

## · 前沿论坛 ·

## 脑卒中干细胞治疗机制及临床研究进展

王淑娜, 缪朝玉

(第二军医大学药理学教研室, 上海 200433)

**缪朝玉**, 第二军医大学国家重点学科药理学教研室主任、教授和博士生导师, 上海市药理学学会理事长, 中国药理学会常务理事、副秘书长和心血管药理专业委员会名誉主任委员。国家杰出青年科学基金获得者, 全国优秀博士学位论文获得者, 国家药效学平台负责人, 国家药理学精品课程负责人, 全国优秀科技工作者, 全国巾帼建功标兵。主编专著教材 11 部, 担任 3 种 SCI 国际期刊编委。主持心脑血管和代谢领域国家重大重点项目等 30 余项, 完成新药评价 30 余项。在 *Trends Pharmacol Sci*, *Ann Neurol* 和 *Eur Heart J* 等发表论文 190 余篇, SCI 引用 6000 余次。获国家自然科学奖二等奖 1 项, 省部级科技奖一等奖和二等奖 4 项, 发明专利 17 项。入选国家教育部创新团队。培养研究生 40 名, 其中 1 名博士获国家优秀青年科学基金。



**摘要:** 脑卒中是我国第一致死和主要致残原因, 但缺乏有效的治疗手段。仅有 3%~5% 脑卒中患者可接受唯一的脑缺血药物组织型纤溶酶原激活剂治疗, 出血性脑卒中尚无药可治。干细胞治疗的提出, 为脑卒中患者提供了再生医学的治疗策略。本文基于脑卒中干细胞研究指南出发, 阐述神经干细胞如人神经前体细胞系 NT2/D1 和人永生化神经干细胞系 CTX 及成体干细胞如骨髓单核细胞、间充质干细胞和多能成体干细胞在脑卒中治疗中的作用机制和临床研究进展, 并进一步指出了干细胞治疗的局限性。未来, 脑卒中干细胞研究可与基因编辑技术和药物治疗等相结合, 提高干细胞治疗的安全性和有效性, 推动脑卒中再生医学治疗研究。

**关键词:** 脑卒中; 神经干细胞; 成体干细胞; 再生医学

中图分类号: R96

文献标志码: A

文章编号: 1000-3002-(2019)02-0081-12

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2019.02.001

脑卒中在中国和全球分别为第一和第二致死原因以及主要致残原因, 具有发病率高、死亡率高、致残率高、复发率高和医疗费高等特点, 是危害社会健康的严重疾病问题, 但缺乏有效的治疗手段<sup>[1-2]</sup>。目前, 脑卒中唯一获批的治疗药物只有组织型纤溶酶原激活剂 (tissue-type plasminogen activator, tPA), 用于治疗急性缺血性脑卒中, 但由于 tPA 溶栓治疗时间窗狭窄、禁忌症限制和并发症危险, 仅 3%~5% 患者获得治疗<sup>[3]</sup>。在脑卒中药物治疗中, 靶向兴奋性毒性、氧化和硝化应激、炎症等损伤机制的神经保护剂, 已在上千项非临床研究和上百项临床试验中开展<sup>[4]</sup>。但是大量神经保护剂最终被证明转化失败, 使得治疗脑卒中有效治疗药物的研

发迫在眉睫。

近年来, 干细胞移植被提出用于脑卒中治疗研究。干细胞具有自我更新能力, 可替换脑组织损伤细胞, 分化为神经系统组成所必需的各种类型细胞。研究报道, 在动物缺血性脑卒中模型中, 干细胞治疗促进缺血性脑卒中后的恢复, 可通过抑制炎症和凋亡发挥神经保护作用, 降低脑梗死体积, 通过释放营养因子和生长因子等增强内源性修复机制, 而且移植后的干细胞在宿主内分化、替代和整合, 进而替代脑损伤细胞, 发挥治疗作用<sup>[5]</sup>。目前, 干细胞治疗研究包括使用不同类型的干细胞, 如神经干细胞 (neural stem cells, NSC)、骨髓单核细胞 (bone marrow mononuclear cells, BM-MNC)、间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC) 和多能成体干细胞 (multipotent adult progenitor cells, MAPC) 等; 不同的给予途径, 如脑内、动脉、静脉、鞘内和鼻内等途径; 不同的剂量, 由细胞类型和给予途径而定; 不同的治疗时间窗, 从数天、数月数年

**基金项目:** 医学创新工程重点项目 (16CXZ009); 国家自然科学基金 (81730098); 上海市科委项目 (16431901400); 上海市科委项目 (16140904500)

**通讯作者:** 缪朝玉, E-mail: cymiao@smmu.edu.cn

不等<sup>[5-6]</sup>。因此,干细胞疗法被纳入脑卒中基础和临床研究,以改善脑组织损伤修复和神经功能缺陷,为脑卒中患者提供了再生医学的治疗策略。

本文从基于干细胞的脑卒中治疗指南出发,介绍了脑卒中干细胞治疗作用机制和临床研究现状,着重概括临床研究较多的神经干细胞和成体干细胞,并指出了干细胞治疗的局限性,希望推进脑卒中干细胞治疗的再生医学研究与发展。

## 1 脑卒中干细胞研究指南

脑卒中干细胞治疗已建立非临床和临床研究指南,第一部指南于 2009 年发布,重点关注非临床研究及其作为细胞疗法临床试验的重要发展部分<sup>[7]</sup>;由于第一部指南为早期临床试验的实施提供了建议,该领域迅速发展;随后 2011 年更新的指南补充并细化了相关内容<sup>[8]</sup>;2014 年指南再次更新,关注干细胞疗法的作用机制、动物模型到患者成功应用转化存在的障碍和目前急慢性脑卒中的临床试验设计问题<sup>[9]</sup>。目前,脑卒中干细胞临床试验已注册逾 50 项<sup>[5-6, 10-13]</sup>,所应用的细胞类型主要是神经干细胞和成体干细胞,其治疗方案大多采用单一类型细胞治疗,多种细胞联合应用的研究案例较少(表 1)。

## 2 脑卒中神经干细胞作用机制与临床研究

### 2.1 神经干细胞作用机制

神经干细胞具有自我更新能力,可分化为各种类型的神经细胞,如神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞等,在胚胎形成和成年神经再生中发挥重要作用。神经干细胞的脑卒中治疗包括胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESC)、多能干细胞(pluripotent stem cells, PSC)和成年神经干/祖细胞(neural stem cells/neural progenitor stem cells, NSC/NPC)治疗。NSC 不像胚胎发育进程那样精心编排、大规模并行发生,而是在任何时间点均可发生。在成年神经再生过程中,具有分化能力的 NSC 可进行自我更新和瞬间扩增,最终分化为成熟的神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞<sup>[11]</sup>。

目前,在脑卒中动物模型中,提出 2 种基于 NSC 的主要作用机制:① 通过脑内移植 NSC 及内源性 NSC 的神经再生刺激,替换受损的神经元,以重建和修复受损的脑神经通路;② 通过脑内、静脉内或动脉内递送至大脑内的 NSC,以旁分泌的方式,促进免

