

网络出版时间: 2019-3-26 13:46 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20190322.1759.033.html>

## 干细胞治疗脊髓损伤的研究进展

李惠民 综述 申才良 审校

**摘要** 脊髓损伤可以导致严重的运动、感觉和自主功能障碍,目前仍然没有有效的方法来治疗脊髓损伤。细胞移植治疗作为一种脊髓损伤的干预方法,近年来受到研究者的广泛研究,其中一些干细胞在临床研究中出现令人满意的结果,本文就干细胞治疗脊髓损伤的最新研究进展进行综述。

**关键词** 脊髓损伤;干细胞;胚胎干细胞;诱导多能干细胞;骨髓间充质干细胞;神经干细胞

**中图分类号** R 651.21

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2019)04-0662-05

**doi:** 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.04.033

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是由外界暴力直接或间接作用于脊柱,引起脊椎骨的骨折或累及脊髓神经节的损伤。世界范围中,创伤所导致的

SCI大概有133 226万例,每年新增病例大概有179 312例<sup>[1]</sup>。治疗SCI的方法主要包括药物治疗、手术治疗以及康复治疗,但都只是对症治疗。细胞移植理论认为干细胞不仅可以自我复制,而且是具有分化成多种组织细胞潜能的细胞。应用干细胞的多向分化潜能,可生成各种组织细胞,特别是特定的神经细胞,这样就有可能修复受损的脊髓组织,恢复脊髓功能<sup>[2]</sup>。目前已有一些早期临床试验证明干细胞移植的可行性<sup>[3-4]</sup>,该文就干细胞移植修复SCI的研究进展进行综述,以期为临床上进一步治疗SCI提供新的理论依据。

### 1 胚胎干细胞和诱导多能干细胞

多能胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)可以从早期胚胎的内细胞团中获得。McDonald et al<sup>[5]</sup>将ESCs注射到挫伤的SCI大鼠脊髓中,发现存活的ESCs在体内分化成神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞,而且接受移植的SCI模型的大鼠BBB评分都得到提高。

2018-07-27 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81472088)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院骨科,合肥 230022

作者简介:李惠民,男,硕士研究生;

申才良,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: shencailiang1616@163.com

- [18] Aoki Y, Yahata N, Watanabe T, et al. Oxytocin improves behavioural and neural deficits in inferring others' social emotions in autism [J]. *Brain* 2014, 137( Pt 11): 3073-86.
- [19] Schulte-Rüther M, Greimel E, Piefke M, et al. Age-dependent changes in the neural substrates of empathy in autism spectrum disorder [J]. *Soc Cogn Affect Neurosci* 2014, 9( 8): 1118-26.
- [20] Lorenzetti V, Melo B, Basilio R, et al. Emotion regulation using virtual environments and real-time fMRI neurofeedback [J]. *Front Neurol* 2018, 9: 390.
- [21] Hua A Y, Sible I J, Perry D C, et al. Enhanced positive emotional reactivity undermines empathy in behavioral variant frontotemporal dementia [J]. *Front Neurol* 2018, 9: 402.
- [22] Greene R K, Spanos M, Alderman C, et al. The effects of intranasal oxytocin on reward circuitry responses in children with autism spectrum disorder [J]. *J Neurodev Disord* 2018, 10( 1): 12.
- [23] Bernaerts S, Prinsen J, Berra E, et al. Long-term oxytocin administration enhances the experience of attachment [J]. *Psychoneuroendocrinology* 2017, 78: 1-9.
- [24] Nave G, Camerer C, McCullough M, et al. Does oxytocin increase trust in humans? A critical review of research [J]. *Perspect Psychol Sci* 2015, 10( 6): 772-89.
- [25] Watanabe T, Abe O, Kuwabara H, et al. Mitigation of sociocommunicational deficits of autism through oxytocin-induced recovery of medial prefrontal activity: a randomized trial [J]. *JAMA Psychiatry* 2014, 71( 2): 166-75.
- [26] Dadds M R, MacDonald E, Cauchi A, et al. Nasal oxytocin for social deficits in childhood autism: a randomized controlled trial [J]. *J Autism Dev Disord* 2014, 44( 3): 521-31.
- [27] Guastella A J, Gray K M, Rinehart N J, et al. The effects of a course of intranasal oxytocin on social behaviors in youth diagnosed with autism spectrum disorders: a randomized controlled trial [J]. *J Child Psychol Psychiatry* 2015, 56( 4): 444-52.
- [28] Parker K J, Oztan O, Libove R A, et al. Intranasal oxytocin treatment for social deficits and biomarkers of response in children with autism [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017, 114( 30): 8119-24.
- [29] Quintana D S, Westlye L T, Hope S, et al. Dose-dependent social-cognitive effects of intranasal oxytocin delivered with novel breath powered device in adults with autism spectrum disorder: a randomized placebo-controlled double-blind crossover trial [J]. *Transl Psychiatry* 2017, 7( 5): e1136.

