

干细胞治疗脑梗死的应用和安全性的研究进展

王觅,段淑荣

摘要 近年来,干细胞移植治疗脑梗死得到了越来越多学者的关注和研究。移植的细胞可分泌大量神经生长因子改善微环境,促进神经再生、抑制炎症反应,还可分化增殖,替代受损神经元,重建神经通路。大量实验已证明干细胞治疗脑梗死的可行性和有效性,但目前细胞治疗应用仍处于初级阶段,许多问题仍未解决,如移植时间、移植方式、移植的安全性等。本文综述相关文献,探讨上述问题。

关键词 干细胞;细胞移植;治疗;脑梗死

中图分类号 R741;R741.05;R743.3 **文献标识码** A **DOI** 10.3870/sjsscj.2015.04.018

近40年来,脑卒中在发展中国家的发病率日益增高^[1],其中脑梗死占80%~85%。急性脑梗死可致缺血部位供血量急剧减少,导致神经元、神经胶质细胞及血管内皮细胞等坏死,随后产生炎症反应,血脑屏障破坏,炎性介质浸润,造成不可逆损伤。静脉注射重组组织型纤溶酶原激活剂(recombinant tissue plasminogen activator, rtPA)是目前公认唯一可用于治疗缺血性脑卒中的方法,但它具有严格的时间窗限制,也不能刺激神经修复和再生。动物实验表明,脑缺血缺氧可刺激内源性神经干细胞增殖,并向缺血损伤处迁移分化,进行神经修复^[2,3],但这种自发修复作用非常有限^[4]。因此如能应用外源性干细胞植入治疗脑梗死,有可能获得更好的疗效。

1 干细胞治疗脑梗死的机制

1.1 促进神经再生

实验证明干细胞移植治疗可改善脑梗死小鼠的神经功能,主要是通过减少神经变性、抑制胶质瘢痕形成、促进内源性神经再生、稳定血脑屏障等来实现的^[5,6]。Hassani等^[7]发现正常情况下内源性神经元可少量再生,脑梗死使这一作用有所增强,移植神经干细胞可使这种增殖活动持续增强。移植的干细胞还可适应梗死后微环境,分泌多种组织营养因子、调节免疫反应,促进内环境的稳定^[8]。

干细胞影响内源性神经再生的机制目前仍尚未阐明,但可能与生长因子、炎性介质的相互作用有关。生长因子如粒细胞集落刺激因子、血管内皮生长因子、转化生长因子 α 、睫状神经营养因子等已证明与脑梗死后神经再生有关^[9-12]。干细胞移植可提高脑源性神经营养因子、成纤维细胞生长因子、血管内皮生长因子等的浓度^[6],促进组织重塑和功能恢复。

1.2 抑制炎症反应

Tobin等^[13]发现,脑梗死后的炎症反应对脑组织的损害不仅发生在急性期,还可造成缺血半暗带的长期损伤。Bacigaluppi等^[9]证明,神经干细胞可通过抑制炎症反应来减少迟发性神经元变性。干细胞分泌的神经因子也可调节梗死后炎症反应^[14]。利用干

细胞移植来治疗脑梗死,有可能促进内源性神经再生、脑组织自身修复。研究表明,应用干细胞移植治疗脑梗死后48h的大鼠,可促进室管膜下区(subventricular zone, SVZ)的细胞增殖、迁移及新生神经元的成熟,抑制小胶质细胞及巨噬细胞的炎性反应,改善小鼠的行为功能,这些作用将持续至梗死后的14周^[15]。Peruzzotti-Jametti等^[16]指出,炎性介质对梗死后神经再生的影响结果是可变的,这可能与炎性介质的表型、产生作用的细胞分子途径差异有关。

