

- (3): 468—473.
- [16] Vollrath M, Landolt MA. Personality predicts quality of life in pediatric patients with unintentional injuries: A 1-year follow-up study [J]. Journal of Pediatric Psychology, 2005, 30 (6) : 481—491.
- [17] Benz B, Ritz A, Kiesow S. Influence of age-related factors on long-term outcome after traumatic brain [J]. Restorative Neurology and Neuroscience, 1999, 14:135—141.
- [18] Valadka S, Poenaru D, Dueck A. Long-term disability after trauma in children[J]. J Pediatr Surg, 2000, 35:684—687.
- [19] Tilford JM, Aitken ME, Goodman AC, et al. Child health-related quality of life following neurocritical care for traumatic brain injury: an analysis of preference-weighted outcomes [J]. Neurocrit Care, 2007, 7(1):64—75.
- [20] 张皓, 张小年, 芦海涛, 等. 创伤性颅脑损伤长期预后的评价[J]. 中国康复理论与实践, 2006, 12(2): 133—134.
- [21] Laaksonen C, Aromaa M, Heinonen OJ, et al. Health related quality of life in 10-year-old school children[J]. Qual Life Res, 2008, 17(8):1049—1054.
- [22] Thastum M. Quality of life assessment and children [J]. Ugeskr Laeger, 2008, 170(10): 834—838.
- [23] Janssens L, Gorter JW, Ketelaar M, et al. Health-related quality-of-life measures for long-term follow-up in children after major trauma[J]. Qual Life Res, 2008, 17:701—713.

· 综述 ·

骨髓基质细胞移植治疗脊髓损伤的研究进展

宋成忠¹

骨髓基质细胞(bone marrow stromal cells, BMSCs)是骨髓造血微环境的核心,其结构和功能的完整性对于保护机体造血的稳定性具有十分重要的作用。近年来的研究发现, BMSCs 可分化为中胚层组织细胞,并且在一定条件下体外培养、扩增还可被诱导分化成为神经细胞样细胞和胶质细胞样细胞。动物实验显示,移植到中枢神经系统后, BMSCs 能向神经细胞方向分化,使病灶的囊腔缩小,特别是在神经生长因子存在的条件下可促进轴索跨过胶质屏障生长。动物的感觉/运动功能亦有一定程度的恢复。BMSCs 移植后功能恢复的机制可能与神经保护作用、神经生长因子的表达以及血管和髓鞘的再生,从而产生利于轴索再生的环境等有关。目前已有临床研究报告,但临床应用之前尚有许多问题有待解决。本文对 BMSCs 移植治疗脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI)的研究进展做一综述。

1 BMSCs 体外培养、扩增和分化

研究发现, BMSCs 在体外培养条件下可诱导分化成为神经细胞、星形胶质细胞和少突胶质细胞,为 BMSCs 的体内移植奠定了实验基础。Kamishima 等^[1]报道,犬 BMSCs 在无血清培养基中形成球形细胞团,在形态和表型上与神经球相似,并表达神经细胞(ss Capital SHA, Cylillin-tubulin)和胶质细

胞(GFAP, A2B5 和 CNPase)的标志物,提示犬的 BMSCs 可被诱导分化成为具有神经祖细胞特征的细胞,并有望成为治疗神经疾病的值得期待的细胞治疗方法。吴斌等^[2]用含 2% Utroser G 的 Ultra CULTURE 无血清培养体系扩增人 BMSCs,采用流式细胞仪检测培养细胞的表面标志,结果:无血清培养的 BMSCs 在全反式维甲酸、 β -巯基乙醇和神经生长因子为主要成分组成的 6 种诱导液条件下均可不同程度地分化为神经样细胞,镜下可见诱导后细胞表现为神经细胞形态特征,免疫荧光染色显示 β -微管蛋白(β -Tubulin)和人胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)均有阳性表达。诱导后细胞发生不同程度的凋亡,其中全反式维甲酸和神经生长因子组成的复合诱导液的诱导效率较高,诱导后细胞凋亡率较低,是较佳的诱导条件。高小青等^[3]采用密度梯度离心法从大鼠骨髓中分离培养骨髓基质细胞,用含 20 μ g/L 碱性成纤维细胞生长因子、20 μ g/L 表皮生长因子、N2 辅助因子的 DMEM/F12 培养液向神经干细胞诱导分化。7d 后细胞球逐渐贴壁,球周围很快发出突起,分化为星形胶质细胞样细胞、神经元样细胞及少突胶质细胞样细胞,这些细胞表达巢蛋白(Nestin)、抗胶质纤维酸性蛋白、微管相关蛋白-2 及半乳糖脑苷脂均呈阳性。

