

# 神经干细胞治疗阿尔茨海默病研究进展

武强, 李露斯

[摘要] 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是中枢神经系统一种常见的进行性神经退行性疾病,是老年前期和老年期痴呆的主要原因。近年来,神经干细胞的发现及体外培养的成功为 AD 的治疗提供了一个崭新的视野。神经干细胞治疗 AD 的目的是修复和替代受损神经细胞,重建细胞环路和功能,主要有两种途径,即内源性途径(诱导内源性神经干细胞增殖与分化,使损伤的中枢神经系统进行自我修复)和外源性途径(直接替代缺损组织或植入能分泌促进干细胞增殖与存活的因子的基因工程细胞。一旦神经干细胞的基础研究在细胞增殖、迁移、分化及与宿主融合的机制等制约临床应用的问题方面取得突破,利用神经干细胞治疗 AD 等引起的脑损伤将会成为现实。

[关键词] 神经干细胞;阿尔茨海默病;治疗;综述

**Advance in Study of Neural Stem Cells Used for Treatment of Alzheimer's Disease (review)** WU Qiang, LI Lu-si. The Department of Neurology, Southwest Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400038, China

**Abstract:** Alzheimer's disease (AD) is a common progressive degenerative disease of the central nervous system. It's also a main cause for dementia in presenium and senectitude. In the past few years, the discoveries in vitro expansion of neural stem cells (NSCs) indicate a new way for recovery and replacement of damaged neurons as well as reconstruction of the neural circuit, and offer a useful future therapy for AD. There are two main promising approaches in NSCs replacement therapy. They are endogenetic approach, inducing proliferation and differentiation of endogenetic NSCs, improving self-repair of central nervous system, and exogenous approach, transplantation of exogenous tissue and promoting proliferation of endogenous NSCs. However, it may not become truth before the mechanism of NSCs' proliferation, migration, differentiation and its integration with the host tissues to be elucidated.

**Key words:** neural stem cells; Alzheimer's disease; therapy; review

[中图分类号] R749.1 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2006)10-0871-04

[本文著录格式] 武强,李露斯.神经干细胞治疗阿尔茨海默病研究进展[J].中国康复理论与实践,2006,12(10):871-874.

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是中枢神经系统一种常见的进行性神经退行性疾病,是导致老年前期和老年期痴呆的主要原因,临床主要表现为进行性记忆力减退、认知功能下降等。目前,全球约有 2000~3000 万 AD 患者。欧美国家的统计数据显示,65 岁以上老年人的痴呆患病率为 3.0%~5.0%,其中半数以上为 AD。在美国,AD 已经成为继心血管疾病、肿瘤和脑卒中之后的第 4 位死亡原因。国内的 AD 发病情况与国外类似,病例数已达 10 万。随着世界人口日趋老龄化,AD 已成为当今老年医学面临的最为严峻的课题之一。

AD 的病理特征是在大脑皮层和海马区域出现老年斑(senile plaque, SP)和神经元纤维缠结(neurofibrillary tangle, NFT),此外还有神经元颗粒空泡变性(granulovacuolar degeneration, GD)、平野细胞(hirano body, HB)、神经元突触异常、星形细胞增生样反应等,其中 SP 和 NFT 是老年性痴呆的两个特征性病变。进一步的研究表明, $\beta$ 淀粉样蛋白(amyloid  $\beta$  protein, A $\beta$ )是 SP 的主要成分,它的沉积可能是所有因素导致 AD 的共同途径。目前认为, A $\beta$  的主要作用形式是 A $\beta_{42}$  和 A $\beta_{40}$  混合其他多肽如 A $\beta_{26-39}$ 、A $\beta_{26-40}$ 、A $\beta_{26-42}$  及其他蛋白如 ApoE 等组成,其中 A $\beta_{42}$  可能是 AD 的主要致病形式,其毒性机理为这些 A $\beta$  肽和其他蛋白形成 A $\beta$  纤维,导致细胞外自由基出现,引起神经元细胞膜破坏,通透性增加,大量 Ca<sup>2+</sup> 涌入细胞内,依次激活钙依赖性激酶、蛋白酶、脂肪酶,致使细胞内自由基生成,从而导致细胞损伤乃至死亡<sup>[1]</sup>。而 NFT 的形成则是在病理情

