

·综述·

神经干细胞治疗胶质瘤的研究进展

罗林明¹, 楚世峰¹, 姜懿纳¹, 罗 飘¹, 陈乃宏^{1,2*}

(1. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208; 2. 中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

摘要: 神经干细胞具有肿瘤趋向性, 可向肿瘤细胞定向迁移; 神经干细胞能跨越血脑屏障; 而且在肿瘤微环境下, 神经干细胞与肿瘤细胞优先接触, 然后包围靶细胞。基于以上特性, 可利用神经干细胞作为运输载体, 将治疗病毒、酶/前药、基因或自杀基因等选择性靶向胶质瘤细胞。神经干细胞还可通过各种不同的基因修饰, 以达到更可靠、更安全及更有效的胶质瘤治疗目的。

关键词: 神经干细胞; 肿瘤趋向性; 载体; 胶质瘤; 靶向治疗

中图分类号: R739.4

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 04-0510-07

Advance in the treatment of glioma by neural stem cells

LUO Lin-ming¹, CHU Shi-feng¹, JIANG Yi-na¹, LUO Piao¹, CHEN Nai-hong^{1,2*}

(1. College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 2. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: Neural stem cells (NSCs) possess the specialty of tumor tropism and be able to migrate specifically to tumor cells. NSCs are also cross the blood brain barrier. NSCs keep in touch with tumor cells preferentially under the tumor microenvironment, and surround the target cells. Based on these characteristics, NSCs can be used as a carrier for therapeutic virus, enzymes/prodrugs, genes or suicide genes, etc. which are selectively delivered to the glioma cells. NSCs may be modified by a variety of different genes to establish a reliable, safe and effective therapy for glioma.

Key words: neural stem cell; tumor tropism; carrier; glioma; targeted therapy

神经胶质瘤 (glioma) 简称胶质瘤, 又称为胶质细胞瘤, 根据病理特征可将其分为星形细胞瘤、室管膜瘤、少突胶质细胞瘤和视神经胶质瘤等, 世界卫生组织又将星形细胞瘤分为 4 个等级, I ~ II 级为低级别胶质瘤 (low-grade glioma, LGG), III ~ IV 级为高级别胶质瘤 (high-grade glioma, HGG)^[1]。胶质瘤主要发生在脑部, 是临床常见的原发性颅内肿瘤, 其发病率高, 约占颅内肿瘤的 46%, 且在逐年增加^[2, 3]。胶质瘤还是一种恶性肿瘤, 其治疗效果及预后均较差,

特别是 HGG, 如多形性胶质母细胞瘤 (glioblastoma multiforme, GBM) (IV 级), 虽可通过手术、放疗和化疗干预, 但其中位生存期 (median survival time, MST) 也只有 15 个月左右^[4]。因此, 迫切需要寻求更加安全有效的胶质瘤治疗策略。

近年来, 采用神经干细胞 (neural stem cells, NSCs) 作为载体靶向药物治疗胶质瘤已成为研究热点, 而且目前也正在进行临床试验。目前研究最多的是利用 NSCs 作为运输载体将溶瘤腺病毒、自杀基因等靶向胶质瘤细胞, 从而达到治疗胶质瘤的目的。通过实验动物模型研究证实, 这些治疗策略可使胶质瘤体积显著减小, 其 MST 被明显延长。NSCs 还可通过一些相关基因修饰, 以提高载体的可行性以及治疗的安全性。NSCs 作为一种胶质瘤的治疗工具或手

收稿日期: 2016-10-14; 修回日期: 2016-11-08.

基金项目: 湖南省重点研发计划项目 (2015SSK2029); 湖南省教育厅创新平台开放基金项目 (15K091).

*通讯作者 Tel: 86-10-63165177, E-mail: chennh@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2016-1000

段, 将为胶质瘤的临床治疗及改善预后做出应有贡献。本文将利用 NSCs 治疗胶质瘤的最新研究概况综述如下, 以期对胶质瘤临床治疗策略的选择以及下一步的临床或临床前研究提供参考。

1 神经干细胞可作为靶向载体治疗胶质瘤

NSCs 具有分化为神经元细胞、星形胶质细胞和少突胶质细胞的能力, 能自我更新并提供大量脑组织细胞。NSCs 在成年人体内主要产生于大脑侧脑室室管膜下区和海马齿状回颗粒下区。NSCs 具有多向分化、自我更新和不断增殖分裂的特性, 且自我更新、增殖及多向分化的潜能持续时间长, 不会随着年老而消失。除了这些基本特性外, 研究表明 NSCs 还具有有一些其他重要特性, 包括肿瘤内在趋向性、透过血脑屏障及优先与肿瘤细胞接触等。

