

血-脊髓屏障修复在脊髓损伤治疗中作用的研究进展

Research progress in the effect of blood-spinal cord barrier repairment
in the treatment of spinal cord injury

余正然, 王晓波, 龙厚清

(中山大学附属第一医院东院脊柱外科 510700 广州市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2019.02.14

中图分类号: R683.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2019)-02-0179-06

由于现代社会交通、工业的发展, 脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)的患者不断增加, 我国 SCI 年患病率为 37 人/100 万, 尤以青壮年男性高发, 但对于 SCI 目前缺乏有效的治疗手段, 临床预后较差^[1], 其导致的瘫痪和劳动力丧失给患者、家庭和社会带来沉重的经济负担^[2]。血-脊髓屏障(blood-spinal cord barrier, BSCB)是循环系统中枢神经系统中形成的特殊结构, 介导血管内外的物质交换^[3]。研究表明, SCI 后 BSCB 的破坏可导致脊髓水肿、出血、氧化应激和过度炎症反应等继发性损伤^[4], BSCB 的修复可促进 SCI 后脊髓形态的重建和功能的恢复^[5]。笔者对 BSCB 修复在 SCI 治疗中作用的研究进展综述如下。

1 BSCB 的生理结构及功能

BSCB 是血液和脊髓的神经组织之间隔着一层功能

性解剖结构, 在生理状态下介导血管和神经组织之间氧气、营养物质与代谢废物交换, 并保护中枢系统免受血液中有毒物质及免疫细胞的影响^[6]。它主要由三种成分组成: 细胞、细胞间连接蛋白和基底膜。它们作为一个整体互相作用, 严格限制了物质的跨膜运输^[5]。

构成 BSCB 的细胞包括血管内皮细胞(endothelial cells, ECs)、周细胞(pericytes)和星形胶质细胞^[6]。ECs 是 BSCB 中最重要的组成部分。相对于外周的 ECs, 中枢神经系统(CNS)的 ECs 的细胞间连接更加紧密, 胞吞跨细胞转运速率更低, 且表达的白细胞黏附分子更少, 从而有助于增强 BSCB 的屏障作用和减少炎性物质的通过^[6]。周细胞和星形胶质细胞覆盖在 ECs 周围, 参与 BSCB 的发育和维持, 并共同调节其屏障功能^[7]。

BSCB 血管内皮细胞间连接方式主要有紧密连接和黏附连接^[8]。紧密连接蛋白主要包括闭合蛋白(claudins)、咬合蛋白(occludin)、连接粘附分子(junctional adhesion molecules, JAMs)和闭合小环蛋白(zona occludens, ZO-1、ZO-2 和 ZO-3)。它们连接起了相邻细胞的细胞骨架, 奠定了 BSCB 最基本的结构基础。黏附连接蛋白主要包括血管

第一作者简介: 男(1993-), 住院医师, 硕士研究生, 研究方向: 脊柱外科

电话: (020)82379597 E-mail: zr_yu@126.com

通讯作者: 龙厚清 E-mail: houqinglong@163.com

Spine, 2010, 35(1): 36-43.

49. Lee JH, Lee SH. Clinical and radiographic changes after percutaneous endoscopic cervical discectomy: a long-term follow-up[J]. Photomed Laser Surg, 2014, 32(12): 663-668.
50. Yao N, Wang C, Wang W, et al. Full-endoscopic technique for anterior cervical discectomy and interbody fusion: 5-year follow-up results of 67 cases[J]. Eur Spine J, 2011, 20(6): 899-904.
51. Nakamura S, Taguchi M. Percutaneous endoscopic cervical discectomy: surgical approaches and postoperative imaging changes[J]. Asian Spine J, 2018, 12(2): 294-299.
52. Quillo-Olvera J, Lin GX, Kim JS. Percutaneous endoscopic cervical discectomy: a technical review[J]. Ann Transl Med, 2018, 6(6): 100. doi: 10.21037/atm.2018.02.09.
53. Ahn Y. Percutaneous endoscopic cervical discectomy using

working channel endoscopes [J]. Expert Rev Med Devices, 2016, 13(6): 601-610.

54. Burkhardt BW, Müller S, Oertel JMK. Influence of prior cervical surgery on surgical outcome of endoscopic posterior cervical foraminotomy for osseous foraminal stenosis[J]. World Neurosurg, 2016, 95(5): 14-21.
55. Youn MS, Shon MH, Seong YJ, et al. Clinical and radiological outcomes of two-level endoscopic posterior cervical foraminotomy[J]. Eur Spine J, 2017, 26(9): 2450-2458.
56. Yadav Y, Parihar V, Rathe S, et al. Endoscopic decompression of cervical spondylotic myelopathy using posterior approach[J]. Neurol India, 2014, 62(6): 640-645.

