

神经干细胞治疗缺血性脑卒中的研究进展

曾宗伟¹, 欧阳荣键¹, 吴昊², 李虎¹, 吴云¹

(联勤保障部队第九四五医院:1. 神经内科;2. 康复理疗科, 四川雅安 625000)

【摘要】缺血性脑卒中是最常见的脑血管意外,可导致严重的神经损伤,具高发病率、高致残率、高死亡率。尽管临床干预缺血性脑卒中取得了较大的进展,但基于多种因素,其治疗效果受到了限制。神经干细胞(NSC)存在于脑内,并可在中枢神经系统内分化为多种类型细胞。NSC移植可促进缺血性脑卒中后神经功能恢复,有望成为治疗缺血性脑卒中的最佳选择方案。本文就NSC治疗缺血性脑卒中的研究进展进行综述,旨在进一步了解NSC在缺血性脑卒中的治疗作用,并对其应用前景进行评估。

【关键词】神经干细胞;移植;缺血性脑卒中

【中图分类号】R741

【文献标识码】A

DOI: 10.11851/j.issn.1673-1557.2024.03.022

脑卒中是最常见的脑血管疾病,可造成严重的神经损伤,是全球范围内高发病率、高致残率和高死亡率的疾病^[1]。脑卒中分为缺血性脑卒中和出血性脑卒中两种类型,以缺血性脑卒中多见。近年来,尽管临床干预缺血性脑卒中取得了较大进展,但基于多种因素,其治疗效果受到了限制。为了修复缺血的大脑,神经干细胞(neural stem cell, NSC)移植可能是首选治疗方案,移植的NSC具有替代损伤细胞、保护神经和调节免疫功能^[2]。有研究表明,NSC在脑内稳态中发挥重要作用,并在神经血管损伤后发生增殖、分化和迁移,表现出广泛的潜在治疗作用^[3]。本文就NSC治疗缺血性脑卒中的研究进展进行综述,旨在进一步了解NSC在缺血性脑卒中的治疗作用,并对其应用前景进行评估。

1 NSC治疗缺血性脑卒中的动物研究

脑卒中发作后4.5 h内静脉注射重组组织型纤溶酶原激活剂是临床治疗急性缺血性脑卒中的标准方法,动脉取栓术可用于治疗伴大血管闭塞的急性缺血性脑卒中。上述方法虽可以使急性期患者闭塞的脑血管再通,并挽救缺血半暗带^[3],但若入院时间延迟,患者则通常错过最佳治疗时机^[4]。据报道,NSC移植治疗缺血性脑卒中所有阶段(急性、亚急性和慢性)都有效,对缺血性脑卒中动物模型显示出多种效果^[5]。有研究表明,NSC移植治疗缺血性脑卒中可通过保护缺血神经元和修复脑损伤,有效改善脑功能^[6]。已有大量的动物实验研究使用SD大鼠或小鼠建立大脑中动脉阻塞脑缺血模型,该模型虽具有高度稳定性和可重复性,但其操作较复杂,目前尚未设计出更好的脑缺血模型^[7-8]。

在建立缺血性脑卒中动物模型时,多数研究选择了大鼠和小鼠,且主要是健康的成年动物,而不是老年动物^[7-8]。然而,缺血性脑卒中在高血压或糖尿病老年患者中更为常见^[7],这就导致研究对象存在一定偏差。

就干预时间而言,多数研究在模型建立24 h以上才进行NSC移植^[6],而少数研究在脑缺血发作后立即进行NSC移植^[8]。在移植途径方面,NSC移植主要有3种途径:脑内、受损脑区和血管内注射,用于移植的NSC包括胎儿组织、细胞系和诱导多能干细胞。

2 NSC治疗缺血性脑卒中的临床试验

目前,许多关于NSC治疗缺血性脑卒中的研究项目已在临床试验中登记。有研究表明,NSC可以在大脑中存活,并与相邻的神经细胞建立联系,形成新的突触,改善神经冲动传递,从而促进缺血性脑卒中患者的神经恢复^[9]。有研究显示,在稳定的脑卒中患者中,将人类脊髓源性NSC(NSI-566)移植到梗死周围区域的耐受性良好,通过3种不同的临床结果衡量,均显示出初步的临床获益^[10-11]。另有临床试验发现,高达2000万个细胞的单次脑内剂量CTX-DP(永生化人类神经干细胞系)不会诱发不良事件,与改善神经功能有关^[12-13]。并且,人类NSC(CTXOE03)通过脑内植入给药在多中心研究中是可行的^[14]。作为缺血性脑卒中的一种特殊治疗方法,NSC替代疗法已显示出良好的治疗效果,为脑血管疾病的治疗开辟了新途径。

