

脑卒中的神经干细胞移植进展

乔立艳 耿同超

脑卒中是世界范围内第二常见的死亡原因,也是成人最常见的残疾原因,世界每年因脑卒中导致 500 万患者死亡。

虽然近年来脑卒中的治疗有了实质性的进展,但是阿司匹林只能减少 1 % 的死亡率和卒中复发率,溶栓技术由于时间窗很窄,限制了临床推广。

脑卒中患者常常会有一些自发的恢复,神经康复治疗也会有利于患者的恢复,但是这些离完全恢复是有距离的,临床上迫切需要寻找新的治疗方向。

一、细胞移植用于脑卒中治疗的理论基础

神经修复学(Neurorestoratology)是一门研究神经再生、神经修补或替代、神经重塑、神经调控的神经科学亚学科^[1]。在脑组织,这门学科的一个重要基础就是证实神经干细胞的存在。神经干细胞具有分化为神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞的能力。当中枢神经系统组织发生损伤后,内源性神经干细胞可增殖、迁徙和分化,并参与神经再生和脑组织的功能的恢复。长期以来,人们认为神经细胞形成仅限于在胚胎发育及出生后早期,但是大量的证据证实,在哺乳动物成年期也存在神经干细胞,并且在两个区域内产生新的神经元,即脑室下区(Subventricular zone)和海马齿状回的颗粒下层(Subgranular layer)^[2]。而且在因急性缺血性脑卒中而死亡的患者中,发现有同侧脑室下区的细胞增生现象^[3]。脑梗死发生以后,研究表明^[4]在缺血半暗带区域有神经再生的证据,而且再生细胞主要集中在血管附近。然而,这些内源性的神经干细胞对于逆转脑卒中所带来的脑组织损害是远远不够的,因此人们把目光投向外源性神经干细胞。

二、干细胞移植治疗卒中的目的

脑卒中是指因脑局部血液循环障碍,导致脑血管闭塞和脑血管破裂形成,并引起相应神经功

能缺损的疾病,分为缺血性卒中和出血性卒中。脑卒中后,不像帕金森病等其他疾病,表现为特定的神经细胞受损,而是所有脑组织的丢失。因此对于一个特定的卒中事件来说,期望细胞移植起的作用不仅是恢复神经成分,还包括支持成分,如血管等组织。

三、治疗脑卒中移植细胞的种类来源

理想的移植细胞标准是既安全又有最大程度的疗效。对于血液骨髓重建来说,可能一个单一的细胞就足够了,但是对于脑卒中来说,需要足够数量的细胞,因此欲移植的细胞需要在体外扩增。胚胎干细胞由于伦理和安全性(如 feeder-independent 扩增和畸胎瘤形成)限制了其在临床上的应用。用于治疗脑卒中的细胞主要是神经干或祖细胞、骨髓间质细胞、脐带血细胞、永生细胞系、胚胎干细胞和嗅鞘细胞等^[5]。

四、神经干细胞治疗脑卒中的方法

目前临床上应用干细胞治疗脑梗死大致来说有两种方法:内源性和外源性。内源性是指诱导已经存在的神经干细胞移动和分化的方法,如使用集落刺激因子(granulocyte colony stimulating factor, G-CSF)。G-CSF 在恶性血液疾病常规用于为移植动员干细胞,在脑卒中动物模型中应用具有神经保护和神经再生功能。在人类脑卒中中应用 I 期临床试验中证明是安全的。但是其有效性还需进一步的试验证实^[6]。外源性是指在体外细胞培养扩增,然后将细胞通过局部(直接脑实质移植)或者系统应用(静脉、动脉、脑脊液)移植给患者。

不管移植途径如何,移植的神经干或祖细胞通过血液和脑脊液循环,沿着由脑损伤诱导的前炎性细胞因子和化学趋化因子梯度长距离移动^[6]。与此同时,这种梯度也会促进移植的干细胞和活化的上皮或室管膜细胞相互作用,最终促进移植的干细胞归巢(定位)于神经损害部位^[7]。Imitola 等^[8]将⁹⁹Tc^m给自体骨髓单个核细胞标记,给慢性缺血性脑卒中患者经动脉移植,结果显示