(收稿日期: 2018-07-06 末次修回日期: 2018-10-19)

(本文编辑 姜雅浩)

内皮型钙黏蛋白(VE-cadherin)和血小板内皮细胞黏附分子(platelet endothelial cell adhesion molecule, PE-CAM),其表达受多种因素如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF α)、缺氧诱导因子(hypoxia induced factor, HIF)、组氨酸、免疫细胞及肿瘤的影响,从而影响 BSCB 通透性^[9]。

由 ECs、周细胞和星形胶质细胞分泌的细胞外基质共同组成 BSCB 的基底膜,进一步维持了 BSCB 结构的稳定^[10]。它主要包括两层:由 ECs 和周细胞分泌的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)组成的血管基底膜;由星形胶质细胞分泌的 ECM 组成的实质组织基底膜。基底膜可作为屏障进一步限制 BSCB 两侧的物质流动,同时为组成 BSCB 的细胞提供“铆钉”的作用,维持其结构稳定^[5]。

2 BSCB 在 SCI 后的变化及对脊髓功能的影响

SCI 后,在损伤中心内血管发生不可逆的横断伤或严重挫伤,其造成的血肿和缺血是导致周围组织损伤和坏死的最直接原因^[11]。而在半影区中由于损伤较轻,很大一部分的血管内皮可以被挽救^[11]。BSCB 紊乱、通透性增高究竟是脊髓实质组织坏死的原因还是结果,目前仍然存在争议。最近有研究者发现一种基因工程改造的能够在缺血再灌注早期不发生血-脑屏障(blood-brain barrier, BBB)紊乱的大鼠,在使用这些大鼠进行的脑缺血再灌注的研究中,他们发现这些被改造的大鼠大脑实质损伤较对照组大鼠减轻,并获得了更好的远期神经功能恢复能力^[12]。这表明 BBB 的功能状态可以决定神经功能的预后,早期 BBB 损伤可能不是实质细胞损伤引起的结果,而是造成实质细胞损伤加重的原因。

与 BBB 相似,SCI 后早期的 BSCB 紊乱也可能是加重脊髓神经组织损伤的重要原因。BSCB 通透性增高会导致水电解质平衡紊乱,加重组织水肿;同时使炎性介质渗出,加重对脊髓实质组织的继发性损伤^[13]。BSCB 的改变涉及其多个基本构成,包括 ECs 本身、小窝蛋白 1(caveolin-1, Cav-1)、周细胞和 ECs 的相互作用、细胞间紧密连接蛋白等^[3]。

2.1 ECs 跨细胞运输增强

BSCB 提供了稳定的脊髓环境,这是维持正常的神经功能必不可少的。小窝(caveolae)是 ECs 进行胞吞/胞吐的囊泡,介导血管内外侧的物质运输,其中 Cav-1 为小窝主要组成蛋白^[14]。与外周血管相比,正常中枢神经系统 ECs 小窝数量较少,且其形成和运输明显受抑制,导致其介导的胞吞-胞吐传输率(transcytosis)也明显较低,屏障通透性较低^[14]。中枢神经损伤后不久,非损伤区血管 ECs 最先观察到 Cav-1 磷酸化水平、小窝数量明显增加^[3]。这表明 ECs 的胞吞-胞吐速度加快,BSCB 通透性增加^[15]。

2.2 细胞间紧密连接破坏

ECs 间的紧密连接破坏发生在 SCI 后 30min 左右,即

胞内小窝增加之后,ECs 死亡之前。SCI 后紧密连接蛋白(包括 Occludin、ZO-1、Claudin-5 和 JAM-A)发生不同程度的修饰(磷酸化)、移位(胞吞)、降解和表达下调,使其数量显著减少^[16]。目前已有许多研究证实 SCI 后 VEGF、Rho 蛋白/Rho 蛋白相关激酶(Rho/Rho-associated kinase, ROCK)、环磷腺苷/蛋白激酶 A(cyclic adenosine monophosphate/protein kinase A, cAMP/PKA)等途径可启动 Occludin、Claudin-5 和 ZO-1 蛋白磷酸化,进而导致 BSCB 通透性升高^[17]。SCI 期间释放的炎性介质同样也可介导紧密连接蛋白磷酸化:在体外培养的脑 ECs 中, TNF- α 、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和单核细胞趋化蛋白 1/趋化因子 CCL2(MCP1/CCL2)均可引起 ZO-1 显著磷酸化,并下调 ZO-1 的表达^[18]。