疫调节、神经保护机制、内源性神经再生和血管新生<sup>[11,15]</sup>。神经干细胞的脑卒中作用机制的阐明,为其进一步临床试验的开展提供了理论基础。

### 2.2 神经干细胞临床研究

鉴于神经干细胞在脑卒中动物模型中的有效作用,神经干细胞的脑卒中治疗策略被提出,以补偿脑卒中后缺血组织不可逆的细胞损失、修复脑组织损伤。其临床试验已开展,主要用于慢性缺血性脑卒中的治疗,但在急性和亚急性缺血性脑卒中以及出血性脑卒中的治疗研究较少(表 1)。尽管注册的干细胞脑卒中临床试验已 >50 项,但只有人神经前体细胞系 NT2/D1 和人永生神经干细胞系 CTX 进入到临床 I 期和 II 期试验,神经类型细胞 LGE 细胞的临床研究由于有限的实验设计以及癫痫、偏瘫加重等有害事件的出现而提前终止<sup>[31-37]</sup>。

#### 2.2.1 人神经前体细胞系 NT2/D1

NT2/D1 细胞,也被称为 NT2 细胞,是一种人畸胎瘤来源的人多能胚胎瘤细胞系,被认为是神经前体细胞系<sup>[31,33,37]</sup>。NT2/D1 细胞给予维 A 酸,可诱导获得有丝分裂后期神经元样细胞 NT2N 神经元(商品名 LBS-Neurons)。

在严重运动障碍的基底神经节脑卒中患者中展开 NT2N 神经元临床 I 期试验<sup>[32]</sup>。该项研究招募脑卒中患者共 12 例,年龄 44~75 岁,脑梗病程 6 个月~6 年。其中 4 例脑卒中患者在脑内给予单剂量  $2 \times 10^6$  细胞移植,另 8 例患者随机给予单剂量  $2 \times 10^6$  细胞或 3 倍剂量的  $6 \times 10^6$  细胞移植,移植后 1, 2, 4, 8, 12, 16, 24, 36 和 52 周对其安全性和有效性进行评价。长达 18 个月血清学或影像学评估结果显示,无细胞相关的有害作用;欧洲卒中评分量表(European Stroke Scale, ESS)评估显示,所有患者平均改善了 2.9 分;移植后 6 个月,11 例患者的 PET 扫描结果显示(另 1 例患者由于其他疾病原因,被迫推迟),6 例患者(5 例接受  $2 \times 10^6$  细胞治疗,1 例接受  $6 \times 10^6$  细胞治疗)的移植位点或同侧脑中,氟脱氧葡萄糖[F-18]相对摄取增加  $\geq 15\%$ 。此外,手术后 27 个月,1 例患者心梗死亡,首例尸检结果显示,移植的神经元细胞可迁移到脑卒中区域,存活达 2 年之久。NT2N 神经元临床 I 期试验,证明了神经元脑内移植在运动障碍脑梗患者中的安全性和可行性,但该项研究未设置对照组。因此,NT2N 临床 II 期试验在完善实验设计的基础上,再次确认了 NT2N 神经细胞移植在运动功能缺陷脑卒中患者中的安全性和有效性。

NT2N 神经元 II 期临床试验,采用随机、观察者

表 1 脑卒中干细胞治疗临床研究进展

脑卒中类型	细胞类型	治疗时间窗	患者例数 (对照:试验)	随访/月	实验设计(NCT 编码)	细胞剂量	给予途径	结果	时间
急性缺血性	MAPC(MultiStem)	1~2 d	61:65	12	随机对照临床 II 期(NCT01436487)	(4或12)×10 <sup>8</sup>	静脉	安全可行	2017 <sup>[14]</sup>
		未知	共300		随机对照临床 III 期			筹划中	2018 <sup>[15]</sup>
	BM-MNC	1~3 d	0:10	6	非盲前瞻研究	(7~10)×10 <sup>6</sup> kg <sup>-1</sup>	静脉	安全可行	2011 <sup>[16]</sup>
		1~7 d	38:38	24	随机对照临床 II 期(NCT02178657)	(2或5)×10 <sup>5</sup> kg <sup>-1</sup>	动脉	有效,安全性待确定	2015 <sup>[17]</sup>
		3~7 d	0:20	6	非盲试点研究	2.2×10 <sup>7</sup>	动脉	安全可行	2012 <sup>[18]</sup>
	AD-MSC	≤2周	10:10	24	随机对照临床 II a 期	1×10 <sup>7</sup> kg <sup>-1</sup>	静脉	安全可行有效	2014 <sup>[19]</sup>
	造血干细胞	≤7 d	0:5	6	非盲临床 I 期(NCT00535197)	1×10 <sup>8</sup>	动脉	安全可行有效	2014 <sup>[20]</sup>
	BM-MNC	5~9 d	10:10	6	观察者盲法临床 I / II 期 (NCT00761982)	1.59×10 <sup>8</sup>	动脉	改善日常活动,未改善神经功能,偶发癫痫	2012 <sup>[21]</sup>
		7~10 d	0:12	6	非盲临床 I / II a 期(NCT01678534)	(2.5或3.4)×10 <sup>7</sup>	静脉	安全可行,改善神经功能、脑血流量和代谢	2015 <sup>[22]</sup>
		7~30 d	0:11	13	非盲临床 I 期(NCT01501773)	(2~18.6)×10 <sup>7</sup>	静脉	安全可行	2012 <sup>[23]</sup>
慢性缺血性		7~120 d	60:60	12	非盲临床 II 期(NCT01501773)	2.8×10 <sup>8</sup>	静脉	安全可行,但预后无差异	2014 <sup>[24]</sup>
		2~3个月	18:21	12	非盲临床试验	1×10 <sup>6</sup>	动脉	安全可行,但预后无差异	2016 <sup>[25]</sup>
		18.8~37 d	36:16	60	非盲临床 I 期(NCT00473057)	(1~5)×10 <sup>8</sup>	动脉	安全可行,仅2例患者200 d后偶发癫痫	2011 <sup>[26]</sup>
	BM-MSC	32~61 d	25:5	12	非盲临床试验	5×10 <sup>7</sup> , 给2次	静脉	安全可行,可能改善残疾	2010 <sup>[27]</sup>
		33~136 d	0:12	12	随机对照临床 I / II 期	5×10 <sup>7</sup> , 给2次	静脉	安全可行有效	2005 <sup>[28]</sup>
		1周~2年	2:6	24	非盲临床研究	(0.6~1.6)×10 <sup>8</sup>	静脉	安全可行	2011 <sup>[29]</sup>
	NSC/NPC或MSC	6个月~6年	0:12	18	临床 I 期	MSC 0.5×10 <sup>6</sup> , 给4次 NSPC 6×10 <sup>6</sup> , 给3次	静脉	安全可行有效,仅短暂低烧头晕	2014 <sup>[30]</sup>
	NT2/D1 (LBS-Neuron)	1~6年	4:14	24	观察者盲法临床 II 期	(2或6)×10 <sup>6</sup>	脑内	安全可行	2000 <sup>[31]</sup> 2002 <sup>[32]</sup>
	胎猪纹状体细胞 (LGE cell)	3个月~10年	0:5	提前终止	非盲临床研究	1×10 <sup>7</sup> (5或8)×10 <sup>7</sup>	脑内	安全可行,但未改善运动缺陷	2005 <sup>[33]</sup>
	NSC(CTX0E03)	6~60个月	2:11	24	非盲临床 I 期(NCT01151124)	(2.5或10)×10 <sup>7</sup>	壳核	实验设计有局限性,出现癫痫、偏瘫加重	2005 <sup>[34]</sup>
	2~12个月	0:21		非盲临床 II 期(NCT02117635)	2×10 <sup>8</sup>	壳核	安全可行有效	2016 <sup>[35]</sup>	
	≤6个月	55:55		非盲临床 II b 期(NCT03629275)	2×10 <sup>8</sup>	壳核	安全,移植1年后,改善临床预后	2017 <sup>[36]</sup>	
							进行中	2018 <sup>[37]</sup>	

