

- 8 Jaroszewicz J, Rogalska M, Flisiak I, *et al.* Successful antiviral therapy is associated with a decrease of serum prohepcidin in chronic hepatitis C[J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(14):1747-1752
- 9 Andriopoulos B Jr, Corradini E, Xia Y, *et al.* BMP6 is a key endogenous regulator of hepcidin expression and iron metabolism[J]. *Nat Genet*, 2009, 41(4): 482-487
- 10 管宇, 安鹏, 张竹珍, 等. 血色病的临床与基础研究进展[J]. *生命科学*, 2012, 24(8): 775-784
- 11 Tefferi A, Vardiman JV. Myelodysplastic syndromes[J]. *N Engl J Med*, 2009, 361(19): 1872-1885
- 12 Winder A, Lefkowitz R, Ghoti H, *et al.* Urinary hepcidin excretion in patients with myelodysplastic syndrome and myelofibrosis[J]. *Br J Haematol*, 2008, 142(4): 669-671
- 13 Tanno T, Porayette P, Sripichai O, *et al.* Identification of TWSG1 as a second novel erythroid regulator of hepcidin expression in murine and human cells[J]. *Blood*, 2009, 114(1): 181-186
- 14 Liu G, Men P, Gerry H, *et al.* Age-associated iron accumulation in bone: Implications for postmenopausal osteoporosis and a new target for prevention and treatment by chelation[J]. *Bio Metals*, 2006, 19(3): 245-251
- 15 都本才, 徐又佳, 张鹏, 等. Hepcidin 对人成骨细胞增殖凋亡钙化功能的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2011, 5(31): 816-818
- 16 Zaritsky J, Young B, Wang HJ, *et al.* Hepcidin - a potential novel biomarker for iron status in chronic kidney disease[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2009, 4: 1051-1056
- 17 Dallaglio G, Law E, Means RT Jr. Hepcidin inhibits in vitro erythroid colony formation at reduced erythropoietin concentrations[J]. *Blood*, 2006, 107: 2702-2704
- 18 Zhang YZ, He YW, Dai YA, *et al.* Interacting roles of immune mechanisms and viral load in the pathogenesis of huaiyangshan viral infection and the relationship to fatality[J]. *Clin Infect Dis*, 2012, 54(4): 527-533
- 19 牛诗雯, 宁波. Hepcidin 与疾病关系和其临床意义的研究进展[J]. *生命科学*, 2012, 24: 817-826
- 20 Nicolae CD, Coman OA. Hepcidin in neoplastic disease[J]. *Journal of Medicine and Life*, 2013, 6(3): 355-359
- 21 Wang S, Gao C, Chen B. Advancement of the study on iron metabolism and regulation in tumor cells[J]. *Chinese Journal of Cancer*, 2010, 29(4): 451-455
- 22 Valenti L, Dongiovanni P. Serum hepcidin and macrophage iron correlate with MCP-1 release and vascular damage in patients with metabolic syndrome alterations[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(3): 683-690
- 23 Saeed O, Otsuka F. Pharmacological suppression of Hepcidin increases macrophage cholesterol efflux and reduces foam cell formation and atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(2): 299-307
- 24 Li JJ, Meng X. Hepcidin destabilizes atherosclerotic plaque via over-activating macrophages after erythrophagocytosis[J]. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 2012, 32: 1158-1166

(收稿日期: 2014-03-21)

(修回日期: 2014-04-16)

骨髓间充质干细胞移植治疗脑外伤的研究进展

黄晓蕾 赵江民

摘要 骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSC)来源于骨髓非造血干细胞,在骨髓中储量丰富。由于其来源广泛,遗传背景稳定,免疫原性低,在特定微环境下能分化为神经元和胶质细胞,对神经系统疾病的治疗具有重要的理论基础和实际意义,被认为是移植治疗脑外伤的理想供体之一。现对近年来国内外开展 BMSC 治疗脑外伤相关研究进行综述。

关键词 骨髓间充质干细胞 脑外伤 治疗

[中图分类号] R651 [文献标识码] A

骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, BMSC)来源于骨髓非造血干细胞,具有很强的自我更新和多向分化潜能,可在体外适宜条件下诱导后表达神经元特异性烯醇酶(neuron specific enolase, NSE)、神

