

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.06.050

脑胶质瘤神经干细胞治疗研究进展

林祖岩 董白晶 赵天书 康现鑫 李庆腊 刘晓谦[△]

(哈尔滨医科大学第四附属医院神经外科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要: 脑胶质瘤是神经外科最常见的恶性肿瘤,发病率约占全身肿瘤的5%,占儿童肿瘤的70%,且呈逐年上升的趋势。脑胶质瘤恶性程度高,生长迅速,5年生存率很低,其中高级别胶质瘤具有极强的侵袭能力,目前尚缺乏很有效的根治方法。手术切除肿瘤的难度很大,术后极易复发,预后比较差,对人类健康乃至生命的危害极大。随着分子生物学的发展以及相关生物技术的应用,从基因水平揭示脑胶质瘤的发生发展机制,并寻求有效的基因治疗方法成为人类研究肿瘤治疗新的研究方向。Reynolds 和 Richards 等先后从成年小鼠的纹状体中分离出能够不断增殖且具有多向分化潜能的细胞群,并提出了神经干细胞(neural stem cell, NSC)的概念。NSC 具有高度增殖和自我更新的能力,且有迁移功能以及与正常脑组织良好融合的特性,这为基因治疗胶质瘤提供了良好的基础。

关键词: 神经干细胞;胶质瘤;治疗

中图分类号: R739.4, R730.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)06-1191-03

Recent Advance of Neural Stem Cells for Treating Glioma

LIN Zu-yan, DONG Bai-jing, ZHAO Tian-shu, KANG Xian-xin, LI Qing-la, LIU Xiao-qian[△]

(Department of Neurosurgery, The Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150001, China)

ABSTRACT: Glioma is the most common malignant tumor of neurosurgery, which morbidity accounting for 5% of systemic cancer, accounting for 70% of the tumors of children, and showed an increasing trend. High degree of malignant glioma grows rapidly, which has a very strong invasion of glioma. The 5-year survival rate is very low, because it is lack of effective cure. It is very difficult to deal the tumor with surgical resection and very vulnerable to relapse after a relatively poor prognosis, which have done great harm to human health and even life. With the development of molecular biology and biotechnology applications, it has become a new research direction of human cancer treatment to reveal the occurrence of glioma development mechanism and seek effective methods for gene therapy at the gene level. Reynolds and Richards have isolated cell populations from adult mouse striatum which can keep proliferating possessed with multiple differentiation potential and put forward concept of neural stem cells (neural stem cell, NSC). NSC have highly proliferation and self-renewal capacity and migration functions as well as the characteristics of a good fusion with normal brain tissue, which provides a good foundation for gene therapy for glioma.

Key words: Neural stem cells; Glioma; Therapy

Chinese Library Classification (CLC): R739.4 R730.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)06-1191-03

前言

胶质瘤的有效治疗一直是医学界探讨的热点之一,神经干细胞(neural stem cell, NSC)治疗胶质瘤越来越受到科学家的重视,NSC 的相关特性和功能为其治疗胶质瘤提供了很好的保障,其科学研究和临床应用具有无法替代的优势,虽然 NSC 的某些机制尚不清楚,但其应用前景十分广阔,已成为神经系统病变研究的焦点,本文就 NSC 治疗胶质瘤的最新研究进展及应用前景综述如下。

1 NSC 的基本生物学特性

1.1 增殖

NSC 广泛分布于哺乳动物脑室周围、海马、纹状体和脊髓等处。是一种具有自我维持,自我更新和不断增殖分裂能力的多能干细胞,其分裂方式有两种:对称分裂和不对称分裂。对称分裂产生的两个子细胞都是干细胞;不对称分裂产生一个干细胞和一个分化的子代细胞,这个分化的子代细胞则最终分化为终末细胞。Vescovi 等^[1]报道,NSC 可在体外持续传代达3年以上,而且分裂后产生的子代干细胞具有与母代干细胞完全相同的生物学特性。干细胞的增殖和分化在正常状态下是趋于平衡的,当调控途径紊乱而使干细胞过度生长时,则会导致肿瘤的形成^[2]。脑肿瘤的形成不仅仅是由肿瘤干细胞(cancer stem cells CSCs)引起的^[3],也与 NSC 有关,但目前关于肿瘤细胞的起源尚不清楚。

作者简介:林祖岩(1985-),男,硕士研究生,电话:13845154080, E-mail:linzuyan126@126.com,研究方向:脑胶质瘤和脑血管病的分子生物学研究