续表1

脑卒中类型	细胞类型	治疗时间窗	患者例数 (对照:试验)	随访月	实验设计(NCT 编码)	细胞剂量	给予途径	结果	时间
慢性缺血性	BM-MNC	3个月~1.5年	10:10	12	非盲临床研究	(5-6)×10 <sup>7</sup>	静脉	安全可行,但无明显临床改善	2016 <sup>[38]</sup>
		3个月~2年	12:12	6	非盲临床研究	5.46×10 <sup>7</sup>	静脉	安全可行,可能改善神经功能	2012 <sup>[39]</sup>
	BM-MSC (SB263 细胞)	6~60个月	0:18	24	非盲临床 I / II a期(NCT01287936)	(2.5, 5.0 或 10)× 10 <sup>6</sup>	脑内	安全有效	2016 <sup>[40]</sup>
		6~90个月	52:104	12	非盲临床 II b期(NCT02448641)	(2.5或5.0)×10 <sup>6</sup>	脑内	进行中	2018 <sup>[37]</sup>
	BM-MSC	3个月~2年	6:6	52	非盲试点研究		静脉	安全可行有效	2017 <sup>[41]</sup>
	PBSC	6个月~5年	15:15	12	随机对照临床 II 期	(3-8)×10 <sup>6</sup>	脑内	安全可行有效	2014 <sup>[42]</sup>
出血性	BM-MNC	5~7 d	40:60	6	观察者盲法临床 I 期	(0.2-2)×10 <sup>7</sup>	脑内	安全可行有效	2013 <sup>[43]</sup>
混合型	BM-MNC	1~10年	0:5	12	非盲临床 I 期	(1.4-5.5)×10 <sup>7</sup>	脑内	安全可行	2009 <sup>[44]</sup>
		4~144个月	0:24	30	非盲临床 I / II 期(NCT02065778)	1×10 <sup>6</sup> kg <sup>-1</sup>	鞘内	改善卒中慢性期的功能 预后	2014 <sup>[45]</sup>
	BM-MSC	6~12个月	6:6	6	非盲临床 I 期	(5-6)×10 <sup>7</sup>	静脉	安全可行	2011 <sup>[46]</sup>
		≤90 d	20:40	3	非盲试点研究	1×10 <sup>6</sup> kg <sup>-1</sup>	静脉	进行中	2013 <sup>[47]</sup>
	BM-MSC或 BM-MNC	3个月~2年	20:20	6	非盲试点研究	(5-6)×10 <sup>7</sup>	静脉	安全可行 有效	2013 <sup>[48]</sup>
	UC-MSC	3~6个月	0:4	6	非盲试点研究	2×10 <sup>7</sup>	动脉	安全可行,可能改善脑缺血患 者临床预后	2013 <sup>[49]</sup>
	多细胞联合疗法	6个月~20年	0:10	24	非盲试点研究	OEC (1~2)×10 <sup>6</sup> NPC (2~5)×10 <sup>6</sup> SC 2×10 <sup>6</sup> UCMSC (1~2.3)×10 <sup>7</sup>	颅内	安全可行,仅改善脑缺血患者 功能	2013 <sup>[50]</sup>

AD-MSC:脂肪间充质干细胞;BM-MNC:骨髓单核细胞;BM-MSC:骨髓间充质干细胞;MAPC:多能成体干细胞;NSC/NPC:神经干细胞/神经祖细胞;OEC:嗅鞘细胞;SC:施万细胞;UC-MSC:脐带间充质干细胞。

盲法的实验设计,共招募 18 例年龄 18~75 岁、脑卒中病程 1~6 年、存在固定运动障碍行为的脑卒中患者,其中缺血性和出血性脑卒中患者各 9 例<sup>[33]</sup>。所有脑卒中患者被随机分为治疗组和对照组,治疗组中共 14 例患者,7 例患者接受  $5 \times 10^6$  细胞治疗,7 例患者接受  $10 \times 10^6$  细胞治疗,而后参与脑卒中康复治疗项目;对照组中 4 例患者不进行细胞治疗,仅参与脑卒中康复治疗项目。另外,所有患者在术前和术后均进行运动学测试和影像学检测,作为基准值。长达 24 个月的血清学和影像学评估结果显示,14 例细胞治疗组患者均未出现细胞相关的有害事件,仅 1 例患者出现一次癫痫发作;移植后 6 个月,  $5 \times 10^6$  细胞治疗组中的 4 例患者和  $10 \times 10^6$  细胞治疗组中的 2 例患者,改善了 ESS 量表评分结果,但细胞治疗组与对照组或基准值比较,整体分数结果均无明显差异。另外,与对照组或基准值相比,细胞治疗组中 Fugl-Myer 量表评分未显示手腕活动和手指运动分数得到提高;但上肢功能评估量表和脑卒中影响量表 (Stroke Impact Scale, SIS) 评分显示,手指运动评分和 6 个月时的日常活动分数均得到提高。

尽管在该项临床试验中,一些脑卒中患者出现了明显的运动功能和日常活动改善,但该项研究并不能作为运动功能改善为主要终点指标的证据。该结果的出现,可能是由于脑卒中患者数量不足、未对脑卒中患者类型进行分类、脑卒中病程过久或细胞剂量不足等原因。因此,应开展更大规模的临

床试验,以招募数量更多、病程更短的脑卒中患者,将脑卒中患者按照缺血性和出血性进行分类,给予更多剂量的细胞治疗,以探究 NT2/D1 神经细胞移植是否改善脑卒中患者的运动功能。

### 2.2.2 人神经干细胞系 CTX

人神经干细胞 CTX 可释放细胞因子和生长因子,以促进血管新生、神经再生和降低炎症反应 (图 1)<sup>[11]</sup>。CTX0E03 是一种永生人神经干细胞系,来源于人胚胎脑组织,通过逆转录病毒转染 *c-myc* 生长因子进行永生化处理,永久保持干细胞特性。CTX0E03 被作为临床级 NSC,据此研制的商业化产品 CTX-DP 被用来治疗慢性脑卒中 (ReNeuron PISCES 试验)<sup>[35,37]</sup>。

