

# 不同类型干细胞在缺血性脑卒中治疗中的应用研究进展



陈秋竹, 李岭, 解慧琪

四川大学华西医院干细胞与组织工程研究室(成都 610041)

**【摘要】 目的** 总结不同类型干细胞移植治疗缺血性脑卒中的研究进展。**方法** 通过检索 PubMed 数据库, 总结 2000 年–2020 年不同类型干细胞治疗缺血性脑卒中的研究结果。**结果** 干细胞可经脑实质立体定向移植、外周血、鼻腔、脑脊液等途径移植治疗缺血性脑卒中, 主要通过旁分泌和细胞替代两种机制发挥治疗作用。目前对于缺血性脑卒中及其常见并发症的治疗研究主要集中在神经干细胞、胚胎干细胞及 MSCs, 这 3 类干细胞各有优缺点, 集中反映在干细胞迁移能力、存活率 and 安全性等方面。目前已有部分干细胞疗法完成了阶段性临床试验。**结论** 干细胞移植治疗缺血性脑卒中可行且具有巨大临床价值, 但在干细胞类型的选择、移植策略、迁移能力 and 存活率等方面, 仍存在一些问题亟待解决。

**【关键词】** 干细胞; 缺血性脑卒中; 移植; 干细胞疗法

## Research progress of different types of stem cells in treatment of ischemic stroke

CHEN Qiuzhu, LI Ling, XIE Huiqi

Laboratory of Stem Cell and Tissue Engineering, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu Sichuan, 610041, P.R.China

Corresponding author: XIE Huiqi, Email: xiehuiqi@163.com

**【Abstract】 Objective** To review the recent research progress of different types of stem cells in the treatment of ischemic stroke. **Methods** By searching the PubMed database, a systematic review had been carried out for the results of applying different types of stem cells in the treatment of ischemic stroke between 2000 and 2020. **Results** Stem cells can be transplanted via intracranial, intravascular, cerebrospinal fluid, and intranasal route in the treatment of ischemic stroke. Paracrine and cell replacement are the two major mechanisms of the therapy. The researches have mainly focused on utilization of neural stem cells, embryonic stem cells, and mesenchymal stem cells. Each has its own advantages and disadvantages in terms of capability of migration, survival rate, and safety. Certain stem cell therapies have completed phase one clinical trial. **Conclusion** Stem cells transplantation is feasible and has a great potential for the treatment of ischemic stroke, albeit that certain obstacles, including the selection of stem cells, transplantation strategy, migration ability, survival rate, still wait to be solved.

**【Key words】** Stem cells; ischemic stroke; transplantation; stem cell therapy

**Foundation items:** National Natural Science Foundation of China (31771065); Supported by Sichuan Science and Technology Program (2019JDR0020); 1-3-5 Project for Disciplines of Excellence, West China Hospital, Sichuan University (ZYJC18002)

脑卒中是指由各种病因引起的局灶性神经缺陷和血管性中枢系统损伤<sup>[1]</sup>, 通常发生在大脑局部血液供应突然中断或脑血管破裂、使血液溢出到脑细胞周围空间时, 同时可伴有血脑屏障(blood-

brain barrier, BBB) 功能障碍。脑卒中通常分为 3 种类型: 出血性脑卒中(约占 10%)、缺血性脑卒中(约占 87%)和蛛网膜下腔出血(约占 3%), 是造成残疾和死亡的主要原因之一<sup>[2]</sup>。根据 2018 年

DOI: 10.7507/1002-1892.202004160

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31771065); 四川省科技计划资助(2019JDR0020); 四川大学华西医院学科卓越发展 1-3-5 工程项目(ZYJC18002)

通信作者: 解慧琪, Email: xiehuiqi@163.com

《中国脑卒中防治报告》，以 2016 年综合标化患病率测算，我国 40 岁以上人群现患和曾患脑卒中者 1 242 万，发病具有明显年轻化趋势，病后存活人群中 70% 遗留不同程度残疾。其中，由于 BBB 被破坏导致的血管性水肿和出血性转化是缺血性脑卒中中较为严重的后遗症，导致临床预后较差。

缺血性脑卒中的治疗旨在恢复脑组织的血流灌注、改善循环，使用溶栓药物溶栓治疗以及血管内介入治疗是临床常用的两种治疗方法<sup>[3]</sup>。但溶栓治疗存在治疗时间窗狭窄和发生严重出血性并发症的问题。血管内介入治疗对术者急诊操作专业知识要求较高，且存在远端血栓、脑过度灌注损伤等一系列并发症<sup>[4]</sup>，限制了该治疗方法的临床应用。研究表明，干细胞移植治疗缺血性脑卒中中具有广泛的应用前景，可实现细胞替代、功能重建以及神经修复等目的<sup>[5]</sup>。本文就近年来不同类型干细胞用于缺血性脑卒中治疗研究进展进行简要综述。

## 1 研究文献与方法

### 1.1 文献来源

选取 PubMed 数据库作为文献数据的主要来源，以“neural stem cells”、“embryonic stem cells”、“mesenchymal stem cells”分别和“ischemic stroke”、“therapy”作为关键词，运用 PubMed 中的 MeSH Terms 拓展关键词（检索时间为 2020 年 3 月 29 日），出版年份限定为 2000 年—2020 年。

