



脊髓损伤再生修复的临床研究进展

李佳音, 韩素芳, 肖志峰, 戴建武*

中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101

* 联系人, E-mail: jwdai@genetics.ac.cn

收稿日期: 2018-10-30; 接受日期: 2018-12-24; 网络版发表日期: 2019-04-16

国家重点研发计划(批准号: 2017YFA0104700, 2016YFC1101500)和中国科学院重点部署项目(批准号: ZDRW-ZS-2016-2)资助

摘要 创伤性脊髓损伤会导致患者感觉运动功能的严重缺失, 严重影响生活质量, 给社会和家庭带来沉重负担. 针对创伤性脊髓损伤目前主要集中于处理原发性创伤损伤以及通过康复训练提高生活自理能力等方法, 而对于神经再生及运动功能恢复却未有有效方法. 以干细胞及生物材料为核心的再生医学技术的发展, 为创伤性脊髓损伤的再生修复提供了新的治疗的可能. 再生医学修复脊髓损伤的研究已逐渐进入临床试验阶段, 为脊髓损伤患者的治疗带来了希望. 本文对干细胞或功能细胞以及生物材料治疗创伤性脊髓损伤的临床研究现状进行了综述.

关键词 脊髓损伤, 再生医学, 干细胞, 生物材料, 临床研究

由于交通事故、高空坠落等造成的创伤性脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)会导致损伤节段以下运动和感觉功能障碍, 常易伴随神经痛、痉挛、呼吸和心血管改变, 神经源性肠或膀胱和皮肤消化道等并发症, 严重影响患者的生活质量^[1]. 据统计, 我国脊髓损伤的发病率为25~60例/百万人, 其中男性比例远高于女性(2.4~5.6:1), 患者职业主要以工人和农民为主, 40~60岁中壮年人占约50%(统计结果具有地区差异性)^[2~5]. 通过细心的护理和复健, 脊髓损伤患者的寿命不会受到显著影响, 但昂贵的治疗及护理费用给患者家庭及社会带来沉重负担^[6].

鉴于脊髓损伤对家庭及社会的影响, 探索有效的脊髓损伤临床治疗方法已成为研究的重要方向. 尽管在动物实验中已取得了许多进展, 但已应用于临床的、可以促进神经功能恢复的治疗方法仍然有限^[7,8].

动物研究表明, 在最初的创伤后脊髓的持续压迫导致局部缺血并加剧继发性损伤级联反应^[9], 因此, 绝大部分临床研究及临床治疗均集中在脊髓损伤后的急性期. 目前对于急性脊髓损伤(48 h以内)的病人, 临床上可应用的手段主要包括手术减压^[10]、不同剂量甲强龙注射^[11]、血压控制^[12]等, 虽然对于减少内出血等其他次级损伤有一定效果, 但其对于患者运动功能恢复的作用仍缺乏足够的证据支持^[13]. 对于陈旧性脊髓损伤的病人, 目前临床上主要通过康复手段提高患者的生活自理能力, 减少并发症. 此外, 像治疗性降低体温(therapeutic hypothermia)、脑脊液引流(cerebrospinal fluid drainage)、急性间歇性低氧(acute intermittent hypoxia)等生理学手段, 运动训练(locomotor training)、脊髓或经颅电刺激、外骨骼等康复治疗手段在急性及陈旧性脊髓损伤治疗中也有一定的临床研究基础, 但

引用格式: 李佳音, 韩素芳, 肖志峰, 等. 脊髓损伤再生修复的临床研究进展. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 673–682

Li J Y, Han S F, Xiao Z F, et al. Clinical studies on neural regeneration in traumatic spinal cord injury (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2019, 49: 673–682, doi: 10.1360/N052018-00234

总体上对于损伤后神经再生修复的进展较少^[14]。

再生医学是20世纪80年代后期逐步兴起并发展起来的学科。作为一个前沿交叉领域,再生医学应用生命科学、材料科学、临床医学、工程学等学科的原理和方法,研究和开发用于替代、修复、重建或再生人体各种组织器官的理论和新技术。干细胞、生物材料及生长因子是再生医学技术的三个重要组成。

近年来,随着干细胞与再生医学技术的不断发展,应用干细胞及/或生物材料治疗脊髓损伤的临床前或临床研究日益增多。据统计,目前Clinical Trial已注册的相关临床研究共有42项,其中应用干细胞或功能细胞治疗脊髓损伤的临床研究共有37项,应用生物材料治疗脊髓损伤的临床研究共有5项。本文将对这些临床研究进行梳理、总结,并对目前再生医学技术治疗脊髓损伤存在的问题和前景进行探讨。

1 干细胞或功能细胞用于脊髓损伤的临床研究

干细胞是一类具有自我增殖和多向分化潜能的细胞,随着再生医学技术的发展,干细胞作为种子细胞在多种组织再生修复中显示了良好的应用前景。过去30年间,随着干细胞研究的深入,细胞移植为脊髓损伤提供了新的临床治疗途径,多种细胞已经应用于临床(表1)。

1.1 胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)

ESCs来自于囊胚期的内细胞团,具有高度的分化潜能,可以被诱导分化成几乎所有细胞类型。但是如果以未分化的形式移植易在体内形成畸胎瘤,这严重限制了ESCs的临床应用。目前一般先将ESCs分化为特定细胞类型,如神经前体细胞^[15,16]、特定神经元^[17,18]或神经胶质谱系^[19,20],然后进行移植。

