

神经干细胞移植治疗缺血性脑卒中的研究进展

安阳方 综述, 汤永红 审校

(南华大学附属第二医院神经内科, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 神经干细胞; 缺血性脑卒中; 细胞移植

[摘要] 缺血性脑卒中是严重威胁人类健康的常见病和多发病, 具有高致残率、致死率。目前常见的临床治疗主要集中在改善脑循环的多种措施, 如溶栓、抗血小板聚集、抗凝、降纤、扩容等, 其神经元的不可逆性损伤是治疗难以取得满意效果的主要原因。近年来, 体外分离、培养具有自我更新、分化潜能的神经干细胞等相关技术逐渐成熟。越来越多的研究证据显示, 将神经干细胞移植入缺血性脑卒中动物模型, 能够达到有效治疗效果。本文就神经干细胞生物学特性、神经干细胞移植治疗缺血性脑卒中的机制及其进展方面进行综述。

[中图分类号] R741

[文献标识码] A

Progress in neural stem cell transplantation therapy for ischemic stroke

AN Yang-Fang, TANG Yong-Hong

(Department of Neurology, the Second Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] Neural stem cells; Ischemic stroke; Cell transplantation

[ABSTRACT] Ischemic stroke is a common and frequently occurring disease, with high morbidity and mortality, which seriously threatens human health. At present, the common clinical treatment is mainly focused on various measures to improve cerebral circulation, such as thrombolysis, antithrombotic therapy, antiplatelet therapy, defibrinogen therapy, haemodilution and so on. The irreversible injury of neurons is the main reason for the difficulty of achieving satisfactory results. In recent years, the technology of isolation and cultivation of neural stem cells with potential for self-renewal and differentiation has gradually matured in vitro. More and more researches show that the transplantation of neural stem cells into ischemic stroke animal models can achieve effective treatment. In this paper, the biological characteristics of neural stem cells and the mechanism and progress of neural stem cell transplantation for ischemic stroke are reviewed.

脑卒中是导致死亡和残疾的主要疾病之一^[1]。临床治疗方案较为单一, 除了早期溶栓、机械溶栓、血管成形术、尽早收入卒中单元治疗及康复治疗等, 目前还没有任何满意的提高功能恢复的有效治疗措施^[2]。神经干细胞(neural stem cells, NSC)作为一种能自我更新、增殖且具有分化潜能的细胞群, 能够促进神经元及神经组织的再生和修复^[3]。在成年哺乳动物脑内, 大脑局部缺血或创伤性损伤会激活内源性神经发生, 尤其是在脑室管膜室下区(subventricular zone, SVZ)和海马齿状回的颗粒层下

区(subgranular zone, SGZ)两个神经源性脑区^[4]。但仍依靠激活自身内源性神经发生所增殖、分化的神经元并不能达到很好的神经修复效果。随着干细胞增殖、分化机制及体外建立神经干细胞系研究的不断深入, 生物疗法如使用生长因子和治疗性细胞移植治疗脑卒中的疗效得到越来越多的证实, 神经干细胞作为直接神经元替代细胞在临床上具有广泛应用前景^[2, 5-6]。本文就神经干细胞生物学特性及神经干细胞移植治疗缺血性脑卒中的机制及进展方面进行简要综述。

[收稿日期] 2017-07-17

[修回日期] 2017-12-07

[基金项目] 湖南省自然科学基金项目(2017JJ2228)

[作者简介] 安阳方, 硕士研究生, 研究方向为干细胞和脑血管疾病, E-mail 为 anyangfang@foxmail.com。通讯作者汤永红, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为干细胞和脑血管疾病。

1 神经干细胞移植治疗缺血性脑卒中进展

1.1 缺血性脑卒中现状

在发展中国家,脑卒中是导致死亡和残疾的主要原因^[1]。在北美地区,缺血性脑卒中占有所有卒中的 87%^[7]。据相关监测数据资料显示,我国每年新发脑卒中约 200 万人,且发病率以接近每年 9% 的速度上升,是第一大致残病因^[8],给患者家庭及社会带来沉重负担。

