

· 综述 ·

骨髓基质细胞与脊髓损伤次级阶段修复的相关研究

杨新明

【摘要】 随着对脊髓损伤机制研究的认识,次级阶段造成脊髓损害范围及程度远大于初级阶段,后者是不可逆转的原始损伤,而前者是继发的、可逆转的且可控制的生物化学反应过程,通过骨髓间充质干细胞移植可以对脊髓损伤次级阶段进行干预治疗,为临床精准治疗脊髓损伤奠定理论基础。本文现就脊髓损伤次级阶段病理生理变化,骨髓间充质干细胞在脊髓损伤治疗中的潜在能力及现阶段联合治疗成果进行简单的介绍。

【关键词】 脊髓损伤; 骨髓; 间质干细胞移植; 次级损伤; 脊髓修复

Related research of bone marrow stromal cells and secondary stage repair of spinal cord injury

Yang Xinming. Department of Orthopaedics, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China

Corresponding author: Yang Xinming, Email: yxm1120@sohu.com

【Abstract】 With the understanding of the mechanism of spinal cord injury, spinal cord damage scope and degree of secondary phase is greater than the primary stage, the latter is irreversible original damage, while the former is secondary, reversible and can control the biochemical reaction process, through bone marrow mesenchymal stem cell transplantation for spinal cord injury between secondary stage intervention treatment, as the theoretical basis for clinical accurate treatment of spinal cord injury. In this paper, regarding the pathophysiological changes of spinal cord injury secondary stage, between bone marrow mesenchymal stem cells in treatment of spinal cord injury potential ability and the present stage combined treatment results were introduced simply.

【Key words】 Spinal cord injuries; Bone marrow; Mesenchymal stem cell transplantation; Secondary injury; Spinal cord repair

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是由高空坠落伤、交通事故、运动外伤等多种原因引起的脊髓结构及其功能受损,具有发病率高、致残率高、病死率低、医治费用高和家庭负担重等特点。目前主要是靠药物及外科手术治疗,这些方法可以在不同程度上控制继发性损伤,阻止病情加重,缓解SCI的病理改变,但对于损伤的神经组织,这些治疗均未取得令人满意的临床疗效^[1]。随着研究的深入,SCI分为两个阶段即初级阶段和次级阶段,后者造成神经水肿、炎症反应、变性等损害程度及范围甚至大于初级阶段^[2],初级阶段的直接或间接暴力是不可逆转的,而次级阶段继发性损伤是可以干预的。近年来国内外学者在干细胞移植有望成为治疗SCI最佳方法的基础上,对SCI研究热点进入到针对减轻次级阶段而进行的基础实验,阐明SCI次级阶段病理生理变化,证明抑制次级阶段损伤炎症反应可在骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC)治疗脊髓损伤中起到协同作用^[3]。本文现就SCI次级阶段病理生理变化,BMSC在

SCI治疗中的潜在能力及现阶段联合治疗成果进行综述。

一、SCI次级阶段病理生理变化

SCI后的病理生理过程是由原发性损伤和继发性损伤两个阶段构成,原发性损伤即伤后的初级阶段,而继发性损伤即伤后次级阶段^[4]。初始的物理损伤,包括脊髓受到的牵引力、压缩力和水平剪切力,造成神经元的直接机械性破坏,即刻导致微血管与中央灰质出血以及细胞膜损伤引起血-脊髓屏障破坏,紧接着伴随出现脊髓水肿、局部缺血、炎症反应和因电解质变化而释放的细胞毒性化学物质,后者触发级联反应引发继发性损伤,使初级原发性机械损伤造成的细胞坏死和凋亡进一步加重,使尚存的临近神经元受到损害,从而降低缺血半暗带神经元的恢复概率,造成神经功能的不可逆损伤^[5]。继发性损伤即伤后次级阶段的病理生理过程加剧原发性损伤即伤后初级阶段后果,严重抑制了神经功能的修复、再生和髓鞘化,引发炎症反应、脂质过氧化、局部缺血、自由基产生、神经胶质瘢痕形成、轴突脱髓鞘、细胞坏死以及凋亡细胞破坏等^[6]。其中创伤后的炎症反应是SCI次级阶段的关键因素,其作用机制是一系列复杂的细胞及分子水平相互作用的结果,SCI后血-脊髓屏障由于出血和炎症反应失去功能,病灶自身产生的和外周趋化的炎症细胞如胶质细胞、星形胶质细胞、单核细胞、T淋巴细胞和嗜中性粒细胞等作用于损伤及周边区域脊髓,又促进且加重了SCI二次损伤的

