

诱导性多能干细胞在多发性硬化中的研究现状

郑钦日

马来西亚博特拉大学生物科学研究所益生菌与治疗研究实验室, 沙登, 雪兰莪, 马来西亚
Email: 2464782691@qq.com

收稿日期: 2020年12月14日; 录用日期: 2021年1月3日; 发布日期: 2021年1月18日

摘要

多发性硬化(multiple sclerosis, MS)是一种常见的中枢神经系统炎性脱髓鞘疾病, 好发于中青年, 是成人神经性致残的主要原因。因其有较高的发病率、慢性病程和青壮年易患而备受关注。目前MS尚无有效的根治疗法, 临床上仍以疾病修正治疗为主。因此探索新的治疗方法尤为重要。诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)具有干细胞的分化全能性, 不仅成功避开了胚胎干细胞的伦理问题, 同时也解决了干细胞来源受限的问题, 有望成为MS的良好治疗方式。

关键词

多发性硬化, 诱导性多能干细胞, 干细胞疗法

Research Status of Induced Pluripotent Stem Cells in Multiple Sclerosis

Qinri Zheng

Probiotics and Therapeutic Research Laboratory, Institute of Biological Sciences, Putra University, Malaysia, Serdang, Selangor, Malaysia
Email: 2464782691@qq.com

Received: Dec. 14th, 2020; accepted: Jan. 3rd, 2021; published: Jan. 18th, 2021

Abstract

Multiple sclerosis (MS) is a common inflammatory demyelinating disease of the central nervous system, which occurs in young and middle-aged people and is the main cause of neurological disability in adults. Because of its high morbidity, chronic course, and susceptibility to young adults, it has attracted much attention. At present, there is no effective root therapy for MS, and the disease

*通讯作者。

correction therapy is still the main clinical practice. Therefore, it is particularly important to explore new treatment methods. Induced pluripotent stem cells (iPSCs) have stem cell differentiation totipotency, which not only successfully avoids the ethical problems of embryonic stem cells, but also solves the problem of limited stem cell sources. It is expected to become a good treatment for MS.

Keywords

Multiple Sclerosis, Induced Pluripotent Stem Cells, Stem Cell Therapy

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 前言

多发性硬化症(MS)是一种常见的神经系统疾病,主要针对中枢神经系统(central nervous system, CNS)中的白质,即大脑和脊髓[1] [2]。MS 主要影响 20 至 40 岁的患者,女性患者约是男性患者的 1.5 至 2 倍。其特征是节段性脱髓鞘、轴突损伤、神经元和少突胶质细胞丢失,导致神经功能障碍和残疾。MS 仍然是年轻人致残的主要原因之一。当前的治疗方法包括复发治疗、疾病缓解治疗和症状治疗[3] [4] [5]。经批准的治疗多发性硬化症的方法要么疗效有限,要么存在严重的安全性问题。因此干细胞替代治疗为多发性硬化症提供了希望。诱导性多能干细胞(iPSC)是再生医学中新兴的细胞来源,目前也正在测试其治疗 MS 的能力。在将 iPSC 衍生的神经细胞移植到脱髓鞘的模型中后,观察到活动性和强健的髓鞘再生显著改善。在这里,我们讨论针对 MS 的干细胞疗法的最新进展,重点是基于 iPSC 的干细胞疗法。

2. 诱导多能性干细胞

诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)是通过在已分化的体细胞中表达特定的基因或特定基因产物等方式,以诱导体细胞的重编程而获得可不断自我更新且具有多向分化潜能的细胞。这些细胞有成为 OPC 的潜力,因此它们可能从自体来源构成一种合适的细胞治疗模式[6]。iPSC 最初是由日本京都大学的山中伸弥(Shinya Yamanaka)和他的同事从小鼠胚胎和成年成纤维细胞中产生的。Yamanaka 的小组使用逆转录病毒载体 Octamer 3/4 (OCT3/4)、SRY-box-containing gene 2 (SOX2)、细胞质 Myc 蛋白(c-MYC)和 krueppel 样因子 4 (KLF4)重新编程小鼠和人类干细胞治疗多发性硬化症。此后不久,也成功地从 MS 患者的细胞中产生了 iPSC [7] [8]将衍生自 iPSCs 的 NSC 和少突胶质祖细胞(OPC)移植到 EAE 小鼠和其他脱髓鞘动物模型后,观察到残疾和髓鞘再生得到改善[9] [10]。与其他干细胞相比,iPSC 具有从患者体细胞中获得的巨大优势,从而避免了移植排斥的风险和道德上的顾虑。iPSC 的突破性创新引发了全球范围内的巨大努力,以开展疾病建模,药物筛选和再生疗法。重新编程的细胞具有与胚胎干细胞(ESC)相似的形态,并且可以分化为代表所有三个胚胎生殖层的细胞类型[11]。随后从健康和患病个体产生人 iPSC 的成功尝试使我们更接近于临床应用。

