

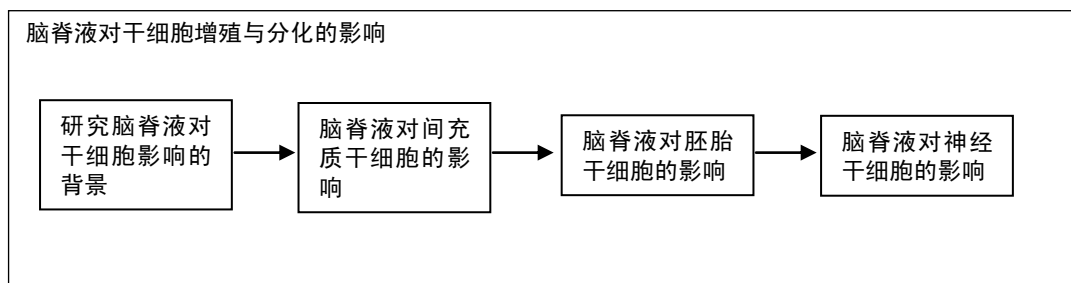
脑脊液促进间充质干细胞神经元样分化的特点

任超¹, 冀永强², 管丽娜³ (青岛大学附属烟台毓璜顶医院, ¹神经内科, ²肾内科, ³神经科重症监护室, 山东省烟台市 264000)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.1695

ORCID: 0000-0002-5418-3354(任超)

文章快速阅读:



任超, 男, 1986年生, 江苏省徐州市人, 汉族, 2017年徐州医学院硕士毕业, 主治医师, 主要从事神经变性疾病研究。

通讯作者: 管丽娜, 硕士, 主治医师, 青岛大学附属烟台毓璜顶医院神经科重症监护室, 山东省烟台市 264000

文献标识码:A
稿件接受: 2019-01-16



文题释义:

骨髓间充质干细胞的分化诱导: 骨髓间充质干细胞具有多向分化和增殖能力, 且免疫原性低, 易于获得、分离和培养, 研究者认为神经细胞生长过程中可分泌一些诱导骨髓间充质干细胞分化的物质, 其提供的微环境对骨髓间充质干细胞分化为神经元具有促进作用。

脑脊液的干细胞诱导功能: 脑脊液既可营养神经细胞, 又可成为一种有效、适宜的诱导剂为神经干细胞的获得增加新的途径。脑脊液中的因子通过细胞表面相应的受体可促进间充质干细胞向神经细胞增殖和分化, 提示间充质干细胞的分化具有组织特异性。

摘要

背景: 目前研究表明对内源神经干细胞进行调控, 或进行外源神经干细胞移植, 是治疗痴呆等神经系统疾病最新和最有可能的方法。其中外源其他组织来源干细胞向神经干细胞定向分化的成功, 为神经干细胞的来源增加了新途径。近年研究表明脑脊液既可营养神经细胞, 又可成为一种有效、适宜的诱导剂, 为神经干细胞的获得增加新的途径。

目的: 文章将对国内外脑脊液对干细胞影响的相关研究进行综述, 以为将来神经干细胞临床应用提供帮助。

方法: 以“Cerebrospinal fluid, Stem cells, Induced differentiation, Neural stem cells, Stem cell transplantation therapy”为英文关键词, 通过计算机检索 PubMed 数据库与 Embase 数据库; 以“脑脊液、干细胞、诱导分化、增殖、分化、神经干细胞、间充质干细胞、胚胎干细胞、银杏叶提取物、干细胞移植治疗、神经变性疾病”为中文关键词, 计算机检索 CNKI 数据库, 万方数据库, 维普数据库等科技期刊数据库; 检索时间为 1998-12-10 至 2018-12-10。对脑脊液对间充质干细胞、胚胎干细胞及神经干细胞等的影响进行总结分析, 为将来神经干细胞临床应用提供帮助。

结果与结论: ①“脑脊液-干细胞”相互作用是治疗神经系统疾病的希望; ②脑脊液也能促进间充质干细胞分化成为神经元样细胞; ③脑脊液能诱导人胚胎源干细胞分化为神经样细胞, 但所得不同类型细胞的比例不同; ④脑脊液能诱导内源性神经干细胞的增殖分化。

关键词:

脑脊液; 干细胞; 诱导分化; 增殖; 分化; 神经干细胞; 间充质干细胞; 胚胎干细胞; 银杏叶提取物; 干细胞移植治疗; 神经变性疾病

中图分类号: R459.9; R394.2

基金资助:

国家自然科学基金青年科学基金项目(81501185), 项目负责人: 任超; 山东省重点研发计划(公益类专项)项目(2017GSF218043), 项目负责人: 任超; 烟台市重点研发计划(2016WS017), 项目负责人: 管丽娜

Cerebrospinal fluid promotes neuron-like differentiation of mesenchymal stem cells

