维普资讯 http://www.cqvip.com

局解手术学杂志 2004年第13卷第3期
J Regional Anat & Operative Surg, 2004, Vol.13, No.3

·综 述·

神经干细胞在修复脊髓损伤中的应用

Application of neural stem cells in repair of spinal cord injury

纪家武[1]，王 玮[2]
（1.福州市神经精神病防治院，福建 福州 350007；2.福建医科大学人体解剖与组织胚胎学系，福建 福州 350004）

[关键词] 神经干细胞；移植；脊髓损伤
[中图分类号] R322.8；R651；R744 [文献标识码]B [文章编号]1672-5042(2004)03-0198-02

成年中枢神经系统损伤后其自身的修复能力是有限的，死亡的神经元不能由中枢神经系统自身产生新的神经元或邻近的神经元来替换。然而，近年来神经干细胞（neural stem cells，NSCs）的研究已改变了这些观点，现已发现中枢神经系统的一些区域终生存在产生新神经元的能力，通过移植神经干细胞来修复损伤的神经系统是有可能的。本文就神经干细胞的特性及其在修复脊髓损伤方面的作用作一简述。

1 脊髓损伤研究现状

20世纪80年代初 Agurayo 等的实验证实中枢神经纤维可以再生，使人们纠正了中枢神经不能再生和恢复功能性突触回路观点[1]。随后，人们逐渐认识到中枢神经系统再生能力有限主要是因为局部微环境不适宜。脊髓损伤后影响局部微环境的因素包括：①原发损伤。造成受损处传导束中断及大批神经细胞死亡，同时血-脊髓屏障破坏引起脊髓内环境失衡，如细胞内外离子浓度改变等；②二次损伤。如由自由基等细胞毒性物质造成的缺血再灌注损伤，细胞外兴奋性氨基酸神经递质异常增高引起的神经细胞毒作用等[2]；③抑制性分子的影响。发育成熟的脊髓在损伤后表达的主要是一些维持中枢神经系统稳定的分子，这些分子并不利于轴突的再生。少突胶质细胞至少表达两种抑制轴突再生的蛋白质：髓磷脂相关糖蛋白和 Nogo-A（一种内质网蛋白，少量表达于少突胶质细胞的表面）。反应性星形胶质细胞在参与损伤修复的同时也产生许多与轴突的再生抑制密切相关的细胞外基质蛋白，如硫酸软骨素糖蛋白[3]等；④物理屏障。损伤处反应性胶质细胞大量增殖包绕坏死区域形成致密的胶质层，这既有利于恢复血-脊髓屏障和髓内离子平衡，也有利于维持非损伤区环路的功能，但所形成的胶质疤痕阻止了轴突的再生和跨越损伤区，同时多种抑制性分子也沉积于其中[4]。由于原发损伤常是瞬间发生且不可逆，因此脊髓损伤的治疗策略主要是阻止和缓解二次损伤；其次是促进轴突再生及功能恢复。在实验动物研究方面，人们一方面试图调动中枢神经再生的内因，另一方面通过改变中枢微环境促进神经再生，减轻损伤。近年来，对修复脊髓损伤的研究焦点多集中在具有自我复制和多分化潜能的神经干细胞的研究方面。

[收稿日期] 2004-02-18 [修回日期] 2004-03-10

2 神经干细胞的生物学特性

干细胞是具有多潜能性的细胞，其主要特征包括：①自我更新；②可分化为神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞；③通过不对称分裂产生除自身以外的其它细胞[5]。哺乳动物的胚胎和成熟个体体内均存在神经干细胞。神经干细胞存在于哺乳动物脑和脊髓中，不同区域可能有着不同的生物学特性。

3 脊髓损伤移植治疗方法

按移植物种类不同可以分为：①神经因子结合桥接体移植，常用的作为桥接体的组织有大网膜、肌基膜管、雪旺细胞基底膜等；②自体周围神经移植，有单纯周围神经移植和带血管蒂的自体周围神经移植，采用带血管蒂的自体周围神经移植，则为神经再生提供了丰富的营养以及适宜的微环境，能够取得比单纯周围神经移植更好的效果[6]；③中枢神经组织移植，中枢神经组织移植常采用胚胎中枢神经组织；④采用带血管蒂的自体周围神经与胚胎中枢神经组织神经干细胞联合移植；⑤神经干细胞移植。

4 神经干细胞移植

4.1 神经干细胞的来源

中枢神经系统中的神经干细胞数量极少，因此不能直接用于移植。目前可满足移植条件的神经干细胞主要来源于两种途径：①建立体外神经干细胞系。分离发育胚胎或成年动物中枢神经系统神经干细胞，应用特殊培养或转基因方法终止其分化，促进其增殖，使细胞处于循环往复的细胞增殖周期内，形成永生化的神经干细胞系[7]，因此为移植治疗提供了丰富的细胞来源，导入特定性外源基因可以获取具有特殊功能的神经细胞。最常用的转基因方法是导入外源性癌蛋白基因，如 byc、neu、p53 等；②自体神经干细胞的培养。由于成年动物中枢神经系统神经干细胞数量极少且存在部位较深，神经干细胞的分离过程对成年动物几乎是致死性的，所以即使成年动物中枢神经系统源性神经干细胞在体外培养、建立神经干细胞系也很难

维普资讯 http://www.cqvip.com

用于自体移植治疗。如何获得足够数量的自体神经干细胞是移植治疗的关键所在。少突胶质细胞的前体细胞经体外传代培养,在特定条件下可以逆向分化为多能神经干细胞,后者又可以进一步分化为神经细胞[8];大鼠及人的骨髓基质细胞(bone marrow stromal cells, BMSC)经体外传代培养在特定条件下具有多潜能横向分化能力,并且可以向神经细胞方向定向分化[9]。这些实验结果为神经干细胞的来源增加了新的途径,也为解决"自体源神经干细胞"移植方案中细胞数量不足的问题提供了很好的思路。

