

· 综述 ·

组织移植治疗与脊髓功能重建的研究进展

麻文谦¹, 张少成², 李明²

(1. 上海交通大学附属第一人民医院松江分院骨科, 上海 201600; 2. 第二军医大学附属长海医院骨科)

【摘要】 脊髓损伤后功能重建有赖于脊髓结构的恢复, 组织移植替代疗法是目前医学界研究的热点, 其种类多, 包括周围神经、胚胎脊髓组织、细胞移植以及基因组织工程等, 报道结果也不一, 本文对近 20 年来脊髓损伤移植治疗的现状做一综述, 旨在提高和加强对脊髓损伤治疗的认识。

【关键词】 脊髓损伤; 组织移植; 综述文献

Research progression of tissue transplantation and functional reconstruction of spinal cord MA Wen-qian*, ZHANG Shao-cheng, LI Ming. *The 1st Peoples Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201600, China

ABSTRACT Functional reconstruction of injured spinal cord depends on its structure restoration, tissue transplantation is the most important strategy in medicine field at present. The tissue applied for transplantation including peripheral nerves, embryonic spinal cord, cellular transplantation and gene organization. However, the results exist dissension. The report overviews the status quo of tissue transplantation, intended to strengthen the recognition of treatment of spinal cord injury.

Key words Spinal cord injuries; Tissue transplantation; Review literature

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2008, 21(6):483-485 www.zggszz.com

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)所造成的截瘫是一个长期未能解决的医学难题, 如何促进脊髓的再生和功能恢复一直是医学领域探讨的课题。脊髓损伤后功能重建有赖于脊髓结构的恢复, 与其他物理化学疗法相比, 组织移植因其能够为损伤脊髓的修复提供更为适宜的生长环境和促进修复的作用, 而越来越受到重视。近年来, 采用自体或同种移植物治疗脊髓损伤的方法取得了一定的理论和实验支持, 某些方法已过渡到临床。

1 历史概况

近一个世纪以来, 科学工作者一直在努力不懈地进行着脊髓损伤后神经再生治疗的研究, 并取得了很大进展, 从最初认为脊髓不能再生, 到目前认为中枢神经系统有很强的再生能力, 经历了漫长过程。早在 20 世纪 30、40 年代, 人们就发现游离周围神经(free peripheral nerves, FPN)脊髓内移植可使损伤轴突出芽, 到了 20 世纪 70、80 年代, 很多学者以令人信服的形态学证据证实, FPN 脊髓内移植能使损伤神经元发挥很大的再生潜能, 生长突破宿主-移植物界面, 移植的神经能被较好地神经化, 再生轴突的胞体多分布于损伤处附近。胚胎脊髓(FSC)移植是近年来研究较多的神经组织移植, 这主要是因为胚胎脊髓具有较强的生长潜能及生存能力, 其分化程度低, 对损伤耐受程度好, 不仅可以生长、分化, 成熟发育成类似成年脊髓组织, 替代损伤后的脊髓结构, 还可以与宿主神经组织建立联系, 促进神经恢复。但其轴突出芽极少能跨过移

