

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.30.036

神经干细胞治疗阿尔茨海默病的研究进展*

朱 琼,徐亚丽[△]综述,刘 政 审校

(第三军医大学附属新桥医院超声科,重庆 400037)

[关键词] 阿尔茨海默病;神经干细胞;治疗

[中图分类号] R742

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)30-4286-03

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)属于神经退行性疾病,其神经元的变性和缺失是不可逆转的,确诊后生存期仅为 3~9 年^[1]。20 世纪 90 年代以来,AD 患病率增加超过了 50%甚至更多^[2]。目前,AD 患者已超过 4 000 万,亟待新的治疗方法。神经干细胞(neural stem cells, NSCs)给 AD 的治疗带来了新的希望。但是,成体内的内源性 NSCs 数量极其有限,希望通过刺激内源性 NSCs 增殖分化,或移植外源性 NSCs 到病灶处,以修复受损的神经组织,补充缺失的神经元,为 AD 提供一种崭新的神经元替代治疗方法。

1 NSCs

NSCs 是具有自我更新和多向分化潜能的原始细胞,可分化为神经元、星形胶质细胞及少突胶质细胞等多种类型的神经细胞,且具有高迁移、高播散及低免疫原性的特点。NSCs 最早由 Reynolds 等^[3]从成年小鼠纹状体中分离得到,之后发现在中枢神经系统的多个部位都有 NSCs 的存在,成人的 NSCs 主要存在于侧脑室下区和海马齿状回颗粒下层,其特征性的标志物是神经巢蛋白。

研究发现移植 NSCs 不仅能分化为多种类型的神经细胞替代缺失神经组织,同时能产生多种细胞因子,如脑源性神经营养因子、神经生长因子及胶质源性神经营养因子等,并促进突触发生、调节其可塑性^[4-5],进而有效改善 AD 动物认知、学习与记忆功能。但 NSCs 究竟是分裂为子代干细胞,还是分化为成熟子代细胞,如何调控其分化方向,其中的机制又是如何,是目前学者们研究的热点。研究发现,脑源性神经营养因子、胶质源性神经营养因子、血管紧张素 II 和促红细胞生成素等均能促进 NSCs 向神经元分化。多种信号通路也与 NSCs 分化相关。有研究发现,丙戊酸钠能通过激活 Wnt-3 α 和 Wnt/ β -catenin 通路,诱导 NSCs 向神经元的分化^[6]。关于 G 蛋白偶联受体 5-核因子- κ B(GRK5-NF- κ B)通路在 NSCs 的分化中的作用,Zhang 等^[7]研究表明,敲除 GRK5 后,NSCs 不仅分化受到抑制,而且促进了 NSCs 的凋亡,其机制可能是 GRK5 敲除后,NF- κ B 的转录和 LKB1(一种抑癌基因)的磷酸化受到抑制,同时激活了 caspase3,进而调控 NSCs 的分化和凋亡。Notch 通路,泛素蛋白等也与 NSCs 的分化相关^[8-9]。另外,培养微环境也影响 NSCs 的分化,如低氧的培养环境有利于 NSCs 向胆碱能神经元分化。但到目前为止,尚没有任何方法能精确调控 NSCs 的分化方向和比例,仍需进一步探索。

2 NSCs 治疗 AD 的进展

近年来关于干细胞移植治疗 AD 的研究很多,各种干细胞均能分化为神经细胞,但 NSCs 是神经元最直接的来源,是最理想的替代细胞。胚胎干细胞(ESCs)能够分化为神经元,但其来源存在伦理争议,而且术后容易致发畸胎瘤,目前尚无法应用于临床。诱导多能干细胞(iPS)来源广泛,操作简单,但具

有致癌性,诱导效率低。间充质干细胞(MSCs)具有来源广、易分离、可自体移植等优点,但分化为神经元及重建突触功能还有待进一步研究。NSCs 迁移及传播能力强,不仅能补充神经元,且能重建部分环路和功能^[10],是神经元替代的理想靶细胞。有研究发现,在脊髓损伤修复中,静脉注射 NSCs 较骨髓 MSCs,大鼠的运动功能恢复速度更快,恢复的效果也更好^[11]。NSCs 分化为新的神经元以替代和修复 AD 患者脑组织中受损的神经元,目前主要有两种途径:(1)内源性途径,即诱导内源性的 NSCs 增殖、分化,使受损的神经系统进行自我修复;(2)外源性途径,即直接移植外源性的 NSCs 以替代缺损的神经组织或植入基因工程细胞。

