

本文引用:赵欣,谭军. 间充质干细胞治疗缺血性脑卒中临床研究现状[J]. 新乡医学院学报,2017,34(6):545-547,551.
DOI:10.7683/xyxyxb.2017.06.026.

【综述】

间充质干细胞治疗缺血性脑卒中临床研究现状

赵欣¹, 谭军²

(1. 新乡医学院,河南 新乡 453003;2. 新乡医学院第三附属医院神经内二科,河南 新乡 453003)

摘要: 脑血管疾病严重危害人类健康,其中最常见的疾病类型是缺血性脑卒中。目前,缺血性脑卒中尚无特别有效的治疗方法,而干细胞移植作为一种新兴的治疗手段,为缺血性脑卒中的治疗带来了希望。目前,在移植的干细胞类型中,间充质干细胞应用最广泛。本文就间充质干细胞治疗缺血性脑卒中的临床研究现状做一综述。

关键词: 间充质干细胞;缺血性脑卒中;脑梗死;干细胞移植

中图分类号: R743.33 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2017)06-0545-04

缺血性脑卒中也称脑梗死,是指因脑部血液循环障碍,缺血、缺氧所致的局限性脑组织缺血性坏死或软化^[1]。目前,缺血性脑卒中的临床治疗主要有超早期溶栓和脑神经保护等措施,而这些方法只能挽救缺血半暗带中濒临死亡的神经细胞,对于在脑梗死区域已经坏死的神经细胞则无能为力,有50%~70%的患者出现瘫痪、失语等严重残疾^[2-3]。近年来,干细胞的出现以及干细胞移植技术的发展,为缺血性脑卒中的治疗提供了一条新的途径。本文对间充质干细胞移植治疗缺血性脑卒中的临床现状进行综述。

1 干细胞的定义、种类和作用机制

干细胞是一类具有自我更新和分化能力的细胞^[4]。目前,用于移植的干细胞主要有胚胎干细胞、成体干细胞和诱导多能干细胞^[5]。其中,以成体干细胞中的间充质干细胞使用最广、研究最多^[6]。间充质干细胞存在于人体多处组织与器官的间质中,如骨髓、脐血、脐带和脂肪组织等^[7]。骨髓间充质干细胞又称骨髓基质细胞,在骨髓中容易获得,自体移植无需免疫抑制,不存在伦理问题。脐血和脐带间充质干细胞除具有骨髓间充质干细胞的特点外,还有以下优点:采集容易,对供者无损伤;较骨髓间充质干细胞更原始,有更强的增殖分化能力;由于胎盘的屏障作用,疾病传染的概率下降;可冷冻保存。然而,研究发现,脐血间充质干细胞培养成功

率低,分离造成了其他干细胞的浪费,而脐带间充质干细胞培养成功率高,可达100%,成为继骨髓间充质干细胞之后的另一重要干细胞来源^[7-10]。大量的基础研究表明,移植的干细胞可通过分化为神经系统各类细胞、分泌营养因子促进神经和血管再生、修复受损的血-脑脊液屏障、减轻炎症反应等促进脑梗死动物的神经功能恢复^[5-6,11-12]。

2 间充质干细胞移植的时间窗、途径及剂量

不同于超早期溶栓4.5 h的时间窗,间充质干细胞移植治疗缺血性脑卒中的时间窗较广,急性期、亚急性期和慢性期均可。急性期移植可阻断脑缺血损伤级联反应,发挥抗炎、神经保护作用;慢性期内源性修复最活跃,此期移植可较大地促进神经修复。此外还有学者认为,急性期的炎性环境不利于干细胞存活,慢性期的胶质瘢痕阻碍干细胞进入病灶,应该在亚急性期移植^[13-17]。