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2010.05.029

1 山东大学齐鲁医院康复医学科, 济南, 250012

作者简介:宋成忠,男,副主任医师; 收稿日期:2009-04-09

2 BMSCs 移植的途径与方法

BMSCs 可通过静脉注射、蛛网膜下腔注射和(或)局部注射等途径进行移植。不同途径移植的 BMSCs 均能在损伤部位聚集、存活,并向神经细胞和胶质细胞方向分化。但不同途径移植 BMSCs 后,SCI 的功能恢复程度存在较大差异。Vaquero 等^[9]将成年 Wistar 大鼠制作成 SCI 模型,3 个月后所有动物均未见功能恢复。将 BMSCs 3×10^6 通过静脉途径($n=20$)或直接注射到脊髓损伤部位($n=20$),6 个月后观察发现,与对照组相比,静脉注射组大鼠有一定程度功能恢复,而直接注射到损伤部位组大鼠则呈现明显、持续的功能恢复,BBB (Basso-Beattie-Bresnahan)评分、冷喷雾试验和大腿周径等指标均显著优于静脉注射组,组织学检查显示 BMSCs 在病灶部位存活,并有神经元分化,脊髓结构重建。

也有研究认为,静脉途径移植 BMSCs 不能迁移到病灶,治疗效果差。Fan 等^[9]将 Wistar 大鼠(改良 Allen 模型)分成 4 组:A 组行侧脑室注射,B 组损伤部位鞘内注射,C 组 L3—L4 水平远端鞘内注射,D 组静脉注射。BMSCs 的数量为 5×10^6 。结果,移植后 24h,除 B 组外,其余三组在病灶周围未观察到荧光;1 周后,A、C 组可见 BMSCs 迁移到损伤组织;2—4 周后,除 D 组外,其余三组均见 BMSCs 进入病灶区域;移植后 3—4 周 BMSCs 的数量开始下降,B 组下降较 A、C 组快,提示静脉途径注射 BMSCs 不能迁移到病灶区域。

Bakshi 等^[9]采用腰椎穿刺的方法将表达胎盘碱性磷酸酶报告基因的骨髓干细胞移植给 SD 大鼠,组织学检查发现移植的干细胞达到了损伤部位,并使病变囊腔变小。损伤后 14d 内移植较更长时间移植效果更好,增加移植细胞的数量也能提高治疗效果。

BMSCs 移植治疗的效果与脊髓损伤的程度有关。Himes 等^[7]对轻、中、重度 SCI 大鼠模型进行免疫抑制,然后将数量为 0.5×10^6 的 BMSCs 直接注射到脊髓病变部位。结果,与对照组相比,中度损伤的动物 BMSCs 移植后表现显著的 BBB 评分提高,轻、重度损伤动物功能恢复不明显;免疫细胞化学检查证实,移植组可见神经元的轴索长入损伤区,对照组则未出现轴索的生长,提示 BMSCs 具有修复脊髓损伤的潜能;BMSCs 在移植后 11 周逐渐消失。

移植治疗的时机对于功能恢复至关重要,早期移植的效果明显优于慢性期。Lee 等^[9]将人 BMSCs 移植到 SCI 1 周后大鼠脊髓内,采用 BBB 评分法每周进行行为学评定,连续 2 个月。结果显示,与对照组相比,大鼠的运动能力改善、BBB 评分提高、躯体感觉诱发电位 (somatosensory evoked potentials, SSEPs) 和运动诱发电位 (motor evoked potentials, MEPs) 潜伏期缩短,病理学检查在损伤和注射部位发现 LacZ 和人 Tau 蛋白阳性细胞聚集。结果显示,人 BMSCs 移植可以改善动物的运动功能。