### 1.2 文献分析

采用计量法对筛选的文献数据进行分析，去除重复文献及相关度较小的文献，综合文献内容以及目前国内外有关干细胞疗法治疗缺血性脑卒中的研究热点及进程，总结不同类型干细胞对于缺血性脑卒中的治疗作用。

## 2 研究结果

### 2.1 针对缺血性脑卒中的干细胞疗法研究分析

在过去的 20 年中，有关缺血性脑卒中的干

胞疗法研究主要集中于胚胎干细胞（embryonic stem cells, ESCs）、神经干细胞（neural stem cells, NSCs）和 MSCs（以发表论文数量为依据，排除综述和荟萃分析）。见表 1 及图 1。

### 2.2 干细胞疗法治疗缺血性脑卒中的机制

因具有高度分化的特性，神经细胞死亡后不可再生，即具有不可逆性，相应区域会出现功能障碍。缺血性脑卒中可诱导代偿性神经发生，但这种内源性修复的效果并不理想<sup>[6]</sup>，神经细胞无法在损伤区域进行细胞替代、补充<sup>[7-9]</sup>。干细胞治疗缺血性脑卒中的机制主要包括两方面：①旁分泌作用：由于脑内血管和神经纤维以较为有序方式伴行<sup>[10]</sup>，移植的干细胞可沿血管迁移至缺血区，分泌相关的细胞因子来增强内源性修复。目前发现趋化因子基质细胞衍生因子 1 和单核细胞趋化蛋白 1，是与干细胞迁移和归巢至缺血区相关的关键因子<sup>[11-12]</sup>。移植的干细胞诱导生成的 VEGF 可促进新血管形成，还具有一定抗炎作用<sup>[8]</sup>。②细胞替代：通过向脑内移植外源性和内源性 NSCs，可刺激神经再生，替换、补充受损神经细胞，起到重建或修复受损神经网络的作用<sup>[13]</sup>。干细胞治疗缺血性脑卒中的广泛作用机制，表明缺血性脑卒中患者脑部神经网络的功能重建和修复是由多种机制介导的<sup>[14]</sup>。由于移

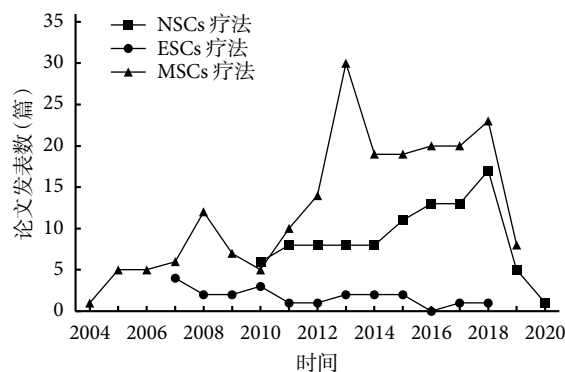


图 1 不同类型干细胞疗法历年研究情况

Fig.1 Research status of different types of stem cell therapy over recent years

表 1 缺血性脑卒中的干细胞疗法研究情况

Tab.1 Stem cell therapy research on ischemic stroke

| 检索主题<br>Search topic | 检索词<br>Search term                                                                                    | 文献总量<br>Total amount of papers |
|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| NSCs 疗法              | ((neural stem cells [MeSH Terms]) AND (ischemic stroke[MeSH Terms])) AND (therapy [MeSH Terms])       | 81                             |
| MSCs 疗法              | ((mesenchymal stem cells [MeSH Terms]) AND (ischemic stroke [MeSH Terms])) AND (therapy [MeSH Terms]) | 172                            |
| ESCs 疗法              | ((embryonic stem cells [MeSH Terms]) AND (ischemic stroke [MeSH Terms])) AND (therapy [MeSH Terms])   | 19                             |

植的干细胞存活率较低,干细胞疗法主要通过有时限的旁分泌机制来发挥作用<sup>[15]</sup>。

## 2.3 干细胞疗法在缺血性脑卒中治疗中的应用

干细胞疗法已成为缺血性脑卒中的一种实验性治疗方法<sup>[16]</sup>。越来越多证据表明,该疗法可延长缺血性脑卒中患者的药物干预时间窗、改善神经功能、减少梗死体积、促进神经细胞再生、改善患者预后<sup>[17]</sup>。目前主要有 4 种移植方法<sup>[18-20]</sup>,详见表 2。

**2.3.1 NSCs** 大量研究证明,成年哺乳动物体内仍存在神经发生。哺乳动物发育中的大脑内存在 NSCs,主要分布于脑室管膜室下区和海马齿状回的颗粒层下区,这些细胞具有自我更新、增殖和多向分化(分化为神经细胞、星形胶质细胞和少突胶质细胞等)的能力<sup>[21]</sup>。缺血性脑卒中发生后,休眠的内源性 NSCs 被激活,触发脑室管膜室下区和脑室周围器官的胶质形成和神经发生<sup>[22]</sup>,介导缺血性脑损伤修复过程。但仅靠内源性 NSCs 诱导的神经发生在神经细胞替换修复中作用有限。为克服这一不足,研究者探索了用外源性 NSCs 介导缺血性脑损伤的修复<sup>[23]</sup>。内源性和外源性 NSCs 治疗缺血性脑卒中的优缺点<sup>[9,13]</sup>详见表 3。

尽管 NSCs 对于治疗缺血性脑卒中具有较大的潜力,但其在富含活性氧、炎症因子和兴奋性氨基酸的缺血区域微环境中疗效有限<sup>[24]</sup>,从而影响了干细胞移植治疗的整体效果,因此单纯 NSCs 移植已