[△] 通讯作者:刘晓谦(1960-),男,教授,主任医师,硕士研究生导师, E-mail:liuxiaoqian@vip.163.com

(收稿日期:2013-06-18 接受日期:2013-07-10)

1.2 迁移功能和较好的组织融合性

有研究^[4]表明:脑内的 NSC 具有向胶质瘤迁移的特性。移植后,NSC 仍有迁移能力,且受相关神经元性信号的影响,具有向病变部位迁移的趋化性,并分化成特异性细胞^[5]。在远离肿瘤的部位注入 NSC 后,NSC 能通过正常脑组织直接向肿瘤细胞迁移。即使在小鼠尾部血管注射 NSC 仍可向脑肿瘤方向移动。目前仅有原发性前体细胞、永生化前体细胞与永生化 NSC 被证明具有该种功能。

1.3 多潜能分化

NSC 受局部微环境影响,可以分化成神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞,且受多种因素调节。例如低氧可以改变神经干细胞的分化能力^[6]。当 NSC 移植到中枢系统的神经发生区域,NSC 会分化成某些特别的神经元,但当移植到成年中枢神经系统非神经发生区域,NSC 仍保持未分化或大部分分化成神经胶质细胞。

1.4 低免疫原性和高度未分化状态

NSC 是未分化的原始细胞,缺乏成熟细胞相应的特异性抗原标志,不表达成熟细胞的抗原,因此具有低免疫原性,在移植后发生免疫排斥反应的概率相对较小,利于其存活^[7]。Mode 报道,将 MHP36 细胞移植 MCAo(大脑中动脉梗死)小鼠模型后,未见明显急性免疫排斥反应,表明神经干细胞可能缺乏免疫原性,有利于神经干细胞的成功移植^[8]。

2 神经干细胞的来源

2.1 来源于神经组织^[9]

以逆转录病毒为载体向神经细胞内导入原癌基因,使部分细胞获得持续分裂的能力。但这种方法效率较低且获得的细胞也不稳定。胎脑来源的神经干细胞较多保留了干细胞的生物学活性,培养 10-15 天,可原代获得适宜移植的神经干细胞球,其分化可受周围环境的调控,不易产生致瘤性,是相对安全的神经干细胞来源,同时中枢神经系统是相对免疫豁免区,其无抗原呈递细胞,免疫排斥弱,现较多应用于临床。

2.2 来源于血液系统

可来源于骨髓间质干细胞^[10]、脐血细胞^[11]及成年多能祖细胞^[12]。原始的骨髓间质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)可来源于脐带血,可分化成多种类型的细胞,包括神经元,但这种神经元的功能性尚不清楚。MSC 来源广泛,易于分离培养,具有较强的分化潜能,并可自体移植。

2.3 通过体核细胞转移而获得^[13]

将人类体细胞转染表达四种重组因子 Oct3/4、Sox2、Klf4 和 c-Myc 的逆转录病毒,可以获得人类诱导的多能干细胞,再经过进一步的培养,最终诱导形成神经干细胞^[14]。

2.4 来源于脂肪组织

美国 Duke 大学的 Kristine Safford 博士指出,脂肪组织中的一部分细胞基质可以分化为具有中枢神经细胞和胶质神经细胞特性的神经细胞^[15]。由于脂肪组织易于获取,所以这一研究发现将会引导人们更多的关注脂肪组织的特性,探索其发生的机制,从而使脂肪组织可能成为干细胞治疗的重要组织来源。

3 NSC 治疗胶质瘤的研究

3.1 NSC 治疗胶质瘤的途径

一种途径是将 NSC 作为运送相关治疗基因的理想载体,利用其具有向胶质瘤迁移的特性,对胶质瘤进行基因治疗。以神经干细胞作为载体,可采用多种目的基因对胶质瘤进行基因治疗,如肿瘤坏死因子、细胞周期调节因子、肿瘤信号传导因子、促凋亡基因及血管生成移植因子免疫增强基因等。另外一种途径是将 NSC 植入到荷瘤鼠脑内,NSC 受局部微环境的影响,会向胶质瘤部位迁移,围绕肿瘤生长,且可能由于其分泌某些因子的作用,使肿瘤缩小。Aboody 等^[16]在实验中将胞嘧啶脱氨酶(cytosine deaminase, CD)基因转染 NSC 后,将 NSC 注入荷瘤鼠体内,发现 NSC 会包绕肿瘤生长,且能追踪到正常组织中的肿瘤细胞。Heese 等^[17]通过研究认为可能是瘤细胞分泌产生的某些因子促使 NSC 迁移到瘤体内。目前对神经干细胞具有向肿瘤迁移的特性的机制还不十分清楚,其相关机制的研究已在肌萎缩性脊髓侧索硬化症和痛风病人中开展^[18],可能与肿瘤细胞分泌释放的某些因子及被肿瘤细胞破坏的正常脑组织分泌释放的一些因子有关,还需要通过进一步的研究来确定。

