

论著·临床研究

干细胞移植治疗新生儿缺氧缺血性脑病 研究现状的可视化分析

李文星 唐军 邹蓉 曾燕 岳艳 邱霞 屈艺 母得志

(四川大学华西第二医院儿科 / 出生缺陷与相关妇儿疾病教育部重点实验室, 四川 成都 610041)

[摘要] **目的** 展现干细胞移植治疗在新生儿缺氧缺血性脑病(HIE)中的研究现状, 总结近些年该领域的研究热点。**方法** 以“stem cells(干细胞)”和“hypoxic-ischemic encephalopathy(缺氧缺血性脑病)”作为关键词, 在PubMed、EMBASE及Web of Science数据库检索2018年6月1日前发表的英文文献。利用Excel 2013进行关键词统计, 利用Bicomb 2.0及VOSviewer 1.6.6软件进行热点词聚类分析和绘制知识图谱。**结果** 共纳入文献106篇, 提取高频关键词43个。“细胞移植”和“缺氧缺血”在共现图中处于核心位置。聚类分析显示, 目前干细胞移植在治疗新生儿HIE的研究主要集中在以下4个方面:(1)脐血细胞移植(32.6%); (2)间充质干细胞、神经干细胞相关研究(29.5%); (3)围产期脑损伤(28.1%); (4)其他研究(9.8%)。**结论** 目前在新生儿HIE的干细胞移植治疗相关研究中, “脐血细胞移植”“间充质干细胞”“神经干细胞”“围产期脑损伤”作为不同研究层面和热点受学者关注。

[中国当代儿科杂志, 2018, 20(12): 1002-1007]

[关键词] 缺氧缺血性脑病; 干细胞移植; 共词分析; 知识图谱; 新生儿

A visualization analysis of current research on stem cell transplantation in the treatment of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy

LI Wen-Xing, TANG Jun, ZOU Rong, ZENG Yan, YUE Yan, QIU Xia, QU Yi, MU De-Zhi. Department of Pediatrics, West China Second University Hospital/Key Laboratory of Birth Defects and Related Diseases of Women and Children (Sichuan University), Ministry of Education, Chengdu 610041, China (Tang J, Email: tj1234753@sina.com)

Abstract: Objective To reveal the current research status on stem cell transplantation in the treatment of neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE), and to summarize the recent hotspots of the research in this field. **Methods** Using the key words of “stem cells” and “HIE”, a computerized search was performed for the articles in English published before June 1, 2018 in PubMed, EMBASE, and Web of Science. Microsoft Office Excel 2013 was used for the statistical analysis of key words. Bicomb 2.0 and VOSviewer 1.6.6 were used for the cluster analysis of hot words and plotting of knowledge maps, respectively. **Results** A total of 106 articles were included and 43 high-frequency key words were extracted. The words of “cell transplantation” and “hypoxia-ischemia” were in the core position of the co-word map. The cluster analysis showed that the studies of stem cell transplantation in the treatment of neonatal HIE mainly focused on umbilical cord blood cell transplantation (32.6%), mesenchymal stem cells and neural stem cells (29.5%), perinatal brain injury (28.1%), and other topics (9.8%). **Conclusions** In the current studies of stem cell transplantation in the treatment of neonatal HIE, umbilical cord blood cell transplantation, mesenchymal stem cells, neural stem cells, and perinatal brain injury are popular research topics at different levels.

[Chin J Contemp Pediatr, 2018, 20(12): 1002-1007]

Key words: Hypoxic-ischemic encephalopathy; Stem cell transplantation; Co-word analysis; Knowledge map; Neonate

[收稿日期] 2018-06-15; [接受日期] 2018-09-10

[基金项目] 国家自然科学基金(81300524, 81330016, 81630038); 国家科技部重大专项(2017YFA0104200); 四川省科技厅计划项目(2016TD0002); 国家临床重点专科(儿科新生儿专业)建设项目(1311200003303)。

