

脑衰老与神经干细胞移植治疗研究进展

余资江

【关键词】 衰老;神经干细胞;神经退行性疾病

人脑在整个生命进程中具有维持正常功能的作用,但随着年龄的增长,伴随着 DNA 损伤、蛋白质降解增加而发生的神经退行性疾病变得更为多见。近年来,已发现在年轻和老年人脑室下区(SVZ)、嗅球(OB)和海马等局部脑区内存在着神经发生,并且能通过饮食、锻炼、营养因子等因素影响其增殖和分化。然而,干细胞并没有在远离这些发生区域的其他脑区发挥大的作用。本文综述最近有关支持老化脑内神经发生的确定因素,以及神经干细胞在阿尔茨海默病(AD)和帕金森综合征(PD)等退行性疾病治疗方面的有关进展。

1 人脑的老化

人脑在出生后早期比成年脑具有更大的可塑性,可以通过脑组织的重建或形成新的神经联系使受损脑得到功能修复,但成年脑并没有发现类似的可塑性,可能是由于成年脑细胞数量的增加和复杂性增加所致,也可能是由于存在于成年脑中干细胞数量的逐渐减少或者干细胞比例的减少所致。幼年时 SVZ 中大约有 4% 的细胞是神经干细胞(NSCs),但成年啮齿类 SVZ 中不足 1200 个 NSCs (小于 SVZ 细胞总量的 1%),成年小鼠每天大约产生 30 000 个细胞。干细胞数量减少的精确机制仍不清楚,有人认为干细胞在应答损伤后发生了终末分化^[1]。Romanko 等^[2]对幼年小鼠的实验研究表明,缺氧、缺血损伤(H/D)后,SVZ 内的 NSCs 数量最先发生加倍,在损伤后 3 周出现快速的衰减期,NSCs 数量减少一半,但在 H/D 后 SVZ 并没有发现 ISEL+, TUNEL+, 或活性 caspase-3+ 细胞的增加,从而认为 SVZ 的 NSCs 在 H/D 后并没有死亡而是发生了终末分化,这样就造成了 NSCs 的明显减少。这些结论可以延伸到正常的老化过程:在疾病或损伤状态下,NSCs 终末分化是为了重建或修复受损组织。

随着年龄的增长,脑出现渐进性的功能减退。这种衰退过程可以分为两个阶段:第一阶段,为初级老化阶段,为非疾病状态的功能逐渐丧失过程。而由于 AD 或 PD 等年龄相关疾病所致功能丧失属于次级老化阶段。在初级老化阶段,以额叶纹状体系统功能的普遍减退,多巴胺、去甲肾上腺素、5 羟色胺的减少为特点,前额叶皮质容量和功能的减退,以及额叶白质纤维束完整性的丧失^[3]。死后研究表明 40 岁以后脑容量大约每 10 年丧失 5% 左右。前额叶皮质突触密度减少,树突的收缩和膨胀,以及胶质细胞活性增强等都在初级老化过程中出现。但人的海马随年龄增长的变化却较少,海马总容量大约每 10 年减少约 2%~3% 左右;到 70 岁以后海马的容量减少增加到每年 1% 左右,然而,海马 CA 区域的神经元并没有退变,树突生长可持续到 90 岁以后^[4]。随年龄增长齿状回和下托显示出神经元的逐渐丧失^[5],但啮齿类动物在整个生命阶段海马可产生新的、有功能的神经元^[6]。

衰老时认知功能的减退也伴随着细胞的变化而改变。氧化应激增加、DNA 和蛋白质损伤的积累、细胞新陈代谢受损、而脂质和蛋白质副产品如脂褐素等在逐渐老化的脑中积聚,线粒体功能也有减退^[7]。这些细胞的变化并没有造成其他细胞和自身细胞的退行性变,但它们为与老化相关的疾病如

AD 和 PD 等疾病所致的神经元死亡创造了一个适当的条件。

在皮肤、小肠、血液、毛发等细胞更新快的组织中,干细胞的稳定对这些组织的稳定起着重要作用。但对于嗅球(OB)和海马这些低水平的细胞增殖和自我更新的器官来说,在正常脑中的细胞更新并不像其他器官系统那样重要。反之,对这些器官来说,有丝分裂后期神经元的功能完整性的维持是重要的,新陈代谢的内环境稳定,DNA 和蛋白质的完整性,以及线粒体功能在维持合适的神经元功能中起着极大的作用。因此,突触密度的丧失,DNA 和蛋白质氧化损伤的增加,以及其他可见于正常老化脑中的改变都与老化有关的功能减退有关,在 OB 和海马中,干细胞增殖和分化对维持正常功能来说明显重要的。

