间充质干细胞修复大动物模型脊髓损伤疗效评价的 Meta 分析

https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-4344.2183

投稿日期：2020-04-20

送审日期：2020-04-23

采用日期：2020-05-28

在线日期：2020-08-20

中图分类号：R459.9；R318；R651.2

文章编号：2095-4344(2021)07-01142-07

文献标识码：A

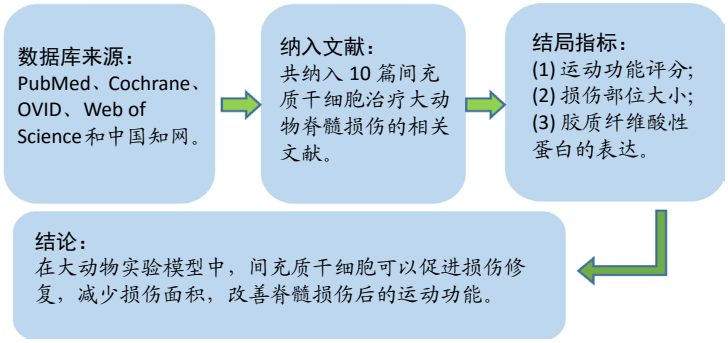
孔德胜[1,2]，何晶晶[1,2]，冯宝峰[1,2]，郭瑞云[1,2]，Asiamah Ernest Amponsah[1,2]，吕 飞[1,2]，张舒涵[1,2]，张晓琳[3]，马 隽[1,2,4]，崔慧先[1,2,4]

文章快速阅读：

文章特点—

△大型哺乳动物与人类的体型、神经解剖学和生理学特征更为接近，作为脊髓损伤模型更为可靠；

△通过 Meta 分析评价间充质干细胞对大动物脊髓损伤模型运动功能、损伤部位修复与胶质纤维酸性蛋白表达水平的影响，为开展人类临床试验与临床转化提供可行性。



文题释义：

脊髓损伤：是一类常见中枢神经系统疾病，由于损伤后轴突再生功能障碍，可导致神经功能的毁灭性永久性丧失，从而造成大脑与身体的“连接中断”，最常见的临床症状表现为肢体瘫痪。迄今为止，脊髓损伤的疗效不佳，亟待探索有效新疗法。

间充质干细胞：可从多种祖细胞组织，如骨髓、骨骼肌、脂肪组织、脐带、胎盘和羊膜中分离，较其他类型体细胞更易获得，被认为是一种最具潜力的细胞治疗来源。由于间充质干细胞具备低伦理争议、增殖迅速、高生存力、高活力等细胞特性，同时具有神经分化潜能，并且可以通过旁分泌途径分泌生长因子，提示其可作为未来脊髓损伤临床治疗的最佳优势选择之一 。

摘要

目的：间充质干细胞移植作为具有发展前景的脊髓损伤治疗方法之一，目前大多集中于小动物模型相关研究，大动物实验开展较少，并且对干细胞的种类选择与治疗效果仍存在争议。文章通过Meta分析间充质干细胞对大动物模型脊髓损伤相关指标的影响，评价其对脊髓损伤修复的作用。

方法：计算机检索PubMed、Cochrane、OVID、Web of Science和中国知网，检索时限从建库起至2019年12月，收集关于间充质干细胞治疗大动物脊髓损伤的系列研究。由2位研究者按照纳入标准独立完成文献筛选、资料提取及方法学质量评价，采用Stata16.0进行Meta分析。

结果：最终10篇文献纳入研究，Meta分析结果显示：①间充质干细胞可显著改善脊髓损伤后运动功能[I^2=97.73%，*MD*=3.94，95%*CI* (2.15，5.72)，$P < 0.01$]，并根据细胞来源、观察时间、移植时机、移植方式和移植类型分不同进行亚组分析：骨髓间充质干细胞组、非骨髓间充质干细胞组、短时间观察组(<2个月)、长时间观察组(≥2个月)、急性期移植组、非急性期移植组、单纯细胞移植组、异种移植组的运动评分明显高于对照组($P < 0.01$)；而支架复合移植组运动评分相较对照组，差异无显著性意义($P > 0.05$)；②间充质干细胞治疗组的损伤面积明显小于对照组[I^2=98.05%，*MD*=−1.00，95%*CI* (−1.95，−0.04)，*P*=0.04]；③间充质干细胞治疗组与对照组之间胶质纤维酸性蛋白相对表达量差异无显著性意义[I^2=99.48%，*MD*=80.61，95%*CI* (−27.48，188.70)，*P*=0.14]。

结论：间充质干细胞移植治疗对大动物脊髓损伤的运动功能和损伤修复有明显改善作用，且安全性较高。受纳入文献质量的限制，以上结论需更高质量、更大样本的随机对照实验加以验证。

关键词：干细胞；间充质干细胞；脊髓损伤；大动物；实验；运动功能；蛋白；Meta分析

Efficacy of mesenchymal stem cells in the spinal cord injury of large animal models: a meta-analysis

Kong Desheng[1,2], He Jingjing[1,2], Feng Baofeng[1,2], Guo Ruiyun[1,2], Asiamah Ernest Amponsah[1,2], Lü Fei[1,2], Zhang Shuhan[1,2], Zhang Xiaolin[3], Ma Jun[1,2,4], Cui Huixian[1,2,4]

[1] 河北医科大学－爱尔兰国立高威大学干细胞研究中心，河北省石家庄市 050017；[2] 河北省干细胞医学转化工程研究中心，河北省石家庄市 050017；河北医科大学，[3] 流行病与卫生统计学教研室，[4] 解剖教研室，河北省石家庄市 050017

第一作者：孔德胜，女，1989 年生，河北省邢台市人，汉族，河北医科大学博士后，主要从事干细胞对神经系统损伤修复的研究。

通讯作者：马隽，博士，副教授，河北医科大学－爱尔兰国立高威干细胞研究中心，河北省干细胞医学转化工程研究中心，河北医科大学解剖教研室，河北省石家庄市 050017

共同通讯作者：崔慧先，博士，教授，河北医科大学－爱尔兰国立高威干细胞研究中心，河北省干细胞医学转化工程研究中心，河北医科大学解剖教研室，河北省石家庄市 050017

https://orcid.org/0000-0003-0135-3396(孔德胜)

基金资助：河北省高层次人才资助项目 (B2019005009)，项目负责人：孔德胜；国家自然科学基金青年项目 (81801278)，项目负责人：马隽；河北省自然科学基金面上项目 (H2019206637)，项目负责人：马隽

引用本文：孔德胜，何晶晶，冯宝峰，郭瑞云，Asiamah Ernest Amponsah，吕飞，张舒涵，张晓琳，马隽，崔慧先 . 间充质干细胞修复大动物模型脊髓损伤疗效评价的 Meta 分析 [J]. 中国组织工程研究，2021，25(7):1142-1148.

