

综述

骨髓间充质干细胞治疗脊髓损伤的研究进展

Bone marrow mesenchymal stem cells in the treatment of spinal cord injuries: a review

李 昂, 李 波, 魏志坚, 冯世庆

(天津医科大学总医院骨科 300052 天津市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2016.01.16

中图分类号: R683.2, Q813 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2016)-01-0090-05

骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)因具有取材方便、能够自体移植、无免疫源性、不受伦理学限制等特征成为治疗脊髓损伤的种子细胞之一^[1-2], BMSCs 治疗脊髓损伤的机制主要有分化为神经样细胞、抑制炎症反应、神经营养作用及促进轴突再生^[3-4]。早期临床实验表明 BMSCs 移植治疗脊髓损伤安全、有一定疗效^[5]。笔者针对目前 BMSCs 治疗脊髓损伤中的出现新观点、新方法, 综述如下。

1 BMSCs 的神经生物学特征

Friedenstein 在 19 世纪六七十年代第一次宣布在骨髓中存在一种非造血干细胞, 可以分化为骨组织和纤维组织^[6]。1991 年 Caplan 第一次称这种细胞为 BMSCs^[7]。BMSCs 是一种具有自我更新和免疫调节能力的成纤维细胞样细胞, 能够分化为中胚层及其以外的某些细胞系列比如神经细胞等^[8], 取材方便, 容易分离, 增殖较快, 能够自体移植, 不受伦理学限制等, 在科研实验等应用中最为广泛^[9]。另外 BMSCs 在形态上具有明显的异质性, 曾有多种术语如成纤维细胞样细胞, 小圆细胞、毯子细胞、大脂肪细胞, 纺锤样细胞等^[10]。当前 BMSCs 的分离和鉴定主要依据贴壁生长, 免疫表型, 及其分化为软骨、骨及脂肪组织的能力^[11]。根据国际细胞治疗协会, 间充质干细胞必须具有以下特征: 有塑料粘附性, CD90、CD105、CD73 阳性, CD34、CD79、CD19、CD11b、CD45、CD14, 人类白细胞抗原表面分子阴性, 能够分化为脂肪组织、骨、软骨^[12]。在所有这些特征中, 最主要的是必须要有内在的自我更新的能力^[13], 因为这些表面分子的表达会随着外界因素的不同而有所变化, 比如培养条件中不同的细胞制剂, 不同的临床应用等^[14]。

2 BMSCs 的作用机制

近几年已经明确 BMSCs 可以用于脊髓损伤的治疗, 在很多动物模型上都取得功能改善, 但其作用机制仍不十

分清楚, 可能的机制主要有以下几方面。

2.1 营养支持——抑制细胞凋亡

BMSCs 移植到病灶处与宿主神经组织相互作用可以分泌一些促神经修复因子特别是营养神经的因子比如神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、血管内皮神经生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等, 即所谓的旁分泌^[15]。BDNF 可以抑制局部炎症反应和细胞凋亡, 保护受损神经细胞, 促进轴突生长。另外有证据表明 BMSCs 移植后可以通过分泌 VEGF、IL-7 促进局部血管的发生^[16]。细胞凋亡是脊髓损伤急性期和亚急性期重要的病理生理机制, 抑制细胞凋亡将明显促进脊髓损伤的修复, Isele 等发现 BMSCs 在局部可通过旁分泌效应进而激活神经元内源性的信号通路, 即 PI3K/Akt 和 MAPK/ERK1/2 来抑制神经细胞凋亡^[17]。

2.2 抑制炎症——降低氧化应激

BMSCs 不表达凋亡相关因子配体(factor-related apoptosis ligand, FASL)和免疫细胞活化共刺激分子如 CD154、CD80、CD86, 不被免疫细胞识别, 也不会激活 T 淋巴细胞, 表现出一定免疫抑制效应。另外 BMSCs 可以分泌或旁分泌各种细胞因子和趋化因子等抑制淋巴细胞、自然杀伤细胞与抗原提呈细胞的活化和增殖, 如血管内皮生长因子、吲哚胺 2,3-双加氧酶(IDO)、b7-h4 等^[18]。Tsumuraya 等^[19]在大鼠脊髓横断模型中发现 BMSCs 通过脑垂体腺嘌呤环化酶激活多肽(PACAP)基因的激活, 可降低促炎性因子如 IL-1 β 、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的表达, 同时增加抗炎性因子如 IL-4 的表达来抑制局部的炎症反应, 促进组织修复。Abrams 等^[20]认为移植 BMSCs 后下肢感觉运动的恢复在一定程度上归结于其对星形胶质细胞和小胶质细胞活性的抑制, 充当免疫抑制剂的角色。BMSCs 能明显降低损伤处的炎症反应, 通过分泌胰岛素样生长因子, 血管内皮生长因子等促进局部新生血管发生和重建, 增加损伤处组织血流灌注, 清除氧自由基, 从根本上扭转缺血缺氧状态, 促进线粒体内膜呼吸链运转, 恢复局部氧供需平衡, 减轻氧化应激。

