

· 综 述 ·

# 干细胞疗法在蛛网膜下腔出血中的研究进展

何沛邦 综述 李明昌 审校

【关键词】蛛网膜下腔出血;干细胞疗法;研究进展

【文章编号】1009-153X(2022)08-0712-03 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 743

蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage, SAH)是一种严重的出血性脑卒中,占有脑卒中的5%~10%,85%由动脉瘤破裂引起,病死率和致残率高,预后差<sup>[1]</sup>。目前,临床上尚无有效改善SAH不良预后的药物<sup>[2]</sup>,而干细胞治疗作为SAH的一种新潜在疗法,引起了广泛关注<sup>[3]</sup>。本文检索近年来干细胞与SAH的相关研究,从干细胞来源、衍生物、动物及细胞模型、给药方案和作用机制方面进行综述,以期后续研究的设计和临床转化提供参考。

## 1 干细胞来源

从海马齿状回的颗粒下区和侧脑室的脑室下区分离来的神经干细胞(neural stem cells, NSCs)是SAH治疗相关研究中干细胞移植的主要来源,但该干细胞获得途径产生的数量有限,而且还有高免疫原性、伦理学冲突和致癌转化方面的担忧<sup>[4]</sup>。因此,大量研究转向了其他来源的干细胞,如间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)和单核细胞(mononuclear cells, MNCs)。

Liu等<sup>[5]</sup>发现静脉注射骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)治疗SAH大鼠,可减轻神经功能障碍、脑水肿和血脑屏障破坏。Wan等<sup>[6]</sup>也发现BMSCs可通过调节星形胶质细胞的激活,减轻SAH后血脑屏障的破坏。Ng等<sup>[7]</sup>认为,NSCs可以通过直接分化成神经元或刺激内源性增殖、促进血管生成、轴突生长和小胶质细胞激活/增殖支持神经元再生;但只有少数MSCs和MNCs能分化为神经元,大多数通过旁分泌机制发挥抗炎、免疫

调节和血管生成作用;仅有MNCs可以通过增加神经丝和突触素的表达,诱导白质的轴突重塑。

牙髓干细胞(dental pulp stem cells, DPSCs)作为一种起源于神经嵴的MSCs,可以来自小孩自然脱落的乳牙及成人的智齿,与骨髓来源相比,它不仅拥有MSCs的一般特性,如低免疫原性,而且还有无创、良好的神经元分化潜能、无致畸致癌、来源丰富、无伦理争议等特点,在SAH后神经再生方面发挥着越来越重要的作用<sup>[8]</sup>。

虽然,Steinbeck等<sup>[9]</sup>发现移植干细胞的存活率和功能分化效率不高。但Guo等<sup>[10]</sup>发现成年小鼠大脑反应性胶质细胞可以被重新编程为功能神经元,重建神经回路,改善运动和认知障碍。这无疑为SAH的干细胞治疗提供了一个新思路,即可以对各类干细胞或自体细胞进行基因编辑,增强其分化、增殖或分泌能力,减轻神经损伤。

## 2 干细胞衍生物

干细胞不仅可以直接分化成神经元,而且可以通过其衍生物来起到神经保护的作用,如旁分泌机制介导的旁分泌因子。Chen等<sup>[11]</sup>通过对SAH大鼠进行鞘内注射DPSCs来源的条件培养液,发现它可以改善血管痉挛、神经炎症及微循环。最新研究显示,外泌体(exosome, Exo)作为一种重要的旁分泌因子,包含有来源细胞内的多种蛋白质和miRNA生物活性物质,是一种新的细胞间交流方式<sup>[12]</sup>。移植干细胞来源的外泌体可以避免一些干细胞直接移植的风险,如免疫排斥、移植细胞栓塞血管和致瘤致畸,因此受到越来越多的关注。Zhao等<sup>[13]</sup>发现人脐带间充质干细胞来源Exo,可显著改善SAH大鼠神经功能障碍和脑水肿,抑制神经细胞凋亡。Gao等<sup>[14]</sup>发现BMSCs来源Exo可以促进SAH后神经元的存活。Xiong等<sup>[15]</sup>通过对SAH大鼠进行股静脉注射BMSCs来源Exo,发现它可发挥抗炎、抗细胞凋亡的作用。