DOI:10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2012.02.010

作者单位:100049 北京,清华大学玉泉医院神经内科

通讯作者:耿同超, E-mail:gtchao@yeah.net

表1 脑卒中患者神经干细胞移植的临床前研究概况

临床试验期别	病例数	病变部位	细胞类型	梗死时间	移植途径	神经功能改善
I 期	12	基底节梗死	人 NT2/D1, 畸胎瘤 NPCs	(7~55) 平均 27 个月	脑实质	改善 ^[10-11]
II 期	18	缺血或出血脑梗死	人 NT2/D1, 畸胎瘤 NPCs	(1~5) 平均 3.5 年	脑实质	改善 ^[12]
I~II 期	30	大脑中动脉梗死	自体间充质祖细胞	4~9 周	静脉	改善 ^[13]
I 期	5	基底节梗死	猪胚胎细胞	平均 5 年	脑实质	无 ^[14]
II 期	20	大脑中动脉梗死	自体骨髓单个核细胞	7 d 内	动脉	改善 ^[15]
I~II 期	12	白质和(或)灰质	自体间充质干细胞	36~133 d	静脉	改善 ^[16]
I 期	6	大脑中动脉梗死	自体骨髓单个核细胞	90 d 内	动脉	— ^[17]
I~II 期	16	大脑中动脉梗死	自体间充质干细胞	7 周左右	静脉	改善 ^[18]
I 期	6	—	自体骨髓干细胞	后遗症	脑实质	改善 ^[19]
I~II 期	59	大脑中动脉	神经干祖细胞	后遗症	鞘内注射	改善 ^[20]
I~II 期	50	大脑中动脉	神经干祖细胞	后遗症	鞘内注射	改善 ^[21]

在 2 h 后细胞定位于脑(脑梗死侧优先),其他主要分布于肝、肺、脾、肾和膀胱。

五、神经干细胞的临床研究

神经干细胞是指具有分化为神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞能力的细胞。由于缺少特殊标记,大多数研究中所谓的神经干细胞,其中确实有少量神经干细胞,绝大多数是神经祖细胞或神经前体细胞,因此建议将实际研究中的神经干细胞称为神经祖细胞^[1]。在一些血液和自身免疫疾病,干细胞移植治疗是一个相对成熟的方法。在啮齿动物的缺血性脑卒中模型中,神经干细胞移植的研究众多,证实能够促进神经功能的恢复。在临床研究中,很多临床前研究已经发表,结果证实在脑卒中患者神经干祖细胞移植是安全的也是有效的^[9](表1)。

从目前的临床研究结果来看,脑卒中患者采用脑实质、静脉、动脉以及鞘内注射等方法,患者是可以耐受的,也未见明确的不良反应报道。在移植效果方面,虽然目前尚缺随机对照研究,但是对神经功能的作用起改善作用是肯定的。在移植细胞种类来看,外源性神经干细胞移植国内研究相对较多。

六、神经干细胞可能的作用机制

其修复作用依赖于以下几种因素:分泌各种

营养因子,促进血管再生,减少损伤区细胞凋亡,直接替代缺损组织,促进内源性细胞增殖和促进内源性神经形成,免疫调节,促进轴突再生等^[22]。

1. 细胞替代:当移植的神经干祖细胞迁徙到受损的脑组织附近,实时跟踪监测发现,人神经干祖细胞具有很好的存活、分散和分化,附近有不均匀分布的胶质细胞^[23],提示其有分化成为成熟神经元和胶质细胞的能力^[24]。分化后的神经元表现出宿主细胞的组织学特性,能产生神经递质,如5羟色胺、GABA、乙酰胆碱或P物质,可形成伸向细胞环境的轴突分枝。神经电生理特性与成熟的神经元非常相似。但是即使将细胞直接脑实质移植,移植的细胞仅有很少的部分分化成为宿主的组织,这些最终分化的神经元对于损伤的脑组织来说也是很少的。因此细胞移植后出现的神经恢复作用可能不是单一的细胞替代作用。

2. 直接或间接的神经保护作用:通过中和缺血事件所释放的自由基、炎性细胞因子、兴奋性毒素、脂肪过氧化物酶和其它毒性代谢产物,神经干祖细胞能促进受损脑组织的存活和重建。另外,神经干祖细胞还具有免疫调节作用,明显下调炎性脑组织的炎性T细胞和巨噬细胞^[25]。

