

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.24.005

高压氧治疗缺血性脑卒中患者外周血干细胞 CD34⁺变化与临床疗效的研究^{*}

黄 硕,吴佳慧,曾金明,李慧敏

上海中冶医院康复医学科,上海 200941

摘 要:目的 探讨高压氧治疗缺血性脑卒中患者的疗效及对外周血干细胞 CD34⁺的影响。方法 选取 2021 年 1—12 月于该院就诊的缺血性脑卒中患者 60 例为研究对象,按照随机数字表法分为对照组(30 例)和治疗组(30 例)。对照组患者给予常规的康复治疗,观察组患者在对照组基础上给予高压氧治疗,共治疗 4 周,分别于治疗前、治疗 2 周及 4 周后采用简式 Fugl-Meyer 运动功能评估量表(FMA)和改良 Barthel 指数(MBI)对患者进行评分,了解患者运动功能及日常生活能力恢复情况,同时对外周血 CD34⁺细胞进行检测。**结果** 治疗前两组 FMA、MBI 评分及 CD34⁺细胞数绝对值比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。治疗 2 周及 4 周后,两组 FMA、MBI 评分均高于治疗前,差异有统计学意义($P<0.05$);治疗组 CD34⁺细胞数绝对值高于治疗前($P<0.05$),而对照组无明显变化($P>0.05$);与对照组比较,治疗组 FMA、MBI 评分及 CD34⁺细胞数绝对值升高($P<0.05$)。**结论** 高压氧治疗可动员缺血性脑卒中患者骨髓干细胞释放至外周血,使外周血 CD34⁺细胞数升高,并参与中枢神经功能损伤的修复,从而改善患者的运动功能及日常生活能力。

关键词:缺血性脑卒中; 高压氧; CD34⁺; 干细胞

中图法分类号:R741.05

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)24-3330-04

Study on CD34⁺ changes in peripheral blood stem cells and clinical efficacy of hyperbaric oxygen therapy in ischemic stroke patients^{*}

HUANG Shuo, WU Jiahui, ZENG Jinming, LI Huimin

Department of Rehabilitation Medicine, Shanghai Zhongye Hospital, Shanghai 200941, China

Abstract: **Objective** To investigate the efficacy of hyperbaric oxygen therapy for ischemic stroke and the effect on CD34⁺ in peripheral blood stem cells. **Methods** A total of 60 patients with ischemic stroke who visited the hospital from January 2021 to December were selected and divided into control group (30 cases) and treatment group (30 cases) according to the random number table method. Patients in the control group were given conventional rehabilitation treatment, and patients in the observation group were given hyperbaric oxygen therapy on the basis of the control group for a total of 4 weeks. Patients were scored using the short-form Fugl-Meyer motor function assessment scale (FMA) and modified barthel index (MBI) before, 2 weeks and 4 weeks after treatment respectively, the recovery of motor function and daily living ability were understood, and peripheral blood CD34⁺ cells were also measured. **Results** Before treatment, there was no significant difference on FMA, MBI scores and absolute value of CD34⁺ cells between the two groups ($P>0.05$). After 2 and 4 weeks of treatment, FMA and MBI scores in the two groups were higher than those before treatment, the differences were statistically significant ($P<0.05$). The absolute value of CD34⁺ cells in the treatment group was higher than that before treatment ($P<0.05$), but there was no significant change in the control group ($P>0.05$). Compared with those in the control group, FMA, MBI scores and absolute value of CD34⁺ cells in the treatment group increased ($P>0.05$). **Conclusion** Hyperbaric oxygen therapy may mobilize the release of bone marrow stem cells into peripheral blood of patients with ischemic stroke, increase the number of peripheral blood CD34⁺ cells, and participate in the repair of central nervous system injury, so as to improve the motor function and daily living ability of patients.

