

综述

基因治疗脊髓损伤的研究进展

The progress of gene therapy for spinal cord injury

魏世坤, 赵红卫

(三峡大学脊柱医学与创伤研究所 443003 湖北省宜昌市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2013.06.15

中图分类号: R683.2, Q786 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2013)-06-0560-05

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)多由外伤引起,如挫伤、压伤和贯通伤。这些机械损伤破坏了脊髓结构和血供,致使脊髓细胞和轴突死亡、胶质瘢痕形成,最终导致感觉运动通路的阻断^[1]。成年人的中枢神经细胞轴突损伤后很难再生^[2],研究发现,轴突不能再生是由于损伤细胞本身再生能力低和损伤细胞周围环境中存在抑制因素^[3]。因此,脊髓损伤的治疗研究大多致力于增加损伤神经细胞本身的再生能力和阻断其周围环境中潜在的生长抑制分子^[4]。虽然在动物模型中这些治疗显示了很好的促轴突生长作用,但是传统的治疗药物导入方法有很多缺点,如降解迅速、不能有效穿透组织和对非目的细胞有毒性等。基因治疗可以克服这些缺点。笔者就基因治疗脊髓损伤的研究进展综述如下。

1 基因治疗脊髓损伤的操作步骤

1.1 目的基因的选择

转基因的目的是让其在损伤的脊髓内表达,促进轴突再生和机体运动、感觉功能的恢复。所选择的目的基因主要是各种营养因子,如神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、神经营养因子-3(neurotrophin-3, NT-3)、脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、胶质细胞源性神经营养因子(glia cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)、睫状神经营养因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)等^[5]。神经营养因子在神经修复过程中可能起主要作用,它们既能防止神经细胞损伤后的继发性死亡,还能促进轴突再生或生长,还可以克服中枢神经系统中的抑制因素。不同神经需要不同的营养因子,很多神经细胞接受多种神经营养因子,导入多种神经营养因子的联合体能够对脊髓修复起到深远影响^[6]。

除促轴突生长,转基因另外一个目的是阻断损伤细胞周围环境中潜在抑制物。三种髓鞘蛋白:轴突生长抑制物 Nogo-A、髓磷脂相关糖蛋白(myelin associated glyco-

protein, MAG)、少突胶质细胞-髓磷脂糖蛋白(oligodendrocyte-myelinating glycoprotein, Omgp)在脊髓损伤后发挥轴突生长抑制作用,它们共同作用于受体蛋白 NgR1^[6],在 p75NTR 参与下,激活内源性 Rho,进而通过活化下游的效应分子 ROCK,使底物肌球蛋白磷酸酶磷酸化,从而影响细胞微结构的骨架肌动蛋白系统,最终抑制轴突生长^[7-8]。抑制 NgR 和 RhoA-ROCK 通路是另外的一个重要的目的基因。

1.2 基因载体的选择

外源基因可以通过病毒或非病毒载体介导方法导入细胞中。各种非病毒载体基因介导方法近年来有很大发展,这些载体包括脂类、聚合物、多肽、纳米粒等^[9]。电穿孔、超声等物理方法也可将基因导入细胞^[10]。