由于在临床前实验中的良好效果^[21],2009年1月,FDA正式批准Geron公司利用人ESCs分化而来的少突胶质前体细胞GRNOPC1治疗亚急性胸段脊髓损伤(AISA-A, NCT01217008)。Geron公司向4名患者注射200万GRNOPC1细胞,但由于资金以及监管问题,于2011年终止此临床试验。Asterias Biotherapeutics公司重启此项目,将GRNOPC1更名为AST-OPC1(NCT02302157),评估3个细胞剂量(200万,1000万,

2000万)2个AISA等级(AISA-A和AISA-B)共5个梯队脊髓损伤的疗效。第2梯队中6名AISA-A患者在接受1000万个细胞注射12个月,其中4名患者身体一侧有2个或者更多个运动平面的改善,患者手臂、手掌、手指运动功能出现改善,提高了患者生活质量和独立生活能力。但亚急性颈段脊髓损伤患者上肢会出现一定程度的自发功能恢复^[22],其干细胞的治疗作用尚待进一步证实。

1.2 神经干细胞/前体细胞(neural stem/progenitor cells, NSPCs)

NSPCs存在于哺乳动物胚胎以及成年中枢神经系统多个区域,如侧脑室的室管膜下区(SVZ)^[23],海马齿状回颗粒下区(SGZ)^[24]以及脊髓中央管区^[25]等,具有自我更新以及多向分化潜能。研究表明,NSPCs不仅在体内长期存活,分化成神经元,并与宿主神经元形成功能性突触连接;而且还可以分泌多种神经营养因子和细胞因子改善局部损伤微环境,促进脊髓损伤功能恢复^[26,27]。

目前人NSPCs可以从流产胎儿脑或脊髓中分离,也可以从成人手术活检脑标本以及捐赠组织中获取^[28]。2011年3月,美国Stem Cells公司在国际上首先开展HuCNS-SC[®](分离自胎儿脑部高纯度人神经干细胞)治疗胸段脊髓损伤I/II期临床试验(T2-T11, NCT01321333)。12名患者中有8名感觉功能获得恢复,2名患者ASIA评分从A降为B。2014年10月,Stem Cells公司开展HuCNS-SC[®]治疗颈段脊髓损伤II期临床试验(C5-C7, NCT02163876)。虽然在6个月随访中,5名患者中有4名肌力提高,但由于缺乏感觉和运动功能后续改善,2016年5月,该公司宣布终止此试验^[29]。

美国Neuralstem公司从胎儿脊髓中获取神经干细胞系NSI-566,用于治疗陈旧性颈段及胸段脊髓损伤(NCT01772810)。4名陈旧性脊髓损伤患者(T2-T12, ASIA-A),在受伤12~24个月,脊髓内注射NSI-566。所有患者耐受性良好,移植18~27个月均无严重不良事件发生。而且运动、感觉以及电生理学结果显示4名患者中有2名有1~2个神经节段的改变^[30]。

1.3 间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)

MSCs可来源于人体的多种组织,如骨髓、脂肪、

表 1 人细胞移植治疗脊髓损伤临床研究

Table 1 Clinical trials based on human cell transplantation

细胞类型	注册号	细胞移植方法	AISA等级	损伤位置	损伤类型	临床阶段	国家	备注
胚胎干细胞来源细胞	NCT01217008	—	A	胸段	亚急性	1	美国	GRNOPC1
	NCT02302157	—	A, B	颈段	亚急性	1, 2	美国	AST-OPC1
神经干细胞/前体细胞	NCT01772810	椎管内注射	A	颈段, 胸段	陈旧性	1	美国	NSI-566
	NCT01321333	髓内移植	A, B, C	胸段	亚急性	1, 2	美国	HuCNS-SC
	NCT02163876	髓内移植	B, C	颈段	陈旧性	2	美国	HuCNS-SC 注册终止
骨髓间充质干细胞	NCT01446640	静脉联合鞘内注射	A, B	胸段, 腰段	亚急性, 陈旧性	1, 2	中国	
	NCT02570932	鞘内注射	A, B, C, D	—	陈旧性	2	西班牙	
	NCT01909154	鞘内注射	A	颈段, 胸段, 腰段	陈旧性	1	西班牙	
	NCT01325103	—	A	胸段, 腰段	—	—	巴西	
	NCT02574572	病灶内注射	A	颈段	陈旧性	1	巴西	
	NCT02574585	经皮注射	A	胸段, 腰段	陈旧性	2	巴西	
	NCT00816803	自体移植	—	—	陈旧性	1,2	埃及	
	NCT01162915	鞘内注射	A	颈段, 胸段, 腰段	亚急性, 陈旧性	1	美国	
	NCT02165904	蛛网膜下腔移植	—	—	陈旧性	1	西班牙	
	NCT02482194	鞘内注射	A	胸段	亚急性, 陈旧性	1	巴基斯坦	
	NCT01676441	鞘内注射	B	颈段	陈旧性	2, 3	韩国	
	NCT01186679	鞘内注射; 病灶移植	—	颈段, 胸段	急性, 亚急性, 陈旧性	1, 2	印度	
脂肪间充质干细胞	NCT03308565	鞘内注射	A, B	—	亚急性, 陈旧性	1	美国	
	NCT01274975	静脉注射	A, B, C	—	陈旧性	1	韩国	
	NCT01624779	鞘内注射	—	—	—	1	韩国	
	NCT01769872	静脉, 鞘内注射	A, B, C	—	陈旧性	1, 2	韩国	
	NCT02034669	静脉, 鞘内, 硬膜内腔 注射	A	—	急性	1, 2	越南	
脐带间充质干细胞	NCT01393977	蛛网膜下腔移植	—	—	—	2	中国	
	NCT01873547	鞘内注射	—	—	陈旧性	3	中国	
	NCT03521323	鞘内注射	A, B, C, D	—	陈旧性早期	2	中国	
	NCT03505034	鞘内注射	A, B, C, D	—	陈旧性晚期	2	中国	
	NCT03521336	鞘内注射	A, B, C, D	—	亚急性	2	中国	
	NCT02481440	鞘内注射	A, B, C, D	—	亚急性, 陈旧性	1, 2	中国	
	NCT03003364	鞘内注射	A	胸段	陈旧性	1, 2	西班牙	
骨髓间充质和脂肪间充 质干细胞联合治疗	NCT02981576	鞘内注射	A, B, C	—	亚急性, 陈旧性	1, 2	约旦	
雪旺细胞	NCT01739023	病灶移植	A	胸段	亚急性	1	美国	
	NCT02354625	病灶移植	A, B, C	颈段, 胸段	陈旧性	1	美国	
嗅鞘细胞	NCT01231893	联合嗅成纤维细胞 椎管内移植	A	颈段, 胸段, 腰段	亚急性, 陈旧性	1	波兰	
骨髓单核细胞	NCT02027246	鞘内注射	—	—	—	1	印度	
	NCT02009124	鞘内注射	—	—	—	2	印度	
	NCT02923817	腰椎注射	A, B	—	亚急性, 陈旧性	2	越南	
巨噬细胞	NCT00073853	直接注射	A	颈段, 胸段	急性	2	美国	注册暂停