目前常用的移植途径有动脉、静脉、脑脊液和脑实质立体定向。静脉途径最常用,因其简单安全,患者容易接受,可重复操作,更适合开展临床试验,但静脉移植也有缺点,如移植的干细胞途中会分布于肝、肺等其他器官,只有少量干细胞到达病灶,并且有肺栓塞的风险;经动脉移植可使干细胞不经过其他器官,直接快速地到达病灶,但有可能形成微栓子,造成新发梗死;脑实质立体定向移植可将干细胞精确移植于病灶,但移植后增加的液体容量可挤压周围正常的脑组织造成损伤,另外,此种方法的手术风险较大;此外还有脑脊液途径,干细胞可随脑脊液分布至整个大脑和脊髓,适用于广泛病变的治疗,不适合小范围病变的治疗^[13-18]。

移植的剂量受干细胞类型、移植途径、移植时间等因素影响。静脉移植因干细胞会分布于其他器

DOI:10.7683/xyxyxb.2017.06.026
收稿日期:2016-09-18
基金项目:新乡市重点科技攻关计划基金资助项目(编号:ZG13021)。
作者简介:赵欣(1985-),男,天津人,硕士研究生在读,主要从事脑血管疾病的研究工作。
通信作者:谭军(1968-),男,河南新乡人,博士,主任医师,教授,硕士研究生导师,主要从事脑血管疾病、痴呆、癫痫等研究工作;E-mail:tanjun1997@126.com。

官,剂量要比动脉移植及脑实质立体定向移植要高。实验研究证实,急性期采用低剂量和高剂量移植都可取得不错的移植效果,而慢性期移植只有高剂量组出现功能恢复^[16]。干细胞移植并不是剂量越多效果越好,研究显示,间充质干细胞的剂量效应曲线并非是直线而是呈 U 型曲线,高剂量会影响组织灌注,并增加栓塞及形成肿瘤的风险^[13,15-17]。多个动物实验证实^[19-25],梗死后 24 h 经静脉移植,有效的细胞数为每只大鼠 $1 \times 10^6 \sim 4 \times 10^6$ 个。在 KIM 等^[26]的临床试验中,经静脉移植的细胞数为每人每公斤体质量 1×10^6 个(相当于每只大鼠 $1 \times 10^5 \sim 3 \times 10^6$ 个)。而在 DIEZ-TEJEDDER 等^[14]的临床试验中,经静脉移植的细胞数同样为每人每千克体质量 1×10^6 个。

3 移植治疗效果评价方法

世界卫生组织《国际功能分类》^[27]从身体、活动、参与 3 个水平评定脑卒中患者的结局,这种评定模式在国内外的临床试验中得到了广泛应用。身体水平评定量表包括美国国立卫生研究院卒中量表(national institutes of health stroke scale,NIHSS)、简式 Fugl-Meyer 评定法(Fugl-Meyer assessment,FMA)等。活动水平主要评定日常生活活动能力(activities of daily living,ADL),包括 Barthel 指数(Barthel index,BI)、改良 Barthel 指数(modified Barthel index,MBI)、功能独立性量表(functional independence measure,FIM)等。参与水平评定主要有改良 Rankin 量表(modified rankin scale,mRS)。每个量表均有其局限性,因此,很多研究将多种方法结合起来,综合评价干细胞移植疗效^[27-29]。

分子影像学 and 细胞标记技术的发展,使通过影像学技术观察移植的干细胞在体内的存活、迁移与分布、分化与增殖情况成为可能。对移植的干细胞进行示踪,有助于人们进一步了解干细胞移植促进神经修复的机制,更好地制定移植的路径、剂量等移植方案,为干细胞移植的安全性及有效性提供更有力的证据。目前干细胞示踪技术尚处于实验阶段,有学者认为,正电子发射断层成像术(positron emission tomography,PET)结合磁共振成像(magnetic resonance imaging,MRI)能够对脑部等深层组织成像,是未来示踪技术向临床转化的理想方法^[30-32]。