2 神经干细胞及其影响因素

2.1 神经干细胞的基本概念 干细胞被定义为在有机体的生命阶段能够自我更新,产生它所居留的组织中的大部分细胞类型的一类细胞。但支持整个发育阶段和成年时期的 NSCs 的可靠标记仍然未完全阐明,这就使得将 NSCs 从更丰富的多潜能祖细胞中分离和鉴定出现较为困难,NSCs 在体内的真正鉴定仍然受到挑战。最早期的 NSCs 是神经上皮前体细胞(NEPs),它形成早期的神经板和产生发育脑中所有的细胞类型,这些早期的 NEPs 在体内和体外依赖 FGF-2 增殖,而且构成神经板的 90% 以上的细胞具有干细胞特性^[8],这些细胞表达细胞骨架蛋白 nestin, SRY 同源框基因 SOX1 和 SOX2,以及 Musashi, Notch1 和 HES1^[9],并且容易在体外分离和增殖。神经诱导完成以后,初期的 NEPs 同质细胞群变成局限于神经节隆起、脑室带(VZ)外侧和新皮质的 SVZ^[10]。从胚胎后期、生后早期,或成年动物的 SVZ 干细胞形成的神经球在特性上具有异质性^[11]。在生后早期阶段,位于 SVZ 前部内的 NSCs 产生神经祖细胞,沿着嘴侧迁移渠道(RMS)迁移到 OB,并在嗅球内它们最终分化成为 OB 中间神经元。而海马内的 NSCs 产生颗粒细胞层神经元。在啮齿类,OB 中间神经元和海马颗粒细胞层神经元的产生可持续到成年时期。

在成年啮齿类和其他灵长类动物,干细胞位于 DG, SVZ 和 RMS 内,以及隔区、纹状体、黑质、皮质、视神经、脊髓、视网膜和第三脑室的 SVZ 中^[12-13]。啮齿类和灵长类的皮质中存在着低水平的神经发生,但成人脑实质中干细胞群的存在与否目前仍有争议^[14]。个别投射神经元能够在体外启动细胞分裂,并继续分化成为神经元或星形胶质细胞。在体内,在新神经元形成过程中的小群皮质神经群,可整合到现存神经环路中,一般认为 SVZ 起源的大量神经元来源于局部衍化的皮质前体细胞^[15],这些证据支持成年脑内局部皮质前体细胞的存在。

在成年啮齿类和其他灵长类动物,干细胞位于 DG, SVZ 和 RMS 内,以及隔区、纹状体、黑质、皮质、视神经、脊髓、视网膜和第三脑室的 SVZ 中^[12-13]。啮齿类和灵长类的皮质中存在着低水平的神经发生,但成人脑实质中干细胞群的存在与否目前仍有争议^[14]。个别投射神经元能够在体外启动细胞分裂,并继续分化成为神经元或星形胶质细胞。在体内,在新神经元形成过程中的小群皮质神经群,可整合到现存神经环路中,一般认为 SVZ 起源的大量神经元来源于局部衍化的皮质前体细胞^[15],这些证据支持成年脑内局部皮质前体细胞的存在。

2.2 成人脑内的神经干细胞 在成人,NSCs 位于沿着整个侧脑室嘴尾侧范围,但并不沿第三或第四脑室,排除侧脑室的脑组织培养并没有产生神经球,表明可能人的皮质和纹状体缺乏多潜能前体细胞^[16]。此外,成人 SVZ 的细胞构筑也与啮齿类和其他灵长类不同,成人 SVZ 的细胞核与室管膜层以一条富含星形胶质细胞突起的小沟相分隔。与啮齿类和灵长类动物 SVZ 一样,人 SVZ 中 GFAP+ 细胞的一个亚群具有有丝分裂活性,对 Ki-67 和 BrdU 呈阳性染色^[16-17]。然而,人 SVZ