NSCs 具有内在的肿瘤趋向性, 能够向肿瘤细胞定向迁移。目前, 体内外研究证实 NSCs 具有明显的向胶质瘤迁移的趋势^[5], 且研究发现将 NSCs 注射到胶质瘤模型大鼠对侧半球 50 min 后就约有 10% NSCs 迁移到脑肿瘤区域, 5 天内肿瘤区域的 NSCs 数量增加缓慢, 而到第 15 天其数量迅速增加, 并最终被广泛分布在整个肿瘤区域包括肿瘤的核心与边缘, NSCs 平均迁移速率约为 $175 \mu\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$ ^[6]。NSCs 迁移的机制主要与趋化因子和生长因子有关, 研究发现胶质瘤本身会释放许多趋化因子和生长因子, 它们能够刺激 NSCs 往胶质瘤方向发生迁移。这些趋化因子包括干细胞因子-1、单核细胞趋化蛋白-1 及基质细胞衍生因子-1 等^[7], 生长因子包括离散因子/肝细胞生长因子、成纤维细胞生长因子、转化生长因子和多种生长因子等^[5]。此外, 体外研究还发现胶质瘤干细胞 (glioma stem cells, GSCs) 也可趋化 NSCs 向其迁移, 其趋化作用较分化的肿瘤细胞更为显著, 这可能与分泌高水平的血管内皮生长因子和碱性成纤维细胞生长因子有关^[8]。研究表明, NSCs 向肿瘤细胞的迁移是一个高度调控的过程, 其中多种生长因子信号靶点位于 Ras-PI3K 信号通路, 而当该信号通路被抑制时会阻碍肝细胞生长因子和其他生长因子诱导 NSCs 迁移^[7]。

NSCs 与脑组织具有同源性, 能够穿过血脑屏障^[9]。一般的药物是很难通过血脑屏障的, 而利用 NSCs 可以轻易地将治疗药物穿过血脑屏障递送到肿瘤部位。NSCs 对疾病和损伤也具有一定的反应能力, 能够与肿瘤细胞优先接触。研究发现, NSCs 可与胶质瘤细胞优先接触, 且形成接触后 NSCs 会包围肿瘤细胞, 但 NSCs 与肿瘤细胞优先接触的形成必须高度依赖于肿

瘤细胞和周围脑组织的微环境^[10]。缺氧是胶质瘤微环境的一个重要体现, 一般不利于临床治疗, 但研究却发现, 在缺氧条件下 NSCs 会向胶质瘤迁移, 且 NSCs 优先分布在颅内胶质瘤缺氧区^[11]。因此, 可利用 NSCs 将抗癌药物直接输送到缺氧脑胶质瘤部位, 以提高治疗药物在这些部位的有效浓度, 从而更好地达到摧毁抗缺氧肿瘤细胞的目的。此外, NSCs 对外源性基因、病毒等的转染效率高, 对大脑的免疫原性较弱, 且对胶质瘤具有较高的特异性等。总之, NSCs 上述特征使其具备靶向传递治疗病毒、酶/前药、基因或自杀基因等的条件, 从而靶向治疗胶质瘤成为可能。

2 神经干细胞治疗胶质瘤策略

2.1 神经干细胞移植治疗胶质瘤

研究表明, NSCs 移植到胶质瘤动物模型中大多数可存活, 还能够正常增殖、传代, 并对胶质瘤细胞生长具有一定的抑制作用。有研究者建立 C6 荷瘤模型和 NSCs 移植模型证实胚胎 NSCs 在大鼠体内能够正常增殖与分化, 且 NSCs 移植可延长胶质瘤模型动物的存活时间、减小肿瘤体积^[12]。用培养过分离来自胚胎 (E14) 或成年小鼠大脑或人胎儿脑的神经干/祖细胞 (NSPCs) 的条件培养基 (CM) 培养胶质瘤细胞, 然后采用 MTT 法和 BrdU 标记检测发现 NSPCs/CM 中含有抑制胶质瘤细胞增殖的相关因子, 其可减少 28%~87% 的肿瘤细胞增殖, 且来源于 E14 小鼠的 NSPC/CM 抗增殖作用最强。在此基础上, 将 203 g 胶质瘤细胞和 NSPCs 植入小鼠小脑延髓池的鞘内间隙, 结果显示胶质瘤细胞/NSPCs 移植小鼠与只植入胶质瘤细胞小鼠相比其存活时间明显延长, 提示胶质瘤/NSPCs 移植小鼠在体内会继续产生抗增殖因子, 从而抑制小鼠脑胶质瘤细胞增殖^[13]。同时, 研究发现脑胶质瘤模型大鼠移植 NSCs 可显著降低 Raf-1、Erk 和 Bcl-2 的表达、明显增加 caspase-3 的表达, 表明 NSCs 移植可通过抑制 Ras/Raf/Mek/Erk 信号通路降低 Bcl-2 的表达、促进 caspase-3 的激活, 从而诱导胶质瘤细胞凋亡^[14]。以上研究表明, NSCs 移植可能通过抑制肿瘤细胞增殖和诱导肿瘤细胞凋亡而抑制胶质瘤的生长。因此, NSCs 移植将来有望成为脑胶质瘤的一种新的治疗策略。

2.2 神经干细胞靶向病毒治疗胶质瘤

溶瘤腺病毒又称为条件复制型腺病毒 (conditionally replicating adenoviruses, CRAds), 是一种可选择性在肿瘤细胞中复制并杀死肿瘤细胞的腺病毒。采用溶瘤腺病毒治疗多形性胶质母细胞瘤是一种非常有潜力的方法, 然而在临床实践中该病毒分布和传播能力有限, 需引入靶向性的载体将其携带至病灶, 而 NSCs 可作为