3. 促进塑形:一旦缺血性脑损伤发生,受

累的脑组织启动修复过程, 损伤和正常的脑组织以内分泌或者旁分泌的方式释放因子, 从而诱导存活神经元的轴突芽突, 促进新突触连接形成, 恢复失去的神经功能。研究证实移植的神经干细胞不仅能够促进轴突芽突, 恢复轴突的转运功能, 也能够增加病灶同侧和对侧皮层的树突塑型。血管内皮生长因子、糖蛋白1和2以及裂缝可能是树突发芽、轴突塑形和轴突转运的媒介因子^[26]。

4. 血管修复: 血管内皮细胞和神经祖细胞之间的早就明确了, 神经干祖细胞可以促进梗死周围区域的血管细胞的增生, 也可以直接分化为内皮和血管平滑肌等血管细胞^[27]。反之, 阻断血管形成可以减少神经干细胞的神经恢复作用^[28]。

七、展望

21世纪, 全球范围内都在进行神经干细胞的临床试验, 尽管移植的数量、患者的临床状态、细胞移植的途径、有效性评价指标存在不同, 但结论是共同的, 那就是神经干细胞治疗是安全和可行的, 对于恢复患者的神经功能和改善生活能力是有益的^[29]。将来研究的重点应该是神经干细胞的种类、数量、移植窗和是否应用免疫抑制剂等。鉴于时间就是大脑, 在脑卒中, 细胞移植治疗可以结合现有的溶栓技术等急性期治疗。随着示踪技术的进展, 明确移植细胞的去向, 将有利于明确细胞移植的作用机制。另外, 通过重建基因的神经干细胞的移植, 可以把一些营养因子等直接作用到脑损伤部分, 也将进一步扩展干细胞的作用范围。

参 考 文 献

- 1 黄红云. 中枢神经修复学 [M]. 北京: 科学出版社, 2009:3-9.
- 2 Cameron HA, McKay RD. Restoring production of hippocampal neurons in old age[J]. *Nat Neurosci*, 1999, 2(10): 894-897.
- 3 Marti-Fabregas J, Rinagyera-Ris M, Gomez-Pinedo U, et al. Proliferation in the human ipsilateral subventricular zone after ischemic stroke[J]. *Neurology*, 2010, 74(5): 357-365.
- 4 Jin K, Wan X, Xie L, et al. Evidence for stroke-induced neurogenesis in the human brain. *Proc Natl Acad Sci*, 2006, 103(35):13198-13202.
- 5 Boy S, Sauerbruch S, Kraemer M, et al. Mobilisation of hematopoietic CD34⁺ precursor cells in patients with acute stroke is safe-results of an open-labeled non randomized phase I/II trial[J]. *PLoS ONE*, 2011, 6(8):e23099.
- 6 Hayashi J, Takagi Y, Fukuda H, et al. Primate embryonic stem cell-derived neuronal progenitors transplanted into ischemic brain[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2006, 26(7):906-914.
- 7 Imitola J, Raddassi K, Park KI, et al. Directed migration of neural stem cells to sites of CNS injury by the stromal cell-derived factor 1alpha/CXC chemokine receptor 4 pathway[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(52):18117-18122.
- 8 Barbosa da Fonseca LM, Gutfilen B, Rosado de Castro PH, et al. Migration and homing of bone-marrow mononuclear cells in chronic ischemic stroke after intra-arterial injection[J]. *Exp Neurol*, 2010, 221(1):122-128.
- 9 Macigaluppi M, Pluchinao S, Martino G, et al. Neural stem/precursor cells for the treatment of ischemic stroke[J]. *J Neurological Sciences*, 2008, 265(1-2):73-77.
- 10 Kondziolka D, Wechsler L, Goldstein S, et al. Transplantation of cultured human neuronal cells for patients with stroke[J]. *Neurology*, 2000, 55(4): 565-569.
- 11 Nelson PT, Kondziolka D, Wechsler L, et al. Clonal human (hNT) neuron graft for stroke therapy: neuropathology in a patient 27 months after implantation[J]. *Am J Pathol*, 2002, 160(4):1201-1206.
- 12 Kondziolka D, Steinberg GK, Wechsler L, et al. Neurotransplantation for patients with subcortical motor stroke: a phase 2 randomized trial[J]. *J Neurosurg*, 2005, 103(1):38-45.
- 13 Bang OY, Lee JS, Lee PH, et al. Autologous mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients[J]. *Ann Neurol*, 2005, 57(6):874-872.
- 14 Savitz SI, Dinsmore J, Wu J, et al. Neurotransplantation of fetal porcine cells in patients with basal ganglia infarcts: a preliminary safety and feasibility study[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2005, 20(2):101-107.
- 15 Friedrich MA, Martins MP, Araújo MD, et al. Intra-arterial infusion of autologous bone marrow mononuclear cells in patients with moderate to severe middle cerebral artery acute ischemic stroke[J]. *Cell Transplant*, 2012, 21 (Suppl 1):13-21.
- 16 Honmou O, Houkin K, Matsunaga T, et al. Intravenous administration of auto serum-expanded autologous mesenchymal stem cells in stroke[J]. *Brain*, 2011, 134 (Pt