慢性脑卒中患者中,CTX0E03 临床 I 期试验 (PISCES I, NCT01151124)<sup>[35]</sup> 采用开放、单一位点及剂量递增的实验方案,共招募 13 例年龄  $\geq 60$  岁、病程 6~60 个月、美国国立卫生研究院卒中量表 (NIHSS) 评分  $\geq 6$  分、mRS 评分 2~4 分的男性缺血性脑卒中患者,其中 11 例患者接受细胞治疗,在脑梗同侧壳核内立体定位注射单剂量  $2 \times 10^7$ ,  $5 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  或  $2 \times 10^8$  细胞。移植前,NIHSS 评分平均为 7 分,脑卒中发作病史平均为 29 个月。该项研究主要是评价脑内移植 CTX0E03 的安全性和耐受性,观察移植 2 年后的神经学和功能学预后。近 5 年的随访结果显示,未出现免疫或细胞相关的有害事件,仅有手术过程或并发症带来一些不利影响;细胞治疗组具有较好的细胞剂量耐受性,即使单次给予

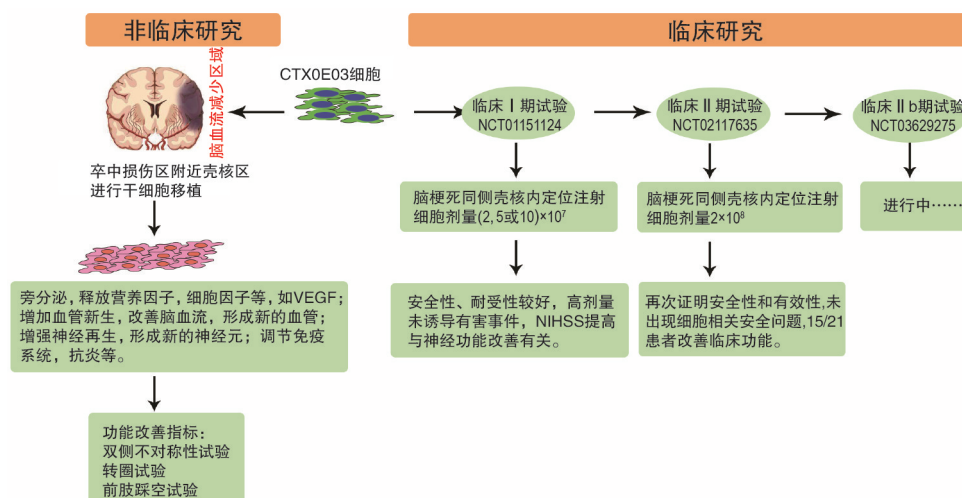


图 1 CTX0E03 人神经干细胞在脑缺血中的作用。CTX0E03 是一种永生人神经干细胞系,来源于人胚胎脑组织,通过逆转录病毒转染 *c-myc* 生长因子进行永生化处理,永久保持干细胞特性。CTX 细胞系以冷冻状态储存,需要在使用前解冻,给药之前不需要进一步处理。非临床研究表明,在卒中损伤区附近进行 CTX0E03 干细胞移植,可通过旁分泌方式,释放营养因子血管内皮细胞生长因子 (VEGF) 等;可增强血管新生,改善脑血流,促进新的血管形成;增强神经再生,形成新的神经元;调节免疫系统,发挥抗炎作用等。进一步临床 I 期和 II 期试验均证明 CTX0E03 干细胞在临床试验中的安全性和有效性,II 期临床试验正在开展中。

$2 \times 10^8$  细胞剂量也不会诱导有害事件;移植后2年,整体NIHSS分数改善2分,且与改善的神经功能有关。

尽管PISCES I结果证明了CTX0E03的安全性和耐受性,但该项研究选择的受试者脑卒中病程较长,通常神经功能很难被改善,因此很难确定神经干细胞的有效性。据此,CTX0E03临床II期试验(PISCES II, NCT02117635)紧接PISCES I的步伐,以评价安全性和有效性。该II期试验招募年龄 $\geq 40$ 岁、病程2~12个月、合并手臂局部麻痹且手臂丧失功能3~12个月的21例大脑中动脉缺血性脑卒中患者,给予单一 $2 \times 10^8$ 细胞剂量治疗<sup>[36]</sup>。长达12个月的随访结果显示,未出现细胞相关的安全问题;15例患者出现临床相关的功能改善。

目前,CTX0E03 PISCES III (NCT03629275)已获批,是一项随机对照临床IIb期试验,旨在研究CTX细胞在慢性脑卒中患者中的安全性和有效性。该项研究共招募110例年龄35~75岁、脑卒中后6~12个月具有持续性残疾的缺血性脑卒中患者,以1:1的比例随机分为细胞治疗组和假手术组,所有患者均接受为期12周的物理治疗。此次临床试验设置了假手术组,是为了排除手术和麻醉等干预因素对临床研究的影响,同时也将考虑细胞给予方式(脑内立体定向注射)的安全性问题。

### 3 脑卒中成体干细胞作用机制与临床研究

与NSC临床试验相比,成体干细胞的脑卒中临床研究大幅度增加(表1),主要包括BM-MNC, MSC和MAPC。

#### 3.1 骨髓单核细胞

##### 3.1.1 骨髓单核细胞作用机制

BM-MNC包含不同类型的干细胞,存在于骨髓中,通过骨髓抽取可在几小时内获得并输注。BM-MNC通过趋化性靶向病变位点,具有产生和分泌各种细胞因子和生长因子的能力。非临床研究表明,BM-MNC治疗可降低梗死体积并改善功能预后<sup>[6]</sup>。

##### 3.1.2 骨髓单核细胞临床研究

先后开展的临床试验研究了BM-MNC的安全性、可行性、有效性以及输注途径和不同剂量与疗效的相关性<sup>[5-6,10,12]</sup>(表1)。试验结果表明,BM-MNC在脑卒中患者中动脉输注、静脉输注、脑内或鞘内注射均是安全可行的。急性脑缺血患者给予BM-MNC治疗后,6个月随访期间未发生有害事件及住院死亡

事件,可分别改善70%和40%中度或中重度脑缺血患者的临床预后。在亚急性脑缺血患者中,小规模临床试验报道称,BM-MNC对神经功能、脑血流量或日常活动能力有积极影响,仅偶发非细胞治疗相关的癫痫;但较大规模临床结果表明,BM-MNC治疗虽然安全可行,但并不能改善脑卒中结局,对运动功能、语言失调和梗死体积等无益。在慢性脑缺血患者中,BM-MNC的有效性尚无法确定,但可通过旁分泌形式在干细胞区和神经恢复微环境中分泌血管内皮细胞生长因子和脑源性神经营养因子。

在含14例脑缺血和10例脑出血的慢性脑卒中患者中,通过鞘内输注BM-MNC可加快患者恢复进程,12例改善步行能力,10例改善手功能,6例改善站立平衡,9例改善行走平衡,促进脑卒中慢性期的功能恢复<sup>[45]</sup>。在单纯出血性脑卒中患者中,脑内给予BM-MNC可减少神经功能损伤,改善日常生活能力。BM-MNC在不同的临床试验中,其有效性不一致,与脑卒中类型、治疗时间窗、细胞剂量、患者类型和患者数量等密切相关,需要开展更大规模的临床试验。