一种良好的靶向载体。美国 FDA 已经批准 NSCs 系 HB1.F3.CD 在临床试验中作为细胞载体使用^[15]。研究表明,用经过改造的溶瘤腺病毒 CRAd-Survivin-pk7 (CRAd-S-pk7) 转染 HB1.F3.CD 细胞,转染病毒后的 NSCs 能复制并释放 CRAd-S-pk7 病毒颗粒,同时该细胞能有效地迁移到对侧半球并将病毒颗粒靶向投递到胶质瘤部位^[16]。且用该 CRAd 转染 NSCs 治疗 GBM 模型小鼠与单独 CRAd 治疗相比小鼠 MST 被延长 34%~50%^[17]。同时研究发现只要单次给予 NSC-CRAd-S-pk7 治疗,就可达到 23%~31% 的颅内肿瘤覆盖率,且即使在 GBM 肿瘤区域邻近或对侧给药,其肿瘤覆盖率也没有明显差异^[18],表明 NSC-CRAd-S-pk7 能够有效治疗胶质瘤,同时也表明这些 NSCs 具有广泛的迁徙行为。此外,将携带 CRAd-S-pk7 病毒的 HB1.F3.CD 细胞载体注射入正常仓鼠颅内,发现该病毒载体主要分布于大脑,虽然在其他组织中也检测到低水平载体 DNA,但不具有毒理学意义,表明该细胞载体具有较好的安全性^[15]。

NSCs 可作为溶瘤腺病毒的运送载体,但这种治疗病毒对细胞载体的靶向传递具有一定程度上的限制,因为机体感染病毒后导致体内活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 等高活性分子产生过多进而发生氧化应激,从而对细胞载体的存活及携带治疗病毒靶向肿瘤部位的能力产生一定的损害。因此有必要对 NSCs 载体进行优化或保护以防腺病毒引起的毒性作用。体外研究发现,将 *N*-乙酰半胱氨酸酰胺 (*N*-acetylcysteine amide, NACA) 和 CRAd-S-pk7 联合干预 HB1.F3.CD 细胞后能够降低细胞内 ROS 水平进而防止其诱导 NSCs 凋亡,从而增加 NSCs 载体的活力,并提高该细胞载体中子代病毒产量;而且通过颅内 U87 细胞移植小鼠模型证实 NSC-CRAd-S-pk7 和 NACA 联合治疗可显著增加 CRAd-S-pk7 在恶性肿瘤组织中的分布和表达,从而提高该病毒的治疗效果^[19]。总的来说,NSCs 载体具有提高病毒治疗胶质瘤临床疗效的潜力,这不仅从宿主的免疫系统保护治疗病毒,而且还选择性地对肿瘤部位放大治疗有效载荷,此外还可显著提高治疗的安全性。多形性胶质母细胞瘤由于具有多种形式和多种形状,所以是极难治疗的,而溶瘤腺病毒通过 NSCs 载体系统对 GBM 的治疗可能是一种安全有效的方法。

2.3 神经干细胞结合放疗治疗胶质瘤 目前 NSCs 结合放疗治疗胶质瘤的研究主要集中在两方面,一方面是 NSCs 靶向腺病毒结合放疗,另一方面是保留 NSCs 室的局部脑放疗。研究表明基于 NSCs 的溶瘤

腺病毒治疗加以放疗能够增加对胶质瘤的治疗效果,延长实验动物的存活时间^[20]。同时采用 CRAd-S-pk7 转染 HB1.F3.CD NSCs 联合电离辐射 (XRT) 和替莫唑胺 (temozolomide, TMZ) 治疗胶质母细胞瘤模型小鼠可增加小鼠约 46% 的 MST^[21]。为了提高联合治疗效果,NSC-CRAd-S-pk7 治疗应该在 XRT 和 TMZ 治疗前。另外研究也表明,保留 NSCs 室的局部脑放疗能够降低累积剂量和减少不良反应。对 HGG 患者分别给予保留颅内 NSCs 室的调强放射治疗 (intensity modulated radiation therapy, IMRT) 和常规全脑放疗,结果显示这种局部脑放疗与全脑放疗相比可实现患者放射治疗累积剂量减少 25%,并且即使当靶区与 NSCs 室相邻同样可以采用这种保留 NSCs 室的局部脑放疗方法治疗胶质瘤^[22]。此外采用逆向计划 IMRT 和螺旋断层放疗 (helical tomotherapy, HT) 分别对 HGG 患者进行局部脑放疗,发现对 NSCs 室选择性保留的放疗与不保留相比正常脑组织的放疗累积剂量相对较低,且不管 NSCs 室选择性保留或是不保留采用 IMRT 的脑累积剂量都低于 HT^[23]。而保留 NSCs 是否会减少放疗毒性以及增强疗效还需要进一步通过临床试验研究来评价,但有研究表明采用这种方法治疗胶质瘤可以减少颅骨放射治疗引起的晚期认知后遗症^[24]。

