

## 神经干细胞治疗脑创伤的研究进展

张笑, 魏俊吉, 王任直\*

(中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院 神经外科, 北京 100730)

**摘要:**内源性神经干细胞通过迁移,激活的方式分化为神经元及胶质细胞,并改善神经功能,但创伤导致的复杂的微环境使内源性神经干细胞的增殖和分化受到限制。外源性神经干细胞可在宿主内存活并通过旁分泌功能改善局部微环境,促进内源性神经干细胞的增殖和分化,恢复神经元之间的连接功能,从而促进神经组织再生和功能修复。

**关键词:**创伤性脑损伤; 神经干细胞; 移植; 神经再生; 生长因子

中图分类号:R651.1<sup>+</sup>5 文献标志码:A

## Progress in neural stem cells therapy for traumatic brain injury

ZHANG Xiao, WEI Jun-ji, WANG Ren-zhi\*

(Dept. of Neurosurgery, Peking Union Medical College Hospital, CAMS & PUMC, Beijing 100730, China)

**Abstract:** The neural stem cells (NSCs) can migrate into the injured area and differentiate into neurons or oligodendrocytes. Endogenous neurogenesis may potentially be harnessed as a putative therapy for neural injury. But the complex micro-environment due to TBI will be one of the biggest challenges for endogenous NSCs to perform neural regenerations. Exogenous NSCs have been shown to be able to survive in host tissues and regulate microenvironment via paracrine effects. Thus, transplantation of NSCs to assist neural regeneration has become an attractive option. Recently, rapid advances in the stem cell biology have raised appealing possibilities of replacing damaged or lost neural cells by transplantation of *in vitro*-expanded stem cells and/or their neuronal progeny.

**Key words:** traumatic brain injury; neural stem cells; transplantation; neural regeneration; cytokines

在过去的20多年里,创伤性脑损伤(traumatic brain injury, TBI)的基础研究以及临床治疗已经取得了长足的进步,但是,在改善预后特别是神经功能康复方面,能采取的措施仍然非常有限。一直以来,成熟神经组织不具备再生能力被认为是一条黄金法则,直到20世纪90年代,用成熟脑组织细胞成功培养出了神经细胞球,才证实了成熟神经组织具有再生能力,同时发现了神经干细胞(neural stem cells, NSCs)的存在,为创伤性脑损伤的神经修复治疗开

创了一条新的道路。

### 1 神经干细胞的基础研究

神经干细胞的发现使其逐渐成为中枢系统疾病的研究焦点,在成熟个体的大脑中,室管膜下区(SVZ)和海马齿状回颗粒下层(SGZ)两个区域存在着激活状态的神经干细胞,可分化产生神经细胞,而大脑其他区域中则存在着处于静止状态的神经干细胞,在一定条件下可激活,进行增殖分化<sup>[1]</sup>。

神经干细胞具备多向分化,自我更新以及迁移能力,并参与损伤脑组织的修复。同时其受多种细胞因子调节。随着研究的深入,创伤后神经组织的慢性炎性反应成为造成神经功能障碍的主要原因,通过转基因手段,使神经干细胞过表达 miR-17-92,从而抑制神经炎症反应 JAK-STAT 通路上的多种蛋白的表达(如 GP130, CNTFR, JAK2 和 STAT3),在动物实验中观察到小鼠运动协调性的明显提升<sup>[2]</sup>。通过使神经干细胞转染表达不同的细胞因子,可一定程度上诱导神经干细胞的定向分化。使小鼠 NSCs 过表达 BDNF (brain-derived neurotrophic factor)后,并观察到 NSCs 产生了更多的分化成熟的神经元<sup>[3]</sup>。FTY720 则诱导 NSCs 定向分化为 2 型胶质细胞<sup>[4]</sup>。

## 2 TBI 损伤后组织修复与局部微环境

在动物实验中,通过对 SGZ 神经干细胞的抑制将导致实验动物与海马相关的空间定位能力的减弱<sup>[5]</sup>,在可控大脑皮层损伤 (controlled cortical impact, CCI) TBI 模型中,通过对 SVZ 区域的神经干细胞进行选择性抑制,发现损伤灶周边的神经存活显著低于对照组,并且伴随着胶质细胞肥大增生和运动技能的减退。这些现象均说明内源性神经干细胞在 TBI 损伤后组织修复过程中发挥着重要的作用<sup>[6]</sup>。

