

促红细胞生成素治疗大鼠急性脊髓损伤的 Meta 分析

罗海涛 周洪龙 李江浩 吕世刚 程祖珏

【摘要】目的 探讨促红细胞生成素(EPO)对急性脊髓损伤大鼠运动功能恢复的影响。方法 计算机检索PubMed、Embase、Cochrane 及中国生物医学数据库、维普信息数据库、中国知网及万方数据库,检索时限为数据库建库至2018年2月。采用Stata12.0软件进行Meta分析。结果 共纳入16个随机对照研究,包含303只大鼠,其中EPO组152只,对照组151只。Meta分析结果表明,EPO治疗后1、2、3、4、8周,大鼠BBB评分明显高于对照组($P<0.05$),6周时差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 EPO能促进脊髓损伤大鼠的运动功能恢复。

【关键词】 脊髓损伤;促红细胞生成素;大鼠;BBB评分;Meta分析

【文章编号】 1009-153X(2018)07-0471-05 【文献标志码】 A 【中国图书资料分类号】 R 651.2

Treatment of acute spinal cord injury with erythropoietin in rats: a meta-analysis

LUO Hai-tao, ZHOU hong-long, LI jiang-hao, LV shi-gang, CHENG zu-jue. Department of Neurosurgery, Second Affiliated Hospital, Nanchang University, Nanchang 330006, China

【Abstract】 Objective To explore the effects of erythropoietin (EPO) on the motor function in rats with acute spinal cord injury (aSCI). Methods The databases including PubMed, Embase, Cochranel Library, CBMdisc, VIP and WangFang were searched for the original articles about the study of the effects of EPO on the motor function in rats with aSCI. The quality of the articles was appraised according to the standard and data were extracted independently by 2 investigators. The methodology of involved trials was strictly assessed. Stata 12.0 software was used for data analysis. Results Sixteen articles of the randomized controlled trials involving 303 rats, of whom, 152 were in EPO group and 151 in the control group, were collected. The results of mta-analysis showed that the Bass Beattie Bresnahan (BBB) scale scores were significantly higher in EPO group 1, 2, 3, 4 and 8 weeks after aSCI than those in the control group [WMD=2.577, 3.304, 4.796, 4.121, 3.537; 95% CI: (1.288, 3.865), (1.652, 4.957), (2.022, 7.571), (2.623, 5.618), (1.308, 5.765)] while there was no significant difference in BBB scale scores between both the groups 6 weeks after aSCI [WMD=1.981; 95% CI: (-0.370, 4.332)]. Conclusions EPO can promote the recovery of motor function in rats with aSCI, but the effectiveness required being confirmed by the randomized controlled trials of larger sample.

【Key words】 Spinal cord injury; Erythropoietin; Motor function; Meta-analysis; Rats

急性脊髓损伤预后较差^[1、2]。促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)可以促进神经元存活和再生^[3]。文献报道EPO治疗急性脊髓损伤大鼠的疗效不一致^[4-19]。本文采用Meta分析方法系统评价EPO治疗大鼠急性脊髓损伤的疗效,为临床提供参考。

1 资料与方法

1.1 文献检索策略 计算机检索 PubMed、The Cochrane Library、Embase、中国知网数据库、万方数据库和维普数据库等中、英文数据库,检索时限为数据库建库至2018年2月。英文检索关键词包括spinal cord injuries、spinal cord contusion、spinal cord

transection、injured spinal cord、erythropoietin、recombinant human erythropoietin、EPO、rh-EPO、Randomized Controlled Trial、Randomized;中文检索关键词包括促红细胞生成素、人重组促红细胞生成素、脊髓损伤、颈髓损伤、截瘫、随机对照试验、随机。对检索到的文献,阅读其参考文献,以寻求尽可能多的随机对照研究,保证资料的完整性。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:①随机对照试验;②中、英文;③研究对象为急性脊髓损伤大鼠,治疗组采用单纯注射EPO或EPO联合其他治疗,对照组则采用注射生理盐水或单纯其他治疗。排除标准:①不是随机对照试验;②不是以大鼠为研究对象;③不是急性脊髓损伤模型;④评价运动功能不包括BBB评分;⑤数据没有给出具体数值;⑥研究质量差,修改后Jadad质量评分3分以下。

