

## 干细胞移植治疗阿尔茨海默病的研究进展

程 欣, 罗焕敏\*

(暨南大学 神经药理研究室, 广东 广州 510632)

**摘要:** 阿尔茨海默病是一种脑退行性疾病, 目前药物对其治疗无明显效果, 干细胞移植提供了一个新手段。

**关键词:** 阿尔茨海默病; 干细胞; 移植

中图分类号: R 592 文献标志码: A

## Research progress in Alzheimer's disease treated by the transplantation of stem cells

CHENG Xin, LUO Huan-min\*

(Neuropharmacology Laboratory, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**Abstract:** Alzheimer's disease (AD) is a kind of neurodegenerative diseases. Chemotherapy shows little effect on AD currently. Stem cell transplantation maybe a novo therapeutic approach.

**Key words:** Alzheimer's disease; stem cells; transplantation

近年来, 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 患者人数大幅增加, 给家庭和社会带来一定负担。临床上对 AD 实行综合治疗, 胆碱酯酶抑制剂、神经营养药、抗自由基药及促智药等都在应用, 但这些药物能缓解症状, 却无法阻止病程发展, 因为突起溃变、神经元死亡及网络破坏是造成 AD 功能障碍的主要原因, 上述药物不能从根本上解决这个问题。AD 的干细胞替代疗法应运而生。

### 1 移植治疗 AD 的各种干细胞

#### 1.1 胚胎干细胞 (embryonic stem cells, ESCs)

Martin 等 1981 年从小鼠胚胎中分离出 ESCs, 人胚胎干细胞 (human embryonic stem cells, hESCs) 是 1998 年分离得到并建系的。ESCs 具有多分化潜能, 应用前景广阔。通过体细胞核移植技术得到早

期人胚, 从这些胚胎中能获得同患者完全相同的 ESCs 供临床使用, 但这引发了伦理争议。同时, 克隆人类或其他灵长类动物成功率比克隆哺乳动物低得多<sup>[1]</sup>。

ESCs 移植后易产生非转移性良性畸胎瘤也是一个问题。此外, ESCs 虽然可分化为不同类型的细胞, 但这种分化无序且不受约束, 有针对性地诱导细胞定向分化才有应用前景。

#### 1.2 神经干细胞 (neural stem cells, NSCs)

成体干细胞 (adult stem cells, ASCs) 可自体采集, 避免了 ESCs 的伦理纠纷, 且无排斥, 适合临床应用。目前, 应用于 AD 细胞移植治疗的 ASCs 主要有 NSCs 和间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs)。

NSCs 是 90 年代初从成年小鼠纹状体分离得到

的神经前体细胞,后发现其存在于哺乳动物中枢神经系统多部位。NSCs 可分化为神经元和胶质细胞,损伤或疾病能刺激其分化<sup>[2]</sup>。NSCs 移植到中枢神经系统后,排斥反应轻微,为 NSCs 修复中枢神经系统损害提供了有利条件。

### 1.3 MSCs

MSCs 来源于中胚层,具有多向分化潜能。不同来源的 MSCs 生物学性质不全相同。骨髓中 MSCs 含量丰富,可是供者取骨髓间充质干细胞(bone marrow-mesenchymal stem cells, BM-MSCs)须行穿刺术,且随年龄增大,其数量及增殖、分化潜力显著下降。人胎多种组织含 MSCs,应用受法律限制。脐血和外周血也含 MSCs,但它们并非 MSCs 的最佳来源。脐带间充质干细胞(umbilical cord-mesenchymal stem cells, UC-MSCs)是 Wharton's jelly 来源的 MSCs,形态和生物学特性似 BM-MSCs<sup>[3]</sup>;脐带取材方便,无道德及法律限制,同时,与干细胞输注相关的感染率远低于骨髓移植,使 UC-MSCs 成为临床上最具前景的多能干细胞。

### 1.4 诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPS)

将 4 种基因重组到小鼠尾部皮肤细胞,使其逆转到分化前状态,得到了功能与 ESCs 类似的、有多分化潜能的 iPS<sup>[4]</sup>。随后,利用基因重组插入 4 个特定基因将人体皮肤细胞改造成 iPS<sup>[5]</sup>,此研究使干细胞来源不受限。