相对于非病毒载体介导方法,将治疗基因整合到组织 DNA 中的病毒载体介导的基因治疗更加有效,而且表达稳定、表达时间长^[11,12]。理想的基因载体应当能容纳大片段转基因、能感染分裂细胞和非分裂细胞、能长期稳定表达、高浓度储备和应用安全,然而这样的病毒载体并不存在。常用的重组病毒载体有腺病毒(Adenovirus, AdV)、腺相关病毒(Adeno-associated Virus, AAV)、单纯疱疹病毒(Herpes Simplex Virus, HSV)、逆转录病毒(Retrovirus, ReV)和慢病毒(Lentivirus, LV)。Papale 等^[13]总结了多种病毒载体的优缺点。简单来说,AdV 在体内治疗时能够携带大片段转基因、高浓度表达。AAV 能感染分裂细胞和非分裂细胞、能在宿主细胞内稳定表达并对宿主细胞无毒。然而,AAV 很小不能携带大片段转基因。HSV 比其他四种病毒载体体积大,能携带大片段转基因,有亲神经性,能够高效的导入神经细胞体内,是转染中枢神经细胞的理想载体。但是由于它的体积和负载的基因结构原因,HSV 的生产很困难,并且 HSV 对神经细胞有毒性。ReV 容易生产、对神经细胞无毒,但是它只能感染分裂细胞,不能用超速离心法收集,容易产生插入突变,很多情况下不适于将目的基因大量导入分化成熟的神经细胞。LV 的主要基因是 HIV1,是一种逆转录病毒,但它可以感染非分裂细胞。LV 拥有 ReV 的所有优点,虽然 LV 的整合位点与 ReV 不同,但是理论上它也能导致插入突变。

第一作者简介:男(1984-),医学硕士,研究方向:脊柱外科

电话:(0717)6481706 E-mail:tgxyang@163.com

通讯作者:赵红卫 E-mail:ycguke@sina.com

在早些年, AdV 和 ReV 主要用于基因导入。然而, 最新研究^[14]证实 AAV 和 LV 是中枢神经系统最好的基因载体。

2 基因治疗脊髓损伤的方法

2.1 体内法(In vivo)

体内法: 是将外源基因直接导入体内有关的组织器官, 使其进入相应的细胞并进行表达。

2.1.1 神经营养因子的体内疗法 NT-3、NGF、BDNF 和 NT-4 属于同一种生长因子, 它们能够促进神经的分化、生长和存活。NT-3 有潜在修复神经的能力, 皮质脊髓束和感觉轴突两者都能对它作出反应。已有研究证实, NT-3 能够有效促进 SCI 后轴突再生^[15, 16]。最近, Fortun 等^[17]报道, 将 AAV5/NT-3 肌注到大鼠肱三头肌内, AAV5/NT-3 逆行运输到颈髓并表达。在颈 4、5 脊髓背根损伤的大鼠模型中, 对照组与 AAV5/GFP 组相比, AAV5/NT-3 组脊髓恢复效果好。组织学检查表明, AAV5/NT-3 组大鼠脊髓损伤部位周围皮质脊髓束轴突明显增多, 并且有很少量的星形胶质细胞增生。Fortun 等认为, AAV 具有从肌肉逆行运输目的基因到脊髓的特点, 不给脊髓带来附加伤害, 是一种无创基因载体。

病毒载体介导的 BDNF 在损伤神经元红核中的表达, 能够在一段相当长的时间内预防脊髓横断后神经的萎缩^[18]。Kwon 等^[19]报道, BDNF 不仅能预防神经萎缩, 而且 BDNF 的表达还能刺激急性脊髓损伤后红核中再生基因的表达。Nakajima 等^[20]将 AdV/BDNF 注入 C4 损伤的大鼠胸锁乳突肌中, AdV/BDNF 逆行运输到颈髓前角运动神经元, BDNF 的表达增加了完整的神经元的数量, 证明 BDNF 对损伤脊髓有保护作用。

研究表明, NGF 能够增加感觉神经元的存活率和促进轴突生长^[21], 碱性成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF-2) 证实有神经营养功能^[22], 感觉神经元对 FGF-2 也有很高的亲和力^[23]。Romero 等^[24]报道, L4/L5 脊髓背根损伤的大鼠, 根部完全丧失轴突, 由此产生后肢感觉功能丧失。利用 AdV 介导 NGF 和 FGF-2 在大鼠损伤脊髓中表达, 能够增加感觉神经元轴突的再生能力并使其生长到脊髓内, 并能使热感觉功能恢复正常。

