

# 人脂肪源性间充质干细胞在实验性脑胶质瘤靶向治疗中的应用

范存刚 张庆俊

**【摘要】** 胶质母细胞瘤是最常见的成人原发性恶性脑肿瘤。即使经过手术切除和标准同步放疗及替莫唑胺辅助化疗,患者中位生存期也仅为 14.60 个月。近年研究显示,人脂肪源性间充质干细胞(hAT-MSCs)具有向脑胶质瘤趋化迁移的特性,经修饰后携带单纯疱疹病毒胸苷激酶、酵母胞嘧啶脱氨酶-尿嘧啶磷酸核糖基转移酶和兔羧酸酯酶等基因的 hAT-MSCs 分别联合更昔洛韦、5-氟胞嘧啶和伊立替康等抗肿瘤前药可发挥有效的抗胶质瘤作用,携带溶瘤病毒和表达肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体的 hAT-MSCs 亦可发挥良好的抗肿瘤功效。本文对此领域的研究进展进行总结,以期为基于 hAT-MSCs 的胶质瘤靶向治疗提供借鉴。

**【关键词】** 间质干细胞移植; 药物载体; 脂肪组织; 肿瘤,实验性; 神经胶质瘤; 综述

DOI:10.3969/j.issn.1672-6731.2012.06.005

## The potentials of human adipose tissue derived mesenchymal stem cells in targeted therapy of experimental glioma

FAN Cun-gang, ZHANG Qing-jun

Department of Neurosurgery, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China

Corresponding author: ZHANG Qing-jun (Email: zhangqjpk@163.com)

**【Abstract】** Glioblastoma is the most common primary malignant brain tumor in adults. With current standard therapy which includes extensive microsurgical resection along with concurrent chemoradiotherapy and adjuvant temozolomide (TMZ), the median survival of glioblastoma patients is only 14.60 months nowadays. Recent studies demonstrated that human adipose tissue derived mesenchymal stem cells (hAT-MSCs) possessed the glioma-trophic migratory capacity. The engineered hAT-MSCs expressing herpes simplex virus-thymidine kinase (HSV-tk), yeast cytosine deaminase:uracil phosphoribosyltransferase (CDy::UPRT), and rabbit carboxylesterase (rCE) could exert inhibitory effects on glioma when combined with prodrugs, such as ganciclovir (GCV), 5-fluorocytosine (5-FC) and irinotecan (CPT-11), respectively. hAT-MSCs carrying the oncolytic virus or expressing tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) also could inhibit the growth of glioma. This paper summarizes the recent progress in this field to pave the way for hAT-MSCs based targeted therapy of glioma in future.

**【Key words】** Mesenchymal stem cell transplantation; Drug carriers; Adipose tissue; Neoplasms, experimental; Glioma; Review

**Fund Project:** Program of National Natural Science Fund for Young Scientist (No. 81001009)

近年来,以具有趋瘤能力的干细胞为载体,携带各种治疗因子的靶向治疗成为恶性胶质瘤治疗策略的研究热点。虽然神经干细胞在临床前实验中取得了令人鼓舞的效果<sup>[1]</sup>,但在其向临床转化过程中却受到采集、分离和体外扩增的技术困难、异

体移植潜在的免疫排斥反应,以及伦理、法律等因素的限制。研究表明,相对易于获得的骨髓间充质干细胞(BM-MSCs)具有与神经干细胞相似的趋瘤能力<sup>[2]</sup>,而采集的技术困难较小,操作条件的要求也相对较低。然而,骨髓间充质干细胞的数量相对有限,且随年龄的增长其增殖能力下降<sup>[3]</sup>。为此,具有类似趋瘤效应<sup>[2]</sup>,且数量较大、无伦理和法律顾虑、易于获得和分离、可进行自体移植的人脂肪源性间充质干细胞(hAT-MSCs)有望成为更为理想的脑胶

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金资助项目(项目编号:81001009)

作者单位:100044 北京大学人民医院神经外科

通讯作者:张庆俊(Email:zhangqjpk@163.com)

