

· 综述 ·

毛囊多能干细胞修复脊髓损伤的研究进展[△]

马子谦, 刘涛, 张焱, 陈学明*

(首都医科大学附属北京潞河医院骨科中心, 北京 101149)

摘要: 脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 会导致运动和感觉功能障碍。因高致残率、高致死率的疾病特点, 给患者及社会带来了巨大的经济负担。毛囊多能干细胞 (hair follicle-associated pluripotent stem cells, HAPSCs) 来源于毛囊隆突处, 其具有多向分化潜能并表达胚胎神经嵴干细胞特异性标志物, 是作为 SCI 细胞移植治疗的新兴潜力细胞。既往研究已证明移植该细胞可使脊髓损伤造模动物的运动及感觉功能明显恢复。细胞、药物及组织工程与其联合应用可加强其治疗效果。本文就近年来 HAPSCs 在脊髓损伤的研究进展进行综述, 旨在阐明该细胞的研究现状并预测其未来的研究方向。

关键词: 脊髓损伤, 毛囊多能干细胞, 细胞移植, 分泌组, 综述

中图分类号: R687 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2024) 20-1864-06

Research advance in hair follicle-associated pluripotent stem cells for spinal cord injury // MA Zi-qian, LIU Tao, ZHANG Yan, CHEN Xue-ming. Department of Orthopedics, Beijing Luhe Hospital, Capital Medical University, Beijing 101149, China

Abstract: Spinal cord injury (SCI) cause motor and sensory dysfunction. Due to high disability and fatality, it brings huge economic burden to patients and society. Hair follicle-associated pluripotent stem cells (HAPSCs) originated from hair follicle prominences had multiple potential for differentiation and expressed specific markers of embryonic neural crest stem cells. It is a new potential cell for SCI cell transplantation therapy. Previous studies have shown that the transplantation of these cells can significantly restore the motor and sensory functions of spinal cord injury in animal models. The combination of cell, drug and tissue engineering can enhance its therapeutic effect. In this paper, we reviewed the progress of HAPSCs research in spinal cord injury in recent years, aiming to clarify the current research status and future research direction of HAPSCs.

Key words: spinal cord injury, hair follicle pluripotent stem cells, cell transplantation, secretome, review

脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 常导致长期、毁灭性的神经功能缺陷, 给患者及其家庭带来了巨大的心理、社会和经济负担^[1]。细胞疗法是当前治疗 SCI 的重要策略, 移植细胞可直接分化生成神经元、通过旁分泌功能营养支持宿主细胞, 调节胶质细胞增生、炎症反应与血管再生等方式修复 SCI^[2, 3]。同时, 利用组织工程技术为移植细胞提供支撑和生长的环境、细胞分泌物及其中的细胞外囊泡对损伤周围微环境的持续影响, 在修复 SCI 中作用巨大^[4]。毛囊多能干细胞 (hair follicle-associated pluripotent stem cells, HAPSCs), 可通过自体皮肤获得, 同时具有多向分化潜能与神经嵴干细胞特性, 有望成为治疗 SCI 的潜力细胞。将其应用于 SCI 后, 展现出良好的治疗效果^[5]。本文就 HAPSCs 近年来在脊髓损伤的研究进

展进行综述, 旨在阐明该细胞治疗脊髓损伤的作用机制及进展。

1 SCI 病理机制概述

SCI 后的病理生理学包括一系列复杂且动态的分子机制。最初的机械损伤会损伤神经细胞, 破坏脊髓血管系统和血-脊髓屏障。之后的继发性损伤, 会进一步损伤脊髓组织, 使损伤部位微环境不利于神经细胞再生^[6]。具体包括: 急性期 (损伤后 2~48 h) 的自由基形成、神经递质累积所致兴奋性毒性效应、钙内流、离子失衡和脂质过氧化等^[7]。脊髓实质内出血会增加促炎因子水平并招募相关炎症细胞, 炎症会增加脊髓肿胀, 加重损伤, 同时, 损伤血管的自动调节

DOI:10.20184/j.cnki.issn1005-8478.100544

△基金项目: 第三批“通州区高层次人才发展支持计划”顶尖人才项目 (编号: YHDJ2019007); 首都医科大学附属北京潞河医院青年科研培育专项 (编号: LHYY2023-JC104)