[作者简介] 李文星, 男, 硕士研究生, 住院医师。

[通信作者] 唐军, 女, 主任医师, 教授。

缺氧缺血性脑病(hypoxic-ischemic encephalopathy, HIE)是导致新生儿神经功能障碍的主要原因,因其致残的儿童数量居高不下。亚低温是临床上目前明确有效的治疗方法,但其治疗窗窄,且只限于胎龄 ≥ 36 周的中至重度脑损伤的新生儿^[1],因此探索新的治疗方法十分必要。动物实验和临床试验表明干细胞移植治疗HIE具有神经保护、再生等优势^[2],在未来临床应用中极具潜力。

关键词是反映文献主题概念的自然语言词汇,精准反映文章主旨,是作者学术思想及观点的凝结。高频关键词常被用来确定一个领域研究的热点问题,高频关键词的共现聚类能够揭示该领域的重要研究主题,关键词知识图谱有利于确定该领域目前的研究结构和方向^[3]。共词分析是文献计量学和内容分析法中常用方法之一,用于分析某研究领域的结构与热点。它通过分析高频关键词之间的共现关系来客观反映研究热点之间的内在联系,将具有一定语义联系的词汇聚集起来形成类团,将抽象的关系可视化,发掘出关键词之间的关系,进而揭示学科的发展动态,确立此研究领域的热点。

本研究希望应用共现聚类的分析方法,对近年干细胞移植在治疗新生儿HIE中的应用情况及科研主题进行调查梳理,找出其发展趋势及研究热点,为研究该领域的科研人员和临床医生提供参考信息。

1 资料与方法

1.1 资料来源

以“HIE”与“stem cells(干细胞)”为关键词,在PubMed、EMBASE及Web of Science数据库进行文献检索,限定文献语言为英文,发表日期为2018年6月1日前,不限制起始时间。共检索得到英文文献346篇。纳入该期间内于公开刊物发表的、研究主题包含“HIE”与“stem cells”的文献(包括综述)。剔除与研究主题不符、会议记录、摘要及未报道关键词的文献。两名作者按此标准分别进行文献筛选工作,最终获得与干细胞移植治疗HIE相关的全部文献172篇,对其中报道了关键词的文献106篇进行共词分析。

1.2 研究工具和方法

仔细阅读文献摘要,将关键词进行数据清洗(拆分、合并同义词等)。使用Microsoft Office Excel 2013录入文献中的关键词并整理,利用数据透视功能统计所有关键词的频数。根据Donohu高频低频词界分公式计算词频阈值,并结合词频的实际情况和以往知识背景对其进行适当调整,对关键词进行热点识别^[4]。利用Bicomb 2.0软件对所得高频词汇导入进行二维数据分析构建共现矩阵,随后使用VOSviewer 1.6.6软件绘制知识图谱^[5]。得到的共现分析图有以下特点:中心位置的关键词在整个领域中处于核心地位;节点越大提示词频越高;不同颜色代表不同类别的关键词,某点颜色越深表示该词在此类别中所占比重越大,颜色相近的高频关键词之间距离越近、连线越粗则代表它们关系越紧密^[6]。

2 结果

2.1 干细胞移植治疗HIE相关研究分布特征

共纳入主题为干细胞移植治疗HIE的英文文献共172篇。整体上看,相关研究文献发表量在趋势上呈上升状态,2010年为该领域文献发表的第一个高峰,2015年发表数量最多,见图1。

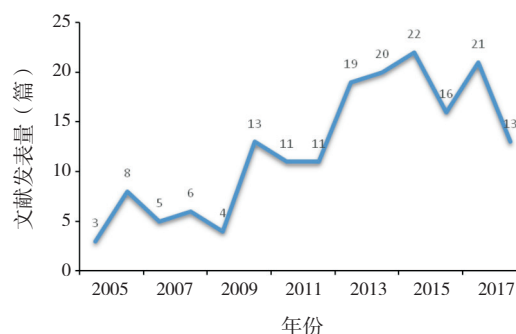


图1 干细胞移植治疗HIE研究文献的年代分布

通过对文献发表机构的国家或地区分析可见,发达国家占绝大多数,美国在此方向发表的研究最多,占文献总量的26.2%(45/172)。中国紧随其后,位列第二(23.3%, 40/172);日本第三(12.2%, 21/172);韩国、荷兰并列第四(8.7%, 15/172)。图2所示为文献发表量排名前10的国家。