脐带、胎盘等, 增殖能力强, 可以分泌多种细胞因子, 具有免疫调节和营养支持作用, 可促进组织细胞存活, 轴突再生以及血管新生等^[31,32]。特别是骨髓间充质干细胞(BMMSCs), 脂肪间充质干细胞(ADMSCs)可以从患者自身获取, 不存在伦理道德争议, 在临床方面具有良好的应用前景。目前使用MSCs治疗脊髓损伤的临床研究已在多国开展(表1)。但近期韩国完成的间充质干细胞移植治疗陈旧性完全性脊髓损伤的III期临床试验显示患者并未出现预期的运动功能恢复^[33], 使得单独应用间充质干细胞治疗脊髓损伤蒙上了一层阴影。

外泌体(exosome)是一种细胞分泌的微小膜泡, 内含蛋白、脂质和核酸等多种生物活性分子。近年来的研究表明, 来源于MSCs的外泌体可以治疗多种疾病, 功能与MSCs相似, 可修复组织损伤, 抑制炎症反应以及调节免疫系统^[34]。虽然目前还没有应用于脊髓损伤临床, 但由于生物相容性, 稳定性好, 比较容易通过血脑屏障进入中枢神经系统, 容易进行基因改造等优点^[35], 在脊髓损伤治疗方面具有一定潜力。

1.4 雪旺细胞(Schwann cells, SCs)

雪旺细胞, 是外周神经系统中的主要胶质细胞, 可包裹神经轴突形成髓鞘。研究表明, SCs具有神经保护作用, 移植入受损脊髓后, 可减轻组织损伤, 促进轴突再生以及髓鞘化, 改善感觉运动功能^[36,37]。

由于位置表浅, 可切除长度长以及切取后对患者影响小等特点, 患者自身腓肠神经成为临床上分离SCs主要来源^[38,39]。美国迈阿密大学研究人员从6名胸段脊髓损伤患者自体腓肠神经分离培养SCs, 然后在4~7周内将高度纯化的不同剂量SCs注射到脊髓损伤部位, 以评估自体SCs移植的安全性和可行性(NCT01739023)。通过一年的随访, 证明自体SCs移植是安全可行的, 但并没有明显的有效性结果^[40]。

此外, 嗅鞘细胞(olfactory ensheathing cells, OECs), 骨髓单核细胞(bone marrow mononuclear cells, BMMCs), 巨噬细胞(macrophages)也应用于脊髓损伤临床。目前脊髓损伤临床细胞治疗虽然显示了一定的效果, 但还存在一些问题亟待解决, 如移植细胞的来源, 移植细胞数量与途径的选择, 异体移植免疫排斥反应以及伦理争议等。

2 生物支架材料或其与干细胞结合用于脊髓损伤修复的临床研究

脊髓损伤后, 形成一个不利于神经再生的微环境, 主要包括: (1) 原发损伤和继发损伤导致神经细胞死亡; (2) 神经损伤部位促进再生的营养因子缺乏; (3) 细胞增殖形成瘢痕组织及瘢痕中的某些化学分子, 如硫酸软骨素蛋白多糖(CSPGs)作为物理和化学障碍阻碍神经再生; (4) 损伤部位神经再生抑制因子Nogo-A, 髓鞘相关糖蛋白(MAG)等抑制神经再生, 其一方面抑制神经轴突的生长, 另一方面抑制神经干细胞向神经元分化。应用再生因子、种子细胞、神经支架材料等重建有利于脊髓再生的微环境是目前脊髓损伤修复的重要手段。随着研究的深入, 科学家逐渐认识到由于脊髓损伤后形成的复杂的微环境, 单一的策略很难有效促进脊髓损伤的修复, 多种策略联合是目前脊髓损伤修复的重点^[41,42]。

神经支架材料包括人工合成和天然两大类。前者常用的有聚乳酸-羟基乙酸复合高聚物(poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA), 聚乙醇酸(poly-glycolic acid, PGA)等, 优点是便于大量生产, 其物理特性(如物理强度和降解速率等)容易控制, 但缺点在于细胞相容性差, 降解后形成的酸性环境可能会对细胞存活和生长有所限制与影响。而天然材料主要成分为天然来源的高分子蛋白质, 最常见的是胶原蛋白、透明质酸、纤维蛋白等, 它们的优势在于来源方便、体内可降解、免疫原性低等。神经支架材料不仅可为受损的神经元轴突再生提供支撑和引导, 在损伤的局部搭建神经再生的桥梁, 同时也可以作为载体将再生因子和干细胞更好地作用于损伤局部^[41,43]。