作者简介: 马子谦, 住院医师, 硕士研究生, 研究方向: 脊柱外科、脊髓损伤, (电子信箱) mzzq13324092533@mail.ccmu.edu.cn

***通信作者:** 陈学明, (电子信箱) chenxueming@ccmu.edu.cn

能力受损, 导致脊髓缺血, 继而引起神经元死亡^[8]。在亚急性期 (2 d~2 周), 脊髓组织进一步缺血, 促使细胞凋亡、细胞焦亡、脱髓鞘、沃勒变性、轴突缩短退变等多种具体机制抑制脊髓神经修复^[9]。同时, 星形胶质细胞出现增殖, 增大的星形胶质细胞紧密地排列成坚韧的阻断网, 阻碍神经再生^[6]。活化的星形胶质细胞还可分泌抑制性分子, 如硫酸软骨素蛋白聚糖, 阻碍脊髓修复^[4]。随着 SCI 进展到中期 (2 周~6 个月) 和慢性期 (超过 6 个月), 神经胶质瘢痕的形成、细胞外基质增多、Nogo 受体抑制神经元生长^[10], 使神经恢复及微环境的改善更加困难。

2 HAPSCs 概述

皮肤在整个成年过程中不断更新, 而毛囊经历了一个永久的 [毛囊生长 (毛发生长初期)、退化 (毛发生长中期) 和休眠 (毛发静止期) 之间的周期] 循环。位于表皮和毛囊中的干细胞保证了维持成人皮肤稳态和毛发再生, 也参与了损伤后表皮的修复^[11]。毛囊隆突区 (bulge area, BA 区) 是毛囊下部的一个清晰的结构, 既往被认为是角质形成细胞干细胞的一个生态位^[12]。Blanpain 通过转基因工程使小鼠组蛋白 h2b 表达绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein, GFP), 发现 BA 区 GFP 阳性干细胞群可分化成外根鞘毛基质细胞和内根鞘细胞。若毛囊漏斗部和表皮受损, 其可从隆起处迁移, 并增殖以重新填充^[13]。Morris 发现在正常毛囊周期中, BA 区干细胞可分化成毛发内的所有上皮细胞类型, 继而形成完整毛囊^[14]。表明毛囊 BA 区存在具有多向分化潜能的干细胞。

Hoffman 最初报道, 将巢蛋白 (nestin, 一种神经祖细胞的标记物) 标记 GFP, 其在 C57BL/6 小鼠的毛囊中表达, 在休止期和生长期, GFP 阳性细胞主要分布在 BA 区^[15, 16]。通过继续研究发现, 其对干细胞标记物 CD34 呈阳性, 而对角质形成细胞标记物呈阴性, 提示其呈相对未分化状态, 并证明其可形成毛囊的大部分组成细胞, 移植到裸鼠皮下后可分化为血管和神经组织^[17]。故将其命名为毛囊多功能干细胞 (hair follicle-associated pluripotent stem cells, HAPSCs)。后续研究证明, 其共同表达了雪旺细胞标记物 S100、神经嵴和未成熟的雪旺细胞标记物 p75、 β -III tubulin, 并可诱导分化为多种成体细胞, 如脂肪细胞、胶质细胞、角质形成细胞等^[18, 19]。

Sieber-Blum 通过显微解剖分离出成年 C57BL/

6- TgN (ACTbEGFP) 小鼠的毛囊 BA 区, 并将其放置在胶原蛋白涂层的培养板中形成外植体, 证明 BA 区内存在 Xgal 染色 (一种神经嵴标志物) 阳性细胞, 并在 72 h 内开始从隆突处迁移, 而其他表皮干细胞仍留在外植体内^[20]。后续实验也证实了该细胞表达 nestin 和 Sox10, 并可定向分化为神经元和软骨细胞等多种成体细胞。其将这种从毛囊 BA 区外植体中迁移出来的高纯度神经嵴来源干细胞命名为表皮神经嵴干细胞 (epidermal neural crest stem cells, eNCSCs, EPI-NCSCs)^[21]。后续研究中发现 eNCSC 与 HAPSCs 可能为同一种细胞^[22]。McMahill 团队从犬类须囊及人头皮毛囊 BA 区提取出了 HAPSCs, 并证明其与啮齿类 HAPSCs 具有相似的基因表达^[23]。

