

骨髓间充质干细胞治疗脊髓损伤的研究进展

韩 博, 蒋玉东 综述; 董大明 审校

(哈尔滨医科大学附属第一医院骨外科, 哈尔滨 150001)

摘要: 干细胞移植尤其是骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cell, BMSC)移植是治疗脊髓损伤的方法之一。BMSC 具有增殖和多向分化能力良好、取材方便、易于分离培养、免疫原性低等特点, 是脊髓损伤治疗研究的热点。本文就 BMSC 的生物学特征及其治疗脊髓损伤的研究进展作一综述。

关键词: 脊髓损伤; 骨髓间充质干细胞; 联合治疗

Progress of bone mesenchymal stem cells in the treatment of spinal cord injury

HAN Bo, JIANG Yu-dong, DONG Da-ming

(Department of Orthopedics, the First Affiliated Hospital
of Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

Abstract: Stem cell transplantation, especially bone marrow mesenchymal stem cell (BMSC) transplantation, is one of the treatment methods of spinal cord injury. BMSC is a hotspot of the study on the treatment of spinal cord injury, with the characteristics of good proliferation and multi-directional differentiation ability, convenient extraction, easy isolation and culture, and no immunogenicity of autologous transplantation. This paper reviews the research progress of the biocharacteristics of BMSC and its application in the treatment of spinal cord injury.

Key words: Spinal cord injury; bone mesenchymal stem cell; combination therapy

脊髓损伤是一种以损伤平面以下感觉、运动功能完全丧失, 尿、便失禁为主要临床表现的中枢神经系统损伤, 在全球呈高发生率、高致残率、高耗费、发病年轻化等特点。脊髓损伤的治疗方法主要包括手术解除压迫、急性期大剂量激素治疗、物理治疗等, 但效果均不理想^[1-2]。近年来, 组织工程学与干细胞移植技术的发展, 为脊髓损伤的再生与修复提供了新的思路和方法, 干细胞移植治疗脊髓损伤使轴突再生、突触重建和恢复脊髓功能成为可能。骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cell, BMSC)具有来源广泛、取材方便、免疫原性低等特点, 体外易于扩增, 对病变部位“趋化性”强, 具有良好的可塑性^[3]。本文就 BMSC 的生物学特征及其治疗脊髓损伤的研究进展综述如下。

1 BMSC 的生物学特征

BMSC 首先由 Friedenstein 等^[4]于 20 世纪 70 年代发现, 是一类多能成体干细胞, 具有如下特征: (1) 增殖和分化潜能: BMSC 体外培养表现出较强的增殖能力, 在特定的培养条件下, 可被诱导为骨与软骨细胞、脂肪细胞、成纤维细胞等间充质细胞, 还可分化为心肌

细胞、神经细胞、血管内皮细胞等实质性细胞。研究结果^[5]显示, BMSC 体外培养或体内移植均具有分化为神经细胞的潜能。(2) 低免疫原性: BMSC 因低表达主要组织相容性复合体 I (major histocompatibility complex-I, MHC-I) 类抗原, 不表达 CD14、CD34、CD45、CD3 和人类白细胞 DR 抗原等表面抗原而具有低免疫原性^[6]。(3) 趋化性: Xiao 等^[7]研究表明, 组织损伤后 BMSC 可趋化至损伤处, 发挥修复作用。因此, BMSC 可为脊髓损伤的修复提供理想的细胞移植来源。

2 BMSC 治疗脊髓损伤的途径及方法

2.1 治疗途径 目前 BMSC 治疗脊髓损伤的途径主要包括: (1) 损伤段直接注射: 是指将体外分离培养的 BMSC 及培养液多靶点直接注射至脊髓损伤区域, 对损伤部位有营养作用^[8]。(2) 经静脉途径注射: 动物实验结果^[9]证实, BMSC 可随血液循环通过血-脊髓屏障持续到达损伤部位。(3) 经蛛网膜下腔途径移植: 通过腰椎穿刺将 BMSC 注入脑脊液中, BMSC 可迁移至脊髓损伤部位并修复受损的神经细胞。Modo 等^[10]研究发现, 经静脉途径和蛛网膜下腔途径注射 BMSC 治疗脊髓损伤的效果均优于直接注射, 经蛛网膜下腔途径注射简便易行, 可重复性好, 是目前较为理想的 BMSC 治疗途径。腺病毒载体及转基因细胞移植等方法因涉