[1]Hebei Medical University-National University of Ireland Galway Stem Cell Research Center, Shijiazhuang 050017, Hebei Province, China; [2]Hebei Research Center for Stem Cell Medical Translational Engineering, Shijiazhuang 050017, Hebei Province, China; [3]Department of Epidemiology and Health Statistics, [4]Department of Anatomy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, Hebei Province, China
Kong Desheng, MD, Hebei Medical University-National University of Ireland Galway Stem Cell Research Center, Shijiazhuang 050017, Hebei Province, China; Hebei Research Center for Stem Cell Medical Translational Engineering, Shijiazhuang 050017, Hebei Province, China
Corresponding author: Ma Jun, MD, Associate professor, Hebei Medical University-National University of Ireland Galway Stem Cell Research Center, Shijiazhuang 050017, Hebei Province, China; Hebei Research Center for Stem Cell Medical Translational Engineering, Shijiazhuang 050017, Hebei Province, China; Department of Anatomy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, Hebei Province, China
Co-corresponding author: Cui Huixian, MD, Professor, Hebei Medical University-National University of Ireland Galway Stem Cell Research Center, Shijiazhuang 050017, Hebei Province, China; Hebei Research Center for Stem Cell Medical Translational Engineering, Shijiazhuang 050017, Hebei Province, China; Department of Anatomy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, Hebei Province, China

Abstract

OBJECTIVE: Mesenchymal stem cells transplantation is a promising treatment for spinal cord injury. Most of studies focused on small animal models. In large animal experiments, there are still controversies in selection of stem cells and therapeutic effect. This article analyzed the effects of mesenchymal stem cells on related indicators of spinal cord injury in large animal models and evaluated their effects on spinal cord injury repair.

METHODS: PubMed, Cochrane, OVID, Web of Science and CNKI databases were retrieved before December 2019. A series of studies on the treatment of spinal cord injury in large animal models by mesenchymal stem cells were collected. According to the inclusion criteria, two researchers independently completed literature screening, data extraction and methodological quality evaluation, and meta-analysis was conducted with Stata16.0.

RESULTS: A total of 10 articles were included. The results of meta-analysis showed that: (1) Mesenchymal stem cells could significantly improve motor function after spinal cord injury [I^2=97.73%, *MD*=3.94, 95%*CI* (2.15, 5.72), $P < 0.01$]. Based on cell source, observation time, intervention phase, transplantation mode and graft type subgroup analysis showed that motor scores of bone marrow mesenchymal stem cells group, non-bone marrow mesenchymal stem cells group, short-term observation (< 2 months) group, long-term observation (≥ 2 months) group, acute stage group, non-acute stage group, cells group and allograft group were significantly higher than those of control group ($P < 0.01$). There was no significant difference in motor score between scaffold group and control group ($P > 0.05$). (2) The injury size in mesenchymal stem cells treatment group was significantly smaller than that in the control group [I^2=98.05%, *MD*=−1.00, 95%*CI* (−1.95, −0.04), *P*=0.04]. (3) There was no significant difference in the relative expression of glial fibrillary acidic protein between the mesenchymal stem cells treatment group and the control group [I^2=99.48%, *MD*=80.61, 95%*CI* (−27.48, 188.70), *P*=0.14].

CONCLUSION: Mesenchymal stem cells transplantation has a significant improvement on the motor function and injury repair of spinal cord injury in large animals, and the security is high. Due to the limitation of the quality of the included literature, the above conclusions need to be validated by high-quality and large-sample randomized controlled trials.

Key words: stem cells; mesenchymal stem cells; spinal cord injury; large animals; experiment; motor function; protein; meta-analysis

Funding: *the High-Level Talent Funding Project in Hebei Province, No. B2019005009 (to KDS); the Youth Program of National Natural Science Foundation of China, No. 81801278 (to MJ); the General Program of Natural Science Foundation of Hebei Province, No. H2019206637 (to MJ)*

How to cite this article: *KONG DS, HE JJ, FENG BF, GUO RY, AMPONSAH AE, LÜ F, ZHANG SH, ZHANG XL, MA J, CUI HX. Efficacy of mesenchymal stem cells in the spinal cord injury of large animal models: a meta-analysis. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2021;25(7):1142-1148.*

0 引言 Introduction

脊髓损伤是由外界直接或间接因素导致的，在损害的相应节段出现运动、感觉丧失和肌张力异常及病理反射等异常改变，给患者及其整个家庭带来极其沉重的精神心理及经济压力[1]。权威研究报道，2016 年全球脊髓损伤患者新增 27 000 000 例，国内新增脊髓损伤患者 4 339 654 例，主要由于高处坠落和交通意外造成[2]。目前脊髓损伤的常规治疗方法主要有手术治疗、牵引固定非手术治疗、激素神经营养物质等药物治疗，但是效果不佳。那么，如何实现神经轴突的再生和脊髓功能的重建，仍是脊髓损伤治疗中面临的最大挑战。近年来，以干细胞为代表的细胞生物技术在脊髓损伤修复中发挥巨大作用，具有独特优势，引发科研人员与医务工作者的广泛关注，已经开展大量临床前实验。中国已有 3 个临床备案和 4 个中国临床中心注册的干细胞治疗脊髓损伤项目，其干细胞种类均为间充质干细胞，间充质干细胞治疗脊髓损伤表现出了巨大的潜力和应用前景，为脊髓损伤患者的运动、感觉功能重建带来了新的曙光。