3 HAPSCs 通过细胞移植疗法修复 SCI

由于 HAPSCs 具备神经嵴干细胞特性, 同时具有可自体移植、细胞获取难度低等优势, 在体外高纯度扩增出 HAPSCs, 各研究团队都将其移植进了啮齿类 SCI 模型的脊髓中, 疗效显著。

Sieber-Blum 团队^[24]在急性期将其植入脊髓挫伤模型的 C57 小鼠脊髓中, 细胞在 3 周时可通过 GFP 识别, 并在 6 个月后与脊髓组织粘附良好。发现该细胞并没有迁移出损伤区域, 这与其分化导致迁移能力下降的特点有关; 该细胞和宿主神经突混合, 共同表达 nestin、 β -III tubulin 及 GAD67, 表明移植细胞周围微环境与宿主神经突的存活和再生相兼容; 脊髓内的移植细胞在移植 1 周后不再增殖, 没有成瘤, 其原因可能为细胞分泌的 TGF- β 抑制增殖。病变处移植后 3 周, 细胞表达少突胶质细胞标志物 RIP, 未表达 GFAP。在 RNA 水平上移植后细胞表达神经生长因子和脑源性神经营养因子、血管生成因子及金属蛋白酶的基因^[25]。移植后 6 个月, 瘢痕区域存在血管化, 其原因可能为 HAPSCs 分泌血管内皮因子 A 和 B, 促进损伤组织血管化, 后续实验也证实了移植后小鼠存在明显感觉功能的恢复^[26]。Hoffman 团队也将 HAPSCs 移植入 T₁₀ 椎体移除后的脊髓横断模型 C57BL/6 小鼠中^[27]。在移植后的 6~12 周内, 小鼠后肢功能得到了显著的恢复, 进一步研究证实其分化为 GFAP 和 CNPase 阳性的雪旺细胞, 促进受损脊髓的恢复。Najafzadeh 结合优化了前两者的提取方式, 从毛囊 BA 区提取出了 HAPSCs, 并植入大鼠压迫损伤后的脊髓中。结果表明, 移植细胞可在损伤的脊髓中存活 3 周以上, 移植细胞 RIP 阳性, β -III tubulin 阳性, 表明

了其向神经细胞及少突胶质细胞的分化^[28]。最终同样促进了脊髓损伤大鼠的运动功能恢复。李冰仓团队于 GFP 转基因鼠的 HAPSCs 移植入脊髓挫伤小鼠的体内,并证明其 6 周后通过分泌 GDNF 促使了造模鼠的运动功能恢复^[29]。总之, HAPSCs 可通过自身分化为神经元与原位神经元兼容、促进血管化、分泌神经营养因子、抑制胶质瘢痕形成等多种途径,促进不同类型脊髓损伤受损神经修复。

4 HAPSCs 通过联合疗法修复 SCI

尽管 HAPSCs 可从多个方面促进脊髓损伤的恢复,但因为损伤后组织微环境的负向作用,移植细胞死亡始终是一个难以避免的难题^[30]。故在细胞移植治疗脊髓损伤的同时,维护脊髓组织正常形态,保护剩余细胞、平衡病变区域的微环境,建立一个有利于 HAPSCs 增殖和分化的微环境,才能够增加成活率,并使其发挥出最大的治疗效果^[31]。移植细胞通过分泌神经营养因子来调节轴突再生的微环境是其修复神经损伤的主要机制之一,嗅鞘细胞是周围神经系统和中枢神经系统中都存在的一种神经胶质细胞,可通过分泌多种细胞因子来滋养神经纤维并促进突触形成^[32]。冯林杰^[33]将嗅鞘细胞培养基诱导的骨髓间充质干细胞移植入受损脊髓中,发现其可促进大鼠双下肢运动功能的恢复,提示嗅鞘细胞可促进神经再生。Zhang^[34]将 HAPSCs 和嗅鞘细胞分别和联合移植到损伤后 1 周的大鼠脊髓中。移植后 3 周,嗅鞘细胞促进了 HAPSCs 在体内的迁移和分布。联合移植显著增加了神经营养因子 BDNF 和 GDNF 的表达,协同促进了损伤后运动能力的恢复。

