

神经干细胞在治疗缺氧缺血性脑损伤中的研究进展

王钰¹综述, 尹晓娟^{1,2}审校

(1 安徽医科大学北京军区总医院临床学院, 北京 100703; 2 北京军区总医院附属八一儿童医院, 北京 100700)

中图分类号:R722.1 文献标识码:B

摘要: 新生儿缺氧缺血性脑损伤(hypoxic-ischemic brain damage, HIBD)的发病率呈逐年上升趋势,严重者可造成新生儿神经系统永久性损伤,尽管已采用亚低温、高压氧、神经营养药物等治疗措施,但这些治疗手段对重度损伤的神经细胞疗效甚差。而神经干细胞具有自我更新和多向分化的潜能,不管是外源性移植还是诱导自身神经干细胞增殖分化对神经损伤均有修复作用,这为临床治疗神经系统退行性疾病带来了新的生机,同时也为治疗新生儿 HIBD 带来了新的希望,但远期疗效仍然难以评估。现就神经干细胞(neural stem cell, NSCs)在体内的变化特点、内源性和外源性 NSCs 对 HIBD 的治疗效应以及 NSCs 在 HIBD 治疗中存在问题做一综述,以加深人们对 NSCs 治疗 HIBD 的认识。

关键词: 缺氧缺血性脑损伤; 神经干细胞; 新生儿

新生儿缺氧缺血性脑损伤(hypoxic-ischemic brain damage, HIBD)是新生儿死亡和婴幼儿智残的主要原因之一,包括特征性的神经病理及病理生理改变,并在临床上出现一系列脑病的表现。其发生率全球达 40.6%,在早产儿发生率高达 75%,23%患儿在新生儿期死亡,该病预后不良率可达 43%~73.16%,我国 HIBD 的发生率约为活产儿的 0.3%~0.6%,25%~30%存活儿可发生脑性瘫痪等永久性脑损害,尽管一些脑保护策略在动物模型证明有效,但尚未在临床应用;尽管公认亚低温和促红细胞生成素治疗对 HIBD 具有神经保护作用^[1-2],但其能否改善新生儿的远期神经预后仍然不为人知,发展新的脑补救策略势在必行。NSCs 的发现为神经系统损伤的修复提供了巨大的治疗前景。

1 神经干细胞的特征

神经干细胞(neural stem cell, NSCs)是一类多能干细胞,能够长期自我更新,并具有分化形成神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞的多潜能特性。真正的 NSCs 应具备以下属性:1)具有自我维持、自我更新的能力。所谓自我更新是指将干细胞的属性从亲代细胞传递到子代细胞,即在分裂增殖过程中子代细胞仍然维持亲代干细胞的属性。2)具有不断增殖分裂的能力。即在一定的条件下能够不断分裂增殖,使得在体外能够最大扩增培养。3)具有多分化的潜能。即具有分化为神经系统大部分分类细胞的能力。4)具有一定的对疾病和损伤的反应能力。

由于神经干细胞在体内常处于静息状态,与祖细胞神经前体细胞难以区别,还没有明显证据表明单个神经干细胞能产生脑中所有类型的不同细胞,同时,自我更生能力也是模糊的,因为没有一个细胞分裂产生确定细胞数量的最低标准^[3],因此,鉴定较为困难,所以目前所说的 NSCs 实际上包括其它的神经前体细胞^[4]。大量事实证明,在鼠脑、灵长类和人脑中均存在新生的神经细胞。成体人脑中有 3 个脑区具有 NSCs,最重要的脑区为脑室下区(subventricular zone, SVZ),它的神经发生能力可保持终生。其它两个脑区为海马的齿状回和嗅回。哺乳动物的大部分脑区,其细胞的发生和迁移只在各个胚胎发育中进行。现行观点普遍认为,成年哺乳动物 CNS 的 SVZ 和海马的颗粒下层(subgranular zone, SGZ)是两个主要的 NSCs 聚集区,在这两个部位存在 NSCs 存活的微环境。SVZ 的 NSCs 沿侧壁迁移路径迁移至嗅球,经历终末分化后发育成新的中间神经元并进一步建立起神经连接;SVZ 的 NSCs 则发育形成另一种不同类型的神经元-颗粒细胞,并与海马齿状回建立突触联系。NSCs 在哺乳动物胚胎期神经系统中的分布具有较大的普遍性,现已从胎鼠、成年鼠、胎儿和成人脑的皮层、海马、纹状体、嗅球、脑室沿线包括侧脑室、第三脑室和第四脑室、间脑、中脑、小脑、脊髓、视网膜中分离培养出 NSCs^[5-8]。神经干细胞(NSCs)是在胚胎和成体神经组织中存在的具有自我更新和多向分化潜能的细胞,可通过对称或不对称分裂出新的干细胞或分化成逐渐变小的子细胞,最终能分化为神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞,参与神经发育和神经损伤的修复^[9]。在成年