3. iPSCs 可以在体外分化为少突胶质细胞系

iPSCs 成功分化为少突胶质细胞系是 MS 治疗的基础。2010 年, Tokumoto 将小鼠 iPSC 与 ESC 的区分能力进行了比较。诱导后,在 iPSC 和 ESC 来源的细胞中均观察到 OPC 标记 A2B5 阳性细胞和少突胶

质细胞特异性细胞表面标记 O4 阳性细胞[12]。表明 iPSCs 和胚胎干细胞相似, 均有分化成少突胶质细胞的潜能。2011 年, 人类 iPSC 首次被诱导分化为少突胶质细胞[13]。健康成年人的成纤维细胞衍生的 iPSC 用表皮生长因子依赖性分化方案治疗, 最终分化为 O4 + 少突胶质细胞。复发缓解型多发性硬化症(RRMS)和原发性进行性多发性硬化症(PPMS)患者的成纤维细胞也被重新编程为 iPSC, 这些 MS-iPSC 成功地分化为具有正常核型的成熟神经元, 星形胶质细胞和少突胶质细胞。MS-iPSC 衍生的神经元具有电生理功能, 而少突胶质细胞对髓鞘碱性蛋白(MBP)和 O4 呈阳性染色。这一研究结果表明, MS 来源的 iPSCs 最终可以分化成功能神经细胞, 为实现 MS 的个体化治疗提供了更多可行性。

iPSC 衍生的 NSC 对 EAE 的影响

考虑到脑室下区和 BM 来源的 NSC 对 EAE 的治疗作用[14] [15], 有人提出 iPSC 来源的 NSC 具有类似的作用。为了测试这一点, Laterza 等人。从小鼠 iPSC 生成 NSC, 然后将其鞘内移植到 MOG 诱导的 EAE 小鼠中。经 NSC 处理的 EAE 小鼠临床表现改善, 脱髓鞘面积减少, 脊髓轴突损伤。iPSC 的治疗潜力仍在研究中, 一些研究表明, 大多数移植的 NSC 在体内没有分化为少突胶质细胞谱系, 少突胶质细胞前体来源的 iPSC 能够改善 EAE 的临床和病理特征[16]。然而, 治疗效果被发现主要是由于神经保护作用, 而不是再髓鞘化, 表明它们没有直接参与髓鞘再生。然而, iPSC 衍生的 NSC 通过分泌特定的神经营养蛋白: 白血病抑制因子, 促进了内源性髓鞘形成细胞的存活和分化。NSCs 介导的营养作用也改善了 BBB 的完整性, 从而限制了 CNS 限制的炎症[9]。考虑到髓磷脂损害通常是由中枢神经系统炎症引起的, 因此在炎性环境中发挥神经保护和神经营养作用使 iPSC-NSCs 成为治疗 MS 的有希望的细胞来源。此外, iPSC 对选定的细胞表型的有效分化可能代表了对疾病定向治疗的巨大研究挑战。最后, 最近的研究表明, 由于潜在的恶性转化和免疫排斥, 临床发展需要谨慎[17] [18]。

4. IPSP 的机制

由于内源性髓鞘再灌注不足, 细胞治疗在多发性硬化症治疗中正在向前发展。诱导多能干细胞的疗效不受细胞替代的限制。诱导多能干细胞还具有免疫抑制作用, 为内源性修复机制提供营养支持。鼻咽癌移植减少 T 细胞浸润[19] [20]。移植的 NPCs 分泌的 LIF 对内源性少突胶质细胞具有营养作用。除了细胞替代之外, 诱导多能干细胞还被用于体外疾病建模, 以了解疾病的潜在机制, 并用于筛选改变疾病过程的药物。2011 年, 一名患有 RRMS 的 35 岁患者的成纤维细胞首次生成了 MS 患者特异性的 iPSCs [7]。成功地将患者来源的诱导多能干细胞分化为神经前体细胞和成熟神经元。随后, PPMS 患者也产生了患者间充质干细胞[21]。在 Douvaras 等人的研究中, 4 个 iPSC 系被转化为 NSCs 和 OPCs, 它们携带正常的核型。移植的 OPCs 为颤抖小鼠提供了髓鞘形成。类似的研究应该继续进行, 特别是在疾病建模的遗传负荷高的 MS 患者。

