

脊髓小脑性共济失调干细胞移植治疗进展

朱泽宇 综述 曹立 审校

上海交通大学医学院附属瑞金医院神经内科,上海市 200025

摘要: 脊髓小脑性共济失调(SCA)是一组常染色体显性遗传的,以进行性神经退行性变为特征的遗传异质性疾病,主要表现为进行性小脑共济失调,可严重影响患者生活质量,目前缺乏足够有效的治疗方案。干细胞具多项分化潜能,研究表明移植干细胞可分化并替代相应受损细胞,重建神经元回路,并发挥非特异性营养作用,以此达到抑制神经变性,促进神经再生的目的。本篇综述旨在系统阐述 SCA 干细胞治疗的进展及仍需面临的挑战。

关键词: 脊髓小脑性共济失调;胚胎干细胞;神经干细胞;间充质干细胞;诱导性多能干细胞

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2018.02.021

脊髓小脑性共济失调(spinocerebellar ataxia, SCA)是一组常染色体显性遗传的以在脊髓、脑干和小脑中进行性变性为特征的具有遗传异质性的神经系统退行性疾病,主要表现为进行性小脑共济失调,可伴锥体束征、锥体外系征、情绪障碍、色素性视网膜病、动眼神经功能紊乱、周围神经病和认知障碍等,并严重影响患者生活质量^[1]。依据不同致病基因,SCA 至少可分为 40 型^[2]。其中以 SCA3 最为多见,在中国 SCA 患者中约占 48%~49%^[3]。SCA 的发病机制多样,最常见由编码多聚谷氨酰胺的 CAG 重复扩增引起,也可由诸如 SCA8 和 SCA10 等基因的非编码区扩增所致^[4]。目前,针对 SCA 的治疗主要以调节神经递质、改善代谢和营养神经等药物为主,但仅能轻微改善症状,不能阻止病情进展。

干细胞具有自我更新能力和分化潜能,近年来关于其临床应用的研究取得了极大进展,为 SCA 的治疗提供了新思路。利用干细胞多向分化潜能,生成神经系细胞,以此替换相应受损细胞,通过重建神经元回路,刺激内源性再生过程,发挥非特异性营养作用来治疗 SCA^[5]。目前用于移植治疗的干细胞有胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)、神经干细胞(neural stem cell, NSC)、间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)和诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)等。

1 干细胞的定义

干细胞是一类具有自我更新能力的未成熟细胞,依据不同分化潜能可分为全能干细胞(totipotent stem cell)、多能干细胞(pluripotent stem cell)和专能干细胞(multipotent stem cell)等^[6]。不同种类的干细胞具不同特征,ESC 是一种多能干细胞,来源于囊胚全能细胞,具分化为所有 3 个胚层(内胚层、中胚层和外胚层)细胞的能力^[7]。iPSC 也为一种多能干细胞,来源于成人体细胞,其生长特征和发育潜力等与 ESC 高度相似^[8]。MSC 和 NSC 均属专能干细胞,可分化为同一胚层来源组织的所有细胞^[7]。干细胞的多向分化潜能促进了医学发展,以其为基础的细胞替代疗法在损伤修复和退行性病变中的应用具有广泛前景。

2 干细胞移植治疗 SCA

2.1 胚胎干细胞

自 1998 年首个人胚胎干细胞系建立以来^[9],人们便希望其能为各种疾病的替代疗法提供细胞来源。现如今已有大量动物实验证明 ESC 移植对帕金森病(Parkinson's disease, PD)和亨廷顿病(Huntington's disease, HD)等神经退行性病变有效^[10-13]。

为评估 ESC 移植的安全性和有效性,2009 年 Geron 公司获美国食品和药物管理局(FDA)批准,将 ESC 移植至急性脊髓损伤患者体内,是 ESC 移

基金项目: 国家自然科学基金项目(81571086);上海市教育委员会高峰高原学科建设项目(20161401);上海交通大学多学科交叉项目培育(医工)(YG2016MS64)

