

牙源性干细胞治疗帕金森病的研究进展

于曼殊¹, 赵晓敏¹, 邱明月², 刘春冉², 那日苏^{2*}

1. 内蒙古医科大学 赤峰临床医学院 赤峰市医院, 内蒙古 赤峰 024000; 2. 赤峰市医院 口腔科, 内蒙古 赤峰 024000

摘要: 帕金森病(PD)是第二常见的神经退行性疾病,主要是由于中脑黑质(SN)多巴胺能神经元的丧失而导致运动功能障碍。牙源性干细胞(DSCs)来自颅神经嵴,易于采集,具有很强的增殖和分化能力,能够促进神经修复和再生。DSCs可以分化成新的多巴胺神经元并分泌大量神经营养因子(NTFs)改善神经功能,同时还可以通过免疫调节抑制神经炎症反应,DSCs可以有效减轻PD大鼠的运动功能障碍,并在再生医学领域中扮演着重要的角色。

关键词: 牙髓干细胞;人脱落乳牙干细胞;神经退行性疾病;帕金森病;外泌体

中图分类号:R744;R329;R781.4 文献标志码:A

DOI:10.16352/j.issn.1001-6325.2024.09.1298

Advances in the treatment of dental stem cells for Parkinson's disease

YU Manshu¹, ZHAO Xiaomin¹, QIU Mingyue², LIU Chunran², NA Risu^{2*}

1. Chifeng Clinical Medical College of Inner Mongolia Medical University, Chifeng Municipal Hospital, Chifeng 024000;

2. Department of Stomatology, Chifeng Municipal Hospital, Chifeng 024000, China

Abstract: Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative disease, mainly due to the loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra (SN) of the midbrain, resulting in motor dysfunction. Dental stem cells (DSCs) are derived from the cranial neural crest which can be easily harvested. DSCs coming from the cranial neural crest have excellent proliferation and differentiation ability, and can promote nerve repair and regeneration. DSCs can secrete new dopamine neurons and secrete a large number of neurotrophic factors(NTFs) to improve the neural function, and also inhibit the neuroinflammatory response through immune modulation. DSCs can effectively alleviate the motor dysfunction in rats with PD and play an important role in R&D of regenerative medicine.

Key words: dental pulp stem cell; stem cells from human exfoliated deciduous teeth; neurodegenerative disease; Parkinson's disease; exosome

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是常见的神经退行性疾病,主要特征包括中脑黑质(substantia nigra, SN)多巴胺能神经元的丧失和由 α -突触核蛋白(α -syn)蛋白构成的错误折叠聚集体组装的路易

体(Lewy bodies, LB)。^[1] α -Syn聚集体的神经元-神经元传递增加了SN中多巴胺能神经元的损失,而多巴胺能神经元可以合成和释放多巴胺,多巴胺是大脑通信和运动调节所必需的神经递质。此外,

收稿日期:2023-10-19 修回日期:2024-03-29

基金项目:内蒙古医科大学联合项目(YKD2023LH007);省公立医院科研联合基金科技项目(2023GLLH0321)

* 通信作者(corresponding author):nrsmail@163.com

α -Syn 蛋白聚集还会引起 NF- κ B 通路的启动,进而导致活性氧(reactive oxygen species, ROS)和促炎因子的生成,影响 PD 中主要受损的多巴胺神经元并激活小胶质细胞,源自小胶质细胞和星形胶质细胞的产物以组合方式促进神经毒性。细菌脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)大多通过小胶质细胞诱导 SN 中的炎症反应,导致多巴胺能神经元的丢失。目前在临床实践中,治疗 PD 最常用的是左旋多巴(多巴胺替代疗法)的对症治疗,但不能抑制多巴胺神经元的丧失^[2]。

在胚胎发生早期,脑神经嵴源性间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)与口腔源性上皮干细胞之间相互作用。从口腔的一些组织如颅面骨、牙髓、牙囊、牙胚、根尖乳头、口腔黏膜、牙龈以及骨膜中可提取出干细胞。牙源性干细胞(dental stem cells, DSCs)来源于颅神经嵴,容易获取,DSCs 具有高度增殖和分化能力,可促进组织的修复与再生。

