

· 综 述 ·

细胞移植治疗脊髓损伤的研究进展*

刘 涛,付碧琼,姚志慧,张 超 综述,史春梦 审校

(第三军医大学复合伤研究所,重庆 400038)

关键词:脊髓损伤;干细胞;移植;嗅鞘细胞;雪旺细胞

中图分类号:R651.2;R457.7

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)01-0109-03

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是中枢神经系统的严重创伤,常导致损伤平面以下肢体不可逆的感觉及运动功能丧失,给患者和社会带来极大的痛苦和负担。随着神经生物学和干细胞技术的发展,通过细胞移植以增加脊髓神经细胞数量、减少胶质瘢痕和空洞形成已成为可能,因此,细胞移植将有望成为一种有效治疗 SCI 的新方法。现将细胞移植治疗脊髓损伤的相关研究综述如下。

1 细胞移植治疗脊髓损伤

1.1 干细胞移植治疗脊髓损伤 干细胞是一群具有自我更新、增殖和分化潜能的细胞类型,存在于多种组织中,可作为组织工程和再生医学的理想种子细胞参与组织重建及疾病治疗。既往观念认为神经组织没有神经元再生能力,脊髓损伤后多造成不可逆性的损害,常导致严重的后果,而新近研究表明在神经系统特殊区域如海马组织、室周区以及脊髓等部位存在着具有分化功能的干细胞。然而由于所存在的干细胞数量有限,无法有效进行组织再生修复,而进行干细胞移植作为一种新的治疗手段有着巨大的潜能。目前应用于临床前以及动物实验的干细胞包括骨髓来源的间充质干细胞,神经干细胞,胚胎干细胞以及真皮干细胞等。在干细胞治疗的相关研究中多采取单独或联合应用干细胞治疗,甚至通过基因修饰使移植细胞能够更多地分泌神经营养因子。

1.1.1 骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)

MSCs 是由骨髓中分离得到的干细胞,可参与基质微环境的组成和造血功能的调控,分化为神经元等多种细胞。通过静脉注射后 MSCs 可特异性地迁移到受损部位,甚至通过血-神经屏障,向损伤部位迁移、聚集并促进神经功能的改善和恢复^[1]。

Harvey^[2]认为骨髓 MSCs 细胞移植到中枢神经系统之后,可支持神经、血管再生和神经网络的重建,从而使损伤组织得以修复。Sykova^[3]在一项临床研究中通过采集和培养 20 例创伤导致脊髓损伤患者的骨髓 MSCs,通过动脉或静脉自体回输,结果发现在创伤早期以及通过动脉回输 MSC 患者在功能上得到了较明显的改善。

MSCs 促进损伤脊髓的修复作用包括以下方面:(1)迁移至局部的 MSCs 及其分化的神经细胞可反应性分泌各种营养因子及生长因子,促进局部微血管再生、神经再生和重构。脊髓挫伤后移植的骨髓基质干细胞可以到达脊髓损伤处并可增加神经营养因子如脑源性神经营养因子(BDNF)、胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)、神经营养因子(NGF)、GAP-43、NT-3、NF200、多唾液酸神经细胞黏附分子^[4]和血管内皮生长因子等的表达,促进脊髓损伤后轴突再生和神经功能改善;同时 MSCs 还可能通过下调 Fas、Fas-L 表达来抑制细胞凋亡^[5]。

(2)细胞替代作用。MSCs 可与神经通路建立广泛的传入、传出联系,甚至重建神经环路,促进再髓鞘化,起到神经保护作用。人脐带血 MSCs 于体外在特定的条件下可以诱导分化为神经元样细胞^[6],将诱导后的脐血 MSCs 植入损伤脊髓中,发现其能存活迁移,并可促进脊髓损伤后的功能恢复。

