

干细胞与颅脑创伤治疗的研究进展

商崇智¹, 黄博², 刘洋², 徐健^{2*}, 董化江^{2*}

¹天津大学新城医院神经外科, 天津

²武警后勤学院, 天津

收稿日期: 2022年5月21日; 录用日期: 2022年6月11日; 发布日期: 2022年6月22日

摘要

脑创伤(traumatic brain injury, TBI)是生活中十分常见的多发病, 因TBI伤残率和死亡率在各类创伤性疾病中均位列首位, 给社会和家庭带来了十分沉重的负担, 给TBI病人的生命质量带来了严重影响, 当前已成为全球严重的公共卫生难题。降低TBI患者死亡率、致残率, 提高患者的生存质量, 一直是广大医务工作者和科研人员面对的共同问题。TBI缺乏有效的特效疗法, 近年来, 随着干细胞技术的不断发展, 在损伤脑组织再生方面越来越受关注, 因其治疗效果好、无显著并发症、创伤小、易被患者接受, 应用前景广阔。间充质-干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是来源多、用途广、易获取, 体外容易实现大量扩增, 分化能力强, 潜能的种子细胞, MSCs可在短时间内获得治疗数量的细胞且免疫原性低, 具有得天独厚的治疗优势, 其被广泛用于损伤脑组织再生修复改善神经功能。

关键词

颅脑创伤, 间充质干细胞, 增殖, 分化, 移植

The Research Progress of Stem Cells and Treatment of Traumatic Brain Injury

Chongzhi Shang¹, Bo Huang², Yang Liu², Jian Xu^{2*}, Huajiang Dong^{2*}

¹The Neurosurgery Department of Tianjin University Xincheng Hospital, Tianjin

²Logistics University of the Chinese People's Armed Police Force, Tianjin

Received: May 21st, 2022; accepted: Jun. 11th, 2022; published: Jun. 22nd, 2022

Abstract

Traumatic brain injury (TBI) is a very relatively common frequently-occurring disease. The disa-

*通讯作者。

bility rate and mortality rate of TBI rank first among all kinds of traumatic diseases, bringing a heavy burden to society and family and seriously affecting the patient's health. Quality of life has become a serious global public health problem. Reducing the mortality and morbidity of TBI patients and improving the quality of life of patients have always been a common problem faced by the majority of medical workers and researchers. TBI lacks effective specific treatments. In recent years, with the continuous development of stem cell technology, more and more attention has been paid to the regeneration of damaged brain tissue, showing its obvious advantages. Mesenchymal stem cells (MSCs) are seed cells that can be easily isolated, can be easily expanded in vitro, and have multi-directional differentiation potential. It has unique therapeutic advantages and is widely used for regeneration and repair of damaged brain tissue to improve neurological function.

Keywords

Traumatic Brain Injury, Mesenchymal Stem Cells, Proliferation, Differentiation, Transplantation

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 种子细胞的选择

MSCs 移植治疗前经特定条件分化和诱导, 可实现移植的 MSCs 靶向精准向神经细胞或神经干细胞分化, 是实施干细胞移植治疗 TBI 的理论基础和必要条件[1] [2] [3]。从治疗而言, NSCs 是 TBI 治疗的最为理想的种子细胞, 而相比于其他干细胞而已, NSCs 较难获得、获取的细胞数量极少, 存在伦理方面的诸多问题, 限制了其他临床应用[4] [5] [6]。