DOI:10.3877/cma.j.issn.1673-9450.2017.07.012

基金项目:河北省卫生厅2011年医学科学研究重点项目计划(20110176);2013年度河北北方学院创新人才培育基金项目(CXRC1322)

作者单位:075000 张家口,河北北方学院附属第一医院骨科
(Email: yxm1120@sohu.com)

发展。次级阶段病理生理变化经过急性期(2 h至2 d)、亚急性期(数天至数周)、慢性期(数周至数年),每个时期都具有不同的病理生理过程。急性期经过脊髓水肿、出血、局部缺血、活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)出现和脂质过氧化,谷氨酸介导的兴奋性中毒;亚急性期经过血-脊髓屏障通透性增强,炎症脱髓鞘病变,神经细胞死亡导致神经性休克;慢性期经过巨噬细胞浸润,星形胶质细胞活化及瘢痕形成, Waller 变性,神经胶质瘢痕形成引起囊肿及瘘管,脊髓空洞和肥厚性神经鞘形成,最终导致脊髓永久不可逆损伤^[7]。然而,内源性修复和再生同样发生在 SCI 次级阶段,通过星形胶质细胞增生使脊髓损伤范围减少;通过新生毛细血管改善局部微循环,重建脊髓组织血液灌注;通过清除细胞碎片,促使轴突再生及髓鞘重新形成,重塑受损的神经回路。国内外研究表明 SCI 初级阶段原发性机械性损伤是不可逆转的,而继发性损伤即伤后次级阶段病理生理过程是可以人为阻止的。因此,基于脊髓损伤次级阶段实施 BMSC 干预治疗展现了其良好的应用前景。

二、BMSC 来源及生物学特性

BMSC 是来源于胚胎发育早期中胚层的一类多能干细胞,具有自我增殖、自我更新和多向分化能力。BMSC 通过不对称分裂,一方面维持自身干细胞数量;另一方面实现增殖与分化,大量实验证实间质干细胞在合适的理化环境下不仅可以分化为成骨细胞、软骨细胞、肌肉细胞、脂肪细胞等同胚层的细胞,而且可以跨胚层分化为外胚层的神经元、神经胶质细胞和内胚层的肝细胞、内皮细胞^[1]。BMSC 较其他移植细胞具有来源广泛、取材容易方便、在体外长期培养过程中始终保持多向分化潜能、体内移植反应弱、表面抗原非专一性、克服了免疫排斥、不存在伦理道德问题等优点^[8]。

三、BMSC 移植治疗 SCI 的方式

目前国内外学者公认可选择的方式主要包括静脉注射、损伤部位立体定位注射、脑脊液注射。静脉注射的缺点是移植细胞选择性差,血-脊髓屏障通过率低,到达损伤部位的细胞少,若要获得相同的再髓鞘化效果,静脉注射的细胞数量需要比局部注射提高两个数量级,不作为首选^[9];损伤部位立体定位注射虽然选择性强,直接针对损伤部位,但需要在 CT 或 MRI 指引下细胞悬液定点移植,对术者操作技术水平要求高,术后再次暴露脊髓,增加了感染和出血概率,易出现次生损伤,亦不作为首选^[1]。脑脊液注射方法简便,可通过腰椎穿刺术给药,将 BMSC 注入大鼠蛛网膜下腔,组织学观察发现 BMSC 不仅聚集于脊髓损伤区域的表面,还迁移入脊髓内血管周围区域,说明 BMSC 能够通过脑脊液循环到达脊髓损伤局部,并且可以进入脊髓内部^[10],所以脑脊液注射是目前首选 BMSC 移植治疗 SCI 的方式^[1]。

四、BMSC 移植治疗 SCI 次级阶段潜在能力

(一)分化为神经元和胶质细胞

SCI 后局部的神经细胞、少突胶质细胞等死亡,以及神经传导纤维断裂、脱髓鞘等,神经功能的缺失,由于神经元不能再生,而且 SCI 后局部微环境抑制了轴突的再生,这些使得丢失的神经功能难以恢复。2000 年 Woodbury 等^[11]首先报道了在体外条件下通过化学和生物诱导物使 BMSC 转化为神经元。大量动物实验表明 BMSC 在移植进入损伤模型后,

