



## 细胞重编程和移植技术用于帕金森病治疗的研究进展\*

李玲洁 崔巍 徐淑君 王钦文\*\*

(宁波大学医学院, 浙江省病理生理学重点实验室, 宁波 315211)

**摘要** 帕金森病 (Parkinson disease, PD) 是一种复杂的中枢神经系统退行性疾病, 主要病理特征为黑质致密部多巴胺神经元的进行性丧失. 目前 PD 主要治疗手段包括药物和手术. 但药物存在神经保护活性不足、缺乏对因治疗、晚期无药可用等问题, 手术治疗风险较大. 近年来, 细胞重编程技术取得突破性进展, 由重编程产生的诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs)、诱导多巴胺神经元 (induced dopamine neurons, iDNs) 和诱导神经干细胞 (induced neural stem cells, iNSCs) 可用于治疗 PD. 移植 iPSCs 分化而来的多巴胺能神经元、iDNs 和 iNSCs 至相应脑区, 可起到神经替代与修复作用, 有效治疗 PD. 本文重点介绍细胞重编程的机制, 总结 iPSCs、iDNs 和 iNSCs 治疗 PD 的优缺点, 并阐述尚存在的挑战, 探讨可能的解决方案.

**关键词** 帕金森病, 细胞重编程, 诱导多能干细胞, 诱导多巴胺神经元, 诱导神经干细胞, 移植, 多巴胺能神经元

**中图分类号** Q2, Q4, R338

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2020.0149

帕金森病 (Parkinson disease, PD) 是一种复杂的神经退行性疾病, 其主要病理表现是黑质致密部中脑多巴胺 (mesencephalic dopamine, mDA) 神经元的进行性丧失和含  $\alpha$ -突触核蛋白的路易小体形成, 从而引起运动障碍<sup>[1]</sup>. 运动障碍主要表现为运动迟缓、静止性震颤和肌肉僵硬. 此外, PD 还表现出不同程度的非运动症状, 如植物神经功能障碍、神经精神症状和睡眠障碍等<sup>[2]</sup>. 目前临床 PD 治疗以药物和手术为主. 药物 (如左旋多巴等) 可通过增加纹状体内多巴胺 (dopamine, DA) 浓度来缓解运动症状, 但药物无足够神经保护活性, 只能改善 PD 症状而无法阻止病情发展, 且不能在时间及空间上对脑内的 DA 浓度进行调节, 从而导致症状波动、非靶向效应 (如恶心、嗜睡等) 和不良靶向效应 (如冲动控制障碍) 等. 此外, PD 药物长期使用还会导致疗效减退、运动障碍等副作用<sup>[3-4]</sup>. 深部脑刺激 (deep brain stimulation, DBS) 是治疗 PD 的主要手术手段, 如通过刺激丘脑底核或苍白球内侧部, 可有效缓解 PD 的运动症状, 但可能破坏认知、平衡等脑功能<sup>[5]</sup>. 近年来基因疗法

在 PD 治疗中的作用逐渐凸显, 基因疗法主要通过递送编码 DA 合成的关键酶基因、神经营养因子基因等发挥作用, 但该疗法也存在基因表达不可控等缺陷<sup>[6]</sup>.

细胞重编程是近年来新兴的治疗技术, 为治疗 PD 带来了新的希望. 它是将起始细胞的基因组从一种表达谱转化为另一种表达谱的过程. 重编程主要包括以下两种类型: 去分化, 即细胞改变其发育轨迹, 逆转为分化能力更强的全能性状态; 转分化, 即细胞转化为另一种已分化细胞<sup>[7]</sup>. 目前经细胞重编程用于治疗 PD 的细胞主要包括诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs)、诱导多巴胺神经元 (induced dopamine neurons, iDNs) 和诱导神经干细胞 (induced neural stem cells, iNSCs) (图 1). 采用细胞移植技术可将 iPSCs 分化

\* 国家自然科学基金-新疆联合基金重点支持项目 (U1503223), 宁波市“科技创新2025”重大专项 (2019B10034) 和宁波大学王宽诚幸福基金资助项目.

\*\* 通讯联系人.

Tel: 0574-87605175, E-mail: wangqinwen@nbu.edu.cn

收稿日期: 2020-05-17, 接受日期: 2020-08-07

产生的多巴胺能神经元、iDNs 或 iNSCs 输送到病灶处如纹状体, 补充局部缺失的 mDA 神经元, 重建神经网络, 从而减轻 PD 运动症状. 与 PD 细胞移植有关联的人类胎儿腹侧中脑 (fetal ventral mesencephalic, fVM) 组织、胚胎干细胞 (embryonic stem cells, ESCs) 等来源的多巴胺能

神经元, 由于存在免疫排斥、细胞来源有限及伦理争议等问题, 其临床应用受到阻碍<sup>[1]</sup>. 基于重编程技术产生的细胞与之相比具有显著的优势. 本文将探讨细胞重编程的机制, 主要阐述经重编程产生的 3 种细胞类型的优缺点及其对 PD 的治疗作用, 并讨论这一技术目前存在的挑战.