当前研究较多且具备向神经细胞定向分化的 MSCs 种类并不少见且治疗效果均有显现, 如脐源性间充质干细胞、脐带华通氏胶源间充质干细胞和胚胎源干细胞(embryonic stem cells, ESCs)、骨髓源性间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)、神经干细胞(neural stem cells, NSCs)、等以及自体来源的干细胞等。然而 ESCs 虽具备向全胚层任意组织或器官分化的强大潜能、干性最强, 是一种完全意义上的全能分化细胞, 囊胚中分离培养出 ESCs, 可以在体外可以无限增殖并且能够定向分化为各种细胞, 如骨细胞、神经细胞、成纤维细胞皮肤细胞等多种组织来源的细胞, 因其受到伦理学限制及异种移植排斥等争议, 限制了其规模性的研究和临床应用[7]。脐带间充质干细胞具有来源丰富、易扩增, 操作简易、无伦理学限制、免疫原性低的优点, 被认为是 TBI 治疗的理想替代细胞[8]。通过抽取自体骨髓、脂肪等, 提取自体干细胞、在体外扩增, 制备足够数量的自体干细胞悬液, 通过合适的途径移植接种入损伤区域或全身输注, 结果证实患者均未显现出明显不良反应, 患者治疗后出院半年至两年期随访过程中未见与临床移植治疗相关的并发症出现, 接受移植治疗的患者治疗效果令人鼓舞, 病人整体预后及神经功能均得到较大程度改观, 主要表现在接受治疗患者智力、肌力、神经功能恢复等, 改善显著, 整体疗效较好, 对小儿脑瘫患者主要表现为肌力增加明显, 语言上改善显著而治疗改善不够显著[9] [10]。将脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、白介素-10 (interleukin-10, IL-10)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等宜于损伤脑组织再生修复的基因或细胞因子等通过细胞转染接入目的细胞, 然后在体外扩增、分化诱导, 利用 MSCs 可向损伤区域归巢(homing)、定向趋化移动的特点, 将特定的植入基因靶向输送至 TBI 患者创伤脑组织, 通过细胞替代作用、伪旁观者作用、植入的

MSCs 分泌各种细胞因子, 将携带目的基因编码的蛋白质大量分泌、释放到损伤脑组织周围, 加强了神经营养和免疫调节功能, 治疗效能显著增强[11] [12]。

2. 干细胞移植路径的选择

干细胞已经路径选择较多, 颅内移植最为常见的方式。临床治疗多见于椎管内输注、脑室内注射、损伤区域原位移植立体定向靶点注射(或手术期间)、侧脑室干细胞移植、蛛网膜下腔穿刺注射、脉管内(静脉、动脉)输注等途径和方式。静脉内输注对机体的创伤小, 可以多次重复接种, 是最理想的细胞移植途径; 研究结果显示, 经静脉接种的干细胞最终大部分滞留于体内其它脏器, 如脾、肾、淋巴结、肺脏、肝脏等器官, 因收到脑内血脑屏障(Blood Brain Barrier, BBB)的作用, 能够真正到达脑内创伤组织周围, 切实发挥损伤组织(神经元)修复或替代作用的 MSCs 数量十分少[9] [13], 椎管内和脑室内输注避免了其他脏器造成的细胞滞留, 颅内脉管栓塞的几率也大大降低, 被认为是现阶段最切实可行的颅内干细胞移植途径[14]。静脉输注的方式优势在于创口小、患者易接受、操作简便, 最适合临床应用, 但同该途径存在 MSCs 播散至机体多个器官及潜在肝脏毒性的潜在副作用, 造成到达脑组织损伤部位的细胞数量急剧减少, 治疗效果难以保证, 并且静脉滴注过快有引起一过性脑缺血和脑微细血管栓塞的潜在危险。立体定向靶点定量注射属于微创治疗, 易损伤注射区域局部脑组织, 注入脑组织实质内可很快产生占位副作用, 并且局部干细胞浓度过高, 局部微环境不利于干细胞的定向分化。蛛网膜下腔移植, 可实现逃避血脑屏障的阻隔, 移植细胞数量也相对较少, 但存在感染的风险和造成颅内压波动及继发颅高压风险, 因此治疗时需综合判断, 选择最优的治疗路径[14]。