胶质细胞系派生神经营养因子(GDNF) 家族由 GDNF、neurturin、PBS 基因和青蒿琥酯(Artemin) 组成。GDNF 能够提高 SCI 后神经元的存活率^[25]。Koelsch 等^[26]报道, 将 HSV/GDNF 感染的脊髓细胞直接注入到 T13 钝性损伤的胸椎脊髓中, 组织学检查表明在损伤脊髓节段突触和谷氨酸脱氢酶都有增加。最终, 实验证明 GDNF 在脊髓损伤中能够增加突触再生、增加突触连接和神经传递中的 GABA。青蒿琥酯对 SCI 后轴突具有重塑作用, 能够显著改善 SCI 后的运动功能^[27]。

2.1.2 阻断潜在生长抑制物的体内疗法 阻止 NgR 蛋白的受体和作用途径的方法有很多。Peng 等^[28]报道, 将

HSV/sNgR 注入到损伤的背根神经节神经元处, sNgR 的表达能够促进有髓纤维在损伤的脊髓后根和背根入口区的再生。Bo 等^[29]构建了一个 NGF-sNgR 结合蛋白, 体外实验表明, sNgR 结构能够阻止髓鞘对背根神经节生长的抑制作用。将含有这种蛋白基因的 LV 注入到脊髓病变部位, 体内实验证实 NGF-sNgR 的表达能够促进感觉轴突再生。

除了抑制 NgR, 我们还可以通过抑制 RhoA-ROCK 信号通路来阻止轴突生长抑制分子。Wu 等^[30]做过抑制 ROCK 的突变体的 LV 介导的神经元特异性表达是否能够促进轴突生长的实验。将 LV/DNROCK 注射到大鼠 C4 水平红核脊髓束半切断的红核内, 与对照组比, DNROCK 组后肢和前肢功能恢复好、脊髓切片示有更多的轴突长入到病变区。实验证实, 通过表达 DNROCK 来阻断 RhoA-ROCK 信号通路能够促进轴突再生和恢复部分肢体功能。

2.2 体外疗法(Ex vivo)

体外法就是在体外将目的基因导入受体细胞, 再将其植入机体, 使其在体内表达。

2.2.1 移植细胞 近几年, 细胞水平的研究取得了巨大的发展, 更多类型的细胞能够用于进行潜在治疗脊髓损伤的研究^[31]。移植细胞在病灶区能替代损伤细胞, 起桥梁作用; 提供内源性生长因子, 有效促进轴突生长^[32]。细胞移植能阻止囊肿死腔的形成、改善囊肿死腔或者重建髓鞘。我们可以通过基因操控改变移植细胞的基因结构, 使其具有特定的功能, 满足基因治疗的需要。目前可供移植的细胞主要有: 成纤维细胞(Fibroblast)、神经干细胞(neural stem cell, NSC)、骨髓间充质干细胞(bone marrow stromal cell, BMSC)、胚胎干细胞(embryonic stem cell, ES)、嗅鞘细胞(olfactory ensheathing cells, OEC)、雪旺细胞(Schwann cell)等。

2.2.2 细胞移植的体外疗法 成纤维细胞(Fibroblast)主要用做基因的载体细胞, 它自身可以表达支持神经元和轴突的细胞外基质, 如纤维连接素等, 它还具有容易培养和容易转染基因的优点。研究证实, NT-3/fibroblasts 对 C8 半切的脊髓的 Clarke 细胞有拯救作用^[33], BDNF/fibroblasts 对颈髓半切的神经元红核有减少凋亡和防止萎缩的作用^[34]。将表达 BDNF/NT-3/fibroblasts 移植到 C7 半切断猴的脊髓中, 能显著预防初级运动皮层内的大型椎体神经元因脊髓切断导致的神经萎缩^[35]。

