见混合形成集落单位,与骨髓相比脐血中的HPP-CFC更为原始。脐血干细胞具有很强的增殖、分化及形成集落的能力,受到刺激进入细胞周期的速度及对各种造血刺激因子的反应能力均高于骨髓和外周血细胞,并且寿命更长。脐血免疫细胞发育相对不成熟,由于免疫原性较弱,干细胞具有不易被排斥、能在体内长期存活的特征,也被称为“免疫逃逸”现象。

干细胞是未分化的原始细胞,可向不同方向分化,得到的细胞可能并非所需。影响分化方向和分化过程的因素很多,人类尚未找到启动、调节、控制、终止分化的方法,干细胞在分化过程中可能在某一阶段停止分化,人们也不了解分化与增殖的关

(下转第64页)

道相通;V型:无食管闭锁,但食管与气管有瘘道相通。在上述各种类型中以Ⅲ型最为多见。本组 19 例 X 线表现为食管上段为盲端,造影剂充填食管上段盲端而未见有瘘与气管相通,从胃及肠道充气影推断食管下段与气管有瘘存在,故诊断均为 Gross 分型法Ⅲ型,亦证实该型最为常见。不经治疗的 CEA-TEF 常因饥饿、吸入性肺炎或其他严重并发症而在短期内死亡,少数 V 型患儿可长期存活,至成年才被确诊,期间多有反复肺部感染病史^[5]。因此,早期诊断,及时手术治疗能够降低 CEA-TEF 的死亡率。

X 线检查是明确 CEA-TEF 的主要检查方法,选择正确的检查方法和造影剂是减少患儿并发症发生的重要因素之一。经对比观察,有以下几点体会:(1)疑患本病的新生儿先摄胸腹联合片,通过胸腹联合片,可以观察食管上段有无囊性扩张低密度影;(2)双肺有无吸入性肺炎;(3)了解腹部胃肠腔气体分布情况。对于食管闭锁患儿,胃肠腔气体影往往提示食管气管瘘的存在;(4)注意观察胸廓、脊柱骨骼情况。因为 CEA-TEF 常合并其他先天畸形,须仔细观察;(5)应注意尽量选择低渗透压、流动性好、粘稠度低,副作用小的造影剂^[6]。故非离子型造影剂,如碘海醇,是检查 CEA-TEF 时的首选造影剂。不论何种造影剂,检查后,都要及

时抽出,目的是避免造影剂吸入肺内造成不良后果。

总之,X 线造影检查对及时诊断和治疗新生儿 CEA-TEF 和降低其死亡率都具有重要意义。

4 参考文献

- [1] 殷小伟,韦国祯,宋湘云.经支气管镜介入带膜支架治疗食管气管瘘的临床应用[J].实用临床医药杂志,2009(1):12-14.
- [2] 诸福棠,吴瑞萍,胡亚美,等.实用儿科学[M].4 版.北京:人民卫生出版社,1985:494.
- [3] Islam S, Cavanaugh E, Honeke R, et al. Diagnosis of a prox-mal tracheoesophageal fistula using three-dimensional CT scan a case report[J]. J Pediatr Surg, 2004 (1): 1002.
- [4] 刘泽茹,张铁男,徐向荣.先天性食管闭锁 126 例治疗体会[J].郑州大学学报(医学版),2007(6):1215.
- [5] 王荣华,王学练,贾杰.成人先天性食管气管瘘 1 例[J].中国医学影像技术,2001(5):441.
- [6] 林锡明,周恒珠,郑丽茹,等.小儿先天性食管闭锁及狭窄的 X 线检查及临床意义[J].吉林医学,1997(12): 328.

(2010-10-11 收稿,2010-11-02 修回)

(上接第 61 页)

系,增殖的程度和速度无法控制,这些情况可能存在形成恶性肿瘤的潜在危险。所以对于干细胞移植治疗下肢动脉缺血的安全性评价,尚需进一步探讨,也有人认为脐带血中不会有肿瘤细胞^[6,7]。脐血干细胞移植在伦理学上具有胚胎干细胞和骨髓干细胞移植治疗不可比拟的优势,但是同时也不容忽视某些社会伦理问题。

4 参考文献

- [1] Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical cord blood from an HLA-identical sibling[J]. N Engl J Med, 1989(17):1174-1178.
- [2] 黄平平,李尚珠,韩明哲,等.自体外周血干细胞移植治

疗下肢动脉硬化闭塞症[J].中华血液学杂志,2003(24):308-311.

- [3] Kim SW, Han H, Chae GT, et al. Successful stem cell therapy using umbilical cord blood-derived multipotent stem cells for Buerger's disease and ischemic limb disease animal model[J]. Stem Cells, 2006(6):1620-1626.
- [4] 张铁斌,杨晓凤,王红梅,等.自体外周血干细胞移植治疗下肢缺血性疾病术前行干细胞动员引发心脑血管危险因素探讨[J].临床内科杂志,2005(6):422.
- [5] 魏文太.白细胞增多对血液粘度的影响[J].中国血液流变学杂志,1994(4):23-24.
- [6] 吴祖泽,贺福初,裴雪涛.造血调控[M].上海:上海医科大学出版社,2000:245.
- [7] 杨立业,惠国桢.胚胎干细胞移植治疗帕金森病[J].实用临床医药杂志,2003(3):20-23.

(2010-10-18 收稿,2010-12-28 修回)