1.3 结局指标 BBB评分^[20]评估大鼠后肢运动功能。

1.4 文献筛选与质量评价 由一位作者进行检索,检

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2018.07.007

作者单位:330006 南昌,南昌大学第二附属医院神经外科(罗海涛、周洪龙、李江浩、吕世刚、程祖珏)

通讯作者:程祖珏,E-mail:juejue@126.com

索结果由另两位作者分别对纳入文献的质量进行评价,如遇到争议请第四位研究者介入讨论后确定。根据改良Jadad评分量表对纳入文献进行质量评价,主要包括:随机化,文献随机化的产生是否恰当(0~2分),随机化的隐藏是否良好(0~2分);盲法的使用是否恰当(0~2分);是否描述撤出或退出的例数及理由(0~1分)。0~3分为低质量文献,4~7分为高质量文献。采用Egger检验评估纳入的文献有无发表偏倚,评估发表偏倚对Meta分析结果的影响程度。

1.5 统计学方法 采用Stata 12.0软件进行分析,计量资料采用加权均数差(weighted mean difference, WMD)和95%置信区间(confidence interval, CI)描述。当试验结果无异质性时($P>0.1$, $I^2<50\%$),采用固定效应模型;反之,当研究间具有异质性时($P<0.1$, $I^2>50\%$),在排除临床异质性的前提下,采用随机效应模型。

2 结果

2.1 文献筛选 共检索到英文文献132篇,中文文献115篇,初步筛出6篇英文文献及16篇中文文献,通过查阅、分析和评价初筛的文献,排除6篇重复发表或者同一作者团体发表的相似文献,最终纳入10篇中文文献^[4-13]和6篇英文文献^[14-19],研究对象为各类型大鼠,发表时间为2006~2016年。

2.2 文献质量 脊髓损伤大鼠的分析,采用BBB评分为主要评价指标。共纳入16篇文献,303只大鼠,其中EPO组152只,对照组151只。所纳入研究均有明确的纳入排除标准,Jadad评分6分3篇,5分6篇,4分7篇。纳入研究基本特征和质量评价结果见表1。

2.3 Meta分析结果

2.3.1 治疗后1周BBB评分 共12篇文献^[5-11, 13, 16-19]报道EPO治疗后1周BBB评分,试验组105只,对照组103只;异质性检验显示存在异质性($I^2=99.4\%$, $P<0.001$),故采用随机效应模型进行分析;结果显示治疗后1周试验组BBB评分明显高于对照组(WMD=2.577;95%CI 1.288~3.865; $P<0.001$;图1)。

2.3.2 治疗后2周BBB评分 共10篇文献^[5, 6, 8-11, 13, 16-19]报道EPO治疗后2周BBB评分,试验组102只,对照组100只;异质性检验显示存在异质性($I^2=99.4\%$, $P<0.001$),故采用随机效应模型进行分析。结果显示试验组BBB评分明显高于对照组(WMD=3.304;95%CI 1.652~4.957; $P<0.001$;图2)。

2.3.3 治疗后3周BBB评分 共7篇文献^[6, 8, 9, 13, 16, 17, 19]报道EPO治疗后3周BBB评分,试验组51只,对照组49只;异质性检验显示存在异质性($I^2=99.6\%$, $P<0.001$),故采用随机效应模型进行分析。结果显示治疗后3周试验组BBB评分明显高于对照组(WMD=4.796;95%CI 2.022~7.571; $P<0.001$;图3)。