开展 iPS 临床治疗,诱导技术存在问题。重组基因中 *C-MYC* 易致癌;病毒载体也会改变遗传信息,有学者称“iPS 不能对以干细胞为基础的细胞治疗产生任何影响”。开展该技术的治疗成本远大于 ESCs 技术。同时成体细胞来源的 iPS 与 ESCs 不同,其有 ESCs 基因表达的特点,但很多特性与 ESCs 相差甚远,限制了应用。

## 2 干细胞移植治疗 AD 的研究进展

选择合适的干细胞很重要。ESCs 分化潜能佳,但免疫原性和致瘤性强,来源问题也使其临床应用基本不可能;在体外可将 ESCs 诱导分化为神经前体细胞后移植治疗 AD。iPS 受技术和费用所限,移植治疗的研究较少。MSCs 免疫原性和致瘤性较低,分化潜能却不及 ESCs;NSCs 免疫原性和致瘤性也

低,来源困难是临床应用的障碍。综上所述,MSCs 可能是移植治疗 AD 的最佳选择。

### 2.1 NSCs 和 ESCs 诱导的神经球移植治疗 AD

不同的 AD 动物模型移植 NSCs 后均有一定疗效。转基因小鼠海马移植 NSCs 1 个月后,空间认知能力明显提高,NSCs 源性的 BDNF 介导海马突触密度及突触素分泌增多。但 NSCs 只表现出了向 A $\beta$  斑块的有限趋向性,TAU 蛋白磷酸化无改善<sup>[6]</sup>。

神经元丢失也是 AD 的病理表现。在损毁前脑神经元的转基因小鼠的海马移植了 10 万个/侧 NSCs 后,移植细胞能长期存活,并迁移和分化为各种神经细胞。术后 3 个月,小鼠海马突触密度增加,神经元丢失减少,海马依赖性的空间位置的记忆明显改善,而依赖于皮质的对物体目标的记忆无明显变化<sup>[7]</sup>。

切断大鼠双侧穹隆海马伞,同时植入新生大鼠海马的 NSCs 和其诱导的神经胶质,术后 4 周时,NSCs 分化成 AChE 神经元改善大鼠记忆超过神经胶质分泌营养因子的作用<sup>[8]</sup>。IBO 毁损小鼠 Meynert 核后,将 ESCs 来源的神经球移植到皮质,术后 8 周小鼠记忆差错减少;12 周后神经球仍存活并分化为 ChAT 阳性和 5-HT 阳性神经元。直接移植 ESCs 则全部形成畸胎瘤,并未见生成新神经元<sup>[9]</sup>。可见将 ESCs 诱导分化为 NSCs 后移植安全有效。

### 2.2 MSCs 移植治疗 AD

MSCs 解决了来源困难的问题。

小鼠海马注射 A $\beta$  制备 AD 模型,每侧海马移植了  $10^6$  BM-MSCs,术后 7 d A $\beta$  斑块明显减少,其周围阿米巴样小胶质细胞增多<sup>[10]</sup>。MSCs 可作为载体把生长因子导入中枢神经系统,将 NGF 转入 BM-MSCs 后再移植到 AD 鼠中,发现 NGF 在脑内表达,且两者结合促进 BM-MSCs 迁移和分化为 AChE 神经元<sup>[11]</sup>。

老年大鼠经静脉注射  $10^6$  个人脐血单核细胞后,海马 NSCs 增殖明显,小胶质细胞减少,表明脐血干细胞减少神经炎症反应,提示该疗法改善老化大脑微环境具有可能性<sup>[12]</sup>。UC-MSCs 是 BM-MSCs 的理想替代物。尚未见 UC-MSCs 移植治疗 AD 的文献,相关报道有对其他中枢神经系统疾病的实验研究。体外诱导 hUC-MSCs 成神经球,联

合 BDNF 移植到大鼠脊髓横断性损伤部位, 移植后细胞更多地分化为神经元, 而单独移植诱导的神经球, 细胞多数分化为少突胶质细胞; 且前者更有效改善 BBB 分数<sup>[13]</sup>。结扎血管致大鼠前脑缺血后, 给予 hUC-MSCs, 移植后不同时间梗塞区大小、皮质神经元活动等明显改善, hUC-MSCs 向缺血区迁移, 分化为神经系、内皮系细胞, 参与缺血区血管生成, 改善局部血流, hUC-MSCs 源性的小胶质细胞活跃<sup>[14]</sup>。