2.1 神经支架材料结合再生因子治疗脊髓损伤的临床前研究

神经再生因子通常与神经支架材料一起应用于损伤部位。神经再生因子与支架材料联合应用于脊髓损伤修复的首要问题是如何将生物材料与生长因子结合以防止其在损伤部位的快速扩散。目前多种方法可将生物材料和生长因子结合用于脊髓损伤修复, 比如物理混合、化学交联、特异结合等。

(1) 高分子神经支架材料。Piantino等人^[44]利用高分子聚合物发明了可用于注射的液体水凝胶, 通过物

理混合NT-3实现缓释, 延长神经营养因子半衰期. 李晓光团队^[45,46]将壳聚糖材料与神经因子NT-3物理混合制备形成微球, 可实现NT-3在损伤部位的缓释, 激活大鼠脊髓损伤的内源细胞和神经再生, 促进脊髓损伤修复. Burdick等人^[47]用聚乙烯制作了可降解水凝胶, 通过控制交联密度来控制睫状神经营养因子的缓释速率, 调控神经营养因子持续作用时间, 持续至损伤后数周到数月.

(2) 胶原神经支架材料. 本实验室^[48-52]创新性地修饰神经再生因子, 使其具有与胶原支架材料结合的能力, 实现了生长因子在损伤部位的缓释, 实现了再生因子在损伤局部的空间定位和浓度维持. 他们表达了多种生长因子, 如CBD-BDNF, CBD-NT3, CBD-NGF等, 通过多批大鼠脊髓损伤模型证实, 神经再生胶原支架结合具有胶原结合能力的神经营养因子, 能够减少损伤面积, 降低神经再生抑制分子CSPGs在损伤部位的沉积, 引导神经纤维有序再生, 促进神经再生及神经功能的恢复; 随后在比格犬的大段缺损全横断脊髓损伤修复实验证明具有相同的效果, 并首次实现全横断脊髓损伤犬的站立和行走. 在再生抑制因子的拮抗剂研究中, 戴建武研究团队^[53]制备了可与胶原特异结合的EGFR抗体(CBD-EGFR), 其可与神经再生胶原支架特异结合实现在损伤部位的缓释. 在大鼠全横断损伤修复中证实与CBD-EGFR抗体结合的胶原支架材料可以促进激活的内源神经干细胞分化为神经元, 并促进大鼠电生理和运动功能恢复.

2.2 神经支架材料结合干细胞治疗脊髓损伤的临床前研究

尽管干细胞在动物实验研究中显示了一定的损伤修复效果, 但干细胞移植到体内尚有许多问题需要解决. 干细胞移植的第一个问题是干细胞的扩散问题, 由于脊髓中脑脊液的存在且其处于不断流动中, 使得细胞很难定植于损伤部位, 在降低细胞的治疗效果的同时也会带来异位扩散的风险^[54]. 第二个关键问题是干细胞的定向分化问题, 这也是其是否能够与宿主整合形成功能网络的前提. 许多研究发现当神经干细胞移植到成年动物非神经发生区, 如脊髓时, 主要分化为星形胶质细胞, 而极少分化为神经元. 此外, 内源性的神经干细胞在脊髓损伤处也主要分化为星形胶质细胞^[55].

本实验室^[56]发现, 脊髓微环境中的髓鞘蛋白Nogo-A可以明显抑制神经前体细胞分化形成神经元, 而促进神经前体细胞分化为星形胶质细胞, 其促进神经前体细胞向星形胶质细胞分化的作用是通过活化STAT3信号途径实现的, 这为解释神经干细胞移植到体内主要分化为胶质细胞而极少分化为神经元提供了理论依据. 为了促进神经干细胞存活以及向神经元定向分化, Mark Tuszynski团队^[27,57]通过10种再生因子结合fibrin改善脊髓损伤微环境, 促进外源神经干细胞向神经元分化, 并促进外源神经干细胞与宿主神经元形成连接修复脊髓损伤. 本实验室^[58]通过拮抗脊髓损伤后的再生抑制因子, 利用控释技术建立的神经再生胶原支架与CBD-EGFR的缓释体系, 移植到脊髓损伤动物体内发现, 其可在大鼠脊髓损伤区明显促进内源性神经元发生和运动功能恢复. 同时, 他们发现该智能神经再生支架还能结合移植的神经干细胞使其最大限度地保留在损伤区域内避免了细胞的扩散, 有效促进脊髓损伤动物的功能恢复. 研究结果表明, 通过神经再生胶原支架与CBD-EGFR的结合形成了特异的富集神经干细胞和促进神经干细胞定向神经元分化的双功能材料. 曾园山研究团队^[59,60]将体外构建类脊髓组织用于移植修复脊髓损伤也有初步的探索, 将过表达NT3的施旺细胞(或MSCs)与过表达TrkC的神经干细胞结合明胶海绵材料(蚕丝蛋白包被), 体外构建类脊髓组织, 移植可促进脊髓损伤动物神经修复.

2.3 神经支架材料用于脊髓损伤修复的临床研究

神经支架材料结合再生因子或干细胞在大鼠、犬等脊髓损伤动物实验中已得到广泛证实, 研究发现支架材料结合再生因子或干细胞可以降低损伤面积, 减少瘢痕形成, 促进神经再生和运动功能恢复^[41,42,61,62]. 而目前应用于临床研究的生物材料主要是以PLGA为主的神经管^[63]和胶原蛋白为基础的有序神经再生胶原支架^[64-66](表2).