缺血性脑卒中能造成神经元电路紊乱和血脑屏障破坏,最终导致功能性残疾,在临床前研究中正在开发神经干细胞作为脑卒中的治疗手段之一。神经干细胞沉积在 SVZ 和 SGZ 两个神经源性区域,且神经发生终生存在,这被认为是脑损伤的内源性神经保护机制之一,也证明了哺乳动物大脑存在可塑性。且 SVZ 中的微环境,包括细胞间相互作用、细胞外基质蛋白和可溶性因子,可促进神经干细胞增殖、自我更新和分化^[9-10]。但脑卒中不像帕金森病等其他神经退行性疾病,表现为特定的神经细胞受损,还伴有脑组织的丢失。因此对于缺血性脑卒中来说,期望细胞移植起到的作用不仅是恢复神经成分,还包括脑组织支持成分的恢复。

1.2 干细胞移植治疗机制

虽然已有证据表明,缺血性脑卒中能激活内源性神经发生,并介导缺血性脑修复,但所诱导的神经发生在神经元替换方面发挥的作用有限。因此人们把目光投向了外源性干细胞^[11]。自我更新、多谱系分化和促进体内特定组织功能重建的能力是干细胞的最重要的特征。基于干细胞的治疗(stem cell-based therapy, SCT)在神经病学中的应用始于神经变性病,随着研究的深入,在卒中、帕金森病、脑肿瘤和转移性肿瘤等多种疾病中的应用研究越来越多。干细胞移植治疗主要机制有两种:①移植细胞通过细胞置换或替代缺失及损伤细胞来促进组织修复机制;②移植干细胞产生具有神经保护或刺激修复的治疗性大分子(酶、细胞因子、神经营养因子、药物等)^[12]。

成功分离和移植成体神经干细胞证明使用自体神经干细胞移植作为缺血性脑卒中后神经再生策略的可行性。研究发现,诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSC)衍生的神经干细胞诱导神经发生主要通过刺激内源性神经发生启动修复过程,促进脑可塑性和突触重组、调节免疫反应和减少二次损伤,直接通过细胞替换修复的

神经干细胞数量较少^[13]。也有研究表明,缺血所诱导的内源性神经发生不仅影响神经元,还影响神经血管脉络(由神经元、神经胶质细胞、血管内皮细胞、周细胞、平滑肌细胞和小静脉/静脉组成)的所有组分^[14]。

有研究者认为,治疗缺血性脑卒中应包括脑缺血急性期的神经保护和慢性期的干细胞治疗。在卒中病理状态下的修复过程中,具有神经营养、神经保护、血管生成和抗凋亡特性等营养因子也是至关重要的。如脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、成纤维细胞生长因子 2(fibroblast growth factor-2, FGF-2)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、胰岛素生长因子 1(insulin growth factor-1, IGF-1)。以上因子也是缺血性脑卒中动物模型中调节和评价神经修复最常用的营养因子评估指标^[15-16]。Jablonska 等^[17]的研究结果也为以上观点提供了证据,将人脐血衍生神经干细胞移植入卒中大鼠模型中,发现损伤的大鼠脑 SVZ 的神经干细胞向纹状体缺血边界区域迁移增加,且内源性神经营养因子表达增加。

神经干细胞移植治疗可能通过产生神经营养因子,增加有利于受损脑或神经细胞恢复的蛋白表达来发挥作用,或通过其衍生的神经元直接替换损伤的神经细胞,从而恢复一定水平的突触通信,并防止进一步的神经元细胞死亡。也有可能细胞替换及内源性刺激修复共同发挥作用。具体信号通路机制还需进一步研究探讨。

2 成体大脑皮质神经干细胞

2.1 成体神经干细胞的发育起源

哺乳动物大脑皮层的神经元几乎都起源于神经上皮细胞(neuroepithelial cell, NEC)。NEC 分化产生放射状胶质细胞,胚胎期的放射状胶质细胞可进一步分化生成体的神经干细胞等细胞类型^[18]。神经干细胞被认为是一种未分化前体细胞。这些细胞可获自胚胎、胎儿、新生儿或成人的 CNS 组织,并可在体外分离培养,诱导分化成神经元、星形胶质细胞及少突胶质细胞。越来越多的研究证明,在哺乳动物胚胎期的纹状体、海马、脑皮层、视网膜、脊髓、嗅球和侧脑室的脑室区、室下区均有神经干/祖细胞(neural stem/progenitor cells, NSPC)的分布^[19-20]。神经发生是产生完全功能性神经元的复杂和多步骤过程,在成人脑中的这个过程主要基于神经干细胞,在大多数脑