4 间充质干细胞治疗缺血性脑卒中的效果

在大量成功的动物实验的推动下,许多国家开展了间充质干细胞治疗缺血性脑卒中的临床转化试

验,多家机构已成功研发具有神经修复作用的干细胞专利产品^[33]。近几年的临床试验研究着重观察间充质干细胞治疗缺血性脑卒中的安全性、可行性及短期有效性。BRINGAS 等^[34]报告了 1 例皮质下卒中患者接受脑实质立体定向移植自体骨髓间充质干细胞(细胞数 48×10^6 个)移植治疗后 5 a 的随访结果,发现患者的前额叶血流增加,认知功能较治疗前改善。HONMOU 等^[35]对 12 例缺血性卒中患者进行开放性试验,经静脉注射自体骨髓间充质干细胞,细胞数 $(0.6 \sim 1.6) \times 10^8$ 个,治疗后 1 a 内,患者未发生不良反应,NIHSS 评分均持续改善,MRI 显示平均梗死体积减小。JIANG 等^[36]对 4 例脑卒中患者(3 例缺血性脑卒中和 1 例出血性脑卒中患者)经动脉移植脐带间充质干细胞(细胞数 2×10^7 个),随访期间未见不良反应,在移植治疗后的 90 d 和 180 d,2 例缺血性脑卒中患者的 MRS 评分改善,肌力提高。胡晴等^[37]将 120 例脑梗死患者随机分为治疗组和对照组,每组 60 例;对照组患者采用常规药物治疗联合康复训练;治疗组患者在对照组治疗的基础上,先后经鞘内注射(细胞数 7×10^7 个)及静脉滴注(细胞数 3×10^7 个)移植脐血间充质干细胞;2 组患者治疗前后均采用 FIM 及 FMA 量表评价治疗效果;结果显示,移植后 3 个月治疗组患者 FIM、FMA 评分较治疗前均升高,差异有统计学意义,对照组治疗前后 FIM、FMA 评分比较差异无统计学意义;36 例(随访率 60%)患者随访超过 1 a,未见与干细胞移植相关的不良反应发生。屈新辉等^[38]对 49 例急性脑卒中患者(脑出血 16 例,脑梗死 33 例)经鞘内注射移植自体骨髓间充质干细胞,细胞数 $(1.0 \sim 10.0) \times 10^7$ 个,每周 1 次,共治疗 2 次,随访 1 a;结果显示,移植后 1、6、12 个月,患者 NIHSS 评分显著降低,FMA 和 MBI 评分显著升高,差异均有统计学意义;部分患者术后出现低热及低颅压性头痛,经对症处理后完全消失;移植 12 个月后复查头颅 MRI 和肿瘤标志物,结果均未见异常。

尽管不少临床试验证明了间充质干细胞治疗缺血性脑卒中是安全可行的,并且是短期有效的,但有学者得到了不同的试验结果。BHASIN 等^[39]将 12 例慢性缺血性卒中患者分为试验组与对照组进行非随机对照研究,试验组 6 例患者接受 8 周的物理治疗及静脉移植间充质干细胞治疗(细胞数 $50 \times 10^6 \sim 60 \times 10^6$ 个)后,未发现与移植相关的不良反应;但是,移植后第 8、24 周的随访显示,2 组患者的 FMA、MBI 评分和功能影像参数比较差异均无统计学意义;作者认为间充质干细胞移植疗法安全可行,但试验结果未能从统计学角度证明其有效性,可能与样

本量小和患者个体差异大有关。成逸等^[40]为观察骨髓间充质干细胞移植治疗缺血性脑卒中恢复期患者的有效性,选择18例发病20 d左右接受骨髓间充质干细胞移植治疗的患者(细胞数 $5 \times 10^7 \sim 2 \times 10^8$ 个,共3次,静脉注射,移植后未见明显不良反应)与同期18例未接受干细胞移植的缺血性脑卒中恢复期患者进行对照研究;36例患者均给予3个月常规康复治疗,治疗3个月后2组患者FIM和ADL评分比较差异均无统计学意义;作者认为骨髓间充质干细胞移植治疗缺血性脑卒中恢复期患者的短期疗效不确切,可能因为:(1)移植治疗的时间较晚;(2)患者个体差异大,影响干细胞移植的效果。

