

神经干细胞移植治疗脊髓损伤研究新进展

刘胜文,王煜,雷霆

摘要 脊髓损伤是一种严重的中枢神经系统疾病,治疗效果欠佳。在基础研究中,已有多干细胞用于移植后修复损伤的脊髓组织。其中,神经干细胞更具有对神经组织定向分化的潜能,与脊髓组织有良好的相容性,在轴突再生、突触重塑、髓鞘形成和功能重建方面表现出独特的优势。神经干细胞的来源包括诱导去分化的成熟细胞和胚胎源性的中枢神经组织。后者又分成脑和脊髓源性神经干细胞。脊髓源性的神经干细胞移植后更容易模拟发育过程中脊髓组织的再生过程,修复损伤灶,表现出了更好的应用前景。

关键词 脊髓损伤;神经干细胞;神经修复

中图分类号 R741;R741.05;R744 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20190611

本文引用格式:刘胜文,王煜,雷霆.神经干细胞移植治疗脊髓损伤研究新进展[J].神经损伤与功能重建,2021,16(1):27-28.

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是一种严重的中枢神经系统疾病,致死率高。约90%的SCI病例是由创伤引起,青壮年多见,主要表现为肢体感觉、运动功能及植物神经功能障碍。临床上对于SCI的治疗方法有限,疗效欠佳。干细胞移植是目前SCI基础研究的热点之一,并取得了一定成效,为临床转化奠定了理论和实践基础。

1 概述

干细胞的多向分化潜能是移植后修复损伤脊髓组织的前提条件。用于SCI实验研究的干细胞有多种来源,包括胚胎干细胞、组织(如脐带血、脂肪和骨髓等)源性的间充质干细胞及诱导去分化的多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)。其中,脐带血和骨髓间充质干细胞在国内外部分研究机构已经进入临床研究阶段(见<https://www.clinicaltrials.gov/>),治疗结局有待进一步观察。但是,上述细胞在啮齿类动物脊髓内移植治疗SCI的效果报道不一^[1]。近年来,具有对神经组织定向分化潜能的神经干细胞(neural stem cells, NSCs)在轴突再生、突触重塑、髓鞘形成和功能重建方面表现出独特的优势。由于NSCs在体移植后主要分化为神经元及胶质细胞,因此部分学者也称之为神经前体细胞(neural progenitor cells, NPCs)^[2]。

2 NSCs的来源和诱导分化

用于SCI移植研究的NSCs主要来源有两种。第一种通过改变分化成熟的体细胞的基因表达,使其去分化而重新获得神经系统细胞的分化潜能。诱导去分化的方法包括病毒、siRNA或质粒转染介导的基因重组、细胞因子直接诱导等。如将人皮肤成纤维细胞离体培养后通过病毒载体转染Oct4、Sox2、Klf4和c-Myc基因,可以获得iPSCs^[3]。获得的iPSCs在转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、骨形成蛋白(bone morphogenetic

protein, BMP)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)及Wnt的作用下向NSCs分化^[4]。目前iPSCs的培养技术日趋简化、成熟并且实现商业化生产用于基础研究(如566RSC, Neuralstem公司)。由于从iPSCs获得的NSCs最初具备脑和脊髓组织的分化潜能,为了使NSCs更加有利于SCI的修复,需要使其脊髓化(caudalization)。维甲酸(retinoic acid, RA)被学者们广泛用于诱导NSCs向脊髓组织分化^[5],从而提高SCI移植的治疗效果。进一步的研究发现,RA、FGF8及Wnts等细胞因子联合作用能诱导NSCs分化得更加接近脊髓背-腹侧组织分布^[5]。

NSCs的另一个主要来源是胚胎的中枢神经组织,因此又分成脑(rostral)和脊髓(caudal)源性NSCs。前者获取较后者容易,且细胞数量多。但是,Kumamaru对比研究发现,大量的皮质脊髓束(corticospinal tract, CST)能再生进入脊髓源性的NSCs,而不能在脑源性NSCs移植物中再生。此外,脊髓源性的NSCs移植后更容易模拟发育过程中脊髓组织的再生过程,修复损伤灶^[6]。因此,脊髓源性NSCs对SCI的修复有更好的前景。Robinson等^[7]将扩增和诱导分化脊髓源性NSCs的营养因子从9种(BDNF、NT-3、GDNF、IGF-1、bFGF、EGF、VEGF、PDGF、HGF、MDL)简化为4种(BDNF、bFGF、VEGF和MDL),并取得了相近的效果,优化了移植条件,提高了移植的可操作性。

