

内源性神经干细胞在缺血性脑卒中后损伤修复的动员策略及机制研究进展

张四美,金亚菊,杨晰宸,张彭跃,寸勇丹

摘要 脑卒中具有高发病率、高死亡率、高致残的特点,是导致我国成年人死亡和残疾的首要原因。卒中的病理机制尚未完全明确,目前仍缺乏有效的临床治疗措施。内源性神经干细胞(eNSCs)的增殖与分化为缺血性脑卒中的治疗提供了新的思路。近来研究表明,激活eNSCs并增强其治疗效果可能是治疗脑卒中有有效策略。本文对eNSCs在缺血性脑卒中损伤修复动员,以及促进eNSCs增殖与分化的策略的相关研究进行综述,为缺血性脑卒中的治疗提供新的思路。

关键词 缺血性脑卒中;内源性神经干细胞;动员策略;机制

中图分类号 R741;R741.02;R741.05;R743 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20210494

作者单位

云南中医药大学
第二临床医学院
昆明 650500

基金项目

国家自然科学基金
(No. 81960731,
81660384);

云南省科技厅-中
医联合专项-面上
项目(No. 202001

AZ070001-030);
云南省科技厅-云
南中医药大学联
合专项(No. 2019
FF002(-008))

收稿日期

2021-05-25

通讯作者

金亚菊

48297442@qq.

com

脑卒中具有高发病率、高死亡率、高致残的特点,是导致我国成年人死亡和残疾的首要原因^[1,2]。脑卒中分为缺血性和出血性2种类型,其中缺血性约占69.6%^[3]。随着我国人口老龄化程度的加深^[4],卒中患者人数将继续增加。卒中的病理机制尚未完全明确,且目前仍缺乏有效的临床治疗措施。

内源性神经干细胞(endogenous neural stem cells, eNSCs)是一群能自我更新并在适当条件下分化为神经系统主要神经细胞类型的干细胞,主要分布在侧脑室室管膜下区(subventricular zone, SVZ)和海马齿状回(dentate gyrus, DG)颗粒下层(subgranular zone, SGZ)^[5]。正常情况下, eNSCs处于安静状态,当机体受到特定刺激或损伤时, eNSCs可被激活,增殖并向受损部位迁移和分化为功能性神经细胞,从而修复损伤组织。但缺血刺激引发的神经干细胞(neural stem cells, NSCs)再生能力有限,不能完全修复受损组织^[6]。外源性NSCs的移植有一定效果,但由于移植后的NSCs存活率低、免疫排斥反应、伦理与肿瘤形成风险等^[7]问题而受到限制。因此,研究激活和动员eNSCs的策略和机制给脑卒中的治疗带来了希望。本文综述了近年来激活和动员eNSCs的策略及相关机制,为脑卒中的临床治疗提供新的方案和思路。

1 激活和动员eNSCs的药物

1.1 小分子药物

西药起效快、疗效明确、方便携带。Rueger等^[8]利用脑卒中模型和体外细胞培养测试二甲胺四环素对缺血性卒中后eNSCs的影响,发现其可能通过降低小胶质细胞活化、抑制炎症发生促进eNSCs存活。氧糖剥夺是缺血性脑卒中的体外模型之一,研究发现阿托伐他汀能促进氧糖剥夺模型中NSCs存活、增殖、迁移与分化,其机制可能与其激活磷脂酰肌醇3-激酶(phosphoinositide-3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)和细胞外信号调节激

酶(extracellular signal regulated kinase, ERK)信号通路有关^[9]。星形胶质细胞内皮素-1的过度表达可通过Janus激酶2(JAK2)/信号转导子和转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)通路促进缺血性卒中大鼠神经祖细胞(neural progenitor cells, NPCs)增殖并分化为更多的星形胶质细胞^[10]。此外,氨溴索可通过增加葡萄糖脑苷脂酶(glucocerebrosidase, GCase)的表达,激活Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)信号通路,促进NSCs分化为神经元,抑制其向星形胶质细胞的分化^[11]。

