

细胞与生物材料联合治疗脊髓损伤的研究现状

唐玺和^{1,2}, 范益民^{1*}, 蓝胜勇^{2*}

(1. 山西医科大学第一附属医院神经外科, 太原 030001; 2. 广西壮族自治区人民医院神经外科, 南宁 530021)

【摘要】 脊髓损伤是一种发病率较高的中枢神经损伤性疾病, 目前尚无有效治疗方法, 损伤后多遗留神经功能缺失。细胞移植治疗为脊髓损伤带来了新的希望, 如使用诱导多能干细胞以及自体间充质干细胞、嗅鞘细胞等治疗脊髓损伤, 但是许多动物实验证明移植后细胞存活率低, 影响治疗效果。近些年来, 随着新型的生物组织工程材料的出现, 将细胞与生物材料结合, 使得生物材料能够提供细胞生存的良好环境, 促进其生长、分化, 提供了一种新的治疗方法。本文将细胞与生物材料治疗脊髓损伤的研究现状加以综述。

【关键词】 细胞治疗; 生物材料; 脊髓损伤

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 06-0127-04

doi: 10. 3969/j. issn. 1671 - 7856. 2018. 06. 023

A review on the treatment of spinal cord injury based on combining cell transplantation and biomaterial therapy

TANG Xihe^{1,2}, FAN Yimin^{1*}, LAN Shengyong^{2*}

(1. Department of Neurosurgery, First Clinical Medical College of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China;
2. Department of Neurosurgery, The People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021)

【Abstract】 Spinal cord injury (SCI) is a central nervous system (CNS)-related disorder. There is yet no successful treatment for this issue at present. Cell-based therapies have been explored for SCI restoration, including the use of pluripotent human stem cells, and a number of adult-derived stem and mature cells such as mesenchymal stem cells, olfactory ensheathing cells. However, cell transplantation is often hampered by the poor cell survival in the treatment of spinal cord injuries. Alternatively, the therapeutic role of different cells has been used in tissue engineering approaches by engrafting cells with biomaterials. The latter have the advantages of physically mimicking the CNS tissue, while promoting a more permissive environment for cell survival, growth, and differentiation. The roles of both cell transplantation and biomaterial-based therapies as single therapeutic approaches for SCI repair will be discussed in this review.

【Key words】 cell therapy; biomaterials; spinal cord injury

脊髓损伤的年发病率为2.5/10万^[1], 损伤后多遗留永久的神经功能缺失。脊髓损伤后局部出现血管破裂及细胞死亡, 继而中性粒细胞浸润, 导致局部炎症形成, 引起组织损害。损伤一周左右, 局

部胶质细胞增生, 形成瘢痕, 阻碍了轴突的重建及脊髓功能的恢复^[2]。目前对脊髓损伤的主要治疗方法是损伤早期通过外科手术解除异物对脊髓的压迫, 重建脊柱的稳定性, 以大剂量激素联合神经

[作者简介] 唐玺和(1981—)男, 博士后, 研究方向: 神经干细胞治疗脊髓损伤。E-mail: azhong1981@126.com

[通信作者] 蓝胜勇(1964—)男, 教授, 研究方向: 脑神经病变及脊髓损伤的外科治疗。E-mail: gxlansyu@163.com。

范益民(1963—)男, 教授, 研究方向: 脑外伤及脑胶质瘤的外科治疗。E-mail: fanyimin2012@126.com。* 共同通信作者。

营养药物治疗。后期以康复治疗促进肢体功能恢复。即便如此,脊髓损伤的治疗效果仍不能令人满意。

利用干细胞移植治疗脊髓损伤已进行了大量的实验研究,其治疗机理主要包括(1)功能神经元替代,即将干细胞定向分化为功能神经元;(2)营养支持作用:针对局部抑制微环境和神经营养因子的缺乏,促进局部营养物质的合成和分泌,改善微环境,促进受损神经元轴突再生,同时促进细胞产生多种细胞外基质,填充局部损伤导致的组织缺损,为轴突再生提供支持物。但是大量研究结果发现移植后的细胞存活率较低,限制了细胞移植治疗脊髓损伤的应用。