Ren Chao¹, Ji Yongqiang², Guan Lina³ (¹Department of Neurology, ²Department of Nephrology, ³Department of Neurology Intensive Care Unit, the Affiliated Yantai Yuhuangding Hospital of Qingdao University, Yanta 264000, Shandong Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Current research indicates that regulation of endogenous neural stem cells or transplantation of exogenous neural stem cells is the latest and most promising method for the treatment of neurological diseases such as dementia. The success of the differentiation of stem cells from other sources into neural stem cells has provided a new way for the source of neural stem cells. Recent studies have shown that cerebrospinal fluid cannot only nourish nerve cells, but also become an effective and suitable inducer to add new ways for the acquisition of

Ren Chao, Master, Attending physician, Department of Neurology, the Affiliated Yantai Yuhuangding Hospital of Qingdao University, Yanta 264000, Shandong Province, China

Corresponding author: Guan Lina, Master, Attending physician, Department of Neurology Intensive Care Unit, the Affiliated Yantai Yuhuangding Hospital of Qingdao University, Yanta 264000, Shandong Province, China

neural stem cells.

OBJECTIVE: To review the effects of cerebrospinal fluid on stem cells at home and abroad, in order to provide assistance for the clinical application of neural stem cells in the future.

METHODS: "Cerebrospinal fluid, stem cells, induced differentiation, neural stem cells, stem cell transplantation therapy" were used as English keywords to search the PubMed database and the Embase database by computer. "Cerebrospinal fluid, stem cells, induced differentiation, proliferation, differentiation, neural stem cells, mesenchymal stem cells, embryonic stem cells, ginkgo biloba extract, stem cell transplantation therapy, neurodegenerative diseases" were used as Chinese keywords to search CNKI database, WanFang database, VIP database and other scientific journal databases. The search time was from December 10th, 1998 to December 10th, 2018. The effects of cerebrospinal fluid on mesenchymal stem cells, embryonic stem cells, and neural stem cells were summarized and analyzed, providing assistance for the clinical use of neural stem cells in the future.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Interaction of cerebrospinal fluid and stem cells is the hope of treating nervous system diseases. (2) Cerebrospinal fluid can promote the differentiation of mesenchymal stem cells into neuron-like cells. (3) Cerebrospinal fluid can induce human embryonic stem cells to differentiate into neuron-like cells, but the proportion of different types of cells obtained is different. (4) Cerebrospinal fluid can induce the proliferation and differentiation of endogenous neural stem cells.

Key words: cerebrospinal fluid; stem cells; induced differentiation; proliferation; differentiation; neural stem cells; mesenchymal stem cells; embryonic stem cells; ginkgo biloba extract; stem cell transplantation therapy; neurodegenerative diseases

Funding: the National Natural Science Foundation of China (Youth Science Fund Project), No. 81501185 (to RC); Shandong Key Research and Development Program (Public Welfare Special Project), No. 2017GSF218043 (to RC); Yantai City Key Research and Development Plan, No. 2016WS017 (to GLN)

0 引言 Introduction

神经系统疾病尤其是神经系统变性疾病的临床治疗是十分困难的,很难治愈。为什么会出现这种局面?这是因为神经细胞一旦发生损伤及退行性变,便无法自行修复。那么神经系统疾病所引起的病灶神经功能丧失是否能够通过神经再生或者由邻近的神经取代其功能而实现临床治疗好转甚至治愈呢?答案是有可能的。

近年来的研究表明,神经系统疾病患者的神经系统损伤后具有一定的自我修复潜能^[1],已发现成体神经组织内仍然存在有可分裂增殖的神经干细胞。因此,对内源神经干细胞进行人工干预调控,促使其继续增殖和分化;或进行神经细胞移植,以促进中枢神经系统损伤的修复等,是目前治疗神经系统疾病的最新和最有可能的方法。

内源神经干细胞因位置特殊、数量有限而制约着其的临床应用。虽然胚胎源(含脐源)干细胞是良好的外源神经干细胞来源库,且在动物模型治疗方面有巨大进展,但由于生殖伦理问题使其临床应用一直被严格限制^[2-3]。美国前总统布什2001年曾颁布禁令,禁止联邦政府资助人类胚胎干细胞研究。近期潮流认为诱导性多能干细胞虽没有生殖伦理问题,但由于其是通过基因转染技术将某些转录因子导入动物或人的体细胞,使体细胞直接重构成胚胎干细胞样的多潜能细胞,故致癌风险较其他细胞高,且其技术要求高,操作繁琐,尚不适合临床推广应用。而骨髓源间充质干细胞多潜能性的发现和向神经细胞定向分化的成功,为神经干细胞的来源增加了新途径^[4]。

骨髓间充质干细胞定向分化为神经细胞的相关机制研究仍处于探索阶段,目前其诱导方法主要有:①细胞生长因子诱导法:表皮生长因子、基本成纤维细胞生长因子及神经生长因子等^[5];②化学制剂诱导法:β-巯基乙醇、二甲基亚砷、丁化羟基苯甲醚及3-叔丁基-羟

