维普资讯 http://www.cqvip.com

局解手术学杂志 2006年第15卷第6期
J Regional Anst & OPerative Surg, 2006, Vol.15, No.6

·综 述·

胶质细胞移植治疗脊髓损伤的研究进展

Progress in the study of glial cell transplantation therapy in spinal cord injury

孙文阁[1],夏春林[2] (1.南京中医药大学附属昆山中医院外科,江苏 昆山 215300;2.苏州大学医学院神经细胞生物学研究室,江苏 苏州 215007)

[关键词]脊髓损伤;胶质细胞;细胞移植
[中图分类号]R681.5 [文献标识码]B [文章编号]1672-5042(2006)06-0414-02

脊髓损伤具有高发生率、高致残率、高生存率、高消耗、青壮年多发等特点[1],其相关治疗的研究主要是从挽救神经元的迟发型损害和死亡,促进神经元的再生和组织移植替代等方面进行。由于哺乳动物中枢神经系统损伤后期内源性修复能力有限,所以细胞移植可能是更为可行的修复途径。目前细胞移植分为神经干细胞移植、胶质细胞移植、基因修饰的细胞移植等。胶质细胞通过广泛分布的凸起构成神经组织的支架,对神经元胞体和突起有支持作用,出生后保持一定的分裂能力,受到创伤刺激时进行分裂增殖,形成胶质瘢痕。星形胶质细胞一方面位于神经细胞的附近,另一方面附着于毛细血管的终足,参与物质运输和血脑屏障的形成[2]。此外,星形胶质细胞可能在神经元生成、突触网络形成、神经元电活动以及特异性神经系统疾病等过程中发挥着调控作用。基于上述理论,国内外进行了一系列胶质细胞移植修复脊髓损伤的实验研究,现就相关研究进展综述如下。

1 O-2A祖细胞移植

O-2A祖细胞,即少突胶质细胞-2型星形胶质细胞祖细胞,由Raff[3]在1983年从孕16 d的胚鼠视神经中分离得出,实验证实这种细胞具有定向分化为少突胶质细胞和2型星形胶质细胞的双向分化潜能。O-2A祖细胞分化的星形胶质细胞可以为轴突再生提供基质,分泌神经生长因子促进损伤的轴突再生;星形胶质细胞可以填充损伤造成的缺损,或对断裂的纤维或新形成的纤维起到营养支持作用;与成熟的星形胶质细胞相比,幼稚型星形胶质细胞可抑制胶质瘢痕的形成。少突胶质细胞可为轴突再生的或损伤后存活的脱髓鞘纤维再髓鞘化。Kondo和Raff[4]研究发现O-2A祖细胞在无血清的条件下加入bFGF培养数周后逆向分化为中枢神经系统的干细胞,这种神经干细胞又可分化为神经元、少突胶质细胞、星形胶质细胞。胶质细胞移植适用于两种病理情况,中枢神经系统脱髓鞘病变和创伤导致的轴突断裂,移植O-2A祖细胞可以把不利的环境改变成有利于诱导轴突再生的环境。Robin等制作了一种特殊的脊髓损伤动物模型,即将成年大鼠脊髓背侧白质内注入溴乙锭后,行40 Gry的X射线照射去除胶质细胞,在损伤区内注入O-2A祖细胞,3周后移植的细胞在脱髓鞘轴突的周围形成了新髓鞘,同时有GFAP阳性的星形胶质细胞形成。Tontsch等将CG4细胞(一种O-2A祖细胞的细胞株)移植到正常的或髓鞘形成缺陷的,新生大鼠发育中的中枢神经系统时,也可以广泛形成轴突髓鞘。移植的O-2A祖细胞在不同的病理情况下具有不同的分化方向:①在原发性损伤局限于少突胶质细胞,而不缺乏星形胶质细胞的情况下,移植的O-2A祖细胞将分化为少突胶质细胞;②在星形胶质细胞和少突胶质细胞都受到损伤的情况下,移植的O-2A祖细胞将分化为少突胶质细胞和星形胶质细胞。但是,把O-2A祖细胞注入到正常脊髓组织时,植入的细胞只局限在针道周围,而且很快死亡。