(1) PLGA神经支架. PLGA是一种高分子材料, 2012年Teng等人^[67]将高分子材料PLGA表面涂布多聚赖氨酸, 制备成神经支架, 然后将支架-神经干细胞单元植入成年大鼠半横断脊髓损伤部位, 发现相对于对照组, 治疗组出现长期的功能改善, 表现出协调的, 负重的后肢步进. 组织学和免疫细胞化学分析表明, 这种恢复可能归因于组织丢失的减少以及胶质瘢痕的减

表 2 支架移植治疗脊髓损伤临床研究

Table 2 Clinical trials based on scaffold transplantation

支架类型	注册号	移植方法	AISA等级	损伤位置	损伤类型	临床阶段	国家
胶原支架	NCT02510365	清理坏死组织后移植	A	颈段, 胸段	急性	1	中国
胶原支架	NCT02688049	清理瘢痕后复合间充质干细胞或神经干细胞移植	A	颈段, 胸段	陈旧性	1, 2	中国
胶原支架	NCT02688062	清理瘢痕后复合骨髓单核细胞移植	A	胸段	陈旧性	1, 2	中国
胶原支架	NCT02352077	清理瘢痕后复合骨髓单核细胞或间充质干细胞移植	A	颈段, 胸段	陈旧性	1	中国
PLGA支架	NCT02138110	直接移植	A	胸段	急性	3	美国

少, 这些结果与增强的局部GAP-43表达的证据一起提示支架材料结合神经干细胞促进了神经再生。在恒河猴研究中也验证了神经支架对于大动物急性脊髓损伤功能恢复的作用^[68]。InVivo Therapeutics公司将其应用于急性脊髓损伤患者的临床研究(NCT02138110), 结果显示PLGA具有较好的安全性, 并伴有一定程度的功能恢复^[63]。目前正在增加病例, 进行产品的临床转化研究。

(2) 胶原神经再生支架。胶原蛋白作为细胞外基质的主要成份且具有良好的生物相容性, 被认为是理想的治疗神经损伤的支架材料之一。由于脊髓神经细胞生长的特点, 理想的脊髓损伤修复材料结构应具有细胞导向性, 即能引导细胞轴突的有序性生长。本实验室^[69]研制的有序胶原蛋白支架材料除了具有良好的生物相容性之外, 还根据脊髓神经元细胞的神经纤维纵向有序生长的特点能够引导神经纤维有序延伸。通过大鼠半横断和全横断脊髓损伤模型证实, 神经再生胶原支架能够减少损伤面积扩散, 引导神经纤维有序再生。随后在大动物实验中取得了相同的实验结果, 研究表明在犬脊髓全横断损伤实验中, 神经再生胶原支架能够减少损伤面积扩散, 引导神经纤维有序再生^[61,62,70]。在完成临床前研究基础上, 2015年1月16日在国际上开展神经再生胶原支架结合间充质干细胞治疗陈旧性完全性脊髓损伤的临床研究(NCT02352077)。该研究探索了采用电生理等手段区分神经组织和瘢痕组织, 并实施了对瘢痕组织的手术清理。经过一年的随访, 患者未出现明显的不良反应, 初步证明神经再生胶原支架的移植是安全的^[66]。随后的研究表明, 神经支架材料结合间充质干细胞可以促进陈旧性完全性脊髓

损伤患者部分功能的恢复^[65]。戴建武研究团队^[64]还将复合间充质干细胞的功能神经再生胶原支架应用于急性完全性脊髓损伤临床研究(NCT02510365)。该研究建立了综合ASIA分级, 影像学 and 电生理各项指标的更为严格的完全性脊髓损伤判定标准, 通过一年的随访, 部分患者出现较明显的感觉和运动功能恢复。其中的1例胸段和1例颈段急性脊髓损伤患者感觉平面扩展, 出现较准确的大小便感觉, 感觉诱发电位和运动诱发电位可以跨越损伤平面传导, 并恢复大脑支配下的下肢自主运动, 显示了良好的临床应用前景。

3 前景与展望

作为世界性医学难题之一, 脊髓损伤的研究备受科研人员及临床学者的重视, 脊髓损伤临床研究数量与日俱增。但脊髓损伤中尚有一些关键性问题亟待解决。(1) 神经再生微环境的解析: 脊髓损伤后, 创伤导致损伤局部缺血、缺氧、水肿、干细胞激活等反应, 进而神经轴突脱髓鞘, 胶质细胞增生, 神经细胞坏死等, 最终在损伤部位形成空洞或瘢痕, 形成不利于神经再生的微环境。这一持续的动态变化过程中伴随着微环境中多种信号分子和多种细胞的动态变化, 但在此动态变化过程中, 微环境及微环境中的细胞如何变化? 目前人们对这个动态变化过程缺乏系统了解。(2) 完全性脊髓损伤再生修复机制: 脊髓损伤可分为完全性损伤和不完全性损伤。不完全脊髓损伤后由于神经尚存在部分的神经连接, 残存的完整的神经轴突可通过sprouting等方式实现神经再生及功能恢复, 但对于完全性脊髓损伤由于神经完全横断, 其再生修复机制

是需要深入研究的关键问题。(3) 脊髓损伤临床研究的路径: 虽然目前的临床研究已经开展, 但其在脊髓损伤临床研究中尚面临一些需要解决的问题, 比如: 由于脊髓休克的存在目前常用的ASIA分级的存在并不适合急性脊髓损伤严重程度的判定, 如何判定患者为完全性损伤? 陈旧性脊髓损伤患者损伤区的瘢痕抑制神经再生, 在手术中如何区分陈旧性脊髓损伤的瘢痕组织与正常神经组织以便清理瘢痕? 脊髓损伤修复是一个复杂的过程, 不仅涉及脊髓损伤, 还包括多个系

