

· 综 述 ·

干细胞联合组织工程学在周围神经损伤中的研究进展

肖广庆 陈慧珍 伦志刚 李爱民

【关键词】周围神经损伤;干细胞;组织工程学;损伤修复
【文章编号】1009-153X(2021)02-0137-03 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 745

周围神经损伤主要包括直接外力引起的损伤和继发性的血管缺血性损伤,如创伤、炎症、肿瘤压迫、感染或手术操作等。对于无间隙且两端无明显张力的神经断伤,直接缝合是首选的治疗方法;对于神经缺损性损伤,临床上的治疗金标准是自体神经移植。然而,自体神经移植不仅在神经选取上具有局限性,同时还不可避免地造成其他正常功能的损伤^[1]。在周围神经损伤的再生中,施旺细胞发挥着至关重要的作用,通过分泌各种神经营养因子形成有利于轴突再生的微环境^[2],支持轴突的生长和髓鞘的形成。但是,施旺细胞不仅来源有限,自我增殖能力弱,还会导致供区损伤,很难满足移植需求。而干细胞种类多,来源相对丰富,可以诱导分化为包括施旺细胞在内的各类细胞,也可以分泌神经营养因子,促进轴突生长和髓鞘再生^[3],因此,干细胞是目前组织工程中最具潜力的种子细胞。目前,干细胞联合组织工程学方法治疗周围神经损伤逐渐成为研究的热点。本文就干细胞联合组织工程学在周围神经损伤中的研究进展进行综述。

1 组织工程学的应用

目前,组织工程学在周围神经损伤修复中的主要作用是为干细胞提供移植支架,以替代自体神经作为轴突靶向生长的指导结构。组织工程支架材料主要包括脱细胞动静脉、壳聚糖、聚乙醇酸、胶原蛋白、纤维蛋白等。近几年又出现一些生物学技术,如 3D 贴片移植系统、3D 打印技术等,为干细胞的移植提供了一些新的方法。

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2021.02.026
基金项目:连云港市第一人民医院青年英才基金(QN1702)
作者单位:221004 江苏徐州,徐州医科大学研究生学院(肖广庆、伦志刚);222002 江苏连云港,徐州医科大学附属连云港医院神经外科(陈慧珍、李爱民)
通讯作者:李爱民,E-mail:1127595015@qq.com

2 干细胞联合组织工程学的应用

2.1 神经干细胞(neural stem cells, NSCs) NSCs 是一类存在于神经系统并可以分化为神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞的干细胞,在特定的条件下,也可以诱导分化为施旺细胞。NSCs 具有可塑性强、高迁移率和低免疫原性等特点,是目前用于周围神经损伤修复研究的常用干细胞之一,也是许多研究的重点。Xu 等^[4]用 NSCs 联合硅胶管移植修复大鼠坐骨神经 10 mm 缺损模型,证实植入硅胶管的 NSCs 能够增加神经纤维的数量并促进坐骨神经的功能恢复。Ma 等^[5]开发了一种基于鼠尾胶原蛋白的天然神经导管,并通过与硫酸肝素交联保持导管内碱性成纤维细胞因子的活性,可促进导管内 NSCs 的增殖,应用大鼠 8 mm 面神经缺损模型研究证实这种对 NSCs 具有保护作用的天然神经导管具有修复面神经损伤的效果。

2.2 骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) BMSCs 是来源于骨髓的干细胞,在特定条件下可以向神经元和星形胶质细胞分化。有研究表明,BMSCs 也可以分化为具有施旺细胞表型的细胞,并支持神经生长和轴突再生,与施旺细胞非常相似^[6]。与 NSCs 相比,BMSCs 更容易获取,但其分化能力不如 NSCs,且骨髓的获取侵入性较高。Costa 等^[7]将 BMSCs 和 BMSCs 分化后的施旺样细胞联合聚乙醇酸导管移植到大鼠面神经下颌支损伤的模型中,证实可以促进面神经的再生,且分化后施旺样细胞对面神经的修复效果优于 BMSCs。Gu 等^[8]将 BMSCs 衍生的细胞外基质修饰的壳聚糖-丝蛋白制成的神经支架移植修复大鼠坐骨神经 10 mm 损伤模型,发现可以促进周围神经损伤的恢复。

