

# 缺血性脑卒中的转化医学研究策略

肖波, 张萌琦, 张乐

(中南大学湘雅医院神经内科, 湖南省长沙市 410008)

[专家简介] 肖波,男,1962年1月出生,博士,教授,博士研究生导师,享受国务院政府特殊津贴,现为中南大学湘雅医院神经内科主任,中南大学国家重点学科神经病学负责人,国家级精品课程《神经病学》负责人,湖南省跨世纪后备人才,湖南省优秀青年科技工作者,教育部优秀青年教师,全国高等学校优秀骨干教师,中国抗癫痫协会常务理事,中国抗癫痫协会脑电图和神经电生理分会副会长,中国心脑血管病专业委员会副主任委员,中华医学会神经病学专业委员会常务委员,中华医学会神经病学专业委员会脑电图与癫痫学组副组长、神经病理学组委员,国家杰出青年基金、“863”计划、“973”计划项目及教育部长江学者特聘教授评审专家,湖南省神经病学专业委员会主任委员,湖南省康复医学会脑血管病专业委员会副主任委员,《国际神经病学神经外科学杂志》和《神经病学与神经免疫学杂志》副主编,《中华神经科杂志》、《亚洲癫痫杂志》等11本杂志的编委。专升本规划教材《神经病学》、《难治性癫痫》、《癫痫的药物治疗》、《临床病案诊疗剖析》和《神经病学药物治疗》主编。先后获得科研课题30余项,近10年发表学术论文300余篇。共培养博士研究生53名、硕士研究生85名。曾先后获得卫生部第十届赛克勒中国医师年度荣誉奖、卫生部优秀回国人员奖、吴阶平医学研究奖、国务院政府特殊津贴、湖南省首届优秀博士论文奖、湖南省优秀青年科技工作者奖、教育部高校青年教师奖、教育部优秀骨干教师奖等荣誉称号。获国家科技进步二等奖及教育部科技进步一等奖各一项。



[关键词] 缺血性脑卒中; 转化医学; 研究策略

[摘要] 转化医学当前医学研究热门领域,以临床医疗成果的应用产出为导向,其致力于打破基础科研与临床实践之间的固有屏障,弥补实验室研究和药物研发之间的鸿沟。本文从国内外缺血性脑卒中转化医学研究的现状、研究思路、治疗策略等不同角度出发,探讨了卒中转化医学研究的发展趋势和面临的机遇、挑战,并指出了完善转化医学研究模式,加快推进我国缺血性脑卒中转化医学研究的必要性。

[中图分类号] R741

[文献标识码] A

## Ischemic Stroke Related Translational Research Tragedy

XIAO Bo, ZHANG Meng-Qi, and ZHANG Le

(Department of Neurology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410008, China)

[KEY WORDS] Ischemic Stroke; Translational Medicine; Treatment Strategie; Research Strategy

[ABSTRACT] To date, translational medicine is very attractive and multifaceted in the field of science. Aiming at promoting clinical application achievements incrementally, it devotes to break through the inherent barriers between basic research and clinical practice. As well, it plays an important role in bridging the gap between laboratory research and drug development. Herein, we highlight the advances in current ischemic stroke related translational research tragedy, which covers the trends and opportunities in future studies. We also lay emphasis on the necessity of pushing forward stroke-related translational research in an emerging blueprint of neuroscience.

20 世纪下半叶随着基因组遗传学和生物信息 学的迅猛发展,生命科学研究取得了突破性的进

[收稿日期] 2014-07-28

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81371435)

[作者简介] 肖波,博士,主任医师,博士研究生导师,E-mail 为 xiaobo\_xy@126.com。张萌琦,博士,医师,E-mail 为 zhang-mengqi8912@163.com。张乐,博士,副主任医师,硕士研究生导师。