Key words: ischemic stroke; hyperbaric oxygen; CD34⁺; stem cells

^{*} 基金项目:中国金属学会冶金安全与健康分会健康卫生科研项目(jkws202073)。

作者简介:黄硕,男,主治医师,主要从事神经康复、老年康复相关研究。

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail//50.1167.R.20221208.0008.003.html\(2022-12-09\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail//50.1167.R.20221208.0008.003.html(2022-12-09))

缺血性脑卒中(IS)是一种急性脑损伤疾病,在世界范围内具有高病死率和致残率,如何改善受损神经功能、恢复患者运动功能、提高预后及生存质量是目前关注的焦点^[1]。高压氧(HBO)目前已广泛应用于多种神经系统疾病,其通过改善脑血流量、启动血管修复、诱导轴突白质再生、恢复功能性血脑屏障、减少炎症反应和脑水肿等激活神经可塑性,恢复大脑功能^[2]。近年来,研究发现干细胞移植可有效改善 IS 后神经功能,具有良好应用前景^[3],而起源于骨髓造血干/祖细胞代表性标志物的 CD34⁺在中枢神经修复中有重要作用。研究表明经过 HBO 暴露后可提升患者外周血 CD34⁺细胞数量,促进造血干细胞动员并修复受损神经功能^[4]。本研究旨在通过观察 HBO 对 IS 外周血 CD34⁺细胞的影响,探讨在 HBO 治疗中造血干细胞动员过程及作用机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2021 年 1—12 月于本院就诊的 IS 患者 60 例为研究对象,均符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018》^[5]中的 IS 诊断标准,本研究经医院伦理委员会通过,患者或家属自愿签署知情同意书。纳入标准:(1)经头颅 CT 或 MRI 确诊脑梗死;(2)病程在 2 周至 3 个月;(3)年龄在 40~85 岁,性别不限。排除标准:(1)之前接受过 HBO 治疗者;(2)有严重的内科系统疾病、造血系统疾病、精神疾病患者;(3)经检查证实由脑肿瘤、脑外伤、脑寄生虫病、代谢障碍等原因引起的脑梗死患者;(4)近期使用过抗菌药物、糖皮质激素、放疗药物、镇静安眠药物、抗癫痫药物等的患者;(5)不能配合治疗者。

按照随机数字表法分为对照组(30 例)和治疗组(30 例)。两组患者的年龄、性别、病程等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。见表 1。

表 1 两组一般资料比较					
组别	n	性别(n)		年龄	病程
		男	女	($\bar{x}\pm s$,岁)	($\bar{x}\pm s$,d)
对照组	30	15	15	65.00 $\pm$ 3.05	21.57 $\pm$ 3.31
治疗组	30	13	17	64.50 $\pm$ 3.06	20.30 $\pm$ 2.48
χ^2/t		0.268		0.634	1.678
P		0.605		0.529	0.099

1.2 方法 所有患者均给予常规药物治疗,包括抗血小板聚集、改善循环、营养脑神经等。康复治疗在患者生命体征平稳,神经系统症状不再进展 48 h 后开始,包括:(1)肢位的摆放,体位转换;(2)患肢主被动活动;(3)床上训练;(4)床边坐位、平衡训练;(5)床椅转换、站立训练;(6)步行、上下楼梯训练;(7)日常生活能力训练包括进食、修饰、穿衣、洗澡等;(8)作业治疗,患肢无自主活动,利用健侧带动患侧上肢进行推

磨砂板、擦桌子、套圈等诱发肌肉活动,患肢有自主活动,采用运动再学习方法锻炼上肢功能。以上训练每次 90 min,每天 2 次,每周 5 d,连续治疗 4 周。

治疗组在对照组基础上,加用 HBO 治疗,采用烟台宏远有限公司生产的 GY3200 型空气加压舱,治疗压力 2.2 ATA,升压时间 15 min,待稳压后戴面罩吸纯氧共 3 次,每次吸氧 20 min,间隔休息 5 min 并吸舱内压缩空气,最后经匀速减压 15 min 后常压出舱,整个治疗时间约 105 min。HBO 治疗每天 1 次,每周 5 d,10 d 为 1 个疗程,共 2 个疗程。