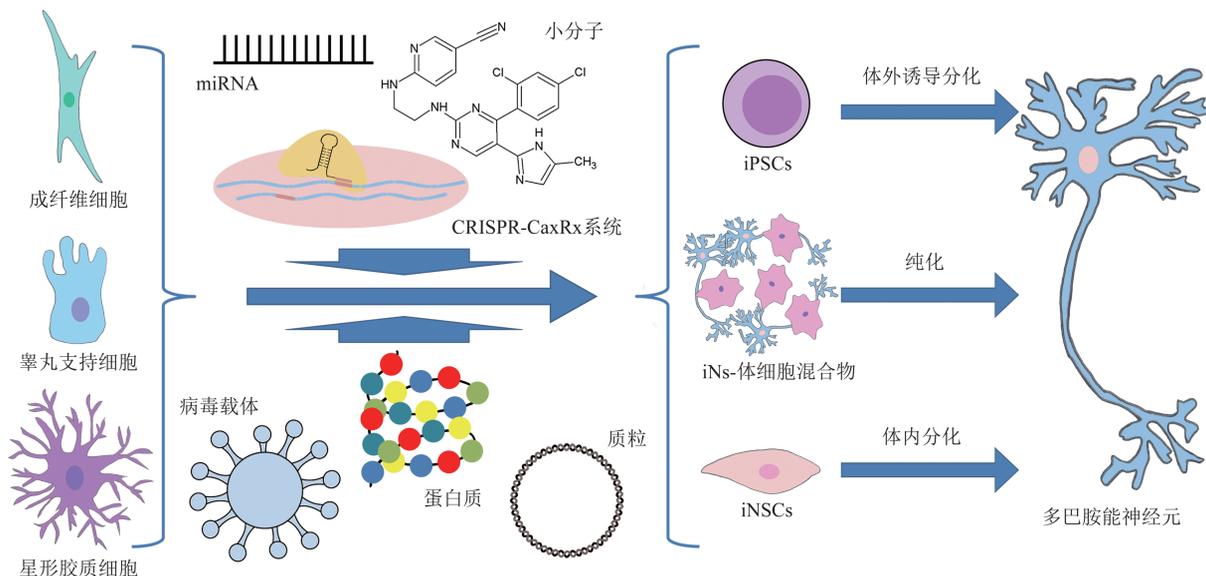


Fig. 1 The role of cell reprogramming in replacement therapies of dopaminergic neurons

图1 细胞重编程技术在多巴胺能神经元替代疗法中的作用

不同类型的体细胞可作为产生多巴胺能神经元的起始细胞; 体细胞可经细胞重编程转化为诱导多能干细胞 (iPSCs)、诱导多巴胺神经元 (iDNs) 和诱导神经干细胞 (iNSCs). 目前已产生了多种重编程诱导体系, 如以病毒为载体导入转录因子, 或直接使用特定的蛋白质、质粒、miRNA 和小分子等更加安全稳定的非病毒重编程体系, 新出现的 CRISPR-CasRx 技术为重编程提供了安全、精准且更加高效的诱导体系; iPSCs 可经体外诱导分化产生多巴胺能神经元, 而 iNSCs 经移植后在特定脑区分化为多巴胺能神经元, 纯化经直接重编程产生的 iDNs 可去除混合的体细胞, 分离得到纯度较高的可移植 iDNs.

## 1 细胞重编程机制

为实现细胞重编程, 需部分/完全下调起始细胞中原有的基因调控网络, 使某些特异性基因转为沉默, 同时上调新细胞类型的基因调控网络<sup>[7]</sup>. 转录因子被广泛用于重编程, 其发挥作用的关键是开启起始细胞的基因组, 暴露潜在的结合位点, 使转录因子能与 DNA 上特定区域相结合, 调控基因表达. 转录因子分为先驱因子和次级转录因子, 先驱因子可直接进入核小体, 结合到封闭的染色质区, 同时协调次级转录因子的结合<sup>[8]</sup>. Takahashi 等<sup>[9]</sup>在 2006 年通过 4 个转录因子 OCT4、SOX2、KLF4 和 C-MYC, 首次将小鼠成纤维细胞重编程为 iPSCs, 其中 OCT4、SOX2 和 KLF4 为先驱因子,

而 C-MYC 作为次级转录因子只与已开启的染色质区相结合, 间充质细胞转变为上皮细胞 (mesenchymal-to-epithelial transition, MET) 是成纤维细胞转化为 iPSCs 的关键步骤. TGF- $\beta$  可诱导转录因子基因 *Snail* 的表达, SNAIL 可进一步抑制上皮特异性基因 E-cadherin 及其他关键上皮调节因子的表达. 故 SOX2、OCT4 和 C-MYC 可通过抑制 TGF- $\beta$  信号通路进而抑制 *Snail* 基因的表达, 同时 KLF4 可直接促进上皮特异性基因的表达, 从而促进 iPSCs 的产生<sup>[10]</sup>; iDNs 是成体细胞经直接重编程产生的功能性多巴胺能神经元<sup>[11]</sup>. 体细胞转分化为 iDNs 时, ASCL1 等神经特异性转录因子作为先驱因子, 可促进某些神经元结构蛋白如 tau 蛋白、神经递质受体和离子通道等的表达, 此外还能开启基因组, 促进次级转录因子的结合, 次级转录因子

结合后可促进神经元亚型特异性蛋白质的表达, 如合成多巴胺所必需的酪氨酸羟化酶<sup>[8]</sup>. iNSCs主要通过两种途径产生, 即间接重编程和直接重编程<sup>[12]</sup>. 间接重编程指往成体细胞内导入 *Oct4*、*Sox2*、*Klf4* 和 *c-Myc* 转录因子基因, 经短期培养后获得一种处于中间状态的细胞群, 再更换培养基, 使其在神经干细胞培养基中逐步转化为 iNSCs; 直接重编程指通过与诱导 iPSCs、iDNs 类似的方式, 将体细胞直接转化为 iNSCs, 与间接重编程相比, 直接重编程所需时间更短, 效率更高.