2.3 成血管因子对 BSCB 的解离和重塑作用

成血管因子主要包括血管内皮细胞生长因子(VEGF)家族和血管生成素家族(angiopoietin, Ang)。它们在促进新血管出芽的同时,会增加原有 BSCB 的通透性并促进其分解。VEGF-a 参与调控生理和病理状态下的血管生成以及 BSCB 通透性。体外小鼠实验证实,颅内注射 VEGF 会增加中枢系统血管对辣根过氧化物酶通透性^[19]。VEGF-a 介导 BSCB 通透性增高的具体机制尚不明确,但研究表明这可能与 Occludin 和 ZO-1 等紧密连接蛋白的表达减少有关^[20]。

Ang2 和 Ang1 属于血管生成素家族,通过血管 ECs 特有的血管生长因子受体(Tie-2/Tek)传递信号^[21]。Ang1 具有稳定 BSCB 的作用,而 Ang2 通过竞争性抑制 Ang1 表现为分解 BSCB 的作用。Ang2 帮助解离原有的血管、增加 BSCB 通透性的功能对于正在形成中的新生血管十分重要,在有 VEGF 的情况下,Ang2 通过诱导周细胞-ECs 解离,从而促进血管出芽和血管重塑;而在没有 VEGF 的情况下,Ang2 充当 Ang1 的功能拮抗剂,抢先与 Tie2 结合但不诱发信号转导^[21],使血管退化和死亡。

2.4 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)的启动

MMPs 是对细胞外基质破坏力很强的酶,在 ECs (MMP-9)和血管周细胞(MMP-3, MMP-9)中均有表达^[22]。缺血缺氧时,包括 HIF-1 α 在内的多种细胞因子启动 MMPs,促进 BSCB 破裂,导致水肿和出血。SCI 后外源性损伤介导的 MMP-2 水平升高与血管中 Claudin-5 和 Occludin 的表达减少有关,而 MMP-9 除了降解细胞间连接蛋白外,还可直接分解纤维蛋白等细胞外基质,加重血管损伤,阻碍脊髓功能恢复^[23]。

2.5 SCI 后多种细胞因子对 BSCB 的影响

针对性地治疗 SCI 后半影区 BSCB 功能障碍,可能可以有效减少 SCI 急性期脊髓组织损伤,从而延长治疗时间窗和提高患者的临床预后^[24]。表 1^[25]归纳了多种参与 SCI 后 BSCB 调节的因子。

3 BSCB 的修复治疗

SCI 后的神经血管结构无序而混乱,使得血管 ECs 无法实现定向极化、迁徙,形成功能性血管系统^[24],而不恰当的血管再生不但不能导致明显的功能恢复,反而会产生一些不良的后果,如不完整的血管形成以及过度炎症反应导致的瘢痕、囊性空洞^[26]。脊髓损伤后在 SCI 后的急性期, BSCB 的修复主要目标应是尽可能稳定 BSCB,避免继发性血管内皮分解和 BSCB 通透性增高,减轻脊髓组织二次损伤。在 SCI 后的慢性期, BSCB 修复的主要目标则是促进损伤区血管再生,并形成有功能的 BSCB 结构以改善局部血供^[4]。本部分主要关注后者。对于促进供应缺血组织的血管再生,动物实验和临床实践初步证实的几种方法如下。

3.1 使用促血管生长的相关因子和药物

VEGF 作为 SCI 后机体自身血管再生的重要因子,已被证明在损伤的脊髓中具有促进新生血管和保护神经的能效^[27]。然而应当注意这种方法有一定局限性,例如狭窄的治疗时间窗和需要适当的剂量。有报道显示 SCI 后早期应用 VEGF 预后反而更差,低剂量的 VEGF 几乎没有效果,而高剂量会导致血管形态和功能异常^[28]。VEGF 治疗 SCI 的另一个重要问题是新诱导形成的血管常不成熟并

且容易渗漏^[28]。其他实验还包括 SCI 后静脉注射 Ang-1 可以保护损伤中心的血管,增强 BSCB 的屏障作用,减少有害炎症渗出及周围脊髓白质损失,并改善运动功能^[29]。SCI 后给予肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)显示出支持神经元和少突胶质细胞存活的神经营养特性,同时显著促进 SCI 后血管生成,改善运动功能^[30]。局部注射成纤维细胞生长因子-2 (fibroblast growth factor-2, FGF-2)可降低血管的通透性并帮助恢复脊髓血液灌注^[31]。

