



电子、语音版

·综述·

## 干细胞治疗在阿尔兹海默病中的研究进展

杨凌涵, 曹云鹏

中国医科大学附属第一医院神经内科, 辽宁 沈阳 110001

**摘要:**阿尔兹海默病(AD)是一种中枢神经系统退行性疾病,是当前最大的医疗挑战之一。其临床特征为进行性的认知功能下降和行为损害,伴有特征性的神经病理改变,常见的有神经炎性斑块和神经纤维缠结。目前的治疗多采用对症的综合治疗方式,旨在减轻衰退症状,延缓病情发展,但并不能真正起到治愈或预防作用。干细胞是一类具有自我更新和多向分化潜能的细胞,根据分化潜能可以分为全能干细胞、多能干细胞、单能干细胞等。干细胞治疗利用自体或异体来源的干细胞,通过分离、培养、定向诱导等在体外形成细胞、外泌体、组织或器官后,植入人体内进行治疗的过程。由于干细胞具有向不同类型神经细胞、胶质细胞等的强大分化能力,干细胞治疗成了AD治疗的新思路。干细胞被移植入体内后,不仅可以分化替代受损的神经细胞,也能够通过自分泌或旁分泌作用分泌一系列神经营养因子,改善神经微环境,促进神经细胞和突触再生;通过调节胶质细胞来抑制神经炎症。在AD治疗的研究中,常用到的干细胞包括间充质干细胞、神经干细胞和诱导多能干细胞等。该文章概述了各类干细胞的主要特点,以及在AD中应用的研究进展,归纳总结了相关动物实验和临床试验方面的情况,浅谈目前存在的问题与挑战。

[国际神经病学神经外科学杂志, 2022, 49(4): 62-68]

**关键词:**阿尔兹海默病;干细胞;治疗

中图分类号:R741

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2022.04.012

### Progress in stem cell therapy for Alzheimer's disease

YANG Ling-Han, CAO Yun-Peng

Neurology Department, the First Hospital of China Medical University, Shenyang, Liaoning 110001, China

Corresponding author: CAO Yun-Peng, Email: cypcmu@163.com

**Abstract:** Alzheimer's disease (AD), a neurodegenerative disease of the central nervous system, is one of the greatest health challenges. The clinical symptoms of AD are progressive cognitive decline and behavior impairment, with characteristic neuropathological changes such as neuritic plaques and neurofibrillary tangles. Current treatment of AD mostly involves comprehensive therapies to alleviate the symptoms of decline and delay the progression of the disease, but AD cannot be cured or prevented. Stem cells have the ability of self-renewal and development into different cell types. According to differentiation potential, stem cells are divided into totipotent, multipotent, and unipotent cells. In stem cell therapy, autogenous and allogeneous stem cells are separated, cultured, and specifically induced into cells, exosomes, tissue, or organs *in vitro*, which are transplanted into the body. Because stem cells have the ability to differentiate into different types of neural cells and glial cells, stem cell therapy has become a new strategy for the treatment of AD. After being transplanted into the body, stem cells can not only differentiate and replace damaged nerve cells, but also secrete a series of neurotrophic factors through autocrine or paracrine to improve the nerve microenvironment and the regeneration of nerve cells and synapses, and inhibit neuroinflammation by regulating glial cells. In the study of treatment of AD, the commonly used stem cells are mesenchymal stem cells, neural stem cells, and induced pluripotent stem cells. In this article, we outline the main characteristics of various types of stem cells, the research progress in the application of stem cells in AD, and the results of animal ex-

收稿日期:2022-01-06;修回日期:2022-07-10

作者简介:杨凌涵(1996—),女,硕士研究生,主要从事记忆障碍与老年性痴呆的研究。

通信作者:曹云鹏(1963—),男,神经内科副主任,主任医师,博士后,主要从事记忆障碍与老年性痴呆的研究。Email:cypcmu@163.com。

periments and clinical trials. We also briefly discuss the existing problems and challenges.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2022, 49(4): 62–68]

**Keywords:** Alzheimer's disease; stem cells; therapy

阿尔兹海默病(Alzheimer's disease, AD),是痴呆的主要类型。我国的痴呆患者约占全球痴呆患者总数的25%<sup>[1]</sup>,成为痴呆患病率最高的国家。AD患者的家庭面临着极大的经济和精神压力,据调查估计2030年全球AD的社会经济成本将达到2.54万亿美元<sup>[2]</sup>。

AD患者有特征性的神经病理表现,如过度磷酸化的tau蛋白聚集在神经细胞内形成神经原纤维缠结和 $\beta$ 淀粉样蛋白( $\beta$ -amyloid protein, A $\beta$ )<sup>[3]</sup>在细胞外沉积形成神经炎症斑。此外,还有由神经元、神经纤维网和突触大量丢失所造成的大范围萎缩<sup>[3]</sup>。