2.3 抑制胶质瘢痕——促进轴突再生

间充质干细胞在急性期抑制了炎症反应,在慢性期和亚急性期减弱了瘢痕组织释放的轴突生长抑制因子如 Nogo-A、磷脂相关糖蛋白、CS、PG。另外 BMSCs 旁分泌神经营养因子或者与其共移植,为轴突的再生创造了良好的微环境。Lu 等通过基因工程将过表达 NT-3 的 BMSCs 注射到损伤处,发现少量的再生轴突穿过瘢痕部位,然而在后续实验中发现加入额外的神经营养因子后,即使没有剔除胶质瘢痕,也有大量的轴突再生^[20]。此外,间充质干细胞能够分泌基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs),MMPs 降解组织基质和胶质瘢痕,解除物理屏障,在 BMSCs 的迁移归巢和轴突再生中有重要作用^[21]。

2.4 诱导分化为神经样细胞——替代填充受损组织

大量研究^[22,23]表明,BMSCs 在一定条件下可以诱导分化为神经元样细胞和神经胶质细胞,替代填充受损组织,并且具有部分神经电生理特性,神经丝蛋白表达阳性,在局部形成神经回路,并整合到宿主神经网络中,恢复神经纤维传导。Kingham 等在体外对人脐带血间充质干细胞经过 β 巯基乙醇预处理,然后通过加入 GGF-2、bFGF、PDGF 和福斯高林(forskolin)成功将其诱导为雪旺样细胞,其诱导分化率为 $(42.9 \pm 3.3)\%$ ^[24]。BMSCs 可以填充脊髓损伤后形成的囊腔,减小空洞面积,Wu 等发现 BMSCs 在损伤区被胶原基质包绕,而胶原纤维通过牵拉周围宿主组织来减小囊腔大小^[25]。BMSCs 的诱导分化有化学性和生物性两类。化学诱导剂主要是一些化学试剂比如 β 巯基乙醇、乙二醇、维甲酸、二甲基亚砷等,Faghihi 等在三维明胶生物支架上利用维甲酸和音猬因子(sonic hedgehog SHH)诱导胎盘绒毛来源的间充质干细胞成功分化为了运动神经元^[26]。间充质干细胞的生物性诱导即是通过基因修饰或者与神经营养分子共培养诱导其分化^[27]。Chen 等发现在移植前经过丙戊酸预处理可以增强 BMSCs 的治疗效应,其机制可能与趋化因子受体(CXCR4)和其配体基质细胞衍生因子(stromal cell-derived factor-1 SDF-1)的作用有关^[28],总之 BMSCs 分化为神经样细胞受诸多因素调控,其分化机制尚不清楚。

然而有学者并不认同 BMSCs 可分化为神经细胞,由于当前鉴定神经元分化的方法多为形态学观察和免疫组化神经细胞标记的鉴定,有的细胞经过化学诱导剂的处理会导致细胞皱缩,而且即使是未分化的 BMSCs 也有可能自发的表达神经细胞标志;Coyne 等报道将 GFP 转基因鼠来源的 BMSCs 同时行 5-溴脱氧尿嘧啶核苷(BrdU)和双苯甲亚胺(BBZ)标记并移植到正常鼠的大脑中,BMSCs 随即被局部巨噬细胞、小胶质细胞浸润,移植后 14d 局部移植灶皱缩,GFP 免疫荧光活性消失,而直到 12 周 BrdU 和 BBZ 双标记的细胞仍然可以检测到,实验结果表明移植的 MSCs 已被局部炎症反应吞没,而传统的 BrdU 和 BBZ 标记却给出了错误的指示^[29]。虽然 BMSCs 的治疗效应已经应用在很多疾病模型中得到证实,但是移植和分化的比率却

很低,另外大量证据表明 BMSCs 通过分泌生长因子、细胞因子等调节组织再生、免疫反应,而不是 BMSCs 直接分化为受损细胞^[30]。总之,对于 BMSCs 在体内外分化为神经细胞仍存在一定的质疑。