3 NSC治疗缺血性脑卒中的潜在机制

3.1 NSC的分化

NSC是存在于中枢神经系统中的细胞群,在脑损伤中可直接移植或定位于受损区域,发挥自我更新和分化为神经元、星形胶质细胞或少突胶质细胞的作用。在这种微环境下,NSC具有增殖、分化和分裂为后代脑细胞并协助修复的能力。

缺血性脑卒中发作后,损伤区域出现低灌注,缺氧环境刺激内源性NSC的增殖,损伤区域也会分泌多种趋化因子,以响应缺氧信号^[15]。内源性NSC在海马齿状回的脑室下区和颗粒下区受到刺激,迁移到脑卒中

通信作者:曾宗伟, jeedongzerg@126.com

区域^[16]。然而,这些内源性 NSC 不足以满足脑卒中后损伤区域所需的 NSC 数量,并且神经发生能力有限。因此,需要寻求移植外源性 NSC 来治疗缺血性脑卒中,以确保损伤部位有足够数量的正常神经细胞来替代受损的神经细胞。此外,与正常的重编程途径不同,NSC 可以通过另一种细胞类型的转分化产生^[17]。这种 NSC 能保持自我更新能力,在体内产生多种神经元亚型,并在移植后实现功能整合,也适用于移植治疗。

3.2 NSC 的旁分泌效应 有研究发现,将多种神经营养因子与 NSC 同时移植可显著促进缺血性脑卒中后的神经恢复^[18]。目前,NSC 的旁分泌作用被认为是 NSC 治疗缺血性脑卒中的重要机制,NSC 可通过直接的细胞间相互作用产生旁分泌效应,分泌多种生物活性分子^[18-20]。Ye^[18] 研究表明,表达碱性成纤维细胞生长因子的 NSC 可减轻缺血小鼠的脑损伤并恢复感觉运动功能。Boese 等^[7] 研究表明,NSC 治疗可提高脑源性神经营养因子的水平,并减少脑中小鼠的脑出血后血脑屏障损伤。Chou 等^[19] 研究发现,NSC 可分泌血管内皮生长因子等血管生成因子并植入梗死周围腔,诱导血管生成^[19]。Chen^[20] 研究显示,黄芪甲苷 VI 可上调 NSC 巢蛋白和表皮生长因子的表达。值得注意的是,NSC 除分泌多种生物活性分子外,还表达多种生长因子的受体,可通过分泌活动调节自身功能。同时,NSC 分泌的神经营养因子间存在密切的相互作用,参与调节细胞的增殖、迁移、归巢、分化、凋亡和存活等反应。此外,NSC 的旁分泌效应也参与免疫调节,诱导免疫耐受,改善破坏性炎症反应。

3.3 线粒体转移 脑细胞需要能量来维持正常功能,而线粒体是向脑细胞提供能量的重要小细胞器。理论上,线粒体疗法可以解决缺血性脑卒中的缺血缺氧问题,并为饥饿的神经细胞带来能量^[21]。一方面,NSC 可通过恢复细胞有氧呼吸将正常线粒体转移到线粒体功能障碍的受损细胞中,并以多种方式修复线粒体功能,以减少细胞损伤;另一方面,在 NSC 分裂后不久,子细胞中自我更新的线粒体就会融合,而转化为神经元的子细胞则会经历高水平的分裂^[22-23]。线粒体分裂的增加实际上促进了神经细胞的分化,而有丝分裂后线粒体的融合将子细胞重新定向到自我更新阶段^[22]。

3.4 NSC 与缺血性脑卒中的自噬 1962 年, Ashford 等^[24] 发现细胞中的自噬现象后,首次提出了自噬的概念。自噬体是通过与溶酶体融合而形成自噬溶酶体,自噬溶酶体降解其所包裹的内容物以满足细胞自身的代谢需要并更新某些细胞器。缺血性脑卒中的进展会引起一系列化学反应,缺血发作时引发的炎症反应对 NSC 的存活和缺血后神经组织的恢复起重要作用,炎症的激活触发自噬体的形成,导致缺血性脑卒中的自噬^[25]。

许多研究揭示了自噬和炎症在缺血性脑卒中发病机制中的相互作用,适当的自噬可以保护缺血的神

组织,而过度的自噬可能导致细胞死亡^[26-27]。Yu^[26] 研究发现,NSC 不仅可以提高细胞存活率,还可以减轻炎症和自噬过程,从而改善大鼠脑卒中后的功能恢复。也有研究报道,氨基酸代谢物同型半胱氨酸在缺血性脑卒中发病时,通过刺激过度自噬而影响 NSC 的活性和增殖,NSC 移植联合同型半胱氨酸抑制剂可能对缺血性脑卒中的恢复有促进作用^[27]。