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2022.08.031

基金项目:国家自然科学基金(8197080706;82172173)

作者单位:430060 武汉,武汉大学人民医院神经外科(何沛邦、李明昌)

通讯作者:李明昌, E-mail: mingcl@whu.edu.cn

但是,Exo 成分复杂,具体哪种成分发挥主要作用,还需要进行深入的研究。

3 SAH 动物动物及细胞模型

Marbacher 等<sup>[16]</sup>通过分析 765 项 SAH 的动物研究,发现存在 6 种不同动物(小鼠、大鼠、兔、狗、猪和非人灵长类动物)和 4 种建模方法(单次注血、血管内刺破、双次注血、开颅和血凝块置入),并列出了相应的建模技术和相关参数。对啮齿动物的血管内刺破模型而言,Sugawara 等<sup>[17]</sup>通过对脑基底部血管进行病理分析,提出 SAH 严重程度的分级,可用于模型出血量的评估控制,目前应用最为广泛。

SAH 细胞模型,主要是通过模拟血肿成分对细胞的毒性作用来构建,例如氯高铁血红素<sup>[18]</sup>、氧合血红蛋白<sup>[19]</sup>、溶血产物<sup>[20,21]</sup>,探讨出血后的神经损伤机制。但这些细胞模型能否准确代表神经细胞在 SAH 条件下的病理生理过程,还需要进一步探讨。

4 干细胞治疗 SAH 的方案(途径、剂量及时机)

目前,SAH 干细胞治疗的最佳输送途径仍处于探索阶段。文献报道的输送途径有鼻腔内注射<sup>[22]</sup>、脑室内注射<sup>[23]</sup>、静脉移植<sup>[6]</sup>、鞘内注射<sup>[11]</sup>。然而,干细胞静脉注射可能会使大多数细胞被困在肺和网状内皮系统(如肝/脾),但通过动脉内、腔内(腹腔内和鼻腔和脑室)或直接组织(肌肉内和实质内)注射,可以直接将细胞输送到靶组织,提高治疗效果<sup>[7]</sup>。

对于注射剂量,Song 等<sup>[4]</sup>发现在 SAH 大鼠模型中,静脉(尾静脉或股静脉)注射干细胞的量为  $3\times 10^6$ ;若为鼻腔内注射,则量为  $1.5\times 10^6$ ;但 SAH 病人,静脉注射干细胞的量可能需要  $1\times 10^8$ 。此外,Chen 等<sup>[23]</sup>通过脑室内注射干细胞来治疗 SAH 大鼠,注射量为  $1\times 10^5$ 。近年来,干细胞来源 Exo 治疗 SAH 的研究显示,Exo 注射量不尽相同,例如  $100\text{ }\mu\text{g}$ <sup>[24]</sup>、 $200\text{ }\mu\text{g}$ <sup>[15]</sup>、 $400\text{ }\mu\text{g}$ <sup>[13]</sup>。

对于注射时机,由于研究目的和观察终点不一(如短期疗效、长期预后),目前尚无统一标准。文献报道的注射时机有 SAH 后 10 min<sup>[25]</sup>、SAH 后 1 h<sup>[5]</sup>、SAH 后 24 h<sup>[26]</sup>、SAH 后 3 d<sup>[3]</sup>、SAH 后 6 d<sup>[22]</sup>、SAH 后 10 d<sup>[23]</sup>。

5 干细胞治疗 SAH 的机制

5.1 抗炎作用 研究发现干细胞的抗炎作用可以有效地减少神经元损伤,改善 SAH 远期预后。Liu 等<sup>[5]</sup>将 BMSCs 注射入 SAH 大鼠体内,发现可以通过上调