不能满足临床治疗需要。研究发现,对 NSCs 进行基因修饰可诱导脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)过表达,进而调节神经细胞的存活和迁移来重建或改善神经网络<sup>[24]</sup>。在闭塞右脑中动脉(occluding the right middle cerebral artery, MCAO)2 h 的脑缺血大鼠模型中,外源性 BDNF 上调了抗炎细胞因子 IL-10 及其 mRNA 的表达,同时下调了促炎症细胞因子 TNF- $\alpha$  及其 mRNA 的表达,还增加了 NF- $\kappa$ B 的 DNA 结合活性<sup>[25]</sup>。因此,通过基因修饰使 NSCs 过表达 BDNF 可有效促进缺血性脑卒中动物模型功能的恢复,改善预后<sup>[26]</sup>。然而,由于缺乏安全有效的 NSCs 基因载体,该类干细胞疗法用于临床前仍需进一步研究<sup>[24]</sup>。此外,由于需要从正常神经组织中提取自体 NSCs,为保证能够提取到足量 NSCs,可能会对患者脑组织造成重大创伤,限制了 NSCs 的应用。

**2.3.2 MSCs** MSCs 是一类来源于中胚层和神经层、不表达造血系相关标志、具有多向分化潜能的干细胞,可从骨髓、外周血、脐带、胎盘、脂肪组织中提取分离<sup>[27]</sup>,具有易获取大量细胞的优点,因而被用于缺血性脑卒中治疗研究中。

MSCs 治疗缺血性脑卒中的作用机制表现在两个方面:①免疫调节和减轻脑卒中后炎症;②定向分化为神经细胞和星形胶质细胞等,补充、替代因缺血受损的细胞<sup>[22]</sup>。体外缺氧性脑卒中神经细胞

表 2 干细胞治疗缺血性脑卒中移植方法的比较

Tab.2 Comparison of stem cells transplantation methods for ischemic stroke

| 移植方法<br>Transplantation<br>strategy | 方式<br>Method                              | 优点<br>Advantage     | 局限性<br>Limitation                                |
|-------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------|
| 脑实质立体定向<br>移植法                      | 借助立体定向装置直接将干细胞注射至脑部病变区域                   | 将干细胞准确移植到病变区域,治疗更高效 | 易对正常脑组织造成损伤;手术风险较大;患者依从性较差                       |
| 经外周血循环移植法                           | 可选用外周静脉或颈动脉注入干细胞                          | 操作简便                | 细胞需求量大,靶向性较差;经外周静脉注入的干细胞会遭到肺的拦截,需穿过 BBB 才能产生治疗效果 |
| 经脑脊液移植法                             | 以干细胞归巢性和脑脊液循环为理论基础,向患者脑室或蛛网膜下腔注入干细胞       | 操作简便,对患者损伤较小        | 多见于基础研究,临床研究较少;不适合小范围病变的治疗                       |
| 经鼻腔移植法                              | 移植的干细胞从鼻黏膜通过网状板进入中枢神经系统,并沿嗅神经通路和血管迁移到脑实质中 | 非侵入性,可绕过 BBB        | 不同类型干细胞在移植后的分布和入脑效率需要进行验证                        |

表 3 内源性和外源性 NSCs 疗法治疗缺血性脑卒中的比较

Tab.3 Comparison of endogenous and exogenous NSCs therapies for ischemic stroke

| 方法<br>Method | 作用机制<br>Mechanism                              | 优势<br>Advantage                                           | 局限性<br>Limitation                     |
|--------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| 内源性 NSCs 疗法  | 缺血性脑卒中发生后,自身神经干/祖细胞被激活并增殖介导脑损伤修复               | 解决了 NSCs 的来源问题;避免了细胞移植造成的损伤;避免了移植后的免疫排斥反应,更安全             | 缺血环境影响新生神经细胞的存活;增殖的神经细胞数量较少           |
| 外源性 NSCs 疗法  | 通过体外培养扩增外源性 NSCs 后,将其直接移植到缺血性脑卒中患者脑内,从而介导脑损伤修复 | 新生的神经细胞数量较内源性 NSCs 疗法多;有较为成熟的动物研究模型;已有较为成功的 NSCs 移植动物实验研究 | 存在同种异体移植或导致免疫排斥反应风险;细胞来源及制备存在伦理学和技术问题 |

和缺血性脑卒中动物模型研究表明, MSCs 可通过 VEGF 和 IL-6 信号通路降低 TNF- $\alpha$  和 NF- $\kappa$ B 的表达<sup>[28]</sup>。研究表明, NF- $\kappa$ B 表达量降低与 MSCs 的抗炎和抗凋亡作用有关<sup>[29]</sup>。在缺血性脑卒中小鼠模型中, MSCs 可刺激星形胶质细胞释放 IGF-1、VEGF、EGF、bFGF 等神经营养因子和生长因子<sup>[30]</sup>。最近, 研究者还发现 MSCs 移植治疗缺血性脑卒中, 不仅通过旁分泌或转分化机制, 还依赖于线粒体转移来挽救受损的脑微血管<sup>[31]</sup>。将星形胶质细胞的线粒体转移至神经细胞中, 可支持卒中后神经细胞的存活和恢复<sup>[32]</sup>。此外, 微血管密度与梗死区 MSCs 的数量无明显相关性, 提示通过转分化或细胞融合方式替代丢失的脑血管细胞, 可能不是 MSCs 疗法的主要作用机制<sup>[25]</sup>。