展。然而,其诸多科技成果未能被及时且有效地应用到临床,导致传统的基础研究和临床实践之间存在鸿沟,尚无法真正体现生命科学的价值。在此背景下,“转化医学”理念应运而生,其致力于打破基础科研与临床应用之间的固有屏障,将基础研究的成果迅速有效转化为能够为临床诊断治疗所使用的技术,力求为新药研发、临床诊疗实践开辟出具有革命性意义的新途径。

缺血性脑卒中,具有高发病率、高死亡率、高致残率、高复发率等特点,是目前导致人类死亡的三大主要疾病之一,存活者中 50% ~ 70% 患者遗留不同程度的残疾。脑卒中已成为危害公众健康和生活质量的严重问题,亟待发展有效的防治诊疗策略改善现状。当前脑卒中研究内容的丰富性为推动转化医学的研究进程提供了重要的支撑基础和开阔的思路。以转化医学为突破口,不断加强学科间的交融与合作,建立基础科研与临床应用之间的有效桥梁,成为了当前神经科学领域研究的热点,具有重大意义。

## 1 转化医学的发展历程

早在 1968 年,新英格兰医学杂志上刊登的文章就提出了“bench-beside interface”的研究模式<sup>[1]</sup>。但限于科技水平的发展和人们对疾病认识的局限性,此理念在之后的几十年内并未引起足够的重视。直到 1992 年,Science 杂志 Choi 首先提出了“从实验室到病床”的概念<sup>[2]</sup>; 1996 年,“转化医学”这一新名词,首次出现在 Lancet 杂志上,Geraghty 指出转化医学是一个连续、双向、开放的研究过程<sup>[3]</sup>。2003 年,美国国立卫生研究院详细阐述了转化医学的理念,进一步提出了转化医学发展路线图<sup>[4]</sup>。至此,转化医学开始逐渐进入人们的视野并日益受到各国医学界的关注。其作为生命科学的重要发展方向之一,已引起欧美国家的高度重视并催生战略行动。美国已在各个大学和科研院所建立了 60 个转化医学中心<sup>[5]</sup>。2007 年始,英国国家健康研究院将在 5 年中提供 4.5 亿英镑基金用于资助 11 个包括综合性和专科性在内的生物医学研究中心进行转化医学的研究<sup>[6]</sup>。各类专业性转化医学杂志相继涌现,目前国际上转化医学领域的权威期刊包括 Science Translational Medicine, Journal of Translational Medicine, Translational Research, The American Journal of Translational Research, Clinical and

Translational Science 等,迄今已收录大量转化医学论文<sup>[7]</sup>。2011 年,国际转化医学学会(international society of translational medicine, ISTM) 成立,标志着国际性转化医学交流平台的建立<sup>[8]</sup>。随着未来多学科研究团队的通力合作,转化医学有望实现有序、稳步、快速发展。

我国的转化医学尚处于起步和探索阶段,但发展迅速,是当前国家战略计划的重点支持项目。由于转化医学的重要性不断被强调,为整合医学资源优势,我国部分综合性大学和科研院所陆续成立了转化医学研究中心,大大推动了转化医学理念在中国医学界、制药界的广泛传播。数据表明,截至 2013 年 4 月底,全国已建立各类临床和转化医学研究中心及平台机构 129 家,包括北京协和医院,上海交大瑞金医院,中南大学湘雅医院等中国重要的医学科研机构<sup>[9]</sup>。以期逐渐建立国际前沿的转化医学学术平台,为全面推动我国生命科学科研成果的转化,新药研发、提高临床诊疗水平奠定重要的基础。

## 2 卒中转化医学的发展

卒中作为威胁人类健康的主要疾病之一,是转化医学研究的重要着力点。2010 ~ 2013 年历届国际卒中大会不断强调转化医学研究的必要性,指出需加强基础、临床和转化医学之间的协作,建立有效可行的转化医学研究方法学等,对深入开展卒中的转化医学研究具有重要指导意义。美国国立神经病学与卒中研究院设立了急性卒中医学特别计划,旨在发展新的诊疗手段,改善卒中预后,目前已经成立 8 个卒中研究中心,为卒中的转化研究提供了重要的支撑<sup>[8]</sup>。

