

脂肪干细胞胶在单侧声带麻痹中的临床应用^{*}

黄栋栋¹ 孙国燕¹ 严敏² 汪文娟¹ 陈勇³ 张庆翔¹ 何双八¹

[摘要] 目的:探讨脂肪干细胞胶(SVF-gel)在单侧声带麻痹临床应用中的治疗效果。方法:回顾性研究自2017年6月—2018年12月在东南大学医学院附属南京同仁医院耳鼻咽喉头颈外科进行声带SVF-gel自体移植治疗的22例单侧声带麻痹患者的临床资料。全身麻醉支撑喉镜下,选取大腿内侧作为脂肪供区,采用SVF-gel技术获取SVF-gel,并将得到的SVF-gel移植于声带肌及声门旁间隙。分别于术前和术后进行喉成像检查,并进行嗓音学分析对比,评价治疗效果。结果:22例手术均成功移植SVF-gel;频闪喉镜检查见声带振动良好,声门闭合正常;GRBAS结果显示术后12个月及18个月患者嗓音质量明显改善;嗓音学分析显示术后12、18个月患者的最长发声时间增加,基频升高,基频微扰、振幅微扰及标准化噪声能量较术前明显下降($P<0.05$)。结论:声带SVF-gel自体移植治疗单侧声带麻痹可有效改善其嗓音质量,且远期疗效稳定。

[关键词] 脂肪干细胞胶;声带麻痹;自体移植

DOI: 10.13201/j.issn.2096-7993.2021.05.003

[中图分类号] R767.4 **[文献标志码]** A

Clinical application of SVF-gel in unilateral vocal cord paralysis

HUANG Dongdong¹ SUN Guoyan¹ YAN Min² WANG Wenjuan¹ CHEN Yong³
ZHANG Qingxiang¹ HE Shuangba¹

¹Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Nanjing Tongren Hospital, School of Medicine, Southeast University, Nanjing Tongren ENT Hospital, Nanjing, 210000, China; ²Department of Operation Room, Nanjing Tongren Hospital, School of Medicine, Southeast University; ³Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, the People's Hospital of Binhai County

Corresponding author: HE Shuangba, E-mail: hesb@njtrh.org

Abstract Objective: To investigate the therapeutic effect of SVF-gel in unilateral vocal cord paralysis. **Methods:** his investigation presented a retrospective study of SVF-gel auto-transplantation in 22 patients with unilateral vocal cord paralysis from June 2017 to December 2018 in otolaryngology head and neck surgery of Nanjing Tongren Hospital. Under the general anesthesia support laryngoscope, the medial thigh was selected as the fat supply area. SVF-gel was obtained by SVF-gel technology. The SVF-gel was transplanted into the vocal cord muscle and the paraglottic space. The laryngography was performed before and after the operation. The voice was analyzed and compared to evaluate the therapeutic effect. **Results:** SVF-gel was successfully transplanted in all 22 cases. The stroboscopic laryngoscopy showed that the vocal cords vibrated well and the glottis closed normally. The results of GRBAS showed that the voice quality of the patients at 12 and 18 months after the operation was significantly improved. The voice analysis showed that the maximum phonation time of the patients at 12 and 18 months after the operation increased. The basic frequency increased. The basic frequency perturbation, amplitude perturbation and standardized noise energy decreased significantly($P<0.05$). **Conclusion:** SVF-gel auto-transplantation can effectively improve the voice quality of unilateral vocal cord paralysis and the long-term effect is stable.

Key words SVF-gel; vocal cord paralysis; autotransplant

单侧声带麻痹是耳鼻咽喉头颈外科临床中的常见疾病,主要临床表现为重度发声障碍、饮水呛咳等,多见于肿瘤、医源性损伤及外伤。目前单侧声带麻痹的主要治疗方式是声门旁间隙自体脂肪注射术。但是传统注射术中提取的自体脂肪随着

注射治疗后时间的延长,自体脂肪存在一定程度的吸收,从而影响远期疗效^[1-3]。脂肪干细胞胶(extracellular matrix/stromal vascular fraction gel, SVF-gel)是从脂肪组织中通过物理方法提取的凝胶状浓缩脂肪提取物,其中含有大量的SVF细胞和细胞外基质,在被自体移植后其远期存有率明显高于传统脂肪组织^[4]。2017年6月—2018年12月东南大学医学院附属南京同仁医院耳鼻咽喉头颈外科应用SVF-gel对22例单侧麻痹患者进行移植治疗,效果良好,现报告如下。