2.4 神经干细胞靶向酶/前药治疗胶质瘤 伊立替康 (CPT-11) 已被用于恶性脑肿瘤的治疗,但 CPT-11 具有药物进入脑肿瘤部位低水平和高剂量具全身毒性的局限性。而 NSCs 由于其固有的肿瘤趋向性和跨血脑屏障的能力,使其能够选择性地靶向脑肿瘤部位,从而克服 CPT-11 治疗的障碍。羧酸酯酶 (carboxylesterase, CE) 又可将前药 CPT-11 转换成活性代谢物 SN-38, SN-38 是一种很有应用前景的抗肿瘤物质。研究表明,采用 HB1.F3.CD NSCs 来表达兔羧酸酯酶 (rCE) 或基因修饰的人 CE (hCE1m6), CE-NSCs 无论是颅内注射还是静脉注射均可将 CE 传递给异种原位移植胶质瘤小鼠肿瘤区域,进而在肿瘤部位催化 CPT-11 向 SN-38 转化,且 rCE 和 hCE1m6 比人内源性 CE 催化 CPT-11 转化为 SN-38 更有效^[25]。rCE 和 hCE1m6 具有相似的生化 and 细胞特性,在体内的疗效也相似,但 hCE1m6 与 rCE 相比具有较低的免疫原性,所以在临床应用中选择 hCE1m6 更适合。NSCs 介导的 CE-CPT-11 治疗会使肿瘤局部产生 SN-38,由于转基因 NSCs 能够瞬时表达高水平的活性 CE 酶,且保留 NSCs 的肿瘤趋向性,同时又增加 CPT-11 细胞毒作用,使 CPT-11 的疗效显著提高,从而改善恶性脑胶质

瘤患者的临床预后与生命质量。另外, 将 NSCs-CE 联合 CPT-11 通过鼻内给药治疗原位移植胶质瘤模型小鼠, 利用组织学成像和三维重建发现 NSCs 依然能够特异性迁移到脑肿瘤部位而不是非肿瘤区, 并且能够提高模型小鼠生存率和抑制肿瘤的生长^[26]。研究表明, 鼻内给予 NSCs 6 h 后其在脑胶质瘤部位特异性积累显著增多, NSCs 的迁移主要是通过嗅觉通路, 但也有少部分通过鼻黏膜微血管进行全身分布^[27]。目前通过颅内或静脉注射途径给予 NSCs 治疗未必是最优的, 特别是重复给药治疗, 因为这种侵入性的给药方法可能导致并发症, 而通过鼻内给药能够克服这些挑战。因此, 鼻内给予 NSCs-CE 联合 CPT-11 治疗胶质瘤是一种快速、方便、无创和有效的方法。

2.5 神经干细胞靶向基因治疗胶质瘤 水疱性口炎病毒糖蛋白 (vesicular stomatitis virus glycoprotein, VSV-G) 是一类膜融合糖蛋白基因, 可以通过诱导肿瘤细胞形成多核合胞体而杀伤肿瘤细胞。Zhu 等^[28]人工改造了一种病毒融合蛋白 VSV-GH162R, 并研究表明用 NSCs 载体表达该基因可形成合胞体导致肿瘤细胞死亡, 特别是在酸性肿瘤微环境下。Luo 等^[29]开发出一种双开关细胞融合诱导转基因表达系统 (DoFIT), 在该系统中转基因的表达由胶质瘤特异性启动子 HMGB2 和 miR-199a-3p 协同调节, 在 NSCs 载体中的转基因表达是被 miR-199a-3p “关闭”的, 但载体细胞经过与胶质瘤细胞融合形成合胞体后 miR-199a-3p 被稀释而失去其抑制作用, 同时在合胞体中转基因表达由 HMGB2 “启动”, 而且 VSV-G 介导 NSCs 与胶质瘤细胞融合时该系统可驱动转基因表达。因此, 在临床上可以利用 DoFIT 系统在肿瘤部位驱动治疗基因的表达, 从而达到靶向治疗胶质瘤的目的。此外, 采用共表达内皮抑素 (endostatin, endo) 和 eGFP 的逆转录病毒载体转导原代 NSCs 来治疗胶质母细胞瘤模型小鼠, 发现 NSC/endo-eGFP 治疗可使荷瘤小鼠肿瘤体积减小高达 65%^[30]; 同时, 采用人基质金属蛋白酶 2 的一个自然产生的片段—PEX 转染 HB1.F3 NSCs (HB1.F3-PEX) 治疗胶质瘤模型小鼠, 结果显示小鼠胶质瘤体积缩小 90%^[31]。以上研究表明, 使用 NSCs 作为基因运载工具靶向治疗人脑胶质瘤极具潜力。

2.6 神经干细胞靶向自杀基因治疗胶质瘤 自杀基因能将无毒性的前药转化为有毒物质来杀死肿瘤细胞。作为良好载体的 NSCs 可以表达自杀基因。用胞嘧啶脱氨酶 (cytosine deaminase, CD) 基因克隆人 NSCs 系 HB1.F3.CD, 在胶质瘤小鼠体内可将 5-氟胞

