

新生儿缺氧缺血性脑损伤神经功能障碍及神经再生新认识

柴妍楠 综述, 尹晓娟 审校

北京军区总医院附属八一儿童医院, 北京 100700

摘要: 新生儿缺氧缺血性脑损伤(hypoxic-ischemic brain damage, HIBD)是由围生期缺氧所引起的严重疾病,可以导致神经元功能长期丧失,甚至死亡。存活者中一部分患儿会遗留脑瘫、癫痫、精神障碍、认知、感觉及运动障碍等一系列后遗症。然而,目前尚无有效的治疗方式可以保护脑组织在缺氧缺血过程中免受损伤。主要是不能确定缺氧缺血发生的准确时间,且不能准确地识别每一个病人损伤和修复的确切时相点。越来越多的研究用来探讨缺氧缺血性脑损伤及其神经功能障碍的结构机理,以期进一步在新生儿期对该病进行神经靶点保护机制的研究。本文主要从缺氧缺血性脑损伤的神经系统改变和干细胞为基础的再生治疗策略入手,就内源性神经疗法、外源性神经疗法、神经干细胞的临床试验、尚未解决的问题等进行综述。

关键字: 缺氧缺血; 新生儿; 脑损伤; 神经组织发生; 再生

中图分类号: R722.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1008-6579(2015)01-0046-03 **doi:** 10.11852/zgetbjzz2015-23-01-14

新生儿缺氧缺血性脑损伤(hypoxic-ischemic brain damage, HIBD)可发生在各胎龄段新生儿,发病率为 0.6%,其中 55%在宫内以及分娩过程中起病^[1]。HIBD 常由产前、产时以及产后的低氧及血流减少等因素引起,是引起足月儿及早产儿脑病、甚至脑瘫等严重神经系统后遗症必要条件。典型的神经系统症状包括早期顽固的癫痫发作,肌张力低下,呼吸抑制和呼吸暂停,反应差等,这种损伤倾向于发生在脑室周围及皮层下,尤其是在运动感受器中枢和矢状窦旁区,引起大脑基底节和丘脑灰白质损伤^[1-2]。HIBD 存在易损区,该区近期及远期预后取决于早期损伤程度、持续时间以及是否经过积极治疗^[3]。

HIBD 常发生在产前及新生儿期,这些易损区正处于细胞及组织分化的临界期,因此脑成熟度也受到较大影响。HIBD 的病理过程呈动态发展,包括早期损伤、中间潜伏期以及后期再损伤三个阶段。早期损伤由于细胞代谢衰竭,神经递质及自由基水平增加,局部炎症反应和细胞内泵衰竭,导致细胞死亡、碎裂,进而通过吞噬作用被清除。在潜伏期,患儿病情表现较为平稳,而脑电活动可表现为持续抑制,此时为血流灌注降低、氧供减少的持续状态^[4]。目前公认潜伏期是进行神经保护干预的最佳时机,可以改善细胞最终死亡的结局。

1 缺氧缺血性脑损伤的神经系统改变

脑组织中氧的储备量少,对无氧代谢处理能力较低,而神经元为中枢神经系统中对缺氧最敏感的细胞,缺氧时通过改变离子通路、氧分压感受器、信号通路和基因组程序等途径来降低代谢^[5]。在以上适应过程下,原代细胞通过增殖作用产生新的神经元细胞,修复损伤的神经系统。神经干细胞产生增殖细胞的现象常发生在围生期缺氧缺血性损伤的 2 d 后。这些干细胞相关的基因改变细胞膜上单次跨膜受体蛋白 1(notch homolog 1, Notch 1),糖蛋白-130(glycoprotein 130, gp-130),表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)受体以及下游的转录因子(hairy enhancer of split 5, Hes5),激活神经系统细胞并控制神经干细胞的分化,诱导神经细胞的增殖^[6]。

