

综述

神经干细胞移植治疗脊髓损伤的临床研究现状及存在的问题

Clinical study of neural stem cells in the treatment of spinal cord injury and its problems

杨昊南¹, 刘 玲², 于才勇², 王 曦²

(1 空军军医大学基础医学院一大队一队; 2 神经生物学教研室暨脑科学协同创新中心 710032 西安市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2020.09.12

中图分类号: R683.2, R459.9 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2020)-09-0846-06

脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 是由于外伤、肿瘤、炎症和缺血缺氧等原因引起的脊髓损害, 导致 SCI 患者损伤平面以下功能永久性障碍, 严重影响患者的生活质量, 并给患者家庭和社会带来沉重经济负担, 目前尚无有效治疗方法, 已成为全球性的研究重点和难题。神经干细胞 (neural stem cells, NSCs) 具有无限增殖的能力和双向分化的潜能, 还可以分泌神经营养因子和调节免疫平衡, 在动物实验中已经证实其具有治疗 SCI 的作用, 通过移植 NSCs 或者其分化的产物治疗 SCI 成为有前景的治疗策略。然而, 尽管临床试验在国内外陆续开展, 但是国外公开报道的临床试验案例非常少^[1,2], 取得的结果也未能达到在动物实验中出现的预期结果, 移植技术存在许多亟待解决的问题。笔者就 NSCs 移植治疗 SCI 的临床试验进展和存在的问题进行综述, 以期将来 NSCs 治疗 SCI 的临床应用研究提供参考。

1 NSCs 的生物学特性

1992 年, Reynolds 等^[3]从成年小鼠脑纹状体中分离出能在体外不断分裂增殖且具有多向分化潜能的细胞群, 提出了 NSCs 的概念。NSCs 具有多种来源: ①胚胎干细胞 (embryonic stem cells, ESCs) 源性 NSCs, 通过对 ESCs 诱导分化为 NSCs^[4]; ②胚胎源性 NSCs, 从胎儿脑和脊髓内直接分离获得的 NSCs^[5]; ③成体脑源性 NSCs, 从成体脑室下区、海马和脊髓等部位分离培养出的 NSCs^[6]; ④间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 源性 NSCs, 将骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)^[7]和脂肪间充质干细胞^[8]跨胚层分化为 NSCs; ⑤诱导性多能干细胞 (iPSCs) 源性 NSCs, 通过诱导 iPSCs 分化为 NSCs^[9]。目前临床试验中较多使用的是胚胎源性和 MSCs 源性 NSCs。

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No.81771321); 陕西省重点研发计划重点项目 (No.2018ZDXM-SF-060)

第一作者简介: 男 (1998-), 临床医学系本科在读

电话: (029)84772380 E-mail: 1036861248@qq.com

通讯作者: 王曦 E-mail: wangzh@fmmu.edu.cn

NSCs 是一类具有无限增殖/自我更新和多向分化潜能的多能干细胞 (multipotent stem cells), 可分化为所有神经谱系的细胞, 包括神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞, 在胚胎神经系统形成和成年神经再生中发挥重要作用。在体外悬浮培养的条件下, NSCs 具有无限增殖的潜力, 自我增殖形成克隆球, 称为神经球 (neurospheres)。无限增殖的特性实现了在体外可将 NSCs 扩增到移植所需要的细胞数量。NSCs 具有良好的迁移功能和组织融合性, 在损伤个体中, 受病变部位神经源性信号的影响, 移植的 NSCs 向病变部位迁移并分化为神经细胞; 同时还分泌众多不同类型的营养因子、细胞因子等, 营养神经和调节免疫平衡, 促进神经修复和再生^[10-15]。另外, NSCs 处于未分化状态, 具有低免疫原性, 有利于异体移植^[16]。

1999 年, McDonald 等^[17]在大鼠 SCI 模型中首次证明了 NSCs 移植治疗 SCI 的潜力。之后大量动物实验表明, 移植不同来源的 NSCs 都可以分化为神经细胞, 促进轴突再生和再髓鞘化, 减小脊髓空洞形成和损伤范围, 促进 SCI 动物的功能恢复^[18,19]。NSCs 这些特有的生物学特性, 使其成为极富应用前景的治疗 SCI 的候选细胞之一, 国内外都在努力尝试开展临床试验。

2 NSCs 移植治疗 SCI 的临床试验

开展临床试验是将 NSCs 成功应用到临床的必经过程。虽然受法律法规和技术等方面的限制, 使用 NSCs 治疗 SCI 的临床试验案例非常少, 但是依然获得了一些可供借鉴的有价值的临床试验数据。