虽然内源性神经干细胞在实验中可观察到神经细胞的增殖以及对维持神经功能的作用,但事实上,不论是静止态的神经干细胞,还是迁入的激活态神经干细胞,在创伤的微环境下,这些细胞都丧失或弱化了进一步分化增殖的能力。究其原因,可能是由于受损区域大量复杂的生长因子、细胞因子共同作用所致。早先研究者普遍认为 TBI 属于急性损伤,但是越来越多的证据表明,急性损伤之后的慢性炎性反应才是导致脑细胞大面积死亡和功能丧失的主要原因。当 TBI 发生后,中枢神经系统和外周循环系统都会发生一系列生理反应,包括兴奋毒性、氧化应激、线粒体功能障碍、血脑屏障破损、脑内炎性反应,进一步加剧了损伤,这一过程被称为慢性 TBI<sup>[7]</sup>。PET 等证据表明,当脑组织受到创伤之后,炎性反应可以持续若干年。在急性 TBI 期,炎性反应是机体对损伤的保护机

制,但是进入慢性 TBI 期,免疫系统的持续激活则会导致脑细胞的死亡和神经系统损伤。其中星形细胞和小胶质细胞被认为是启动脑内炎性反应的重要驱动要素。这些细胞通过释放炎性因子、趋化因子以及生长因子,改变了周围的局部微环境,与脑细胞死亡和功能丧失直接相关<sup>[8]</sup>,进而产生运动和认知障碍,以及焦虑、紧张、情绪行为改变等心理症状。因此,如何使内源性神经干细胞发挥作用,最大的问题就是如何控制创伤区域的炎性反应和免疫应答,改变局部炎性的微环境,为神经干细胞恢复增殖能力创造条件。

通过人为调控 NSCs 微环境,可以促进 NSCs 分化为有功能的成熟神经元。例如,通过加载在透明质酸-胶原骨架中的 bFGF 缓释系统 (bFGF-controlled releasing system, bFGF-CRS),培养 NSCs 可以被诱导分化成为多种成熟的功能神经元,两周内分化率超过 80%。进一步研究显示,持续性的 bFGF 受体激活可以激活 ERK、MAPK 通路,从而促进新生神经元突触前和突触后结构的形成,帮助与周围神经元形成有效连接<sup>[9]</sup>。有研究表明,在慢性脑内炎性反应过程中,肿瘤坏死因子 (TNF) 是关键的信号分子之一。TNF 的释放激活了 M1 小胶质细胞,进一步导致炎性因子的释放和突触功能紊乱;给患者施用依那西普 (TNF 拮抗剂),能够迅速并且持续地改善由于神经功能紊乱表现出的躯体症状,因此抑制急性脑损伤后 TNF 的升高及其信号通路,是改善创伤后导致的神经损伤和功能紊乱的潜在治疗靶点<sup>[10]</sup>。

## 3 TBI 与外源性神经干细胞移植

外源性神经干细胞可通过移植在宿主体内长期生存,并分化为神经元,少突胶质细胞已经在动物实验中得到证实<sup>[11]</sup>,并且通过直接参与神经再生作用或分泌神经营养因子促进内源性神经干细胞参与神经修复作用两种机制,可使实验动物受损的神经功能得到提升。

细胞因子在神经干细胞移植中起重要的调节作用,通过使神经干细胞转染表达不同的细胞因子,可一定程度上诱导神经干细胞的定向分化。使小鼠 NSCs 过表达 BDNF (brain-derived neurotrophic factor)后,并观察到 NSCs 产生了更多的分化成熟的神

经元<sup>[3]</sup>。FTY720 则诱导 NSCs 定向分化为 2 型胶质细胞<sup>[4]</sup>, Wnt3a 可促进神经干细胞向多巴胺能神经元前体细胞分化<sup>[12]</sup>。这可能是外源性神经干细胞移植的一大优势。

但目前神经干细胞移植的一大问题是神经干细胞在创伤区域环境下的低保留率以及低移植存活率。除了直接改善受损区域的微环境外, 在移植区域搭建一个新的适合干细胞存留及迁移的骨架成为一个新的思路。