【作者简介】王钰(1986-),女,山东人,硕士在读,主要从事新生儿脑修复的临床与基础研究。

【通信作者】尹晓娟, E-mail:yyinxiaojuan@163.com

哺乳动物的神经干细胞主要分布在侧脑室的 SVZ 和海马的 SGZ 具有分化为神经元和神经胶质细胞的潜能,并能向损伤区定向移动,在不同的微环境中分化为不同细胞。NSCs 在促分化因子的作用下也可以在体外定向分化发育成神经元和神经胶质细胞。

2 诱导内源性 NSCs 治疗 HIBD 的可塑性

缺氧缺血造成永久性脑损伤的原因之一是脑室下区的神经干细胞缺氧缺血后发生的凋亡、坏死。新生儿生后脑室下区神经干细胞的存在和不断扩增为治疗神经退行性病变、脑卒中(包括 HIE)、颅脑损伤产生了新的希望。其实 HIBD 中的缺氧、缺血本身就是诱导神经干细胞增殖的两大因素。体内实验证实:缺血会导致内源性 NSCs 再生,脑缺血能激活脑内静息的神经干细胞,并促进其增殖、迁移和分化,分化的神经元能部分的替代和修复损伤的神经元,从而在一定程度上改善缺血丧失的神经功能。在成功建立的 HIBD 动物模型中发现,低浓度氧有利于 NSCs 的增值^[10],低浓度氧对 NSCs 增殖有上调作用,可以刺激体内静止或不活跃的 NSCs 增殖。HIBD 后的修复存在内源性神经干细胞的参与,但毕竟自身修复能力有限,这两者因素造成神经干细胞扩增只是暂时的。有研究表明,NSCs 随着 HIBD 病程中病变的变化而发生改变,NSCs 基本上随着病程的延长而减少^[11]。以上提示,早期采用干预因素诱导自身 NSCs 增殖分化有望成为临床治疗 HIBD 的重要途径。

研究表明,某些生长因子、信号相关蛋白、锂等因素可以诱导体内 NSCs 增殖。胰岛素样生长因子-1(IGF-1)可缩短细胞分裂周期促进中枢神经系统(CNS)中的 NSCs 分裂增殖,在动物体内有重要的神经营养及神经修复作用^[12-14]。缺氧缺血后 Wnt-3a 蛋白表达增多,可以促进内源性 NSCs 的增殖,有人发现敲除 Wnt-3a 基因小鼠的海马前体细胞生长受限,海马区各层细胞的数量锐减,且排列紊乱;而转染 Wnt-3a 基因小鼠的 NSCs 的增值速度加快,且 NSCs 的分化比例也提高。另有研究发现细胞外信号调节激酶(ERK),ERK1/2(p44 和 p42)是 MAPK 信号转导通路的一种,是调节细胞生长各方面(包括细胞增殖、分化、和凋亡等)的最基本信号途径,在调节细胞的生长、分化等过程中起重要作用,可以被生长因子、神经营养因子、细胞因子、激素、神经递质等^[15]多种细胞外信号激活。该信号若是被抑制后,NSCs 的增值能力将受到明显的影响,可

见,ERK 信号通路在 NSCs 的增值过程中起到重要的作用^[16]。锂也可以促进海马 NSPC 的扩增和减少缺氧缺血后小神经胶质细胞的扩增和炎症反应^[17-18]。除此之外,有研究表明,核酸内切酶 VIII-like3 糖基也可促进缺氧缺血后神经细胞再生^[19],NSCs 还可以被 HCNP-pp(HCNP precursor protein)调节途径所控制,HCNP(hippocampal cholinergic neurostimulating peptide)最初起源于幼鼠的海马处。HCNP-pp 它是 ATP 相关蛋白,Raf 激酶抑制蛋白,脑磷脂介导蛋白,也是 HCNP 的前体。通过调节其途径可以更好的了解 NSCs 分化的调节途径,从而促进缺血区域的神经细胞的扩增^[20]。所以可以通过这些生长因子和信号通路,诱导自身 NSCs 的增殖分化,达到神经修复的目的。