AD目前尚无治疗或预防的干预措施,临床多采用对症的综合治疗方式,旨在减轻衰退症状,延缓病情发展。现阶段美国药品食品监督管理局所批准的AD药物包括胆碱酯酶抑制剂(多奈哌齐、加兰他敏和他克林)、N-甲基-D-天冬氨酸受体抑制剂(美金刚)和针对A $\beta$ 的单克隆抗体(aducanumab)等<sup>[4-5]</sup>。其他治疗方式还包括改善脑循环和脑代谢、改善精神症状等。这些治疗方案只能暂时改善症状和延缓残疾的发展,但仍不能起到完全治愈或预防作用。

目前,由于干细胞技术的不断成熟,以及干细胞向各种神经细胞、胶质细胞等不同类型细胞的分化能力,干细胞治疗的出现给AD带来了新的研究思路。研究发现,干细胞可以自我更新和分化,在AD模型鼠中可以同时发挥多种机制,明显改善小鼠的学习和记忆能力<sup>[6]</sup>。

## 1 干细胞治疗概述

### 1.1 干细胞的概念与分类

干细胞是个体发育中的一类具有自我复制和多向分化潜能的非特异性细胞,具有非对称分裂等特征,能够分

化成多个细胞谱系,是组织不断更新和再生的必要条件<sup>[7]</sup>。干细胞在不同疾病中的治疗发挥了巨大的潜力。在治疗应用中,分离培养的干细胞可以被直接注射到受损的细胞或组织部位,通过替代受损细胞或者通过旁分泌作用促进内源性细胞再生等发挥作用;此外,由于其分泌的细胞外囊泡含有促进组织再生的细胞因子,因此也可以用来代替细胞进行移植。

在人体胚胎发育的各个阶段中,干细胞的分化潜能随着胚胎的发育而逐渐降低<sup>[8]</sup>,根据在个体发育过程中出现的时间不同,干细胞可以分为胚胎干细胞和成体干细胞,胚胎干细胞是起源于囊胚内细胞团,具有全能性,能够分化为所有类型的细胞<sup>[9]</sup>;成体干细胞是指存在于特定分化的组织器官内的具有多向分化能力的细胞,用以补充受损组织或死亡的细胞<sup>[10]</sup>。根据其分化潜能又可以分为全能干细胞、多能干细胞、少能干细胞和单能干细胞等。

研究干细胞治疗的一个重要方面是选择合适的细胞来源。干细胞的基本来源包括:胚胎或胎儿组织,如脑组织、胎盘、脐带、羊水;成人特定部位的组织,如脂肪、骨髓;经基因重编程后分化的体细胞<sup>[7]</sup>。其中常用的干细胞分类见表1。

### 1.2 干细胞治疗的临床应用

干细胞治疗目前已经在多个疾病领域开展了研究和临床应用,包括血液系统疾病、神经系统疾病等。

在血液系统疾病中干细胞的临床应用相对成熟。目前临床主要应用的是造血干细胞移植(hematopoietic stem cell transplantation, HSCT),将健康的造血干细胞移植入体内,通过重建造血和免疫系统而达到根治血液系

表1 常用干细胞分类

干细胞种类	细胞来源	分化潜能	优势
胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)	囊胚的内细胞团 <sup>[9,11]</sup>	全能干细胞	分化能力最强,能分化为所有组织类型的细胞;可在体外大量扩增;便于基因操作 <sup>[12]</sup>
造血干细胞(haematopoietic stem cells, HSCs)	胚胎干细胞	多能干细胞	具有造血功能,能分化为红细胞、白细胞、血小板、免疫细胞等
间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)	脐带血或华通氏胶(UC-MSCs)、骨髓(BM-MSCs)、脂肪组织(Ad-MSCs)、胎盘(P-MSCs)	多能干细胞	来源广泛,容易获得;可作自体移植,避免伦理问题和免疫排斥;可穿过血脑屏障,在受损区域内发挥治疗作用 <sup>[6]</sup>
神经干细胞(neural stem cells, NSCs)	胎儿或死后新生脑组织、ESCs、iPSCs分化而成	多能干细胞	可以从其他类型的干细胞中获得
诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)	体外成熟的体细胞	经小分子处理或病毒载体基因修饰后,变成多能干细胞	可避免伦理道德和免疫排斥问题 <sup>[13]</sup> ;可分化为多种细胞类型,灵活性较大 <sup>[14]</sup>

统疾病的一种治疗方法。例如严重再生障碍性贫血的患者可以通过造血干细胞的移植达到基本治愈或缓解;此外,造血干细胞移植还主要用于白血病、难治性或复发性淋巴瘤、骨髓瘤等疾病<sup>[15]</sup>。