表 1 纳入 16 篇文献的基本特征

纳入研究	大鼠 品种	数量 (T/C)	脊髓损 伤节段	脊髓损伤 类型	干预措施(T/C)		结局指标	Jadad 评分
					T	C		
王岩松 2006 ^[4]	Wistar	7/7	T8	钝挫伤	rhEPO, 5 000 U/kg	NS	D	4
赵晔 2007 ^[5]	SD	23/23	T13	钝挫伤	rhEPO, 1 000 U/kg	NS	A、B	5
孙剑瑞 2011 ^[6]	SD	8/6	T11	脊髓半切	EPO, 5 IU/kg	NS	A、B、C、D、E、F	4
占乐云 2012 ^[7]	SD	5/5	T8	钝挫伤	rhEPO, 3 000 U/kg	NS	A	4
杨国宏 2014 ^[8]	SD	20/20	T10	钝挫伤	EPO, 5 000 U/kg	NS	A、B、C、D	5
谢中 2015 ^[9]	SD	10/10	未提及	未提及	EPO, 2 000 IU/kg	BMSC 培养液	A、B、C、D	4
曾智谋 2015 ^[10]	SD	6/6	T8~9	钝挫伤	EPO, 5 000 IU/kg	无特殊处理	A、B、D	6
王康康 2016 ^[11]	SD	10/10	T10	钝挫伤	rhEPO, 5 000 U/kg	NS	A、B	6
郑竑 2016 ^[12]	未提及	12/12	未提及	钝挫伤	EPO, 5 IU/kg+10 μl BMSCs	10 μl BMSCs	F	4
余化龙 2016 ^[13]	SD	4/4	T10	钝挫伤	EPO, 5 000 U/kg+培养基	等量 NS+培养基	A、B、C	6
Vitellaro 2007 ^[14]	SD	7/7	T9	钝挫伤	rhEPO, 5 000 U/kg	NS	D	5
Mann 2008 ^[15]	SD	12/11	T9~10	钝挫伤	EPO, 5 000 IU/kg	NS	E	5
Fabio 2008 ^[16]	SD	8/8	T9	钝挫伤	rhEPO, 1 000 U/kg	NS	A、C、D	4
Ning 2011 ^[17]	Wistar	5/5	C4~6	钝挫伤	rhEPO, 5 000 U/kg	NS	A、B、C	5
Zhao 2015 ^[18]	Wistar	10/10	T10	横断	EPO+NSCs	NSCs	A、B、D、E、F	5
Wu 2015 ^[19]	SD	6/6	T8~9	钝挫伤	EPO 转染 NSCs	未 EOP 转染 NSCs	A、B、C、D	4

注:T/C. 试验组/对照组;A~F. 治疗后1、2、3、4、6、8周BBB评分;EPO. 促红细胞生成素;BMSCs. 骨髓间充质干细胞;NSCs. 神经干细胞;NS. 生理盐水

2.3.4 治疗后 4 周 BBB 评分 共 9 篇文献^[4, 6, 8-10, 14, 16, 18, 19]报道 EPO 治疗后 4 周 BBB 评分, 试验组 82 只, 对照组 80 只; 异质性检验显示存在异质性($I^2=98.9\%$, $P<0.001$), 故采用随机效应模型进行分析。结果显示治疗后 4 周试验组 BBB 评分明显高于对照组($WMD=4.121$; 95% CI 2.623~5.618; $P<0.001$; 图 4)。

2.3.5 治疗后 6 周 BBB 评分 共 3 篇^[6, 15, 18]报道 EPO 治疗后 6 周 BBB 评分, 试验组 30 只, 对照组 27 只; 异质性检验显示存在异质性($I^2=99.6\%$, $P<0.001$), 故采用随机效应模型进行分析。结果显示治疗后 6 周试验组 BBB 评分明显高于对照组($WMD=1.981$; 95%

CI -0.370~4.332; $P>0.05$; 图 5)。

2.3.6 治疗后 8 周 BBB 评分 共 3 篇文献^[6, 12, 18]报道 EPO 治疗后 8 周 BBB 评分, 试验组 30 只, 对照组 28 只; 异质性检验显示存在异质性($I^2=98.9\%$, $P<0.001$), 故采用随机效应模型进行分析。结果显示治疗后 8 周试验组 BBB 评分明显高于对照组($WMD=3.537$; 95% CI 1.308~5.765; $P<0.001$; 图 6)。