况下,某些蛋白激酶活性增强或者某种磷酸酶活性减弱,使 AD 患者 tau 蛋白发生异常高度磷酸化,自发凝聚成双股螺旋丝(paired helical filaments, PHFs),导致 NFTs 形成,同时微管的扭曲变性使其不能正常输送营养物质,导致神经元末端的树突和轴突发生营养不良性萎缩。随着分子生物学技术的突破,人们发现一些蛋白如 A $\beta$  及其前体淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)、tau 蛋白、载脂蛋白 E(apo E)、早老素(presenilin, PS)等在发病过程中起着极为重要的作用<sup>[2]</sup>。但到目前为止,AD 的确切发病机制尚不清楚。对 AD,传统的治疗方法包括脑循环改善药物、能量代谢促进剂、乙酰胆碱酯酶抑制剂、M1 胆碱受体激动剂、乙酰胆碱释放促进剂、神经生长因子、抗氧化药物和抗  $\beta$  淀粉样药物等。这些治疗手段虽然能够减轻 AD 的症状,但无法补充大脑皮层和海马大量丢失的神经细胞,因而对中晚期 AD 患者的疗效有限。近年来,神经干细胞(neural stem cell, NSC)在胚胎和成年个体神经系统中的发现和体外培养的成功为 AD 的治疗提供了一个崭新的视野。

## 1 NSC 的生物学特性

20 世纪 90 年代初期,Johnsson 等利用逆转录病毒标记法证明,成年哺乳动物的脑室管膜含有大量的持续增殖的细胞,即 NSC,其特征性标志为神经巢蛋白(nestin)<sup>[3]</sup>。NSC 有以下生物学特性:

1.1 自我更新 NSC 具有高度增殖和自我更新能力,在一定条件下能不断进行有丝分裂,通过对称性和非对称性分裂, NSC 增殖,互相聚集成神经球。采用血清预培养可使 NSC 聚球速度加快,促进 NSC 增殖<sup>[4]</sup>。神经球根据培养的时间和大小可含有 NSC、正在分化的神经前体细胞、凋亡细胞,甚至已分化的神经元和胶质细胞,经过机械分离,已分化的和正在分化的

作者单位:第三军医大学第一附属医院(西南医院)神经内科,重庆市 400038。作者简介:武强(1971-),男,河南许昌市人,副主任医师,博士研究生,主要研究方向:阿尔茨海默病的临床与基础。

细胞死亡,而 NSC 继续增殖,生长出许多子代的神经球。Vescovi 等报道,NSC 可在体外持续传代达 3 年以上,分裂后的子代干细胞具有与母代干细胞完全相同的生物学特性<sup>[5]</sup>。

**1.2 多潜能分化** NSC 分化后,从表面向四周伸出众多突起,胞浆内出现多种成熟的细胞器,可形成神经细胞、星形胶质细胞和少突胶质细胞<sup>[6]</sup>,其分化与局部微环境密切相关。目前,主要通过生长因子诱导、基因调控及信号传导通路调节等诱导分化 NSC。多种细胞因子参与 NSC 的诱导分化,包括神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、表皮生长因子(epidermis growth factor, EGF)<sup>[7]</sup>、睫状神经营养因子、胶质细胞源性神经营养因子、脑源性神经生长因子、维甲酸及神经细胞黏附分子等。基因调控对 NSC 在体内沿既定的路线增殖发育成各种神经细胞也起着重要作用,已发现的基因有抑癌基因 PTEN、numb 基因及 Septamer 基因等<sup>[8]</sup>。同样,信号传导通路的 Notch 信号系统也具有非常重要的作用。Notch 信号系统的激活能抑制胚胎干细胞的分化,当 Notch 与其配体结合时,干细胞进行增殖;当 Notch 活性被抑制时,干细胞进入分化程序,发育为功能细胞<sup>[9]</sup>。