- 6):1790-1807.
- 17 Battistella V, de Freitas GR, da Fonseca LM, et al. Safety of autologous bone marrow mononuclear cell transplantation in patients with nonacute ischemic stroke[J]. *Regen Med*, 2011, 6(1):45-52.
- 18 Lee JS, Hong JM, Moon GJ, et al. A long-term follow-up study of intravenous autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic stroke[J]. *Stem Cells*, 2010, 28(6):1099-1106.
- 19 Suarez-Monteagudo C, Hernandez-Ramirez P, Alvarez-Gonzalez L, et al. Autologous bone marrow stem cell neurotransplantation in stroke patients. An open study[J]. *Restor Neurol Neurosci*, 2009, 27(3):151-161.
- 20 陈琳, 黄红云. 细胞移植治疗脑卒中临床进展 [J]. *中国康复理论与实践*, 2010, 16(1):44-45.
- 21 张儒有, 郑永日, 胡韶山. 神经干细胞移植治疗脑卒中后遗症 50 例临床效果分析 [J]. *中国临床康复*, 2006, 10(9):138-139.
- 22 Joannides AJ, Chandran S. Human embryonic stem cells: an experimental and therapeutic resource for neurological disease[J]. *J Neurol sci*, 2008, 265 (1-2):84-88.
- 23 Daadi MM, Davis AS, Arac A, et al. Human neural stem cell grafts modify microglial response and enhance axonal sprouting in neonatal hypoxic-ischemic brain injury[J]. *Stroke*, 2010, 41(3):516-523.
- 24 Buhemann C, Scholz A, Bernreuther C, et al. Neuronal differentiation of transplanted embryonic stem cell-derived precursor in stroke lesions of adult rats[J]. *Brain*, 2006, 129(Pt 12): 3238-3248.
- 25 Einstein O, Fainstein N, Vaknin I, et al. Neural precursor attenuate autoimmune encephalomyelitis by peripheral immunosuppression[J]. *Ann Neurol*, 2007, 61(3):209-218.
- 26 Andres RH, Horie N, Slikker W, et al. Human neural stem cells enhance structural plasticity and axonal transport in the ischaemic brain[J]. *Brain*, 2011, 134(Pt 6):1777-1789.
- 27 Li M, Nishimura H, Sekiguchi H, et al. Concurrent vasculogenesis and neurogenesis from adult neural stem cells[J]. *Cir Res*, 2009, 105(9):860-868.
- 28 Taguchi A, Soma T, Tanaka H, et al. Administration of CD34⁺ cell after stroke enhanced neurogenesis via angiogenesis in a mouse model[J]. *J Clin Invest*, 2004, 114(3): 330-338.
- 29 Huang H, Chen L, Sanberg P. Cell therapy from bench to bedside translation in CNS neurorestoration era[J]. *Cell Med*, 2010, 1(1):15-46.

(收稿日期:2012-04-19)

(本文编辑:陈媛媛)

乔立艳, 耿同超. 脑卒中的神经干细胞移植进展 [J/CD]. *中华细胞与干细胞杂志:电子版*, 2012, 2(3):208-211.

作者: 乔立艳, 耿同超
作者单位: 清华大学玉泉医院神经内科, 北京, 100049
刊名: 中华细胞与干细胞杂志(电子版)
英文刊名: CHINESE JOURNAL OF CELL AND STEM CELL
年, 卷(期): 2012, 2(3)

参考文献(29条)