3 结合疗法

目前治疗脊髓损伤的策略主要包括减轻继发性损伤、消除抑制因素和促进神经再生。而联合各种神经营养因子或细胞因子调节局部微环境是当下研究的重点。细胞移植与组织工程相结合,主要是各种生物支架的应用,不仅直接填充脊髓缺损,而且为 BMSCs 的迁移和贴附生长分化提供良好支撑^[31]。通过基因工程技术,利用慢病毒介导的质粒载体过表达某些神经营养因子或细胞因子如 NT-3,或者直接将其涂布到生物支架表面,使其在局部持续释放促神经修复因子。另外可以通过干预各种信号转导通路来促进脊髓修复,比如雷帕霉素抑制 mTOR/STAT 信号通路后,神经干细胞分为胶质细胞明显减少^[32]。Zeng 等将酪氨酸蛋白激酶受体 C (tyrosine protein kinase C, TrkC)过表达的 BMSCs 与 NT-3 包被的明胶海绵共同移植到大鼠体内,诱导其自身分化为神经样细胞,行为学也得到了改善^[33]。NT-3 能够促使 5-羟色胺(5-HT)能下行神经纤维的再生,而 5-HT 能神经纤维在下传兴奋性冲动和控制后肢的运动节奏中有重要作用^[34]。另外雪旺细胞与间充质干细胞共移植不仅弥补了单一雪旺细胞治疗的不足,更促进了间充质干细胞的分化,Ban 等应用大鼠激活态雪旺细胞和 BMSCs 共移植到脊髓损伤处,发现共移植组后肢功能恢复明显,与单纯 BMSCs 移植组相比有统计学差异,并且减少了局部胶质瘢痕的形成,促进了轴突的髓鞘化,而且在体外证实激活态雪旺细胞可以促进 BMSCs 分化为成熟的神经元细胞^[34]。Ding 报道电针刺激疗法与过表达 TrkC 的 BMSCs 体内移植结合起来,结果局部层粘连蛋白和生长相关蛋白(GAP-43)明显上调,而胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein,GFAP)和硫酸软骨素蛋白多糖(chondroitin sulfate proteoglycans,CSPGs)则出现了明显下调,BDA 示踪发现皮质脊髓束和 5-HT 阳性神经纤维长入并通过损伤部位^[35]。总之结合疗法能够弥补各种单一方法的不足,使之在治疗中发挥协同作用,共同促进脊髓损伤的修复。

4 移植时限和途径

目前 BMSCs 的移植途径主要有:静脉注射,蛛网膜下腔注射和直接损伤部位注射。前两者研究比较多。由于损伤组织能够分泌趋化因子促进间充质干细胞迁移和归巢,直接将其注射到病灶处就显得没有必要,并且直接注射可能会引起额外的损伤出血,加重原有损伤。在动物试验中通过尾静脉注射适量的 BMSCs 细胞悬液后在脊髓损伤区发现少量间充质干细胞存活,并表达微管相关蛋白 2、GFAP 等神经细胞表型,表现出一定的神经修复功能^[36]。

但经静脉移植 96% 的细胞会阻塞在肺部, 到达损伤处的细胞数量太少, 而达不到预期的效果^[37]。通过腰椎穿刺鞘内注射可以避免上述缺点, 通过黏附因子及受体透过血脑屏障到达靶点发挥神经营养及修复作用, 创伤小, 可以重复注射, 是目前较理想的方法。2004 年 Ohta 等利用大鼠模型第一次通过腰椎穿刺将 BMSCs 注入脑脊液中促进了脊髓损伤的功能恢复。

在动物实验中大部分细胞移植都是在脊髓损伤后急性期进行, 而也有研究表明在脊髓损伤后 6~12 周移植间充质干细胞也取得了功能恢复^[38], 这表明急性期、亚急性期和慢性期都可以是细胞移植的时间窗。Ritfeld 报道 BMSCs 的神经保护作用在脊髓损伤后第一周植入效果最明显^[39]。而 Li 提出在脊髓损伤后移植 BMSCs 最佳时间应该为脊髓损伤后第 3 周^[40]。SCI 后早期进行细胞移植主要是减轻局部炎症, 抑制氧化应激和细胞凋亡。而在慢性期则是通过分泌神经营养因子促进轴突再生, 抑制胶质瘢痕来修复神经损伤。