3 讨论

急性脊髓损伤后神经功能恢复一直是亟待解决问题之一。目前脊髓损伤治疗研究主要集中在三个方向, 即基因治疗、干细胞移植及药物治疗, 但均未能取得满意的结果。

EPO 不但可以刺激红细胞前体细胞增殖分化

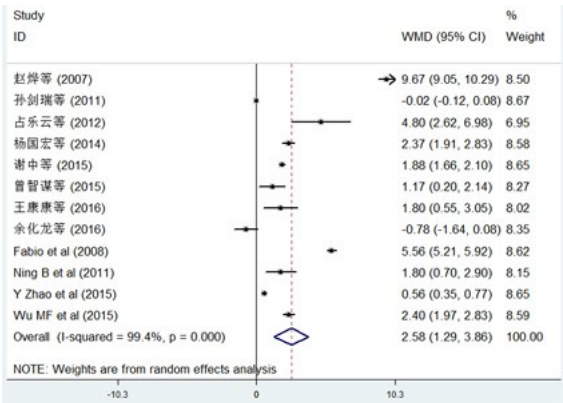


图 1 促红细胞生成素治疗脊髓损伤大鼠 1 周 BBB 评分

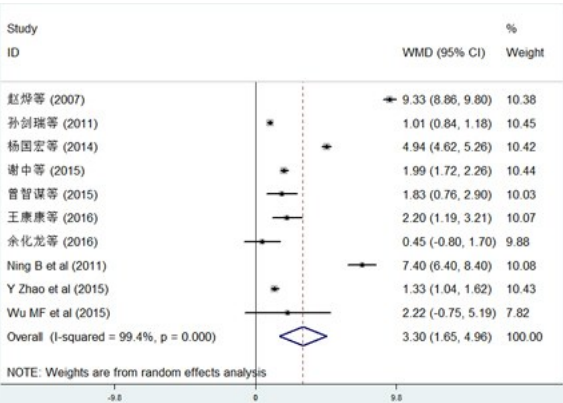


图 2 促红细胞生成素治疗脊髓损伤大鼠 2 周 BBB 评分

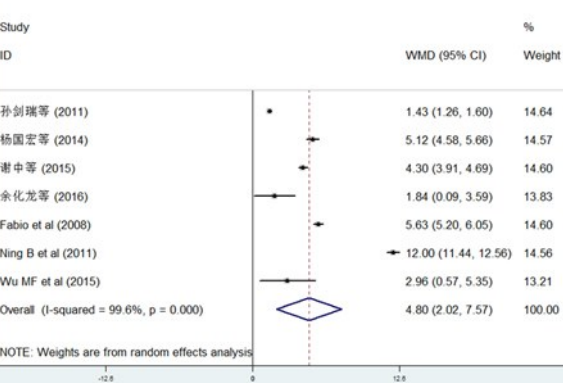


图 3 促红细胞生成素治疗脊髓损伤大鼠 3 周 BBB 评分

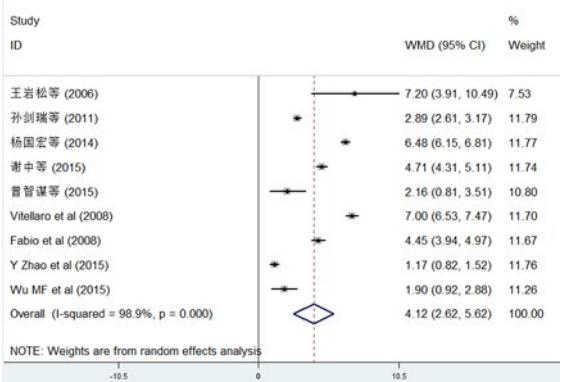


图 4 促红细胞生成素治疗脊髓损伤大鼠 4 周 BBB 评分

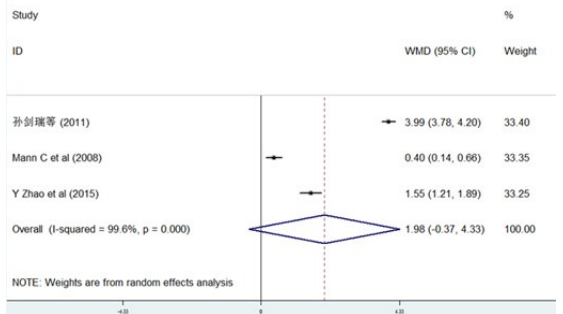


图 5 促红细胞生成素治疗脊髓损伤大鼠 6 周 BBB 评分

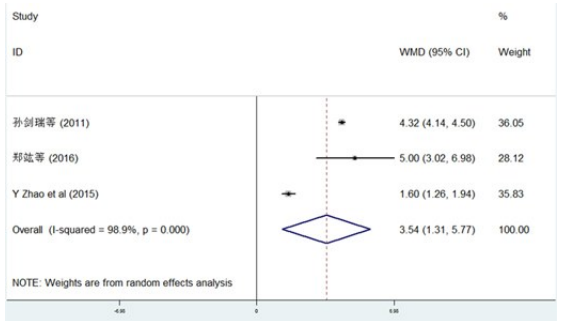


图 6 促红细胞生成素治疗脊髓损伤大鼠 8 周 BBB 评分