1. [黄红云 中枢神经修复学 2009](#)
2. [Cameron HA;McKay RD Restoring production ofhippocampal neurons in old age 1999\(10\)](#)
3. [Marti-Fabregas J;Rinagyera-Ris M;Gomez-Pinedo U Proliferation in the human ipsilateral subventricularzone after ischemic stroke 2010\(05\)](#)
4. [Jin K;Wan X;Xie L Evidence for stroke-inducedneurogenesis in the human brain 2006\(35\)](#)
5. [Boy S;Sauerbruch S;Kraemer M Mobilisation ofhematopoietic CD34+ precursor cells in patients with acutestroke is safe- results of an open-labeled non randomizedphase I/II trial 2011\(08\)](#)
6. [Hayashi J;Takagi Y;Fukuda H Primate embryonicstem cell-derived neuronal progenitors transplanted intoischemic brain 2006\(07\)](#)
7. [Imitola J;Raddassi K;Park KI Directed migrationof neural stem cells to sites of CNS injury by thestromal cell-derived factor 1alpha/CXC chemokinereceptor 4 pathway 2004\(52\)](#)
8. [Barbosa da Fonseca LM;Gutflen B;Rosado de Castro PH Migration and homing of bone-marrow mononuclearcells in chronic ischemic stroke after intra-arterialinjection 2010\(01\)](#)
9. [Macigaluppi M;Pluchinao S;Martino G Neuralstem/precursor cells for the treatment of ischemic stroke 2008\(1-2\)](#)
10. [Kondziolka D;Wechsler L;Goldstein S Transplantation of cultured human neuronal cells forpatients with stroke 2000\(04\)](#)
11. [Nelson PT;Kondziolka D;Wechsler L Clonal human\(hNT\)neron graft for stroke therapy:neuropathology in a patient 27 months after implantation 2002\(04\)](#)
12. [Kondziolka D;Steinberg GK;Wechsler L Neurotransplantation for patients with subcortical motorstroke:a phase 2 randomized trial 2005\(01\)](#)
13. [Bang OY;Lee JS;Lee PH Autologous mesenchymalstem cell transplantation in stroke patients 2005\(06\)](#)
14. [Savitz SI;Dinsmore J;Wu J Neurotransplantation offetal porcine cells in patients with basal ganglia infarcts:a preliminary safety and feasibility study 2005\(02\)](#)
15. [Friedrich MA;Martins MP;Araújo MD Intra-arterialinfusion of autologous bone marrow mononuclear cellsin patients with moderate to severe middle cerebral arteryacute ischemic stroke 2012\(Suppl1\)](#)
16. [Honmou O;Houkin K;Matsunaga T Intravenousadministration of auto serum-expanded autologousmesenchymal stem cells in stroke 2011\(Pt6\)](#)
17. [Battistella V;de Freitas GR;da Fonseca LM Safty ofautologous bone marrow mononuclear cell transplantationin patients with nonacute ischemic stroke 2011\(01\)](#)
18. [Lee JS;Hong JM;Moon GJ A long-term follow-upstudy of intravenous autologous mesenchymal stem celltransplantation in patients with ischemic stroke 2010\(06\)](#)
19. [Suarez-Monteagudo C;Hernandez-Ramirez P;Alvarez-Gonzalez L Autologous bone marrow stem cellneurotransplantation in stroke patients. An open study 2009\(03\)](#)
20. [陈琳;黄红云 细胞移植治疗脑卒中临床进展 2010\(01\)](#)
21. [张儒有;郑永日;胡韶山 神经干细胞移植治疗脑卒中后遗症50 例临床效果分析 2006\(09\)](#)
22. [Joannides AJ;Chandran S Human embryonic stem cells:an experimental and therapeutic resource for neurologicaldisease](#)

2008(1-2)

23. Daadi MM;Davis AS;Arac A Human neural stemcell grafts modify microglial response and enhance axonalsprouting in neonatal hypoxic-ischemic brain injury 2010(03)
24. Buhnemann C;Scholz A;Bernreuther C Neuronal differentiation of transplanted embryonic stem cell-derived precursor in stroke lesions of adult rats 2006(Pt 12)
25. Einstein O;Fainstein N;Vaknin I Neural precursor attenuate autoimmune encephalomyelitis by peripheral immunosuppression 2007(03)
26. Andres RH;Horie N;Slikker W Human neural stemcells enhance structural plasticity and axonal transport in the ischaemic brain 2011(Pt 6)
27. Li M;Nishimura H;Sekiguchi H Concurrent vasculogenesis and neurogenesis from adult neural stemcells 2009(09)
28. Taguchi A;Soma T;Tanaka H Administration of CD34+ cell after stroke enhanced neurogenesis via angiogenesis in a mouse model 2004(03)
29. Huang H;Chen L;Sanberg P Cell therapy from bench to bedside translation in CNS neurorestoration era 2010(01)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zhxbygbzz201203010.aspx