1.3 疗效判定及观察指标

1.3.1 两组患者临床疗效比较 以神经功能缺损为判定标准,当神经功能缺损评分下降 $>80\%$ 为显效;当神经功能缺损评分下降在 $20\%\sim 80\%$ 为有效,当神经功能缺损评分下降 $<20\%$ 为无效。总有效率=(显效例数+有效例数)/总例数 $\times 100\%$ 。

1.3.2 简式 Fugl-Meyer 运动功能评估量表(FMA)评分^[6] 用于评价四肢运动功能,满分 100 分,分值越高表示运动功能越好。

1.3.3 改良 Barthel 指数(MBI)评分^[7] 用以评估个人日常生活能力,满分 100 分,得分越高代表个人日常生活能力越好。

上述 2 种评估量表分别于康复治疗前、治疗 2 周及 4 周后进行评定,并且同 1 例患者在治疗前后由同 1 名评估师评定。

1.3.4 外周血 CD34⁺细胞数绝对值检测 两组患者均在治疗前、治疗 2 周及 4 周后分别于清晨采集空腹静脉血 2 mL,使用流式细胞仪(美国 BD 公司)严格按照 pro COUNT 试剂盒标准,计算 CD34⁺细胞数绝对值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行数据处理和分析,呈正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组内比较采用配对 t 检验,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床疗效比较 治疗组的治疗总有效率为 80.00%,明显高于对照组的 53.33%,差异有统计学意义($\chi^2=4.80,P=0.028$)。见表 2。

表 2 两组临床疗效比较[n(%)]					
组别	n	显效	有效	无效	总有效
对照组	30	1(3.33)	15(50.00)	14(46.67)	16(53.33)
治疗组	30	3(10.00)	21(70.00)	6(20.00)	24(80.00)

2.2 两组治疗前后 FMA 评分比较 治疗前,两组患者 FMA 评分比较,差异无统计学意义($P>0.05$);治疗 2 周及 4 周后,两组 FMA 评分均高于治疗前,差异有统计学意义($P<0.05$);与同期对照组比较,治疗组 FMA 评分升高($P<0.05$)。见表 3。

表 3 两组治疗前后 FMA 评分比较($\bar{x}\pm s$,分)				
组别	<i>n</i>	治疗前	治疗 2 周后	治疗 4 周后
对照组	30	71.00±4.05	74.67±4.57 ^a	78.23±4.52 ^{ab}
治疗组	30	70.37±3.81	78.97±5.47 ^a	83.53±4.16 ^{ab}
<i>t</i>		0.624	3.304	4.729
<i>P</i>		0.194	0.002	<0.001

注:与同组治疗前比较,^a*P*<0.05;与同组治疗 2 周后比较,^b*P*<0.05。

2.3 两组治疗前后 MBI 评分比较 治疗前,两组患者 MBI 评分比较,差异无统计学意义(*P*>0.05);治疗 2 周及 4 周后,两组 MBI 评分均高于治疗前,差异有统计学意义(*P*<0.05);与同期对照组比较,治疗组 FMA 评分升高(*P*<0.05)。见表 4。

表 4 两组治疗前后 MBI 评分比较($\bar{x}\pm s$,分)				
组别	<i>n</i>	治疗前	治疗 2 周后	治疗 4 周后
对照组	30	39.33±5.04	45.83±4.93 ^a	53.00±4.47 ^{ab}
治疗组	30	38.50±6.04	55.33±4.34 ^a	62.17±3.87 ^{ab}
<i>t</i>		0.580	7.923	8.490
<i>P</i>		0.564	<0.001	<0.001