研究表明, MSCs 与周围细胞、星形胶质细胞以及神经细胞的相互作用, 可以促进和维持 BBB 完整性, 恢复脑神经血管单位<sup>[33]</sup>。在缺血性脑卒中小鼠模型中, 颅内注射 MSCs 可缩小梗死体积并改善小鼠行为。有研究表明, MSCs 可通过旁分泌作用影响嗜中性粒细胞的黏附和转运, 从而减弱基质金属蛋白酶 9 从嗜中性粒细胞和驻留细胞中滤出的趋势, 这可能有助于减轻短暂 MCAO 后 BBB 的破坏<sup>[34]</sup>, 对于恢复缺血性脑卒中患者的脑神经血管单位以及血管的定向生成具有重要价值<sup>[28]</sup>。

**2.3.3 ESCs** ESCs 是从早期胚胎或原始性腺中分离出来的一类细胞, 具有持久或终生更新能力, 能够分化为几乎所有的人类组织和器官; 在特定体外培养条件下, 可以诱导分化为神经系细胞<sup>[35]</sup>。2005 年, 研究者首次将小鼠 ESCs 移植到严重局灶性缺血的大鼠大脑皮层, 结果在病变腔中发现了 ESCs 衍生的神经细胞、星形胶质细胞、少突胶质细胞和内皮细胞的细胞表面标志物, 并观察到大鼠受损的大脑皮层结构修复和功能改善<sup>[36]</sup>。

将 ESCs 用于治疗缺血性脑卒中的研究较少。有研究者将衍生自人类 ESCs 的神经前体细胞应用于小鼠缺血性脑卒中模型中, 采用高效小分子 SMAD 抑制方案诱导的人 ESCs 源性神经前体细胞, 在体外可分化为电生理功能神经细胞, 移植到小鼠模型脑缺血区域后也能向神经细胞分化, 增强神经细胞再生活动<sup>[37]</sup>。另外, 人胚胎源性 NSCs 经 BDNF 预处理后, 可提高缺氧缺血性脑卒中细胞移植的存活率 and 功能恢复<sup>[38]</sup>。然而, 由于制备 ESCs 涉及破坏胚胎, 其应用存在伦理问题。

## 2.4 BBB 对干细胞移植的影响

### 2.4.1 BBB 的生物学结构特征与生理学特性

是由脑部毛细血管内皮细胞、包裹毛细血管的星形胶质细胞末端和嵌入毛细血管基底膜的周细胞形成<sup>[39-40]</sup>, 是内皮细胞的高度选择性半透膜边界, 可防止循环血液中溶质非选择性地进入神经细胞所在的中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 的细胞外液<sup>[41]</sup>。BBB 由高密度细胞组成, 包含了脑毛细血管内皮细胞、基底膜和胶质细胞轴突, 毛细血管内皮细胞之间通过钙黏蛋白、连接黏附分子、闭合蛋白以及紧密连接蛋白相连<sup>[42]</sup>。这种紧密连接结构限制了细胞因子、药物、细胞等直接通过 BBB 进行转运。

**2.4.2 BBB 在不同干细胞移植方式中对干细胞迁移的影响** 干细胞的脑内移植是向大脑输注干细胞的最常用方法, 经脑脊液注射和脑实质立体定向移植的干细胞可直接到达脑部病损区域, 不受 BBB 的影响, 但这种侵入性方法存在手术风险高、直接的组织创伤引起炎症以及免疫反应引起移植排斥等缺陷。与脑实质立体定向移植法相比, 经外周血循环移植法具有微创和方便的特点, 手术风险较低<sup>[43]</sup>, 其中静脉移植法因在给药过程中并发症较少而应用较为广泛。但 BBB 会显著限制干细胞的输送, 进而影响经外周血循环移植干细胞的生物分布及有效性<sup>[44-45]</sup>。经鼻腔移植干细胞可绕过 BBB, 直接到达 CNS 发挥靶向作用<sup>[46]</sup>。干细胞从鼻腔到脑部受损区域的迁移途径可分为两段, 即从鼻黏膜到大脑和脑内迁移通路<sup>[47]</sup>。从鼻黏膜到大脑的其中一条潜在通路是嗅神经通路, 移植的干细胞经细胞内嗅神经通路迁移首先需内化在嗅神经细胞中, 然后通过轴突流进行转运; 干细胞经细胞外嗅神经通路转运可更快进入脑脊液。经鼻腔注射后, 可在蛛网膜下腔、嗅球不同层、丘脑和大脑皮层检测到干细胞, 且经鼻腔移植的干细胞可能会避开免疫系统防御<sup>[48]</sup>。

**2.4.3 干细胞穿透 BBB 的分子机制** 脉管系统中的白细胞穿透 BBB 主要依靠多步滚动、黏附及转运来穿过 BBB 的内皮细胞, 然后通过基质金属蛋白酶介导的细胞外基质降解产生的间隙穿透内皮基底膜和周细胞<sup>[49]</sup>。而 MSCs 可以利用白细胞样的多步归巢级联反应与内皮细胞结合。BMSCs 可表达多种白细胞归巢因子, 包括趋化因子受体 (如 CXCR4、CCR2) 和细胞黏附分子 (如 CD44、整合素  $\alpha 4$  和  $\beta 1$ 、CD99), 但缺少一些关键的归巢标记分子<sup>[50]</sup>。研究发现, 在单层内皮细胞与 MSCs 的体外共培养体系中, 内皮细胞之间的紧密连接被破坏, MSCs 与内皮细胞的相互作用伴随着紧密的细胞接