多能胚胎干细胞由于必须取材于人类胚胎,临床应用一直存在伦理问题。为了判断多能胚胎干细胞移植治疗 SCI 患者的疗效,Shroff et al<sup>[6]</sup>在 2015 年获得英国上议院再生医学科学技术委员会认可,将胚胎干细胞通过静脉注射治疗 5 例下半身瘫痪或者四肢瘫痪的患者,患者都是慢性 SCI,根据美国 SCI 协会损伤分级(American Spinal Injury Association Impairment Scale, AIS)的评分标准,接受治疗中有两人评分没有改变,一人是从 A 级提升到 C 级,两人是从 A 级提升到 B 级。在随访中,患者在没有任何接受免疫抑制剂的情况下都没有出现畸胎瘤。这项研究表明胚胎多能干细胞移植治疗 SCI 患者可能是一个有效安全的方法,但是仍然需要更多临床数据的支持。此后 Shroff et al<sup>[7]</sup>将胚胎干细胞与物理疗法结合在一起治疗 226 例慢性 SCI 患者,其中有 136 例是下肢瘫痪,90 例是四肢瘫痪,接受治疗的患者中 A、B、C、D 级各有 153、32、36、5 例,治疗后 A 级提升到 B 级占 15.0%,A 级提升到 C 级占 37.3%,B 级提升到 C 级占 40.6%,B 级提升到 D 级占 3.1%,C 级提升到 D 级 13.9%,D 级提升到 E 级占 60.0%。这项研究结果表明物理治疗辅助人胚胎干细胞疗法促进 SCI 患者功能的整体改善。然而,Shroff et al 并没有解释这篇研究中所涉及的伦理问题。目前关于 ESCs 来源的细胞用于治疗 SCI 的临床试验仍然很少,ESCs 的安全性需要进一步研究。此外,ESCs 来源于有限的胚胎,在体外分化的条件高,这些都制约着 ESCs 细胞建系和广泛的应用。

诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)是由 Takahashi et al<sup>[8]</sup>在 2006 年首先报道的。当时通过在大鼠成纤维细胞中转入 *Oct4*、*Sox2*、*Klf4* 和 *c-Myc* 四种转录因子,从而形成 iPSCs。随后 Takahashi et al<sup>[9]</sup>在 2007 年成功的从成人组织中获得 iPSCs。Miura et al<sup>[10]</sup>体外实验证明了 iPSCs 细胞可以分化成神经元、少突胶质细胞和星形胶质细胞。iPSCs 治疗 SCI 的具体机制目前并不清楚,考虑可能由于各种移植干细胞的作用包括神经元细胞替代、神经营养分泌因素、促进血管生成、调节炎症反应和神经保护。

Tsuji et al<sup>[11]</sup>从正常鼠中获取 iPSCs,并移植到 SCI 9 d 后的大鼠受损脊髓,与对照组比较,移植组大鼠后肢运动功能有明显的恢复,这种恢复机制可能是移植细胞衍生的双极星形胶质细胞支持脊髓束轴突再生和移植细胞促进髓鞘再生。Oh et al<sup>[12]</sup>通过使用 SCI 后手术期间移除的椎间盘来源的细胞产

