

神经干细胞移植治疗阿尔茨海默病的机制研究进展

陈小坤, 包新杰*, 高俊, 李永宁*

中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院 神经外科, 北京 100730

摘要: 目前并无有效的策略可以减缓阿尔茨海默病(AD)的进展。加深对AD发病机制的理解和研发新的治疗方法至关重要。干细胞移植治疗神经退行性疾病是目前的研究热点。许多研究认为神经干细胞(NSCs)可以分化成功能性神经元,可以替代原有死亡的神经元,并与相邻的残存神经元形成突触连接,从而达到疾病治疗作用。理论上,利用NSCs替换和恢复受损的乙酰胆碱能神经元和突出连接,可能为AD提供新的治疗选择。本文回顾了近期的临床前研究,总结了NSCs移植在AD治疗中的机制进展。

关键词: 阿尔茨海默病;细胞移植;神经干细胞

中图分类号: R741.05 **文献标志码:** A

DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2023.07.1148

An update on the mechanism of neural stem cell transplantation in the treatment of Alzheimer's disease

CHEN Xiaokun, BAO Xinjie*, GAO Jun, LI Yongning*

Department of Neurosurgery, Peking Union Medical College Hospital, CAMS & PUMC, Beijing 100730, China

Abstract: At present, no effective strategy exists to slow down the progression of Alzheimer's disease (AD). A deeper understanding of the pathogenesis of AD and the development of new therapeutic approaches are essential. Stem cell transplantation for the treatment of neurodegenerative diseases is currently a research hotspot. Numerous studies have suggested that neural stem cells (NSCs) can differentiate into functional neurons, replace dead neurons, and form synaptic connections with adjacent surviving neurons, thereby achieving a therapeutic effect. In theory, the use of NSCs to replace and restore damaged cholinergic neurons and synapses may provide a new therapeutic option for AD. This review summarizes the recent preclinical research progress of NSC transplantation for the treatment of AD.

Key words: Alzheimer's disease; cell transplantation; neural stem cells

根据发病年龄可将阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)分为两种不同的类型;发生在65岁以后的病例被归类为晚发AD,而发生在65岁以前的病例被归类为早发AD,后者所占比例不到5%。尽

管已经进行了众多有关AD发病机制的研究,但仍缺乏有效的治疗方法。既往的药物治疗包括N-甲基-D-天门冬氨酸受体拮抗剂和胆碱酯酶抑制剂,但这些药物仅仅缓解症状。正在研究的较有前景的药

物有许多单克隆抗体,如 aapinezumab、solanezumab、crenezuma 和 aducanumab^[1],在这些药物中,仅针对 β 样淀粉蛋白 (amyloid-beta, A β) 的 aducanumab 获得美国食品和药品管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 的批准。最新的数据表明,全球认知障碍的患病人数在 2050 年将增加 2 倍^[2],进一步了解 AD 潜在机制和开发新的治疗至关重要。研究表明,干细胞移植可能有助于维持大脑稳态和增强认知、学习和记忆能力^[3]。在 AD 的临床前研究中,已经证明移植的神经干细胞 (neural stem cells, NSCs) 能够再生受损的胆碱能神经元,并且这些新生的功能性神经元可以与宿主残存的神经元形成新的突触连接,可能是一种潜在的减缓 AD 病情进展的策略。同时研究表明 NSCs 移植所带来的其他作用,如神经营养支持、免疫调节和抗炎等,在阻止 AD 进展方面也起着至关重要的作用。本综述回顾了近期的临床前研究,总结了 NSCs 移植在 AD 治疗中的机制进展。

1 AD 的发病机制和病理生理学

AD 的发病机制尚不明确。尽管其诊断的病理学标准仍然是细胞外 A β 斑块的形成和细胞内过度磷酸化 tau 蛋白 (hyperphosphorylated tau, p-tau) 的累积^[1],但在基于 A β 和 tau 蛋白的免疫治疗相关临床试验结果却甚理想。故关于 AD 的发生发展可能还存在其他机制。事实上最近的研究表明,AD 的潜在致病机制可能发生在 A β 和 tau 蛋白的上游细胞水平^[4]。从而产生了更多新的学说和猜想。

