

误诊学杂志, 2007, 7(17): 4171-4172.
21 Rehman J, Monga M, Landman J, et al. Characterization of intrapelvic pressure during ureteropyeloscopy with ureteral access sheaths [J]. Urology, 2003, 61

(4): 713-718.
22 龙大治, 徐辉, 邹晓峰. 输尿管软镜技术的临床应用 [J]. 赣南医学院学报, 2009, 29(6): 833-836.
(收稿日期: 2014-01-15)

干细胞治疗女性压力性尿失禁的研究进展

汪成合¹ 陈忠^{1△}

[摘要] 压力性尿失禁(SUI)是成年女性常见的泌尿系统疾病,给患者生活、工作和社会活动带来极大的影响。目前悬吊带术治疗 SUI 较成熟,微创简便,疗效确切,但可能出现并发症或者疾病复发。尿道周围注射填充剂,如牛胶原蛋白,远期效果不理想。干细胞是近年来研究的热点,有学者已尝试用其治疗 SUI,特别是在大鼠 SUI 模型中研究较多,经尿道周围注射干细胞,如骨髓来源干细胞,肌肉来源干细胞和脂肪来源干细胞等,其可分化为平滑肌细胞等,提高大鼠尿道括约肌单位的功能,并促进神经细胞再生;注射的干细胞还可分泌多种因子,促进尿道组织再生,多种机制共同作用恢复尿道生理性的尿流控制能力。该治疗方法在临床开展较少,但仅有的数据也表明,在超声引导下经尿道周围注射干细胞能明显提高 SUI 患者的预后,改善排尿状况。

[关键词] 干细胞;女性压力性尿失禁;括约肌单位;尿道周围注射

doi: 10.13201/j.issn.1001-1420.2014.05.031

[中图分类号] R694.54 **[文献标识码]** A

Research progress of stem cell therapy in female stress urinary incontinence

WANG Chenghe CHEN Zhong

(Department of Urology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430030, China)

Corresponding author: CHEN Zhong, E-mail: chenzhongtj@126.com

Abstract Stress urinary incontinence (SUI) is a prevalent urologic problem that commonly affects women's life, daily work and social activities. Though some minimally invasive surgeries, such as Urethral slings, are effective for many cases of SUI, recurrence or complication may be inevitable. It is not satisfactory to inject bulking agent of bovine collagen periurethrally in the long term. Stem cell therapy is a research focus recently. Many researchers have applied stem cell therapy in animals especially rats suffered from SUI. It is demonstrated that stem cells (i. e., bone marrow-derived stem cells, muscle-derived stem cells, adipose-derived stem cells) that periurethrally injected into rat model of SUI could differentiate into smooth muscle cells, elevate function of urethral sphincter unit, and promote neural regeneration. The stem cells may also produce paracrine multiple factors so as to strengthen urethral tissues. Thus, the physiological function of urethral continence is improved by the above mechanisms. The method of stem cells for SUI aren't popular clinically, whereas the recent limited data indicate that micturition of SUI patients is improved significantly after transurethral ultrasound-guided periurethral injections of stem cells. In summary, as more investigations are conducted, stem cell therapy will surely carry hope for female SUI patients.

Key words stem cell; female stress urinary incontinence; sphincter unit; periurethral injection

全球范围内尿失禁患者约有两亿,而 25%~57% 的成年女性患有压力性尿失禁(stress urinary incontinence, SUI),尽管高发年龄在 45~49 岁,但 40 岁以下女性发病率也高约 12.4%^[1,2]。随着年龄增长,发病率逐步增加,这严重影响患者的生活、工作及社会活动。

SUI 主要表现为咳嗽、打喷嚏等腹压增高时尿

液不自主的自尿道流出^[3]。其病因主要为盆腔结缔组织、筋膜和韧带损伤,尿道括约肌缺失或者功能减退以及尿道外括约肌周围的神经退化^[1,4],妊娠、阴道分娩、阴道及盆腔手术、年龄、肥胖、白色人种及吸烟是其确切的危险因素^[3]。Rortveit 等^[5]研究表明,女性经阴道分娩次数及首次分娩年龄在 SUI 的发展过程中也起重要作用。可见,SUI 的病因及发病危险因素多变,理想的治疗方法是根治具体的发病原因,恢复尿道的生理功能。