区,这个过程周期有一定限制,并在出生后不久结束。而在 SVZ 和 SGZ 两个脑区,神经发生终生存在^[21]。

研究表明,来自 SVZ 新形成的神经前体细胞后代可以迁移至嗅球并替代其中的颗粒细胞,协调复杂的气味行为。SGZ 产生的新细胞能够功能性整合到齿状回中发挥作用,主要与记忆和学习功能相关^[21-22]。SVZ、SGZ 的神经干细胞均具自我更新和分化潜能,对疾病和损伤也有一定反应能力。但值得一提的是,海马神经干细胞不能长距离迁移,而 SVZ 的神经干细胞通过分裂、增殖可以完成长距离迁移,其中最突出的例子是该区神经母细胞形成的喙侧迁移流(rostral migratory stream,RMS)。虽然在成人脑中 RMS 的存在仍然有争议,但在婴儿中能观察到 SVZ 衍生的神经细胞向嗅球的突出迁移^[23]。SVZ 的 NSPC 有着广泛的细胞-细胞之间的相互作用,可以与侧脑室脑脊液直接联系,并具有丰富的细胞外基质和特殊的基板等特点^[22,24]。正是这些特殊的功能与结构特点使得 SVZ 中的神经干细胞成为研究神经细胞增殖、迁移、分化的最佳来源,为成年中枢神经系统损伤后的再生提供了可能的物质基础。

2.2 生理和病理状态下神经干细胞生物学特性

神经干细胞的生理特性:①分化为中枢神经系统内神经元、星形胶质细胞、少突胶质细胞三种主要的神经细胞,生成神经组织;②具自我更新能力,维持稳定的细胞贮备;③具多向分化潜能,通过不对称分裂产生除自身以外的其它细胞^[3]。

病理状态下的神经干细胞:①中枢神经系统损伤后(包括缺血性脑卒中和外伤性脑损伤),SVZ 和 SGZ 的神经干细胞的内源性再生反应被激活,神经干细胞增殖速度加快,并迁移至损伤和神经变性的区域,并转变为星形胶质细胞和少突神经胶质细胞;②在神经退行性疾病中,SVZ 和 SGZ 的神经发生减弱,但具体信号调节通路还需进一步研究;③自身免疫系统疾病(如多发性硬化),在人类受试者和动物模型中 SVZ 的神经干细胞和少突胶质细胞祖细胞增殖被激活及神经母细胞密度增大^[19]。

目前多种细胞类型已被用于改善脑卒中之后的恢复,如胚胎干细胞(embryonic stem cells,ESC)、iPSC、NPSC,以及非神经元的成体干细胞,如间充质干细胞(mesenchymal stem cells,MSC)和骨髓单核细胞(bone marrow mononuclear cells,BM-MNC)。对于卒中患者,大多数临床试验使用成体干细胞,例如 MSC、BM-MNC 和 NPSC。在 SCT 修复脑损伤中,移植的具体细胞类型对疗效有很大影响。ESC、iPSC 和

NPSC 都可以替代缺血区域中损伤的神经元,非神经元成体干细胞(如 MSC 和 BM-MNC)则是通过提供营养支持来增强自我修复系统,激活内源性神经发生,促进抗炎因子转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$,TGF- $\beta 1$)、白细胞介素 10(interleukin-10,IL-10)的分泌,减轻炎症反应,修复受损区域和维持神经功能^[25-28]。最新一项开放型单盲实验研究发现,大脑中动脉缺血性卒中啮齿动物模型中的临床前证据表明成年人牙髓干细胞疗法可改善神经行为功能。人类成人牙髓干细胞为改善缺血性卒中导致的残疾提供了令人兴奋的潜在治疗选择^[29]。

3 神经干细胞移植治疗研究

3.1 神经干细胞移植动物实验研究

目前,神经干细胞治疗缺血性脑卒中可分为内源性和外源性两种方法。前者是应用内源性干细胞,后者与外源性干细胞移植相关^[30]。前者主要通过自身 NSPC 的激活和增殖发挥修复作用。缺血性脑卒中发生后,SVZ 衍生的神经母细胞通过复杂信号通路介导迁移至损伤区域,并分化为成熟神经元,功能性替代损伤神经元及改善受损神经功能^[31-32]。缺血环境会对新生神经元的存活有一定限制,且新生神经细胞大多数死亡或者分化成为胶质细胞,以至于内源性增殖细胞数量往往不够。内源性促进神经干细胞增殖和分化方法解决了神经干细胞的来源问题,避免了伦理学方面的争议及移植所造成的不必要损伤,且无免疫排斥反应。但即使通过各种方法促进细胞增殖,其增殖细胞数量仍偏少,且调控增殖和分化的机制尚未完全明了。因而从目前来看,仅通过内源性神经发生的激活实现脑卒中的损伤修复在临床上应用还很遥远。

