

综述

干细胞移植治疗脊髓损伤的研究进展

Current progress in stem cell therapy in spinal cord injury

杨浩¹, 郝定均²

(1 西安交通大学附属红会医院转化医学中心; 2 脊柱外科 710054 西安市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2018.05.14

中图分类号: R683.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2018)-05-0474-07

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是目前临床上最为棘手的创伤性神经疾病,由于脊髓特殊的构造和功能的独特性,目前尚无很好的治疗手段。自 2001 年 Orlic 等^[1]首次开展干细胞移植治疗冠心病以来,应用干细胞移植治疗不同组织器官疾病的研究已广泛开展起来。尽管不同种类干细胞的生物学特性迥异,但目前研究认可的干细胞治疗作用主要表现在 3 个方面:(1) 干细胞具有自身多分化潜能,可发挥替代坏死细胞的作用;(2) 干细胞能分泌产生抗炎性因子,可抑制损伤病变微环境的炎性反应;(3) 干细胞可产生许多细胞因子、生长因子以及细胞黏附因子,对于改善微环境促进组织再生起了非常重要的作用^[2-4]。基于以上这些特性,干细胞治疗被认为是再生医学中最具有应用前景的治疗手段。近年来随着干细胞生物学和转化医学研究的不断深入,采用干细胞移植、刺激体内潜在的干细胞分化来治疗 SCI 造成的不可逆的功能障碍已经取得令人瞩目的成果^[5,6],为 SCI 患者带来了福音。尽管干细胞移植治疗 SCI 是目前神经再生医学最有应用前景的治疗手段,但不同种类干细胞的生物特性及生理功能各异,笔者针对近年来应用这些干细胞治疗 SCI 的研究进展综述如下。

1 间充质干细胞

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)由于来源容易、生物学作用广泛、无伦理问题和免疫原性低等优点目前已经成为再生医学临床前和临床实践研究中备受青睐的种子细胞^[7]。研究发现从骨髓、脐带、羊膜、胎盘和脂肪等组织可以获得大量的 MSCs^[8]。尽管不同组织来源的 MSCs 特征迥异,但 MSCs 在治疗多种中枢神经系统(central nervous system, CNS)疾病研究中已凸显出较好的治疗功效^[9,10]。研究^[11-13]发现将 MSCs 移植到阿尔兹海默氏病、中风、帕金森病、多发性硬化以及脊髓侧索硬化的动物模型中,可以观察到动物的症状得到了有效改善,而且治

疗效果也比较令人满意。进一步研究发现这种有效的治疗作用与 MSCs 的抗炎作用、免疫调节作用、神经营养作用及抗凋亡作用密切相关^[7,14]。MSCs 的生物治疗作用机制主要在于 MSCs 进入病变区后可通过旁分泌释放大量的抗炎性因子、细胞因子、生长因子及细胞黏附因子,使病变的微环境得到改善,同时进一步影响细胞之间的联系而实现自身修复,而其分化替代作用不明显^[11]。尽管这种治疗的机制还需要进一步深入研究,但目前 MSCs 在治疗多种疾病已经显示出很好的应用前景。

1.1 骨髓间充质干细胞

骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSCs)来源于骨髓,但又不同于骨髓造血细胞,能够贴壁生长、可以分化成中胚层细胞。目前公认的 BM-MSCs 特异性的标记物是 CD29、CD90 和 CD44^[12]。最初研究表明, BM-MSCs 有较强的分化潜能,可分化为成骨细胞、软骨细胞、成软骨细胞、脂肪细胞、成纤维细胞,还可以在不同诱导条件下分化为不同亚型神经元和胶质细胞^[13,14]。因此 BM-MSCs 有望成为治疗 SCI 比较理想的备选细胞。目前临床前研究除了应用啮齿类和人源 BM-MSCs,还有灵长类和猪源 BM-MSCs 对 SCI 的治疗作用,研究发现将其移植到挫伤、挤压伤或横断伤模型动物的脊髓中,动物的运动功能得到了显著的改善^[15]。BM-MSCs 移植方法目前常采用的有原位注射、静脉注射、鞘内注射或第 IV 脑室注射等^[15,16],但临床前实验采取的方法主要是脊髓损伤原位移植^[15]。迄今为止研究已发现 BM-MSCs 促脊髓再生的作用机制主要有 3 点:首先 BM-MSCs 在 SCI 区发挥免疫抑制作用、抗炎保护以及抑制淋巴细胞的增殖和分化作用;其次是 BM-MSCs 在损伤区能够促使 M1 型巨噬细胞向 M2 型过渡转变;另外 BM-MSCs 还可以释放大量的营养因子,这些因子能够保护受损的脊髓组织免遭进一步损伤^[17,18]。在 BM-MSCs 分泌产生的营养因子中,目前发现较多的是血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、胶质源性神经营养因子(glial cell-derived neurotrophic factor, GDNF)和脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)。除此之外还有一些营养因子如神经营养因子-3(neurotrophin-3, NT-3)、成纤维生长因子