基茴香醚等^[6];③生长因子联合化学制剂诱导法:Woodbury等^[7]应用β-巯基乙醇、二甲基亚砷、基本成纤维细胞生长因子联合诱导以及Kögler等^[8]采用神经生长因子、基本成纤维细胞生长因子、双丁酰基环腺苷酸、异丁基甲基黄嘌呤、RA联合诱导骨髓间充质干细胞,在体外成功诱导骨髓间充质干细胞转化成神经元;④其他:创伤性脑组织匀浆^[9]、基因转染^[10]、传统中药^[11](如黄芩苷、丹参等)共培养或用接近生理状态的条件培养基等。

细胞因子因具有广泛的神经营养、抗自由基、减少钙超载、抑制一氧化氮合酶表达等作用,而成为当下较为常用的诱导剂。其中,表皮生长因子和碱性成纤维细胞生长因子是最为突出的代表,因为其不仅是促细胞生长作用很强的多肽因子,又是重要的致有丝分裂原,可通过细胞表面相应的受体促进骨髓间充质干细胞向神经细胞增殖和分化^[12]。但是这些毕竟都是外源性加入物质,存在一定风险,寻找和人体微环境接近,最好是人体自身的分泌物来作为诱导剂一直是干细胞研究者追寻的目标之一。

脑脊液作为生理状态下的自然培养基是最好的备选者^[13],含有多种电解质、蛋白质、糖及多种生长因子,如脑源性神经营养因子、胶质细胞源性神经营养因子等^[14]。这些脑脊液中的因子通过细胞表面相应的受体可促进间充质干细胞向神经细胞增殖和分化,提示间充质干细胞的定向分化具有组织特异性,即组织微环境可诱导其定向分化^[15],这表明脑脊液既可营养神经细胞,又可成为一种有效、适宜的诱导剂为神经干细胞的获得增加新的途径^[16],但也有个别研究认为脑脊液中含一些抑制成分会抑制相关原始干细胞向成熟的神经细胞分化^[17]。

文章将对国内外脑脊液对干细胞影响的相关研究进行综述,以期将来神经干细胞的临床应用提供参考。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 以“Cerebrospinal fluid, Stem cells, Induced differentiation, Neural stem cells, Stem cell transplantation therapy”为英文关键词, 通过计算机检索PubMed数据库与Embase数据库; 以“脑脊液、干细胞、诱导分化、增殖、分化、神经干细胞、间充质干细胞、胚胎干细胞、银杏叶提取物、干细胞移植治疗、神经变性疾病”为中文关键词, 计算机检索CNKI数据库, 万方数据库, 维普数据库等科技期刊数据库; 检索近20年文献, 截至时间为2018-12-10。

1.2 检索方法 入选标准: 脑脊液对干细胞分化、增殖等的影响的研究。排除标准: ①文献为回复信、会议摘要; ②国内外灰色文献及研究质量较低的文献; ③重复性研究。

1.3 文献质量评估 文章共检索获得文献286篇(中文文献74篇, 英文文献212篇), 经仔细筛查, 最终获得能纳入结果分析中使用的文献45篇(中文文献17篇, 英文文献28篇), 具体文献分布情况见表1。

表1 纳入结果分析的文献分布情况

脑脊液具体影响的干细胞种类	纳入参考文献数(英文文章数)	具体参考文献序号
间充质干细胞	24(15)	[4, 13, 18-39]
胚胎干细胞	10(6)	[40-49]
神经干细胞	11(7)	[16, 50-59]

2 结果 Results

2.1 脑脊液对间充质干细胞的影响 骨髓间充质干细胞具有多向分化和增殖能力, 且免疫原性低, 易于获得、分离和培养。颜连启等^[18]使用自体脑脊液诱导骨髓间充质干细胞, 培养四五天即可出现神经样细胞形态, 分化为神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞, 并表现相应的特征结构和生物学特性。有研究将骨髓间充质干细胞与神经细胞共培养, 尝试建立更加类似人体的微环境从而诱导骨髓间充质干细胞的分化, 培养1周后发现骨髓间充质干细胞形成突起, 细胞逐渐变为星状, 星状细胞数目逐渐增并互相形成连接, 具有神经样形态结构, 免疫荧光显示神经元特异性烯醇化酶阳性。而对照组骨髓间充质干细胞未形成神经样形态结构, 免疫荧光显示神经元特异性烯醇化酶呈阴性。

因此, 研究者认为神经细胞生长过程中可分泌一些诱导骨髓间充质干细胞分化的物质, 其提供的微环境对骨髓间充质干细胞分化为神经元具有促进作用。课题组的研究团队亦在既往研究中发现类似的结果^[4, 13, 19-26], 且发现脐源间充质干细胞有类似骨髓间充质干细胞的结果^[4, 13, 19-20, 24]。