可以迁移至病变坏死区域,填充囊性区,减少脊髓空洞面积,阻止胶质瘢痕的进一步扩大,并在局部微环境的作用下定向分化为胶质细胞及神经元细胞促进神经元轴突再生,重建局部神经回路,代偿了损伤细胞的功能,即认为是 BMSC 发挥了“替代作用”^[12-15]。

(二)神经营养作用

BMSC 本身是一种支持细胞,能分泌多种生长因子,能对多种组织起支持作用。大多数学者^[16-17]均发现 BMSC 能表达脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)和神经生长因子(nerve growth factor, NGF)的 mRNA。BDNF 可以抑制局部炎症反应和细胞凋亡,在 SCI 中可促进神经元的存活和神经纤维的延长,阻止神经元胞体的萎缩,抑制且延长 SCI 后少突胶质细胞的凋亡。在修复 SCI 的过程中 BMSC 可以直接影响调节 SCI 部位的微环境,迁移至损伤处的 BMSC 可以自分泌和(或)旁分泌 BDNF、NGF、血管内皮生长因子等多种神经保护性营养因子^[18]。而神经营养因子是神经系统中重要的调节蛋白,这些因子表达上调,可以促进局部微血管再生、神经再生和重构可以调节损伤的神经元的存活、轴突生长、突触可塑性和神经递质的产生,从而在提高神经元存活率、介导轴突生长、改善神经营养等方面发挥着重要的作用^[19]。

(三)减轻炎症反应、抑制氧化应激

BMSC 能减轻损伤部位的炎症反应、抑制氧化应激^[20-21]。一方面 BMSC 可分泌多种细胞因子调节蛋白,这些因子可能具有抗氧化能力直接或间接下调脊髓组织 Toll 样受体 4 表达,减轻 Toll 样受体 4 信号通路介导的炎症反应,从而减少脊髓继发性损伤^[22]。另一方面 BMSC 通过自身分化促进其他干细胞或为内皮细胞和血管平滑肌细胞,直接生成新的血管来供应缺血部位,从根本上改善缺血、缺氧状态,使细胞线粒体功能得以恢复,减轻氧化应激。

(四)轴突再生及髓鞘重新形成

研究^[23]证实移植的 BMSC 在损伤局部可在一定条件下分化为神经元、少突胶质细胞以及星形胶质细胞,使得受损的神经通路得以重建。而 BMSC 分化的少突胶质细胞可使脱髓鞘轴突重新髓鞘化^[24],BMSC 分泌的细胞外基质如胶原纤维等神经营养因子也有助于轴突和髓鞘的再生,再次重建神经通路^[25]。并且 BMSC 可以分泌膜型基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP),MMP 降解组织基质和胶质瘢痕,解除物理屏障,在 BMSC 的迁移归巢和轴突再生中有重要作用^[26-27]。在 SCI 修复中主要修复途径为损伤后残留的神经细胞以终末出芽方式再生,连接靶细胞,重建神经环路,而 BMSC 产生大量丰富的神经营养物质如神经营养因子等供给修复,提供后勤保障。

五、BMSC 联合治疗 SCI

无论是基础研究还是临床应用单纯使用 BMSC 治疗 SCI 相对较少,多采用以 BMSC 为主的辅助联合应用治疗 SCI,国内外学者近年来研发可选用的联合治疗方案主要为联合 NGF 治疗、联合组织工程支架治疗、联合抑制剂治疗等。

如前神经营养部分所述,在神经营养作用基础上 NGF 辅助 BMSC 联合应用促进脊髓损伤功能恢复作用更明显,BMSC 在 NGF 诱导下可定向分化为神经元样细胞,促进轴突再生抑

制细胞凋亡协同恢复脊髓功能^[28]。BMSC 联合组织工程支架,利用组织工程的方法将 BMSC 种植在高分子水胶或胶原支架上^[29],然后移植到 SCI 部位,高分子水胶不仅可以作为 BMSC 在脊髓内生长的支持基质,而且可以阻遏神经胶质瘢痕的侵入,支架内还可以加入促进脊髓再生的相关营养因子,促进和导向轴突再生并穿越移植区域,从而促进 SCI 的恢复^[1]。