植物与宿主界面, 尤其对长传导束的再生作用较差。

2 移植组织分类

2.1 周围神经(peripheral nerves, PN) PN 移植的提出已有几十年历史, 但是, 真正能提出形态学证据, 证明其能促使损伤神经元轴突再生, 是在 20 世纪 70 年代后。其可能的作用机制为: ① PN 移植主要对损伤脊髓的轴突再生起引导和桥梁作用; ② 周围神经轴突周围的雪旺细胞能分泌多种神经营养因子、细胞外基质和细胞黏附分子, 以维持受损神经元的存活, 诱导和促进脊髓再生。PN 移植基本术式: ① 将 PN 一端植入脊髓伤处颅侧几个节段内, 另一端与脊神经缝合, 以恢复脊神经的中枢支配; ② 将 PN 两端分别植入创伤处的颅侧和尾侧, 重建脊髓内部的联系通路。用 PN 桥接脊髓损伤处颅尾端的上下行传导束, 原有传导束的再生轴突极少能贯穿 PN; 另外, 再生轴突大多发自损伤处附近的中间神经元。Liu 等^[1]指出, 若用 PN 桥接受伤脊髓和脊神经, PN 植入处应至少距损伤处 2 个节段以避免继发性病理损伤区。PN 的移植效果受其血供、移植部位、处理方法和连接方式等因素影响, 孙永明等^[2]利用自体肋间神经植入修复脊髓损伤, 将神经段按近端白质-远端灰质和近端白质-远端白质两种术式填充缺损处, 发现两种术式之间并无明显差别。郭庆山等^[3]用带血管蒂的周围神经移植, 不仅能满足自身血供, 还可以改善邻近脊髓组织的血供, 有利于减轻继发性损伤, 减少局部神经元死亡, 从而促进再生。PN 移植的不足之处: ① 移植后再生的轴突长入移植物后, 不再长入对侧脊髓, 所以不能形成有效的神经通路, 以致神经功能恢复有限^[4]; ② 移植后促进再生的轴突多发

自局部的中间神经元,故不能形成长程脊髓传导,所以移植后的功能恢复差;③由于移植组织内细胞成分复杂,移植后其转归方向无法控制。

目前关于 PN 移植研究的关键不仅仅是移植体在脊髓内能否存活的问题,更重要的是移植体怎样才能使损伤的脊髓获得更多的结构和功能上的修复和重建,还存在一些问题;如移植时机的选择,神经传导束的精确修复以及轴突导向,生长过程所涉及的信号整合等,需要进一步探索研究^[5]。

2.2 胚胎脊髓组织移植 至 20 世纪 80 年代中期,人们开始对 FSC 移植治疗 SCI 进行了大量的实验研究。实验证明移植后的 FSC 能较好地存活,并进一步发育分化,形成神经连接,促进功能恢复^[6]。胚胎组织移植促进神经再生其可能的作用机制^[7-8]:①胚胎脊髓能作为一个细胞桥的作用填充损伤区,提供化学或机械的引导作用,刺激脊髓神经生长,引导损伤神经再生通过损伤;②胚胎脊髓自身拥有神经元有可能缺乏髓磷脂相关抑制分子的受体而不受抑制因子的干扰;③供体来源的少突胶质细胞可能使伤后幸存下来的脱髓鞘轴突髓鞘再生,从而阻止后期由于脱髓鞘病变引起的机能丧失;④胚胎脊髓组织对残存的神经传导束环路有着神经营养作用。不足在于:①为异体移植,有排斥反应的问题;②人类胚胎脊髓移植来源很少,并且将面临许多法律与伦理学的问题;③胚胎脊髓内细胞成分复杂,这些成分的分化成熟及转归复杂,而且难以控制,这些都是难以克服的问题。

3 组织工程材料移植

有学者认为:脊髓修复关键在于为轴突再生提供适宜条件,因而运用肌纤维做成肌基膜管结合神经生长因子修复脊髓缺损,结果表明肌基膜管作为一种神经纤维支持结构,可以使脊髓轴突再生进入^[9],南丰等^[10]报道雪旺细胞肌膜管更有利于诱导再生轴突选择性生长。可诱导大鼠脊髓神经轴突的再生。近年兴起的组织工程学方法为治疗 SCI 带来新思路。即通过种子细胞-支架-神经营养因子复合物移植修复损伤脊髓。其中生物支架材料为种子细胞生长提供适宜环境,在脊髓组织工程中起重要作用^[11-12]。目前仿生支架材料从胶原、多肽以及纳米技术对材料表面进行仿生化,各种材料的应用对 SCI 的修复作用均得到了肯定,但由于应用的天然或人工合成材料支架受制作工艺的限制和脊髓组织结构的复杂性,尚不能做出与脊髓高度相似的三维网状结构,真正运用于人类仍有不少问题尚待解决。