嘧啶 (5-fluorocytosine, 5-FC) 局部转换为活性的化疗药物 5-氟尿嘧啶 (5-fluorouracil, 5-FU)。研究表明, HB1.F3.CD NSCs 具有正常的肿瘤趋向性、CD 基因表达以及基因和功能的稳定性, 且在胶质瘤模型小鼠体内 HB1.F3.CD NSCs 与 5-FC 联合治疗是安全、无毒和有效的, 治疗后肿瘤体积平均可缩小 2/3^[32]。自杀基因可通过“旁观者杀伤效应”杀死肿瘤细胞, Wang 等^[33]发现 NSCs/CD-5-FC 对胶质瘤细胞和髓母细胞瘤细胞均表现出显著的“旁观者效应”。此外, CD 自杀基因与某些基因联用可增强对恶性胶质瘤的治疗效果, 如 CD 基因与干扰素 (interferon, IFN)- β 基因联用等。体内、体外研究均表明在应用 5-FC 后采用 CD/IFN- β -NSCs 治疗与 CD-NSCs 和 NSCs 相比, 其对胶质瘤细胞展现更显著的“旁观者效应”, 表明 IFN- β 可增强 CD-NSCs 抗肿瘤作用^[34]。

单纯疱疹病毒胸苷激酶 (herpes simplex virus-thymidine kinase, HSV-TK) 是用于自杀基因策略的另一个广泛研究的激酶。研究发现, 在体外给予 25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 更昔洛韦 (ganciclovir, GCV) 治疗的情况下, 采用 HSV-TK 转染 NSCs 可通过细胞间隙连接介导的“旁观者效应”杀死胶质瘤细胞, 且高达 90% 的肿瘤细胞被杀死^[35]。同时, NSCs 可稳定表达一个 TK 突变体 (TK.007), 用 TK.007 修饰 NSCs 并通过鼻腔给药治疗胶质瘤动物模型, 结果显示显著抑制肿瘤生长, 明显延长其生存时间^[36], 该研究表明 NSC-TK.007 鼻内应用是一种安全、无创且有效的胶质瘤治疗方法。

采用 CD、TK 双自杀基因修饰 F3.hNSCs (F3.CD-TK), 然后将其注入脊髓髓内胶质瘤 (ISCG) 实验模型大鼠, 随后用 5-FC 和 GCV 腹腔注射, 结果表明 F3.CD-TK 细胞能迁移扩散到 ISCG 周围并介导化疗药物发挥溶瘤作用, 从而显著改善大鼠模型自主神经功能, 延长生存时间, 同时降低肿瘤的生长率^[37]。且研究发现, 无论是在体内或体外, 转染 CD/TK 融合基因的 NSCs 联合 5-FC 和 GCV 治疗能够显著降低胶质瘤细胞活力, 增加肿瘤细胞凋亡率, 明显缩小肿瘤体积, 从而显著增加生存时间, 并且这种双自杀基因治疗效果优于单自杀基因系统^[33, 38]。因此, 以 NSCs 为载体的工程化双自杀基因可能对脑胶质瘤提供新的有希望的治疗策略。此外, Jin 等^[39]研究发现, 在利用 NSCs 靶向自杀基因治疗胶质瘤时, 为了提高有效性可使用 VP22 穿梭蛋白以增加慢病毒转染 NSCs 的转导效率, 而且还能够增强基因修饰 NSCs 的抗胶质瘤作用。

此外,肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL) 也是广泛应用于肿瘤治疗的相关基因,该基因也能发挥“旁观者效应”并诱发肿瘤细胞凋亡,但对正常细胞没有影响。目前许多研究证明利用 NSCs 导入 TRAIL 基因可通过诱导胶质瘤细胞凋亡而达到治疗肿瘤的目的。采用 NSCs-TRAIL 治疗胶质瘤模型小鼠能够有效地诱导胶质瘤细胞凋亡,使模型小鼠肿瘤体积显著减小,且对正常组织没有毒性^[40]。体外研究发现,采用 NSCs 表达膜结合型 TRAIL (NSCs-mTRAIL) 与可溶型 TRAIL 相比更容易使 U87 胶质瘤细胞凋亡,而且蛋白酶体抑制剂硼替佐米能够增强这种抗肿瘤作用,同时体内研究也证明 NSCs-mTRAIL 治疗可显著提高胶质瘤模型小鼠的存活率,硼替佐米也能进一步改善小鼠的生存状况^[41]。Hingtgen 等^[42]体外研究表明用 NSCs 表达重组分泌型 TRAIL 联合 TMZ 治疗胶质母细胞瘤也能增加治疗效果。通过建立侵袭性小鼠原位 GSCs 模型证明强心苷毛花苷 C 能够增加 NSCs 分泌的可溶型 TRAIL 诱导 GBM 细胞凋亡的敏感性,从而促进 GBM 衰亡^[9]。此外,研究还发现一种新的 PI3K/mTOR 抑制剂 PI-103 也能够增强 NSCs 衍生分泌型 TRAIL 的抗肿瘤作用等^[43]。