触<sup>[51]</sup>。MSCs 通过血管细胞黏附分子 1、极晚期抗原 4 等黏附分子迁移穿过内皮屏障<sup>[52]</sup>。另外,研究者在 MCAO 模型中经动脉移植法注射了小鼠 BMSCs,结果发现缺血性脑卒中发生后脑血管内皮细胞呈现前黏附,有利于 MSCs 的募集, MSCs 上的 CD44 与内皮细胞上的 P-选择素和 E-选择素相互作用介导了 MSCs 的募集<sup>[53]</sup>。

**2.4.4 移植干细胞穿透 BBB 的策略** 在进行干细胞移植时,为提高干细胞从血液非侵入性输送到大脑的移植率与生物分布,重点是能够控制 BBB 的调节,以便让更多数量干细胞到达大脑中特定区域<sup>[54]</sup>。动脉内输注甘露醇可有效破坏 BBB<sup>[55]</sup>,通过改变 BBB 两侧渗透压使内皮细胞收缩,以暂时增大 BBB 中紧密连接的间隙<sup>[56]</sup>,最终使干细胞进入大脑。但是,高渗溶液会使血液中潜在细胞毒性化合物直接进入 CNS 或导致脑部水肿<sup>[57]</sup>。目前脑部药物、基因与干细胞递送研究中,运用较多的在特定大脑区域打开 BBB 的方法是经 MRI 引导下聚焦超声法<sup>[58]</sup>,该方法可作为一种通过暂时打开 BBB 将干细胞从血液递送到脑内目标区域的新策略,也有望作为干细胞移植的有创颅内手术的有效替代方法。目前研究已表明,经 MRI 引导下聚焦超声法诱导 BBB 破坏后,NSCs 顺利从血液进入脑组织<sup>[58-59]</sup>。

在病理状态下,CNS 受到损伤后,内皮细胞、星形胶质细胞等相关细胞激活可导致该紧密连接的完整性降低,并形成跨内皮细胞通道<sup>[60]</sup>,使干细胞进入大脑内部。

## 2.5 缺血性脑卒中干细胞疗法的临床研究进展

大量研究均证实,干细胞移植治疗缺血性脑卒中中能明显改善患者的神经功能,越来越多干细胞疗法进入临床研究。目前已有 50 项针对缺血性脑卒中的干细胞疗法在 ClinicalTrials.gov 注册进入临床研究,其中 16 项(截至 2020 年 4 月 10 日)已完成了阶段性临床试验(表 4)。

其中较为典型的病例是 *Lancet Neurology* 2017 年发表的采用同种异体 BMSCs 产品 MultiStem 治疗中重度缺血性脑卒中的 II 期临床试验结果<sup>[65]</sup>,结果显示脑卒中患者静脉输注 MultiStem 后耐受较好,不会产生严重副作用,治疗后炎症细胞因子显著减少,可加速恢复,且 MultiStem 的移植治疗无需组织配型或免疫抑制。目前 MultiStem 正在进行 III 期临床试验。

我国 2018 年国家重点研发计划资助项目“神经干细胞脑内精准移植治疗脑卒中的临床研究”在多家临床研究中心开展。2019 年,上海交通大学附属仁济医院也完成了“人源神经干细胞治疗缺血性卒中的单中心随机对照研究”项目备案。2019 年,解放军总医院干细胞临床研究团队在 *Stem Cell Translational Medicine* 上发表了用 NSCs 治疗缺血性脑卒中的 I 期临床研究结果,表明人源性 NSCs (NSI-566) 对于偏瘫性卒中患者运动功能恢复的治疗潜力<sup>[67]</sup>。

## 3 总结与展望

由于神经损伤具有不可逆性,药物和手术治疗

表 4 干细胞疗法治疗缺血性脑卒中的临床试验

Tab.4 Clinical trials of stem cell therapy for ischemic stroke

| 注册号<br>Registration number | 试验阶段<br>Phase | 干细胞类型<br>Type of stem cells | 纳入试验的年龄段<br>Ages eligible for study | 试验结果<br>Result                 |
|----------------------------|---------------|-----------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|
| NCT02425670                | II            | 骨髓单核细胞                      | 18 ~ 75 岁                           | 安全,但对中风无较好治疗作用 <sup>[61]</sup> |
| NCT00535197                | I / II        | 自体 CD34+ 干细胞                | 30 ~ 80 岁                           | 安全、可行 <sup>[62]</sup>          |
| NCT01678534                | II            | 同种异体脂肪 MSCs                 | 60 ~ 80 岁                           | 安全、有效 <sup>[63]</sup>          |
| NCT00473057                | I             | 骨髓单核细胞                      | 18 ~ 75 岁                           | —                              |
| NCT01297413                | I / II        | 同种异体成年 BMSCs                | >18 岁                               | 安全、行为改善                        |
| NCT02117635                | II            | 人 NSCs 产品 CTX DP            | >40 岁                               | —                              |
| NCT01287936                | I / II        | 修饰干细胞 SB623                 | 18 ~ 75 岁                           | 安全并伴随临床结果改善 <sup>[64]</sup>    |
| NCT02448641                | II            | 修饰干细胞 SB623                 | 18 ~ 75 岁                           | —                              |
| NCT03080571                | I             | 自体骨髓单核细胞                    | 18 ~ 80 岁                           | —                              |
| NCT00901381                | II            | Filgrastim                  | 40 ~ 70 岁                           | —                              |
| NCT01436487                | II            | MultiStem                   | 18 ~ 83 岁                           | 安全、有效 <sup>[65]</sup>          |
| NCT04046484                | II            | PMZ-1 620                   | 18 ~ 70 岁                           | —                              |
| NCT01501773                | II            | 自体 BMSCs                    | 18 ~ 70 岁                           | —                              |
| NCT03384433                | I / II        | MSCs 衍生的无细胞外泌体              | 40 ~ 80 岁                           | —                              |
| NCT00875654                | II            | BMSCs                       | 18 ~ 70 岁                           | —                              |
| NCT00859014                | I             | 骨髓单核细胞                      | 18 ~ 83 岁                           | 安全、可行 <sup>[66]</sup>          |