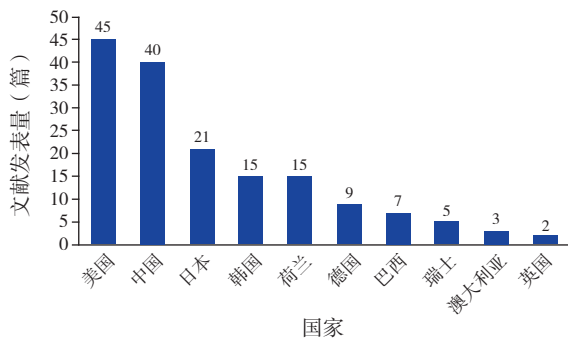


图2 干细胞移植治疗HIE文献发表量排名前10的国家

2.2 干细胞移植治疗HIE相关研究中的高频关键词选取

共纳入报道了关键词的文献106篇进行关键词提取及高频关键词的选取。由数据透视结果可知,关键词总数为234个,共计出现频次为578次。根据Donohue高频低频词界分公式^[4,7],经计算可得高频词阈值 $T=17.5$,即词频 ≥ 18 者为高频关键词。在此阈值下,高频词共6个,分别为:“stem cells (干细胞)”“hypoxia-ischemia (缺氧-缺血)”“cell transplantation (细胞移植)”“mesenchymal stem cells (间充质干细胞)”“hypoxic-ischemic encephalopathy (缺氧缺血性脑病)”“neonate (新生儿)”。但这6个关键词数目过少,不能完全体现该领域研究的全貌,故根据实际情况对高频词界定阈值进行适当调整^[8],最终取词频 ≥ 3 的关键词为高频关键词,共43个,所有高频关键词频次总和为359次(表1)。

2.3 干细胞移植治疗HIE相关文献中高频词共现关系及聚类分析

通过VOSviewer对上述热点词汇进行聚类分析,获得高频词共现关系网路,描绘了不同关键词的共篇关系,见图3。“细胞移植”和“缺氧缺血”在图中处于核心位置。根据图中关键词节点颜色的不同,显示存在5种聚类关系,结合学科的实际情况,大致可归纳为以下4类研究方向:

(1) 脐血细胞移植(32.6%); (2) 间充质干细胞、神经干细胞相关研究(29.5%); (3) 围产期脑损伤(28.1%); (4) 其他研究(9.8%), 见表2。每一类研究方向可展现不同的研究层面,在“脐血细胞移植”中,“脑瘫”(2.8%)、“脐血细胞”(2.5%)、“移植”(1.9%)、“脑白质损伤”(1.1%)、“治疗”(0.8%)出现频率

较高,在聚类图中关系密切,作为研究热点受关注;其次在间充质干细胞、神经干细胞相关研究中,“间充质干细胞”(6.1%)、“神经干细胞”(4.7%)、“神经再生”(3.1%)、“大鼠”(2.2%)、“亚低温”(1.7%)出现频率较高,彼此共现关系密切,作为研究热点被广泛关注。图中以关键词节点颜色为紫色、黄色呈现出的共篇关系,关键词多位于共现网络边缘,且词频占比较小,不能展现具体的研究方向,因此将其归类为其他研究。