5 小结

尽管大量动物实验探讨了间充质干细胞移植治疗缺血性脑卒中的最佳时间窗、途径及剂量,但不同于实验室制造的动物模型,每个缺血性脑卒中患者的病情轻重不一,如梗死灶大小不同、基础疾病不同等,在人类寻找最佳移植方案要比动物实验困难且复杂得多,要得出令人满意的结论,目前有限的几个临床试验远远不够。此外,随机对照临床试验是评价疗效的金标准^[41]。本文的临床试验中只有1个随机对照试验,而要证明细胞移植治疗的安全性与有效性,需要大量的随机对照试验提供证据。为了获得更有说服力的结果,多中心、大样本、随机、双盲、安慰剂对照的临床试验势在必行^[42]。

参考文献:

[1] 刘亚美,李彤. 豫北地区青年缺血性脑卒中危险因素分析[J]. 新乡医学院学报,2017,34(4):323-326.

[2] 刘柯,冯静静,刘敬霞,等. 骨髓间充质干细胞动员治疗缺血性脑损伤的实验研究进展[J]. 中华老年学杂志,2013,33(14):3515-3518.

[3] FARGEN K M,MOCCO J,HOH B L. Can we rebuild the human brain? The exciting promise and early evidence that stem cells may provide a real clinical cure for stroke in humans[J]. *World Neurosurg*,2013,80(5):69-72.

[4] DALEY G Q. Stem cells and the evolving notion of cellular identity[J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*,2015,370(1680):20140376.

[5] 张倩,胡荣,郑江,等. 干细胞移植治疗脑出血的关键影响因素研究进展[J]. 中国卒中杂志,2015,10(10):890-895.

[6] 李芸,王昭君,谢怡,等. 间充质干细胞移植治疗缺血性卒中的临床研究进展[J]. 中国脑血管病杂志,2014,11(3):165-168.

[7] 邱小华,戴育成,胡葵葵. 脐带间充质干细胞的研究进展[J]. 中华临床医师杂志:电子版,2012,6(6):1494-1497. DOI:10.3877/cma.j. issn. 1674-0785. 2012. 06. 030.

[8] 张倩,胡荣. 治疗脑出血的干细胞种类研究进展[J]. 局解手术学杂志,2015,24(5):562-565.

[9] 迟作华,张涓. 脐带血间充质干细胞的研究进展[J]. 国际生物医学工程杂志,2006,29(1):29-34.

[10] 张玉琳,王静文,石子白,等. 人脐血间充质干细胞生物学特性、分化潜能与临床应用的研究进展[J]. 中国免疫学杂志,2014,30(7):1006-1008.

[11] 涂雪松. 干细胞移植治疗缺血性脑血管病实验研究进展[J]. 中国脑血管病杂志,2014,11(8):440-445.

[12] 裴远,靳令经,聂志余. 不同类型干细胞移植治疗缺血性脑卒中的研究现状[J]. 上海医学,2012,35(1):84-87.

[13] BURNS T C,STEINBERG G K. Stem cells and stroke:opportunities, challenges and strategies[J]. *Expert Opin Biol Ther*,2011,11(4):447-461.

[14] DIEZ-TEJEDOR E,GUTIERREZ-FERNANDEZ M,MARTINEZ-SANCHEZ 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]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*,2014,23(10):2694-2700.

[15] DULAMEA A O. The potential use of mesenchymal stem cells in stroke therapy: from bench to bedside[J]. *J Neurol Sci*,2015,352(1/2):1-11.

[16] YANG Z,ZHU L,LI F,et al. Bone marrow stromal cells as a therapeutic treatment for ischemic stroke[J]. *Neurosci Bull*,2014,30(3):524-534.

[17] LEONG W K,LEWIS M D,KOBLAR S A. Concise review: pre-clinical studies on human cell-based therapy in rodent ischemic stroke models: where are we now after a decade[J]. *Stem Cells*,2013,31(6):1040-1043.

[18] 郭燕宁,王雪笠. 不同干细胞移植途径治疗脑缺血的示踪及效果评定[J]. 脑与神经疾病杂志,2013,21(4):316-318.