不仅脊髓损伤的程度、移植治疗的时间与治疗效果关系

密切,不同供体来源的 BMSCs 与功能恢复也有关。Neuhuber 等^[9]研究发现,来自 4 个不同供体的人 BMSCs 移植到颈髓损伤的成年雌性大鼠后,其与损伤部位整合良好,少数迁移到移植区域的周围,免疫组化分析证明 BMSCs 移植后,有轴索从移植部位长出,但不同供体来源的 BMSCs 移植后,各组之间的差异较大;行为学检查显示某些治疗组有功能恢复,另一些则无变化;ELISA 方法检测发现,不同供体来源的 BMSCs 分泌的生长因子和细胞因子类型也不同;在背根神经节培养系统中,三个供体的平均轴索长度大于对照组。这些结果提示,人 BMSCs 产生的神经生长因子对于介导轴索的生长和功能恢复是重要的,不同供体来源的 BMSCs 之间存在较大的差异。

Carvalho 等^[10]给急性 SCI 大鼠移植骨髓单个核 CD45(+)/CD34(-)细胞,同时给予每天 60min,每周 6 次,连续 6 周的游泳训练(减轻体重 3%)。结果,与不运动不注射组、运动训练不给予注射组、只注射但不运动组相比,注射骨髓细胞联合运动训练组有显著的功能恢复。与此相反,Yoshihara 等^[11]将转染碱性磷酸酶基因大鼠的 BMSCs 移植给免疫抑制的成年雌性 SD 大鼠 SCI 模型,同时采用动力自行车被动训练 SD 大鼠的后肢,每天 1h,每周 3d。BMSCs 的剂量为 1×10^6 。形态学检查证实,移植的 BMSCs 可存活 3 个月以上,移植物和病灶内均可见轴索生长。但免疫细胞化学分析未见神经细胞和胶质细胞分化。基质+BMSCs 组、基质注射组和手术对照组之间运动功能恢复无差异,提示 BMSCs 移植治疗联合运动训练并不能促进大鼠运动功能恢复。Sheth 等^[12]的研究结果也呈阴性。他们将人 BMSCs 移植给脊髓撞击伤的裸鼠,29 只动物在脊髓撞击伤后 1 周接受人 BMSCs (6×10^5 个, $6 \mu\text{l}$ 培养基)注射,对照组 14 只动物仅注射 $6 \mu\text{l}$ 培养基,每周进行 1 次 BBB 评分。移植后 6 周取脊髓进行组织学检查,对脊髓损伤的程度进行评价。结果发现,移植的人 BMSCs 存活并能使移植部位的组织修复并变平坦。但是,在移植部位未发现一个移植细胞呈现人特异性神经元染色、抗神经丝蛋白 H 或胶质细胞酸性蛋白染色阳性。虽然没有看到神经细胞和星形胶质细胞的分化,但是,邻近移植物的细胞系血管呈抗人内皮细胞 CD105 抗体染色阳性。在人 BMSCs 组,用抗神经丝蛋白抗体染色,发现移植区中存在丰富的轴索样结构。存活组织分析显示接受人 BMSCs 移植的动物,其受压损伤区域较对照组小,但两组 BBB 评分无显著性差异,说明这些组织学改变对功能恢复没有积极影响。

在动物实验的基础上,有些学者开始尝试临床研究,观察 BMSCs 移植治疗的安全性和治疗效果。捷克学者 Syková 等^[13]采用自体骨髓细胞治疗急、慢性完全性 SCI 患者[急性期 7 例(损伤 10—30d),慢性期 13 例(损伤 2—17 个月)],移植时间为伤后 10—467d,采用美国脊髓损伤协会(ASIA)分级,Frankel 评分,SSEPs 和 MRI 作为评价指标。结果发现,3 个月