3 NSCs对SCI的神经修复机制

NSCs移植后不仅能有效填充损伤灶,还分化成神经元和胶质细胞来替代缺失的细胞成分。NSCs移植后分化出大量的神经元,包括多种中间运动神经元和感觉神经元,这些神经元发出轴突进入正常脊髓组织,与下游神经元建立突触联系。轴突生长向头端进入脑干,向尾端生长距离超过受体大鼠的14个脊髓节段^[8]。同时,NSCs也能促进受体

作者单位

华中科技大学同济医学院附属同济医院神经外科
武汉 430030

基金项目

国家自然科学基金
(NO. 81901895)

收稿日期

2019-05-15

通讯作者

雷霆

naowai@tjh.tjmu.edu.cn

脊髓的下行性运动神经轴突(如CST和5-HT能轴突)和上行性感觉神经轴突再生,再生的轴突与移植体内分化的神经元建立功能性突触联系,从而重建脊髓神经信号传导通路的连续性^[9]。

NSCs还向非神经细胞分化,如分化成少突胶质细胞参与髓鞘的形成,维持神经传导的稳定性;NSCs分化成的部分星形胶质细胞填充囊腔,维持损伤灶的连续性,部分星形胶质细胞则通过受体白蛋白内向远处迁移^[10]。Lien等^[11]研究发现,分化出来的星形胶质细胞在受体脊髓内迁移长达9个节段,与内源性星形胶质细胞形成缝隙连接并表达谷氨酰胺转运体蛋白,参与突触功能的调节。

NSCs移植后向成熟细胞分化的时程较长,分化持续时间长达1.5年。Lu等发现NSCs移植后3月轴突再生的数量和距离达到高峰,到移植后1.5年,轴突的数量几乎减少了一半。因此推测,移植的NSCs分化的过程与哺乳动物神经系统的发育有一定的相似性,轴突再生过程中也经历了功能筛选和剔除^[10]。轴突的这种再生的重塑机制为NSCs移植后建立功能性的神经环路,减少副作用发生奠定了基础。

4 NSCs与受体脊髓的组织相容性

NSCs移植至SCI伤灶后,表现出了良好的组织相容性。在适当的神经营养因子作用下,NSCs保持一定的扩增能力,通过增殖有效填充囊腔,恢复脊髓组织的连续性^[7]。在啮齿类(鼠)和灵长类(猴)动物的研究中,移植体未向周围结构形成侵袭或压迫作用,且未见肿瘤样增殖灶形成,为NSCs移植的进一步临床转化研究提供了安全性保证^[12]。

NSCs在细胞学水平也表现出了与组织学一致的相容性。NSCs来源的近1/4的轴突被受体少突胶质细胞包裹形成髓鞘,髓鞘的厚度与正常脊髓内髓鞘厚度接近。与SCI后自发修复不同,髓鞘蛋白(myelin)对NSCs来源的轴突再生起促进作用。此外,移植体内分化的星形胶质细胞与新生的内源性血管周细胞建立功能性的连接,参与形成血-脊髓屏障^[11]。

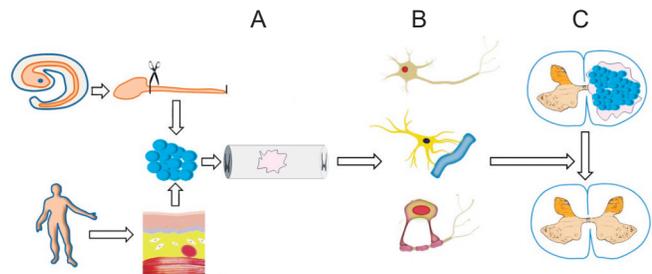
5 NSCs移植治疗SCI的优势

与其他干细胞(如骨髓间充质干细胞)相比,NSCs移植治疗SCI有独特的优势。如,CST在SCI后运动功能恢复和协调上起着至关重要的作用,其再生能力弱。当NSCs移植后,大量的受体CST再生进入伤灶,可能与移植体形成有利于CST再生的微环境有关^[2]。