2.1 内源性途径 内源性途径是通过激活体内自身的 NSCs,使其再进入新的细胞循环,并诱导其增殖分化为所需的各种成熟的神经细胞,修复或替代受损的神经组织的过程。在 AD 病理情况下,脑部可有内源性 NSCs 增殖,但不足以有效修复和替代受损神经组织。所以有学者认为,神经退行性疾病实际上是内源性神经再生失败的过程。如果能找到有效的方法诱导内源性 NSCs 的增殖分化,将给 AD 患者带来福音。研究发现,外源性的细胞因子能够促进内源性 NSCs 的增殖分化。Han 等^[12]研究发现,NSCs 产生的血管内皮生长因子受体 3(VEGFR3)及其配体 VEGF-C,能激活静止状态的 NSCs 进入新的细胞周期,分化为神经前体细胞,说明 VEGF-C/VEGFR3 通路能够特异性地激活 NSCs,调节其增殖分化。有研究认为血管内皮生长因子可改变 AD 大鼠的学习和记忆能力,其机制是通过刺激大鼠海马区血管发生和神经生成^[13]。在 AD 小鼠模型中,Baron 等^[14]发现干扰素- γ 能提高成体小鼠海马齿状回神经发生,从而改善其空间学习记忆能力。神经内固醇 3 α ,5 α -四氢孕酮(ALLO),是 γ 氨基酸受体 A 亚型的正性变构剂,有研究发现,ALLO 能够明显减少海马、皮质和杏仁体中 A β 的产生,激活 NSCs 分化相应的信号通路,当 ALLO 每周治疗剂量为 10 mg/kg 时,能够促进神经系统再生,延缓 AD 病程的进展,改善认知和记忆功能^[15]。Wei 等^[16]研究发现,低剂量的射线(0.3 Gy)能够激活 Wnt/ β -catenin 通路,刺激内源性 NSCs 的增殖和分化。另外,研究发现改善认知功能和治疗痴呆的药物、丰富的生活环境、针刺疗法等在一定程度上也能激活内源性的 NSCs。以上研究提出,能否利用外源性的某种细胞因子或联合应用多种细胞因子,来调控内源性 NSCs 的增殖分化,但由于 NSCs 分化的各个阶段所需细胞因子种类、浓度不同,各种因子联合的有效性及安全性也无法确定,故仍待进一步研究证实。

2.2 外源性途径 外源性途径即将体外培养并分化为特定的神经细胞移植到体内,或直接移植 NSCs,通过信号引导作用使其分化为神经元并建立细胞连接和功能的过程。根据是否

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81471795)。 作者简介:朱琼(1990-),在读硕士,主要从事超声空化治疗相关研究。