干细胞治疗在神经系统疾病中的应用已经开展了广泛研究,主要适应证包括缺血性脑卒中、脊髓损伤、帕金森病、阿尔兹海默病等。缺血性脑卒中是由于脑血管病变导致局部脑组织缺血、缺氧、坏死而出现一系列神经功能缺损的症状。传统的治疗方法主要包括抗血小板治疗、抗凝治疗、溶栓治疗、介入治疗等,但是治疗窗的狭窄为治疗带来很大的限制,很多患者仍可能有残疾等后遗症。因此,针对细胞的替代疗法备受青睐,其中干细胞治疗被广泛研究。干细胞在缺血性脑卒中治疗涉及多种机制,主要包括细胞迁徙、分泌神经生长因子、抑制细胞凋亡、抑制神经炎症、血管重塑等。有研究发现,将脂肪来源的间充质干细胞移植入大鼠卒中模型中,可以显著增加功能性血管生成和神经发生,从而使行为改善<sup>[16]</sup>。有学者研究发现,iPSCs-NSCs可以通过神经营养因子的作用改善急性脑中小鼠模型的神经系统功能紊乱以及降低炎症因子的水平,并增加BDNF的表达,为神经系统添加保护机制,从而改善受损的神经系统功能以及行为功能<sup>[17]</sup>。目前全球在clinicaltrials.gov上注册的关于干细胞治疗脑卒中的临床试验已经近百例。I/II期临床试验(NCT01297413)显示,静脉输注间充质干细胞治疗慢性卒中和严重功能缺陷患者能够改善行为功能,并且是安全的<sup>[18]</sup>。

## 2 干细胞在阿尔兹海默病中的应用

干细胞治疗的可能机制包括:促进内源性细胞再生和组织修复、外源性干细胞替代疗法以及炎症反应的调节等。

干细胞移植后可以改善大脑内的微环境,同时具有旁分泌效应,上调神经营养因子刺激海马神经再生和突触再生以对抗神经退化。然而,海马区变性的神经元数量太多,而且成人海马细胞发生率随年龄增长而不断下降<sup>[19]</sup>,因此这种“补偿机制”几乎不可能实现海马完全的修复。

外源性细胞疗法是引入干细胞来代替丢失和受损的神经元。例如,理论上可以将干细胞来源的胆碱能神经元移植可以替代基底前脑退化的神经元。Bissonnette等<sup>[20]</sup>学者成功将人ESC分化成纯的胆碱能神经元群体,使得细胞替代疗法迈出重要一步。

干细胞具有旁分泌和自分泌功能,能分泌各种细胞因子,如炎症细胞因子、转录因子、趋化因子等,参与免疫反应、炎症反应的调节及转录调控。干细胞还可通过调节胶质细胞的活动来抑制炎症反应。

### 2.1 ESCs在AD中的应用

2.1.1 可能机制 ESCs是从囊胚的内细胞团分离而来,分化具有全能性,能够分化为几乎所有类型的细胞。体外培养的ESCs目前已被证实能够成功分化成神经元、神经胶质细胞以及胆碱能、GABA能和儿茶酚胺能神经元等多种表型细胞<sup>[21]</sup>。ESCs还可衍生为内侧神经节隆起前体细胞<sup>[22]</sup>,这是一种存在于大脑内的一种临时性的干细胞类型,移植入脑损伤模型鼠后,能分化为GABA中间神经元,通过突触连接与宿主的海马神经进行整合<sup>[23]</sup>。

2.1.2 动物实验研究 ESCs移植在AD动物模型中的实验成果较少,大多数临床前研究是将ESCs作为移植细胞的来源而进行。ESCs衍生的免疫和基质调节细胞移植可以改善早期AD模型小鼠的认知缺陷,可能机制是抑制炎症反应以及小胶质细胞的激活<sup>[24]</sup>。唐军等<sup>[25]</sup>将人体外诱导胚胎干细胞分化为神经前体细胞(neural precursor cells, NPCs),并移植入AD模型大鼠体内,结果发现,存活的NPCs在微环境作用下发生迁移并分化为星形胶质细胞,能够促进胶质细胞和神经细胞的分化,对大鼠的空间学习记忆障碍有不同程度的改善。源于MSCs的胸腺上皮祖细胞(TEPs)移植入AD小鼠体内,在体内进一步分化为胸腺上皮细胞(TECs),可以增加AD小鼠A $\beta$ 特异性T细胞,促进脾内B细胞生成并且分泌抗A $\beta$ 抗体,从而减少AD小鼠A $\beta$ 斑块水平,改善认知能力<sup>[26]</sup>。ESCs来源的基底前脑胆碱能神经元(basal forebrain cholinergic neurons, BFCNs)移植入AD模型小鼠的基底前脑后,主要分化为成熟的胆碱能神经元,能够在功能上整合到内源性的胆碱能投射系统中,改善小鼠的学习和记忆能力<sup>[27]</sup>。