IPSP 治疗 MS 挑战

MS 中基于 iPSC 的处理仍存在问题。首先, iPSC 生成方法仍需改进。另一个问题是移植时对初始细胞类型的偏好。OPCs 具有较好的细胞替代作用, 但这些细胞的抗炎和营养作用尚未得到证实。NSCs 可以分化为所有的神经细胞谱系, 也有抗炎和营养作用, 但它们也可能分化为星形胶质细胞, 因此导致 MS 中不必要的星形胶质细胞增生。另一个主要问题是细胞给药的途径。直接脑内或椎管内注射似乎更有效, 但在临床应用中并不实用。鼻内途径也可以有效使用, 是 MS 中使用 iPSCs 的一种侵入性较小的途径。然后, 应该考虑使用异基因或自体诱导多能干细胞。自体诱导多能干细胞更好, 但由于自身疾病因素, 它们可能无效[21]。为了避免免疫原性, 健康干细胞治疗多发性硬化异基因 iPSC 治疗需要免疫抑

制治疗, 可能导致多发性硬化症复发。最后诱导多能干细胞与胚胎干细胞有相似的特征, 例如产生许多不同的组织类型, 并且能够在培养中无限分裂。然而, 诱导多能干细胞的肿瘤形成风险非常高。

5. 展望

随着预期寿命的增加, 神经退行性疾病的发病率将显著增加, 这是一个重大的经济和社会负担。虽然目前的治疗可以减轻一些症状, 但在阻止大多数神经退行性疾病的进展方面, 它们通常是无效的。目前, 针对 MS 的其他基于干细胞的新疗法还处于早期阶段, 包括基于 hESC、iPSC 和 NSC 的疗法。iPSC 技术开辟了前所未有的机遇为研究细胞过程导致神经退行性变的早期, 和开发新的高通量药物筛选平台, 可以更准确地预测治疗产品的功效。虽然细胞重新编程技术有可能彻底改变我们的方法研究和治疗各种神经疾病, 但仍然存在很多问题。干细胞移植可被视为治疗多发性硬化的一个潜在来源, 然而, 在将干细胞治疗大规模引入临床之前, 必须克服干细胞治疗研究中的方法学、伦理和临床挑战。

