

阿司匹林对骨髓间充质干细胞移植治疗缺血性脑卒中的影响研究进展

匡稳定 汤永红[△]

(南华大学附属第二医院神经内科 湖南 衡阳 421001)

摘要 阿司匹林是缺血性脑卒中患者急性期治疗药物及卒中再发的二级预防常用药物,骨髓间充质干细胞(BMSCs)移植是治疗缺血性脑血管疾病的新的新兴技术。已证实阿司匹林可抑制骨髓间充质干细胞的增殖及影响骨髓间充质干细胞的分化。本文就阿司匹林对骨髓间充质干细胞移植治疗缺血性脑卒中的影响等进行综述。

关键词 阿司匹林;骨髓间充质干细胞;缺血性脑卒中

中图分类号 R657.5+3 文献标识码 A 文章编号 1673-6273(2012)14-2763-03

Progress in Effect of Aspirin on Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Transplantation for Treatment of Ischemic Stroke

KUANG Wen-ding, TANG Yong-hong[△]

(1 Department of Neurology, the second affiliated hospital of nanhua university, 421001, Hengyang China)

ABSTRACT: Aspirin is in patients with acute ischemic stroke treatment and secondary prevention of stroke recurrence commonly used drugs, bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) transplantation is the treatment of ischemic cerebrovascular disease, new and emerging technologies. Has confirmed that aspirin can inhibit bone marrow mesenchymal stem cell proliferation and impact of bone marrow mesenchymal stem cell differentiation. In this paper, aspirin on bone marrow mesenchymal stem cell transplantation for treatment of the impact of ischemic stroke were reviewed.

Key words: Aspirin; Bone marrow mesenchymal stem cells; Ischemic stroke

Chinese Library Classification(CLC): R657.5+3 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)14-2763-03

缺血性脑血管病发病率高,经典治疗收效甚微,致残、致死率均较高。人们一直在寻找一直更好治疗方法,干细胞移植让这一愿望可能成为现实,目前干细胞治疗在临床(包括缺血性脑卒中)已有应用,而骨髓间充质干细胞在体内分布广泛,主要存在骨髓中,不受取材、免疫排斥等限制,因此受到青睐,它通过多种途径达到改善神经功能的目的^[17-19]。缺血性脑卒中一般都需要抗血小板治疗(溶栓治疗及有抗血小板药物使用禁忌症的除外),常用药物为阿司匹林,已证实阿司匹林可抑制骨髓间充质干细胞的增殖及影响骨髓间充质干细胞的分化^[3,23],并认为与 Wnt/ β -连环素通相关^[22,23]。抗血小板治疗与干细胞移植是否存在冲突是这一新兴技术发展必须验证的问题。

1 阿司匹林

1.1 阿司匹林抗血小板作用机理及合理使用

阿司匹林是一种非选择性环氧化酶抑制药,半衰期是 15~20 分钟,其抗血小板机理是乙酰化 COX 丝氨酸位点,使 COX 永久失活,抑制血小板生成 TXA₂。血小板不能重新合成 COX,因此阿司匹林抑制血小板生成 TXA₂是永久性的;而内皮细胞失去活性的 COX 可在数小时内重新合成,只有在大剂量使用时才减少血管内皮细胞产生前列环素(PGI₂)。因此小剂

量的阿司匹林发挥的是抗栓作用,对内皮细胞生成具有抗栓活性的 PGI₂影响不大。临床随机双盲试验^[4]表明,长期使用阿司匹林的有效剂量为 75~150mg/d,在减少高危人群血管事件中 75~150mg/d 的剂量的疗效优于高剂量。

1.2 阿司匹林的其他作用

阿司匹林可激活 caspase-3 和 caspase-9 而诱导肿瘤细胞凋亡,抑制肿瘤细胞增殖以及抗新生血管形成。Aggarwal 等认为抑制 NOS 减少 NO 生成可抑制肿瘤的生长^[2]。阿司匹林通过抗血小板的作用可改善缺血性脑卒中缺血半暗带去的微循环,清除过量氧自由基抑制组织损伤,并通过多种途径保护缺血受损的神经细胞,体外实验表明阿司匹林可抑制骨髓间充质干细胞的增殖及可诱导骨髓间充质干细胞的凋亡^[3]。有研究表明,阿司匹林可以通过抑制中性粒细胞引起的炎症反应,起到抗氧化和保护内皮的作用^[4]。阿司匹林可减少白细胞介素-6(IL-6)、CRP、单核细胞集落刺激因子-1(MCP-1)和黏附分子的表达,抑制炎症反应,增加粥样斑块稳定性。Ranganatha 等^[5]报道了阿司匹林通过上调 p53 蛋白而发挥抑制血管内皮细胞增殖的作用。

