

神经干细胞研究介绍

陈晓萍 程君奇

(浙江大学生命科学院浙江省细胞与基因工程重点实验室 浙江杭州 310029)

摘要 神经干细胞研究是近年脑科学研究的热点,本文综述了神经干细胞的分离培养方法、脑内迁移路线、发育分化的影响因素以及可能的应用前景。

关键词 神经干细胞 分离 迁移 发育 分化

脑的结构与机能一直是生命科学的研究难题,它以极其错综复杂而又高度易变为特征,至今仍保持着极大的神秘性。近年来科学家对神经干细胞的研究是脑科学领域的重要成果之一,它突破了以往一直认为的成年动物神经细胞不能分裂再生的观念,为神经细胞的发育分化过程,也为神经系统疾病的治疗开辟了一条全新的途径。

1 神经干细胞的分离培养

神经干细胞(Neural stem cells, NSCs)是指具有如下特征的细胞:1)能形成神经组织;2)具有自我繁殖和自我更新能力;3)细胞分裂后能发生分化^[1]。

胚胎时期是神经系统快速增长发育的阶段,在这时期脑内的许多部位都存在神经干细胞,这包括大脑皮质、纹状体、小脑等区域。成年后,脑细胞一般不再分裂增殖。以往曾一度认为成年动物神经细胞完全失去了这种能力,但近年科学家在高等哺乳动物(包括人)的脑室管膜下层等区域发现了仍具有增殖分化能力的神经干细胞。另外,在啮齿类动物主管学习记忆的海马区,也发现了神经干细胞的存在^[2]。

成年动物脑内的神经干细胞仅仅是保存了能进行分裂增殖的潜能,通常情况下得不到足够的正面刺激

信号,因而并不分裂增殖,而是处于静止状态。

从脑组织分离培养神经干细胞需要特殊的条件,目前多采用生长因子刺激和细胞克隆技术。具体有3种方法^[3]:1)用无血清培养液将脑细胞分离,再加入具有丝裂原作用的生长因子如表皮生长因子或碱性成纤维生长因子,待原代克隆形成后挑选单个克隆机械分离继续进行亚克隆培养,也可采用单细胞克隆分离;2)用反转录病毒向脑细胞内导入原癌基因,如V-myc和SV40大T抗原等,部分细胞可因此获得持续分裂的能力;3)从脑组织以外的部位,如胚胎干细胞,经过适当化学因子的诱导,使其定向分化为神经干细胞。

外加化学因子对于维持神经干细胞的分裂增殖能力是必须的。培养液中如撤去外加的化学因子,改用普通培养,神经细胞会很快发生分化,失去分裂增殖能力。

2 神经细胞的发育及脑内迁移路径

神经系统的发育源于胚胎早期的神经管和神经嵴^[4],其中的中央管发育形成脑室系统和脊髓中央管,管腔内表面覆盖的上皮细胞具有活跃的增殖和分化能力,是神经细胞发生的来源。成年后这个区域称为室管膜/室管膜下区。

内径1~2mm的完全闭合的呼吸管。据Blandford报道,这种呼吸管中衬有外套膜组织。上述蜗牛的夏眠能从1月持续至6月。同时具有裂口、裂沟和缝合线管的结构有利于气体的循环。在足部和外套膜肌肉运动下,可促使气体交流和循环,贝类学家Fischer曾对冬眠期间的盖罩大蜗牛进行了研究,业已证明其足部和外套膜从未停止过运动。

8)喇叭状口和壳壁上的穿孔 A lycaeinae 的种类,其成体的壳口呈喇叭状,其后逐渐缩小成一口颈。在口颈近缝合线的壳壁上有穿孔。A lycaeus 属的种类,如A lycaeus major 壳壁上的孔由内向外通入一覆盖在缝合线上的管。管的截面略呈三角形。此管在缝合线上,略弯曲,呈带状,长约6~7mm,管的末端是盲端,但常破

碎,即使不破碎,该管仍可进行气体交换。据分析这个带状结构比通常的贝壳更具通透性。因种类不同,喇叭口的长度有差异,缝合线管内开口到口缘距离也有所不同。喇叭状的壳口可能是为了蜗牛在夏眠期间有一个较大的气室,这与无厝贝类具有的盖膜腔情况相似。由此可以推断A lycaeus 和 Pup iniae 的一些种类缝合线管在内部的开口可能与肺呼吸孔靠得很近。

其他的一些陆生螺类,如Rumina decollata 和 Clausilia 的一些种类,在夏眠期间往往往胚螺层失去,然而可能也有利于呼吸。破损的一端由内脏分泌的膜封住,这比休眠时螺壳倒下,靠外套膜边缘呼吸更利于气体交换。

(BF)

脑细胞生成后沿着一定的路线迁移,并在局部环境的影响下进行发育分化,最后到达相应的功能区域。迁移方式有两种,一种是以辅助细胞-放射状胶质细胞为导引,沿着放射状胶质细胞的突起前进,这是大部分脑细胞的迁移方式。另一种则不需要放射状胶质细胞的帮助,神经细胞直接迁移到目的地,大约14%的神经细胞以这种方式迁移。