### 2.2 MSCs在AD中的应用

2.2.1 可能机制 MSCs常用的获取途径包括人体的脂肪组织、脐带血、骨髓、羊水等,它的来源广泛、容易获取等特性使其受到研究者们较多的关注。MSCs具有强大的旁分泌功能,主要分泌神经营养因子和炎症细胞因子等<sup>[28]</sup>,参与诱导神经再生、再髓鞘化、免疫调节和抗凋亡等机制。除此之外,MSCs还可以分泌细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs),其中外泌体(exosomes)的研究较为成熟,外泌体是一种脂质双层囊泡,可以传递功能细胞蛋白、mRNA和miRNA、生长因子等,参与细胞间信号传递,通过多条信号通路发挥抗炎、抗凋亡、增加抗氧化能力等作用<sup>[29-31]</sup>。

抗A $\beta$ 和调节炎症反应:有学者发现,AD模型大鼠实验和细胞模型实验证实了EVs通过miR-29c-3p/BACE1轴发挥作用,通过WNT/ $\beta$ -catenin信号通路,降低了A $\beta$ <sub>1-42</sub>和炎症因子IL-1、IL-6和TNF- $\alpha$ 的水平,明显增加了神经元活力,明显减少了细胞凋亡<sup>[31]</sup>;MSCs还可上调抗炎因子IL-4、IL-10的表达<sup>[29]</sup>。



诱导神经再生:MSCs可分泌脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、胰岛素生长因子(insulin like growth factor-1, IGF-1)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等神经营养因子,可诱导内源性神经发生和血管生成<sup>[6]</sup>。将MSCs移植到脑室下区或齿状回可以刺激内源性NSCs的增殖、分化和成熟,使其向神经元表型分化<sup>[32]</sup>。

抗凋亡:MSCs可能通过分泌生长因子、以PTEN为靶点激活PI3K/Akt通路,增加抗凋亡因子和降低半胱天冬酶-3的活性等来抑制谷氨酸兴奋性诱导的凋亡<sup>[30, 33]</sup>。

抗tau蛋白:有报道称MSCs对tau蛋白有抑制作用。海马内植入MSCs可显著降低过度磷酸化tau蛋白,这可能与A $\beta$ <sub>42</sub>水平降低有关<sup>[34-35]</sup>。

促进DNA修复:经MSCs治疗后神经细胞的BRCA1基因的表达式明显增多<sup>[35]</sup>,在修复受损DNA中起关键作用<sup>[36]</sup>。

**2.2.2 细胞实验及动物实验研究** 细胞实验中,经过6种组织来源的MSCs治疗后的神经细胞的tau蛋白表达量明显下降,而BRCA1的表达式明显上升,细胞形态、功能、树突数量以及超微结构等各方面也都有了明显的改善,这证明了MSCs对AD细胞模型有修复作用<sup>[35]</sup>;动物实验研究发现,AD模型鼠移植不同来源的MSCs后,其行为学能得到明显改善,这证明了MSCs在恢复认知和学习记忆功能方面的潜力<sup>[37]</sup>。何佳等<sup>[38]</sup>向AD模型大鼠海马区域注射胎盘MSC,结果显示,胎盘MSC移植可以显著改善AD大鼠的空间学习记忆能力,减少大脑内神经递质。

### 2.3 NSCs在AD中的应用

**2.3.1 可能机制** NSCs属于多能干细胞,可分化为神经元、神经胶质细胞等<sup>[39]</sup>。有研究发现,通过维A酸预诱导和NGF诱导NSCs分化为胆碱能神经元样细胞

(cholinergic neuron-like cells, CNLs),并将其移植到APP/PS1小鼠双侧海马后,可以分化为功能性的胆碱能神经元来减轻模型鼠的认知功能减退<sup>[40]</sup>。NSCs也具有强大的旁分泌作用,能够通过分泌一些神经保护因子和免疫调节因子,促进神经生长<sup>[39]</sup>。此外,有研究发现,NSCs可以明显减少小胶质细胞和星形胶质细胞的增生,并降低TLR4的表达量,抑制其介导的炎症通路,从而减轻AD小鼠的炎症损伤。此外,NSCs还可减少炎症因子的表达<sup>[41]</sup>。

**2.3.2 动物实验研究** 有研究发现,将NSCs通过纤维支架材料联合多种细胞因子移植入AD模型鼠后,小鼠对新物体的识别和记忆能力均得到明显的改善<sup>[42]</sup>。有学者用多模态影像检测NSCs在AD模型小鼠中的治疗效果时,发现移植的NSCs在小鼠脑内能够通过调节小胶质细胞的活性、分泌神经营养因子、降低脑内淀粉样蛋白等改善脑内代谢和脑血流<sup>[43]</sup>。

### 2.4 iPSCs在AD中的应用

iPSCs是iPSCs能表达人ESCs的特异性表面抗原,同时表现出较高的端粒酶活性和多重分化潜能<sup>[44]</sup>,可以分化成3个胚层的所有细胞类型<sup>[45]</sup>。Fujiwara等<sup>[46]</sup>曾研究了iPSCs改善小鼠空间记忆障碍的作用机制,发现iPSCs衍生的胆碱能神经元前体细胞移植后分布于海马体周围,分化为胆碱乙酰转移酶阳性的人胆碱能神经元和GABA转运体阳性的人GABA能神经元。