2.3 脂肪干细胞(adipose stem cells, ADSCs) 与 BMSCs 相比,ADSCs 是一类具有更高增殖和分化潜力的干细胞。ADSCs 是一种可以从自身的脂肪组织中获

得并加工的前体细胞,具有侵入性小、来源广泛、易于获取、多能分化和非免疫原性等特点^[9]。另外,ADSCs 还可以分泌多种生长因子和细胞因子,促进受损轴突的再生,在周围神经损伤的修复中有着广阔应用的前景。Dnr 等^[10]用 ADSCs 联合脱细胞静脉导管修复大鼠 10 mm 坐骨神经损伤模型,结果表明可以促进大鼠坐骨神经的恢复。Allbright 等^[11]将悬浮在 10% 泊洛沙姆水凝胶内的 ADSCs 联合聚己内酯导管内修复大鼠 15 mm 坐骨神经损伤模型,证实可以促进周围神经损伤的再生。

2.4 肌源性干细胞 (muscle-derived stem cells, MDSCs) MDSCs 可以从骨骼肌中分离出来,具有很强的细胞活力和多向分化潜能,移植的 MDSCs 可以同时分化为肌源性、血管性以及神经细胞,提高组织重建,而且,MDSCs 的多能性受年龄的限制小。目前,MDSCs 在肌肉、骨骼、心血管和泌尿系统疾病研究较为广泛,但在神经修复方面的研究却很有限。Saito 等^[12]开发了一种 3D 贴片移植系统,将 MDSCs 制成球形薄片,移植修复大鼠面部大面积面神经血管网缺损,发现可以促进面神经再生,还可以分化为施旺细胞、神经内膜细胞、血管内皮细胞和平滑肌细胞。

2.5 牙源性干细胞 牙源性干细胞包括牙髓干细胞、牙龈间充质干细胞、来自根尖乳头的干细胞和牙周韧带干细胞等。牙源性干细胞具有间充质干细胞的特性,包括自我更新和多能分化的特性,是一种极具潜力且易于获取的干细胞。有研究表明牙龈间充质干细胞可以在低要求条件下直接诱导分化为多能神经祖细胞而不需要引入外源基因,从而促进坐骨神经挤压伤的恢复^[13]。Ullah 等^[14]将牙源性干细胞和分化的牙源性干细胞联合纤维蛋白胶支架移植到大鼠坐骨神经 5 mm 损伤模型中,证实可以促进周围神经的再生。Zhang 等^[15]运用 3D 打印技术将牙间充质干细胞制作成一种 2 mm 稳定的、可以缝合的 3D 神经构建体,移植修复大鼠面神经颊支 5 mm 节段性缺损模型,结果表明可以修复神经损伤。

2.6 诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs) 近些年,iPSCs 由于其再生特性与胚胎干细胞相似而展现出极大的应用前景。iPSCs 可以从自身的体细胞中重新编程获得,从而降低了移植排斥的风险;同时,与胚胎干细胞相比,它们的伦理限制也较少。Yokoi 等^[16]使用 iPSCs 衍生的神经球联合聚丙交酯和己内酯合成的神经导管移植修复小鼠坐骨神经 5 mm 损伤模型,证实其在周围神经的损伤中具有治疗潜力。Kimura 等^[17]使用 iPSCs 作为细胞来源,