收稿日期: 2017-10-24; **修回日期:** 2018-01-06

作者简介: 朱泽宇(1996-),男,硕士研究生在读,主要从事神经退行性疾病、神经遗传和神经肌肉疾病的研究。E-mail:medzyzhu@163.com。

通信作者: 曹立(1974-),男,博士,副主任医师,主要从事神经退行性疾病、神经遗传和神经肌肉疾病的研究。E-mail:caoli2000@yeah.net。

植的首次人体试验^[14, 15]。2015 年, Shroff 课题组首次对 3 例 SCA 患者进行 ESC 移植治疗, 发现患者症状均有所改善, 但该移植治疗的安全性和有效性仍需进一步临床试验予以验证^[16]。

2.2 神经干细胞

NSC 可分化为神经元和星形胶质细胞等神经系统细胞, 并可产生神经营养因子, 具神经保护作用^[17, 18]。2009 年, 北京一项关于移植 NSC 治疗遗传性小脑萎缩的研究佐证了上述观点, 也说明将其用于 SCA 临床治疗的可能性^[19]。

但成人脑部体积较大, 细胞迁移距离长以及 NSC 之间及其与子代细胞之间迁移的互相抑制, 阻碍了 NSC 移植在人脑中的应用^[20]。2017 年, 加州大学研究团队^[21]发现通过对大鼠大脑传递定向电流, 可诱导 NSC 迁移(甚至可逆内在固有信号诱导方向迁移), 为 NSC 在 SCA 患者中的应用提供了新思路。

2.3 间充质干细胞

MSC 可介导损伤组织微环境的修饰以增强内源性神经再生和保护作用。在神经损伤部位移植的 MSC 可通过产生营养因子以诱导宿主神经元存活和再生, 进而促进功能的恢复^[22]。通过鞘内注射 MSC, 可抑制 SCA 小鼠模型浦肯野细胞层解体和树突分支萎缩, 进而维持其运动能力^[23]。

骨髓是最先被提出的 MSC 来源, 但骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSCs)的数量及分化潜力随供体年龄的增加而递减, 且采集的侵入性较大, 进而限制了临床应用^[24]。脐带血是 MSC 的另一来源, 相比于 BM-MSC 而言, 脐带血间充质干细胞(umbilical cord blood mesenchymal stem cells, UCB-MSC)可长期培养, 具更高的扩增潜力, 并且在形态和免疫表型方面与 BM-MSCs 无显著差异^[24]。截至目前已有多则实验证实 UCB-MSCs 可用于 SCA 患者的治疗^[25, 26]。2017 年来自美国的科研团队发现使用电针灸的方法刺激人类的特殊免疫点, 如 LI-4、LI-11、Du-14 和 Du-20 等, 可通过下丘脑和自主神经系统的活化刺激 MSC 释放入外周血中。并且, 通过该种方式诱导动员的 MSC 可离体扩增并具多向分化潜能, 有望以此作为治疗用 MSC 的另一细胞来源^[27]。

2.4 诱导性多能干细胞

Yamanaka 等^[28]利用基因转染技术给小鼠成纤维细胞导入 4 种转录因子(Oct3/4、Sox2、c-Myc 和

Klf4), 使其重构而形成的胚胎干细胞样多能细胞, 即 iPSC。通过该技术, 可利用皮肤和血细胞等获取用于细胞替代治疗的胚胎干细胞样细胞, 进而避免伦理等方面问题^[29]。

iPSC 携带病人精准的遗传学信息, 越来越多的研究将其用于遗传性疾病模型建立, 进而探索其发病机制, 寻找特异性治疗方案^[30]。迄今为止, 已有多则实验成功使用 iPSC 建立 SCA 疾病模型^[31-33]。Xia 等^[34]分别利用 SCA2 患者和正常受试者皮肤获取 SCA2 iPSC 和对照 iPSC, 发现 SCA2 iPSC 神经分化过程与对照不同。两种来源的 iPSC 均可聚集形成神经球, 但 SCA2 iPSC 无法正常形成神经花环, 代之演变为囊状样结构。

利用 iPSC 构建的疾病模型可模拟蛋白质异常。SCA3 发病与 ATXN3 蛋白异常聚集有关, L-谷氨酸可刺激 SCA3 iPSC 衍生的神经元, 启动 ATXN3 钙依赖性蛋白水解酶, 以致 ATXN3 不溶性聚集。并且通过钙蛋白酶抑制剂可抑制该过程, 表明此蛋白水解酶对 SCA3 发病具重要作用^[35]。

