

· 综 述 ·

# 干细胞移植治疗颅脑损伤的研究进展

杨怡然 杨 莉 吴海鹰 王 纯 江 晨 钱传云

【关键词】 颅脑损伤;干细胞移植;生物材料;联合疗法;临床试验

【文章编号】 1009-153X(2023)10-0664-04 【文献标志码】 A 【中国图书资料分类号】 R 651.1\*5

颅脑损伤(trumatic brain injury, TBI)是全球重大的公共卫生健康问题之一,也是导致中青年死亡和残疾的最主要原因<sup>[1]</sup>。TBI后,神经细胞的快速死亡和细胞外基质的降解导致创伤局部形成一个空腔,并被包裹在一层密集的胶质瘢痕组织中,导致长期的神经功能缺损。干细胞移植可以重建病变腔和促进脑组织再生,一方面能够释放神经营养因子以促进受损的神经元修复,另一方面能通过分化或转分化为成熟的神经细胞修复受损的神经组织。本文就目前干细胞移植治疗TBI的临床前研究及临床试验做一简要综述。

## 1 单纯干细胞疗法

1.1 神经干细胞(neural stem cells, NSCs) NSCs是神经组织的前体细胞,可以分化为神经元、星形胶质细胞及少突胶质细胞等。NSCs移植治疗TBI的作用机制包括产生神经营养因子、降低神经炎症、增强突触可塑性和替代受损细胞等<sup>[2]</sup>。Xiong等<sup>[3]</sup>发现TBI大鼠移植脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)敲低的NSCs不仅降低了突触素水平,而且加重了神经功能缺陷,表明BDNF介导的神经可塑性是NSCs移植治疗成年大鼠TBI的基础。NSCs在体内含量随年龄增加而减少,孤雌NSCs具有体外易扩增、无伦理限制、致瘤性低和免疫排斥反应小等优点,未来应用前景广阔。Lee等<sup>[4]</sup>研究人类孤雌生殖NSCs(human parthenogenetic NSCs, hpNSCs)移植对TBI的治疗价值,TBI后72 h移植

hpNSCs,动物前肢运动和爪抓握神经测试得分增加,水迷宫测试犯错误显著减少;组织学分析表明,表型表达增加,神经髓鞘形成,反应性胶质细胞增生和炎症减少,神经元生存皮层的周边区域增加。

1.2 诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs) 2006年,两位日本科学家使用病毒载体将转录因子Oct3/4、Sox2、c-Myc和Klf4转移到已分化的小鼠成纤维细胞,发现可诱导其发生转化,产生iPSCs。临床上,可从病人体内提取体细胞,在体外重编程以产生iPSCs,然后用于自体移植,从而避免伦理争议和免疫排斥。研究观察到植入的iPSCs存活并从注射部位迁移到受伤的大脑区域<sup>[5]</sup>。然而,这种细胞是通过病毒感染进行重编程的,具有一定的致瘤性,而且其被体细胞重编程的效率较低,治疗成本高且受技术限制,临床应用安全性还有待评估。

1.3 间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是具有自我更新能力的多能基质细胞,可以从各种组织中获取,如骨髓、脐带、脂肪组织、胎盘和口腔等。MSCs治疗TBI的机制与其调节炎症反应和分泌促进神经发生和血管生成的神经营养因子有关;此外,还可以激活生存途径和抑制凋亡途径,促进神经生长和突触发生,增强神经可塑性<sup>[6]</sup>。

1.3.1 脂肪源性MSCs(adipose derived MSCs, AD-MSCs)在体外特异性诱导因子作用下分化成脂肪细胞、软骨细胞、肌细胞和成骨细胞,并表达与神经元表型一样的蛋白质,在TBI治疗中发挥一定作用。Ruppert等<sup>[7]</sup>研究发现,小鼠TBI后3、14 d注射人AD-MSCs,两组小鼠神经认知结果均改善,早期治疗组神经功能缺损显著减少,延迟治疗组空间学习和记忆有额外的恢复或保存,但两组的小胶质细胞激活均显著减少。

1.3.2 脐带源性MSCs(umbilical cord derived MSCs, UC-MSCs)取自出生胎儿废弃的脐带,易于采集、储存和运输,具有免疫原性低、移植后排斥风险小、缺

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2023.10.018

基金项目:国家自然科学基金(82260384);昆明市科技计划项目(2020-1-H-011)