间充质干细胞是目前最具有应用前景的一类干细胞，自体 / 异体移植免疫排异反应极低，并且制备技术成熟、生产监管要求明确。间充质干细胞具有多种生物学功能和广泛的组织再生修复潜能[3]，可以归巢迁移到损伤区域并与受损组织结合[4]，通过分泌各种神经营养因子、细胞因子和 / 或通过靶细胞上的特定受体激活信号通路，介导免疫调节、抗凋亡和抗炎作用。多项研究证实间充质干细胞具有促进脑和脊髓神经组织再生能力，支持间充质干细胞具有治疗神经退行性疾病和创伤性脑脊髓损伤的潜力[5-6]。

目前，间充质干细胞疗法的临床前研究通常使用小型实验动物 (大鼠、小鼠) 作为模型，检测受损组织的结构和功能恢复情况。然而，小动物和人类种属差异大，小动物实验结果不能准确反映与预测人类研究结果，因而对临床试验的支撑、指导效果不甚理想[7]。因此，科研人员将目光转向非人灵长类动物和其他大型动物 (如猪、狗和猴)，将其作为中间临床前模型，承启啮齿类小动物模型结果与人类临床试验，期待获得更为准确的实验数据支持，研发更有效的治疗方法，为揭示疾病机制、药物开发、生物组织工程以及电生理和康复研究提供更广阔的平台[8]。因此，该研究筛选了应用大动物模型开展间充质干细胞治疗脊髓损伤的相关文献，并在此基础上进行数据提取、结果评价和 Meta 分析。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 文献检索 计算机检索 PubMed、Cochrane、OVID、Web of Science 和 中国知网，检索时限从建库起至 2019 年 12 月，检索关于间充质干细胞治疗大动物脊髓损伤的系列研究。采取主题词与自由词组合的方式检索，PubMed 英文检策略：((myelopathy, traumatic) OR (injuries, spinal cord) OR (post-traumatic myelopathy) OR (spinal cord contusion) OR (spinal cord laceration) OR (spinal cord transection) OR (spinal cord trauma) OR

(contusion, spinal cord) OR (contusions, spinal cord) OR (cord contusion, spinal) OR (cord contusions, spinal) OR (cord injuries, spinal) OR (cord injury, spinal) OR (cord laceration, spinal) OR (cord lacerations, spinal) OR (cord transection, spinal) OR (cord transections, spinal) OR (cord trauma, spinal) OR (cord traumas, spinal) OR (injury, spinal cord) OR (laceration, spinal cord) OR (lacerations, spinal cord) OR (myelopathies, post-traumatic) OR (myelopathies, traumatic) OR (myelopathy, post-traumatic) OR (post traumatic myelopathy) OR (post-traumatic myelopathies) OR (spinal cord contusions) OR (spinal cord injury) OR (spinal cord laceration) OR (spinal cord transections) OR (spinal cord traumas) OR (transection, spinal cord) OR (transections, spinal cord) OR (trauma, spinal cord) OR (traumas, spinal cord) OR (traumatic myelopathies) OR (traumatic myelopathy)) and ((MSC) OR (mesenchymal stem cell)) and ((swine) OR (monkey) OR (canine) OR (dog) OR (primate) or (pig))；中文检索词："脊髓损伤""间充质干细胞""猪""狗""犬""猴"。

1.2 纳入与排除标准

1.2.1 研究类型 随机对照实验 (randomized controlled trials，RCTs) 或半随机对照实验 (quasi-RCTs)，发表语种为中文或者英文，无论是否使用盲法。

1.2.2 纳入标准 研究对象为脊髓损伤的大动物模型，包括犬类、猪、猿类、猴子等。干预措施为实验组采取间充质干细胞治疗，包括骨髓间充质干细胞、脐带间充质干细胞、脂肪间充质干细胞等，对照组采取空白对照、生理盐水或 PBS 治疗。

1.2.3 排除标准 ①非中英文文献；②重复发表的文献；③只有摘要无全文的文献；④未设置对照组或数据不全；⑤文献统计学方法使用错误；⑥实验动物为非大动物，如小鼠、大鼠、兔等。

1.3 文献质量评价 由 2 名研究者独立按照纳入和排除标准筛选文献，并对纳入研究的基线资料进行提取整理，包括纳入研究的文献题目、第一作者、发表时间、动物种类、干预分组、每组动物例数、研究类型、评价时间、结局指标。文献资料提取完成后由 2 名研究者交叉核对，对于有分歧的纳入研究，交给第 3 名研究者协助判定。纳入研究的偏倚风险评价采用 SYRCLE 动物实验偏倚风险评估工具 (SYRCLE' s risk of bias tool for animal studies) 推荐的 10 个条目进行评价 [9]，评估结果以"是""否"和"不确定"分别代表低偏倚风险、偏倚风险和不确定偏倚风险。

1.4 结局指标 有效性指标：① Olby 运动评分；②损伤部位面积；③损伤部位胶质纤维酸性蛋白表达。

1.5 统计学分析 采用 Stata 16.0 软件进行数据提取及 Meta 分析。术后运动评分、损伤部位大小和胶质纤维酸性蛋白的表达量为连续性变量，采用均数差 (mean difference，MD) 或标准化均数 (standard mean difference，SMD) 及 95%*CI* 表示。采用 *Q* 检验和 I^2 值判断研究间异质性，当异质性较小时 ($P > 0.1$，$I^2 < 50\%$)，采用固定效应模型；若异质性较大时 ($P \leqslant 0.1$，$I^2 \geqslant 50\%$) 采用随机效应模型。$P < 0.05$ 时两组间差异有显著性意义。发表偏倚利用基于回归的 Egger 检验，$P \geqslant 0.05$ 时，无发表偏倚，同时进行敏感性分析。

2 结果 Results

2.1 检索结果分析 根据检索策略，共检索出相关文献 542 篇，通过 NoteExpress 软件排除重复文献 44 篇，剩下的文献通过阅读题目、摘要和全文，排除不符合要求文献 488 篇，最终纳入文章 10 篇 [10-19]，详见**图 1**。

2.2 基线分析及质量评价 共纳入 10 个研究，共 108 只动物，治疗组 61 只，对照组 47 只。8 个研究对象为比格犬 [10-12，14-18]，其余 2 个研究对象分别为小型猪和恒河猴 [13，19]，均为大动物脊髓损伤模型，3 个研究运用脂肪间充质干细胞，1 个研究运用脐带间充质干细胞，其余 6 个研究运用骨髓间充质干细胞，纳入研究的基线特征见**表 1**，根据 SYRCLE 动物实验偏倚风险评估工具进行质量评价，见**表 2**。