时,应用椎动脉注射的6例患者5例感觉和(或)运动功能改善,急性期的7例患者有5例、慢性期的13例患者有1例感觉和(或)运动功能改善。11例患者随访2年以上,未见并发症。这些结果提示自体BMSCs移植治疗SCI患者安全、有效,并且证明在SCI后3—4周的治疗时间窗内进行移植治疗非常重要。

Yoon等^[14]报告自体骨髓BMSCs移植联合粒巨噬细胞集落刺激因子皮下注射治疗35例完全性SCI患者的结果,采用I/II期开放标签、非随机化研究方法,将自体骨髓BMSCs注射到病灶周围,发病14d内注射7例,14d—8周注射6例,8周以上注射12例,对照组仅给予常规外科治疗,平均随访时间为10.4个月,移植4个月后磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)检查发现脊髓体积增大,移植点细胞增生,30.4%的急性和亚急性期患者(ASIA分级A级变成B级或C级)ASIA评分提高,而慢性期患者治疗后则无变化。联合治疗后患者未出现任何恶性病变、出血或感染等异常改变,症状未见恶化,亦未出现并发症。

Saito等^[15]报告1例C4—5骨折的患者,于受伤后第3天进行颈椎手术的同时采集髂骨骨髓,分离、培养自体骨髓基质细胞,第10天时BMSCs的数量达到 10^6 个。第13天经患者及其家属同意后通过腰椎穿刺将 3.1×10^7 个BMSCs移植到患者脑脊液中。该研究由独立的临床研究资料管理中心进行登记和管理,治疗的效果和安全性由一个与本研究无关的委员会进行评估。结果发现,与移植前比较,移植后1个月和3个月时评估运动、感觉评分逐渐改善。6个月时评估,两侧屈肘肌的肌力分别从3级提高到4级;左侧伸腕肌肌力从0级提高到3级,右侧仍为0级;两侧伸肘肌肌力分别从0级提高到3级。3个月时磁共振成像显示脊髓病变处空洞形成。移植后未见不良反应。尽管自体BMSCs移植治疗脊髓损伤不涉及伦理和免疫学问题,但这仅是个案报道,而且其研究的主要终点是移植后6个月时的感觉和运动功能,对于生活活动能力的改善尚在进一步的观察之中。

俄罗斯作者Chernykh等^[16]对晚期SCI患者进行自体骨髓干细胞移植,在切开脊髓膜后直接将细胞注入病变囊腔中,或行静脉注射。与对照组相比,移植治疗组患者的ASIA评分、Barthel指数、Ashworth评分均有改善,神经功能缺损评分降低,感觉和运动功能改善。患者对移植治疗耐受良好,未见过敏反应和炎症反应,亦未见神经系统骨化。作者认为,自体骨髓干细胞移植对于晚期SCI患者是一种新的安全的治疗措施。

目前,BMSCs移植治疗SCI的临床研究样本量较小,随访时间较短,而且尚未见多中心、前瞻性、随机双盲对照研究报告,而且移植后细胞的迁移、存活、分化以及与宿主组织的整合、新的神经联系的建立等问题均有待于进一步研究解决,确切的治疗效果也有待于进一步证实。因此,BMSCs的临

床应用还有很长的路要走。

3 BMSCs移植治疗SCI的机制

3.1 移植后BMSCs的迁移、存活和分化

研究表明,BMSCs移植后可迁移并优先聚集在病灶部位,并能存活和分化成为神经细胞,促进神经损伤的修复。Yano等^[17]采用气囊压迫装置制成SCI大鼠模型,采集表达绿色荧光蛋白(green fluorescence protein, GFP)的转基因鼠的BMSCs(BMSC-GFP),利用立体定向技术移植到SCI大鼠模型($n=3$)和对照组大鼠(无脊髓损伤, $n=6$)脊髓内,2—4周后,暴露硬膜,观察BMSC-GFP绿色荧光,对照组只有3只大鼠可见到移植部位周围存在绿色荧光,SCI组中有3只大鼠可见绿色荧光分布在从移植部位到病变部位的广泛区域,说明移植的细胞在移植后2—4周内迁移到了病灶内。组织学分析显示发射绿色荧光的细胞分布在背侧白质内,有些表达神经和胶质细胞的标志物。这些研究结果提示,在活体动物体内也能示踪BMSCs的迁移和分化,评价移植治疗的效果和安全性。