使用转录因子可有效实现细胞重编程, 但通过逆转录病毒等整合型病毒导入转录因子基因会导致基因组不稳定, 且某些转录因子组合中含有原癌基因如 *c-Myc*, 因此转录因子的使用存在安全隐患. 最近, 科学家发现利用特定的小分子化合物可减少或替代导入的转录因子从而更具安全性, 并可大幅提高转化效率, 而且使用方便快捷. 此外, 研究者还可通过精确调节小分子的浓度以产生最佳的转化方案<sup>[13]</sup>. 小分子主要通过以下4种机制来调控基因表达: a. 激活或抑制相关的信号通路. 如 SB431542 等小分子可通过抑制 TGF- $\beta$  通路促进成纤维细胞向 iPSCs 的转化; GSK-3 $\beta$  (糖原合成酶激酶-3 $\beta$ ) 抑制剂 CHIR99021 可激活 WNT 信号通路, 并参与神经元发育过程, 有效促进了 iNSCs 的诱导; b. 调控表观遗传修饰相关的酶, 从而调节 DNA 的甲基化、组蛋白的甲基化和乙酰化, 控制基因表达. 如 DNA 去甲基化酶 TET1 可促进 *Oct4* 的活化并能替代外源性 *Oct4* 发挥功能, 维生素 C 可增强 TET1 的活性从而促进 iPSCs 重编程; 有研究表明, 丙戊酸 (valproic acid, VPA) 为一种组蛋白去乙酰化酶抑制剂, 联合使用 VPA、CHIR99021 和 TGF- $\beta$  抑制剂 Repsox 可有效激活 *NeuroG2* 和 *NeuroD1* 基因的表达, 促进星形胶质细胞在体外转分化为功能性神经元<sup>[14]</sup>; c. 作为代谢调节因子, 如干细胞主要通过有氧糖酵解以维持其增殖, PS48 可通过激活 3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1 从而使起始细胞转为以糖酵解为主的代谢状态, 从而促进 *Oct4* 的异位表达, 提高了 iPSCs 的诱导效率; d. 作为核受体的激动剂或拮抗剂, 如核受体 NR5A2 可替代 OCT4 起到对 iPSCs 的重编程作用, 通过调节核受体的活性直接调节转录过程<sup>[15-16]</sup>. 此外, 研究发现在重编程过程中细胞中的 miRNA 发挥着重要作用, 因此 miRNA 也可替代部分转录因子的功能对细胞进行重编程. miRNA 主要在转录后水平调控基因表达,

即 miRNA 通过结合 mRNA 3'端非翻译区中的相应位点, 抑制 mRNA 翻译或直接降解 mRNA, 最终下调靶基因的表达. 某些 miRNA 可靶向表观遗传学调节剂如组蛋白 H3K4 和 H3K9 脱甲基酶, 这类组蛋白脱甲基酶的下调可引起 DNA 去甲基化, 从而重置基因组 DNA 甲基化模式, 引起细胞重编程. 有研究表明, miRNA-302 可直接靶向一种核受体即 NR2F2, NR2F2 对 *Oct4* 基因具有负调控作用, 因此 NR2F2 的下调可促进 *Oct4* 的表达, 促进 iPSCs 的产生<sup>[17]</sup>. 除了上述的小分子及 miRNA 可代替转录因子用于重编程之外, 科学家还开发了其他能有效实现重编程的新型方案如 CRISPR/CasRx 基因编辑系统. 与 miRNA 相似, CRISPR/CasRx 基因编辑系统主要在转录后水平下调相关基因的表达. 在除神经元以外的其他细胞中, RNA 结合蛋白 PTBP1 蛋白能强烈抑制 miR-124 的活性, 而 miR-124 可抑制 REST 复合物的活性, REST 复合物是一种神经元限制性沉默因子, 可抑制某些神经性基因的表达. 因此, 以下调 *Ptbp1* 基因表达为 CRISPR/CasRx 的主要靶点可促进细胞转分化为相关神经元 (将在下文叙述)<sup>[18]</sup>.

## 2 用于PD治疗的细胞重编程技术

### 2.1 iPSCs技术

iPSCs 是成体细胞经重编程转化成的多能干细胞. 2007 年, 继首次将小鼠体细胞重编程为 iPSCs 后, Takahashi 等<sup>[19]</sup> 使用相同的 4 种转录因子将分化的人类体细胞重编程为人类诱导多能干细胞 (hiPSCs). 同一时期, 研究者证实中脑多巴胺神经元起源于底板 (floor plate) 细胞, 而不是神经上皮祖细胞. 根据该理论, 研究者们研发出了新一代的 hiPSCs 诱导分化方案. 例如, 通过同时抑制 SMAD 依赖性的转化生长因子- $\beta$  信号通路和 SMAD 依赖性的骨形成蛋白信号通路, 即“双重 SMAD 抑制”, 同时激活音猬因子 (sonic hedgehog, SHH), 多能干细胞可被诱导分化为神经底板细胞, 在使用 GSK-3 $\beta$  抑制剂激活 WNT 信号通路后, 底板细胞转化为多巴胺能神经细胞, 进一步分化产生稳定和功能性 TH 阳性多巴胺能神经元, 这些神经元表达 FOXA2 和 LMX1A 等关键的 mDA 神经元标志物 (FOXA2、LMX1A 与 mDA 神经元发育密切相关, 是 mDA 神经元特异性的关键转录因子). 这些由底板细胞衍生的多巴胺能神经元移植后可以显著改善运动症状, 与胎儿多巴胺能神经元

功效相当,且该实验未见肿瘤形成<sup>[6]</sup>. iPSCs在基因表达、增殖分化方面与ESCs极为相似,但相较于ESCs, iPSCs来源丰富,使其具有允许自体移植并能持续供应的优势,能在一定程度上避免免疫排斥反应,且不会引发伦理问题. Hallett等<sup>[20]</sup>将iPSCs衍生的多巴胺能神经元在PD食蟹猕猴模型中进行了自体移植,发现在不使用免疫抑制剂的情况下,可逐渐改善动物的运动功能,并观察到移植至壳核的细胞至少可存活2年,伴有广泛地投射至去多巴胺能神经元支配靶区. 近些年来,使用iPSCs治疗PD迅猛发展. 2017年, Kikuchi等<sup>[21]</sup>分离出了健康个体及PD患者来源的底板标记物CORIN<sup>+</sup> iPSCs诱导的多巴胺能祖细胞,并分别将其移植入MPTP损伤的食蟹猕猴壳核内,发现在2年观察期内移植细胞均可在脑内存活、增长,并能够支配宿主的纹状体,动物的运动症状得到相似程度的改善,而没有形成肿瘤,但两者的远期情况是否会出现差异尚有待研究. 2018年,日本开展了hiPSCs治疗PD的首次临床试验,主要评估hiPSCs治疗的安全性、耐受性和可行性,该试验预计将于2020年8月获知研究结果<sup>[22]</sup>. 最近, Schweitzer等<sup>[23]</sup>在一例PD患者中对其自体iPSCs衍生的多巴胺能神经元进行了为期2年的观察和分析,观察到宿主壳核接受移植后,移植细胞可良好存活,其轴突可投射至特异性靶区,使得壳核逐渐恢复多巴胺能神经元对其的支配,并且伴随PD患者运动症状的逐渐改善.

