

·综述·

干细胞移植在中枢神经系统疾病中的应用进展*

唐茜茜¹ 崔元孝^{1,2}

长期以来,医学界一直认为,神经细胞属于一种永久细胞,缺乏再生能力。因此,传统观点认为:中枢神经系统受损后造成大量神经元缺失时,因不能产生新的神经元,建立新的突触联系,而致损伤后的功能难于恢复。因此,中枢神经系统疾病历来是临床治疗面临的一个世界性的难题。随着科技的进步和医疗技术的发展,人们发现了干细胞在治疗中枢神经系统损伤中的巨大潜能,干细胞的发现改变了以往认为成年哺乳动物中枢神经神经元不能再生的认识,因此干细胞移植成为了当前国际医学界关注的热点,为人类神经疾病的治疗带来了希望。

1 干细胞的来源和分类

1.1 胚胎干细胞

20世纪50年代,畸胎瘤干细胞的发现开启了胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)生物学研究历程。随着ESC的研究日益深入,生命科学对人类ESC的了解迈入了一个新的阶段。在1998年末,两个研究小组成功培养出人类ESC,保持了ESC分化为各种体细胞的全能性。近年来,研究者在研究ESC自我更新和分化方面取得了巨大的进展,他们发现miRNAs基因可以调控ESC的自我更新和分化。他们认为miRNAs可以通过特异性抑制靶基因mRNAs翻译或切割靶基因mRNA发挥负调控基因表达作用,miRNAs与ESC自我更新转录因子相互调控,而且miRNAs可下调细胞内维持干细胞未分化状态的基因表达水平,同时激活干细胞谱系特异性基因,从而起到调控ESC自我更新和分化的作用^[1-2]。但是由于胚胎干细胞存在伦理学、免疫排斥以及潜在的致癌性等问题限制了它在临床上的应用。

1.2 成体干细胞

1.2.1 间质干细胞:间质干细胞是具有分化潜能的成体干细胞,来源于中胚层间充质,主要存在于全身结缔组织和器官间质中。最主要来源于骨髓称为骨髓间质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs),还可来源于骨骼肌,但间质干细胞是否来源于脐带血仍然存在着争议,但越来越多的实验证明脐带血能分离得到间质干细胞。Yen等^[3]

报道间质干细胞还可以来源于胎盘。外周血及脂肪组织也可分离和培养出间质干细胞,最近有报道称胎儿肺脏、胰腺、肝脏、肾脏来源的贴壁细胞和胎儿、新生大鼠的真皮中也成功分离出了间质干细胞。一些实验表明MSCs可以分化为神经元样细胞。但是间质干细胞诱导分化为的神经元样细胞大多在24h内死亡。高亮等^[4]采用细胞培养技术分离培养和纯化大鼠MSCs,以褪黑素(melatonin, MT)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)为诱导剂定向诱导大鼠MSCs向神经元细胞分化。结果表明MT和bFGF可以诱导大鼠MSCs向神经元细胞分化,并存活14d以上,稳定表达神经元细胞的特异性标记神经特异性烯醇化酶。这就为MSCs治疗中枢神经系统疾病提供理想供体提供了可能。

1.2.2 神经干细胞:Mckay于1997年正式提出了神经干细胞的概念:神经干细胞(neural stem cell, NSCs)是具有分化为神经元、星形胶质细胞及少突胶质细胞的能力,能自我更新并足以提供大量脑组织细胞的细胞。1992年首次从成年小鼠脑纹状体中分离出能在体外不断分裂增殖,且具有多种分化潜能的细胞群^[5]。随后的很多实验发现海马、室管膜区、脑室下区、大脑皮质、嗅球、间脑、小脑、脊髓和视网膜均分离到神经干细胞。影响神经干细胞增殖分化的因素有很多,不同的环境下干细胞分化的方向也不同。在多细胞有机体内,每一个细胞的活动均受到极其复杂的内外环境信号之间相互作用的调控,其中生长因子可能是涉及此过程中的主要信号分子。研究应用最多的生长因子是表皮细胞生长因子(epidermal growth factor, EGF)和bFGF。