相较于联合细胞移植,药物可以更有针对性地控制微环境损伤部位的炎症与不利因素,提升细胞移植的治疗效果^[35]。Pandamooz 等^[36]首先在体外建立脊髓器官模型,损伤 1 h 后移植 HAPSCs 并联合使用丙戊酸钠,在联合治疗后,观察到两者对神经修复的协同效应, BDNF、NT3 及凋亡抑制因子 Bcl-2 水平显著升高,并提示细胞向胶质细胞系分化。在体外实验也验证了丙戊酸钠可显著上调 HAPSCs 中 BDNF、GDNF 和 VEGF 的基因表达水平^[37]。Mohaghegh^[35]利用了一种脂溶性类胡萝卜素,虾青素的高效抗氧化特性,将其联合 HAPSCs 治疗大鼠脊髓损伤,结果表明,联合治疗后大鼠行为学评分最高,运动神经元恢复和髓鞘形成的治疗效果最好。联合治疗可使线粒体生物发生相关因子(PGC1 α 、NRF1 和 TFAM)的表

达增加,保护神经胶质细胞和神经元细胞免受氧化应激和炎症的影响。

细胞联合应用高分子支架既可以将细胞固定在合适的损伤部位,又可起到桥接损伤缺损、阻止胶质瘢痕形成并为轴突再生提供接触性引导,充当呈递干细胞的载体,改变损伤部位的微环境^[38]。Hoffman^[15, 16]将 HAPSCs 包裹在聚偏氟乙烯膜上,移植到急性期损伤小鼠脊髓中,植入 7 周后,发现 HAPSCs 与聚偏氟乙烯膜附着良好,并分化为神经元和胶质细胞。同时,聚偏氟乙烯膜上的 HAPSCs 可以促进脊髓内源性神经元和自体移植细胞之间的功能连接,并最终使植入小鼠的行为学评分达到显著改善^[39]。作者后续在 SCI 后 21 d 植入聚偏氟乙烯膜封装的 HAPSCs,并观察到其在脊髓中分化为神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞。并促使脊髓内 M1 型小胶质细胞的减少,作者推测其可能促进了微环境的改善,最终促进被切断的脊髓的再生^[5]。同样,植入治疗最终使损伤小鼠的运动功能得到显著恢复。

5 潜力治疗策略: HAPSCs 分泌组

有研究显示,单独使用细胞分泌到外界的成分甚至可以产生与细胞移植相当的治疗效果^[40],故有学者认为干细胞移植后分化起到的作用较小,其治疗效果可能来源于分泌到细胞外的分子,这些分子在细胞过程的调节中起到了关键作用。干细胞分泌组,定义为干细胞分泌至细胞外空间的各种分子(可溶性蛋白、游离核酸、脂质)和细胞外囊泡(凋亡小体、微泡和外泌体)^[41]。其在发挥干细胞分泌功能治疗受损脊髓的同时,避免了移植细胞的有创性,移植后细胞低存活率,及移植相关伦理问题,成为了一种有潜力的细胞治疗方案^[42]。Fei 单侧移植 HAPSCs 到脊髓中线损伤中,使双侧感觉神经连接和触觉改善,分析其原因可能为其分泌神经营养因子、血管生成因子,促进了脊髓神经恢复。进一步文献表明,体外培养 HAPSCs 表达的 BDNF、GDNF 和 NGF 的转录产物显著高于骨髓间充质干细胞^[43]。虽然目前分泌组直接治疗脊髓损伤的文献较少,但其强大的分泌功能,使其分泌组治疗脊髓损伤的效果可能优于其他成体干细胞。同时体外研究表明,多种药物(碳酸锂、藏红花素、丙戊酸钠)可增强 HAPSCs 的旁分泌作用,使其 BDNF 和 GDNF 等神经营养因子表达增加^[44, 45]。故通过体外扩增 HAPSCs,同时联合药物提升其旁分泌能力后,提取其分泌组,用于治疗脊髓损

伤, 是未来有发展潜力的治疗策略。

6 总结与展望

HAPSCs 作为神经嵴来源干细胞, 可通过分化为多种神经细胞衍生物, 发挥营养支持、血管生成、调节瘢痕形成和刺激内源性再生等复合作用, 促进脊髓损伤的神经恢复。细胞移植的同时, 联合其他细胞、药物及高分子支架材料等因素, 协同促进损伤脊髓的修复, 展现出了良好的治疗效果。其强力高效的分泌功能, 使其分泌组可成为治疗脊髓损伤的有效药物。随着今后的深入研究, 应用 HAPSCs 进而促进脊髓损伤修复的机制将会得到更加全面的认识, 成为临床治疗脊髓损伤的一种有潜力的选择。