iPSCs除了在细胞替代方面的作用外,还被广泛用于构建疾病模型进行疾病机制的研究与新药筛选. iPSCs的优势较多: a. 强大的增殖分化能力,可提供无限的细胞来源; b. 已出现高效的分化方

案,可在特定条件下大规模生产由hiPSCs来源的多巴胺能神经元; c. 可以被低温贮藏,在移植前可对同一批细胞的安全性和功效进行临床前评估,且不影响细胞的功能(表1). 尽管iPSCs近年来取得了迅猛的发展,但仍有诸多问题有待解决,主要包括以下几个方面(表1): a. iPSCs理论上仍存在致癌性风险: 诱导因子C-MYC本身具有较高的致瘤风险,整合型病毒载体如逆转录病毒可将诱导因子基因插入宿主染色体,可能导致宿主基因组结构改变,从而使重编程诱导因子特别是原癌基因*c-Myc*的重新激活,使得产生的iPSCs具有安全隐患<sup>[6]</sup>. 最近,科学家们开发了新的方案来降低获得的iPSCs致癌性,如在诱导形成iPSCs的阶段使用非病毒或非整合型载体,即仙台病毒<sup>[24]</sup>、游离型质粒<sup>[25]</sup>、RNA<sup>[26-27]</sup>、蛋白质<sup>[28]</sup>和小分子化合物<sup>[29]</sup>;或在iPSCs分化后使用细胞分选技术FACS获得高纯度的多巴胺能神经元<sup>[30]</sup>. 其他正在研究的用于纯化iPSCs衍生的多巴胺能神经元的方法包括使用小分子如槲皮素、YM155<sup>[31]</sup>或病毒样颗粒<sup>[32]</sup>,选择性消除未分化的iPSCs. b. 重编程技术的分子机制和iPSCs的诱导分化机制并不完全清楚,产生iPSCs的效率较低, iPSCs中出现的克隆变异性可能导致致癌突变例如*TP53*的显性负突变,保留的前表型表观遗传记忆限制了iPSCs的定向分化<sup>[33]</sup>,因此需要开发新的方案以提高iPSCs基因组的稳定性以及iPSCs诱导分化效率. c. 开发符合临床标准的、充分优化的、高效安全的iPSCs来源多巴胺能细胞诱导分化方案对iPSCs走向临床应用至关重要. d. iPSCs允许自体移植,但自体移植的成本高,准备时间长<sup>[34]</sup>,并且患者自身的体细胞可能有PD相关的基因突变,因此不适合临床推广.

Table 1 Comparison of advantages and disadvantages of three cell types generated by reprogramming for PD

表1 经重编程产生的可用于治疗PD的3种细胞类型的优缺点对比

经重编程产生的细胞类型	优点	缺点
诱导多能干细胞 (iPSCs)	强大的增殖分化能力; 已建立的高效分化方案可用于大规模标准化生产; 可被低温贮藏	致癌性风险; 具有表观遗传记忆, 影响其分化
诱导多巴胺神经元 (iDNs)	不经过多能性状态, 致癌性显著降低; 诱导周期短; 允许体内重编程, 无需移植过程	转化效率低; 表型不能长时间稳定维持; 成熟程度较低; 治疗效果较多能干细胞差; 终末分化的iDNs移植后存活率较低, 无法提供较充足的细胞来源
诱导神经干细胞 (iNSCs)	具有自我更新和扩增能力, 能提供充足的细胞来源, 移植后存活率较高; 分化具有特异性, 主要分化为神经元和胶质细胞, 比iPSCs更安全; 诱导周期较短	移植后很难控制其在体内的分化方向

## 2.2 iDNs技术

iDNs与iPSCs来源的多巴胺能神经元相比, 具有几个显著的优势: a. 不经过中间的多能干细胞阶段, 因此能避免肿瘤形成的风险, 并且很大程度地简化产生多巴胺能神经元的步骤; b. 与iPSCs诱导分化成多巴胺能神经元的所需时间相比, 体细胞直接重编程生成iDNs所需时间大大缩短<sup>[8]</sup>. 此外, 产生iDNs允许使用患者自体体细胞, 甚至在体内直接对患者体细胞进行重编程产生iDNs, 避免了免疫排斥反应且不会引发伦理问题<sup>[11, 35]</sup> (表1).

### 2.2.1 经体外直接重编程获得iDNs

2010年, Vierbuchen等<sup>[36]</sup>通过3个转录因子ASCL1 (MASH1)、BRN2和MYT1L首次在体外将小鼠成纤维细胞直接重编程为功能性神经元, 即诱导神经元 (induced neurons, iNs). 2011年, Pfisterer等<sup>[37]</sup>使用上述3种转录因子, 并加入FOXA2和LMX1A, 首次将人类成纤维细胞直接转化为iDNs. 其他研究者通过不同组合的转录因子将小鼠和人类的成纤维细胞直接重编程为iDNs, 试验显示获得的iDNs在基因表达、释放DA的能力与脑中原有的DA神经元相当, 并且移植后能够存活. 2011年, 研究证明, 将iDNs移植入PD小鼠模型中能缓解动物的运动症状<sup>[38]</sup>. Dell' Anno等<sup>[39]</sup>将产生的iDNs移植到6-OHDA诱导的大鼠PD模型的纹状体中, 证明细胞移植后能够长期存活 (至少12周), 展现出良好的电生理学特性, 并且能明显改善动物的运动行为; 此外, 他们通过药物遗传学工具即只由特定药物激活的受体 (designer receptors exclusively activated by designer drugs, DREADDs) 安全有效地控制移植细胞的DA释放, 证明移植细胞能与宿主神经网络建立功能上的联系, 且免疫组化染色显示移植细胞的轴突能良好支配宿主纹状体.