[△] 通讯作者, Tel:18523384936; E-mail: xuyali1976@163.com。

对神经干细胞进行基因工程改造,分为异体 NSCs 移植和 NSCs 相关基因治疗两种。

2.2.1 异体 NSCs 移植 实验证实,将外源性的 NSCs 移植到体内后,NSCs 能向病灶迁移,并分化为特定部位的相应细胞,其分化方向既与 NSCs 的内在特性有关,也与所处微环境密切相关。例如过量表达淀粉样蛋白前体将会导致移植的 NSCs 产生更多的星形胶质细胞而不是神经元。在体外通过细胞因子将 NSCs 诱导为特定细胞后移植到损伤部位,或者是直接将 NSCs 移植到损伤部位后同时注入相关的细胞因子,这两种方法都可以改变 NSCs 局部微环境,进而促进其增殖分化。但到目前为止尚没有发现利用某些细胞因子能将 NSCs 全部诱导为所需功能的神经细胞。Zhang 等^[5]将 NSCs 移植到海马区后,多种细胞因子产生增多,如 N-甲基-D-天冬氨酸 2B 单位、突触素、蛋白激酶 C ζ 亚型、酪氨酸受体激酶 B 及脑源性神经营养因子等,且长时程增强效应增强,AD 小鼠的空间学习和记忆能力得到改善。Chen 等^[17]研究发现,将 NSCs 移植到 12 个月大小的转基因 AD 小鼠的海马区后,与未移植 NSCs 的对照组比较,在水迷宫实验中实验组小鼠的空间记忆和学习能力明显优于对照组,冰冻切片结果也显示实验组的神经元细胞明显多于对照组,提示 NSCs 移植到海马区后能够分化为神经元,进而改善了 AD 小鼠的学习和记忆能力。有研究发现,雪旺细胞及嗅鞘细胞分别与 NSCs 联合移植,NSCs 的存活率均较单独移植 NSCs 高,且分化为胆碱能神经元的数量也增多,AD 大鼠的学习记忆能力改善也更明显^[18-19]。到目前为止,尽管许多基础研究表明,移植 NSCs 在 AD 治疗中效果明显,但究竟是 NSCs 分化为神经元替代损伤的神经组织,还是 NSCs 分泌的细胞因子或者是移植的 NSCs 激活了某些信号通路进而促进了神经发生,尚存在争议。

2.2.2 NSCs 相关基因治疗 随着基因工程的发展,利用基因工程细胞替代和基因治疗已成为整个生命科学领域中的研究热点,其中寻找合适的载体是基因治疗中最为关键的技术。将 NSCs 作为基因治疗的载体,可以弥补许多其他载体的不足,且能提高外源性基因的表达效率。通过转基因技术,将神经营养因子基因等导入 NSCs 中,然后将 NSCs 导入体内,使其表达外源性基因,进而改善局部微环境,从而阻止神经元的变性坏死,促进 NSCs 的增殖分化^[20]。Blurton-Jones 等^[21]在 AD 模型上已经证实,NSCs 能够有效地递送治疗 AD 相关的蛋白到达脑内。他们在体外培养了能大量表达脑啡肽酶的 NSCs,移植到 AD 老鼠模型中后,有效地减少了 A β 相关的病理过程,增加了突触间的联系。国内有实验研究表明,脑源性神经营养因子修饰的神经干细胞和胰岛素样生长因子修饰的神经干细胞移植后,对 AD 大鼠的学习记忆能力都有明显改善,其中脑源性神经营养因子修饰的神经干细胞能够通过抑制海马区 p75 表达来防止由 A β 1-40 造成的神经损伤^[22-23]。Ben Menachem-Zidon 等^[24]利用基因工程将抗炎因子的基因导入 NSCs 中后移植入 AD 老鼠,脑源性神经营养因子的表达量增多,同时海马区细胞的数量增多,在水迷宫实验中,其学习记忆功能明显优于仅移植神经前体细胞的老鼠。但目前载基因 NSCs 用于 AD 治疗仍处于实验研究阶段,如何安全高效地组合 NSCs 和目的基因仍需进一步研究。

3 问题与展望

近年来研究 NSCs 治疗 AD 取得了一定的进展,但目前仍停留在动物实验阶段,在研究中尚存在一些问题。一是 AD 的主要病理环节是老年斑和神经元纤维缠结,但目前对 A β 的来源尚没有定论,没有任何一种疾病模型能够完全模仿此病理过程。目前使用的模型是同时携带 APP 和 PS1 基因的 AD 小

鼠^[25]。另外,NSCs 的增殖、分化、迁移及局部微环境调控机制尚不清楚,对移植后的 NSCs 分化方向缺乏有效的调控手段,分化产生的神经元能否形成突触、建立有效的细胞间功能连接是目前面临的主要瓶颈。移植后神经功能恢复情况的评估,目前主要采用行为学指标来判断,但神经功能的改善究竟是 NSCs 产生的新的神经元替代受损神经组织导致,还是因为 NSCs 在体内产生的神经营养作用;单独移植 NSCs 能否有效减少 A β 的沉积、增加其清除;针对不同环节,联合 A β 抗体和神经元替代治疗能否提高治疗效果。这些问题都还有待进一步研究。相信随着对 NSCs 认识的深入,应用 NSCs 治疗 AD 或其他神经系统疾病在不久的将来将会成为现实。