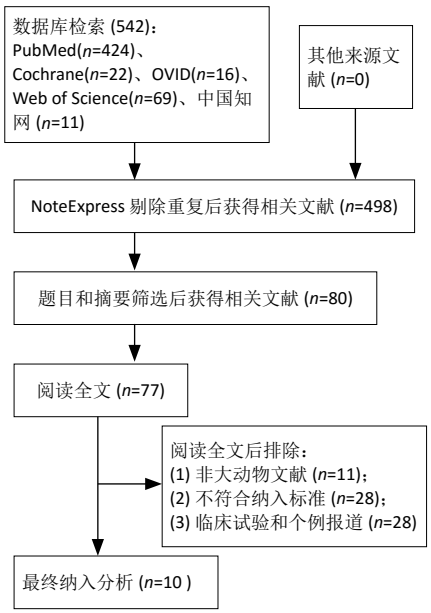


图 1 | 文献筛选流程图

Figure 1 | Flow chart of the literature screening

2.3 Meta 分析结果

2.3.1 运动功能的 Meta 分析 5 个研究报告了脊髓损伤后间充质干细胞对大动物运动功能的影响 [10-12，16，18]，运用 Olby 评分表进行评价，其中 1 个研究包含自体移植和异体移植 2 个实验组 [18]，因此对运动功能的分析包括 6 个研究，合计标本量为 84 只动物，实验组和对照组各 42 只。各研究结果之间异质性较高，选择随机效应模型，结果显示间充质干细胞治疗组的运动评分明显高于对照组 [I^2=97.73%，*MD*=3.94，95%*CI* (2.15，5.72)，$P < 0.01$]，见**图 2**。根据不同细胞来源、观察时间、移植时机、移植方式和移植类型分不同的亚组进行分析。结果显示：①在细胞来源方面，骨髓间充质干细胞和非骨髓间充质干细胞来源组的运动评分均明显高于对照组，差异有显著性意义，*MD*=4.23 和 3.58，95%*CI* 分别为 1.53−6.93，0.84−6.33；②在观察时间方面，短时间观察 (< 2 个月) 和长时间观察 (≥ 2 个月) 的间充质干细胞治疗组的运动功能评分均高于对照组；③在大动物模型急性期进行移植组运动评分高于对照组 [*MD*=3.09，95%*CI* (0.59−5.59)，$P < 0.01$]，同样，在非急性期移植组也有相似结果，运动评分明显高于对照组 [*MD*=4.55，95%*CI* (1.91−7.19)，$P < 0.01$]；④与支架复合移植组运动评分相较对

表 1 ｜纳入研究的基本特征

Table 1 ｜ General characteristics of the included studies

纳入文献	动物品类	数量（实验组 / 对照组）	造模方法	损伤位置	细胞数量（个）	细胞来源	移植类型	移植时机（损伤后）	移植方式	随访	结局指标
WU 等 [10] (2018)	比格犬	3/3	完全横断法	T_9–T_{10}	5×10^5	骨髓间充质干细胞	同种异体移植	即刻	复合支架	6.5 个月	①
LIU 等 [11] (2019)	比格犬	8/8	完全横断法	T_8	1×10^6	骨髓间充质干细胞	异种移植	3 个月	复合支架	4 个月	①
KIM 等 [12] (2015)	比格犬	4/4	球囊压迫法	L_1	3×10^7	脂肪间充质干细胞	同种异体移植	即刻	静脉注射	7 d	① ② ③
ZURITA 等 [13] (2008)	小型猪	7/3	钳夹法	T_{12}	1.5×10^7	骨髓间充质干细胞	自体移植	3 个月	原位注射	3 月	①
LEE 等 [14] (2015)	比格犬	4/4	球囊压迫法	L_1	1×10^7	脂肪间充质干细胞	同种异体移植	3 周	原位注射	8 周	① ③
PARK 等 [15] (2012)	比格犬	4/4	球囊压迫法	L_1	1×10^7	脂肪间充质干细胞	同种异体移植	1 周	复合支架	8 周	① ② ③
PARK 等 [16] (2011)	比格犬	3/3	球囊压迫法	L_1	1×10^6	脐带间充质干细胞	同种异体移植	12 h	原位注射	7 周	① ②
GABR 等 [17] (2015)	比格犬	4/4	钳夹法	L_4	2×10^6	骨髓间充质干细胞	同种异体移植	2 周	原位注射	16 周	① ②
JUNG 等 [18] (2009)	比格犬	10/10	球囊压迫法	T_{13}–L_2	1×10^7	骨髓间充质干细胞	异体 / 自体移植	1 周	原位注射	5 周	① ③
刘晓刚等 [19] (2013)	恒河猴	4/4	脊髓打击法	T_9–T_{10}	3.0×10^6/kg	骨髓间充质干细胞	自体移植	10 d	原位注射	—	③