第一作者简介:男(1971-),博士,研究员,研究方向:脊髓损伤修复研究

电话:(029)87770002 E-mail: yanghao.71_99@yahoo.com

通讯作者:郝定均 E-mail: haodingjun@126.com

(fibroblast growth factor, FGF)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)等^[18], 这些因子具有支持营养和促进神经突起再生的作用^[19,20]。基于这些特性 BM-MSCs 可在一定程度上促进受损脊髓的再生和动物功能的改善^[19]。尽管这些因子很重要, 但通常移植 BM-MSCs 分泌的量很有限, 要显著提高受损脊髓的再生功能, 就必须提高这些因子表达的量。目前研究者通常将 BM-MSCs 作为释放载体, 将 NT-3、GDNF、BDNF 等神经营养因子基因导入, 再移植到脊髓受损区, 进一步加强了神经突起再生和神经功能的恢复^[21]。目前大量的临床前研究证实这种治疗策略安全而且有效^[22]。尽管如此, 也有一些临床实践研究发现 BM-MSCs 移植无明显治疗效果, 进一步分析发现这主要归咎于没有选择最佳的细胞移植方式和移植时期^[23]。原位移植和静脉注射可能使到达损伤区的细胞数量不同, 进入临床实践阶段为避免二次损伤通常没有采用原位移植, 这也就造成治疗效果的差异。基于这些原因, 临床实践通过静脉注射的方式进行细胞移植还需进一步摸索。

1.2 脐带间充质干细胞

脐带间充质干细胞 (umbilical cord mesenchymal stem cells, UC-MSCs) 是一种来源于脐带或脐血的 MSCs, 获取和体外扩增都比较容易, 与其他种类干细胞相比的绝对优势在于其低免疫原性。许多临床前研究发现, 将 UC-MSCs 移植到受损的啮齿类 SCI 模型动物体内, 可明显改善动物由于 SCI 造成的功能缺陷^[24]。UC-MSCs 的治疗机理也主要是由多重因素综合作用的结果, 即 UC-MSCs 的神经营养作用、抗炎性作用、抗凋亡作用及促血管生成作用等^[7,25,26]。有研究发现 UC-MSCs 产生的细胞因子和营养因子有白介素-1 (interleukin-1, IL-1)、IL-10、neutrophil 激活蛋白、NT-3、BDNF、VEGF、碱性成纤维生长因子 (bFGF)、神经细胞黏附分子 (neural cell adhesion molecule, NCAM) 等^[7,25,27]。无论是动物实验还是临床实践, 细胞原位移植较静脉输入效果好^[7,28], 原因可能与 BM-MSCs 治疗一致^[7]。至今有关 UC-MSCs 移植治疗 SCI 的安全性和有效性的文献报道不多, 2005 年 Kang 等^[29]将人源性 UC-MSCs 移植到脊髓受损的 37 岁患者脊髓损伤区, 细胞移植 41d 后, 患者运动和感觉功能明显改善, 1 年后随访发现 UC-MSCs 移植治疗 SCI 是安全的。2013 年 Yao 等^[30]将 UC-MSCs 通过鞘内或脑室注射的方式移植到 25 例 SCI 患者体内, 患者自主神经和躯体感觉在术后 12 个月有不同程度的恢复。关于 UC-MSCs 治疗 SCI 的效果, 也有人提出不同的意见。Zhu 等^[31]直接将 UC-MSCs 注射到 28 例 SCI 患者脊髓损伤区同时结合运动功能训练, 发现 UC-MSCs 治疗无严重不良反应发生, 15 例患者的运动功能得到有效改善, 12 例患者部分改善, 1 例没有作用。这些临床研究进一步表明 UC-MSCs 治疗 SCI 的疗效可能与 SCI 患者个体差异、移植方式以及 UC-MSCs 的细胞活性等多种因素有关。

1.3 脂肪间充质干细胞

脂肪充质干细胞 (adipose mesenchymal stem cells,

A-MSCs) 来源于脂肪组织, 可以通过抽脂和吸脂术获取。A-MSCs 的优势在于取材容易、创伤小、获得细胞数量基数大、无伦理问题, 可自体移植。A-MSCs 治疗 SCI 再生的机制在于它能分泌大量的神经营养因子如 BDNF 和 GDNF、调节激活的免疫细胞、促神经再生及抗凋亡作用^[32-34]。除了这些生物学作用, A-MSCs 还具有多谱系细胞分化潜能, 即可以分化为脂肪源性、成骨源性、软骨源性、肌源性、平滑肌源性、神经源性、内皮细胞源性的多种细胞及雪旺氏细胞^[35]。这种多分化潜能也赋予了它在 SCI 潜在的促再生作用, 即可以通过定向分化取代/补充在 SCI 中退变坏死的神经细胞。有研究发现, A-MSCs 分泌产生的分子还包括生长因子、细胞外基质分子、蛋白酶、细胞因子和免疫调节分子^[35]。这些分子在促进血管形成、伤口愈合、协助新组织生长、降低炎症反应和活化淋巴细胞的增殖都起了非常关键的作用^[35]。基于这些研究发现, 越来越多的临床研究和实践都比较青睐通过 A-MSCs 移植来治疗 SCI。Kolar 等^[34]将 A-MSCs 移植到颈部脊髓受损的大鼠后, 可以观察到胶质瘢痕的形成受到抑制和轴突再生长, 但令人遗憾的是没有发现大鼠前肢功能的恢复。据另一研究报道^[35], 将 A-MSCs 直接移植到脊髓受到挤压伤的实质部分, 7 周后, 动物的机体功能得到恢复, 形态学检查结果显示, 移植部位有大量的层粘连蛋白 (laminin) 蓄积和再生突起, 而且 SCI 组织损伤退变没有进一步扩大。与此研究结果相似的是 Kim^[36]的研究, 他将 A-MSCs 注射到急性 SCI 狗的第四脑室也观察到了狗的后肢运动功能明显改善, 并且无任何副作用。为了进一步增强 A-MSCs 在移植部位的存活强化治疗效果, 许多学者开始采用综合治疗方案, 就是将一些分子与 A-MSCs 联合应用于慢性 SCI 的治疗, 如添加 17 β -雌二醇来提高 A-MSCs 分泌表达的生长因子, 利用 BCL-2 基因过表达来抗凋亡, 同时给予硫酸软骨素蛋白多糖 (chondroitin sulfate proteoglycans, CSPGs) 酶破坏角质瘢痕^[37-39]。这些综合的治疗方案在促进动物功能恢复方面的疗效明显优于单纯 A-MSCs 移植治疗。目前的临床前研究和部分临床实践证明, A-MSCs 移植治疗是安全的, 无任何副作用^[40]。