由于工作压力、作息时间不规律、环境污染等诸多因素的影响,卒中发病年龄越来越趋于年轻化。每年中国新发卒中超过 200 万,尽管许多科研院所和企业投入大量资金进行卒中药物和器械的研发,然而收效甚微。因此如何将先进的基础科研成果高效转化为临床产出,是众多医学研究者共同面临的挑战。近年卒中转化医学逐渐成为国内脑血管病会议的热点问题,自 2009 年起,中国天坛国际脑血管病会议开辟了“卒中转化医学论坛”,国内著名专家学者对卒中转化医学的最新研究成果进行报告和研讨,为中国卒中转化医学的发展提供了重要的信息交流平台。

### 3 缺血性脑卒中转化医学研究思路

虽然越来越多关于脑的显微解剖学和病理生理学信息被获得,但仍有许多问题尚未得到解答。神经血管单元中的各类细胞(神经元,星形胶质细胞和内皮细胞)以及不同的化学物质对血流量调节的机制以及细胞与细胞、细胞与物质之间的相互作用至今尚未阐明。从转化医学角度出发,将实验室获得的关于疾病病理及治疗机制的新认识在临床实践过程得以应用,以提高疾病的诊断、治疗和预防水平,是缺血性卒中研究的重要方略。

针对如何打破卒中转化医学研究的学科壁垒这一命题,以下四个方面的探索思路有助于进一步深化当前缺血性脑卒中的科学研究。(1)对神经血管单元功能的深入解读;(2)对卒中治疗靶点双相性的认知;(3)提高对动物模型的质量控制;(4)利用“人类模型”有效建立实验结果和临床疾病之间的关联。

神经血管单元是由神经元,星形胶质细胞,小胶质细胞,血管内皮细胞,周细胞以及基质组成的动态微环境。以往仅仅关注卒中后神经元的治疗是片面的,应对单元里的所有组分进行功能性整合研究。其中,星形胶质细胞,血管内皮细胞,周细胞和基膜组织为血脑屏障的组成部分。大脑活动和血流供应的维持与各类细胞间的多级信号传递通路密切相关<sup>[10]</sup>。因此,未来卒中研究靶点应针对神经血管单元内的各组分展开,以寻找更为全面的神经保护措施。

随着研究的深入,越来越多的数据提示治疗靶点具有双相性,即同一种分子和递质在不同的生理和病理条件下“扮演”着不同的角色。在脑缺血的超急性期,N-甲基-D-天冬氨酸受体的过度激活可诱导神经元兴奋性毒性死亡。然而,在卒中恢复期,N-甲基-D-天冬氨酸信号系统在神经再生和神经元可塑性过程中发挥重要作用<sup>[11]</sup>。在颅脑损伤早期,抑制基质金属蛋白酶有益;然而在晚期,基质金属蛋白酶参与了血管新生、血管生成以及神经血管网络重塑等一系列修复过程<sup>[12]</sup>。一直以来我们对卒中的救治是竭力挽救缺血半暗带的脑细胞,但缺血半暗带不仅仅都是“濒死”神经元,自我修复同时并存<sup>[13]</sup>。研究阻断细胞死亡途径的同时,需要充分了解不同信号分子在病理生理进程中作用方式、部位以及时相的变化情况,以防对内源性修复机制造成干扰和破坏。

众所周知,建立理想的缺血性脑卒中模型是基

础研究成果向临床应用转化的重要前提和保证。实验性动物的缺血性脑卒中模型成功建立的基本条件是能够切实模拟缺血性脑卒中的疾病状态,并根据病程发展的不同时间点进行病理组织、生化及生理学研究,即具有可复制性、易分析性和可比性、适合长期随访观察、按需取样等特征。目前常用脑缺血动物模型制作方法包括二血管夹闭、四血管夹闭等全脑缺血模型和线栓法、栓塞法、光化学法等局灶性脑缺血模型等。荟萃分析显示来源于动物实验的数据可信度与预期存在差距<sup>[14]</sup>。动物研究中,通常选择健康、年轻,不伴其它疾病的动物作为研究对象。而临床上脑卒中患者多为老年人,且多伴有高血脂、高血糖或高血压等,因而单一的动物模型并不能完全真实模拟临床复杂多变的缺血性脑血管疾病状态。因此,应尽可能选择老年鼠、高血压鼠、高血糖鼠和高血脂鼠等进行相关研究,甚至建立自发性动物模型,从啮齿类动物逐级向灵长类动物进行验证,提高基础实验研究成果向临床转化的成功率。