质瘤基因靶向治疗载体<sup>[4]</sup>。

### 一、人脂肪源性间充质干细胞趋瘤效应

对不同来源干细胞趋瘤效应的比较研究发现,在 Transwell 体外迁移实验和向大鼠脑干胶质瘤(F98)体内迁移实验中,hAT-MSCs 具有与骨髓间充质干细胞和神经干细胞相似的趋瘤性<sup>[2]</sup>。注射于远隔肿瘤部位的 hAT-MSCs 能向胶质瘤迁移并包绕其周围;直接注射至肿瘤内部的 hAT-MSCs 则广泛分布于瘤床但不侵及正常脑组织<sup>[5]</sup>。对 hAT-MSCs 进行基因转染的研究表明,虽经精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸纤维修饰的腺病毒载体可显著提高其转染效率,但腺病毒转染后 hAT-MSCs 的体外趋瘤能力下降 55%,在体内追踪非浸润性 U87 和浸润性 E98 胶质瘤的能力则完全丧失。究其原因可能与腺病毒转染后 hAT-MSCs 中的病毒蛋白诱发局部急性炎症反应,使 hAT-MSCs 被免疫细胞清除、使其向肿瘤归巢的能力受到影响有关。由此可见,第一代腺病毒作为呈递基因的载体并不适用于 hAT-MSCs,而免疫源性较弱的逆转录病毒、慢病毒、腺相关病毒或第二代腺病毒载体可能是更为理想的载体系统<sup>[5]</sup>。随后的研究表明,经逆转录病毒<sup>[6-7]</sup>、黏液瘤病毒<sup>[8]</sup>和核转染<sup>[4,9-10]</sup>携带特定治疗因子的 hAT-MSCs 的趋瘤能力均未受到明显影响,并能在体内外有效地发挥抗肿瘤功效。

### 二、人脂肪源性间充质干细胞与酶/抗肿瘤前药

以间充质干细胞作为载体的酶/抗肿瘤前药组合是肿瘤基因靶向治疗的理想治疗策略之一。经基因修饰后表达特定酶的间充质干细胞能够趋向性迁移至肿瘤内部及周围,并与肿瘤细胞形成缝隙连接<sup>[6]</sup>,从而将肿瘤细胞内部相对无毒性的抗肿瘤前药转变为具有药理活性的细胞毒性药物,在杀伤肿瘤细胞的同时有效地避免了全身用药的毒性。此外,间充质干细胞所携带的前药不仅能够杀伤肿瘤细胞,还可杀伤增殖的间充质干细胞本身<sup>[6]</sup>,从而确保了应用间充质干细胞治疗肿瘤的安全性。目前,研究最为关注的三种酶/抗肿瘤前药组合为单纯疱疹病毒胸苷激酶(HSV-tk)/更昔洛韦(GCV)系统、酵母胞嘧啶脱氨酶-尿嘧啶磷酸核糖基转移酶(CDy::UPRT)/5-氟胞嘧啶(5-FU)系统和兔羧酸酯酶(rCE)/伊立替康(CPT-11)系统。

1. 人脂肪源性间充质干细胞联合单纯疱疹病毒胸苷激酶/更昔洛韦 HSV-tk/GCV 是目前使用最广泛的酶/抗肿瘤前药组合<sup>[11]</sup>。作为嘌呤核苷类似物,