相关实验证明,缺氧缺血对新生小鼠的纹状体侧脑室下区(striatal subventricular zone, SVZ)神经细胞的增殖及再生起着重要作用。对生后 10 d 的小鼠行右侧颈动脉干结扎术后,给予 10%的 O₂ 45 min。在生后 18 d, 24 d 及 31 d 时,同侧的缺氧缺血性损伤明显扩大,增加 SVZ 区与半球损害的相关程度。表明缺氧缺血性损伤也可以促进侧脑室下区以及脑室周围的细胞增殖和神经组织的发生^[7]。而缺氧缺血对未发育成熟海马区的损伤具有相对性。海马区主管学习和记忆, HIE 的新生小鼠海马区损伤后,在自发性交替任务中表现较差。海马神经的改变也会使 T-迷路系统和被动躲避功能受影响^[8]。氧分压过低引起海马区 1(cornu ammonis 1, CA1)中的细胞裂解,而选择性保留海马 2-3 区细胞。新生小鼠的海马区域暴露在缺氧环境中 6 h 后再次进

作者简介: 柴妍楠(1988-),女,湖北人,在读硕士研究生,主要研究方向为新生儿脑发育与神经修复。

通信作者: 尹晓娟, E-mail: yixiniaojuan@163.com

数字出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1346.R.20141119.1045.011.html>

行氧合作用,可见氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinases, JNKs)和细胞外信号调节激酶(extra cellular signal regulated protein kinases, ERKs)持续活跃 4 h, 6 h 后几乎恢复至原有水平^[9],证明了缺氧的触发与 JNK 和 ERK 均存在关联性;在氧合作用下,神经母细胞进行分化和缺失锥体神经细胞靶点位置迁移,促进干细胞的增殖^[10]。

在 JL Daval 等^[11]实验中,将生后 24 h 的小鼠暴露在 36℃ 的 100% N₂ 中 20 min,监测海马 CA1 区的变化。测量细胞密度提示,锥体细胞层吞噬作用中延迟死亡的细胞,与其中 B 淋巴细胞瘤-2 基因(B-cell lymphoma-2, Bcl-2),凋亡因子(Bcl-2-associated X protein, Bax)^[12]和半胱氨酸蛋白酶 3(cysteine aspartic acid specific protease-3, caspases-3)的水平有关。现已证实,由于神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)标记细胞密度的减低并在 1 周时进行性损伤达到顶峰,共有 27% 细胞数量的减少,而在侧脑室下区最新分裂的细胞表达出神经元标记物则增加至 225%,提示这些细胞会通过侧脑室,更趋于向海马区移动。

缺氧缺血环境中,新生儿大脑会经历神经元损伤并不断进展的过程。早期,起源于神经组织的神经干细胞将产生更多新的神经元来弥补脑功能障碍。然而,当缺氧缺血持续存在时,脑功能损伤会变为不可逆转,这提供了一个有效救治缺氧缺血性脑损伤的时间窗。

2 以干细胞为基础的再生治疗策略

大量证据已经阐明了缺氧缺血性脑损伤机理,并提出了神经保护策略。部分药物已申请在临床治疗中应用,如巴比妥盐酸、别嘌呤醇、红细胞生成素以及亚低温治疗^[13]。神经干细胞具有自我复制及再分化的潜能,且在神经组织发生的部位终生存在,例如其存在啮齿动物模型的脑回侧脑室及颗粒下层区,以帮助细胞基础更新,并通过迁移作用替代损伤脑组织。细胞治疗在大量脑损伤及相关疾病中均取得的成效,是促进神经细胞功能障碍恢复的新进展。然而,已完全分化的神经细胞再生非常有限,积极调整神经细胞再生区域的环境和干细胞的移植等措施,都是成功治疗脑损伤的方法。

2.1 内源性神经疗法 近年来,研究的焦点集中在探索内源性脑损伤修复的潜力上。现已明确中枢神经系统损伤后,可促进内源性神经前体细胞增殖,尽管这些增殖细胞数量不能完全恢复功能,但利用内源性神经前体细胞作为脊髓损伤及神经病学上脑损伤修复的方法已被接受^[14]。

有研究表明,短暂的大脑半球缺氧后,引起沙鼠海马区锥体细胞死亡,而活化颗粒区神经干细胞的增殖,可以增加颗粒细胞层中神经元的数量^[15]。大脑中动脉闭塞后在局部形成缺血病灶是引起纹状体皮质部梗死、缺血的常见原因,同时也会促进一小部分纹状体投射神经的再生。纹状体侧脑室下区的神经干细胞通过细胞迁移能力,来抵消神经损伤后的缺失,并有助于新的神经通路的形成。这个发现更意味着,纹状体侧脑室下区将有可能成为重要的治疗靶点。