### 3 干细胞在AD中的临床试验

目前全球在clinicaltrials.gov上已注册的干细胞治疗AD的临床试验已近20项,以MSCs的研究为主,多处于I/II期阶段,且大多数尚在进行中;中国临床注册中心也有注册的临床试验,但是统计数据尚未公开。

2017年,Nature Cell公司进行了I/II期随机对照临

表2 干细胞AD动物实验方法

干细胞类型	动物模型	干细胞制备方法	给药方式	行为学结果	其他观察结果	治疗机制
mBM-MSCs <sup>[47]</sup>	APPswe/PS1 $\Delta$ E9双转基因鼠模型	取C57BL/6小鼠股骨和胫骨分离培养,制备EV悬液	立体定向注射入新皮质	—	海马和大脑皮质的A $\beta$ 斑块面积、稳定性和密度明显下降	抗神经炎症作用、免疫调节作用、抗A $\beta$ 作用
hUC-MSCs <sup>[48]</sup>	小鼠海马定点注射链脲佐菌素(STZ)制备AD急性脑损伤模型	脐带分离脐带血、剔除动静脉后分离培养,提取外泌体	尾静脉注射	认知能力显著增加,抑郁及焦虑情绪明显缓解	海马BDNF水平显著提高	MSCs外泌体通过提高BDNF水平调控行为学功能
hUC-MSCs <sup>[49]</sup>	APPswe/PSEN1双转基因鼠模型	—	尾静脉注射	—	脑内微血管密度增加、海马DG区细胞数增加	UC-MSCs影响海马DG区神经再生
hP-MSCs <sup>[50]</sup>	小鼠腹腔注射A $\beta$ <sub>1-42</sub> 制备AD模型	取足月妊娠胎盘的羊膜分离培养	—	小鼠的学习和记忆缺陷得到了改善	成年神经祖细胞的神经过发生得到恢复	抗神经炎症作用、抗淀粉样变作用
mNSCs <sup>[42]</sup>	APP/PS1转基因小鼠模型	取C57BL/6J孕鼠胚胎的海马,分离出NSCs,进行原代培养、体外分化及鉴定	立体定向注射入两侧海马	模型鼠的记忆认知功能有持续明显的改善	移植的NSCs能够长时间存活,并分化成功能的胆碱能神经元	营养因子能提高移植细胞活力、改善宿主脑内微环境

床试验(NCT03117738),以评估 AstroStem(Ad-MSC)在AD患者中的安全性和有效性,共招募了21名50岁以上的AD患者(AstroStem组11名,安慰剂组10名),AstroStem组在第0周静脉注射 $2 \times 10^8$ 个Ad-MSC。主要结果指标为治疗相关不良事件评估和ADAS-Cog评分结果。随访30周后,最终结果显示:与安慰剂组相比,AstroStem组认知功能得到一定改善,提示AdMSC对AD患者是一种安全可行的治疗方法,且能一定程度改善患者认知功能。该试验最终的统计结果尚未发表。

2014年, Kim等<sup>[51]</sup>对9名轻中度AD患者(低剂量组3

名,高剂量组6名)进行了第一阶段的I期临床试验(NCT02054208),以评估人脐带血源性MSCs的安全性和剂量限制毒性。其中,低剂量组脑室注射 $1 \times 10^7$ 个细胞/2 mL,高剂量组注射 $3 \times 10^7$ 个细胞/2 mL,每4周一次,共进行3次重复注射。结果显示脑室注射hUCB-MSCs是可行且安全的、耐受性良好。该试验的第二阶段招募36名受试者(高剂量组24名、安慰剂组12名),对他们进行了探索性疗效研究,该部分结果尚未公开发布。近期相关临床试验总结见于表3。

表3 干细胞治疗的AD临床试验(数据来自中国临床试验注册中心和clinicaltrials.gov)