1.4 羊膜间充质干细胞

羊膜充质干细胞 (amniotic epithelial mesenchymal stem cells, AE-MSCs) 是来源于分娩胚胎的羊膜和羊水。传统观念认为羊膜是保护胚胎、维持器官正常发育的场所, 在母体分娩后往往作为生物垃圾被抛弃。近年来大量研究显示, AE-MSCs 也是一种用于再生医学治疗 SCI 很有效的 MSCs, 具备 MSCs 多种特性, 因此也可以作为 SCI 再生的种子细胞^[41]。AE-MSCs 用于脊髓再生主要基于它的细胞学特性, 即多分化潜能、强的增殖能力、生长因子、非致瘤性和低免疫源性。目前一些临床前研究发现用父代 AE-MSCs 移植治疗子代 SCI 几乎没有副作用, 而且能够改善 SCI 动物模型的症状^[25,33]。Bottai 等^[42]将 AE-MSCs 移植到挫伤的 SCI 模型大鼠中, 结果发现动物后肢运动功能

缺陷明显改善;形态学结果也显示,在移植动物的脊髓中髓鞘缺失显著被抑制,且在损伤区大量的新生血管,迁入损伤区的炎性细胞也显著减少;同时也发现损伤区血管的生成与 AE-MSCs 产生的细胞因子及肝细胞生长因子作用密切相关,揭示了 AE-MSCs 的独特之处。也有研究发现,AE-MSCs 的抗炎、抗细胞凋亡作用在治疗 SCI 促机体运动功能恢复比较有效,但 AE-MSCs 移植联合甲基强的松龙治疗比单独 AE-MSCs 移植或单独使用甲基强的松龙更为有效^[43],提示甲基强的松龙可能与 AE-MSCs 生物学功能发挥起了协同作用。另外也有研究表明,将 AE-MSCs 移植到猴子脊髓横断产生的空洞中,AE-MSCs 能够支持引导再生突起进入空洞^[44]。综上所述,AE-MSCs 有效促进 SCI 修复主要是通过自身分泌支持营养作用来改变损伤微环境实现神经再生和机体功能恢复。

2 胚胎干细胞

胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)是一种高度未分化细胞,具有全能性,能分化为成体动物不同组织细胞。由于未分化程度高,可以作为体外细胞分化和调控模型,因此备受青睐。自从 1981 年 Evans 和 Kaufman^[45]首次分离培养小鼠的 ESCs 以来,在近 20 年这方面研究已取得了飞速的发展,特别是在 ESCs 作为替代细胞和基因治疗载体方面已有很多突破。目前 ESCs 治疗已经在许多疾病研究中展开,包括神经损伤修复和神经退变性疾病。由于 ESCs 是一种全能性细胞,可以分化为包括神经元在内的所有组织细胞,因此也是目前被认为是很有潜力用于神经细胞替代治疗神经系统疾病的种子细胞^[46]。关于 ESCs 治疗 SCI 的思路是利用其定向分化神经元和胶质细胞来补充 SCI 造成的这些细胞缺失,并结合其分泌的活性因子抑制损伤进一步扩大,支持神经组织再生,最终实现治疗修复目的^[46]。目前许多研究已经证明,将预分化 ESCs 移植到大鼠、小鼠 SCI 的模型中可显著改善动物运动感觉功能缺陷,如 Harper 等^[47]应用视黄酸和因兹因子(sonic hedgehog, SHH)可诱导 ESCs 分化为运动神经元,移植到偏瘫大鼠的脊髓中可明显改善动物偏瘫症状。Iwai 等^[48]研究也发现,将 ESCs 诱导分化为神经干细胞,再移植到长尾猴受损的脊髓中,结果猴子运动功能得到显著改善,同时形态学证据表明移植 ESCs 的动物脊髓中髓鞘和轴突保持相对较完整。Yang 等^[49]也将猪源性 ESCs 移植到脊髓受到挫伤的大鼠体内,发现移植细胞能够分化为神经元,行为学测试大鼠运动功能有显著改善。除此之外,也有研究将 ESCs 作为基因治疗载体导入 NT-3 和 PDGF,再移植到受损脊髓组织中,发现 ESCs 分化为神经元的能力以及存活数量显著提高^[50]。还有研究将 ESCs 分化为少突胶质细胞来重构脊髓白质治疗 SCI^[51]。目前在全世界众多 SCI 病例中,因挫伤造成脊髓白质破坏的患者较多,因此应用 ESCs 定向分化少突胶质细胞重构白质实现脊髓功能修复也是研究重点。尽管 ESCs 临床应用前景很好,但因伦理问题未

