电针与骨髓间充质干细胞移植在脊髓损伤修复及再生中的作用

Research progress of electroacupuncture with bone marrow mesenchymal stem cells transplantation in spinal cord injury repair and regeneration

陈 祥,余资江 (贵阳医学院基础医学院人体解剖学教研室,贵州 贵阳 550004)

[关键词] 电针;骨髓间充质干细胞;脊髓损伤;移植
[中图分类号] R651.2 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2013)02-0199-03

脊髓损伤(spinal cord injury,SCI)后可引起损伤平面以下感觉运动功能丧失,导致患者日常生活不能自理,给家庭和社会带来极大负担。脊髓损伤后的主要病理变化包括大量的神经细胞死亡,轴突退变,弥漫性脱髓鞘,脊髓空洞及胶质瘢痕形成[1],胶质瘢痕在脊髓损伤后形成并逐渐加剧,抑制脊髓损伤的修复[2]。这些不可逆的病理过程成为临床治疗脊髓损伤中最棘手的问题。随着干细胞科学的飞速发展,研究发现干细胞移植治疗脊髓损伤具有广阔的应用前景。其中骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells,BMSCs)移植治疗脊髓损伤的研究在脊髓损伤模型制作、移植时间、移植方式、移植浓度、联合移植等多方面取得了显著的成就,临床实验在国内外得到大力开展[3]。同时,电针具有穴位和电刺激的双重功效,临床证实通过电针调节细胞因子、神经营养因子、细胞凋亡基因、Nogo 蛋白、钙离子等影响因素,对脊髓损伤所造成的运动和感觉功能恢复有肯定的促进作用,并能够改善脊髓损伤引起的各种并发症。因此本文就电针与骨髓间充质干细胞移植在脊髓损伤修复及再生中的作用作一概述。

1 BMSCs 移植在脊髓损伤修复及再生中的作用

骨髓间充质干细胞不仅具有可塑性、可移植性,还具有强大的增殖力和免疫原性弱等特点,在一些外界条件的诱导下 BMSCs 可分化成不同的组织细胞。BMSCs 具有多向分化潜能,能诱导分化为神经细胞,从而促进脊髓损伤的修复及再生。研究表明 BMSCs 移植到脊髓损伤区内可见神经元特异性蛋白(neuron specific enolase,NSE),移植的 BMSCs 能分化为神经元[4]。大鼠 BMSCs 在体外可定向诱导分化为神经元样细胞[5],并且移植的 BMSCs 在损伤脊髓内可分化为功能性神经元[6]。Ryu 等[7]将不同组织的 MSCs 移植到脊髓受伤的犬,发现均能促进脊髓损伤后功能的恢复。

BMSCs 可通过抗凋亡的相关机制促进脊髓损伤的修复与再生。BMSCs 通过减少星形胶质细胞的增生、缩小空洞、抑制 Nogo-A 以及神经细胞凋亡等机制来减轻脊髓继发性损伤并促进脊髓神经功能的恢复。Gu 等[8]研究表明移植后 BMSCs 可缩小脊髓损伤面积,并促进轴突再生长,从而促进受损脊髓的修复及再生。研究证实 BMSCs 具有抗凋亡作用,能减轻脊髓继发性损伤[9]。

BMSCs 可分泌多种神经生长因子来促进受损的髓鞘和神经纤维恢复。BMSCs 含有儿茶酚胺并可释放特异性神经递质及神经营养因子,如神经生长因子(nerve growth factor,NGF)、脑源性神经生长因子(brain-derived neurotrophic factor,BDNF)、胶质细胞生长因子(glial growth factor,GGF)等,神经营养因子和神经递质的释放可促进脊髓损伤的修复[10]。卢丽雅等[11]研究发现神经营养素-3(neurotrophin-3,NT-3)基因修饰的 BMSCs 移植到全横断脊髓损伤的动物模型能促进脊髓损伤区神经纤维的再生,有利于瘫痪后肢的自主活动功能的恢复。而目前研究最为成熟的就是 BDNF 基因的修饰作用,因为 BDNF 可以调节神经元的成熟、增殖和分化,可以诱导 BMSCs 向神经细胞分化。