中有丝分裂活性细胞是否能分化为神经元仍不清楚。

成人海马也含有神经干 祖细胞,从用 BrdU 处理的癌症患者死后收集的组织,可在海马颗粒细胞层检测到 BrdU + 细胞^[18],这些 BrdU + 细胞与 NeuN 或 NSE 共标记,并且展示出颗粒细胞神经元的形态学类型,因此表明人海马也具有神经发生,并持续到 70 岁左右。目前仍不清楚的是,人 SVZ 的细胞是否也如啮齿类和灵长类一样发生迁移(到嗅球),以及人是否存在新神经元迁移到嗅区的需要,人类嗅球神经元是否存在更新。

成人 SVZ 比其他脑区具有较高水平的端粒酶活性, Caporaso 等^[18]利用端粒重复扩增方法 (TRAP) 以评价从 0 ~ 60 d 的小鼠的不同脑区的端粒酶活性,成年鼠 SVZ 比其他脑区具有较高水平的端粒酶活性,而且到 270 d 在 SVZ 内仍可检测到端粒酶活性^[18],当动物用 Ara-C 处理 6 天以耗尽 SVZ 活动的分裂细胞时,端粒酶活性显著减少,但在处理完成后马上检测仍可检测到端粒酶活性,处理后 7 d, SVZ 的端粒酶活性比对照水平增加 2 倍以上,在第 10 天回到正常状态。有趣的是,端粒酶活性水平在周期细胞中是连续性的,与它们的增殖率无关。因而,270 d 检测到的低水平的端粒酶活性可能代表 SVZ 中缓慢分裂的干细胞。

在胚胎和成体神经系统中分离出来的干细胞存在着许多区别。当胚胎干细胞 (ES) 通过 NEPs 阶段发育并最终成为成体神经干细胞一样,许多中间类型的细胞的发育潜能更加局限。因此,当 NEPs 转变成为成体 NSCs 时,一些标记支持而另一些标记则丧失。例如,当 FGFR4 是胚胎组织神经干细胞的一个标记时,在成体 NSCs 中却检测不到。同样地,在发育过程中,在成年脑内 NSCs 局限于特定脑区内,并且依赖于 FGF-2 和 EGF 以维持自我更新^[19]。此外,在 CNS 中存在着 NSCs 的多种类型,它们能够产生神经元的多种亚类,但它们能够产生的不同的细胞类型却是局限的,例如,来自脊髓的多能神经上皮细胞产生神经元和星形胶质细胞,但却不能产生少突胶质细胞。同样地,从中脑衍化而来的干细胞产生多巴胺神经元,视网膜干细胞比来自前脑或脊髓的干细胞更容易产生视细胞^[20]。

2.3 运动和环境以及生长因子对成年神经发生的影响 许多因素调控海马的神经发生,包括运动、环境、饮食、损伤、应激和老化等。运动可增加齿状回颗粒下层 NEPs 的增殖率,并且可刺激海马 GCL 和 DG 中 BDNF mRNA 和 NGF mRNA 的增加。将 3 周龄大鼠置于丰富环境中生活,6 周后,GCL 中的 PCNA + 细胞增加 31%,而 GCL 总数也增加 15%^[21]。此外,置于丰富环境中的大鼠脑中 BDNF mRNA 和 GDNF mRNA 也增加^[22]。因此,运动和丰富环境可增加海马内细胞的产生,并伴有神经生长因子的上调,有可能增加对这些区域的神经退行性变的抵抗力。

卒中、侵袭、外伤性脑损伤也可引起受损同侧神经发生的增加。机械性损伤、牵拉性损伤、卒中均可在潜伏期内增加齿状回的细胞增殖,而且绝大多数新生的细胞分化成为颗粒神经元。此外,成年大鼠大脑中动脉的短暂阻断可引起 SVZ 和到达损伤的纹状体的成神经细胞的迁移链中的细胞增殖^[23],还可引起的 FGF-2 和 BDNF 的表达上调,而且这些新生的神经元表达区域相关标记,表明成年脑在局部缺血性脑损伤中至少具有修复某些受损的神经元的能力。对衰老的肾上腺切除大鼠研究表明,皮质类固醇水平的增加能够减少海马神经发生^[24]。应激也可能通过增加皮质类固醇化水平而导致海马神经发生的减少^[25]。炎症也减少海马的神经发生率,用 LPS 静脉推注的大鼠不但显示出 DG 内活化的小胶质细胞增加 240%,而且表明 BrdU + /Doublecortin + (DCX 未成熟迁移神经元的标记) 细胞减少 35%^[26]。