3 外源性 NSC 移植治疗 HIBD 的可塑性

有学者提出应用 NSCs 移植治疗神经系统疾病^[21-22],为神经系统疾病的治疗开创了一条新的道路。大量研究发现,通过移植具有多向分化潜能的 NSCs 能减少缺氧缺血新生大鼠模型由局部缺血导致的神经细胞死亡,使其运动能力、学习记忆能力得到提高^[23-24],在神经系统的发育中起重要作用。NSCs 移植的可行性在于:1)NSCs 来源广泛:不同胎龄人脑脑室下区均存在 NSCs,且均可以在体外培养出 NSCs;2)NSCs 系具有很强的分裂能力,移植后不仅能在体内很好的存活,而且神经前体细胞由脑室植入,能直接突破血脑屏障,迁徙至脑实质,并与宿主细胞在形态和功能上可能形成良好的整合,从而参与神经结构和功能的修复与重建;3)NSCs 具有不断分裂增殖的能力,为神经移植提供大量的供体组织;4)NSCs 来源于神经组织,在去除丝裂原信号后分化为神经系细胞,不再具有过度的增殖能力,因此移植后不具有致瘤性;5)NSCs 系分裂细胞,适合于目前效果最肯定、方法最成熟的逆转录病毒的转染,便于基因操作。临床已用于治疗新生儿缺氧缺血性脑病等 HIBD 性疾病^[25]。因此 NSCs 移植治疗 HIBD 在临床上具有广泛的前景。

4 外源性 NSC 移植治疗 HIBD 存在的问题

但是,在移植的过程中,应考虑到以下几个问题:虽然目前普遍应用细胞培养方法研究 NSCs 的各种特性具有可重复性的优点,但由于体外培养和分离的 NSCs 毕竟脱离了体内正常的生理环境,因此,还不清楚体外培养的这种细胞所产生的反应是否与在生理条件下的相同;其次,在非生理浓度的有丝分裂原影响下,非正常状态是否能引起去极化、转

分化或细胞潜能的其它修饰也不清楚。也就是说在细胞培养条件下,即使有些细胞表现了类似在体 NSCs 的一些特征,也很难肯定这些细胞在生理状态下会表现同样的功能。同时,由于外源性的 NSCs 移植存在免疫排斥反应、形态学及细胞环路能否重建、功能能否整合及近远期预后的评估等诸多环节目前尚未解决,远期疗效尚未肯定。因此,要真正的将 NSCs 移植广泛用于临床,需要解决很多问题^[2]。

综上所述,由于 NSCs 保持了未分化状态并具有增殖能力,给临床治疗神经系统退行性疾病带来新的契机。无论是外源性 NSCs 植入修复受损的神经还是诱导内源性 NSCs 增殖分化,都使人们确信,NSCs 会给 HIBD 患儿带来福音,有希望攻克 HIBD 治疗上的难关。为临床应用 NSCs 早期干预治疗神经系统退行性疾病提供一条新思路。

[参 考 文 献]