组织工程支架可以模拟细胞外基质的生理状态,促进细胞的迁移、扩增和分化,组织工程支架材料应具有以下特点:(1)具有良好的生物生物相容性,不会引起炎症反应等。(2)具有可降解性:植入后能适时降解。(3)能引导细胞的迁移、增殖、分化。(4)具有可塑性和一定生物强度:在体外便于塑形,植入后能维持一定时间。

近些年来,随着新型组织工程材料的出现,科研人员尝试使用细胞联合组织工程支架治疗脊髓损伤。将组织材料携带细胞移植于脊髓损伤部位,新型的材料为细胞生长提供了良好的环境,促进细胞的生长,分化以及与受体细胞之间的功能重建。本文就分别将目前用于治疗的细胞,组织材料加以综述。

1 基于细胞移植治疗脊髓损伤

到目前为止,干细胞用于治疗脊髓损伤已经进行了广泛的研究^[3-4]。目前用于治疗脊髓损伤研究的干细胞主要有以下几种:

1.1 胚胎干细胞

胚胎干细胞在体外可以分化为神经元、星形胶质细胞、少突胶质细胞,具有多能性。单纯胚胎干细胞移植很少使用,目前主要使用由胚胎干细胞分化到神经干细胞或者运动神经元,少突胶质细胞以及联合一些化学小分子治疗脊髓损伤^[5-6],可以改善脊髓损伤动物模型的运动功能。2009 年, FDA 批准 Geron Corporation 进行了人胚胎干细胞来源的少突胶质前体细胞治疗亚急性(伤后 7~14 d)脊髓损伤病人的 I 期临床试验,但是该实验在 2011 年被迫中止。利用胚胎干细胞来源的少突胶质前体细胞移植治疗脊髓损伤存在以下争议:(1)脊髓损伤后神经元发生脱髓鞘的理论缺乏依据,尚无确切依据

证明脊髓损伤后存在持续慢性神经脱髓鞘过程,因此,单纯移植少突胶质细胞并非首选。(2)从胚胎干细胞来源分化的少突胶质细胞可能存在成瘤性,主要是其中混有部分未分化的细胞或者分化不全的细胞。(3)亚急性期移植少突胶质前体细胞会影响脊髓损伤后机体自身发生的炎症反应,但是至今为止,这种炎症反应是否对损伤后的康复有利仍然不明确^[7]。

1.2 诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)

诱导多能干细胞为自体干细胞移植带来新的希望,诱导多能干细胞来源于自体的组织并能提供足量的移植细胞,可以降低免疫排斥反应。随着分化技术的改进,大量实验证明使用诱导多能干细胞移植治疗是安全的。Paul 等^[8]将一 86 岁志愿者的皮肤成纤维细胞诱导为多能干细胞并分化为神经干细胞后将其移植到 C5 半切的大鼠脊髓损伤模型中,实验证明,移植的细胞能在大鼠体内形成轴突。Nakamura^[9]也充分论述了使用 iPS 分化而来的神经干细胞移植治疗的安全性。

1.3 间充质干细胞

间充质干细胞最早由 Friedenstein 在骨髓中发现,称之为骨髓间充质干细胞^[10],之后在人体的多种组织中均发现其存在,其可以分化为成骨细胞、脂肪细胞、成软骨细胞。间充质干细胞用于治疗脊髓损伤机理主要为抑制损伤区域的免疫反应,促进损伤区域的血管再生,释放生长因子,促进局部神经再生^[11]。骨髓间充质干细胞已被用于治疗脊髓损伤的临床 I 期实验,大约 90% 急性脊髓损伤患者经治疗有效,而只有少量的慢性损伤患者,对间充质干细胞移植治疗无效^[12]。