4.2 神经干细胞的分化

神经干细胞的分化可能存在细胞自身基因调控和外来信号调控两种机制[10]。许多转录因子参与细胞基因的调控,它们在特定时间通过某一途径被启动后,引起或关闭下游基因的表达,决定着神经干细胞的分化命运;同时,同一来源的神经干细胞移植到不同部位后,其分化结果也不相同,但往往与接受移植部位的细胞相似,提示外来信号调控作用的重要性。外来信号对人和啮齿类动物的神经干细胞分化起不同的调节作用。在不同因素影响下,神经干细胞还具有横向分化潜能。目前认为神经干细胞在体内的分化方向主要取决于宿主移植部位的微环境,神经干细胞可能存在不同的有丝分裂原生长因子反应亚群,不同亚群的分化潜能不完全相同,如对 bFGF 和 LIF 反应的神经干细胞可能在更大程度上分化为神经元[11]。如何调控微环境中神经因子,是诱导神经干细胞定向分化的重要手段之一。基因与神经干细胞联合治疗方案为调控微环境中神经因子提供了新思路,神经干细胞可以直接作为基因靶细胞在体外被 NGF 和 GDNF 等目的基因的重组逆转录病毒有效感染,从而表达和分泌有生物活性的 NGF 和 GDNF,再将载有目的基因的神经干细胞移植入体内,通过长期分泌神经因子而调控移植部位的微环境从而调控神经干细胞的定向分化、改善移植后组织的相关功能[12]。

4.3 神经干细胞的移植时机及途径

被横断的脊髓由于损伤的溶酶体、组织水肿和一些毒性物质的释放可引起脊髓残端变性、坏死和空洞形成而产生脊髓损伤后自切现象,这一过程要维持1周左右。在损伤后1周内进行移植会产生移植物退变甚至坏死;如在损伤后较长时间移植,神经纤维再生很难通过胶质瘢痕;一般认为在损伤后1周左右移植可以阻碍胶质组织瘢痕生成,利于移植物的生长。但是,神经干细胞移植治疗脊髓损伤的作用还包括抑制损伤后的神经细胞的凋亡等,移植的最佳时机是否为损伤后1周左右,目前仍无一致看法。植入途径基本可以分为两种:①神经干细胞直接植入脊髓损伤部位。此种方法可以导致损伤局部神经干细胞的高密度存在,有利于局部神经纤维的再生;②神经干细胞通过血液循环系统到达损伤部位。神经干细胞可以通过损伤部位的血脑—血脊髓屏障到达损伤部位从而修复损伤。

5 神经干细胞应用存在的问题

目前神经干细胞的应用研究中还存在着诸多问题:体外扩增速度、分化神经元的比例控制、功能性神经元的定向分化问题;移植后异体宿主的免疫排斥反应、导入癌蛋白基因的神经干细胞可能具有致瘤性等问题;移植方法、途径、细胞状态、支架、佐剂、适应证等问题,距离临床实际应用还有很长的路要走。动物实验造成的脊髓损伤与人类的实际情况差别较大;虽然已有几种治疗方法和模式,但每一方法的安全性和有效性仍需继续检验;目前尚缺乏客观、准确地评价脊髓再生、功能恢复的方法。随着人们对神经干细胞研究的不断深入,神经干细胞移植治疗的临床应用将有望在不远的将来取得突破性进展。

[参考文献]

[1] David S, Aguayo AJ. Axonal elongation into peripheral nervous system "bridge" after central nervous system injury in adult rats [J]. Science, 1981, 214(4523): 931 - 933.

[2] Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury [J]. Neurosurgery, 1999, 44(5): 1027 - 1039.

[3] Yick LW, Wu W, So KF, et al. Chondroitinase ABC promotes axonal regeneration of Clarke's neurons after spinal cord injury [J]. Neuroreport, 2000, 11(5): 1063 - 1067.

[4] Alexander GR, George MS. Therapeutic interventions following mammalian spinal cord injury[J]. Arch Neurol, 2001, 58(5): 721 - 726.

[5] Gage FH. Mammalian neural stem cell[J]. Science, 2000, 287 (5457): 1433 - 1438.

[6] Ramon-Cueto A, Cordero MI, Santos-Benito FF, et al. Functional recovery of paraplegic rats and motor axon regeneration in their spinalcords by olfactoly ensheathing glia[J]. Neuron, 2000, 25 (2): 425 - 435.

[7] Shihabuddin LS, Ray J, Gage FH. Stem cell technology for basic science and clinical applications[J]. Arch Neurol, 1999, 56(1): 29 - 32.

[8] Kondo T, Raff M. Oligodendrocyte precursor cells reprogrammed to become multipotential CNS stem cells [J]. Science, 2000, 289 (5485): 1754 - 1757.

[9] Woodbuly D, Schwarz EJ, Prockp DJ, et al. Adult rat and human bone marrow stromal cells digerentiate into neurons[J]. J Neurosci Res, 2000, 61(4): 364 - 370.

[10] Brannen CL, Sugaya SO. In vitro differentiation of multipotent human neural progenitors in serum-free medium [J]. Neuroreport, 2000, 11(5): 1123 - 1128.

[11] Uchida N, Buck DW, He D, et al. Direct isolation of human central nervous system stem cells [J]. PNAS, 2000, 97(26): 14720 - 14725.

[12] Mahoney MJ, Saltzman WM, Transplantation of brain cells assembled around a programmable synthetic microenvironment[J]. Nat Biotechnol, 2001, 19(10): 934 - 939.

(编辑:张集建)