参考文献

- [1] Stillman MD, Barber J, Burns S, et al. Complications of spinal cord injury over the first year after discharge from inpatient rehabilitation [J]. Arch Phys Med Rehabil, 2017, 98 (9) : 1800–1805. DOI: 10.1016/j.apmr.2016.12.011.
- [2] Hu X, Xu W, Ren Y, et al. Spinal cord injury: Molecular mechanisms and therapeutic interventions [J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8 (1) : 245. DOI: 10.1038/s41392-023-01477-6.
- [3] 张浩, 肖世宁, 张钰, 等. 内源性神经干细胞在脊髓损伤修复的研究进展 [J]. 中国矫形外科杂志, 2022, 30 (24) : 2250–2254. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2022.24.09.
Zhang H, Xiao S, Zhang Y, et al. Research progress in endogenous neural stem cells in spinal cord injury repair [J]. Orthopedic Journal of China, 2022, 30 (24) : 2250–2254. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2022.24.09.
- [4] Guo S, Redenski I, Levenberg S. Spinal cord repair: From cells and tissue engineering to extracellular vesicles [J]. Cells, 2021, 10 (8) : 1872. DOI: 10.3390/cells10081872.
- [5] Obara K, Shirai K, Hamada Y, et al. Chronic spinal cord injury functionally repaired by direct implantation of encapsulated hair-follicle-associated pluripotent (HAP) stem cells in a mouse model: Potential for clinical regenerative medicine [J]. PLoS One, 2022, 17 (1) : e0262755. DOI: 10.1371/journal.pone.0262755.
- [6] Fan B, Wei Z, Feng S. Progression in translational research on spinal cord injury based on microenvironment imbalance [J]. Bone Res, 2022, 10 (1) : 35. DOI: 10.1038/s41413-022-00199-9.
- [7] Alizadeh A, Dyck SM, Karimi-Abdolrezaee S. Traumatic spinal cord injury: An overview of pathophysiology, models and acute injury mechanisms [J]. Front Neurol, 2019, 10: 282. DOI: 10.3389/fneur.2019.00282.
- [8] Ahuja CS, Wilson JR, Nori S, et al. Traumatic spinal cord injury [J]. Nat Rev Dis Prim, 2017, 3 (1) : 17018. DOI: 10.1038/nrdp.2017.18.
- [9] Tashiro S, Nakamura M, Okano H. Regenerative rehabilitation and stem cell therapy targeting chronic spinal cord injury: A review of preclinical studies [J]. Cells, 2022, 11 (4) : 685. DOI: 10.3390/cells11040685.
- [10] Ohtake Y, Li S. Molecular mechanisms of scar-sourced axon growth inhibitors [J]. Brain Res, 2015, 1619: 22–35. DOI: 10.1016/j.brainres.2014.08.064.
- [11] Blanpain C, Fuchs E. Epidermal stem cells of the skin [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2006, 22: 339–73. DOI: 10.1146/annurev.cell-bio.22.010305.104357.
- [12] Yu H, Kumar SM, Kossenkova AV, et al. Stem cells with neural crest characteristics derived from the bulge region of cultured human hair follicles [J]. J Invest Dermatol, 2010, 130 (5) : 1227–1236. DOI: 10.1038/jid.2009.322.
- [13] Blanpain C, Lowry WE, Geoghegan A, et al. Self-renewal, multipotency, and the existence of two cell populations within an epithelial stem cell niche [J]. Cell, 2004, 118 (5) : 635–648. DOI: 10.1016/j.cell.2004.08.012.
- [14] Morris RJ, Liu Y, Marles L, et al. Capturing and profiling adult hair follicle stem cells [J]. Nat Biotechnol, 2004, 22 (4) : 411–417. DOI: 10.1038/nbt950.
- [15] Li L, Mignone J, Yang M, et al. Nestin expression in hair follicle sheath progenitor cells [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2003, 100 (17) : 9958–9961. DOI: 10.1073/pnas.1733025100.
- [16] Li L, Hoffman RM. Discovery of HAP stem cells [J]. Methods Mol Biol, 2016, 1453: 15–20. DOI: 10.1007/978-1-4939-3786-8_3.
- [17] Amoh Y, Li L, Katsuoka K, et al. Multipotent nestin-positive, keratin-negative hair-follicle bulge stem cells can form neurons [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2005, 102 (15) : 5530–5534. DOI: 10.1073/pnas.0501263102.
- [18] 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. DOI: 10.1080/15384101.2017.1363941.
- [19] Mii S, Duong J, Tome Y, et al. The role of hair follicle nestin-expressing stem cells during whisker sensory-nerve growth in long-term 3D culture [J]. J Cell Biochem, 2013, 114 (7) : 1674–1684. DOI: 10.1002/jcb.24509.
- [20] Sieber-Blum M, Grim M, Hu YF, et al. Pluripotent neural crest stem cells in the adult hair follicle [J]. Dev Dyn, 2004, 231 (2) : 258–269. DOI: 10.1002/dvdy.20129.
- [21] Sieber-Blum M, Grim M. The adult hair follicle: Cradle for pluripotent neural crest stem cells [J]. Birth Defects Res C Embryo Today, 2004, 72 (2) : 162–172. DOI: 10.1002/bdrc.20008.
- [22] Liu F, Hoffman RM. Hair follicle-associated pluripotent (HAP) stem cells in gelfoam® histoculture for use in spinal cord repair [J]. Methods Mol Biol, 2018, 1760: 145–162. DOI: 10.1007/978-1-4939-7745-115.
- [23] McMahon BG, Spriet M, Siso S, et al. Feasibility study of canine epidermal neural crest stem cell transplantation in the spinal cords

