

经侧脑室注射人脐带间充质干细胞向胶质瘤趋化能力的实验研究

范存刚 王栋梁 张庆俊 周景儒

【摘要】 **目的** 探讨经侧脑室注射人脐带间充质干细胞向胶质瘤的趋化迁移能力。**方法** 无菌条件下采集足月妊娠剖宫产患者的正常脐带组织(知情同意),经胰酶和胶原酶消化、贴壁培养获得人脐带间充质干细胞,通过细胞形态学观察、流式细胞术分析,以及向脂肪细胞、成骨细胞和神经细胞的多向分化潜能证实其间充质干细胞之特征。将 CM-DiI 标记的人脐带间充质干细胞注射至 C6 胶质瘤荷瘤大鼠病灶对侧侧脑室,2 周后观察其趋瘤能力和在瘤床、肿瘤与正常脑组织交界处、“卫星”瘤灶内分布情况。**结果** 人脐带间充质干细胞呈均匀一致的纤维母细胞样贴壁生长,分别表达 CD13、CD29、CD44 和 CD90 等间充质干细胞标志物,而不表达 CD14、CD31、CD34、CD38、CD45、CD133 等造血和内皮细胞标志物以及 CD49、CD106 和 HLA-DR。经诱导分化培养后,人脐带间充质干细胞可分化为脂肪细胞、成骨细胞、神经元样和星形胶质细胞样细胞,表明其具有多向分化潜能。CM-DiI 标记的人脐带间充质干细胞经侧脑室注射后可向胶质瘤定向迁移,分布于瘤床、肿瘤与正常脑组织交界处和“追踪”浸润至正常脑实质的“卫星”瘤灶。**结论** 人脐带间充质干细胞具有向胶质瘤特异性靶向迁移并在瘤内广泛分布的能力,可作为胶质瘤基因治疗的理想细胞载体。

【关键词】 间质干细胞; 脐带; 细胞分化; 神经胶质瘤; 流式细胞术; 疾病模型,动物

The experimental investigation of glioma-trophic capacity of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells after intraventricular administration

FAN Cun-gang, WANG Dong-liang, ZHANG Qing-jun, ZHOU Jing-ru

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

Corresponding author: ZHANG Qing-jun (Email: zhangqjhb@yahoo.com)

【Abstract】 **Objective** To explore the glioma-trophic migration capacity of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells (hUC-MSCs) by intraventricular administration. **Methods** The umbilical cord tissue were obtained during full-term pregnancy cesarean section under sterile conditions. This study was approved by Ethics Committee and got the informed consent of patient. The hUC-MSCs were isolated by trypsin and collagenase digestion, followed by adherent culture methods. The characteristics of isolated hUC-MSCs were demonstrated by cell morphology, phenotype analysis and multi-differentiation potentials into adipocytes, osteoblasts and neural cells. Then the hUC-MSCs were labeled with CM-DiI and injected into contralateral ventricle of glioma of the C6 glioma-bearing Sprague-Dawley (SD) rats. Two weeks later, the rats were sacrificed and the brains were taken out to examine the migration and distribution of hUC-MSCs in the tumor bed, at the interface of tumor and cerebral parenchyma as well as the tumor satellites infiltrating into the normal brain. **Results** The hUC-MSCs demonstrated plastic-adherent characterization and homogeneous fibroblastic-like morphology in culture, expression of specific surface phenotypes of MSCs (CD13, CD29, CD44, CD90) but not endothelial or hematopoietic markers (CD14, CD31, CD34, CD38, CD45, CD133), and multi-differentiation potentials into Oil red O stained adipocytes, Alizarin red S stained osteoblasts, neuron-specific enolase (NSE)-positive neurons and glial fibrillary acidic protein (GFAP)-positive astrocytes in permissive inductive conditions. Importantly, after labeled hUC-MSCs injection into contralateral ventricle of glioma, the hUC-MSCs migrated from initial injection site to the glioma mass and along the interface of tumor and brain, and some of them "chasing" the glioma satellites infiltrated into the

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2013.07.012

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:zhangqjhb@yahoo.com)

normal parenchyma. **Conclusion** The hUC-MSCs possess prominent tumor-specific targeting capacity and extensive intratumoral distribution in glioma models. Thus, they may serve as novel vehicles in cell-based gene-therapy of glioma.

【Key words】 Mesenchymal stem cells; Umbilical cord; Cell differentiation; Glioma; Flow cytometry; Disease models, animal

This study was supported by Program of National Natural Science Foundation for Young Scientists (No. 81001009).

胶质瘤是成人中枢神经系统常见的原发性肿瘤,因其向周围正常组织浸润性生长之特点,故手术切除、放射治疗和药物化疗等综合治疗后仍易复发。近年兴起的抗血管新生治疗和免疫治疗虽然显示出一些疗效,但是由于对胶质瘤细胞缺乏靶向性,患者生存期并未获得有效延长^[1]。晚近研究显示,神经干细胞(NSCs)具有向胶质瘤特异性靶向趋化迁移的能力^[2],而且易于分离和扩增的间充质干细胞(MSCs)同样具有类似的迁移能力,有望成为胶质瘤基因治疗的理想细胞载体^[3]。笔者在先前成功分离人脐带间充质干细胞(hUC-MSCs)的基础上^[4],拟在本研究中探讨其经侧脑室注射后向胶质瘤趋化迁移的能力,以期以hUC-MSCs为载体的胶质瘤基因靶向治疗奠定基础。