[19] ZHANG Y,ZHENG J,ZHOU Z,et al. Fractalkine promotes chemotaxis of bone marrow-derived mesenchymal stem cells towards ischemic brain lesions through Jak2 signaling and cytoskeletal reorganization[J]. *FEBS J*,2015,282(5):891-903.

[20] NAM H S,KWON I,LEE B H,et al. Effects of mesenchymal stem cell treatment on the expression of matrix metalloproteinases and angiogenesis during ischemic stroke recovery[J]. *PLoS One*,2015,10(12):e0144218.

[21] LEE S H,JIN K S,BANG O Y,et al. Differential migration of mesenchymal stem cells to ischemic regions after middle cerebral artery occlusion in rats[J]. *PLoS One*,2015,10(8):e0134920.

[22] 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]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*,2014,23(10):2598-2606.

[23] XIN H,LI Y,LIU Z,et al. Mir-133b promotes neural plasticity and functional recovery after treatment of stroke with multipotent mesenchymal stromal cells in rats via transfer of exosome-enriched extracellular particles[J]. *Stem Cells*,2013,31(12):2737-2746.

[24] WEI L,FRASER J L,LU Z Y,et al. Transplantation of hypoxia preconditioned bone marrow mesenchymal stem cells enhances angiogenesis and neurogenesis after cerebral ischemia in rats[J]. *Neurobiol Dis*,2012,46(3):635-645.

脂代谢的关系[J]. 广东医学,2013,34(10):1571-1573.

[16] BOHDANOWICZ-PAWLAK A, LENARCIK-KABZA A, BRONA A, et al. Non-alcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome clinical and metabolic aspects and lipoprotein lipase gene polymorphism[J]. *Endokrynol Pol*, 2014, 65(6):416-421.

[17] BARBER T M, DIMITRIADIS G K, ANDREOU A, et al. Polycystic ovary syndrome; insight into pathogenesis and a common association with insulin resistance[J]. *Clin Med*, 2015, 15(6):s72-s76.

[18] TAYLOR A H, GUZAIL M, WAHAB M, et al. Quantitative histomorphometric analysis of gonadal steroid receptor distribution in the normal human endometrium through the menstrual cycle[J]. *Histochem Cell Biol*, 2005, 123(4/5):463-474.

[19] VILLAVICENCIO A, BACALLAO K, AVELLAIRA C, et al. Androgen and estrogen receptors and co-regulators levels in endometrial from patients with polycystic ovarian syndrome with and without endometrial hyperplasia[J]. *Gynecol Oncol*, 2006, 103(1):307-314.

[20] 李建新, 何梅. 多囊卵巢综合征合并妊娠 55 例围产结局分析[J]. 内蒙古中医药, 2012, 31(15):37-38.

[21] 翟军, 孙莹璞, 刘春喜, 等. 二甲双胍治疗对 PCOS 患者子宫内

膜胰岛素抵抗的影响[J]. 河南医学研究, 2012, 21(1):26-31.

[22] 李淑女, 赵华英. 多囊卵巢综合征的中西医结合治疗临床观察[J]. 中医临床研究, 2014, 16(5):106-108.

[23] 曹泽毅. 妇科肿瘤学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001:832-837.

[24] 陈巧灵. 关于治疗多囊卵巢综合征的疗效论述[J]. 中国卫生产业, 2011, 8(5):67.

[25] 李艳丽, 翟自霞, 侯小花. 二甲双胍联合达英治疗多囊卵巢综合征的疗效观察[J]. 临床合理用药杂志, 2016, 9(20):67-68.

[26] 邱洪梅, 林金凤, 梁晓敏. 二甲双胍对多囊卵巢综合征患者治疗效果、代谢特征及激素水平的影响[J]. 临床医学工程, 2017, 24(3):385-386.

[27] 杨艳, 李海燕. 多囊卵巢综合征的临床治疗研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2016, 16(8):97-99.