Tuszynski团队的新近研究^[8,13]还发现,移植的NSCs分化后在伤灶中呈团簇状聚集,表现出与正常脊髓灰质板层(laminae)结构类似的空间分布,表达相应的中间运动/感觉神经元标记。再生的受体感觉神经元轴突在伤灶中与表达I~II板层神经元标记的移植细胞形成突触连接。而再生的CST则与表达III~IV板层神经元标记的移植细胞建立突触连接^[13]。上述现象在胚胎来源的NSCs和iPSCs来源的NSCs上均得到证实(图1)^[8]。因此,NSCs移植能实现最大限度的修复SCI至接近生理状态。

6 展望

NSCs移植在临床前研究中的治疗效果获得越来越多学者



注:A. NSCs的来源;B. NSCs分化成神经元及胶质细胞,后者参与血-脊髓屏障和髓鞘形成;C. 分化的NSCs在损伤灶中呈接近正常脊髓灰质结构的板层分布

图1 NSCs移植治疗SCI

的肯定。部分来源的细胞(如NSI-566)已经被FDA批准用于临床试验。在入组了4例SCI患者的I期临床研究中,经过长达18~27月的随访,2例患者有1~2级的功能改善^[14]。但是,目前仍有多问题亟待解决,如NSCs移植的远期安全性,新的神经环路建立对SCI后并发症(肌痉挛、慢性疼痛等)的影响等。

参考文献

- [1] Liu S, Schackel T, Weidner N, et al. Biomaterial-Supported Cell Transplantation Treatments for Spinal Cord Injury: Challenges and Perspectives[J]. *Front Cell Neurosci*, 2017, 11: 430.
- [2] Kadoya K, Lu P, Nguyen K, et al. Spinal cord reconstitution with homologous neural grafts enables robust corticospinal regeneration[J]. *Nat Med*, 2016, 22: 479-487.
- [3] Lu P, Woodruff G, Wang Y, et al. Long-distance axonal growth from human induced pluripotent stem cells after spinal cord injury[J]. *Neuron*, 2014, 83: 789-796.
- [4] Iyer NR, Wilems TS, Sakiyama-Elbert SE. Stem cells for spinal cord injury: Strategies to inform differentiation and transplantation[J]. *Biotechnol Bioeng*, 2017, 114: 245-259.
- [5] Lee-Kubli CA, Lu P. Induced pluripotent stem cell-derived neural stem cell therapies for spinal cord injury[J]. *Neural Regen Res*, 2015, 10: 10-16.
- [6] Kumamaru H, Kadoya K, Adler AF, et al. Generation and post-injury integration of human spinal cord neural stem cells[J]. *Nat Methods*, 2018, 15: 723-731.
- [7] Robinson J, Lu P. Optimization of trophic support for neural stem cell grafts in sites of spinal cord injury[J]. *Exp Neurol*, 2017, 291: 87-97.
- [8] Kumamaru H, Lu P, Rosenzweig ES, et al. Regenerating Corticospinal Axons Innervate Phenotypically Appropriate Neurons within Neural Stem Cell Grafts[J]. *Cell Rep*, 2019, 26: 2329-2339.
- [9] Koffler J, Zhu W, Qu X, et al. Biomimetic 3D-printed scaffolds for spinal cord injury repair[J]. *Nat Med*, 2019, 25: 263-269.
- [10] Lu P, Ceto S, Wang Y, et al. Prolonged human neural stem cell maturation supports recovery in injured rodent CNS[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127: 3287-3299.
- [11] Lien BV, Tuszynski MH, Lu P. Astrocytes migrate from human neural stem cell grafts and functionally integrate into the injured rat spinal cord[J]. *Exp Neurol*, 2019, 314: 46-57.
- [12] Rosenzweig ES, Brock JH, Lu P, et al. Restorative effects of human neural stem cell grafts on the primate spinal cord[J]. *Nat Med*, 2018, 24: 484-490.
- [13] Dulin JN, Adler AF, Kumamaru H, et al. Injured adult motor and sensory axons regenerate into appropriate organotypic domains of neural progenitor grafts[J]. *Nat Commun*, 2018, 9: 84.
- [14] Curtis E, Martin JR, Gabel B, et al. A First-in-Human, Phase I Study of Neural Stem Cell Transplantation for Chronic Spinal Cord Injury[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22: 941-950.

(本文编辑:王晶)