然而,神经元细胞的再生能力有限,损伤后少量的内源性神经干细胞不能完全替代和恢复原有功能^[16]。虽然诱导缺氧可以促进其再生,但在损伤后一周细胞再分化失败的比例占大部分。目前细胞替代治疗的细胞来源主要是胎儿的神经前体细胞、胎儿大脑的神经干细胞、成人脑神经干细胞以及起源于胚胎干细胞的神经细胞。

2.2 外源性神经疗法 大量实验证明在受损伤的大脑中,通过移植干细胞和神经及非神经器官中的特殊原代细胞,可代替细胞缺失和阻止细胞死亡。HIE 模型中,缺氧缺血后脑室部分的神经干细胞迁移至损伤部位,分化为神经元、星形胶质细胞、少突神经胶质细胞和未分化的原代细胞。被移植细胞与受损组织融为一体,减少脑实质缺失并提高行为功能^[17]。在动物模型中,这些细胞通过再生,抑制炎症反应,促进血管生成并减少瘢痕,进而保护神经细胞^[18]。

目前尚未见副作用报道,治疗效果取决于移植时间,但治疗窗尚未知。近年,越来越多的技术实现了标记干细胞,通过它们迁移至缺血组织的路线追踪它们移植后的位置^[19],进而在人类实验中变成可能。最新报道称在 HIE 模型中,早期(4 h)和晚期(72 h)神经球衍生细胞的迁移,很大程度上减少了脑组织的损伤;而体外培养被移植原代细胞,可转化为少突胶质细胞谱系,当进入损伤部位后有定向转移的能力,这种特征与缺氧性脑损伤模型中神经干细胞长距离的迁移相似^[20]。

2.3 神经干细胞的临床试验 人类神经干细胞由于其稳定增长和可体外培养为神经元细胞及少突胶质细胞的特点,而成为移植细胞的良好选择。有临床实验证明,在脂褐质沉积症引起的神经细胞功能紊乱早期,将大脑内移植干细胞,这些干细胞表现出强健杂交及广泛移行的能力,并产生充足的酵素改变神经病理学功能。

出生时获得的脐血干细胞(umbilical cord blood

UCB), 在 HIE 治疗中可减少感知及运动敏感性的破坏,起到了积极的效益。自体移植脐血干细胞已经成为可能,但疗效尚存在争议,其作用机制包括参与血管再生,提高自身细胞的存活,通过营养神经因子及抑制炎症因子释放。由于脐血干细胞中存在大量 CD34⁺细胞而被广泛的应用于造血干细胞的替代治疗。而脐血干细胞相较间充质干细胞,具有更易获得,更好的增殖,更少的成熟度及产生免疫性等特性,降低了受体在移植非血缘关系细胞后产生排斥反应的几率,已经成为移植细胞最有前景的来源^[21]。

2.4 尚未解决的问题 干细胞移植通过替代原有受损细胞,促进细胞再生,减少炎症反应,并释放神经营养因子治愈及提高细胞存活,将缺氧缺血性脑损伤的影响降到最小。然而,仍有很多研究需开展以进一步指导细胞移植,如传递路径和方法,细胞计量,移植时间,移植监控,免疫反应,癌变风险等。此外,胎儿神经组织有限,且最终只有一小部分神经元可用,体外培养虽可以克服这些困难,但由于有丝分裂,也可导致存在一部分异质性的神经细胞。更大障碍是移植神经细胞的存活率:已证明 95% 的神经细胞会因吞噬作用被清除而死亡。所以,虽然干细胞治疗新生儿缺氧缺血性脑损伤具有极大前景,但在将其应用于治疗前,仍需要大量具有意义的研究。