3.2 NSC 治疗胶质瘤的优势

神经干细胞对神经系统的发育及损伤后修复都有非常重要的作用。从理论上来说,神经干细胞功能紊乱会导致神经系统的疾病,在恶性胶质瘤形成中受干扰的关键路径就是神经干细胞路径^[19]。因干细胞具有低免疫原性,所以用其治疗神经系统疾病一般不会产生特异性的免疫排斥反应,且脑和脊髓的血脑屏障的作用,也大大降低了 NSC 移植到中枢神经系统后产生免疫排斥反应的机率。

神经干细胞治疗胶质瘤的优势主要有两大方面:

一是应用神经干细胞移植技术,可以修复受损的神经及脑组织,恢复相关的功能。二是用神经干细胞作为基因治疗的载体,治疗颅内肿瘤和其他神经系统疾病,具有不可替代的优势,可以避免病毒载体治疗颅脑疾病的缺陷。神经干细胞与正常脑组织良好的融合性,便于修复受损的脑组织,其携带的杀伤基因可以稳定表达,能够持续杀伤肿瘤细胞,这可能与神经干细胞向胶质瘤迁移的特性有关。为了研究干细胞和胶质瘤的关系,对胶质瘤患者进行活组织检查,通过干细胞培养获得的新的细胞模型也已经出现^[20]。

4 NSC 治疗胶质瘤的应用前景

4.1 基因治疗

根据癌症基因组图谱计划,恶性胶质瘤是由于基因组重组融合后表达而发生的^[21]。基因治疗就是将特定的基因通过载体导入体内,使这种特定的基因表达,达到治疗因某种基因结构发生变化而引起的疾病。目前用于治疗神经系统疾病的细胞载体有:成纤维细胞、永生化神经祖细胞及来源于神经组织的 NSC 等。

4.2 NSC 的原位诱导

大量实验研究证实 NSC 存在于成年动物的脑中。脑损伤后脑室管膜下区等部位的 NSC 可以发生迁移,并增殖分化成

新的神经细胞,修复受损的脑组织,这一结论已经通过 NSC 增殖和分化的作用的实验^[22]证实。进一步研究证实,内源性的干细胞的增殖分化不能完全修复受损的脑组织神经元,特别是在脊髓、纹状体等神经组织发生比较少的部位^[23],可能与患者中枢神经系统干细胞的缺陷或不能激活有关,也可能是原位诱导出的神经元需要某些特定因子或微环境的影响的原因。

4.3 异体神经干细胞移植

临床试验表明,用移植胎儿脑组织来治疗神经系统退行性病变的疾病具有良好的效果。将体外培养的 NSC 移植到脑组织病变的动物模型脑组织中,NSC 受脑内微环境的影响,会迁移分化为特定部位的神经细胞^[24]。Vescovi 等^[25]在研究细胞移植治疗帕金森病时发现,在体外实验中,去除 NSC 增殖分化所必需的微环境,NSC 增殖分化为多巴胺能神经元的比例仅占细胞总数的 0.5%~5%。所以,创造 NSC 增殖分化的微环境,促使 NSC 向特定神经细胞分化是 NSC 治疗脑胶质瘤的关键。

4.4 NSC 的其他应用

Aboody 等研究发现干细胞具有筛选整个脑内神经系统疾病的功能,输注干细胞可以治疗实体性肿瘤。利用 NSC 的多向分化潜能特性,可以筛选出具有调控其向特定的神经细胞分化的药物,又因其具有迁移功能,还能利用 NSC 追踪到脑内肿瘤周围残存的肿瘤细胞。

5 小结及展望

运用 NSC 治疗胶质瘤具有很大的优势。NSC 可以携带目的基因杀伤胶质瘤细胞,还可以通过其他方式治疗胶质瘤。NSC 的迁移特性及可以追踪胶质瘤细胞的功能,使其成为治疗胶质瘤的又一焦点。另外,关于多形性胶质母细胞瘤甲基化的起源、微小 RNA 的表达以及蛋白质组学的分析等也为胶质瘤的治疗提供了可靠的理论依据^[26]。