**1.3 迁移功能和良好的组织融合性** 在人类和哺乳动物神经系统发育过程中,NSC 沿着发育索方向迁移。移植后的 NSC 同样具有迁移能力,且受病变部位神经源性信号的影响,具有向病变部位迁移的嗜好,随后分化成特异性细胞<sup>[10]</sup>。脑室内移植的 NSC 可以通过血脑屏障,迁移至脑实质中与宿主细胞在形态结构和功能上初步形成良好的整合,参与宿主神经网络形成。叶建新等发现,NSC 移植后能迁移至海马,分化或诱导海马产生具有胆碱乙酰转移酶活性的神经元<sup>[11]</sup>。

**1.4 低免疫源性** NSC 是未分化的原始细胞,不表达成熟细胞抗原,具有低免疫源性,因此在移植后相对较少发生异体排斥反应,有利于其存活<sup>[12]</sup>。

正是 NSC 的独特生物学特征给人们带来攻克中枢神经系统退行性疾病的希望,而分离培养、体外扩增技术的日臻完善,使 NSC 的临床应用成为可能。干细胞的逆向分化能力和横向分化能力以及转基因永生干细胞系的建立使临床 NSC 的来源日趋丰富。NSC 具有不对称分裂特性,在一定的诱导条件下,可分化成临床所需的神经细胞,修复各种病理引起的神经元缺失和受损伤的神经胶质细胞。NSC 不仅能促进神经元的再生和脑组织的修复,而且通过基因修饰还可用于神经系统疾病的基因治疗,表达外源性的神经递质、神经营养因子及代谢性酶,为许多难以治疗的神经系统疾病提供了新的治疗途径。

## 2 NSC 治疗 AD

NSC 治疗 AD 的目的是修复和替代受损的神经细胞,重建细胞环路和细胞功能,主要通过两种途径:①内源性途径,即诱导内源性 NSC 增殖与分化,使受损伤的中枢神经系统进行自我修复;②外源性途径,即直接替代缺损组织或植入基因工程细胞,这一类细胞能分泌促进干细胞增殖与存活的因子。

**2.1 内源性途径** 该途径是通过激活内源性 NSC,使其再进入细胞循环,并诱导其增殖、分化,产生各种神经细胞替代缺损的细胞,这对修复神经系统细胞损伤颇具潜力。研究表明,成年大鼠新皮质第 6 层神经元在凋亡性损失后,内源性的前体细胞可在原位被诱导分化为层状和区域特异性的神经元,并重新