Khalatbary等^[18]采用重力法制成L1挫伤的大鼠模型,1周后通过静脉注射的方法将溴脱氧尿嘧啶核苷(bromodeoxyuridine, BrdU)标记的BMSCs移植给这些动物,4周后处死,计算每个区域移植细胞的密度(the numerical densities of the transmigrated cells per area, Nat),结果,L1中部的密度最高(8.4 ± 0.5),其次为L1—L2之间的部位(5.5 ± 0.3),Nat与损伤部位血肿体积关系密切。作者认为,BMSCs迁移至损伤区域的数量依赖于出血量和血管损伤的程度。

Yano等^[19]用荧光标记来自大鼠股骨的BMSCs,用立体定向方法将培养后的BMSCs移植到SD大鼠的脊髓病灶内(SCI后7d, $n=7$),4周后采用体外125I-iomazenil自放射成像法测定GABA受体功能,发现125I-iomazenil的结合力显著提高($P=0.0376$),病灶周围区域GABA受体阳性细胞的数量显著增加($P=0.0077$),有些则呈微管相关蛋白-2阳性和GABA A受体阳性。免疫细胞化学检测证实移植的BMSCs迁移到病灶中心并密集分布在病灶周边区域。这些发现提示,BMSCs在SCI病灶周围区域支持神经元的存活,且部分BMSCs能分化成神经元,促使病变脊髓组织的再生。

3.2 抗细胞凋亡作用

细胞凋亡是SCI后功能缺失的重要原因之一,骨髓细胞的移植可通过影响细胞凋亡信号途径而减少神经细胞凋亡,发挥神经保护作用。Isele等^[20]采用BMSCs条件培养基(conditioned medium, CM)作用于胚胎鼠神经元,发现CM以浓度依赖性方式减少星形胞菌素或淀粉样- β -肽所致的细胞凋亡,而CM的神经保护作用则需要预处理数小时,并且在加热90℃以上时消失。免疫印迹分析显示CM能够加强神经元Erk 1/2和Akt的磷酸化作用,而MEK1特异性抑制剂

PD98059 或磷酸肌醇激酶 3 (PI3-K) 的抑制剂 Ly294002 则可以使 CM 的神经保护作用消失。

Dasari 等^[21]利用大鼠骨髓间质细胞移植观察其对 SCI 后 Caspase-3 介导的凋亡途径的影响。免疫组织化学分析证实 SCI 后距离病灶尾端 2mm 处可见大量凋亡的神经细胞和少突胶质细胞,给 SCI 大鼠进行细胞移植后可显著降低 Caspase-3 的表达,同时增加了抗凋亡调节基因蛋白 (flc-like inhibitory protein, FLIP) 和 X 染色体连锁凋亡抑制蛋白 (X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP) 在胞浆中的表达,抑制了核的 PARP 分裂。作者认为,大鼠骨髓间质细胞与脊髓的良好整合、分化,并促进运动功能恢复,为 SCI 的治疗提供了一个广阔的前景。