2 电针在脊髓损伤修复及再生中的作用

2.1 电针调节细胞因子

白细胞介素-1(interleukin-1,IL-1)在脊髓损伤后的病理损伤过程中参与炎性损伤过程。研究发现电针能使脊髓损伤大鼠脊髓 IL-1β 表达减少,从而减轻脊髓损伤后炎症反应。且电刺激能抑制 IL-1α 的表达,有利于减轻炎症反应,减少胶质瘢痕形成[12]。

2.2 电针调节 Nogo 蛋白和胶质酸性纤维蛋白

Nogo 对神经突起的生长具有显著的抑制作用。Nogo-A 是脊髓轴突生长最关键的一种抑制分子,研究已证实电针治疗对大鼠脊髓损伤后 Nogo-A 表达具有明显的抑制作用,可促进受损脊髓神经元功能的恢复。胶质酸性纤维蛋白(glial fibrillary acidic protein,GFAP)是星形胶质细胞的特异性标志蛋白,中枢神经系统损伤后,星形胶质细胞反应性增生,突起和胶质丝过度增加,出现表达上调。研究显示 GFAP 是 SCI 后脊髓神经纤维再生的重要阻碍因子,电针治疗对 GFAP 的表达具有明显的

DOI:10.11659/jjssx.1672-5042.201302030
[基金项目] 国家自然基金项目(30660189,81060108);贵阳市科技局科研计划项目(筑科农字 2007-07-06);贵州省社会发展科技攻关项目[黔科合 SY 字(2009)3058;黔科合 SY 字(2012]3153 号)
[收稿日期] 2012-12-08 [修回日期] 2012-12-25

抑制作用。卢帆等[13]证实电刺激干预下,GFAP 持续表达被抑制,电刺激促进损伤脊髓神经元再生修复和功能恢复,并抑制星形胶质细胞持续反应性增生,减少胶质瘢痕形成。

2.3 电针对脊髓神经营养活性物质的影响

陈虹等[14]探讨电刺激对成年大鼠脊髓损伤后脊髓灰质神经元 NGF 表达的影响,结果发现脊髓损伤后电刺激诱导损伤区 NGF 表达,从而创造神经再生的微环境。

2.4 电针对脊髓微循环自由基的影响

脊髓损伤早期治疗的关键是抑制和清除自由基,宋琳等[15]观察电针对脊髓损伤后大鼠氧化应激反应的影响,发现电针能提高急性脊髓损伤模型大鼠 SOD、GSH-Px 活性及降低 MDA 含量,从而降低自由基的损害,保护神经细胞,对损伤脊髓的修复有积极的治疗作用。

2.5 电针抑制神经细胞凋亡

细胞凋亡在脊髓继发性损伤中起主导作用,电针在抑制细胞凋亡上具有积极作用。时素华等[16]发现电针可抑制细胞凋亡,减少瘢痕形成,保护神经细胞,对损伤脊髓的修复有积极的治疗作用。近年来研究报道多聚 ADP 核糖聚合酶-1(PARP-1)参与了脊髓继发性损伤,电针通过抑制 PARP-1 在大鼠脊髓损伤神经元中表达,抑制神经细胞凋亡而减轻脊髓继发性损伤[17]。

2.6 电针改善神经功能

夹脊电针治疗可以促进脊髓损伤后的神经干细胞增殖,从而发挥神经元及其他功能细胞的修复作用。李兵奎等[18]探讨督脉电针治疗对大鼠脊髓损伤后神经功能恢复的影响,证实督脉电针治疗可有效促进 SCI 大鼠神经功能恢复。