更昔洛韦被 HSV-tk 阴性细胞摄取后不产生毒性或毒性极低,但在 HSV-tk 阳性细胞内可被胸苷激酶磷酸化为有细胞毒性的磷酸化产物,从而抑制细胞 DNA 聚合酶活性;或可作为脱氧鸟苷三磷酸竞争性抑制物掺入合成的 DNA 中,阻断 DNA 链延长、抑制细胞 DNA 合成,使细胞死亡<sup>[11]</sup>。虽然 HSV-tk/GCV 组合的自杀基因治疗策略在临床前实验中安全有效,但在临床试验中却受靶细胞转染率低等因素制约而收效欠佳<sup>[12]</sup>。鉴于此,有学者提出利用骨髓源性肿瘤浸润细胞和神经干细胞的趋瘤特性提高 HSV-tk/GCV 的肿瘤选择性靶向治疗效率<sup>[13-14]</sup>。新近研究结果显示,hAT-MSCs 与上述细胞具有类似趋瘤能力,经逆转录病毒基因修饰后表达 HSV-tk 的 hAT-MSCs(hAT-MSCs-tk)在形态学、增殖能力、免疫表型和分化潜能等方面的生物学特性均未发生变化,对人脑胶质瘤(8 MG-BA、42 MG-BA 和 U-118 MG)具有更昔洛韦剂量依赖性细胞毒作用,尤以对 8 MG-BA 细胞毒性最强<sup>[6]</sup>。hAT-MSCs-tk 既可通过细胞缝隙连接对胶质瘤细胞发挥旁观者杀伤作用,亦可通过更昔洛韦转化介导的自杀效应作用于增殖的 hAT-MSCs-tk 本身,从而在有效杀伤肿瘤细胞的同时避免了 hAT-MSCs 增殖对肿瘤生长的潜在促进作用。此外,hAT-MSCs-tk 诱导的旁观者效应还能克服 U-118 MG 细胞对 HSV-tk 介导自杀效应的抵抗,提示对自杀效应耐药的肿瘤细胞也可通过产生和释放毒性中间产物的细胞载体进行靶向治疗<sup>[7]</sup>。虽然肿瘤指数生长期系统注射 hAT-MSCs-tk 能使肿瘤体积缩小,但肿瘤生长停滞期或稍后的一段时间内经尾静脉注射 hAT-MSCs-tk 却不能抑制小鼠肿瘤生长,究其原因可能为 hAT-MSCs-tk 未能与肿瘤细胞整合或整合的细胞数量不足。hAT-MSCs-tk 注射后和使用更昔洛韦治疗前,在异种移植瘤内检测不到 tk 基因也证实了这一点<sup>[7]</sup>。由此可见,系统注射后有效靶向胶质瘤的间充质干细胞比例过低可能是未能有效抑制肿瘤生长的机制之一。

2. 人脂肪源性间充质干细胞联合酵母胞嘧啶脱氨酶-尿嘧啶磷酸核糖基转移酶/5-氟胞嘧啶 5-氟尿嘧啶(5-FU)是抗瘤谱较广的化疗药物,但其广泛应用却受到严重不良反应和需要较高药物浓度才能有效发挥作用等因素的限制<sup>[15]</sup>。由于酵母胞嘧啶脱氨酶能够将相对无毒性的 5-氟胞嘧啶转化为有细胞毒性的 5-氟尿嘧啶,且其效率为细菌胞嘧啶脱氨酶(CD)的 15 倍,因此可通过使用 CDy/5-FU 克

服 5-氟尿嘧啶的严重全身毒性<sup>[16]</sup>。此外,表达 CDy::UPRT 双能融合基因的细胞对 5-氟尿嘧啶的敏感性可提高 1 万倍<sup>[17]</sup>,从而显著提高对肿瘤细胞的直接杀伤作用和旁观者效应。故 CDy::UPRT/5-FC 系统是有效发挥 5-氟尿嘧啶抗肿瘤活性并避免全身毒性反应的理想选择。逆转录病毒转染后表达自杀基因 CDy::UPRT 的 hAT-MSCs(hAT-MSCs-CDy) 治疗大鼠脑胶质瘤(C6)的研究显示,无 5-氟尿嘧啶存在的情况下 hAT-MSCs-CDy 对 C6 胶质瘤细胞不具有细胞毒性,但 hAT-MSCs-CDy 联合 5-氟尿嘧啶可杀死 C6 胶质瘤细胞以及对 5-氟尿嘧啶耐药的 C6 细胞亚群。将经超顺磁性氧化铁纳米粒子标记的 hAT-MSCs-CDy 注射到肿瘤对侧大脑半球后,可迁移并浸润至肿瘤内部,有效地抑制肿瘤生长。部分荷瘤大鼠肿瘤消失,可存活 90 d 以上,体质量增加,提示 hAT-MSCs-CDy/5-FC 可治愈胶质瘤。进一步研究表明,经腹腔注射 500 mg/(kg·d)5-氟尿嘧啶,大鼠无进展生存期与 hAT-MSCs-CDy 数量具有剂量依赖效应;通过脑室内连续输注 5-氟尿嘧啶并反复注射 hAT-MSCs-CDy 可进一步延长大鼠存活时间。笔者推测,hAT-MSCs-CDy 靶向治疗胶质瘤的机制可能与 hAT-MSCs 的周细胞样特性有关:hAT-MSCs 同时以肿瘤血管内皮细胞和肿瘤周细胞为靶点,对肿瘤血管生成和肿瘤生长发挥协同的抑制作用,还可以杀伤位于血管周围肿瘤巢的胶质母细胞瘤干细胞<sup>[18]</sup>。由此可见,hAT-MSCs 靶向的肿瘤前药自杀基因治疗在治疗胶质母细胞瘤上是有应用前景的。