参考文献

- [1] Querfurth HW, Laferla FM. Alzheimer's disease[J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(4): 329-344.
- [2] Nudi ET, Jacqmain J, Dubbs K, et al. Combining enriched environment, progesterone, and embryonic neural stem cell therapy improves recovery after brain injury[J]. *J Neurotrauma*, 2015, 32(14): 1117-1129.
- [3] Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system[J]. *Science*, 1992, 255(5052): 1707-1710.
- [4] 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.
- [5] Zhang W, Wang PJ, Sha HY, et al. Neural stem cell transplants improve cognitive function without altering amyloid pathology in an APP/PS1 double transgenic model of Alzheimer's disease[J]. *Mol Neurobiol*, 2014, 50(2): 423-437.
- [6] Wang L, Liu Y, Li S, et al. Wnt signaling pathway participates in valproic acid-induced neuronal differentiation of neural stem cells[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(1): 578-585.
- [7] Zhang Y, Shen GL, Shanguan LJ, et al. Involvement of NF κ B signaling in mediating the effects of GRK5 on neural stem cells[J]. *Brain Res*, 2015, 16(8): 31-39.
- [8] Yoon K, Gaiano N. Notch signaling in the mammalian central nervous system: insights from mouse mutants[J]. *Nat Neurosci*, 2005, 8(6): 709-715.
- [9] Ryu HW, Park CW, Ryu KY. Restoration of cellular ubiquitin reverses impairments in neuronal development caused by disruption of the polyubiquitin gene Ubb[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 453(3): 443-448.
- [10] Chen WW, Blurton-Jones M. Concise review: can stem cells be used to treat or model alzheimer's disease? [J]. *Stem Cells*, 2012, 30(12): 2612-2618.
- [11] 熊文平, 江普查, 武栋成, 等. 神经干细胞与骨髓间充质干细胞移植对脊髓损伤修复的比较[J]. *武汉大学学报*, 2013, 34(1): 50-56.
- [12] Han J, Calvo CF, Kang TH, et al. Vascular endothelial growth factor receptor 3 controls neural stem cell activation in mice and humans[J]. *Cell Rep*, 2015, 10(7): 1158-1172.
- [13] Mateo I, Llorca J, Infante J, et al. Case-control study of

vascular endothelial growth factor (VEGF) genetic variability in Alzheimer's disease[J]. *Neurosci Lett*, 2006, 401 (1/2): 171-173.

- [14] Baron R, Nemirovsky A, Harpaz I, et al. IFN-gamma enhances neurogenesis in wild-type mice and in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *FASEB J*, 2008, 22(8): 2843-2852.
- [15] Irwin RW, Solinsky CM, Brinton RD. Frontiers in therapeutic development of allopregnanolone for Alzheimer's disease and other neurological disorders[J]. *Front Cell Neurosci*, 2014(8): 203.
- [16] Wei LC, Ding YX, Liu YH, et al. Low-dose radiation stimulates Wnt/ β -catenin signaling, neural stem cell proliferation and neurogenesis of the mouse hippocampus in vitro and in vivo[J]. *Curr Alzheimer Res*, 2012, 9(3): 278-289.
- [17] Chen SQ, Cai Q, Shen YY, et al. Neural stem cell transplantation improves spatial learning and memory via neuronal regeneration in amyloid- β precursor protein/prese-nilin 1/tau triple transgenic mice[J]. *Am J Alzheimers Dis Other Demen*, 2014, 29(2): 142-149.
- [18] 盛宝英, 李洋, 姜尧佳, 等. 嗅鞘细胞和神经干细胞联合移植阿尔茨海默病大鼠脑内的增殖和定向分化[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(49): 9186-9189.
- [19] Zhan Y, Ma DH, Zhang Y. Effects of cotransplanted Schwann cells and neural stem cells in a rat model of Alzheimer's disease[J]. *Neural Regen Res*, 2011, 6(4):

245-251.