4 细胞移植

采用细胞移植治疗 SCI 的主要目的在于逆转不利于 SCI 轴突功能恢复的病理过程,从而减少脊髓功能丧失并促进其功能恢复。包括:①促进再生:移植体可充填损伤部位并形成细胞桥,从而为损伤神经元的修复提供机械或生化通道。②提供新的神经元,形成新的神经环路。③分泌生长因子:移植细胞可提供脊髓轴突再生修复的多种细胞因子,如神经营养素(neurotrophin, NT)、神经生长因子(nerve growth factor, NGF)等。目前脊髓损伤修复的常用移植细胞:周围神经源性神经元^[13],胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)^[14],雪旺细胞(Schwann cells, SCs),嗅鞘胶质细胞(olfactory ensheathing cells, OECs)^[15],骨髓基质细胞(marrow stromal cells, MSCs)^[16],活化的巨噬细

胞(activated macrophages, AMPs)^[17],基因修饰后的细胞(genetically engineered cells, GECs)^[18],中枢神经源性神经元^[6]。细胞移植在 SCI 损伤修复中具有提高轴突再生能力、替代细胞成分、阻止脱髓鞘和使髓鞘再生等作用,从而促进脊髓修复,进而为感觉及运动功能的恢复提供了机会,但在细胞移植的实验中也发现了一些问题,其中两种最常见的潜在并发症为免疫排斥反应和局部外源性肿物的形成。一般认为中枢神经系统的免疫排斥反应是很有限的,但脊髓内细胞移植后的免疫排斥反应仍然能够发生,对脑内异体移植体存活的影响因素的研究提示,主要包括:供体组织的选择、免疫抑制物的利用、供体组织的进化水准、宿主的免疫竞争、间接转基因技术处理后的移植细胞的回弹、移植部位及移植的方法等等。另一值得注意的方面是:这些移植细胞的持续生长,可能导致神经生理状况的改变和肿瘤的形成。

5 移植方式

PN 桥接的方式不同,其效果也不同^[19]。单一神经组织移植修复脊髓损伤的作用有限,利用联合移植的方法可产生协同作用^[20]。胚胎脊髓与带蒂神经联合移植,能提供充沛的血供,并有较多雪旺细胞存活,促进胚胎脊髓成熟化和损伤神经元再生,效果优于与游离 PN 联合移植^[19]。PN 髓内与髓外移植:张少成等^[5]将自体 PN 利用显微外科技术去外膜后游离移植治疗陈旧性脊髓损伤,临床取得良好的效果。张少成等^[21]将肋间血管神经作为整体同时移位,被吻接神经根仅选择性切断其支配某一特定肌肉或感觉区域的部分神经束,在维持较好肌张力的条件下重建部分感觉、运动。此术式是完全建立在 PN 的修复过程基础之上,绕过了损伤脊髓段,实现“旁路替代”的效果。

6 脊髓损伤后修复策略的选择

在脊髓的功能中,1 个脊髓节段的神经细胞主宰该节段支配的肌肉运动和该节段皮肤的感觉,而上下肢多数肌肉系由 2 个脊髓节段所支配,故 1 个脊髓节段损伤,丧失的是该节段支配的运动和感觉,对整体功能来说是次要的。该节段中的长束、锥体束、锥体外系等运动束和大多感觉束主管该节段平面以下的肢体的运动和感觉。因此,颈脊髓损伤为四肢瘫,胸以下损伤为截瘫和膀胱直肠括约肌功能障碍。因而修复的目标是恢复长束功能,而不是该损伤节段的神经细胞。