作者单位:650500 昆明,昆明医科大学第一附属医院急诊医学科(杨怡然、杨 莉、吴海鹰、王 纯、江 晨、钱传云)

通讯作者:钱传云, E-mail: qianchuanyun@126.com

乏伦理争议等优势。UC-MSCs 可以在受损组织或炎症区域积聚,促进组织修复,并调节免疫反应。QI 等<sup>[8]</sup>从健康的新生大鼠脐带中分离 UC-MSCs,并移植到 TBI 大鼠体内,发现 UC-MSCs 可抑制炎症因子释放,增加神经营养因子表达,促进大鼠 TBI 后恢复。TBI 预后与血脑屏障受损程度有关,降低血脑屏障通透性,或可改善创伤后遗症。陈江龙等<sup>[9]</sup>经 TBI 大鼠尾静脉注射 UC-MSCs,发现大鼠脑含水量和伊文思蓝明显降低,PDGFR- $\beta$  蛋白表达明显升高,使用 PDGFR- $\beta$  抑制剂后 UC-MSCs 的作用被明显抑制,表明 UC-MSCs 可以降低 TBI 大鼠血脑屏障的通透性,发挥神经保护作用,其作用机制可能是其提高了损伤区 PDGFR- $\beta$  蛋白的表达。TBI 后遗症包括认知功能和运动功能障碍,早期有效干预能显著改善预后。王晓辉等<sup>[10]</sup>研究发现 UC-MSCs 移植对 TBI 大鼠具有治疗作用,最佳的治疗途径是原位注射。

1.3.3 骨髓源性 MSCs (bone marrow derived MSCs, BM-MSCs) 可分化为多种类型的细胞,同时还低表达 MHC-II 类分子,移植后免疫排斥反应小。临床前研究表明 BM-MSCs 移植治疗 TBI 有效,但其本身的致瘤性限制了临床应用。近几年,关于 BM-MSCs 治疗的研究聚焦于其外泌体,因其无致癌风险且易穿透血脑屏障,拥有广阔的临床应用前景。研究表明, MSCs 外泌体可以充分减少炎症细胞因子分泌、减轻神经细胞凋亡并缓解脑组织水肿,促进组织的血管生成修复、髓鞘再生,通过减少 TBI 诱导的炎症反应在损伤恢复中发挥重要作用<sup>[11]</sup>。

2 联合疗法

成纤维细胞生长因子 21 (fibroblast growth factor 21, FGF21) 是一种新型代谢调节因子,具有神经保护作用,可以促进再髓鞘形成、增强血管生成、延长星形细胞的生长过程。Shahrer 等<sup>[12]</sup>在小鼠 TBI 后 24 h,将过表达 FGF21 的 MSCs 通过侧脑室注射到小鼠脑中,显著改善 TBI 诱导的空间记忆缺陷、海马神经元损伤。钙蛋白酶激活在 TBI 后神经炎症和细胞死亡中起着关键作用。Hu 等<sup>[13]</sup>在大鼠 TBI 后 30 min,于病变部位注射钙蛋白酶抑制剂 MDL28170,明显抑制炎症、改善微环境,促进移植的 BM-MSCs 的存活,减少移植细胞凋亡,减小病变腔体积。MG53 是 TRIM 家族蛋白的一员,在细胞和组织损伤修复中起着重要作用。Guan 等<sup>[14]</sup>通过体内体外实验发现,重组人 MG53 蛋白保护 UC-MSCs 免受氧化损伤,并刺激 UC-MSCs 增殖和迁移;在 TBI 小鼠中,静脉注射

MG53 蛋白保留了移植的 UC-MSCs 的存活、减轻脑水肿、减少神经功能缺陷、缓解焦虑和抑郁样行为。童亚楠等<sup>[15]</sup>将 122 例 TBI 病人分为常规治疗组、高压氧组、移植组和联合治疗组,发现高压氧舱联合干细胞移植治疗组病人功能独立性评定量表、GCS 评分、GOS 评分明显提高,而病人呼吸道感染、上消化道出血、酸碱平衡失调比例明显降低,表明高压氧舱联合干细胞移植治疗 TBI 具有良好的治疗效果和较少的不良反应。这些联合疗法可能为减轻脑损伤和优化脑损伤恢复提供一种新的策略。