此外, iPSC 可用于 SCA 患者的药物筛选研究。Ishida 等^[36]发现 SCA6 iPSC 来源的浦肯野细胞可表现出甲状腺激素耗竭依赖性变性特征, 而利用促甲状腺激素释放激素(TRH)和利鲁唑可抑制该表现。

3 干细胞移植治疗 SCA 所面临的挑战

3.1 各种移植细胞的局限性

ESC、MSC、NSC 和 iPSC 等均可分化为神经系细胞, 具 SCA 治疗潜力, 但各种干细胞均具自身局限性, 选择合适的移植细胞至关重要。

ESC 是干细胞治疗的重要细胞来源, 但因伦理、免疫排斥和潜在致癌性等问题严重限制了其临床应用^[37]。

NSC 细胞来源有限, 异体移植存活率较低^[38]。此外宿主微环境的介质(生长因子、细胞因子和神经递质等)可影响移植细胞分化, 在 NSC 移植之前通过引发相应微环境, 确定合适的治疗窗口可大大增强治疗效果, 但截至目前关于宿主微环境对移植 NSC 影响的研究仍较少。另外, 移植细胞可能处于不同的分化阶段显示出不同的基因表达谱, 对这些细胞进行鉴定至关重要, 而目前仍缺乏相应特异性标记^[39]。

MSC 也可分化为神经系细胞, 且无致瘤性, 但其应用仍受免疫排斥作用的局限^[37]。截至目前,

绝大多数 MSC 治疗的临床试验并未出现严重不良反应,但由于随访时间有限,患者数量少,仍需要进一步验证其安全性^[4, 25, 26]。

iPSC 虽可解决 ESC 伦理问题,但仍具存在致癌风险、诱导与再分化效率难以保证等问题^[40]。此外,iPSC 来源于自体细胞,理论上可避免排斥反应,而 2011 年有研究表明通过移植同系小鼠 iPSC 可引起免疫排斥,与以往观点相左^[41]。尽管随后 Guha 等^[42]并未得到相似结果,认为细胞替代治疗中 iPSC 的应用不需辅以免疫抑制,但对于临床治疗而言,经基因修饰等操作后与疾病逆转相关的 iPSC 是否还保持原有未分化 iPSC 免疫特征仍未知^[43]。

3.2 较多影响因素影响干细胞移植疗效

Chang 等^[4]分别利用静脉注射和颅内注射两种途径对 SCA2 小鼠模型移植 MSC,发现静脉移植组小鼠运动功能在 33 ~ 40 周龄时明显改善,而颅内移植组无明显变化。此外,静脉注射组小鼠小脑浦肯野细胞(Purkinje cells, PCs)存活数目和移植 MSC 存活数目均高于颅内移植组,说明静脉注射途径移植 MSC 的效果较颅内注射更强。该疗效差异可能与颅内移植注射部位为髓质背面,MSC 迁移距离较长有关。

Chinatawar 等^[44]在 SCA1 小鼠模型 5 周龄、13 周龄和 24 周龄时将神经前体细胞(neural precursor cell, NPC)注射至其小脑白质,发现移植细胞仅在于 24 周龄时接受注射的小鼠中迁移至小脑皮质,而对于 PC 细胞尚未明显损失(5 周龄和 13 周龄)的小鼠,并未迁移至小脑皮质。认为 NPC 迁移可能需要相应诱导信号吸引,当 PCs 数目正常或接近正常时,无法产生足够强的诱导信号促使迁移。

故不同移植途径、不同移植时间等均可造成移植疗效的差异,如何保证治疗效果仍是一大难题。

4 结论

干细胞移植具有广阔的应用前景。干细胞可作为替代治疗的细胞来源为损伤组织的修复,神经系统变性疾病的治疗等带来新希望。利用干细胞移植建立动物模型可用于 SCA、PD 等神经退行性疾病致病机制的研究,并为研发相应药物提供支持。然而,SCA 患者干细胞治疗距大规模临床应用仍有较大差距,仍存在很多问题亟待解决,如干细胞治疗的作用机制仍不明确;尚无保证移植细胞长期存活的技术;干细胞移植受诸多因素影响;难以