材料与方法

一、实验材料

1. 主要试剂与药品 DMEM培养液(含多种氨基酸和维生素、葡萄糖、丙酮酸及钠、钾、钙、镁、铁离子等)、体积分数为10%胎牛血清和磷酸盐缓冲液(PBS)购自美国Hyclone公司。质量分数为0.25%胰蛋白酶、0.53 mmol/L 乙二胺四乙酸(EDTA)液、体积分数为1%青-链霉素液($\times 100$)均购自美国Gibico公司。藻红蛋白(PE)和异硫氰酸荧光素(FITC)标记的小鼠抗人单克隆抗体[CD13、CD14、CD29、CD31、CD34、CD38、CD44、CD45、CD49、CD90、CD106、CD133和人类白细胞抗原(HLA)-DR],以及PE和FITC标记的兔抗鼠IgG(阴性对照)由美国BD公司提供。免疫荧光I抗[包括小鼠抗人胶质纤维酸性蛋白(GFAP, 1:100)和神经元特异性烯醇化酶(NSE, 1:100)]、FITC标记的羊抗鼠IgG II抗(1:100),以及标记细胞的红色荧光物CM-DiI(2 $\mu\text{g}/\text{ml}$)和复染胞核的蓝色荧光物Hoechst33258(2 $\mu\text{g}/\text{ml}$)均购于美国Invitrogen公司。胰岛素、吲哚美辛(消炎痛)、 β -甘油磷酸盐、二甲基亚砜(DMSO)、丁羟茴醚、3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(IBMX)、氯化钾、地塞米

松、丙戊酸、弗司扣林、氢化可的松、维生素C、油红和茜素红购自美国Sigma公司。碱性纤维母细胞生长因子(bFGF)和表皮生长因子(EGF)由美国PeproTech公司提供。

2. 实验仪器和材料 Accuri C6型流式细胞仪(标准误差:2.50%)为美国BD公司产品。CKX41-32PH倒置相差显微镜和CKX41-F32FL荧光显微镜由日本Olympus公司提供。25、75 cm^2 细胞培养瓶和24孔培养板购自美国Corning公司。10和20 μl Hamilton微量注射器为瑞士Hamilton Bonaduz AG公司产品。

3. 细胞来源 大鼠C6胶质瘤细胞系细胞株购自中国科学院上海细胞库。人脐带组织标本源自北京大学人民医院妇产科1例32岁足月妊娠剖宫产术患者,并获得患者知情同意。

4. 实验动物 无特定病原体(SPF)级6~8周雄性Sprague-Dawley(SD)大鼠,体质量200~250 g,由北京中国药品生物制品检定所实验动物中心提供[许可证号:SYXK(京)2006-0004;屏障环境]。

二、实验方法

1. 人脐带间充质干细胞的分离及培养 无菌条件下采集足月妊娠剖宫产健康胎儿脐带组织,以含1%青-链霉素的磷酸盐缓冲液冲洗,剔除脐动脉和脐静脉,剩余组织切割为直径1~2 mm小块,冲洗后以质量分数为0.1%胶原酶II、37 $^{\circ}\text{C}$ 消化1 h,再以0.25%胰蛋白酶消化5 min,所得细胞悬液过滤,离心半径13.50 cm、转速1000转/min离心5 min后收集并接种于含20%胎牛血清和1%青-链霉素的DMEM培养液中。24 h后更换培养液,弃未贴壁细胞,待贴壁细胞融合达80%,以0.25%胰蛋白酶消化2 min,然后按照1:3比例传代培养。

2. 人脐带间充质干细胞形态学鉴定 倒置相差显微镜观察原代和各传代培养的hUC-MSCs细胞形态,拍照记录并进行形态学比较。

3. 人脐带间充质干细胞表面标志物分析 收集培养扩增的hUC-MSCs,磷酸盐缓冲液洗涤3 min(\times

2 次),按照 $1 \times 10^6/50 \mu\text{l}$ 细胞密度重悬于磷酸盐缓冲液,并向每管中分别加入经不同荧光标记的抗体各 $10 \mu\text{l}$,阴性对照管分别加入 PE 或 FITC 标记的兔抗鼠 IgG $10 \mu\text{l}$; 4°C 孵育 30 min,磷酸盐缓冲液洗涤,质量分数为 1% 的多聚甲醛溶液固定,调整终容积至 $400 \mu\text{l}$,流式细胞仪分析并计数阳性和阴性细胞比例。

4. 人脐带间充质干细胞分化潜能鉴定 收集经体外培养的第 3 代 hUC-MSCs,以 $50 \times 10^3/\text{cm}^2$ 细胞密度接种于 24 孔板,24 h 后更换培养液为促成脂、成骨和神经分化的诱导培养基。(1)成脂培养诱导:原培养液中滴加 $0.50 \mu\text{mol/L}$ IBMX、 $1 \mu\text{mol/L}$ 地塞米松、 $10 \mu\text{mol/L}$ 胰岛素和 $60 \mu\text{mol/L}$ 吡哆美辛,每 3 d 换液一次,并于每次换液前倒置相差显微镜观察细胞形态。培养 2 周后,弃诱导培养液,磷酸盐缓冲液洗涤,以质量分数为 4% 的多聚甲醛溶液固定,以油红染色显示脂肪细胞内的中性脂肪滴,证实其向脂肪细胞分化的能力。(2)成骨培养诱导:原培养液中滴加 $0.10 \mu\text{mol/L}$ 地塞米松、 $10 \mu\text{mol/L}$ β -甘油磷酸盐和 $50 \mu\text{g/ml}$ 维生素 C,每 3 d 换液一次,并于每次换液前倒置相差显微镜观察细胞形态。培养 2 周,弃诱导培养液,磷酸盐缓冲液洗涤,4% 多聚甲醛溶液固定,茜素红染色显示成骨细胞内沉着的钙盐,证实其向成骨细胞分化的能力。(3)神经分化培养诱导:取经体外培养至第 3 代的 hUC-MSCs,以 $20 \times 10^3/\text{cm}^2$ 细胞密度接种于 24 孔板进行神经分化诱导培养。首先以含 20% 胎牛血清和 10 ng/ml 碱性纤维母细胞生长因子的 DMEM 培养基进行预诱导,培养 24 h 后弃预诱导培养液,磷酸盐缓冲液冲洗,以 DMEM、体积分数为 2% 二甲基亚砜和 $200 \mu\text{mol/L}$ 羟茴醚诱导,6 h 后于培养液中加入 25 mmol/L 氯化钾、 2 mmol/L 丙戊酸、 $10 \mu\text{mol/L}$ 弗司扣林、 $1 \mu\text{mol/L}$ 氢化可的松、 $5 \mu\text{g/ml}$ 胰岛素和 10 ng/ml 表皮生长因子。诱导 24 h,弃培养液,磷酸盐缓冲液洗涤 3 min ($\times 3$ 次),4% 多聚甲醛溶液固定 15 min;磷酸盐缓冲液洗涤 3 min ($\times 3$ 次),以 0.1% Triton X-100、 4°C 透膜 20 min,磷酸盐缓冲液洗涤 3 min ($\times 3$ 次),滴加正常兔血清封闭非特异性位点, 37°C 反应 20 min。然后去封闭血清,分别加入神经元特异性烯醇化酶、胶质纤维酸性蛋白, 4°C 孵育过夜,磷酸盐缓冲液洗涤 3 min ($\times 3$ 次),滴加 FITC 标记的 IgG II 抗,室温避光孵育 30 min;经磷酸盐缓冲液洗涤 3 min ($\times 3$ 次)后以 Hoechst33258 复染细胞核。结果判定以细胞