BM-MNC移植后的生物分布试验也在临床试验中开展。通过动脉或静脉给予亚急性大脑中动脉脑卒中患者镓-99m标记的BM-MNC,发现移植2和24 h后,动脉输注组中肝和脾的放射性比较高,肺中含量较低,但是2种给予途径中,脑中放射性均较低,不存在明显差异。因此,无论动脉或静脉给予BM-MNC,相对于初始给予剂量,脑内实际有效剂量很低。2015年首次在中等到严重的急性缺血性脑卒中患者中,探究不同剂量动脉内注射自体同源BM-MNC的有效性试验。紧接着,2项临床试验探究了不同剂量的自体同源BM-MNC在缺血性脑卒中患者中与疗效的相关性。结果表明,细胞治疗组的细胞剂量与残疾具有高度相关性,较高剂量的细胞治疗组在180 d表现出较好的预后。这一结果与非临床研究相似,即高剂量的自体同源BM-MNC与脑卒中患者较好的预后有关,特别当细胞剂量 $> 3.1 \times 10^8$ 时,这一相关性更加明显。

#### 3.2 间充质干细胞

MSC是PSC,最初在骨髓中发现,也被称为“骨髓基质细胞”,后来在身体其他部位发现,如脂肪组织、脐带、肺、肝、滑膜、羊水、牙髓、骨骼肌、胎儿血液和循环系统中。鉴于MSC具有较好的可塑性,可在体外培养,具有与众不同的形态结构,表达特定的CD集群分化因子,在适当微环境作用下,可

增殖和分化为其他类型的细胞<sup>[13]</sup>。尽管 MSC 在脂肪组织中分布最多,但临床试验中大多使用自体同源的骨髓 MSC (bone marrow MSC, BM-MS C),其他类型的 MSC 临床治疗也有报道<sup>[5-6, 10, 12-13]</sup>,如脂肪组织 MSC (adipose-derived MSC, AD-MS C)和脐带血 MSC (umbilical cord MSC, UC-MS C)(表 1)。

### 3.2.1 骨髓间充质干细胞

#### 3.2.1.1 骨髓间充质干细胞作用机制

BM-MS C 具有自我更新能力,可分化为中胚层、内胚层以及外胚层的细胞,如神经元、神经胶质细胞和内皮细胞。大量非临床证据显示,BM-MS C 通过多个作用机制参与缺血性脑卒中病理过程,如迁移并在缺血区存活,营造有利于细胞存活和受损神经组织修复再生的微环境;通过免疫调节抑制缺血区的神经元和神经胶质细胞凋亡;释放细胞因子和神经营养因子,为缺血半暗带区的受损神经元提供营养支持;诱导血管生成,改善脑血流循环,促进神经组织修复;还可能刺激轴突出芽和髓鞘重构,促进内源性神经再生;作为基因载体将细胞治疗和基因治疗相结合,通过修饰,引入靶基因,促进迁移、存活,增强营养因子表达,加速缺血区血管再生,抵抗炎症,减轻神经水肿和凋亡;与药物治疗联合使用,提供简单、高效、可行的累积性的协同疗效;通过分化为神经细胞或去分化为原始干细胞在脑卒中治疗中发挥作用;通过低氧预处理,增强自身存活能力,进而增加细胞数量和某些生物因子表达提高治疗效果。此外,BM-MS C 通常来源于自体组织,不存在伦理学问题,体外培养方便,具有较低的免疫原性和很好的安全性<sup>[51]</sup>。基于以上优势,BM-MS C 可作为脑卒中干细胞临床治疗的理想细胞,临床试验已开展(表 1)。

#### 3.2.1.2 骨髓间充质干细胞临床研究

BM-MS C 在急性脑缺血中的临床研究尚无报道。早期结果显示,在亚急性脑缺血患者中,静脉给予 BM-MS C 不会引起有害事件,可能有助于神经功能恢复。MS C 的临床改善与基质细胞来源因子 1 的血清水平和侧脑室室下区的参与程度有关。近期,一项随访时间长达 4 年多的慢性脑缺血性患者临床研究表明,静脉给予 BM-MS C 未发生细胞相关的任何不良反应或有害事件。即使在出血和缺血合并的慢性脑卒中患者中,移植后也未发生类似于静脉血栓栓塞、细胞异常分化、全身性癌症、全身感染或神经功能下降的有害事件。

目前,在 BM-MS C 治疗的慢性脑缺血中,SB263 细胞表现出可靠的安全性和较好的临床预

后<sup>[37, 40]</sup>。SB263 细胞是一种同种异体修饰的 BM-MS C,被开发用于稳定性脑卒中导致的慢性运动缺陷疾病的同种异体细胞疗法。SB263 临床 I / II 期试验(NCT01287936)结果表明,在 18 例病程 6~60 个月的慢性脑缺血患者中,分别给予细胞剂量  $2.5 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^6$  和  $10 \times 10^6$ ,不会引起剂量相关的毒性或死亡;相对于细胞治疗前,SB263 细胞治疗后 ESS 分数平均增加 6.88,NIHSS 分数平均降低 2.00,Fugl-Meyer 总分数和运动功能评分分别增加了 19.20 和 11.40,而且移植后 1 周,损伤侧皮质 T2-MRI 信号的改变与 12 个月后的临床预后改善具有相关性。

SB263 细胞临床 II b 期试验(NCT02448641)正在开展中,此次研究将招募 156 例慢性脑缺血患者,按照 1:1:1 的人数比例,将患者分为非细胞治疗组、细胞治疗组 1(细胞剂量  $2.5 \times 10^6$ )和细胞治疗组 2(细胞剂量  $5 \times 10^6$ ),进行为期 1 年的随访研究<sup>[37]</sup>。

以上研究证据支持了 BM-MS C 在脑卒中移植治疗中的安全性和可行性(表 1)。值得注意的是,临床试验中使用的 BM-MS C 均需要在体外扩增培养,尽管使用含动物血清(如胎牛血清)的培养基,离体培养 MS C 的有害事件尚无报道,但尽量选择使用无血清培养基或自体同源血清扩增培养 MS C,以减少异种污染的担忧。

### 3.2.2 脂肪组织间充质干细胞

AD-MS C 相对于骨髓来源的干细胞有很多优势,如可从皮下脂肪组织中微创分离,且数量相对较多;其旁分泌功能和生成血管的潜能均优于骨髓细胞。研究证明,在大鼠脑缺血模型中,静脉给予 AD-MS C 可显著改善功能预后,减少细胞死亡,增加细胞增殖、神经再生、突触再生和血管新生<sup>[6, 19]</sup>。

目前,AD-MS C 在脑卒中临床试验中的研究报道很少(表 1)。一项随访长达 2 年的临床 II a 期试验表明,在急性脑缺血患者中,静脉给予 AD-MS C 具有较好的耐受性,且无并发症,证明了 AD-MS C 细胞治疗的安全性和可行性<sup>[19]</sup>。

### 3.2.3 脐带血间充质干细胞

与 BM-MS C 相比,UC-MS C 具有一些优势,如较好的可塑性、细胞生长速度快、生物学上更接近 ESC、较高的分化潜能、较低的免疫原性及产生更多的分泌因子,且这些分泌因子与神经保护、神经再生和血管新生有关。