人羊膜 MSCs 是另一选择。经尾静脉注射人羊膜 MSCs 治疗转基因鼠, 小鼠学习记忆能力明显改善, 未发生致死致瘤现象<sup>[15]</sup>。

提高移植细胞的存活率也得到关注。移植同时侧脑室注射 BDNF 可提高细胞移植后的存活率<sup>[16]</sup>; 离体实验表明, A $\beta$  可促进 NSCs 增殖、迁移和向神经元分化<sup>[17]</sup>, 说明干细胞移植后受所处的微环境影响。

### 3 干细胞移植治疗 AD 的可能机制

#### 3.1 分化成神经样细胞

干细胞可自我复制及产生神经组织细胞。移植后干细胞可分化成 AChE 神经元, 与宿主功能整合、形成神经环路, 替代 AD 病程中丢失的细胞。研究证实, 成活的干细胞更多地分化成神经胶质, 通过不同的途径在退行性疾病中发挥作用。

#### 3.2 分泌营养因子

研究人员发现, 移植后 NSCs 只有约 5% 分化为成熟神经元, 并且随后其周围细胞未再凋亡, 且与其他细胞连接更密集<sup>[7]</sup>, 可见 NSCs 挽救小鼠记忆可能主要是分泌神经营养素阻止脑细胞凋亡, 并增强

神经元之间相互联系, 维持大脑功能。

#### 3.3 促进内源性修复

BM-MSCs 移植治疗脑卒中大鼠后, 内源性 NSCs 增殖活跃<sup>[18]</sup>。干细胞移植后, 刺激固有的 NSCs 增殖, 并诱导分化成神经组织细胞替代缺损细胞, 即启动内源性途径修复损伤。内源性 NSCs 更具优势, 诱导其增殖并分化为神经元形成功能网络, 是 AD 治疗的研究方向。

#### 3.4 刺激血管再生

移植 BM-MSCs 治疗心血管疾病, 移植后 bFGF、PDGF、VEGF、血管生成素分泌上调, 促进血管内皮和平滑肌细胞增殖<sup>[19]</sup>。主流观点认为, 干细胞移植治疗心血管疾病主要在于干细胞旁分泌生物活性因子, 诱导血管生成, 保护组织。这对 AD 和血管型痴呆的干细胞移植治疗有一定启示。

#### 3.5 作用于炎性细胞

炎性反应在退行性疾病中的作用已得到认同。干细胞移植治疗中枢神经系统疾病, 常伴有移植后小胶质细胞功能活跃<sup>[10,14]</sup>。小胶质细胞属于单核吞噬细胞系统, 主要功能是吞噬病灶周围浸润的炎性细胞。干细胞移植后还可以分泌一些细胞黏附分子, 表现出免疫样功能。

### 4 展望

干细胞移植治疗 AD 的机制尚待深入研究, 移植的细胞选择、移植方式和时间、移植细胞数目、有否安全隐患及疗效等, 都是待解决的问题。与基因工程相结合, 以干细胞作载体, 把生长因子等导入干细胞中表达后再移植是新的研究趋势, 相信未来 AD 的干细胞治疗会带给患者新希望。

### 参考文献:

[1] Byrne JA, Pedersen DA, Clepper LL, *et al.* Producing primate embryonic stem cells by somatic cell nuclear transfer [J]. *Nature*, 2007, 450: 497–502.  
[2] 徐如祥, 姜晓丹. 神经干细胞的概述 [M] // 徐如祥, 姜晓丹, 柯以铨, 等. 神经干细胞. 北京: 军事医学科学出版社, 2006: 25–34.  
[3] Baksh D, Yao R, Tuan RS. Comparison of proliferative and

multilineage differentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord and bone marrow [J]. *Stem Cells*, 2007, 25: 1384–1392.  
[4] Yamanaka S. Strategies and new developments in the generation of patient-specific pluripotent stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2007, 1: 39–49.  
[5] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, *et al.* Induction of

- pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors[J]. *Cell*, 2007, 131: 861–872.
- [6] Mathew BJ, Masashi K, Hilda MC, *et al.* Neural stem cells improve cognition via BDNF in a transgenic model of Alzheimer disease[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 13594–13599.
- [7] Tritia RY, Mathew BJ, Debbi AM, *et al.* Neural stem cells improve memory in an inducible mouse model of neuronal loss[J]. *J Neuroscience*, 2007, 27: 11925–11933.
- [8] Xuan AG, Luo M, Ji WD, *et al.* Effects of engrafted neural stem cells in Alzheimer's disease rats[J]. *Neurosci Lett*, 2009, 450: 167–171.
- [9] Wang Q, Matsumoto Y, Shindo T, *et al.* Neural stem cells transplantation in cortex in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *J Med Invest*, 2006, 53: 61–69.
- [10] Lee JK, Jin HK, Bae JS. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells reduce brain amyloid-deposition and accelerate the activation of microglia in an acutely induced Alzheimer's disease mouse model[J]. *Neurosci Lett*, 2009, 450: 136–141.
- [11] Li LY, Li JT, Wu QY, *et al.* Transplantation of NGF-gene-modified bone marrow stromal cells into a rat model of Alzheimer's disease[J]. *J Mol Neurosci*, 2008, 34: 157–163.
- [12] Jin HK, Bae JS, Furuya S, *et al.* Amyloid beta-derived neuroplasticity in bone marrow-derived mesenchymal stem cells is mediated by NPY and 5-HT<sub>2B</sub> receptors via ERK1/2 signalling pathways[J]. *Cell Prolif*, 2009, 42: 571–582.
- [13] Zhang L, Zhang HT, Hong SQ, *et al.* Cografted wharton's jelly cells-derived neurospheres and BDNF promote functional recovery after rat spinal cord transection[J]. *Neurochem Res*, 2009, 34: 2030–2039.
- [14] Ding DC, Shyu WC, Chiang MF, *et al.* Enhancement of neuroplasticity through upregulation of  $\beta$ 1-integrin in human umbilical cord-derived stromal cell implanted stroke model[J]. *Neurobiol Dis*, 2007, 27: 339–353.
- [15] 郭亚男, 李远, 关方霞, 等. 人羊膜间充质干细胞静脉移植治疗阿尔茨海默病 APP + 转基因鼠的有效性安全性评估[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13: 1811–1818.
- [16] Xuan AG, Long DH, Gu HG, *et al.* BDNF improves the effects of neural stem cells on the rat model of Alzheimer's disease with unilateral lesion of fimbria-fornix[J]. *Neurosci Lett*, 2008, 440: 331–335.
- [17] Heo C, Chang KA, Choi HS, *et al.* Effects of the monomeric, oligomeric, and fibrillar A $\beta$ 42 peptides on the proliferation and differentiation of adult neural stem cells from subventricular zone[J]. *J Neurochem*, 2007, 102: 493–500.
- [18] Yoo SW, Kim SS, Lee SY, *et al.* Mesenchymal stem cells promote proliferation of endogenous neural stem cells and survival of newborn cells in a rat stroke model[J]. *Exp Mol Med*, 2008, 40: 387–397.
- [19] Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, *et al.* Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote *in vitro* and *in vivo* arteriogenesis through paracrine mechanisms[J]. *Circ Res*, 2004, 94: 678–685.

### 扩大脐带血单位数可以加速移植物成功生长

据美国 WedMD 大众医疗新闻网(2010-01-25)报道,研究者发现一种可以在干细胞移植时更适当运用脐带血的方法。根据在线发表于 1 月 17 日《自然医学》(Nature Medicine)杂志的一项研究,使用来自脐带血的体外扩增干细胞,可使移植时属于缓解状态的高风险白血病患者的移植物迅速地成功生长。

西雅图 Fred Hutchinson 癌症研究中心的研究者开发出一种用于人类 CD34<sup>+</sup> 脐带血干细胞的临床相关的 Notch<sup>-</sup> 调节体外扩增系统,可使脐带血干细胞在 Notch 外配体的存在下于体外扩增,当它们在骨髓破坏准备处方后输注,嗜中性白细胞的恢复时间明显缩短。

经过平均 1 年的追踪时间后,接受移植的 10 名患者有 7 人存活,没有发病证据,而且捐赠者的移植物能持续成功生长。

研究者指出,这是首次提出体外扩增的造血干细胞的移植物成功生长,本研究的初步结果首次发表于 2008 年的美国血液协会年会,当时由 Medscape Oncology 报道。