2.7 其他 Muroski 等^[44]研发一种旋转圆盘 (spinning disk, SD) 转染 NSCs 的磁控靶向给药新策略,即将携带治疗粒子的 SD 转染 NSCs, NSCs 可使 SD 内粒子向其内化,在外加磁场的作用下又可触发 NSCs 中 SD 粒子的释放,进而使粒子被胶质瘤细胞吸收而导致肿瘤细胞损伤、凋亡,研究结果表明 SD-NSCs 和磁场处理可以使 50% 以上的胶质瘤细胞死亡。这种采用 NSCs 携带 SD 粒子靶向治疗胶质瘤的方法可以克服治疗粒子难以穿过血脑屏障的障碍以及粒子在传递数量上的限制,从而很好地达到治疗目的。此外,由于来源于成年人患者的 NSCs 在可用性、扩展性、遗传修饰的潜力和成本等方面存在局限性,因而目前对永生化 NSCs 系的需求正在不断增长。Li 等^[45]采用 L-MYC 基因转染 NSCs (LM-NSC008) 建立一种新的永生化人胚胎 NSCs 系, LM-NSC008 在体外具有分化为神经元、少突胶质细胞和星形胶质细胞的潜能,在体内不具有致瘤性,并且对靶向传递药物治疗胶质瘤具有潜在的应用价值,但其具体应用还有待进一步地研究与开发。

3 讨论与展望

胶质瘤尤其是高级别胶质瘤是极难治疗的,因为它们往往是浸润性的,因此不能通过手术切除治

愈;化疗和放疗具有毒性又限制了可以使用的剂量,因此寻求新的更有效的治疗策略对胶质瘤的临床治疗具有极其重要的意义。研究表明 NSCs 移植可在一定程度上抑制胶质瘤的生长。但只给予 NSCs 治疗胶质瘤,其效果不佳,而且有学者研究指出单纯的 NSCs 移植对胶质瘤并没有治疗作用,其结果的不同可能与所用的实验模型或剂量不同有关。然而利用 NSCs 将治疗病毒、酶/前药、基因或自杀基因等靶向传递给胶质瘤部位,可达到较好的治疗效果。并且还可通过一些相关基因修饰 NSCs,从而达到更有效、更安全的治疗目的,同时联合放疗手段也可取得较好的疗效。

研究表明,基于 NSCs 的溶瘤腺病毒治疗耐药性和浸润性胶质瘤效果较好。这种治疗策略不仅对病毒递送的效率高,而且全身毒性小,具有明显的优势。并且这种基于 NSCs 的溶瘤治疗辅以放疗可以增强疗效,但是需要特别注意的是 NSCs 对放疗敏感,因此容易受损甚至凋亡,所以最好进行保留 NSCs 室的局部脑放疗。NSCs 载体递送酶/前药靶向治疗胶质瘤也可取得较好的效果,这种治疗方式能够促进前药转化为治疗药物从而提高疗效,同时也能减少药物的全身毒性。NSCs 作为生物载体转染外源性基因治疗胶质瘤也具有明显的优势,NSCs 既能高效表达目的基因直接治疗胶质瘤,又能表达自杀基因间接引起肿瘤细胞死亡,而且为了增强治疗效果可以采用双自杀基因修饰的 NSCs 联合双药靶向治疗胶质瘤,同时采用 NSCs 导入 TRAIL 基因联合其他药物如 TMZ 等可降低胶质瘤的耐药性从而提高疗效。

运用 NSCs 作为靶向载体治疗胶质瘤颇具优势,但也存在一些问题与不足。近年来,多项研究报道 NSCs 在某些情况下可分化形成胶质瘤细胞,因而利用 NSCs 靶向治疗可能反而导致增加肿瘤的危险性。NSCs 在体外具有一定的免疫原性也不容忽视,NSCs 移植时可能会出现免疫排斥问题。目前可用于临床治疗恶性胶质瘤的 NSCs 系还不是很成熟,可供选择的 NSCs 系也较少。虽然目前研究中胶质瘤可供选择的治疗方案较多,但这些不同的方案缺乏疗效的平行比较。此外,基于 NSCs 靶向药物联合放疗对胶质瘤治疗具有一定的潜力,虽然放疗会损伤 NSCs,但只要阐明放疗对 NSCs 的损伤机制就可以减少损伤,但这方面的研究较少。同时研究表明,TRAIL 可增加放疗的敏感性,因此可利用 NSCs 导入 TRAIL 基因联合放疗治疗恶性胶质瘤,但目前这方面的研究尚未涉及。在今后的深入研究中,以下几个方面亟需完善:

① 进一步探索 NSCs 与胶质瘤细胞之间的潜在关系, 阐明其向肿瘤方向分化的能力、条件及机制; ② 明确 NSCs 移植可能引起的免疫排斥反应, 并针对免疫反应探讨其对策; ③ 比较研究 NSCs 靶向病毒、酶/前药、基因或自杀基因等治疗胶质瘤的效果; ④ 进一步研究开发成本低、安全性好、稳定性好、遗传修饰性能好的可用于靶向药物载体治疗策略的永生化 NSCs; ⑤ 进一步研究基于 NSCs 靶向药物联合放疗手段治疗胶质瘤, 并明确放疗对 NSCs 的影响及其机制等。总的来说, 利用 NSCs 靶向治疗胶质瘤极具潜力, 一项转染 CD 自杀基因的 NSCs 靶向药物治疗复发性恶性胶质瘤患者的临床试验从 2010 年起在美国实施, 目前也正计划用 HB1.F3.CD 细胞载体靶向 CRAd-S-pk7 治疗 GBM 患者的 I 期临床试验研究, 这将有望为胶质瘤患者的生命带来新的希望。