1.2 神经营养因子

除了小分子药物外,神经营养因子也能在一定程度上动员缺血性脑卒中后eNSCs的增殖。Klein等^[12]研究显示神经细胞粘附分子衍生肽FG环能激活脑缺血大鼠eNSCs,且通过促进髓鞘再生和影响小胶质细胞来调节炎症,促进神经发生。表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)能刺激缺血性卒中大鼠SVZ中神经前体细胞增殖,且损伤侧神经前体细胞数目较多^[13]。此外,研究发现脑活素能显著增加缺血性脑卒中大鼠损伤侧SVZ区5-溴脱氧尿嘧啶核苷(5-bromo-2-deoxy uridine, BrdU)和双皮质素(double cortex, DCX)阳性细胞数量,其机制可能与PI3K/Akt通路介导有关^[14]。

1.3 中药复方

中医认为,脑卒中是由生命气的缺乏、外在恶的侵袭、气血的阻塞引起的。因此,益气活血、通筋活络之方是卒中治疗的良方。刘振伟等^[15]研究发现补肾化痰生新方对大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型大鼠海马区eNSCs增殖有积极影响,因为其可改善缺氧缺血微环境,激活eNSCs并促进其增殖。芪仙通络汤能促进脑缺血后eNSCs增殖与再生,可能与其早期能激活星形胶质细胞,增强脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)表达有关^[16]。三华汤可通过下调磷酸化微管相关蛋白(p-tau)表达

促进缺血性卒中后 SVZ 区 BrdU/DCX 和 BrdU/胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP) 阳性细胞数增加^[17]。

1.4 中药单体

中药提取物单体具有成分明确、剂量可控、利于研究等优点。藏红花素通过对 Notch1 信号通路的调控,促进缺血性脑卒中后 eNSCs 的增殖与迁移,并能抑制炎症因子,减少缺血再灌注后的细胞凋亡^[18]。青蒿琥酯可通过促进叉头框蛋白 O 亚型 3a (forkhead box O3a, Foxo3a) 的磷酸化抑制其转录功能,下调 p27 激酶蛋白抑制剂 1 (p27 kip1) 的表达,并通过 PI3K/Akt 信号通路抑制干细胞的细胞周期阻滞,促进 NPCs 增殖^[19]。黄芪甲苷 VI 通过激活 EGF 受体和其介导的丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)/ERK 信号通路促进 eNSCs 增殖和自我更新^[20]。

2 针灸治疗

2.1 针刺

针刺具有相对安全和操作便捷的特点,于临床广泛使用。研究发现针刺能显著增加缺血性脑卒中大鼠海马区巢蛋白 (Nestin) 和 BrdU 阳性细胞数,促进 eNSCs 增殖^[21]。罗丁等^[22]研究表明,针刺督脉的人中穴能促进 MCAO 大鼠 eNSCs 增殖,从而促进神经功能恢复。电针不仅有针刺的功效,还可根据患者的需要对刺激的波形、频率、强度和时间等进行调节,较为客观且易于观察及进行实验研究。研究证实电针可通过调控 Notch 信号通路增加脑缺血再灌注大鼠 BrdU/DCX 细胞数,促进 eNSCs 增殖^[23]。此外,电针还可通过促进脑缺血半暗带外泌体的数量及上调外泌体中 miR-146b 的表达,促进 MCAO 大鼠 eNSCs 增殖和分化为成熟神经元,改善神经功能^[24]。

2.2 艾灸

艾灸具有行气活血、温经止痛的功效。研究认为艾灸不仅可以减少脑梗死体积、减轻组织损伤,还能促进 eNSCs 增殖。胡丙成等^[25]艾灸 MCAO 大鼠百会穴及双侧太阳穴,在不同时间点检测 SVZ 和 DG 中 BrdU 与 Nestin 表达情况,结果显示艾灸后不同时间点 SVZ 和 DG 中 BrdU 与 Nestin 增殖规律与脑缺血后增殖规律基本一致且增殖强度都比模型组高,提示艾灸能在一定程度上促进脑缺血大鼠 eNSCs 的增殖。于海波等^[26]发现艾灸局灶性脑缺血大鼠任脉上的气海、关元穴位后,再灌注 14 d、28 d 时艾灸任脉组 Nestin 阳性细胞数高于 MCAO 模型组,提示艾灸任脉有可能促进脑缺血大鼠梗死灶同侧 SVZ 区 eNSCs 的增殖。