5 临床进展

研究表明 BMSCs 的移植是安全的, 并在心血管病, 免疫性疾病的临床试验中都取得了良好的效果^[41]。间充质干细胞在临床上首先被用来治疗骨髓移植后移植体抗宿主病, 2008 年 Saito 等^[42]进行了他们的第一例 BMSCs 临床试验, 通过鞘内注射自体 BMSCs 来验证其疗效和安全性, 对象为脊髓损伤后 13d 的患者, 在为期 6 个月的随访期内并未发现不良反应, 患者的感觉和运动功能有了适当的提高, 但这很难与其自身修复效用区分开来, 实际上在最近的一项队列研究中发现脊髓损伤的鞘内移植治疗只有在急性期可以提高患者的感觉运动功能。然而在 2010 年 Kishk^[43]等进行的一项对照研究中, 对 44 例慢性期脊髓损伤患者进行每月一次为期 6 个月的鞘内注射治疗, 在 12 个月的随访期内作了 ASIA 评分、步行功能分级等调查, 虽然移植组运动功能有所提高, ASIA 等级评分从 A 提高到 B, 但和对照组相比没有统计学差异, 并且有 23 例患者出现相关并发症如神经性疼痛、肢体痉挛。另外 Bhanot 等^[44]报道对于慢性期 BMSCs 移植虽然没有并发症发生, 但似乎并没有效果。对于亚急性期和慢性期脊髓损伤的 BMSCs 自体移植治疗尚需要更多的亚临床实验的证实。总之 BMSCs 的临床应用结果喜忧参半, 但我们期望在未来不久能够开展亚临床实验的证实。

6 不足之处

有研究^[45]表明在动物模型中间充质干细胞移植后其存活率只有 5%~10%, 远远不能达到产生其应有的治疗效果。虽然有某些方法可以改善其存活率, 但其背后的分子机制仍不明了。虽然 BMSCs 不受免疫排斥和伦理学的影响, 但随着供体年龄的增加也会面临衰老的过程, 其增殖和分化能力都会降低^[46], 并且常用的骨髓抽吸法对供体侵

害性较大, 另外这些细胞在骨髓中只占有 0.001%^[47], 同时有研究发现在脊髓损伤患者的 BMSCs 含量更低^[48]。BMSCs 移植后异质分化和致肿瘤性的风险虽没有胚胎干细胞高^[49], 但也不可忽视, 另外 BMSCs 移植后神经痛的发生率较高, 在其临床应用开始之前这些问题都需要进一步的阐明。

7 小结

对于脊髓损伤的治疗, 间充质干细胞移植有很大的前途和希望。然而 SCI 的细胞治疗在初期阶段正面临着很多挑战, Isik 等在体外实验中发现拓扑异构酶 II β 在其神经分化中起到分子开关的作用, 拓扑异构酶 II β 的沉默表达可以改变细胞的基因谱, 特别是涉及一些离子通道、转运体、囊泡功能、细胞钙代谢等方面, 在调节神经细胞形态和细胞骨架中有重要作用^[50]。移植背后很多潜在的分子机制仍需要进一步阐明, 移植细胞对宿主局部微环境的调控和对神经回路的重塑也需要进一步研究, 在临床移植方面, 移植的形态、时间窗、途径、细胞浓度或数量等问题都需要有一个共同的标准。虽然已经有一些间充质干细胞移植治疗 SCI 的临床试验, 但是细胞移植疗法价值的确认最终需要对 SCI 有一个更深的认识, 并且通过严格随机双盲对照多中心临床试验来实现。

8 参考文献

1. Conget PA, Minguell JJ. Phenotypical and functional properties of human bone marrow mesenchymal progenitor cells[J]. J Cell Physiol, 1999, 181(1): 67-73.
2. Yin F, Meng C, Lu R, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells repair spinal cord ischemia/reperfusion injury by promoting axonal growth and anti-autophagy [J]. Neural Regen Res, 2014, 9(18): 1665-1671.
3. 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.
4. Cizkova D, Rosocha J, Vanicky I, et al. Transplants of human mesenchymal stem cells improve functional recovery after spinal cord injury in the rat[J]. Cell Mol Neurobiol, 2006, 26(7-8): 1167-1180.
5. Yazdani SO, Hafizi M, Zali AR, et al. Safety and possible outcome assessment of autologous Schwann cell and bone marrow mesenchymal stromal cell co-transplantation for treatment of patients with chronic spinal cord injury [J]. Cytotherapy, 2013, 15(7): 782-791.
6. Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Gerasimov UV. Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation in diffusion chambers[J]. Cell Tissue Kinet, 1987, 20(3): 263-272.