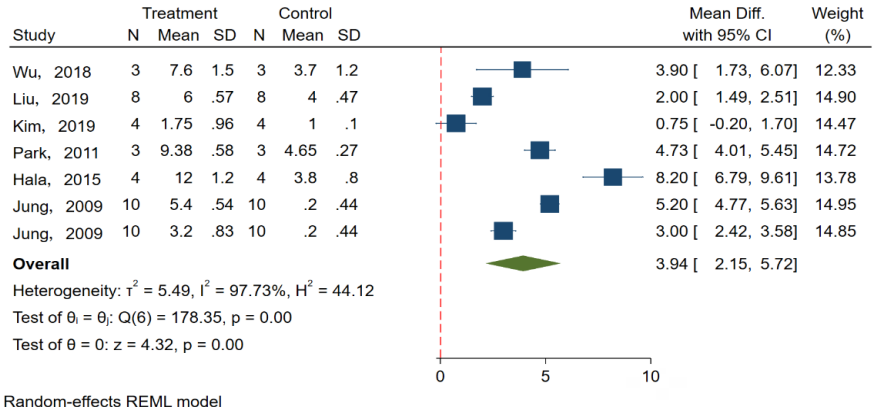
表注：①运动评分；②胶质纤维酸性蛋白的表达；③损伤部位大小

表 2 ｜纳入研究的偏倚风险评价结果

Table 2 ｜ Results of the assessment of bias risk in the included studies

纳入文献	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩
WU 等 (2018)[10]	不确定	是	不确定	不确定	不确定	是	是	否	否	否
LIU 等 (2019)[11]	不确定	是	不确定	不确定	不确定	是	是	否	否	否
KIM 等 (2015)[12]	不确定	是	不确定	不确定	不确定	不确定	是	否	否	否
ZURITA 等 (2008)[13]	不确定	是	不确定	不确定	不确定	不确定	是	否	否	否
LEE 等 (2015)[14]	不确定	是	不确定	不确定	不确定	不确定	是	否	否	否
PARK 等 (2012)[15]	不确定	是	不确定	不确定	不确定	不确定	是	否	否	否
PARK 等 (2011)[16]	不确定	是	不确定	不确定	不确定	不确定	是	否	否	否
GABR 等 (2015)[17]	不确定	是	不确定	不确定	不确定	不确定	是	否	否	否
JUNG 等 (2009)[18]	不确定	是	不确定	不确定	不确定	不确定	不确定	否	否	否
刘晓刚等 (2013)[19]	不确定	是	不确定	不确定	不确定	不确定	不确定	否	否	否

表注：①分配序列产生或应用是否充分；②各组基线是否相同；③分配隐藏是否充分；④实验过程中动物是否被随机安置；⑤是否对研究者施盲；⑥结果评价中动物是否经过随机选择；⑦是否对结果评价者采用盲法；⑧不完整的数据是否被报告；⑨研究报告是否与选择性结果报告无关；⑩是否不存在其他偏倚



图注：间充质干细胞治疗组的大动物运动功能评分显著高于对照组 [I^2=97.73%，*MD*=3.94，95%*CI* (2.15，5.72)，*P* < 0.01]

图 2 ｜运动功能的 Meta 分析结果

Figure 2 ｜ Meta-analysis results of motor function

照组，差异无显著性意义 [*MD*=2.64，95%*CI* (0.88–4.41)，*P*=0.10]，而单纯细胞移植组的运动评分明显高于对照组 [*MD*=4.35，95%*CI*(1.98–6.72)，*P* < 0.01]；⑤在移植类型方面，因 5 个研究为异种移植，异种移植组的运动评分高于对照组 [*MD*=4.28，95%*CI* (2.30–6.26)，*P* < 0.01]，而同种移植只有 1 项研究，无其他统计结果。具体数据详见**表 3**。

2.3.2　损伤部位大小的 Meta 分析　5 个研究报告了造模后间充质干细胞对大动物模型脊髓损伤部位大小的影响 [13-15, 18-19]，合计标本量为 54 只动物，实验组为 29 只，对照组 25 只。各研究结果之间异质性较高，选择随机效应模型，结果显示间充质干细胞治疗组的损伤尺寸明显小于对照组 [I^2=98.05%，*MD*=−1.00，95%*CI* (−1.95，−0.04)，*P*=0.04]，见**图 3**。

2.3.3　胶质纤维酸性蛋白表达水平的 Meta 分析　4 个研究报告了间充质干细

胞对大动物脊髓损伤后组织中胶质纤维酸性蛋白的表达[12，14-16]，运用 Western blot 或 PCR 检测损伤部位中胶质纤维酸性蛋白的相对表达量。合计标本量为 30 只动物，实验组和对照组分别为 15 只。各研究结果之间异质性较高，选择随机效应模型，结果显示间充质干细胞治疗组与对照组之间胶质纤维酸性蛋白相对表达量差异无显著性意义 [I^2=99.48%，*MD*=80.61，95%*CI* (−27.48，188.70)，*P*=0.14]，见图 **4**。

2.3.4　发表偏倚的检测　运动功能分析中纳入 6 个研究，发表偏倚检验结果：*t*=0.60，*P*=0.546，不存在发表偏倚；损伤部位大小分析中纳入 5 个研究，发表偏倚检验结果：*t*=−3.3，*P*=0.046，存在发表偏倚；胶质纤维酸性蛋白表达水平分析中纳入 4 个研究，发表偏倚检验结果：*t*=−0.81，*P*=0.501，不存在发表偏倚。

2.3.5　敏感性分析　对异质性大的结局指标通过逐一删除研究、转换效应模型等方法进行敏感性分析，I^2 差别不明显，考虑与研究纳入模型的疾病严重程度、方法学等方面相关。

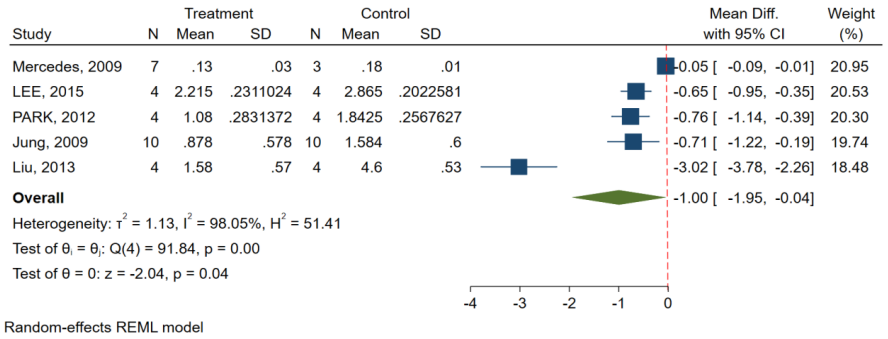
3　讨论　Discussion

脊髓损伤是脊柱外科一种常见的创伤性疾病，导致神经元死亡、功能性运动和感觉丧失，通常会引起损伤面以下躯体感觉与功能的严重障碍，丧失生活自理能力。脊髓损伤具有发病率高、治愈率低、致残率高、并发症多的特点，给患者、家庭、社会带来沉重的医疗压力与经济负担。脊髓损伤病理生理过程中最关键的阶段是继发性损伤，即随后发生的不受控制的破坏性级联反应，伴随着异常的分子信号、炎症、血管变化和继发性细胞功能障碍。脊髓损伤后的面积或体积可直接代表损伤程度，而脊髓损伤运动功能评分则标志着功能损伤程度，且不同类型动物具有不同的评分系统，如评价小鼠的 BMS 评分系统[20]、大鼠的 BBB 评分系统[21]、大动物的 Obly 评分等[11]。胶质纤维酸性蛋白基因激活和蛋白诱导在中枢神经损伤和神经退行性变后星形胶质细胞活化中起着重要作用。在创伤性脑损伤和脊髓损伤之后，胶质纤维酸性蛋白及其分解产物迅速释放，使其成为此类神经系统疾病的有力候选生物标记物[22]。ROPPER 等[23]在脊髓损伤后通过免疫荧光和 Western blot 测量损伤部位胶质纤维酸性蛋白的表达水平，结果显示间充质干细胞和支架组在移植早期可以明显减低胶质纤维酸性蛋白的表达，与损伤部位星形胶质增生状态和严重程度相关。