3 电针与骨髓间充质干细胞的联合应用

电针联合 BMSCs 移植能减轻脊髓损伤后的炎症反应和神经毒素,抑制二次髓鞘脱失,减少轴突变性和瘢痕形成,促进受损神经元存活和轴突再生,并通过各种可能的机制恢复脊髓功能。电针能促进骨髓间充质干细胞的存活、分化和迁移,联合应用电针与 BMSCs 移植能更好地促进大鼠受损脊髓的轴突再生和改善其部分活动功能[19]。Yan 等[20]在观察电针对大鼠横断脊髓损伤处骨髓间充质干细胞的分化及神经纤维再生的影响,证明电针可以促进 BMSCs 的分化及在脊髓损伤过程中通过诱导内源性 NT-3 的表达,促进神经纤维再生,联合应用电针与 BMSCs 移植能改善部分活动功能。电刺激可以减轻脊髓损伤后的内生性损伤[21],诱导神经细胞分化及轴突再生并引导轴突向正常的方向生长[22-23]。范东艳等[24]探讨骨髓间充质干细胞移植和直流电刺激对大鼠脊髓损伤的修复作用,发现 BMSCs 移植联合电刺激能够最大程度地促进 SCI 修复。电针可在脊髓损伤部位激活细胞的代谢过程,并启动合成和分泌内源性神经营养因子,联合 BMSCs 移植可以促进脊髓损伤的功能恢复。研究证实电刺激疗法能够显著提高脊髓损伤后移植 BMSCs 的存活能力及其联合治疗效果[25]。

4 结语

移植培养的 BMSCs 虽已成功用于修复受损神经,但神经元的低存活率和低分化率有待解决。在 BMSCs 向神经元定向分化的过程中,通过抑制 JAK-STAT3 信号通路,可以减少向星形胶质细胞分化的比例,提高神经元分化的比例[26]。此外,尽管一些营养因子,如 NT-3 和脑源性神经因子已被证实能促进 BMSCs 生存并诱导分化成神经元,但其在 BMSCs 内的影响尚不清楚,且神经营养因子不能保持长期效应。脊髓损伤后,来自移植的 BMSCs 分化后可替代已死亡的神经元和胶质细胞,确切的机制目前尚不清楚。目前大多学者认为电针可以促进移植的 BMSCs 分化更多的神经元,能激活细胞的代谢过程,并启动和分泌内源性神经因子,进而促进上下行神经纤维再生,移植 BMSCs 分化的神经元能促进受损脊髓组织轴突再生、突触连接,形成神经网络,连接上下行神经通路,从而恢复受损脊髓的结构和功能。这些都还需要我们不断证实并应用到临床试验。目前单独运用任何一种方法都不可能完全治愈 SCI,电针、BMSCs 移植在脊髓损伤的修复及再生中均具有显著的疗效,而电针联合 BMSCs 移植能更好地促进受损脊髓的轴突再生和功能恢复,这也是一种安全有效的新联合疗法。随着对电针和 BMSCs 的深入研究,电针联合 BMSCs 移植治疗脊髓损伤将有着广泛的应用前景。

[参考文献]

[1] Barnabé-Heider F, Frisén J. Stem cells fors spinal cord repair[J]. Cell Stem Cell, 2008, 3(1): 16 - 24.

[2] Alilain WJ, Horn KP, Hu H, et al. Functional regeneration of respiratory pathways after spinal cord injury[J]. Nature, 2011, 475(7355): 196 - 200.

[3] 王 格,武栋成. 骨髓间充质干细胞移植治疗脊髓损伤的应用技术[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(23): 4354 - 4358.

[4] 陈玉丙,贾全章,李东君,等. 移植后的 Wistar 大鼠骨髓间充质干细胞向神经分化的实验研究[J]. 中国实验诊断, 2011, 15(8): 1249 - 1251.

[5] Crobu F, Latini V, Maronqiu MF, et al. Differentiation of single cell derived human mesenchymal stem cells into cells with a neuronal phenotype: RNA and microRNA expression profile[J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(4): 3995 - 4007.

[6] 李玉美,余资江. 骨髓间充质干细胞移植治疗脊髓损伤的研究进展[J]. 局解手术学杂志, 2010, 19(1): 56 - 57.