干细胞类型 (登记编号)	阶段	受试者	实验目的	输入方式及剂量	主要结果指标
Ad-MSCs 外泌体 (NCT04388982)	I/II期 (招募中)	9名50岁以上 轻至中度AD 受试者 (2020~2022)	评估来自同种异体脂肪间充质 干细胞的外泌体(MSCs-Exos)在 AD受试者中的安全性和有效性	滴鼻给药低中高剂量依次 为:5 $\mu$ g、10 $\mu$ g、20 $\mu$ g,每 周2次,持续12周	治疗相关肝肾功能实验室 值异常;治疗相关不良事 件发生率
AstroStem (Ad-MSCs) (NCT04482413)	IIb期 (尚未 招募)	80名50岁及以 上轻度AD受 试者 (2021~2023)	比较 AstroStem 与 多奈哌齐治疗 轻度AD的疗效和安全性	静脉注射每4周注射一次 AstroStem或多奈哌齐,每 次5 mg,持续16周	ADAS-Cog
h-MSCs (NCT02833792)	II期 (招募中)	40名55~80岁 轻至中度AD 受试者 (2016~2023)	评估hMSCs对轻至中度AD受试 者的安全性和耐受性及初步疗 效	静脉注射单次注射 150万个细胞/kg	不良事件发生率; NIHSS量表
NEUROSTEM(hUCB-MSCs) (NCT03172117)	I/II期 (招募中)	45名50~86岁 AD受试者 (2017~2021)	评估受试者初始用药后长达36 个月的安全性和有效性	脑室给药 低剂量: $1 \times 10^7$ 个细胞/2 mL 高剂量: $3 \times 10^7$ 个细胞/2 mL 每4周进行3次重复给药	ADAS-Cog
ANGE-S004 (NSCs) (ChiCTR2000039011)	(尚未 招募)	36名50~75岁 中重度早发型 AD受试者 (2021~2023)	初步观察人源神经干细胞 (ANGE-S004)经鼻腔滴入治疗早 发型AD的安全性和有效性,为 进一步临床应用提供参考	鼻腔滴入 分高中低剂量组	不良事件发生率、SIB评 分、MMSE评分、CIBIC- plus评分、NPI评分、QOL- AD评分、ADCS-ADL评分
ahaMSCs-Exo(ChiC- TR2000032579)	I/II期 (尚未 招募)	9名50岁以上 轻至中度AD 受试者 (2020~2021)	评价异体人源脂肪间充质干细 胞外泌体(ahaMSCs-Exo.)在治 疗AD引起的轻度至中度痴呆患 者中的安全性和有效性	鼻腔滴入 高中低剂量组分别为20 $\mu$ g、10 $\mu$ g、5 $\mu$ g	安全性指标

注: ADAS-Cog=阿尔兹海默病评定量表-认知分量表; NIHSS=神经功能缺损评分; SIB=严重损害量表; MMSE=简易智力状态检查量表; CIBIC-plus=临床医生通过面谈对变化的印象; NPI=神经精神科问卷; QOL-AD=AD生活质量量表; ADCS-ADL=AD日常生活能力量表

#### 4 总结与展望

阿尔兹海默病是一种与年龄相关的神经退行性疾病,目前尚无有效的治疗手段。目前,鉴于干细胞技术不断成熟,以及干细胞强大的分化再生能力,干细胞治疗在AD中的研究越来越深入。干细胞治疗在AD临床前模型中被证明能从多方面的机制中发挥作用,在AD的治疗方面具有强大的潜力和前景,但是临床研究的有效数据支持仍然不足,其临床应用也受很多因素的限制,在临床上市之前,仍有很多的问题亟须解决和阐明。

首先是伦理问题。例如 ESCs 多从胚胎的囊胚阶段中分离得到,因此临床应用中细胞来源十分有限且备受争议。第二,致瘤性需明确。ESCs 的无限增殖能力使它在移植时易形成畸胎瘤<sup>[52]</sup>; iPSCs 移植也被发现有畸胎瘤和癌症形成的风险,某大型动物模型实验结果表明,未分化的 iPSCs 可能形成畸胎瘤,而 iPSCs 来源的祖细胞可以在体内产生功能性组织<sup>[53]</sup>。第三,干细胞治疗的最佳时间需要明确。第四,干细胞移植后在体内的存活率、迁移性、分化能力等作用机制仍需更多的数据支持和阐明。

第五,免疫排斥反应。iPSCs在基因重组后可能导致基因失调,因而转录和表观遗传具有不稳定性,可能引发免疫排斥反应<sup>[54]</sup>;异体来源的干细胞也会引起免疫排斥。