经元特异性核蛋白(neuron-specific nuclear protein, NeuN)、微管相关蛋白 2(microtubule associated protein 2, MAP2)等成熟神经元标志物,分化成神经元样细胞^[1]。BMSC 还具有定向迁移达损伤部位的能力。脑外伤后,血脑屏障及脑脊液脑屏障结构的完整性遭破坏,这为 BMSC 经循环和脑室系统进入中枢神经系统发挥治疗作用提供了结构基础。本文将对 BMSC 治疗脑外伤的移植过程、效用机制和免疫学特性研究进行综述。

基金项目:上海市科委科技创新行动计划重点项目(10411953400);上海交通大学医学院基金资助项目(12XJ30061)

作者单位:201999 上海交通大学医学院附属第三人民医院

通讯作者:赵江民,电子邮箱:johnmzhao@sjtu.edu.cn

一、BMSC 移植方法

脑局部注射、血管注射、脑脊液注射是目前常用的移植途径。脑局部注射方法对神经功能恢复和移植后细胞数量有明显提高,目前仍在实验研究中广泛应用^[2]。但近来有研究指出由于脑外伤早期造成的局部微环境细胞坏死裂解物质及毒素神经递质、氧自由基等严重限制了微环境营养物质和氧气扩散,移植的 BMSC 受周围环境影响难以存活,推测注射时间点可能对脑局部注射效果至关重要^[3]。血管注射有诸多优势,能够增加损伤边缘区血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)分泌,直接刺激自体肺组织巨噬细胞分泌多种抗炎因子,如 IL-4 和 IL-10 等^[4]。但大鼠尾静脉注射受到肺循环、肝脏首过效应和血脑屏障等影响,仅有少部分 BMSC 迁移到损伤区域。近年来研究采用颈内外动脉注射 BMSC 进行移植,减少循环中的损耗^[5]。经脑脊液注射也能够使 BMSC 迁移到脑损伤部位,脑损伤模型的运动功能障碍得到改善,这一途径常被用于临床试验研究中^[6]。目前,限制 BMSC 用于临床治疗的主要障碍是其对损伤组织的低效迁移率和结合能力。若能改进 BMSC 的移植方法,使其有效地向损伤部位迁移和归巢,将极大地改善 BMSC 移植的治疗效能。

二、BMSC 归巢的分子机制

BMSC 归巢,是指自体或外源性 BMSC 在多种因素的作用下趋向性迁移至靶向组织并存活的过程^[7]。在 BMSC 归巢过程中可能存在两种使 BMSC 黏附于血管内皮的机制:(1)被动捕获:BMSC 通过相对较细的毛细血管时,BMSC 被动停滞在血管内皮表面。(2)主动黏附:BMSC 变形游走到毛细血管后微静脉,通过某些因子的介导在损伤区域发生滚动黏附。了解 BMSC 黏附于损伤区血管内皮的机制对提高 BMSC 归巢效率有重要意义。

损伤局部产生的趋化因子是介导 BMSC 归巢的重要介质,SDF-1/CXCR4 生物轴在归巢过程中发挥着重要作用。研究发现,原代培养的 BMSC 具有更强的归巢能力,在传代过程中 BMSC 细胞膜上某种表面受体发生改变,随后证实,其胞膜表面缺乏趋化因子受体 CXCR4,并且检测到其配体 SDF-1 在损伤局部的缺血微环境中上调^[8]。同时有研究指出基质金属蛋白酶 2(matrix metalloproteinase-2, MMP2)、基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinases-9, MMP-9)等因子也与 BMSC 的迁移相关^[9]。BMSC 能够分泌这些蛋白酶,蛋白酶通过降解内皮基膜及胞外基质参与

调节迁移过程。这些研究说明,BMSC 主要通过多种因子的介导进行趋化迁移,最终在血管壁黏附完成定植。BMSC 归巢过程的机制复杂,参与调控的分子种类众多,探索主要的调控分子仍需进行深入研究。

三、BMSC 移植的作用机制

1. 分泌多种神经营养因子:Hong 等^[10]利用人脐带间充质干细胞(HUMSC),研究间充质干细胞移植前是否有必要进行转分化,尽管转分化形成的神经元样细胞表达了神经元标志物,但 HUMSC 分泌更多的脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)、神经营养因子 3(neurotrophins-3, NT-3)等,对改善脑外伤模型的脑组织形态和认知功能更有效。这说明间充质干细胞通过自身分化为神经元样细胞,但在短期内很难整合到脑损伤部位来促进神经功能有效恢复,因此组织细胞替代作用可能并非 BMSC 移植的主要作用机制。