7. Caplan AI. Mesenchymal stem cells[J]. *J Orthop Res*, 1991, 9 (5): 641–650.
8. Liu ZJ, Zhuge Y, Velazquez OC. Trafficking and differentiation of mesenchymal stem cells[J]. *J Cell Biochem*, 2009, 106 (6): 984–991.
9. Zhang K, Liu Z, Li G, et al. Electro-acupuncture promotes the survival and differentiation of transplanted bone marrow mesenchymal stem cells pre-induced with neurotrophin-3 and retinoic acid in gelatin sponge scaffold after rat spinal cord transection[J]. *Stem Cell Rev*, 2014, 10(4): 612–625.
10. Pevsner-Fischer M, Levin S, Zipori D. The Origins of Mesenchymal Stromal Cell Heterogeneity[J]. *Stem Cell Rev and Rep*, 2011, 7(3): 560–568.
11. 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.
12. 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.
13. Dasari VR, Veeravalli KK, Saving KL, et al. Neuroprotection by cord blood stem cells against glutamate-induced apoptosis is mediated by Akt pathway[J]. *Neurobiol Dis*, 2008, 32(3): 486–498.
14. Bonfield T, Nolan M, Lennon D, et al. Defining human mesenchymal stem cell efficacy in vivo [J]. *J Inflammation*, 2010, 7(1): 51.
15. 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.
16. Hu JZ, Long H, Wu TD, et al. The effect of estrogen-related receptor α on the regulation of angiogenesis after spinal cord injury[J]. *Neuroscience*, 2015, 290: 570–580.
17. 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.
18. Xue Q, Luan XY, Gu YZ, et al. The negative co-signaling molecule b7-h4 is expressed by human bone marrow-derived mesenchymal stem cells and mediates its T-cell modulatory activity[J]. *Stem Cells Dev*, 2010, 19(1): 27–38.
19. Tsumuraya T, Ohtaki H, Song D, et al. Human mesenchymal stem/stromal cells suppress spinal inflammation in mice with contribution of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) [J]. *J Neuroinflammation*, 2015, 12: 35.
20. Lu P, Jones LL, Tuszynski MH. Axon regeneration through scars and into sites of chronic spinal cord injury [J]. *Exp Neurol*, 2007, 203(1): 8–21.
21. 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.
22. Zeng X, Qiu XC, Ma YH, et al. Integration of donor mesenchymal stem cell-derived neuron-like cells into host neural network after rat spinal cord transection[J]. *Biomaterials*, 2015, 53: 184–201.
23. Zeng R, Wang LW, Hu ZB, et al. Differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells into neuron-like cells in vitro[J]. *Spine*, 2011, 36(13): 997–1005.
24. Kingham PJ, Kalbermatten DF, Mahay D, et al. Adipose-derived stem cells differentiate into a Schwann cell phenotype and promote neurite outgrowth in vitro[J]. *Exp Neurol*, 2007, 207(2): 267–274.
25. Wu S, Suzuki Y, Ejiri Y, et al. Bone marrow stromal cells enhance differentiation of cocultured neurosphere cells and promote regeneration of injured spinal cord [J]. *J Neurosci Res*, 2003, 72(3): 343–351.
26. Faghihi F, Mirzaei E, Ai J, et al. Differentiation potential of human bone marrow mesenchymal stem cells into motoneuron-like cells on electrospun gelatin membrane [J]. *J Mol Neurosci*, 2015, 55(4): 845–853.
27. Liu WG, Wang ZY, Huang ZS. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells expressing the bFGF transgene promote axon regeneration and functional recovery after spinal cord injury in rats[J]. *Neurol Res*, 2011, 33(7): 686–693.
28. 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.
29. Coyne TM, Marcus AJ, Woodbury D, et al. Marrow stromal cells transplanted to the adult brain are rejected by an inflammatory response and transfer donor labels to host neurons and glia[J]. *Stem Cells*, 2006, 24(11): 2483–2492.
30. Wei CC, Lin AB, Hung SC. Mesenchymal stem cells in regenerative medicine for musculoskeletal diseases: bench, bedside, and industry[J]. *Cell Transplant*, 2014, 23(4–5): 505–512.
31. Yue HM, Zhang L, Wang YF, et al. Proliferation and differentiation into endothelial cells of human bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs) on poly DL-lactic-co-glycolic acid (PLGA) films[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2006, 51 (11): 1328–1333.
32. Codeluppi S, Svensson CI, Hefferan MP, et al. The Rheb-mTOR pathway is upregulated in reactive astrocytes of the injured spinal cord[J]. *J Neurosci*, 2009, 29(4): 1093–1104.
33. Alvarez FJ, Pearson JC, Harrington D, et al. Distribution of 5-hydroxytryptamine-immunoreactive boutons on α -motoneurons in the lumbar spinal cord of adult cats [J]. *J Comp*