建立靶向性有功能的轴突投射,替代原有的神经元<sup>[13]</sup>。然而在 AD 患者或是动物模型脑内,大量神经元持续破坏的情况下,并没有大量神经元再生。有人认为,神经退行性病变的过程其实是内源性神经再生失败的过程。Haughey 等研究发现,在体外培养条件下, $A\beta$  可抑制取自大鼠脑室内下区/脑皮质区的 NSC 和源自人胚胎的 NSC 增殖、分化,并能诱导其凋亡<sup>[14]</sup>。接着他们发现,在转基因鼠早发家族性 AD 模型中,海马齿状回的 NSC 增殖、存活的明显减少,用  $A\beta$  同样可抑制此部位分离纯化后体外培养的 NSC 增殖分化,并诱导凋亡,其机理可能是由于细胞内钙离子失调导致钙激活蛋白酶和 caspase 凋亡途径被激活<sup>[15]</sup>。国内学者的研究表明, $A\beta$  对体外培养的 NSC 的增生有抑制作用,而且当  $A\beta$  浓度很低时就有抑制作用,特别是浓度  $> 25 \mu\text{mol/L}$  时,抑制作用非常明显<sup>[16]</sup>。也有学者发现,将  $A\beta_{25-35}$  注射到成年小鼠侧脑室后,海马齿状回 NSC 的增殖明显受到抑制,并且持续到注射后第 20 天<sup>[17]</sup>。Miguel 等却持有不同的观点,他们经研究发现, $A\beta$  不但没有损害内源性 NSC 的神经再生能力,而且可以增强离体培养的 NSC 的再生能力;进一步的研究显示, $A\beta_{42}$  (非  $A\beta_{40}$  或  $A\beta_{25-35}$ ) 可以提高海马 NSC 的增生活性,没有出现 NSC 的凋亡,尤其是  $A\beta_{42}$  的浓度为  $1 \mu\text{M}$  时,这种诱导 NSC 再生的效应非常显著,其机理是介导了酪氨酸激酶磷酸化和有丝分裂原活性蛋白酶通路,而  $A\beta$  的形式及聚集状态是导致产生实验差异的关键<sup>[18]</sup>。国外学者对 AD 患者进行脑尸检发现,海马区神经再生标志蛋白过度表达,并且新的神经元在 CA1 区增加<sup>[19]</sup>。美国学者对转基因 AD 小鼠的研究显示,在淀粉样斑块沉积处及斑块周围  $15 \mu\text{m}$  范围内的树突棘明显减少,树突萎缩,密度降低,而突触变得异常屈曲增大,造成神经元之间营养、信息传递障碍。他们进一步应用 YFP 标记细胞并结合经颅 2-光子成像技术,发现斑块沉积处树突棘的消亡与再生均明显高于其他部位,但消亡率大于再生率,这种情况也见于斑块沉积处的突触,提示淀粉样斑块周围的微环境对神经元的形成有双重作用<sup>[20]</sup>。意大利的学者认为,成年个体中枢神经系统中的 NSC 具有很大的潜能,他们给 AD 大鼠脑室内持续 14 d 注射 bFGF、EGF 后又持续 14 d 注射 NGF,结果发现内源性 NSC 显著增生,动物的认知功能得到改善,提示内源性 NSC 不能主动激活,而在一些外源性药物的诱导下可大量增生修复损伤<sup>[21]</sup>。Sugaya 等认为,除了  $A\beta$ ,PS 可能亦影响到内源性 NSC 的增殖分化,因此可以认为内源性 NSC 的抑制和 AD 的病理过程存在联系<sup>[22]</sup>。目前,对 NSC 的分化机制尚不清楚,且诱导 NSC 定向分化的调控机制及技术亦未成熟,在大多数情况下,仅由内源性干细胞产生的神经组织可能不足以替代损伤后缺失的神经组织,尤其在脊髓和纹状体等神经组织发生很少的部位<sup>[23]</sup>。如何诱导脑内的内源性 NSC 增生并分化为神经元形成功能网络是今后研究的方向。

**2.2 外源性途径** 外源性途径即通过实验室由未分化的神经细胞生长为适合移植到患者体内的已分化细胞,方法是在种植前把未分化细胞培养分化为神经细胞,或直接把干细胞移植到体内,通过信号引导作用使其分化成神经元等。应用外源性 NSC 治疗神经系统疾病的方法主要包括细胞移植和基因治疗。