如前所述,由于单一动物模型的局限性,卒中潜在治疗策略的研究往往需要在不同实验室的多种动物模型上进行反复验证。近年来,“人类模型”新概念的提出为建立基础研究和临床疾病之间的有效桥梁提供了新的契机。例如,体外培养人脑内皮细胞可用来筛选卒中病人生物特异性相关的神经血管调质。样本可从行颈动脉内膜切除术的病人中获取,进而开展“候选”生物标记物的研究<sup>[14]</sup>。“人类模型”研究是促成基础实验成果向临床医学数据转化的重要“过渡”方略,对临床科学问题的深入揭示意义重大。

### 4 缺血性脑卒中治疗策略的转化医学研究

#### 4.1 干细胞治疗

细胞替代疗法是当前卒中治疗研究的热点。用于卒中治疗研究的干细胞包括神经干细胞、人骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cell, BMSC)、内皮祖细胞、诱导型多能干细胞、人脐带间充质干细胞、胚胎脑细胞、畸胎瘤细胞等<sup>[15]</sup>。在深入探索干细胞治疗机制的同时,其治疗时间窗,细胞注射数量以及途径也受到研究者的关注。静脉给予途径减少了侵入性,但可能导致干细胞聚集在肺部而不能到达靶标部位;动脉注射可引起微血管的阻塞;脑内定向注射可能存在出血、感染、致病

等风险<sup>[14]</sup>。磁共振干细胞纳米造影剂可对移植细胞进行数周内的活体示踪,在未来干细胞移植的临床研究中极具应用前景<sup>[16]</sup>。

世界 79 家临床试验中心研究结果表明,静脉注射自体骨髓间充质干细胞治疗卒中安全、有效,长期随访发现可改善患者的预后<sup>[17]</sup>。加州大学圣地亚哥分校启动了关于同种异体 BMSC 治疗缺血性脑卒中的 I/II 期临床试验研究,主要是基于安全性和有效性的评估<sup>[15]</sup>。目前干细胞研究的临床试验正处于早期探索阶段,干细胞移植的存活率、细胞类型、移植方式、移植时间以及副作用等诸多因素均会影响最终神经功能的恢复。

#### 4.2 脑缺血神经保护药物

缺血性脑损伤发生后可启动氧化应激、兴奋性氨基酸毒性作用、钙超载、线粒体途径、炎性反应等一系列级联反应介导神经细胞的死亡。而脑缺血神经保护药物正是通过阻断损伤反应的不同环节发挥作用,种类繁多,包括神经营养及生长因子、钙通道拮抗剂、自由基清除剂、兴奋性氨基酸拮抗剂、GABA 受体激动剂、炎性反应抑制剂等。

基础研究表明,脑缺血后神经营养因子和神经生长因子大量表达,在脑损伤的自我修复中发挥作用<sup>[18,19]</sup>。但迄今尚无其在临床试验中疗效确切的循证医学证据,因而尚不能在临床上应用推广。引起这种差别的主要原因可能是血-脑屏障对该类大分子肽通透性较低,导致药物治疗效能降低所致。目前尚无证据表明,其它神经保护制剂如钙离子拮抗剂、兴奋性氨基酸拮抗剂在急性缺血性卒中的临床治疗中有效<sup>[20]</sup>。免疫细胞和炎性反应在组织损伤和修复过程中起重要作用,临床前试验显示抗炎治疗具有良好的保护作用,而临床研究证实抗细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 抗体、抗 CD18 单克隆抗体的 II/III 期临床试验无效,甚至可引起患者感染率增加等严重不良反应<sup>[21]</sup>。自由基清除剂依达拉奉是目前临床试验证明有效的少数神经保护药物之一,Nakase 等<sup>[22]</sup>研究发现对发病 24 小时内的急性缺血性卒中患者应用依达拉奉后,发病后 1~2 个月神经功能明显改善,但对发病后 ≥3 个月的患者改善程度不明显。然而由于依达拉奉的临床试验在部分研究中仍未获得阳性结果,应进一步开展多中心、大样本、严格设计的临床试验,提供有效的循证医学支持证据。

