·综 述·

骨髓间充质干细胞移植治疗脊髓损伤的研究进展

Advance on spinal cord injury treated by transplantation of marrow mesenchymal stem cells

李玉美,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] 骨髓间充质干细胞;脊髓损伤;细胞移植
[中图分类号] R651.2 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2010)01-0056-02

脊髓损伤(spinal cord injury,SCI)是一种以损伤平面以下感觉、运动功能完全丧失和大小便失禁为主要临床表现的中枢神经系统严重创伤。近年来,随着干细胞生物学的发展,干细胞移植为临床治疗中枢神经系统损伤提供了新的途径,并有望成为促进神经损伤再生积极有效的方法[1-3]。目前可供选择的细胞类型主要包括[4-5]:骨髓间充质干细胞(marrow mesenchymal stem cells,MSCs)、神经干细胞、胚胎干细胞、雪旺细胞、嗅鞘细胞、脐血干细胞、成纤维细胞等。由于MSCs较其他移植细胞具有来源广泛、取材容易、在体外长期培养过程中始终保持其多向分化潜能、体内移植反应弱、克服了免疫排斥等优点[6],因此探索MSCs移植治疗SCI具有重要的临床意义,拥有广阔的研究前景。

1 骨髓间充质干细胞分化为神经细胞

骨髓间充质干细胞在体外没有外界因素作用下连续传50代仍可保持原来的特性,亦可在一些外界条件的诱导下分化成不同的组织细胞。有文献报道[6]把骨髓间充质干细胞和小脑细胞一起培养发现,骨髓间充质干细胞表面分化出神经元的特异性nestin标记物;骨髓间充质干细胞和小脑的神经元之间有突触连接,允许外界的信号传导到神经元内。Lee等[7]研究进一步发现人骨髓间充质干细胞能够在体外分化成不同亚型的神经元和神经胶质细胞。Bossolasco等[8]从成人骨髓提取并培养的骨髓间充质干细胞在体外不同的培养条件下,骨髓间充质干细胞可以分化成神经元特异烯醇化酶,神经丝蛋白-M阳性的神经元;神经胶质特异性标记细胞和胶质细胞共同培养,免疫组织化学显示胶质细胞酸性蛋白阳性。这些研究为间充质干细胞在体外培养后能转化成神经细胞提供了可信的证据,为治疗中枢神经系统损伤进行细胞移植所需的神经干细胞或神经细胞的来源提供了新的途径,MSCs移植治疗SCI具有广泛的前景。

2 MSCs移植治疗SCI的动物实验

脊髓损伤后形成的巨大囊肿、胶质细胞增生形成瘢痕组织阻碍神经元的再生下行。神经纤维的变性坏死以及中枢神经系统内抑制神经元再生的微环境等因素,极大地阻碍了脊髓损伤的恢复。骨髓间充质干细胞的发现、分离与成功诱导分化为神经细胞,为脊髓损伤的移植治疗提供了"种子细胞",其移植可能成为一种保护和促进损伤的脊髓功能恢复的崭新治疗手段[9-10]。Zurita等[11]把鼠的骨髓间充质干细胞移植到脊髓不完全性横断损伤3个月造成慢性截瘫的成年大鼠的损伤处,移植2周后,组织学检查显示在损伤处MSCs起桥梁作用连接损伤的空腔,并可观察到神经元样细胞和星形胶质细胞,还可见到室管膜细胞的增殖。Nishida等[12]把绿色荧光蛋白转基因鼠的骨髓间充质干细胞以Feridex(一种有磁性的纳米技术)和PLL标记,自蛛网膜下腔注入T_7横断损伤的成年大鼠模型中,移植后在30°斜坡面头低脚高位倾斜30 min,1 d后做组织学切片,肉眼可见到褐色斑聚集于损伤的节段,镜下可见到GFP阳性的MSCs广泛聚集于损伤节段的表面,借磁性作用而广泛聚集于表面的MSCs分化为神经元和星形胶质细胞等修复神经功能。Satake等[13]则将绿色荧光蛋白标志的MSCs在损伤后的第3、5、7天自蛛网膜下腔注入SCI区域,按时间顺序分别在移植后的第7、14、28天取材,发现大部分移植细胞迁移到病变周围,其中部分移植细胞表达了神经元和神经胶质细胞和少突胶质细胞的标志蛋白,同时大鼠的运动和神经功能得到明显的改善。有研究[15]将从人骨髓提取出来的MSCs移植入脊髓横断损伤的大鼠模型中,通过RT-PCR、原位杂交等方法可检测到MSCs在大鼠的脾脏、骨髓及间充质的存活量,证实人的MSCs有很好的治疗作用,并可以避免药物和辐射的副作用,这为人自体移植MSCs治疗SCI奠定了基础。有文献报道将猕猴的MSCs提取出来并在体外培养,2周后移植入同种猕猴的SCI模型中,并在移植后的0 h、1 h、3 h和5 h采用RT-PCR转基因的方法检测到新生细胞中特异性的GAD65和GAD67,从而证实MSCs可分化为神经细胞,促进神经功能的修复[15]。更有研究深入到用基因修饰改变的MSCs治疗SCI,并取得了预期的效果,从而为转基因MSCs治疗SCI开辟了新的纪元[16]。