3. 干细胞对创伤神经的作用机理

TBI 患者, 大量神经细胞受损、变性、凋亡, 细胞崩解、轴突断裂, 植入的干细胞需在体内克服上述不利条件, 稳定机体内环境, 继而在机体内增殖、分化为损伤的神经细胞, 融入机体组织, 形成新生的神经网络建立新的神经联系, 这一直是干细胞移植修复神经创伤领域的巨大挑战, 也是 TBI 研究者和医务工作者面临的棘手难题。

移植干细胞进入机体后通过对损伤神经组织起到营养和支持作用, 主要可通过细胞间接触或融合发挥作用, 干细胞分泌相应的生长因子、营养因子、多种分泌性蛋白, 通过细胞间接触或融合的方式传递给受损神经元(神经细胞), 发挥治疗效能[14] [15]; 另有学者认为移植干细胞是通过发挥强大的免疫调节作用以及分泌多种神经营养因子、血管内皮生长因子、表皮生长因子、成纤维生长因子和类胰岛素生长因子、多种分泌蛋白等起到“伪旁观者作用”或以扳机点的形式启动自身干细胞活化机制[15]; 植入的干细胞尚可发挥强大的免疫调节作用, 稳定创伤内环境。植入的干细胞通过调控体内各类免疫细胞, 可调节致炎症因子白介素-4 (interleukin-4, IL-4)、IL-10 的表达水平, 同时可降低肿瘤坏死因子和免疫反应性纤维结合素水平, 降低可协同促进毒性辅助 T 细胞亚群和 Th1 转化为非毒性的 Th2 细胞, 起到控制炎症进展的作用, 免疫反应性纤维结合素水平降低和 IL-10 水平增高协同抑制树突状细胞的成熟, 增加抗炎或免疫耐受调控 T 细胞亚群的数量, 控制炎症进展[16]; 植入干细胞可通过促血管新生和血管形成起到治疗作用。植入的干细胞通过诱导损伤脑组织血管发生和血管生成, 实现损伤脑组织血管重建, 修复损伤脑组织。文献报道, 通过静脉输注途径移植干细胞, 发现损伤组织周围新生血管的显著增加, 移植区和损伤区域内源性血管内皮生长因子和血管内皮生长因子表达显著增高[17]。

4. 干细胞与颅骨缺损的治疗

颅骨缺损可融合组织工程与干细胞移植技术, 实现 TBI 患者后期颅骨缺损的治疗。是利用骨组织工

程技术手段,将机间充质干细胞(脂肪来源的 MSCs、骨髓来源的 MSCs、脐带来源的 MSCs 等)提取、纯化并在体外扩增成一定数量级的种子细胞,视情况接种于特定的支架材料上,可根据筛选加入某些能促进新骨生成的生长因子,移植到大鼠颅骨缺损的相应位置,较对照组显著减小缺损面积;随着 MSCs 来源的种子细胞的不断增殖与分化,促进新骨再生,支架材料体内随着时间推移逐渐降解,最终达到修复缺损颅骨缺的治疗目的[17] [18]。