当EGF和bFGF注射入成年鼠脑室内,EGF可强烈刺激侧脑室附近的脑室下带(subventricular zone, SVZ)细胞增殖,对海马的齿状回颗粒细胞下层(subgranular zone, SGZ)的细胞则无作用;bFGF的作用相对较弱,但是新生鼠通过注射bFGF则可导致脑内神经元的数目增多。已经检测具有相类似作用的还有神经生长因子、血小板源性生长因子、转化生长因子、神经营养因子等,但是他们的作用机制仍不清楚。

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2011.07.024

*基金项目:山东省自然科学基金(Y2006C79,Y2008SC27)

1 山东大学附属省立医院神经内科,济南,250021; 2 通讯作者
作者简介:唐茜茜,女,硕士研究生; 收稿日期:2010-07-08

2 干细胞的生物学特性

2.1 神经干细胞的生物学特性

①多向分化潜能和分裂增殖能力:神经干细胞具有分化为神经系统大部分类型细胞的能力,其分裂有不对称和对称分裂两种。②可以长期自我更新维持自身数量稳定,保持未分化的特性。③具有对损伤和疾病的反应能力。当中枢神经系统受损以后,内源性神经干细胞可以被激活,开始机体的部分修复功能。④神经干细胞的分子标志:特异性蛋白——神经巢蛋白(nestin)。近年来发现CD133是神经干细胞特异的表面抗原,可以用来分离和鉴定神经干细胞。⑤迁移、趋化功能和良好的组织融合性。移植后的神经干细胞受病变部位神经源性信号的影响,具有向病变和肿瘤部位迁移和趋化的嗜性,随后分化成特异性细胞。⑥低免疫原性。神经干细胞是未分化的原始细胞,不表达成熟细胞抗原,具有低免疫原性。故在移植后相对较少发生异体排斥反应,有利于其存活。

2.2 间质干细胞的生物学特性

①分化能力和可塑性:BMSCs能向3个胚层几乎所有的细胞类型分化。②异质性:由于细胞表面缺乏特异性标志物,最终得到的BMSC是一个异质的细胞群,缺乏均一性^[6]。因此,如何从贴壁的异质细胞群中分离得到较为纯化的MSCs具有重要的意义。③免疫性:体外实验表明,BMSCs具有低免疫原性并抑制免疫反应的特性。还有的研究者发现异体BMSCs在体外不发生免疫排斥反应,在体内则会发生。因此关于BMSCs的免疫性问题仍有待于研究。④具有迁移和组织融合性。⑤能够转染和长期表达外源基因,因此BMSCs可能成为基因治疗和细胞治疗的靶细胞。

3 干细胞移植的时间窗

在干细胞移植治疗中枢神经损伤的研究中,移植时间窗对治疗效果影响很大。一些研究者认为在损伤24h之内损伤组织产生的氧自由基、炎性细胞、肿瘤坏死因子等不利于移植细胞的存活,他们认为移植时间应在伤后1周左右^[7]。还有些研究则认为移植主要是在脑损伤3—24h进行^[8],这可能是因为神经干细胞可以通过中和缺血后产生的自由基、炎症因子、神经兴奋性毒素等毒性代谢产物而发挥直接的神经保护作用,从而促进受损脑细胞的存活。Katsuya等^[9]通过静脉注射MSCs到大脑中动脉闭塞大鼠模型中,实验发现闭塞后7d移植MSCs,MRI显示局部脑缺血面积较对照组减小,但是如果在梗死后1个月移植,在局部缺血灶周围有更多的血管形成,大鼠的功能恢复得更好,结果显示在大脑中动脉闭塞至少1个月后进行干细胞移植会得到更好的效果,他们认为这种疗效的发生主要和血管形成机制有关。因此干细胞移植的时间窗仍然存在着争议,这还需要我们进一步的研究

来探讨干细胞移植的最佳时间窗。

4 干细胞作用的机制

4.1 替代作用

神经干细胞具有分化成多种细胞的能力,将新的细胞移植到中枢神经系统内来替代因损伤或疾病而缺失的神经细胞,从而达到修复的目的。而且移植的干细胞可以减少损伤区域的细胞凋亡和促进内源性神经干细胞的增殖。

4.2 基因载体作用

一方面将神经生长因子等通过转基因技术导入干细胞内,移植后使其在移植部位表达,改善局部微环境,维持细胞生存和增殖。另一方面,通过基因修饰,使移植的干细胞可以产生某种特殊蛋白,如产生抗癌药物,从而达到治疗中枢神经系统肿瘤的目的。