缺血性脑卒中无法获得满意结果,干细胞移植技术是具有前景的治疗策略。近年来,基于 NSCs 的脑卒中治疗策略的临床研究取得了一定成果,但不同的细胞类型、移植途径、注射剂量、梗死灶大小以及患者合并的基础疾病,均可能造成疗效差异,因此还需要大量研究寻找最佳治疗策略和移植方案。此外,目前有关缺血性脑卒中的干细胞疗法大多聚焦于动物实验和体外模型,与患者实际情况存在差异。因此,在针对缺血性脑卒中开发出新型、更准确的模型和更有效的治疗方法方面仍面临巨大挑战。

**作者贡献:**陈秋竹负责综述构思、查阅文献及撰写论文;解慧琪、李岭负责设计文章整体框架,把握内容准确、科学,修改并审核全文。

**利益冲突:**所有作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。基金项目经费支持没有影响文章观点。

## 参考文献

- Neuhaus AA, Couch Y, Hadley G, *et al.* Neuroprotection in stroke: the importance of collaboration and reproducibility. *Brain*, 2017, 140(8): 2079-2092.
- Song S, Liang L, Fonarow GC, *et al.* Comparison of clinical care and in-hospital outcomes of Asian American and White Patients with acute ischemic stroke. *JAMA Neurol*, 2019, 76(4): 430-439.
- Doeppner TR, Bähr M, Hermann DM, *et al.* Concise review: extracellular vesicles overcoming limitations of cell therapies in ischemic stroke. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(11): 2044-2052.
- Wardlaw JM, Murray V, Berge E, *et al.* Thrombolysis for acute ischaemic stroke. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014, 7(4): Cd000213.
- Liu X, Ye R, Yan T, *et al.* Cell based therapies for ischemic stroke: from basic science to bedside. *Prog Neurobiol*, 2014, 115: 92-115.
- Bernstock JD, Peruzzotti-Jametti L, Ye D, *et al.* Neural stem cell transplantation in ischemic stroke: A role for preconditioning and cellular engineering. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2017, 37(7): 2314-2319.
- Zhang J, Chopp M. Cell-based therapy for ischemic stroke. *Expert Opin Biol Ther*, 2013, 13(9): 1229-1240.
- Horie N, Pereira MP, Niizuma K, *et al.* Transplanted stem cell-secreted vascular endothelial growth factor effects poststroke recovery, inflammation, and vascular repair. *Stem Cells*, 2011, 29(2): 274-285.
- Andres RH, Horie N, Slikker W, *et al.* Human neural stem cells enhance structural plasticity and axonal transport in the ischaemic brain. *Brain*, 2011, 134(Pt 6): 1777-1789.
- Carmeliet P, Tessier-Lavigne M. Common mechanisms of nerve and blood vessel wiring. *Nature*, 2005, 436(7048): 193-200.
- 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. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(52): 18117-18122.
- Yan YP, Sailor KA, Lang BT, *et al.* Monocyte chemoattractant protein-1 plays a critical role in neuroblast migration after focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2007, 27(6): 1213-1224.
- Horie N, Hiu T, Nagata I. Stem cell transplantation enhances endogenous brain repair after experimental stroke. *Neurol Med Chir (Tokyo)*, 2015, 55(2): 107-112.
- Sinden JD, Hicks C, Stroemer P, *et al.* Human neural stem cell therapy for chronic ischemic stroke: charting progress from laboratory to patients. *Stem Cells Dev*, 2017, 26(13): 933-947.
- Aday S, Zoldan J, Besnier M, *et al.* Synthetic microparticles conjugated with VEGF<sub>165</sub> improve the survival of endothelial progenitor cells via microRNA-17 inhibition. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 747.
- Stonesifer C, Corey S, Ghanekar S, *et al.* Stem cell therapy for abrogating stroke-induced neuroinflammation and relevant secondary cell death mechanisms. *Prog Neurobiol*, 2017, 158: 94-131.
- Loubinoux I, Demain B, Davoust C, *et al.* Stem cells and motor recovery after stroke. *Ann Phys Rehabil Med*, 2014, 57(8): 499-508.
- Yamashita T, Liu W, Matsumura Y, *et al.* Novel therapeutic transplantation of induced neural stem cells for stroke. *Cell Transplant*, 2017, 26(3): 461-467.
- Kubis N. Stroke and the cell therapy saga: towards a safe, swift and efficient utilization of cells. *Keio J Med*, 2017, 66(3): 55.
- Tanaka E, Ogawa Y, Mukai T, *et al.* Dose-dependent effect of intravenous administration of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in neonatal stroke mice. *Front Neurol*, 2018, 9: 133.
- Lazarov O, Mattson MP, Peterson DA, *et al.* When neurogenesis encounters aging and disease. *Trends Neurosci*, 2010, 33(12): 569-579.
- Wang F, Tang H, Zhu J, *et al.* Transplanting mesenchymal stem cells for treatment of ischemic stroke. *Cell Transplant*, 2018, 27(12): 1825-1834.
- Huang L, Zhang L. Neural stem cell therapies and hypoxic-ischemic brain injury. *Prog Neurobiol*, 2019, 173: 1-17.
- Jiang XC, Xiang JJ, Wu HH, *et al.* Neural stem cells transfected with reactive oxygen species-responsive polyplexes for effective treatment of ischemic stroke. *Adv Mater*, 2019, 31(10): e1807591.
- Jiang Y, Wei N, Zhu J, *et al.* Effects of brain-derived neurotrophic factor on local inflammation in experimental stroke of rat. *Mediators Inflamm*, 2010, 2010: 372423.
- Lee HJ, Lim IJ, Lee MC, *et al.* Human neural stem cells genetically modified to overexpress brain-derived neurotrophic factor promote functional recovery and neuroprotection in a mouse stroke model. *J Neurosci Res*, 2010, 88(15): 3282-3294.
- Hass R, Kasper C, Böhm S, *et al.* Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): A comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC. *Cell Commun Signal*, 2011, 9(1): 12.
- Huang P, Gebhart N, Richelson E, *et al.* Mechanism of mesenchymal stem cell-induced neuron recovery and anti-inflammation. *Cytotherapy*, 2014, 16(10): 1336-1344.
- Gu N, Rao C, Tian Y, *et al.* Anti-inflammatory and antiapoptotic effects of mesenchymal stem cells transplantation in rat brain with cerebral ischemia. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2014, 23(10): 2598-2606.
- Wei L, Fraser JL, Lu ZY, *et al.* Transplantation of hypoxia preconditioned bone marrow mesenchymal stem cells enhances angiogenesis and neurogenesis after cerebral ischemia in rats. *Neurobiol Dis*, 2012, 46(3): 635-645.
- Liu K, Guo L, Zhou Z, *et al.* Mesenchymal stem cells transfer