注:与同组治疗前比较,^a*P*<0.05;与同组治疗 2 周后比较,^b*P*<0.05。

2.4 两组外周血 CD34⁺ 细胞数绝对值比较 治疗前,两组患者外周血 CD34⁺ 细胞数绝对值比较,差异无统计学意义(*P*>0.05),治疗 2 周及 4 周后,治疗组 CD34⁺ 细胞数绝对值高于治疗前,差异有统计学意义(*P*<0.05),而对照组 CD34⁺ 细胞数绝对值无明显变化(*P*<0.05);与同期对照组比较,治疗组 CD34⁺ 细胞数绝对值升高(*P*<0.05)。见表 5。

表 5 两组治疗前后外周血 CD34 ⁺ 细胞数绝对值比较($\bar{x}\pm s$,个/微升)				
组别	<i>n</i>	治疗前	治疗 2 周后	治疗 4 周后
对照组	30	1.51±0.04	1.52±0.05	1.51±0.05
治疗组	30	1.52±0.08	2.49±0.40 ^a	4.93±0.62 ^{ab}
<i>t</i>		0.633	13.019	30.202
<i>P</i>		0.529	<0.001	<0.001

注:与同组治疗前比较,^a*P*<0.05;与同组治疗 2 周后比较,^b*P*<0.05。

3 讨 论

目前针对 IS 治疗主要侧重于缺血脑组织血管再灌注,尽早溶栓是最有效的治疗手段,然而往往由于溶栓时间窗限制难以达到满意效果,即使得到了救治,多达一半的 IS 存活患者出现了长期功能障碍,因此寻找改善神经缺损的有效救治方法成为医学界研究热点。干细胞是拥有无限增殖及高度分化潜能的一类细胞,其特点是具有自我复制更新功能,近年来,干细胞治疗在急性脑损伤修复中提供了一种新的策略,在 IS 治疗中具有良好应用前景^[8],在动物实验(脑缺血大鼠模型)中研究发现,利用干细胞治疗可削

减病灶体积,增加胶质细胞源神经生长因子和血管内皮生长因子分泌,改善血管及内皮损伤,促进轴突再生,从而改善大鼠神经功能^[9]。目前针对干细胞应用主要有两种方案:一是外源性干细胞,是通过体外培养干细胞使之分化成所需细胞并进行移植,多采用脑内、鞘内、动脉、静脉等方式给药,主要有胚胎干细胞、间充质干细胞、诱导多能干细胞^[10]。二是内源性干细胞,来自受体本身,包括神经干细胞、造血干细胞,存在于人类和哺乳动物的中枢神经系统中,主要分布于海马、脉络丛和室管膜下区,在缺血缺氧或外界诱导下可使得内源性干细胞发生增殖、分化成神经元和胶质细胞,并迁移到病灶区,修复和代偿受损的神经组织^[11],不同于外源性干细胞所带来的法律道德、免疫排斥、分离不纯等问题,内源性干细胞因其来自受体本身,更适合临床使用,具有广阔的应用前景。

造血干细胞作为内源性干细胞,主要存在于骨髓、外周血、脐带血中,在血液病、恶性肿瘤、下肢动脉硬化闭塞症等疾病的治疗中有广泛的应用。CD34⁺ 细胞作为造血干细胞特异性标志物,一方面可在早期造血干细胞中高表达,分化成各系血细胞,另一方面又可在非造血细胞中转化,如分化成神经细胞及内皮细胞。研究表明造血干细胞可诱导 IS 患者神经细胞的形成、促进新生血管及突触生成、调节脑血流量和血脑屏障渗透率及激活内源性修复^[12],参与神经组织的修复,在神经再生等方面发挥重要作用^[13]。IS 病理生理特点是脑组织缺血缺氧损伤导致机体一系列炎症反应^[14],而缺氧被认为是 IS 患者神经元死亡的主要原因,因此增加脑组织氧合是治疗脑缺血的有效手段。HBO 治疗通过物理方式提高氧分压及血氧水平,扩大血氧弥散范围,增加脑组织氧储备及受损脑区灌注,促进半暗带区氧供,改善线粒体功能和脑细胞代谢,减少细胞凋亡,增加神经营养素和一氧化氮水平,促进内源性神经干细胞神经修复^[15],此外还可修复受损内皮功能,促进侧支循环形成,建立新的轴突联系,增加缺血脑组织供血,减少神经细胞因缺血缺氧凋亡,从而使神经功能得到恢复。THOM 等^[16]率先报道 HBO 能通过刺激一氧化氮合成,促进骨髓干/祖细胞释放,使外周血 CD34⁺ 细胞总数明显增加。于强等^[17]采用 HBO 治疗脑外伤恢复期患者后发现,患者临床症状明显改善,外周血 CD34⁺ 细胞数在治疗后明显上升,与治疗前比较,差异有统计学意义(*P*<0.05),而白细胞计数无明显变化。孙阳等^[18]研究发现,HBO 治疗可使脑外伤患者昏迷程度及颅脑外伤情况减轻并改善预后,可能与 HBO 激活脑外伤患者骨髓干细胞动员,CD34⁺ 参与中枢神经功能损伤修复有关。