1.1.2 神经干细胞(neural stem cells, NSCs) 神经干细胞是一类存在于中枢神经系统内具有多向分化能力的细胞,可迁移至损伤部位,分化成少突胶质细胞、神经元和星形胶质细胞等。在脊髓损伤后移植的神经干细胞可分化为神经元,替代缺失的神经元和突触连接。神经干细胞分化后产生的神经元和胶质细胞可分泌多种神经营养因子,改善脊髓局部微环境并启动再生相关基因的表达,促进轴突再生;同时,NSCs 还可产生多种细胞外基质,以促进受损的神经元轴索再生和神经环路重建,促进无髓或新生轴突再髓鞘化。曹中伟和刘洪文^[7]认为移植神经干细胞的最佳时机为损伤后 9d 左右,此时急性炎症反应已消退,同时局部有神经营养因子等的表达以及微血管形成,更有利于移植细胞的存活。移植过早,移植细胞可能受到炎症因子的影响,过晚则损伤部分已由神经胶质细胞增生填充,影响移植细胞的存活。Ann 等发现在损伤后 9d 移植 NSCs,在移植后第 14 周尽管细胞存活仅为移植的 5%左右,但较损伤后即刻移植存活率明显提高,且细胞大部分分布于靠近损伤部位的白质中^[8]。

1.1.3 胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESCs) 日前,美国 FDA 已通过利用胚胎干细胞移植治疗脊髓损伤的临床实验移植治疗。胚胎干细胞是由胚胎中分离得到的一种高度未分化细胞,其可在损伤区提供化学或机械引导,刺激神经生长,引导再生神经通过损伤区,与其他干细胞相似,胚胎干细胞也可在损伤区分化为神经元,同时产生多种细胞因子,促进神经修复^[9]。研究表明胚胎干细胞移植到脊髓损伤部位可以促进新生动物和成年动物轴突生长,此作用在新生动物中表现更为突出,生长速度也更快^[10]。

1.1.4 真皮多能干细胞(Dermal multipotent stem cell, DMC)

真皮多能干细胞是一种由真皮来源的,具有高度增殖能力和多向分化潜能的干细胞,具有分化为脂肪细胞、肌细胞及神经元样细胞的能力。皮肤是人体最大的器官,因此,为获得足够数量的 DMCs 提供了必要条件。DMCs 经过连续长期传代后仍具有高度增殖活性和多向分化潜能,提示其性能稳定,可望成为细胞替代治疗较为理想的种子细胞。在创伤修复中,DMCs 一方面通过产生多种活性物质促进组织修复;另一方面,可迁移至创伤局部并通过分化为特定组织细胞而直接促进创伤修复^[11-12]。研究发现,DMCs 通过局部移植可明显促进神

* 基金项目:第三军医大学 2008 年本科学员创新实验项目资助。

神经元的再生,提高损伤脊髓组织的修复^[13]。同时,在损伤后 7~14d 内进行细胞移植可明显提高移植细胞的成活并改善受损脊髓功能。

1.2 嗅鞘细胞(olfactory ensheathing cells,OECs)移植治疗脊髓损伤 嗅鞘细胞起源于胚胎的神经上皮组织,发生于嗅黏膜固有层、嗅神经周围和嗅球的外周两层,伴随嗅束进入中神经系统,引导嗅上皮感觉细胞轴突持续生长,从而使嗅球细胞在不断更新的同时获得功能上完整的延续。OECs 不同于星形胶质细胞和雪旺细胞(SCs),但同时具有这两种细胞的特性,是目前所知的唯一能穿过外周神经与中枢神经屏障并在成熟阶段具有生长能力的神经胶质细胞。移植 OECs 可促进轴突生长至背根神经节,促进损伤后的皮质脊髓束再生功能改善等。

Li 等通过应用 OECs 移植治疗大鼠脊髓半横断损伤,发现脊髓功能得到部分恢复,组织学显示有大量神经纤维通过损伤区域进入损伤远端。Ramon 等将 OECs 移植于大鼠脊髓完全横断处,发现大量轴突可经过瘢痕长入远端脊髓内,3~7 个月后发现部分移植动物出现后肢运动和支撑活动,部分动物后肢还可负重。黄红云等率先从人胚胎嗅觉系统中分离并在体外培养出嗅鞘细胞,纯化后移植到 117 例不同脊髓节段损伤的晚期患者损伤部位,其运动、感觉和括约肌功能均有不同程度的恢复。