参考文献

- [1] Noseworthy, J.H., Lucchinetti, C., Rodriguez, M. and Weinshenker, B.G. (2000) Multiple Sclerosis. *The New England Journal of Medicine*, **343**, 938-952. <https://doi.org/10.1056/NEJM200009283431307>
- [2] Compston, A. and Coles, A. (2008) Multiple Sclerosis. *The Lancet*, **372**, 1502-1517. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61620-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61620-7)
- [3] Polman, C.H., Reingold, S.C., Banwell, B., *et al.* (2011) Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald Criteria. *Annals of Neurology*, **69**, 292-302. <https://doi.org/10.1002/ana.22366>
- [4] Poser, C.M. and Brinar, V.V. (2001) Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, **103**, 1-11. [https://doi.org/10.1016/S0303-8467\(00\)00125-6](https://doi.org/10.1016/S0303-8467(00)00125-6)
- [5] Polman, C.H., Reingold, S.C., Edan, G., *et al.* (2005) Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: 2005 Revisions to the "McDonald Criteria". *Annals of Neurology*, **58**, 840-846. <https://doi.org/10.1002/ana.20703>
- [6] Almeida, S., Gascon, E., Tran, H., Chou, H.J., Gendron, T.F., *et al.* (2013) Modeling Key Pathological Features of Frontotemporal Dementia with C9ORF72 Repeat Expansion in iPSC-Derived Human Neurons. *Acta Neuropathologica*, **126**, 385-399. <https://doi.org/10.1007/s00401-013-1149-y>
- [7] Song, B., Sun, G., Herszfeld, D., *et al.* (2012) Neural Differentiation of Patient Specific iPSCs as a Novel Approach to Study the Pathophysiology of Multiple Sclerosis. *Stem Cell Research*, **8**, 259-273. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2011.12.001>
- [8] Douvaras, P., Wang, J., Zimmer, M., *et al.* (2014) Efficient Generation of Myelinating Oligodendrocytes from Primary Progressive Multiple Sclerosis Patients by Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem Cell Reports*, **3**, 250-259. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2014.06.012>
- [9] Laterza, C., Merlini, A., De Feo, D., *et al.* (2013) iPSC-Derived Neural Precursors Exert a Neuroprotective Role in Immune-Mediated Demyelination via the Secretion of LIF. *Nature Communications*, **4**, 2597. <https://doi.org/10.1038/ncomms3597>
- [10] Wang, S., Bates, J., Li, X., *et al.* (2013) Human iPSC-Derived Oligodendrocyte Progenitor Cells Can Myelinate and Rescue a Mouse Model of Congenital Hypomyelination. *Cell Stem Cell*, **12**, 252-264. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.12.002>
- [11] Takahashi, K. and Yamanaka, S. (2006) Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*, **126**, 663-676. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.024>
- [12] Tokumoto, Y., Ogawa, S., Nagamune, T. and Miyake, J. (2010) Comparison of Efficiency of Terminal Differentiation of Oligodendrocytes from Induced Pluripotent Stem Cells versus Embryonic Stem Cells *In Vitro*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **109**, 622-628. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2009.11.013>
- [13] Ogawa, S., Tokumoto, Y., Miyake, J. and Nagamune, T. (2011) Induction of Oligodendrocyte Differentiation from Adult Human Fibroblast-Derived Induced Pluripotent Stem Cells. *In Vitro Cellular & Developmental Biology—Animal*, **47**, 464-469. <https://doi.org/10.1007/s11626-011-9435-2>
- [14] Pluchino, S., Quattrini, A., Brambilla, E., *et al.* (2003) Injection of Adult Neurospheres Induces Recovery in a Chronic Model of Multiple Sclerosis. *Nature*, **422**, 688-694. <https://doi.org/10.1038/nature01552>
- [15] Yang, J., Yan, Y., Ciric, B., *et al.* (2010) Evaluation of Bone Marrow- and Brain-Derived Neural Stem Cells in Thera-

-
- py of Central Nervous System Autoimmunity. *The American Journal of Pathology*, **177**, 1989-2001. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.091203>
- [16] Sareen, D., O'Rourke, J.G., Meera, P., Muhammad, A.K., Grant, S., *et al.* (2013) Targeting RNA Foci in iPSC-Derived Motor Neurons from ALS Patients with a C9ORF72 Repeat Expansion. *Science Translational Medicine*, **5**, 208ra149. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3007529>
- [17] Donnelly, C.J., Zhang, P.W., Pham, J.T., Heusler, A.R., Mistry, N.A., *et al.* (2013) RNA Toxicity from the ALS/FTD C9ORF72 Expansion Is Mitigated by Antisense Intervention. *Neuron*, **80**, 415-428. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.10.015>
- [18] Teuling, E., Ahmed, S., Haasdijk, E., Demmers, J., Steinmetz, M.O., Akhmanova, A., *et al.* (2007) Motor Neuron Disease-Associated Mutant Vesicle-Associated Membrane Protein-Associated Protein (VAP) B Recruits Wild-Type VAPs into Endoplasmic Reticulum-Derived Tubular Aggregates. *Journal of Neuroscience*, **27**, 9801-9815. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2661-07.2007>
- [19] Plaisted, W.C., Zavala, A., Hingco, E., Tran, H., Coleman, R., Lane, T.E., Loring, J.F. and Walsh, C.M. (2016) Remyelination Is Correlated with Regulatory T Cell Induction Following Human Embryoid Body-Derived Neural Precursor Cell Transplantation in a Viral Model of Multiple Sclerosis. *PLoS ONE*, **11**, e0157620. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157620>
- [20] Zhang, C., *et al.* (2016) Treatment of Multiple Sclerosis by Transplantation of Neural Stem Cells Derived from Induced Pluripotent Stem Cells. *Science China Life Sciences*, **59**, 950-957. <https://doi.org/10.1007/s11427-016-0114-9>
- [21] Nicaise, A.M., *et al.* (2017) iPS-Derived Neural Progenitor Cells from PPMS Patients Reveal Defect in Myelin Injury Response. *Experimental Neurology*, **288**, 114-121. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2016.11.012>