外源性生长因子或神经营养因子也可引起神经前体细胞

的增殖和成神经细胞的迁移,这些因子包括 FGF-2、EGF、IGF-1、BDNF^[27]等。而另外一些因子则有助于前部神经前体细胞从前部 SVZ 到 OB 迁移,这些因子包括 PSA-NCAM、整合素、ephrins、reelins 等^[28-29]。星形胶质细胞可能在神经前体细胞的增殖和在 RMS 中的迁移起着巨大的作用^[30]。

2.4 病理条件下的神经发生 脑的衰老与 AD、PD 和卒中等退行性疾病密切相关,这 3 种疾病均影响脑内特定的神经元群。与 AD 相关的认知和记忆的丧失是海马、大脑皮质、杏仁体内神经退行性变的结果。黑质内多巴胺神经元的丧失导致与 PD 相关的运动缺陷。在卒中,特定区域脑血管的阻断使该血管支配区内神经元选择性丧失。

突变的人 APP 过表达的一个小鼠 AD 模型反映了这种疾病形成的人类相关性学习和记忆缺失,在 12 ~ 14 月龄的这些小鼠的齿状回内可发现大量的 淀粉样蛋白的沉积,并且与对照组动物比较,DG 内 BrdU + 细胞减少 55%^[31]。此外,用 BrdU 标记的细胞与神经标记物并不共标记,表明 淀粉样蛋白直接影响 NSCs 的增殖和分化。也有证据表明, 淀粉样蛋白减少人类海马衍化的 NSCs 的增殖和神经元分化过程^[31]。然而,最近的研究表明,神经性标记 DCX、PSA-NCAM、TUC-4 在人 AD 患者的海马中都有增加。而且 DCX 和 TUC-4 在齿状回的颗粒下带、GCL、安蒙氏角这些 AD 病变的基本部位高度表达^[32]。这些证据表明,如象其他疾病所致的海马中细胞死亡增加一样,AD 患者中神经元生成也有着相应的增加。改变 AD 脑的环境,或者脑的病理环境,以及外源性因子的有助于刺激其神经发生。

小鼠 PD 模型中,损伤同侧 SVZ 的增殖是增加的。而且新生的成神经细胞迁移到达纹状体,形成新的神经元并同时接受 TGF- 的影响^[33]。这些资料表明,药物诱导的纹状体损伤刺激了 SVZ 前体细胞的增殖,这些新形成的细胞能够迁移进入受损的区域并分化成为神经元。

2.5 酒精对成体神经发生的影响 在发育阶段酒精对脑的影响是人所共知的。酒精对成体神经发生的影响研究主要集中在海马。海马持续不断的神经发生可能对记忆的某种类型来说是必需的,慢性酒精对改变记忆形成的效应是已知的^[33]。Nixon 等^[34]用 BrdU 处理的动物连续给予 4 d 的过量乙醇,发现齿状回中细胞增殖比维持酒精量的对照组来说减少了 47%,在 1 个月与对照组动物比较,BrdU + 细胞大约减少 89%^[35]。由于颗粒细胞层的细胞每个月将有 5% ~ 6% 的细胞被更新,在 5 个月内 GCL 中大约有 25% ~ 30% 的细胞将更新,而超过 5 个月的慢性酒精中毒可使 GCL 的细胞数量减少 20% ~ 25%。因此,这些资料表明慢性酒精中毒可能阻碍了海马 NSCs 的细胞增殖和/或存活。与此研究相反,Pawlak 等^[35]的研究表明,持续 14 d 的饮酒可增加齿状回的细胞增殖。在这一研究中,神经元死亡用 TUNEL 检测,而增殖细胞用抗 PCNA 抗体检测。当酒精处理的动物的 CA1、CA2、DG 内 TUNEL 阳性细胞增加时,DG 的细胞丧失并不明显。然而,DG 的颗粒下带中 PCNA 阳性细胞数量比对照组增加了 2 倍,这两个研究的差异可能是由于使用的酒精不同以及评价细胞增殖方法不同所致。