及伦理问题及相关审批制度,其研究多局限于动物模型^[11]。

2.2 治疗时间 脊髓损伤后迅速出现灰白质坏死、脊髓动脉栓塞、静脉淤血、脊髓水肿,并在损伤后2~4 h达到高峰,数天之内损伤脊髓可出现广泛坏死。目前,多数动物实验关注的热点是 BMSC 治疗脊髓损伤急性期的疗效^[12]。研究结果^[13-15]显示,BMSC 在脊髓损伤急性期的保护和修复机制与脊髓损伤亚急性期、慢性期不同:在损伤急性期,BMSC 的作用以抗免疫反应、抗氧化为主;而在亚急性期及慢性期,BMSC 起刺激神经元再生、胶质细胞填充、神经通路重建等作用。研究结果^[16]显示,BMSC 移植治疗急性期、亚急性期脊髓损伤的效果较明显,而对慢性脊髓损伤几乎无治疗作用,BMSC 移植最佳时间是在脊髓损伤发生的早期即损伤后9 d左右,此时的微环境比较适合神经干细胞生长和分化。

2.3 治疗次数 治疗次数增加可使到达受损组织的 BMSC 数量增多,提高治疗效果,但也可增加二次损伤发生率,加重患者的痛苦和经济负担。李辉映等^[17]研究发现,与单次移植比较,BMSC 多次移植能促进脊髓损伤的恢复和神经功能的改善,但 BMSC 移植的最佳次数一般为3次,移植3次后神经功能的改善情况并不随着移植次数增加而更加明显。

3 BMSC 治疗脊髓损伤的机制

BMSC 治疗脊髓损伤的主要机制:(1)替代、填充作用:BMSC 可向神经细胞表型分化,并表达神经细胞特异性标记蛋白,替代损伤或已死亡的脊髓神经细胞^[18-19]。(2)神经营养作用:BMSC 可产生多种神经营养因子,如神经生长因子、脑源性神经营养因子和血管内皮生长因子等^[20],这些细胞因子表达上调可促进局部微血管再生、神经再生和重构,发挥损伤细胞修复作用。(3)减轻炎症反应、抑制氧化应激:BMSC 可减轻损伤部位的炎症反应^[21],且可分泌多种细胞因子发挥抗氧化作用^[22]。(4)桥梁作用:桥接脊髓损伤断端,形成功能性突触。Syková 等^[23]观察到移植的 BMSC 可为轴突再生提供支架,引导、趋化轴突向前生长。

4 BMSC 与其他方法联合治疗脊髓损伤

4.1 BMSC 联合其他细胞 嗅鞘细胞是存在于嗅觉系统的一种特殊类型的神经胶质细胞,具有中枢神经系统星形胶质细胞和外周雪旺细胞的特性,可表达胶质纤维酸性蛋白,参与形成胶质界膜。研究结果^[24]显示,嗅鞘细胞可明显促进 BMSC 向神经元样细胞分化,具有形成突触的潜能。雪旺细胞是包绕周围神经的特有胶质细胞,可分泌多种神经营养物质,诱导神经元的生长,还可抑制胶质瘢痕形成。研究结果^[25]证

实,BMSC 与雪旺细胞联合治疗脊髓损伤具有协同作用,可促进脊髓恢复,效果优于单一细胞移植。

4.2 BMSC 联合药物 脊髓损伤后中性粒细胞、巨噬细胞、T 细胞和小胶质细胞活化,释放炎症因子;星形胶质细胞活化形成胶质瘢痕,并分泌抑制轴突再生分子;少突胶质细胞死亡和脱髓鞘形成大量轴突再生抑制分子,进而抑制脊髓损伤的修复。BMSC 联合抗炎药物、硫酸软骨素酶 ABC,可提高移植细胞的成活率及成活时间。将米诺环素和成年小鼠脑源性神经前体细胞移植入损伤后2周的自体脊髓,发现神经细胞可存活10周以上,且神经功能显著改善^[26-27]。