- [1] Pisani F, Orsini M, Braibani S, et al. Development of epilepsy in newborns with moderate hypoxic-ischemic encephalopathy and neonatal seizures[J]. *Brain Dev*, 2009, 31(1): 64-68.
- [2] 邵青梅, 叶鸿瑁, 丘小汕. 实用新生儿学[M]. 4 版. 北京: 人民出版社, 2011: 700.
- [3] 左明雪. 神经干细胞-治疗神经性疾病的希望[J]. *生物学通报*, 2002, 37(1): 4-7.
- [4] 王飞, 黄强. 神经干细胞增殖与分化机制的研究进展[J]. *解剖科学进展*, 2003, 9(1): 81-84.
- [5] Doetsch F, Caille I, Lim DA, et al. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain[J]. *Cell*, 1999, 97(6): 703-716.
- [6] Gage FH, Coates PW, Palmer TD, et al. Survival and differentiation of adult neuronal progenitor cells transplanted to the adult brain[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(11): 11879-11883.
- [7] Weiss S, Dunne C, Hewson J, et al. Multipotent CNS stem cells are present in the adult mammalian spinal cord and ventricular neuroaxis[J]. *J Neurosci*, 1996, 16(23): 7599-7609.
- [8] Tropepe V, Coles BLK, Chiasson BJ, et al. Retinal stem cells in the adult mammalian eye[J]. *Science*, 2000, 287(5460): 2032-2036.
- [9] Chen X, Tian Y, Yao L, et al. Hypoxia stimulates proliferation of rat neural stem cells with influence on the expression of cyclin D1 and c-Jun N-terminal protein kinase signaling pathway in vitro[J]. *Neuroscience*, 2010, 165(3): 705-714.
- [10] 尹晓娟, 巨容, 封志纯. 新生鼠缺血缺氧性脑病中神经干细胞的形态学观察[J]. *中国儿童保健杂志*, 2005, 13(5): 422-425.
- [11] 尹晓娟, 巨容, 封志纯. 新生鼠缺氧缺血性脑病动物模型的建立及神经干细胞在缺氧缺血性脑病中的变化规律探讨[J]. *中华儿科杂志*, 2005, 43(8): 572-575.
- [12] Guan J. Insulin-like growth factor-1 and its derivatives: Potential pharmaceutical application for ischemic brain injury[J]. *Recent Pat CNS Drug Discov*, 2008, 3(2): 112-127.
- [13] Zhong J, Zhao L, Du Y, et al. Delayed IGF-1 treatment reduced long-term hypoxia-ischemia-induced brain damage and improved behavior recovery of immature rats[J]. *Neurol Res*, 2009, 31(5): 483-489.
- [14] Fan LWS, Rhodes PG, et al. Intranasal administration of IGF-1 attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats[J]. *Exp Neurol*, 2009, 217(2): 361-370.
- [15] Learish RD, Bruss MD, Haak-Frendscho M. Inhibition of mitogen-activated protein kinase blocks proliferation of neural progenitor cells[J]. *Brain Res Dev Brain Res*, 2000, 122(3): 97-109.
- [16] 佟雷, 王振宇, 季丽莉. ERK 信号转导通路对新生大鼠海马神经干细胞增殖的影响[J]. *解剖科学进展*, 2011, 17(3): 1006-2947.
- [17] Hongfu LI, Qian LI, Xiaonan DU, et al. Lithium-mediated long-term neuroprotection in neonatal rat hypoxia-ischemia is associated with antiinflammatory effects and enhanced proliferation and survival of neural stem/progenitor cells[J]. *Cereb Blood Flow Metab*, 2011, 31(10): 2106-2115.
- [18] 王钰, 尹晓娟. 锂对新生儿缺氧缺血性脑损伤神经保护作用的研究进展[J]. *中国儿童保健杂志*, 2011, 19(11): 1002-1004.
- [19] Sejersted Y, Hildrestrand GA, Kunke D, et al. Endonuclease VIII-like 3(Neil3) DNA glycosylase promotes neurogenesis induced by hypoxia-ischemia[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(46): 18802-18807.
- [20] Toyoda T, Matsukawa N, Sagisaka T, et al. Suppression of astrocyte lineage in adult hippocampal progenitor cells expressing hippocampal cholinergic neurostimulating peptide precursor in an invivo isch[J]. *Cell Transplant*, 2012, 26(5).
- [21] Jablonska A, Kozłowska H, Markiewicz I. Transplantation of neural stem cells derived from human cord blood to the brain of adult and neonatal rats[J]. *Acta NeurobiolExp (Wars)*, 2010, 70(4): 337-350.
- [22] Dong MM, Yi TH. Stem cell and peripheral nerve injury and repair[J]. *Facial Plast Surg*, 2010, 26(5): 421-427.
- [23] De Paula S, Greggio S, DaCosta JC. Use of stem cells in perinatal asphyxia: From bench to bedside[J]. *J Pediatr (Rio J)*, 2010, 86(6): 451-464.
- [24] Lee IS, Jung K, Kim M, et al. Neural stem cells: Properties and therapeutic potentials for hypoxic-ischemic brain injury in newborn infants[J]. *Pediatr Int*, 2010, 52(6): 855-865.
- [25] 栾佐, 尹国才, 胡晓红, 等. 人神经干细胞移植治疗重度新生儿缺氧缺血性脑病 1 例[J]. *中华儿科杂志*, 2005, 43(8): 580-583.

收稿日期: 2012-05-31

本刊网址: www.cjchc.net