形态呈神经元样、神经元特异性烯醇化酶标记呈绿色荧光者,以及细胞形态呈星形胶质细胞样、胶质纤维酸性蛋白标记呈绿色荧光者为阳性细胞。

5. 胶质瘤动物模型制备 以质量分数为 4% 的水合氯醛 ($0.5 \text{ ml}/100 \text{ g}$) 腹腔注射麻醉大鼠,立体定向仪下,于前囟中点后 1 mm 、右侧 3 mm 处进行颅骨钻孔,微量注射器向硬膜下 5 mm (靶点) 缓慢注射 $100 \times 10^3/10 \mu\text{l}$ 胶质瘤 C6 细胞,微量注射器于原位静置 5 min 后拔针,骨蜡封闭骨孔,严密缝合皮肤。

6. 人脐带间充质干细胞移植 荷瘤大鼠共分为两组,每组各 8 只。实验组大鼠于模型制备后 3 d 在肿瘤生长部位对侧侧脑室内注射经 CM-DiI 标记的 hUC-MSCs ($100 \times 10^3/10 \mu\text{l}$),对照组同部位注射等量磷酸盐缓冲液。术后 2 周处死大鼠,冠状切取额叶组织固定、切片、HE 染色,光学显微镜下观察胶质瘤成瘤范围,Hoechst33258 复染细胞核,荧光显微镜下观察携带 CM-DiI 红色荧光标记的 hUC-MSCs 在肿瘤组织内的分布情况。

结 果

一、人脐带间充质干细胞生长情况

经原代培养 3~5 d 后可见长梭形贴壁细胞,形态较为均一;细胞核呈圆形或椭圆形,位于细胞中央,细胞质较丰富;当细胞达完全融合时形成紧密排列的漩涡样结构(图 1)。

二、人脐带间充质干细胞表面标志物表达观察

流式细胞术分析显示,体外扩增的 hUC-MSCs 可表达 CD13、CD29、CD44 和 CD90 等间充质干细胞标志物(图 2),但不表达 CD14、CD31、CD34、CD38、CD45 和 CD133 等造血和内皮细胞标志物,也不表达 CD49、CD106 和 HLA-DR。

三、人脐带间充质干细胞分化潜能观察

经成脂诱导培养 2 周后,大部分间充质干细胞转变为扁平、肥大、内含大量脂肪滴、油红染色阳性的多角形成熟脂肪细胞(图 3a)。经成骨诱导培养后,细胞逐渐转变为多角形或不规则形、内含钙盐沉着、茜素红染色阳性的成骨细胞(图 3b)。以神经分化诱导培养后,大多数细胞皱缩为圆形或卵圆形、自胞体向外伸出双极突起的神经元样细胞(图 3c);随着诱导时间的延长,逐渐出现多级突起,并相互连接、交错成网状(图 3d)。免疫荧光染色显示,上述细胞均可表达神经元标志物神经元特异性烯醇化酶(图 3e)和星形胶质细胞标志物胶质纤维酸