**2.2.1 异体 NSC 移植** 实验表明,体外培养的 NSC 移植到脑内后能够迁移分化为特定部位的神经细胞,其分化方向与所处的微环境密切相关。人胚来源的 NSC 移植到大鼠脑损伤部位

后可逐渐分化为星形胶质细胞<sup>[24]</sup>;如移植入小鼠脑脊液循环中不但存活良好,而且具有向局部脑实质内迁移的能力<sup>[25]</sup>。成年脊髓来源的 NSC 在移植入海马齿状回后分化为神经元,但当被移回成年脊髓后则不能产生神经细胞<sup>[26]</sup>;从成年海马获得的干细胞被移植到成年大鼠室管膜下区后,产生嗅球的神经元能表达嗅球内相应的神经递质,而不是海马中的神经递质,移植到海马后则产生新的海马神经元<sup>[27]</sup>。这些研究表明,局部环境而不是 NSC 自身的内在特性决定了移植细胞的最终命运。传统观点认为,NSC 移植只适用于局灶性神经系统病变,研究较多的为 NSC 移植治疗帕金森氏病(Parkinson's disease, PD)。然而在许多遗传因素或其他因素导致的中枢神经退行性疾病中,神经损伤通常散发在整个脑和脊髓。按照传统的观念,这种弥散分布的多发性退行性病变并不是神经移植的典型范围。然而 NSC 的迁移性特征为上述疾病的治疗提供了新的视野。目前,NSC 移植已经广泛地应用于包括 AD 和 PD 在内的各种神经系统退行性病变的实验研究,尤其是在 AD 中的应用越来越受到重视。移植后的 NSC 能被特异性吸引到脑内神经退行性变区域。Tate 等发现,注射人 A $\beta$  能在大鼠脑内引发炎症反应,注射到对侧脑室的小鼠 NSC 能够迁移并包围 A $\beta$  注射区<sup>[28]</sup>。对转基因 AD 小鼠的研究也表明,表达外源性基因的 NSC 能迁移到 A $\beta$  堆积区,提示 NSC 具有 A $\beta$  损伤区的自主追踪性,可以在治疗 AD 等全脑神经退行性病变中起传递治疗性分子的作用,然而尚不清楚刺激 NSC 迁移的信号为 A $\beta$  本身还是 A $\beta$  造成的损伤区释放的炎症分子。2002 年, Kim 等发现,当 NSC 的迁移性被抑制时,其分化能力同样也被抑制<sup>[29]</sup>。据此, Kim 等认为在成年脑组织中, NSC 必须迁移到靶区域才能表现出它们的神经可塑性。目前,利用 NSC 进行临床治疗的实验已初步展开并且取得了令人振奋的结果。Qu 等将体外扩增的人类 NSC 注射到老龄大鼠的侧脑室,数周后实验组的 Morris 水迷宫测试认知能力得分明显高于对照组,表明外源性 NSC 改善了老龄大鼠的认知能力<sup>[30]</sup>。有人用兴奋毒素破坏鼠前脑胆碱能功能区域制成 AD 损伤模型,将一种源自第 14 天胎鼠海马趾原基的永生化 NSC 系 MHP36 细胞注入,发现外源性干细胞主动迁至损伤区域,分化为神经元和胶质细胞,重建锥体细胞层的大体结构,鼠的认知功能恢复,证明外源性 MHP36 细胞能在损伤部位替代分化为胆碱能神经元<sup>[31]</sup>。Wu 等在人胚胎 NSC 体外培养增殖过程中增加了一个新的预充步骤,能促进 NSC 在体内微环境中几乎被完全诱导分化为神经元,将处理后的 NSC 移植入成年鼠中枢神经系统,发现在局部胆碱能神经元通路区域 NSC 被微环境诱导分化后获得胆碱能神经元表型<sup>[32]</sup>,因此将 NSC 移植治疗从单纯 NSC 移植向功能型 NSC 移植迈进了一步。国内有学者应用体外培养的 NSC 与脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)联合治疗 AD 大鼠,结果发现可促进大鼠学习记忆能力的恢复,同时观察到海马胆碱能纤维再生<sup>[33]</sup>。由于 NSC 在去除丝裂原信号后分化为神经细胞,不再具有增殖能力,因此移植后不具有致癌性。有报道显示,长期培养的人 NSC 移植到成年大鼠纹状体后,其分化成神经元和神经胶质细胞的能力仍保留,但未见肿瘤形成(即便是免疫缺陷的宿主),移植后的 NSC 也未见瘤样生长<sup>[34]</sup>。但也有部分 NSC 移植后可发展为脑瘤的报道<sup>[35]</sup>。Vescovi 等在研究细胞移植治疗 PD 时发现,在体外实验中如果没有必须的因素干预,

NSC 自然分化为多巴胺能神经元的比例只占细胞总数的 0.5% ~ 5%<sup>[5]</sup>。因此,诱导 NSC 向修复所需的神经功能(目的)细胞分化成为研究的核心。另外,不同来源的 NSC 对同一分化因子的反应不同;同一来源的 NSC 对不同分化因子或不同浓度的分化因子的反应也不同,表明 NSC 对外源性因子的反应具有多样性,这也使得从离体实验结果推论出某种因子在 NSC 成熟过程中的作用非常困难,而要摸索,找出一种最佳因子、最佳浓度的组合更是一件十分艰巨的工作,尚待时日和研究者的共同努力。