References

- [1] Smith TR, Hulou MM, Abecassis J, et al. Use of preoperative FLAIR MRI and ependymal proximity of tumor enhancement as surrogate markers of brain tumor origin [J]. *J Clin Neurosci*, 2015, 22: 1397–1402.
- [2] Kang CS, Pu PY. Research progress of signal transduction pathway in brain glioma [J]. *Chin J Contemp Neurol Neurosurg* (中国现代神经疾病杂志), 2008, 8: 388–392.
- [3] Kurian KM. The impact of neural stem cell biology on CNS carcinogenesis and tumor types [J]. *Patholog Res Int*, 2011, 2011: 685271.
- [4] Miska J, Lesniak MS. Neural stem cell carriers for the treatment of glioblastoma multiforme [J]. *EBioMedicine*, 2015, 2: 774–775.
- [5] Heese O, Disko A, Zirkel D, et al. Neural stem cell migration toward gliomas *in vitro* [J]. *Neuro Oncol*, 2005, 7: 476–484.
- [6] Kim JH, Lee JE, Kim SU, et al. Stereological analysis on migration of human neural stem cells in the brain of rats bearing glioma [J]. *Neurosurgery*, 2010, 66: 333–342.
- [7] Kendall SE, Najbauer J, Johnston HF, et al. Neural stem cell targeting of glioma is dependent on phosphoinositide 3-kinase signaling [J]. *Stem Cells*, 2008, 26: 1575–1586.
- [8] Zhang SJ, Hu F, Xie RF, et al. Role of chemotactic factors in glioma stem cells inducing the migration of neural stem cells *in vitro* [J]. *Chin J Exp Surg* (中华实验外科杂志), 2011, 28: 1412–1415.
- [9] Teng J, Hejazi S, Badr CE, et al. Systemic anticancer neural stem cells in combination with a cardiac glycoside for glioblastoma therapy [J]. *Stem Cells*, 2014, 32: 2021–2032.
- [10] Khosh N, Brown CE, Aboody KS, et al. Contact and encirclement of glioma cells *in vitro* is an intrinsic behavior of a clonal human neural stem cell line [J]. *PLoS One*, 2012, 7: e51859.
- [11] Zhao D, Najbauer J, Garcia E, et al. Neural stem cell tropism to glioma: critical role of tumor hypoxia [J]. *Mol Cancer Res*, 2008, 6: 1819–1829.
- [12] Luo J, Zhang L, Tu H, et al. Experimental study on treatment of glioma by embryonic neural stem cell transplantation in rats [J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2007, 27: 571–575.
- [13] Suzuki T, Izumoto S, Wada K, et al. Inhibition of glioma cell proliferation by neural stem cell factor [J]. *J Neurooncol*, 2005, 74: 233–239.
- [14] Li H, Chen Z, Zhou S. Apoptosis in glioma-bearing rats after neural stem cell transplantation [J]. *Neural Regen Res*, 2013, 8: 1793–1802.
- [15] Kim JW, Auffinger B, Spencer DA, et al. Single dose GLP toxicity and biodistribution study of a conditionally replicative adenovirus vector, CRAd-S-pk7, administered by intracerebral injection to Syrian hamsters [J]. *J TranslMed*, 2016, 14: 134.
- [16] Thaci B, Ahmed AU, Ulasov IV, et al. Pharmacokinetic study of neural stem cell-based cell carrier for oncolytic virotherapy: targeted delivery of the therapeutic payload in an orthotopic brain tumor model [J]. *Cancer Gene Ther*, 2012, 19: 431–442.
- [17] Ahmed AU, Thaci B, Tobias AL, et al. A preclinical evaluation of neural stem cell-based cell carrier for targeted antiglioma oncolytic virotherapy [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2013, 105: 968–977.
- [18] Morshed RA, Gutova M, Juliano J, et al. Analysis of glioblastoma tumor coverage by oncolytic virus-loaded neural stem cells using MRI-based tracking and histological reconstruction [J]. *Cancer Gene Ther*, 2015, 22: 55–61.
- [19] Kim CK, Ahmed AU, Auffinger B, et al. *N*-Acetylcysteine amide augments the therapeutic effect of neural stem cell-based antiglioma oncolytic virotherapy [J]. *Mol Ther*, 2013, 21: 2063–2073.
- [20] Dey M, Yu D, Kanojia D, et al. Intranasal oncolytic virotherapy with CXCR4-enhanced stemcells extends survival in mouse model of glioma [J]. *Stem Cell Rep*, 2016, 7: 471–482.
- [21] Tobias AL, Thaci B, Auffinger B, et al. The timing of neural stem cell-based virotherapy is critical for optimal therapeutic efficacy when applied with radiation and chemotherapy for the treatment of glioblastoma [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2013, 2: 655–666.
- [22] Barani IJ, Cuttino LW, Benedict SH, et al. Neural stem