移植的 OECs 不但能直接参与神经轴突髓鞘的形成,而且还具有分泌促进神经生长的因子及抑制有害因子的作用,从而改善脊髓损伤局部的抑制性内环境。在体内外研究中均发现,其能分泌大量不同种类的神经营养因子,如 NGF、BDNF、NT23、NT24,以及 PDGF、神经肽 Y、S2100 等神经元生长、发育、分化及成熟的必需因子;同时,OECs 细胞膜上还具有参与细胞黏附和轴突生长等多种蛋白分子。另外,OECs 能促进受损神经元轴突的再生、形成髓鞘并穿越胶质瘢痕区。Perez 等通过实验证实:OECs 具有很强的控制轴突再生方向的能力,其形成的“神经胶质桥”可穿过瘢痕等阻碍,沿着轴突纵轴方向延伸生长。

1.3 雪旺细胞(schwann cells,SCs)移植治疗脊髓损伤 雪旺细胞是周围神经系统的神经胶质细胞,包绕轴突形成髓鞘和神经膜,在神经纤维的再生修复中,起诱导、营养及促进轴突生长和成熟的作用。SCs 可分泌多种神经营养因子、细胞外基质、细胞黏附分子和轴突诱导因子,具有营养和保护受损神经元、促进轴突再生和出芽的能力。

实验证明 SCs 移植分泌的多种神经营养因子可为损伤神经元的再生提供良好的微环境,同时可支持和引导轴突再生,抑制胶质瘢痕形成^[14]。目前多采用基因修饰的 SCs 进行移植,被移植到脊髓损伤的微环境中后,它们能继续存活、增殖、迁移和分化,同时长期稳定地表达目的基因^[15],达到促进神经再生、髓鞘重建以及部分神经功能恢复的目的。

1.4 联合移植治疗脊髓损伤 不同细胞或细胞与神经营养因子联合应用可明显提高脊髓损伤修复程度^[16-17]。尹国栋等^[18]发现 OECs 和 NSCs 的联合移植不仅能通过多种生长因子和细胞外基质诱导 NSCs 更好地向神经元方向分化,而且 OECs 提供的良好微环境可进一步促进神经元细胞的分裂和轴索的生长。MSCs 联合 OECs 移植可促进 MSCs 向神经元方向转化,提高 MSCs 分化为神经元的比例,促进脊髓损伤的修复^[19]。李晋等^[20]也发现 NSCs 和 SCs 共移植可以更好地促进脊髓功能恢复。MSC 和 NGF 两者联合应用能够减小脊髓损

伤处的空洞面积,促进受损轴突的再生和运动功能的恢复。

2 存在的问题与展望

综上所述,细胞移植治疗脊髓损伤有着巨大的发展潜力。同时,也存在一些问题,如何预防脊髓损伤引起的脊髓细胞继发性死亡及如何替代已死亡的脊髓细胞;如何抑制损伤局部疤痕形成,创造适合神经再生的微环境,促进和诱导神经再生等仍不明确。同时移植细胞的安全性仍有争议,如移植的细胞在体内分化方向如何,是否会发生分化形成肿瘤等。

脊髓损伤治疗目前仍是一个医学难题,由于神经系统的特殊性使得临床尚无较好的治疗方法。干细胞移植治疗不仅可提供神经再生的营养因子,还有可能形成神经元在损伤局部起到替代连接作用,无疑是治疗脊髓损伤的方向之一,相信随着对脊髓损伤及干细胞研究的进一步深入,干细胞治疗脊髓损伤将会有更加美好的前景。

参考文献:

- [1] Wang L, Li Y, Chen J, et al. Ischemic cerebral tissue and MCP-1 enhance rat bone marrow stem cell migration in interface culture[J]. *Exp Hematol*, 2002, 30 (7): 831.
- [2] Harvey RL, Chopp M. The therapeutic effects of cellular therapy for functional recovery after brain injury[J]. *Phys Med Rehabil Clin N Am*, 2003, 14(1): 143.
- [3] Sykova E, Jendelova P. In vivo tracking of stem cells in brain and spinal cord injury[J]. *Prog Brain Res*, 2007, 161: 367.
- [4] 杨永利, 刘宏志, 李佐文. 骨髓间充质干细胞移植后大鼠脊髓损伤处多唾液酸神经细胞黏附分子的表达[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11(11): 2050.
- [5] 李进领, 周崇臣, 杨晓华, 等. 蛛网膜下腔移植骨髓基质干细胞治疗大鼠脊髓损伤模型 Fas、Fas-L 表达变化[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2007, 10(9): 54.
- [6] Fan CG, Zhang QJ, Han ZC, et al. Neural differentiation of mesenchymal stem cells from umbilical cord[J]. *Chin J Neurosurg*, 2005, 21: 388.
- [7] 曹中伟, 刘洪文. 神经干细胞移植修复大鼠脊髓半切伤的研究[J]. *中国临床解剖学杂志*, 2006, 24(3): 315.
- [8] Parr AM, Kulbatski I, Wang XH, et al. Fate of transplanted adult neural stem/progenitor cells and bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in the injured adult rat spinal cord and impact on functional recovery[J]. *Surg Neurol*, 2008, 70(6): 600.
- [9] Setoguchi T, Nakashima K, Takizawa T, et al. Treatment of spinal cord injury by transplantation of fetal neural precursor cells engineered to express BM P inhibitor[J]. *Exp Neurol*, 2004, 189: 33.
- [10] McDonald JW, Howard MJ. Repairing the damaged spinal cord: a summary of our early success with embryonic stem cell transplantation and remyelination[J]. *Prog Brain Res*, 2002, 137: 299.
- [11] Chunmeng S, Tianmin C, Yongping S, et al. Effects of dermal multipotent cell transplantation on skin wound healing[J]. *J Surg Res*, 2004, 121(1): 13.
- [12] Shi C, Cheng T, Su Y, et al. Transplantation of dermal multipotent cells promotes survival and wound healing in

- rats with combined radiation and wound injury[J]. Radiat Res, 2004, 162(1): 56.
- [13] Gorio A, Torrente Y, Madaschi L, et al. Fate of autologous dermal stem cells transplanted into the spinal cord after traumatic injury (TSCI) [J]. Neuroscience, 2004, 125(1): 179.
- [14] Ullian EM, Harris BT, Wu A, et al. Schwann cells and astrocytes induce synapse formation by spinal motor neurons in culture[J]. Mol Cell Neurosci, 2004, 25: 241.
- [15] Dobkin BH, Havton LA. Basic advances and new avenues in therapy of spinal cord injury[J]. Annu Rev Med, 2004, 55: 255.
- [16] Meng XT, Li C, Dong ZY, et al. Co-transplantation of bFGF-expressing amniotic epithelial cells and neural stem cells promotes functional recovery in spinal cord-injured rats[J]. Cell Biol Int, 2008, 32: 1546.
- [17] Tripathi RB, McTigue DM. Chronically increased ciliary neurotrophic factor and fibroblast growth factor-2 expression after spinal contusion in rats[J]. J Comp Neurol, 2008, 510(2): 129.
- [18] 尹国栋, 汤逊, 林月秋, 等. 人胚胎嗅鞘细胞与神经干细胞联合移植修复大鼠脊髓全横断损伤的研究[J]. 中国康复医学杂志, 2006, 21(8): 680.
- [19] 赵廷宝, 卢兆桐. 骨髓间充质干细胞与嗅鞘细胞联合移植治疗脊髓损伤的早期观察[J]. 中国矫形外科杂志, 2006, 14(5): 346.
- [20] 李晋, 安沂华, 历俊华, 等. 神经干细胞和施万细胞共移植治疗大鼠脊髓损伤[J]. 中华实验外科杂志, 2006, 23(2): 214.
- (收稿日期: 2009-04-30 修回日期: 2009-07-08)

· 综 述 ·

三维 CT 在治疗颌面部陈旧性骨折的应用^{*}

曾 勇, 张 纲 综述, 谭颖徽 审校

(第三军医大学新桥医院口腔科, 重庆 400037)