尽管体细胞经体外直接重编程生成的iDNs颇具优势, 但仍有诸多问题急需解决 (表1): a. iDNs的转化效率低是一个主要问题. 最近, 有研究发现将转录因子ASCL1、NURR1与miR-34b/c相结合时, 可明显提高成纤维细胞转分化为iDNs的效率, 产生的iDNs能合成DA并显示良好的电生理学特性<sup>[40]</sup>. 此外, 如前文所述, 已发现丙戊酸、GSK-3 $\beta$ 抑制剂CHIR99021等小分子, 可促进细胞重编程为iDNs<sup>[13, 41]</sup>; b. 获得的iDNs表型不能稳定维持, 提前停止重编程会使其恢复为前表型<sup>[39]</sup>; c. 与ESCs相比, iDNs改善运动行为的能力较弱;

d. iDNs的成熟程度仍需提高; e. 对细胞直接重编程的机制有待深入探究, 需要建立适用于临床的稳定有效的诱导分化方案; f. 目前, 移植后iDNs的远期存活率、长期稳定性、安全性, 对恢复运动症状的有效性缺乏更多试验支持.

### 2.2.2 体内直接重编程获得iDNs

体内直接重编程可以使脑部细胞 (如神经胶质细胞) 直接转化为iDNs, 而不需要细胞移植, 从而简化了产生iDNs的步骤<sup>[11]</sup>. 2017年, Rivetti di Val Cervo等<sup>[42]</sup>使用3种转录因子NEUROD1、ASCL1和LMX1A, 以及miR218, 首次在PD小鼠模型中将小鼠纹状体中的星形胶质细胞在体内直接转化为iDNs, 所产生的小鼠iDNs能改善小鼠的运动行为和步态控制, 且产生的iDNs可使突触后上调的DA受体恢复至正常水平. 体内直接重编程效率低仍是一个亟待解决的问题, 最近科学家发现使用磁化的金纳米颗粒能明显提高体内转分化效率, 产生的iDNs具有许多中脑DA神经元的功能特性, 且这项技术是无创的, 但尚未在PD模型体内证实所获得iDNs的有效性<sup>[43]</sup>. 2020年, Zhou等<sup>[18]</sup>在6-OHDA诱导的PD小鼠模型中利用CRISPR-CasRx系统, 下调纹状体星形胶质细胞中*Ptbp1*表达, 从而在体内将星形胶质细胞高效转分化为多巴胺能神经元, 所产生的iDNs可接受有功能的突触输入, 在3个月的观察期内能稳定存活, 并且证实产生的iDNs能缓解PD小鼠运动障碍. CRISPR-CasRx基因编辑系统通过往细胞内导入AAV携带的基因序列, 这些基因序列可表达引导RNA和CasRx以靶向切割*Ptbp1*的mRNA, 从而下调PTBP1以促进神经元特异性转录因子的表达, 促进纹状体中的星形胶质细胞转分化为多巴胺能神经元 (最终产生的神经元亚型取决于起始胶质细胞的类型及诱导环境). Cas13d家族中的CasRx蛋白体积最小、效率高, 且具有较高的靶向特异性, 这使得CRISPR-CasRx技术具有诸多优势: 与导入转录因子的方法相比, 这项技术应用使得转分化效率明显提高; 与RNA干扰技术相比, 该技术更加精准有效, 大大减少了脱靶效应; 此外, 靶向RNA的CRISPR-CasRx系统与靶向DNA的CRISPR-Cas9技术相比更具安全性, 因为CasRx介导的基因沉默不会改变基因组DNA.

体内直接产生多巴胺能神经元对PD治疗有巨大潜力, 因为这种技术可以直接使用脑内神经胶质细胞, 而无需移植外源细胞<sup>[11]</sup>; PD中增生的反应

性神经胶质细胞与神经炎症有着密切关系, 进一步促进了DA神经元丢失. 如能将增生的神经胶质细胞直接重编程为iDNs不仅可弥补已丢失的DA神经元, 还能同时减缓PD进展, 一箭双雕对抗PD. 除了需要进一步开发高效率的体内直接重编程方案外, 目前iDNs治疗PD存在的主要问题有(表1): a. 需要寻找最合适的重编程诱导体系、导入方式和细胞来源, 以建立适用于临床的重编程技术; b. 体内直接重编程的分子机制有待进一步探究; c. 经体内重编程获得的iDNs功效有待充分的试验支持; d. 未在人体内证实体内直接重编程所获得的iDNs安全性和有效性<sup>[42]</sup>.

### 2.3 iNSCs技术

iNSCs是成体细胞经过细胞重编程获得的与神经干细胞相似的、具有自我更新和多向分化能力的细胞<sup>[12]</sup>. iNSCs也可实现自体移植, 且与iPSCs和iDNs相比, iNSCs具有以下优势(表1): a. iNSCs的分化具有特异性, 即主要向神经元和神经胶质细胞方向分化, 因此iNSCs比iPSCs更加安全, 成瘤性大幅下降; b. 产生iNSCs的诱导周期较iPSCs更短, 因此获得iNSCs相较于iPSCs更加简单迅速, 效益更高<sup>[44]</sup>; c. iNSCs具有自我更新能力和分裂潜能, 能提供充足的细胞来源, 而iDNs是终末分化的细胞, 不具备自我更新及分化能力, 从而导致获得的iDNs数量有限以及移植后iDNs的存活率较低<sup>[45]</sup>.