[7] Ryu HH, Kang BJ, Park SS, et al. Comparison of mesenchymal stem cells derived from fat, bone marrow, wharton's jelly, and umbilical cord blood for treating spinal cord injuries in dogs[J]. J Vet Med Sci, 2012, 74(12): 1617 - 1630.

[8] Gu W, Zhang F, Xue Q, et al. Transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells reduces lesion volume and induces axonal regrowth of injured spinal cord[J]. Neuropathology, 2010, 30(3): 205 - 217.

[9] 李东君,贾全章,陈玉丙,等. 骨髓间充质干细胞抑制 Wistar 大鼠脊髓损伤区神经元凋亡的实验研究[J]. 中国实验诊断学杂志, 2011,

15(7): 1044 -1047.

[10] Boido M, Rupa R, Garbossa D, et al. Embryonic and adult stem cells promote raphespinal axon outgrowth and improve functional outcome following spinal hemisection in mice[J]. Eur J Neurosci, 2009, 30(5): 833 -846.

[11] 卢丽雅,张 巍,曾园山,等. 神经营养素-3 基因修饰骨髓间充质干细胞的明胶海绵圆柱体支架移植促进大鼠全横断脊髓损伤部分结构和功能修复的研究[J]. 中国康复医学杂志,2011,26(7): 603 -608.

[12] 张莹莹,李俊岑,饶 莹,等. 电刺激对大鼠脊髓损伤后神经胶质纤维酸性蛋白与白细胞介素-1α 表达的影响[J]. 中国康复理论与实践,2011,17(9): 844 -847.

[13] 卢 帆,李 典,杨 拯,等. 电刺激对脊髓损伤大鼠巢蛋白与 GFAP 表达的影响[J]. 实用骨科杂志,2012,18(1): 32 -36.

[14] 陈 虹,李俊岑,党彦丽,等. 电刺激对大鼠脊髓损伤后神经生长因子表达的影响[J]. 中国康复理论与实践,2012,18(1): 33 -36.

[15] 宋 琳,李晓宁,王莹威,等. 电针对急性脊髓损伤大鼠氧化应激反应的影响[J]. 针灸临床杂志,2011,27(1): 55 -57.

[16] 时素华,李志刚,宋 萌,等. 电针对大鼠脊髓损伤后细胞凋亡受体及肿瘤坏死因子 1 表达的影响[J]. 吉林中医药,2011,31(1): 73 -77.

[17] 李晓宁,王 宁. 电针对大鼠脊髓损伤后细胞凋亡 PARP-1 全长影响的研究[J]. 针灸临床杂志,2011,27(5): 57 -59.

[18] 李兵奎,曾 彬,常 巍,等. 督脉电针对大鼠脊髓损伤后神经功能恢复的影响[J]. 中国康复理论与实践,2012,18(7): 619 -622.

[19] Ding Y, Yan Q, Ruan JW, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells and electroacuppuncture downregulate the inhibitor molecules and promote the axonal regeneration in the transected spinal cord of rats[J]. Cell Transplantation, 2011, 20(4): 475 -491.

[20] Yan Q, Ruan JW, Ding Y, et al. Electro-acupuncture promotes differentiation of mesenchymal stem cells, regeneration of nerve fibers and partial functional recovery after spinal cord injury[J]. Exp Toxicol Pathol, 2011, 63(1 -2): 151 -156.

[21] Hamid S, Hayek R. Role of electrical stimulation for rehabilitation and regeneration after spinal cord injury: an overview[J]. Eur Spine J, 2008, 17(9): 1256 -1269.

[22] Levin M. Bioelectric mechanisms in regeneration: unique aspects and future perspectives[J]. Semin Cell Dev Biol, 2009, 20(5): 543 -556.

[23] Ariza CA, Fleury AT, Tornos CJ, et al. The influence of electric fields on hippocampal neural progenitor cells[J]. Stem Cell Rev, 2010, 6(4): 585 -600.