随着基础研究对 SCI 深入的认识,SCI 的次级阶段急性期和亚急性期大量白细胞、巨噬细胞、小胶质细胞被活化,释放大量诸如肿瘤坏死因子、白细胞介素 1 β 和白细胞介素 6 炎性因子,其中白细胞介素 6 可以增强肿瘤坏死因子、白细胞介素 1 β 炎性因子的表达,触发 SCI 早期炎症反应并发挥关键作用^[30],不利于移植细胞的生存;SCI 的次级阶段慢性期即炎症反应晚期星形胶质细胞活化形成胶质瘢痕,并分泌抑制轴突再生的硫酸软骨素蛋白聚糖,后者阻碍 BMSC 对 SCI 的修复。因此联合抑制剂治疗,可在 SCI 次发阶段加入白细胞介素 6 单克隆抗体,阻断白细胞介素 6 产生的炎症反应,下调其他炎性因子的表达,并以此保护受损脊髓,对急性期之后的 SCI 修复益处颇多^[31],提高移植细胞的成活率及修复 SCI 的成功率。

总之,干细胞在 SCI 治疗中的应用具有光明前景。然而 BMSC 治疗 SCI 仍处于萌芽阶段,面临多项挑战,如临床应用移植细胞的安全性和有效性。我们不仅需要更深一步的研究移植细胞在损伤区的病理生理变化,以确定移植细胞的最佳时机与途径,还需要进一步探索 SCI 后炎症反应中各炎性因子的具体作用途径,进而减缓甚至逆转 SCI 的次级炎症反应阶段。虽然已经有部分临床试验利用移植 BMSC 治疗 SCI,但移植的最终评价需要通过严格的对照、随机、双盲及多中心的临床试验和长期随访的大样本病例来验证行之有效的治疗方法。

参 考 文 献

- 1 王海波,杨新明,张瑛,等. 骨髓间充质干细胞移植治疗脊髓损伤的研究进展[J]. 生物骨科材料与临床研究, 2012, 9(5): 16-19.
- 2 Yip PK, Malaspina A. Spinal cord trauma and the molecular point of no return[J]. Mol Neurodegener, 2012, 7: 6.
- 3 Kumagai G, Tsoulfas P, Toh S, et al. Genetically modified mesenchymal stem cells (MSCs) promote axonal regeneration and prevent hypersensitivity after spinal cord injury[J]. Exp Neurol, 2013, 248: 369-380.
- 4 Vicente Ballesteros Plaza, Bartolomé Marré Pacheco, Celmira Martínez Aguilar, et al. Lesión de la médula espinal: actualización bibliográfica; fisiopatología y tratamiento inicial/ Lesão de medula espinal: atualização da literatura; fisiopatologia e tratamento inicial/ Spinal cord injury: literature update; physiopathology and initial treatment[J]. Coluna/Columna, 2012, 11(1): SciELO.
- 5 Jaerve A, Müller HW. Chemokines in CNS injury and repair[J]. Cell Tissue Res, 2012, 349(1): 229-248.
- 6 Jin Y, Bouyer J, Shumsky JS, et al. Transplantation of neural progenitor cells in chronic spinal cord injury[J]. Neuroscience, 2016, 320: 69-82.
- 7 Oyinbo CA. Secondary injury mechanisms in traumatic spinal cord injury: a nugget of this multiply cascade[J]. Acta Neurobiol Exp (Wars), 2011, 71(2): 281-299.
- 8 Kwon BK, Fisher CG, Dvorak MF, et al. Strategies to promote neural repair and regeneration after spinal cord injury[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2005, 30(17 Suppl): S3-S13.
- 9 Inoue M, Honmou O, Oka S, et al. Comparative analysis of remyelinating potential of focal and intravenous administration of autologous bone marrow cells into the rat demyelinated spinal cord[J]. Glia, 2003, 44(2): 111-118.
- 10 Karamouzian S, Nematollahi-Mahani SN, Nakhaee N, et al. Clinical safety and primary efficacy of bone marrow mesenchymal cell transplantation in subacute spinal cord injured patients[J]. Clin Neurol Neurosurg, 2012, 114(7): 935-939.
- 11 Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, et al. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons[J]. J Neurosci Res, 2000, 61(4): 364-370.
- 12 Kang ES, Ha KY, Kim YH. Fate of transplanted bone marrow derived mesenchymal stem cells following spinal cord injury in rats by transplantation routes[J]. J Korean Med Sci, 2012, 27(6): 586-593.
- 13 Tetzlaff W, Okon EB, Karimi Abdolrezaee S, et al. A systematic review of cellular transplantation therapies for spinal cord injury[J]. J Neurotrauma, 2011, 28(8): 1611-1682.
- 14 Uccelli A, Benvenuto F, Laroni A, et al. Neuroprotective features of mesenchymal stem cells[J]. Best Pract Res Clin Haematol, 2011, 24(1): 59-64.
- 15 Ide C, Nakai Y, Nakano N, et al. Bone marrow stromal cell transplantation for treatment of sub-acute spinal cord injury in the rat[J]. Brain Res, 2010, 1332: 32-47.
- 16 Richner M, Ulrichsen M, Elmegaard SL, et al. Peripheral nerve injury modulates neurotrophin signaling in the peripheral and central nervous system[J]. Mol Neurobiol, 2014, 50(3): 945-970.
- 17 Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement[J]. Cytotherapy, 2006, 8(4): 315-317.
- 18 Hawryluk GW, Mothe A, Wang J, et al. An in vivo characterization of trophic factor production following neural precursor cell or bone marrow stromal cell transplantation for spinal cord injury[J]. Stem Cells Dev, 2012, 21(12): 2222-2238.
- 19 Zhang YJ, Zhang W, Lin CG, et al. Neurotrophin-3 gene modified mesenchymal stem cells promote remyelination and functional recovery in the demyelinated spinal cord of rats[J]. J Neurol Sci, 2012, 313(1/2): 64-74.
- 20 Cavus G, Altas M, Aras M, et al. Effects of montelukast and methylprednisolone on experimental spinal cord injury in rats[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2014, 18(12): 1770-1777.
- 21 Nakajima H, Uchida K, Guerrero AR, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells promotes an alternative pathway of macrophage activation and functional recovery after spinal cord injury[J]. J Neurotrauma, 2012, 29(8): 1614-1625.
- 22 Lehnardt S. Innate immunity and neuroinflammation in the CNS: the role of microglia in Toll-like receptor-mediated neuronal injury[J]. Glia, 2010, 58(3): 253-263.
- 23 Hofstetter CP, Schwarz EJ, Hess D, et al. Marrow stromal cells form guiding strands in the injured spinal cord and promote recovery[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(4): 2199-2204.