除了使用单种促血管因子, Ju 等^[32]利用组织工程技术将 VEGF、Ang-1 联合生物材料植入小鼠脑梗死区,发现可促进局部血管形成,并很好改善其神经功能。将 VEGF/血小板衍生因子 (platelet derived growth factor, PDGF)混合注射到损伤部位则可调节免疫反应,改善损伤区微环境,进一步促进轴突存活和生长^[33]。通过肌肉注射的方式给予包含有 VEGF 与血小板衍生因子 bb (PDGF-bb) 的生物微颗粒可同时促进血管内皮细胞和血管周细胞向受损部位迁移,形成具有功能的血管^[34]。将 PDGF-bb 和 FGF-2 组合成的微颗粒注射到损伤部位也可增加有功能的稳定的血管形成^[35]。

3.2 应用移植细胞治疗

血管再生涉及多种细胞参与,尤其是 ECs 及基质细胞。它们不但是新生血管的结构基础,而且可通过分泌某些细胞因子直接影响血管再生效果^[36]。细胞疗法的安全性已被大量 I 期临床试验证实,但其有效性和远期安全性仍有待研究^[37]。

3.2.1 内皮祖细胞 内皮祖细胞 (endothelial precursor cells, EPCs) 在特定条件下可分化成熟并整合入血管内皮,参与血管新生和 ECs 恢复^[38]。SCI 后创伤区域的 EPCs 数量有所增加,因为损伤后缺血组织局部会产生 VEGF、基质衍生因子 (SDF-1) 等多种成血管因子参与 EPC 的募集和成熟^[39]。目前可获得的 CD34+/CD133+ 的内皮祖细胞主要来源于脐带血、骨髓和外周血^[40]。在大鼠 SCI 模型中,移植了人类外周血来源的 CD133+ 细胞的大鼠获得了更显著的血管再生和更好的神经功能恢复^[41]。在脑缺血模型中, Rosell 等^[42]将 EPC 或去除 EPC 的培养液分别静脉输入脑缺血小鼠体内,发现 EPC 是通过分泌 VEGF、FGF-b 和 PDGF-bb 等因子来增加梗死灶周围毛细血管密度、促进轴突生长和神经干细胞迁移,改善脑梗死预后。虽然激活内源性 EPCs 的疗法在实验中有一定疗效,但也会发生如不受控制的新生血管形成等副作用^[43]。将 EPC 直接用于损伤部位可以一定程度上避免在体内其他部位促进血管形成的问题^[44]。

3.2.2 骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMMSCs) BMMSCs 也被认为是新血管形成的干细胞来源,体外研究已表明它们可以分化为 ECs^[45]。BMMSCs 可增加创伤后脊髓和脑中的新血管密度,且血管密度的增加与促进神经功能恢复相关联^[46]。然而,最近对 SCI 的实验研究表明,移植的 BMMSCs 并不直接分化成

表 1 SCI 后不同因子对血-脊髓屏障通透性的影响^[25]

	对血-脊髓屏障通透性的影响	机制
炎性物质		
缓激肽	↑	作用于内皮细胞 B2 受体;Ca ²⁺ 依赖紧密连接蛋白重分布
组胺	↑	黏附连接蛋白磷酸化;细胞内 Ca ²⁺ ↑
凝血酶	↑	激活蛋白激酶受体 (PARs);激活内皮细胞内 Src 激酶和 MMPs
P 物质	↑	紧密连接蛋白重分布
内皮素-1	↑	氧化应激;MMPs ↑;紧密连接蛋白重分布
细胞因子		
TNF-α	↑	氧化应激;紧密连接蛋白 ↓
IL-6	↑	氧化应激;PKC 依赖细胞骨架重塑;紧密连接蛋白重分布
IL-1	↑	ICAM-1 ↑;激活 MMPs;紧密连接蛋白紊乱
神经递质		
谷氨酸盐	↑	紧密连接蛋白磷酸化、重构、紊乱
NO	↑	MMPs ↑
类固醇		
17β-雌二醇	↓	星形胶质细胞 AQP4 ↓;离子通道重构;MMPs ↓
黄体酮	↓	保护紧密连接蛋白
其他		
ATP	↑	激活 MMPs;紧密连接蛋白紊乱
VEGF	↑	紧密连接蛋白磷酸化、解离、表达下调;促进胞吞转运
HIF	↑	VEGF ↑;紧密连接蛋白紊乱

ECs,而是通过分泌生长因子如脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)、VEGF 和碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)或通过刺激间质细胞分泌来诱导调控血管生成^[47]。