Botch,进而抑制 Notch1 信号诱导的 NF- $\kappa$ B 磷酸化,从而减轻 SAH 后早期脑损伤。Han 等<sup>[25]</sup>在 SAH 大鼠中注射 MSCs 来源 Exo,发现可以通过抑制 AMPK/NF- $\kappa$ B 通路,起到神经保护的作用。Xiong 等<sup>[15]</sup>发现 SAH 后注射 BMSCs 来源 Exo,可以通过上调 miR-NA129-5p,抑制 HMGB1/TLR4 通路,发挥抗炎和抗凋亡作用。

5.2 抗凋亡作用 减少神经元凋亡无疑是 SAH 的干细胞研究的重点目标之一。Zhao 等<sup>[13]</sup>发现人脐带间充质干细胞来源的 miR-206 基因敲除 Exo 可以通过 BDNF/TrkB/CREB 信号途径抑制细胞凋亡,从而减轻 SAH 脑损伤。Liu 等<sup>[24]</sup>发现人脐带间充质干细胞来源外泌体可以通过 miR-26 靶向 MAT2A,调节 p38 MAPK/STAT3 信号通路,促进细胞增殖,抑制凋亡,减轻 SAH 大鼠的脑损伤。Gao 等<sup>[14]</sup>发现 MSCs 来源 Exo 可以通过上调 miR-21,抑制 PTEN,进而激活 PI3K/AKT 通路,促进 SAH 后神经元的存活。

5.3 其他作用机制 Wan 等<sup>[6]</sup>发现 BMSCs 可以通过分泌 TSG-6,抑制星形胶质细胞的 NF- $\kappa$ B 和 MAPK 信号通路,保护血脑屏障,减少氧化应激和炎症反应的作用。

总之,SAH 的干细胞疗法的研究正在逐步开展,其有效性和安全性有待进一步评估,为找寻更好的治疗策略,仍需进一步探索,如干细胞来源、衍生物、动物及细胞模型、给药方案和作用机制等。随着研究的深入,尤其是基因编辑干细胞和干细胞衍生物的发展,干细胞疗法能使 SAH 病人获益。

【参考文献】

[1] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组,中华医学会神经病学分会神经血管介入协作组. 中国蛛网膜下腔出血诊治指南 2019[J]. 中华神经科杂志,2019,52(12):1006-1021.

[2] Neifert SN, Chapman EK, Martini ML, *et al.* Aneurysmal subarachnoid hemorrhage: the last decade [J]. Transl Stroke Res, 2021, 12(3): 428-446.

[3] Brunet M, Chen SH, Khandelwal P, *et al.* Intravenous stem cell therapy for high- grade aneurysmal subarachnoid hemorrhage: case report and literature review [J]. World Neurosurg, 2019, 128: 573-575.

[4] Song Z, Zhang JH. Recent advances in stem cell research in subarachnoid hemorrhage [J]. Stem Cells Dev, 2020, 29(4): 178-186.