2 嗅鞘细胞移植

哺乳动物的嗅神经终生都保持着再生能力,损伤的嗅神经轴突不但可以再生,重新长入嗅球,而且可以与靶细胞重新建立突触联系,这是因为嗅神经周围有与其他中枢部位不同的胶质细胞,即嗅神经成鞘细胞。嗅鞘细胞包裹神经纤维的方式与雪旺氏细胞和少突胶质细胞或星形胶质细胞不同,其胞质紧贴轴突外膜,包裹嗅神经全长,将嗅神经纤维与其它胶质细胞分隔开,使这些胶质细胞在神经损伤的情况下不能产生抑制轴突再生的蛋白,不形成胶质瘢痕,从而为轴突再生提供适宜的微环境[5]。1997年Li[6]等首次应用嗅鞘细胞移植治疗脊髓损伤,他们把成年大鼠的一侧皮质脊髓束切断造成急性脊髓损伤模型,将培养的嗅鞘细胞悬液注入到损伤部位,3~10周后陆续发现切断的皮质脊髓束延伸生长,穿过损伤区,最后到达下位脊髓前角神经元处,形成功能性连接。Imaizumi等应用X射线加局部注射溴乙锭制成脊髓后索损伤模型,损伤6 d后移植嗅鞘细胞,术后21~25 d对脊髓传导性进行电生理检测,动作电位传到了损伤处的远端,表明脱髓鞘造成的传导阻滞得到了改善。这一结果提示嗅鞘细胞移植能够使脱髓鞘的脊髓后索功能恢复正常。2001年黄红云等[7]率先从人胚胎嗅觉系统中分离并在体外培养出人嗅鞘细胞,纯化后把细胞注入到脊髓损伤的局部,在已经进行的100余例患者中,其运动、感觉和括约肌功能都有不同程度的恢复,且有随时间延续而恢复程度增加的趋势。Woodhall等[8]发现体外培养的嗅鞘细胞能够表达神经营养因子NGF、BDNF、GDNF,其中BDNF表达量最多,大约是NGF的7倍,由自分泌和旁分泌两种形式完成。嗅鞘细胞具有分泌

[收稿日期]2006-08-08 [修回日期]2006-10-19

维普资讯 http://www.cqvip.com

神经生长因子进入培养基的功能,其促进神经轴突再生的分子机制可能是通过细胞粘附因子实现的。

3 雪旺氏细胞移植

雪旺氏细胞是周围神经系统的髓鞘细胞,属大胶质细胞,在正常情况下,每个雪旺氏细胞1次包绕1根轴突,而在再生过程中,增殖的雪旺氏细胞形成Bungner带,对外周再生轴突起引导作用。活化的雪旺氏细胞也能够分泌神经营养因子,如NGF,BDNF,GDNF等,同时表达GDNF受体、NGF受体和低亲和力受体p75。雪旺氏细胞的神经生长因子受体在这里主要起着俘获神经生长因子的作用,通过他们把神经生长因子相对固定在Bungner带,并呈递给再生轴突,促进轴突在Bungner带内延伸。另外,雪旺氏细胞还分泌细胞外基质,如层粘素、纤粘素和胶原等,以促进轴突的附着和生长。在中枢神经系统,创伤轴突的微环境不允许其再生,但许多中枢神经系统的轴突能长入存活的周围神经移植物,这可能与雪旺氏细胞提供的有利环境有关。Jasmin等[9]用噬菌体去除鼠损伤脊髓中的少突胶质细胞和星形胶质细胞,植入雪旺氏细胞,75 d后雪旺氏细胞长入鼠的脊髓神经束,几周后围绕中心轴突的雪旺氏细胞被少突胶质细胞所取代,因而推断雪旺氏细胞早期促进脊髓轴突再生,而后功能为少突胶质细胞和星形胶质细胞取代。应用生物相容性材料种植雪旺氏细胞,将其植入完全横断的脊髓后,可以观察到轴突生长通过了这些材料。但Lakatos等[10]的实验却得出相反的结论,雪旺氏细胞在中枢神经系统与星形胶质细胞相互抵制,能被星形胶质细胞增生形成的胶质瘢痕所包裹,雪旺氏细胞有增加星形胶质瘢痕形成的作用。

4 少突胶质细胞移植

少突胶质细胞包裹中枢神经纤维的轴突形成髓鞘,它与周围神经系统的雪旺氏细胞有几点不同:①1个少突胶质细胞要包裹多个轴突,一旦少突胶质细胞及轴突受损,则轴突再生便无迹可循。②轴突断裂修复时,少突胶质细胞前体向靶区的生长晚于轴突。轴突先向前迁移,少突胶质细胞再迁移并进行包裹,因而对再生轴突无诱导作用。③少突胶质细胞产生抑制因子,如GIF、N-250、N-35等,抑制轴突生长。少突胶质细胞主要用于由辐射和化学性损伤引起的轴突脱髓鞘的研究,大多数研究显示少突胶质细胞对轴突修复再生有较强的抑制作用。