3.3 生物材料的应用

在生理状态下,ECM 为细胞生长和细胞间交流提供介质,并且为细胞提供物理支持和化学缓冲作用以保护其免受外部环境伤害^[48]。对于微循环系统修复而言,ECM 与促血管生成的因子相互作用,以协调它们的生物活性、浓度和信号传导功能^[49]。例如,VEGF 在 ECM 中扩散并产生浓度梯度引导血管内皮向缺氧区方向出芽^[50]。一些细胞分泌的酶类(如 MMPs)可以降解 ECM、改变其物理状态以利于机体自身的细胞和生长因子长入^[51]。

鉴于 ECM 在血管生成过程中的重要性,在损伤部位植入生物材料看起来非常合适,因为它们能够模仿 ECM 的机械性能并为细胞提供特定的物理构架和微环境^[52]。另外,生物材料还可用作递送药物或细胞的载体,以可控方式促进局部血管生成,同时减少全身给药造成的如肿瘤、类风湿关节炎和视网膜疾病等副作用^[53]。按应用方式分,目前的材料主要可以分为两类:可注射水凝胶为主要成分的移植材料以及体外预搭建的支架型材料。

3.3.1 可注射水凝胶材料 将调控血管生成的药物从移植的材料中可控地控制释放出来是有吸引力的选择^[54]。除药物外,还可将细胞引入损伤部位,直接参与血管形成或通过旁分泌间接调控血管生成。材料需要具有特定降解和释放特性才能正确地将药物或细胞递送到 SCI 部位。

通过水凝胶将血管 ECs 单独或与神经祖细胞混合移植至损伤部位,已被证明是一种诱导 SCI 后血管生成潜在的方法^[55]。水凝胶富含水分并具有多孔结构,其被注射到损伤区后可促进局部物质交换,细胞依附及其突起的生长延伸^[54]。且其可降解的特性则使其能在自身降解的同时为再生的神经组织不断释放出空间,有利于再生组织的解剖学重建^[54]。其次,水凝胶材料本身的成分如纤维蛋白和透明质酸(hyaluronic acid, HA)可能就具有促血管生成作用^[56]。当用于三维培养系统时,纤维蛋白具有诱导 ECs 在体外形成毛细血管样结构的能力^[57]。透明质酸与细胞粘附和迁移相关并促进血管生成^[58]。当体外加入纤维蛋白基质时,胶原蛋白抑制内皮细胞管形成^[58]。在脊髓横断的大鼠模型中当植入偶联有 VEGF 的胶原蛋白基质时,观察到显著的有解剖学结构的血管形成和神经功能恢复^[59]。此外,可注射水凝胶还具有减少损伤空洞、提供桥接空间、抑制胶质瘢痕形成、促进损伤轴突的再次髓鞘化和进一步生长等修复功能^[60],具有广阔的应用前景。

3.3.2 预制成形支架材料 预制的成形支架在体外制备成型,通过开放手术植入损伤处,主要适用于损伤严重的全横断或半横断损伤模型^[54]。体外预搭建的框架型材料具有的优点是:力学结构相对稳定,比水凝胶降解要慢,可实现更长时间的结构支撑和药物缓释等功能;其加工过程中

对内部孔隙比例和化学成分修饰可进行精确调控,为细胞移植、轴突再生及神经突触的重建提供机械支撑的框架结构以及模拟的化学导向信息^[61]。将移植了细胞和营养因子的支架置入损伤部位后,能在 SCI 模型上观察到一定程度上促神经生长现象,在其降解后,再生的神经轴突基本连接了损伤区域的间隙并展现出有序的纵向结构,另外还能有效促进运动功能的恢复^[62]。在另一项研究中,在聚乳酸-羟基乙酸共聚物(poly lactic-co-glycolic acid, PLGA)鞘包裹的三维明胶支架中加入可释放多种促血管生成因子的诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPS cells),并植入受损的脊髓,发现这种偶联了细胞的支架导致损伤部位的炎症减少和血管形成增加,并支持移植的细胞存活^[63]。

近年来,结合 3D 打印等新型材料成形技术^[64]和制作以上 2 种材料的混合型,不仅能实现神经营养因子等药物的可控释放,改善损伤 BSCB,还能显著促进损伤区的移植神经细胞的存活、增殖、分化,并能引导神经纤维的定向再生、轴突髓鞘化和突触再形成。然而需要指出的是,结合生物相容材料的细胞移植由于损伤模型等参数的不同,很难进行不同实验室研究之间横向定量的修复效果比较,同时其修复效果的机制依然有待进一步研究阐明。