保证治疗效果等。期待随着进一步研究,干细胞治疗的临床应用取得更为显著的进展。

参 考 文 献

- [1] Wagner JL, O'Connor DM, Donsante A, et al. Gene, Stem Cell, and Alternative Therapies for SCA 1 [J]. *Front Mol Neurosci*, 2016, 9: 67.
- [2] van der Stijl R, Withoff S, Verbeek DS. Spinocerebellar ataxia: miRNAs expose biological pathways underlying pervasive Purkinje cell degeneration [J]. *Neurobiol Dis*, 2017, 108: 148-158.
- [3] Bettencourt C, Lima M. Machado-Joseph Disease: from first descriptions to new perspectives [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2011, 6: 35.
- [4] Chang YK, Chen MH, Chiang YH, et al. Mesenchymal stem cell transplantation ameliorates motor function deterioration of spinocerebellar ataxia by rescuing cerebellar Purkinje cells [J]. *J Biomed Sci*, 2011, 18: 54.
- [5] Wang LM, Zhou JJ, Bai W, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation and allogeneic umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of neural degenerative diseases [J]. *J Clin Rehab Tissue Engin Res*, 2011, 15(10): 1889-92.
- [6] Fortier LA. Stem cells: classifications, controversies, and clinical applications [J]. *Vet Surg*, 2005, 34(5): 415-423.
- [7] Herberts CA, Kwa MS, Hermesen HP. Risk factors in the development of stem cell therapy [J]. *J Transl Med*, 2011, 9(1): 29.
- [8] Saric T, Hescheler J. Stem cells and nuclear reprogramming [J]. *Minim Invasive Ther Allied Technol*, 2008, 17(2): 64-78.
- [9] Thomson JA, Itskovitzeldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts [J]. *Science*, 1998, 282(5391): 1145-1147.
- [10] Bjorklund LM, Sánchez-Pernaute R, Chung S, et al. Embryonic stem cells develop into functional dopaminergic neurons after transplantation in a Parkinson rat model [J]. *Proc Nat Acad Sci*, 2002, 99(4): 2344-2349.
- [11] Zhang ZJ, Yang D, Oldenburg M, et al. Human embryonic stem cell-derived dopaminergic neurons reverse functional deficit in Parkinsonian rats [J]. *Stem cells (Dayton, Ohio)*, 2008, 26(1): 55-63.
- [12] Roy NS, Cleren C, Singh SK, et al. Functional engraftment of human ES cell-derived dopaminergic neurons enriched by coculture with telomerase-immortalized midbrain astrocytes [J]. *Nature medicine*, 2006, 12(11): 1259.
- [13] Song J, Lee ST, Kang W, et al. Human embryonic stem