目前对神经干细胞的增殖、分化、迁移特性以及对胶质瘤细胞的追踪能力等调控机制仍不清楚,对于移植后分化的方向及迁移的速度不能很好的调控,关于这方面的研究成果还需要进一步的论证,这使得移植治疗胶质瘤难以获得理想的效果。此外,NSC 没有特异表达的标志物,难以分离出特定的细胞类型^[27],NSC 的来源、分离、培养等方面还需要进一步的研究。

神经干细胞为胶质瘤的治疗提供了一种新的途径,相信随着人们对 NSC 和胶质瘤的进一步了解,以及对 NSC 的基础和临床的应用的研究进展,最终一定会应用神经干细胞达到控制并最终治愈胶质瘤的目的。

参考文献(References)

- [1] Vescovi AL, Synder EY. Establishment and properties of neural stem cell clones:plasticity in vitro and in vivo [J]. Brain Pathology, 1999, 9 (3): 569-598
- [2] Bergström T, Forsberg-Nilsson K. Neural stem cells: Brain building blocks and beyond [J]. Upsala Journal of Medical Sciences, 2012, 117 (2): 132-142
- [3] Quintana E, Shackleton M, Sabel MS, et al. Efficient tumour formation by single human melanoma cells [J]. Nature, 2008, 456(7222): 593-598
- [4] Zhang Z, Jiang Q, Jiang F, et al. In vivo magnetic resonance imaging tracks adult neural progenitor cell targeting of brain tumor [J]. Neuroimage, 2004, 23(1): 281-287
- [5] Amar AP, Zlokovic BV, Apuzzo MLJ. Endovascular restorative neurosurgery:a novel concept for molecular and cellular therapy of the nervous system[J]. Neurosurgery, 2003, 52(2): 402-413
- [6] Zhang K, Zhu L, Fan M. Oxygen, a key factor regulating cell behavior during neurogenesis and cerebral diseases [J]. Front Mol Neurosci, 2011, 4: 5
- [7] Modo M, Rezaie P, Heuschling P, et al. Transplantation of neural stem cells in a rat model of stroke:assessment of short-term graft survival and acute host immunological response [J]. BrainResearch, 2002, 958(8): 70-82
- [8] Englund U, Bjorklund A, Wictorin K, et al. Grafted neural stem cells develop into functional pyramidal neurons and integrate into host cortical circuitry [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99 (26): 17089-17094
- [9] Fred H Gage. Mammalian neural stem cells [J]. Science, 2000, 287 (5457): 1433-1438
- [10] Sanchez Ramos J, Song S, Cardozo Pelaez F, et al. Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro [J]. Exp Neurol, 2000, 164(2): 247-256
- [11] Chen JL, Sanberg PR, Li Y, et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduce behavioral deficits after stroke in rats[J]. Stroke, 2001, 32(11): 2682-2688
- [12] Jiang Yh, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow[J]. Nature, 2002, 418 (6893): 41-49
- [13] Wilmut I, Beaujean N, De Sousa PA, et al. Somatic cell nuclear transfer[J]. Nature, 2002, 419: 583-586
- [14] Kim JE, O'Sullivan ML, Sanchez CA, et al. Investigating synapse formation and function using human pluripotent stem cell-derived neurons[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(7): 3005-3010
- [15] Safford KM, Rice HE. Stem cell therapy for neurologic disorders: therapeutic potential of adipose-derived stem cells [J]. Curr Drug Targets, 2005, 6(1): 57-62
- [16] Aboody KS, Brown A, Rainov NG, et al. Neural stem cells display extensive tropism for pathology in adult brain:evidence from intracranial gliomas [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97 (23): 12846-12851
- [17] Heese O, Disko A, Zirkel D, et al. Neural stem cell migration toward gliomas in vitro[J]. Neuro-oncol, 2005, 7(4): 476-484
- [18] Trounson A, Thakar RG, Lomax G, Gibbons D. Clinical trials for stem cell therapies [J]. BMC Med, 2011, 9: 52
- [19] Brennan C, Momota H, Hambardzumyan D, et al. Glioblastoma subclasses can be defined by activity among signal transduction pathways and associated genomic alterations [J]. PLoS ONE, 2009, 4 (11): e7752
- [20] Pollard SM, Yoshikawa K, Clarke ID, et al. Glioma stem cell lines expanded in adherent culture have tumor-specific phenotypes and are suitable for chemical and genetic screens [J]. Cell Stem Cell, 2009, 4(6): 568-580