Farivar等^[27]也证明脑脊液可以诱导脐源间充质干细胞分化为神经样细胞, 不过使用分化诱导的脑脊液浓

度不同、诱导分化获得神经细胞所需的天数略有不同。以上说明间充质干细胞可在脑脊液中生长, 并可维持其分化为神经细胞的潜能。沈忆新等^[28]认为间充质干细胞在脑脊液中和在一般培养液中具有相似的生长特性, 和课题组认为的一样: 间充质干细胞迅速生长的同时, 悬浮的各种血细胞减少, 提示造血干细胞的生长或分化受抑, 表明脑脊液培养液环境有助于间充质干细胞的生长而不利造血干细胞的生长, 该培养环境有助于从骨髓/脐血(脐带)中分离、培养间充质干细胞, 但要注意脑脊液培养、诱导方案的具体制定, 这是因为由于间充质干细胞具有多向分化潜能, 在不同的培养液中可分化为不同的组织细胞。

因此不同的培养目的需要有不同的培养成分, 但是具体机制目前探讨较少, 理论上推导认为: 间充质干细胞在脑内或脊髓内可诱导分化为神经细胞, 脑内或脊髓内的微环境为其的定向诱导分化提供了必要的条件, 具体条件仍不确定。而近期Zhu等^[29]研究发现脑脊液是通过胰岛素样生长因子1调节干细胞增殖和迁移的; 而Glage等^[30]却发现胰高血糖素样肽1可能是其中的重要调控因子。也有学者认为是脑脊液中的脉络丛细胞与间充质干细胞两种细胞之间直接相互作用的结果^[31-34], 亦或是两种细胞融合的结果, 甚至有学者提出脉络丛微生态信号是调节干细胞分化、迁移的重要因素^[35-36], 并有研究发现PRDM16可能是该信号通路上的重要调控因子^[36]。另外, 有学者发现肌萎缩侧索硬化患者脑脊液也能促进间充质干细胞分化成为神经样细胞^[37]。

脑脊液对间充质干细胞影响的研究不仅局限于诱导实验, 目前已经有将诱导后获得神经细胞用于治疗的相关研究^[4, 19, 21, 26, 38], 且提示一定的疗效。当然, 也有临床试验未取得预期效果, 如有研究将间充质细胞注入9例阿尔茨海默症患者的海马和楔前叶, 观察24个月, 患者认知状态未取得任何改善^[39]。

2.2 脑脊液对胚胎干细胞的影响 卞林等^[40]使用正常成人脑脊液能诱导人胚胎干细胞分化为神经样细胞, 如神经元、星形胶质细胞、少突胶质细胞, 但所得不同类型细胞的比例不同, 其中以胶质细胞比例较高, 认为这可能由于脑脊液中含有更多能使干细胞偏向于胶质细胞方向分化的因子有关。

陈新生等^[41]研究中, 血性脑脊液比正常脑脊液组神经干细胞分化为神经元的比例高, 能获得更多比例的胶质细胞, 这可能与脑损伤后脑脊液中促胶质细胞增生的成分增多有一定的关系。尹国才等^[42]在研究“人胎神经干细胞在发育期脑脊液中的迁移和分化”时发现在胚胎期, 处于不同发育阶段的胚胎干细胞分泌的信息物质差异大, 且脑屏障发育尚未完成, 处于开放状态, 因而其对脑脊液的分泌有影响, 而不同发育时期的脑脊液所承载的效应成分有差异, 并进一步证实胶质细胞的出现

可能与特定的脑脊液环境密切相关。和以上研究诱导获得胶质细胞为主不同,徐杰等^[43]在其专利中指出“先采用一定浓度的抗坏血酸诱导分化,后采用正常成人脑脊液进一步使胚胎中脑来源的干细胞向多巴胺能神经细胞方向分化,可以获得最高比例的多巴胺能神经元”。

Zappaterra等^[44]发现脑脊液的流体压力是促使胚胎干细胞分化、迁移的重要促发因素。而Martin等^[45]提出成纤维细胞生长因子2是脑脊液诱导胚胎干细胞分化的重要因子。Parada等^[46]通过基因分析证实了脑脊液中的因子对早期胚胎发育过程,尤其是神经细胞的分化、形成的有重要影响。Kiiski等^[47]发现健康人脑脊液促进人类胚胎干细胞分化为神经细胞并能促进其形成保留自发活动的神经网络,但Ma等^[48]的研究却认为成人脑脊液不支持胚胎干细胞的神经发生,也有研究表明脑脊液抑制胚胎干细胞分化成神经元但却可促进其分化为胶质细胞^[49],这可能和他们使用的胚胎干细胞和脑脊液来源不同所致。