统的损害, 如外周神经和肌肉退化, 患者的心理也会出现不同的变化等, 因此建立治疗、康复、心理的综合方案也是脊髓损伤所必需的。随着再生医学技术的不断发展及对神经再生机制认识的不断深入, 通过干细胞与神经再生支架体内原位修复或体外制造包含功能神经细胞的(类)脊髓组织重建受损脊髓, 将有望在不久的将来产生可应用于临床的神经再生产品及治疗方案, 真正实现脊髓损伤患者的神经再生及运动功能恢复。

参考文献

- 1 National Spinal Cord Injury Statistical Center. Facts and Figures at A Glance. Birmingham, AL: University of Alabama at Birmingham, 2017
- 2 Li J J, Zhou H J, Hong Y, et al. Spinal cord injuries in Beijing: A municipal epidemiological survey in 2002 (in Chinese). *Chin J Rehabil Theory Pract*, 2004, 10: 412–413 [李建军, 周红俊, 洪毅, 等. 2002年北京市脊髓损伤发病率调查. *中国康复理论与实践*, 2004, 10: 412–413]
- 3 Pan J, Li X, Zeng C, et al. Retrospective study of acute spinal cord injury between 2005 and 2007 in Pudong New Area, Shanghai (in Chinese). *J Tongji Univ (Medical Sci)*, 2009, 30: 131–135 [潘杰, 李昕, 曾诚, 等. 2005~2007年上海市浦东新区脊柱脊髓损伤调查分析. *同济大学学报(医学版)*, 2009, 30: 131–135]
- 4 Ru Q C. Epidemiological study of spinal cord injury in Dalian (in Chinese). Master Dissertation. Dalian Medical University, 2014 [茹庆超. 大连市脊髓损伤流行病学调查研究. 硕士学位论文. 大连: 大连医科大学, 2014]
- 5 Ning G Z. Study on epidemiology of spinal cord injury in Tianjin (in Chinese). Doctor Dissertation. Tianjin Medical University, 2012 [宁广智. 天津市脊髓损伤流行病学调查研究. 博士学位论文. 天津: 天津医科大学, 2012]
- 6 Selvarajah S, Hammond E R, Haider A H, et al. The burden of acute traumatic spinal cord injury among adults in the united states: An update. *J Neurotraum*, 2014, 31: 228–238
- 7 Elizei S S, Kwon B K. The translational importance of establishing biomarkers of human spinal cord injury. *Neural Regen Res*, 2017, 12: 385
- 8 Furlan J C, Noonan V, Cadotte D W, et al. Timing of decompressive surgery of spinal cord after traumatic spinal cord injury: An evidence-based examination of pre-clinical and clinical studies. *J Neurotraum*, 2011, 28: 1371–1399
- 9 Carlson G D, Minato Y, Okada A, et al. Early time-dependent decompression for spinal cord injury: Vascular mechanisms of recovery. *J Neurotraum*, 1997, 14: 951–962
- 10 Fehlings M G, Vaccaro A, Wilson J R, et al. Early versus delayed decompression for traumatic cervical spinal cord injury: Results of the surgical timing in acute spinal cord injury study (stascis). *PLoS ONE*, 2012, 7: e32037
- 11 Evaniew N, Belley-Côté E P, Fallah N, et al. Methylprednisolone for the treatment of patients with acute spinal cord injuries: A systematic review and meta-analysis. *J Neurotraum*, 2016, 33: 468–481
- 12 Saadoun S, Chen S, Papadopoulos M C. Intraspinal pressure and spinal cord perfusion pressure predict neurological outcome after traumatic spinal cord injury. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2017, 88: 452–453
- 13 Wilson J R, Tetreault L A, Kwon B K, et al. Timing of decompression in patients with acute spinal cord injury: A systematic review. *Glob Spine J*, 2017, 7: 95S–115S
- 14 Donovan J, Kirshblum S. Clinical trials in traumatic spinal cord injury. *Neurotherapeutics*, 2018, 15: 654–668
- 15 Zhang S C, Wernig M, Duncan I D, et al. *In vitro* differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol*, 2001, 19: 1129–1133
- 16 Reubinoff B E, Itsykson P, Turetsky T, et al. Neural progenitors from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol*, 2001, 19: 1134–1140
- 17 Carpenter M K, Inokuma M S, Denham J, et al. Enrichment of neurons and neural precursors from human embryonic stem cells. *Exp Neurol*, 2001, 172: 383–397
- 18 Wichterle H, Lieberam I, Porter J A, et al. Directed differentiation of embryonic stem cells into motor neurons. *Cell*, 2002, 110: 385–397