4.3 减少细胞凋亡,神经保护和营养作用

Yoo等^[10]研究发现,缺血性卒中本身也会刺激内源性神经干细胞增殖,但是作用的时间很短暂,BMSCs脑内移植后,内源性神经干细胞增殖显著增加,且存活时间显著延长,并向梗死周边区域迁移以及向神经细胞分化,提示BMSC亦可抑制内源性神经干细胞凋亡。干细胞不仅可以在移植位点释放多种神经营养因子,而且它还可以促进脑组织本身的营养因子的分泌,发挥保护和营养的作用。

4.4 促进损伤区域的血管发生和髓鞘再生

Chen等^[11]将MSCs移植入中脑动脉闭塞大鼠模型中,结果发现治疗组梗死周围的毛细血管数目明显高于对照组,且治疗组血管内皮生长因子和血管内皮生长因子受体-2的表达水平也明显增高,这说明了移植的干细胞可以促进损伤区域的血管再生,为受损的脑组织提供了良好的循环通路。一些研究者^[12]通过实验向中脑动脉闭塞的大鼠脑内移植MSCs,分别对轴突和髓鞘染色发现,MSCs可明显增加轴突和髓鞘的修复,相对于对照组其轴突和髓鞘受损明显减轻,这表明MSCs具有促进髓鞘再生的作用。

4.5 免疫调节作用

Martino等^[13]研究显示神经干细胞移植主要是通过抑制炎症性损害而不是直接的替代作用。Daniele等^[14]的研究,这说明大鼠肢体功能的恢复和ESCs的替代作用关联不大,进一步研究发现损伤部位中性粒细胞和巨噬细胞的数量明显减少,这是因为移植的细胞发挥了抵抗炎症细胞侵入和保护髓鞘的功能。

5 干细胞移植的途径

5.1 内源性途径

内源性途径即通过激活内源性干细胞并诱导其增殖、分化,产生各种神经细胞以替代缺损细胞,这样就可避免外源

性干细胞移植带来的创伤和产生的免疫反应。但是内源性修复是急性缺血后的一个短暂的过程,单纯的环境信号变化刺激产生的内源性神经干细胞不足以修复损伤脑组织,而且干细胞的增殖和定向分化需要多种生长因子协同作用,单纯的损伤性刺激不能满足神经干细胞向神经元分化的这种环境。有研究者尝试在损伤部位应用某些激活因子以激活存在该处的神经干细胞,诱导其增殖、分化,但是由于诱导内源性干细胞分化的调控机制和技术条件尚不成熟,因此研究也受到了很大的阻力。

5.2 外源性途径

干细胞移植是将干细胞培养为神经细胞或特定功能的神经细胞后再移植到病变的宿主体内,以达到修复神经组织的目的。有些研究者认为干细胞移植是直接将干细胞移植进损伤大脑区域,因此干细胞以何种形态移植能更好的治疗中枢神经系统疾病仍然存在着争议。但是无论我们持何种观点,干细胞移植可以修复受损的脑组织、建立新的突触联系、促进肢体功能恢复这是大家所认可的。目前也已经有大量的动物和临床实验证明干细胞移植可以促进中枢神经系统损伤的神经功能恢复,并且移植的干细胞可以在受损脑组织内增殖、迁移和分化^[15]。干细胞移植由于同时达到了功能和结构两方面的修复效果,因此成为临床研究的热点。

6 干细胞移植在中枢神经系统中的应用

6.1 干细胞移植在帕金森病中的应用

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种多发于中老年人的中枢神经系统疾病,由于PD仅有一小部分细胞需要替代,而且部位明确,故干细胞移植治疗帕金森疾病成为神经科学领域研究的一个热点和趋势。大量实验表明,胚胎和成年脑组织干细胞均可产生多巴胺能神经元,从而为帕金森病的治疗提供了细胞来源。神经干细胞在体外不能自动分化为多巴胺能神经元,当联合应用白介素-1、白介素-11、胶质细胞源神经营养因子(glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)和白细胞抑制因子(leukocyte inhibition factor, LIF)时可以分化成具有酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)活性的多巴胺能神经元。实验证明,孤核受体(orphan nuclear receptor)和Pentraxin-3也能诱导NSCs分化为多巴胺能神经元。另外,受损部位的内环境也可影响多巴胺能神经元的分化。牛朝诗等^[16]移植溴脱氧尿苷(bromodeoxyuridine, Brdu)标记的MSCs到PD模型大鼠的纹状体内,术后2周时移植针道处及针道周围可见Brdu阳性外源MSCs,并有外源性细胞表达TH,术后4个月时移植针道内仍可以看到MSCs存活,MSCs移植的PD模型大鼠症状较PBS注射组行为学明显改善。这说明MSCs也可在大鼠PD模型的纹状体内能成活,且分化细胞能表达TH蛋白,促进大鼠PD模型行为