在小规模脑卒中临床试验中,含 3 例脑缺血和 1 例脑出血患者,6 个月的随访结果显示,动脉给予 UC-MS C 安全可行,但是有效性有待进一步确定,

可能可以改善脑缺血患者的神经功能<sup>[5]</sup>。

### 3.3 多能成体干细胞

#### 3.3.1 多能成体干细胞作用机制

MAPC 是一种独特的成体贴壁细胞,可以从骨髓和其他组织中分离获得,可根据细胞大小、转录组、分泌组、miRNA 分布和分化能力等,与 BM-MNC 和 MSC 分开来。研究证明,MAPC 在多种中枢神经系统疾病中具有保护作用。在动物脑卒中、脑损伤和脊髓损伤等疾病中,脑内或静脉给予 MAPC 可发挥强大的组织保护能力,减缓胶质细胞活化,改善运动和神经功能预后,具有确切的有效剂量和治疗时间窗<sup>[14-15]</sup>。MAPC 的脑保护作用与脾有关,可调节周围和局部免疫系统,与降低 CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> 细胞、增加 FoxP<sup>+</sup> T 细胞、降低炎症因子白细胞介素 1 $\beta$  和肿瘤坏死因子  $\alpha$  及促进抗炎因子白细胞介素 10 等密切相关。

#### 3.3.2 多能成体干细胞临床研究

鉴于 MAPC 在非临床中枢损伤疾病模型中的积极作用,一项临床 I/II 期试验围绕 MultiStem (MAPC 细胞的商品名)已开展,探究其在急性脑缺血患者中的安全性和有效性<sup>[14]</sup>。

该项临床 I/II 期试验(NCT01436487)采用双盲随机对照的实验设计,共招募 126 例中重度脑缺血患者,脑卒中发作时间在 24~48 h,无细胞治疗组 61 例,细胞治疗组随机给予  $4 \times 10^8$  或  $12 \times 10^8$  细胞剂量。长达 1 年的随访显示,对于低剂量或高剂量细胞治疗组,均未发生细胞剂量毒性事件、无输注或过敏反应、无治疗相关的有害事件,具有很好的安全性和耐受性,但是与无细胞治疗组相比,细胞治疗 90 d 后的神经功能和脑卒中恢复未得到明显改善。

MultiStem 细胞在急性脑缺血患者治疗中,功能改善不明显,可能与治疗时间窗有关,进一步的临床 III 期试验拟招募 300 例患者,并缩短治疗时间窗( $\leq 36$  h),以确认较早干预是否对脑卒中恢复治疗有效<sup>[14-15]</sup>。

## 4 脑卒中干细胞治疗的局限性

以上临床研究进展为干细胞脑卒中治疗提供了大量的理论和实践依据,但干细胞治疗仍存在很多局限性和需要解决的难题<sup>[5-6, 15, 37]</sup>。

干细胞治疗中需要解决的首要问题是安全性问题。细胞治疗过程中,是否存在细胞相关的有害

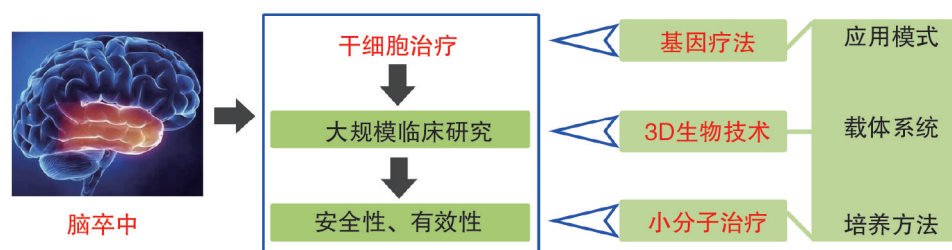
事件,直接决定该细胞是否可应用于临床治疗。细胞剂量依赖性毒性、过敏反应、不同输注途径引起的有害事件(如静脉输注引起的肺栓塞、动脉输注引起的动脉栓塞)等,都是比较常见的安全性问题。此外,细胞来源也会带来安全性问题,如 NT2D1 临床试验证明了其应用于脑卒中治疗的安全性和可行性,但由于该细胞来源于畸胎瘤细胞系,仍然无法排除安全性的隐忧。

其次,干细胞治疗的有效剂量和最佳治疗时间窗尚不清楚。自体来源干细胞的分化潜能与患者年龄、疾病状态等有关,不同年龄的患者,给予同一细胞剂量时,其有效剂量不一。不同的输注途径也会显著影响运往靶向区域的有效细胞数量。干细胞最佳治疗时间窗的选择与是否改善患者临床预后息息相关,目前尚无最佳治疗时间窗的研究报道。

此外,干细胞治疗中,不同的脑卒中类型,需要针对性地选择合适的干细胞类型<sup>[1, 20]</sup>。脑卒中后,在急性脑缺血期间,脑梗部位的趋化因子和营养因子等水平显著性增加,随后随时间降低,此时可考虑应用具有旁分泌或免疫调节功能的干细胞,减少脑损伤区的继发性损伤,挽救和保留在体脑组织,以改善脑损伤;慢性脑缺血期间,脑损伤区已形成神经胶质瘢痕,组织再造能力减弱,此时治疗可针对脑损伤区周围已生存下来的神经细胞,可考虑应用干细胞刺激该类型细胞,改变其功能,以替补缺失的神经功能,或者通过干细胞移植,在体诱导分化,直接进行细胞替代,以改善神经功能。

## 5 结语

近些年来,基于干细胞的脑卒中临床研究日益增多,干细胞治疗策略的提出为脑卒中治疗提供了一个令人兴奋、很有前景的治疗途径。大量非临床和临床研究表明了干细胞在脑卒中治疗中的有效性和安全性。干细胞治疗,不仅可以在脑卒中急性期提供神经组织保护作用,还可以在脑卒中慢性期替代已损伤的组织(通过直接替代或者增强内源性神经修复)。未来干细胞治疗将在更大规模、实验设计更严密的临床试验中开展(图 2),同时,可通过引进基因编辑技术、与药物治疗相结合、优化应用模式和载体系统和改善培养方法等,提高脑卒中应用中的安全性和有效性,减少或规避有害事件的发生,通过基础和临床协调研究,为脑卒中治疗提供安全、标准和有效的治疗方案。



**图2 脑卒中干细胞治疗与新兴技术相结合.** 脑卒中干细胞临床研究主要瞄准安全性和有效性,未来可与基因编辑、3D等新兴技术和药物治疗相结合,促进脑卒中干细胞治疗临床转化。与基因疗法相结合,在基因水平修饰干细胞,可降低干细胞的异质性,增加安全性;使干细胞携带生长因子,可增加有效性。与3D生物技术相结合,可模拟干细胞在体存活微环境,提供一个“在体样”微环境,使干细胞表型和固有特性得到保存;3D悬浮或旋转培养干细胞,增加干细胞产量,促进干细胞3D结构;与3D生物材料结合,为干细胞提供高度生物兼容的3D生长环境,形成具有生物化学/物理特性的组织工程支架,支持干细胞移植后的长期存活,促进与宿主组织的融合;与小分子治疗结合,如干细胞来源的小分子外泌体,增强干细胞治疗的有效性。