1.4 嗅鞘细胞

嗅鞘细胞包被嗅神经的轴突,对于成年哺乳动物嗅神经的再生与康复,该类细胞具有很强的可塑性,成体的嗅鞘细胞主要从嗅粘膜获得。Tabakow 等^[13]利用自体嗅鞘细胞移植治疗 3 例胸段脊髓损伤患者,术后一年,手术组较对照组损伤平面以下运动及感觉损伤有所改善,且手术组无肿瘤形成,无感染病例发生,目前使用嗅鞘细胞移植治疗脊髓损伤已进行临床 II 期实验,现有的结果证实嗅鞘细胞移植是有效的,安全的。但是 Choi 等^[14]认为目前临床使用嗅鞘细胞移植治疗脊髓损伤,效果缺乏量化标准,嗅鞘神经细胞移植治疗脊髓损伤的机理为其内分泌神经营养因子,如脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、神经胶质

细胞源性神经营养因子 (glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)、神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 等促进受体神经细胞的生存^[15]。

2 生物组织工程材料植入治疗脊髓损伤

随着生物材料的发展,新兴的生物材料不断更新,主要分为天然和人工合成的支架材料。天然的生物材料主要有海藻酸钠、琼脂糖等。Estrada 等^[16]比较了海藻盐、水凝胶、Matrigel 用于治疗脊髓损伤的效果,发现海藻盐的效果优于后两种材料。des Rieux 等^[17]用海藻盐携带血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 移植入脊髓损伤大鼠体内,有明显的治疗作用。琼脂糖是从海藻和热凝胶中提取的线性多糖,为常用药物及大分子载体。Gao 等^[18]将能释放 BDNF 的骨髓基质细胞联合琼脂糖置入脊髓全切模型大鼠损伤部位,可以促进损伤部位神经轴突的生长。人工合成的生物支架材料主要有人工合成聚乳酸、聚羟基酸、聚乙二醇等。如 Mobasser 等^[19]使用多聚乳酸材料移植能有效促进大鼠神经纤维修复;Runge 等^[20]使用聚乙二醇合成的水凝胶移植促进神经纤维修复。Wen 等^[21]报道了将携带 VEGF 与 BDNF 的聚乳酸微球粒置入管状的透明质酸支架中,移植治疗脊髓半切损伤的大鼠模型,取得了明显的治疗作用。但是要用于人体内的生物材料必须具备以下特点:(1)具有良好的生物相容性,不会引起炎症反应等。(2)良好的降解性:植入后能适时降解,并与组织细胞相适应。(3)能引导细胞的迁移,凋亡。(4)能防止胶质瘢痕的形成。(5)高通透性:有利于营养物质和神经营养因子通透。而用于脊髓损伤修复的支架材料还应该具有其独特的性状,包括:(1)生物支架结构必须更加符合脊髓的构造特点。(2)人工支架能够为脊髓损伤局部营造出良好的再生微环境。脊髓损伤后神经纤维再生或植入的神经干细胞存活、增值、分化都需要有适宜的微环境^[22-24]。目前已经开展研究有针对性的补充各种神经营养因子、拮抗抑制因子等措施,如在透明质酸上加上 NT3、BDNF 等修饰的分子,将有利于在损伤局部形成神经再生的微环境,提高治疗效果。最近 Li 等^[25]使用壳聚糖携带神经营养因子 NT3 移植治疗脊髓损伤大鼠模型,发现缓释的 NT3 能够促进大鼠脊髓的神经干细胞迁移到脊髓受损区域并且分化成神经元,形成轴突连接,促进大鼠脊髓损伤的修复。

3 联合生物材料及细胞治疗移植治疗脊髓损伤

大量的动物实验结果提示细胞治疗或者生物材料治疗脊髓损伤有效,但是,使用单一的治疗方法有其局限性。比如:单纯使用细胞治疗不能在损伤部位起到支持作用及维持组织结构的稳定性;单纯使用支架治疗,无法进行脊髓损伤后局部死亡神经元的替代治疗。因此,若能将两种治疗方法的优点结合起来,将可能对脊髓损伤起到更好的治疗作用。到目前为止,大量的动物实验证明了将生物材料联合干细胞移植治疗脊髓损伤,有明显的治疗作用。