当前 SUI 的确诊主要依据尿失禁症状。保守

¹华中科技大学同济医院泌尿外科(武汉,430030)

[△]审校者

通信作者:陈忠,E-mail: chenzhongtj@126.com

治疗包括盆底肌肉功能训练,功能性电刺激,盆底生物反馈训练,药物等^[6];保守治疗效果不好时多采用手术治疗,包括耻骨后尿道悬吊术、悬吊带术和尿道周围填充剂注射等。当前的治疗方法疗效确切,但大多只是改善症状,没有彻底解决尿道的病理生理原因。尿道周围注射干细胞和注射填充剂一样微创简便,而干细胞可定向分化为肌细胞,恢复尿道的生理功能,增加尿道的尿流控制能力。近年来干细胞治疗 SUI 是研究的热点,在基础及临床方面都有较大的进展。

1 基础研究

1.1 大鼠模型

女性尿流控制机制极其复杂,最新观点认为括约肌单位是尿流控制的关键。括约肌单位从外向内分为三层结构:尿道周围横纹肌,外层环形和内层纵形的平滑肌,黏膜下血管丛和上皮层。周围支持结构主要有阴道前壁,筋膜和骨骼肌^[7]。尿道神经分布:尿道平滑肌由骶副交感神经(盆神经)和胸腰段交感神经(腹下神经)支配,尿道周围横纹肌和盆底肌肉由骶神经(阴部神经)支配^[4]。大鼠 SUI 模型建立的原理为损害被动或者主动的尿道关闭功能,前者通过机械压迫造成尿道括约肌单位及尿道周围连接到盆底肌肉的韧带和筋膜损伤;后者通过损伤阴部神经从而阻断中枢神经对尿道的支配和膀胱-尿道脊髓反射^[4]。常见的大鼠 SUI 模型建立方法主要有以下两种:①大鼠阴道球囊扩张。Li 等^[8]采用 8 周龄的雌性 SD 大鼠,使其受孕,在分娩后立即建模,将 F₁₈ 导管一端连接球囊并将球囊置入大鼠阴道后,通过导管向球囊内注入 5 ml 水,另一端悬挂 160 mg 的砝码,4 个小时后取下。一周后进行双侧卵巢切除,造成大鼠绝经。通过球囊膨胀损伤被动的尿道关闭机制,诱发 SUI。②大鼠阴部神经切断。Wu 等^[1]取 4 周龄的雌性 SD 大鼠,麻醉固定后,取背部正中皮肤切口,向两侧分离切开肌肉,通过显微镜在坐骨直肠窝处分离双侧阴部神经,靠近闭孔肌切断长约 0.5 cm 的双侧阴部神经支。继而采用尿动力学检测确认 SUI 造模成功。

目前关于干细胞治疗 SUI 的动物模型主要集中在大鼠,在其他动物中开展的较少。但是,大鼠是四肢行走动物,尿流控制机制和人类有一定差别,欲使该方法能更早更安全的应用于临床,还需要在其他一些与人类物种起源更接近的动物身上加以试验研究。

1.2 尿动力学检测方法

大鼠 SUI 研究中尿动力学检测项目主要有最大膀胱容量(maximum bladder volume, MBV)、腹压漏尿点压(abdominal leak point pressure, ALPP)、最大尿道闭合压(maximum urethral closure

pressure, MUCP)、功能尿道长度(full urethral length, FUL)等,其中最常采用的是 ALPP 和 MUCP。①MBV:取大鼠仰卧位,经尿道依次插入两根 F₃ 无菌硬膜外导管分别于尿道内和膀胱内,尿道内管连接微量输液泵用于膀胱灌注,膀胱内管连接压力感应器用于测压。排空膀胱,将压力校正为零,以固定速度(如 0.5 ml/min)向膀胱内输液,液体自尿道口溢出时,MBV 即为输液速度×输液时间。②ALPP:在测量 MBV 基础上,排空膀胱,向膀胱内输入 1/2 MBV 体积液体,模拟 Valsalva 动作,轻按大鼠上腹部,逐渐增加压力,尿道口液体外溢时测得的膀胱内压为 ALPP。③MUCP:将上述膀胱内灌注导管(即尿道内管)作为尿道内压力测试导管,在其体外端连接一个三通管,三通管另外两端分别连接压力感应器和微量输液泵。将膀胱内压力调零,然后开始以固定速度向膀胱内输液,同时采用特定仪器匀速缓慢向外牵拉灌注导管,在该过程中记录膀胱内压和尿道内压。MUCP 等于尿道内压减去膀胱内压。④FUL:上述 MUCP 测量过程中,尿道内压力测试导管在距膀胱颈约 1 cm 处缓慢向外匀速牵拉,记录的尿道压超过膀胱内压的该段尿道长度即为 FUL^[1,8]。