因此,在进行临床试验之前需要对这些问题进行实际检查,对干细胞的作用机制、安全性、有效性进行更深入的研究,才能真正排除细胞移植治疗的风险,从而应用到临床中去。

### 参 考 文 献

- [1] GBD 2016 Neurology Collaborators. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016[J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(5): 459-480.
- [2] JIA JP, WEI CB, CHEN SQ, et al. The cost of Alzheimer's disease in China and re-estimation of costs worldwide[J]. *Alzheimer's Dement*, 2018, 14(4): 483-491.
- [3] BREIJYEH Z, KARAMAN R. Comprehensive review on Alzheimer's disease: causes and treatment[J]. *Molecules*, 2020, 25(24): 5789.
- [4] YIANNPOULOU KG, PAPAGEORGIOU SG. Current and future treatments in Alzheimer disease: an update[J]. *J Cent Nerv Syst Dis*, 2020, 12: 1179573520907397.
- [5] 徐雅楠, 赵志刚. 治疗阿尔茨海默病的新药 Aducanumab[J]. *中国临床药理学杂志*, 2022, 38(4): 352-355.
- [6] AMEMORI T, JENDELOVA P, RUZICKA J, et al. Alzheimer's disease: mechanism and approach to cell therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(11): 26417-26451.
- [7] BACAKOVA L, ZARUBOVA J, TRAVNICKOVA M, et al. Stem cells: their source, potency and use in regenerative therapies with focus on adipose-derived stem cells - a review[J]. *Biotechnol Adv*, 2018, 36(4): 1111-1126.
- [8] ALESSANDRINI M, PREYNAT-SEAUVE O, DE BRUIN K, et al. Stem cell therapy for neurological disorders[J]. *S Afr Med J*, 2019, 109(8b): 70-77.
- [9] THOMSON JA, ITSKOVITZ-ELDOR J, SHAPIRO SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts[J]. *Science*, 1998, 282(5391): 1145-1147.
- [10] VERFAILLIE CM. Adult stem cells: assessing the case for pluripotency[J]. *Trends Cell Biol*, 2002, 12(11): 502-508.
- [11] HUR YH, FENG S, WILSON KF, et al. Embryonic stem cell-derived extracellular vesicles maintain ESC stemness by activating FAK[J]. *Dev Cell*, 2021, 56(3): 277-291.e6.
- [12] 吴旋. 基因工程化胚胎干细胞用于AD治疗的基础实验研究[D]. 重庆:第三军医大学, 2001.
- [13] DUNCAN T, VALENZUELA M. Alzheimer's disease, dementia, and stem cell therapy[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 111.
- [14] GLICKSMAN MA. Induced pluripotent stem cells: the most versatile source for stem cell therapy[J]. *Clin Ther*, 2018, 40(7): 1060-1065.
- [15] ZHANG XH, CHEN J, HAN MZ, et al. The consensus from The Chinese Society of Hematology on indications, conditioning regimens and donor selection for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: 2021 update[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 145.
- [16] RYU B, SEKINE H, HOMMA J, et al. Allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cell sheet that produces neurological improvement with angiogenesis and neurogenesis in a rat stroke model[J]. *J Neurosurg*, 2019, 132(2): 442-455.
- [17] ECKERT A, HUANG L, GONZALEZ R, et al. Bystander effect fuels human induced pluripotent stem cell-derived neural stem cells to quickly attenuate early stage neurological deficits after stroke[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4(7): 841-851.
- [18] LEVY ML, CRAWFORD JR, DIB N, et al. Phase I/II study of safety and preliminary efficacy of intravenous allogeneic mesenchymal stem cells in chronic stroke[J]. *Stroke*, 2019, 50(10): 2835-2841.
- [19] BOLDRINI M, FULMORE CA, TARTT AN, et al. Human hippocampal neurogenesis persists throughout aging[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(4): 589-599.e5.
- [20] BISSONNETTE CJ, LYASS L, BHATTACHARYYA BJ, et al. The controlled generation of functional basal forebrain cholinergic neurons from human embryonic stem cells[J]. *Stem Cells*, 2011, 29(5): 802-811.
- [21] HOSSEINI K, LEKHOLM E, AHEMAITI A, et al. Differentiation of human embryonic stem cells into neuron, cholinergic, and glial cells[J]. *Stem Cells Int*, 2020, 2020: 8827874.
- [22] LIU Y, WEICK JP, LIU HS, et al. Medial ganglionic eminence-like cells derived from human embryonic stem cells correct learning and memory deficits[J]. *Nat Biotechnol*, 2013, 31(5): 440-447.
- [23] HSIEH JY, BARABAN SC. Medial ganglionic eminence progenitors transplanted into hippocampus integrate in a functional and subtype - appropriate manner[J]. *eNeuro*, 2017, 4(2): ENEURO.0359-16.2017.
- [24] LIU J, HOU ZR, WU J, et al. Infusion of hESC derived Immunity-and-matrix regulatory cells improves cognitive ability in early-stage AD mice[J]. *Cell Prolif*, 2021, 54(8): e13085.
- [25] 唐军. 小鼠胚胎干细胞诱导分化为神经前体细胞及其移植治疗Aβ海马注射损伤AD大鼠的研究[D]. 重庆:第三军医大学, 2006.
- [26] ZHAO J, SU M, LIN YJ, et al. Administration of amyloid precursor protein gene deleted mouse ESC-derived thymic epithelial progenitors attenuates Alzheimer's pathology[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1781.
- [27] YUE W, LI YY, ZHANG T, et al. ESC-derived basal forebrain cholinergic neurons ameliorate the cognitive symptoms associated with Alzheimer's disease in mouse models[J]. *Stem Cell Reports*, 2015, 5(5): 776-790.
- [28] FURNO DLO, MANNINO G, GIUFFRIDA R. Functional role of mesenchymal stem cells in the treatment of chronic neurodegenerative diseases[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(5): 3982-3999.