3 康复治疗

3.1 物理因子治疗

经颅磁刺激 (transcranial magnetic stimulation, TMS) 是利用脉冲磁场作用于中枢神经系统,使之产生感应电流改变皮质神经细胞动作电位的一种治疗方法。Luo 等^[27]研究发现高频重复 TMS 可激活 BDNF/酪氨酸激酶 B (Tyrosine kinase B, TrkB) 信号通路,增加脑损伤同侧 SVZ 中 eNSCs 增殖及梗死周围纹状体的

神经发生。石海杉等^[28]通过研究 3 种不同频率 TMS 对脑缺血大鼠 eNSCs 激活和增殖的影响,发现 10 Hz 磁刺激能显著促进脑缺血大鼠海马区 Nestin 阳性细胞数目增加,而 1 mHz 与 11 mHz 磁刺激对 eNSCs 激活与增殖效果不明显。麦用军等^[29]研究表明脑缺血后越早进行高压氧治疗,越能促进 SVZ、DG 区 eNSCs 增殖,其机制可能是高压氧治疗可降低神经炎症因子,增强促 NSCs 增殖因子和神经递质表达,从而创造出利于 eNSCs 生长的微环境。

3.2 运动疗法

运动治疗是卒中患者康复过程的重要部分,它通过增加神经发生、血管生成、神经营养因子表达及突触形成来促进患者恢复^[30]。张丽等^[31]的研究证明运动疗法能增加脑卒中患者体内 BDNF 的表达,减少神经元损伤,改善神经功能缺损。Sun 等^[30]研究发现跑台运动上调 CD200/CD200 受体表达以抑制小胶质细胞活化、减少炎症因子的释放,从而促进 MCAO 大鼠同侧 SVZ 中增殖细胞核抗原 ki67、DCX 和 BrdU 双阳性细胞、Nestin 显著增加。Liu 等^[32]研究表明运动训练能增加脑缺血大鼠 BrdU⁺/神经元核抗原 (neuronal nuclei antigen, NeuN) 阳性细胞和 BrdU⁺/GFAP⁺ 细胞数量,促进细胞周期蛋白依赖性激酶 4 (cyclin-dependent kinases 4, CDK4)、细胞周期蛋白 D1 (cyclinD1) 和磷酸化视网膜母细胞瘤 (phosphorylated retinoblastoma, p-Rb) 的表达,抑制 p-16 的表达,通过 ERK 信号通路促进 eNSCs 增殖和分化。

3.3 丰富环境

丰富环境 (enriched environment, EE) 刺激能促进 NSCs 增殖、存活、分化,促进神经修复,改善缺血性脑损伤所致的功能障碍。Chen 等^[33]发现 EE 中的运动成分和社会成分均能促进脑卒中后星形胶质细胞增殖,上调 BDNF 表达,并且物理运动在 EE 治疗脑卒中中发挥了更大的作用。也有研究表明 EE 能改善局灶性脑缺血大鼠神经功能恢复,可能是 EE 可减轻脑缺血后星形胶质细胞肿胀,抑制 p-ERK1/2 表达,减轻梗死皮质周围的炎症发生,改善 eNSCs 增殖微环境^[34]。

4 其他

研究表明反复短暂性肢体缺血预处理可增加脑缺血再灌注大鼠海马中 BrdU 阳性细胞数,且 BrdU 达高峰时间较 MCAO 组延长^[35],表明其可促进脑缺血再灌注大鼠 eNSCs 增殖。蓝莓、红梅、石榴等中就含有鞣花酸,它不但能抗氧化、抗癌,还可以促进缺血性脑卒中后缺血半暗带区 Nestin 数量增加,其可能是通过上调 Wnt 信号通路中 β -catenin 和 CyclinD1 的表达来促进 eNSCs 增殖^[36]。鹧鸪茶又称毛茶,可能因其富含鞣花酸、维生素、没食子酸等成分亦能通过 Wnt 信号通路促进脑卒中大鼠 eNSCs 增殖^[37]。