**2.2.2 基因治疗** 现阶段,用于中枢神经系统疾病治疗的很多大分子物质,如 NGF、脑源性神经生长因子等都不能通过血脑屏障,使部分中枢神经系统疾病的治疗受到一定的限制。因此,基因治疗的出现开辟了新途径,将编码特定神经递质或蛋白质因子的基因转入细胞或病毒载体(如纤维母细胞、星形胶质细胞、单纯疱疹病毒、腺病毒等)治疗中枢神经系统疾病已为人们所熟悉。然而,应用 NSC 有许多其他载体所没有的优点,如:①可自我复制;②可远距离迁移至病损部位;③表达稳定,维持时间长;④避免排异反应。因此,NSC 是非常理想的基因载体。目前,转导 NSC 的基因有报告基因、神经营养因子基因、递质合成酶基因和代谢酶基因等。近 10 多年的研究显示,体外状态下很难维持原代 NSC 生存或增殖达到足够长的时间,以检测其特性或对外源性因子的反应。一般情况下,NSC 经过 3 个月左右的细胞增殖期便进入凋亡期。因此,人们通过基因转移技术得到的永生化 NSC 系为体外观察和移植研究提供了更稳定的材料。产生永生化 NSC 的经典方法是通过逆转录病毒将编码癌基因蛋白的基因克隆到发育中的脑细胞,改变细胞的表型,使部分细胞渡过细胞分裂的危相期而停留在细胞分裂的某一时期,不能进行终末分化,并获得长期传代的能力,从而使 NSC 得到“永生”。目前应用最广的是 V-myc large-T 抗原。NSC 应用于基因治疗主要是通过利用永生化细胞系作为体外转基因载体植入病变的神经组织,从而转入 NGF 和某些代谢酶等基因,使其在脑内表达,主要用于治疗病变比较弥散的神经营养性疾病或以中枢神经系统为主要病损的遗传性代谢疾病。这一治疗技术弥补了以病毒作为载体的基因治疗的一些不足,使外源性基因在脑内更易于表达,移植后可定向迁移到受损部位。NSC 携带各种生长因子或细胞因子的报告基因植入体内后,可表达外源性基因,产生相应的生长因子或细胞因子,如 bFGF、BDNF、神经营养素-3(nerve nutrient-3, NT-3)等,诱导自身干细胞定向分化,从而达到细胞替代和基因治疗的双重作用。Philips 等在脑损伤后 24 h 内,将能分泌 NGF 和不能分泌 NGF 的 NSC 移植到脑损伤附近的大脑皮质,1 周后观察到移植了 NSC 的大鼠的神经功能和空间识别能力较未移植 NSC 的大鼠明显改善;与移植了不能分泌 NGF 的 NSC 的大鼠相比,移植了能够分泌 NGF 的 NSC 的大鼠能够明显减少海马 CA3 区的细胞死亡<sup>[36]</sup>。阮奕文等将 NGF/BDNF 基因重组逆转录病毒转染 NSC 移植到 AD 大鼠脑室,结果能改善 AD 大鼠的学习记忆能力,且进一步的研究发现,单纯 NGF 基因修饰的 NSC 对基底前脑胆碱能神经元具有营养保护作用,且效果优于 NGF/BDNF 联合组<sup>[37,38]</sup>。

### 3 问题与展望

虽然人们在动物实验中已取得了令人鼓舞的进展,但目前

还没有应用 NSC 治疗人类 AD 获益的证据。目前尚缺乏足够的证据来评价 NSC 移植在神经功能恢复方面所起的作用。移植后的 NSC 虽表达了一些正常神经元的标志物,如 Tuj1、MAP2、NeuN 等,但只有一个实验证明移植产生的神经元形成突触和轴突<sup>[39]</sup>。有的学者应用行为学指标对细胞移植物的功能进行评价。然而,行为功能的提高是成熟的 NSC 产生的结果,还是移植在宿主体内神经营养作用的结果?因缺乏合理的细胞移植功能评价指标,行为学实验也难以定论。如何诱导 NSC 在病变部位定向分化为胆碱能神经元;如何建立功能连接、优化修饰 NSC 的基因或药物等问题还需要人们进一步的研究。人类的 NSC 是宝贵的医学资源,随着人们对 NSC 认识的深入,研究的重点是建立激活自身 NSC 为主、移植为辅的方法,以解决细胞来源不足及存活率低、存活时间短的问题。当 NSC 的基础研究进一步解决了 NSC 的增殖、迁移、分化及与宿主融合的机制等制约临床应用的问题之后,相信利用 NSC 治疗 AD 等引起的脑损伤将会成为现实。