- 24 Akiyama Y, Radtke C, Honmou O, et al. Remyelination of the spinal cord following intravenous delivery of bone marrow cells[J]. *Glia*, 2002, 39(3): 229-236.
- 25 Isele NB, Lee HS, Landshamer S, et al. Bone marrow stromal cells mediate protection through stimulation of PI3-K/Akt and MAPK signaling in neurons[J]. *Neurochem Int*, 2007, 50(1): 243-250.
- 26 Tondreau T, Meuleman N, Stamatopoulos B, et al. In vitro study of matrix metalloproteinase/tissue inhibitor of metalloproteinase production by mesenchymal stromal cells in response to inflammatory cytokines: the role of their migration in injured tissues [J]. *Cytotherapy*, 2009, 11(5): 559-569.
- 27 Wang LJ, Zhang RP, Li JD. Transplantation of neurotrophin-3-expressing bone mesenchymal stem cells improves recovery in a rat model of spinal cord injury[J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2014, 156(7): 1409-1418.
- 28 Lin WW, Li M, Li Y, et al. Bone marrow stromal cells promote neurite outgrowth of spinal motor neurons by means of neurotrophic factors in vitro[J]. *Neurol Sci*, 2014, 25(3): 449-457.
- 29 Chen L, Cui X, Wu Z, et al. Transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells pretreated with valproic acid in rats with an acute spinal cord injury[J]. *Biosci Trends*, 2014, 8(2): 111-119.
- 30 Jin W, Wang J, Zhu T, et al. Anti-inflammatory effects of curcumin in experimental spinal cord injury in rats[J]. *Inflamm Res*, 2014, 63(5): 381-387.
- 31 Guerrero AR, Uchida K, Nakajima H, et al. Blockade of interleukin-6 signaling inhibits the classic pathway and promotes an alternative pathway of macrophage activation after spinal cord injury in mice[J]. *J Neuroinflammation*, 2012, 9: 40.

(收稿日期:2016-10-18)

(本文编辑:甘丽)

杨新明. 骨髓基质细胞与脊髓损伤次级阶段修复的相关研究[J/CD]. 中华损伤与修复杂志(电子版), 2017, 12(1): 65-68.