3 MSCs移植时间的选择

MSCs移植治疗SCI的适宜时间,目前研究尚未统一。动物研究从SCI模型建立即刻到2周甚至延续到伤后3个月移植的均有[16]。但关于不同移植时间对MSCs的分化、整合及神经功能恢复影响的研究较少。从病理机制上讲,SCI后急性期由于血-脊髓屏障破坏,损伤区有严重的免疫炎性反应,多种炎性因子具有神经毒性及胶质细胞的诱发作用,使局部的微环境不适合MSCs的存活

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30660189);贵阳市科技局科研计划项目(筑科农字2007-07-05);贵州省社会发展科技攻关项目[黔科合SY字(2009)3058]
[收稿日期] 2009-10-17 [修回日期] 2009-11-19

和分化。而SCI时间过长,损伤区胶质瘢痕的形成不利于轴突的生长。Okano等[17]提出SCI后干细胞移植的最佳时间应选择在损伤后1~2周,在此期间进行移植,既可解除急性期各种炎性因子对移植细胞的损害,又可避免慢性期胶质瘢痕对轴突再生的干扰。

4 MSCs的移植方式和治疗SCI的可能机制

许多文献报道显示,MSCs移植治疗SCI的方式主要包括直接移植法、经蛛网膜下腔注入移植法和经静脉注入移植法,最近还提出可通过腺病毒载体、纤维蛋白胶及转基因细胞移植等方法。直接移植法是指将体外分化增殖后的MSCs连同培养液多靶点直接注射到SCI区的周围;经蛛网膜下腔注入移植法是指将体外分化增殖后的MSCs注入蛛网膜下腔,使之随脑脊液到达病变部位;经静脉注入移植法是指将体外分化增殖后的MSCs经静脉注入,随血液循环通过血-脊髓屏障到达病变部位;转基因等近来常用的方法已取得一定的进展。但众多方法尚不清楚何种移植方式更合适,目前研究多采用直接移植法。骨髓间充质干细胞治疗脊髓损伤功能改善的作用机制可能有:①骨髓间充质干细胞移植后向病变部位组织渗透融合,一些移植的间充质干细胞在新的环境下表达神经细胞表型,替代损伤细胞,重建神经通路,达到恢复神经功能的目的;②骨髓间充质干细胞可产生一些细胞因子,它们对脊髓功能的恢复可能发挥积极作用;③骨髓间充质干细胞也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、脑源性神经生长因子、胶质细胞生长因子等,神经营养因子和神经递质的释放可促进脊髓损伤的修复[18]。

5 问题与展望

MSCs移植具有提高轴突的再生能力、阻止脱髓鞘、促使髓鞘再生和促进脊髓修复与SCI后神经功能缺失的恢复等作用,并已得到实验证实。MSCs移植作为细胞移植治疗SCI的重要组成部分,在很多方面都取得了一些成果,甚至将研究提高到了基因克隆的程度。MSCs的众多优点使其受到学术界的青睐,为脊髓损伤患者的治疗带来了新的希望。但目前所取得的研究成果多数局限于动物模型,骨髓间充质干细胞移植治疗脊髓损伤在临床上的应用仍处于起步阶段。其作用机制并不十分明确,移植的途径以及取得显著的治疗效果所需的剂量还有待于进一步观察。同其他细胞一样,移植后缺少适宜的免疫抑制所引起的肿瘤的发生和转基因后的基因沉默现象等都是亟待解决的问题。相信随着研究的不断深入,上述问题会得到一定的答案,从而使得SCI的治疗手段实现重大突破,减轻患者的痛苦,提高他们的生活质量。

[参考文献]

[1] Lim PA, Tow AM. Recovery and regeneration after spinal cord injury: a review and summary of recent literature[J]. Ann Acad Med Singapore, 2007, 36(1):49-57.