1.3 其他作用

Fischbach等^[17]研究表明,移植的干细胞可通过感知不同的微环境信号、向特定损伤部位迁移、整合输入信号、执行复杂反应来保护并重塑受损的脑组织。Weick等^[18]研究表明人类胚胎干细胞衍生的神经元有助于神经网络的信息处理,进一步促进神经网络的形成,这是通过接收突触后电信号并整合突触功能来实现的。Hiu等^[19]发现,干细胞移植可增加谷氨酸转运蛋白1和谷氨酸受体A2的表达,这可能与促进突触信号的传导有关。另外,静脉注射神经干细胞还可稳定血脑屏障^[16],这可能和它能减少基质金属蛋白酶9的表达及活性氧簇的反应有关。

2 干细胞治疗脑梗死需解决的问题

2.1 移植时间

研究显示,脑梗死后24h干细胞治疗比1h后治疗更有利于改善大鼠的神经功能,减少梗死面积^[20]。大量动物实验研究表明,脑梗死非急性期进行细胞移植也可起到促进神经保护、改善神经功能的作用,并且这一作用可持续较长时间^[18]。

移植时间不同,移植细胞所起的作用也不同。Darsalia等^[21]发现,梗死后48h移植较6周后移植细胞的生存率增高,但延迟移植不影响细胞的迁移、分化及增殖,后者生存率的下降可能与梗死后期体内炎症反应有关。Rosenblum等^[22]于大鼠脑梗死后不同时期采用动脉移植细胞疗法治疗,发现梗死后3d治疗细胞迁移效果最佳,早期移植细胞多分化为星形胶质细胞,而晚期移植细胞大多分化为神经元。早期

作者单位

哈尔滨医科大学附属第一医院神经内科

哈尔滨 150001

收稿日期

2014-02-26

通讯作者

段淑荣

duanshurongsj@

163.com

治疗主要是促进神经保护,非急性期治疗可提高内源性修复,促进血管和神经发生^[23]。

2.2 移植方法

研究较多的移植方法包括局部注射、血管内注射及鼻内注射。局部注射有利于干细胞大量聚集,分泌大量生长因子,但需考虑侵入性操作的安全性及副作用,最近的研究证明其有效性也值得怀疑^[24]。

血管内注射不但容易给药、微创,而且可使干细胞广泛分布,因而可广泛分泌神经保护、免疫调节因子^[25],但通过这种方式进入脑内的细胞少,产生直接作用的细胞数量有限,另外血管内细胞聚集可产生栓塞,还可使脑血流量减少导致小卒中^[26]。微导管注射法旨在解决这些问题,它在小样本量试验中被证明治疗脑梗死是有效且安全的^[27]。

鼻内移植为近年来新兴的移植方式,它避免了侵入性操作和血管内移植的弊端,可使移植细胞穿过筛板迁移至整个前脑^[28],虽然其具体作用机制仍未阐明,但现已证明鼻内移植干细胞对脑梗死治疗是有效的^[29,30],具有很好的应用前景。

3 干细胞移植脑梗死的安全性

干细胞治疗目前大多处于动物实验阶段。Feng等^[31]使用猕猴验证颅内注射干细胞治疗脑梗死的安全性,发现实验动物可产生炎症反应及局部组织坏死,但随着时间的推移,损害逐渐自行修复。Qiao等^[32]对8位接受干细胞移植治疗脑梗死的患者进行了2年的随访,发现移植2~24h内可出现低热头晕反应,但无需治疗,2~4d可自行恢复,更重要的是2年内这8位患者均未发生肿瘤。Banerjee等^[33]采用自体干细胞动脉注射治疗5例脑梗死患者,治疗后所有患者均未出现治疗相关的不良反应,且患者神经功能改善,病灶体积缩小。Prasad等^[28]使用静脉注射骨髓干细胞治疗脑梗死,发现治疗组与对照组不良反应事件发生率无明显差异。

目前研究显示,干细胞治疗脑梗死的安全性值得肯定,但现有的临床实验样本量小,随访时间短,其安全性还有待进一步研究。

4 结论

干细胞移植治疗为脑梗死的治疗提供了新的思路。移植的干细胞的能促进神经再生、分泌生长因子调节炎症反应,改善微环境,进而促进神经功能恢复和脑组织重塑,具有很好的应用前景,但其应用于临床还面临诸多问题,何时移植、采用何种方式移植,及移植的安全性目前还没有统一的定论,需要进一步探索研究。