表1 入选高频关键词词频分布

关键词	词频	百分比(%)
干细胞	29	8.1
缺氧缺血	26	7.2
细胞移植	25	7.0
缺氧缺血性脑病	23	6.4
间充质干细胞	22	6.1
新生儿	22	6.1
神经干细胞	17	4.7
神经再生	11	3.1
脑损伤	11	3.1
脑瘫	10	2.8
脐血细胞	9	2.5
大鼠	8	2.2
神经保护	8	2.2
新生儿缺氧缺血	8	2.2
早产	8	2.2
支气管肺发育不良	7	1.9
缺氧缺血性脑损伤	7	1.9
移植	7	1.9
神经发生	7	1.9
亚低温	6	1.7
炎症	6	1.7
围产期脑损伤	5	1.4
干细胞移植	5	1.4
卒中	5	1.4
分化	5	1.4
窒息	5	1.4
少突胶质细胞	4	1.1
星形胶质细胞	4	1.1
脐血	4	1.1
脑白质损伤	4	1.1
再生疗法	4	1.1
再生	4	1.1
胚胎干细胞	3	0.8
缺血	3	0.8
围产期	3	0.8
脑修复	3	0.8
脑	3	0.8
小鼠	3	0.8
治疗	3	0.8
迁徙	3	0.8
血管再生	3	0.8
氧化应激	3	0.8
细胞凋亡	3	0.8
合计	359	100

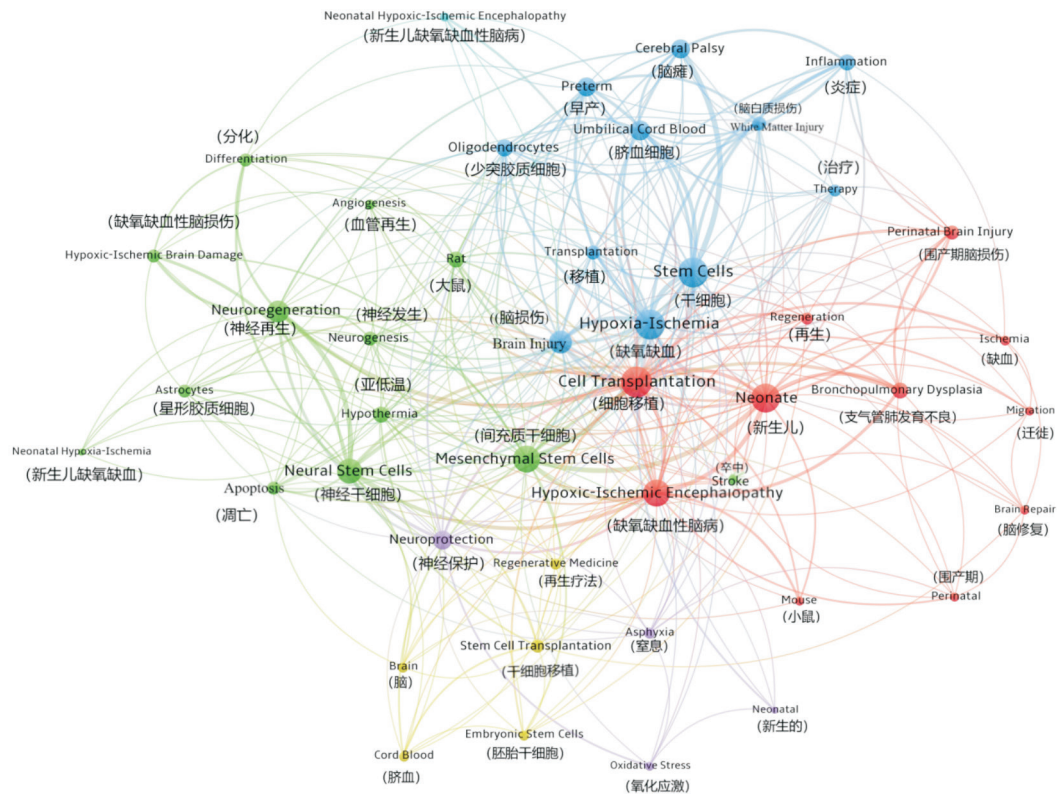


图 3 入选关键词共现网络及聚类分析图 “细胞移植”和“缺氧缺血”在图中处于核心位置。根据关键词节点颜色的不同，显示存在 5 种聚类关系，结合学科的实际情况，可归纳为以下 4 类研究方向：（1）脐血细胞移植（蓝色）；（2）间充质干细胞、神经干细胞相关研究（绿色）；（3）围产期脑损伤（红色）；（4）其他（紫色、黄色）。