外源性神经干细胞移植是指通过体外细胞培养扩增后,将外源性干细胞直接移植入患者体内,从而改善修复神经功能。大脑中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion,MCAO)模型和大脑中动脉栓塞-再灌注(middle cerebral artery occlusion and reperfusion,MCAO/R)大鼠模型是脑卒中研究最常用的模型,它与临床卒中患者最为相似^[33]。近年较为成功的神经干细胞移植动物实验研究成果见表 1。类似证据还有很多,脑内神经干细胞移植可以通过神经元替代、营养作用、神经保护和炎症调节或增加其内源性神经发生在脑卒中后发挥一定修复作用,为神经干细胞移植治疗缺血性脑卒中的可行性提供有力证据。

表 1. 近年较为成功的神经干细胞移植动物实验研究

Table 1. Successful experimental studies of neural stem cell transplantation in recent years

| 文献来源 | 细胞来源 | 动物模型 | 移植治疗方法 | 最终结果 |
|---------------------------|--------------------|-------------|--|--|
| Hassani 等 ^[34] | 永生化 CTX0E03 神经干细胞系 | MCAO 大鼠模型 | 将 CTX0E03 神经干细胞系移植入 MCAO 模型大鼠, 观察与载体治疗的缺血性卒中脑纹状体中第 1 周和第 4 周内源性神经细胞增殖情况及 SVZ 和纹状体具体增殖细胞群。 | 与载体治疗的缺血性脑卒中相比, CTX0E03 移植物组纹状体中内源性神经细胞增殖明显增加, 且主要增加了对缺血性脑卒中有神经保护性的增殖性小胶质细胞群。 |
| Dai 等 ^[35] | 神经干细胞 | MCAO/R 大鼠模型 | 将神经干细胞、中等剂量神经干细胞、不含神经干细胞的生长培养液移植入 MCAO/R 大鼠中, 观察第 10 天、14 天 MCAO/R 大鼠神经功能情况。 | MCAO/R ⁺ 神经干细胞移植物组的神经功能改善优于 MCAO/R ⁺ 培养液组。免疫荧光染色显示, 神经干细胞已迁移到额叶、顶叶、尾状核和壳核, 且细胞已经开始分化成神经元和星形胶质细胞。这表明移植的神经干细胞可以迁移到缺血区域、存活、分化。从而潜在地改善脑缺血后的神经功能。 |
| Chen 等 ^[36] | 神经干细胞 | MCAO/R 大鼠模型 | 将脑缺血再灌注大鼠模型随机分为正常组、假手术组、缺血组、PBS 移植组和神经干细胞移植组。在成功建模 24 h 后, 将神经干细胞立体定向植入移植组左侧纹状体内, 在第 3 天、第 7 天、第 14 天观察各组神经功能及干细胞迁移情况。 | 通过神经干细胞移植, 脑缺血大鼠神经功能缺损和协调能力均有明显改善。神经干细胞移植能促进内源性神经干细胞分化为神经元, 并通过调节纹状体的缺血微环境, 从而改善修复损伤神经功能。 |
| Huang 等 ^[37] | 胎儿神经干细胞 | MCAO/R 小鼠模型 | 将胎儿神经干细胞注入 MCAO/R 小鼠海马区, 观察其移植改善神经功能高峰时间段和促炎细胞因子表达水平。 | 移植胎儿神经干细胞改善神经功能障碍的效果在损伤后第 2 至 8 天较为明显, 且对行为功能障碍的疗效保持在 12 天以上, 同时还发现移植胎儿神经干细胞降低促炎细胞因子水平。 |

3.2 神经干细胞移植临床应用

大脑具有一定自我修复能力, 通过药物刺激来修复神经损伤研究很多, 但迄今尚未得到很好的临床效果。与药物治疗相比, 神经干细胞移植治疗在改善缺血性卒中脑神经功能上具有更大的潜力。在动物模型上, 神经干细胞移植疗法在促进脑内细胞分化、免疫调节、炎症及内源性修复过程等方面的疗效已经得到证实^[38]。