学症状的明显改善。帕金森病的干细胞治疗也取得了良好的临床疗效,2003年Watts等^[17]报道了视网膜细胞治疗PD患者移植的临床试验,接受治疗的6个患者随访1年后肌张力、震颤等都有不同程度的改善。

6.2 干细胞移植在阿尔茨海默病中的应用

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种以记忆力减退为特征的进行性中枢神经系统变性疾病。郭伟等^[18]利用切断双侧穹窿海马伞制作AD大鼠模型,移植入BMSCs,4周后基底前脑胆碱能神经元和海马胆碱能神经元神经纤维明显增加,且应用RT-PCR方法证明了BMSCs移植治疗后大鼠基底前脑胆碱能神经元神经生长因子(nerve growth factor, NGF)mRNA表达升高,这说明了BMSCs移植治疗对AD模型大鼠中枢胆碱能系统有保护作用,其机制可能与BMSCs移植上调基底前脑神经元NGF的表达有关。Xuan等^[19]将神经胶质干细胞和从海马分离出的神经干细胞分别标记Brdu后,将其移植入AD模型大鼠的基底前脑中,结果表明神经干细胞移植组的胆碱能神经元数目明显高于神经胶质干细胞移植组,通过迷宫实验检测大鼠的记忆和学习能力都有所改善,这说明了神经干细胞能分化成胆碱能神经元。因此干细胞移植在治疗AD起到重要的作用

6.3 干细胞移植在多发硬化中的应用

多发硬化(multiple sclerosis, MS)的神经退行性变是不可控制的,至今致病因素尚不明确。大量的实验表明大脑修复系统障碍可能是导致不可逆的神经退行性病变的一个因素。20世纪70年代,实验性的干细胞移植旨在恢复脱髓鞘区域的髓鞘结构,但是这些细胞移植有很大的局限性,如Opc4、雪旺细胞和嗅鞘细胞在体外生长和扩增很有限,在体内仅在接近移植位点的有限区域内促使髓鞘再生^[20]。而功能和形态学干细胞如胚胎干细胞和成体干细胞则可以克服这些限制应用于MS的干细胞移植。但是胚胎干细胞仍然存在无限制的增生和致瘤性等问题需要解决,成体干细胞则可以作为细胞治疗的一个有效的来源,他们能在不同组织(如脑和脊髓)中获得,因此成体干细胞被广泛的应用于实验和临床研究中,而不产生肿瘤和毒性效应^[21]。

6.4 干细胞移植在癫痫中的应用

癫痫(epilepsy)是大脑神经元突发性异常放电,导致短暂的大脑功能障碍的一种慢性疾病。颞叶癫痫(temporal lobe epilepsy, TLE)是难治性癫痫中最常见的一种^[22]。Xu等^[23]发现人或大鼠的胚胎干细胞移植入大鼠TLE模型后可以在脑内生存、迁移和整合,而且它还可以释放 γ -氨基丁酸和其他的抗惊厥分子来阻止癫痫发作。Ramkuma等^[24]从绿色荧光蛋白转基因小鼠中获得的BMCs移植入毛果芸香碱诱导的大鼠癫痫模型中,结果发现盐水治疗组大鼠出现了自发性

癫痫再发作,而MSCs移植组在短期内(移植后15d)出现了癫痫发作且MSCs没有发挥作用。经过长期慢性阶段(移植后120d)移植组仅有25%的大鼠出现了癫痫发作,而且发作的频率和持续时间较对照组明显减少,移植组海马神经元的密度也明显的增加,这说明了BMCs移植可以阻止慢性癫痫发作的发展,减少神经元的丢失,促进海马神经元的再生。