- 19 Nistor G I, Totoiu M O, Haque N, et al. Human embryonic stem cells differentiate into oligodendrocytes in high purity and myelinate after spinal cord transplantation. *Glia*, 2005, 49: 385–396
- 20 Brüstle O, Jones K N, Learish R D, et al. Embryonic stem cell-derived glial precursors: A source of myelinating transplants. *Science*, 1999, 285: 754–756
- 21 Keirstead H S, Nistor G, Bernal G, et al. Human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitor cell transplants remyelinate and restore locomotion after spinal cord injury. *J Neurosci*, 2005, 25: 4694–4705
- 22 Fawcett J W, Curt A, Steeves J D, et al. Guidelines for the conduct of clinical trials for spinal cord injury as developed by the iccp panel: Spontaneous recovery after spinal cord injury and statistical power needed for therapeutic clinical trials. *Spinal Cord*, 2007, 45: 190–205
- 23 Gritti A, Parati E, Cova L, et al. Multipotential stem cells from the adult mouse brain proliferate and self-renew in response to basic fibroblast growth factor. *J Neurosci*, 1996, 16: 1091–1100
- 24 Palmer T D, Takahashi J, Gage F H. The adult rat hippocampus contains primordial neural stem cells. *Mol Cell Neurosci*, 1997, 8: 389–404
- 25 Weiss S, Dunne C, Hewson J, et al. Multipotent CNS stem cells are present in the adult mammalian spinal cord and ventricular neuroaxis. *J Neurosci*, 1996, 16: 7599–7609
- 26 Rosenzweig E S, Brock J H, Lu P, et al. Restorative effects of human neural stem cell grafts on the primate spinal cord. *Nat Med*, 2018, 24: 484–490
- 27 Lu P, Wang Y, Graham L, et al. Long-distance growth and connectivity of neural stem cells after severe spinal cord injury. *Cell*, 2012, 150: 1264–1273
- 28 Mothe A J, Tator C H. Advances in stem cell therapy for spinal cord injury. *J Clin Invest*, 2012, 122: 3824–3834
- 29 Anderson A J, Piltti K M, Hooshmand M J, et al. Preclinical efficacy failure of human CNS-derived stem cells for use in the pathway study of cervical spinal cord injury. *Stem Cell Rep*, 2017, 8: 249–263
- 30 Curtis E, Martin J R, Gabel B, et al. A first-in-human, phase I study of neural stem cell transplantation for chronic spinal cord injury. *Cell Stem Cell*, 2018, 22: 941–950
- 31 Jiang Y, Jahagirdar B N, Reinhardt R L, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*, 2002, 418: 41–49
- 32 Chamberlain G, Fox J, Ashton B, et al. Concise review: Mesenchymal stem cells: Their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. *Stem Cells*, 2007, 25: 2739–2749
- 33 Oh S K, Choi K H, Yoo J Y, et al. A phase III clinical trial showing limited efficacy of autologous mesenchymal stem cell therapy for spinal cord injury. *Neurosurgery*, 2016, 78: 436–447
- 34 Pashoutan S D, Shamsasenjan K, Akbarzadehlaleh P. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: New opportunity in cell-free therapy. *Adv Pharm Bull*, 2016, 6: 293–299
- 35 Qu J, Zhang H. Roles of mesenchymal stem cells in spinal cord injury. *Stem Cells Int*, 2017, 2017: 1–12
- 36 Oudega M, Xu X M. Schwann cell transplantation for repair of the adult spinal cord. *J Neurotraum*, 2006, 23: 453–467
- 37 Kanno H, Pressman Y, Moody A, et al. Combination of engineered schwann cell grafts to secrete neurotrophin and chondroitinase promotes axonal regeneration and locomotion after spinal cord injury. *J Neurosci*, 2014, 34: 1838–1855
- 38 Fraher J P. The transitional zone and CNS regeneration. *J Anatomy*, 1999, 194: 161–182
- 39 Guest J, Santamaria A J, Benavides F D. Clinical translation of autologous Schwann cell transplantation for the treatment of spinal cord injury. *Curr Opin Organ Transplantation*, 2013, 18: 682–689
- 40 Anderson K D, Guest J D, Dietrich W D, et al. Safety of autologous human Schwann cell transplantation in subacute thoracic spinal cord injury. *J Neurotraum*, 2017, 34: 2950–2963
- 41 Führmann T, Anandakumaran P N, Shoichet M S. Combinatorial therapies after spinal cord injury: How can biomaterials help? *Adv Healthcare Mater*, 2017, 6: 1601130
- 42 Shrestha B, Coykendall K, Li Y, et al. Repair of injured spinal cord using biomaterial scaffolds and stem cells. *Stem Cell Res Ther*, 2014, 5: 91
- 43 Orive G, Anitua E, Pedraz J L, et al. Biomaterials for promoting brain protection, repair and regeneration. *Nat Rev Neurosci*, 2009, 10: 682–692
- 44 Piantino J, Burdick J A, Goldberg D, et al. An injectable, biodegradable hydrogel for trophic factor delivery enhances axonal rewiring and improves performance after spinal cord injury. *Exp Neurol*, 2006, 201: 359–367
- 45 Li X, Yang Z, Zhang A, et al. Repair of thoracic spinal cord injury by chitosan tube implantation in adult rats. *Biomaterials*, 2009, 30: 1121–1132
- 46 Yang Z, Zhang A, Duan H, et al. Nt3-chitosan elicits robust endogenous neurogenesis to enable functional recovery after spinal cord injury. *Proc*