2 骨髓间充质干细胞

2.1 骨髓间充质干细胞生物特性

在正常生理状态情况下,体内大多数骨髓间充质干细胞无明显增殖。在体外合适的培养条件下,骨髓间充质干细胞能贴壁生长,表现出旺盛的增殖能力,在一定诱导条件下骨髓间充质干细胞可向神经细胞、肝细胞、成骨细胞、成软骨细胞、脂肪

作者简介 匡稳定(1984-)男,硕士研究生,主要研究方向:脑血管疾病与干细胞移植。电话 15200522562 E-mail 125333568@qq.com
[△]通讯作者 汤永红 E-mail :tang6246@tom.com
(收稿日期 2011-11-05 接受日期 2011-11-30)

细胞及基质细胞等细胞分化^[6-10]。BMSCs可分泌多种营养因子,主要包括以下8类:(1)生长因子:包括血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、肝细胞生长因子(HGF)、血小板源生长因子B(PDGF-B)、胰岛素样生长因子(IGF)、胎盘生长因子(PGF)以及肿瘤生长因子 β 1(TGF- β 1)等^[11]。(2)趋化性细胞因子:包括单核细胞趋化蛋白-1/2/5(MCP-1/2/5)以及基质细胞衍生因子等趋化因子^[12-14]。(3)集落刺激因子:包括巨噬细胞集落刺激因子(MCSF)、粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、干细胞因子(CSF)、血小板生成素、白血病抑制因子以及促红细胞生成素(EPO)等^[13]。(4)细胞与细胞接触分子、细胞外基质蛋白:包括黏附分子如整合素亚基 α 3、 α 4、 α 5、 β ,整合素 α V β 3、 α V β 5,细胞间黏附分子-1(ICAM-1)及细胞外基质。(5)白细胞介素(IL):包括IL-1a、IL-1b、IL-6、IL-7、IL-8、IL-11、IL-12、IL-14和IL-15。(6)肿瘤坏死因子 α (TNF- α)^[15]。(7)转录因子:如缺氧诱导因子(HIF)^[16]。(8)其他物质或酶类:可表达COX-1和COX-2^[11]等。

2.2 骨髓间充质干细胞治疗脑梗死的可能作用原理

目前研究表明骨髓间充质干细胞可能通过以下几方面起到治疗脑梗死的作用:(1)神经细胞替代:Wang等^[17]研究显示骨髓基质干细胞可通过血脑屏障向病变部位迁移,表达神经元特有的标志蛋白,与病变周围组织发生联系、替代损伤及坏死的细胞、重新建立神经通路。(2)促进缺血区新血管再生:Chen等^[18]将骨髓基质干细胞移植入永久性局灶性脑缺血大鼠模型,14天后受移植大鼠的神经功能改善显著,微血管密度的显著增加、凋亡细胞明显减少。(3)分泌各种营养因子:包括神经生长因子(NGF)、脑源性神经营养因子(BDNF)、血管内皮生长因子(VEGF)等^[19]。这些因子在脑损伤后的神经重塑、轴突生长、神经细胞再生及抑制神经细胞凋亡等多面中起着重要作用^[19]。(4)促进内源性神经干细胞增殖:Chen等^[20]给短暂性大脑中动脉闭塞大鼠模型静注骨髓基质干细胞,发现移植细胞向缺血半球集中,且移植组侧脑室下区的溴脱氧尿苷(BrdU)阳性细胞数较对照组明显增多,说明骨髓基质干细胞可向受损神经组织集中并内源性神经干细胞的增殖。