- cell-derived neural precursor transplants attenuate apomorphine-induced rotational behavior in rats with unilateral quinolinic acid lesions [J]. *Neurosci Letters*, 2007, 423 (1): 58-61.
- [14] Corporation G. World's first clinical trial of human embryonic stem cell therapy cleared [J]. *Reg Med*, 2009, 4 (2): 312-320.
- [15] Barde Y. Caution urged in trial of stem cells to treat spinal-cord injury [J]. *Nature*, 2009, 458 (7234): 29.
- [16] Shroff G. Human Embryonic Stem Cells in the Treatment of Spinocerebellar Ataxia: A Case Series [J]. *Innov Clin Neurosci*, 2017, 14 (3-4): 12-16.
- [17] Björklund A, Lindvall O. Cell replacement therapies for central nervous system disorders [J]. *Nature Neurosci*, 2000, 3 (6): 537-544.
- [18] Taupin P. The therapeutic potential of adult neural stem cells [J]. *Curr Opin Mol Ther*, 2006, 8 (3): 225-231.
- [19] Tian ZM, Chen T, Zhong N, et al. Clinical study of transplantation of neural stem cells in therapy of inherited cerebellar atrophy [J]. *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2009, 41 (4): 456-458.
- [20] Ladewig J, Koch P, Brustle O. Auto-attraction of neural precursors and their neuronal progeny impairs neuronal migration [J]. *Nat Neurosci*, 2014, 17 (1): 24-26.
- [21] Feng J-F, Liu J, Zhang L, et al. Electrical Guidance of Human Stem Cells in the Rat Brain [J]. *Stem Cell Rep*, 2017, 9 (1): 177-189.
- [22] Crigler L, Robey RC, Asawachaicharn A, et al. Human mesenchymal stem cell subpopulations express a variety of neuro-regulatory molecules and promote neuronal cell survival and neurogenesis [J]. *Exp Neurol*, 2006, 198 (1): 54.
- [23] Matsuura S, Shuvaev AN, Iizuka A, et al. Mesenchymal Stem Cells Ameliorate Cerebellar Pathology in a Mouse Model of Spinocerebellar Ataxia Type 1 [J]. *Cerebellum*, 2014, 13 (3): 323-330.
- [24] Kern S, Eichler H, Stoeve J, et al. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue [J]. *Stem Cells (Dayton, Ohio)*, 2006, 24 (5): 1294-1301.
- [25] Jin JL, Liu Z, Lu ZJ, et al. Safety and efficacy of umbilical cord mesenchymal stem cell therapy in hereditary spinocerebellar ataxia [J]. *Curr Neurovasc Res*, 2013, 10 (1): 11-20.
- [26] Liu J, Xue M, Zhu L, et al. Clinical Analysis on the Treatment of Spinocerebellar Ataxia and Multiple System Atrophy-Cerebellar Type with Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells [J]. *J Tissue Engin Reconstr Surg*, 2010, 6 (5): 257-260.
- [27] Salazar TE, Richardson MR, Beli E, et al. Electroacupuncture Promotes Central Nervous System-Dependent Release of Mesenchymal Stem Cells [J]. *Stem Cells (Dayton, Ohio)*, 2017, 35 (5): 1303-1315.
- [28] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors [J]. *Cell*, 2006, 126 (4): 663-676.
- [29] Gonzalez-Romero DA. Induced-Pluripotent Stem-Derived Neuronal Progenitor Cells as A Novel Ireatment for Neurodegenerative Fiseases [J]. 2012.
- [30] Luo Y, Fan Y, Zhou B, et al. Generation of induced pluripotent stem cells from skin fibroblasts of a patient with olivopontocerebellar atrophy [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2012, 226 (2): 151-159.
- [31] Soong BW, Syu SH, Wen CH, et al. Generation of induced pluripotent stem cells from a patient with spinocerebellar ataxia type 3 [J]. *Stem Cell Res*, 2017, 18: 29-32.
- [32] Marthaler AG, Nielsen TT, Cornelius N, et al. editors. Induced pluripotent stem cells (iPSCs) derived from patients with spinocerebellar ataxia type 2 for Purkinje cell differentiation. *ISSCR*, 2015.
- [33] Hansen SK, Borland H, Hasholt LF, et al. Generation of spinocerebellar ataxia type 3 patient-derived induced pluripotent stem cell line SCA3. B11 [J]. *Stem Cell Res*, 2016, 16 (3): 553-556.
- [34] Xia G, Santostefano K, Hamazaki T, et al. Generation of human induced pluripotent stem cells to model spinocerebellar ataxia type 2 in vitro [J]. *J Mol Neurosci*, 2013, 51 (2): 237.
- [35] Koch P, Breuer P, Peitz M, et al. Excitation-induced ataxin-3 aggregation in neurons from patients with Machado-Joseph disease [J]. *Nature*, 2011, 480 (7378): 543-546.
- [36] Ishida Y, Kawakami H, Kitajima H, et al. Vulnerability of Purkinje Cells Generated from Spinocerebellar Ataxia Type 6 Patient-Derived iPSCs [J]. *Cell Rep*, 2016, 17 (6): 1482-1490.
- [37] Bongso A, Fong CY, Gauthaman K. Taking stem cells to the clinic: Major challenges [J]. *J Cell Biochem*, 2008, 105 (6): 1352-1360.
- [38] Yu Z, Zhao YM, Wang XL, et al. Advance and challenges in stem cell therapy for Alzheimer's disease [J]. *Chinese Pharmacol Bull*, 2015, 31 (7): 889-894.
- [39] Reekmans K, Praet J, Daans J, et al. Current challenges for the advancement of neural stem cell biology and transplantation research [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2012, 8 (1): 262-278.
- [40] 朱珠,王毅,赵重波.诱导多能干细胞治疗 Duchenne 型肌营养不良研究进展 [J]. *中华神经医学杂志*,