成年后哺乳动物脑内仅有海马区的齿状回和环绕侧脑室的室管膜下层仍能产生新生神经细胞。齿状回的新生神经细胞元产生后不再迁移,而室管膜下层的原始神经细胞则沿侧脑室前角的一条固定路线向嗅脑迁移,迁移细胞首尾相接形成链状带,周围被星形胶质细胞包围,迁移在星形胶质细胞组成的鞘内进行。

神经干细胞具有很强的可塑性,当它们迁移到达目的地后,很快便发育、分化,与周围组织融为一体。

近年来令人振奋的发现是,当脑组织损伤时,植入的神经干细胞能迁移、定位于损伤部位,并进而发育分化为损伤部位的组织细胞。这意味着有可能用外来的神经干细胞移植治疗严重的脑损伤。

3 影响神经干细胞发育分化的因素

神经干细胞在脑内的发育分化和最终命运受到局部环境中多种因素的综合影响,目前人们仅对其中的少数因素有所了解^[1]。

神经干细胞的迁移能力与一种富含唾液酸的糖蛋白-神经细胞粘附分子有关。其基因剔除动物,出现神经干细胞的迁移能力下降,以化学方式裂解这种分子也有类似变化。

在衰老死亡的神经细胞和新生的神经细胞数量中可能有某种平衡存在。在小鼠,平均每200个存在的神经元每天生成1个新的神经细胞进行补充,这个数目在不同年龄的小鼠有所差异,老年动物新生神经元数目下降,这是由遗传基因决定的。外界环境可以改变这个平衡。知识学习、体育锻炼均能增强神经干细胞的增殖能力,使神经细胞数量增加。

脑内的多种神经内分泌递质影响神经细胞的再生能力。糖皮质激素抑制神经细胞的生成,谷氨酸也有类似的作用。多种生长因子,如表皮生长因子、成纤维细胞生长因子-2,都有刺激细胞增长的作用。

神经干细胞的发育、分化命运也是由周围环境中的多种化学信号共同决定的,如白介素-I、白介素-II、白血病抑制因子、胶质细胞来源的神经营养因子,共同诱导神经干细胞生成多巴胺能神经元,睫状神经营养因子则诱导分化为星形胶质细胞。

4 神经干细胞的应用前景

神经干细胞的研究,为中枢神经系统疾病的治疗开辟了一条新的途径。

对于神经系统退行性病变及严重脑损伤,神经干细胞移植有可能替代衰老死亡的神经细胞,重建失去的脑功能。从胎脑中也能取得干细胞进行移植,但胎脑来源少,而且往往受到伦理道德等因素的制约。神经干细胞可以在体外建株,大量培养,是很有前途的发展方向。目前,正在研究在阿尔茨海默氏病、帕金森氏综合征、多发性硬化症等疾病中的应用^[5,6]。

体外培养的神经干细胞也便于进行逆转录病毒感染,导入外源基因,进行神经系统疾病的基因治疗。黑矇症是一种神经细胞 β 已糖苷酶功能缺陷所致的疾病,已有实验将已糖苷酶导入神经干细胞,再进行移植,结果在脑内许多部位都分化形成了与该区域相应的细胞类型,它们能表达 β 已糖苷酶^[7]。

近年在成年动物脑内神经干细胞的发现,启迪人们研究如何能激活这部分处于静止状态的细胞。已经发现一些因素能增强活体中神经干细胞的分裂和迁移能力^[8]。

神经干细胞的研究是近年新兴的研究领域,目前有关它的移植和诱导分化仍带有很大的盲目性,它在脑内的增殖迁移和分化过程还难以进行预料和控制,这方面的深入研究将大大地推进其在神经系统疾病治疗中的应用。

参考文献

- 1 Fred H G. Mammalian neural stem cells. *Science*, 2000, 287(25): 1433—1438
- 2 Doetsch F, Caille L, Lin D A, *et al*. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell*, 1999, 97(6): 703—716
- 3 唐炯,赵寿元,李昌本. 神经干细胞研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2000, 27(5): 480—483
- 4 刘仕勇,杨辉. 神经干细胞和祖细胞. *细胞生物学杂志*, 2000, 22(4): 184—188
- 5 Corti O, Sabate O, Herellou P, *et al*. A single adenovirus vector mediates doxycycline-controlled expression of tyrosine hydroxylase in brain grafts of human neural progenitors. *Nature biotechnology*, 1999, 17(4): 349—354
- 6 Yandava B D, Billingham L L, Snyder E Y. "Global" cell replacement is feasible via neural stem cell transplantation: evidence from the dysmyelinated shiverer mouse brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(12): 7029—7034
- 7 Flax J D, Aurora S, Yang C-H, *et al*. Engraftable human neural stem cells respond to developmental cues, replace neurons and express foreign genes. *Nature Biotechnology*, 1998, 16(11): 1033—1039
- 8 Weiss S. Pathways for neural stem cell biology and repair. *Nature Biotechnology*, 1999, 17(9): 850—851

(BH)