#### [参考文献]

- [1] Guo Q, Robinson N, Mattson M. Secreted  $\beta$ -amyloid precursor protein counteracts the proapoptotic action of mutant presenilin-1 by activation of NF- $\kappa$ B and stabilization of calcium homeostasis [J]. J Biol Chem, 1998, 273(20): 12341—12351.
- [2] Selkoe DJ. Defining molecular targets to prevent Alzheimer disease [J]. Arch Neurol, 2005, 62(6): 192—195.
- [3] Johnsson CB, Momma S, Clarke DL, et al. Identification of a neural stem cell in the adult mammalian central nervous system [J]. Cell, 1999, 96(1): 25—34.
- [4] 历俊华, 郑淑荣, 万虹, 等. 血清预培养促进神经干细胞的增殖 [J]. 中国康复理论与实践, 2005, 11(5): 339—340.
- [5] Vescovi AL, Synder EY. Establishment and properties of neural stem cell clones: plasticity in vitro and in vivo [J]. Brain Pathol, 1999, 9(3): 569—598.
- [6] 安沂华, 翟晶, 历俊华, 等. 离体培养神经干细胞的超微结构学研究 [J]. 中国康复理论与实践, 2004, 10(1): 11—12.
- [7] 陈玲, 陈景刚, 唐洲平, 等. 不同培养条件下胚胎神经干细胞分化细胞中神经元所占比例的比较 [J]. 中国康复, 2005, 20(2): 72—75.
- [8] Groszer M, Erickson R, Scripture-Adams DD, et al. Negative regulation of neural stem: progenitor cell proliferation by the pten tumor suppressor gene in vivo [J]. Science, 2001, 294(5549): 2186—2189.
- [9] Hitoshi S, Alexson T, Tropepe V. Notch pathway molecules are essential for the maintenance, but not the generation, of mammalian neural stem cells [J]. Genes Dev, 2002, 16(5): 846—858.
- [10] Amar AP, Zlokovic BV, Apuzzo MLJ. Endovascular restorative neurosurgery: A novel concept for molecular and cellular therapy of the nervous system [J]. Neurosurgery, 2003, 52(2): 402—413.
- [11] 叶建新, 王伟, 郑志斌. 移植神经干细胞对血管性痴呆大鼠海马胆碱能神经元的影响 [J]. 中国康复理论与实践, 2005, 11(1): 10—12.
- [12] Modo M, Rezaie P, Heuschling P, et al. Transplantation of neural stem cells in a rat model of stroke: assessment of short-term graft survival and acute host immunological response [J]. Brain Res, 2002, 958(8): 70—82.
- [13] Magavi SS, Leavitt BR, Macklis JD. Induction of neurogenesis in the neocortex of adult mice [J]. Nature, 2000, 405(6789): 951—955.
- [14] Haughey NJ, Liu D, Nath A, et al. Disruption of neurogenesis in the subventricular zone of adult mice, and in human cortical neuronal precursor cells in culture, by amyloid  $\beta$ -peptide: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease [J]. Neuromolecular Med, 2002, 1(2): 125—135.
- [15] 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]. J Neurochem, 2002, 83(6): 1509—1524.
- [16] 胥显民, 牛勃, 王廷杰, 等.  $\beta$ -淀粉样蛋白对神经干细胞致凋亡作用研究 [J]. 中国药物与临床, 2004, 4(1): 31—33.
- [17] 李学坤, 左萍萍, 孔令娜, 等. A $\beta$ <sub>25-35</sub> 抑制成年小鼠海马齿状回区神经前体细胞增殖 [J]. 中国药理学通报, 2004, 20(7): 808—811.
- [18] Miguel A, Shelanski ML. Neurogenic effect of  $\beta$ -amyloid peptide in the development of neural stem cells [J]. J Neurosci, 2004, 24(23): 5439—5444.
- [19] Jin K, Peel AL, Mao XO, et al. Increased hippocampal neurogenesis in Alzheimer's disease [J]. PNAS, 2004, 101(1): 343—347.
- [20] Tsai J, Grutzendler J, Duff K, et al. Fibrillar amyloid deposition leads to local synaptic abnormalities and breakage of neuronal branches [J]. Nat Neurosci, 2004, 11(7): 1181—1183.