1 DSCs 治疗 PD 的优势

鉴于 PD 的治疗策略尚未完全确立,科学家们在寻求更为安全且高效的医疗干预手段。在充分的研究证据支持下,已经识别出干细胞在修复受损神经元方面的潜力,特别是脂肪来源的间充质干细胞(adipose-derived mesenchymal stem cells, AD-MSCs)和骨髓来源的间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BM-MSCs)。然而,从体内有效获取 AD-MSCs 面临诸多挑战,同时大量提取 BM-MSCs 也颇具难度且对机体损伤大^[3]。与其他来源的间充质干细胞相比,DSCs 具有更强的增殖、自我更新、分化和神经干细胞特性。因此,成为干细胞研究的焦点。

2 DSCs 治疗 PD 作用机制的研究进展

2.1 牙髓干细胞(dental pulp stem cells, DPSCs)治疗 PD

牙髓内含有一种具有高度增殖能力和自我更新能力的细胞群——DPSCs。DPSCs 表达神经谱系标志物,也能够表达与 BM-MSCs 相似的成纤维细胞表面标志物。DPSCs 通过细胞旁分泌途径分泌营养因子作用于神经元,释放神经递质作用于突触后膜上的相关受体传导兴奋,可有效改善神

经退行性疾病。

DPSCs 分泌多种神经营养因子(neurotrophic factors, NTFs),在特定的培养基中通过添加神经营养因子可进行神经定向分化。神经功能恢复的评估采用行为学测试,如旋转杆测试和开场测试,以及神经病理学分析。DPSCs 可以保护被 6-羟多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)损伤的中脑神经元,同时牙髓干细胞来源的外泌体(dental pulp stem cells exosomes, DPSCs-Exo)可以保护中脑神经元免受 6-OHDA 诱导的神经元凋亡。此外,多巴胺神经元和小胶质细胞共培养时,DPSCs 通过抑制一氧化氮(nitric oxide, NO)的产生发挥保护作用^[4]。在中枢神经系统中,NO 通过引发硝化应激反应,对神经细胞造成损害,进而引发神经系统的病理变化。在这种病变状态下,活化的神经胶质细胞能够促进大量诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的生成,^[5]这些酶作用于邻近的神经元。NO 的过量产生往往抑制了神经递质的正常释放,这表明 NO 在调控神经递质释放过程中扮演了关键角色^[6]。通过 DPSCs 抑制 NO 的产生从而促进神经递质的释放,有利于改善 PD 大鼠的运动功能障碍。

在 PD 的发展过程中,炎症因子的释放过程被认为是触发多巴胺能神经元死亡的潜在原因之一,控制这些过程可以促进干细胞的神经修复^[7]。1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP)作为一种神经毒素,在构建 PD 动物模型的研究中被广泛采用。MPTP 的神经毒性引起小鼠中脑 SN 多巴胺能神经元损失后,通过鼻内注入 DPSCs 可改善小鼠感觉运动协调能力及嗅觉功能,分化的 DPSCs 通过向中脑 SN 迁移并逐渐抑制 MPTP 神经毒性诱导的酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)阳性神经元的减少,从而保护 TH 阳性神经元的损失。在 MPTP- α 诱导的 PD 小鼠模型中,观察到 SN 的小胶质细胞中褪黑激素受体 1(melatonin receptor 1, MT 1)减少。小胶质细胞 MT 1 的激活显著抑制 LPS- β 诱导的神经炎症反应,且小胶质细胞的代谢重编程有助于 MT 1 活化的抗炎作用^[8]。因此 DPSCs 被认为是细胞替代疗法(cell replacement therapy, CRT)的下一个可能的细胞来源。

2.2 人脱落乳牙干细胞 (stem cells from human exfoliated deciduous teeth, SHEDs) 治疗 PD

SHEDs 存在于牙髓的血管周围生态位内, 由于其干性和分化为其他细胞系 (如神经元和少突胶质细胞) 的能力, 被认为是一种有前途的干细胞来源^[9]。SHEDs 在非诱导条件下培养可表达神经祖细胞及成熟神经细胞相关蛋白, 如微管相关蛋白 2 (MAP-2) 和神经巢蛋白 (nestin)、神经营养因子受体、 β III-微管蛋白 (β III-tubulin) 和神经丝蛋白等。将 SHEDs 体外诱导分化后, 神经相关蛋白表达量增加^[10]。