来临床应用仍面临着巨大挑战。

3 神经干细胞

神经干细胞(neural stem cells, NSCs)是位于神经系统具有多分化潜能和自我更新能力的一种干细胞,一般分布在大脑侧脑室下区、海马的齿状回、脊髓中央管周围。NSCs 治疗神经系统疾病的主要机制是其可以分化为神经元和胶质细胞来替代 SCI 中缺失的神经细胞及分泌促再生因子保护受损的组织细胞和神经突起^[52,53]。目前应用 NSCs 治疗 SCI 动物模型主要集中在脊髓挤压伤模型^[54]。研究表明,移植 NSCs 到受损的脊髓组织可有效促进机体功能恢复,一方面进入损伤区的 NSCs 分化为神经元和胶质细胞,可以替代坏死的受损细胞并重新构筑局部环路^[55];另一方面 NSCs 还可以分泌大量的促生长因子[BDNF、CNTF、GDNF、NGF 以及胰岛素生长因子(insulin growth factor-1, IGF-1)等]促进受损的神经元存活和突起生长^[51]。也有研究^[56]发现 NSCs 移植的治疗作用还包括免疫调节作用,如调节 T 细胞和巨噬细胞抑制炎症脱髓鞘,此时 NSCs 的主要作用是减少 CD4+T 细胞,并使小胶质细胞由有害型向有益型转变,因此 NSCs 治疗 SCI 可能是多因素的综合作用。迄今为止的研究表明 NSCs 移植治疗 SCI 是相对安全的,但移植后是否能有效改善患者机体功能依然存在争议^[57]。

4 诱导性多潜能干细胞

诱导性多潜能干细胞(induced potential stem cells, iPSCs)被认为是 ESCs 的有效替代细胞源,它可以通过在体细胞导入 Yamanaka 所述的转录因子实现细胞重编程而获得。目前常采用的方法是病毒介导的基因转染,靶向插入、基因转座子插入以及蛋白转染等方式^[58]。与 ESCs 相比,iPSCs 可以自体取材,没有伦理道德和免疫排斥问题。尽管 iPSCs 和 ESCs 都有各自的细胞学优势,但共同的缺陷是可能产生实体瘤^[59]。现有研究已经证明原位移植 iPSCs 治疗 SCI 是安全有效的,将 iPSCs 诱导为少突胶质细胞或神经元再移植到大鼠、小鼠或灵长类的长尾猴脊髓挫伤模型中,3~5 周后可以观察到它们的运动功能缺陷明显改善,没有肿瘤发生^[60,61]。Salewski 等^[62]的研究发现,将 iPSCs 源性的神经元移植到啮齿类动物的脊髓挤压伤或挫伤模型中,可使动物运动功能得到有效恢复。尽管目前这些研究提供了大量令人振奋的 iPSCs 治疗证据,但 iPSCs 临床治疗功效仍须进一步明确。

5 精原干细胞

精原干细胞(spermatogonial stem cells, SSCs)是 A 型精原细胞的一种亚型^[63],能够伴随机体终生维持精子的发生,具有自我复制和更新能力,是机体内唯一一种能够将遗传物质传递给子代的干细胞。近年来随着再生医学和转化医学的飞速发展,SSCs 不再是传统意义上的仅产生精

子和辅助生殖作用,而是在原有基础上有进一步扩展。体外研究发现 SSCs 经过培养可获得多能性成为类胚胎干细胞,具有分化为机体多谱系细胞的潜能^[63,64]。SSCs 与前面提到的干细胞相比具有终生能够产生、无伦理问题、无致瘤性和免疫排斥反应等优点。Glaser 等^[65]研究发现,成年小鼠睾丸组织生殖系干细胞(germ-line stem cells)在特殊诱导条件下可以转分化为 NSCs,这些细胞经过进一步诱导可产生功能性 GABA (γ -氨基丁酸, γ -aminobutyric acid) 神经元、谷氨酸神经元、5-羟色胺神经元以及胶质细胞。这一研究表明,SSCs 有向神经系统分化的潜能。随后 Streckfuss-Bömeke 等^[66]研究发现,小鼠 SSCs 能够转分化为具有生理功能的不同亚型的神经元和胶质细胞。这些研究为应用 SSCs 转分化为神经元治疗神经损伤和神经退变性疾病奠定了基础。Simon 等^[67]研究发现,将 SSCs 移植到前列腺、皮肤和子宫组织中,可以观察到 SSCs 能分化为与这些宿主相类似的上皮组织细胞,同时还发现 SSCs 多分化潜能易受外围系统环境影响。Liu 等^[68]研究发现大鼠 SSCs 在体外诱导可产生多巴胺能神经元,移植到帕金森模型动物后可明显改善动物功能缺陷。Wang 等^[69]研究证实猪的 SSCs 可以被诱导成神经元样细胞和脂肪细胞。这些研究提示,SSCs 有望成为 ESCs 和 NSCs 的替代源。虽然目前有研究已证实 SSCs 可以分化为神经元,但是这些研究在分化产生神经元的过程中都经过了中间转分化 NSCs 过渡期^[67]。我们最近采用了独特的诱导条件分别将大鼠和小鼠的 SSCs 直接转分化为功能性多巴胺神经元和脊髓运动神经元,此分化过程无中间 ESCs 或 NSCs 过渡过程^[70,71],因此可能降低未来临床应用风险。目前有关 SSCs 移植治疗 SCI 的研究还不是很多,大部分都集中在神经退变性疾病的研究。较有意义的是 Nazm Bojnordi 等^[72]最近的研究,他们发现 SSCs 可以分化成少突胶质细胞,将其移植到脱髓鞘的大鼠模型可以观察到髓鞘的形成,提示 SSCs 有望成为治疗脊髓脱髓鞘病变的理想的细胞。目前 SSCs 治疗神经系统疾病几乎集中在分化的替代作用,尚未发现其分泌作用的报道。