- mitochondria into cerebral microvasculature and promote recovery from ischemic stroke. *Microvasc Res*, 2019, 123: 74-80.
- 32 Hayakawa K, Esposito E, Wang X, *et al*. Transfer of mitochondria from astrocytes to neurons after stroke. *Nature*, 2016, 535(7613): 551-555.
  - 33 Sheikh AM, Yano S, Mitaki S, *et al*. A Mesenchymal stem cell line (B10) increases angiogenesis in a rat MCAO model. *Exp Neurol*, 2019, 311: 182-193.
  - 34 Cheng Z, Wang L, Qu M, *et al*. Mesenchymal stem cells attenuate blood-brain barrier leakage after cerebral ischemia in mice. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1): 135.
  - 35 Bühnemann C, Scholz A, Bernreuther C, *et al*. Neuronal differentiation of transplanted embryonic stem cell-derived precursors in stroke lesions of adult rats. *Brain*, 2006, 129(Pt 12): 3238-3248.
  - 36 Wei L, Cui L, Snider BJ, *et al*. Transplantation of embryonic stem cells overexpressing Bcl-2 promotes functional recovery after transient cerebral ischemia. *Neurobiol Dis*, 2005, 19(1-2): 183-193.
  - 37 Drury-Stewart D, Song M, Mohamad O, *et al*. Highly efficient differentiation of neural precursors from human embryonic stem cells and benefits of transplantation after ischemic stroke in mice. *Stem Cell Res Ther*, 2013, 4(4): 93.
  - 38 Kosi N, Alić I, Salamon I, *et al*. Stroke promotes survival of nearby transplanted neural stem cells by decreasing their activation of caspase 3 while not affecting their differentiation. *Neurosci Lett*, 2018, 666: 111-119.
  - 39 Zlokovic BV. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron*, 2008, 57(2): 178-201.
  - 40 Abbott NJ, Patabendige AA, Dolman DE, *et al*. Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol Dis*, 2010, 37(1): 13-25.
  - 41 Daneman R, Prat A. The blood-brain barrier. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2015, 7(1): a020412.
  - 42 Stamatovic SM, Keep RF, Andjelkovic AV. Brain endothelial cell-cell junctions: how to “open” the blood brain barrier. *Curr Neuropharmacol*, 2008, 6(3): 179-192.
  - 43 Pendharkar AV, Chua JY, Andres RH, *et al*. Biodistribution of neural stem cells after intravascular therapy for hypoxic-ischemia. *Stroke*, 2010, 41(9): 2064-2070.
  - 44 Hersh DS, Wadajkar AS, Roberts N, *et al*. Evolving drug delivery strategies to overcome the blood brain barrier. *Curr Pharm Des*, 2016, 22(9): 1177-1193.
  - 45 Jin K, Sun Y, Xie L, *et al*. Comparison of ischemia-directed migration of neural precursor cells after intrastriatal, intraventricular, or intravenous transplantation in the rat. *Neurobiol Dis*, 2005, 18(2): 366-374.
  - 46 Sharp J, Keirstead HS. Stem cell-based cell replacement strategies for the central nervous system. *Neurosci Lett*, 2009, 456(3): 107-111.
  - 47 Jiang Y, Zhu J, Xu G, *et al*. Intranasal delivery of stem cells to the brain. *Expert Opin Drug Deliv*, 2011, 8(5): 623-632.
  - 48 Danielyan L, Schäfer R, von Ameln-Mayerhofer A, *et al*. Intranasal delivery of cells to the brain. *Eur J Cell Biol*, 2009, 88(6): 315-324.
  - 49 Wilson EH, Weninger W, Hunter CA. Trafficking of immune cells in the central nervous system. *J Clin Invest*, 2010, 120(5): 1368-1379.
  - 50 Liu L, Eckert MA, Riazifar H, *et al*. From blood to the brain: can systemically transplanted mesenchymal stem cells cross the blood-brain barrier? *Stem Cells Int*, 2013, 2013: 435093.
  - 51 Teo GS, Ankrum JA, Martinelli R, *et al*. Mesenchymal stem cells transmigrate between and directly through tumor necrosis factor- $\alpha$ -activated endothelial cells via both leukocyte-like and novel mechanisms. *Stem Cells*, 2012, 30(11): 2472-2486.