实验中,上述数值的测量方法和标准与临床实际尚有一定的差异,大鼠的依从性也远远不如人类,故测得的数值只能粗略的反应大鼠尿流动力学变化。

1.3 动物研究中的干细胞类型

目前用于动物 SUI 研究的干细胞主要是从成体大鼠组织微血管周围分离成体干细胞(adult stem cells, ASCs),继而在体外培养成相应的间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs),MSCs 可为骨髓来源干细胞(bone marrow-derived stem cells, BMSCs)、肌肉来源干细胞(muscle-derived stem cells, MDSCs)和脂肪来源干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)^[9]。

BMSCs 是一种非造血干细胞,在体内外可分化为多种细胞系,如肌细胞、肝细胞和脂肪细胞等。Corcos 等^[10]研究表明体外分离培养的大鼠 BMSCs 可分化表达 α -平滑肌肌动蛋白和肌线间蛋白;SUI 模型大鼠尿道周围注射 BMSCs 后,LPP 明显改善,并且尿道组织切片显示肌球蛋白重链和结合蛋白染色阳性。因此,大鼠 BMSCs 体内外均可转变为肌细胞从而有效治疗 SUI。Kim 等^[11]给 SD 雌性 SUI 模型大鼠尿道双侧注射同种异体 BMSCs 后能明显提高 LPP 和 MUCP,BMSCs 可分化为肌细胞,修复损伤的肌肉组织。

临床上 BMSCs 要行骨髓穿刺才能获得,给患者增加很多痛苦,加上这种方法体外分离获得的 BMSCs 并不多,并且有可能导致感染,风险较大。

因此,相比较而言,局麻下获得 MDSCs 和 ADSCs 更简单,更安全可行,细胞数也更多。

MDSCs 是存在于肌纤维中的静止卫星细胞,能增殖为成肌细胞,进而形成肌小管和肌肉组织^[12]。Lee 等^[13]通过切断阴部神经建立雌性 SD 大鼠 SUI 模型,尿道周围注射 MDSCs,4 和 12 周时测 ALPP 和 MUCP 发现较阳性对照组均有明显上升,并且随时间延长上升更明显。Chermansky 等^[14]也采用相似方法注射 MDSCs 后 4 周,结果显示 MDSCs 能整合到尿道中段横纹肌中,并且尿道横纹肌和神经组织较阳性对照组连续性更好。表明 MDSCs 在受体大鼠组织中较强的多向分化能力和旁分泌功能,促进肌肉-神经再生。

ADSCs 能够从脂肪组织的血管间质成分中分离得到,来源丰富,并且可以分化为脂肪细胞、骨和软骨细胞、肌肉以及神经细胞^[15]。Li 等^[8]通过分娩相关的大鼠 SUI 模型,经尿道周围注射自体 ADSCs 后和对照组相比,ADSCs 注射组大鼠 ALPP 和 MBV 明显上升,尿道肌纤维更接近生理状态,尿道周围血管密度增高,VEGF(vascular endothelial growth factor)和 ERKs 1/2(p-extracellular signal-regulated kinases)蛋白表达增加。Wu 等^[1]将体外分离培养的 ADSCs 注射于去神经诱导的 SUI 大鼠尿道周围,结果显示局部尿道括约肌形态改善,功能增强,MBV 和 MUCP 增加。

值得注意的是,BMSCs 中分离的 MSCs 除具有多能分化能力外,其表面并不表达 MHC I 类分子和共刺激分子(co-stimulatory molecules, CSM),只表达 MHC II 类分子,因而可以逃避宿主免疫系统的攻击。而 MDSCs 和 ADSCs 表达具有免疫原性的表面蛋白,在临床应用中必须使用宿主自体细胞或者采用基因操纵消除细胞免疫原性^[16]。