- [5] Liu W, Li R, Yin J, *et al.* Mesenchymal stem cells alleviate the early brain injury of subarachnoid hemorrhage partly by suppression of Notch1-dependent neuroinflammation: involvement of Botch [J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 8.
- [6] Wan Y, Song M, Xie X, *et al.* BMSCs regulate astrocytes through TSG-6 to protect the blood-brain barrier after subarachnoid hemorrhage [J]. *Med Inflammation*, 2021, 2021: 1-18.
- [7] Ng NN, Thakor AS. Locoregional delivery of stem cell-based therapies [J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(547): a4564.
- [8] Luzuriaga J, Polo Y, Pastor-Alonso O, *et al.* Advances and perspectives in dental pulp stem cell based neuroregeneration therapies [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(7): 3546.
- [9] Steinbeck JA, Studer L. Moving stem cells to the clinic: potential and limitations for brain repair [J]. *Neuron*, 2015, 86(1): 187-206.
- [10] Guo Z, Zhang L, Wu Z, *et al.* In vivo direct reprogramming of reactive glial cells into functional neurons after brain injury and in an Alzheimer's disease model [J]. *Cell Stem Cell*, 2014, 14(2): 188-202.
- [11] Chen T, Chen K, Chien Y, *et al.* Dental pulp stem cell-derived factors alleviate subarachnoid hemorrhage-induced neuroinflammation and ischemic neurological deficits [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(15): 3747.
- [12] Nakano M, Fujimiya M. Potential effects of mesenchymal stem cell derived extracellular vesicles and exosomal miRNAs in neurological disorders [J]. *Neural Regen Res*, 2021, 16(12): 2359.
- [13] Zhao H, Li Y, Chen L, *et al.* HucMSCs-derived miR-206-knockdown exosomes contribute to neuroprotection in subarachnoid hemorrhage induced early brain injury by targeting BDNF [J]. *Neuroscience*, 2019, 417: 11-23.
- [14] Gao X, Xiong Y, Li Q, *et al.* Extracellular vesicle-mediated transfer of miR-21-5p from mesenchymal stromal cells to neurons alleviates early brain injury to improve cognitive function via the PTEN/Akt pathway after subarachnoid hemorrhage [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(5): 363.
- [15] Xiong L, Sun L, Zhang Y, *et al.* Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells can alleviate early brain injury after subarachnoid hemorrhage through miRNA129-5p-HMGB1 pathway [J]. *Stem Cells Dev*, 2020, 29(4): 212-221.
- [16] Marbacher S, Grüter B, Schöpf S, *et al.* Systematic review of in vivo animal models of subarachnoid hemorrhage: species, standard parameters, and outcomes [J]. *Transl Stroke Res*, 2019, 10(3): 250-258.
- [17] Sugawara T, Ayer R, Jadhav V, *et al.* A new grading system evaluating bleeding scale in filament perforation subarachnoid hemorrhage rat model [J]. *J Neurosci Methods*, 2008, 167(2): 327-334.
- [18] Jeong H, Cha BG, Kang D, *et al.* Ceria nanoparticles synthesized with aminocaproic acid for the treatment of subarachnoid hemorrhage [J]. *Stroke*, 2018, 49(12): 3030-3038.
- [19] Zhang L, Guo K, Yin S, *et al.* RNA-Seq reveals underlying transcriptomic mechanisms of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the regulation of microglia-mediated neuroinflammation after subarachnoid hemorrhage [J]. *Stem Cells Dev*, 2020, 29(9): 562-573.
- [20] Li M, Wang Y, Wang W, *et al.* Recombinant human brain-derived neurotrophic factor prevents neuronal apoptosis in a novel in vitro model of subarachnoid hemorrhage [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2017, 13: 1013-1021.
- [21] 王跃飞, 李明昌, 邹长林, 等. 血液溶解产物对原代培养的小鼠脑皮层神经元的影响[J]. *中国临床神经外科杂志*, 2016, 21(11): 689-693.
- [22] Nijboer CH, Kooijman E, van Velthoven CT, *et al.* Intranasal stem cell treatment as a novel therapy for subarachnoid hemorrhage [J]. *Stem Cells Dev*, 2018, 27(5): 313-325.
- [23] Chen H, Chen L, Xie D, *et al.* Protective effects of transforming growth factor- $\beta$ 1 knockdown in human umbilical cord mesenchymal stem cells against subarachnoid hemorrhage in a rat model [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2020, 49(1): 79-87.
- [24] Liu Z, Wang B, Guo Q. MiR-26b-5p-modified hUB-MSCs derived exosomes attenuate early brain injury during subarachnoid hemorrhage via MAT2A-mediated the p38 MAPK/STAT3 signaling pathway [J]. *Brain Res Bull*, 2021, 175: 107-115.
- [25] Han M, Cao Y, Guo X, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles promote microglial M2 polarization after subarachnoid hemorrhage in rats and involve the AMPK/NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 133: 111048.
- [26] Khalili MA, Sadeghian-Nodoushan F, Fesahat F, *et al.* Mesenchymal stem cells improved the ultrastructural morphology of cerebral tissues after subarachnoid hemorrhage in rats [J]. *Exp Neurobiol*, 2014, 23(1): 77-85.

(2021-12-28 收稿, 2022-04-03 修回)