*基金项目:南京市医学科技发展基金(No:QRX17033)

¹东南大学医学院附属南京同仁医院耳鼻咽喉头颈外科
东南大学医学院附属南京同仁耳鼻喉医院(南京,210000)

²东南大学医学院附属南京同仁医院手术室

³江苏省滨海县人民医院耳鼻咽喉头颈外科

通信作者:何双八,E-mail:hesb@njtrh.org

1 资料与方法

1.1 临床资料

回顾性研究 2017 年 6 月—2018 年 12 月东南大学医学院附属南京同仁医院耳鼻咽喉头颈外科进行声带 SVF-gel 移植的 22 例单侧声带麻痹患者的临床资料,其中男 9 例,女 13 例;年龄 36~71 岁,平均 49.54 岁;左侧 16 例,右侧 6 例。所有患者均表现为持续性声嘶、发声无力,部分患者伴有饮水呛咳。

1.2 检查方法

频闪喉镜检查可见患者声门张开时,健侧声带呈直线,患侧声带呈弓形;声门闭合时,声带之间存在裂隙;发声时患侧声带较健侧声带振幅减低,黏膜波减弱。所有患者术前均进行喉肌电图检查,排除环杓关节脱位;行颈部增强 CT 扫描检查排除颈部病变及颅脑磁共振成像检查排除颅脑病变;术前均签署 SVF-gel 自体移植相关医疗同意书。

1.3 手术方法

患者取仰卧位,全身静脉复合麻醉,消毒患者大腿内侧皮肤,选取大腿内侧皮下脂肪进行抽吸。将 500 mL 生理盐水 +2% 利多卡因 15 mL+ 肾上腺素 0.3 mg 混合配置成肿胀液,将适量肿胀液注射于皮下。约 5 min 后采用 20 mL 螺口注射器连接 2.5 mm 抽脂针进行负压手动抽脂。将抽取的脂肪静置后去除下层液体,放置于低速离心机,1200 × g 离心 3 min。去除下部的液体后,将上层脂肪通过内径为 1.4 mm 的双向螺口转换头连接的注射器来回推注后使脂肪乳化。乳化后的脂肪用 500 μm 直径的过滤网进行过滤,去除内部残留的纤维组织,再次离心,2000 × g 离心 3 min,离心后组织分 3 层,中间层的黏稠胶样物质即为 SVF-gel(图 1)。采用 27G 钝针连接 1 mL 注射器进行注射。以支撑喉镜暴露声带,在显微镜下进行注射。选取患侧声带后段 1/2~2/3 区域为进针区域,将注射针刺入患侧声门旁间隙进行注射,对于术前评估有声带肌萎缩患者同时进行声带肌注射。总注射量一般 1~3 mL,注射后使患侧声带膨隆,膜部体积增大,游离缘内移并越过中线 1.0~1.5 mm。患者清醒后拔除麻醉管,监测生命体征。术后禁声 7~10 d,雾化治疗 1 周。术后抽脂区以弹力绷带加压包扎固定 3 d。

1.4 效果评估

1.4.1 喉成像检查 采用动态频闪喉镜分别拍摄患者术前,术后 1 d、12 个月及 18 个月的声带图像进行对比。

1.4.2 嗓音主观评估 采用日本言语嗓音协会的 GRBAS 评估方法,评估患者包括嘶哑度(grade, G)、粗糙声(roughness, R)、气息声(breathiness,

B)、无力声(asthenia, A)和紧张声(strain, S)。每一指标分为 4 级(0~3)。正常为 0 级,轻度异常为 1 级,中度异常为 2 级,重度异常为 3 级。由 3 名嗓音分析人员分别评分后,取平均分,0 分为正常,1 分为轻度异常,2 分为中度异常,3 分为重度异常。

1.4.3 嗓音客观评估 采用多维嗓音分析系统评估嗓音质量,记录最长发声时间(MPT)、嗓音基频(fundamental frequency, F0)、基频微扰(Jitter)、振幅微扰(Shimmer)、标准化噪声能量(normalized noise energy, NNE),分别检测 2 次,取平均值。