3 生物材料

TBI 后,复杂的病理生理学变化、细胞丢失后的空腔形成和细胞自我再生不良,导致目前尚没有明确的治疗方法可以恢复脑损伤。组织工程是一种潜在的 TBI 治疗策略,因为它可以提供一个合适的支架来增强移植细胞恢复脑功能和结构的能力。生物材料不仅可以为细胞提供结构支持,还可以促进组织结构和功能重塑,并允许细胞封装系统用于移植。水凝胶具有药物掺入和递送的能力和原位诱导特性,可以填充不规则形状的病变腔,水凝胶装载干细胞移植治疗 TBI 潜力巨大。Li 等<sup>[16]</sup>通过体外人 NSCs 装载模型和大鼠 TBI 模型试验实现水凝胶支架的生产,不仅与病变的大小精确匹配,而且与脑组织的力学性能精确匹配。3D 打印水凝胶是一种很有前途的干细胞载体,将为 TBI 病人带来一种新的个体化治疗方法。Li 等<sup>[16]</sup>采用双酶交联注射的水凝胶作为神经支架,装载小鼠 BM-MSCs 用于治疗 TBI,体外细胞实验结果表明,低交联水凝胶能明显促进负载 BM-MSCs 的细胞活力、神经分化和神经营养因子的分泌;TBI 小鼠实验表明,含 BM-MSCs 的水凝胶植入物可显著减少损伤区域,改善炎症,减轻神经元凋亡,促进内源性神经细胞存活和增殖,促进脑损伤小鼠神经功能恢复。张宇等<sup>[17]</sup>通过动物实验比较不同治疗方式对干细胞移植效果的影响,发现与单纯干细胞移植相比,壳聚糖包载人 UC-MSCs 移植可通过促进受损部位细胞再生,更有效地改善 TBI 大鼠的运动及学习记忆能力。

4 临床试验

通过 <http://clinicaltrial.gov> (2022 年 4 月 24 日访问) 查找已完成的关于干细胞移植治疗 TBI 的临床试验,发现 3 项相关研究。Cox 等<sup>[18]</sup>于 2011~2020 年开展了一项针对儿童

骨髓单核细胞 (bone marrow mononuclear cells, BMMNCs) 采集和自体移植治疗 TBI 的 1 期试验 (NCT00254722), 纳入 10 例年龄 5~14 岁儿童, 伤后 12~30 h 进行骨髓采集 (3 ml/kg), 在受伤后 36 h 内单次输注 BMMNCs (目标剂量为  $6 \times 10^6$  个单核细胞/kg), 血液学检查没有发现相关毒性值, 常规 MRI 显示伤后 1、6 个月灰质、白质和脑脊液体积没有减少, 表明骨髓采集和静脉输注 BMMNCs 治疗儿童重型 TBI 是可行的、安全的。BMMNCs 自体移植治疗儿童重型 TBI 神经认知功能疗效评估的 2 期试验, 目前尚无结论 (NCT01851083)。Cox 等<sup>[19]</sup>还在 2012~2016 年对 BMMNCs 治疗成人重型 TBI 进行递增队列研究 (NCT 0157540), 25 例成年病人 (年龄 18~55 岁) 被分配到五个组, 在损伤后 36 h 内进行骨髓采集, 然后单次静脉输注自体 BMMNCs, 结果显示, 在伤后 36 h 的治疗时间窗内, 早期自体 BMMNCs 采集和输注是安全的。为消除高剂量 BMMNCs 肺毒性, 该团队于 2015 年进行了一项 2b 期试验, 目前还在进行中 (NCT02525432)。

Mccrea 等<sup>[20]</sup>于 2015~2021 年进行经基因修饰以表达人 Notch-1 结构域的人 BM-MSCs (SB623 细胞) 治疗慢性 TBI 的 2 期研究 (NCT02416492), 招募了 61 例年龄在 18~75 岁受试者, 随机分成四组, 其中一组未接受手术治疗, 另外三组立体定向颅内移植不同剂量 SB623 细胞, 主要目的是使用 Fugl-Meyer 运动量表 (Fugl-Meyer movement scale, FMMS) 从基线到 6 个月评估颅内施用 SB623 细胞对 TBI 慢性运动缺陷病人的临床疗效。该研究为功能障碍的 TBI 病人建立了残疾评定量表 (disability rating scale, DRS) 和 FMMS 的最小临床重要差异 (minimum clinically important difference, MCID), 与最适合用于急性 TBI 的广泛使用的 GOS-E 量表相比, 为 DRS 和 FMMS 建立的 MCID 分别为评估长期功能结果和运动损伤提供了更高的精度。此项研究也为临床量化 TBI 干细胞疗法的疗效评估提供了更有利的方法。