6.5 干细胞移植在脑损伤中的应用

由于脑损伤后自身修复能力很有限,到目前为止国内外治疗脑损伤的药物和外科手术均未取得满意的临床疗效。随着干细胞移植在中枢神经系统疾病应用的开展,人们开始利用干细胞移植来治疗脑损伤。高凤兰等^[25]对13例脑损伤患者进行神经干细胞移植,通过语言、肌力、智力评定,结果显示语言功能改善8例,瘫痪肢体肌力不同程度提高10例,智力改善2例,病情无明显变化者2例。Xue等^[26]将来源于脂肪组织的内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)移植于脑损伤的大鼠模型中,移植后的内皮祖细胞参与损伤脑的新血管形成,修补损伤脑组织,增加肢体功能恢复。这说明了EPCs可使脑损伤患者的肢体功能恢复,从而达到治疗脑损伤的目的。

6.6 干细胞移植在脊髓损伤中的应用

神经干细胞可以通过连接脊髓损伤断端,建立新的突触联系,同时在损伤处分泌神经营养因子,改善脊髓损伤的微环境,促进髓鞘再生,恢复神经传导。然而神经干细胞在移植几周后大部分发生死亡,因此干细胞移植治疗脊髓损伤很难达到良好的疗效。最近Jin等^[27]发现经过低氧处理的脂肪来源的间质干细胞(HP-AT-MSCs)对细胞保护具有很大的作用。他们发现HP-AT-MSCs可以增加红色荧光蛋白(DsRed)标记的NSCs的生存能力且促进DsRed的表达,减少细胞凋亡膜联蛋白的数量和降低细胞凋亡因子BAX的表达。因此他们利用HP-AT-MSCs和NSCs-DsRed联合移植入脊髓损伤模型中,实验结果表明这种新的联合治疗方法可以增加脊髓损伤的治疗效果。

6.7 干细胞移植在脑缺血疾病中的应用

干细胞移植治疗脑缺血性疾病是干细胞移植治疗研究最热的一个领域。Wei等^[28]将人间质干细胞(human mesenchymal stem cells, hMSCs)静脉注入心脏骤停复苏后3h的大鼠脑内,用MRS、组织学和认知功能分析来评估大鼠5h和第1天、第3天、第7天的大脑结构和功能。试验表明移植的MSCs减少核DNA的断裂和神经元的丢失,神经功能较对照组有明显的提高。移植的神经干细胞在体内可以分化为成熟神经元的比率很低,而且在特定的时间内仅有极少的干细胞存活,因此提高干细胞移植的存活率和诱导神经元的分化是干细胞移植治疗脑缺血性疾病的关键。Chen等^[29]建立大鼠大脑中动脉闭塞模型,分别设为GDNF/NSCs移植组(GDNF

质粒转染的NSCs)、NSCs移植组和空白对照组,在缺血再灌注的第1、2、3、5、7周处死大鼠,用mNSS评分和HE染色分别评价神经功能和大脑的损害面积,用免疫组化实验来鉴别移植的细胞和观察SYP、PSD、和半胱天冬酶-3。利用TUNEL来观察细胞凋亡情况,用免疫印迹法监测BDNF和NT-3的表达,在缺血再灌注2—3周,mNSS评分显示,GDNF/NSCs移植组比NSCs移植组有更好的神经功能的恢复,且这两组又比对照组有更好的功能恢复,GDNF/NSCs移植组神经干细胞数明显的增加,且SYP和PSD-95免疫反应的产物相对于NSCs移植组有明显的增加,相反半胱天冬酶-3和TUNEL阳性细胞数则比NSCs移植组减少,BDNF蛋白的表达也较NSCs移植组多,而NT-3蛋白的表达与NSCs移植组相比仅在再灌注的第1周被监测到,这说明了基因和干细胞联合应用比单独的干细胞移植治疗脑缺血性疾病更有研究价值,从而提高了干细胞的存活率。