生的 iPSC 进行动物实验,研究显示椎间盘来源的细胞产生的 iPSC 表现出和人类胚胎干细胞相似的特征,并有效分化成神经前体细胞,具有在体外分化为成熟神经元的能力,而且移植到 SCI 后 9 d 的大鼠受损脊髓后,结果显示后肢功能障碍显著改善。虽然动物实验证明移植 iPSCs 对 SCI 的大鼠后肢运动功能障碍的改善有一定的作用,但是关于 SCI 的临床前和临床干细胞移植的研究相当匮乏。此外 iPSCs 的获取效率仍然较低(0.001%~10%)<sup>[13]</sup>,最为关键的是 iPSCs 大多数是通过使用逆转录病毒和慢病毒作为转载体来获取,重新编程的过程中可能会出现内源基因表达改变,从而增加引起肿瘤的风险,这需要研究人员未来在提取方法上进一步完善,提高安全性。

## 2 骨髓间充质干细胞

骨髓间充质干细胞是从骨髓中获得的一种可以自我更新的多能干细胞,大约占成人骨髓有核细胞总数的 0.001%~0.01%,可以通过髂棘穿刺从骨髓中获得<sup>[14-16]</sup>。骨髓间充质干细胞之所以被一些研究者所喜爱,主要是由于间充质干细胞具有:①捐赠来源和保存相对比较容易;②细胞扩增到临床应用规模需时短;③保存过程效能丢失少;④可以减少脱髓鞘,促进神经元再生;⑤不良反应少<sup>[17]</sup>。

最近,一些研究者发现骨髓间充质干细胞可以促进神经元再生并且减少瘢痕形成的倾向。Okuda et al<sup>[18]</sup>从雌性 Fischer 344 大鼠提取骨髓间充质干细胞,制备骨髓间充质干细胞贴片,与明胶海绵对比,移植到 T8 水平的 SCI 的大鼠受损脊髓。结果表明移植 8 周后,骨髓间充质干细胞明显减少 GFAP 阳性的瘢痕细胞并且大鼠后肢运动功能在移植 4 周和 8 周后都得到改善。骨髓间充质干细胞的临床应用开展的比较早,Syková et al<sup>[19]</sup>2005 年首次开展骨髓间充质干细胞的临床研究,采用椎动脉导管内途径和静脉途径两种移植方式将从 7 例急性和 13 例慢性 SCI 患者的自体骨髓间充质干细胞移植到患者体内,随访其中 11 例患者超过 2 年没有出现不良反应,结果得出自体骨髓间充质干细胞移植可能是一种安全的方法,但是仍然需要更长的随访来证实。Dai et al<sup>[20]</sup>将自体骨髓间充质干细胞移植到 20 例完全慢性颈脊髓损伤的患者,随访 6 个月后,其中 10 例患者得到不同程度的功能恢复,1 例患者得到运动功能改善,2 例患者得到运动和感觉功能改善,1 例患者得到感觉和膀胱功能改善,6 例患者得到运

动、感觉和膀胱功能改善。在这6个月中,自体骨髓间充质干细胞移植组没有出现伤口感染、切口脑脊液漏及肿瘤形成。另外 Kakabadze et al<sup>[21]</sup> 将自体骨髓间充质干细胞移植到18例完全慢性SCI的患者,随访12个月发现骨髓干细胞移植后18例中有9例出现不同程度的运动和感觉功能改善。根据美国SCI协会的评分标准,9例患者中有7例观察到1级改善,2例改善了2级。Geffner et al<sup>[22]</sup> 将骨髓间充质干细胞移植到8例SCI的患者,结果没有发现肿瘤形成,没有出现感染或疼痛增加的病例并且患者的生活质量得到一定的改善。骨髓间充质干细胞易于提取、分离,能够自体移植且组织兼容性好,但是仍然有很多问题需要解决,比如间充质干细胞的生存率、移植的细胞中CD34+表达量、患者的年龄和性别<sup>[19]</sup>。