4.3 BMSC 联合细胞因子 神经生长因子具有营养神经元和促进轴突生长的作用,与 BMSC 联合应用可缩小脊髓损伤处的空洞面积,促进受损轴突再生和运动功能的恢复,起到协同治疗的作用^[28]。脑源性神经营养因子可调节神经元活性、轴突生长和神经递质的分泌等,可诱导 BMSC 分化形成神经元样细胞,抑制脊髓损伤后细胞凋亡,促进脊髓细胞再生和损伤脊髓的功能恢复。胶质细胞源性神经营养因子可缓解脊髓损伤诱导的乙酰胆碱酯酶活性降低,对神经元有营养作用,在促进神经元存活、生长、分化和神经元轴突再生方面发挥重要作用。将胶质细胞源性神经营养因子基因导入 BMSC 进行移植,移植细胞持续表达较高水平胶质细胞源性神经营养因子蛋白,可稳定发挥神经营养作用,促进脊髓损伤的修复^[29-30]。

4.4 BMSC 联合组织工程支架 利用组织工程方法,将 BMSC 种植在胶原蛋白纳米纤维支架上,然后移植到脊髓损伤部位^[31-32],组织工程支架对于损伤脊髓断端起到桥接作用,而种植于材料的种子细胞和/或细胞因子可以促进神经轴突的生长和迁移。组织工程支架可作为 BMSC 在脊髓内生长的支持基质,隔离和减少胶质瘢痕的侵入,支架内还可加入促进脊髓再生的相关营养因子,促进和导向轴突再生。

5 结 语

BMSC 具有轴突再生、突触重建等作用,在脊髓损伤的修复过程发挥重要作用。将神经营养因子与组织工程材料制成的控释体与 BMSC 联合应用,可更好地改善脊髓损伤微环境,促进脊髓功能的恢复。BMSC 移植研究为脊髓损伤的治疗提供了新的思路,具有一定临床应用价值。

参考文献

- [1] 王雪峰,丁少成,李俊.前路手术治疗外伤性颈椎间盘突出伴脊髓损伤疗效分析[J].中华全科医学,2011,9(2):207-208.
- [2] 花保安,李朝顶,李朝品.嗅鞘细胞移植治疗脊髓损伤的研究进展[J].中华全科医学,2011,9(7):1117-1118.