表 2 入选关键词聚类结果及词频比重 [n (%)]

类别	关键词	词频合计
脐血细胞移植	缺氧缺血；干细胞；脑损伤；移植；脐血细胞；少突胶质细胞；早产；脑瘫；炎症；治疗；脑白质损伤	117(32.6)
间充质干细胞、神经干细胞相关研究	间充质干细胞；神经干细胞；亚低温；大鼠；神经发生；血管再生；神经再生；星形胶质细胞；细胞凋亡；缺氧缺血性脑损伤；新生儿缺氧缺血；卒中；分化	106(29.5)
围产期脑损伤	细胞移植；新生儿；缺氧缺血性脑病；再生；支气管肺发育不良；小鼠；围产期；脑修复；围产期脑损伤；缺血；迁徙	101(28.1)
其他	再生疗法；胚胎干细胞；脐血；干细胞移植；脑；神经保护；窒息；氧化应激	35(9.8)
合计		359(100)

3 讨论

本研究显示，从 2005 年开始关于干细胞治疗新生儿 HIE 的相关文献发表量逐年增加，其中以美国、中国的文献发表数量最多。目前干细胞治疗新生儿 HIE 的研究主要集中在以下 4 个方面：（1）脐血细胞移植（32.6%）；（2）间充质干细胞、神经干细胞相关研究（29.5%）；（3）围产期脑损伤（28.1%）；（4）其他研究（9.8%）。

其中以脐血细胞移植和间充质干细胞、神经干细胞相关研究关注度最高。通过将高频关键词进行聚类分析较好地展现了目前干细胞治疗新生儿 HIE 临床治疗和动物试验相关研究中的热点分布。“脑瘫”（2.8%）、“脐血细胞”（2.5%）、“移植”（1.9%）、“脑白质损伤”（1.1%）、“治疗”（0.8%）在脐血细胞移植相关研究中出现频率较高，彼此共现关系密切，作为研究热点受关注；其次“间充质干细胞”（6.1%）、“神经干细胞”（4.7%）、“神

经再生”(3.1%)、“大鼠”(2.2%)、“亚低温”(1.7%)出现频率较高,聚类关系密切,在间充质干细胞、神经干细胞相关研究中作为研究热点受关注。

围产期缺氧缺血所致的新生儿脑病仍然是新生儿死亡和长期神经功能缺陷的重要原因,如脑瘫、智力低下、癫痫发作等,如何更有效地治疗新生儿脑损伤一直是临床医师所关注的焦点。干细胞移植在神经再生和神经保护方面具有优势,能降低围产期脑损伤病死率和减少慢性神经系统损伤。在干细胞临床治疗新生儿HIE中,“脐血细胞”(2.5%)是研究热点之一。脐血细胞具有来源丰富、容易提取、免疫原性低、不涉及伦理问题等多种优点,作为目前临床治疗新生儿HIE的主要干细胞类型具有广泛的应用前景。Cotten等^[9]开展的相关临床试验显示,从收集、准备、输注多个环节阐述自体脐血细胞输注治疗新生儿HIE是可行的,与常规治疗相比接受脐血细胞自体输注的患儿存活率明显提高,且1岁时的Bayley评分大于85分,其安全性和有效性得到证实。但由于缺乏随机双盲及多中心临床试验,脐血细胞移植治疗新生儿HIE在输注方式、输注剂量、治疗时间窗等问题上仍存在争议,需进一步完善多中心临床对照研究来制定标准化的治疗方案。