- general anaesthesia [J]. Chinese Journal of Surgery, 2010, 48(21): 1628-1632
- [8] Feldman JM, Sussman E, Singh D, et al. Is the pleth variability index a surrogate for pulse pressure variation in a pediatric population undergoing spine fusion? [J]. Paediatr Anaesth, 2012, 22(3): 250-255
- [9] Cannesson M, Desebbe O, Rosamel P, et al. Pleth variability index to monitor the respiratory variations in the pulse oximeter plethysmographic waveform amplitude and predict fluid responsiveness in the operating theatre [J]. Br J Anaesth, 2008, 101(2): 200-206
- [10] Feissel M, Kalakhy R, Badie J, et al. PVI: A New Fluid Responsiveness Parameter [J]. Critical Care, 2009, 13(Suppl 1): P205
- [11] Renner J, Broch O, Gruenewald M, et al. Non-invasive prediction of fluid responsiveness in infants using pleth variability index [J]. Anaesthesia, 2011, 66(7): 582-589
- [12] Loupec T, Nanadoumgar H, Frasca D, et al. Pleth variability index predicts fluid responsiveness in critically ill patients [J]. Crit Care Med, 2011, 39(2): 294-299
- [13] Tsuchiya M, Yamada T, Asada A. Pleth variability index predicts hypotension during anesthesia induction [J]. Acta Anaesthesiol Scand, 2010, 54(5): 596-602
- [14] Desebbe O, Boucau C, Farhat F, et al. The ability of pleth variability index to predict the hemodynamic effects of positive end-expiratory pressure in mechanically ventilated patients under general anesthesia [J]. Anesth Analg, 2010, 110(3): 792-798
- [15] Forget P, Lois F, de Kock M. Goal-directed fluid management based on the pulse oximeter-derived pleth variability index reduces lactate levels and improves fluid management [J]. Anesth Analg, 2010, 111(4): 910-914
- [16] Chandler JR, Cooke E, Petersen C, et al. Ansermino JM. Pulse oximeter plethysmograph variation and its relationship to the arterial waveform in mechanically ventilated children [J]. J Clin Monit Comput, 2012, 26(3): 145-151
- [17] Sebastiani A, Philippi L, Boehme S, et al. Perfusion index and plethysmographic variability index in patients with interscalene nerve catheters [J]. Can J Anaesth, 2012, 59(12): 1095-1101
- [18] Broch O, Bein B, Gruenewald M, et al. Accuracy of the pleth variability index to predict fluid responsiveness depends on the perfusion index [J]. Acta Anaesthesiol Scand, 2011, 55(6): 686-693
- [19] Lima A, van Genderen ME, Klijn E, et al. Peripheral vasoconstriction influences thenar oxygen saturation as measured by near-infrared spectroscopy [J]. Intensive Care Med, 2012, 38(4): 606-611
- [20] Lima AP, Beelen P, Bakker J. Use of a peripheral perfusion index derived from the pulse oximetry signal as a noninvasive indicator of perfusion [J]. Crit Care Med, 2002, 30(6): 1210-1213

(上接第 1193 页)

- [21] Verhaak RG, Hoadley KA, Purdom E, et al. Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1 [J]. Cancer Cell, 2010, 17(1): 98-110
- [22] Martinez-Serrano A, Bjorklund A. Ex vivo nerve growth factor gene transfer to the basal forebrain in presymptomatic middle-aged rats prevents the development of cholinergic neuron atrophy and cognitive impairment during aging [J]. Neurobiology, 1998, 95(4): 1858-1863
- [23] Cao Q, Benton RL, Whittemore SR. Stem cell repair of central nervous system injury [J]. Neuroscience, 2002, 68(5): 501-510
- [24] Yang H, Mujtaba T, Venkatraman G, et al. Region-specific differentiation of neural tube-derived neuronal restricted progenitor cells after heterotopic transplantation [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(24): 13366-13371
- [25] Vescovi AL, Synder EY. Establishment and properties of neural stem cell clones: plasticity in vitro and in vivo [J]. Brain Pathology, 1999, 9(3): 569-598
- [26] Riddick G, Fine H. Integration and analysis of genome-scale data from gliomas [J]. Nat Rev Neurol, 2011, 7(8): 439-450
- [27] Ihrie RA, Alvarez-Buylla A. Lake-front property: a unique germinal niche by the lateral ventricles of the adult brain [J]. Neuron, 2011, 70(4): 674-686