自 2005 年^[20]韩国开展世界首例 NSCs 移植治疗 SCI 的临床试验以来, 中国和美国都积极开展了 NSCs 移植的临床试验, 主要在 NSCs 移植安全性方面进行评估, 有限的试验结果初步证实了临床使用的安全性和耐受性, 部分患者伴有部分的功能恢复^[21-23]。所使用的 NSCs 主要有胚胎源性 NSCs、脐血源性 NSCs 和 BMSCs 源性 NSCs (表 1)。

2.1 胚胎源性 NSCs

2005 年, 韩国延世大学卫生系统世福兰斯医院批准了世界首例人胚胎脑组织来源的神经干/前体细胞 (human

fetal brain-derived neural stem/progenitor cells, hNS/PCs) 移植治疗 SCI 的临床试验^[20]。临床前期动物实验已经证实此株 hNS/PCs 可以改善 SCI 大鼠运动功能, 移植细胞向损伤处广泛迁移, 大部分保持未分化状态。临床试验中将 1 亿个 hNS/PCs 分别移植到 19 例颈段 SCI 患者的损伤脊髓处, 1 年后有 5 例患者症状得到改善, 其中包括肌力恢复和运动功能评分的提高, 无神经病理痛恶化或痉挛加重的迹象, 无肿瘤形成等不良现象, 移植安全, 患者耐受良好。此项研究首次通过有限的病例获得了一些临床安全性和疗效方面的数据, 为临床应用 hNS/PCs 移植治疗颈段 SCI 提供了安全性和耐受性支持, 但还需要更大规模的、可控的临床试验进一步证实。

在动物实验中, 通过研究多种 NSCs 的移植效果, 发现有的 NSCs 细胞株在向神经元方向分化、生存和迁移等方面表现出更加优良的特性。NSI-566RSC 细胞株是从人 8 周胎儿脊髓中分离得到的一株 NSCs, 因其移植过程中良好的生物学特性被寄予厚望^[24]。动物实验证实此株细胞与大多数 NSCs 移植后的命运不同, 是一种具有良好生长特性和神经发生潜能的细胞株, 移植后分化产生大量神经元, 与宿主神经元形成突触, 显著提高脊髓功能恢复, 前期细胞实验和动物移植实验均未显示致瘤性, 具有很好的临床应用潜力。2013 年美国神经干细胞公司 (Neural Stem, Inc.) 将 FDA 批准的 NSI-566RSC 细胞株应用于临床试验中^[24], 在加州大学圣地亚哥分校进行 I 期临床安全试验, 将其移植到 T2~T12 SCI 受试者的脊髓内, 观察疗效和安全性。4 例患者接受了 6 次细胞注射共 120 万个细胞, 所

有受试者对手术的耐受性良好, 移植后 18~27 个月没有发生严重的副作用, 移植安全; 在 2 例受试者中, 运动和感觉功能提高 1~2 个脊髓节段水平。虽然 NSI-566RSC 细胞在安全性和耐受性方面取得了积极的结果, 但是仍然存在样本量过少的问题, 需要进一步的临床研究证明其临床应用价值。

临床移植中同样被寄予厚望的还有人中枢神经系统干细胞 (HuCNS-SC)。HuCNS-SC 是来源于人胎儿脑组织的 NSCs, 此株细胞在 SCI 动物模型中被反复证明可以移植、生存、迁移、分化成神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞^[29], 具有良好生物学特性。同时, HuCNS-SC 在治疗梅茨巴赫病^[30]和神经元蜡样脂褐质沉积症^[31]等 CNS 疾病的临床试验中均取得良好的效果。2011 年美国干细胞公司使用 HuCNS-SC 对 12 例 T2~T11 SCI 患者进行临床 I/II 期移植试验, NSCs 直接注射到患者脊髓损伤处吻侧和尾侧, 注射 2000 万个细胞, 分 6~8 次移植, 结果显示 HuCNS-SC 移植有很好的临床安全性与耐受性, 而且有 7 例患者感觉节段有提高^[23]; 该团队还在 2014 年对 17 例 C5~C7 SCI 患者进行细胞剂量和安全性的 II 期临床试验, 患者分 4~8 次接受 1500~4000 个万细胞注射, 结果显示, 随着剂量的增加, 患者并没有出现与此相关的不良反应, 4000 万个细胞移植组出现的不良反应如脑脊液漏、头痛、便秘等在 3 个月后基本消失, 证实 NSCs 移植是安全的, 且不同剂量对功能无明显影响^[23]。但是, 随着时间的推移, 患者功能改善逐渐变小, 尽管比未移植前功能有所提升, 但因改善程度小, 此项试验被干细胞公司终止^[32]。