神经干细胞(NSC)具有潜在治疗脊髓损伤、脑外伤和神经退行性疾病的能力^[36]。NSC 有自我更新和向神经元和神经胶质细胞分化的能力, NSC 治疗神经系统疾病的潜力是巨大的。脊髓挫伤 7d 后, 通过逆转录病毒将 VEGF 转染人类神经干细胞系(F3 细胞), 然后再将 F3 细胞移植到脊髓^[37]。VEGF 的表达增加了 NG²⁺胶质祖细胞的数量并促进早期增殖细胞分化为成熟的少突胶质细胞, 进而显著增强细胞的增殖。而且在脊髓损伤部位还观察到了血管密度的增加和组织再生能力的增强。运用 BBB 评分来评价运动功能, VEGF/神经干细胞移植组比对照组功能恢复好。

骨髓间充质干细胞(BMSC)是一类包括间质干细胞的异质细胞群。BMSC 能够分化为神经元表型,近年来利用 BMSC 治疗神经系统疾病的研究取得巨大发展^[38]。Sasaki 等^[39]报道,将含有 BDNF/BMSC 移植到 T9 横断损伤的大鼠脊髓两侧,移植后的第五周运动功能有恢复,在损伤平面及以下的脊髓灰质中观察到了不断增加的血清素纤维,他们认为这可能与急性脊髓损伤功能恢复有关。还有一种转染到骨髓基质细胞的生长因子是细胞胰岛素样生长因子 1(IGF-I)。Hollis 等^[40]报道,将 IGF-I/BMSC 移植到成人 SCI 部位,能够促进脊髓轴突生长入移植物中,但不能促进皮质脊髓轴突的再生。

胚胎时的胶质限制前体细胞 (Glial-Restricted Precursor Cells, GRPs) 可分化成少突胶质细胞和星形胶质细胞, GRPs 和少突胶质细胞前体细胞 (OPCs) 有神经修复的潜力。研究表明,大鼠 T9 脊髓挫伤的第九天,将 D15A/GRPs 移植到损伤脊髓。D15A 的表达显著增加了 GRPs 来源的少突胶质细胞的比例,移植后的第四和第五周 D15A/GRP 组的动物后肢运动功能有很好恢复^[41], CNTF/OPCs 移植的动物也有相同结果^[42]。

嗅鞘细胞(OEC)是一类专门从鼻粘膜传导嗅觉受体轴突到大脑的神经胶质细胞。OECs 有很多特性与雪旺细胞相似,但与雪旺细胞相比, OECs 移植入脊髓后,能够产生较少的星形胶质细胞^[43]。用 BDNF、NT-3、GDNF 转染的 OECs, 具有显著促进轴突生长和功能恢复能力^[44,45]。Mackay-Sim 等^[46]报道, OEC 移植具有促神经和功能恢复的作用,而且一期临床试验表明,自体嗅鞘细胞移植安全,移植后的 3 年内未发生任何不良反应。

雪旺细胞是自体移植治疗中枢神经系统损伤或神经退行性疾病潜在的候选者^[47]。转基因增加神经营养因子分泌的雪旺细胞是体外治疗 SCI 的常用细胞。研究证实,表达 NGF 或 BDNF 的雪旺细胞,能促进损伤脊髓的轴突生长^[48,49]。

3 结论及展望

脊髓损伤后细胞反应和分子机制的最新研究进展,为探索治疗脊髓损伤、改善伤后功能开辟了新途径。最新研究证实,整合蛋白^[50]、聚唾液酸(polysialic acid, PSA)^[51]、神经钙传感器(neuronal calcium sensor, NCS)蛋白^[52]等具有良好的促轴突生长作用,动物实验也取得很好的疗效。除了提供营养因子,我们还可以通过其他手段实现促轴突生长,如应用抗凋亡细胞的转基因技术等来增加移植细胞的存活率^[53]、增加抗炎因子抑制 SCI 后的炎症反应提高损伤细胞的存活率^[54]等。新的治疗手段和神经保护因子的发现,将为 SCI 的基因疗法提供了更多的目的基因。