Sheng等<sup>[45]</sup>在小鼠睾丸支持细胞内导入*Ascl1*、*Ngn2*、*Hes1*等9种神经干细胞特异性的转录因子基因, 使其在体外转化为iNSCs. 获得的iNSCs可表达多种神经干细胞特异性标记物, 具有与正常神经干细胞相似的基因表达谱, 能自我更新, 并能分化为星形胶质细胞、少突胶质细胞以及包括多巴胺能神经元在内的多种神经元亚型, 且移植后能良好存活. 2015年, 该研究团队进一步研究了iNSCs在PD小鼠模型中的治疗作用, 并探讨往iNSCs导入*Lmx1a*基因是否会对疗效产生影响<sup>[45]</sup>. 首次证实, 将体细胞转化的iNSCs移植入PD小鼠模型脑内后, PD小鼠的运动症状得到缓解. 且与对照组相比, 过表达*Lmx1a*的iNSCs在体外产生了更多数量的多巴胺能神经元, 且释放的多巴胺更多, 移植后PD小鼠的旋转行为改善更加明显. 2017年, Choi等<sup>[47]</sup>将小鼠成纤维细胞直接重编程为iNSCs, 并将其移植入6-OHDA损伤的小鼠纹状体后, PD小鼠的旋转行为明显减少. 该试验证实iNSCs移植

后能良好地存活且没有肿瘤形成, iNSCs分化产生的多巴胺能神经元能迁移到黑质致密部, 此外, 在小鼠纹状体中还观察到神经胶质细胞数量明显增加. iNSCs移植后, DA神经元死亡速度减慢, 表明iNSCs或其分化产生的细胞可能对DA神经元有保护作用.

虽然已有动物实验证实iNSCs移植可以改善PD的运动症状, 但仍缺乏足够数量的临床试验支持以保证其安全性、有效性和长期的存活率; iNSCs移植后, 很难控制其在体内的分化方向(表1); 此外, 尚未建立稳定的可用于临床的诱导方案; 虽然有研究者通过使用相关转录因子和miRNA等, 在小鼠体内将星形胶质细胞成功地重编程为神经干细胞<sup>[48]</sup>, 但尚未有研究报道在PD动物模型内经体内重编程产生的iNSCs可有效分化为多巴胺能神经元及缓解PD症状.

## 3 细胞重编程及移植技术治疗PD的共同挑战

### 3.1 移植的多巴胺能神经元的病理改变

移植后 $\alpha$ -突触核蛋白可出现从宿主到移植物的转移, 是移植的多巴胺能神经元发挥功效的主要障碍<sup>[49]</sup>. 早期研究发现, PD患者的fVM移植植物中出现了路易小体的病理改变, 因此科学家认为病理性 $\alpha$ -突触核蛋白能以类似朊病毒的方式发挥作用. Li等<sup>[50]</sup>首次证实, 即使移植的DA神经元能良好生长并支配宿主纹状体, 当移植植物中出现广泛的路易小体时, 移植植物将失去功效. 最近, 多项研究证实, PD患者自体细胞来源的hiPSCs较健康个体来源的hiPSCs分化产生的多巴胺能神经元移植后更易出现路易小体的病理改变<sup>[51-53]</sup>. 研究发现, 针对 $\alpha$ -突触核蛋白的一种新型单克隆抗体能够有效减少 $\alpha$ -突触核蛋白的聚集和毒性传播<sup>[54]</sup>, 因此在移植多巴胺能神经元的同时使用 $\alpha$ -突触核蛋白单克隆抗体对PD患者进行被动免疫, 或在体外纠正患者自体细胞中与PD相关的基因突变可能是有前景的解决方法.

### 3.2 黑质外的病理改变

PD患者的某些非运动症状可出现在运动症状之前, 随着PD的进展, 部分患者出现频繁的跌倒和步态冻结, 并且这些运动症状无法通过左旋多巴等药物缓解. 非运动症状与左旋多巴无效的运动症状与中枢神经系统(central nervous system, CNS)黑质外的脑区和非CNS区域出现路易小体病理改

变有关,可能涉及胆碱能系统,去甲肾上腺素能系统等多个神经递质系统<sup>[55-56]</sup>.德国学者Braak提出的Braak分期解释了路易小体的病理进展过程<sup>[2]</sup>.目前经细胞重编程产生的多巴胺能神经元及其移植主要是针对DA系统,可能对非运动症状与左旋多巴无效的运动症状不起作用.因此可能需要联合的细胞替代疗法,即在有路易小体病理改变的不同区域替换区域内功能丧失的神经元.如Braak2期脑桥中缝核中5-羟色胺能神经元的丢失与PD患者的抑郁、睡眠障碍等有关<sup>[57]</sup>,联合移植多巴胺能神经元和5-羟色胺能神经元分别至其病灶区域可能可以更好地改善PD症状.

### 3.3 建立稳定的神经环路

移植后或脑内直接生成的多巴胺能神经元整合入宿主的神经网络,重建与宿主的突触传入和传出连接,并与宿主神经网络建立长期稳定的结构和功能上的联系是其发挥功效的重要条件.因此需要特定的技术以评估移植后是否建立有效的神经环路.在PD动物模型中,科学家们尝试使用改良的狂犬病毒单突触示踪技术<sup>[58]</sup>、光遗传学技术<sup>[59]</sup>和化学遗传学技术<sup>[60]</sup>,揭示宿主和移植后的DA神经元在结构和功能上的整合,并证明PD运动症状的改善确实由移植的DA神经元介导.研究发现,即使在衰老病态的脑内环境下,去mDA神经元支配的脑区存在高度特异性的可引导多巴胺能神经元轴突投射至其正常靶区的机制,同时新产生的多巴胺能神经元接受来自宿主神经元的兴奋性和抑制性调节,进而恢复直接通路和间接通路的正常功能,缓解PD运动症状<sup>[61]</sup>.但神经环路的远期稳定性尚待观察,可将与突触形成相关的基因导入移植细胞,以建立长期稳定的神经环路.此外,大多数实验主要将多巴胺能神经元置于宿主纹状体,但完整神经环路的重建需要将DA神经元移植至其正常位置即黑质,目前仍受到技术条件的限制而无法实现,完整神经环路的重建可能使PD患者更加复杂的运动功能及非运动功能障碍得到有效缓解.