[2] Tewarie RS, Hurtado A, Bartels RH, et al. Stem cell based therapies for spinal cord injury[J]. J Spinal Cord Med, 2009, 32(2):105-114.

[3] Park DH, Eve DJ, Borlongan CV, et al. From the basics to application of cell therapy, a steppingstone to the conquest of neurodegeneration: a meeting report[J]. Med Sci Monit, 2009, 15(2): RA23-31.

[4] Samadikuchaksaraei A. An overview of tissue engineering approaches for management of spinal cord injuries[J]. J Neuroeng Rehabil, 2007, 4:15.

[5] Moon L, Bunge MB. From animal models to humans: strategies for promoting CNS axon regeneration and recovery of limb function after spinal cord injury[J]. J Neurol Phys Ther, 2005, 29(2):55-69.

[6] Pierdomenico L, Bonsi L, Calvitti M, et al. Multipotent mesenchymal stem cells with immunosuppressive activity can be easily isolated from dental pulp[J]. Transplantation, 2005, 80(6):836-842.

[7] Lee J, Elkahloun AG, Messina SA, et al. Cellular and genetic characterization of human adult bone marrow-derived neural stem-like cells: a potential antiqlioma cellular vector[J]. Cancer Res, 2003, 63(24):8877-8889.

[8] Bossolasco P, Cova L, Calzarossa C, et al. Neuro-glial differentiation of human bone marrow stem cells in vitro[J]. Exp Neurol, 2005, 193(2):3112-325.

[9] Allers C, Sierralta WD, Neubauer S, et al. Dynamic of distribution of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells after transplantation into adult unconditioned mice[J]. Transplantation, 2004, 78(4):503-508.

[10] Furuya T, Hashimoto M, Koda M, et al. Treatment of rat spinal cord injury with a Rho-kinase inhibitor and bone marrow stromal cell transplantation[J]. Brain Res, 2009, 1295:192-202.

[11] Zurita M, Vaquero J, Bonilla C, et al. Functional recovery of chronic paraplegic pigs after autologous transplantation of bone marrow stromal cells[J]. Transplantation, 2008, 86(6):845-853.

[12] Nishida K, Tanaka N, Nakanishi K, et al. Magnetic targeting of bone marrow stromal cells into spinal cord: through cerebrospinal fluid[J]. Neuroreport, 2006, 17(12):1269-1272.

[13] Satake K, Lou J, Lenke LG. Migration of mesenchymal stem cells through cerebrospinal fluid into injured spinal cord tissue[J]. Spine, 2004, 29(18): 1971-1979.

[14] Ding Y, Yan Q, Ruan JW, et al. Electro-acupuncture promotes survival, differentiation of the bone marrow mesenchymal stem cells as well as functional recovery in the spinal cord-transected rats[J]. BMC Neurosci, 2009, 10:35.

[15] Ronsyn MW, Daans J, Spaepen G, et al. Plasmid-based genetic modification of human bone marrow-derived stromal cells: analysis of cell survival and transgene expression after transplantation in rat spinal cord[J]. BMC Biotech, 2007, 7:90.

[16] Hwang DH, Kim BG, Kim EJ, et al. Transplantation of human neural stem cells transduced with Olig2 transcription factor improves locomotor recovery and enhances myelination in the white matter of rat spinal cord following contusive injury[J]. BMC Neurosci, 2009, 10:117.

[17] Okano H, Ogawa Y, Nakamura M, et al. Transplantation of neural stem cells into the spinal cord after injury[J]. Semin Cells Dev Bio, 2003, 14(3):191-198.

[18] 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.

(编辑:郭光金)