虽然中枢神经系统中抑制轴突生长的机制的发现为 SCI 的治疗提供了更多的机会,但是仍处于起步阶段。尽管针对 NgR 和 RhoA-ROCK 信号传递过程研发的各种抑制剂在动物模型中取得了一定的效果,但各个抑制剂均存

在不同程度的缺陷:如针对 Nogo 的抗体只能影响 Nogo 与 NgR 的结合,而对 MAG 或者 OMgp 与 NgR 的结合无作用;针对 NgR 的抗体多次注射后容易引起机体的特异性免疫反应;针对下游信号通路 RhoA 的抑制剂会同时抑制其他与 RhoA 信号通路相关的细胞生理活动等^[28-30]。研发出一种新的安全、有效、低免疫原性、经济、易于修饰的新型 NgR 和 RhoA-ROCK 信号通路抑制剂具有十分重要的理论意义和实际应用价值。

在过去的 20 年里,基因治疗方法促进轴突生长已取得重大进展,这要归功于新的病毒载体技术的发展,特别是 LV 和 AAV。但是仍有许多问题亟待解决,如排斥反应、遗传修饰细胞移植后随时间的延长失效、外源基因的安全性问题等。基因疗法动物脊髓和神经根损伤模型中的轴突再生效果仍然远远不能令人满意,现在还没有一种治疗方法可以用于临床,实现成功的和适当的轴突再生仍有很长的路要走。轴突再生过程是数百甚至数千分子协同作用复杂过程,单纯某种治疗手段不能满足轴突再生需要。现在人们普遍认为联合疗法是神经修复的未来,这种疗法涉及提供神经营养因子和细胞的桥梁与阻止抑制因素^[16,55-56]。除此之外,近几年蛋白糖基化^[57]、控制锌脂蛋白^[58]、核糖核酸干扰^[59]和刺激神经营养因子^[60]治疗脊髓损伤研究兴起,诱导多能干细胞、人工转录因子、诱导基因表达、混合病毒载体、纳米技术等方面的进步,将为基因治疗脊髓损伤研究提供新思路。

4 参考文献

1. Rowland JW, Hawryluk GW, Kwon B, et al. Current status of acute spinal cord injury pathophysiology and emerging therapies: promise on the horizon[J]. Neurosurg Focus, 2008, 25(5): E2.
2. Richardson PM, Miao T, Wu D, et al. Responses of the nerve cell body to axotomy[J]. Neurosurgery, 2009, 65(4): A74-79.
3. Sun F, He Z. Neuronal intrinsic barriers for axon regeneration in the adult CNS[J]. Curr Opin Neurobiol, 2010, 20(4): 510-518.
4. Lu P, Tuszynski MH. Growth factors and combinatorial therapies for CNS regeneration[J]. Exp Neurol, 2008, 209(2): 313-320.
5. Logan A, Ahmed Z, Baird A, et al. Neurotrophic factor synergy is required for neuronal survival and disinhibited axon regeneration after CNS injury[J]. Brain, 2006, 129(2): 490-502.
6. Yiu G, He Z. Glial inhibition of CNS axon regeneration[J]. Nat Rev Neurosci, 2006, 7(8): 617-627.
7. Kei Y. Phosphorylation of Nogo Receptors Suppresses Nogo Signaling, Allowing Neurite Regeneration[J]. Sci Signal, 2009, 2(64): ra14.
8. Yamashita T, Tohyama M. The p75 receptor acts as a displacement factor that releases Rho from Rho-GDI [J]. Nature