6.8 干细胞移植在脑出血中的应用

降低脑出血急性期和恢复期的致残率是当前脑出血研究的一个热门领域,许多研究者试图利用干细胞移植来治疗脑出血。Hao等^[30]将Hoechst 33342体外标记的人骨髓间充质干细胞(human bone marrow mesenchymal stem cells, hBMSCs)植入大鼠壳核出血模型,结果表明hBMSCs可以透过血脑屏障向病灶周围组织定向迁移,hBMSCs移植可促进脑出血大鼠神经功能的恢复。近年来干细胞移植治疗脑出血疾病改善预后功能恢复的研究已经应用到了临床研究。Chen等^[31]对5例脑出血患者进行骨髓血提取的干细胞进行移植,并对患者术前、术后6个月的智力、计算能力、言语功能、对外界反应的灵敏性、吞咽功能、肌张力、肌力进行评定,结果说明移植的干细胞对脑出血后遗症期的神经功能恢复具有促进作用,这就为干细胞移植在脑出血疾病的临床应用提供了依据。

6.9 干细胞移植在脑肿瘤疾病中的应用

神经干细胞具有肿瘤趋向性的特性,目前关于神经干细胞对脑内病变区的趋向性的机制尚未阐明,可能与细胞因子、营养因子及细胞外基质有关。神经干细胞对治疗困难和手术易复发的脑胶质瘤的治疗有一定的指导意义。一方面,少突胶质细胞可使脱髓鞘再生,使传导部分或全部修复;另一方面神经干细胞作为基因治疗的载体,利用其肿瘤趋向性特点,使之在肿瘤周围分泌白细胞介素-1、白细胞介素-2而激活机体的免疫系统,对肿瘤细胞起到杀伤作用,加速肿瘤的消退,从而延长脑肿瘤患者的存活时间。

7 问题及展望

①神经干细胞在宿主体内存活及与宿主脑的整合问题:目前,尚无有力的实验证据表明移植干细胞可以通过取代受

损的细胞,重建神经环路而改善卒中个体的功能缺失。②干细胞的分化问题:干细胞经过分化多少代最适合移植,如何控制其分化方向。③干细胞移植的最佳时间窗仍是有待于解决的问题。④干细胞移植的疗效及安全评定。还有很多问题随着研究的深入而不断被发现,但是我们相信,这些都会随着干细胞移植技术的日益成熟而得到解决,干细胞移植用于治疗中枢神经系统病会有更好的发展前景。