### 3.4 免疫排斥

宿主对移植物的免疫排斥反应是细胞移植的主要障碍.虽然经体外细胞重编程及诱导分化产生的多巴胺能神经元可通过主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)匹配和自体细胞移植等方法解决这一问题.但在移植前,需对MHC匹配和自体来源细胞的安全性和有效性进行严格的临床前评估,由于目前技术的限制,这

将耗费大量的成本和时间,因此难以规模化应用<sup>[34, 62]</sup>.目前,hiPSCs干细胞库的建立能满足多数PD患者的免疫配型需求且更符合临床需求<sup>[1]</sup>.此外,科学家正在尝试通过基因编辑产生能避免免疫识别的细胞.

### 3.5 神经炎症

PD是一种慢性神经退行性疾病,长期存在的神经炎症反应可激活小胶质细胞和星形胶质细胞等神经胶质细胞,使其由具有神经保护作用的静息态转变为有毒性损伤作用的反应态.反应性神经胶质细胞通过释放促炎症介质和细胞毒素加剧炎症反应,损伤DA神经元,并造成恶性循环.同时反应性小胶质细胞释放的炎症细胞因子也可导致异常激活的星形胶质细胞的生成<sup>[6, 63]</sup>.因此,除了移植和替换DA神经元,还可用细胞重编程技术产生和移植具有神经保护作用的神经胶质细胞<sup>[64]</sup>,或在体外将与神经保护作用有关的基因导入移植细胞,提高移植的多巴胺能神经元的存活率,延缓PD的进展.此外,科学家发现细胞外基质中的某些蛋白质可促进mDA神经元的存活,如层粘连蛋白511可激活转录辅助因子YAP,层粘连蛋白511-YAP信号通路可减少氧化应激中mDA神经元的丢失<sup>[65]</sup>.

## 4 小结与展望

细胞重编程和移植技术作为PD潜在的治疗手段,近年来取得了许多突破性的进展,为PD的治疗带来了新的希望.目前这一领域使用的细胞主要有iPSCs、iDNs和iNSCs,这3种不同类型的细胞各有利弊:iPSCs增殖分化能力强,经体外诱导分化后可产生多巴胺能细胞,移植后对PD的治疗效果较好,但iPSCs具有致癌性等安全问题;iDNs的产生不经过中间的多能干细胞阶段,因此可以增强安全性,但转化效率仍有待提高,且缺乏广泛试验探究;iNSCs具有一定增殖分化能力,主要分化为神经元和神经胶质细胞,因此与iPSCs相比,iNSCs更具安全性,而与终末分化的iDNs相比,iNSCs能提供充足的细胞来源,且移植后的存活率更高,但移植后iNSCs在体内的分化方向目前较难控制,需深入探究影响iNSCs分化方向的相关因素.此外,iPSCs、iDNs和iNSCs移植治疗PD尚存在共同的挑战,解决这些问题将有助于其向临床应用转化,未来的研究可针对以下两方面进行:其一,对经重编程产生的细胞进行改造使其具有更强大的生存能力及重建宿主神经环路的能力,从而更

好适应宿主脑内病态微环境,这一改造过程可能需要导入或敲除某些基因;其二,联合的细胞疗法:  
a. 除了替换PD宿主脑内丧失的DA神经元外,可进行联合的细胞替代疗法改善除主要运动症状以外的非运动症状和左旋多巴无效的运动症状;b. 联合移植具有神经保护作用的神经胶质细胞,阻止疾病持续进展.

从首次建立iPSCs至今,科学家们广泛探索了不同方法对细胞进行重编程的机制,但细胞重编程是一个复杂的多因素共同协作的基因调控过程,尚存在许多问题亟待深入研究,如寻找最合适的重编程体系、导入方式和细胞来源等,建立适用于临床的重编程技术.新出现的小分子、RNA及CRISPR系统等诱导体系使得与采用转录因子进行重编程的方法相比,重编程效率更高且更加安全.总之,细胞重编程和移植技术为PD治疗提供了新的希望,期望未来随着技术的不断发展,目前的问题能得到有效解决,细胞重编程和移植技术在治疗PD中将得到广泛应用.