- Neurosci, 2003, 6(5): 461–467.
9. Mintzer MA, Simanek EE. Nonviral vectors for gene delivery [J]. *Chem Rev*, 2009, 109(2): 259–302.
10. Wells DJ. Electroporation and ultrasound enhanced non-viral gene delivery in vitro and in vivo [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2010, 26(1): 21–28.
11. Lim ST, Airavaara M, Harvey BK. Viral vectors for neurotrophic factor delivery: a gene therapy approach for neurodegenerative diseases of the CNS [J]. *Pharmacol Res*, 2010, 61(1): 14–26.
12. Bouard D, Alazard-Dany D, Cosset FL. Viral vectors: from virology to transgene expression [J]. *Br J Pharmacol*, 2009, 157(2): 153–165.
13. Papale A, Cerovic M, Brambilla R. Viral vector approaches to modify gene expression in the brain [J]. *Neurosci Methods*, 2009, 185(1): 1–14.
14. Mandel RJ, Manfredsson FP, Foust KD, et al. Recombinant adenoassociated viral vectors as therapeutic agents to treat neurological disorders [J]. *Mol Ther*, 2006, 13(3): 463–483.
15. Zhou L, Baumgartner BJ, Hill-Felberg SJ, et al. Neurotrophin-3 expressed in situ induces axonal plasticity in the adult injured spinal cord [J]. *Neurosci*, 2003, 23(4): 1424–1431.
16. Zhou L, Shine HD. Neurotrophic factors expressed in both cortex and spinal cord induce axonal plasticity after spinal cord injury [J]. *Neurosci Res*, 2003, 74(4): 221–226.
17. Fortun J, Puzis R, Pearse DD, et al. Muscle injection of AAV-NT3 promotes anatomical reorganization of CST axons and improves behavioral outcome following SCI [J]. *Neurotrauma*, 2009, 26(7): 941–953.
18. Ruitenbergh MJ, Blits B, Dijkhuizen PA, et al. Adeno-associated viral vector-mediated gene transfer of brain-derived neurotrophic factor reverses atrophy of rubrospinal neurons following both acute and chronic spinal cord injury [J]. *Neurobiol Dis*, 2004, 15(2): 394–406.
19. Kwon BK, Liu J, Lam C, et al. Brain-derived neurotrophic factor gene transfer with adeno-associated viral and lentiviral vectors prevents rubrospinal neuronal atrophy and stimulates regeneration-associated gene expression after acute cervical spinal cord injury [J]. *Spine*, 2007, 32(11): 1164–1173.
20. Nakajima H, Uchida K, Kobayashi S, et al. Rescue of rat anterior horn neurons after spinal cord injury by retrograde transfection of adenovirus vector carrying brain-derived neurotrophic factor gene [J]. *Neurotrauma*, 2007, 24(4): 703–712.
21. Sofroniew MV, Howe CL, Mobley WC. Nerve growth factor signaling, neuroprotection, and neural repair [J]. *Annu Rev Neurosci*, 2001, 24: 1217–1281.
22. Reuss B, von Bohlen, Halbach O. Fibroblast growth factors and their receptors in the central nervous system [J]. *Cell Tissue Res*, 2003, 313(2): 139–157.
23. Grothe C, Wewetzer K. Fibroblast growth factor and its implications for developing and regenerating neurons [J]. *Int J Dev Biol*, 1996, 40(1): 403–410.