关键词: 颌面部; 骨折; 三维 CT; 快速成形技术

中图分类号: R782.4

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)01-0111-03

随着现代交通的发展, 头颈部外伤有增多趋势, 颌面创伤的发生率可达 60%, 而且患者常常是多发伤, 急诊程序首先处理颅脑外伤、腹部严重脏器伤及明显的脊椎和四肢伤, 往往忽略了颌面部创伤的 I 期处理, 或因为漏诊, 拖延为陈旧性骨折, 最后形成错位愈合。患者常常伴有严重颌面部畸形、张口受限、咬合关系错乱等。而面部陈旧性骨折颌面畸形与功能障碍的治疗难度大, 难以获得满意疗效, 常有诸多并发症遗留, 是临床治疗的难点。随着社会的发展, 患者对美观的要求越来越高, 因而临床治疗技术必须相应的提高。肖强等^[1]和 Costa 等^[2]研究发现多层螺旋 CT 扫描速度快、覆盖好, 一次扫描可采集 4~8 层、16 层乃至更多层图像, 层厚薄、图像清晰, 具有很高的空间分辨率和密度分辨率。图形工作站拥有良好的后处理功能, 可做任意角度及方位的三维图像重建, 准确直观地显示骨折碎片的大小、形态、位置及涉及的范围, 本文就三维 CT 在治疗颌面部陈旧性骨折中的辅助诊断进行综述。

1 三维 CT 在治疗下颌骨、髁状突陈旧性骨折中的应用

下颌骨是颌面部体积最大、位置凸出的骨骼, 易发生损伤, 其损伤的发生率居颌面骨折的首位。由于髁状突解剖结构纤细, 下颌骨还是下颌骨最常发生骨折的部位。中国薄斌等报道髁状突骨折占整个下颌骨骨折的 21.26%, 与国外 Cascone 等报道 20%~35% 相仿。目前, 临床上对髁状突骨折主要采用颞下颌关节位片、曲面体层摄影及二维 CT 技术, 因为颞下颌关节周围有较多的骨结构干扰, 常规 X 线对髁状突和喙突的骨折常显示不清。而 CT 可从横断位、冠状位、矢状位进行多体位的扫描, 因而对骨折的显示较理想。在髁状突骨折移位不

明显的病例中, 二维 CT 的冠状位扫描对诊断髁状突骨折最理想, 优于三维 CT。因此, 对疑有髁状突骨折者, 首选冠状位。然而传统 X 线及常规二维 CT 检查都难以清晰或完整显示骨折全貌, 螺旋 CT 三维和多平面重建成像技术的影像使用弥补了这一不足。研究表明, 三维图像重建, 准确直观地显示髁状突骨折断端的大小、形态、位置及涉及的范围, 在显示水平走向的骨折方面更具明显优势, 可立体地显示髁状突骨折纵裂发生的位置、关节脱位情况、关节盘的损伤等。张强等^[3]采用多层螺旋 CT 扫描、MRI 及三维重建技术对髁状突骨折及关节盘损伤进行对照评价, 得到的结论是: CT 和 MRI 一样在诊断关节盘移位上有很高的准确性, 如以 MRI 为金标准, 则 CT 的诊断准确度为 97%, 灵敏度为 91%, 特异性为 100%。但 MRI 的检查费用高, Rodt 等^[4]和 Haba 等^[5]指出多层螺旋 CT 结合三维重建技术既不提高人体辐射剂量, 又能够准确、清晰地显示髁状突骨折的部位、方向和骨折段移位情况, 较好地显示关节盘滑移的情况。随着 CT 扫描技术和后处理技术的飞速进步, 这些方法已成为复杂部位(如髁状突部位)良好显示的有力检查手段。

2 三维 CT 在面中部陈旧性骨折中的应用

对已错位愈合的颌面部陈旧性骨折, 黄盛兴等^[6]研究指出: 必须依据精准的影像学检查制订治疗方案, 包括手术进路、骨折复位方向、接骨板安放位置、是否需行植骨矫正、是否正颌矫正及眶底重建等。面中部骨与颅底广泛重叠, 骨缝众多, 周围毗邻关系复杂, X 线片仅显示颌面骨的平面重叠影像, 易发生骨折漏诊与误诊。螺旋 CT 水平面图像可观察骨折片水平

^{*} 基金项目: 第三军医大学临床科研课题资助项目(2007D178)。