- [20] Taupin P. Neurogenesis, NSCs, pathogenesis and therapies for Alzheimer's disease[J]. *Front Biosci (Schol Ed)*, 2011(3): 178-190.
- [21] Blurton-Jones M, Spencer B, Michael S, et al. Neural stem cells genetically-modified to express neprilysin reduce pathology in Alzheimer transgenic models[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2014, 5(2): 46.
- [22] 杨华山, 王金国. 脑源性神经营养因子修饰的神经干细胞移植对阿尔茨海默病大鼠的学习及 p75 表达的影响[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2012, 29(8): 695-698.
- [23] 杨华山, 王金国, 蒋莉莉. IGF-1 修饰的神经干细胞对阿尔茨海默病大鼠学习记忆能力的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2012, 32(20): 4465-4467.
- [24] Ben Menachem-Zidon O, Ben-Menahem Y, Ben Hur T, et al. Intra-hippocampal transplantation of neural precursor cells with transgenic over-expression of IL-1 receptor antagonist rescues memory and neurogenesis impairments in an Alzheimer's disease model[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2015, 39(2): 401-414.
- [25] Howlett DR. APP transgenic mice and their application to drug discovery[J]. *Histol Histopathol*, 2011, 26(12): 1611-1632.

(收稿日期: 2016-04-22 修回日期: 2016-07-10)

• 综述 • doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2016.30.037

氦氧混合气在新生儿呼吸系统疾病中的应用*

马娟综述, 史源[△]审校

(第三军医大学大坪医院儿科, 重庆 400042)

[关键词] 氦氧混合气; 新生儿; 呼吸系统疾病

[中图分类号] R722

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)30-4288-03

氦氧混合气(helium oxygen mixture, Heliox)具有降低气道压、促进氧气向肺泡弥散及二氧化碳排除的优点,可减少机械通气并发症并缩短呼吸机上机时间。近年, Heliox 逐渐被应用于新生儿呼吸系统疾病, 针对临床上治疗部分新生儿呼吸窘迫综合征(NRDS)、重症新生儿胎粪吸入综合征(MAS)、新生儿持续性肺动脉高压(PPHN)等疾病。这些疾病病情危重, 治疗困难, 病死率极高。而 Heliox 的引入可能为上述疾病提供新的治疗方法, 相信具有潜在而巨大的临床价值。现对 Heliox 在新生儿呼吸系统疾病中的应用予以以下介绍。

1 Heliox 的理化性质

氦气(He)是相对密度最小的惰性气体, 无色无味且基本不参加化学反应, 稳定性极高很方便保存, 且在所有元素中熔点和沸点最低。因氦气密度极小, 具有较高的导热性可以方便患者较快地将体内热量传导出去而降低体温, 所以当氦气包绕整个机体时就会发生热丢失, 从而降低机体新陈代谢^[1]; 此外, 氦气无生物学效应, 稳定性极高, 不会和生物膜及机体组织中的其他物质发生反应。呼吸道阻力大小与以下几个因素有关:

呼吸道口径、呼吸道的畅通情况、气流速度、是否存在黏液阻碍等^[2-3]。一般来说, 在其他因素确定情况下低密度和(或)高黏滞度气体在运动时受到的阻力更小, 由于氦气恰好满足了这一要求, 满足雷诺公式: $r = P \cdot D \cdot \text{Vel} / ix$ 的原理, 因此其在呼吸道中流动时受到的阻力很小, 可以显著降低呼吸道阻力, 并提高肺的通气效果^[4]。目前, 应用的 Heliox 均为混合流, 当混合流的气体密度越低则雷诺数越小, 故气道阻力也越小^[5]。由表 1 则可以看出, Heliox 中氦气含量越高, 其密度越低, 运动黏性系数越高, 相对流速越高, 故证明格雷厄姆定律在平衡体系中占据优势。

2 Heliox 在新生儿呼吸系统疾病中的应用

2.1 NRDS NRDS 是一种常见的患儿在初出生后表现出的呼吸系统疾病, 其主要症状为呻吟、呼吸障碍、发绀等, 在严重情况下会导致呼吸衰竭并直接引发死亡^[6-7]。NRDS 病因很复杂, 主要是肺表面活性物质(PS)缺乏而导致肺的通气效率低下。常频机械通气^[8]、高频振荡通气^[9-10]、体外膜肺生命支持技术, 一氧化氮(NO)疗法等均有一定局限性。Heliox 的引入

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81100458)。 作者简介: 马娟(1984—), 主治医师, 在读硕士, 主要从事新生儿疾病临床研究。

[△] 通讯作者, Tel: 13508300283; E-mail: petshi530@vip.163.com。