参考文献

- [1] Norrving B, Kissela B. The global burden of stroke and need for a continuum of care [J]. *Neurology*, 2013, 80: S5-S12.
- [2] Thored P, Arvidsson A, Cacci E, et al. Persistent production of neurons from adult brain stem cells during recovery after stroke [J]. *Stem cells*, 2006, 24: 739-747.
- [3] Song S, Park J T, Na J Y, et al. Early expressions of hypoxia-inducible factor 1alpha and vascular endothelial growth factor increase the neuronal plasticity of activated endogenous neural stem cells after focal cerebral ischemia[J]. *Neural Regen Res*, 2014, 9: 912.
- [4] Mao FX, Li WJ, Chen HJ, et al. White matter and SVZ serve as endogenous sources of glial progenitor cells for self-repair in neonatal rats with ischemic PVL [J]. *Brain Res*, 2013, 1535: 38-51.
- [5] Bacigaluppi M, Pluchino S, Peruzzotti-Jametti L, et al. Delayed post-ischaemic neuroprotection following systemic neural stem cell transplantation involves multiple mechanisms[J]. *Brain*, 2009, 132: 2239-2251.
- [6] Doeppner TR, Ewert TAS, Tönges L, et al. Transduction of Neural Precursor Cells with TAT-Heat Shock Protein 70 Chaperone: Therapeutic Potential Against Ischemic Stroke after Intrastriatal and Systemic Transplantation[J]. *Stem Cells*, 2012, 30: 1297-1310.
- [7] Hassani Z, O'Reilly J, Pearse Y, et al. Human neural progenitor cell engraftment increases neurogenesis and microglial recruitment in the brain of rats with stroke[J]. *PloS one*, 2012, 7: e50444.
- [8] Pluchino S, Cossetti C. How stem cells speak with host immune cells in inflammatory brain diseases[J]. *Glia*, 2013, 61: 1379-1401.
- [9] Schneider A, Krü ger C, Steigleder T, et al. The hematopoietic factor G-CSF is a neuronal ligand that counteracts programmed cell death and drives neurogenesis [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115: 2083-2098.
- [10] 何佳, 丁凤菲, 刘敏珍, 等. VEGF/VEGFR在脑缺血再灌注损伤中的神经保护作用[J]. 神

经损伤与功能重建, 2013, 8: 177-180.

- [11] Leker RR, Toth ZE, Shahar T, et al. Transforming growth factor alpha induces angiogenesis and neurogenesis following stroke [J]. *Neuroscience*, 2009, 163: 233-243.
- [12] Kang SS, Keasey MP, Arnold SA, et al. Endogenous CNTF mediates stroke-induced adult CNS neurogenesis in mice [J]. *Neurobiol Dis*, 2013, 49: 68-78.
- [13] Tobin MK, Bonds JA, Minshall RD, et al. Neurogenesis and inflammation after ischemic stroke: what is known and where we go from here [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2014, 34: 1573-1584.
- [14] Cusimano M, Bizziato D, Brambilla E, et al. Transplanted neural stem/precursor cells instruct phagocytes and reduce secondary tissue damage in the injured spinal cord [J]. *Brain*, 2012, 135: 447-460.
- [15] Mine Y, Tatarishvili J, Oki K, et al. Grafted human neural stem cells enhance several steps of endogenous neurogenesis and improve behavioral recovery after middle cerebral artery occlusion in rats[J]. *Neurobiol Dis*, 2013, 52: 191-203.
- [16] Peruzzotti-Jametti L, Donegá M, Giusto E, et al. The role of the immune system in central nervous system plasticity after acute injury [J]. *Neuroscience*, 2014, 283: 210-221.
- [17] Fischbach MA, Bluestone JA, Lim WA. Cell-based therapeutics: the next pillar of medicine[J]. *Sci Transl Med*, 2013, 5: 179ps7.
- [18] Weick JP, Liu Y, Zhang SC. Human embryonic stem cell-derived neurons adopt and regulate the activity of an established neural network[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108: 20189-20194.
- [19] Hiu T, Bliss T, Manley N, et al. Synaptic Remodeling By Human Neural Stem Cells In The Ischemic Brain [J]. *J Neurosurg*, 2013, 119: 128-132
- [20] Yavagal DR, Lin B, Raval AP, et al. Efficacy and dose-dependent safety of intra-arterial delivery of mesenchymal stem cells in a rodent stroke model[J]. *PloS one*, 2014, 9: e93735.
- [21] Darsalia V, Allison SJ, Cusulin C, et al. Cell number and timing of transplantation determine survival of human neural stem cell grafts in stroke-damaged rat brain[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2011, 31: 235-242.
- [22] Rosenblum S, Wang N, Smith TN, et al. Timing of intra-arterial neural stem cell transplantation after hypoxia-ischemia influences cell engraftment, survival, and differentiation [J]. *Stroke*, 2012, 43: 1624-1631.
- [23] Hao L, Zou Z, Tian H, et al. Stem cell-based therapies for ischemic stroke[J]. *Biomed Res Int*,