- cell-preserving external-beam radiotherapy of central nervous system malignancies [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2007, 68: 978–985.
- [23] Marsh JC, Ziel GE, Diaz AZ, et al. Integral dose delivered to normal brain with conventional intensity-modulated radiotherapy (IMRT) and helical tomotherapy IMRT during partial brain radiotherapy for high-grade gliomas with and without selective sparing of the hippocampus, limbic circuit and neural stem cell compartment [J]. *J Med Imaging Radiat Oncol*, 2013, 57: 378–383.
- [24] Marsh JC, Godbole R, Diaz AZ, et al. Sparing of the hippocampus, limbic circuit and neural stem cell compartment during partial brain radiotherapy for glioma: a dosimetric feasibility study [J]. *J Med Imaging Radiat Oncol*, 2011, 55: 442–449.
- [25] Metz MZ, Gutova M, Lacey SF, et al. Neural stem cell-mediated delivery of irinotecan-activating carboxylesterases to glioma: implications for clinical use [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2013, 2: 983–992.
- [26] Gutova M, Shahmalyan D, Oganessian D, et al. Intranasal delivery of therapeutic neural stem cells to target intracerebral glioma [J]. *Neuro Oncology*, 2015, 1: 1–7.
- [27] Reitz M, Demestre M, Sedlacik J, et al. Intranasal delivery of neural stem/progenitor cells: a noninvasive passage to target intracerebral glioma [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2012, 1: 866–873.
- [28] Zhu D, Lam DH, Purwanti YI, et al. Systemic delivery of fusogenic membrane glycoprotein-expressing neural stem cells to selectively kill tumor cells [J]. *Mol Ther*, 2013, 21: 1621–1630.
- [29] Luo Y, Zhu D, Lam DH, et al. A double-switch cell fusion-inducible transgene expression system for neural stem cell-based anti-glioma gene therapy [J]. *Stem Cells Int*, 2015, 2015: 649080.
- [30] Lorico A, Mercapide J, Solodushko V, et al. Primary neural stem/progenitor cells expressing endostatin or cytochrome P450 for gene therapy of glioblastoma [J]. *Cancer Gene Ther*, 2008, 15: 605–615.
- [31] Kim SK, Cargioli TG, Machluf M, et al. PEX-producing human neural stem cells inhibit tumor growth in a mouse glioma model [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11: 5965–5970.
- [32] Aboody KS, Najbauer J, Metz MZ, et al. Neural stem cell-mediated enzyme/prodrug therapy for glioma: preclinical studies [J]. *Sci Transl Med*, 2013, 5: 184ra159.
- [33] Wang C, Natsume A, Lee HJ, et al. Neural stem cell-based dual suicide gene delivery for metastatic brain tumors [J]. *Cancer Gene Ther*, 2012, 19: 796–801.
- [34] Ito S, Natsume A, Shimato S, et al. Human neural stem cells transduced with IFN- β and cytosine deaminase genes intensify bystander effect in experimental glioma [J]. *Cancer Gene Ther*, 2010, 17: 299–306.
- [35] Uhl M, Weiler M, Wick W, et al. Migratory neural stem cells for improved thymidine kinase-based gene therapy of malignant gliomas [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 328: 125–129.
- [36] Dührsen L, Reitz M, Henze M, et al. SC-07 cyclic intranasal application of neural stem cell-mediated enzyme/prodrug therapy using a novel HSV-thymidine kinase variant inhibits intracerebral glioma growth and improves survival [J]. *Neuro Oncol*, 2014, 16: v198.
- [37] Ropper AE, Zeng X, Haragopal H, et al. Targeted treatment of experimental spinal cord glioma with dual gene-engineered human neural stem cells [J]. *Neurosurgery*, 2016, 79: 481–491.
- [38] Niu J, Xing C, Yan C, et al. Lentivirus-mediated CD/TK fusion gene transfection neural stem cell therapy for C6 glioblastoma [J]. *Tumour Biol*, 2013, 34: 3731–3741.
- [39] Jin G, Zhou Y, Chai Q, et al. VP22 and cytosine deaminase fusion gene modified tissue-engineered neural stem cells for glioma therapy [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2013, 139: 475–483.
- [40] Ehteshami M, Kabos P, Gutierrez MA, et al. Induction of glioblastoma apoptosis using neural stem cell-mediated delivery of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand [J]. *Cancer Res*, 2002, 62: 7170–7174.
- [41] Balyasnikova IV, Ferguson SD, Han Y, et al. Therapeutic effect of neural stem cells expressing TRAIL and bortezomib in mice with glioma xenografts [J]. *Cancer Lett*, 2011, 310: 148–159.
- [42] Hingtgen S, Ren X, Terwilliger E, et al. Targeting multiple pathways in gliomas with stem cell and viral delivered S-TRAIL and Temozolomide [J]. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7: 3575–3585.
- [43] Bagci-Onder T, Wakimoto H, Anderegg M, et al. A dual PI3K/mTOR inhibitor, PI-103, cooperates with stem cell-delivered TRAIL in experimental glioma models [J]. *Cancer Res*, 2011, 71: 154–163.
- [44] Muroski ME, Morshed RA, Cheng Y, et al. Controlled payload release by magnetic field triggered neural stem cell destruction for malignant glioma treatment [J]. *PLoS One*, 2016, 11: e0145129.
- [45] Li Z, Oganessian D, Mooney R, et al. L-MYC expression maintains self-renewal and prolongs multipotency of primary human neural stem cells [J]. *Stem Cell Reports*, 2016, 7: 483–495.