BMSC 能够分泌各种神经营养因子,改善损伤区神经元局部微环境,如 NT-3、BDNF、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)等^[11]。NT-3 不仅能够促进损伤区血管生成和神经再生,还能明显促进 MSC 对其他神经营养因子的分泌^[12]。BDNF 对脑损伤区的神经形成及功能恢复十分重要,进行 BDNF 基因转染的 MSC 移植正在成为这一领域的研究热点^[13]。VEGF 能促进血管新生,改善损伤区周围血流灌注情况,增强局部脑组织代谢水平。bFGF 能上调机体的抗氧化作用,减少大鼠脑缺血后神经元的凋亡^[14]。

2. 调控脑内微环境稳定性:脑外伤时,血脑屏障及脑脊液脑屏障结构的保护作用遭破坏,导致不可控的炎症反应,脑组织继发性损伤。血脑屏障通透性的改变主要通过内皮细胞的损伤、紧密连接的开放等方式实现。不同研究提示,BMSC 不仅可以利用脑外伤造成的内皮细胞损伤穿过血脑屏障,而且分泌 MMP-9 增加血管通透性,进而穿透血脑屏障^[15]。而 Menge 等^[16]研究证实由 BMSC 分泌的基质金属蛋白酶抑制因子-3(matrix metalloproteinases-3, TIMP3)在降低血脑屏障渗透性方面有重要作用,其机制可能是 TIMP3 能够抑制内皮生长因子 A 对血脑屏障中毛细血管内皮细胞紧密连接的分解作用。这些说明 BMSC 可能根据周围环境变化分泌不同因子调节血脑屏障通透性。

抗炎特性是 BMSC 发挥神经保护作用的另一重

要机制。Christensen 等^[17]将 C57BL/6 小鼠来源 BM-SC 与 T 细胞混合培养,发现当混合培养的比值高于 1:100 时,干细胞能有效抑制 T 细胞增生,使 T 细胞从促炎状态转换成抗炎状态。Walker 等^[4]在观察 BM-SC 对肺巨噬细胞的作用时发现,其能增加调节性 T 细胞数量,促进抗炎因子生成,进而促进局部微环境改善。这种微环境促进小胶质细胞群体发生相应变化,使 M2(anti-inflammatory)/M1(proinflammatory)的比值升高。这些研究证明 BMSC 可能有改善局部炎症环境的作用。

总之,BMSC 在脑外伤部位分泌的多种神经营养因子和营造的微环境为神经功能的恢复创造了适宜的环境。受损脑组织能在此环境下高效利用脑内储存的氧气和葡萄糖,进行神经再生、血管形成和突触发生。

四、BMSC 的低免疫原性

免疫排斥是限制干细胞用于异体替代治疗的主要问题之一,但 BMSC 具有独特的免疫学特性,BMSC 表面缺乏抗原递呈分子及协同刺激分子,免疫原性低,其本身不易被排斥。而且,BMSC 还能够发挥免疫抑制活性,如抑制 T 细胞增殖,降低 B 细胞免疫球蛋白的合成,诱导调节性 T 细胞的免疫耐受。利用 BMSC 的免疫抑制特性治疗自身免疫病已经取得了诸多成果。但有研究提出不同观点,在 IFN- γ 作用下 BMSC 可以增加表达 HLA-AB 和 HLA-DR 两类抗原递呈分子,体内环境复杂^[18]。BMSC 输入体内的安全性,是否会有致瘤风险,有待于进一步研究。

五、展望

Tian 等^[6]报道,经过对接受 BMSC 移植治疗的 97 位患者观察 2 周后发现,BMSC 移植治疗能够有效改善脑外伤亚急性期的神经功能且未出现明显不良反应。目前 BMSC 的研究大多局限在动物实验水平,至今报道的 BMSC 在脑外伤移植治疗中的临床实验比较局限,还需扩大临床试验,探索最合适的临床输注剂量,以达到最佳疗效。

近年来,在基因、分子水平对 BMSC 进行了大量研究,并取得了一定的研究成果,但在临床应用前仍有一些问题亟待解决,如调控 BMSC 的归巢因子种类众多,哪一种是最有效的调控分子,它的作用机制是什么?接受 BMSC 移植的供体及受体标准怎样界定?BMSC 移植的长期安全性评价、治疗剂量和周期的统一等,相信随着 BMSC 对脑外伤治疗相关研究的不断深入,BMSC 移植必将发挥不可替代的作用。