在 TBI 大鼠模型中, 将透明质酸-胶原骨架中的 bFGF 缓释系统与 NSCs 共同移植到 CA1 受损区, 发现 bFGF-CRS 显著提高了外源 NSCs 向神经元的分化, 并且有利于新生神经元与宿主脑组织的突触形成。这些结果提示, bFGF-CRS 能够为外源移植的 NSCs 提供一个良好的微环境, 进行神经组织再生和功能恢复。使用 HA-Lm 胶 (hyaluronic acid-laminin hydrogels) 作为介质, 观察到神经干细胞在移植区域内留存时间的显著延长 (>3 d), 且相对于第 1 天和第 3 天的神经前体细胞迁移率甚至上升了 20%<sup>[13]</sup>。

#### 4 神经干细胞移植在神经损伤治疗中的临床应用

随着十几年来动物实验的累积, 在神经干细胞移植时需进行的免疫抑制及炎性控制方面有了一定的经验。神经干细胞作为 TBI 治疗方式的第一次临床应用是将 8 例脑外伤患者的损伤组织通过体外培养的方式获得神经干细胞, 再重新移植至受损区域, 使用 FDG-PET 进行连续随访观察 2 年, 平均摄取值

对照组与移植组比较为  $72.1\% \pm 12.5\%$  比  $125\% \pm 9.4\%$  (术后 12 月),  $71.4\% \pm 7.9\%$  比  $161.3\% \pm 4.6\%$  (术后 24 月), 神经干细胞移植后受损脑部代谢有明显改善<sup>[14]</sup>。一项 11 例将异体神经干细胞用于治疗的 I 期临床试验结果显示, 经立体定位单侧注射多达 2 千万个异体神经干细胞, 没有引起不良反应, 并且注射 2 年后进行效果评价, 结果显示神经功能得到了显著改善<sup>[15]</sup>。初步证明神经干细胞移植是安全的, 并且对于神经功能的恢复是有效的。

#### 5 总结

大量的动物实验证实神经干细胞具有修复受损神经, 改善功能的作用, 但在创伤所致的复杂微环境下, 无论是内源性神经干细胞还是移植的神经干细胞, 都存在低存活率和低转化率问题, 随着研究的深入, 目前认为创伤后脑损伤除畸形损伤外, 慢性神经炎性反应起重要作用。因此通过提供骨架介质, 包含促进神经干细胞增殖分化的细胞因子, 可改善局部微环境, 提高存活率。外源性神经干细胞更可通过转基因手段, 使其表达相应的细胞因子从而实现一定程度上的定向分化。随着控制微环境手段的增加, 临幊上已经有通过自体神经干细胞体外培养后移植的报道, 以及异体神经干细胞移植的 I 期临床实验, 神经功能得到改善。相信在不久的将来, 随着科学的发展及伦理学的规范化, 神经干细胞的临床应用将越来越广, 将为改善创伤性脑损伤患者的预后提供崭新的治疗方式。

#### 参考文献:

- [1] 马浚宁, 高俊玮, 侯博儒, 等. 新生小鼠海马、嗅球及皮质神经干细胞的分离培养及鉴定 [J]. 中国组织工程研究, 2014, 45: 7266-7272.
- [2] Mao S, Li X, Wang J, et al. miR-17-92 facilitates neuronal differentiation of transplanted neural stem/precursor cells under neuroinflammatory conditions [J]. J Neuroinflammation, 2016, 13: 208-208.
- [3] Fernandes AR, Chari DM. Part II: Functional delivery of a neurotherapeutic gene to neural stem cells using minicircle DNA and nanoparticles: Translational advantages for regenerative neurology [J]. J Control Release, 2016, 238: 300-310.
- [4] Tan B, Luo Z, Yue Y, et al. Effects of FTY720 (fingolimod) on proliferation, differentiation, and migration of brain-derived neural stem cells [J]. Stem Cells Int, 2016: 9671732. doi: 10.1155/2016/9671732.
- [5] Blaiss CA, Yu TS, Zhang G, et al. Temporally specified genetic ablation of neurogenesis impairs cognitive recovery after traumatic brain injury [J]. J Neurosci, 2011, 31: 4906-4916.