脊髓损伤后其轴突有再生能力,而影响或阻碍轴突再生的因素是损伤部位的胶质瘢痕难以穿越和远端的抑制因素的存在。缓解这两种障碍可以考虑的措施:①损伤部胶质瘢痕组织切除,代以适当组织,以能提供神经通道。PN 组织、肌基膜管均可提供神经通道,前者有营养轴突的因子,胶质可充填空隙,不被胶质细胞和纤维所占据,减少阻碍因素。②消除或减少远端的阻碍因素。除 PN 移植和应用 IN-1 轴突生长抑制剂抗体外,另一现象应引起注意,即损伤远端的轴突退变过程。这一方面的研究还不够,多数动物脊髓损伤后修复实验都是在伤后立即进行,此时远端的轴突退变远没有完成,髓鞘等因素的存在,阻碍轴突生长。有实验证明延迟植入比伤后即刻移植更能促进脊髓传导束的再生和机能的恢复^[6],这表明脊髓伤后的治疗机会比想象的要大,从另一角度印证了延期移植对损伤脊髓的修复是有利的。移植治疗的最佳延迟时机的选

择有待进一步研究^[22]。

纵观目前众多的实验研究,其实验条件、方法没有严格的一致性。组织移植的效果取决于移植的部位和方法、供体选择和类型,移植组织的供血条件,脊髓损伤的程度与范围等众多因素,导致目前仍有学者对组织移植的效果存在分歧。虽然在过去的 20 多年脊髓再生研究已取得巨大的进展,但仍然有很多工作要做。首先,目前的实验性治疗手段效果有限,能引起成功再生的轴突数量较少、距离较短,而且功能恢复的程度也不令人满意。其次,目前的研究大多还停留在动物实验阶段,要想应用于临床尚有大量的问题需要解决。因此,虽然我们有理由对前景充满信心,但目前还不是乐观的时候。随着基础研究者与临床医师合作的进一步加强,对脊髓再生的复杂性及联合应用多种治疗手段的必要性的进一步理解,在不久的将来,一定会有有效的治疗方法应用于临床。

参考文献

- 1 Liu S, Aghakhai N, Boisset N, et al. Innervation of the caudal denervated ventral roots and their target muscles by the rostral spinal motoneurons after implanting a nerve auto graft in spinal cord injured adult marmosets. *J Neurosurg*, 2001, 94(1Suppl): 82-90.
- 2 孙永明, 郑祖根, 董启榕, 等. 周围神经不同移植方式修复治疗损伤脊髓的实验研究. *中国脊柱脊髓杂志*, 2003, 13(6): 351-354.
- 3 郭庆山, 王爱民, 孙红振, 等. 带蒂神经植入脊髓后雪旺细胞的存活与迁移. *中华显微外科杂志*, 2001, 24(4): 275-277.
- 4 Kwon BK, Tetzlaff W. Spinal cord regeneration. *Spine*, 2001, 26(24): 13-22.
- 5 张少成, 许硕贵, 马玉海, 等. 硬脊膜内松解自体周围神经植入治疗脊髓陈旧性不完全性断裂伤. *第二军医大学学报*, 2004, 25(7): 803-804.
- 6 Coumans JV, Lin TT, Dai HN, et al. Axonal regeneration and functional recovery after complete spinal cord transection in rats by delayed treatment with transplants and neurotrophins. *J Neurosci*, 2001, 21(23): 9334-9344.
- 7 张强, 廖维宏, 王正国, 等. 不同方法移植胚胎脊髓促进大鼠损伤脊髓功能恢复的研究. *中国脊柱脊髓杂志*, 2000, 10(2): 93-95.
- 8 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 Neurosci Res*, 2002, 69: 925-933.