2.3 脑脊液对神经干细胞的影响 李青^[50]研究发现脊髓损伤后通过改变脑脊液的成分会对脊髓内源性神经干细胞增殖和分化产生影响。刘国平^[51]通过对比研究发现:①神经干细胞在脑外伤血性脑脊液和脑积水清亮脑脊液中均能存活、增殖和分化;②神经干细胞在脑外伤血性脑脊液中贴壁分化的速度比在脑积水清亮脑脊液中要快,贴壁分化比例要高;③脑外伤血性脑脊液和脑积水清亮脑脊液对神经干细胞分化的种类上有差异。

神经干细胞在脑外伤血性脑脊液中倾向于向胶质细胞方向分化,在脑积水清亮脑脊液中倾向于向神经元方向分化。滕弘等^[52]发现脑缺血大鼠脑脊液可促进体外培养神经干细胞存活并且促进神经干细胞向神经元和星形胶质细胞分化。Nozaki等^[53]研究蛛网膜下腔出血患者的脑脊液发现含血脑脊液是激活并促进内源性神经干细胞增殖、分化的有效刺激物。Haines等^[54]发现多发性硬化患者的脑脊液可影响神经干细胞中的少突胶质细胞祖细胞的转录变化。以上说明病态下的脑脊液可能是患者启动自身内源性神经修复的一个重要因素^[55-56],但修复中脑脊液促进神经干细胞分化方向有一定差异^[57],多以胶质细胞为主^[16],少数可见神经元样细胞为主^[58]。

如何获得想要的目的细胞用于治疗,目前含药脑脊液^[59],尤其是中药脑脊液药理学的创立是目前的诱导内源性干细胞治疗神经系统疾病的研究热点,课题组团队正在开展此方面的探索(EGb761脑脊液药理学方法介导循环式干细胞移植治疗痴呆研究),并提出了脑脊液介导的“治疗与获取诱导剂”同步的循环式干细胞移植模式,见图1,这是将来临床值得推广的、可以“一箭双雕”的个体化干细胞移植治疗优选方案之一。

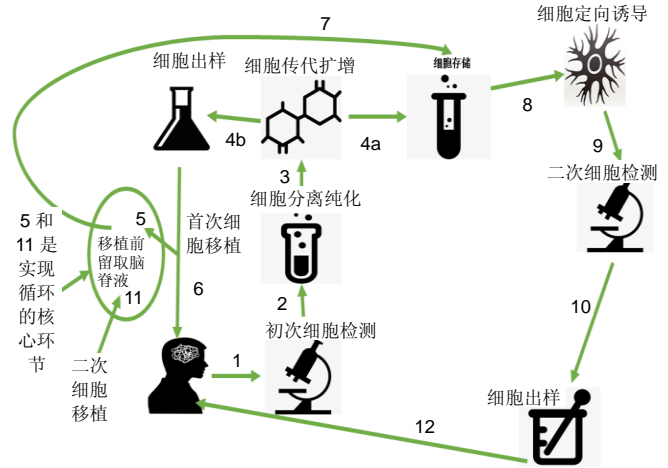


图1 脑脊液介导的“治疗与获取诱导剂”同步的循环式干细胞移植模式

3 问题与展望 Problems and prospects

目前越来越多的研究表明:“脑脊液-干细胞”相互作用是治疗神经系统疾病的希望^[17],这是因为脑脊液既为干细胞的生长提供了微环境^[14],其又可以作为干细胞分化的调节器^[60-61],并传导细胞信号促进自愈^[62-63]。但在缺少统一的和(或)优先的干细胞培养、鉴定方法及干细胞移植途径、移植条件及移植时间窗的规范和(或)指南情况下不免会出现一些负面报道和夸大宣传,出现了当下备受争议的“干细胞旅游”^[64]。正如诺贝尔奖获得者马丁·埃文斯爵士接受《生命时报》专访时所说:目前干细胞研究的重点就是把实验的成果应用于实际的临床治疗中。

结合既往经验^[4, 13, 19, 24],课题组提出:通过脑脊液循环移植途径实现“治疗与获取脑脊液”同步,打破了以往“诱导和治疗”泾渭分明的限制,并规避立体定向注射、手术注射、静脉输注等移植模式的局限,是一种较好的、临床可操作的个体化干细胞移植治疗模式。目前尚需要进一步研究去解决以下主要问题^[65]:①脑脊液中具体是何种物质在起促进干细胞的诱导分化作用?②脑脊液诱导分化获得目的细胞的比例,及如何提高此比例?③移植时究竟多少数量的干细胞合适?④如何控制干细胞植入神经系统以后的增殖、分化、迁移、致瘤等问题?⑤移植的适应证、途径及时机、治疗结果的评判标准都没有统一的规定等。

对此,课题组赞同负责责任的业内人士和专家的观点,鼓励大力开展基础及应用基础研究,科研性质的临床应用研究在部分有条件的医院可规范化开展。在相关研究不确切的情况下,暂不主张在临床上大规模推广应用,更不主张以盈利为目的、夸大其词的商业化宣传。