[21], 而且对神经系统也可起到保护作用^[22, 23], 但具体机制尚不清楚。EPO 可促进脑损伤早产鼠的血管新生反应发生, 而新生血管生发可为神经元的再生提供良好基础^[24]; 还可促进新生神经元的增殖和改善神经功能^[25]; 大剂量人重组 EPO 能够很好地透过血脑屏障^[26]。这为外源性 EPO 治疗脊髓损伤提供理论可能。

目前, EPO 治疗人脊髓损伤的随机对照试验研究较少^[27-31], 内容大多为 EPO 联合激素治疗与单纯激素治疗比较。本文采用 Meta 分析方法评价 EPO 治疗急性脊髓损伤大鼠的效果, 共纳入 16 个随机对照研究, 包括 303 只大鼠; Meta 分析结果显示, EPO 治疗后 1、2、3、4、8 周, 大鼠 BBB 评分显著提高, 而在 6 周时大鼠 BBB 评分无明显变化。其原因可能与评价 6 周 BBB 评分纳入文献少(仅 3 篇)、样本量小、异质性大等因素有关, 因此, 我们认为尚需纳入更多高质量的随机对照试验才能得到更加可靠的结论。

虽然我们严格统一文献评价指标, 录用数据时采用双盲法, 但由于每只大鼠脊髓损伤方式、程度及部位的差异, 评分存在个人主观性, 都可导致异质性。另外, 各研究实验大鼠的大小、性别、年龄等因素及 EPO 使用剂量、治疗连续时间、注射方式等因素存在差异, 也可产生异质性。所有研究都不清楚分配隐藏是否恰当, 因此存在选择性偏倚的可能性。