6 成体内源性干细胞

成体内源性干细胞 (adult endogenous stem cells, A ESCs) 是位于成年神经系统中的干细胞。在脊髓组织中,靠近脊髓中央管的室管膜细胞、放射状胶质细胞和条形细胞都具有干细胞的特性^[73]。通常情况下这些细胞都处于休眠状态,一旦脊髓受到损伤,这些细胞迅速活化、增殖产生大量的胶质细胞^[73-75]。Sabelstrom 等^[73]研究发现这些细胞的促再生作用就是分化为星形胶质细胞和少突胶质细胞,进一步形成胶质瘢痕抑制损伤区扩大和再髓鞘化,其中有部分条形细胞也参与胶质瘢痕形成。也有学者将这些细胞移植到偏瘫的大鼠脊髓损伤区,可以显著改善动物的运动功能^[74]。这些报道为无入侵性细胞治疗带来希望,因为无需采用创伤性细胞移植的方法,可以直接使这些内源性细胞

活化来发挥作用。Nomura 等^[74]研究发现,放射状胶质细胞有支持和引导轴突再生的作用;而与其观点不同,Chang 的研究^[76]认为,放射状胶质细胞移植能够改善 SCI 症状的关键在于放射状胶质细胞能够抑制炎性细胞,激活内源性干细胞^[77]。也有研究通过原位胶质细胞重编程产生神经元,实现脊髓功能恢复^[78]。Su 等^[79]采用基因转移的方法将 SOX2 导入受损的脊髓胶质细胞中并配合组氨酸脱乙酰基酶和丙戊酸(valproic acid, VPA)可使其重编程为神经元,14 周后大鼠的运动功能有明显改善。因此深入了解 SCI 病理过程及分子调控对于鉴定潜在的靶向治疗有非常重要的意义,也是有效促进脊髓再生和功能恢复所必需的。在理论上,应用 A ESCs 治疗 SCI 的手段虽然有明显的优势,但仍然有一定的不确定性和局限性,因此其临床应用还存在许多争议。基于 A ESCs 的独特性,其临床治疗 SCI 的潜力相对于其他种类干细胞更有优势,因此未来开展 A ESCs 临床应用研究必将是一个热点。

7 总结与展望

干细胞治疗在重新构筑损伤脊髓和促进功能恢复方面已经展现出了巨大的潜力,然而临床应用仍存在着许多问题。ESCs 因为来源的伦理问题及移植后的致瘤性问题等限制了其临床应用;iPSCs 来源于自体细胞的重编程,虽然没有伦理问题,但因外源性基因导入其临床应用也存在着有效性和安全性的问题^[80];MSCs 没有伦理争议且来源广泛,在抑制炎性细胞活化、重构局部血供系统以及分泌促神经再生因子方面有独特的优势,但由于其分化潜能弱于其分泌潜能,在治疗 SCI 细胞缺失严重的慢性损伤不是最佳备选细胞;不同来源的 MSCs 其生物学特性不尽相同,对于晚期 SCI 的治疗应用 MSCs 不是理想选择。

由于 SCI 病理过程的复杂性及动态变化性,现实中并没有完全相同的 SCI,因此要达到最佳治疗效果,就必须根据 SCI 损伤的具体情况全面考虑,选择合适的治疗策略。不同情况的 SCI 决定着该采取哪种策略最为有效,是首先控制炎症还是消除胶质瘢痕?是先给予生长因子还是先重构血供系统?是补充缺失神经元还是补充少突胶质细胞来重构髓鞘?另外不同种类干细胞的治疗作用也不尽相同,要取得较好的疗效,也就必须依据 SCI 的病理情况以及备选细胞的特性制定一个合理的治疗方案。目前之所以干细胞治疗 SCI 的疗效争议很大,就是因为没有完全实现不同 SCI 与最适宜的移植干细胞的对接。除了以上几点,还必须慎重考虑的问题是临床前研究一些干细胞有效性的治疗参数应根据实验动物的种属作相应的调整。尽管不同种属 SCI 的病理及结果和人类比较相似,但在啮齿类和灵长类动物有效的细胞治疗方案在人类未必有效。另外,选择 SCI 最佳的时间窗对于选择哪种干细胞用于治疗以及治疗效果都十分重要。所以要实现临床转化应用,还需要大量相近的病例模型及治疗策略的研究作为基础反复实践、论证方可实施。另外,干细胞不是万能的,要实现干

细胞治疗效果的最大化,单纯依靠干细胞是不能完成的,必须采用一个综合治疗方案如联合应用生物材料(水凝胶和纳米材料等)、药物以及其他有利于再生的细胞(雪旺氏细胞和嗅鞘细胞)等。由于不同 SCI 病例以及病理过程迥异,采用适合的综合治疗方案才可能实现有效的治疗和机体功能的恢复。