表 3 ｜间充质干细胞对脊髓损伤后运动功能改善的亚组分析

Table 3 ｜ Subgroup analysis of effect of mesenchymal stem cells on motor function recovery after spinal cord injury

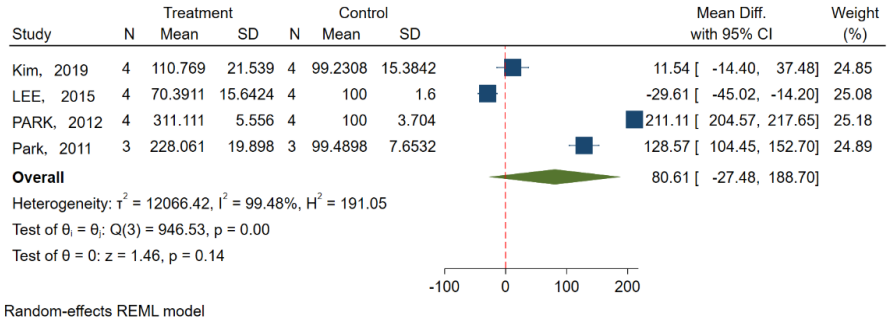
亚组	效应模型	I^2 值 (%)	效应量 (95% *CI*)	*P* 值
细胞来源				
骨髓间充质干细胞	随机效应模型	97.53	4.23 (1.53−6.93)	0.00
非骨髓间充质干细胞	随机效应模型	97.98	3.58 (0.84−6.33)	0.00
观察时间				
< 2 个月	随机效应模型	98.00	3.01 (0.50−5.52)	0.00
≥ 2 个月	随机效应模型	96.72	4.86 (2.10−7.26)	0.00
移植时机				
急性期	随机效应模型	93.52	3.09(0.59−5.59)	0.00
非急性期	随机效应模型	98.72	4.55(1.91−7.19)	0.00
移植方式				
与支架复合	随机效应模型	64.04	2.64(0.88−4.41)	0.10
单纯细胞移植	随机效应模型	98.35	4.35(1.98−6.72)	0.00
移植类型				
同种移植	随机效应模型	97.42	4.28(2.30−6.26)	0.00
异种移植	随机效应模型	–	2.00(1.49−2.51)	–



图注：间充质干细胞治疗组的损伤尺寸显著小于对照组 [I^2=98.05%，*MD*=−1.00，95%*CI* (−1.95，−0.04)，*P*=0.04]

图 3 ｜损伤部位大小的 Meta 分析结果

Figure 3 ｜ Meta-analysis results of injury size after spinal cord injury



图注：间充质干细胞治疗组与对照组之间胶质纤维酸性蛋白相对表达量差异无显著性意义 [I^2=99.48%，*MD*=80.61，95%*CI* (−27.48，188.70)，*P*=0.14]

图 4 ｜胶质纤维酸性蛋白表达的 Meta 分析结果

Figure 4 ｜ Meta-analysis results of glial fibrillary acidic protein levels

间充质干细胞的应用是最重要、最有前途的治疗策略之一[6]。在大鼠脊髓损伤模型中，间充质干细胞可促进抑炎型 M2 巨噬细胞增多，维持促进再生的局部环境，进而促进修复[24]，同时可抑制肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 1β 的表达，增强白细胞介素 10、脑源性神经营养因子和胶质细胞源性神经营养因子的表达，具有抗炎和营养神经的作用，改善损伤引起的疼痛[25]。

然而，临床前研究主要集中在小动物模型上，大量啮齿类(如大鼠、小鼠)动物实验表明间充质干细胞可以改善脊髓损伤的功能修复[26-32]。虽然啮齿动物是研究脊髓损伤机制和治疗发展的宝贵模型，但大型哺乳动物，特别是非人灵长类动物，与人类的体型、神经解剖学和生理学更为相似，其结果更为可靠。该研究聚焦于大动物脊髓损伤模型，分析间充质干细胞的疗效，为临床转化提供更可靠的依据。实验研究表明，比格犬急性脊髓损伤后给予间充质干细胞治疗，免疫荧光发现间充质干细胞可分化为 NF160 和 NeuN 阳性的神经元细胞，进而提高运动评分，改善运动功能[30]。

共纳入 10 个研究进行 Meta 分析，以运动评分、损伤部位面积和胶质纤维酸性蛋白的表达水平作为评价指标。在运动功能修复方面，结果显示间充质干细胞可以明显提高脊髓损伤后运动评分 [95%*CI* (2.15，5.72)，$P < 0.01$]，这与既往在小动物实验的结果一致。这可能与间充质干细胞释放各种神经营养因子有关，提供适当的微环境，从而促进功能恢复，绝大多数研究表明间充质干细胞能在一定程度上改善运动功能。根据不同细胞来源分类进行亚组分析表明无论骨髓间充质干细胞或非骨髓间充质干细胞均可改善运动功能，但二者功能评分的 95%*CI* 相近 [(1.53−6.93) *vs*. (0.84−6.33)]。有研究将脂肪间充质干细胞和骨髓间充质干细胞移植治疗中、重度小鼠脊髓损伤模型，结果显示在中度损伤模型中，脂肪间充质干细胞促进 CD31 阳性血管内皮细胞增殖，PKC 阳性皮质脊髓束轴突增多，进而增加神经保护作用，促进功能恢复，并且优于骨髓间充质干细胞；而 2 种干细胞在重度损伤模型治疗中没有明显作用[33]。RYU 等[30]将来源于脂肪、骨髓、华通胶的间充质干细胞用于治疗比格犬脊髓损伤，结果显示不同来源间充质干细胞对运动功能均有改善，明显优于对照组，并且脐带间充质干细胞具有更明显的神经保护作用和炎症抑制作用。在移植时机亚组中，间充质干细胞对急性期和非急性期脊髓损伤都有良好的作用，在非急性期的优势更为明显，这可能是在脊髓损伤的继发损伤中，间充质干细胞发挥了更大的作用[8]。此外，该研究显示单纯细胞移植治疗对运动功能的修复作用更优，与 LI 等[34]认为干细胞复合胶原支架效果更佳不符。这可能与造模方式有关，复合支架移植组多为脊髓横断法造模，脊髓损伤较重，而单纯移植组多为脊髓压迫或钳夹法造模，需更多相关研究证实。