表 1 NSCs 移植治疗 SCI 临床试验文献

序号	参考文献	开始年	国家	开展机构	临床阶段	损伤部位	注射方式	细胞来源	细胞类型	效果	安全性
1	Shin 等 ^[20]	2005	韩国	世福兰斯医院	I/II 期	C3-C8	脊髓局部	人胚胎脑	NSCs	部分运动感觉功能恢复	安全
2	赵宁等 ^[21]	2008	中国	深圳南山医院	无	未知	鞘内	人脐血 MSCs	MSCs 和 NSCs	感觉评分微弱提升, 试验有效率较低	安全
3	张赞等 ^[22]	2010	中国	武警总医院	无	C3-T12	脊髓局部	人自体 BMSCs	NSCs	运动和感觉轻度提升, ASIA 显著	安全, 且不良反应均消失
4	Levi 等 ^[23]	2011	美国	多中心	I/II 期	T2-T11	脊髓局部	人胚胎脑	NSCs	节段性感觉提升	安全
5	Curtis 等 ^[24]	2013	美国	加州大学圣地亚哥分校	I 期	T2-T12	脊髓局部	人胚胎脊髓	NSCs	提升不显著	安全耐受
6	陈文斗等 ^[25]	2013	中国	解放军 303 医院	无	C3-T12	静脉和鞘内	人胚胎	NSCs	感觉功能改善, 运动功能改善不明显	安全, 不良反应均消失
7	Levi 等 ^[23]	2014	美国	多中心	II 期	C5-C7	脊髓局部	人胚胎脑	NSCs	轻度运动加强	安全
8	吴月奎等 ^[26]	2014	中国	北京八一脑科医院	无	C3-L5	鞘内	人脐血 MSCs	NSCs	ASIA 提升, 余尿减少	安全
9	段建刚等 ^[27]	2016	中国	山西医科大学	无	C3-L5	脊髓局部注射	人自体 BMSCs	NSCs	运动、痛觉和轻触觉功能提升	相对安全
10	栗昭生等 ^[28]	2017	中国	牡丹江医学院红旗医院	无	C3-L5	鞘内	人脐血 MSCs	MSCs 和 NSCs	感觉功能提升, 运动功能提升不显著	安全, 不良反应均消失

国内同期也在积极开展 NSCs 移植的相关临床试验。2013 年陈文斗等^[29]对 13 例急性 SCI 患者进行胎儿来源的 NSCs 移植治疗,第一次静脉移植 1000 万个 NSCs,随后进行 5 次鞘内注射,每次 1000 万个细胞,间隔 5d,期间进行针灸等康复训练,3 个月后进行美国脊髓损伤协会(ASIA)评分,患者感觉功能明显改善,但运动功能改善不明显。

胚胎源性 hNSCs 移植治疗 SCI 患者发挥作用的机制目前在人体中研究比较困难,但是在临床使用前,均对使用的胚胎源性 hNSCs 在动物中做了大量的实验研究,发现移植的 hNSCs 可以很好地整合到损伤的小鼠脊髓,通过分化为少突胶质细胞^[29],或者分化为神经元^[29],或者保留 NSCs 性质不变而发挥作用^[29]。韩国首例临床移植试验使用的 hNSPCs 临床前期实验证实^[29],移植的 hNSPCs 21.3% 分化为神经元,3.5% 分化为星形胶质细胞,1.5% 分化为成熟的少突胶质细胞,而超过 80% 的移植细胞维持在 NSCs 状态;移植的 hNSPCs 表达多种神经营养因子,包括脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor,BDNF)、胶质细胞源性神经营养因子(glial cell line-derived neurotrophic factor,GDNF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)等,还有抗炎因子和免疫调节因子,这些因素是促进轴突再生和功能恢复的主要原因。关于 NSI-566RSC 细胞株的临床前期实验证实,此细胞株是一种具有良好生长特性和神经发生潜能的细胞株,移植后分化产生大量神经元,与宿主神经元形成突触,显著促进脊髓功能恢复^[24]。