3. 人脂肪源性间充质干细胞联合兔羧酸酯酶/伊立替康 伊立替康是一种无生物活性的抗肿瘤前药,在羧酸酯酶作用下可转化为具有生物活性的高效拓扑异构酶 I 抑制剂 7-乙基-10-羟基喜树碱(SN-38),对肿瘤细胞具有显著细胞毒性<sup>[19]</sup>。核转染后表达兔羧酸酯酶的 hAT-MSCs(hAT-MSCs-rCE) 在注射到胶质瘤(F98)后,可分布于瘤床和肿瘤与正常脑实质的界面,并将静脉注射的伊立替康转化为 SN-38,有效地抑制胶质瘤生长并显著延长荷瘤大鼠的中位生存期,但对正常脑组织则无明显影响。虽然治疗组荷瘤大鼠生存期延长具有统计学意义,但实际延长的时间(仅 5 d)却低于预期时间,笔者认为这可能与未采用伊立替康的最佳浓度或伊立替康单药对脑干胶质瘤的疗效欠佳有关<sup>[9]</sup>。

### 三、人脂肪源性间充质干细胞与溶瘤病毒

近年来,溶瘤病毒成为恶性脑肿瘤治疗的研究

热点。其中,黏液瘤病毒(MYXV)是一种具有广泛抗肿瘤谱的新型溶瘤病毒,对肿瘤细胞具有相对选择性杀伤作用,对正常的非转化细胞不具有杀伤效应。黏液瘤病毒是兔特异性病毒,对包括人类在内的脊椎动物均无致病性,人类也缺乏对此类病毒的获得性免疫。黏液瘤病毒的宿主范围十分狭窄,不能有效地感染正常的非兔属细胞(如未转化的脑细胞),但能够感染和杀灭人胶质母细胞瘤细胞。遗憾的是,其疗效仅限于瘤内注射部位,不能感染和杀灭向远隔部位浸润的胶质瘤细胞<sup>[20-21]</sup>。然而,黏液瘤病毒能够有效地感染 hAT-MSCs 并在其内进行复制,且对 hAT-MSCs 的活性和趋瘤能力均无明显影响。表达黏液瘤病毒的 hAT-MSCs 能够向恶性胶质瘤细胞释放毒素,使肿瘤细胞出现核固缩(细胞死亡)和肿瘤生长受抑制,从而延长荷瘤小鼠的生存期。多次注射后还可进一步提高疗效,约 20% 的小鼠可获得无病生存<sup>[8]</sup>。由此可见,hAT-MSCs 可作为黏液瘤病毒治疗脑肿瘤的有效载体。

### 四、人脂肪源性间充质干细胞与肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体

肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TRAIL)是肿瘤坏死因子家族的成员之一,能够选择性地诱导肿瘤细胞凋亡而不会对正常细胞造成损伤<sup>[22]</sup>。它可以通过与细胞表面的两种死亡受体(DR),即 DR4 (TRAIL-R1)和 DR5 (TRAIL-R2/KILLER)结合,从而激活不依赖于 P53 的外在通路<sup>[23]</sup>。经核转染后,hAT-MSCs 能够表达 TRAIL,其水平呈细胞数量依赖性;将其接种于肿瘤后可广泛分布于瘤床及其与正常脑组织的界面,使肿瘤体积缩减 56.30%、肿瘤细胞凋亡数目增加 3.03 倍、荷瘤小鼠生存期延长 3 倍以上,但正常脑实质无损伤。在长期存活的荷瘤大鼠中,部分 hAT-MSCs 开始表达神经分化的标志物但并不表达间质细胞标志物<sup>[4]</sup>,提示非病毒载体转染的 hAT-MSCs 治疗脑干胶质瘤是安全且有效的。