5 总结与展望

综上所述,药物、针灸、康复及其他方法均能在一定程度上对脑缺血后 eNSCs 的动员有促进作用,见图 1、表 1。但目前研

表1 缺血性脑卒中后不同动员策略对eNSCs增殖、分化的相关调控机制

靶点	动员策略	调控结果	最终效应
PI3K/AKT通路	阿托伐他汀 ^[9]	PI3K ↑ ,PAkt ↑ , GSK-3β ↑	NSCs增殖 ↑
	青蒿琥酯 ^[19]	p-Akt ↑ ,FOXO-3a ↑ , p27kip1 ↓	NSCs/NPCs增殖 ↑
Notch通路	藏红花素 ^[18]	Notch1 ↑	NSCs增殖和迁移 ↑
	电针对侧曲池、足三里穴 ^[23]	Notch1 ↑ ,NICD ↑ ,Hes1 ↑ ,p27 ↓ ,P21 ↓ , CDK4 ↑ ,CyclinD1 ↑ ,P-Rb ↑	NSCs增殖 ↑
	氨溴索 ^[11]	GCase ↑ ,β-catenin ↑	NSCs分化 ↑
	鞣花酸 ^[36]	β-catenin ↑ ,CyclinD1 ↑	NSCs增殖 ↑
	鸪鹛茶 ^[37]	β-catenin ↑ ,CyclinD1 ↑	NSCs增殖 ↑
JAK/STAT通路	星形胶质细胞内皮素-1 ^[10]	p-STAT3 ↑	NPCs增殖和分化 ↑
EGFR/MAPK通路	黄芪甲苷VI ^[20]	p-EGFR ↑ , p-MAPK ↑	NSCs增殖 ↑
MAPK/ERK通路	阿托伐他汀 ^[9]	PErk ↑ , P-P38 ↓	NSCs增殖 ↑
	EE ^[34]	p-ERK1/2 ↓	大鼠皮质炎症 ↓ ,星形胶质 细胞肿胀 ↓
EGF	EGF ^[13]	EGF ↑	神经前体细胞增殖 ↑
	芪仙通络汤 ^[16]	BDNF ↑	NSCs增殖 ↑
	高频重复TMS ^[27]	BDNF ↑ ,P-TrkB ↑ ,P-AKT ↑ ,P-CREB ↑	NSCs增殖和分化 ↑
	EE ^[33]	BDNF ↑	星形胶质细胞增殖 ↑

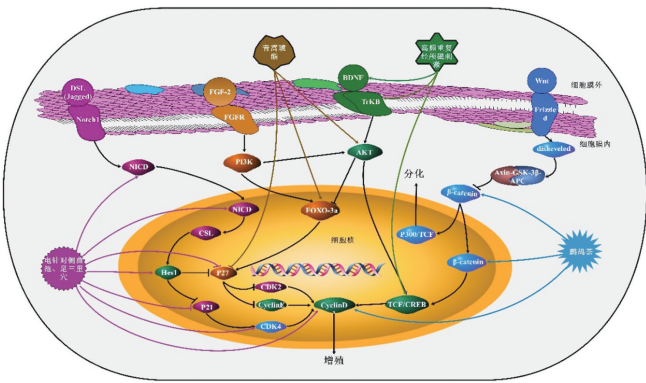


图1 部分动员策略对缺血性脑卒中后eNSCs增殖、分化调控示意图

究也存在不足。首先,有关小分子药物和神经营养因子的研究为基础研究,是否可将其转化为临床应用需进一步探索。其次,目前研究的干预方式大多单一,未来的研究中或许可以将药物与康复、针灸与康复等相结合,研究其疗效。再次,脑缺血后eNSCs动员的机制较为复杂,涉及抑制炎症反应、增强营养因子表达、改善缺损区域内环境等,目前的研究不够深入。后续研究应更加深入,找寻到脑缺血后促进eNSCs增殖、存活、迁移和分化的有效方法,并阐明其作用机制,为缺血性脑卒中的治疗开辟新的途径。