### 3 神经干细胞

神经干细胞首先在1989年被提出存在于小鼠的脑室下区,并在1992年首次从小鼠纹状体组织和脑室下区中分离出来。这些细胞能够自我更新并在体外和体内产生神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞。将其移植到受损脊髓后,神经干细胞能够产生成熟的神经表型并在一些SCI模型中促进神经功能恢复。

直接移植神经干细胞到受损脊髓,神经干细胞主要分化成星形胶质细胞且并不总是可以改善SCI的动物运动功能。一些动物实验证明,来源于人类胎儿组织或者胚胎干细胞的神经干细胞可以提高SCI动物的功能障碍的恢复,但是这种来源通常存在伦理问题以及临床应用存在争议。随着iPSCs的出现,一些研究者发现iPSCs可以作为神经干细胞的来源,并且在动物实验中发现这种神经干细胞一样可以改善SCI动物的运动障碍,这种神经干细胞移植到动物脊髓受损区域,在该区域大部分分化成神经元,但是这项技术仍然受制于iPSC本身提取效率的低下。此外,为了使神经干细胞移植发挥更好的作用,一些研究者采取共同疗法。Karimi - Abdolrezaee et al<sup>[23]</sup> 将神经干细胞与软骨素酶ABC(可以下调硫酸软骨素蛋白聚糖,从而防止轴突延长细胞骨架破坏)移植到SCI的大鼠受损脊髓中,结果显示皮质脊髓束轴突的延长以及移植细胞和受损区域整合的提高,并且最终改善大鼠运动功能。有研究者发现通过将骨髓间充质干细胞与神经干细胞序贯移植到SCI的大鼠体内,大鼠运动功能得到改善并且

减少神经干细胞胶质化的倾向<sup>[24]</sup>。由于骨髓间充质干细胞移植后在宿主体内无法长期存活、分化不确定性,宋旆文等<sup>[25]</sup> 体外实验通过制备骨髓间充质干细胞条件培养基,将其和神经干细胞共同培养,发现条件培养基可以促进神经干细胞向神经元分化增多,而向星形胶质细胞分化减少。神经干细胞具备取材不受伦理限制,但是取材有限,获取材料具有侵袭性,对患者造成二次伤害。而且如何解决神经干细胞在体内的存活率以及如何诱导神经干细胞定向分化,仍然需要大量临床前数据才能得出结论。

### 4 少突胶质祖细胞

少突胶质祖细胞起源于胚胎发育的神经上皮细胞,可分化为星形胶质细胞和少突胶质细胞。2005年,Keirstead et al<sup>[26]</sup> 首次报道少突胶质祖细胞改善挫伤的SCI大鼠轴突髓鞘再生和运动功能并且之后有研究显示少突胶质祖细胞很大程度上可以抵抗NK细胞的杀伤作用。

Kerr et al<sup>[27]</sup> 将胚胎干细胞来源的少突胶质祖细胞在损伤后急性期注射到SCI的大鼠模型中,移植8d后,检测到少突胶质细胞标志物包括CNPase、GalC、Olig1、O4和O1,说明这些细胞至少可以存活8d。在另外一项研究中,Sharp et al<sup>[28]</sup> 将少突胶质祖细胞移植到颈脊髓损伤大鼠模型以评估前肢运动功能恢复。移植后第4周到第9周,与对照组比较,实验组出现明显前肢步幅长度增加。病理切片显示移植组病变部位广泛的白质和灰质保留,并且没有出现损伤诱导的空洞。Geron公司在2009年被允许为SCI进行第一个干细胞治疗临床试验。在第二年,Geron公司启动了第一个临床试验(第一阶段),以测试完全性胸段水平截瘫并丧失运动和感觉功能的患者中人类胚胎干细胞衍生的少突胶质细胞前体细胞-GRNOPCI疗法的安全性。GRNOPCI是指损伤后14d内用低剂量的200万个细胞作用于损伤部位,长期随访结果中没有发生严重的不良事件。此外,他们计划在下一步测试细胞浓度为2000万的安全性。2011年11月,Geron由于经济原因宣布已经结束了SCI干细胞研究计划。为了少突胶质祖细胞可以临床应用于SCI的患者,一项裸鼠实验证明在颈部脊髓损伤后1周内注射少突胶质祖细胞可以显著改善运动功能,并且这种改善和实质性空洞减少以及受损部位髓鞘再生有关。通过大规模生物分布和毒理学研究,表明少突胶质祖细胞迁移仅局限于脊髓和脑干,并且没有造成不良反应,产生毒性,