从目前的临床研究结果来看, 神经干细胞移植方式主要有以下三种: 局部注射移植、经脑脊液途径移植和经外周血液循环移植。局部注射移植是通过立体定向直接将特定剂量注入病损脑区或脊髓周围区域^[39]。虽然在动物实验上已有证据支持其疗效, 但该法易造成正常组织损伤, 且移植部位出血和感染的风险较大。现如今大多数临床患

者尚难以接受。经脑脊液途径移植是以干细胞归巢性和脑脊液循环为理论基础的一种移植方式。将外源性干细胞注射入脑室、脑池。临床上常使用腰椎穿刺移植方式将细胞移植入蛛网膜下腔, 利用脑脊液循环, 将移植干细胞带入病损脑区。除了腰椎穿刺, 经脑脊液循环途径方式还包括脑室穿刺以及枕大池穿刺移植, 这两种方法多见于基础研究, 临床上较少报道。经外周血液移植包括静脉移植和动脉移植, 静脉移植是应用最早的方式, 其缺点是细胞需求量大, 靶向治疗效果较差^[40-41]。

从动物实验应用到临床还有许多技术难题, 且临床志愿者数量较少, 所以神经干细胞移植临床报道例数不多。最近 Kalladka 等^[42] 发起一项开放标记式研究, 在 2010 年 9 月至 2013 年 1 月期间招募了 13 名男性志愿者, 年龄在 60~82 岁之间, 分成 4

组,人数比为3:3:3:2,每组立体定向移植含不同剂量CTX0E03 hNSC制成的CTX-DP悬浮液,其中两名患者接受最高剂量。研究发现,随着时间的推移,CTX-DP植入后,患者的NIHSS评分、Ashworth量表和Barthel指数评定表得分都有所改善。植入12个月后,患者的总体健康状况与基线值相比平均改善了18分,且未发生免疫学或细胞相关的不良事件。这项研究为立体定向移植改良后的CTX0E03 hNSC治疗缺血性脑卒中提供了初步数据,是干细胞移植治疗缺血性脑卒中中的一大进步。Bang等^[43]分析了自2005年起进行的干细胞临床移植治疗缺血性卒中的相关研究成果,其中包括神经干细胞临床移植治疗。为干细胞治疗缺血性卒中可行性和安全性提供了进一步证据。但这些试验在患者特征、细胞移植时间、移植细胞的剂量和类型以及治疗方式等方面仍有争议。Qiao等^[44]通过临床联合移植NSPC和间充质干细胞(mesenchymal stromal cells, MSC)入8名患者(梗死部位为一侧大脑中或前动脉供血区)体内以评估联合移植在缺血性卒中患者中的安全性和可行性,采用NIHSS评分量表、mRS量表和BI指数评估患者的临床状态。通过4次移植治疗发现,患者神经功能、残疾程度和日常生活能力皆有所改善,未发生神经病变或神经系统感染,且在两年的随访中没有肿瘤的发生。Chen等^[45]于2003年11月至2011年4月进行了一项临床前期预实验研究,共10例脑卒中患者(其中男性6例,女性4例,年龄42~87岁,病程6个月~20年不等。脑梗塞6例,脑出血4例)经不同途径联合移植嗅鞘细胞、神经祖细胞、脐带间充质细胞和施万细胞。采用临床神经功能损伤量表和BI指数评估患者治疗前和长期随访期间神经功能情况,所有患者均在移植后6个月至两年内成功随访。结果发现10名患者神经功能(包括言语、肌力、肌张力、共济平衡、疼痛和呼吸等)均有一定程度改善,且大多数患者的BI指数评分和临床神经功能缺损评分均得到提高。印度一项临床预实验^[46]纳入40例卒中患者,通过自体静脉间充质干细胞移植治疗脑卒中,发现在间充质干细胞移植患者中,无死亡或细胞相关的不良反应。且BI指数评分在移植间充质干细胞组中显著改善,神经可塑性增强。虽然以上研究对支持神经干细胞移植治疗脑卒中作为一种安全可行的改善神经功能的方法提供一定证据,但还需要进一步的研究,包括更大样本、更长时间的随访和随机对照。但从移植总体效果方面来评价,神经干细胞移植治疗确实能改善受损神经功能,在临床