- [21] Calza L, Giuliani A, Fernandez M, et al. Neural stem cells and cholinergic neurons: regulation by immunolesion and treatment with mitogens, retinoic acid, and nerve growth factor [J]. PNAS, 2003, 100(12): 7325—7330.
- [22] Sugaya K, Brannen C. Stem cell strategies for neuroreplacement therapy in Alzheimer's disease [J]. Med Hypotheses, 2001, 57(6): 697—700.
- [23] Cao Q, Benton RL, Whittemore SR. Stem cell repair of central nervous system injury [J]. J Neurosci Res, 2002, 68(5): 501—510.
- [24] 张泽舜, 万虹, 历俊华, 等. 大鼠脑损伤对移植人胚神经干细胞存活和分化的影响 [J]. 中国康复理论与实践, 2004, 10(1): 23—25.
- [25] 王力平, 樊东升, 王荫华, 等. 神经干细胞脑脊液移植后存活及迁移规律研究 [J]. 中国康复理论与实践, 2005, 11(5): 337—338.
- [26] Shihabuddin LS, Homer PJ, Ray J, et al. Adult spinal cord stem cells generate neurons after transplantation in the adult dentate gyrus [J]. J Neurosci, 2000, 20(23): 8727—8735.
- [27] Suhonen JO, Peterson DA, Ray J, et al. Differentiation of adult hippocampus derived progenitors into olfactory neurons in vivo [J]. Nature, 1996, 383(6601): 624—627.
- [28] Tate BA, Werzanski D, Marciniack A, et al. Migration of neural stem cells to Alzheimer-like lesions in an animal model of AD [J]. Soc Neurosci Abstr, 2000, 26(2): 496—497.
- [29] Kim HM, Qu T, Kriho V, et al. Reelin function in neural stem cell biology [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(6): 4020—4025.
- [30] Qu T, Brannen C, Kim HM, et al. Human neural stem cells improve cognitive function of aged brain [J]. Neuroreport, 2001, 12(6): 1127—1132.
- [31] Gray J, Grigoryan G, Virley D, et al. Conditionally immortalized, multipotential and multifunctional neural stem cell lines as an approach to clinical transplantation [J]. Cell Transplant, 2000, 9(2): 153—168.
- [32] Wu P, Tarasenko Y, Gu Y, et al. Region-specific generation of cholinergic neurons from fetal human neural stem cells grafted in adult rat [J]. Nat Neurosci, 2002, 5(12): 1271—1278.
- [33] 杨丹迪, 龙大宏, 袁爱国, 等. 神经干细胞与 BDNF 联合促进 AD 鼠学习记忆及海马胆碱能纤维再生 [J]. 中国行为医学科学, 2005, 14(1): 35—38.
- [34] Vescovi AL, Parati EA, Gritti A, et al. Isolation and cloning of multipotential stem cells from the embryonic human CNS and establishment of transplantable human neural stem cell lines by epigenetic stimulation [J]. Exp Neurol, 1999, 156(1): 71—83.
- [35] Gvetchen V. Rat brains respond to embryonic stem cells [J]. Science, 2002, 295(5553): 254—255.
- [36] Philips MF, Mattiasson G, Mieloch T, et al. Neuroprotective and behavioral efficacy of nerve growth factor-transfected hippocampal progenitor cell transplants after experimental traumatic brain injury [J]. J Neurosurg, 2001, 94(5): 765—774.
- [37] 阮奕文, 王传恩, 童建尔, 等. NGF/GDNF 基因修饰神经干细胞移植对 AD 模型鼠行为学的疗效 [J]. 解剖学报, 2002, 33(2): 122—125.
- [38] 阮奕文, 袁群芳, 王传恩, 等. NGF/GDNF 基因修饰神经干细胞移植对 AD 模型鼠前脑胆碱能神经元的保护作用 [J]. 解剖学报, 2002, 33(2): 126—129.
- [39] Auerbach JM. Transplanted CNS stem cells from functional synapses in vivo [J]. Eur J Neurosci, 2002, 12(5): 1696—1704.

(收稿日期: 2005-11-02)