5. 材料技术与干细胞移植

近年来,随着材料技术的突飞猛进,各种类型的新型、优质、生物相容性佳各类生物材料不断进入临床,众多的研究者和临床医务工作者在研究中将各类新型的生物材料作为 MSCs 包装的载体,助推 MSCs 移植效能最大化、最优化。在研究中筛选生物相容性好的材料,优化材料的物理特性和对 MSCs 网络支撑作用,增强材料的免疫原性或较弱材料的免疫原性和缓释性,将种子 MSCs 通过恰当路径移植入相应的创伤脑组织,最大化放大 MSCs 的种子作用和移植效能。有研究者证实:通过运用纤维蛋白原联合凝血酶、抑蛋白酶共同包裹的仿生纤维蛋白支架作为 MSCs 的植入载体,对 ESCs 进行多维度、仿真构向立体模拟体内生长,研究发现 ESCs 在相应的多维支架材料上生长的状态,更加接近本源的细胞形态、架以及和功能,表现出更加完美的细胞增殖活性以及多向分化潜能,结果使广大研究人员备受鼓舞[19];同时,调研文献发现,有团队报道利用聚醚 F127 以及基底膜胶联合新型材料(Pura Matrix),使上述三类材料,有机融合细胞毒性和诱导特定的干细胞向神经元(神经细胞)定向进行分化,实验结果证实,聚醚 F127 对神经元(神经细胞)有十分强的细胞毒性,不宜组织修复再生,然而通过引入基底膜胶发挥相应的作用,可很好地实现阻止神经干细胞向神经元分化,同时研究证实 Pura Matrix 显示了极其微弱的细胞毒性、支持细胞“homing”和诱导向神经元(神经细胞)分化等优势特点。除了生物材料的种类、支架基质的表面形态对 MSCs 亦可产生影响外,各类神经营养因子、细胞因子的浓度、培养血清的种类以及多种其它可能的因素均可能影响到 MSCs 的增殖和分化[20]。生物材料研发和应用成败的关键在于其与宿主间的相互作用,随着学科交叉融合的不断深入,生物相容性好且能和植入体内微环境兼容的材料将对干细胞移植的跨越式发展起到推动作用。

6. 展望

随着临床治疗及基础研究的不断深入,人们对 TBI 的机制及干预有了长足的进步和发展,各类临床药物不断更新,各类术式不断完善和改进,在治疗手段和方法上 TBI 取得了长足进步,然而由于神经细胞的不可再生性,此类患者后续的功能恢复常常伴有诸多的并发症或后遗症伴随损伤区域相应的神经功能缺失,患者生活质量严重降低。当前,有关于干细胞移植的临床数据仍然较少,研究和确定最佳细胞移植时间窗、明确最佳的移植路径以及最佳的移植细胞数量和干细胞效能的作用机理,是干细胞治疗必须解决的矛盾,随着对 MSCs 研究的不断深入,越来越多的 TBI 患者将受益于干细胞移植技术的发展。今年来有文献报道通过干细胞提取物或代谢产物,将“cell-free”用于 TBI 的尝试亦显现出治疗效果,干细胞的“cell-free”化更容易把握剂量、统一标准和规范治疗。总之,干细胞移植技术在 TBI 救治特别是 TBI 治疗后期神经功能恢复等诸多方面显现出来很好的治疗效果,应用市场和前景十分广阔。随着研究人员对神经科学研究的不断深入,跨学科融合不断探索,干细胞技术最终将是惠及广大 TBI 损伤患者、脊髓损伤患者的有效手段。