经过神经启动的 SHEDs 植入 6-OHDA 诱导的 PD 大鼠模型中, 可以看到移植后的 4、8 和 12 周, 大鼠的运动功能障碍得到明显的改善, 对多项实验结果进行分析, 可证明通过体外培养、体内神经分化得到的 SHEDs 能够显著分化为神经元及多巴胺能神经元, 使经过注射 6-OHDA 大鼠损伤的多巴胺能神经元再生, 重新建立神经递质传递过程, 从而改善 PD 症状。^[11-13] 将 SHEDs 诱导成多巴胺神经元并将其移植, 利用膜片钳技术分析膜电位, 发现移植的 SHEDs 具有与多巴胺神经元一致的膜电位分布。此外, 这些移植细胞还释放免疫调节因子, 这表明潜在的机制涉及神经元替代和免疫调节。静脉内给予足够和单剂量的 SHEDs-CM 能够显著改善 PD 大鼠的神经系统, 结果表明这种疗法可能代表未来 PD 治疗的一种新的潜在无细胞疗法。

2.3 牙龈间充质干细胞 (gingival mesenchymal stem cells, GMSCs) 治疗 PD

牙龈固有层拥有一群能够表达神经细胞标志物的细胞——GMSCs。静脉注射 GMSCs 可改善 PD 大鼠旋转和前肢错位行为, 增强抗凋亡 B 细胞淋巴瘤 2/B 细胞淋巴瘤 2 相关 X 轴、保护 TH 神经元、减少星形胶质细胞的活化、减少星形胶质细胞的标志物胶质原纤维酸性蛋白和小胶质细胞的标志物黑质及纹状体中的离子化钙结合衔接子分子 1^[14]。GMSCs 上调神经再生相关因子, 抑制代谢紊乱以及信号转导器和转录激活因子 3 的激活。GMSCs 显示出很强的保护神经元和减少线粒体膜电位损伤及活性氧积累的能力。GMSCs 移植的安全性通过经皮下移植到裸鼠长达 8 周后能抑制肿瘤形成而得到证实^[14]。

2.4 其他 DSCs 治疗 PD

除上述 3 种 DSCs 对 PD 的治疗有研究价值外, 根尖乳头干细胞 (stem cells from apical papilla, SCAPs)、牙滤泡干细胞 (dental follicle stem cells, DFSCs) 及牙周膜干细胞 (periodontal ligament stem cells, PDLSCs) 等 DSCs 在 PD 治疗中也有潜在治疗效果。SCAPs 来自牙根发育未完成的恒牙根尖乳头, 是牙根部成牙本质细胞的重要来源, 因根尖组织的细胞和微管成分比牙髓少, 所以 SCAPs 具有更强的增殖能力, 成骨和神经生成能力^[15]。牙周组织中牙胚周围的间充质组织产生 DFSCs, 其与 SCAPs 具有相似的生理功能。PDLSCs 与许多成熟的神经细胞类型具有相同的神经嵴胚胎起源, 因此与许多其他干细胞类型相比, 它们向神经细胞的谱系分化较少, 这使得 PDLSCs 有望用于神经再生应用^[16]。PDLSCs 通过不同的机制介导神经再生, 迁移到缺损部位并替换受损细胞^[17]。此外, PDLSCs 在神经损伤环境诱导下通过增加神经营养因子的表达发挥旁分泌作用, 刺激神经祖细胞存活和分化^[18]。PDLSCs 不仅促进轴突再生和突触形成, 还能抑制细胞凋亡, 而细胞凋亡是脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 和阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 中神经元退化和死亡的主要原因^[18]。但 PDLSCs 作用于 PD 的机制仍未有相关研究明确表明。

3 问题与展望

PD 作为常见的神经退行性疾病, 使多巴胺能神经元丧失, 极大影响了运动功能并使生活质量降低。DSCs 可以分化成新的多巴胺神经元, 通过分泌大量神经营养因子改善神经功能, 同时还可以通过免疫调节抑制神经炎症反应, 对于 PD 功能的改善有显著效果。外泌体能促进周围神经损伤后的轴突再生^[19]。来自 MSC、施旺细胞 (Schwann cells, SCs) 等的外泌体, 可调节周围神经组织的修复与再生^[4]。

牙源性干细胞来源的外泌体 (dental stem cells-exosome, DSCs-Exo) 为治疗神经退行性疾病提供了重要的前景: 1) 神经退行性疾病的新有效治疗策略常常因药物无法通过血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB) 而停止。外泌体分子较小, 可以穿越