2.2 脐血源性 NSCs

脐血源 NSCs 是从新生儿脐带血中分离的 MSCs 分化而来,具有与胚胎及神经组织来源的 NSCs 类似的生物学特性,但是比胚胎源性 NSCs 相对易获取。动物实验证实脐血源 NSCs 能够改善 SCI 动物后肢功能^[33]。2008 年赵宁等^[21]向 51 例 SCI 患者蛛网膜下腔注射 1500 万~6000 万个脐血源 MSCs 及其分化产生的 NS/PCs (包含 80%MSCs, 20%NS/PCs,由深圳市北科细胞工程研究所提供);2017 年栗昭生等^[28]使用同一研究所提供的脐血源干细胞(包含 80%MSCs,20%NS/PCs) 分别对 102 例 SCI 患者蛛网膜下腔注射 1.0~2.0ml 细胞(具体细胞浓度未注明)。两个试验结果均显示移植后患者 ASIA 评分和运动功能评分无显著性差异,只有感觉功能有略微提升;患者同时出现了发热和头痛等不良反应,但均在一段时间后恢复。而且这两个临床试验均缺乏对照组证实单独移植脐血源 NS/PCs 的作用。2014 年吴月奎等^[29]对 36 例陈旧性 SCI 患者鞘内注射 300 万个新生儿脐血源性 NSCs,移植后患者生命体征平稳,3 例患者短暂出现发热,3 个月后 ASIA 各项评分较前提高、膀胱残余尿量减少。这些临床试验从 NSCs 移植的安全性、技术可行性和疗效方面提供了初步临床证据。

目前尚无临床数据探讨脐血源性 NSCs 发挥作用的机制,通过动物实验分析其可能的机制为:脐血源性 NSCs

可以增加微环境中神经营养因子的表达,促进轴突再生,抑制脱髓鞘,保护神经元;调节免疫平衡;促进血管新生;可以分化为神经细胞,发挥营养和支持作用^[29]。

2.3 BMSCs 源性 NSCs

由于异体移植具有免疫排斥反应,不利于移植细胞的存活,因此,有研究者使用自体 BMSCs 源性 NSCs 治疗 SCI。BMSCs 在诱导条件下可以跨胚层分化为 NSCs,具有很强的自我更新能力和可塑性;可自身获得,易获取,避免了伦理道德和免疫排斥反应等方面的制约,临床应用潜力巨大。2010 年张赞等^[22]对 9 例陈旧性 SCI 患者分别在损伤的脊髓部位两侧注射 2000 万个 BMSC 来源的 NSCs,6 个月,其中 7 例患者运动、痛觉、轻触觉均有改善,伴或不伴有 AIS(简明损伤分级)的改善,但是 ASIA 评分均有显著提高;同时,部分患者的肌张力、大小便、植物神经功能和性功能也有改善;部分患者出现的发热、头晕、头痛、神经刺激等不良反应均在 1~3d 消失。2016 年段建刚等^[27]对 35 例 SCI 患者进行 BMSC 源性 NSCs 移植,2000 万细胞注射到损伤脊髓部位两侧,6 个月后患者的运动、痛觉和轻触觉等 ASIA 总评分显著提高。

根据动物实验推测 BMSCs 源性 NSCs 促进脊髓功能恢复的可能机制为:移植细胞会迁移至脊髓缺血区,分化为神经细胞,分泌神经营养因子和免疫调节因子来改善微环境,促进神经元分化,刺激轴突发芽和髓鞘重构,从而促进轴突再生和神经组织修复^[24]。

综上所述,通过有限的临床试验,初步发现几种不同来源的 NSCs 移植都比较安全,并且对部分 SCI 患者有一定的疗效。但是由于试验样本量太少,需要大样本试验研究才能得出确定的结论。

综合分析以上临床试验可以发现,虽然 NSCs 移植在 SCI 动物模型取得了令人鼓舞的进展,但治疗效果却不能在临床试验中完美复制,存在很大差距,分析原因主要在于:①NSCs 在脊髓内发挥作用的机制不清,临床无法调控 NSCs 的生长分化;②患者对移植的 NSCs 产生免疫排斥反应,不利于 NSCs 存活,随时间延长,疗效逐渐下降;③实验动物与人类存在解剖和功能上的差异^[35],例如大鼠是四足动物,脊髓解剖与人类有很多的不同,比如皮质脊髓束位于大鼠的背部,而在人类位于腹侧,有可能造成实验结果的差异;④仅靠单一细胞移植不能解决所有问题,应尽早联合分子治疗和生物材料等手段进一步增强 NSCs 的功能。

3 NSCs 移植治疗 SCI 的临床转化所面临的问题

NSCs 移植距离成功应用到临床还有很多问题需要解决。除了 SCI 机制尚未完全阐明,以及 NSCs 在脊髓内发挥作用的机制尚不完全清楚外,其他的主要局限在于:①移植技术的规范问题,目前尚制定不出最佳的 NSCs 移植的临床使用规范;②如何获得可靠和安全的 NSCs;③如何排除致瘤性等移植风险;④如何解决伦理问题。