异位性或者肿瘤<sup>[29]</sup>。

## 5 干细胞分化细胞

干细胞分化细胞用于治疗 SCI 也有一些研究,并且取得了一些进展。

嗅鞘细胞是存在于中枢神经系统和周围神经系统特殊的胶质细胞,具有促进神经再生和轴突延长的作用。嗅鞘细胞已经开展了临床实验,Wu et al<sup>[30]</sup> 遵从严格的伦理学规定,从人类 16 周岁的胎儿体内提取的嗅鞘细胞治疗 11 例慢性 SCI 患者,患者治疗过程中都没有出现神经方面并发症,运动功能改善并不明显,但是可以观察到感觉功能改善很多,认为嗅鞘细胞是一种安全的方法并且对感觉功能改善作用更大。Tabakow et al<sup>[31]</sup> 将自体嗅鞘细胞移植到 3 例完全 SCI 患者,根据美国 SCI 协会损伤分级的评分标准 3 例患者都是 A 级。随访 1 年后 1 例从 A 级提升到 C 级,1 例提升到 B 级,还有 1 例虽然没有提升但是可以观察到损伤水平以下运动和感觉功能的改善。

施旺细胞存在于周围神经系统,可以促进髓鞘再生和轴突延长。一些临床研究<sup>[32]</sup> 报道施旺细胞移植似乎是安全的。与同种异体细胞移植相比,自体细胞不需要免疫抑制,但细胞制造的工作量更大,2009~2012 年在迈阿密大学进行的经美国食品和药物管理局批准临床前施旺细胞移植研究(NCT01739023),一期安全性研究已经启动,这项研究在 2016 年已经彻底完成,但是目前还没有相关文章报道实验结果。

## 6 展望

为达到挽救 SCI 患者生命,提高生活质量和完全治愈 SCI 的梦想,细胞移植治疗一直吸引着众多研究者。虽然有一些临床研究表明细胞移植对运动和感觉功能改善起到一些作用且认为似乎是一种安全的方法,但是仍然需要更多的临床前研究以及临床研究才能最终证实这种方法的疗效和安全性。以上提到的几种干细胞各有优缺点: ESCs 具有全能性,可分化方向多,但是取材有限,受到伦理限制; iPSCs 具有多能性,取材不受伦理限制,但是提取效率低下,而且和 ESCs 一样存在安全性问题; 骨髓间充质干细胞和神经干细胞来源较广,不受伦理限制,但是体内定向诱导问题亟需解决; 少突胶质祖细胞无致瘤性,但是目前取材受到伦理限制; 干细胞分化细胞临床应用目前较为安全,但是临床治疗效果需