4 NSC 治疗缺血性脑卒中面临的困难与挑战

缺血性脑卒中可导致严重的神经损伤,目前,尚无有效的治疗方法能够逆转其引起的神经元死亡和神经功能障碍。NSC 治疗缺血性脑卒中有望改善患者预后,NSC 移植在临床前研究中已被证明有效,然而这种治疗方法也面临着以下困难与挑战:(1) NSC 有可能导致肿瘤形成。通常 NSC 本身很少产生肿瘤,只有当其来源于诱导性多能干细胞或胚胎干细胞时,才可能具有致癌性,减少 NSC 的基因修饰将降低其植入后的肿瘤发生风险。同时,线粒体转移是一把双刃剑,可能促进肿瘤进展^[23]。(2) 自体 NSC 移植被认为是一种安全的治疗方法,导致的免疫不良后果最少^[28],然而脑卒中患者往往年龄较大,这限制了自体 NSC 的应用,也是外源性 NSC 移植是否能广泛应用的关键因素之一,而目前如何对移植的外源性 NSC 进行控制处理、调控分化,以达到预期的治疗效果尚待探索。(3) 免疫排斥问题也需要解决。尽管 NSC 很少表达主要组织相容性复合体,但仍然可以引起一些免疫问题。因此,NSC 植入后应进行免疫抑制治疗。Wei 等^[28] 研究发现,转基因修饰不会加重 NSC 移植的免疫反应。(4) 确定缺血性脑卒中 NSC 治疗的最佳替代时机仍是一个争议性话题。目前,大多数临床前研究推荐在脑卒中亚急性期(24 h 后)进行 NSC 移植^[6],NSC 外植体具有免疫调节和神经保护作用,特别是在脑卒中亚急性期。但在一些临床研究中,NSC 移植也被用于慢性脑卒中期^[29]。(5) 从理论上讲,NSC 具有高度可操作性,可以穿过血脑屏障,并且可以整合到宿主组织中,然而 NSC 治疗目前仍面临无法在体内植入期间维持细胞活力及其功能的困难,可能导致 NSC 移植的细胞存活率低和预后差。

为了克服上述问题,通过改进的方法可增强 NSC 的治疗效果并促进其临床应用,如 NSC 修饰及预处理、辅助使用化学或生物材料。生物材料系统可用于形成包封干细胞和生长因子的支架,包封可以防止体内免疫反应激活,减轻炎症反应,而支架可以为 NSC 的神经发生提供支撑^[30]。这些方法的应用在一定程度上能提高细胞存活率及维持细胞功能。

5 小结与展望

缺血性脑卒中具高发病率、高致残率和高死亡率,

对人类健康构成严重威胁。目前,除了急性溶栓和血管内介入治疗外,尚无理想的治疗方法可以促进脑卒中后功能恢复,并且溶栓及血管内介入治疗受发病时限影响,临床应用禁忌较多。NSC 能自我更新和多向分化,具有自体提取、增殖快、体外培养容易、免疫原性低等优点。此外,NSC 不仅可通过分化成神经元来修复脑卒中后的脑组织,还可通过调节受损脑组织的微环境、减少炎症、促进血管生成、诱导神经发生和协助神经血管修复来减少梗死面积和血脑屏障破坏。上述特点均支持 NSC 移植可能是潜在的治疗缺血性脑卒中的最佳选择方案。虽然目前仅局限于临床前研究,但随着研究深入及技术发展,NSC 移植可能开辟治疗缺血性脑卒中的新途径,为缺血性脑卒中患者带来康复希望。

参考文献:

- [1] POWERS W J. Acute ischemic stroke [J]. *New England Journal of Medicine*, 2020, 383(3): 252-260.
- [2] ZHU J H, ZHOU L F, XINGWU F G. Tracking neural stem cells in patients with brain trauma [J]. *N Engl J Med*, 2006, 355(22): 2376-2378.
- [3] WECHSLER R L. Intravenous thrombolytic therapy for acute ischemic stroke [J]. *N Engl J Med*, 2011, 364(22): 2138-2146.
- [4] PANDIAN D J. Prevention of stroke: a global perspective [J]. *Lancet*, 2018, 392(10154): 1269-1278.
- [5] SUN R, SEUNG-HOON L, SEUNG U K, et al. Human neural stem cells promote proliferation of endogenous neural stem cells and enhance angiogenesis in ischemic rat brain [J]. *Neural Regen Res*, 2016, 11(2): 298-304.
- [6] ZHANG B. Intra-arterial delivery of neural stem cells to the rat and mouse brain: application to cerebral ischemia [J]. *Journal of Visualized Experiments*, 2020(160): 15-18.
- [7] BOESE A, ECKERT A, HAMBLIN M H, et al. Human neural stem cells improve early stage stroke outcome in delayed tissue plasminogen activator-treated aged stroke brains [J]. *Experimental Neurology*, 2020(329): 113275.
- [8] KIM J, SHIN K, CHA Y, et al. Neuroprotective effects of human neural stem cells over-expressing choline acetyltransferase in a middle cerebral artery occlusion model [J]. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 2019(103): 10173.
- [9] GENET N, HIRSCHI K K. Understanding neural stem cell regulation in vivo and applying the insights to cell therapy for strokes [J]. *Regen Med*, 2021, 16(9): 861-870.
- [10] ZHANG G. Stable intracerebral transplantation of neural stem cells for the treatment of paralysis due to ischemic stroke [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2019, 8(10): 999-1007.
- [11] ZHANG G. First human trial of stem cell transplantation in complex arrays for stroke patients using the intracerebral microinjection instrument [J]. *Operative Neurosurgery*, 2020, 18(5): 503-510.
- [12] KALLADKA D, SINDEN J, POLLOCK K, 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.
- [13] SINDEN D J. Human neural stem cell therapy for chronic ischemic stroke: charting progress from laboratory to patients [J]. *Stem Cells Dev*, 2017, 26(13): 933-947.
- [14] MUIR W K. Intracerebral implantation of human neural stem cells and motor recovery after stroke: multicentre prospective single-arm study (PISCES-2) [J]. *Journal of Neurology*, 2020, 363(4): 396-401.
- [15] ZHAO T. Downregulation of Thbs4 caused by neurogenic niche changes promotes neuronal regeneration after traumatic brain injury [J]. *Neurol Res*, 2020, 42(8): 703-711.
- [16] FAN B. Long noncoding RNA mediates stroke-induced neurogenesis [J]. *Stem Cells*, 2020, 38(8): 973-985.
- [17] WANG P. Generation of patient-specific induced neuronal cells using a direct reprogramming strategy [J]. *Stem Cells Dev*, 2014, 23(1): 16-23.
- [18] YE Q. Neural stem cells expressing bFGF reduce brain damage and restore sensorimotor function after neonatal hypoxia-ischemia [J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2018, 45(1): 108-118.
- [19] CHOU C H, MODO M. Characterization of gene expression changes in human neural stem cells and endothelial cells modeling a neurovascular microenvironment [J]. *Brain Research Bulletin*, 2020(158): 9-19.
- [20] CHEN X. Astragaloside VI promotes neural stem cell proliferation and enhances neurological function recovery in transient cerebral ischemic injury via activating EGFR/MAPK signaling cascades [J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(4): 3053-3067.
- [21] COREY S. Harnessing the anti-inflammatory properties of stem cells for transplant therapy in hemorrhagic stroke [J]. *Brain Hemorrhages*, 2020, 1(1): 24-33.
- [22] LIU F, LU J F, MANAENKO A, et al. Mitochondria in ischemic stroke: new insight and implications [J]. *Aging Dis*, 2018, 9(5): 924-937.
- [23] LU M. Mesenchymal stem cell-mediated mitochondrial transfer: a therapeutic approach for ischemic stroke [J]. *Transl Stroke Res*, 2021, 12(2): 212-229.
- [24] ASHFORD T P, PORTER K R. Cytoplasmic components in hepatic cell lysosomes [J]. *J Cell Biol*, 1962, 12(1): 198-202.
- [25] MO Y, SUN Y Y, LIU K Y. Autophagy and inflammation in ischemic stroke [J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15(8): 1388.
- [26] YU X. Protective effects of primary neural stem cell treatment in ischemic stroke models [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(3): 2219-2228.
- [27] WANG M Y, LIANG X S, CHENG M, et al. Homocysteine enhances neural stem cell autophagy in in vivo and in vitro model of ischemic stroke [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(8): 561.
- [28] WEI N L, SUN Z X, YU J M. Immunological responses to transgene-modified neural stem cells after transplantation [J]. *Front Immunol*, 2021(23): 697203.
- [29] HAMBLIN M H, LEE J P. Neural stem cells for early ischemic stroke [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(14): 7703.
- [30] OTHMAN F A, TAN S C. Preconditioning strategies to enhance neural stem cell-based therapy for ischemic stroke [J]. *Brain Sci*, 2020, 10(11): 893.

(收稿日期:2023-06-02)