## 5 总结与展望

TBI 是一种高度复杂的疾病, 目前尚无改善功能的有效治疗方法。研究表明, TBI 后越早启动干细胞疗法, 改善神经功能效果越显著; 相比静脉注射和腹腔注射, 脑立体定位注射疗效最佳; 临床试验通过相关功能量表评分和不良反应发生情况初步确定干细胞移植治疗 TBI 的可行性和安全性, 然而最低有效治疗剂量在人群中存在差异性。此外, 并不是所

有 TBI 病人都适合干细胞移植, 临床应用还应明确适宜人群, 并根据病人实际情况进行个体化治疗。最后, 干细胞疗法能否广泛应用离不开其疗效评估, 未来的研究在阐明机制的同时仍需要明确相关量化指标。尽管尚未解决的问题仍然存在, 但很明显, 近年来涉及干细胞的细胞治疗新技术以及与神经系统再生可能性相关的新概念为 TBI 的治疗提供了前瞻性的新机会。

## 【参考文献】

- [1] REDDI S, THAKKER-VARIA S, ALDER J, *et al.* Status of precision medicine approaches to traumatic brain injury[J]. *Neural Regener Res*, 2022, 17(10): 2166-2171.
- [2] DE GIOIA R, BIELLA F, CITTERIO G, *et al.* Neural stem cell transplantation for neurodegenerative diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(9): 3103.
- [3] XIONG LL, HU Y, ZHANG P, *et al.* Neural stem cell transplantation promotes functional recovery from traumatic brain injury via brain derived neurotrophic factor-mediated neuroplasticity [J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(3): 2696-2711.
- [4] LEE JY, ACOSTA S, TUAZON JP, *et al.* Human parthenogenetic neural stem cell grafts promote multiple regenerative processes in a traumatic brain injury model [J]. *Theranostics*, 2019, 9(4): 1029-1046.
- [5] JIANG L, LI R, TANG H, *et al.* MRI tracking of iPS cells-induced neural stem cells in traumatic brain injury rats [J]. *Cell Transplantation*, 2019, 28(6): 747-755.
- [6] WILLING AE, DAS M, HOWELL M, *et al.* Potential of mesenchymal stem cells alone, or in combination, to treat traumatic brain injury [J]. *CNS Neurosci Therap*, 2020, 26(6): 616-627.
- [7] RUPPERT KA, PRABHAKARA KS, TOLEDANO-FURMAN NE, *et al.* Human adipose-derived mesenchymal stem cells for acute and sub-acute TBI [J]. *PLoS One*, 2020, 15(5): e0233263.
- [8] QI L, XUE X, SUN J, *et al.* The promising effects of transplanted umbilical cord mesenchymal stem cells on the treatment in traumatic brain injury [J]. *J Craniofac Surg*, 2018, 29(7): 1689-1692.
- [9] 陈江龙, 史新宇, 陈 军, 等. 人脐带间充质干细胞对大鼠颅脑损伤后血脑屏障的保护[J]. *中国组织工程研究*, 2020, 24(25): 3947-3952.
- [10] 王晓辉, 杨志华, 谢艳芳, 等. 不同途径移植人脐带间充质



干细胞对颅脑损伤大鼠的治疗效果[J]. 西北国防医学杂志, 2020, 41(8): 483-488.

[11] XU C, DIAO YF, WANG J, *et al.* Intravenously infusing the secretome of adipose-derived mesenchymal stem cells ameliorates neuroinflammation and neurological functioning after traumatic brain injury [J]. *Stem Cells Develop*, 2020, 29(4): 222-234.

[12] SHAHROR RA, LINARES GR, WANG Y, *et al.* Transplantation of mesenchymal stem cells overexpressing fibroblast growth factor 21 facilitates cognitive recovery and enhances neurogenesis in a mouse model of traumatic brain injury [J]. *J Neurotrauma*, 2020, 37(1): 14-26.

[13] HU J, CHEN L, HUANG X, *et al.* Calpain inhibitor MDL28170 improves the transplantation-mediated therapeutic effect of bone marrow-derived mesenchymal stem cells following traumatic brain injury [J]. *Stem Cell Res Therapy*, 2019, 10(1): 96.