参考文献

- [1] Blakaj A, Lin H. Piecing together the mosaic of early mammalian development through miRNAs[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(15):9505—9508.
- [2] Zeng Y, Jiang XJ, Li GF, et al. Micro-RNAs and Embryonic Stem Cell Research[J]. *Life Science Research*, 2010, 14(1):75.
- [3] Yen BL, Huang HI, Chien CC, et al. Isolation of multipotent cells from human term placenta[J]. *Stem Cells*, 2005, 23(1):3—9.
- [4] Gao L, Zheng GS, Lai, et al. Differentiation of Rat Marrow Stromal Stem Cells into Neural Cells Induced by MT and BFGF in Vitro[J]. *Chinese Journal of Rehabilitation*, 2006, 21(1):6—8.
- [5] Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system[J]. *Science*, 1992, 255:1707—1710.
- [6] Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. Mesenchymal stem cells: revisiting history, concepts, and assays[J]. *Cell Stem Cell*, 2008, 2(4):313—319.
- [7] Bakshi A, Barshinger AL, Swanger SA, et al. Lumbar puncture delivery of bone marrow stromal cells in spinal cord contusion: a novel method for minimally invasive cell transplantation[J]. *J Neurotrauma*, 2006, 23(1):55—65.
- [8] Shen LH, Li Y, Chen J, et al. Intracarotid transplantation of bone marrow stromal cells increases axon-myelin remodeling after stroke[J]. *Neuroscience*, 2006, 137(2):393—399.
- [9] Komatsu K, Honmou O, Suzuki J, et al. Therapeutic time window of mesenchymal stem cells derived from bone marrow after cerebral ischemia[J]. *Brain Res*, 2010, 1334:84—92.
- [10] Yoo SW, Kim SS, Lee SY, et al. Mesenchymal stem cells promote proliferation of endogenous mural stem cells and survival of new born cells in a rat stroke model[J]. *Exp Mol Med*, 2008, 40:387—397.
- [11] Chen J, Zhang ZG, Li Y, et al. Intravenous administration of human bone marrow stromal cells induces angiogenesis in the ischemic boundary zone after stroke in rats[J]. *Circ Res*, 2003, 92(6):692—699.
- [12] Shen, Li Y, Chen J, et al. One-year follow-up after bone marrow stromal cell treatment in middle-aged female rats with stroke [J]. *Stroke*, 2007, 38:2150—2156.
- [13] Martino G, Pluchino S. The therapeutic potential of neural stem cells [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2006, 7:395—406.
- [14] Bottai D, Cigognini D, Madaschi L, et al. Embryonic stem cells promote motor recovery and affect inflammatory cell infiltration in spinal cord injured mice[J]. *Experimental Neurology*, 2010, 223(2):452—463.
- [15] Pollock K, Stroemer P, Patel S, et al. A conditionally immortal clonal stem cell line from human cortical neuroepithelium for the treatment of ischemic stroke[J]. *Exp Neurol*, 2006, 199(1):143—155.
- [16] 牛朝诗,李健,傅先明.脑内移植骨髓间质干细胞治疗帕金森病模型大鼠的实验研究[J]. *立体定向和功能神经外科杂志*, 2010, 22(1):1—5.
- [17] Watts RL, Raiser CD, Stover NP, et al. Stereotaxic intrastriatal implantation of human retinal pigment epithelial (hRPE) cells attached to gelatin microcarriers: a potential new cell therapy for Parkinson's disease[J]. *J Neural Transm Suppl*, 2003, (65):215—227.
- [18] 邹伟,杨景全,张艳梅,等.骨髓间质干细胞移植对老年性痴呆大鼠中枢胆碱能系统的保护作用研究[J]. *解放军医学杂志*, 2009, 34(6):752—754.
- [19] Xuan AG, Luo M, Ji WD, et al. Effects of engrafted neural stem cells in Alzheimer's disease rats[J]. *Neurosci Lett*, 2009, 450(2):167—171.
- [20] Franklin RJ, Blakemore WF. To what extent is oligodendrocyte progenitor migration a limiting factor in the remyelination of multiple sclerosis lesions[J]. *Mult Scler*, 1997, 3(2):84—87.
- [21] Martino G, Pluchino S. The therapeutic potential of neural stem cells [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2006, 7:395—406.
- [22] Strine TW, Kobay R, Chapman DP, et al. Psychological distress, comorbidities, and health behaviors among U.S. adults with seizures: results from the 2002 National Health Interview Survey[J]. *Epilepsia*, 2005, 46(7):1133—1139.
- [23] Xu M, Joseph C, Sandy B, et al. Embryonic Stem Cell-Derived Neural Precursor Grafts for Treatment of Temporal Lobe Epilepsy [J]. *Seizure*, 2010, 19:84—92.
- [24] Kuruba R, Hattiangady B, Shetty AK. Hippocampal neurogenesis and neural stem cells in temporal lobe epilepsy[J]. *Epilepsy Behav*, 2009, 14:65—73.
- [25] 高凤兰,冀雅杰,李英芝.神经干细胞移植治疗中枢神经系统疾病的临床观察[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2009, 12(24):39—41.
- [26] Xue S, Zhang HT, Zhang P, et al. Functional endothelial progenitor cells derived from adipose tissue show beneficial effect on cell therapy of traumatic brain injury[J]. *Neurosci Lett*, 2010, 473(3):186—191.
- [27] Oh JS, Ha Y, An SS, et al. Hypoxia-preconditioned adipose tissue-derived mesenchymal stem cell increase the survival and gene expression of engineered neural stem cells in a spinal cord injury model[J]. *Neurosci Lett*, 2010, 472(3):215—219.
- [28] Zheng W, Honmou O, Miyata K, et al. Therapeutic benefits of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow after global cerebral ischemia[J]. *Brain Res*, 2010, 1310:8—16.
- [29] Chen B, Gao XQ, Yang CX, et al. Neuroprotective effect of grafting GDNF gene-modified neural stem cells on cerebral ischemia in rats[J]. *Brain Res*, 2009, 1284:1—11.
- [30] Hao YG, Zhang HC, Xue Q, et al. Experimental studies of bone marrow mesenchymal stem cells transplantation in intracerebral hemorrhage [J]. *Chin J Crit Care Med*, 2009, 29(7):615—618.
- [31] Chen BZ, Zhang WH, Zheng Z, et al. Clinical analysis of neural stem cells transplantation for treatment of sequela in 3 cerebral hemorrhage patients [J]. *China Prac Med*, 2009, 4(25):12—13.