参考文献

- 1 Khoo ML, Shen B, Tao H, *et al.* Long-term serial passage and neuronal differentiation capability of human bone marrow mesenchymal stem cells[J]. *Stem Cells and Development*, 2008, 17(5): 883-896
- 2 行治国, 金林, 张冬子, *et al.* 骨髓间充质干细胞移植治疗大鼠脑内出血[J]. *中华神经外科疾病研究杂志*, 2011, 10(5): 428-431
- 3 Han EY, Chun MH, Kim ST, *et al.* Injection time-dependent effect of adult human bone marrow stromal cell transplantation in a rat model of severe traumatic brain injury[J]. *Current Stem Cell Research & Therapy*, 2013, 8(2): 172-181
- 4 Walker PA, Shah SK, Jimenez F, *et al.* Bone marrow-derived stromal cell therapy for traumatic brain injury is neuroprotective via stimulation of non-neurologic organ systems[J]. *Surgery*, 2012, 152(5): 790-793
- 5 Ruan GP, Han YB, Wang TH, *et al.* Comparative study among three different methods of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation following cerebral infarction in rats[J]. *Neurological Research*, 2013, 35(2): 212-220
- 6 Tian C, Wang X, Wang L, *et al.* Autologous bone marrow mesenchymal stem cell therapy in the subacute stage of traumatic brain injury by lumbar puncture[J]. *Experimental and Clinical Transplantation*, 2013, 11(2): 176-181
- 7 Illien-Junger S, Pattappa G, Peroglio M, *et al.* Homing of mesenchymal stem cells in induced degenerative intervertebral discs in a whole organ culture system[J]. *Spine*, 2012, 37(22): 1865-1873
- 8 Won YW, Patel AN, Bull DA. Cell surface engineering to enhance mesenchymal stem cell migration toward an SDF-1 gradient[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(21): 5627-5635
- 9 Wei N, Yu SP, Gu X, *et al.* Delayed intranasal delivery of hypoxic-preconditioned bone marrow mesenchymal stem cells enhanced cell homing and therapeutic benefits after ischemic stroke in mice[J]. *Cell Transplantation*, 2013, 22(6): 977-991
- 10 Hong SQ, Zhang HT, You J, *et al.* Comparison of transdifferentiated and undifferentiated human umbilical mesenchymal stem cells in rats after traumatic brain injury[J]. *Neurochemical Research*, 2011, 36(12): 2391-2400
- 11 Wang LJ, Zhang RP, Li JD. Transplantation of neurotrophin-3-expressing bone mesenchymal stem cells improves recovery in a rat model of spinal cord injury[J]. *Acta Neurochirurgica*, 2014, 156(7): 1409-1418
- 12 Shen L, Zeng W, Wu YX, *et al.* Neurotrophin-3 accelerates wound healing in diabetic mice by promoting a paracrine response in mesenchymal stem cells[J]. *Cell Transplantation*, 2013, 22(6): 1011-1021
- 13 Jeong CH, Kim SM, Lim JY, *et al.* Mesenchymal stem cells expressing brain-derived neurotrophic factor enhance endogenous neurogenesis in an ischemic stroke model[J]. *BioMed Research International*, 2014, 2014: 129145
- 14 Bhang SH, Lee YE, Cho SW, *et al.* Basic fibroblast growth factor promotes bone marrow stromal cell transplantation-mediated neural regeneration in traumatic brain injury[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2014, 455(1): 105-110

- cal Research Communications, 2007, 359(1): 40-45
- 15 Ries C, Egea V, Karow M, *et al.* MMP-2, MT1-MMP, and TIMP-2 are essential for the invasive capacity of human mesenchymal stem cells: differential regulation by inflammatory cytokines [J]. *Blood*, 2007, 109(9): 4055-4063
 - 16 Menge T, Zhao Y, Zhao J, *et al.* Mesenchymal stem cells regulate blood-brain barrier integrity through TIMP3 release after traumatic brain injury [J]. *Science Translational Medicine*, 2012, 4(161): 150-161.
 - 17 Christensen ME, Turner BE, Sinfield LJ, *et al.* Mesenchymal stromal cells transiently alter the inflammatory milieu post-transplant to delay graft-versus-host disease [J]. *Haematologica*, 2010, 95(12): 2102-2110
 - 18 Oh W, Kim DS, Yang YS, *et al.* Immunological properties of umbilical cord blood-derived mesenchymal stromal cells [J]. *Cellular Immunology*, 2008, 251(2): 116-123
- (收稿日期: 2014-04-18)
(修回日期: 2014-04-29)