总之, EPO 促进脊髓损伤大鼠的神经功能恢复效果较佳, 是一种值得进一步深入研究的神经修复方案。

【参考文献】

- [1] Sekhon LH, Fehlings MG. Epidemiology, demographics, and pathophysiology of acute spinal cord injury [J]. *Spine*, 2001, 26(24): 2-12.
- [2] Grant RA, Quon JL, Abbed KM. Management of acute traumatic spinal cord injury [J]. *Curr Treat Options Neurol*, 2015, 17(2): 334.
- [3] Zhang Y, Wang L, Dey S, *et al.* Erythropoietin action in stress response, tissue maintenance and metabolism [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(6): 10296-10333.
- [4] 王岩松, 姚 猛, 刘 斌, 等. 脊髓损伤后促红细胞生成素对 bcl-2 的影响[J]. *中华显微外科杂志*, 2006, 29(2): 106-109.
- [5] 赵 晔, 丁文元, 张 为, 等. 促红细胞生成素对大鼠急性脊髓损伤后后肢功能及 NF- κ B 表达的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2007, 22(10): 904-907.
- [6] 孙剑瑞, 殷德涛, 周金桥. 促红细胞生成素和羊膜间充质干细胞协同治疗促进脊髓损伤再生[J]. *中华实验外科杂志*, 2011, 28(7): 1087-1089.
- [7] 占乐云, 方海滨, 吕 恩. 促红细胞生成素和甲基泼尼松龙对大鼠急性脊髓损伤的疗效比较[J]. *重庆医学*, 2012, 41(26): 2746-2748.
- [8] 杨国宏, 张春军, 赵富生, 等. 自体骨髓基质干细胞移植联合 EPO 治疗脊髓损伤的研究[J]. *中国医学创新*, 2014, 11(32): 1-3.
- [9] 谢 中, 羊明智, 胡文凯, 等. EPO 联合 BMSCs 治疗对大鼠脊髓损伤修复的影响[J]. *中南医学科学杂志*, 2015, 43(3): 262-265.
- [10] 曾智谋, 范忠诚, 张 寿, 等. 骨髓间充质干细胞联合促红细胞生成素治疗大鼠脊髓损伤[J]. *中华实验外科杂志*, 2015, 32(4): 854-857.
- [11] 王康康, 张 辉, 方 晓, 等. EPO 治疗对大鼠脊髓损伤后脊髓运动功能恢复的实验研究[J]. *安徽医科大学学报*, 2016, 51(12): 1776-1780.
- [12] 郑 竑, 张 韬, 林振恩, 等. 骨髓间充质干细胞靶向移植和促红细胞生成素联合治疗脊髓损伤[J]. *中华实验外科杂志*, 2016, 33(11): 2490-2492.
- [13] 余化龙, 何 宁, 刘志刚, 等. 骨髓间充质干细胞联合 EPO 对急性脊髓损伤大鼠神经功能的影响及机制探讨[J]. *山东医药*, 2016, 56(18): 37-39.
- [14] Vitellaro-Zuccarello, Mazzetti S, Madaschi L, *et al.* Erythropoietin-mediated preservation of the white matter in rat spinal cord injury [J]. *Neuroscience*, 2007, 144: 865-877.
- [15] Mann C, Lee JH, Liu J, *et al.* Delayed treatment of spinal cord injury with erythropoietin or darbepoetin—a lack of neuroprotective efficacy in a contusion model of cord injury [J]. *Exp Neurol*, 2008, 211(1): 34-40.
- [16] Fumagalli F, Madaschi L, Brenna P, *et al.* Single exposure to erythropoietin modulates nerve growth factor expression in the spinal cord following traumatic injury: comparison with methylprednisolone [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 578(10): 19-27.
- [17] Ning B, Zhang A, Song H, *et al.* Recombinant human erythropoietin prevents motor neuron apoptosis in a rat model of cervical sub-acute spinal cord compression [J]. *Neurosci Lett*, 2011, 490(1): 57-62.
- [18] Zhao Y, Zuo Y, Wang XL, *et al.* Effect of neural stem cell transplantation combined with erythropoietin injection on axon regeneration in adult rats with transected spinal cord

injury [J]. Genet Mol Res, 2015, 14(4): 17799–17808.

[19] Wu MF, Zhang SQ, Gu R, *et al.* Transplantation of erythropoietin gene-modified neural stem cells improves the repair of injured spinal cord [J]. Neural Regen Res, 2015, 10(9): 1483–1490.

[20] Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats [J]. J Neurotrauma, 1995, 12(1): 1–21.

[21] Thanka T, Nangaku M. Recent advances and clinical application of erythropoietin and erythropoiesis-stimulating agents [J]. Exp Cell Res, 2012, 318(9): 1068–1073.

[22] Zhang J, Li Y, Gui Y, *et al.* Erythropoietin treatment improves neurological functional recovery in EAE mice [J]. Brain Res, 2005, 1034(1–2): 34–39.

[23] Agnello D, Bigini P, Villa P, *et al.* Erythropoietin exerts an anti-inflammatory effect on the CNS in a model of experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. brain Res, 2002, 952(1): 128–134.

[24] 朱丽华, 施 燕, 王诗雨, 等. 人重组促红细胞生成素对早产儿脑室周围白质损伤模型鼠脑血管生成的影响[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2015, 30(9): 698–701.