3 神经干细胞的应用

研究神经干细胞的目的是为了寻求其在卒中和神经退行性疾病的治疗潜力,有关卒中后内源性祖细胞的动员,以及在 AD 和 PD 中 NSCs 移植以促进功能修复的研究中正是当前研究的重点。短暂性脑缺血的成年大鼠导致 SVZ 和海马 SQL 的增殖细胞的增加^[36]。从 SVZ 到脑实质中发现这些新生的神经元以一个梯度形式存在,50% 的细胞位于离 SVZ 0.5 mm 的区域,而另外的细胞分散于距 SVZ 大约 2 mm 的区域,并且具有纹状体神经元的特性^[36]。因此,至少在卒中后,存在着一个内源性的神经祖细胞修复的应答过程,以取代卒中后丧

失的部分神经元。侧脑室注射 EGF和 FGF-2引起海马内神经发生增加 40%,产生海马 CA1锥体神经元的真正再生^[37]。脑室内注入肝素结合的 EGF增加 SVZ和 DG的 SQL神经发生。注入 BDNF或 NGF也增加成年大鼠纹状体新生神经元的数量;这些神经对 DARPP-32具免疫反应性(一种成熟纹状体神经元的标记物)^[38]。

NSCs移植能够提供治疗效应: 直接取代丧失或受损的神经元; 传递神经营养因子、细胞因子和生长因子; 刺激内源性 NSCs参与神经修复。例如, PD患者的临床试验表明,移植胚胎多巴胺神经元后,存活并与宿主组织整合,当与胚胎纹状体细胞共同移植时。接受胚胎多巴胺神经元移植术的 PD患者死后研究表明移植植物曾经存活,与宿主组织形成突触联系,且与临床后果相一致。最近, Olanow等^[39]的研究表明,出现阳性治疗效果的仅出现于年轻人或接受较高细胞剂量的成人,在该研究中,移植 6个月后发现显著的改善,但当环孢霉素的免疫抑制停止后,这种改善却丧失了。移植 2年后,与假手术组对照移植患者没有显著的功能改善。因此,连续性的免疫抑制可能改善了临床后果。此外,必须考虑使用胎儿干细胞的伦理学因素。内源性干细胞能够以不同的方式给予修饰,包括通过运动和增加局部营养因子的浓度,干细胞移植或干细胞衍化的前体细胞能够修复与老化和疾病有关的神经退行性。后续研究将集中于干细胞存活和分化方面,对衰老脑的治疗提出新的策略。