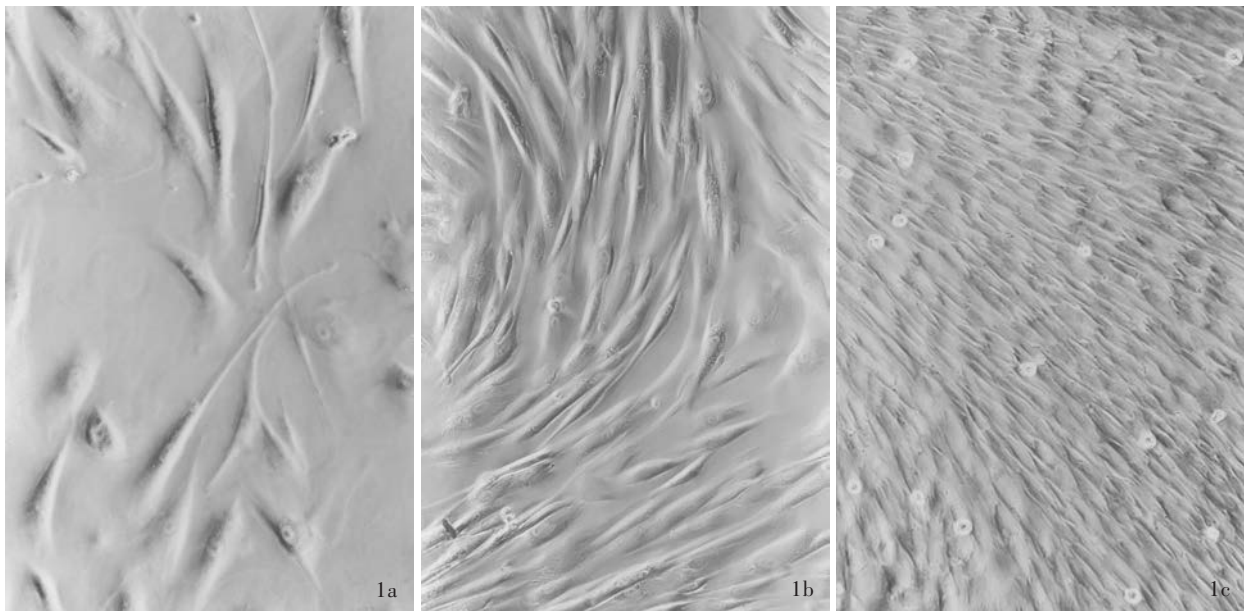
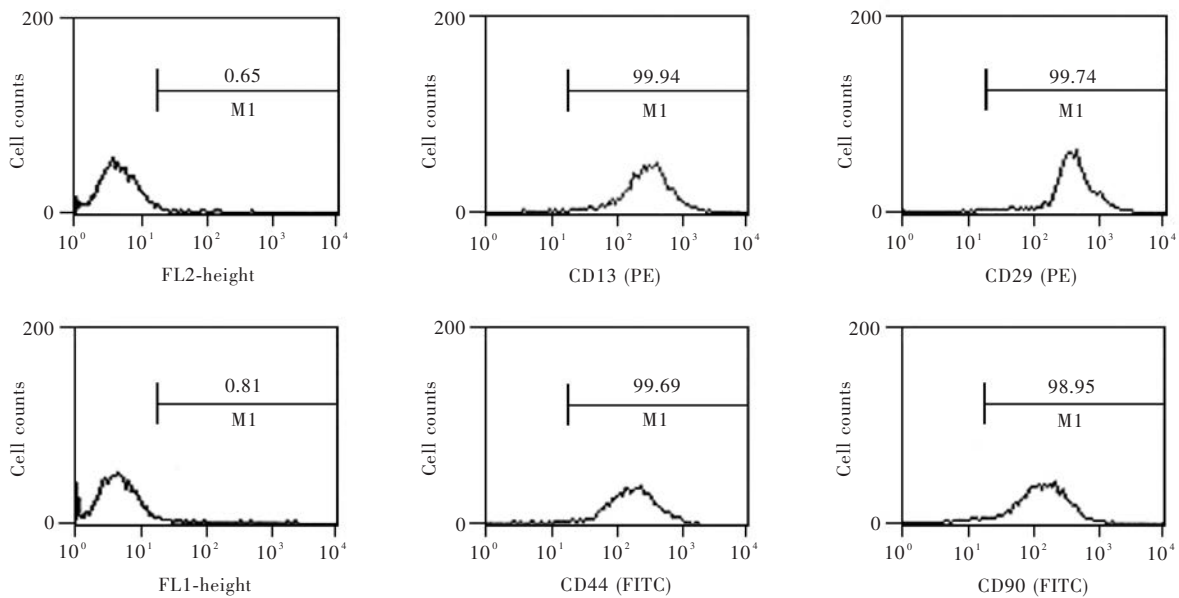


图 1 相差显微镜观察显示, hUC-MSCs 细胞贴壁生长, 呈均匀一致长梭形, 经传代培养后细胞形态无明显变化 低倍放大 1a 经体外培养传代至第 2 代(第 2 天)的 hUC-MSCs 1b 经体外传代培养至第 5 代(第 3 天)的 hUC-MSCs 1c 经体外传代培养至第 9 代(第 5 天)的 hUC-MSCs

Figure 1 Morphology of hUC - MSCs under phase - contrast microscope. hUC - MSCs display adherent, homogenous fibroblastic morphology, and their morphology keep consistent over several passages. low power magnified hUC-MSCs on day 2 of passage 2 (Panel 1a). hUC-MSCs on day 3 of passage 5 (Panel 1b). hUC-MSCs on day 5 of passage 9 (Panel 1c).



FL2, CD13 和 CD29 内参照物 FL1, CD44 和 CD90 内参照物
PE, phycoerythrin, 藻红蛋白 FITC, fluorescein isothiocyanate, 异硫氰酸荧光素

图 2 流式细胞术分析显示, hUC-MSCs 细胞表达 CD13、CD29、CD44 和 CD90 等间充质干细胞标志物

Figure 2 Flow cytometry analysis of hUC-MSCs shows that these cells express high levels of putative MSCs markers, such as CD13, CD29, CD44 and CD90. However, they do not express the surface markers of hematopoietic and endothelial lineages, which include CD14, CD31, CD34 CD38, CD45 and CD133.

