

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2014.05.026

神经干细胞治疗退行性神经系统疾病研究进展

刘冰 综述 管英俊 审校

(潍坊医学院基础医学院, 山东 潍坊 261053)

关键词 神经干细胞; 神经退行性疾病; bHLH 信号通路**中图分类号**: R741.05 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-9760(2014)10-376-03

在治疗神经退行性疾病中,最关键的问题在于疾病对于神经的伤害是不可逆的,因为大脑和脊髓的神经元不能再生^[1]。鉴于神经退行性疾病通常是由于神经细胞的消亡,神经干细胞(neural stem cell, NSC)移植成为治疗神经退行性疾病的希望^[2]。NSC移植的主要目的是通过其再生能力和定向分化能力,取代缺失的细胞和组织^[3],一些信号通路如碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)^[4]等已被证明可以诱导 NSC 的定向分化。用 NSC 当作中枢神经系统移植的细胞源有很多益处:可以获得大量且均一的细胞,增殖速度和分化方向可控(bHLH 信号通路可调节),容易与宿主细胞形成正常细胞关联等^[5]。已经有研究证实在帕金森病(Parkinson's disease, PD)、阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)和肌萎缩性脊髓侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)的动物模型中移植 NSC 的有利影响。

1 神经干细胞移植治疗 PD

PD 是一种常见的神经系统变性疾病,我国 65 岁以上人群 PD 的患病率大约是 1.7%。大部分 PD 患者为散发病例,仅有不到 10% 的患者有家族史。其临床表现主要包括静止性震颤、运动迟缓、肌强直和姿势步态障碍,同时患者可伴有抑郁、便秘和睡眠障碍等非运动症状^[6]。治疗 PD 的一线药物是多巴胺前体 1-3,4 二羟(左旋多巴)等,然而,副作用也会随着其长期使用逐渐显现,包括运动障碍和精神症状^[7]。

目前的治疗方法只能缓解症状,还没有一个有效的方法可以治愈 PD。多巴胺可以缓解 PD 的症状启示我们,多巴胺神经元的替换可能会为治愈疾病提供帮助。PD 患者的人胎脑组织移植临床试验开始于 1987 年,移植后,其在患者脑内分裂出了多巴胺神经元,显示出可喜的结果^[8]。然而,在这

些早期研究中也出现了不少问题,如移植的位置,剂量和排异反应等,而且每移植一名患者需要提供 4 个胎儿,显然在临床上这是一个不可实现的方法。但是这些研究为寻找一个伦理学上可以接受的且取之不尽的细胞源头打下了基础^[9]。作为一种替代方法,NSC 已经被证明可以分化成各种神经元,包括多巴胺神经元。NSC 移植治疗 PD 的机制有:分化为新的多巴胺能神经元,保护和营养多巴胺能神经元以及增加内源性多巴胺的生成。试验证明,在 PD 动物模型中进行体外培养的 NSC 移植后,PD 模型动物的运动能力得到较好的恢复,这说明 NSC 重新生成了有功能的神经连接。王家增等将带有绿色荧光蛋白的 NSC 移植到 PD 模型大鼠的纹状体内,发现移植的细胞可分化出 TH 阳性细胞,大鼠脑内多巴胺含量增加明显,其旋转行为也有明显改善^[10]。在临床研究中,首例人类 NSC 移植治疗 PD 的试验在瑞典进行,在为 12 位患者移植 NSC 后一个月,有明显改善的患者占 41.6%。陈涛等将原代培养的 NSC 注入 12 例确诊的 PD 病人的尾状核头中,移植后 3 个月临床症状改善率为 75%,术后 6 个月改善率为 83.3%。说明体外培养的 NSC 可以有效治疗 PD,但远期疗效还需要进一步观察^[11]。