本研究显示,“间充质干细胞”“神经干细胞”“神经再生”“大鼠”“亚低温”这些关键词出现频率较高,彼此关系密切,反映该领域动物实验研究的热点。其中“间充质干细胞”出现次数占高频关键词总数的6.1%,占比最高。间充质干细胞因其取材容易、低免疫源性和潜在神经再生属性等优势备受学者关注。有研究发现,缺氧缺血后小鼠间充质干细胞移植治疗组海马受损区星形胶质细胞比例增加,小胶质细胞比例下降,病灶体积减小,神经运动行为均有明显改善^[10]。动物实验证实间充质干细胞移植治疗是一种刺激内源性修复改善新生儿脑损伤的有效方法,具有神经再生、神经发生、血管再生等属性^[11-12]。Archambault等^[13]对19项间充质干细胞治疗HIE的临床前研究进行了系统分析,结果显示间充质干细胞移植治疗可显著改善HIE实验动物已受损的感觉运动和神经认知功能。本研究还显示,“神经干细胞”(4.7%)移植治疗新生儿脑损伤也是学者所关注的一个焦点。随着神经干细胞在体外分离

培养和增殖的成功,外源性神经干细胞移植成为治疗脑损伤的新方法。易娟等^[14]总结神经干细胞移植在修复HIE中可能具有神经再生、神经保护作用,可减轻HIE患儿神经元死亡,改善神经功能障碍。有研究表明,神经干细胞移植可能成为恢复脑损伤认知障碍长期有效的治疗手段^[15]。

“亚低温”占高频关键词总数的1.7%,与“间充质干细胞”“神经干细胞”“神经再生”这些关键词密切相关,显示亚低温联合干细胞移植治疗HIE是目前学者关注的另一个焦点。亚低温治疗新生儿HIE已取得了良好的疗效,但其治疗时间窗较窄,仅为6h,只有40%~50%接受治疗的患儿学龄期的神经认知功能得到明显改善^[16-17]。因此,急需制定一个更长治疗窗口的方法策略。动物试验提示,与单独治疗相比,亚低温联合脐血间充质干细胞移植治疗能协同减小重度HIE大鼠模型脑梗死灶体积,更好地改善其行为学实验结果,也拓宽了治疗时间窗^[18-19]。目前上述热点研究大多处于动物实验阶段,有望向临床应用过渡和转化。

新生儿HIE是围产期窒息、缺血引起的常见疾病。针对脑神经发育来说,在此时期神经元快速增殖和持续发育,既有易损性,又存在极强的可塑性,早期干细胞移植治疗的效果较成人具有先天优势。并且新生儿时期免疫调节不成熟,排斥反应较小,干细胞可取材于脐带,来源广泛。从已开展的动物实验来看,干细胞移植对围产期脑损伤具有再生、脑修复作用。高频关键词统计结果显示,特征性词汇较多,缺乏诸如代表分子信号通路、作用靶点的关键词,间接说明干细胞移植在治疗新生儿HIE方面仍需进一步深入研究,揭示其潜在作用机制。

本研究也存在不足之处,如初筛的文献数量偏少,已发表的文献存在一定滞后性,不能完全体现正在进行的研究课题。可能由于个人理解差异,造成部分关键词的规范偏差,但大多数的关键词都是基于作者在文章中报道的关键词,因此对高频共词的整体结构不会产生较大影响。另外,本研究仅纳入了该领域发表的英文文献,针对国内该方向的研究,在中国知网数据库检索和统计分析时得到中文文献60篇,但其关键词多为特征性词汇,如“新生儿”“缺氧缺血性脑病”“干

细胞”等,并不能完全反映文章的研究内容,故未对中文文献作进一步统计分析。

综上,本研究采用文献计量学方法对国际上干细胞移植治疗新生儿HIE研究文献从外部特征和内部特征进行可视化分析,初步揭示了该领域的研究主题和前沿。高频关键词及聚类分析结果显示该主题研究以脐血细胞移植、间充质干细胞、神经干细胞、亚低温等关键词作为研究热点。干细胞移植治疗新生儿HIE具有较好的应用前景,在广泛投入临床治疗之前仍有较多问题以待解决,既需完善动物试验进一步明确作用机制,又需进行多中心、大规模的前瞻性临床研究。本文通过对干细胞移植治疗新生儿HIE有关文献的关键词进行统计分析,展现了该主题研究的网络架构,并对相关知识进行了梳理,希望有助于相关科研和临床工作者开阔思路。