作者贡献:任超负责资料检索、文章设计撰写。冀永强负责资料收集。管丽娜负责文章核对和课题指导。

经费支持:该文章接受了“国家自然科学基金青年科学基金项目(81501185)”“山东省重点研发计划(公益类专项)项目

(2017GSF218043)”及“烟台市重点研发计划(2016WS017)”的资助。所有作者声明, 经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程, 没有因其岗位角色影响文章观点和对数据结果的报道, 不存在利益冲突。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审, 同行评议认为文章符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者和通讯作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其他任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] Kuhn HG, Svendsen CN. Origins functions and potential of adult neural stem cells. *Bioessays*. 1999;21(8):625-630.
- [2] Vogel G. Europe: dismay, confusion greet human stem cell patent ban. *Science*. 2011;334(6055):441-442.
- [3] Freedman MS, Uccelli A. Neurorepair with mesenchymal stem cells: hope or hype? *Lancet Neurol*. 2012;11(2):123-125.
- [4] Ren C, Geng RL, Ge W, et al. An observational study of autologous bone marrow-derived stem cells transplantation in 7 patients with nervous system diseases: a 2 year follow-up. *Cell Biochem Biophys*. 2014;69(1):179-187.
- [5] Low CB, Liou YC, Tang BL. Neural differentiation and potential use of stem cells from the human umbilical cord for central nervous system transplantation therapy. *J Neurosci Res*. 2008;86(8):1670-1679.
- [6] Kang XQ, Zang WJ, Bao L, et al. Differentiating characterization of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in vitro. *Cell Biol Int*. 2006;30(7):569-575.
- [7] Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, et al. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J Neurosci Res*. 2000;61(4):364-370.
- [8] Kögler G, Sensken S, Airey JA, et al. A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential. *J Exp Med*. 2004;200(2):123-135.
- [9] Yong-zhou S, Hui-xian C, Zhe L, et al. Effects of brain homogenate on the differentiation of rat bone mcsenchymal stem cells into neuron-like cells following traumatic brain injury[J]. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2008;12(3):461-464.
- [10] Lim JY, Park SI, Oh JH, et al. Brain-derived neurotrophic factor stimulates the neural differentiation of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells and survival of differentiated cells through MAPK/ERK and PIK/AKT-dependent signaling pathways. *J Neumsci Res*. 2008;86(10):2168-2178.
- [11] 贾延, 杨于嘉, 周燕, 等. 黄芩苷诱导大鼠骨髓基质细胞向神经细胞分化的研究[J]. *中华医学杂志*, 2002, 82(19):1337-1341.
- [12] Tureyen K, Vemuganti R, Bowen KK, et al. EGF and FGF-2 in fusion increases post-ischemic neural progenitor cell proliferation in the adult rat brain. *Neurosurgery*. 2005;57(6):1254-1263.
- [13] Ge W, Ren C, Duan X, et al. Differentiation of mesenchymal stem cells into neural stem cells using cerebrospinal fluid. *Cell Biochem Biophys*. 2015;71(1):449-455.
- [14] Illes S. More than a drainage fluid: the role of CSF in signaling in the brain and other effects on brain tissue. *Handbook Clin Neurol*. 2017;146:33-46.
- [15] Rivera FJ, Sierraha WD, Mingnell JJ, et al. Adult hippocampus derived soluble factors induce a neuronal-like phenotype in mesenchymal stem cells. *Neurosci Lett*. 2006;406(1-2):49-54.
- [16] Pandamooz S, Naji M, Alinezhad F, et al. The influence of cerebrospinal fluid on epidermal neural crest stem cells may pave the path for cell-based therapy. *Stem Cell Res Ther*. 2013;4(4):1-9.
- [17] Imitola J, Durvasula S. The Cerebrospinal fluid-stem cells interactions as target for regenerative therapy in neurological diseases. *Stem Cells Dev*. 2015;24(2):145-146.
- [18] 颜连启, 李小磊, 孙钰, 等. 自体脑脊液定向诱导骨髓间充质干细胞分化为神经干细胞[J]. *江苏医药*, 2013, 39(6):645-647.
- [19] 任超, 张才溢, 丁红梅, 等. 脑脊液诱导的间充质干细胞治疗神经变性疾病初步研究[J]. *中国急救复苏与灾害医学杂志*, 2015, 10(7):608-611.
- [20] 叶英, 万美荣, 戴如飞, 等. 脑脊液诱导人间充质干细胞定向分化为神经干细胞神经前体细胞的研究[J]. *国际麻醉学与复苏杂志*, 2009, 30(5):394-398.
- [21] 叶英, 谢熙, 刘筱, 等. 脑脊液诱导的骨髓源性神经样细胞移植的安全性研究[J]. *中国急救复苏与灾害医学杂志*, 2015, 10(6):521-525.
- [22] 冯婷婷, 叶英, 许铁. 脑脊液诱导的大鼠BMSC-Ns移植对脊髓损伤大鼠神经营养因子分泌的影响[J]. *中国急救复苏与灾害医学杂志*, 2015, 10(7):612-615.
- [23] Ye Y, Zeng YM, Wan MR, et al. Induction of human bone marrow mesenchymal stem cells differentiation into neural-like cells using cerebrospinal fluid. *Cell Biochem Biophys*. 2011;59(3):179-184.
- [24] Ren C, Liu X, Wan M, et al. A comparative study on inducing non-homologous mesenchymal stem cells to differentiate into neural stem cells using non-homologous cerebrospinal fluid. *J Biomed Eng*. 2013;30(6):1290-1297
- [25] 陈娟, 谢熙, 彭怡然, 等. 人脑脊液诱导大鼠骨髓间充质干细胞定向分化为神经样细胞研究[J]. *徐州医学院学报*, 2016, 36(4):254-257.
- [26] Ye Y, Peng Y, Hu S, et al. In vitro differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells into neuron-like cells by cerebrospinal fluid improves motor function of middle cerebral artery occlusion rats. *Front Neurol*. 2016;7(2):183.
- [27] Farivar S, Mohamadzade Z, Shiari R, et al. Neural differentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells by cerebrospinal fluid. *Iran J Child Neurol*. 2015;9(1):87-93.
- [28] 沈忆新, 王鹏, 石恩东. 脑脊液体外培养骨髓间充质干细胞[J]. *中国组织工程研究*, 2011, 15(36):6802-6806.
- [29] Zhu M, Feng Y, Dangelmajer S, et al. Human cerebrospinal fluid regulates proliferation and migration of stem cells through insulin-like growth factor 1. *Stem Cells Dev*. 2015;24(2):160-171.