性蛋白(图 3f)。

四、人脐带间充质干细胞体内趋瘤能力观察
hUC-MSCs 移植于肿瘤对侧侧脑室后 2 周, HE

染色可见大鼠脑组织形成细胞异型性明显的胶质瘤, 瘤内出血、瘤床周围形成“卫星”瘤灶。免疫荧光染色显示, CM-Dil 标记的 hUC-MSCs 自注射部位

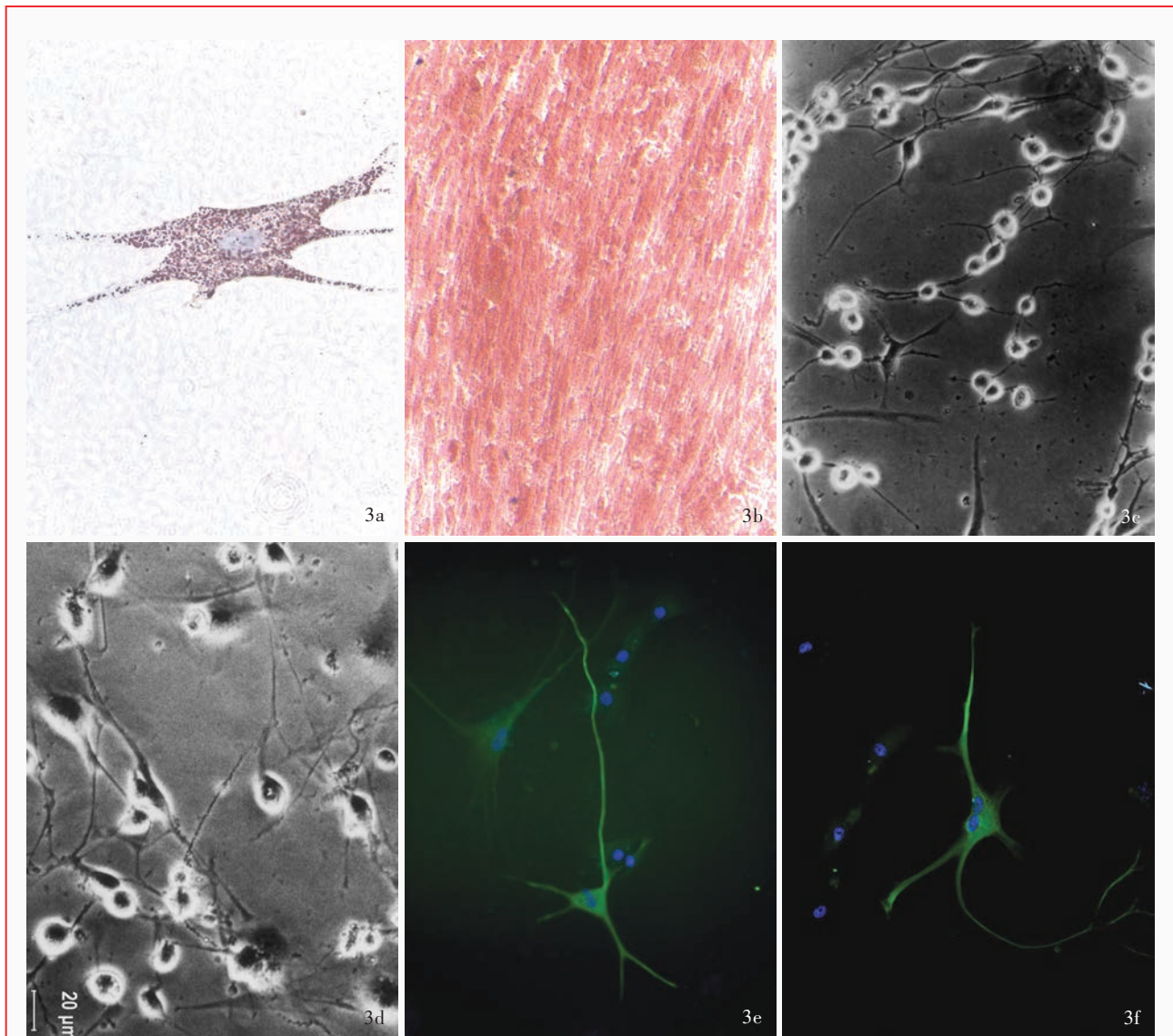


图 3 hUC-MSCs 成脂、成骨和神经分化潜能观察 低倍放大 3a 经成脂培养基诱导后,细胞转变为扁平、肥大、内含大量脂肪滴、油红染色阳性的多角形成熟脂肪细胞 油红染色 3b 以成骨培养基诱导后,细胞转变为内含钙盐沉着、茜素红染色阳性的成骨细胞 茜素红染色 3c 以神经分化培养基诱导后,大部分细胞皱缩为圆形或卵圆形有单极或双极突起的神经元样细胞 3d 随神经分化培养基诱导时间的延长,大部分细胞皱缩为多级突起连接、交错成网状的神经元样细胞 3e 神经元标志物神经元特异性烯醇化酶表达阳性 免疫荧光染色 3f 星形胶质细胞标志物胶质纤维酸性蛋白表达阳性 免疫荧光染色

Figure 3 Fluorescence microscopic observation on differentiation potentials of hUC-MSCs. low power magnified In adipogenic induction medium, the hUC-MSCs were induced into large, flattened cells with accumulated lipid droplets. Oil red O staining (Panel 3a). In osteogenic medium, the hUC-MSCs accumulated calcium and could be stained red by Alizarin red S staining (Panel 3b). After neural induction, these cells were transformed into neuron-like round bodies with long single, bipolar or multipolar processes forming networks (Panel 3c, 3d). These neuron-like cells were positive for NSE (Panel 3e) and GFAP (Panel 3f). Immunofluorescent staining

向胶质瘤特异性地定向迁移,广泛分布于瘤床内,迁移至肿瘤与脑组织交界处并“追踪”浸润至正常脑实质的“卫星”瘤灶(图4)。

讨 论

在本研究中,我们采用酶消化法成功分离获得 hUC-MSCs,证实其具有贴壁生长特征且表达间充质干细胞表型(CD13、CD29、CD44 和 CD90),与文献报

道的其他来源的间充质干细胞标志物表达一致^[5]。此外,还具有向脂肪细胞、成骨细胞和神经元分化的能力,符合国际细胞治疗协会(ISCT)定义的间充质干细胞^[5]。当 hUC-MSCs 注射至荷瘤大鼠病灶对侧侧脑室后,具有良好的向胶质瘤靶向迁移和在肿瘤内广泛分布的能力,表明其可作为向胶质瘤呈递治疗性分子的细胞载体。