Xiong 等^[26]将神经干细胞联合聚乳酸支架移植入脊髓损伤大鼠损伤部位,发现移植后的神经干细胞生存时间延长,最终大鼠肢体功能有所恢复。Lu 等^[3]发现,将 GFP 标记的神经干细胞定植在包被有神经营养因子的纤维蛋白上,神经干细胞在体外能分化成神经元,而且神经元细胞之间有突触形成。将神经干细胞及包被有神经生长因子的神经纤维蛋白移植到脊髓损伤模型后,能明显促进动物脊髓损伤的恢复。Ballios 等^[27]利用将小鼠视网膜来源的干细胞及神经干细胞分别混合在由透明质酸和甲基纤维素组成的水凝胶移植到小鼠视网膜及颅内,发现透明质酸与甲基纤维素组成的水凝胶能明显促进干细胞的生长,以及与周围神经元的整合。除了使用神经干细胞移植治疗脊髓损伤外,骨髓间充质干细胞 (BM-MSC) 联合生物材料也被用于移植治疗脊髓损伤。Kang 等^[28]将骨髓来源的 MSC 联合多聚乳酸及聚乙醇酸生物支架治疗脊髓全切模型,有明显的治疗作用。MSC 联合天然生物材料,如琼脂、海藻酸用于移植治疗脊髓损伤^[18,29],有比较明显的治疗作用。Raynald 等^[30]将人骨髓间充质干细胞-透明质酸-多聚赖氨酸 (hyaluronic acid poly-L-lysine, HA-PLL) 移植到脊髓半横断模型中,发现细胞联合生物材料组较单纯细胞移植组及单纯材料移植组能更加明显改善大鼠运动功能。在临床上,栗昭生等^[31]使用腰椎穿刺注入的方法移植脐血来源的神经干细胞治疗脊髓损伤,取得良好的治疗效果。

总之,脊髓损伤,特别是陈旧性脊髓损伤,目前的临床治疗效果并不令人满意。随着不断更新的生物组织工程材料以及干细胞移植治疗脊髓损伤的出现,必将会明显改善脊髓损伤的治疗效果。

参考文献:

- [1] Rahimi-Movaghar V, Sayyah MK, Akbari H, et al. Epidemiology of traumatic spinal cord injury in developing