图 1 制备好的 SVF-gel

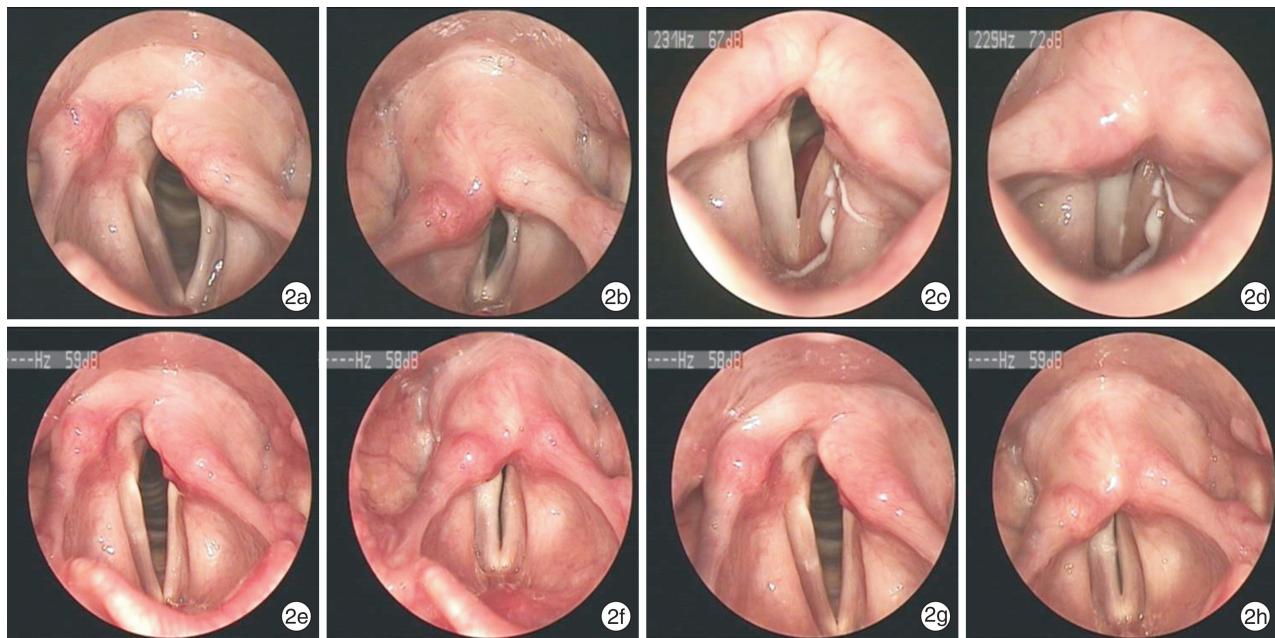
1.5 统计学分析

采用 IBM SPSS 20.0 软件进行统计学分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 *t* 检验比较连续变量,使用卡方检验比较分类变量。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

22 例患者均 SVF-gel 注射成功,于声门旁间隙进针注射,对于术前评估有声带萎缩的患者同时进行声带肌注射,注射后声带均匀膨隆,声带表面积展开增加,声带游离缘内移越过中线 1.0~1.5 mm。

术前频闪喉镜检查示患者声门张开时,健侧声带呈直线,患侧声带呈弓形;声门闭合时,声带之间存在裂隙;发声时患侧声带较健侧声带振幅减低,黏膜波减弱。术后频闪喉镜检查示所有患者发声时声门可完全或基本闭合,多数患者患侧声带振动功能逐渐恢复。术后 1 d 可见 SVF-gel 少许溢出,声带轻微水肿。术后 12 个月较术后 1 d 见 SVF-gel 部分吸收,患侧声带重新塑形,形态与健侧基本对称,声门可基本闭合。术后 18 个月患侧声带与术后 12 个月相比无明显变化,形态基本一致,未见 SVF-gel 明显进一步吸收(图 2)。



2a、2b:术前;2c、2d:术后1 d;2e、2f:术后12个月;2g、2h:术后18个月。

图2 手术前后频闪喉镜检查示声带外展与闭合图像

GRBAS结果显示,术前22例患者中多为轻中度声嘶,2例重度声嘶。术后患者嗓音质量较术前明显改善。患者嗓音质量自术后1个月出现改善,随术后时间延长,改善率持续增高。术后12个月基本稳定。术后18个月与术后12个月改善无显著性差异,见表1。