2 神经干细胞移植治疗 AD

AD 又名老年性痴呆,是一种中枢神经系统变性疾病,起病隐匿,慢性进行。主要表现为渐进性记忆障碍、认知功能障碍、人格改变及语言障碍等神经精神症状^[12-13]。AD 的病因及发病机制尚未阐明,特征性病理改变为 β -淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β)沉积形成的细胞外老年斑和 tau 蛋白过度磷酸化形成的神经细胞内神经原纤维缠结,以及神经元丢失伴胶质细胞增生等^[14]。

AD 的主要治疗药物是乙酰胆碱酯酶抑制剂,

然而其只能暂时增强胆碱能神经的功能,而不能完全治愈疾病。传统概念里,NSC 移植只适用于局部性的神经系统病变,所以 NSC 治疗 PD 的研究更多,然而 NSC 表现出的高迁移能力,为治疗 AD 这种弥散性的脑损伤提供了新的视野^[15]。Tate 等研究发现在大鼠脑内注射人 A β 会在大鼠脑内产生炎症反应,注射在侧脑室的 NSC 可以迁移到 A β 沉积区。这表明 NSC 能够识别并追踪 A β 损伤区,其治疗 AD 等大片脑神经损伤的神经退行性病变中可以起到携带治疗性分子的作用^[16]。Qu 等发现,将体外培养的人类 NSC 注入患 AD 模型大鼠的侧脑室,几周后在 Morris 水迷宫实验中,其认知能力明显好于没有注射的对照组。这证明了外源性 NSC 改进了 PD 模型大鼠的认知能力^[17]。国内学者使用体外培养的 NSC 和脑源性神经营养因子联合治疗 AD 模型大鼠,发现能够改善大鼠学习记忆能力,还发现其海马胆碱能纤维再生^[18]。

3 神经干细胞移植治疗 ALS

ALS 又称渐冻人症,是一种进行性运动神经元病。上、下运动神经元均可累及,临床上表现为上、下运动神经元合并受损的混合性瘫痪。其病因尚不明确,可能与遗传、自体免疫、病毒的侵犯等有关^[19]。

利鲁唑是当前唯一可用于治疗本病的药物,但其作用只能是缓解疾病进展,不能治愈。其他基因疗法,酶疗法等已被证明无效^[20],人们迫切需要对于本病的新疗法。在动物试验中,人类胚胎 NSC 移植已经被证明在治疗本病中有良好的前景^[21]。Hefferan 等发现人类胚胎 NSC 能在 ALS 模型鼠的脊髓中迁移到受损的部分,分化成运动神经元,并可生成神经肌肉接头,同时模型动物的部分运动功能得到恢复^[22]。2002 年, Wu 等将 NSC 通过第四脑室注入脑脊液治疗脊髓损伤模型,发现在脑脊液的转运下,NSC 在脊髓软脑膜上呈簇生长,迁移到损伤部位并整合入脊髓组织中,分化成为胶质细胞和神经元^[23]。梁豪文等研究发现,给 11 位 ALS 病人应用腰椎穿刺脊髓蛛网膜下腔或静脉注射等方法移植脐血来源的 NSC 后,病人的功能独立性得到一定恢复,FIM 评分升高^[24]。

在 NSC 移植治疗神经退行性疾病中,想要使其分化增殖并取代受损的神经元有以下几个问题需要解决:1)要诱导 NCS 定向分化为需要的神经元;2)要保证 NSC 有足够的分裂能力;3)使新生的

神经元能与对应的肌细胞建立起突触联系;4)新生的神经元要能整合到原有的神经环路。研究表明,bHLH 转录因子家族参与了中枢神经系统中 NSC 的分化和增殖。根据其作用可分为激活型和抑制性,前者包括 Mash-1, Math-1 和 NeuroD 等,可诱导 NSC 向神经元分化;后者包括 Hes1、Hes5 等,可使神经元处于增殖状态,抑制其分化。因此,研究 bHLH 转录因子家族,对控制 NSC 的分化方向和增强其增殖能力具有重要意义^[25]。