24. Romero MI, Rangappa N, Garry MG, et al. Functional regeneration of chronically injured sensory afferents into adult spinal cord after neurotrophin gene therapy [J]. *Neurosci*, 2001, 21(21): 8408–8416.
25. Eggers R, Hendriks WT, Tannemaat MR, et al. Neuroregenerative effects of lentiviral vector-mediated GDNF expression in reimplanted ventral roots [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2008, 39(1): 105–117.
26. Koelsch A, Feng Y, Fink DJ, et al. Transgene-mediated GDNF expression enhances synaptic connectivity and GABA transmission to improve functional outcome after spinal cord contusion [J]. *Neurochem*, 2010, 113(1): 143–152.
27. Zhou Z, Peng X, Fink DJ, et al. HSV-mediated transfer of artemin overcomes myelin inhibition to improve outcome after spinal cord injury [J]. *Mol Ther*, 2009, 17(7): 1173–1179.
28. Peng X, Zhou Z, Hu J, et al. Soluble Nogo receptor down-regulates expression of neuronal Nogo-A to enhance axonal regeneration [J]. *Biol Chem*, 2010, 285(4): 2783–2795.
29. Bo X, Wu D, Yeh J, et al. Gene therapy approaches for neuroprotection and axonal regeneration after spinal cord and spinal root injury [J]. *Curr Gene Ther*, 2011, 11(2): 101–115.
30. Wu D, Yang P, Zhang X, et al. Targeting a dominant negative rho kinase to neurons promotes axonal outgrowth and partial functional recovery after rat rubrospinal tract lesion [J]. *Mol Ther*, 2009, 17(12): 2020–2030.
31. Eftekharpour E, Karimi-Abdolrezaee S, Fehlings MG. Current status of experimental cell replacement approaches to spinal cord injury [J]. *Neurosurg Focus*, 2008, 24(3–4): E19.
32. Willerth SM, Sakiyama-Elbert SE. Cell therapy for spinal cord regeneration [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60(2): 263–276.
33. Himes BT, Liu Y, Solowska JM, et al. Transplants of cells genetically modified to express neurotrophin-3 rescue axotomized Clarke's nucleus neurons after spinal cord hemisection in adult rats [J]. *J Neurosci Res*, 2001, 65(6): 549–564.
34. Liu Y, Himes BT, Murray M, et al. Grafts of BDNF-producing fibroblasts rescue axotomized rubrospinal neurons and prevent their atrophy [J]. *Exp Neurol*, 2002, 178(2): 150–164.
35. Brock JH, Rosenzweig ES, Blesch A, et al. Local and remote growth factor effects after primate spinal cord injury [J]. *Neurosci*, 2010, 30(29): 9728–9737.
36. Nandoe Tewarie RS, Hurtado A, Bartels RH, et al. Stem cell-based therapies for spinal cord injury [J]. *Spinal Cord Med*, 2009, 32(2): 105–114.
37. Kim HM, Hwang DH, Lee JE, et al. Ex vivo VEGF delivery by neural stem cells enhances proliferation of glial progenitors, angiogenesis, and tissue sparing after spinal cord injury [J]. *PLoS One*, 2009, 4(3): e4987.