就间充质干细胞的分离方法而言,笔者曾采用

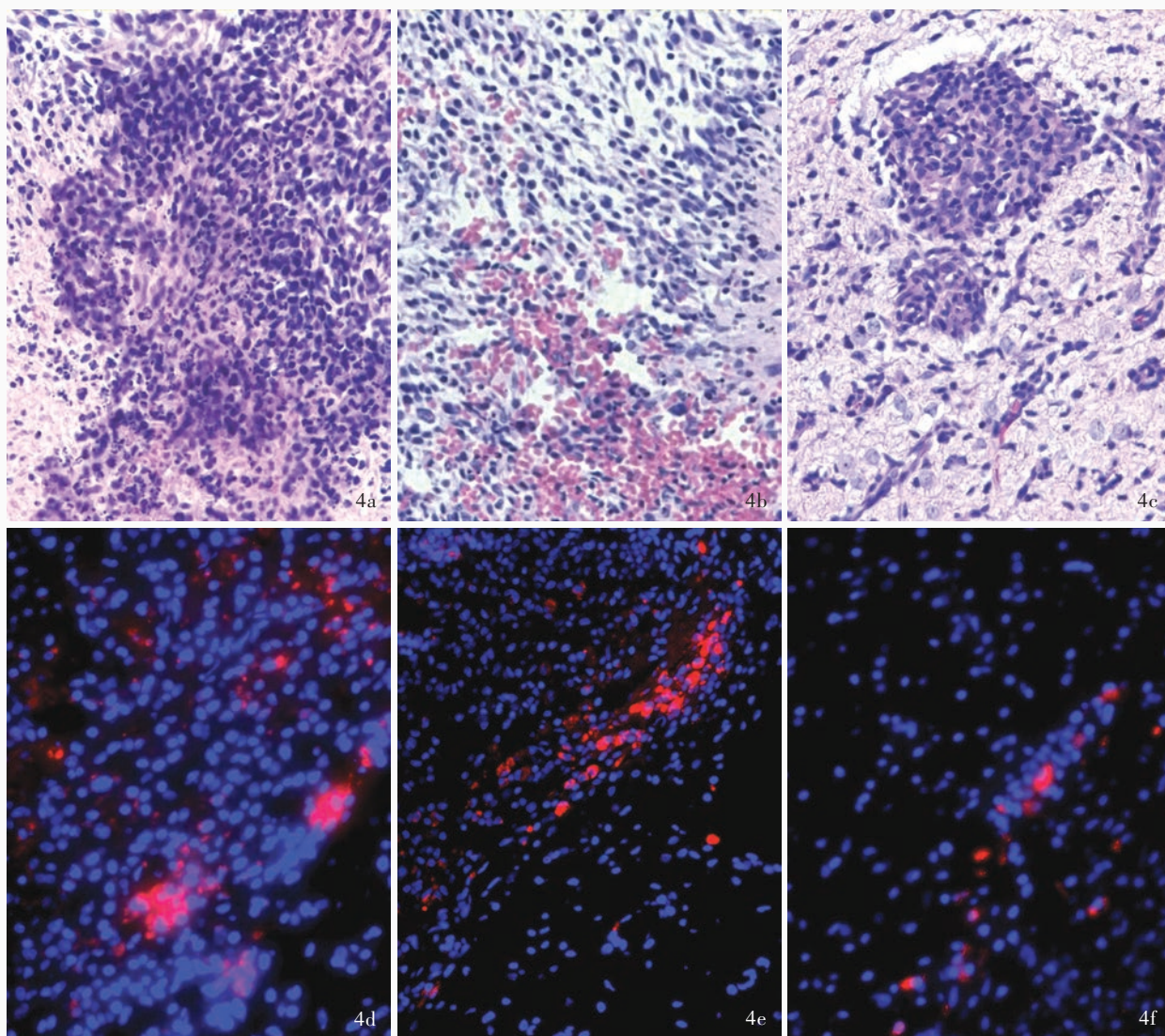


图 4 hUC-MSCs 趋瘤能力观察 低倍放大 4a 胶质瘤瘤床 HE 染色 4b 肿瘤组织剖面可见出血 HE 染色 4c 瘤床周围“卫星”瘤灶形成 HE 染色 4d CM-DiI 标记的 hUC-MSCs 广泛分布于瘤床内 免疫荧光染色 4e CM-DiI 标记的 hUC-MSCs 分布于瘤床与正常脑组织交界处 免疫荧光染色 4f CM-DiI 标记的 hUC-MSCs 分布于瘤床周围“卫星”瘤灶 免疫荧光染色

Figure 4 Light microscopic observation on the glioma-trophic migration capacity of hUC-MSCs. low power magnified The tumor bed HE staining (Panel 4a). Intratumoral hemorrhage HE staining (Panel 4b). Infiltrating glioma satellites in cerebral parenchyma HE staining (Panel 4c). Fluorescent staining of the distribution of CM-DiI-labeled hUC-MSCs in the tumor bed (Panel 4d), along the interface of tumor and normal brain parenchyma (Panel 4e), and "chasing" the outgrowing tumor satellites from tumor mass (Panel 4f).

组织块培养法成功分离获得人脐带和胎肺间充质干细胞^[4,6]。本研究采用酶消化法分离 hUC-MSCs, 发现两种分离方法各有优缺点: 组织块培养法操作简便、省时, 对细胞活性影响小; 酶消化法操作较复杂、费时, 应用消化酶还可能会对细胞活性造成一定影响。然而, 组织块培养法唯有邻近组织块外层的细胞才能游出, 培养时间较长, 因此细胞分离效率不及酶消化法; 而酶消化法可打碎细胞外基质 (EM) 从而使细胞充分释放, 并可在短时间内获得大量细胞。

如本研究结果所证实, hUC-MSCs 除能够分化为脂肪细胞和成骨细胞外, 还可以跨分化为神经元。体内研究结果也表明, hUC-MSCs 具有向脊髓损伤^[7]、脑缺血^[8]、脑出血^[9]、帕金森病^[10]以及脑损伤^[11]等病灶定向迁移的能力, 并可通过分化为神经元、表达神经营养因子、促轴突再生和血管新生、增强内源性神经再生、抑制病变区域神经元凋亡等多种机制而发挥神经保护作用^[12]。然而, 目前尚缺乏 hUC-MSCs 治疗胶质瘤的相关报道。本研究是通过向病灶对侧侧脑室注射 hUC-MSCs 的方法, 研究其

对胶质瘤的趋瘤效应,为首次报告。

迄今为止,虽然神经干细胞^[2]、骨髓间充质干细胞(BM-MSCs)^[13-14]、hUC-MSCs^[15]和脂肪源性间充质干细胞(AT-MSCs)^[16]均已用于实验性胶质瘤的治疗研究,但本研究所探讨的hUC-MSCs具有优于其他来源(如骨髓、胎儿器官、胎儿和成人外周血、人脐带血和脂肪等)间充质干细胞的诸多优点:脐带组织为分娩后的废弃组织,自该组织分离获得的间充质干细胞无伦理顾虑和法律限制;分离过程不会对母体和胎儿造成任何痛苦和风险;操作简便、细胞数目多,能够在短时间内获得大量细胞;脐带形成于胚胎发育早期,与其他来源的间充质干细胞相比,所富含的间充质干细胞具有更强大的增殖能力;由于胎盘的屏障作用,hUC-MSCs发生细菌或病毒感染风险更低^[17]。