诱导分化成神经嵴细胞,联合硅胶管移植修复小鼠坐骨神经 6 mm 缺损模型,结果表明,可以促进神经纤维、髓鞘和血管的生成。

2.7 嗅干细胞 嗅干细胞可以从嗅上皮、嗅粘膜、嗅球、嗅鞘中分离出来,具有易于获取,安全性高等特点,具有优异的再生能力,还表达神经生长因子受体,可以产生细胞外基质受体^[18]。Batioglu-Karaaltin 等^[19]从人类嗅粘膜中分出嗅干细胞,通过导管移植修复大鼠面神经 2 mm 缺损模型,发现大鼠晶须运动和神经动作电位的振幅明显改善。Roche 等^[20]从大鼠鼻腔外植体分离培养出嗅干细胞,联合双相胶原蛋白和层粘连蛋白功能化的透明质酸神经导管修复大鼠坐骨神经 10 mm 缺损,明显促进神经轴突的再生和功能的恢复。

2.8 胚胎干细胞 胚胎干细胞是源自胚胎发育胚泡阶段的多能干细胞,与成体干细胞相比,胚胎干细胞具有更高的增殖和分化能力,可以诱导分化为其它系的成体干细胞,在神经修复方面的潜力更大,但是,胚胎干细胞有形成畸胎瘤的风险,而且来源有限,伦理限制大,很难成为周围神经损伤的主要干细胞来源。

2.9 其它干细胞 Farzamfar 等^[21]用血源性干细胞联合聚己内酯明胶导管修复大鼠坐骨神经 10 mm 缺损,明显改善坐骨神经的功能。Yamazaki 等^[22]将毛囊多能干细胞联合聚偏二氟乙烯稀移植修复免疫功能低下小鼠的坐骨神经断伤模型,促进小鼠坐骨神经的重新连接,同时,小鼠恢复正常行走的能力。另外,像脐带血干细胞、胎盘干细胞、羊水间充质干细胞等也都具有广阔的应用前景。

综上所述,目前干细胞联合组织工程学修复周围神经损伤的效果正在逐步改善,但仍然不如自体神经移植的效果好;同时,该疗法还受神经断伤的长度限制,这其中的差异主要还是两者所塑造的神经再生微环境的不同,而施旺细胞是其中关键的一部分。因此,如何提高干细胞向施旺细胞的分化效率是改善神经修复效果的关键所在。另外,进一步优化组织工程的利用,使干细胞沿着神经纤维的走向进行分化,形成更利于神经再生的微环境,也是提高神经再生效果的一种方法。总之,周围神经的再生是一个复杂的过程,干细胞联合组织工程学在周围神经损伤中的研究仍然处于临床前阶段,尚未在临床应用上取得显著的进展,但是,干细胞与组织工程在基础研究方面所表现出的潜力,表明其很有可能成为自体神经移植的替代者。