参考文献

[1] 甘勇, 杨婷婷, 刘建新, 等. 国内外脑卒中流行趋势及影响因素研究进展[J]. 中国预防医学杂志, 2019, 20: 139-144.
[2] 张瑛, 陆征宇, 赵虹. 神经保护疗法在卒中后应用的研究进展[J]. 神经损伤与功能重建, 2021, 16: 266-269.
[3] 孙海欣, 王文志. 中国60万人群脑血管病流行病学抽样调查报告[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2018, 18: 83-88.
[4] 金光照, 陶涛, 刘安琪. 人口老龄化与劳动力老化背景下中国老年人

力资本存量与开发现状[J]. 人口与发展, 2020, 26: 60-71.
[5] Leker RR. Fate and manipulations of endogenous neural stem cells following brain ischemia[J]. Expert Opin Biol Ther, 2009, 9: 1117-1125.
[6] 房昌运, 高洋, 吴旭升, 等. 内源性神经干细胞促进缺血性脑卒中后神经修复的研究进展[J]. 生理学报, 2019, 71: 454-462.
[7] Kim HS, Lee EJ, Cho YH, et al. Post-translational regulation of a developmental catalase, CatB, involves a metalloprotease, SmpA and contributes to proper differentiation and osmoprotection of Streptomyces coelicolor[J]. Res Microbiol, 2013, 164: 327-334.
[8] Rueger MA, Muesken S, Walberer M, et al. Effects of minocycline on endogenous neural stem cells after experimental stroke[J]. Neuroscience, 2012, 215: 174-183.
[9] Choi NY, Kim JY, Hwang M, et al. Atorvastatin Rejuvenates Neural Stem Cells Injured by Oxygen-Glucose Deprivation and Induces Neuronal Differentiation Through Activating the PI3K/Akt and ERK Pathways[J]. Mol Neurobiol, 2019, 56: 2964-2977.
[10] Cheng X, Yeung PKK, Zhong K, et al. Astrocytic endothelin-1 overexpression promotes neural progenitor cells proliferation and differentiation into astrocytes via the Jak2/Stat3 pathway after stroke[J]. J Neuroinflammation, 2019, 16: 227.
[11] Ge H, Zhang C, Yang Y, et al. Ambroxol Upregulates Glucocerebrosidase Expression to Promote Neural Stem Cells Differentiation Into Neurons Through Wnt/β-Catenin Pathway After Ischemic Stroke[J]. Front Mol Neurosci, 2021, 13: 596039.
[12] Klein R, Mahlberg N, Ohren M, et al. The Neural Cell Adhesion Molecule-Derived (NCAM)-Peptide FG Loop (FGL) Mobilizes Endogenous Neural Stem Cells and Promotes Endogenous Regenerative Capacity after Stroke[J]. J Neuroimmune Pharmacol, 2016, 11: 708-720.
[13] Cooke MJ, Wang Y, Morshead CM, et al. Controlled epi-cortical delivery of epidermal growth factor for the stimulation of endogenous neural stem cell proliferation in stroke-injured brain[J]. Biomaterials, 2011, 32: 5688-5697.
[14] Zhang C, Chopp M, Cui Y, et al. Cerebrolysin enhances neurogenesis in the ischemic brain and improves functional outcome after stroke[J]. J Neurosci Res, 2010, 88: 3275-3281.
[15] 刘振伟, 孙慧君, 张金生. 补肾化痰生新方对大鼠脑动脉栓塞模型大鼠海马区神经干细胞增殖的影响[J]. 中医学报, 2020, 35: 1485-1490.
[16] 林秀慧, 周春吉, 马珂, 等. 芪仙通络方对脑缺血大鼠内源性神经干细胞再生的影响及机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23: 141-147.
[17] Fu DL, Li JH, Shi YH, et al. Sanhua Decoction, a Classic Herbal

Prescription, Exerts Neuroprotection Through Regulating Phosphorylated Tau Level and Promoting Adult Endogenous Neurogenesis After Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury[J]. *Front Physiol*, 2020, 11: 57.

[18] An B, Ma Y, Xu Y, et al. Crocin regulates the proliferation and migration of neural stem cells after cerebral ischemia by activating the Notch1 pathway[J]. *Folia Neuropathol*, 2020, 58: 201-212.