基金项目

国家自然科学基金资助项目(81801240),后勤学院院级课题资助(WHJ202016)。

参考文献

- [1] Xu, J., Liao, W., Gu, D., *et al.* (2009) Neural Ganglioside GD2 Identifies a Subpopulation of Mesenchymal Stem Cells in Umbilical Cord. *Cellular Physiology and Biochemistry*, **23**, 415-424. <https://doi.org/10.1159/000218188>
- [2] 武俏丽, 李庆国, 刘暎. 干细胞移植治疗脊髓损伤研究进展[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(12): 2343-2346.
- [3] Drayna, P.C., Abramo, T.J. and Estrada, C. (2011) Near-Infrared Spectroscopy in the Critical Setting. *Pediatric Emergency Care*, **27**, 432-439. <https://doi.org/10.1097/PEC.0b013e3182188442>
- [4] She, J.Q., Wang, M., Zhu, D.M., *et al.* (2009) Monosialoanglioside (GM1) Prevents Lead-Induced Neurotoxicity on Long-Term Potentiation, SOD Activity, MDA Levels, and Intracellular Calcium Levels of Hippocampus in Rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, **379**, 517-524. <https://doi.org/10.1007/s00210-008-0379-3>
- [5] 蒋红梅, 龚燕梅. 神经节苷脂对急性脑出血患者神经元特异性烯醇化酶的影响[J]. 医学综述, 2011, 17(14): 2227-2228.
- [6] Lim, S.T., Esfahani, K., Avdoshina, V., *et al.* (2011) Exogenous Gangliosides Increase the Release of Brain-Derived Neurotrophic Factor. *Neuropharmacology*, **60**, 1160-1167. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2010.10.012>
- [7] Walker, P., Shah, S., Harting, M., *et al.* (2009) Progenitor Cell Therapies for Traumatic Brain Injury: Barriers and Opportunities in Translation. *Disease Models & Mechanisms*, **2**, 23-38. <https://doi.org/10.1242/dmm.001198>
- [8] Dong, H., Li, G., Shang, C., *et al.* (2018) Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell Transplantations for Cerebral Palsy. *American Journal of Translational Research*, **10**, 901-906.
- [9] Dong, H.J. and Li, G., Meng, H.P., *et al.* (2018) How Can Mesenchymal Stem Cells (MSCs) Penetrate the Blood Brain Barrier (BBB)? *Turkish Neurosurgery*, **28**, 1013-1014. <https://doi.org/10.5137/1019-5149.JTN.22639-18.1>
- [10] Aggarwal, S. and Pittenger, M.F. (2005) Human Mesenchymal Stem Cells Modulate Allogenic Immune Cell Responses. *Blood*, **105**, 1815-1822. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-04-1559>
- [11] Spees, J., Olson, S., Ylostalo, J., *et al.* (2003) Differentiation, Cell Fusion, and Nuclear Fusion during *Ex-Vivo* Repair of Epithelium by Human Adult Stem Cells from Bone Marrow Stroma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100**, 2397-2402. <https://doi.org/10.1073/pnas.0437997100>
- [12] Chen, J., Li, Y., Zhang, R., *et al.* (2004) Combination Therapy of Stroke in Rats with a Nitric Oxide Donor and Human Bone Marrow Stromal Cells Enhances Angiogenesis and Neurogenesis. *Brain Research*, **1005**, 21-28. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2003.11.080>
- [13] 汪皖君, 于长申, 王雅静, 等. 骨髓间充质干细胞立体定向移植治疗大鼠脑缺血损伤的实验研究[J]. 中风与神经疾病杂志, 2016, 33(12): 594-598.
- [14] Li, G., Yang, Y., Dong, H.J., *et al.* (2017) The Research Progress of Mesenchymal Stem Cells in the Treatment of Traumatic Brain Injury. *Turkish Neurosurgery*, **28**, 696-702. <https://doi.org/10.5137/1019-5149.JTN.20829-17.1>
- [15] Dong, H.J., Peng, D., Zhao, M., Wang, L. and Luo, Y. (2018) Meeting Prometheus: The Mechanism of MSC-Based Therapies; Cell Replacement or "Pretended Bystander Effects"? *Turkish Neurosurgery*, **29**, 622-623.
- [16] Dimitriou, R., Jones, E., McGonagle, D., *et al.* (2011) Bone Regeneration: Current Concepts and Future Direction. *BMC Medicine*, **9**, Article No. 66. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-66>
- [17] O'Keefe, R.J. and Mao, J. (2011) Bone Tissue Engineering and Regeneration: From Discovery to Clinic. An Overview. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, **17**, 389-392. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2011.0475>
- [18] 孙勇, 肖建德. 血管内皮生长因子在骨组织工程中的应用[J]. 国际骨科学杂志, 2007, 28(6): 393-397.
- [19] Willerth, S.M., Arendas, K.J., Gottlieb, D.I., *et al.* (2006) Optimization of Fibrin Scaffolds for Differentiation of Murine Embryonic Stem Cells into Neural Lineage Cells. *Biomaterials*, **27**, 5990-6003. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.07.036>
- [20] Silva, G.A., Czeisler, C., Niece, K.L., *et al.* (2004) Selective Differentiation of Neural Progenitor Cells by High Epitope Density Nanofibers. *Science*, **303**, 1352-1355. <https://doi.org/10.1126/science.1093783>