BBB,促进神经系统中的细胞交流并促使轴突和髓鞘再生,从而保护神经,支持神经修复和再生。外泌体同样可以降低排斥及恶性转化的风险。2)利用旁分泌途径,DSCs-Exo分泌神经营养因子,促进细胞分化为多巴胺样(DA like)神经元,发挥神经保护作用。3)神经损伤会引起神经炎性反应,神经炎性反应会导致PD的形成并使部分神经元死亡,DSCs-Exo可展现出有效的免疫调节作用,降低炎性因子表达,抑制炎性分泌。

尽管DSCs-Exo在PD治疗中显示出潜力,然而对于DSCs-Exo治疗PD的研究仍处于早期阶段,仅停留在细胞分子、动物模型等基础阶段,并未广泛应用于临床,并且目前大部分关于PD的研究仅局限于中脑SN中,对其在不同大脑区域的定植模式和动力学了解有限。未来的研究应聚焦于这些机制,以及如何优化DSCs-Exo的制备和递送策略,以提高其在临床应用中的安全性和有效性。

此外,VPS35基因是常染色体显性遗传PD的致病基因,在神经退行性疾病发病机制方面,有遗传学研究表明,自噬与PD的病理生理学之间存在密切联系,VPS35中导致PD的D620N突变损害自噬,自噬对于神经元的稳态至关重要^[21],VPS35 D620N突变的PD和雌激素可以挽救替代性自噬功能障碍^[22]。外泌体已被证明可以调节自噬,外泌体诱导自噬激活,源自MSC的外泌体可以保护毛细胞免受新霉素诱导的损伤并促进自噬^[23]。而DPSCs与MSC具有相似生理特性,作为一种特殊的间充质干细胞,有研究发现DPSCs-Exo可以通过增加SC增殖、迁移和神经营养因子的分泌来促进PNI后的轴突再生和髓鞘再生^[24],基于抑制,DPSCs-Exo由跨细胞途径miR-122-5p/P53主导的PNI引起SC自噬^[25]。DPSCs-Exo是否可以通过激活自噬途径,维持神经元稳态从而改善PD症状仍有待考证。

参考文献:

- [1] Huang T, Wang XX, Gao CY, *et al.* Motor symptoms of Parkinson's disease are affected by temperature: a controlled pilot study [J]. *Brain Behav.* 2024, 14: e3369. doi: 10.1002/brb3.3369.
- [2] Ueda T, Inden M, Ito T, *et al.* Characteristics and therapeutic potential of dental pulp stem cells on neurodegenerative diseases [J]. *Front Neurosci.* 2020, 14:407. doi: 10.3389/fnlin.2020.00407.
- [3] Yu Z, Xu N, Zhang N, *et al.* Repair of peripheral nerve sensory impairments via the transplantation of bone marrow neural tissue-committed stem cell-derived sensory neurons [J]. *Cell Mol Neurobiol.* 2019, 39:341-353. doi: 10.1007/s10571-019-00650-2.
- [4] Jin MH, Chen DQ, Jin YH, *et al.* Hispidin inhibits LPS-induced nitric oxide production in BV-2 microglial cells via ROS-dependent MAPK signaling [J]. *Exp Ther Med.* 2021, 22:970. doi: 10.3892/etm.2021.10402.
- [5] 徐娅冬,李雅丽,黄魏宁.呼出气一氧化氮对变应性鼻炎伴哮喘患者鼻用激素治疗的指导价值[J].*中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2023, 30:398-400. doi:10.16066/j.1672-7002.2023.06.014.
- [6] 孙悦,赵艳春,张婷,等.一氧化氮对鱼藤酮诱导神经细胞损伤的调节作用[J].*石河子大学学报(自然科学版)*, 2021, 39:225-233. doi:10.13880/j.cnki.65-1174/n.2021.22.012.
- [7] Bytowska ZK, Korewo-Labelle D, Kowalski K, *et al.* Impact of 12 weeks of vitamin D3 administration in Parkinson's patients with deep brain stimulation on kynurenine pathway and inflammatory status [J]. *Nutrients.* 2023, 15:3839. doi: 10.3390/nu15173839.
- [8] Gu C, Wang F, Zhang YT, *et al.* Microglial MT1 activation inhibits LPS-induced neuroinflammation via regulation of metabolic reprogramming [J]. *Aging Cell.* 2021, 20: e13375. doi:10.1111/ace1.13375.
- [9] Li B, Ouchi T, Cao Y, *et al.* Dental-derived mesenchymal stem cells: state of the art [J]. *Front Cell Dev Biol.* 2021, 9:654559. doi: 10.3389/fcell.2021.654559.
- [10] Nishii T, Osuka K, Nishimura Y, *et al.* Protective mechanism of stem cells from human exfoliated deciduous teeth in treating spinal cord injury [J]. *J Neurotrauma.* 2024, 23. doi: 10.1089/neu.2023.0251.
- [11] Apel C, Forlenza OV, Paula VJR de, *et al.* The neuroprotective effect of dental pulp cells in models of Alzheimer's and Parkinson's disease [J]. *J. Neural*