8 参考文献

- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium [J]. *Pediatr Transplant*, 2003, 7(Suppl 3): 86–88.
- Lovell-Badge R. The future for stem cell research[J]. *Nature*, 2001, 414(6859): 88–91.
- Neves J, Sousa-Victor P, Jasper H. Rejuvenating strategies for stem cell-based therapies in aging [J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 20(2): 161–175.
- Dang PN, Dwivedi N, Phillips LM, et al. Controlled dual growth factor delivery from microparticles incorporated within human bone marrow –derived mesenchymal stem cell aggregates for enhanced bone tissue engineering via endochondral ossification[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5 (2): 206–217.
- Silva NA, Sousa N, Reis RL, et al. From basics to clinical: a comprehensive review on spinal cord injury[J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 114: 25–57.
- Vismara I, Papa S, Rossi F, et al. Current options for cell therapy in spinal cord injury[J]. *Trends Mol Med*, 2017, 23 (9): 831–849.
- Dasari VR, Veeravalli KK, Dinh DH. Mesenchymal stem cells in the treatment of spinal cord injuries: a review[J]. *World J Stem Cells*, 2014, 6(2): 120–133.
- Irma V, Simonetta P, Filippo R, et al. Current options for cell therapy in spinal cord injury [J]. *Trends in Mol Med*, 2017, 23(9): 831–849.
- Volkman R, Offen D. Concise review: mesenchymal stem cells in neurodegenerative diseases[J]. *Stem Cells*, 2017, 35 (8): 1867–1880.
- Qu J, Zhang H. Roles of mesenchymal stem cells in spinal cord injury[J]. *Stem Cells Int*, 2017, 2017: 5251313.
- Honmou O, Houkin K, Matsunaga T, et al. Intravenous administration of auto serum-expanded autologous mesenchymal stem cells in stroke[J]. *Brain*, 2011, 134(Pt 6): 1790–1807.
- Lee RH, Kim B, Choi I, et al. Characterization and expression analysis of mesenchymal stem cells from human bone marrow and adipose tissue[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2004, 14(4–6): 311–324.
- Cho SR, Kim YR, Kang HS, et al. Functional recovery after the transplantation of neutrally differentiated mesenchymal stem cells derived from bone marrow in a rat model of spinal cord injury[J]. *Cell Transplant*, 2016, 25(7): 1423.
- Luo H, Xu C, Liu Z, et al. Neural differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells with human brain-derived neurotrophic factor gene –modified in functionalized self-assembling peptide hydrogel in vitro [J]. *J Cell Biochem*, 2017, Sep 19. [Epub ahead of print]
- 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.
- Osaka M, Honmou O, Murakami T, et al. Intravenous administration of mesenchymal stem cells derived from bone marrow after contusive spinal cord injury improves functional outcome[J]. *Brain Res*, 2010, 1343: 226–235.
- Neirineckx V, Cantinieaux D, Coste C, et al. Concise review: spinal cord injuries: how could adult mesenchymal and neural crest stem cells take up the challenge [J]. *Stem Cells*, 2014, 32(4): 829–843.
- 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.
- Lin W, 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, 35 (3): 449–457.
- Santos D, González-Pérez F, Giudetti G, et al. Preferential enhancement of sensory and motor axon regeneration by combining extracellular matrix components with neurotrophic factors[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 18(1): pii: E65.
- 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*, 2014, 156(7): 1409–1418.
- 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.
- Dai G, Liu X, Zhang Z, et al. Transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells in the treatment of complete and chronic cervical spinal cord injury [J]. *Brain Res*, 2013, 1533: 73–79.
- Schira J, Gasis M, Estrada V, et al. Significant clinical, neuropathological and behavioural recovery from acute spinal cord trauma by transplantation of a well-defined somatic stem cell from human umbilical cord blood[J]. *Brain*, 2012, 135(Pt 2): 431–446.
- Caron I, Rossi F, Papa S, et al. A new three dimensional biomimetic hydrogel to deliver factors secreted by human mesenchymal stem cells in spinal cord injury [J]. *Biomaterials*, 2016, 75: 135–147.
- Kao CH, Chen SH, Chio CC, et al. Human umbilical cord blood-derived CD34+ cells may attenuate spinal cord injury by stimulating vascular endothelial and neurotrophic factors