目前,常用造血干细胞多取自骨髓,但供体难寻,临床操作要求高等原因限制了其使用。因外周血取之便捷,越来越受到临床青睐,然而在正常情况下,人

体外周血干细胞 CD34⁺ 水平极低,且保持相对稳定,与年龄、性别无关^[18],如需利用,需提前注射造血干细胞生长因子来促进骨髓中干细胞释放至外周血并进行提纯,许多患者因其安全性、操作流程及治疗周期过长等不愿接受也限制了其临床使用。本研究发现,治疗组临床治疗总有效率明显高于对照组($P < 0.05$);两组患者治疗后 FMA 评分和 MBI 评分均有明显改善,且治疗组改善程度更明显($P < 0.05$),表明 HBO 治疗 IS 可有效缓解患者临床症状,利于肢体功能恢复,提高患者日常生活能力;同时经 HBO 治疗后,治疗组患者外周血 CD34⁺ 细胞数绝对值逐渐升高,且高于同期对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组患者在治疗前 CD34⁺ 细胞数绝对值并无明显差异,经过 HBO 治疗后,治疗组 CD34⁺ 细胞数绝对值明显高于对照组,同时神经功能恢复情况也明显优于对照组,这表明 HBO 治疗可动员患者骨髓干细胞释放至外周血,从而提升外周血 CD34⁺ 细胞数量,由此推测,IS 患者体内的外周血干细胞 CD34⁺ 可能参与脑血管再生和脑组织修复。但本研究之所以采用外周血干细胞,一是外周血干细胞采集简便,损伤小,二是 CD34⁺ 细胞可作为造血干细胞特异标志物,临床上可通过流式细胞仪进行 CD34⁺ 计数。

综上所述,HBO 可通过动员骨髓干细胞释放的途径,提高 IS 患者体内的 CD34⁺ 细胞水平,参与神经功能损伤修复。但本研究仍有不足之处,如样本量偏少,治疗时间较短,无法观测 CD34⁺ 细胞水平后续动态变化,以及 CD34⁺ 细胞是否向损伤部位归巢等,还需临床进一步研究。

参考文献

- [1] AKELLA A, BHATTARAI S, DHARAP A. Long non-coding RNAs in the pathophysiology of ischemic stroke [J]. *Neuromolecular Med*, 2019, 21(4): 474-483.
- [2] EFRATI S, BEN-JACOB E. Reflections on the neurotherapeutic effects of hyperbaric oxygen [J]. *Expert Rev Neurother*, 2014, 14(3): 233-236.
- [3] 王淑娜, 廖朝玉. 脑卒中干细胞治疗机制及临床研究进展 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2019, 33(2): 81-92.
- [4] KAWABORI M, SHICHINOHE H, KURODA S, et al. Clinical trials of stem cell therapy for cerebral ischemic stroke [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(19): 7380.
- [5] 彭斌, 吴波. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018 [J]. 中

华神经科杂志, 2018, 51(9): 666-682.