- [6] Dixon KJ, Theus MH, Nelersa CM, et al. Endogenous neural stem/progenitor cells stabilize the cortical microenvironment after traumatic brain injury [J]. *J Neurotrauma*, 2015, 32:753-764.
- [7] Lozano D, Gonzales-Portillo GS, Acosta S, et al. Neuroinflammatory responses to traumatic brain injury: etiology, clinical consequences, and therapeutic opportunities [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2015, 11:97-106.
- [8] Karve IP, Taylor JM, Crack PJ. The contribution of astrocytes and microglia to traumatic brain injury [J]. *Br J Pharmacol*, 2016, 173:692-702.
- [9] Duan H, Li X, Wang C, et al. Functional hyaluronate collagen scaffolds induce NSCs differentiation into functional neurons in repairing the traumatic brain injury [J]. *Acta Biomater*, 2016, 45:182-195.
- [10] Tobinick E, Rodriguez-Romanacce H, Levine A, et al. Immediate neurological recovery following perispinal etanercept years after brain injury [J]. *Clin Drug Investig*, 2014, 34:361-366.
- [11] Shear DA, Tate CC, Tate MC, et al. Stem cell survival and functional outcome after traumatic brain injury is dependent on transplant timing and location [J]. *Restor Neurol Neurosci*, 2011, 29:215-225.
- [12] 韩姝, 师伟, 李艳华, 等. Wnt 3a 在神经干细胞向多巴胺能神经元分化过程中作用的研究 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2006, 33:971-977.
- [13] Addington CP, Dharmawaj S, Heffernan JM, et al. Hyaluronic acid-laminin hydrogels increase neural stem cell transplant retention and migratory response to SDF-1alpha [J]. *Matrix Biol*, 2016, 16:30210-30214. doi: 10.1016/j.matbio.2016.09.007.
- [14] Zhu J, Wu X, Zhang HL. Adult neural stem cell therapy: expansion *in vitro*, tracking *in vivo* and clinical transplantation [J]. *Curr Drug Targets*, 2005, 6:97-110.
- [15] Kalladka D, Sinden J, Pollock K, et al. Human neural stem cells in patients with chronic ischaemic stroke (PISCES): a phase 1, first-in-man study [J]. *Lancet*, 2016, 388:787-796.

## 新闻点击

### 接近更年期时偏头痛患者头痛加剧

据美国 WebMD 医学新闻网(2016-01-12)报道,最新研究发现,对于有偏头痛的女性来说,当她们越接近更年期,这种头痛频率似乎增加。

纽约爱因斯坦医学院的神经学副主席、蒙特菲尔头痛中心主任 Richard Lipton 博士认为,在接近更年期时,雌激素与黄体素等女性激素的改变可能诱发这段期间头痛增加。

研究发现,偏头痛的风险在完全进入更年期前达到最高,这时候女性的雌激素含量很低。

如果是即将进入更年期或是更年期阶段发生偏头痛,医生们可以开立激素疗法;如果是在刚进入更年期时发生,可以用避孕药来让激素平稳;如果进入更年期后期,已经要度过这个阶段,可以用雌激素贴片。

这篇研究刊登在 2016-01-21《头痛:头脸部疼痛杂志》(Headache: The Journal of Head and Face Pain)。

### 减轻压力程度有助于减重吗?

据美国 WebMD 医学新闻网(2016-01-17)报道,一篇初步研究可能有助于解释压力如何降低了减重的能力。

佛罗里达大学的研究者在大鼠试验中发现,长期压力诱发产生一种称为 Betatrophin 的蛋白质,会抑制与燃烧脂肪有关的一种酶。

研究的共同第一作者、佛罗里达大学医学院教授 Li-Jun Yang 博士认为,Betatrophin 减弱了身体分解脂肪的能力,强调了长期压力和体质量增加之间的关联。

目前还不清楚 Betatrophin 是否会影响人类的脂肪代谢,动物研究结果在人类不一定相同,但根据研究者指出,这些研究结果认为,减少长期压力可能有助于人们减重。

研究作者指出,轻微压力有助于强化人们的短期表现,但是,长时间的慢性压力可能会造成伤害。

Yang 博士认为,压力导致身体累积更多脂肪,或者,至少减慢脂肪的新陈代谢。

这篇研究发表于 2016 年 2 月 *BBA Molecular and Cell Biology of Lipids*。