- of dogs [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4 (10) : 1173–1186. DOI: 10.5966/scnm.2015-0018.
- [24] Sieber-Blum M, Schnell L, Grim M, et al. Characterization of epidermal neural crest stem cell (EPI-NCSC) grafts in the lesioned spinal cord [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2006, 32 (1–2) : 67–81. DOI: 10.1016/j.mcn.2006.02.003.
- [25] Hu YF, Zhang ZJ, Sieber-Blum M. An epidermal neural crest stem cell (EPI-NCSC) molecular signature [J]. *Stem Cells*, 2006, 24 (12) : 2692–2702. DOI: 10.1634/stemcells.2006-0233.
- [26] Hu YF, Gourab K, Wells C, et al. Epidermal neural crest stem cell (EPI-NCSC)—mediated recovery of sensory function in a mouse model of spinal cord injury [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2010, 6 (2) : 186–198. DOI: 10.1007/s12015-010-9152-3.
- [27] Amoh Y, Li L, Katsuka K, et al. Multipotent hair follicle stem cells promote repair of spinal cord injury and recovery of walking function [J]. *Cell Cycle*, 2008, 7 (12) : 1865–1869. DOI: 10.4161/cc.7.12.6056.
- [28] Najafzadeh N, Nobakht M, Pourheydar B, et al. Rat hair follicle stem cells differentiate and promote recovery following spinal cord injury [J]. *Neural Regen Res*, 2013, 8 (36) : 3365–3372. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5374.2013.36.001.
- [29] 刘争, 张洁元, 段朝霞, 等. 表皮神经嵴干细胞移植对大鼠脊髓损伤后 GDNF 表达的影响及意义 [J]. *中华器官移植杂志*, 2014, 35 (4) : 243–246. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1785.2014.04.012.
- Liu Z, Zhang J, Duan Z, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor expression after epidermal neural crest stem cells transplantation in spinal cord injury of rats [J]. *Chinese Journal of Organ Transplantation*, 2014, 35 (4) : 243–246. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2018.06.15.
- [30] Hu XC, Lu YB, Yang YN, et al. Progress in clinical trials of cell transplantation for the treatment of spinal cord injury: How many questions remain unanswered [J]. *Neural Regen Res*, 2021, 16 (3) : 405–413. DOI: 10.4103/1673-5374.293130.
- [31] Wang LL, Zhang CL. Engineering new neurons: In vivo reprogramming in mammalian brain and spinal cord [J]. *Cell Tissue Res*, 2018, 371 (1) : 201–212. DOI: 10.1007/s00441-017-2729-2.
- [32] 王晓玉, 王楠, 陈悦霞, 等. 嗅鞘细胞移植调节星形细胞活性促进急性脊髓损伤大鼠神经功能恢复 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2018, 26 (6) : 548–554. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2018.06.15.
- Wang X, Wang N, Chen Y, et al. Olfactory ensheathing cell transplantation improves neural function via regulation of astrocyte activation after acute spinal cord injury in rat [J]. *Orthopedic Journal of China*, 2018, 26 (6) : 548–554. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2018.06.15.
- [33] 冯林杰, 甘洪全, 刘英杰, 等. 经嗅鞘细胞条件培养液诱导的骨髓基质干细胞移植对脊髓损伤修复的影响 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2015, 23 (18) : 1703–1709. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2015.18.16.