- [6] 周宙. 功能性移动训练改善脑卒中患者运动能力及日常生活能力的临床研究 [J]. *中国康复*, 2019, 34(7): 375-377.
- [7] 沈佐廷, 杨晓玲. 针刺联合康复训练对脑梗死患者神经功能和肢体功能障碍的影响观察 [J]. *贵州医药*, 2022, 46(1): 72-73.
- [8] LIU X, YE R, YAN T, et al. Cell based therapies for ischemic stroke: from basic science to bedside [J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 115: 92-115.
- [9] SMITH E J, STROEMER R P, GORENKOVA N, et al. Implantation site and lesion topology determine efficacy of a human neural stem cell line in a rat model of chronic stroke [J]. *Stem Cells*, 2012, 30(4): 785-796.
- [10] 陈秋竹, 李岭, 解慧琪. 不同类型干细胞在缺血性脑卒中治疗中的应用研究进展 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2021, 35(1): 111-117.
- [11] 王帅, 董洪选, 陈丹莹, 等. 人脐带间充质干细胞移植联合小剂量超短波对大鼠脊髓损伤星形胶质细胞形成的影响 [J]. *中国康复医学杂志*, 2021, 36(6): 649-656.
- [12] 周芮, 杨婷婷, 张磊, 等. 人脂肪源性血管外膜细胞对 CD34⁺ 造血干/祖细胞体外支持的实验研究 [J]. *宁夏医科大学学报*, 2021, 43(5): 453-460.
- [13] LI G, YU F, LEI T, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell therapy in ischemic stroke: mechanisms of action and treatment optimization strategies [J]. *Neural Regen Res*, 2016, 11(6): 1015-1024.
- [14] 潘碧筠, 李黎. 高压氧联合有氧康复训练对脑梗死恢复期颈动脉斑块、NF- κ B、MMP-7 和 sICAM-1 的影响 [J]. *检验医学与临床*, 2021, 18(13): 1899-1903.
- [15] MIJAJLOVIC M D, ALEKSIC V, MILOSEVIC N, et al. Hyperbaric oxygen therapy in acute stroke: is it time for Justitia to open her eyes [J]. *Neurol Sci*, 2020, 41(6): 1381-1390.
- [16] THOM S R, BHOPALE V M, VELAZQUEZ O C, et al. Stem cell mobilization by hyperbaric oxygen [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 290(4): 1378-1386.
- [17] 于强, 袁志诚, 陆培松. 高压氧对脑外伤患者外周血 CD34⁺ 细胞的影响 [J]. *中国康复理论与实践*, 2008, 14(3): 255-256.
- [18] 孙阳, 黄昌仁. 高压氧治疗脑外伤的疗效及对外周血 CD34⁺ 的影响 [J]. *中国现代医学杂志*, 2017, 27(11): 45-49.

(收稿日期: 2022-03-11 修回日期: 2022-07-20)

(上接第 3329 页)

- [8] 朱佩, 刘雷蕾, 张海蓉, 等. 刘燕池运用滋阴散结方治疗肺癌术后经验 [J]. *上海中医药杂志*, 2021, 55(7): 2-4.
- [9] 陈冉, 王婷婷, 李开铃, 等. 免疫调节抗病毒中药的特性与应用 [J]. *中草药*, 2020, 51(6): 1412-1426.
- [10] 姚娜, 黄燕明, 李雪银, 等. HPLC 同时测定炙黄芪配方颗粒特征图谱及毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量 [J]. *中国现代中*

药, 2019, 21(6): 814-816.

- [11] 徐天才, 陈翠, 王泽清, 等. 云南黄精属植物资源及其药理作用的调查研究 [J]. *中国农学通报*, 2018, 34(12): 84-90.
- [12] 彭婉, 马骁, 王建, 等. 麦冬化学成分及药理作用研究进展 [J]. *中草药*, 2018, 49(2): 477-488.

(收稿日期: 2022-02-16 修回日期: 2022-07-08)