  - 52 Steingen C, Brenig F, Baumgartner L, *et al*. Characterization of key mechanisms in transmigration and invasion of mesenchymal stem cells. *J Mol Cell Cardiol*, 2008, 44(6): 1072-1084.
  - 53 Yilmaz G, Vital S, Yilmaz CE, *et al*. Selectin-mediated recruitment of bone marrow stromal cells in the postischemic cerebral microvasculature. *Stroke*, 2011, 42(3): 806-811.
  - 54 Conaty P, Sherman LS, Naaldijk Y, *et al*. Methods of mesenchymal stem cell homing to the blood-brain barrier. *Methods Mol Biol*, 2018, 1842: 81-91.
  - 55 Freeman WD. Management of intracranial pressure. *Continuum (Minneapolis)*, 2015, 21(5 Neurocritical Care): 1299-1323.
  - 56 Gonzales-Portillo GS, Sanberg PR, Franzblau M, *et al*. Mannitol-enhanced delivery of stem cells and their growth factors across the blood-brain barrier. *Cell Transplant*, 2014, 23(4-5): 531-539.
  - 57 Seyfried DM, Han Y, Yang D, *et al*. Mannitol enhances delivery of marrow stromal cells to the brain after experimental intracerebral hemorrhage. *Brain Res*, 2008, 1224: 12-19.
  - 58 Shen WB, Anastasiadis P, Nguyen B, *et al*. Magnetic enhancement of stem cell-targeted delivery into the brain following MR-guided focused ultrasound for opening the blood-brain barrier. *Cell Transplant*, 2017, 26(7): 1235-1246.
  - 59 Burgess A, Ayala-Grosso CA, Ganguly M, *et al*. Targeted delivery of neural stem cells to the brain using MRI-guided focused ultrasound to disrupt the blood-brain barrier. *PLoS One*, 2011, 6(11): e27877.
  - 60 Wolburg H, Wolburg-Buchholz K, Engelhardt B. Diapedesis of mononuclear cells across cerebral venules during experimental autoimmune encephalomyelitis leaves tight junctions intact. *Acta Neuropathol*, 2005, 109(2): 181-190.
  - 61 Prasad K, Sharma A, Garg A, *et al*. Intravenous autologous bone marrow mononuclear stem cell therapy for ischemic stroke: a multicentric, randomized trial. *Stroke*, 2014, 45(12): 3618-3624.
  - 62 Banerjee S, Bentley P, Hamady M, *et al*. Intra-arterial immunoselected CD34+ stem cells for acute ischemic stroke. *Stem Cells Transl Med*, 2014, 3(11): 1322-1330.
  - 63 Díez-Tejedor E, Gutiérrez-Fernández M, Martínez-Sánchez P, *et al*. Reparative therapy for acute ischemic stroke with allogeneic mesenchymal stem cells from adipose tissue: a safety assessment: a phase II randomized, double-blind, placebo-controlled, single-center, pilot clinical trial. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2014, 23(10): 2694-2700.
  - 64 Steinberg GK, Kondziolka D, Wechsler LR, *et al*. Two-year safety and clinical outcomes in chronic ischemic stroke patients after implantation of modified bone marrow-derived mesenchymal stem cells (SB623): a phase 1/2a study. *J Neurosurg*, 2018, 131(5): 1-11.
  - 65 Hess DC, Wechsler LR, Clark WM, *et al*. Safety and efficacy of multipotent adult progenitor cells in acute ischaemic stroke (MASTERS): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Neurol*, 2017, 16(5): 360-368.
  - 66 Savitz SI, Misra V, Kasam M, *et al*. Intravenous autologous bone marrow mononuclear cells for ischemic stroke. *Ann Neurol*, 2011, 70(1): 59-69.
  - 67 Zhang G, Li Y, Reuss JL, *et al*. Stable intracerebral transplantation of neural stem cells for the treatment of paralysis due to ischemic stroke. *Stem Cells Transl Med*, 2019, 8(10): 999-1007.

收稿日期: 2020-04-30 修回日期: 2020-08-26

本文编辑: 刘丹