[28] 屈芝宁. 多囊卵巢综合征的研究及治疗进展[J]. 当代医药论丛, 2013, 11(8):43-44.

(本文编辑:杨 博)

(上接第 547 页)

[25] YU X, CHEN D, ZHANG Y, et al. Overexpression of CXCR4 in mesenchymal stem cells promotes migration, neuroprotection and angiogenesis in a rat model of stroke[J]. *J Neurol Sci*, 2012, 316(1/2):141-149.

[26] KIM S J, MOON G J, CHANG W H, et al. Intravenous transplantation of mesenchymal stem cells preconditioned with early phase stroke serum; current evidence and study protocol for a randomized trial[J]. *Trials*, 2013, 14(1):317.

[27] 马斌, 高颖. 脑卒中结局评价方法及病证结合临床评价标准的研究思路[J]. 中医脑病杂志, 2006, 2(1):80-83.

[28] 巫嘉陵, 安中平. 脑卒中患者神经功能缺损评分信度和与结局的相关性分析[J]. 天津医药, 2007, 35(8):617-618.

[29] 闵瑜, 吴媛媛, 燕铁斌. 改良 Barthel 指数(简体中文版)量表评定脑卒中患者日常生活活动能力的效度和信度研究[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2008, 30(3):185-188.

[30] 郭燕宁, 王雪笠. 不同干细胞移植途径治疗脑缺血的示踪及效果评定[J]. 脑与神经疾病杂志, 2013, 21(4):316-318.

[31] 林素颖, 陈光村, 黄德华, 等. 移植干细胞死活活体示踪技术研究进展[J]. 科学通报, 2016, 61(10):1075-1085.

[32] 谢怡, 许丽丽, 刘新峰. 干细胞治疗缺血性脑卒中的体内示踪方法研究进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2014, 16(4):442-444.

[33] 中国神经科学学会神经损伤与修复分会. 脑损伤神经功能损害与修复专家共识[J/OL]. 中华神经创伤外科电子杂志, 2016, 2(2):100-103. DOI: 10. 3877/cma. j. issn. 2095-9141. 2016. 02. 010.

[34] BRINGAS M L, SUAREZ C, SANCHEZ C, et al. Cognitive changes after stem cell transplantation in a patient with subcortical stroke[J]. *BMJ Case Rep*, 2011, 2011:161-167.

[35] HONMOU O, HOUKIN K, MATSUNAGA T, et al. Intravenous administration of auto serum-expanded autologous mesenchymal stem cells in stroke[J]. *Brain*, 2011, 134(Pt 6):1790-1807.

[36] JIANG Y, ZHU W, ZHU J, et al. 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.

[37] 胡晴, 曹梦莹, 李瑞芳, 等. 脐带间充质干细胞治疗脑梗死的安全性及有效性[J]. 武汉大学学报(医学版), 2013, 34(1):57-60.

[38] 屈新辉, 王万松, 周超, 等. 自体骨髓间质干细胞移植治疗急性性脑卒中 49 例临床分析[J]. 中国医药导报, 2014, 11(10):41-47.

[39] BHASIN A, SRIVASTAVA M V, KUMARAN S S, et al. Autologous mesenchymal stem cells in chronic stroke[J]. *Cerebrovasc Dis Extra*, 2011, 1(1):93-104.

[40] 成逸, 王丹, 刘海兵. 骨髓间充质干细胞移植治疗缺血性脑卒中恢复期患者的疗效观察[J]. 中华移植杂志: 电子版, 2013, 7(3):141-144. DOI:0.3877/cma. j. issn. 1647-3903. 2013. 03. 004.

[41] SCHULZ K F, ALTMAN D G, MOHER D. CONSORT 2010 Statement; updated guidelines for reporting parallel group randomized trials[J]. *J Chin Integr Med*, 2011, 9(8):672-677.

[42] 胡大一. 循证医学(Evidence-based Medicine): 临床研究与实践的新时代[J]. 中国医药导刊, 1999, 1(2):6-8.

(本文编辑:孟 月)