- [30] Glage S, Klinge PM, Miller MC, et al. Therapeutic concentrations of glucagon-like peptide-1 in cerebrospinal fluid following cell-based delivery into the cerebral ventricles of cats. *Fluids Barriers CNS*. 2011;8(1):1-7.
- [31] 杨海云,顾锐,王文军,等.移植骨髓间充质干细胞后的脑脊液促进神经干细胞的分化[J].*中国实验诊断学*,2009,13(3):300-302.
- [32] Wu S, Suzuki Y, Ejiri Y, et al. Bone marrow stromal cells enhance differentiation of cocultured neurosphere cells and promote regeneration of injured spinal cord. *J Neurosci Res*. 2003;72(3):343-351.
- [33] Roballo KC, Gonçalves NJ, Pieri NC, et al. Regulation of neural stem cells by choroid plexus cells population. *Neurosci Lett*. 2016;626:35-41.
- [34] Moore SA. The spinal ependymal layer in health and disease. *Vet Pathol*. 2016;53(4):746-753.
- [35] Silva-Vargas V, Maldonado-Soto A, Mizrak D, et al. Age-dependent niche signals from the choroid plexus regulate adult neural stem cells. *Cell Stem Cell*. 2016;19(5):643-652.
- [36] Kazanis I, French-Constant C. The number of stem cells in the subependymal zone of the adult rodent brain is correlated with the number of ependymal cells and not with the volume of the niche. *Stem Cells Dev*. 2012;21(7):1090-1096.
- [37] 王云甫,杨超,孙延鹏,等.肌萎缩侧索硬化患者脑脊液对间充质干细胞增殖分化的影响[J].*卒中与神经疾病*,2012,19(6):328-331.
- [38] Kim DH, Lee D, Chang EH, et al. GDF-15 secreted from human umbilical cord blood mesenchymal stem cells delivered through the cerebrospinal fluid promotes hippocampal neurogenesis and synaptic activity in an Alzheimer's disease model. *Stem Cells Dev*. 2015;24(20):2378-2390.
- [39] Choi DH, Kim JH, Kim SM, et al., Therapeutic potential of induced neural stem cells for parkinson's disease. *Int J Mol Sci*. 2017;18(1):224.
- [40] 卞林,惠国桢,陆华,等.正常成人脑脊液诱导人胚来源的神经干细胞分化的实验研究[J].*实用临床医药杂志*,2003,7(3):202-204.
- [41] 陈新生,尹国才,郑爱芳,等.血性脑脊液对人胎脑神经干细胞影响的体外研究[J].*武汉大学学报(医学版)*,2011,32(4):480-483.
- [42] 尹国才,陈新生,郑爱芳,等.人胎脑神经干细胞在发育期脑脊液中的迁移和分化[J].*中国组织工程研究*,2010,14(1):24-27.
- [43] 徐杰,房文峰,朱爱华.人胚中脑来源的神经干细胞体外定向分化为多巴胺能神经元方法: CN103045538A[P].2013.
- [44] Zappaterra MW, Lamantia AS, Walsh CA, et al. Isolation of cerebrospinal fluid from rodent embryos for use with dissected cerebral cortical explants. *J Vis Exp*. 2013;(73):e50333.
- [45] Martin C, Bueno D, Alonso MI, et al. FGF2 plays a key role in embryonic cerebrospinal fluid trophic properties over chick embryo neuroepithelial stem cells. *Dev Biol*. 2006;297(2):402-416.
- [46] Parada C, Martin C, Alonso MI, et al. Embryonic cerebrospinal fluid collaborates with the isthmic organizer to regulate mesencephalic gene expression. *J Neurosci Res*. 2005;82(3):333-345.
- [47] Kiiski H, Äänismaa R, Tenhunen J, et al. Healthy human CSF promotes glial differentiation of hESC-derived neural cells while retaining spontaneous activity in existing neuronal networks. *Biol Open*. 2013;2(6):605-612.
- [48] Ma Y, Liu M, He B. Adult cerebrospinal fluid does not support neurogenesis from fetal rat neural stem cells. *Neuro Sci*. 2013;34(5):735-739.