嗓音学分析显示,SVF-gel自体移植术后1个月与术前无明显差异,术后12、18个月与术前比较,MPT增加,F0升高,Jitter、Shimmer及NNE

指标下降,提示术后嗓音质量明显改善,差异有统计学意义($P<0.05$),见表2。

表1 22例患者术前术后GRBAS评级

	正常	轻度异常	中度异常	重度异常
术前	0	14	6	2
术后1个月	3	15	4	0
术后12个月	17	3	2	0
术后18个月	19	2	1	0

表2 22例患者术前术后嗓音学分析

组别	MPT/s	F0/Hz	Jitter/%	Shimmer/%	NNE/dB
男性(n=9)					
术前	4.67±1.47	146.65±12.43	0.73±0.47	4.26±1.94	-5.38±3.48
术后1个月	13.73±2.25	140.26±19.22	0.71±0.37	4.13±1.55	-7.01±3.77
术后12个月	11.63±1.67 ¹⁾	164.36±23.23 ¹⁾	0.37±0.12 ¹⁾	2.23±1.34 ¹⁾	-13.11±4.42 ¹⁾
术后18个月	11.38±1.22 ¹⁾	169.49±19.23 ¹⁾	0.33±0.17 ¹⁾	2.41±1.17 ¹⁾	-13.95±3.48 ¹⁾
女性(n=13)					
术前	5.11±2.03	210.26±29.23	0.78±0.23	3.53±1.54	-5.70±4.41
术后1个月	14.44±2.33	218.26±27.44	0.76±0.17	3.02±1.63	-6.11±3.29
术后12个月	12.74±1.77 ¹⁾	224.78±19.63 ¹⁾	0.42±0.21 ¹⁾	2.11±1.59 ¹⁾	-12.34±3.48 ¹⁾
术后18个月	12.01±2.09 ¹⁾	229.78±23.23 ¹⁾	0.39±0.18 ¹⁾	2.06±1.22 ¹⁾	-12.11±3.82 ¹⁾

与术前比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

单侧声带麻痹是当喉的运动神经(喉返神经)受到损害时,引起的声带运动障碍或肌张力松弛的一种疾病,常见临床表现为发声障碍、饮水呛咳,从而严重影响生活质量^[5]。目前单侧声带麻痹的主要治疗目的是改善患者的发声及误咽,一般在经过

保守治疗半年以上无效者,则需手术治疗。目前常见的手术术式为甲状软骨成形声带内移术和声带注射术^[6-8]。声带内自体脂肪注射术因简单微创、安全可靠、并发症发生率低等优点成为首选的治疗术式^[9]。自体脂肪取自人体,操作方便,注射人体后无排异反应,适应性高。在注射脂肪后患侧声带

呈膨隆改变,游离缘内移,声带表面积增加,从而使声带闭合时缝隙缩小,减轻发声无力感,提高嗓音质量。但是从远期疗效来看,因自体脂肪注射后的高吸收率而导致部分患者嗓音质量下降需再次手术治疗^[1-3]。

脂肪组织由成熟脂肪细胞、基质血管成分(SVF)和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)构成。传统的脂肪移植中取出的自体脂肪组织颗粒大,油脂含量高,且多为成熟的脂肪细胞。在脂肪移植早期,由于缺血缺氧以及养分的缺乏导致较多成熟的脂肪细胞易发生坏死吸收^[10-13]。由于脂肪细胞属于高耗能细胞,当养分缺乏时,反应高度敏感,超出 300 μm 区域的成熟脂肪细胞将难以存活,而脂肪组织中的脂肪干细胞对缺血缺氧抵抗力强,不容易坏死吸收,参与血运重建后的脂肪细胞再生过程^[14]。

Yao 等^[15]通过物理提取的方法分离出 SVF-gel 这一脂肪提取物,并验证出 SVF-gel 富含高浓度 CD45—/CD31—/CD34+ 脂肪干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)及 ECM 成分。SVF-gel 是从脂肪组织中通过物理方法提取,通过离心过滤等一系列操作去除多数成熟脂肪细胞及油脂,保留组织中的 SVF 和 ECM。SVF-gel 制作方便,并通过物理剪切的方法获得高浓度 ADSCs。ADSCs 具有多种分化潜质,具有易获取、低免疫原性、组织相容性好、抗击凋亡及生命力强等特点^[16]。ADSCs 可在部分脂肪细胞出现死亡等消亡情况时分化成颗粒脂肪细胞,进而对细胞形成补充,提高脂肪的成活率^[17-18]。SVF-gel 富含高浓度的 ADSCs,ADSCs 在脂肪细胞分化过程中可分泌多种促血管生成因子和成脂因子,从而有助于提高脂肪存活率,促进血管生成,有利于成脂分化^[19]。SVF-gel 中的 ECM 结构为移植后的脂肪组织再生提供了必须的“微血管支架”,有利于 ADSCs 或者移植后浸润细胞的黏附,有助于后续再血管化和成脂分化,并且有更好的塑形效果^[20-25]。目前 SVF-gel 已广泛用于面部、眼睑、泪沟、鼻唇沟等精细部位的脂肪填充并取得良好效果^[26-27]。欧令东等^[28-29]研究发现 SVF-gel 大量 ADSCs 可分泌 EGF、VEGF 等细胞因子,从而增强 HSF、HaCaT 细胞迁移和增殖能力,治疗凹陷性瘢痕的效果明显。