3.1 移植技术规范问题

3.1.1 移植时间的选择 SCI 后病情持续发生演变,由急性阶段逐渐进入慢性阶段,为 NSCs 移植的最佳时间选择带来了困难。一般认为,在慢性期移植,会避免剧烈的炎症反应,提供更适宜的移植环境;而在瘢痕形成之前移植,会更好地恢复损伤的神经环路。尽管在动物实验开展了相关研究,但是未得到确切结论,临床试验更是缺乏针对 NSCs 最佳移植时间的研究。参考 BMSCs 的临床试验数据发现,关于移植时间的结果非常不一致。比如,Saito 等^[36]将 BMSCs 移植入 5 例亚急性颈 SCI 患者,结果有 2 例患者功能改善;而在 Kyu 等^[37]的试验中,将 BMSCs 移植入 16 例慢性颈 SCI 患者,16 例功能均有改善,显示慢性期移植优于急性期。但也有相反的结果,Karamouzian 等^[38]将 BMSCs 移植入 11 例亚急性胸 SCI 患者,有 5 例显示出功能改善;而 Vaquero 等^[39]将 BMSCs 移植入 12 例慢性胸 SCI 患者,只有 4 例患者功能改善,提示亚急性期移植优于慢性期移植。因为临床试验中患者人群和干细胞类型的差异,容易造成结果的差异。所以需要开展直接比较 SCI 后不同时间段的 NSCs 移植效果的临床研究。

3.1.2 移植途径的选择 移植途径是关乎 NSCs 是否发挥最佳作用的重要问题,目前主要有三种移植途径:脊髓局部注射^[20,22-24,27]、鞘内注射^[26,28]和血管内注射^[25]。脊髓局部注射主要是在损伤脊髓处或周围注射干细胞^[40],是 SCI 临床试验中常用路径。尽管在动物实验中出现 SCI,但临床试验表明局部注射是安全的^[41]。鞘内注射是利用腰椎穿刺技术,将 NSCs 注射到蛛网膜下腔,随着脑脊液流到脑和脊髓,适用于病变范围较广的神经系统疾病^[42],也用于 SCI,但是在多发性硬化和肌萎缩性脊髓侧索硬化的 MSCs 移植临床试验中发现,鞘内注射过程中有发生无菌性脑膜炎的风险^[43]。血管内注射是细胞经血液循环到达病变部位发挥作用,该方法操作简单、创伤小、易被患者接受;但在其他疾病的 MSCs 临床移植试验中发现,经静脉移植的 MSCs 有引起局部血管血栓^[44]和肺血栓^[45]的风险。临床试验证实,三种方法在多种中枢神经系统疾病中均有效^[20,25,26]。每种途径都有其优点和局限性,因为影响移植效果的变量很多,现在还没有专门针对 NSCs 移植途径做对比研究的临床试验,仍需借助于动物实验的数据支持,对于 SCI 患者哪种途径会取得最佳治疗效果尚需更多的临床对比研究。

3.1.3 移植细胞数量的选择 由于免疫排斥反应、损伤组织炎性和氧化应激环境等不良因素的存在,不利于移植的 NSCs 存活,而脊髓功能的恢复与移植 NSCs 的存活量相关,所以移植细胞的存活率是临床试验关注的重要问题之一。Ghobrial 等^[46]将 HuCNS-SC 移植到 5 例 C5~C7 SCI 的患者中,1 例移植 1500 万个细胞,1 例为 3000 万个,2 例为 4000 万个,1 例为对照组,最后结果显示,随着剂量的增加,患者并没有出现与此相关的不良反应,4000 万个细胞移植组出现的不良反应如脑脊液漏、头痛、便秘等 3 个

月后基本消失,证实 NSCs 移植是安全的,且不同剂量对功能无明显影响。但是通过对多种细胞移植(包括不同类型干细胞和非干细胞)的临床研究的综合比较分析^[47],包括 24 项临床试验含 594 例患者,认为对于慢性 SCI 患者,移植细胞剂量在 1000~5000 万个和 10000~20000 万个疗效更好。然而针对 NSCs 移植治疗 SCI 细胞数量的选择需要进一步的临床试验摸索。

3.2 NSCs 来源的选择

NSCs 有多种获取途径,不同来源的 NSCs 具有不同的优缺点。①胚胎源性 NSCs 和胚胎干细胞分化的 NSCs 在动物实验证实可显著促进 SCI 后功能恢复^[48],而且临床试验中胚胎源性 NSCs 如 NSI-566RSC 株^[24]和 HuCNS-SC 株^[23]以及其他胚胎源性 NSCs^[20,25]均显示是安全的,但胚胎源性干细胞只能从流产胚胎中获取,受到技术与伦理的限制,并且移植后会发生免疫排斥反应,因此使用受到限制。②成体脑源性与脊髓源性 NSCs,因其获取受到技术与伦理的限制,未得到发展。③MSCs 是一种成体多能干细胞,骨髓和脐带血具有丰富的 MSCs,可分化为多种类型的中胚层组织,近年来证实也可以跨胚层分化为 NS/PCs,易获得,可自身获取,避免了免疫排斥反应,从伦理上争议较少,临床试验也证明是安全有效的,是目前 NSCs 移植治疗 SCI 的临床试验中的主要来源之一^[22,27]。④iPSC 来源的 NSCs 具有易获取、可施行自体移植、不发生免疫排斥的优点,但也有动物实验研究发现有 iPSC 来源的细胞具有免疫原性^[49],而且准备时程较长,涉及基因干预,目前尚没有临床试验报道。在 SCI 治疗的临床试验中,目前大多使用胚胎和 MSC 来源的 NSCs 进行移植试验。不同来源的 NSCs 对临床移植效果有何不同,尚缺乏临床试验对比研究。在进行临床试验时应权衡各种细胞优缺点,根据实际情况选择细胞来源。