- 9 李培建, 李兵仓, 胥少汀, 等. 肌基膜管移植修复脊髓缺损的实验研究. *中华创伤杂志*, 2001, 17(9): 525-529.
- 10 南丰, 李靖年, 董建俐, 等. 雪旺细胞肌膜管与骨骼肌肌膜管两种桥接体对大鼠脊髓损伤修复效果的比较. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11(4): 176-178.
- 11 Langer R, Tirrell DA. Designing materials for biology and medicine. *Nature*, 2004, 428: 487-492.
- 12 Novikova LN, Novikov LN, Kellerth JO. Biopolymers and biodegradable smart implants for tissue regeneration after spinal cord injury. *Curr Opin Neurol*, 2003, 16(6): 711-715.
- 13 Liu CN, Devor M, Waxman SG, et al. Subthreshold oscillations induced by spinal nerve injury in dissociated muscle and cutaneous afferents of mouse DRG. *J Neurophysiol*, 2002, 87(4): 2009-2017.
- 14 Chow SY, Moul J, Tobias CA, et al. Characterization and intraspinal grafting of EGF/bFGF-dependent neurospheres derived from embryonic rat spinal cord. *Brain Res*, 2000, 874(2): 87-106.
- 15 Keyvan-Fouladi N, Raisman G, Li Y. Functional repair of the corticospinal tract by delayed transplantation of olfactory ensheathing cells in adult rats. *J Neurosci*, 2003, 23(28): 9428-9434.
- 16 Hofstetter CP, Schwarz EJ, Hess D, et al. Marrow stromal cells form guiding strands in the injured spinal cord and promote recovery. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(4): 2199-2204.
- 17 陈述祥, 靳安民, 姚伟涛. 三种脊髓损伤类型中巨噬细胞反应情况的观察. *中国骨伤*, 2004, 17(4): 218-221.
- 18 冯世庆, 郭世斌, 陈君长, 等. 神经生长因子和脑源性神经营养因子基因修饰的雪旺细胞和胚胎脊髓细胞悬液植入促进大鼠脊髓损伤修复的研究. *中华骨科杂志*, 2001, 21(9): 555-561.
- 19 郭庆山, 王爱民, 蒋祖言. 神经组织联合移植修复成鼠脊髓损伤的比较研究. *中华创伤杂志*, 2000, 16(9): 553-555.
- 20 Duchossoy Y, Kassar-Duchossoy L, Orsal D, et al. Reinnervation of the biceps brachii muscle following cotransplantation of fetal spinal cord and autologous peripheral nerve into the injured cervical spinal cord of the adult rat. *Exp Neurol*, 2001, 167(2): 329-340.
- 21 张少成, 禹宝庆, 王新伟, 等. 带血管肋间神经转位重建截瘫患者的部分感觉功能. *第二军医大学学报*, 1998, 19(3): 264-265.
- 22 麻文谦, 张少成, 颜永碧, 等. 去外膜外周神经移植对大鼠脊髓损伤的影响. *中华显微外科杂志*, 2007, 30(5): 367-369.

(收稿日期: 2007-12-27 本文编辑: 王玉蔓)

本刊对来稿中照片图处理的有关要求

稿件中的图片要求有良好的清晰度和对比度,最好提供洗印好的照片。X线图请一律寄照片,不可寄X线胶片,图不小于8cm×12cm,肢体照片需包括一端关节。图中需标注的符号(包括箭头)请用另纸标上,不要写在照片上,每幅图的背面应贴上标签,注明图号、作者姓名及图的上下方向。病理照片要求注明染色方法和放大倍数。图片如有引自他刊者,应注明出处。图片均不可粘附,另纸包好,以免污染或折损。大体标本照片在图内应有尺度标记。如提供电子版的图片,彩色图片应为RGB格式,建议作者使用数码相机拍摄照片时,图片分辨率最小为300ppi(像素/英寸),线条图最小1200ppi,图像大小5×7in(127mm×178mm)。图片应按其在正文中出现的顺序命名,采用JPEG格式单独存储,请勿插入正文文档中(如Word文档)。若刊用人物像,应征得本人的书面同意,或遮盖其能被辨认出系何人的部分。

《中国骨伤》杂志社