### 五、小结

近年来,神经干细胞和骨髓间充质干细胞在神经系统疾病治疗中显示出一定的应用前景<sup>[1,24-25]</sup>。新近研究显示,在脑胶质瘤的治疗方面,hAT-MSCs 具有与神经干细胞和骨髓间充质干细胞相似的趋瘤效应,且有易于获得和分离、含量高、易于进行基因修饰、可进行自体移植等优点。虽然腺病毒转染后 hAT-MSCs 的趋瘤能力显著下降乃至丧失,但逆转录病毒、黏液瘤病毒和核转染后 hAT-MSCs 的趋

瘤能力均无明显变化。未转染的 hAT-MSCs 对胶质瘤的生长和荷瘤小鼠的中位生存期均无明显影响,提示 hAT-MSCs 作为肿瘤基因治疗的细胞载体具有良好的安全性。经修饰后携带 HSV-tk、CDy::UPRT 和兔羧酸酯酶等酶基因的 hAT-MSCs 分别联合更昔洛韦、5-氟胞嘧啶和伊立替康等抗肿瘤前药可发挥有效的抗胶质瘤作用,携带溶瘤病毒和 TRAIL 的 hAT-MSCs 亦可发挥良好的抗肿瘤功效。由此可见,hAT-MSCs 在脑胶质瘤的基因靶向治疗中有着广泛的应用前景,有望成为彻底清除胶质瘤细胞并有效解决脑胶质瘤复发难题的新策略。