- [49] Buddensiek J, Dressel A, Kowalski M, et al. Adult cerebrospinal fluid inhibits neurogenesis but facilitates gliogenesis from fetal rat neural stem cells. *J Neurosci Res*. 2009;87(14):3054-3066.
- [50] 李青.脑脊液对内源性神经干细胞增殖分化影响的实验研究[D].天津:天津医科大学,2012.
- [51] 刘国平.脑脊液对神经干细胞增殖分化影响的实验研究[D].湖南:中南大学,2007.
- [52] 滕弘,高丹宇,朱晓峰.脑缺血大鼠脑脊液对神经干细胞存活及分化的影响[J].*黑龙江医药科学*,2003,26(5):10-12.
- [53] Nozaki K, Boccalini P, Moskowitz M A. Expression of c-fos-like immunoreactivity in brainstem after meningeal irritation by blood in the subarachnoid space. *Neuroscience*. 1992;49(3):669-680.
- [54] Haines JD, Vidaurre OG, Zhang F, et al. Multiple sclerosis patient-derived CSF induces transcriptional changes in proliferating oligodendrocyte progenitors. *Mult Scler*. 2015;21(13):1655-1669.
- [55] Peirouvi T, Yekani F, Azarnia M, et al. High neuronal/astroglial differentiation plasticity of adult rat hippocampal neural stem/progenitor cells in response to the effects of embryonic and adult cerebrospinal fluids. *Iran J Vet Res*. 2015;16(1):83-89.
- [56] Delgado AC, Ferrón SR, Vicente D, et al. Endothelial NT-3 delivered by vasculature and CSF promotes quiescence of subependymal neural stem cells through nitric oxide induction. *Neuron*. 2014;83(3):572-585.
- [57] Cristofanilli M, Cymring B, Lu A, et al. Cerebrospinal fluid derived from progressive multiple sclerosis patients promotes neuronal and oligodendroglial differentiation of human neural precursor cells in vitro. *Neuroscience*. 2013;250(8):614-621.
- [58] Buddensiek J, Dressel A, Kowalski M, et al. Cerebrospinal fluid promotes survival and astroglial differentiation of adult human neural progenitor cells but inhibits proliferation and neuronal differentiation. *BMC Neurosci*. 2010;11(1):48.
- [59] 王凯,张琳琳,宋宛珊,等.从JAK2/STAT3信号通路探讨益肾化浊方含药脑脊液对神经干细胞增殖与分化的影响[J].*中华中医药杂志*,2016,31(5):1879-1882.
- [60] Lehtinen MK, Zappaterra MW, Chen X, et al. The cerebrospinal fluid provides a proliferative niche for neural progenitor cells. *Neuron*. 2011;69(5):893-905.
- [61] Alonso MI, Gato A. Cerebrospinal fluid and neural stem cell niche control. *Neural Regen Res*. 2018;13(9):1546-1547.
- [62] Zappaterra MW, Lehtinen MK. The cerebrospinal fluid: regulator of neurogenesis, behavior, and beyond. *Cell Mol Life Sci*. 2012;69(17):2863-2878.
- [63] Kim HJ, Seo SW, Chang JW, et al. Stereotactic brain injection of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells in patients with Alzheimer's disease dementia: a phase 1 clinical trial. *Alzheimers Dement (N Y)*. 2015;1(2):95-102.
- [64] Einsiedel EF, Adamson H. Stem cell tourism and future stem cell tourists: policy and ethical implications. *Dev World Bioeth*. 2012;12(1):35-44.
- [65] Grochowski C, Radzikowska E, Maciejewski R. Neural stem cell therapy-Brief review. *Clin Neurol Neurosurg*. 2018;173:8-14.