[14] GUAN F, HUANG T, WANG X, *et al.* The TRIM protein mitsugumin 53 enhances survival and therapeutic efficacy of stem cells in murine traumatic brain injury [J]. *Stem Cell Res Therapy*, 2019, 10(1): 352.

[15] 童亚楠, 高 乐. 高压氧联合神经干细胞移植治疗颅脑损伤的疗效分析[J]. 西南国防医药, 2020, 30(8): 729-732.

[16] LI C, KUSS M, KONG Y, *et al.* 3D printed hydrogels with aligned microchannels to guide neural stem cell migration [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2021, 7(2): 690-700.

[17] LI J. Dual-enzymatically cross-linked gelatin hydrogel promotes neural differentiation and neurotrophin secretion of bone marrow-derived mesenchymal stem cells for treatment of moderate traumatic brain injury [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 187: 200-213.

[18] 张 宇, 薛 茜, 宋笑雨, 等. 壳聚糖包载人脐带间充质干细胞对颅脑损伤大鼠的治疗作用及机制[J]. 解剖学报, 2021, 52(2): 205-209.

[19] COX CS, BAUMGARTNER JE, HARTING MT, *et al.* Autologous bone marrow mononuclear cell therapy for severe traumatic brain injury in children [J]. *Neurosurgery*, 2011, 68(3): 588-600.

[20] COX CS, HETZ RA, LIAO GP, *et al.* Treatment of severe adult traumatic brain injury using bone marrow mononuclear cells [J]. *Stem Cells*, 2017, 35(4): 1065-1079.

[21] MCCREA MA, CRAMER SC, OKONKWO DO, *et al.* Determining minimally clinically important differences for outcome measures in patients with chronic motor deficits secondary to traumatic brain injury [J]. *Exp Rev Neurotherap*, 2021, 21(9): 1051-1058.

(2022-06-22 收稿, 2022-12-29 修回)

~~~~~

(上接第 663 页)

[19] KABAT M, BOBKOV I, KUMAR S, *et al.* Trends in mesenchymal stem cell clinical trials 2004- 2018: is efficacy optimal in a narrow dose range [J]? *Stem Cells Transl Med*, 2020, 9(1): 17-27.

[20] COLEGIO OR, CHU NQ, SZABO AL, *et al.* Functional polarization of tumour-associated macrophages by tumour-derived lactic acid [J]. *Nature*, 2014, 513(7519): 559-563.

[21] YAO P, ZHOU L, ZHU L, *et al.* Mesenchymal stem cells: a potential therapeutic strategy for neurodegenerative diseases [J]. *Eur Neurol*, 2020, 83(3): 235-241.

[22] HUSE JT, HOLLAND EC. Targeting brain cancer: advances in the molecular pathology of malignant glioma and medulloblastoma [J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(5): 319-331.

[23] ZHANG Q, XIANG W, YI DY, *et al.* Current status and potential challenges of mesenchymal stem cell-based therapy for malignant gliomas [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 228.

[24] RAZAVI SM, LEE KE, JIN BE, *et al.* Immune evasion strategies of glioblastoma [J]. *Front Surg*, 2016, 3: 11.

[25] SHERMAN LS, ROMAGANO MP, WILLIAMS SF, *et al.* Mesenchymal stem cell therapies in brain disease [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2019, 95: 111-119.

[26] BOVENBERG MS, DEGELING MH, TANNOUS BA. Advances in stem cell therapy against gliomas [J]. *Trends Mol Med*, 2013, 19(5): 281-291.

[27] MARTINEZ-QUINTANILLA J, HE D, WAKIMOTO H, *et al.* Encapsulated stem cells loaded with hyaluronidase-expressing oncolytic virus for brain tumor therapy [J]. *Mol Ther*, 2015, 23(1): 108-118.

[28] WANG Q, ZHANG Z, DING T, *et al.* Mesenchymal stem cells overexpressing PEDF decrease the angiogenesis of gliomas [J]. *Biosci Rep*, 2013, 33(2): e00019.

[29] KATAKOWSKI M, BULLER B, ZHENG X. Exosomes from marrow stromal cells expressing miR- 146b inhibit glioma growth [J]. *Cancer Lett*, 2013, 335(1): 201-204.

(2022-05-10 收稿, 2023-04-09 修回)