- Transm, 2009, 116:71-78.
- [12] Cova L, Bossolasco P, Armentero MT, *et al.* Neuroprotective effects of human mesenchymal stem cells on neural cultures exposed to 6-hydroxydopamine: implications for reparative therapy in Parkinson's disease[J]. *Apoptosis*, 2012, 17:289-304.
- [13] Zhang N, Lu XJ, Wu SC, *et al.* Intrastriatal transplantation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth reduces motor defects in Parkinsonian rats[J]. *Cytotherapy*, 2018, 20:670-686.
- [14] Lei T, Xiao ZZ, Zhang XS, *et al.* Human gingival mesenchymal stem cells improve movement disorders and tyrosine hydroxylase neuronal damage in Parkinson disease rats[J]. *Cytotherapy*, 2022, 24:1105-1120.
- [15] Liu Q, Gao Y, He JZ. Stem cells from the apical papilla (SCAPs): past, present, prospects, and challenges[J]. *Biomedicines*, 2023, 11: 2047. doi: 10.3390/biomedicines11072047.
- [16] Xiao L, Nasu M. From regenerative dentistry to regenerative medicine: progress, challenges, and potential applications of oral stem cells[J]. *Stem Cells Cloning*, 2014, 7:89-99.
- [17] Mohebichamkhorami F, Fattahi R, Niknam Z, *et al.* Periodontal ligament stem cells as a promising therapeutic target for neural damage[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13:273.doi:10.1186/s13287-022-02942-9.
- [18] Mohebichamkhorami F, Niknam Z, Khoramjouy M, *et al.* Brain homogenate of rat model of alzheimer disease modifies secretome of 3D cultured periodontal ligament stem cells a potential neuroregenerative therapy[J]. *Iran J Pharm Res*, 2022, 21:e133668. doi:10.5812/ijpr-133668.
- [19] Yang JQ, Wang BX, Wang YT, *et al.* Exosomes derived from adipose mesenchymal stem cells carrying miRNA-22-3p promote schwann cells proliferation and migration through downregulation of PTEN[J]. *Dis Markers*, 2022, 2022:7071877.doi:10.1155/2022/7071877.
- [21] Hanss Z, Larsen SB, Antony P, *et al.* Mitochondrial and clearance impairment in p.D620N VPS35 patient-derived neurons[J]. *Mov Disord*, 2021, 36:704-715. doi:10.1002/mds.28365.
- [22] Shiraishi T, Bono K, Hiraki H, *et al.* The impact of VPS35 D620N mutation on alternative autophagy and its reversal by estrogen in Parkinson's disease[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2024, 81: 103. doi: 10.1007/s00018-024-05123-4.
- [23] Liu H, Kuang H, Wang Y, *et al.* MSC-derived exosomes protect auditory hair cells from neomycin-induced damage via autophagy regulation[J]. *Biol Res*, 2024,57:3. doi: 10.1186/s40659-023-00475-w.
- [24] Shi X, Yang G, Liu MY, *et al.* Exosomes derived from human dental pulp stem cells increase flap survival with ischemia-reperfusion injuries[J]. *Regen Med*, 2023, 18: 313-327. doi: 10.2217/rme-2022-0206.
- [25] Chai Y, Liu Y, Liu Z, *et al.* Study on the role and mechanism of exosomes derived from dental pulp stem cells in promoting regeneration of myelin sheath in rats with sciatic nerve injury[J]. *Mol Neurobiol*, 2024. doi: 10.1007/s12035-024-03960-9.