上有着广阔应用前景。

4 问题与展望

大脑可能是基于干细胞治疗中最困难的器官,其中神经元的大量连接及与免疫细胞的复杂相互作用,导致无法进行精确的结构重建。目前对神经干细胞移植治疗的功能改善程度、不良反应和安全预处理筛查试验的评估仍有差异。但神经干细胞的移植治疗对神经功能改善的作用是肯定的。而从基础实验到更广泛的临床应用之前,仍需更深入了解移植后干细胞的作用机制、细胞移植的治疗时间窗口、最合适的移植细胞类型和来源。并在调控干细胞增殖、存活、迁移和分化等方面也需进一步深入研究探讨。目前,细胞的制备、给药的长期安全性和技术细节等相关问题也是临床最主要考虑的问题所在。

少数临床前研究比较了几种常用细胞移植注射途径,发现其疗效结果主要取决于实验模型和移植时间^[47]。有一项脑卒中Meta分析发现,神经组织结构性改善作用与移植剂量和时间相关,每延迟一天治疗将会降低1.5%结构性改善疗效。而神经功能的改善与移植时间相互独立^[48]。移植的干细胞群有恢复受损神经细胞能力,但损伤脑内没有完全适合神经血管脉络结构再生的生物化学或解剖学微环境,因此有干细胞出现不受限制增殖的风险。且移植细胞分化程度越小,宿主反应的可能性就越小。然而,移植细胞分化程度越低,其不受限增殖的倾向越大^[49]。因其临床实验数据偏少,胚胎源性的致瘤性颇具争议。目前研究所用的外源性神经干细胞大多数是在异体或胚胎神经干细胞中取得的,异体或胚胎神经干细胞的移植还存在组织配型、伦理等社会问题。自体神经干细胞培养也存在来源和技术操作困难等难题。为了克服这些局限性,研究人员已经开发了许多新技术来攻克这些难题,如:体外长期培养永生化神经干细胞群、基因修饰、甚至诱导来自其他组织或多能干细胞的衍生。微创技术的发展也进一步减少了自体移植细胞获取及立体定向移植的损伤。

目前临床试验虽有限,不能忽视神经干细胞移植在治疗缺血性脑卒中的巨大临床价值。现如今,国内外广泛开展神经干细胞移植治疗脑卒中的动物/临床试验研究。尽管移植细胞剂量、动物/患者的临床状态、细胞移植的途径、有效性评价指标可能存在不同之处。但这种治疗方法疗效是肯定的,

理论上也是可行的。随着分子生物学和神经细胞科学技术的飞速发展、研究的不断深入,神经干细胞的增殖、分化和迁移机制会越来越被大家所熟知。当攻克一些关键难题之后,也许可以根据需要调整神经干细胞的迁移或分化状态,使其更好地在神经组织损伤修复或神经系统疾病治疗中发挥作用。未来的临床治疗也可能超越单细胞移植,包括使用细胞移植和促内源性神经发生相关因子或药物的共同联合治疗。但这一过程需要基础研究者与临床医师的更好的交流与配合,还需要更多随机临床对照试验来提高神经干细胞应用于临床缺血性脑卒中的安全性和可行性。

[参考文献]