#### 参考文献:

- [1] Marei HE, Hasan A, Rizzi R, Althani A, Afifi N, Cenciarelli C, *et al.* Potential of stem cell-based therapy for ischemic stroke [J/OL]. *Front Neurol*, 2018, **9**: 34 (2018-02-06). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5808289/>
- [2] Feigin VL, Forouzanfar MH, Krishnamurthi R, Mensah GA, Connor M, Bennett DA, *et al.* Global and regional burden of stroke during 1990-2010: findings from the global burden of disease study 2010[J]. *Lancet*, 2014, **383**(9913):245-254.
- [3] Wang P, Miao CY. NAMPT as a therapeutic target against stroke [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2015, **36**(12):891-905.
- [4] Chamorro Á, Dirnagl U, Urra X, Planas AM. Neuroprotection in acute stroke: targeting excitotoxicity, oxidative and nitrosative stress, and inflammation [J]. *Lancet Neurol*, 2016, **15**(8):869-881.
- [5] Wei L, Wei ZZ, Jiang MQ, Mohamad O, Yu SP. Stem cell transplantation therapy for multifaceted therapeutic benefits after stroke [J]. *Prog Neurobiol*, 2017, **157**:49-78.
- [6] Bang OY. Clinical trials of adult stem cell therapy in patients with ischemic stroke [J]. *J Clin Neurol*, 2016, **12**(1):14-20.
- [7] Wechsler L, Steindler D, Borlongan C, Chopp M, Savitz S, Deans R, *et al.* Stem cell therapies as an emerging paradigm in stroke (STEPS): bridging basic and clinical science for cellular and neurogenic factor therapy in treating stroke [J]. *Stroke*, 2009, **40**(2):510-515.
- [8] Savitz SI, Chopp M, Deans R, Carmichael T, Phinney D, Wechsler L, *et al.* Stem Cell Therapy as an Emerging Paradigm for Stroke (STEPS) II [J]. *Stroke*, 2011, **42**(3):825-829.
- [9] Savitz SI, Cramer SC, Wechsler L, Aronowski J, Boltze J, Borlongan C, *et al.* Stem cells as an emerging paradigm in stroke 3: enhancing the development of clinical trials [J]. *Stroke*, 2014, **45**(2):634-639.
- [10] Zhu SZ, Szeto V, Bao MH, Sun HS, Feng ZP. Pharmacological approaches promoting stem cell-based therapy following ischemic stroke insults [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, **39**(5):695-712.
- [11] Sinden JD, Hicks C, Stroemer P, Vishnubhatla I, Corteling R. Human neural stem cell therapy for chronic ischemic stroke: charting progress from laboratory to patients [J]. *Stem Cells Dev*, 2017, **26**(13):933-947.
- [12] Moniche F, Rosado-de-Castro PH, Escudero I, Zapata E, de la Torre Laviana FJ, Mendez-Otero R, *et al.* Increasing dose of autologous bone marrow mononuclear cells transplantation is related to stroke outcome: results from a pooled analysis of two clinical trials [J/OL]. *Stem Cells Int*, 2016, **2016**: 8657173 (2016-07-21). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4972913/>
- [13] Toyoshima A, Yasuhara T, Date I. Mesenchymal stem cell therapy for ischemic stroke [J]. *Acta Med Okayama*, 2017, **71**(4):263-268.
- [14] Hess DC, Wechsler LR, Clark WM, Savitz SI, Ford GA, Chiu D, *et al.* Safety and efficacy of multipotent adult progenitor cells in acute ischaemic stroke (MASTERS): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial [J]. *Lancet Neurol*, 2017, **16**(5):360-368.
- [15] Mays RW, Savitz SI. Intravenous cellular therapies for acute ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2018, **49**(5):1058-1065.