[19] Zhang K, Yang Y, Ge H, et al. Artesunate promotes the proliferation of neural stem/progenitor cells and alleviates Ischemia-reperfusion Injury through PI3K/Akt/FOXO-3a/p27kip1 signaling pathway[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12: 8029-8048.

[20] Chen X, Wu H, Chen H, et al. 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: 3053-3067.

[21] 曹夏, 石学慧, 张素兰, 等. 巨刺对急性脑缺血再灌注损伤大鼠神经干细胞的影响[J]. *时珍国医国药*, 2016, 248: 993-995.

[22] 罗丁, 樊小农, 赵海英, 等. 针刺人中穴对MCAO大鼠中枢神经系统神经干细胞增殖影响的研究[J]. *天津中医药*, 2014, 31: 548-551.

[23] Tao J, Chen B, Gao YL, et al. Electroacupuncture enhances hippocampal NSCs proliferation in cerebral ischemia-reperfusion injured rats via activation of notch signaling pathway[J]. *Int J Neurosci*, 2014, 124: 204-212.

[24] Zhang S, Jin T, Wang L, et al. Electro-Acupuncture Promotes the Differentiation of Endogenous Neural Stem Cells via Exosomal microRNA 146b After Ischemic Stroke[J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 233.

[25] 胡丙成, 徐莺莺, 张静, 等. 艾灸对脑缺血后内源性干细胞的增殖影响的实验研究[J]. *上海针灸杂志*, 2016, 35: 600-607.

[26] 于海波, 马晓明, 饶晓丹, 等. 艾灸任脉经穴对脑缺血再灌注大鼠组织超微结构及巢蛋白表达的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2010, 28: 715-717.

[27] Luo J, Zheng H, Zhang L, et al. High-Frequency Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation (rTMS) Improves Functional Recovery by Enhancing Neurogenesis and Activating BDNF/TrkB Signaling in

Ischemic Rats[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18: 455.

[28] 石海杉, 吴文, 徐建兰, 等. 不同频率磁刺激对局部脑缺血再灌注大鼠海马内源性神经干细胞激活、增殖的影响[J]. *实用医学杂志*, 2015, 31: 10-13.

[29] 麦用军, 李翔, 郑良佐, 等. 高压氧对局灶性脑缺血大鼠内源性神经干细胞增殖的影响[J]. *中华航海医学与高气压医学杂志*, 2020, 27: 286-290.

[30] Sun H, Li A, Hou T, et al. Neurogenesis promoted by the CD200/CD200R signaling pathway following treadmill exercise enhances post-stroke functional recovery in rats[J]. *Brain Behav Immun*, 2019, 82: 354-371.

[31] 张丽, 巩晓英, 王纪恒. 运动疗法对卒中患者脑源性神经营养因子及神经功能缺损程度的影响[J]. *神经损伤与功能重建*, 2020, 15: 471-472.

[32] Liu W, Wu W, Lin G, et al. Physical exercise promotes proliferation and differentiation of endogenous neural stem cells via ERK in rats with cerebral infarction[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18: 1455-1464.

[33] Chen X, Zhang X, Liao W, et al. Effect of Physical and Social Components of Enriched Environment on Astrocytes Proliferation in Rats After Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury[J]. *Neurochem Res*, 2017, 42: 1308-1316.

[34] Jiang C, Yu K, Wu Y, et al. Enriched Environment Enhances Poststroke Neurological Function Recovery on Rat: Involvement of p-ERK1/2[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2016, 25: 1590-1598.

[35] 李娜, 李光来, 张晓敏, 等. 肢体缺血预处理对脑缺血再灌注大鼠海马内源性神经干细胞增殖的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2015, 13: 1384-1386.

[36] Liu QS, Li SR, Li K, et al. Ellagic acid improves endogenous neural stem cells proliferation and neurorestoration through Wnt/ β -catenin signaling in vivo and in vitro[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2017, 61.

[37] Li SR, Song YJ, Deng R, et al. *Mallotus oblongifolius* extracts ameliorate ischemic nerve damage by increasing endogenous neural stem cell proliferation through the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Food Funct*, 2020, 11: 1027-1036.

(本文编辑:唐颖馨)