- Feng L, Gan H, Liu Y, et al. Effects of transplantation of bone marrow stromal cells induced by olfactory ensheathing cells conditioned medium on repair of spinal cord injury in rats [J]. *Orthopedic Journal of China*, 2015, 23 (18) : 1703–1709. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2015.18.16.
- [34] Zhang J, Liu Z, Chen H, et al. Synergic effects of epi-ncscs and oecs on the donor cells migration, the expression of neurotrophic factors, and locomotor recovery of contused spinal cord of rats [J]. *J Mol Neurosci*, 2015, 55 (3) : 760–769. DOI: 10.1007/s12031-014-0416-2.
- [35] Mohaghegh Shalmani L, Valian N, Pournajaf S, et al. Combination therapy with astaxanthin and epidermal neural crest stem cells improves motor impairments and activates mitochondrial biogenesis in a rat model of spinal cord injury [J]. *Mitochondrion*, 2020, 52: 125–134. DOI: 10.1016/j.mito.2020.03.002.
- [36] Pandamooz S, Salehi MS, Zibaii MI, et al. Epidermal neural crest stem cell-derived glia enhance neurotrophic elements in an ex vivo model of spinal cord injury [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119 (4) : 3486–3496. DOI: 10.1002/jcb.26520.
- [37] Pandamooz S, Salehi MS, Safari A, et al. Enhancing the expression of neurotrophic factors in epidermal neural crest stem cells by valproic acid: A potential candidate for combinatorial treatment [J]. *Neurosci Lett*, 2019, 704: 8–14. DOI: 10.1016/j.neulet.2019.03.033.
- [38] Wang Y, Lv HQ, Chao X, et al. Multimodal therapy strategies based on hydrogels for the repair of spinal cord injury [J]. *Mil Med Res*, 2022, 9 (1) : 16. DOI: 10.1186/s40779-022-00376-1.
- [39] Obara K, Tohgi N, Shirai K, et al. Hair-follicle-associated pluripotent (HAP) stem cells encapsulated on polyvinylidene fluoride membrane (PFM) promote functional recovery from spinal cord injury [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2019, 15 (1) : 59–66. DOI: 10.1007/s12015-018-9856-3.
- [40] Harrell C, Fellabaum C, Jovicic N, et al. Molecular mechanisms responsible for therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived secretome [J]. *Cells*, 2019, 8 (5) : 467. DOI: 10.3390/cells8050467.
- [41] 万然, 史旭, 刘京松, 等. 间充质干细胞分泌组治疗脊髓损伤的研究进展 [J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25 (7) : 1088–1095. DOI: 10.3969/j.issn.1005-8478.2021.07.1088.
- Wan R, Shi X, Liu J, et al. Research progress in the treatment of spinal cord injury with mesenchymal stem cell secretome [J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2021, 25 (7) : 1088–1095. DOI: 10.3969/j.issn.1005-8478.2021.07.1088.
- [42] Pinho AG, Cibrao JR, Lima R, et al. Immunomodulatory and regenerative effects of the full and fractioned adipose tissue derived stem cells secretome in spinal cord injury [J]. *Exp Neurol*, 2022, 351: 113989. DOI: 10.1016/j.expneurol.2022.113989.
- [43] Karimi-Haghighi S, Chavoshinezhad S, Safari A, et al. Preconditioning with secretome of neural crest-derived stem cells enhanced neurotrophic expression in mesenchymal stem cells [J]. *Neurosci Lett*, 2022, 773: 136511. DOI: 10.1016/j.neulet.2022.136511.