【参考文献】

- [1] Lin MY, Manzano G, Gupta R. Nerve allografts and conduits in peripheral nerve repair [J]. *Hand Clin*, 2013, 29(3): 331-348.
- [2] Ziegler L, Grigoryan S, Yang IH, *et al*. Efficient generation of schwann cells from human embryonic stem cell-derived neurospheres [J]. *Stem Cell Rev*, 2011, 7(2): 394-403.
- [3] Jiang L, Jones S, Jia X. Stem Cell Transplantation for peripheral nerve regeneration: current options and opportunities [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(1): E94.
- [4] Xu L, Zhou S, Feng GY, *et al*. Neural stem cells enhance nerve regeneration after sciatic nerve injury in rats [J]. *Mol Neurobiol*, 2012, 46(2): 265-274.
- [5] Ma F, Zhu T, Xu F, *et al*. Neural stem/progenitor cells on collagen with anchored basic fibroblast growth factor as potential natural nerve conduits for facial nerve regeneration [J]. *Acta Biomater*, 2017, 50: 188-197.
- [6] Ladak A, Olson J, Tredget EE, *et al*. Differentiation of mesenchymal stem cells to support peripheral nerve regeneration in a rat model [J]. *Exp Neurol*, 2011, 228: 242-252.
- [7] Costa HJZR, Bento RF, Salomone R, *et al*. Mesenchymal bone marrow stem cells within polyglycolic acid tube observed in vivo after 6 weeks enhance facial nerve regeneration [J]. *Brain Res*, 2013, 1510: 10-21.
- [8] Gu Y, Li Z, Jing H, *et al*. Application of marrow mesenchymal stem cell derived extracellular matrix in peripheral nerve tissue engineering [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2017, 11(8): 2250-2260..
- [9] Zhang R, Rosen JM. The role of undifferentiated adipose-derived stem cells in peripheral nerve repair [J]. *Neural Regen Res*, 2018, 13(5): 757-763.
- [10] Dnr S, Bertanha M, Fernandes TD, *et al*. Effects of canine and murine mesenchymal stromal cell transplantation on peripheral nerve regeneration [J]. *Int J Stem Cells*, 2017, 10(1): 83-92.
- [11] Allbright KO, Bliley JM, Havis E, *et al*. Delivery of adipose-derived stem cells in poloxamer hydrogel improves peripheral nerve regeneration [J]. *Muscle Nerve*, 2018, 58: 251-260.
- [12] Saito K, Tamaki T, Hirata M, *et al*. Reconstruction of multiple facial nerve branches using skeletal muscle-derived multipotent stem cell sheet-pellet transplantation [J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0138371.
- [13] Zhang Q, Nguyen P, Xu Q, *et al*. Neural progenitor like cells induced from human gingiva derived mesenchymal stem cells regulate myelination of schwann cells in rat sciatic nerve regeneration [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(2): 458-470.
- [14] Ullah I, Park JM, Kang YH, *et al*. Transplantation of human dental pulp-derived stem cells (hDPSCs) or differentiated neuronal cells from hDPSCs identically enhances regeneration of the injured peripheral nerve [J]. *Stem Cells Dev*, 2017, 26(17): 1247-1257.
- [15] Zhang Q, Nguyen PD, Shi S, *et al*. 3D bio-printed scaffold-free nerve constructs with human gingiva-derived mesenchymal stem cells promote rat facial nerve regeneration [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 6634.
- [16] Yokoi T, Uemura T, Takamatsu K, *et al*. Bioabsorbable nerve conduits coated with induced pluripotent stem cell derived neurospheres enhance axonal regeneration in sciatic nerve defects in aged mice [J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2018, 106(5): 1752-1758.
- [17] Kimura H, Ouchi T, Shibata S, *et al*. Stem cells purified from human induced pluripotent stem cell-derived neural crest-like cells promote peripheral nerve regeneration [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 10071.
- [18] Murrell W, Féron F, Wetzig A, *et al*. Multipotent stem cells from adult olfactory mucosa [J]. *Dev Dyn*, 2010, 233(2): 496-515.
- [19] Batioglu-Karaaltin A, Karaaltin MV, Oztel ON, *et al*. Human olfactory stem cells for injured facial nerve reconstruction in a rat model [J]. *Head Neck*, 2016, 38(S1): E2011-2020.
- [20] Roche P, Alekseeva T, Widaa A, *et al*. Olfactory derived stem cells delivered in a biphasic conduit promote peripheral nerve repair in vivo [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(10): 1894-1904.
- [21] Farzamfar S, Naserinosar M, Ghanavatinejad A, *et al*. Sciatic nerve regeneration by transplantation of menstrual blood-derived stem cells [J]. *Mol Biol Rep*, 2017, 44(5): 407-412.
- [22] Yamazaki A, Obara K, Tohgi N, *et al*. Implanted hair-follicle-associated pluripotent (HAP) stem cells encapsulated in polyvinylidene fluoride membrane cylinders promote effective recovery of peripheral nerve injury [J]. *Cell Cycle*, 2017, 16(20): 1927-1932.

(2019-02-27 收稿, 2019-04-04 修回)