干细胞的肿瘤特异性靶向迁移和在肿瘤内的广泛分布是其作为细胞治疗载体的先决条件。本研究通过大鼠胶质瘤原位模型证实,经病灶对侧侧脑室注射的hUC-MSCs,能够广泛分布于瘤床内并呈“胶囊样”包绕在瘤床周围和“追踪”浸润至正常脑组织内“卫星”瘤灶,具有与神经干细胞类似的趋瘤效应^[2]。此外,本研究还提示,hUC-MSCs免疫源性较弱,能够在免疫功能正常的大鼠中枢神经系统中存活和迁移。然而,hUC-MSCs向胶质瘤趋化性迁移的具体机制尚待进一步探讨,推测与胶质瘤分泌的细胞因子和间充质干细胞表达的相关受体之间的相互作用有关^[14]。

总之,hUC-MSCs向胶质瘤靶向迁移和广泛分布于瘤床及“卫星”瘤灶的能力表明,hUC-MSCs有望成为胶质瘤靶向治疗的理想细胞载体,特异性呈递治疗因子以发挥有效杀伤胶质瘤细胞的作用。因此,有必要进一步研究其向胶质瘤趋化性迁移的具体机制,是否能够抑制或促进胶质瘤生长和(或)血管新生,经修饰后表达趋化因子受体或携带特定治疗因子的hUC-MSCs是否具有更强的趋化能力,并发挥更有效的抗胶质瘤作用。

参 考 文 献

- [1] Anton K, Baehring JM, Mayer T. Glioblastoma multiforme: overview of current treatment and future perspectives. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2012, 26:825-853.
- [2] Kim SU. Neural stem cell-based gene therapy for brain tumors. *Stem Cell Rev*, 2011, 7:130-140.
- [3] 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.]
- [4] Fan CG, Zhang QJ, Han ZC. Neural differentiation of mesenchymal stem cells from umbilical cord. *Zhonghua Shen Jing Wai Ke Za Zhi*, 2005, 21:388-392.[范存刚,张庆俊,韩忠朝.人脐带间充质干细胞向神经细胞分化的研究.中华神经外科杂志,2005,21:388-392.]
- [5] Dominici M, Le BK, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, Deans R, Keating A, Prockop DJ, Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells: the International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 2006, 8:315-317.
- [6] Fan CG, Tang FW, Zhang QJ, Lu SH, Liu HY, Zhao ZM, Liu B, Han ZB, Han ZC. Characterization and neural differentiation of fetal lung mesenchymal stem cells. *Cell Transplant*, 2005, 14: 311-321.
- [7] Yang CC, Shih YH, Ko MH, Hsu SY, Cheng H, Fu YS. Transplantation of human umbilical mesenchymal stem cells from Wharton's jelly after complete transection of the rat spinal cord. *PLoS One*, 2008, 3:E3336.
- [8] Koh SH, Kim KS, Choi MR, Jung KH, Park KS, Chai YG, Roh W, Hwang SJ, Ko HJ, Huh YM, Kim HT, Kim SH. Implantation of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells as a neuroprotective therapy for ischemic stroke in rats. *Brain Res*, 2008, 1229:233-248.
- [9] Liao W, Zhong J, Yu J, Xie J, Liu Y, Du L, Yang S, Liu P, Xu J, Wang J, Han Z, Han ZC. Therapeutic benefit of human umbilical cord derived mesenchymal stromal cells in intracerebral hemorrhage rat: implications of anti-inflammation and angiogenesis. *Cell Physiol Biochem*, 2009, 24:307-316.
- [10] Weiss ML, Medicetty S, Bledsoe AR, Rachakatta RS, Choi M, Merchav S, Luo Y, Rao MS, Velagaleti G, Troyer D. Human umbilical cord matrix stem cells: preliminary characterization and effect of transplantation in a rodent model of Parkinson's disease. *Stem Cells*, 2006, 24:781-792.
- [11] Zhang S, Liu XZ, Liu ZL, Wang YM, Hu QL, Ma TZ, Sun SZ. Stem cells modified by brain-derived neurotrophic factor to promote stem cells differentiation into neurons and enhance neuromotor function after brain injury. *Chin J Traumatol*, 2009, 12:195-199.
- [12] Fan CG, Zhou JR, Zhang QJ. Therapeutic potential of human umbilical cord derived mesenchymal stem cells in neurological diseases. *Guo Ji Shen Jing Bing Xue Shen Jing Wai Ke Xue Za Zhi*, 2009, 36:242-245.[范存刚,周景儒,张庆俊.人脐带间充质干细胞治疗神经系统疾病的研究进展.国际神经病学神经外科学杂志,2009,36:242-245.]
- [13] Fan CG, Zhang QJ. Application prospect of bone marrow mesenchymal stem cells in the treatment of glioma. *Zhongguo Zu Zhi Gong Cheng Yan Jiu*, 2012, 16:7737-7741.[范存刚,张庆俊.骨髓间充质干细胞在脑胶质瘤治疗中的应用前景.中国组织工程研究,2012,16:7737-7741.]
- [14] Fan CG, Zhang QJ. Tropism of bone marrow mesenchymal stem cells for glioma. *Zhongguo Zu Zhi Gong Cheng Yan Jiu*, 2012, 16: 6815-6819.[范存刚,张庆俊.骨髓间充质干细胞对脑胶质瘤的趋瘤效应.中国组织工程研究,2012,16:6815-6819.]
- [15] Fan CG, Zhou JR, Zhang QJ. The application prospects of human umbilical cord blood derived mesenchymal stem cells in brain glioma. *Guo Ji Shen Jing Bing Xue Shen Jing Wai Ke Xue Za Zhi*, 2011, 38:598-602.[范存刚,周景儒,张庆俊.人脐带血来源的间充质干细胞在脑胶质瘤治疗中的应用前景.国

际神经病学神经外科学杂志, 2011, 38:598-602.]

- [16] Fan CG, Zhang QJ. The potentials of human adipose tissue derived mesenchymal stem cells in targeted therapy of experimental glioma. Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi, 12:651-654. [范存刚, 张庆俊. 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. 中国现代神经疾病杂志, 2012, 12:651-654.]