2 临床研究

由于医学伦理和目前干细胞治疗 SUI 的外科操作尚未规范化,因此其在临床上的应用还不多。Carr 等^[17]对 8 例女性 SUI 患者用 MDSCs 治疗后随访(3~24 个月)发现,有 5 例患者症状改善,其中 1 例恢复完全自主排尿,无患者出现不良事件。治疗 3~8 个月开始出现症状改善,中位治愈或者中位持续症状改善时间为 10 个月。Strasser 等^[18]对 63 例女性 SUI 患者中的 42 例经尿道超声引导注射 MDSCs(由上臂骨骼肌组织体外分离培养得到),观察发现 MDSCs 体内可分化为成肌细胞和成纤维细胞,另外 21 例接受传统内窥镜下注射胶原蛋白。随访 1 年后,接受自体干细胞注射的 42 例患者中有 38 例治愈,而接受胶原蛋白注射的 21 例患者只有 2 例治愈。前者括约肌厚度和收缩能力的提高程度也明显高于后者。

干细胞对 SUI 中组织损伤修复的完整机制还不十分清楚。有些类型干细胞可通过静脉注射经趋化作用达到损伤部位。然而,干细胞在体内循环过程中也有可能引起微血管闭塞,造成重要器官梗死^[16]。大量的基础及临床研究都集中在尿道局部注射干细胞,但是干细胞通过其本身直接分化增殖不可能完全修复尿道损伤及恢复尿道功能,故还可能旁分泌多种因子而刺激尿道组织再生,以达到治疗 SUI 的效果^[19]。

干细胞注射到尿道周围可形成囊块,早期可发挥类似填充剂的作用而缓解 SUI 症状,随着液体吸收,囊块缩小或消失,尿失禁症状可再次出现,此后干细胞增殖分化为肌细胞,增强尿道括约肌单位功能,尿失禁症状得以持久改善^[7]。干细胞能分化为横纹肌和平滑肌,移植到患者尿道后可补充功能减退的肌肉系统,同时也能分泌多种生长因子,有些还可促进血管和肌肉生成^[19]。神经损伤是 SUI 的一个重要原因,干细胞表面可能具有神经生长因子受体,在体内外神经生长因子作用下可促进尿道神经再生^[20]。因此,干细胞从修复尿道生理结构和恢复尿道功能等方面起到治疗 SUI 的作用。

3 小结

综上所述,目前对干细胞治疗 SUI 的基础研究中动物模型及疗效评估方法均已成熟,可进一步对该治疗方法的机制进行更加细致全面的探索。该治疗方法在临床上也取得了一定的进展,超声引导下尿道周围注射干细胞,疗效确切。从病因学考虑,干细胞治疗 SUI 有很多优势,传统手术治疗 SUI 更多的关注改善症状,较少根治具体的病因。

干细胞种类较多,从现有研究来看,我们认为 ADSCs 有着广阔的临床应用价值,其取材丰富方便,获取的干细胞较多,对患者创伤小,相对安全无风险,从脂肪组织获取到完成注射需时较短。同时,取患者自体干细胞,排除了组织免疫排斥的可能性。然而,干细胞体外分离培养尚缺乏成熟统一的操作规范。干细胞体内注射方式的选择、体内注射的干细胞存活分化能力、该治疗方法有无并发症及其他不良反应等,这些都无足够的证据支持,伦理上也未通过。但是,随着医学的不断进步,我们相信干细胞治疗 SUI 定能给更多的患者带来新的希望。

[参考文献]

- 1 Wu G, Song Y, Zheng X, et al. Adipose-derived stromal cell transplantation for treatment of stress urinary incontinence[J]. *Tissue Cell*, 2011, 43(4): 246-253.
- 2 Pollard M E, Morrisroe S, Anger J T. Outcomes of pregnancy following surgery for stress urinary incontinence; a systematic review[J]. *J Urol*, 2012, 187(6): 1966-1970.