5 GRP细胞移植

三潜能胶质限定祖细胞(tripotential glial-restricted precursor,GRP)是迄今从发育中枢神经系统分离出的最早的胶质细胞限定祖细胞,可能在脊髓发育中起关键作用,并可分化成少突胶质细胞、星形胶质细胞以及中间祖细胞,如O-2A祖细胞和1型星形胶质细胞限定性祖细胞。GRP细胞在体外呈现广泛的自我更新状态,可直接从发育的脊髓中分离出来,或由神经干细胞和胚胎干细胞体外分化而得,因而是恢复创伤性中枢神经损伤后胶质环境的理想选择。GRP细胞源性星形胶质细胞与未成熟星形胶质细胞和胚胎组织一样,在体外允许轴突生长[11],因此GRP细胞能通过损伤后的未成熟星形胶质细胞的作用,形成促生长基质。对于GRP细胞的生物学特性及其在脊髓损伤中的治疗作用仍有许多问题需要解决,国外的一些研究发现,将其移植到成体完好的或损伤的脊髓后,GRP细胞能够在损伤部位存活、迁移,并分化为星形胶质细胞和少突胶质细胞,且能与宿主组织整合[12-13]。

尽管O-2A祖细胞和嗅鞘细胞移植等方法在脱髓鞘轴突再生的动物实验中取得了一定的成功,但在临床实践中,从成人中枢神经系统获取细胞的可能性很小,而异体获取细胞又面临着道德观念的约束,所以脊髓损伤修复的临床研究仍需更深入地进行。

[参考文献]

[1] 廖维宏,张光铂.进一步加强脊髓损伤修复研究[J].中国脊柱脊髓杂志,2003,13(9):517-519.
[2] 朱长庚.神经解剖学[M].北京:人民卫生出版社,2002.400-407.
[3] Raff MC,Miller RH,Noble M. A glial progenitor cell that develops in vitro into an astrocyte or an oligodendrocyte depending on culture medium[J]. Nature,1983,303(5916):390-396.
[4] Kondo T,Raff M. Oligodendrocyte Precursor cells reprogrammed to become multipotential CNS stem cells[J]. Science,2000,289(5485):1754-1757.
[5] 周长满,买鸿宴,杨立元,等.大鼠嗅球和鼻腔嗅粘膜成鞘细胞的形态学研究[J].解剖学报,2003,34(1):11-14.
[6] Li Y,Field PM,Raisman G. Repair of adult rat corticospinal tract by transplants of olfactory ensheathing cells[J]. Science,1997,277(5334):2000-2002.
[7] 黄红云.嗅鞘细胞移植治疗脊髓损伤的基础与临床研究[J].中国临床康复,2002,6(14):2027-2028.
[8] Woodhall E,West AK,Chuah MI. Cultured olfactory ensheathing cells express nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, glia cell line-derived neurotrophic factor and their receptors[J]. Brain Res Mol Brain Res,2001,88(1-2):203-213.
[9] Jasmin L,Janni G,Moallem TM,et al. Schwann cells are removed from the spinal cord after effecting recovery from paraplegia[J]. J Neurosci,2000,20(24):9215-9223.
[10] Lakatos A,Franklin RJ,Barnett SC. Olfactory ensheathing cells and Schwann cells differ in their in vitro interactions with astrocytes[J]. Glia,2000,32(3):214-225.
[11] Gregori N,Proschel C,Noble M,et al. The tripotential glial-restricted precursor (GRP) cell and glial development in the spinal cord: generation of bipotential oligodendrocyte-type-2 astrocyte progenitor cells and dorsal-ventral differences in GRP cell function[J]. J Neurosci,2002,22(1):248-256.
[12] Han SS,Liu Y,Rao MS,et al. Transplantation of glial-restricted precursor cells into the adult spinal cord: survival, glial-specific differentiation, and preferential migration in white matter[J]. Glia,2004,45(1):1-16.
[13] Ogawa Y,Sawamoto K,Miyata T,et al. Transplantation of in vitro-expanded fetal neural progenitor cells results in neurogenesis and functional recovery after spinal cord contusion injury in adult rats[J]. J Neurosci Res,2002,69(6):925-933.

(编辑:雷 艳)