本课题组通过提取 SVF-gel 对 22 例单侧声带麻痹患者进行声带移植治疗。SVF-gel 较传统自体移植脂肪颗粒更小,可通过 27G 细针头进行注射,针孔较常规高压注射器更小,对组织损伤小,炎症反应轻,同时手术中注射后脂肪溢出减少。通过术后频闪喉镜拍摄的声带图像可以看出,注射 SVF-gel 后的声带水肿反应轻,黏膜波恢复速度增

加,塑形力强。移植术后 12 个月声带与术后 1 d 相比可见少许 SVF-gel 的吸收,术后 18 个月与术后 12 个月相比则无明显差异,表明 SVF-gel 远期疗效稳定,吸收率低。GRBAS 评估显示患者嗓音质量术后明显改善,随术后时间延长,改善率持续增高。嗓音学分析显示,SVF-gel 自体移植术后 1 个月未见明显改善,可能与术后声带水肿有关。术后 12、18 个月与术前比较,F0 升高,Jitter、Shimmer 及 NNE 指标下降,MPT 明显延长,提示术后嗓音质量明显改善。胡慧英等(2012)研究表明,脂肪在注射后,即使有部分脂肪被吸收,其间也仍有大量新生毛细血管和胶原纤维,声带仍可维持其轮廓和体积。本实验组注射 SVF-gel 后,虽然短时期内也有少许脂肪细胞被吸收,随着脂肪干细胞的成活与分化,移植组织内新生血管形成,及高浓度 ECM 的支架与塑形作用,在术后 12 个月声带形态基本稳定,术后 18 个月与术后 12 个月相比,声带未见明显形态变化,表明 SVF-gel 注射后远期效果稳定,不易坏死吸收。

总之,SVF-gel 声带注射治疗单侧声带麻痹效果较好,取材容易,术后反应轻,长期疗效稳定,可明显改善单侧声带麻痹患者嗓音质量。

参考文献

- [1] Umeno H, Chitose S, Sato K, et al. Long-term postoperative vocal function after thyroplasty type I and fat injection laryngoplasty [J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 2012, 121(3): 185-191.
- [2] Strong AL, Cederna PS, Rubin JP, et al. The Current State of Fat Grafting: A Review of Harvesting, Processing, and Injection Techniques [J]. Plast Reconstr Surg, 2015, 136(4): 897-912.
- [3] Laccourreye O, Papon JF, Kania R, et al. Intracordal injection of autologous fat in patients with unilateral laryngeal nerve paralysis: long-term results from the patient's perspective [J]. Laryngoscope, 2003, 113(3): 541-545.
- [4] Zhang Y, Jiang H, Yang Q, et al. Microtia in a Chinese Specialty Clinic Population: Clinical Heterogeneity and Associated Congenital Anomalies [J]. Plast Reconstr Surg, 2018, 142(6): 892e-903e.
- [5] 金技丽,陈建强,邹建定,等. 频闪喉镜联合多媒体技术的临床应用[J]. 听力学及言语疾病杂志, 2001, 9(1): 33-35.
- [6] 高为华,朱天照,秦永,等. 甲状软骨成形声带内移术治疗单侧声带运动不良的初步探讨[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2020, 34(3): 218-222, 226.
- [7] 任佳,杨慧,王海洋,等. 内镜下 A 型肉毒素声带注射治疗内收型痉挛性发声障碍疗效评估[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2020, 34(11): 1019-1023.
- [8] Siu J, Tam S, Fung K. A comparison of outcomes in interventions for unilateral vocal fold paralysis: A systematic review [J]. Laryngoscope, 2016, 126(7): 1616-