在对局部脊髓损伤部位的修复作用分析中，结果显示间充质干细胞可明显促进损伤修复，减少损伤面积 [95%*CI* (−1.95，−0.04)，P=0.04]，这一结果与运动功能的改善相一致。间充质干细胞移植后可减少损伤部位炎性因子的表达和增加神经营养因子的表达[35]，MUNISWAMI 等[36]发现间充质干细胞移植后可表达多类神经细胞标记物，如 MAP2、NF、NeuN，从而向神经方向分化，这些作用都可促进损伤修复，减小损伤面积。胶质纤维酸性蛋白为炎症引发反应性星形胶质细胞增多的标志物，间充质干细胞注射可以减少损伤部位胶质纤维酸性蛋白的表达[25，37-38]，在大鼠脊髓损伤模型中给予人间充质干细胞和支架治疗组的表达量最低[23]。KRUPA 等[33]研究显示脐带间充质干细胞治疗大鼠脊髓损伤可明显减低胶质纤维酸性蛋白在基因水平的表达，减少胶质瘢痕化。但该研究中间充质干细胞组与对照组相比较，胶质纤维酸性蛋白的表达水平并无明显差异，可能与分析中纳入研究较少有关。

此次研究的不足之处：①目前尚缺乏规范的动物实验 Meta 分析的质量评价体系，该研究文献质量评价无标准定量；②纳入文献的部分结局指标存在发表偏倚，敏感性分析结果显示模型稳定性稍差，可能由于研究样本量太少所致，若想获得研究结果的可靠性，仍需大样本、高质量的文献研究纳入分析。

综上所述，通过 Meta 分析表明，间充质干细胞可以有效改善大动物脊髓损伤运动功能，促进损伤部位修复，对进一步开展临床研究有指导意义。基本可以肯定，间充质干细胞在脊髓损伤的治疗中发挥着积极、有效的作用，今后有待开展临床试验对安全性、有效性进行进一步评估。但受纳入研究质量所限，该研究结论尚需更多高质量的研究加以验证。

致谢：特别感谢河北医科大学流行病与卫生统计学教研室张晓琳老师的指导和帮助。

作者贡献：实验设计为孔德胜、马隽，实验实施为孔德胜、何晶晶，冯宝峰，实验评估为郭瑞云、张舒涵，资料收集为吕飞、Asiamah Ernest Amponsah，统计指导张晓琳，论文校正为马隽、崔慧先。

经费支持：该文章接受了“河北省高层次人才资助项目 (B2019005009)” “国家自然科学基金青年项目 (81801278)”“河北省自然科学基金面上项目 (H2019206637)”的资助。所有作者声明，经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突：文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

写作指南：研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南)。

文章查重：文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审：文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

生物统计学声明：文章统计学方法已经通过河北医科大学生物统计学专家审核。

文章版权：文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明：这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名－非商业性使用－相同方式共享 4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

[1] BADHIWALA JH, WILSON JR, FEHLINGS MG. Global burden of traumatic brain and spinal cord injury. Lancet Neurol. 2019;18(1): 24-25.

[2] GBD 2016 TRAUMATIC BRAIN INJURY AND SPINAL CORD INJURY COLLABORATORS. Global, regional, and national burden of traumatic brain injury and spinal cord injury, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. Lancet Neurol. 2019;18(1):56-87.

[3] 刘克勋，霍洪军，赵岩，等. 间充质干细胞移植治疗脊髓损伤的进展及发展趋势 [J]. 中国组织工程研究，2018,22(21):3410-3416.

[4] NITZSCHE F, MÜLLER C, LUKOMSKA B, et al. Concise Review: MSC Adhesion Cascade-Insights into Homing and Transendothelial Migration. Stem Cells. 2017;35(6):1446-1460.

[5] MUKHAMEDSHINA YO, AKHMETZYANOVA ER, KOSTENNIKOV AA, et al. Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cell Application Combined With Fibrin Matrix Promotes Structural and Functional Recovery Following Spinal Cord Injury in Rats. Front Pharmacol. 2018;9:343.

[6] COFANO F, BOIDO M, MONTICELLI M, et al. Mesenchymal Stem Cells for Spinal Cord Injury: Current Options, Limitations, and Future of Cell Therapy. Int J Mol Sci. 2019;20(11):2698.

[7] KWON BK, STREIJGER F, HILL CE, et al. Large animal and primate models of spinal cord injury for the testing of novel therapies. Exp Neurol. 2015;269:154-168.

[8] ALIZADEH A, DYCK SM, KARIMI-ABDOLREZAEE S. Traumatic Spinal Cord Injury: An Overview of Pathophysiology, Models and Acute Injury Mechanisms. Front Neurol. 2019;10:282.

[9] HOOIJMANS CR, ROVERS MM, DE VRIES RB, et al. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. BMC Med Res Methodol. 2014;14:43.

[10] WU GH, SHI HJ, CHE MT, 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.

[11] LIU D, LI X, XIAO Z, et al. Different functional bio-scaffolds share similar neurological mechanism to promote locomotor recovery of canines with complete spinal cord injury. Biomaterials. 2019;214:119230.

[12] KIM Y, JO SH, KIM WH, et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of intravenously injected adipose derived mesenchymal stem cells in dogs with acute spinal cord injury. Stem Cell Res Ther. 2015;6:229.