- countries; a systematic review [J]. *Neuroepidemiology*, 2013, 41(2):65–85.
- [2] Geller HM, Fawcett JW. Building a bridge: engineering spinal cord repair [J]. *Exp Neurol*, 2002, 174(2): 125–136.
- [3] Lu P, Wang Y, Graham L, et al. Long-distance growth and connectivity of neural stem cells after severe spinal cord injury [J]. *Cell*, 2012, 150(6): 1264–1273.
- [4] Steward O, Sharp KG, Yee KM, et al. Characterization of ectopic colonies that form in widespread areas of the nervous system with neural stem cell transplants into the site of a severe spinal cord injury [J]. *J Neurosci*, 2014, 34(42): 14013–14021.
- [5] Lukovic D, Valdés-Sánchez L, Sanchez-Vera I, et al. Brief report: astrogliosis promotes functional recovery of completely transected spinal cord following transplantation of hESC-derived oligodendrocyte and motoneuron progenitors [J]. *Stem Cells*, 2014, 32(2): 594–599.
- [6] Hwang DH, Shin HY, Kwon MJ, et al. Survival of neural stem cell grafts in the lesioned spinal cord is enhanced by a combination of treadmill locomotor training via insulin-like growth factor-1 signaling [J]. *J Neurosci*, 2014, 34(38): 12788–12800.
- [7] Bretzner F, Gilbert F, Baylis F, et al. Target populations for first-in-human embryonic stem cell research in spinal cord injury [J]. *Cell Stem Cell*, 2011, 8(5): 468–475.
- [8] Lu P, Woodruff G, Wang Y, et al. Long-distance axonal growth from human induced pluripotent stem cells after spinal cord injury [J]. *Neuron*, 2014, 83(4): 789–796.
- [9] Nakamura M, Okano H. Cell transplantation therapies for spinal cord injury focusing on induced pluripotent stem cells [J]. *Cell Res*, 2013, 23(1): 70–80.
- [10] Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells [J]. *Cell Tissue Kinet*, 1970, 3(4): 393–403.
- [11] Rehman J, Traktuev D, Li J, et al. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells [J]. *Circulation*, 2004, 109(10): 1292–1298.
- [12] Syková E, Homola A, Mazanec R, et al. Autologous bone marrow transplantation in patients with subacute and chronic spinal cord injury [J]. *Cell Transplant*, 2006, 15(8–9): 675–687.
- [13] Tabakow P, Jarmundowicz W, Czapiga B, et al. Transplantation of autologous olfactory ensheathing cells in complete human spinal cord injury [J]. *Cell Transplant*, 2013, 22(9): 1591–1612.
- [14] Choi D, Gladwin K. Olfactory ensheathing cells: Part II — source of cells and application to patients [J]. *World Neurosurg*, 2015, 83(2): 251–256.
- [15] Zhang J, Liu Z, Chen H, et al. Synergic effects of EPI-NCSCs and OECs on the donor cells migration, the expression of neurotrophic factors, and locomotor recovery of contused spinal cord of rats [J]. *J Mol Neurosci*, 2015, 55(3): 760–769.
- [16] Estrada V, Brazda N, Schmitz C, et al. Long-lasting significant functional improvement in chronic severe spinal cord injury following scar resection and polyethylene glycol implantation [J]. *Neurobiol Dis*, 2014, 67: 165–179.
- [17] des Rieux A, De Berdt P, Ansorena E, et al. Vascular endothelial growth factor-loaded injectable hydrogel enhances plasticity in the injured spinal cord [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2014, 102(7): 2345–2355.
- [18] Gao M, Lu P, Bednark B, et al. Templated agarose scaffolds for the support of motor axon regeneration into sites of complete spinal cord transection [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(5): 1529–1536.
- [19] Mobasseri A, Faroni A, Minogue BM, et al. Polymer scaffolds with preferential parallel grooves enhance nerve regeneration [J]. *Tissue Eng Part A*, 2015, 21(5–6): 1152–1162.
- [20] Runge MB, Dadsetan M, Baltrusaitis J, et al. Development of electrically conductive oligo (polyethylene glycol) fumarate-poly-pyrrole hydrogels for nerve regeneration [J]. *Biomacromolecules*, 2010, 11(11): 2845–2853.
- [21] Wen Y, Yu S, Wu Y, et al. Spinal cord injury repair by implantation of structured hyaluronic acid scaffold with PLGA microspheres in the rat [J]. *Cell Tissue Res*, 2016, 364(1): 17–28.
- [22] Potter W, Kalil RE, Kao WJ. Biomimetic material systems for neural progenitor cell-based therapy [J]. *Front Biosci*, 2008, 13: 806–821.
- [23] Selzer ME. Promotion of axonal regeneration in the injured CNS [J]. *Lancet Neurol*, 2003, 2(3): 157–166.
- [24] Lee CC, Kim KD. Stem cell microenvironment as a potential therapeutic target [J]. *Regen Med*, 2012, 7(1): 3–5.
- [25] Yang Z, Zhang A, Duan H, et al. NT3-chitosan elicits robust endogenous neurogenesis to enable functional recovery after spinal cord injury [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(43): 13354–13359.
- [26] Xiong Y, Zeng YS, Zeng CG, et al. Synaptic transmission of neural stem cells seeded in 3-dimensional PLGA scaffolds [J]. *Biomaterials*, 2009, 30(22): 3711–3722.
- [27] Ballios BG, Cooke MJ, Donaldson L, et al. A hyaluronan-based injectable hydrogel improves the survival and integration of stem cell progeny following transplantation [J]. *Stem Cell Reports*, 2015, 4(6): 1031–1045.
- [28] Kang KN, Lee JY, Kim DY, et al. Regeneration of completely transected spinal cord using scaffold of poly (D, L-lactide-co-glycolide) small intestinal submucosa seeded with rat bone marrow stem cells [J]. *Tissue Eng Part A*, 2011, 17(17–18): 2143–2152.
- [29] Gros T, Sakamoto JS, Blesch A, et al. Regeneration of long-tract axons through sites of spinal cord injury using templated agarose scaffolds [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(26): 6719–6729.
- [30] Raynald, 李延滨, 郭牧遥, 等. 间充质干细胞-透明质酸-多聚赖氨酸复合物治疗脊髓损伤的研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2012, 22(5): 18–21.
- [31] 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.