4 结语和展望

BSCB 对 SCI 后脊髓组织重建具有提供结构支撑和补充营养及细胞因子的作用。由于 BSCB 在 SCI 的病理和损伤后修复过程中的关键作用,如何有效地重建 BSCB 已成为治疗 SCI 的重要目标之一。在 SCI 早期减少 BSCB 丢失,中后期促进有功能的 BSCB 形成,以及在 SCI 全程调节局部免疫反应、减少毒性物质释放、增强坏死组织清除,都可以减轻神经元及轴索的二次损伤。然而,SCI 后修复是一个十分缓慢而不完全的过程。通过生物材料提供血管和神经生长的介质,结合药物或细胞移植以促进修复,以解决 BSCB 重建的时间和空间需求,是一种有前景的促进脊髓修复的治疗方法。

5 参考文献

1. Witiw CD, Fehlings MG. Acute spinal cord injury[J]. J Spinal Disord Tech, 2015, 28(6): 202-210.
2. 陈星月, 陈栋, 陈春慧, 等. 中国创伤性脊髓损伤流行病学和疾病经济负担的系统评价[J]. 中国循证医学杂志, 2018, 18(2): 143-150.
3. Oudega M. Molecular and cellular mechanisms underlying the role of blood vessels in spinal cord injury and repair[J]. Cell Tissue Res, 2012, 349(1): 269-288.
4. Haggerty AE, Maldonado-Lasunción I, Oudega M. Biomaterials for revascularization and immunomodulation after spinal cord injury[J]. Biomed Mater, 2018, 25, 13(4): 044105.
5. 许兵, 张俞. 血脑屏障的研究进展[J]. 生理学报, 2016, 68(3): 306-322.

6. Komarova Y, Malik AB. Regulation of endothelial permeability via paracellular and transcellular transport pathways[J]. *Annu Rev Physiol*, 2010, 72: 463–493.
7. Armulik A, Genov  G, Betsholtz C. Pericytes: developmental, physiological, and pathological perspectives, problems, and promises[J]. *Dev Cell*, 2011, 21(2): 193–215.
8. Daneman R, Prat A. The Blood–brain barrier[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2015, 7(1): a020412.
9. Dejana E, Orsenigo F, Lampugnani MG. The role of adherens junctions and VE–cadherin in the control of vascular permeability[J]. *J Cell Sci*, 2008, 121(Pt 13): 2115–2122.
10. Sorokin L. The impact of the extracellular matrix on inflammation[J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(10): 712–723.
11. Nagaraja TN, Karki K, Ewing JR, et al. Identification of variations in blood–brain barrier opening after cerebral ischemia by dual contrast–enhanced magnetic resonance imaging and T1sat measurements [J]. *Stroke*, 2008, 39 (2): 427–432.
12. Shi Y, Jiang X, Zhang L, et al. Endothelium–targeted over-expression of heat shock protein 27 ameliorates blood–brain barrier disruption after ischemic brain injury [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(7): E1243–E1252.
13. Hawkins BT, Davis TP. The blood–brain barrier/neurovascular unit in health and disease[J]. *Pharmacol Rev*, 2005, 57 (2): 173–185.
14. Andreone BJ, Chow BW, Tata A, et al. Blood–brain barrier permeability is regulated by lipid transport–dependent suppression of caveolae–mediated transcytosis[J]. *Neuron*, 2017, 94(3): 581–594.
15. Nag S, Manias JL, Stewart DJ. Expression of endothelial phosphorylated caveolin–1 is increased in brain injury [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2009, 35(4): 417–426.
16. Brightman MW, Zis K, Anders J. Morphology of cerebral endothelium and astrocytes as determinants of the neuronal microenvironment[J]. *Acta Neuropathol Suppl*, 1983, 8: 21–33.
17. Yamamoto M, Ramirez SH, Sato S, et al. Phosphorylation of claudin–5 and occludin by rho kinase in brain endothelial cells[J]. *Am J Pathol*, 2008, 172(2): 521–533.
18. Rochford KD, Cummins PM. The blood–brain barrier endothelium: a target for pro–inflammatory cytokines [J]. *Biochem Soc Trans*, 2015, 43(4): 702–706.