3.3 BMSCs 移植促进轴索再生

越来越多的证据显示, BMSCs 治疗后的功能恢复主要是由于对损伤神经元的营养支持和促进神经元的可塑性,而不是组织替代。Lu 等^[22]观察未经处理的或向神经细胞诱导分化的 BMSCs 对 SCI 轴索生长的影响,结果发现,在将这两种 BMSCs 移植到病灶腔隙中 1 个月后,未处理 BMSCs 组动物仅有轻度的轴索生长,经过诱导分化的 BMSCs 移植后在体内并不能维持神经表型并支持轴索生长达到未处理 BMSCs 组的水平。但将转染脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 基因的 BMSCs 移植后, BDNF 过度表达并显著增加宿主轴索的生长范围,增加 5-HT 能、蓝斑脊髓传导路径以及后柱感觉神经纤维的生长。移植到病灶的 BMSCs 释放 NGF 和 NT-3, 转染 BDNF 基因的 BMSCs 分泌 BDNF 明显增多。尽管有轴索的生长,但并未观察到功能恢复。作者认为,要获得轴索跨过胶质屏障长入病灶并使功能明显恢复,可能还需要联合其他的试验治疗方法。该作者^[23]在另一项研究中将自体骨髓 BMSCs 移植到脊髓损伤后 6 周的成年大鼠,不切除星形细胞增生和细胞外基质相关的抑制因子形成的“慢性瘢痕”,同时给予基因修饰后能表达 NT-3 的 BMSCs,加强轴索生长的局部刺激。损伤后 3 个月解剖学分析显示病灶周围有广泛的星形细胞增生,伴随抑制性细胞外基质分子 NG2 的致密沉积。尽管处于抑制性环境中,但轴索穿过慢性瘢痕长入病灶并在病灶腔隙表达 NT-3,轴索再生伴随雪旺细胞表达抑制性物质 NG2 的同时,也表达“允许”物质神经细胞黏附分子 L1 和 NCAM。这些发现提示,抑制性因子在慢性 SCI 病灶部位沉积形成轴索再生的屏障,基因修饰后的 BMSCs 通过局部或弥散的信号作用打破抑制和再生的平衡,促使轴所穿透瘢痕长入病灶,从而修复病变组织,建立新的神经联系。

李雷等^[24]采用 RT-PCR 方法观察培养的 BMSCs 移植对大鼠 SCI 后脑源性神经生长因子、胶质细胞源性神经生长因子 (glial cell-derived nerve growth factor, GDNF) 及髓鞘前脂蛋白表达的影响。结果显示, BMSCs 移植后 24h, BDNF、GDNF

和 PLP 表达均明显高于对照组和假手术组, 72h 达高峰, 提示 BMSCs 不仅有桥接和中继站的作用, 而且可能自身分泌和 (或) 促进宿主脊髓分泌神经营养因子和促进髓鞘再生, 从而促进脊髓修复。

Koda 等^[25]在体外用腺病毒为载体将 BDNF 基因或 β -半乳糖苷酶基因导入 BMSCs, 然后分别将基质 (MG 组) 或基质+ BMSCs (重组 Lac 腺病毒) (BMSC-LacZ 组) 或基质+BDNF (BMSC-BDNF 组) 注射到 T8 横断的大鼠, 免疫组织化学检查发现, BMSC-BDNF 组 protein 43、酪氨酸羟化酶和降钙素基因相关肽 (CGRP) 相关的纤维数量明显大于 MG 组和 BMSC-LacZ 组。与对照组相比, BMSC-LacZ 组和 BMSC-BDNF 组大鼠的后肢功能有显著恢复, 但后者两组间无差异。这些研究结果提示, 以腺病毒为载体将 BDNF 基因导入 BMSCs 后移植给动物能够使促进轴索的再生和运动功能恢复。

Ronsyn 等^[26]采用质粒转染方法建立了表达 EGFP、NT-3 和 NT3-EGFP 的三个人 BMSCs 细胞 (hBMSC) 系, 移植给适度免疫抑制的大鼠后发现, hBMSC-EGFP 可长期存活达 3 周以上。移植后 1—7d, 各时间点均能检测到 hBMSC-EGFP 细胞表达 EGFP 基因及其蛋白, 但未能检测到 hBMSC-NT3 细胞表达 NT-3 mRNA 和 hBMSC-NT3-EGFP 细胞表达 EGFP 蛋白。hBMSC-NT3-EGFP 细胞皮下移植或在体外培养 2 周后再次移植, 则 EGFP 蛋白表达增加。