- [J]. Shock, 2008, 29(1): 49–55.
27. Liu CB, Huang H, Sun P, et al. Human umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells improve left ventricular function, perfusion, and remodeling in a porcine model of chronic myocardial ischemia [J]. Stem Cells Transl Med, 2016, 5(8): 1004–1013.
28. Park SE, Jung NY, Lee NK, et al. Distribution of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells(hUCB- MSCs) in canines after intracerebroventricular injection [J]. Neurobiol Aging, 2016, 47: 192–200.
29. Kang KS, Kim SW, Oh YH, et al. A 37-year-old spinal cord-injured female patient, transplanted of multipotent stem cells from human UC blood, with improved sensory perception and mobility, both functionally and morphologically [J]. Cytotherapy, 2005, 7(4): 368–373.
30. Yao L, He C, Zhao Y, et al. Human umbilical cord blood stem cell transplantation for the treatment of chronic spinal cord injury[J]. Neural Regen Res, 2013, 8(5): 397–403.
31. Zhu H, Poon W, Liu Y, et al. Phase I – II clinical trial assessing safety and efficacy of umbilical cord blood mononuclear cell transplant therapy of chronic complete spinal cord injury[J]. Cell Transpl, 2016, 25(11): 1925–1943.
32. Salgado AJ, Reis RL, Sousa NJ, et al. Adipose tissue derived stem cells secretome: soluble factors and their roles in regenerative medicine[J]. Curr Stem Cell Res Ther, 2010, 5(2): 103–110.
33. Kim Y, Jo SH, Kim WH, et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of intravenously injected adipose derived mesenchymal stem cells in dogs with acute spinal cord injury[J]. Stem Cell Res Ther, 2015, 6: 229.
34. Kolar MK, Kingham PJ, Novikova LN, et al. The therapeutic effects of human adipose-derived stem cells in cervical spinal cord injury model[J]. Stem Cells Dev, 2014, 23(14): 1659–1674.
35. Kokai LE, Marra K, Rubin JP. Adipose stem cells: biology and clinical applications for tissue repair and regeneration [J]. Transl Res, 2014, 163(4): 399–408.
36. Kim Y, Lee SH, Kim WH, et al. Transplantation of adipose derived mesenchymal stem cells for acute thoracolumbar disc disease with no deep pain perception in dogs[J]. J Vet Sci, 2016, 17(1): 123–126.
37. Zhou J, Lu P, Ren H, et al. 17 β -estradiol protects human eyelid-derived adipose stem cells against cytotoxicity and increases transplanted cell survival in spinal cord injury[J]. J Cell Mol Med, 2014, 18(2): 326–343.
38. Hyun J, Grova M, Nejadnik H, et al. Enhancing in vivo survival of adipose-derived stromal cells through Bcl-2 overexpression using a minicircle vector[J]. Stem Cells Transl Med, 2013, 2(9): 690–702.
39. Lee SH, Kim Y, Rhew D, et al. Effect of the combination of mesenchymal stromal cells and chondroitinase ABC on chronic spinal cord injury[J]. Cytotherapy, 2015, 17(10): 1374–1383.
40. Hur JW, Cho TH, Park DH, et al. Intrathecal transplantation of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells for treating spinal cord injury: a human trial[J]. J Spinal Cord Med, 2016, 39(6): 655–664.
41. Sanluis-Verdes A, Sanluis-Verdes N, Manso-Revilla MJ, et al. Tissue engineering for neurodegenerative diseases using human amniotic membrane and umbilical cord[J]. Cell Tissue Bank, 2017, 18(1): 1–15.
42. Bottai D, Scesa G, Cigognini D, et al. Third trimester NG2-positive amniotic fluid cells are effective in improving repair in spinal cord injury[J]. Exp Neurol, 2014, 254: 121–133.
43. Gao S, Ding J, Xiao HJ, et al. Anti-inflammatory and anti-apoptotic effect of combined treatment with methylprednisolone and amniotic membrane mesenchymal stem cells after spinal cord injury in rats[J]. Neurochem Res, 2014, 39(8): 1544–1552.
44. Sankar V, Muthusamy R. Role of human amniotic epithelial cell transplantation in spinal cord injury repair research [J]. Neurosci, 2003, 118(1): 11–17.
45. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryos[J]. Nature, 1981, 292(5819): 154–156.
46. Shroff G, Titus JD, Shroff R, et al. A review of the emerging potential therapy for neurological disorders[J]. Am J Stem Cells, 2017, 6(1): 1–12.
47. Harper JM, Krishnan C, Darman JS, et al. Axonal growth of embryonic stem cell-derived motoneurons in vitro and in motoneuron-injured adult rats[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(18): 7123–7128.
48. Iwai H, Shimada H, Nishimura S, et al. Allogeneic neural stem/progenitor cells derived from embryonic stem cells promote functional recovery after transplantation into injured spinal cord of nonhuman primates [J]. Stem Cells Transl Med, 2015, 4(7): 708–719.
49. Yang JR, Liao CH, Pang CY, et al. Transplantation of porcine embryonic stem cells and their derived neuronal progenitors in a spinal cord injury rat model [J]. Cytotherapy, 2013, 15(2): 201–208.
50. Johnson PJ, Tatara A, Shiu A, et al. Controlled release of neurotrophin-3 and platelet-derived growth factor from fibrin scaffolds containing neural progenitor cells enhances survival and differentiation into neurons in a subacute model of SCI [J]. Cell Transplant, 2010, 19(1): 89–101.
51. Kerr CL, Letzen BS, Hill CM, et al. Efficient differentiation of human embryonic stem cells into oligodendrocyte progenitors for application in a rat contusion model of spinal cord injury [J]. Int J Neurosci, 2010, 120(4): 305–313.
52. Engard M, Piao J, Aineskog H, et al. Neuroprotective effects of human spinal cord-derived neural precursor cells after transplantation to the injured spinal cord [J]. Exp Neurol, 2014, 253: 138–145.