3.3 移植风险

致癌风险是 NSCs 移植面临的重要问题。虽然目前尚无 NSCs 移植治疗 SCI 的临床试验中出现致癌案例,但是,曾在人胚胎源性 NSCs 移植治疗共济失调毛细血管扩张症的临床试验中发现其致癌性^[50],1 例 13 岁共济失调毛细血管扩张症的男孩,小脑和鞘内移植 NSCs,4 年后发生来自供体细胞的多发性脑肿瘤。由于机制不清楚,目前尚无有效方法避免致癌风险。

3.4 法律法规和伦理问题

由于 hNSCs 来源于人体组织,NSCs 移植不免要涉及法律法规和伦理问题,如果处理不好,不仅会影响患者的康复,也会阻碍 NSCs 移植技术的应用和发展。主要存在以下问题:①监督机制不健全。主要表现在医院层面和国家层面两级监管机制缺失^[51],在医院层面缺乏监管机制,不能充分评估干细胞移植的有效性和危险性,有可能将高危 NSCs 用于人体移植试验,所以医院应成立专业的监督部门加强对此类情况的审查;在国家层面由于监管缺陷,干细胞移植相关法律法规不完善,容易导致监管不力,

使未经证实的干细胞治疗合法化。在干细胞临床移植试验开展之前,有必要接受这两个重要层面的严格监管。②患者知情同意的问题。目前,NSCs 移植技术的有效性和安全性尚没有经过确切的临床验证,由于存在医患对医学知识掌握具有不平等性,在未能让患者充分了解移植有可能带来伤害而不是获益的情况下,医生容易对患者变相地诱导,使患者同意进行临床试验。由于 NSCs 移植也存在巨大的利益冲突问题,更容易加重不利于患者的情况^[51,52]。随着 NSCs 移植研究逐渐进入临床试验阶段,这些问题应引起足够重视和完善,才能保证该领域的良性发展。

4 总结与展望

综上,NSCs 具有多向分化潜能,并能通过分泌营养因子和调节免疫微环境,起到支持和保护的作用,使 NSCs 移植在治疗 SCI 中展现出诱人的应用前景。虽然已经开展了有限的临床试验,但是,NSCs 移植技术的有效性尚未在临床试验中得到有效证实,存在问题还很多,包括在作用机制、技术规范、移植风险、法律法规和伦理等诸多方面。将 NSCs 移植应用于临床还为时尚早。然而,已有的和正在进行的临床试验研究将为未来 NSCs 的临床应用提供重要的参考价值。基于 NSCs 特有的生物学特性,随着各种问题的逐步解决,相信 NSCs 移植将在治疗 SCI 中发挥重要作用。