多数神经保护药物的基础科研效果和临床试验疗效相差甚远,究其根源,与动物模型,疾病病理生理状态的模拟,给药方式、剂量、时间窗以及药物

靶点的设计以及预后评估等诸多因素密切相关。溶栓时间窗的限制使研究者致力于神经保护药的研发,然而面对基础实验成果与临床应用之间距离日益增大的事实,全面贯彻转化医学研究理念、加快推进脑缺血药物转化医学的研究势在必行。

#### 4.3 基因治疗

脑缺血时可诱导血管内皮生长因子、神经突起导向因子 1 (netrin-1, NT-1)、脑源性神经营养因子等多种基因表达。基因治疗即通过靶标部位注入外源性基因直接或间接改变目的基因的表达情况,从而促进脑修复。基础实验研究证实,腺相关病毒携带神经突起导向因子 1 (AAV-NT-1) 基因疗法可促进脑缺血小鼠的血管新生和神经功能的恢复<sup>[23]</sup>。近年来作为神经科学研究热点的 Micro-RNA,是一种重要的内源性非编码小 RNA,是近年来发现的一种重要的内源性非编码小 RNA,在缺血性脑损伤的发生发展过程中发挥重要作用。miR-126、miR-296、miR-21、miR-31 等参与了血管新生的调控<sup>[24]</sup>,miR-NA-9、miR-124 与神经发生密切相关<sup>[25,26]</sup>。随着基因组研究的日益深入,越来越多基因的生物学术功能和作用机制将被解读,这无疑对脑卒中病理机制的阐明意义重大。与此同时,治疗剂量、方式、时间窗,载体的有效性和安全性,临床应用的可行性都是研究中需要慎重考虑的问题。基因干预法作为极具前景的新方略,为缺血性脑卒中的治疗提供了新的思路。

## 5 结 语

转化医学作为当前热门科研领域,是实现脑卒中研究突破性进展的必由之路,对推动整个神经病学学科的发展具有举足轻重的作用。神经内科医师在临床实践中应注重思考,善于发现问题,并及时与基础科研工作者进行沟通探讨,基础研究的开展也应将“微观调控机制”与“宏观临床问题”相结合,不断加强二者的双向交流和联系。与此同时,也应强调理医学、工学、医学等多学科交叉合作,系统整合信息化资源,多层次构建国际化脑卒中转化医学交流平台,以促进临床医疗成果的高效产出。相信随着缺血性脑卒中转化医学研究模式的不断完善,其必将为我国神经病学的发展注入全新的活力,在未来国际竞争中赢得新机遇。