3 阿司匹林对骨髓间充质干细胞的影响及通路

3.1 阿司匹林对骨髓间充质干细胞的影响

阿司匹林经典药理作用机制是抑制环氧酶1/2(COX-1/2)的活性。然而,目前发现阿司匹林还通过调节其他的信号通路如 β -连环素介导的Wnt/ β -连环素通路发挥作用^[21]。最近研究发现Wnt/ β -catenin信号通路参与调节骨髓间充质干细胞的自我增殖、分化和存活,并认为此信号通路与阿司匹林抑制骨髓间充质干细胞的增殖效应相关^[22,23]。也有研究认为低剂量阿司匹林可抑制Fas抗体诱导骨髓间充质干细胞的死亡并诱导骨髓间充质干细胞的增殖,提高骨髓间充质干细胞端粒酶活性和长度^[24]。

3.2 Wnt/ β -catenin 信号通路

该通路的核心是 β -catenin(β -连环素),胞内总 β -catenin包含磷酸化和未磷酸化两种形式,其中磷酸化 β -catenin能被降解复合物降解,未磷酸化的 β -catenin则可以在胞浆内积聚,并进入细胞核内,参与信号传导。当WNT分子未与Frizzled受

体及LRP-5、LRP-6协同受体结合时,胞浆内GSK-3 β 的活性很高,能够磷酸化 β -catenin分子^[25]。胞内游离的 β -catenin通过其氨基末端高度保守的丝氨酸残基与GSK-3 β 结合,并GSK-3 β 将磷酸根加到 β -catenin的4个N端位点(S33、S37、T4及S45)使其被磷酸化^[26]。这些磷酸氨基酸作为 β -catenin上的一种标志从而被泛素-蛋白酶系统降解。然而当WNT受体与配体结合后,通过磷酸化抑制GSK-3 β 的活性,减少 β -catenin的降解,从而使胞浆内的 β -catenin浓度升高,使其能够扩散进入细胞核内,作为转录因子T细胞因子家族转录调节因子/淋巴样增强因子的辅激活剂而参与调节靶基因表达。 β -catenin分子除参与经典的WNT通路外,还参与其他的信号转导系统。Guo等在研究肌肉抑制素抑制间充质干细胞和脂肪祖细胞向脂肪细胞分化时,在肌肉抑制素的信号转导过程中发现 β -catenin在核内浓度升高,并证实 β -catenin可以下调PPAR γ 的表达^[27]。

3.3 阿司匹林对 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响

Dihlmann等报道,阿司匹林能促进结肠癌细胞株SW948和SW480细胞 β -catenin的磷酸化,从而下调Wnt/ β -catenin信号通路的活性^[28]。有研究认为阿司匹林以磷酸化水平降低的方式促进GSK-3 β 的活化和抑制 β -catenin的入核,降低Wnt/ β -catenin信号通路靶基因细胞周期蛋白D1(CyclinD1)的表达^[29]。采用Wnt3a和GSK-3 β 抑制剂(LiCl和SB216763)模拟激活Wnt/ β -catenin信号通路,可促进细胞周期蛋白D1(cyclinD1)的表达,抑制阿司匹林诱导的骨髓间充质干细胞凋亡,保护线粒体功能抑制细胞色素c释放和caspase-3的激活^[29]。阿司匹林时间依赖性地降低环氧酶-2(COX-2)的表达,而后促进COX-2的表达上调。相关试验表明COX-2与Wnt/ β -catenin信号通路存在相互调控。Hawcroft等^[29]在结肠癌细胞株SW480、HCT116中证实,吲哚美辛可在蛋白及基因水平上降低 β -Catenin、cyclin D1 mRNA的表达。同样,COX-2选择性抑制剂塞来西布作用大肠癌细胞株后,不仅TOPflash质粒的表达下降,C-Myc和cyclinD1的表达也下降;同时伴有GSK-3 β 磷酸化下降, β -Catenin磷酸化增加^[30]。也有文献表明,Wnt信号途径在一定程度上可调控COX-2的表达,将高表达 β -Catenin的LEF1的质粒转入软骨细胞株后,该细胞株中的COX-2mRNA表达增加,使用LEF1特异性小干扰RNA(siRNA)抑制LEF1的表达后,COX-2的表达也相应下降^[31]。