- Natl Acad Sci USA, 2015, 112: 13354–13359
- 47 Burdick J A, Ward M, Liang E, et al. Stimulation of neurite outgrowth by neurotrophins delivered from degradable hydrogels. *Biomaterials*, 2006, 27: 452–459
 - 48 Fan J, Xiao Z, Zhang H, et al. Linear ordered collagen scaffolds loaded with collagen-binding neurotrophin-3 promote axonal regeneration and partial functional recovery after complete spinal cord transection. *J Neurotraum*, 2010, 27: 1671–1683
 - 49 Han Q, Jin W, Xiao Z, et al. The promotion of neural regeneration in an extreme rat spinal cord injury model using a collagen scaffold containing a collagen binding neuroprotective protein and an egfr neutralizing antibody. *Biomaterials*, 2010, 31: 9212–9220
 - 50 Han Q, Sun W, Lin H, et al. Linear ordered collagen scaffolds loaded with collagen-binding brain-derived neurotrophic factor improve the recovery of spinal cord injury in rats. *Tissue Eng Part A*, 2009, 15: 2927–2935
 - 51 Han S, Wang B, Jin W, et al. The collagen scaffold with collagen binding BDNF enhances functional recovery by facilitating peripheral nerve infiltrating and ingrowth in canine complete spinal cord transection. *Spinal Cord*, 2014, 52: 867–873
 - 52 Han S, Wang B, Jin W, et al. The linear-ordered collagen scaffold-BDNF complex significantly promotes functional recovery after completely transected spinal cord injury in canine. *Biomaterials*, 2015, 41: 89–96
 - 53 Fan C, Li X, Xiao Z, et al. A modified collagen scaffold facilitates endogenous neurogenesis for acute spinal cord injury repair. *Acta Biomater*, 2017, 51: 304–316
 - 54 Marsh S E, Yeung S T, Torres M, et al. HuCNS-SC human NSCs fail to differentiate, form ectopic clusters, and provide no cognitive benefits in a transgenic model of alzheimer's disease. *Stem Cell Rep*, 2017, 8: 235–248
 - 55 Yang H, Lu P, McKay H M, et al. Endogenous neurogenesis replaces oligodendrocytes and astrocytes after primate spinal cord injury. *J Neurosci*, 2006, 26: 2157–2166
 - 56 Wang B, Xiao Z, Chen B, et al. Nogo-66 promotes the differentiation of neural progenitors into astroglial lineage cells through mTOR-STAT3 pathway. *PLoS ONE*, 2008, 3: e1856
 - 57 Kadoya K, Lu P, Nguyen K, et al. Spinal cord reconstitution with homologous neural grafts enables robust corticospinal regeneration. *Nat Med*, 2016, 22: 479–487
 - 58 Xu B, Zhao Y, Xiao Z, et al. A dual functional scaffold tethered with EGFR antibody promotes neural stem cell retention and neuronal differentiation for spinal cord injury repair. *Adv Healthcare Mater*, 2017, 6: 1601279
 - 59 Lai B Q, Che M T, Du B L, et al. Transplantation of tissue engineering neural network and formation of neuronal relay into the transected rat spinal cord. *Biomaterials*, 2016, 109: 40–54
 - 60 Wu G H, Shi H J, Che M T, et al. Recovery of paralyzed limb motor function in canine with complete spinal cord injury following implantation of MSC-derived neural network tissue. *Biomaterials*, 2018, 181: 15–34
 - 61 Chen B, Xiao Z, Zhao Y, et al. Functional biomaterial-based regenerative microenvironment for spinal cord injury repair. *Natl Sci Rev*, 2017, 4: 530–532
 - 62 Zhao Y, Xiao Z, Chen B, et al. The neuronal differentiation microenvironment is essential for spinal cord injury repair. *Organogenesis*, 2017, 13: 63–70
 - 63 Theodore N, Hlubek R, Danielson J, et al. First human implantation of a bioresorbable polymer scaffold for acute traumatic spinal cord injury. *Neurosurgery*, 2016, 79: E305–E312
 - 64 Xiao Z, Tang F, Zhao Y, et al. Significant improvement of acute complete spinal cord injury patients diagnosed by a combined criteria implanted with neuroregen scaffolds and mesenchymal stem cells. *Cell Transplant*, 2018, 27: 907–915
 - 65 Zhao Y, Tang F, Xiao Z, et al. Clinical study of neuroregen scaffold combined with human mesenchymal stem cells for the repair of chronic complete spinal cord injury. *Cell Transplant*, 2017, 26: 891–900
 - 66 Xiao Z, Tang F, Tang J, et al. One-year clinical study of neuroregen scaffold implantation following scar resection in complete chronic spinal cord injury patients. *Sci China Life Sci*, 2016, 59: 647–655
 - 67 Teng Y D, Lavik E B, Qu X, et al. Functional recovery following traumatic spinal cord injury mediated by a unique polymer scaffold seeded with neural stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 3024–3029
 - 68 Slotkin J R, Pritchard C D, Luque B, et al. Biodegradable scaffolds promote tissue remodeling and functional improvement in non-human primates with acute spinal cord injury. *Biomaterials*, 2017, 123: 63–76
 - 69 Lin H, Chen B, Wang B, et al. Novel nerve guidance material prepared from bovine aponeurosis. *J Biomed Mater Res*, 2006, 79A: 591–598

- 70 Han S, Li X, Xiao Z, et al. Complete canine spinal cord transection model: A large animal model for the translational research of spinal cord regeneration. *Sci China Life Sci*, 2018, 61: 115–117

Clinical studies on neural regeneration in traumatic spinal cord injury

LI JiaYin, HAN SuFang, XIAO ZhiFeng & DAI JianWu

Institute of Genetics and Development Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Traumatic spinal cord injuries (SCIs) often lead to permanent loss of motor and sensory functions, seriously affecting patients' quality of life, and placing a heavy burden on families and society. At present, the clinical strategies for traumatic spinal cord injury mainly focus on the treatment of primary traumatic injury and improvement of self-care ability through rehabilitation training. However, there is no effective method for nerve regeneration and recovery of motor function. The development of regenerative medicine technology based on stem cells and biological materials has provided a new technical method for the regeneration and repair of traumatic spinal cord injury. Relevant research has gradually entered the clinical stage, bringing new hope for the rehabilitation of patients with spinal cord injury. This paper sorted and summarized clinical research based on the treatments of traumatic SCIs by stem cells/ functional cells or biomaterials.

spinal cord injuries (SCIs), regenerative medicine, stem cells, biological materials, clinical trial

doi: [10.1360/N052018-00234](https://doi.org/10.1360/N052018-00234)