19. Dobrogowska DH, Lossinsky AS, Tarnawski M, et al. Increased blood–brain barrier permeability and endothelial abnormalities induced by vascular endothelial growth factor [J]. *J Neurocytol*, 1998, 27(3): 163–173.
20. Wang W, Dentler WL, Borchardt RT. VEGF increases BMEC monolayer permeability by affecting occludin expression and tight junction assembly[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001, 280(1): H434–440.
21. Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, et al. Angiopoietin–2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis [J]. *Science*, 1997, 277(5322): 55–60.
22. Candelario–Jalil E, Yang Y, Rosenberg GA. Diverse roles of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in neuroinflammation and cerebral ischemia[J]. *Neuroscience*, 2009, 158(3): 983–994.
23. Noble LJ, Donovan F, Igarashi T, et al. Matrix metalloproteinases limit functional recovery after spinal cord injury by modulation of early vascular events[J]. *J Neurosci*, 2002, 22 (17): 7526–7535.
24. Fassbender JM, Whittemore SR, Hagg T. Targeting microvasculature for neuroprotection after SCI [J]. *Neurotherapeutics*, 2011, 8(2): 240–251.
25. Jiang X, Andjelkovic AV, Zhu L, et al. Blood–brain barrier dysfunction and recovery after ischemic stroke [J]. *Prog Neurobiol*, 2018, 163–164: 144–171.
26. Blight AR. Morphometric analysis of blood vessels in chronic experimental spinal cord injury: hypervascularity and recovery of function[J]. *J Neurol Sci*, 1991, 106(2): 158–174.
27. Widenfalk J, Lipson A, Jubran M, et al. Vascular endothelial growth factor improves functional outcome and decreases secondary degeneration in experimental spinal cord contusion injury[J]. *Neuroscience*, 2003, 120(4): 951–960.
28. Benton RL, Whittemore SR. VEGF165 therapy exacerbates secondary damage following spinal cord injury[J]. *Neurochem Res*, 2003, 28(11): 1693–1703.
29. Han S, Arnold SA, Sithu SD, et al. Rescuing vasculature with intravenous angiopoietin–1 and alpha v beta 3 integrin peptide is protective after spinal cord injury[J]. *Brain*, 2010, 133(Pt 4): 1026–1042.
30. Kitamura K, Iwanami A, Nakamura M, et al. Hepatocyte growth factor promotes endogenous repair and functional recovery after spinal cord injury[J]. *J Neurosci Res*, 2007, 85(11): 2332–2342.
31. Kang CE, Clarkson R, Tator CH, et al. Spinal cord blood flow and blood vessel permeability measured by dynamic computed tomography imaging in rats after localized delivery of fibroblast growth factor[J]. *J Neurotrauma*, 2010, 27(11): 2041–2053.
32. Ju R, Wen Y, Gou R, et al. The Experimental therapy on brain ischemia by improvement of local angiogenesis with tissue engineering in the mouse[J]. *Cell Transplant*, 2014, 23 (Suppl 1): S83–95.
33. Lutton C, Young YW, Williams R, et al. Combined VEGF and PDGF treatment reduces secondary degeneration after spinal cord injury[J]. *J Neurotrauma*, 2012, 29(5): 957–970.
34. Banfi A, Von DG, Gianni–Barrera R, et al. Therapeutic angiogenesis due to balanced single–vector delivery of VEGF and PDGF–BB[J]. *FASEB J*, 2012, 26(6): 2486–2497.
35. Kim JH, Jung Y, Kim SH, et al. The enhancement of mature vessel formation and cardiac function in infarcted hearts using dual growth factor delivery with self–assembling pep-