2014, 2014:468748

[24] Smith EJ, Stroemer RP, Gorenkova N, et al. Implantation site and lesion topology determine efficacy of a human neural stem cell line in a rat model of chronic stroke[J]. *Stem Cells*, 2012, 30: 785-796.
 [25] Misra V, Ritchie MM, Stone LL, et al. Stem cell therapy in ischemic stroke: role of IV and intra-arterial therapy [J]. *Neurology*, 2012, 79: S207-S212.
 [26] Walczak P, Zhang J, Gilad AA, et al. Dual-modality monitoring of targeted intraarterial delivery of mesenchymal stem cells after transient ischemia[J]. *Stroke*, 2008, 39: 1569-1574.
 [27] 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: 2291-2298.
 [28] Jiang Y, Zhu J, Xu G, et al. Intranasal delivery of stem cells to the brain [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2011, 8: 623-632.
 [29] Wei N, Yu SP, Gu X, et al. Delayed intranasal delivery of hypoxic-preconditioned bone marrow mesenchymal stem cells enhanced cell homing and therapeutic benefits after ischemic stroke in mice [J]. *Cell transplant*, 2013, 22: 977-991.
 [30] van Velthoven CT, Sheldon RA, Kavelaars A, et al. Mesenchymal stem cell transplantation

attenuates brain injury after neonatal stroke [J]. *Stroke*, 2013, 44: 1426-1432.
 [31] Feng M, Li Y, Han Q, et al. Preclinical safety evaluation of human mesenchymal stem cell transplantation in cerebrum of nonhuman primates[J]. *Int J Toxicol*, 2014, 33: 403-411.
 [32] Qiao LY, Huang FJ, Zhao M, 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: s65-71.
 [33] Banerjee S, Bentley P, Hamady M, et al. Intra-Arterial Immunoselected CD34+ Stem Cells for Acute Ischemic Stroke [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2014, 3: 1322-1330.

(本文编辑:唐颖馨)

(上接第316页)

研究显示,急性脑梗死后有19%~81%的患者出现吞咽障碍,吞咽障碍常导致吸入性肺炎、营养不良、脱水、气道阻塞以及抑郁、认知情感障碍^[9],目前研究认为,脑梗死后急性期由于脑组织急性缺血缺氧,导致大脑皮质功能受损,引发情感释放失控,而在恢复期及后遗症期,患者由于肢体残疾而对家庭产生负罪感,因此表现情绪低落^[9]。