- Neurol, 1998, 393(1): 69–83.
34. Ban DX, Ning GZ, Feng SQ, et al. Combination of activated Schwann cells with bone mesenchymal stem cells: the best cell strategy for repair after spinal cord injury in rats [J]. *Regen Med*, 2011, 6(6): 707–720.
35. Ding Y, Yan Q, Ruan JW, et al. Electroacupuncture promotes the differentiation of transplanted bone marrow mesenchymal stem cells overexpressing TrkC into neuron-like cells in transected spinal cord of rats [J]. *Cell Transplantation*, 2013, 22(1): 65–86.
36. 景文莉, 闫凤霞, 左彦珍. 骨髓间充质干细胞不同移植途径治疗大鼠脊髓损伤的比较 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008(51): 10045–10049.
37. Harting MT, Jimenez F, Xue H, et al. Intravenous mesenchymal stem cell therapy for traumatic brain injury [J]. *J Neurosurg*, 2009, 110(6): 1189–1197.
38. Vaquero J, Zurita M, Oya S, et al. Cell therapy using bone marrow stromal cells in chronic paraplegic rats: systemic or local administration[J]? *Neurosci Lett*, 2006, 398(1–2): 129–134.
39. Ritfeld GJ, Rauck BM, Novosot TL, et al. The effect of a polyurethane-based reverse thermal gel on bone marrow stromal cell transplant survival and spinal cord repair [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(6): 1924–1931.
40. Li H, Wen Y, Luo Y, et al. Transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells into spinal cord injury: a comparison of delivery different times [J]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 2010, 24(2): 180–184.
41. Park HC, Shim YS, Ha Y, et al. Treatment of complete spinal cord injury patients by autologous bone marrow cell transplantation and administration of granulocyte-macrophage colony stimulating factor[J]. *Tissue Eng*, 2005, 11(5–6): 913–922.
42. Saito F, Nakatani T, Iwase M, et al. Spinal cord injury treatment with intrathecal autologous bone marrow stromal cell transplantation: the first clinical trial case report[J]. *J Trauma*, 2008, 64(1): 53–59.
43. Kishk NA, Gabr H, Hamdy S, et al. Case control series of intrathecal autologous bone marrow mesenchymal stem cell therapy for chronic spinal cord injury[J]. *Neurorehabil Neural Repair*, 2010, 24(8): 702–708.
44. Bhanot Y, Rao S, Ghosh D, et al. Autologous mesenchymal stem cells in chronic spinal cord injury[J]. *Br J Neurosurg*, 2011, 25(4): 516–522.
45. Cho MS, Hwang DY, Kim DW. Efficient derivation of functional dopaminergic neurons from human embryonic stem cells on a large scale[J]. *Nat Protoc*, 2008, 3(12): 1888–1894.
46. Zhang HT, Cheng HY, Zhang L, et al. Umbilical cord blood cell-derived neurospheres differentiate into Schwann-like cells[J]. *Neuroreport*, 2009, 20(4): 354–359.
47. Prockop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for non-hematopoietic tissues[J]. *Science*, 1997, 276(5309): 71–74.
48. Wright KT, Masri WE, Osman A, et al. The cell culture expansion of bone marrow stromal cells from humans with spinal cord injury: implications for future cell transplantation therapy[J]. *Spinal Cord*, 2008, 46(12): 811–817.
49. Ronaghi M, Erceg S, Moreno-Manzano V, et al. Challenges of stem cell therapy for spinal cord injury: Human embryonic stem cells, endogenous neural stem cells, or induced pluripotent stem cells[J]? *Stem Cells*, 2010, 28(1): 93–99.
50. Isik S, Zaim M, Yildiz MT, et al. DNA topoisomerase IIbeta as a molecular switch in neural differentiation of mesenchymal stem cells[J]. *Ann Hematol*, 2015, 94(2): 307–318.

(收稿日期:2015-06-09 修回日期:2015-12-11)

(本文编辑 彭向峰)