- [1] O'Donnell MJ, Chin SL, Rangarajan S, et al. Global and regional effects of potentially modifiable risk factors associated with acute stroke in 32 countries (INTERSTROKE): a case-control study[J]. *Lancet*, 2016, 388(10046): 761.
- [2] Borlongan CV, Jolkkonen J, Detante O. The future of stem cell therapy for stroke rehabilitation[J]. *Future Neurol*, 2015, 10(4): 313-319.
- [3] Gage FH. Mammalian neural stem cells[J]. *Science*, 2000, 287(5457): 1433.
- [4] Joo S, Kim JY, Lee E, et al. Effects of ECM protein micropatterns on the migration and differentiation of adult neural stem cells[J]. *Sci Rep*, 2015, 5(12): 13043.
- [5] Detante O, Jaillard A, Moisan A, et al. Biotherapies in stroke[J]. *Rev Neurol*, 2014, 170(12): 779-798.
- [6] Diamandis T, Borlongan CV. One, two, three steps toward cell therapy for stroke[J]. *Stroke*, 2015, 46(2): 588-591.
- [7] Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, et al. Heart disease and stroke statistics-2014 update: a report from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2014, 129(3): e28-e292.
- [8] 王拥军. 中国脑血管病临床研究年鉴[M]. 北京: 科学出版社, 2015; 12-17.
- [9] Ding DC, Lin CH, Shyu WC, et al. Neural stem cells and stroke[J]. *Cell Transplant*, 2013, 22(4): 619-630.
- [10] Obernier K, Tong CK, Alvarezbuylia A. Restricted nature of adult neural stem cells: re-evaluation of their potential for brain repair[J]. *Front Neurosci*, 2014, 8(8): 162.
- [11] Zhang Z, Michael C. Neural stem cells and ischemic brain[J]. *J Stroke*, 2016, 18(3): 267-272.
- [12] Aboody K, Capela A, Niazi N, et al. Translating stem cell studies to the clinic for CNS repair: current state of the art and the need for a Rosetta stone[J]. *Neuron*, 2011, 70(4): 597-613.
- [13] Horie N, Hiu T, Nagata I. Stem cell transplantation enhances endogenous brain repair after experimental stroke[J]. *Neurologia Med Chir (Tokyo)*, 2015, 55(2): 107-112.
- [14] Wang Y, Reis C, Stier G, et al. Ischemic conditioning-induced endogenous brain protection: Applications pre-, per- or post-stroke[J]. *Exp Neurol*, 2015, 272: 26-40.
- [15] Yamashita T, Abe K. Recent progress in therapeutic strategy for ischemic stroke[J]. *Cell Transplant*, 2016, 25(5): 893-898.
- [16] Gutiérrez-Fernández M, Fuentes B, Rodríguez-Frutos B, et al. Trophic factors and cell therapy to stimulate brain repair after ischaemic stroke[J]. *J Cell Mol Med*, 2012, 16(10): 2280-2290.
- [17] Jablonska A, Drela K, Wojcikstanszek L, et al. Short-lived human umbilical cord-blood-derived neural stem cells influence the endogenous secretome and increase the number of endogenous neural progenitors in a rat model of lacunar stroke[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(9): 1-13.
- [18] Florio M, Huttner WB. Neural progenitors, neurogenesis and the evolution of the neocortex[J]. *Development*, 2014, 141(11): 2182-194.
- [19] Pino A, Fumagalli G, Bifari F, et al. New neurons in adult brain: distribution, molecular mechanisms and therapies[J]. *Biochem Pharmacol*, 2017, 141: 4-22.
- [20] Gage FH, Temple S. Neural stem cells: generating and regenerating the brain[J]. *Neuron*, 2013, 80(3): 588-601.
- [21] Nakagomi T, Molnar Z, et al. Leptomeningeal-derived doublecortin-expressing cells in poststroke brain[J]. *Stem Cells Dev*, 2012, 13(21): 2350-354.
- [22] Regalado-Santiago C, Juárez-Aguilar E, Olivares-Hernández JD, et al. Mimicking neural stem cell niche by biocompatible substrates[J]. *Stem Cells Int*, 2016, 2016: 1513285.
- [23] Lalli G. Extracellular signals controlling neuroblast migration in the postnatal brain[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2014, 800: 149-180.
- [24] Respondek M, Buszman E. Regulation of neurogenesis: factors affecting of new neurons formation in adult mammals brain[J]. *Postepy Hig Med Dosw*, 2015, 69: 1451-461.
- [25] Bang OY. Clinical trials of adult stem cell therapy in patients with ischemic stroke[J]. *J Clin Neurol*, 2015, 12(1): 14-20.
- [26] 王芳, 汤永红, 杨科, 等. 骨髓间充质干细胞移植对大鼠脑缺血损伤和 IL-10、TGF- β 1 表达的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2016, 24(8): 788-792.
- [27] Chang DJ, Lee N, Park IH, et al. Therapeutic potential of human induced pluripotent stem cells in experimental stroke[J]. *Cell Transplant*, 2013, 22(8): 1427-440.