年龄与 PCOS 表型的相关性

丁春丽 侯丽辉 乔世聪 李妍 郝松莉

摘要 多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS) 是一种育龄妇女最常见的内分泌紊乱疾病, 以高雄激素血症、稀发排卵或无排卵、超声下卵巢多囊样 (polycystic ovary, PCO) 改变为特征, 且 PCOS 往往合并胰岛素抵抗、2 型糖尿病、高血压和心血管疾病等, 其诊断标准及并发症均与年龄相关。随着年龄的增长, 多毛和痤疮的发生率及卵巢体积和卵泡数目均呈下降趋势, 而发生胰岛素抵抗及代谢紊乱的风险增高。青春期 PCOS 的病理变化与正常青春期生理变化相似, 因此目前 PCOS 的诊断标准并不完全适用于青少年患者。高雄激素血症和无排卵是年轻的 PCOS 女性的主要症状, 而中年的 PCOS 女性主要表现为肥胖、胰岛素抵抗和代谢紊乱。胰岛素抵抗的恶化会进一步加重育龄期 PCOS 女性的肥胖。因此, 如果适当控制体重, 可以降低年轻的高雄激素血症的 PCOS 女性发生胰岛素抵抗和代谢紊乱的风险。

关键词 多囊卵巢综合征 表型 年龄 肥胖 胰岛素抵抗

[中图分类号] R711.75 [文献标识码] A

多囊卵巢综合征 (PCOS) 是育龄期妇女最常见的内分泌紊乱疾病, 其发生率约为 6% ~ 8%^[1]。PCOS 是一种复杂的、多样化的疾病, 影响女性生殖、外观、代谢等多方面的问题, 其病因及病理生理机制至今尚未明确, 可能与下丘脑-垂体-卵巢轴调节功能异常、胰岛素抵抗、高胰岛素血症及肾上腺内分泌功能异常有关, 但其临床特点会随着年龄的增长而改变^[2]。PCOS 对女性的无排卵性不孕和育龄妇女的高雄激素症状均有影响, 其合并症需要个体化治疗。

一、诊断

1. 诊断标准: 目前, PCOS 有 3 种诊断分类系统: 美国国立卫生研究院 (NIH) 标准, 鹿特丹标准, 雄激

素过多性疾病协会 (AES) 标准。所有这些标准都需要排除其他疾病, 如先天性肾上腺皮质增生症和肿瘤。根据鹿特丹标准, PCOS 的诊断应包括以下 3 项中的两项: ①稀发排卵或无排卵; ②高雄激素血症; ③超声下卵巢多囊改变。最近, AES 发表的报告中强调, 雄激素过多是 PCOS 的一个核心特征, PCOS 诊断时应同时具备高雄激素血症和卵巢功能不全 [稀发排卵或无排卵和 (或) 多囊卵巢]^[1]。

2. PCOS 的临床和生化特征随年龄的增长而改变: 随着年龄的增加, PCOS 女性的月经周期可能变得规律。女性体内的雄激素水平随着卵巢的老化或者肾上腺合成的减少而降低^[3]。无论是否患有 PCOS, 女性的卵巢体积和卵泡数目均随年龄的增长而减少^[4]。因此, PCOS 的临床特征和代谢结局会随着年龄而改变, 而这些变化也会影响 PCOS 的发生率。

二、青春期

青春期女性普遍存在月经紊乱及胰岛素抵抗的特征, 这使青春期 PCOS 的诊断较为困难^[5]。这种月经紊乱常被认为是由于下丘脑-垂体-卵巢轴 (HPO) 的不成熟造成的。卵泡刺激素 (FSH) 和促黄

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划项目 (2007BAI20B015); 国家公益性行业慢病专项 (201107005); 国家中医药管理局国家中医临床研究基地业务建设科研专项课题 (JDZX2012039)

作者单位: 150040 哈尔滨, 黑龙江中医药大学 (丁春丽、乔世聪); 150040 哈尔滨, 黑龙江中医药大学附属第一医院 (侯丽辉、李妍、郝松莉)

通讯作者: 侯丽辉, 电子信箱: houlihui2007@sina.com