参 考 文 献

- [1] Johnston MV. Brain plasticity in paediatric neurology. *Eur J Paediatr Neurol*, 2003, 7(3): 105-113.
- [2] Romanko MJ, Rothstein RP, Levison SW. Neural stem cells in the subventricular zone are resilient to hypoxia/ischemia whereas progenitors are vulnerable. *JCBM*, 2004, 24(7): 814-825.
- [3] Davatzikos C, Resnick SM. Degenerative age changes in white matter connectivity visualized in vivo using magnetic resonance imaging. *Cereb Cortex*, 2002, 12(7): 767-771.
- [4] Rapp PR, Deroche PS, Mao Y, et al. Neuron number in the parahippocampal region is preserved in aged rats with spatial learning deficits. *Cereb Cortex*, 2002, 12(11): 1171-1179.
- [5] Zeineh MM, Engel SA, Thompson PM, et al. Dynamics of the hippocampus during encoding and retrieval of face-name pairs. *Science*, 2003, 299(5606): 577-580.
- [6] Kempeimann G, Gast D, Kronenberg G, et al. Early determination and long-term persistence of adult-generated new neurons in the hippocampus of mice. *Development*, 2003, 130(2): 391-399.
- [7] Sastre J, Pallardo FV, Vina J. Mitochondrial oxidative stress plays a key role in aging and apoptosis. *UBMB Life*, 2000, 49(5): 427-435.
- [8] Cai J, Wu Y, Mirua T, et al. Properties of a fetal multipotent neural stem cell (NEP cell). *Dev Biol*, 2002, 251(2): 221-240.
- [9] Sasai Y. Roles of Sox factors in neural determination: conserved signaling in evolution? *Int J Dev Biol*, 2001, 45(1): 321-326.
- [10] Brazel CY, Romanko MJ, Rothstein RP, et al. Roles of the mammalian subventricular zone in brain development. *Prog Neurobiol*, 2003, 69(1): 49-69.
- [11] Bez A, Corsini E, Curti D, et al. Neurosphere and neurosphere-forming cells: morphological and ultrastructural characterization. *Brain Res*, 2003, 993(1-2): 18-29.
- [12] Gritti A, Vescovi AL, Galli R. Adult neural stem cells: plasticity and developmental potential. *J Physiol Paris*, 2002, 96(1-2): 81-90.
- [13] Zhao M, Momma S, Delfani K, et al. Evidence for neurogenesis in the adult mammalian substantia nigra. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(13): 7925-7930.
- [14] Komack DR, Rakic P. Cell proliferation without neurogenesis in adult primate neocortex. *Science*, 2001, 294(5549): 2127-2130.
- [15] Magavi SS, Leavitt BR, Macklis JD. Induction of neurogenesis in the neocortex of adult mice. *Nature*, 2000, 405(6789): 951-955.
- [16] Sanai N, Tramontin AD, Quinones-Hinojosa A, et al. Unique astrocyte ribbon in adult human brain contains neural stem cells but lacks chain migration. *Nature*, 2004, 427(6976): 740-744.
- [17] Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T, et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med*, 1998, 4(11): 1313-1317.
- [18] Caporaso GL, Lin DA, Alvarez-Buylla A, et al. Telomerase activity in the subventricular zone of adult mice. *Mol Cell Neurosci*, 2003, 23(4): 693-702.
- [19] Quinn SM, Walters WM, Vescovi AL, et al. Lineage restriction of neuroepithelial precursor cells from fetal human spinal cord. *J Neurosci Res*, 1999, 57(5): 590-602.
- [20] Roy NS, Benraiss A, Wang S, et al. Promoter-targeted selection and isolation of neural progenitor cells from the adult human ventricular zone. *J Neurosci Res*, 2000, 59(3): 321-331.
- [21] Young D, Lawlor PA, Leone P, et al. Environmental enrichment inhibits spontaneous apoptosis, prevents seizures and is neuroprotective. *Nat Med*, 1999, 5(4): 448-453.
- [22] Parent JM, Vexler ZS, Gong C, et al. Rat forebrain neurogenesis and striatal neuron replacement after focal stroke. *Ann Neurol*, 2002, 52(6): 802-813.
- [23] Cameron HA, McKay RD. Restoring production of hippocampal neurons in old age. *Nat Neurosci*, 1999, 2(10): 894-897.
- [24] Tanapat P, Galea LA, Gould E. Stress inhibits the proliferation of granule cell precursors in the developing dentate gyrus. *Int J Dev Neurosci*, 1998, 16(3/4): 235-239.
- [25] Monje ML, Toda H, Palmer TD. Inflammatory blockade restores adult hippocampal neurogenesis. *Science*, 2003, 302(5651): 1760-1765.
- [26] Benraiss A, Chmielnicki E, Lemer K, et al. Adenoviral brain-derived neurotrophic factor induces both neostriatal and olfactory neuronal recruitment from endogenous progenitor cells in the adult forebrain. *J Neurosci*, 2001, 21(17): 6718-6731.
- [27] Conover JC, Doetsch F, Garcia-Verdugo JM, et al. Disruption of Eph/ephrin signaling affects migration and proliferation in the adult subventricular zone. *Nature Neurosci*, 2000, 3(11): 1091-1097.
- [28] Hack I, Bancila M, Loulier K, et al. Reelin is a detachment signal in tangential chain migration during postnatal neurogenesis. *Nat Neurosci*, 2002, 5(10): 939-945.
- [29] Song H, Stevens CF, Gage FH. Astroglia induce neurogenesis from adult neural stem cells. *Nature*, 2002, 417(6884): 39-44.
- [30] Haughey NJ, Nath A, Chan SL, et al. Disruption of neurogenesis by amyloid beta-peptide, and perturbed neural progenitor cell homeostasis, in models of Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 2002, 83(6): 1509-1524.
- [31] Jin K, Peel AL, Mao XO, et al. Increased hippocampal neurogenesis in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(1): 343-347.
- [32] Fallon J, Reid S, Kinyamu R, et al. In vivo induction of massive proliferation, directed migration, and differentiation of neural cells in the adult mammalian brain. *Proc Natl Acad Sci U. S. A.*, 2000, 97(26): 14686-14691.
- [33] Silvers JM, Tokunaga S, Berry RB, et al. Impairments in spatial learning and memory: ethanol, allopregnanolone, and the hippocampus. *Brain Res Brain Res Rev*, 2003, 43(3): 275-284.
- [34] Nixon K, Crews FT. Binge ethanol exposure decreases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurochem*, 2002, 83(5): 1087-1093.
- [35] Pawlak R, Skrzypiec A, Sulkowski S, et al. Ethanol-induced neurotoxicity is counterbalanced by increased cell proliferation in mouse dentate gyrus. *Neurosci Lett*, 2002, 327(2): 83-86.
- [36] Arvidsson A, Collin T, Kirik D, et al. Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke. *Nat Med*,