- 3 Shirvan M K, Alamdari D H, Mahboub M D, et al. A novel cell therapy for stress urinary incontinence, short-term outcome[J]. *Neurourol Urodyn*, 2013, 32(4): 377-382.
- 4 Koike Y, Furuta A, Suzuki Y, et al. Pathophysiology of urinary incontinence in murine models[J]. *Int J Urol*, 2013, 20(1): 64-71.
- 5 Rortveit G, Hannestad Y S, Daltveit A K, et al. Age- and type-dependent effects of parity on urinary incontinence; the Norwegian EPINCONT study[J]. *Obstet Gynecol*, 2001, 98(6): 1004-1010.
- 6 Giberti C, Gallo F, Schenone M, et al. Stem cell therapy for male urinary incontinence[J]. *Urol Int*, 2012.
- 7 Gräs S, Lose G. The clinical relevance of cell-based therapy for the treatment of stress urinary incontinence [J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2011, 90(8): 815-824.
- 8 Li G Y, Zhou F, Gong Y Q, et al. Activation of VEGF and ERK1/2 and improvement of urethral function by adipose-derived stem cells in a rat stress urinary incontinence model[J]. *Urology*, 2012, 80(4): 953.e1-e8.
- 9 Allahverdiyev A M, Baydar S Y, Bagirova M, et al. Microcapillary culture method; a novel tool for in vitro expansion of stem cells from scarce sources[J]. *Arch Med Res*, 2012, 43(6): 423-430.
- 10 Corcos J, Loutochin O, Campeau L, et al. Bone marrow mesenchymal stromal cell therapy for external urethral sphincter restoration in a rat model of stress urinary incontinence [J]. *Neurourol Urodyn*, 2011, 30(3): 447-455.
- 11 Kim S O, Na H S, Kwon D, et al. Bone-marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation enhances closing pressure and leak point pressure in a female urinary incontinence rat model[J]. *Urol Int*, 2011, 86(1): 110-116.
- 12 Chancellor M B, Yokoyama T, Tirney S, et al. Preliminary results of myoblast injection into the urethra and bladder wall; a possible method for the treatment of stress urinary incontinence and impaired detrusor contractility[J]. *Neurourol Urodyn*, 2000, 19(3): 279-287.
- 13 Lee J Y, Paik S Y, Yuk S H, et al. Long term effects of muscle-derived stem cells on leak point pressure and closing pressure in rats with transected pudendal nerves [J]. *Mol Cells*, 2004, 18(3): 309-313.
- 14 Chermansky C J, Tarin T, Kwon D D, et al. Intraurethral muscle-derived cell injections increase leak point pressure in a rat model of intrinsic sphincter deficiency [J]. *Urology*, 2004, 63(4): 780-785.
- 15 Tabit C J, Slack G C, Fan K, et al. Fat grafting versus adipose-derived stem cell therapy; distinguishing indications, techniques, and outcomes[J]. *Aesthetic Plast Surg*, 2012, 36(3): 704-713.
- 16 Goldman H B, Sievert K D, Damaser M S. Will we ever use stem cells for the treatment of SUI? ICI-RS 2011 [J]. *Neurourol Urodyn*, 2012, 31(3): 386-389.
- 17 Carr L K, Steele D, Steele S, et al. 1-year follow-up of autologous muscle-derived stem cell injection pilot study to treat stress urinary incontinence[J]. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct*, 2008, 19(6): 881-883.
- 18 Strasser H, Marksteiner R, Margreiter E, et al. Autologous myoblasts and fibroblasts versus collagen for treatment of stress urinary incontinence in women; a randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2007, 369(9580): 2179-2186.
- 19 Lin C S, Lue T F. Stem cell therapy for stress urinary incontinence; a critical review [J]. *Stem Cells Dev*, 2012, 21(6): 834-843.
- 20 Zhao W, Zhang C, Jin C, et al. Periurethral injection of autologous adipose-derived stem cells with controlled-release nerve growth factor for the treatment of stress urinary incontinence in a rat model [J]. *Eur Urol*, 2011, 59(1): 155-163.

(收稿日期:2013-06-29)

参考文献著录格式

参考文献是科学论文的重要组成部分,能够反映和旁证该论文的最新研究成果。因此,为了便于读者进一步查阅有关资料,参考文献必须是作者亲自阅读过的并发表在正式出版物上的原始文献,所引文献必须注重权威性和时效性,只著录最必要的、最新的文献,以近 5 年的文献为宜。依据 GB/T7714-2005《文后参考文献著录规则》,请严格按下述规范著录格式书写。

[期刊]作者(三位以内姓名全列,每位之间加“,”;三位以上只写前三位,“,”后加“等”或“et al”)。文题 [J]。刊名,年份,卷(期):起页—止页。

[书籍]作者(三位以内姓名全列,每位之间加“,”;三位以上只写前三位,“,”后加“等”或“et al”)。文题 [M]。见:主编(含责任项)。书名.卷次.版次.出版地:出版者,年份:起页—止页。