#### [参考文献]

[1] Phagocytes and the “bench-bedside interface” [J]. N Engl

- J Med, 1968, 278(18): 1 014-016.
- [2] Choi DW. Bench to bedside: the glutamate connection[J]. Science, 1992, 258(5 080): 241-243.
- [3] Geraghty J. Adenomatous polyposis coli and translational medicine[J]. Lancet, 1996, 348(9 025): 422.
- [4] Zerhouni E. Medicine. The NIH Roadmap[J]. Science, 2003, 302(5 642): 63-72.
- [5] Butler D. Translational research: crossing the valley of death[J]. Nature, 2008, 453(7 197): 840-842.
- [6] Adams JU. Building the bridge from bench to bedside[J]. Nat Rev Drug Discov 2008, 7(6): 463-464.
- [7] 崔志文, 夏 焱, 孙小娟, 等. 国内外转化医学发展历程与展望[J]. 生命科学, 2012, 24(4): 316-320.
- [8] 杨国源, 王继先. 缺血性脑卒中转化医学的研究与发展[J]. 内科理论与实践, 2012, 7(2): 65-69.
- [9] 张 正, 李淮涌, 朱智明, 等. 国内医院转化医学发展动态分析[J]. 中国医院管理, 2014, 34(4): 53-55.
- [10] Guo S, Lo EH. Dysfunctional cell-cell signaling in the neurovascular unit as a paradigm for central nervous system disease[J]. Stroke, 2009, 40(3 Suppl): S4-7.
- [11] Platel JC, Dave KA, Gordon V, et al. NMDA receptors activated by subventricular zone astrocytic glutamate are critical for neuroblast survival prior to entering a synaptic network[J]. Neuron, 2010, 65(6): 859-872.
- [12] Zhao BQ, Wang S, Kim HY, et al. Role of matrix metalloproteinases in delayed cortical responses after stroke [J]. Nat Med, 2006, 12(4): 441-445.
- [13] Lo EH. A new penumbra: transitioning from injury into repair after stroke [J]. Nat Med, 2008, 14(5): 497-500.
- [14] Caplan LR, Arenillas J, Cramer SC, et al. Stroke-related translational research[J]. Arch Neurol, 2011, 68(9): 1 110-123.
- [15] Chen J, Venkat P, Zacharek A, et al. Neurorestorative therapy for stroke [J]. Front Hum Neurosci, 2014, 8: 382.
- [16] Arbab AS, Janic B, Haller J, et al. In Vivo Cellular Imaging for Translational Medical Research [J]. Curr Med Imaging Rev, 2009, 5(1): 19-38.
- [17] Malgieri A, Kantzari E, Patrizi MP, et al. Bone marrow and umbilical cord blood human mesenchymal stem cells: state of the art [J]. Int J Clin Exp Med, 2010, 3(4): 248-269.
- [18] Uzun G, Subhani D, Amor S. Trophic factors and stem cells for promoting recovery in stroke [J]. J Vasc Interv Neurol, 2010, 3(1): 3-12.
- [19] Schabitz WR, Steigleder T, Cooper-Kuhn CM, et al. Intravenous brain-derived neurotrophic factor enhances post-stroke sensorimotor recovery and stimulates neurogenesis [J]. Stroke, 2007, 38(7): 2 165-172.
- [20] 刘小蒙, 罗玉敏, 陈 俊. 缺血性脑血管病神经保护药转化医学的现状 [J]. 中国脑血管病杂志, 2012, 9(10): 550-555.
- [21] del Zoppo GJ. Acute anti-inflammatory approaches to ischemic stroke [J]. Ann N Y Acad Sci, 2010, 1 207: 143-148.
- [22] Nakase T, Yoshioka S, Suzuki A. Free radical scavenger, edaravone, reduces the lesion size of lacunar infarction in human brain ischemic stroke [J]. BMC Neurol, 2011, 11: 39.
- [23] Lu H, Wang Y, He X, et al. Netrin-1 hyperexpression in mouse brain promotes angiogenesis and long-term neurological recovery after transient focal ischemia [J]. Stroke, 2012, 43(3): 838-843.
- [24] Small EM, Frost RJ, Olson EN. MicroRNAs add a new dimension to cardiovascular disease [J]. Circulation, 2010, 121(8): 1 022-032.
- [25] Laneve P, Gioia U, Andriotto A, et al. A minicircuitry involving REST and CREB controls miR-9-2 expression during human neuronal differentiation [J]. Nucleic Acids Res, 2010, 38(20): 6 895-905.
- [26] Yoo AS, Staahl BT, Chen L, et al. MicroRNA-mediated switching of chromatin-remodelling complexes in neural development [J]. Nature, 2009, 460(7 255): 642-646.

(此文编辑 李小玲)