- [3] 韩雪晶,曲德伟,肖烨,等.大鼠骨髓间充质干细胞生物学特性研究[J].临床医学,2010,30(12):102-103.
- [4] Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Gerasimov UV. Bone marrow osteogenic stemcell: *in vitro* cultivation and transplantation in diffusion chambers[J]. Cell Tissue Kinet, 1987,20(3):263-272.
- [5] 李盛华,郭平德,王文晶.中药诱导骨髓间充质干细胞向神经样细胞分化的研究进展[J].中国骨伤,2010,23(3):68-69.
- [6] Chamberlain G, Fox J, Ashton B, et al. Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing[J]. Stem Cells,2007,25(11):2739-2749.
- [7] Xiao Y, Wang Y, Li L, et al. Homing of chloromethylbenzoyl ammonia-labeled bone marrow mesenchymal stem cells in an immune-mediated bone marrow failure mouse model *in vivo*[J]. Genet Mol Res,2014,13(1):11-21.
- [8] Spaeth E, Klopp A, Dembinski J, et al. Inflammation and tumor microenvironments: defining the migratory itinerary of mesenchymal stem cells[J]. Gene Ther,2008,15(10):730-738.
- [9] Sharma HS. Early microvascular reactions and blood-spinal cord barrier disruption are instrumental in pathophysiology of spinal cord injury and repair: novel therapeutic strategies including nanowired drug delivery to enhance neuroprotection [J]. J Neural Transm(Vienna),2011,118(1):155-1576.
- [10] Modo M, Stroemer RP, Tang E, et al. Effects of implantation site of stem cell grafts on behavioral recovery from stroke damage[J]. Stroke,2002,33(9):2270-2278.
- [11] 孙佳佳,周军,杨惠林.骨髓间充质干细胞移植治疗脊髓损伤的研究进展[J].中华创伤杂志,2015,31(6):568-570.
- [12] Roh DH, Seo MS, Choi HS, et al. Transplantation of human umbilical cord blood or amniotic epithelial stem cells alleviates mechanical allodynia after spinal cord injury in rats[J]. Cell Transplant,2013,22(9):1577-1590.
- [13] 陈少强,林建华.不同移植时间窗对静脉移植骨髓间充质干细胞在大鼠损伤脊髓内存活和迁移的影响[J].解剖学杂志,2009,32(2):190-194.
- [14] Zurita M, Aguayo C, Bonilla C, et al. Perilesional intrathecal administration of autologous bone marrow stromal cells achieves functional improvement in pigs with chronic paraplegia [J]. Cytotherapy,2013,15(10):1218-1227.
- [15] Kim JW, Ha KY, Molon JN, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation for chronic spinal cord injury in rats: comparative study between intraslesional and intravenous transplantation [J]. Spine,2013,38(17):1065-1074.
- [16] 李东君,贾全章.常用脊髓损伤模型与骨髓间充质干细胞移植治疗脊髓损伤[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,13(45):8980-8981.
- [17] 李辉映,文益民,罗亚丽,等.不同次数移植 BMSCs 修复脊髓损伤的比较研究[J].中国修复重建外科杂志,2010,24(2):180-184.
- [18] Urdziková L, Jendelová P, Glogarová K, et al. Transplantation of bone marrow stem cells as well as mobilization by granulocyte-colony stimulating factor promotes recovery after spinal cord injury in rats[J]. J Neurotrauma, 2006,23(9):1379-1391.
- [19] 莫翠萍,王家传,周光前,等.骨髓间充质干细胞移植治疗大鼠脊髓损伤的神经分化研究[J].中华细胞与干细胞杂志(电子版),2015,5(4):33-39.
- [20] 冯婷婷,叶英,许铁.脑脊液诱导的大鼠 BMSC-Ns 移植对脊髓损伤大鼠神经营养因子分泌的影响[J].中国急救复苏与灾害医学杂志,2015,10(7):612-615.
- [21] Abrams MB, Dominguez C, Pernold K, et al. Multipotent mesenchymal stromal cells attenuate chronic inflammation and injury-induced sensitivity to mechanical stimuli in experimental spinal cord injury[J]. Restor Neurol Neurosci, 2009, 27(4): 307-321.
- [22] 李洪秋,王哲,阿良,等.骨髓间充质干细胞移植对大鼠脊髓损伤后氧化应激的影响[J].脊柱外科杂志,2010,8(3):157-161.
- [23] Syková E, Jendelová P, Urdziková L, et al. Bone marrow stem cells and polymer hydrogels: two strategies for spinal cord injury repair[J]. Cell Mol Neurobiol,2006,26(7):1113-1129.
- [24] 高瑞,袁文,王新伟,等.共培养条件下嗅鞘细胞对骨髓间充质干细胞向神经样细胞分化的影响[J].中国脊柱脊髓杂志,2014,24(9):834-838.
- [25] 智晓东,吕刚.大鼠骨髓间充质干细胞和许旺细胞联合移植治疗脊髓损伤[J].中国组织工程研究,2008,12(16):3015-3018.
- [26] 张达,屠冠军,韩亚新,等.米诺环素微环境对体内外骨髓间充质干细胞的影响[J].中国医科大学学报,2013,42(1):1-3.
- [27] 王超,邢喜春,李文志.星形胶质细胞活化增殖在脊髓损伤修复中作用研究进展[J].中华实用诊断与治疗杂志,2015,29(9):837-839.
- [28] Karimiabdolrezaee S, Eftekharpour E, Wang J, et al. Delayed transplantation of adult neural precursor cells promotes remyelination and functional neurological recovery after spinal cord injury[J]. J Neurosci,2006,26(13):3377-3389.
- [29] 石良晨,秦峰.胶质细胞源性神经营养因子修饰骨髓间充质干细胞移植与传统方法治疗脊髓损伤研究进展[J].中华实用诊断与治疗杂志,2015,29(5):423-425.
- [30] 翟亚萍,步星耀,王新军,等.自体骨髓干细胞动员移植联合神经营养因子和综合康复治疗持续植物状态[J].中华实用诊断与治疗杂志,2012,26(1):31-33.
- [31] 黄开,杨金华,王筱林,等.Pluronic F-127 负载骨髓间充质干细胞和碱性成纤维细胞生长因子修复兔膝关节软骨缺损[J].临床医学,2011,31(12):92-95.
- [32] Wang Y, Yao M, Zhou J, et al. The promotion of neural progenitor cells proliferation by aligned and randomly oriented collagen nanofibers through β_1 integrin/MAPK signaling pathway[J]. Biomaterials,2011,32(28):6737-6744.

收稿日期:2016-10-05 修回日期:2016-12-08 本文编辑:王霞