本研究发现,实施功能性电刺激治疗后联合组患者吞咽功能、认知功能和抑郁情况均有明显改善,且疗效优于对照组。功能性电刺激明显改善卒中后的吞咽障碍,机制在于可增强吞咽前感觉冲动的传入,提高神经系统兴奋性,缩短口咽反应的延迟时间^[10]。而功能性电刺激改善脑梗死患者认知障碍和抑郁,其机制可能为电刺激不断反馈到大脑皮质形成一种条件性重复刺激,经长期反复训练能形成相应的条件反射,有利于重组或再塑中枢神经功能,改善肌肉运动的协调性,实现皮质功能区域性重建,影响神经递质表达,扩大皮质感觉区,使患者的进食功能不断改善,随着治疗的进行,神经功能也逐渐得到恢复,各种认知障碍和抑郁因素随之减轻或消失^[11]。

既往研究证实,早期对急性脑梗死患者进行心理干预,能有效改善卒中患者的

抑郁障碍和心理状态^[12]。本研究针对脑梗死患者的心理障碍状况,通过心理干预对患者记忆、注意、语言理解、思维推理和执行功能等各项认知功能进行反复的刺激,促进了功能的重组;同时通过增加大脑皮质的传入信息,引起神经解剖和神经生化学方面的深刻变化,使大脑皮质增厚,树突分支增加,大量的轴突和细胞体产生,神经元的体积和密度增加^[13],使认知功能得以康复,同时及时发现患者的心理问题并及时进行心理干预,使患者能面对现实,对治疗增强自信心和主观能动性,有利于提高神经系统的自我调节能力,改善患者的抑郁状况。

综上所述,本研究证实功能性电刺激联合心理干预能明显地改善脑梗死吞咽障碍患者吞咽功能、认知障碍及抑郁,从而提高其生存质量。

参考文献

[1] 谭诚,邓彦,胡明秋.神经肌肉电刺激联合吞咽训练综合治疗神经性吞咽障碍的研究[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2011, 14: 8-10.
 [2] 陈映琳,刘亚萍,陈秋利.早期心理干预在脑梗死后抑郁病人中的应用 [J]. *护理研究*, 2012, 26: 1387-1388.
 [3] 王梅波,张海宁,金涛,等.脑梗死患者急性期情感障碍与认知功能障碍发生率及其相关性研究 [J]. *中风与神经疾病杂志*, 2013, 30: 336-340.

[4] 张莉,封海霞,鞠昌萍,等.电刺激治疗卒中后中后咽障碍的疗效观察 [J]. *护士进修杂志*, 2013, 28: 182-184.
 [5] 陆敏,孟玲,彭军.神经肌肉电刺激疗法与电针治疗卒中后中后咽障碍的疗效对比研究 [J]. *中国康复医学杂志*, 2010, 25: 135-138.
 [6] 中华医学会全国第4次脑血管病学术会议.各类脑血管病诊断要点 [J]. *中华神经科杂志*, 1996, 29: 379-381.
 [7] 刘文权,徐武华,吴婉霞,等.神经肌肉电刺激联合吞咽训练对脑梗死后中后咽障碍的疗效 [J]. *实用医学杂志*, 2013, 29: 1780-1782.
 [8] Thomas RJ, Dumler JS, Carlyon JA. Current management of Human granulocytic anaplasmosis, human monocytic ehrlichiosis and Ehrlichia ewingii ehrlichiosis [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2009, 7: 709-722.
 [9] 徐岩,鞠倩,王萍,等.早期心理干预对卒中后抑郁患者心理特征的影响 [J]. *河北医学*, 2013, 19: 448-451.
 [10] Teasel LR, Foley N, Doherty yT, et al. Clinical characteristics of Patients with brainstem strokes admitted to a rehabilitation unit [J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 2002, 83: 1013-1016.
 [11] 曾艳芳,谈晓牧,童燕娜,等.神经肌肉电刺激治疗对脑梗死中后咽障碍患者情感障碍的疗效[J]. *临床荟萃*, 2014, 29: 1155-1157.
 [12] 徐新献,姚武位,周婧,等.老年卒中后抑郁对康复训练疗效的影响[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2011, 14: 66-67.
 [13] 崔燕,申建,韩玉琦,等.早期康复对卒中中偏瘫合并心理障碍疗效观察[J]. *中国健康心理学杂志*, 2014, 22: 674-676.

(本文编辑:王晶)