上述研究结果证明, 基因修饰的 BMSCs 在移植后可在脊髓内存活, 并可作为细胞载体表达转染基因及蛋白, 促进轴索生长和功能恢复。

3.4 BMSCs 移植促进血管再生

Shi 等^[27]将 BMSCs 在体外培养扩增并用 BrdU 标记, 采用鞘内注射的方法分别于损伤后 2h、24h、48h 移植到缺血性脊髓损伤的兔体内, 数量为 1×10^8 , 4 周后组织学检查发现移植的细胞存活, 腹侧灰质毛细血管密度明显大于对照组 (均 $P < 0.01$), Tarlov 法评定运动功能恢复, 2h 组 (1—28d) 与对照组相比, $P < 0.05$; 24h 组 (14—28d) 与对照组相比, $P < 0.01$; 而 48h 组与对照组相比无差异。因此认为, 鞘内注射 BMSCs 能促进宿主脊髓的血管再生, 从而促进缺血性损伤脊髓的功能恢复。同时也证明, 移植治疗的时间窗对于 BMSCs 的治疗效果是非常重要的。

综上所述, BMSCs 移植后能够迁移到病灶部位并表达神经细胞和胶质细胞的标志物, 有些在体内可分化为神经和胶质细胞。移植后的 BMSCs 通过自身表达和 (或) 转基因后表达神经营养因子, 或通过减少细胞凋亡、支持轴索生长、促进血管再生等途径, 介导脊髓再生环境的“允许作用”, 修复损伤的脊髓。动物实验和临床研究也证实, 移植后神经功能有一定程度的恢复, 并且损伤早期移植的效果优于慢性期; 采用转基因方法表达或联合应用神经生长因子治疗可促进移植细胞的存活和分化, 支持轴索跨越胶质屏障的生长, 提高治疗

效果。但目前对于 BMSCs 移植治疗 SCI 的确切机制尚不明确,临床应用也仅仅处于实验阶段,移植后功能恢复所需的细胞数量、如何保持移植后有足够数量的细胞存活以及细胞诱导分化等问题均有待深入研究。