### 参 考 文 献

- [1] Tang Y, Shah K, Messerli SM, et al. In vivo tracking of neural progenitor cell migration to glioblastomas. *Hum Gene Ther*, 2003, 14:1247-1254.
- [2] Lee DH, Ahn Y, Kim SU, et al. Targeting rat brainstem glioma using human neural stem cells and human mesenchymal stem cells. *Clin Cancer Res*, 2009, 15:4925-4934
- [3] Roobrouck VD, Ulloa-Montoya F, Verfaillie CM. Self-renewal and differentiation capacity of young and aged stem cells. *Exp Cell Res*, 2008, 314:1937-1944.
- [4] Choi SA, Hwang SK, Wang KC, et al. Therapeutic efficacy and safety of TRAIL - producing human adipose tissue - derived mesenchymal stem cells against experimental brainstem glioma. *Neuro Oncol*, 2011, 13:61-69.
- [5] Lamfers M, Idema S, van Milligen F, et al. Homing properties of adipose-derived stem cells to intracerebral glioma and the effects of adenovirus infection. *Cancer Lett*, 2009, 274:78-87.
- [6] Matuskova M, Hlubinova K, Pastorkova A, et al. HSV - tk expressing mesenchymal stem cells exert bystander effect on human glioblastoma cells. *Cancer Lett*, 2010, 290:58-67.
- [7] Altanerova V, Cihova M, Babic M, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells expressing yeast cytosine deaminase:uracil phosphoribosyltransferase inhibit intracerebral rat glioblastoma. *Int J Cancer*, 2012, 130:2455-2463.
- [8] Josiah DT, Zhu D, Dreher F, et al. Adipose-derived stem cells as therapeutic delivery vehicles of an oncolytic virus for glioblastoma. *Mol Ther*, 2010, 18:377-385.
- [9] Choi SA, Lee JY, Wang KC, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells: characteristics and therapeutic potential as cellular vehicles for prodrug gene therapy against brainstem gliomas. *Eur J Cancer*, 2012, 48:129-137.
- [10] Kim YH, Cho SH, Lee SJ, et al. Growth - inhibitory effect of neurotrophin-3-secreting adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on the D283 - MED human medulloblastoma cell line. *J Neurooncol*, 2012, 106:89-98.
- [11] Fan CG, Zhou JR, Zhang QJ. Therapeutic potential of mesenchymal stem cells in experimental targeted therapy of glioma. *Guo Ji Shen Jing Bing Xue Shen Jing Wai Ke Xue Za Zhi*, 2010, 37:22-25.[范存刚,周景儒,张庆俊.间充质干细胞在脑胶质瘤实验性靶向治疗中的应用.国际神经病学神经外科学杂志,2010,37:22-25.]
- [12] Rainov NG. A phase III clinical evaluation of herpes simplex virus type 1 thymidine kinase and ganciclovir gene therapy as an adjuvant to surgical resection and radiation in adults with previously untreated glioblastoma multiforme. *Hum Gene Ther*, 2000, 11:2389-2401.
- [13] Miletic H, Fischer Y, Litwak S, et al. Bystander killing of malignant glioma by bone marrow - derived tumor - infiltrating progenitor cells expressing a suicide gene. *Mol Ther*, 2007, 15: 1373-1381.
- [14] Li S, Gao Y, Tokuyama T, et al. Genetically engineered neural stem cells migrate and suppress glioma cell growth at distant intracranial sites. *Cancer Lett*, 2007, 251:220-227.
- [15] Dachs GU, Tupper J, Tozer GM. From bench to bedside for gene-directed enzyme prodrug therapy of cancer. *Anticancer Drugs*, 2005, 16:349-359.
- [16] Longley DB, Harkin DP, Johnston PG. 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3:330-338.
- [17] Chung-Faye GA, Chen MJ, Green NK, et al. In vivo gene therapy for colon cancer using adenovirus-mediated, transfer of the fusion gene cytosine deaminase and uracil phosphoribosyltransferase. *Gene Ther*, 2001, 8:1547-1554.
- [18] Calabrese C, Poppleton H, Kocak M, et al. A perivascular niche for brain tumor stem cells. *Cancer Cell*, 2007, 11:69-82.
- [19] Wierdl M, Morton CL, Weeks JK, et al. Sensitization of human tumor cells to CPT-11 via adenoviral-mediated delivery of a rabbit liver carboxylesterase. *Cancer Res*, 2001, 61:5078-5082.
- [20] Shah AC, Benos D, Gillespie GY, et al. Oncolytic viruses: clinical applications as vectors for the treatment of malignant gliomas. *J Neurooncol*, 2003, 65:203-226.
- [21] Lun X, Yang W, Alain T, et al. Myxoma virus is a novel oncolytic virus with significant antitumor activity against experimental human gliomas. *Cancer Res*, 2005, 65:9982-9990.
- [22] Hao C, Beguinot F, Condorelli G, et al. Induction and intracellular regulation of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) mediated apoptosis in human malignant glioma cells. *Cancer Res*, 2001, 61:1162-1170.
- [23] Kim CY, Jeong M, Mushiake H, et al. Cancer gene therapy using a novel secretable trimeric TRAIL. *Gene Ther*, 2006, 13:330-338.
- [24] Liu H, Yang SY, Zhi DS, et al. Study on differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells in vitro and in vivo. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2004, 4:355-358.[刘辉,杨树源,只达石,等.骨髓间充质干细胞神经分化的体内外研究.中国现代神经疾病杂志,2004,4:355-358.]
- [25] Deng QJ, Zhang JN, Wang ZT, et al. Study on multi-oriented differentiation potential of rat bone marrow mesenchymal stem cells in vitro. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2007, 7:521-526.[邓全军,张建宁,王志涛,等.体外大鼠骨髓间充质干细胞多向分化潜能的研究.中国现代神经疾病杂志,2007,7:521-526.]

(收稿日期:2012-11-23)

**下期内容预告** 本刊 2013 年第 1 和第 2 期报道专题为中枢神经系统感染专辑,重点内容包括:结核性脑膜炎临床诊断思路;神经变性疾病脑脊液中有价值的生物学标志;新型边缘性脑炎及临床思考;玻片离心沉淀法脑脊液细胞学检查在中枢神经系统感染性疾病诊断中的应用价值;隐球菌性脑膜炎的早期诊断与规范化治疗;改良抗酸染色法检测脑脊液细胞内外结核杆菌;抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体脑炎;一种新型自身免疫性脑炎;T-SPOT.TB 法检测脑脊液单个核细胞对结核性脑膜炎早期诊断价值的研究;复发性急性播散性脑炎 2 例临床分析;改良脑脊液病原体镜检标本处理程序;神经精神狼疮的脑脊液细胞学特点;垂体转移性癌:一例报告并文献复习