[24] 范东艳,王 苹,刘 然,等. 骨髓间充质干细胞移植和直流电刺激对大鼠脊髓损伤的修复作用[J]. 中国生物制品学杂志,2011, 24(9): 1028 -1032.

[25] 赵 华,陈允震,刘海春,等. 电刺激对大鼠脊髓损伤后自体骨髓间充质干细胞移植的影响[J]. 中华创伤杂志,2012,28(2): 165 -169.

[26] Hao H, Wang Y, Cheng F, et al. Role of JAK-STAT3 singnaling pathway during neuronal differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells [J]. Neural Regen Res, 2010, 5(5): 337 -341.

(编辑:周小林)

(上接第 198 页)

[25] 刘云云,赵兴绪,赵红斌, 等. Ca^{2+} 信号介导川芎嗪诱导小鼠骨髓间充质干细胞向神经细胞的定向分化[J]. 甘肃农业大学学报, 2010,45(2): 1 -5.

[26] 梁 峰,马洁华,杨丽娜. 川芎嗪联合创伤性脑组织匀浆液诱导骨髓间充质干细胞向神经样细胞分化[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2011,15(23): 4299 -4302.

[27] 裴晶晶,吴 润,赵红斌,等. Ca^{2+} 信号介导红景天苷促进小鼠骨髓间充质干细胞向神经细胞的定向分化[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2010,14(10): 1808 -1812.

[28] 张 明,赵红斌,荔志云,等. 红景天苷对大鼠 BMSCs 向胆碱能神经细胞分化的影响[J]. 中国修复重建外科杂志,2012,26(2): 158 -165.

[29] 杨 捷,王 东. 三七总皂苷在骨髓间质干细胞分化为神经元样细胞中的调解作用研究[J]. 中华中医药学刊,2012,30(4): 891 -893.

[30] 杜红阳,付海燕,马 刚,等. 地黄多糖在诱导大鼠骨髓间充质干细胞向神经样细胞分化过程中对 Notch1 蛋白表达的影响[J]. 广东医学,2012,33(9): 1202 -1206.

[31] Nonaka Y, Shimazawa M, Yoshimura S, et al. Combination effects of normobaric hyperoxia and edaravone on focal cerebral ischemia-induced neuronal damage in mice[J]. Neurosci Lett, 2008, 441(2): 224 -228.

[32] 李玉美,余资江,康朝胜,等. 依达拉奉体外诱导骨髓间充质干细胞向经元样细胞分化[J]. 解剖学报,2012,43(2): 177 -183.

[33] 王 宇,魏书艳,史小琴,等. 三磷酸胞苷二钠诱导大鼠骨髓间充质干细胞分化为神经元样细胞的实验研究[J]. 中国现代医学杂志, 2012,21(17): 1970 -1976.

[34] Shi Y, Zhao X, Hsieh J, Wichterle H, et al. MicroRNA regulation of neural stem cells and neurogenesis[J]. J Neurosci, 2010, 30(45): 14931 -14936.

[35] 周 燕,陈奎生,高剑波,等. miR-124-1 促进大鼠骨髓间充质干细胞神经分化的实验研究[J]. 中国当代儿科杂志,2012,14(3): 215 -220.

[36] Kamiya D, Banno S, Sasai N, et al. Intrinsic transition of embryonic stem-cell differentiation into neural progenitors[J]. Nature, 2011, 470(7335): 503 -509.

[37] 韩 瑞,周 燕,王舒阳,等. Zfp521 在大鼠骨髓间充质干细胞向神经元分化过程中的表达变化及意义[J]. 中国病理生理杂志, 2012,28(2): 326 -331.

[38] Han R, Kan Q, Sum Y, et al. MiR-9 promotes the neural differentiation of mouse bone marrow mesenchymal stem cells via targeting zinc finger protein 521[J]. Neurosci Lett, 2012, 515(2): 147 -152.

(编辑:周小林)