与 A β 和 tau 蛋白一样,神经炎性反应在 AD 发病机制中起着至关重要的作用。在一项研究中^[5],对健康个体和不同年龄的 AD 患者大脑中的基因表达谱进行了分析,结果发现,与健康人相比,AD 患者的免疫或炎性反应相关基因的表达随年龄增加的幅度要大得多。随着年龄的增长,大脑变得更容易发生炎性反应过程,这可以解释为什么衰老是 AD 的主要驱动因素。一些学者认为,衰老和与年龄相关的神经变性 (包括 AD) 的特征和受损线粒体的累积相关^[6]。此外还有血管假说,即血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB) 的破坏导致神经毒性血清蛋白积聚和突触功能障碍,最终导致 A β 和 tau 清除缺陷^[4]。全基因组关联研究 (genome-wide association

studies, GWAS) 已经确定了 AD 的许多风险位点^[7]。然而,即使在许多大规模 GWAS 之后,载脂蛋白 E (ApoE) $\epsilon 4$ 等位基因仍然是 AD 的最大遗传风险因素,相应的结论也得到多项研究证实^[8-10]。在过去的 5 年里,关于 ApoE 病理生理学的机制研究已经超越了 A β 通路,包括 tau 神经纤维变性、BBB 功能障碍以及小胶质细胞和星形胶质细胞反应^[11-12]。此外,神经元胆固醇稳态和脂肪酸代谢的异常似乎有助于诱发 AD。

总的来说,上述结果表明许多病理生理过程都参与在 AD 的疾病发展过程中,包括神经炎性反应、异常小胶质细胞激活、代谢障碍、氧化应激等,都可能是干预的潜在目标。目前的研究提示 AD 是一种具有不同相互作用阶段的复杂疾病。基础研究的科学家将 AD 分为生化、细胞和临床阶段^[4],即在观察到认知症状之前,细胞的改变会在细胞阶段驱动疾病的隐匿进展^[4, 12],在临床前阶段会发生不可逆且显著的突触和神经元丢失,而一旦细胞阶段的稳态被打破,临床阶段就开始了^[4]。故而从临床前阶段进行干预,可能有助于抑制 AD 的病情进展。

2 神经干细胞治疗在 AD 中的主要机制

近年来,干细胞移植治疗神经退行性疾病越来越受到关注。干细胞移植对神经退行性疾病发展过程中的多个环节具有干预作用,如修复受损突触、调节炎性反应和神经保护等。目前,最常用于治疗神经退行性疾病的干细胞类型有 NSCs、间充质干细胞 (mesenchymal stromal cells, MSCs) 和诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs) 等。其中,NSCs 移植治疗 AD 被认为具有巨大潜力,可能在多个环节起作用,如保护毛细血管、减少 A β 和 tau 沉积、缓解炎性反应和促进神经发生等。尽管关于应使用哪种干细胞治疗 CNS 损伤患者的争论仍在继续,NSCs 在治疗各种临床前神经退行性疾病模型和分化成中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 相关细胞的能力已被报道。事实上,NSCs 已被移植到患有肌萎缩侧索硬化症和帕金森病的患者体内,已被证实是安全的且有初步效果的^[13]。NSCs 是细胞移植疗法的理想候选,因为它们在整个分化过程中与功能性神经元类型相对相似。由于胆碱能神经元损伤在与 AD 相关的认知和功能困难中发挥着重

要作用,故利用 NSCs 来替代和修复受损的胆碱能神经元,并且和原有的神经元建立新的连接可能为 AD 患者提供一种新的治疗选择。

2.1 对脑血管功能的影响

许多研究证实了脑血管功能障碍与 AD 的关系,如血管清除 A β 和 tau 功能减弱等,然而关于 BBB 功能障碍到底是 AD 的结果还是始动环节仍然存在争论^[14-15]。A β 可以通过 BBB 从中枢神经系统清除到循环系统中^[14]。因此,BBB 和脑血管系统的正常功能对于 A β 的清除至关重要。此外,保护 BBB 功能可能会促进 A β 清除以抑制 AD 进展。NSCs 可以在移植前被编辑为高表达表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、脑啡肽酶(neprilysin, NEP) 或血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF),从而起到脑血管保护作用^[14]。

2.2 减少 β -淀粉样蛋白和 tau 沉积

NSCs 移植后 A β 负荷的减少可能与降低的 β -分泌酶浓度以及更高的 NEP^[14] 有关。其他途径可能包括增加小胶质细胞募集和激活,进而触发免疫反应,促进有效的 A β 吞噬和清除^[14]。研究表明,在小鼠侧脑室移植人神经干细胞(human NSCs, hNSCs) 可以有效降低 tau 磷酸化水平,但其潜在机制仍不清楚^[14]。随着疾病的进展,移植的神经干细胞产生的神经营养酶和降解酶可以防止额外的认知能力下降。