2002, 8(9): 963-970

[37] Nakatani H, Kuriu T, Okabe S, et al Regeneration of hippocampal pyramidal neurons after ischemic brain injury by recruitment of endogenous neural progenitors Cell, 2002, 110(4): 429-441.

[38] Benraiss A, Chmielnicki E, Lemer K, et al Adenoviral brain-derived neurotrophic factor induces both neostriatal and olfactory neu-

ronal recruitment from endogenous progenitor cells in the adult forebrain J. Neurosci, 2001, 21(17): 6718-6731.

[39] Olanow CW, Goetz CG, Kordower JH, et al A double-blind controlled trial of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson's disease Ann Neurol, 2003, 54(3): 403-414.

热性惊厥脑损伤的研究进展

姜叶洁

热性惊厥是小儿惊厥最常见的形式,据报道在美国儿童热性惊厥发病率为 2%~5%,我国资料显示 14 岁以下小儿热性惊厥发生率为 4.4%。热性惊厥尚无完全统一的定义,国际抗癫痫组织曾将热性惊厥定义为发生于出生后一个月的小儿,由发热性疾病引起,除外中枢神经系统感染性疾病、新生儿期发生过的惊厥、既往有不明原因抽搐史及不符合此标准的其他急性症状性抽搐。我国目前对热性惊厥的定义是初次发作在 3 个月至 4~5 岁之间,在上呼吸道感染或其他感染性疾病的初期,当体温在 38℃ 以上时突然出现的惊厥,排除颅内感染或其他导致惊厥的器质性代谢性异常,既往无热惊厥史。热性惊厥在临床上分为单纯性热性惊厥和复杂性热性惊厥两大类,大多数热性惊厥是单纯性,占 70%~75%,9%~35%是复杂性^[1]。热性惊厥的基础和临床研究较多,非神经系统疾病引起的热性惊厥对大脑有无损伤是临床医师和家长最关心的问题,近年来在热性惊厥致惊厥性脑损伤的发病机制、诊断、治疗等方面研究有一些新的认识,现就相关文献报道总结如下。

1 热性惊厥脑损伤的发病机制

热性惊厥与年龄、感染、发热程度、遗传等因素有关。体温增加引起呼吸频率明显加快,大脑 pH 值升高,大脑组织碱中毒引起神经元兴奋性增强和癫痫样活动,导致惊厥发生^[2]。热性惊厥引起脑损伤的机制较复杂,目前对其发病机制的认识有以下几方面^[3]。

1.1 低氧血症和高碳酸血症 惊厥可有严重换气不足及呼吸暂停,导致机体缺氧和二氧化碳潴留。临床上发现热性惊厥患儿出现脸色、口唇紫绀,亦表明缺氧的存在。缺氧时乳酸堆积、高碳酸血症及惊厥时动脉血压的适应性上升均可使脑血流量显著性增加,导致出血性脑损伤。低氧血症进一步发展,引起心血管系统衰竭,脑血流量下降,导致缺血缺氧性脑损伤。

1.2 能量和代谢异常 发热时患儿食欲下降,机体代谢率增加,惊厥时机体消耗加大,热性惊厥可能导致解偶联蛋白表达增多,使线粒体 ATP 生成减少,影响了线粒体能量储备的功能,大脑能量供给缺乏,导致脑损伤。

1.3 神经介质介导 在热性惊厥时,许多神经介质参与惊厥性脑损伤的发病过程。白细胞介素 1(L-1)是重要的神经免疫介质,在惊厥出现早期即被诱导而表达, L-1 可能通过增加细胞外兴奋性氨基酸(EAA)、抑制氨基丁酸(GABA)受体的功能,促进肾上腺皮质激素释放激素的释放等机制引起脑损伤。兴奋性氨基酸是脑内与神经元损伤脆弱性最有紧密联系的神经介质,主要有谷氨酸、门冬氨酸及甘氨酸,热性惊厥时缺血缺氧、低血糖可触发高浓度谷氨酸积聚在脑内细胞外液中, N-甲基-D-门冬氨酸(NMDA)型通道开放, NMDA 型谷氨酸受体促进大量 Ca^{2+} 进入细胞内,由于 Ca^{2+} 大量内流,通过调钙蛋白(CaM)激活一氧化氮合酶(NOS),引起 NO 合成增加,源于神经元型一氧化氮合酶(nNOS)和诱导型一氧化