4 问题与展望

阿司匹林作为缺血性脑卒中患者急性期治疗药物及卒中再发的二级预防常用药物,已证实可抑制骨髓间充质干细胞的增殖及影响骨髓间充质干细胞的分化,其机理也有一些研究,并证实与浓度和时间相关,但阿司匹林在体内半衰期很短,持续的浓度很低,目前仍缺乏体内试验。抗血小板药物对骨髓间充质干细胞的影响目前研究并不多,不成体系,有些机理尚不明确,很多抗血小板药物对骨髓间充质干细胞的影响没有纳入研究,不能对比进行综合评价而这些问题是骨髓间充质干细胞在缺血性脑卒中临床应用中必须解决的,有待加强力度进一步研究,便于进行骨髓间充质干细胞移植的缺血性脑卒中患者选取更有利的抗血小板药物。鉴于目前研究现状,我们需要从以

下几个方面更加深入的思考:1.常规使用阿司匹林是否对骨髓间充质干细胞移植治疗缺血性脑卒中等疾病构成影响?是否有干预的办法?肠溶性与非肠溶性阿司匹林之间是否存在差异?2.其他抗血小板药物对骨髓间充质干细胞有何影响,其机理是什么?3.进行骨髓间充质干细胞移植的患者使用何种抗血小板药物更合理?这些问题都需要我们在以后的实验研究中做更深入的探讨和研究。

参考文献(References)