2.3 减轻脑内炎性反应

年龄增长引起的慢性炎性反应增加可能促进 AD 的疾病进展。有研究报道 NSCs 移植治疗 AD 具有抗炎作用^[14]。移植的 NSCs 已被证明可以降低促炎细胞因子,包括白介素 1(IL-1)、IL-6、肿瘤坏死因子 α 和前列腺素 E2,以及与促炎环境相关的分子标记,如 Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR-4)^[16]。研究也发现,炎性反应减少似乎与 A β 水平无关^[14]。尽管移植干细胞后小鼠脑内炎性反应减少和认知功能增强,但 A β 水平在 NSCs 治疗后保持不变。也有其他研究得到不同的结果,提示小鼠来源的神经干细胞可以将小胶质细胞的状态从促炎状态转变为抗炎状态,从而导致炎性反应细胞因子水平的双向调节^[17]。

2.4 对神经发生和突触产生的影响

海马体在成人神经发生中起着至关重要的作用,

并且是 AD 中受影响严重的区域之一^[18]。在成年人的海马体中,位于齿状回(dentate gyrus, DG) 颗粒下区(subgranular zone, SGZ) 的神经干细胞可以不断产生新的神经元。幸存的细胞后来整合到现有的神经元回路中。成人大海马体中的异常神经发生是 AD 进展的早期重要事件。功能失调的神经发生可能会加重神经元对 AD 的易感性并导致认知障碍。关于人类的神经发生仍然存在争论。例如,一些学者认为,人类海马神经发生从童年到成年显著下降,在成人中已检测不到^[19]。也有其他学者认为人类神经发生在整个衰老过程中持续存在^[20]。尽管有上述争议,刺激神经干细胞产生新神经元的能力对于 AD 的神经替代疗法来说仍是一个充满希望的前景。多种分子参与了成人海马神经发生(adult hippocampal neurogenesis, AHN),主要有早老素(presenilin, PS1)、ApoE、淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP) 及其代谢物等。最近的一项研究表明,AHN 在神经健康的人类中反应活跃,但随 AD 的进展而逐渐下降^[18]。受损的神经发生似乎是 AD 中记忆缺陷的潜在机制。NSCs 是在 SGZ 中发现的类神经胶质细胞,可以处于静止、自我更新或增殖 3 种不同的状态。例如在 AD 中,若静止的神经干细胞觉醒,则可能会增加 AHN 以减少认知障碍。最近的研究证据表明 NSCs 在神经发生和突触产生方面具有关键作用^[14],其合成的多种基因产物,包括脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 和 VEGF,它们具有旁分泌作用,可以减轻 AD 相关的神经元丢失并改善认知^[14]。Blurton-Jones 等使用三重转基因小鼠(triple-transgenic mice, 3xTg-AD) 研究 NSCs 移植对 AD 相关认知功能障碍的影响^[21],结果表明,由 BDNF 介导的海马突触密度显著增加导致了小鼠的认知改善,而不是通过减少 A β 和 tau 沉积^[21]。因此,移植的 NSCs 释放的神经营养因子可能增加了突触密度并逆转了认知障碍^[21]。然而,这项研究并没有研究移植的 NSCs 对海马体神经发生的影响。

3 问题与展望

目前没有任何可用的动物模型能够正确模拟人类 AD,因此,很难准确研究神经干细胞移植在 AD 患者中起效的具体机制。尽管干细胞疗法已在动物

模型中被证明有效,但多项针对 AD 患者的临床试验却未得到阳性结果。因此,更完善的动物或细胞模型的研究和开发是必须的。虽然神经干细胞移植在 AD 的治疗上具有良好的前景,但伦理、免疫排

斥、基因突变和潜在的致瘤风险都是需要紧急解决的问题。目前尚无使用 NSCs 治疗 AD 患者的临床研究,故在 NSCs 被用于治疗患者前还需克服众多困难。

参考文献:

- [1] Long JM, Holtzman DM. Alzheimer disease: an update on pathobiology and treatment strategies [J]. *Cell*, 2019, 179: 312-339.
- [2] Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, et al. Alzheimer's disease[J]. *Lancet*, 2021, 397: 1577-1590.
- [3] Liu XY, Yang LP, Zhao L. Stem cell therapy for Alzheimer's disease[J]. *World J Stem Cells*, 2020, 12: 787-802.
- [4] DE Strooper B, Karan E. The cellular phase of Alzheimer's disease[J]. *Cell*, 2016, 164: 603-615.
- [5] Cribbs DH, Berchtold NC, Perreau V, et al. Extensive innate immune gene activation accompanies brain aging, increasing vulnerability to cognitive decline and neurodegeneration: a microarray study[J]. *J Neuroinflammation*, 2012, 9: 179. doi:10.1186/1742-2094-9-179.
- [6] Macdonald R, Barnes K, Hastings C, et al. Mitochondrial abnormalities in Parkinson's disease and Alzheimer's disease: can mitochondria be targeted therapeutically? [J]. *Biochem Soc Trans*, 2018, 46: 891-909.
- [7] Wingo AP, Liu Y, Gerasimov ES, et al. Integrating human brain proteomes with genome-wide association data implicates new proteins in Alzheimer's disease pathogenesis [J]. *Nat Genet*, 2021, 53: 143-146.
- [8] Yan S, Zheng C, Paranjpe MD, et al. Association of sex and APOE ε4 with brain tau deposition and atrophy in older adults with Alzheimer's disease [J]. *Theranostics*, 2020, 10: 10563-10572.
- [9] Rasmussen KL, Nordestgaard BG, Frikke-schmidt R, et al. An updated Alzheimer hypothesis: complement c3 and risk of Alzheimer's disease-a cohort study of 95,442 individuals[J]. *Alzheimers Dement*, 2018, 14: 1589-1601.
- [10] Lim YY, Kalinowski P, Pietrzak RH, et al. Association of β-amyloid and apolipoprotein εε4 with memory decline in preclinical Alzheimer disease [J]. *JAMA Neurol*, 2018, 75: 488-494.
- [11] Sung PS, Lin PY, Liu CH, et al. Neuroinflammation and neurogenesis in Alzheimer's disease and potential therapeutic approaches[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21:701. doi: 10.3390/ijms21030701.
- [12] Serrano-pozo A, Das S, Hyman BT. APOE and Alzheimer's disease: advances in genetics, pathophysiology, and therapeutic approaches[J]. *Lancet Neurol*, 2021, 20: 68-80.
- [13] Madrazo I, Kopyov O, Avila-Rodriguez MA, et al. Transplantation of human neural progenitor cells (NPC) into putamina of parkinsonian patients: a case series study, safety and efficacy four years after surgery[J]. *Cell Transplant*, 2019, 28: 269-285.
- [14] Boese AC, Hamblin MH, Lee JP. Neural stem cell therapy for neurovascular injury in Alzheimer's disease [J]. *Exp Neurol*, 2020, 324: 113112. doi:10.1016/j.exrneuro.2019.113112.
- [15] Nation DA, Sweeney MD, Montagne A, et al. Blood-brain barrier breakdown is an early biomarker of human cognitive dysfunction[J]. *Nat Med*, 2019, 25: 270-276.
- [16] Zhang Q, Wu HH, Wang Y, et al. Neural stem cell transplantation decreases neuroinflammation in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease [J]. *J Neurochem*, 2016, 136: 815-825.
- [17] Kim JA, Ha S, Shin KY, et al. Neural stem cell transplantation at critical period improves learning and memory through restoring synaptic impairment in Alzheimer's disease mouse model [J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6: e1789. doi:10.1038/cddis.2015.138.
- [18] Moreno-Jimenez EP, Flor-garcia M, Terreros-Roncal J, et al. Adult hippocampal neurogenesis is abundant in neurologically healthy subjects and drops sharply in patients with Alzheimer's disease[J]. *Nat Med*, 2019, 25: 554-560.
- [19] Sorrells SF, Paredes MF, Cebrian-Silla A, et al. Human hippocampal neurogenesis drops sharply in children to undetectable levels in adults [J]. *Nature*, 2018, 555: 377-381.
- [20] Boldrini M, Fulmore CA, Tatt AN, et al. Human hippocampal neurogenesis persists throughout aging[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22: 589-599.
- [21] Blurton-Jones M, Kitazawa M, Martinez-Coria H, et al. Neural stem cells improve cognition via BDNF in a transgenic model of Alzheimer disease[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106: 13594-13599.