氮合酶(NOS)过度表达所形成的 NO 有神经毒性作用,大量的 NO 反过来又加重脑神经元损伤;氨基丁酸(GABA)是主要抑制性神经介质, GABA 主要通过离子型受体 GABA_AR、GABA_CR 及代谢型受体 GABA_BR 发挥作用, GABA_BR 通过增加神经元的钾离子传导及减少钙离子内流而避免神经元损伤。另外 GABA_BR 还可通过对气体信号分子 CO、H₂S 的调节发挥作用,在反复热性惊厥过程中 GABA_BR 可上调一氧化氮合酶(CO/HO-1)系统和硫化氢胱硫醚-β 合成酶(H₂S/CBS)系统的表达, CO/HO-1、H₂S/CBS 在热性惊厥中发挥重要的保护作用^[4,5]。反复惊厥后 GABA_BR 表达降低,细胞核内即刻早期基因家族中的 c-Fos 基因和 Fos 蛋白表达增高,海马 CA1 区 c-Fos 蛋白过度表达,促使 CA3 区异常苔藓纤维发芽,导致近期及远期海马结构病变;锌离子是一种新的调节神经兴奋毒性损伤的离子介质,通过特定的自稳态机制实现大脑兴奋抑制平衡和认知功能的调节作用,发育中长期或反复惊厥造成海马通路 Zn^{2+} 的自稳态破坏, Zn^{2+} 在细胞内和突触间发生异常转移,并有再生性发芽等病理损伤现象^[6]。

惊厥性脑损伤发病机制的研究已深入到了分子水平, L-1, EAA, GABA, NO, CO, H₂S 等气体信号分子和锌离子是参与惊厥性脑损伤发病过程的重要介质,惊厥发生时大脑氧和能量的缺乏使兴奋性神经介质被诱导表达而抑制性神经介质被抑制,大脑兴奋抑制平衡的自稳态被破坏,神经元正常突触成分向病理性扩展,出现神经元变性、坏死、丢失和再生性发芽等病理损伤。

2 热性惊厥脑损伤的诊断

热性惊厥脑损伤应根据热性惊厥史,神经系统症状或体征、神经精神行为改变、智力低下、癫痫发作等临床表现,结合实验室和器械检查、免疫组化及组织病理检查综合分析诊断,并排除其他原因引起的大脑的器质性或代谢性损伤。

2.1 实验室检查 神经系统相关蛋白质标志物在脑组织特异性高,脑组织遭受损伤后迅速释放入脑脊液和血液,与脑损伤具有一定时间关系。目前常用于判断脑损伤的标志物有神经元特异性烯醇化酶(NSE)、S-100B 蛋白、髓鞘碱性蛋白(MBP)和胶质纤维酸性蛋白(GFAP)。神经元特异性烯醇化酶特异存在于神经少突胶质细胞和神经内分泌细胞中,正常体液中含量甚微,脑损伤时神经细胞崩解,血脑屏障破坏,该酶进入脑脊液和血液中致其含量升高,临床通过检测血或脑脊液中 NSE 浓度反映脑损伤。多数研究认为热性惊厥可引起血清 NSE 增高,惊厥发作次数越多,持续时间越长,惊厥程度越重, NSE 水平越高, NSE 释放的量与神经元损伤程度呈正相关^[7-9]; S-100B 蛋白高浓度特异性地分布在中枢神经系统的神经胶质细胞、星形细胞、少突胶质细胞、小胶质细胞、大胶质细胞等部位,当神经系统损伤时, S-100B 蛋白进入细胞间质或从胞液中渗出进入脑脊液,再经受损的血脑屏障进入血液循环,因此,脑脊液和血清中 S-100B 蛋白增高是中枢神经系统损伤比较特异和灵敏的生化指标,李光乾等^[10]研究表明热性惊厥 24 h 内血清和脑脊液中 S-100B 蛋白明显增高且与