- [1] Ye YM, Nahm DH, Kim SH, et al. Circulation autoantibodies in patient with aspirin-intolerant asthma: an epiphenomenon related to airway inflammation[J]. J Korean Med Sci, 2006,21(3): 412-417
- [2] Aggarwal BB, Kumar A, Bharti AC. Anticancer potential of curcumin; preclinical and clinical studies [J]. Anticancer Res, 2003,23(1A): 363-398
- [3] Guida L, Annunziata M, Passaro I, et al. Acetylsalicylic acid inhibits proliferation of human bone marrow stromal cells and matrix mineralization. Int J Immunopathol Pharmacol, 2008,21(4):921-928
- [4] Altman R, Luciani H L, Muntaner J, et al. The antithrombotic profile of aspirin. Aspirin resistance, or simply failure[J]. Thromb, 2004,2(1):1
- [5] Ranganathan S, Joseph J, Mehta JL. Aspirin inhibits human coronary artery endothelial cell proliferation by upregulation of p53 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003,301(2):143-146
- [6] Lisheng W, Meng E, Guo Z. High mobility group box1 protein inhibits the proliferation of human mesenchymal stem cells and promotes their migration and differentiation along osteoblastic pathway [J]. Stem Cells Dev, 2008,17(4):805-813
- [7] Curran JM, Tang Z, Hunt JA. PLGA doping of PCL affects the plastic potential of human mesenchymal stem cells both in the presence and absence of biological stimuli[J]. J Biomed Mater Res A, 2009,89 (1): 1-12
- [8] Gang EJ, Bosnakovski D, Simsek T, et al. Pax3 activation promotes the differentiation of mesenchymal stem cells toward the myogenic lineage[J]. Exp Cell Res, 2008,314 (8):1721-1733
- [9] Mercedes Zurita, Celia Bonilla, Laura Otero, et al. Neural trans-differentiation of bone marrow stromal cells obtained by chemical agents is a short-time reversible phenomenon [J]. Neurosci Res, 2008,60(3): 275-280
- [10] Stock P, Staeger MS, Muller LP, et al. Hepatocytes derived from adult stem cells[J]. Transplant Proc, 2008, 40 (2): 620-623
- [11] Ryan JM, Barry F, Murphy JM, et al. Interferon- γ does not break but promotes the immunosuppressive capacity of adult human mesenchymal stem cells[J]. Clin Exp Immunol, 2007,149(2):353-363
- [12] Psaltis PJ, Zannettino AC, Worthley SG, et al. Concise review: mesenchymal stromal cells, potential for cardiovascular repair [J]. Stem Cells, 2008,26(9):2201-2210
- [13] Chen LW, Tredget EE, Wu PYG, et al. Paracrine factors of mesenchymal stem cells recruit macrophages and endothelial lineage cells and enhance wound healing[J]. PLoS One, 2008,3(4):1886-1898
- [14] Wang Y, Deng Y, Zhou GQ, et al. SDF-1 α /CXCR4-mediated migration of systemically transplanted bone marrow stromal cells towards ischemic brain lesion in a rat model [J]. Brain Res, 2008,21(2): 104-112
- [15] Unh Y, Karapolat S. Effects of implantation of bone marrow cells on cytokine levels in the ischemic heart tissue. An experimental study[J]. Cardiothorac Surg, 2008,3(1):30-38
- [16] Zhang J, Liu A, Hou R, et al. Salidroside protects cardiomyocyte against hypoxia-induced death: a HIF-1 α -activated and VEGF-mediated pathway[J]. Eur J Pharmacol, 2009,607(1-3):6-14
- [17] Wang L, Li Y, Chen J, et al. Schemic cerebral tissue and MCP-1 enhance rat bone marrow stromal cell migration in interface culture [J]. Exp Hematol, 2002,30(7):831-836
- [18] Chen ZZ, Jiang XD, Zhang LL, et al. Beneficial effect of autologous transplantation of bone marrow stromal cells and endothelial progenitor cells on cerebral ischemia in rabbits [J]. Neurosci Lett, 2008,445 (1):36-41
- [19] Shen LH, Li Y, Gao Q, et al. Down-regulation of neurocan expression in inactive astrocytes promotes axonal regeneration and facilitates the neurorestorative effects of bone marrow stromal cells in the ischemic rat brain[J]. Glia, 2008,56(16):1747-1754
- [20] Chen J, Li Y, Katakowski M, et al. Intravenous bone marrow stromal cell therapy reduces apoptosis and promotes endogenous cell proliferation after stroke in female rat[J]. J Neurosci Res, 2003,76(6):778-786
- [21] Lu W, Tinsley HN, Keeton A, et al. Suppression of Wnt/beta-catenin signaling inhibits prostate cancer cell proliferation[J]. Eur J Pharmacol, 2009,602(1):8-14
- [22] Okoye UC, Malbon CC, Wang HY. Wnt and Frizzled RNA expression in human mesenchymal and embryonic (H7) stem cells[J]. Mol Signal, 2008,3(1):16
- [23] Ling L, Nurcombe V, Cool SM. Wnt signaling controls the fate of mesenchymal stem cells[J]. Gene, 2009,433(1-2):1-7
- [24] Yamaza T, Miura Y, Bi Y, et al. Pharmacologic Stem Cell Based Intervention as a New Approach to Osteoporosis Treatment in Rodents [J]. PLoS one, 2008,3(7):2615
- [25] Etheridge SL, Spencer GJ, Heath DJ, et al. Expression profiling and function analysis of wnt signaling mechanisms in mesenchymal stem cells[J]. Stem Cells, 2004,22(5):849-860
- [26] Wakefield JG, Stephens DJ, Tavaré JM. A role for glycogen synthase kinase-3 in mitotic spindle dynamics and chromosome alignment[J]. J Cell Sci, 2003,116(Pt4):37-46
- [27] Guo W, Flanagan J, Jasuja R, et al. The effects of myostatin on adipogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells are mediated through cross-communication between Smad3 and Wnt/beta-catenin signaling pathways [J]. Biol Chem, 2008,283 (14):9136-9145
- [28] Dihlmann S, Klein S, Doeberitz MV, MK. Reduction of beta-catenin/T-cell transcription factor signaling by aspirin and indomethacin is caused by an increased stabilization of phosphorylated beta-catenin [J]. Mol Cancer Ther, 2003,2(6):509-516
- [29] Hawcroft G, D'Amico M, Albanese C, et al. Indomethacin induces differential expression of beta-catenin, GSK-3 β , and T-cell factor target genes in human colorectal cancer cells [J]. Carcinogenesis, 2002, 23(1): 107-114
- [30] Tuynman JB, Vennema L, Boon EM, et al. Cyclooxygenase-2 inhibition inhibits c-Met kinase activity and Wnt activity in colon cancer [J]. Cancer Res, 2008,68(1):1213-1220
- [31] Yun K, MSH, Lef1 regulates COX-2 transcription in chondrocytes[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 364 (2):270-275