5 参考文献

- Pereira IM, Marote A, Salgado AJ, et al. Filling the gap: neural stem cells as a promising therapy for spinal cord injury[J]. *Pharmaceuticals(Basel)*, 2019, 12(2): 65.
- Silvestro S, Bramanti P, Trubiani O, et al. Stem cells therapy for spinal cord injury: an overview of clinical trials[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(2): 659.
- Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system[J]. *Science(New York, NY)*, 1992, 255(5052): 1707-1710.
- 徐乐勤, 丁道芳, 李晓峰, 等. 过表达 mash-1-1 基因促进小鼠胚胎干细胞向神经细胞分化的研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2015, 29(12): 1553-1559.
- 王晶, 王春芳, 李宵, 等. 转基因小鼠脊髓源神经干细胞移植于脊髓损伤模型后的成活、分化、迁移[J]. *中华实验外科杂志*, 2017, 34(6): 931-934.
- Bond AM, Ming GL, Song H. Adult mammalian neural stem cells and neurogenesis: five decades later[J]. *Cell Stem Cell*, 2015, 17(4): 385-395.
- Wei ZJ, Fan BY, Liu Y, et al. MicroRNA changes of bone marrow-derived mesenchymal stem cells differentiated into neuronal-like cells by schwann cell-conditioned medium [J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14(8): 1462-1469.
- Tobita M, Orbay H, Mizuno H. Adipose-derived stem cells: current findings and future perspectives[J]. *Discov Med*, 2011, 11(57): 160-170.
- Vasco M, Giacomo F, Davide S, et al. Generation of human induced pluripotent stem cell-derived bona fide neural stem cells for ex vivo gene therapy of metachromatic leukodystrophy[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(2): 352-368.
- Kadota 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.
- Lu P, Ceto S, Wang Y, et al. Prolonged human neural stem cell maturation supports recovery in injured rodent CNS[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(9): 3287-3299.
- Rosenzweig ES, Brock JH, Lu P, et al. Restorative effects of human neural stem cell grafts on the primate spinal cord[J]. *Nat Med*, 2018, 24(4): 484-490.
- 董锋, 林建华, 吴朝阳. 骨髓间充质干细胞尾静脉移植脊髓损伤大鼠脑源性神经营养因子及神经生长因子的表达[J]. *中国组织工程研究*, 2011, 15(27): 5026-5030.
- Lu P, Kadota K, Tuszynski MH. Axonal growth and connectivity from neural stem cell grafts in models of spinal cord injury[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2014, 27: 103-109.
- Bonner JF, Steward O. Repair of spinal cord injury with neuronal relays: from fetal grafts to neural stem cells [J]. *Brain Res*, 2015, 1619: 115-123.
- Itakura G, Ozaki M, Nagoshi M, et al. Low immunogenicity of mouse induced pluripotent stem cell-derived neural stem/progenitor cells[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 12996.
- McDonald JW, Liu XZ, Qu Y, et al. Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord[J]. *Nat Med*, 1999, 5(12): 1410-1412.
- van Gorp S, Leerink M, Kakinohara O, et al. Amelioration of motor/sensory dysfunction and spasticity in a rat model of acute lumbar spinal cord injury by human neural stem cell transplantation[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2013, 4(3): 57.
- 杨利丽, 李秋菊, 徐长妍, 等. 转化生长因子- $\beta 1$ 神经干细胞后期移植对大鼠脊髓损伤修复的影响[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2018, 24(5): 613-621.
- Shin JC, Kim KN, Yoo J, et al. Clinical trial of human fetal brain-derived neural stem/progenitor cell transplantation in patients with traumatic cervical spinal cord injury[J]. *Neural Plast*, 2015, 2015: 630932.
- 赵宁, 杨万章, 张敏, 等. 脐血源神经干细胞移植修复脊髓损伤的神经功能变化: 51 例效果评估[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(47): 9248-9252.
- 张赞, 代广辉, 王晓东, 等. 神经干细胞移植治疗脊髓损伤临床疗效观察[J]. *医药论坛杂志*, 2010, 31(21): 4-6, 10.
- Levi AD, Okonkwo DO, Park P, et al. Emerging safety of intramedullary transplantation of human neural stem cells in chronic cervical and thoracic spinal cord injury [J]. *Neurosurgery*, 2018, 82(4): 562-575.
- Curtis E, Martin JR, Gabel B, et al. A first-in-human, phase I study of neural stem cell transplantation for chronic spinal cord injury[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(6): 941-950.