- 1624.
- [9] Sulica L, Rosen CA, Postma GN, et al. Current practice in injection augmentation of the vocal folds: indications, treatment principles, techniques, and complications[J]. *Laryngoscope*, 2010, 120(2):319-325.
- [10] Eto H, Kato H, Suga H, et al. The fate of adipocytes after non vascularized fat grafting: evidence of early death and replacement of adipocytes[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2012, 129(5):1081-1092.
- [11] Yoshimura K, Coleman SR. Complications of fat grafting: how they occur and how to find, avoid, and treat them[J]. *Clin Plast Surg*, 2015, 42(3):383-388.
- [12] Sunaga A, Sugawara Y, Katsuragi-Tomioka Y, et al. The fate of nonvascularized fat grafts: histological and bioluminescent study [J]. *Plast Reconstr Surg Glob Open*, 2013, 1(6):e40.
- [13] Lancerotto L, Chin MS, Freniere B, et al. Mechanisms of action of external volume expansion devices[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2013, 132(3):569-578.
- [14] Cuzalina A, Guerrero AV. Complications in fat grafting[J]. *Atlas Oral Maxillofac Surg Clin North Am*, 2018, 26(1):77-80.
- [15] Yao Y, Dong Z, Liao Y, et al. Adipose extracellular matrix/stromal vascular fraction gel: a novel adipose tissue-derived injectable for stem cell therapy [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2017, 139(4):867-879.
- [16] Aboul-Fotouh GI, Zickri MB, Metwally HG, et al. Therapeutic Effect of Adipose Derived Stem Cells versus Atorvastatin on Amiodarone Induced Lung Injury in Male Rat[J]. *Int J Stem Cells*, 2015, 8(2):170-180.
- [17] 杨晨,胡大海,郑朝,等.过表达胶质细胞源性神经营养因子的脂肪源性间充质干细胞对大鼠电损伤坐骨神经的作用[J].中华烧伤杂志,2015,31(3):199-204.
- [18] Weimin P, Zheng C, Shuaijun J, et al. Synergistic enhancement of bone regeneration by LMP-1 and HIF-1 α delivered by adipose derived stem cells[J]. *Biotechnol Lett*, 2016, 38(3):377-384.
- [19] Hang Y, Cai J, Zhou T, et al. Improved long-term volume retention of SVF-gel grafting with enhanced angiogenesis and adipogenesis[J]. *Hast Reconstr Surg*, 2018, 141(5):676-686.
- [20] Ceserani V, Ferri A, Berenzi A, et al. Angiogenic and anti-inflammatory properties of micro-fragmented fat tissue and its derived mesenchymal stromal cells[J]. *Vasc Cell*, 2016, 8:3.
- [21] Kontoes P, Gounnaris G. Complications of Fat Transfer for Breast Augmentation [J]. *Aesthetic Plast Surg*, 2017, 41(5):1078-1082.
- [22] Caplan AI, Correa D. The MSC: an injury drugstore [J]. *Cell Stem Cell*, 2011, 9(1):11-15.
- [23] Carstens MH, Mendieta M, Pérez C, et al. Assisted Salvage of Ischemic Fasciocutaneous Flap Using Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells: In-Situ Revascularization[J]. *Aesthet Surg J*, 2017, 37(suppl_3):S38-S45.
- [24] Zhang S, Dong Z, Peng Z, Lu F. Anti-aging effect of adipose-derived stem cells in a mouse model of skin aging induced by D-galactose[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5):e97573.
- [25] Dziki JL, Wang DS, Pineda C, et al. Solubilized extracellular matrix bioscaffolds derived from diverse source tissues differentially influence macrophage phenotype [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2017, 105(1):138-147.
- [26] 周绍龙,鲁峰,王向义,等.高密度脂肪结合脂肪干细胞胶在女性面部填充的精细化应用[J].中华整形外科杂志,2019,35(7):634-637.
- [27] 刘乾坤,鲁峰. SVF 胶在眼周部位精准填充的临床效果[J]. 中华医学美学美容杂志,2019,25(1):39-41.
- [28] 欧令东,张爱君,李昂,等.人脂肪来源干细胞胶治疗皮肤凹陷性瘢痕患者的作用及其机制[J].中华烧伤杂志,2019,35(12):859-865.
- [29] Erdim M, Tezel E, Numanoglu A, et al. The effects of the size of liposuction cannula on adipocyte survival and the optimum temperature for fat graft storage: an experimental study [J]. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2009, 62(9):1210-1214.

(收稿日期:2020-12-22)