- [28] Fox IJ, Daley GQ, Goldman SA, et al. Use of differentiated pluripotent stem cells in replacement therapy for treating disease[J]. *Science*, 2014, 345(6199): 1247-391.
- [29] Nagpal A, Kremer KL, Hamilton-Bruce MA, et al. TOOTH (The open study of dental pulp stem cell therapy in humans): study protocol for evaluating safety and feasibility of autologous human adult dental pulp stem cell therapy in patients with chronic disability after stroke[J]. *Int J Stroke*, 2016, 11(5): 575-585.
- [30] 高海军, 刘朋飞, 金明月, 等. 干细胞移植治疗脑缺血的研究进展[J]. *中国老年学*, 2015, 35(11): 3 153-156.
- [31] Tobin MK, Bonds JA, Minshall RD, et al. Neurogenesis and inflammation after ischemic stroke: what is known and where we go from here[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2014, 34(10): 1 573-584.
- [32] Fujioka T, Kaneko N, Ajioka I, et al. $\beta 1$ integrin signaling promotes neuronal migration along vascular scaffolds in the post-stroke brain[J]. *Ebiomedicine*, 2017, 16: 195-203.
- [33] Yan T, Chopp M, Chen J. Experimental animal models and inflammatory cellular changes in cerebral ischemic and hemorrhagic stroke[J]. *Neurosci Bull*, 2015, 31(6): 717-734.
- [34] Hassani Z, O'Reilly J, Pearse Y, et al. Human neural progenitor cell engraftment increases neurogenesis and microglial recruitment in the brain of rats with stroke[J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e50444.
- [35] Dai J, Li SQ, Qiu YM, et al. Migration of neural stem cells to ischemic brain regions in ischemic stroke in rats[J]. *Neurosci Lett*, 2013, 552(1): 124-128.
- [36] Chen L, Qiu R, Li L, et al. The role of exogenous neural stem cells transplantation in cerebral ischemic stroke[J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2014, 10(11): 3 219-230.
- [37] Huang L, Wong S, Snyder EY, et al. Human neural stem cells rapidly ameliorate symptomatic inflammation in early-stage ischemic-reperfusion cerebral injury[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2014, 5(6): 129.
- [38] Kalladka D, Muir KW. Brain repair: cell therapy in stroke[J]. *Stem Cells Cloning*, 2014, 7(7): 31-44.
- [39] Yamashita T, Liu W, Matsumura Y, et al. Novel therapeutic transplantation of induced neural stem cells for stroke[J]. *Cell Transplant*, 2017, 26(3): 461-467.
- [40] 陈涛, 田增民, 杜亚楠. 神经干细胞移植途径的理论研究进展[J]. *中国组织工程研究*, 2009, 13(40): 7 947-950.
- [41] Thies RS, Murry CE. The advancement of human pluripotent stem cell-derived therapies into the clinic[J]. *Development*, 2015, 142(18): 3 077-084.
- [42] Kalladka D, Sinden J, Pollock K, et al. Human neural stem cells in patients with chronic ischaemic stroke (PISCES): a phase 1, first-in-man study[J]. *Lancet*, 2016, 388(10046): 787-796.
- [43] Bang OY. Clinical trials of adult stem cell therapy in patients with ischemic stroke[J]. *J Clin Neurol*, 2015, 12(1): 14-20.
- [44] Qiao L, Huang F, Zhao M, et al. A two-year follow-up study of cotransplantation with neural stem/progenitor cells and mesenchymal stromal cells in ischemic stroke patients[J]. *Cell Transplant*, 2014, 23(1): S65-S72.
- [45] Chen L, Xi H, Huang H, et al. Multiple cell transplantation based on an intraparenchymal approach for patients with chronic phase stroke[J]. *Cell transplant*, 2013, 22(1): S83-S91.
- [46] Bhasin A, Srivastava MVP, Mohanty S, et al. Stem cell therapy: a clinical trial of stroke[J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2013, 115(7): 1 003-008.
- [47] Li L, Jiang Q, Ding G, et al. Effects of administration route on migration and distribution of neural progenitor cells transplanted into rats with focal cerebral ischemia, an MRI study[J]. *Cereb Blood Flow Metab*, 2010, 30: 653-662.
- [48] Lees JS, Sena ES, Egan KJ, et al. Stem cell-based therapy for experimental stroke: a systematic review and meta-analysis[J]. *Int J Stroke*, 2012, 7(7): 582-588.
- [49] Boltze J, Arnold A, Walczak P, et al. The dark side of the force-constraints and complications of cell therapies for stroke[J]. *Front Neurol*, 2015, 6(17): 155.

(此文编辑 文玉珊)