38. Vaquero J, Zurita M. Bone marrow stromal cells for spinal cord repair: a challenge for contemporary neurobiology [J]. *Histol Histopathol*, 2009, 24(1): 107-116.
39. Sasaki M, Radtke C, Tan AM, et al. BDNF-hypersecreting human mesenchymal stem cells promote functional recovery, axonal sprouting, and protection of corticospinal neurons after spinal cord injury [J]. *Neurosci*, 2009, 29(47): 14932-14941.
40. Hollis ER, Lu P, Blesch A, et al. IGF-I gene delivery promotes corticospinal neuronal survival but not regeneration after adult CNS injury [J]. *Exp Neurol*, 2009, 215(1): 53-59.
41. Cao Q, Xu XM, Devries WH, et al. Functional recovery in traumatic spinal cord injury after transplantation of multilineurotrophin-expressing glial-restricted precursor cells [J]. *Neurosci*, 2005, 25(30): 6947-6957.
42. Cao Q, He Q, Wang Y, et al. Transplantation of ciliary neurotrophic factor-expressing adult oligodendrocyte precursor cells promotes remyelination and functional recovery after spinal cord injury [J]. *Neurosci*, 2010, 30(8): 2989-3001.
43. Lakatos A, Barnett SC, Franklin RJ. Olfactory ensheathing cells induce less host astrocyte response and chondroitin sulphate proteoglycan expression than Schwann cells following transplantation into adult CNS white matter [J]. *Exp Neurol*, 2003, 184(1): 237-246.
44. Ruitenberg MJ, Levison DB, Lee SV, et al. NT-3 expression from engineered olfactory ensheathing glia promotes spinal sparing and regeneration [J]. *Brain*, 2005, 128(Pt4): 839-853.
45. Cao L, Liu L, Chen ZY, et al. Olfactory ensheathing cells genetically modified to secrete GDNF to promote spinal cord repair [J]. *Brain*, 2004, 127(Pt3): 535-549.
46. Mackay-Sim A, St John JA. Olfactory ensheathing cells from the nose: clinical application in human spinal cord injuries [J]. *Exp Neurol*, 2011, 229(1): 174-180.
47. Fortun J, Hill CE, Bunge MB. Combinatorial strategies with Schwann cell transplantation to improve repair of the injured spinal cord [J]. *Neurosci Lett*, 2009, 456(3): 124-132.
48. Tuszynski MH, Weidner N, McCormack M, et al. Grafts of genetically modified Schwann cells to the spinal cord: survival, axon growth, and myelination [J]. *Cell Transplant*, 1998, 7(2): 187-196.
49. Menei P, Montero-Menei C, Whitemore SR, et al. Schwann cells genetically modified to secrete human BDNF promote enhanced axonal regrowth across transected adult rat spinal cord [J]. *Eur Neurosci*, 1998, 10(2): 607-621.
50. Andrews MR, Czvitkovich S, Dassie E, et al. Alpha9 integrin promotes neurite outgrowth on tenascin-C and enhances sensory axon regeneration [J]. *Neurosci*, 2009, 29(17): 5546-5557.
51. Luo J, Bo X, Wu D, et al. Promoting the survival, migration, and integration of transplanted Schwann cells by over-expressing polysialic acid [J]. *Glia*, 2011, 59(3): 424-434.
52. Yip PK, Wong LF, Sears TA, et al. Cortical overexpression of neuronal calcium sensor-1 induces functional plasticity in spinal cord following unilateral pyramidal tract injury in rat [J]. *PLoS Biol*, 2010, 8(6): e1000399.
53. Lee SI, Kim BC, Hwang DH, et al. Overexpression of *Bel-XL* in human neural stem cells promotes graft survival and functional recovery following transplantation in spinal cord injury [J]. *Neurosci Res*, 2009, 87(14): 3186-3197.
54. Zhou Z, Peng X, Insolera R, et al. IL-10 promotes neuronal survival following spinal cord injury [J]. *Exp Neurol*, 2009, 220(1): 183-190.
55. Bonner JF, Blesch A, Neuhuber B, et al. Promoting directional axon growth from neural progenitors grafted into the injured spinal cord [J]. *Neurosci Res*, 2010, 88(6): 1182-1192.
56. Massey JM, Aups J, Viapiano MS, et al. Increased chondroitin sulfate proteoglycan expression in denervated brainstem targets following spinal cord injury creates a barrier to axonal regeneration overcome by chondroitinase ABC and neurotrophin-3 [J]. *Exp Neurol*, 2008, 209(2): 426-445.
57. Muir EM, Fyfe I, Gardiner S, et al. Modification of N-glycosylation sites allows secretion of bacterial chondroitinase ABC from mammalian cells [J]. *Biotechnol*, 2010, 145(2): 103-110.
58. Liu Y, Figley S, Spratt SK, et al. An engineered transcription factor which activates VEGF-A enhances recovery after spinal cord injury [J]. *Neurobiol Dis*, 2010, 37(2): 384-393.
59. Hannila SS, Filbin MT. The role of cyclic AMP signaling in promoting axonal regeneration after spinal cord injury [J]. *Exp Neurol*, 2008, 209(2): 321-332.
60. Ohori Y, Yamamoto S, Nagao M, et al. Growth factor treatment and genetic manipulation stimulate neurogenesis and oligodendrogenesis by endogenous neural progenitors in the injured adult spinal cord [J]. *Neurosci*, 2006, 26(46): 11948-11960.

(收稿日期:2012-01-10 修回日期:2012-06-09)

(本文编辑 彭向峰)