【参 考 文 献】

- [1] Donega V, Nijboer CH, van Velthoven CT, et al. Assessment of long-term safety and efficacy of intranasal mesenchymal stem cell treatment for neonatal brain injury in the mouse[J]. *Pediatr Res*, 2015, 78(5): 520-526.
- [2] Chicha L, Smith T, Guzman R. Stem cells for brain repair in neonatal hypoxia-ischemia[J]. *Childs Nerv Syst*, 2014, 30(1): 37-46.
- [3] 李纲, 巴志超. 共词分析过程中的若干问题研究[J]. *中国图书馆学报*, 2017, 43(4): 93-113.
- [4] 储节旺, 郭春侠. 共词分析法的基本原理及 EXCEL 实现[J]. *情报科学*, 2011, 29(6): 931-934.
- [5] 周晓分, 黄国彬, 白雅楠. 科学计量可视化软件的对比与数据预处理研究[J]. *图书情报工作*, 2013, 57(23): 64-72.
- [6] van Eck NJ, Waltman L. Software survey: VOSviewer, a computer program for bibliometric mapping[J]. *Scientometrics*, 2010, 84(2): 523-538.
- [7] 李深情, 陈思达, 钱丽欢, 等. 我国高等医学教育慕课研究热点的共词聚类分析[J]. *中华医学教育探索杂志*, 2016, 15(1): 62-67.
- [8] 安兴茹. 基于正态分布的词频分析法高频词阈值研究[J]. *情报杂志*, 2014, 33(10): 129-136.
- [9] Cotten CM, Murtha AP, Goldberg RN, et al. Feasibility of autologous cord blood cells for infants with hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *J Pediatr*, 2014, 164(5): 973-979. e1.
- [10] van Velthoven CT, Kavelaars A, van Bel F, et al. Mesenchymal stem cell treatment after neonatal hypoxic-ischemic brain injury improves behavioral outcome and induces neuronal and oligodendrocyte regeneration[J]. *Brain Behav Immun*, 2010, 24(3): 387-393.
- [11] Pimentelcoelho PM, Mendezotero R. Cell therapy for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *Stem Cells Dev*, 2010, 19(3): 299-310.
- [12] Xie B, Ping G, Wang W, et al. Therapeutic effects of human umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation on hypoxic ischemic encephalopathy[J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(7): 3241-3250.
- [13] Archambault J, Moreira A, McDaniel D, et al. Therapeutic potential of mesenchymal stromal cells for hypoxic ischemic encephalopathy: a systematic review and meta-analysis of preclinical studies[J]. *PLoS One*, 2017, 12(12): e0189895.
- [14] 易娟, 李贵南. 神经干细胞移植治疗新生儿脑损伤的前景展望[J]. *中华新生儿科杂志*, 2017, 32(5): 398-400.
- [15] Haus DL, Lópezvelázquez L, Gold EM, et al. Transplantation of human neural stem cells restores cognition in an immunodeficient rodent model of traumatic brain injury[J]. *Exp Neurol*, 2016, 281: 1-16.
- [16] Azzopardi D, Strohm B, Marlow N, et al. Effects of hypothermia for perinatal asphyxia on childhood outcomes[J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(2): 140-149.
- [17] Edwards AD, Brocklehurst P, Gunn AJ, et al. Neurological outcomes at 18 months of age after moderate hypothermia for perinatal hypoxic ischaemic encephalopathy: synthesis and meta-analysis of trial data[J]. *BMJ*, 2010, 340: c363.
- [18] Ahn SY, Chang YS, Sung DK, et al. Hypothermia broadens the therapeutic time window of mesenchymal stem cell transplantation for severe neonatal hypoxic ischemic encephalopathy [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 7665.
- [19] Park WS, Sung SI, Ahn SY, et al. Hypothermia augments neuroprotective activity of mesenchymal stem cells for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0120893.

(本文编辑: 邓芳明)