要进一步研究。

此外,对于这些细胞促进修复和功能改善的机制知之甚少,最常提出的 5 种机制包括神经保护、免疫调节、轴突再生、神经元再生和髓鞘再生,神经保护作用 and 移植细胞分泌某些因子有关,当脑源性神经营养因子分泌受损时,骨髓间充质干细胞对 SCI 的神经保护作用会下降,但脑源性神经营养因子含量非常低也会影响骨髓间充质干细胞的生存率,这就不清楚受损的脊髓中心组织的减少是由于脑源性神经营养因子分泌减少,还是继发于其他骨髓间充质干细胞介导的取决于细胞存活的神保护作用。免疫调节的研究大多数集中于 SCI 后细胞因子释放的整体变化以及免疫细胞的丰度,但很少有研究分析移植细胞和免疫细胞之间的直接相互作用。移植细胞可以促进轴突再生,研究人员发现这种再生能力和受损神经元有关并且可以通过治疗提高,但在经常研究的挫伤 SCI 模型中,切断的轴突数量是无法量化的。关于神经元再生和髓鞘再生,研究人员通过移植神经干祖细胞,发现存在促进神经元再生的作用的同时可能产生异位组织并且发现髓鞘再生与功能改善有一定相关性,但是上述研究中并没有量化移植前髓鞘再生轴突数量,所以并不能确定内在的髓鞘再生是否受到影响。更好地理解这些机制以及发现应用时候的障碍且有效地建立 SCI 模型对干细胞移植成为临床上可行的疗法是重要的,并且可能会成为更加具有针对性的疗法。

## 参考文献

- [1] Lee B B, Cripps R A, Fitzharris M, et al. The global map for traumatic spinal cord injury epidemiology: update 2011, global incidence rate[J]. *Spinal Cord* 2014, 52(2): 110-6.
- [2] Reeves A, Keirstead H S. Stem cell based strategies for spinal cord injury repair [J]. *Adv Exp Med Biol* 2012, 760: 16-24.
- [3] Saberi H, Firouzi M, Habibi Z, et al. Safety of intramedullary schwann cell transplantation for postrehabilitation spinal cord injuries: 2-year follow-up of 33 cases [J]. *J Neurosurg Spine* 2011, 15(5): 515-25.
- [4] Mackay-Sim A, St John J A. Olfactory ensheathing cells from the nose: clinical application in human spinal cord injuries[J]. *Exp Neurol* 2011, 229(1): 174-80.
- [5] McDonald J W, Liu X Z, Qu Y, et al. Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord[J]. *Nat Med* 1999, 5(12): 1410-2.
- [6] Shroff G, Gupta R. Human embryonic stem cells in the treatment of patients with spinal cord injury [J]. *Ann Neurosci* 2015, 22(4): 208-16.
- [7] Shroff G, Thakur D, Dhinra V, et al. Role of physiotherapy in