25. 陈文斗, 玉石, 谢乔林, 等. 神经干细胞移植在脊髓损伤患者中的应用价值探讨 [J]. 中国实用神经疾病杂志, 2013, (19): 56–57.
26. 吴月奎, 王尚武, 马建华, 等. 脐血源神经干细胞移植治疗陈旧性脊髓损伤 [J]. 中国组织工程研究, 2014, 18 (41): 6678–6683.
27. 段建刚, 赵斌, 宋宇锋. 35 例脊髓损伤患者神经干细胞移植临床疗效研究[J]. 中外医疗, 2016, 35(11): 70–71.
28. 栗昭生, 安宁, 解锦鼎, 等. 脐血源神经干细胞移植对脊髓损伤患者临床恢复中神经功能的影响 [J]. 中国临床医生杂志, 2017, 45(2): 45–46.
29. Salazar DL, Uchida N, Hamers FP, et al. Human neural stem cells differentiate and promote locomotor recovery in an early chronic spinal cord injury nod–scid mouse model [J]. PLoS One, 2010, 5(8): e12272.
30. Gupta N, Henry RG, Strober J, et al. Neural stem cell engraftment and myelination in the human brain [J]. Sci Transl Med, 2012, 4(155): 155ra137.
31. Selden NR, Al-Uzri A, Huhn SL, et al. Central nervous system stem cell transplantation for children with neuronal ceroid lipofuscinosis[J]. J Neurosurg Pediatr, 2013, 11(6): 643–652.
32. Levi AD, Anderson KD, Okonkwo DO, et al. Clinical outcomes from a multi-center study of human neural stem cell transplantation in chronic cervical spinal cord injury [J]. J Neurotraum, 2019, 36(6): 891–902.
33. Hu SL, Luo HS, Li JT, et al. Functional recovery in acute traumatic spinal cord injury after transplantation of human umbilical cord mesenchymal stem cells [J]. Crit Care Med, 2010, 38(11): 2181–2189.
34. 张小宇, 张起顺, 李忠伟, 等. BMSC 定向分化为神经干样细胞后移植改善脊髓损伤大鼠的神经功能[J]. 中华器官移植杂志, 2011, 32(5): 300–304.
35. Sharif-Alhoseini M, Khormali M, Rezaei M, et al. Animal models of spinal cord injury: a systematic review[J]. Spinal Cord, 2017, 55(8): 714–721.
36. Saito F, Nakatani T, Iwase M, et al. Administration of cultured autologous bone marrow stromal cells into cerebrospinal fluid in spinal injury patients: a pilot study[J]. Restor Neurol Neurosci, 2012, 30(2): 127–136.
37. Kyu OS, Hyo CK, Yoon YJ, et al. A phase III clinical trial showing limited efficacy of autologous mesenchymal stem cell therapy for spinal cord injury[J]. Neurosurgery, 2016, 78(3): 436–447.
38. 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.
39. Vaquero J, Zurita M, Rico MA, et al. An approach to personalized cell therapy in chronic complete paraplegia: the Puerta de Hierro phase I/II clinical trial [J]. Cytotherapy, 2016, 18(8): 1025–1036.
40. Li Y, Zhang WM, Wang TH. Optimal location and time for neural stem cell transplantation into transected rat spinal cord[J]. Cell Mol Neurobiol, 2011, 31(3): 407–414.
41. Anderson KD, Guest JD, Dietrich WD, et al. Safety of autologous human schwann cell transplantation in subacute thoracic spinal cord injury[J]. J Neurotraum, 2017, 34(21): 2950–2963.
42. Neuhuber B, Barshinger AL, Paul C, et al. Stem cell delivery by lumbar puncture as a therapeutic alternative to direct injection into injured spinal cord [J]. J Neurosurg Spine, 2008, 9(4): 390–399.
43. Dimitrios K, Clementine K, Adi VD, et al. Safety and immunological effects of mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis[J]. Arch Neurol, 2010, 67(10): 1187–1194.
44. Wu A, Zhang S, Zhou L, et al. Thromboembolism induced by umbilical cord mesenchymal stem cell infusion: a report of two cases and literature review[J]. Transpl Proc, 2017, 49 (7): 1656–1658.
45. Woo JJ, Minsuk K, Chol CJ, et al. Familial occurrence of pulmonary embolism after intravenous, adipose tissue-derived stem cell therapy[J]. Yonsei Med J, 2013, 54(5): 1293–1296.
46. Ghobrial GM, Anderson KD, Dididze M, et al. Human neural stem cell transplantation in chronic cervical spinal cord injury: functional outcomes at 12 months in a phase II clinical trial[J]. Neurosurgery, 2017, 64(CN_suppl_1): 87–91.
47. Zhao H, Sun QL, Duan LJ, et al. Is cell transplantation a reliable therapeutic strategy for spinal cord injury in clinical practice? a systematic review and meta-analysis from 22 clinical controlled trials[J]. Eur Spine J, 2019, 28(5): 1092–1112.
48. Lee H, Yun S, Kim IS, et al. Human fetal brain-derived neural stem/progenitor cells grafted into the adult epileptic brain restrain seizures in rat models of temporal lobe epilepsy[J]. PLoS One, 2014, 9(8): e104092.
49. Cao J, Li X, Lu X, et al. Cells derived from iPSC can be immunogenic: yes or no[J]. Protein Cell, 2014, 5(1): 1–3.
50. Amariglio N, Hirshberg A, Scheithauer BW, et al. Donor-derived brain tumor following neural stem cell transplantation in an ataxia telangiectasia patient[J]. PLoS Med, 2009, 6(2): e1000029.
51. 周琪, 朱宛宛. 干细胞临床研究和治疗的伦理、道德及法律问题探讨[J]. 科学与社会, 2013, 3(1): 26–36.
52. Janssen SJ, Bredenoord AL, Dhert W, et al. Potential conflicts of interest of editorial board members from five leading spine journals[J]. PLoS One, 2015, 10(6): e0127362.

(收稿日期:2020-04-05 末次修回日期:2020-05-29)

(本文编辑 卢庆霞)