- [29] CUI GH, GUO HD, LI H, et al. RVG-modified exosomes derived from mesenchymal stem cells rescue memory deficits by regulating inflammatory responses in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Immun Ageing*, 2019, 16: 10.
- [30] WEI H, XU YH, CHEN Q, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomal miR-223 regulates neuronal cell apoptosis[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(4): 290.
- [31] SHA S, SHEN XL, CAO YP, et al. Mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles ameliorate Alzheimer's disease in rat models via the microRNA-29c-3p/BACE1 axis and the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(11): 15285-15306.
- [32] KAN I, BARHUM Y, MELAMED E, et al. Mesenchymal stem cells stimulate endogenous neurogenesis in the subventricular zone of adult mice[J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2011, 7(2): 404-412.
- [33] LU S, LU CH, HAN Q, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells protect PC12 cells from glutamate excitotoxicity-induced apoptosis by upregulation of XIAP through PI3-K/Akt activation[J]. *Toxicology*, 2011, 279(1-3): 189-195.
- [34] IKEHARA S, LI M. Stem cell transplantation improves aging-related diseases[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2014, 2: 16.
- [35] 刘嘉婧. 六种不同组织来源间充质干细胞对阿尔茨海默病模型中损伤神经细胞的修复作用[D]. 广州:南方医科大学, 2017.
- [36] YOSHIDA K, MIKI Y. Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage[J]. *Cancer Sci*, 2004, 95(11): 866-871.
- [37] 邓莹,李劲涛,曹光琼. NGF-BMSCs移植对阿尔兹海默病大鼠神经行为学的改善[J]. *昆明医科大学学报*, 2017, 38(6): 5-8.
- [38] 何佳,鄢波,宋晓征,等. 胎盘间充质干细胞移植改善阿尔茨海默模型大鼠行为学及脑内的神经递质[J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(29): 4650-4656.
- [39] 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(32): 13594-13599.
- [40] GU G, ZHANG W, LI M, et al. Transplantation of NSC-derived cholinergic neuron-like cells improves cognitive function in APP/PS1 transgenic mice[J]. *Neuroscience*, 2015, 291: 81-92.
- [41] 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(4): 815-825.
- [42] 刘延明. 神经干细胞联合多种细胞因子及纤维蛋白支架材料改善阿尔兹海默病小鼠认知记忆障碍研究[D]. 青岛:青岛大学, 2018.
- [43] 沈智伟. 多模态影像评估和监测神经干细胞移植治疗阿尔兹海默病的实验研究[D]. 北京:北京协和医学院, 2019.
- [44] YU JY, VODYANIK MA, SMUGA-OTTO K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells[J]. *Science*, 2007, 318(5858): 1917-1920.
- [45] FENG CJ, JIA YD, ZHAO XY. Pluripotency of induced pluripotent stem cells[J]. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2013, 11(5): 299-303.
- [46] FUJIWARA N, SHIMIZU J, TAKAI K, et al. Restoration of spatial memory dysfunction of human APP transgenic mice by transplantation of neuronal precursors derived from human iPS cells[J]. *Neurosci Lett*, 2013, 557 Pt B: 129-134.
- [47] ELIA CA, TAMBORINI M, RASILE M, et al. Intracerebral injection of extracellular vesicles from mesenchymal stem cells exerts reduced A $\beta$  plaque burden in early stages of a preclinical model of Alzheimer's disease[J]. *Cells*, 2019, 8(9): 1059.
- [48] 牛玉虎. 人间充质干细胞外泌体对海马神经再生及阿尔兹海默症动物模型治疗效应及机制的研究[D]. 太原:山西医科大学, 2021.
- [49] 尹静茹. 人脐带间充质干细胞对APP<sup>swe</sup>/PSEN1双转基因鼠脑内微血管密度及神经再生的影响[D]. 沈阳:中国医科大学, 2019.
- [50] YUN HM, KIM HS, PARK KR, et al. Placenta-derived mesenchymal stem cells improve memory dysfunction in an A $\beta$ 1-42-infused mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4(12): e958.
- [51] KIM HJ, CHO KR, JANG H, et al. Intracerebroventricular injection of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells in patients with Alzheimer's disease dementia: a phase I clinical trial[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2021, 13(1): 154.
- [52] FONG CY, GAUTHAMAN K, BONGSO A. Teratomas from pluripotent stem cells: a clinical hurdle[J]. *J Cell Biochem*, 2010, 111(4): 769-781.
- [53] HONG SG, WINKLER T, WU CF, et al. Path to the clinic: assessment of iPSC-based cell therapies in vivo in a nonhuman primate model[J]. *Cell Rep*, 2014, 7(4): 1298-1309.
- [54] ATTWOOD SW, EDEL MJ. iPS-Cell technology and the problem of genetic instability-can it ever be safe for clinical use?[J]. *J Clin Med*, 2019, 8(3): 288.

责任编辑:龚学民