- the mobilization of patients with spinal cord injury undergoing human embryonic stem cells transplantation [J]. *Clin Transl Radiat Oncol* 2016 ,5( 1) : 41.
- [8] Takahashi K , Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors [J]. *Cell* 2006 ,126( 4) : 663 – 76.
- [9] Takahashi K , Tanabe K , Ohnuki M , et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors [J]. *Cell* 2007 ,131( 5) : 861 – 72.
- [10] Miura K , Okada Y , Aoi T , et al. Variation in the safety of induced pluripotent stem cell lines [J]. *Nat Biotechnol* ,2009 ,27( 8) : 743 – 5.
- [11] Tsuji O , Miura K , Fujiyoshi K , et al. Cell therapy for spinal cord injury by neural stem/progenitor cells derived from iPS/ES cells [J]. *Neurotherapeutics* 2011 ,8( 4) : 668 – 76.
- [12] Oh J , Lee K I , Kim H T , et al. Human-induced pluripotent stem cells generated from intervertebral disc cells improve neurologic functions in spinal cord injury [J]. *Stem Cell Res Ther* ,2015 ,6( 1) : 1 – 14.
- [13] Mungenast A E , Siegert S , Tsai L H. Modeling alzheimer's disease with human induced pluripotent stem ( iPS) cells [J]. *Mol Cell Neurosci* 2016 ,73: 13 – 31.
- [14] Pittenger M F , Mackay A M , Beck S C , et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells [J]. *Science* ,1999 ,284( 5411) : 143 – 7.
- [15] Prockop D J. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues [J]. *Science* ,1997 ,276( 5309) : 71 – 4.
- [16] Friedenstein A J , Deriglasova U F , Kulagina N N , et al. Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the *in vitro* colony assay method [J]. *Exp Hematol* , 1974 ,2( 2) : 83 – 92.
- [17] Zhang X , Hirai M , Cantero S , et al. Isolation and characterization of mesenchymal stem cells from human umbilical cord blood: re-evaluation of critical factors for successful isolation and high ability to proliferate and differentiate to chondrocytes as compared to mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue [J]. *J Cell Biochem* 2011 ,112( 4) : 1206 – 18.
- [18] Okuda A , Horii-hayashi N , Sasagawa T , et al. Bone marrow stromal cell sheets may promote axonal regeneration and functional recovery with suppression of glial scar formation after spinal cord transection injury in rats [J]. *J Neurosurg Spine* 2017 ,26( 3) : 388 – 95.
- [19] Syková E , Homola A , Mazanec R , et al. Autologous bone marrow transplantation in patients with subacute and chronic spinal cord injury [J]. *Cell Transplant* 2005 ,15( 8 – 9) : 675 – 87.
- [20] Dai G , Liu X , Zhang Z , et al. Transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells in the treatment of complete and chronic cervical spinal cord injury [J]. *Brain Res* ,2013 ,1533( 1) : 73 – 9.
- [21] Kakabadze Z , Kipshidze N , Mardaleishvili K , et al. Phase 1 trial of autologous bone marrow stem cell transplantation in patients with spinal cord injury [J]. *Stem Cells Int* 2016 ,2016: 6768274.
- [22] Geffner L F , Santacruz P , Izurieta M , et al. Administration of autologous bone marrow stem cells into spinal cord injury patients via multiple routes is safe and improves their quality of life: comprehensive case studies [J]. *Cell Transplant* 2008 ,17( 12) : 1277 – 93.
- [23] Karimi-Abdolrezaee S , Eftekharpour E , Wang J , et al. Synergistic effects of transplanted adult neural stem/progenitor cells , chondroitinase , and growth factors promote functional repair and plasticity of the chronically injured spinal cord [J]. *J Neurosci* 2010 ,30( 5) : 1657 – 76.
- [24] 陈 志. 间充质干细胞与神经干细胞序贯移植修复大鼠脊髓损伤的作用研究 [D]. 合肥: 安徽医科大学 , 2017.
- [25] 宋旆文 , 徐 鹏 , 尤 涛 等. 条件培养基培养神经干细胞的体外实验研究 [J]. *安徽医科大学学报* ,2014 ,49( 5) : 598 – 602.
- [26] 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]. *J Neurosci* , 2005 ,25( 19) : 4694 – 705.
- [27] Kerr C L , Letzen B S , Hill C M , et al. Efficient differentiation of human embryonic stem cells into oligodendrocyte progenitors for application in a rat contusion model of spinal cord injury [J]. *Int J Neurosci* 2010 ,120( 4) : 305 – 13.
- [28] Sharp J , Frame J , Siegenthaler M , et al. Human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitor cell transplants improve recovery after cervical spinal cord injury [J]. *Stem Cells* ,2010 ,28( 1) : 152 – 63.
- [29] Manley N C , Priest C A , Denham J , et al. Human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitor cells: preclinical efficacy and safety in cervical spinal cord injury [J]. *Stem Cells Transl Med* ,2017 ,6( 10) : 1917 – 29.
- [30] Wu J , Sun T , Ye C , et al. Clinical observation of fetal olfactory ensheathing glia transplantation ( OEGT) in patients with complete chronic spinal cord injury [J]. *Cell Transplant* 2012 ,21 Suppl 1: S33 – 7.
- [31] Tabakow P , Jarmundowicz W , Czapiga B , et al. Transplantation of autologous olfactory ensheathing cells in complete human spinal cord injury [J]. *Cell Transplant* ,2013 ,22( 9) : 1591 – 612.
- [32] Zhou X H , Ning G Z , Feng S Q , et al. Transplantation of autologous activated Schwann cells in the treatment of spinal cord injury: six cases , more than five years of follow-up [J]. *Cell Transplant* , 2012 ,21 Suppl 1: S39 – 47.