[25] Iwai W, Stetler RA, Xing J, *et al.* Enhanced oligodendrogenesis and recovery of neurological function by erythropoietin after neonatal hypoxic/ischemic brain injury [J]. Stroke, 2010, 41(5): 1032–1037.

[26] Gorio A, Gokmen N, Erbayraktar S, *et al.* Recombinant human erythropoietin counteracts secondary injury and markedly enhances neurological recovery from experimental spinal cord trauma [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(14): 9450–9455.

[27] Alibai EA, Baqhbhan F, Farrokhi MR, *et al.* Effects of human erythropoietin on functional outcome of patients with traumatic cervical cord injury: a pilot randomized clinical trial [J]. Bull Emerg Trauma, 2015, 3(3): 79–85.

[28] Xiong M, Chen S, Yu H, *et al.* Neuroprotection of erythropoietin and methylprednisolone against spinal cord ischemia-reperfusion injury [J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2011, 31(5): 652–656.

[29] Costa DD, Beqhi E, Cariqnano P, *et al.* Tolerability and efficacy of erythropoietin(EPO) treatment in traumatic spinal cord injury: a preliminary randomized comparative trail vs. methylprednisolone(MP) [J]. Neurol Sci, 2015, 36(9): 1567–1574.

[30] 胡 杨, 廉 凯, 秦 文, 等. 促红细胞生成素联合甲泼尼龙治疗急性脊髓损伤的临床研究[J]. 临床急诊杂志, 2011, 12(5): 298–300.

[31] 何玉宝, 赵云华, 任龙喜, 等. 重组人促红细胞生成素联合甲泼尼龙琥珀酸治疗急性脊髓损伤的临床效果观察[J]. 中国综合临床, 2017, 33(8): 742–747.

(2018-04-07 收稿, 2018-05-01 修回)

~~~~~

(上接第 470 页)

[4] 蒋文荣. 老年颅内动脉瘤破裂后再出血的危险因素及其对预后的影响[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(11): 3081–3083.

[5] 魏 郢, 唐从峰. 介入栓塞与开颅瘤颈夹闭术治疗颅内动脉瘤破裂的对比研究[J]. 神经损伤与功能重建, 2016, 11(1): 69–71.

[6] 呼铁民, 田 甜, 王昆鹏, 等. 开颅夹闭术与血管内介入动脉瘤栓塞术治疗中青年高危颅内动脉瘤破裂效果的比较研究[J]. 实用心脑血管病杂志, 2015, 23: 81–84.

[7] 杨 学, 张雪梅. 显微开颅夹闭术治疗颅内破裂动脉瘤的效果分析[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2017, 20(6): 56–58.

[8] 刘永昌, 杨 明, 李少泉, 等. 老年颅内动脉瘤破裂患者开颅夹闭疗效及影响因素分析[J]. 实用老年医学, 2016, 30(4): 285–287.

[9] 何明方, 刘 宏, 吴政俊, 等. 早期开颅动脉瘤夹闭治疗颅内破裂动脉瘤的临床研究[J]. 解放军医药杂志, 2017, 29(3): 95–97.

[10] Mansour O, Schumacher M, Farrag MA, *et al.* Intracranial atherosclerosis: the natural history and management strategies [J]. World J Cardiovasc Dis, 2014, 4(7): 350–360.

[11] Lakicevic N, Vujotic L, Radulovic D, *et al.* Factors influencing intraoperative rupture of intracranial aneurysms [J]. Turk Neurosurg, 2015, 25(6): 858–885.

[12] Heuer GG, Smith MJ, Elliott JP, *et al.* Relationship between intracranial pressure and other clinical variables in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage [J]. J Neurosurg, 2004, 101(3): 408–416.

[13] 董永军. 超早期显微夹闭手术治疗高分级动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者的预后效果分析[J]. 实用心脑血管病杂志, 2016, 24(2): 66–68.

[14] Jou L, Britz G. Correlation between aneurysm size and hemodynamics in one individual with multiple small intracranial aneurysms [J]. Cureus, 2016, 8(7): e683.

(2018-04-25 收稿, 2018-06-22 修回)