参考文献

- [1] Kamishina H, Cheeseman JA, Clemmons RM. Nestin-positive spheres derived from canine bone marrow stromal cells generate cells with early neuronal and glial phenotypic characteristics [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2008, 44(5-6): 140—144.
- [2] 吴斌, 郑启新, 郭晓东, 等. 无血清培养骨髓基质干细胞向神经细胞诱导分化条件的优化 [J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2007, 17(5): 372—375.
- [3] 高小青, 杜杰, 杨朝鲜, 等. 大鼠骨髓基质细胞体外培养向神经干细胞的诱导分化 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(12): 2305—2308.
- [4] Vaquero J, Zurita M, Oya S, et al. Cell therapy using bone marrow stromal cells in chronic paraplegic rats: systemic or local administration [J]. *Neurosci Lett*, 2006, 398(1-2): 129—134.
- [5] Fan L, DU F, Cheng BC, et al. Migration and distribution of bone marrow stromal cells in injured spinal cord with different transplantation techniques [J]. *Chin J Traumatol*, 2008, 11(2): 94—97.
- [6] Bakshi A, Barshinger AL, Swanger SA, et al. Lumbar puncture delivery of bone marrow stromal cells in spinal cord contusion: a novel method for minimally invasive cell transplantation [J]. *J Neurotrauma*, 2006, 23(1): 55—65.
- [7] Himes BT, Neuhuber B, Coleman C, et al. Recovery of function following grafting of human bone marrow-derived stromal cells into the injured spinal cord [J]. *Neurorehabil Neural Repair*, 2006, 20(2): 278—296.
- [8] Lee KH, Suh-Kim H, Choi JS, et al. Human mesenchymal stem cell transplantation promotes functional recovery following acute spinal cord injury in rats [J]. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, 2007, 67(1): 13—22.
- [9] Neuhuber B, Timothy Himes B, Shumsky JS, et al. Axon growth and recovery of function supported by human bone marrow stromal cells in the injured spinal cord exhibit donor variations [J]. *Brain Res*, 2005, 1035(1): 73—85.
- [10] Carvalho KA, Cunha RC, Vialle EN, et al. Functional outcome of bone marrow stem cells (CD45(+)/CD34(-)) after cell therapy in acute spinal cord injury: in exercise training and in sedentary rats [J]. *Transplant Proc*, 2008, 40(3): 847—849.
- [11] Yoshihara H, Shumsky JS, Neuhuber B, et al. Combining motor training with transplantation of rat bone marrow stromal cells does not improve repair or recovery in rats with thoracic contusion injuries [J]. *Brain Res*, 2006, 1119(1): 65—75.
- [12] Sheth RN, Manzano G, Li X, et al. Transplantation of human bone marrow-derived stromal cells into the contused spinal cord of nude rats [J]. *J Neurosurg Spine*, 2008, 8(2): 153—162.
- [13] 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.
- [14] Yoon SH, Shim YS, Park YH, et al. Complete spinal cord injury treatment using autologous bone marrow cell transplantation and bone marrow stimulation with granulocyte macrophage-colony stimulating factor: Phase I/II clinical trial [J]. *Stem Cells*, 2007, 25(8): 2066—2073.
- [15] Saito F, Nakatani T, Iwase M, et al. Spinal cord injury treatment with intrathecal autologous bone marrow stromal cell transplantation: the first clinical trial case report [J]. *J Trauma*, 2008, 64(1): 53—59.
- [16] Chernykh ER, Stupak VV, Muradov GM, et al. Application of autologous bone marrow stem cells in the therapy of spinal cord injury patients [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2007, 143(4): 543—547.
- [17] Yano S, Kuroda S, Lee JB, et al. In vivo fluorescence tracking of bone marrow stromal cells transplanted into a pneumatic injury model of rat spinal cord [J]. *J Neurotrauma*, 2005, 22(8): 907—918.
- [18] Khalatbary AR, Tiraihi T. Localization of bone marrow stromal cells in injured spinal cord treated by intravenous route depends on the hemorrhagic lesions in traumatized spinal tissues [J]. *Neurol Res*, 2007, 29(1): 21—26.
- [19] Yano S, Kuroda S, Shichinohe H, et al. Bone marrow stromal cell transplantation preserves gammaaminobutyric acid receptor function in the injured spinal cord [J]. *J Neurotrauma*, 2006, 23(11): 1682—1692.
- [20] Isele NB, Lee HS, Landshamer S, et al. Bone marrow stromal cells mediate protection through stimulation of PI3-K/Akt and MAPK signaling in neurons [J]. *Neurochem Int*, 2007, 50(1): 243—250.
- [21] Dasari VR, Spomar DG, Cady C, et al. Mesenchymal stem cells from rat bone marrow downregulate caspase-3-mediated apoptotic pathway after spinal cord injury in rats [J]. *Neurochem Res*, 2007, 32(12): 2080—2093.
- [22] Lu P, Jones LL, Tuszynski MH. BDNF-expressing marrow stromal cells support extensive axonal growth at sites of spinal cord injury [J]. *Exp Neurol*, 2005, 191(2): 344—360.
- [23] Lu P, Jones LL, Tuszynski MH. Axon regeneration through scars and into sites of chronic spinal cord injury [J]. *Exp Neurol*, 2007, 203(1): 8—21.
- [24] 李雷, 吕刚, 王欢, 等. 脊髓损伤大鼠骨髓基质细胞移植后 BDNFmRNA、GDNFmRNA 及 PLPmRNA 的表达 [J]. *中国康复*, 2007, 22(5): 295—297.
- [25] Koda M, Kamada T, Hashimoto M, et al. Adenovirus vector-mediated ex vivo gene transfer of brain-derived neurotrophic factor to bone marrow stromal cells promotes axonal regeneration after transplantation in completely transected adult rat spinal cord [J]. *Eur Spine J*, 2007, 16(12): 2206—2214.
- [26] 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 Biotechnol*, 2007, 7: 90.
- [27] Shi E, Kazui T, Jiang X, et al. Therapeutic benefit of intrathecal injection of marrow stromal cells on ischemia-injured spinal cord [J]. *Ann Thorac Surg*, 2007, 83(4): 1484—1490.