Mash-1 是哺乳动物神经分化发育的早期关键基因,在 NSC 发育成神经元的过程中起到重要作用。近年来,通过基因敲除技术的应用也证明了 Mash-1 在神经分化发育中的重要作用。敲除 Mash-1 的小鼠端脑萎缩,神经分化不良,NSC 能分化为神经前体细胞,但不能生成成熟神经元,表明 Mash-1 具有促进神经元的分化作用。研究表明,Mash-1 在小鼠胚胎发育的早期表达,并调控自主神经,嗅神经和视网膜等的神经元分化。Mash-1 基因及其蛋白水平的高低决定了 NSC 分化为神经元和神经胶质细胞的多少。NSC 的 Mash-1 基因表达后,Mash-1 转录因子会启动一些相关基因的表达,产生许多神经元和某些特殊亚型的神经元^[26]。王剑博等发现 Hes1 与 Hes5 高表达于 NSC 中,在敲除掉 Hes1 和 Hes5 的小鼠中,大部分胶质细胞提前分化成神经元。表明 Hes1 和 Hes5 对于维持 NSC 的数量具有重要作用^[27]。研究证明,Hes1 只在 NSC 中表达,它可抑制 Mash-1 的活性与表达,增加 NSC 中 Hes1 的表达将抑制 NSC 分化为神经元。在 NSC 的定向分化中,激活型和抑制型 bHLH 转录因子之间保持的某种动态平衡发挥着重要的作用,通过改变 bHLH 转录因子的表达有可能实现对 NSC 定向分化的调控。

4 结语

目前,虽然在 NSC 移植治疗神经退行性疾病方面的研究取得了较大突破,但是还处于早期阶段,有许多问题还亟待解决。如当前的临床研究主要针对其临床疗效,对于其治疗的具体机制研究较少,大多数研究以动物为对象,与人体疾病也存在一定的差异。且来源人的 NSC 相对匮乏,来源于成体脑的 NSC 分化潜能相对较弱。NSC 移植治疗的安全性及副作用还需认真评估。此外,因对 NSC 诱导分化机制仍然不是十分清楚,所以诱导其定向分化也比较困难。对 bHLH 等转录因子家族的研究证实,存在一条可以使 NSC 定向分化的

调控途径,但还需深入研究。相信随着分子生物学技术水平的不断提高,人们对神经退行性疾病及指导 NSC 定向分化等认识将达到一个新的更高的水平。那时,治愈神经退行性疾病的患者将不是梦想。

参考文献:

- [1] Kesidou E, Lagoudaki R, Touloumi O, et al. Autophagy and neurodegenerative disorders[J]. *Neural Regen Res*, 2013, 8(24):2275-2283.
- [2] Hiroshi Kanno. Regenerative therapy for neuronal diseases with transplantation of somatic stem cells[J]. *World J Stem Cells*, 2013, 5(4): 163-171.
- [3] Ian Ladrán, Ngoc Tran, Aaron Topol et al. Brennand. Neural stem and progenitor cells in health and disease[J]. *WIREs Syst Biol med*, 2013, 5:701-715.
- [4] Acharya A, Baek ST, Huang G, et al. The bHLH transcription factor Tcf21 is required for lineage-specific EMT of cardiac fibroblast progenitors[J]. *Development*, 2012, 139(12): 2139-2149.
- [5] Gögel S1, Gubernator M, Minger SL. Progress and prospects: stem cells and neurological diseases[J]. *Gene Ther*, 2011, 18(1):1-6.
- [6] Xia JG, Miu JL, Ding HB, et al. Changes of brain gray matter structure in Parkinson's disease patients with dementia[J]. *Neural Regen Res*, 2013, 8(14):276-1285.
- [7] Yoon HH, Min J, Shin N, et al. Are human dental papilla-derived stem cell and human brain-derived neural stem cell transplantations suitable for treatment of Parkinson's disease? [J]. *Neural Regen Res*, 2013, 8(13):1190-1200.
- [8] Bhattacharya N, Chhetri MK, Mukherjee KL, et al. Can human fetal cortical brain tissue transplant (up to 20 weeks) sustain its metabolic and oxygen requirements in a heterotopic site outside the brain? A study of 12 volunteers with Parkinson's disease[J]. *Clin Exp Obstet Gynecol*, 2002, 29(4): 259-266.
- [9] Chen LW, Kuang F, Wei LC, et al. Potential application of induced pluripotent stem cells in cell replacement therapy for Parkinson's disease[J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2011, 10(4):449-58.
- [10] 王家增. 携带绿色荧光蛋白基因的神经上皮干细胞移植治疗帕金森病[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(6):1080-1084.
- [11] 陈涛, 田增民, 尹丰, 等. 神经干细胞移植治疗帕金森病的临床研究[J]. *中国微侵袭神经外科杂志*, 2012, 17(10):452-453.
- [12] Eva Tomaskovic-Crook and Jeremy M. Crook. Human Embryonic Stem Cell Therapies for Neurodegenerative Diseases [J]. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, 2011, 10:440-448.
- [13] 邵泽伟, 刘晓钟, 山风莲, 等. Alzheimer's 病患者蛋白(a)与血小板活化因子的变化[J]. *济宁医学院学报*, 2002, 25(4):25-26.
- [14] Zhang P, Adams U, Yuan Z Q. Re-mention of an old neurodegenerative disease: Alzheimer's disease[J]. *Chin Sci Bull*, 2013, 58:1731-1736.
- [15] 沈雪莉, 张斯萌, 崔梦遥, 等. 神经干细胞移植对痴呆大鼠记忆功能及海马组织氧化应激的影响[J]. *解剖科学进展*, 2011, 17(3):304-307.
- [16] Tate BA, Werzanski D, Marciniack A, et al. Migration of neural stem cells to Alzheimer-like lesions in an animal model of AD[J]. *Soc Neurosci Abstr*, 2000, 26(2):496-49.
- [17] Kwak YD, Marutle A, Dantuma E, et al. Involvement of notch signaling pathway in amyloid precursor protein induced glial differentiation[J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 650(1):18-27.
- [18] 赵志英, 胡海涛, 冯政丰, 等. 人脑源性神经营养因子基因修饰神经干细胞移植对痴呆大鼠学习记忆的改善[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2005, 19(5):331-334.
- [19] Kiernan MC, Vucic S, Cheah BC, et al. Amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Lancet*, 2011, 377(9769):942-955.
- [20] Li SC, Yin HZ, Loudon WG, et al. Cultivating stem cells for treating amyotrophic lateral sclerosis [J]. *World J Stem Cells*, 2012, 4(12):117-119.
- [21] Rossi SL, Nistor G, Wyatt T, et al. Histological and functional benefit following transplantation of motor neuron progenitors to the injured rat spinal cord[J]. *PLoS One*, 2010, 5:e11852.
- [22] Hefferan MP, Johe K, Hazel T, et al. Optimization of immunosuppressive therapy for spinal grafting of human spinal stem cells in a rat model of ALS[J]. *Cell Transplant*, 2011, 20:1153-1161.
- [23] Ciołkowski M, Sharifi M, Tarka S, et al. Median aperture of the fourth ventricle revisited[J]. *Folia Morphol (Warsz)*, 2011, 70(2):84-90.
- [24] Jeong SY, Rathore KI, Schulz K, et al. Dysregulation of iron homeostasis in the CNS contributes to disease progression in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis[J]. *J Neurosci*, 2009, 29(3):610-619.
- [25] Ross SE, Greenberg ME, Stiles CD. Basic helix-loop-helix factors in cortical development[J]. *Neuron*, 2003, 39(1):13-25.
- [26] Deng C1, Li Y, Liang S, et al. USF1 and hSET1A mediated epigenetic modifications regulate lineage differentiation and HoxB4 transcription [J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(6): e1003524.
- [27] Nakatani T, Minaki Y, Kumai M, et al. Helt determines GABAergic over glutamatergic neuronal fate by repressing Ngn genes in the developing mesencephalon [J]. *Development*, 2007, 134(15):2783-2793.

(收稿日期 2014-08-15)