53. 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.
54. Kadoya K, Lu P, Nguyen K, et al. Spinal cord reconstitution with homologous neural grafts enables robust corticospinal regeneration [J]. *Nat Med*, 2016, 22(5): 479–487.
55. Armstrong RJ, Hurelbrink CB, Tyers P, et al. The potential for circuit reconstruction by expanded neural precursor cells explored through porcine xenografts in a rat model of Parkinson's disease [J]. *Exp Neurol*, 2002, 175(1): 98–111.
56. Giusto E, Donegò M, Cossetti C, et al. Neuro-immune interactions of neural stem cell transplants [J]. *Exp Neurol*, 2014, 260: 19–32.
57. Curtis E, Gabel BC, Marsala M, et al. 172 A Phase I, Open-label, single-site, safety study of human spinal cord-derived neural stem cell transplantation for the treatment of chronic spinal cord injury [J]. *Neurosurgery*, 2016, 63(Suppl 1): 168–169.
58. Khazaei M, Ahuja CS, Fehlings MG. Induced pluripotent stem cells for traumatic spinal cord injury[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2017, 4: 152.
59. Goulao M, Lepore AC. iPS cell transplantation for traumatic spinal cord injury [J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2016, 11(4): 321–328.
60. Kawabata S, Takano M, Numasawa-Kuroiwa Y, et al. Grafted human iPS cell-derived oligodendrocyte precursor cells contribute to robust remyelination of demyelinated axons after spinal cord injury[J]. *Stem Cell Rep*, 2016, 6(1): 1–8.
61. All AH, Gharibani P, Gupta S, et al. Early intervention for spinal cord injury with human induced pluripotent stem cells oligodendrocyte progenitors [J]. *PLoS One*, 2015, 10: e0116933.
62. Salewski RP, Mitchell RA, Li L, et al. Transplantation of induced pluripotent stem cell-derived neural stem cells mediate functional recovery following thoracic spinal cord injury through remyelination of axons [J]. *Stem Cells Translat Med*, 2015 4(7): 743–754.
63. Kanatsu-Shinohara M, Shinohara T. Spermatogonial stem cell self-renewal and development [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2013, 29: 163–187.
64. Kossack N, Meneses J, Shefi S, et al. Isolation and characterization of pluripotent human spermatogonial stem cell-derived cells [J]. *Stem Cells*, 2009, 27(1): 138–149.
65. Glaser T, Opitz T, Kischlat T, et al. Adult germ line stem cells as a source of functional neurons and glia [J]. *Stem Cells*, 2008, 26(9): 2434–2443.
66. Streckfuss-Bömeke K, Vlasov A, Hülsmann S, et al. Generation of functional neurons and glia from multipotent adult mouse germ-line stem cells[J]. *Stem Cell Res*, 2009, 2(2): 139–154.
67. Simon L, Ekman GC, Kostereva N, et al. Direct transdifferentiation of stem/progenitor spermatogonia into reproductive and nonreproductive tissues of all germ layers[J]. *Stem Cells*, 2009, 27(7): 1666–1675.
68. Liu T, Gong Z, Hou L. The induction of rat spermatogonial stem cells into neuronal-like cells and behavioral recovery following transplantation in a rat Parkinson's disease model [J]. *Int J Mol Med*, 2012, 29(2): 239–244.
69. Wang X, Chen T, Zhang Y, et al. Isolation and culture of pig spermatogonial stem cells and their in vitro differentiation into neuron-like cells and adipocytes [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(11): 26333–26346.
70. Yang H, Liu Y, Hai YN, et al. Efficient conversion of spermatogonial stem cells to phenotypic and functional dopaminergic neurons via the PI3K/Akt and P21/Smurf2/Nolz1 pathway[J]. *Mol Neurobiol*, 2015, 52(3): 1654–1669.
71. Yang H, Liu CC, Chen B, et al. Efficient generation of functionally active spinal cord neurons from spermatogonial stem cells[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(1): 788–803.
72. Nazm Bojnordi M, Movahedin M, Tiraihi T, et al. Oligoprogenitor cells derived from spermatogonia stem cells improve remyelination in demyelination model [J]. *Mol Biotechnol*, 2014, 56(5): 387–393.
73. Sabelstrom H, Stenudd M, Frisén J, et al. Neural stem cells in the adult spinal cord [J]. *Exp Neurol*, 2014, 260: 44–49.
74. Nomura H, Kim H, Mothe A, et al. Endogenous radial glial cells support regenerating axons after spinal cord transection [J]. *Neuroreport*, 2010, 21(13): 871–876.
75. Panayiotou E, Malas S. Adult spinal cord ependymal layer: a promising pool of quiescent stem cells to treat spinal cord injury [J]. *Front Physiol*, 2013, 4: 340.
76. Chang YW, Goff LA, Li H, et al. Rapid induction of genes associated with tissue protection and neural development in contused adult spinal cord after radial glial cell transplantation [J]. *J Neurotrauma*, 2009, 26(7): 979–993.
77. Moreno-Manzano V, Rodríguez-Jiménez FJ, García-Roselló M, et al. Activated spinal cord ependymal stem cells rescue neurological function [J]. *Stem cells*, 2009, 27(3): 733–743.
78. Chen G, Wernig M, Berninger B, et al. In Vivo reprogramming for brain and spinal cord repair[J]. *eNeuro*, 2015, 2(5): pii: ENEURO.0106–15.2015.
79. Su Z, Niu W, Liu ML, et al. In vivo conversion of astrocytes to neurons in the injured adult spinal cord [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 3338.
80. Tsuji O, Miura K, Okada Y. Therapeutic potential of appropriately evaluated safe-induced pluripotent stem cells for spinal cord injury[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(28): 12704–12709.

(收稿日期:2018-01-30 末次修回日期:2018-04-24)

(本文编辑 李伟霞)