- tides[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(26): 6080–6088.
36. Zhang J, Chopp M. Cell-based therapy for ischemic stroke [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2013, 13(9): 1229–1240.
 37. Muheremu A, Peng J, Ao Q. Stem cell based therapies for spinal cord injury[J]. *Tissue Cell*, 2016, 48(4): 328–333.
 38. Asahara T, Isner JM. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis[J]. *Science*, 1997, 275(5302): 964–967.
 39. Guo X, Liu L, Zhang M, et al. Correlation of CD34+ cells with tissue angiogenesis after traumatic brain injury in a rat model[J]. *J Neurotrauma*, 2009, 26(8): 1337–1344.
 40. Greco NJ, Bhakta S, Winter DG, et al. Umbilical cord blood-selected CD133(+) cells exhibit vasculogenic functionality in vitro and in vivo [J]. *Cytherapy*, 2010, 12 (1): 67–78.
 41. Sasaki H, Ishikawa M, Tanaka N, et al. Administration of human peripheral blood-derived CD133+ cells accelerates functional recovery in a rat spinal cord injury model [J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2009, 34(3): 249–254.
 42. Rosell A, Morancho A, Navarrosobrinio M, et al. Factors secreted by endothelial progenitor cells enhance neurorepair responses after cerebral ischemia in mice [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e73244.
 43. Hristov M, Weber C. Endothelial progenitor cells: characterization, pathophysiology, and possible clinical relevance[J]. *J Cell Mol Med*, 2004, 8(4): 498–508.
 44. Rafii S, Lyden D. Therapeutic stem and progenitor cell transplantation for organ vascularization and regeneration [J]. *Nat Med*, 2003, 9(6): 702–712.
 45. Oswald JI, Boxberger S, Jørgensen B, et al. Mesenchymal stem cells can be differentiated into endothelial cells in vitro[J]. *Stem Cells*, 2004, 22(3): 377–384.
 46. Ritfeld GJ, Nandoe Tewarie RD, Vajn K, et al. Bone marrow stromal cell-mediated tissue sparing enhances functional repair after spinal cord contusion in adult rats [J]. *Cell Transplant*, 2012, 21(7): 1561–1575.
 47. Nandoe Tewarie RD, Bossers K, Ritfeld GJ, et al. Early passage bone marrow stromal cells express genes involved in nervous system development supporting their relevance for neural repair [J]. *Restor Neurol Neurosci*, 2011, 29 (3): 187–201.
 48. Slaughter BV, Khurshid SS, Fisher OZ, et al. Hydrogels in regenerative medicine [J]. *Adv Mater*, 2009, 21 (32–33): 3307–3329.
 49. Martino MM, Brkic S, Bovo E, et al. Extracellular matrix and growth factor engineering for controlled angiogenesis in regenerative medicine[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2015, 3: 45.
 50. Vempati P, Popel AS, Mac Gabhann F. Formation of VEGF isoform-specific spatial distributions governing angiogenesis: computational analysis[J]. *BMC Syst Biol*, 2011, 5: 59.
 51. Briquez PS, Clegg LE, Martino MM, et al. Design principles for therapeutic angiogenic materials [J]. *J Biomater Appl*, 2011, 26(4): 383–417.
 52. Devolder R, Kong HJ. Hydrogels for in vivo-like three-dimensional cellular studies [J]. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*, 2012, 4(4): 351–365.
 53. Liekens S, De CE, Neyts J. Angiogenesis: regulators and clinical applications[J]. *Biochem Pharmacol*, 2001, 61 (3): 253–270.
 54. 张驰, 高明勇, 全大萍. 脊髓损伤修复再生支架材料研究进展[J]. *高分子通报*, 2016, (5): 52–67.
 55. Rauch MF, Hynes SR, Bertram J, et al. Engineering angiogenesis following spinal cord injury: a coculture of neural progenitor and endothelial cells in a degradable polymer implant leads to an increase in vessel density and formation of the blood-spinal cord barrier[J]. *Eur J Neurosci*, 2009, 29 (1): 132–145.
 56. Arulmoli J, Wright HJ, Phan DTT, et al. Combination scaffolds of salmon fibrin, hyaluronic acid, and laminin for human neural stem cell and vascular tissue engineering[J]. *Acta Biomater*, 2016, 43: 122–138.
 57. Xue L, Greisler HP. Angiogenic effect of fibroblast growth factor-1 and vascular endothelial growth factor and their synergism in a novel in vitro quantitative fibrin-based 3-dimensional angiogenesis system[J]. *Surgery*, 2002, 132(2): 259–267.
 58. Kroon ME, van Schie ML, Van dVB, et al. Collagen type 1 retards tube formation by human microvascular endothelial cells in a fibrin matrix [J]. *Angiogenesis*, 2002, 5 (4): 257–265.
 59. Wang L, Shi Q, Dai J, et al. Increased vascularization promotes functional recovery in the transected spinal cord rats by implanted vascular endothelial growth factor-targeting collagen scaffold[J]. *J Orthop Res*, 2017, 36(3): 1024–1034.
 60. Hong LTA, Kim YM, Park HH, et al. An injectable hydrogel enhances tissue repair after spinal cord injury by promoting extracellular matrix remodeling [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 533.
 61. Zeng CG, Xiong Y, Xie G, et al. Fabrication and evaluation of PLLA multichannel conduits with nanofibrous microstructure for the differentiation of NSCs in vitro [J]. *Tissue Eng Part A*, 2014, 20(5–6): 1038–1048.
 62. Duan H, Ge W, Zhang A, et al. Transcriptome analyses reveal molecular mechanisms underlying functional recovery after spinal cord injury[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(43): 13360–13365.
 63. Zeng X, Zeng YS, Ma YH, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells in a three-dimensional gelatin sponge scaffold attenuate inflammation, promote angiogenesis, and reduce cavity formation in experimental spinal cord injury [J]. *Cell Transplant*, 2011, 20(11–12): 1881–1899.
 64. Shafiee A, Atala A. Printing technologies for medical applications[J]. *Trends Mol Med*, 2016, 22(3): 254–265.

(收稿日期:2018-08-05 末次修回日期:2018-01-07)

(本文编辑 李伟霞)