[13] ZURITA M, VAQUERO J, BONILLA C, et al. Functional recovery of chronic paraplegic pigs after autologous transplantation of bone marrow stromal cells. Transplantation. 2008;86(6):845-853.

[14] LEE SH, KIM Y, RHEW D, et al. Effect of the combination of mesenchymal stromal cells and chondroitinase ABC on chronic spinal cord injury. Cytotherapy. 2015;17(10):1374-1383.

[15] PARK SS, LEE YJ, LEE SH, et al. Functional recovery after spinal cord injury in dogs treated with a combination of Matrigel and neural-induced adipose-derived mesenchymal Stem cells. Cytotherapy. 2012;14(5):584-597.

[16] PARK SS, BYEON YE, RYU HH, et al. Comparison of canine umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cell transplantation times: involvement of astrogliosis, inflammation, intracellular actin cytoskeleton pathways, and neurotrophin-3. Cell Transplant. 2011;20(11-12):1867-1880.

[17] GABR H, EL-KHEIR WA, FARGHALI HA, et al. Intrathecal Transplantation of Autologous Adherent Bone Marrow Cells Induces Functional Neurological Recovery in a Canine Model of Spinal Cord Injury. Cell Transplant. 2015;24(9):1813-1827.

[18] JUNG DI, HA J, KANG BT, et al. A comparison of autologous and allogenic bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation in canine spinal cord injury. J Neurol Sci. 2009;285(1-2):67-77.

[19] 刘晓刚，邓宇斌，蔡辉，等. 控释胶质细胞源性神经营养因子与骨髓间充质干细胞源神经元样细胞移植可减少脊髓损伤后空洞形成 [J]. 中国组织工程研究，2013,17(1):68-73.

[20] BASSO DM, FISHER LC, ANDERSON AJ, et al. Basso Mouse Scale for locomotion detects differences in recovery after spinal cord injury in five common mouse strains. J Neurotrauma. 2006;23(5):635-659.

[21] BASSO DM, BEATTIE MS, BRESNAHAN JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. J Neurotrauma. 1995;12(1):1-21.

[22] YANG Z, WANG KK. Glial fibrillary acidic protein: from intermediate filament assembly and gliosis to neurobiomarker. Trends Neurosci. 2015;38(6):364-374.

[23] ROPPER AE, THAKOR DK, HAN I, et al. Defining recovery neurobiology of injured spinal cord by synthetic matrix-assisted hMSC implantation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017;114(5):E820-E829.

[24] NAKAJIMA H, UCHIDA K, GUERRERO AR, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells promotes an alternative pathway of macrophage activation and functional recovery after spinal cord injury. J Neurotrauma. 2012;29(8):1614-1625.

[25] SHIUE SJ, RAU RH, SHIUE HS, et al. Mesenchymal stem cell exosomes as a cell-free therapy for nerve injury-induced pain in rats. Pain. 2019;160(1):210-223.

[26] ABBASZADEH HA, NIKNAZAR S, DARABI S, et al. Stem cell transplantation and functional recovery after spinal cord injury: a systematic review and meta-analysis. Anat Cell Biol. 2018;51(3):180-188.

[27] FU H, HU D, ZHANG L, et al. Efficacy of Oligodendrocyte Progenitor Cell Transplantation in Rat Models with Traumatic Thoracic Spinal Cord Injury: A Systematic Review and Meta-Analysis. J Neurotrauma. 2018;35(21):2507-2518.

[28] PAPA S, VISMARA I, MARIANI A, et al. Mesenchymal stem cells encapsulated into biomimetic hydrogel scaffold gradually release CCL2 chemokine in situ preserving cytoarchitecture and promoting functional recovery in spinal cord injury. J Control Release. 2018;278:49-56.

[29] SUN G, LI G, LI D, et al. hucMSC derived exosomes promote functional recovery in spinal cord injury mice via attenuating inflammation. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2018;89:194-204.

[30] RYU HH, KANG BJ, PARK SS, et al. Comparison of mesenchymal stem cells derived from fat, bone marrow, Wharton's jelly, and umbilical cord blood for treating spinal cord injuries in dogs. J Vet Med Sci. 2012;74(12):1617-1630.

[31] YOUSEFIFARD M, NASSERI MALEKI S, ASKARIAN-AMIRI S, et al. A combination of mesenchymal stem cells and scaffolds promotes motor functional recovery in spinal cord injury: a systematic review and meta-analysis. J Neurosurg Spine. 2019;32(2):269-284.

[32] 潘晓明，吴玲玲，陈浩浩，等. 脐带间充质干细胞移植对脊髓损伤小鼠运动功能的修复和镇痛作用 [J]. 解剖学杂志，2020,43(1):3-9.

[33] KRUPA P, VACKOVA I, RUZICKA J, et al. The Effect of Human Mesenchymal Stem Cells Derived from Wharton's Jelly in Spinal Cord Injury Treatment Is Dose-Dependent and Can Be Facilitated by Repeated Application. Int J Mol Sci. 2018;19(5):1503.

[34] LI G, CHE MT, ZHANG K, et al. Graft of the NT-3 persistent delivery gelatin sponge scaffold promotes axon regeneration, attenuates inflammation, and induces cell migration in rat and canine with spinal cord injury. Biomaterials. 2016;83:233-248.

[35] TAKAHASHI A, NAKAJIMA H, UCHIDA K, et al. Comparison of Mesenchymal Stromal Cells Isolated from Murine Adipose Tissue and Bone Marrow in the Treatment of Spinal Cord Injury. Cell Transplant. 2018;27(7):1126-1139.

[36] MUNISWAMI DM, KANTHAKUMAR P, KANAKASABAPATHY I, et al. Motor Recovery after Transplantation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells in Rat Models of Spinal Cord Injury. Ann Neurosci. 2019;25(3):126-140.

[37] LIU AM, CHEN BL, YU LT, et al. Human adipose tissue- and umbilical cord-derived stem cells: which is a better alternative to treat spinal cord injury? Neural Regen Res. 2020;15(12):2306-2317.

[38] TIAN DZ, DENG D, QIANG JL, et al. Repair of spinal cord injury in rats by umbilical cord mesenchymal stem cells through P38MAPK signaling pathway. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2019;23(3 Suppl):47-53.