参考文献

- [1] Ferriero DM. Neonatal brain injury[J]. *N Engl J Med*, 2004, 351:1985-1995.
- [2] Rutherford M, Srinivasan L, Dyet L, et al. Magnetic resonance imaging in perinatal brain injury: clinical presentation, lesions and outcome[J]. *Pediatr Radiol*, 2006, 36:582-592.
- [3] Jensen FE. Developmental factors regulating susceptibility to perinatal brain injury and seizures[J]. *Curr Opin Pediatr*, 2006, 18:628-633.
- [4] Drury PP, Bennet L, Gunn AJ. Mechanisms of hypothermic neuroprotection[J]. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2010, 15: 287-292.
- [5] Neubauer JA, Sunderram J. Oxygen-sensing neurons in the central nervous system [J]. *J Appl Physiol*, 2004, 96: 367-374.
- [6] Felling RJ, Snyder MJ, Romanko MJ, et al. Neural stem/progenitor cells participate in the regenerative response to perinatal hypoxia/ischemia[J]. *J Neurosci*, 2006, 26:4359-4369.
- [7] Plane JM, Liu R, Wang TW, et al. Neonatal hypoxic-ischemic injury increases forebrain subventricular zone neurogenesis in the mouse[J]. *Neurobiol Dis*, 2004, 16:585-595.
- [8] Karalis F, Soubasi V, Georgiou T, et al. Resveratrol ameliorates hypoxia/ischemia-induced behavioral deficits and brain injury in the neonatal rat brain[J]. *Brain Res*, 2011, 1425: 98-110.
- [9] 李卫东,蔡志豪,简赵芳,等. 新生儿缺氧缺血性脑病最佳干预时间窗的研究[J]. *广州医药*, 2013, 44(1):12-14.
- [10] Ori H, Mohammad J, Horacio O, et al. Preferential cephalic redistribution of left ventricular cardiac output during therapeutic hypothermia for perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *The Journal of Pediatrics*, 2014, 164(5): 999-1004.
- [11] Daval JL, Pourie G, Grojean S, et al. Neonatal hypoxia triggers transient apoptosis followed by neurogenesis in the rat CA1 hippocampus[J]. *Pediatr Res*, 2004, 55:561-567.
- [12] 单既利,韩淑臻,荆汝泉,等. Bax 抑制肽对新生大鼠缺氧缺血性脑损伤的保护作用[J]. *临床儿科杂志*, 2014, 32(3): 254-256.
- [13] Laptok AR. Use of therapeutic hypothermia for term infants with hypoxic-ischemic encephalopathy [J]. *Pediatr Clin North Am*, 2009, 56:601-616.
- [14] Obermair FJ, Schroter A, Thallmair M. Endogenous neural progenitor cells as therapeutic target after spinal cord injury [J]. *Physiology (Bethesda)*, 2008, 23:296-304.
- [15] Liu J, Solway K, Messing RO, et al. Increased neurogenesis in the dentate gyrus after transient global ischemia in gerbils[J]. *J Neurosci*, 1998, 18:7768-7778.
- [16] Arvidsson A, Collin T, Kirik D, et al. Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke [J]. *Nat Med*, 2002, 8:963-970.
- [17] Park KI, Hack MA, Ourednik J, et al. Acute injury directs the migration, proliferation, and differentiation of solid organ stem cells: evidence from the effect of hypoxia-ischemia in the CNS on clonal "reporter" neural stem cells[J]. *Exp Neurol*, 2006, 199:156-178.
- [18] Mueller FJ, Seroby N, Schraufstatter IU, et al. Adhesive interactions between human neural stem cells and inflamed human vascular endothelium are mediated by integrins[J]. *Stem Cells*, 2006, 24:2367-2372.
- [19] Guzman R, Uchida N, Bliss TM, et al. Long-term monitoring of transplanted human neural stem cells in developmental and pathological contexts with MRI[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104:10211-10216.
- [20] Titomanlio L, Bouslama M, Le Verche V, et al. Implanted neurosphere-derived precursors promote recovery after neonatal excitotoxic brain injury[J]. *Stem Cells Dev*, 2011, 20: 865-879.
- [21] Chalak LF, Sánchez PJ, Adams-Huet B, et al. Biomarkers for severity of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy and outcomes in newborns receiving hypothermia therapy [J]. *The Journal of Pediatrics*, 2014, 164:468-474.

收稿日期:2014-04-16

本刊网址:www.cjchc.net