- [16] Savitz SI, Misra V, Kasam M, Juneja H, Cox CS Jr, Alderman S, *et al*. Intravenous autologous bone marrow mononuclear cells for ischemic stroke [J]. *Ann Neurol*, 2011, **70**(1):59-69.
- [17] Moniche F, Escudero I, Zapata-Arriaza E, Usero-Ruiz M, Prieto-León M, de la Torre J, *et al*. Intra-arterial bone marrow mononuclear cells (BM-MNCs) transplantation in acute ischemic stroke (IBIS trial): protocol of a phase II, randomized, dose-finding, controlled multicenter trial [J]. *Int J Stroke*, 2015, **10**(7):1149-1152.
- [18] Friedrich MA, Martins MP, Araújo MD, Klamt C, Vedolin L, Garicochea B, *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):S13-S21.
- [19] Díez-Tejedor E, Gutiérrez-Fernández M, Martínez-Sánchez P, Rodríguez-Frutos B, Ruiz-Ares G, Lara ML, *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]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2014, **23**(10):2694-2700.
- [20] Banerjee S, Bentley P, Hamady M, Marley S, Davis J, Shlebak A, *et al*. Intra-arterial immunoselected CD34<sup>+</sup> stem cells for acute ischemic stroke [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2014, **3**(11):1322-1330.
- [21] Moniche F, Gonzalez A, Gonzalez-Marcos JR, Carmona M, Piñero P, Espigado I, *et al*. Intra-arterial bone marrow mononuclear cells in ischemic stroke: a pilot clinical trial [J]. *Stroke*, 2012, **43**(8):2242-2244.
- [22] Taguchi A, Sakai C, Soma T, Kasahara Y, Stem DM, Kajimoto K, *et al*. Intravenous autologous bone marrow mononuclear cell transplantation for stroke: phase 1/2a clinical trial in a homogeneous group of stroke patients [J]. *Stem Cells Dev*, 2015, **24**(19):2207-2218.
- [23] Prasad K, Mohanty S, Bhatia R, Srivastava MV, Garg A, Srivastava A, *et al*. Autologous intravenous bone marrow mononuclear cell therapy for patients with subacute ischaemic stroke: a pilot study [J]. *Indian J Med Res*, 2012, **136**(2):221-228.
- [24] Prasad K, Sharma A, Garg A, Mohanty S, Bhatnagar S, Johri S, *et al*. Intravenous autologous bone marrow mononuclear stem cell therapy for ischemic stroke: a multicentric, randomized trial [J]. *Stroke*, 2014, **45**(12):3618-3624.
- [25] Ghali AA, Yousef MK, Ragab OA, ElZamarany EA. Intra-arterial infusion of autologous bone marrow mononuclear stem cells in subacute ischemic stroke patients [J/OL]. *Front Neurol*, 2016, **7**:228 (2016-12-16). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5159483/>
- [26] Battistella V, de Freitas GR, da Fonseca LM, Mercante D, Gutfilen B, Goldenberg RC, *et al*. Safety of autologous bone marrow mononuclear cell transplantation in patients with nonacute ischemic stroke [J]. *Regen Med*, 2011, **6**(1):45-52.
- [27] Lee JS, Hong JM, Moon GJ, Lee PH, Ahn YH, Bang OY, *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.
- [28] Bang OY, Lee JS, Lee PH, Lee G. Autologous mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients [J]. *Ann Neurol*, 2005, **57**(6):874-882.
- [29] Honmou O, Houkin K, Matsunaga T, Niitsu Y, Ishiai S, Onodera R, *et al*. Intravenous administration of auto serum-expanded autologous mesenchymal stem cells in stroke [J]. *Brain*, 2011, **134**(Pt 6):1790-1807.
- [30] Qiao LY, Huang FJ, Zhao M, Xie JH, Shi J, Wang J, *et al*. A two-year follow-up study of cotransplantation with neural stem/progenitor cells and mesenchymal stromal cells in ischemic stroke patients [J]. *Cell Transplant*, 2014, **23**(Suppl 1):S65-S72.
- [31] Nelson PT, Kondziolka D, Wechsler L, Goldstein S, Gebel J, DeCesare S, *et al*. Clonal human (hNT) neuron grafts for stroke therapy: neuropathology in a patient 27 months after implantation [J]. *Am J Pathol*, 2002, **160**(4):1201-1206.
- [32] Kondziolka D, Wechsler L, Goldstein S, Meltzer C, Thulborn KR, Gebel J, *et al*. Transplantation of cultured human neuronal cells for patients with stroke [J]. *Neurology*, 2000, **55**(4):565-569.
- [33] Kondziolka D, Steinberg GK, Wechsler L, Meltzer CC, Elder E, Gebel J, *et al*. Neurotransplantation for patients with subcortical motor stroke: a phase 2 randomized trial [J]. *J Neurosurg*, 2005, **103**(1):38-45.
- [34] Savitz SI, Dinsmore J, Wu J, Henderson GV, Stieg P, Caplan LR. 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.
- [35] Kalladka D, Sinden J, Pollock K, Haig C, McLean J, Smith W, *et al*. Human neural stem cells in patients with chronic ischaemic stroke (PISCES): a phase 1, first-in-man study[J]. *Lancet*, 2016, **388**(10046):787-796.
- [36] Sinden JD. ReNeuron Group plc[J]. *Regen Med*, 2006, **1**(1):143-147.
- [37] Wechsler LR, Bates D, Stroemer P, Andrews-Zwilling YS, Aizman I. Cell therapy for chronic stroke[J]. *Stroke*, 2018, **49**(5):1066-1074.
- [38] Bhasin A, Srivastava MVP, Mohanty S, Vivekanandhan S, Sharma S, Kumaran S, *et al*. Paracrine mechanisms of intravenous bone marrow-derived mononuclear stem cells in chronic ischemic stroke [J]. *Cerebrovasc Dis Extra*, 2016, **6**(3):107-119.
- [39] Bhasin A, Srivastava M, Bhatia R, Mohanty S, Kumaran S, Bose S. Autologous intravenous mononuclear stem cell therapy in chronic ischemic stroke[J]. *J Stem Cells Regen Med*, 2012, **8**(3):181-189.
- [40] Steinberg GK, Kondziolka D, Wechsler LR, Lunsford LD, Coburn ML, Billigen JB, *et al*. Clinical outcomes of transplanted modified bone marrow-derived mesenchymal stem cells in stroke: a phase 1/2 a study[J]. *Stroke*, 2016, **47**(7):1817-1824.
- [41] Bhasin A, Kumaran SS, Bhatia R, Mohanty S, Srivastava MVP. Safety and feasibility of autologous mesenchymal stem cell transplantation in chronic stroke in Indian patients. A four-year follow up[J]. *J Stem Cells Regen Med*, 2017, **13**(1):14-19.
- [42] Chen DC, Lin SZ, Fan JR, Lin CH, Lee W, Lin CC, *et al*. Intracerebral implantation of autologous peripheral blood stem cells in stroke patients: a randomized phase II study [J]. *Cell Transplant*, 2014, **23**(12):1599-1612.
- [43] Li ZM, Zhang ZT, Guo CJ, Geng FY, Qiang F, Wang LX. Autologous bone marrow mononuclear cell implantation for intracerebral hemorrhage—a prospective clinical observation [J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2013, **115**(1):72-76.
- [44] Suárez-Monteagudo C, Hernández-Ramírez P, Alvarez-González L, García-Maeso I, de la Cuétara-Bernal K, Castillo-Díaz L, *et al*. Autologous bone marrow stem cell neurotransplantation in stroke patients. An open study [J]. *Restor Neurol Neurosci*, 2009, **27**(3):151-161.
- [45] Sharma A, Sane H, Gokulchandran N, Khopkar D, Paranjape A, Sundaram J, *et al*. Autologous bone marrow mononuclear cells intrathecal transplantation in chronic stroke [J/OL]. *Stroke Res Treat*, 2014, **2014**:234095 (2014-07-08). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4121152/>
- [46] Bhasin A, Srivastava MV, Kumaran SS, Mohanty S, Bhatia R, Bose S, *et al*. Autologous mesenchymal stem cells in chronic stroke [J]. *Cerebrovasc Dis Extra*, 2011, **1**(1):93-104.
- [47] Kim SJ, Moon GJ, Chang WH, Kim YH, Bang OY. Intravenous transplantation of mesenchymal stem cells preconditioned with early phase stroke serum: current evidence and study protocol for a randomized trial [J/OL]. *Trials*, 2013, **14**:317 (2013-01-01). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4016561/>
- [48] Bhasin A, Srivastava MV, Mohanty S, Bhatia R, Kumaran SS, Bose S. Stem cell therapy: a clinical trial of stroke [J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2013, **115**(7):1003-1008.
- [49] Jiang Y, Zhu W, Zhu J, Wu L, Xu G, Liu X. Feasibility of delivering mesenchymal stem cells via catheter to the proximal end of the lesion artery in patients with stroke in the territory of the middle cerebral artery [J]. *Cell Transplant*, 2013, **22**(12):2291-2298.
- [50] Chen L, Xi H, Huang H, Zhang F, Liu Y, Chen D, *et al*. Multiple cell transplantation based on an intraparenchymal approach for patients with chronic phase stroke [J]. *Cell Transplant*, 2013, **22**(Suppl 1):S83-S91.
- [51] Bang OY, Kim EH, Cha JM, Moon GJ. Adult stem cell therapy for stroke: challenges and progress [J]. *J Stroke*, 2016, **18**(3):256-266.

## Stem cell therapy in stroke: mechanism and progress in clinical research

WANG Shu-na, MIAO Chao-yu

(Department of Pharmacology, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**Abstract:** Stroke is the leading cause of death and major cause of disability in China, but with few effective therapies. As few as 3%–5% of ischemic stroke patients have access to drug treatment with tissue plasminogen activators, and no drug treatment is available to patients of hemorrhagic stroke. Stem cell therapy has been proposed as a potential regenerative strategy for stroke patients. In the future, stroke stem cell research can be combined with genetic editing, 3D and other emerging technologies or drug treatments, to promote the development of stroke stem cell regenerative medicine. Based on the guidelines for stem cell research of stroke, this review elaborates on the action mechanism and clinical research of stem cells for the treatment of stroke, including neural stem cells (human neural precursor cell line NT2/D1 and human immortalized neural stem cell line CTX) and adult stem cells (bone marrow mononuclear cells, mesenchymal stem cells, and multipotent adult progenitor cells), while disclosing the limitations of stem cell therapy. In the future, stem cell research in stroke can be combined with gene editing technology and drug treatment to improve the safety and effectiveness of stem cell therapy in the hope of promoting the research of regenerative medicine for stroke.

**Key words:** stroke; neural stem cells; adult stem cells; regenerative medicine

**Foundation item:** Medical Innovation Major Project (16CXZ009); National Natural Science Foundation of China (81730098); Shanghai Science and Technology Commission Project (16431901400); and Shanghai Science and Technology Commission Project (16140904500)

**Corresponding author:** MIAO Chao-yu, E-mail: cymiao@smmu.edu.cn

(收稿日期: 2019-01-07 接受日期: 2019-02-15)

(本文编辑: 齐春会)