志, 2012, 12:651-654.]

- [17] Fan CG, Zhang QJ, Zhou JR. Therapeutic potentials of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord. Stem Cell Rev, 2011, 7:195-207.

(收稿日期: 2013-05-03)

· 临床医学图像 ·

脑脓肿

doi: 10.3969/j.issn.1672-6731.2013.07.018

Encephalopyosis

HAN Tong

Department of Neuroradiology, Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin 300060, China (Email: mrbold@163.com)

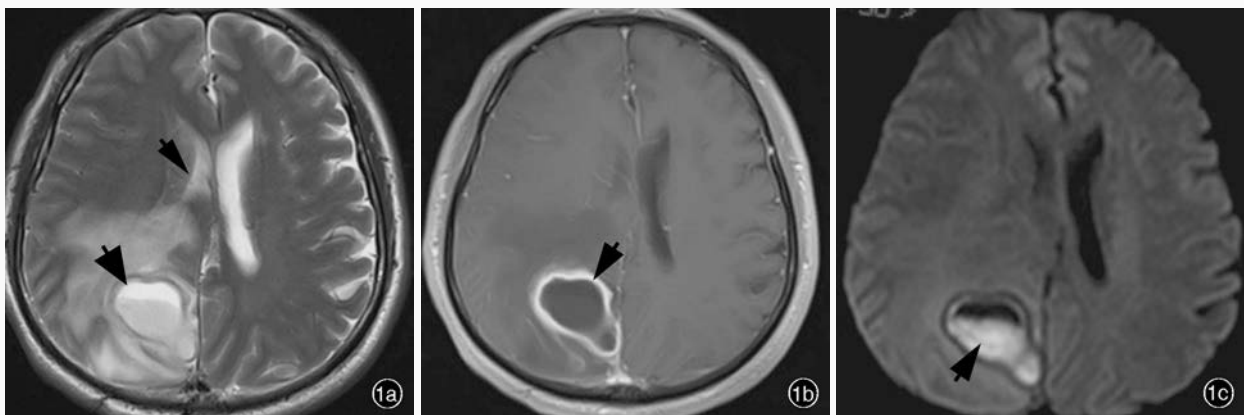


图 1 男性患者, 55 岁。临床诊断为脑脓肿 1a 横断面 T₂WI 显示, 右侧顶叶不规则囊性占位性病变, 病灶中心呈高信号、囊壁为略低信号, 囊壁光滑、薄厚均匀, 病灶周围组织明显水肿(粗箭头所示), 右侧侧脑室受压(细箭头所示) 1b 横断面 T₁WI 增强扫描显示, 病灶中心呈低信号, 周围组织呈明显环形强化(箭头所示) 1c 横断面 DWI 显示囊液呈高信号(箭头所示)

Figure 1 A 55-year-old male patient was diagnosed as encephalopyosis. Axial T₂WI showed an irregular cystic lesion with hyperintense in central area surrounded by a well-defined hypointense capsule with obvious surrounding edema located in right parietal lobe (thick arrow indicates). The right lateral ventricle was compressed (thin arrow indicates, Panel 1a). Axial contrast T₁WI showed hypointensity in central focus and apparent ring-shaped enhancement in peripheral tissue (arrow indicates, Panel 1b). Axial DWI revealed cystic fluid with hyperintensity (arrow indicates, Panel 1c).

脑脓肿的形成需经历急性炎症反应、化脓和包膜形成等阶段。化脓性细菌感染脑组织, 引起化脓性脑炎, 如不及时治疗, 病灶中心液化形成脓液, 脓腔周围出现肉芽组织及血管丰富的包膜, 即脑脓肿形成。感染源以化脓性细菌为主, 部分为隐球菌、放线菌、其他真菌或原虫(如阿米巴原虫)。

脑脓肿的影像学分期包括脑炎早期、脑炎晚期、囊性变早期和囊性变晚期。各期影像学表现不尽相同。(1)CT 表现: 在脑炎早期和晚期, 病灶及周围组织水肿呈不规则形、边界模糊的低密度影, 病灶无明显强化或呈不规则斑片状强化; 在化脓和脓肿形成期, 脓腔为低密度区, 周围是环形囊壁, 呈等或略高密度。增强扫描显示, 囊壁呈薄层环状强化, 部分强化环的白质侧较薄、灰质侧较厚。(2)MRI 表现: 在脑炎早期, 病灶呈边界模糊的长 T₁、长 T₂ 信号, 其内可见斑片状强化。在脑炎晚期, 病灶中心 T₁WI 呈低信号, 边缘为等或稍高信号; T₂WI 呈高信号, 边缘为低信号, 水肿及占位效应明显, 可见明显但不规则的边缘强化。在囊性变早期, 脓液呈长 T₁、长 T₂ 改变, 囊壁 T₁WI 呈等或略高信号, T₂WI 为等或略低信号(图 1a), 表现为清晰的薄壁强化(图 1b)。囊性变晚期, 脓腔塌陷, 囊壁增厚, 水肿及占位效应减轻。MRI 对脑脓肿的诊断较 CT 敏感, 更易区分病灶内的液化、坏死和脑炎等成分, 更早检出脓肿向脑实质外的扩展(如硬膜下脓肿), 为首选的影像学检查方法。由于脓腔内蛋白性脓液妨碍了水分子的扩散, 扩散加权成像(DWI)呈高信号(图 1c), 而其他大多数囊性变区域和肿瘤坏死区为低信号, DWI 序列用于鉴别诊断存在优势; 磁共振波谱成像(MRS)能够显示脓腔内特异性氨基酸峰及乳酸峰, 对定性诊断有一定帮助。少数脑脓肿影像学表现不典型, 易造成误诊, 需结合临床资料; 对于处于囊性变期的脑脓肿需注意与胶质瘤、颅内转移瘤、淋巴瘤、颅内血肿、术后残腔、多发性硬化、脱髓鞘假瘤等类似环形强化的病变相鉴别。

(天津市环湖医院神经放射科韩彤供稿)