### 参 考 文 献

- [1] Sonntag K C, Song B, Lee N, *et al.* Pluripotent stem cell-based therapy for Parkinson's disease: current status and future prospects. *Prog Neurobiol*, 2018, **168**: 1-20
- [2] Kalia L V, Lang A E. Parkinson's disease. *Lancet (London, England)*, 2015, **386**(9996): 896-912
- [3] Antonini A, Moro E, Godeiro C, *et al.* Medical and surgical management of advanced Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 2018, **33**(6): 900-908
- [4] Parmar M, Grealish S, Henchcliffe C. The future of stem cell therapies for Parkinson disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 2020, **21**(2): 103-115
- [5] Rossi M, Bruno V, Arena J, *et al.* Challenges in PD patient management after DBS: a pragmatic review. *Movement Disorders Clinical Practice*, 2018, **5**(3): 246-254
- [6] Man J H K, Groenink L, Caiazzo M. Cell reprogramming approaches in gene- and cell-based therapies for Parkinson's disease. *J Control Release*, 2018, **286**: 114-124
- [7] Aydin B, Mazzoni E O. Cell reprogramming: the many roads to success. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2019, **35**: 433-452
- [8] Mertens J, Marchetto M C, Bardy C, *et al.* Evaluating cell reprogramming, differentiation and conversion technologies in neuroscience. *Nature Reviews Neuroscience*, 2016, **17**(7): 424-437
- [9] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, **126**(4): 663-676
- [10] Pei D, Shu X, Gassama-Diagne A, *et al.* Mesenchymal-epithelial transition in development and reprogramming. *Nature Cell Biology*, 2019, **21**(1): 44-53
- [11] Grealish S, Drouin-Ouellet J, Parmar M. Brain repair and reprogramming: the route to clinical translation. *J Intern Med*, 2016, **280**(3): 265-275
- [12] Shahbazi E, Mirakhori F, Ezzatizadeh V, *et al.* Reprogramming of somatic cells to induced neural stem cells. *Methods (San Diego, Calif)*, 2018, **133**: 21-28
- [13] Chen Y, Pu J, Zhang B. Progress and challenges of cell replacement therapy for neurodegenerative diseases based on direct neural reprogramming. *Human Gene Therapy*, 2016, **27**(12): 962-970
- [14] Cheng L, Gao L, Guan W, *et al.* Direct conversion of astrocytes into neuronal cells by drug cocktail. *Cell Research*, 2015, **25**(11): 1269-1272
- [15] Chen Y, Liu K, Tang S, *et al.* Chemical approaches to cell reprogramming. *Curr Opin Genet Dev*, 2014, **28**: 50-56
- [16] Liu D, Pavathuparambil Abdul Manaph N, Al-Hawwas M, *et al.* Small molecules for neural stem cell induction. *Stem Cells and Development*, 2018, **27**(5): 297-312
- [17] Yang H, Zhang L, An J, *et al.* MicroRNA-mediated reprogramming of somatic cells into neural stem cells or neurons. *Molecular Neurobiology*, 2017, **54**(2): 1587-1600
- [18] Zhou H, Su J, Hu X, *et al.* Glia-to-neuron conversion by CRISPR-CasRx alleviates symptoms of neurological disease in mice. *Cell*, 2020, **181**(3): 590-603.e516
- [19] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, *et al.* Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 2007, **131**(5): 861-872
- [20] Hallett P J, Deleidi M, Astradsson A, *et al.* Successful function of autologous iPSC-derived dopamine neurons following transplantation in a non-human primate model of Parkinson's disease. *Cell Stem Cell*, 2015, **16**(3): 269-274
- [21] Kikuchi T, Morizane A, Doi D, *et al.* Human iPSC cell-derived dopaminergic neurons function in a primate Parkinson's disease model. *Nature*, 2017, **548**(7669): 592-596
- [22] Takahashi J. Preparing for first human trial of induced pluripotent stem cell-derived cells for Parkinson's disease: an interview with Jun Takahashi. *Regenerative Medicine*, 2019, **14**(2): 93-95
- [23] Schweitzer J S, Song B, Herrington T M, *et al.* Personalized iPSC-derived dopamine progenitor cells for Parkinson's Disease. *N Engl J Med*, 2020, **382**(20): 1926-1932
- [24] Vlahos K, Sourris K, Mayberry R, *et al.* Generation of iPSC lines from peripheral blood mononuclear cells from 5 healthy adults. *Stem Cell Research*, 2019, **34**: 101380
- [25] Wang A Y L, Loh C Y Y. Episomal induced pluripotent stem cells: functional and potential therapeutic applications. *Cell Transplantation*, 2019, **28**(1\_suppl): 112s-131s
- [26] Rohani L, Fabian C, Holland H, *et al.* Generation of human induced pluripotent stem cells using non-synthetic mRNA. *Stem Cell Research*, 2016, **16**(3): 662-672
- [27] Umrath F, Steidle H, Weber M, *et al.* Generation of iPSCs from jaw periosteal cells using self-replicating RNA. *Int J Mol Sci*, 2019,

- 20(7): 1648
- [28] Uhlin E, Marin Navarro A, Rönnholm H, *et al.* Integration free derivation of human induced pluripotent stem cells using laminin 521 matrix. *J Vis Exp*, 2017, Jul7(125): 56146
- [29] Biswas D, Jiang P. Chemically induced reprogramming of somatic cells to pluripotent stem cells and neural cells. *Int J Mol Sci*, 2016, **17**(2): 226
- [30] Lehnen D, Barral S, Cardoso T, *et al.* IAP-based cell sorting results in homogeneous transplantable dopaminergic precursor cells derived from human pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports*, 2017, **9**(4): 1207-1220
- [31] Lee M O, Moon S H, Jeong H C, *et al.* Inhibition of pluripotent stem cell-derived teratoma formation by small molecules. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(35): E3281-3290
- [32] Rampoldi A, Crooke S N, Preininger M K, *et al.* Targeted elimination of tumorigenic human pluripotent stem cells using suicide-inducing virus-like particles. *ACS Chemical Biology*, 2018, **13**(8): 2329-2338
- [33] Roost M S, Sliker R C, Bialecka M, *et al.* DNA methylation and transcriptional trajectories during human development and reprogramming of isogenic pluripotent stem cells. *Nature Communications*, 2017, **8**(1): 908
- [34] Parmar M. Towards stem cell based therapies for Parkinson's disease. *Development (Cambridge, England)*, 2018, **145**(1): dev156117
- [35] An N, Xu H, Gao W Q, *et al.* Direct conversion of somatic cells into induced neurons. *Molecular Neurobiology*, 2018, **55**(1): 642-651
- [36] Vierbuchen T, Ostermeier A, Pang Z P, *et al.* Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. *Nature*, 2010, **463**(7284): 1035-1041
- [37] Pfisterer U, Kirkeby A, Torper O, *et al.* Direct conversion of human fibroblasts to dopaminergic neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(25): 10343-10348
- [38] Kim J, Su S C, Wang H, *et al.* Functional integration of dopaminergic neurons directly converted from mouse fibroblasts. *Cell Stem Cell*, 2011, **9**(5): 413-419
- [39] Dell'anno M T, Caiazzo M, Leo D, *et al.* Remote control of induced dopaminergic neurons in parkinsonian rats. *The J Clin Invest*, 2014, **124**(7): 3215-3229
- [40] De Gregorio R, Pulcrano S, De Sanctis C, *et al.* MiR-34b/c regulates Wnt1 and enhances mesencephalic dopaminergic neuron differentiation. *Stem Cell Reports*, 2018, **10**(4): 1237-1250
- [41] Pfisterer U, Ek F, Lang S, *et al.* Small molecules increase direct neural conversion of human fibroblasts. *Scientific Reports*, 2016, **6**: 38290
- [42] Rivetti Di Val Cervo P, Romanov R A, Spigolon G, *et al.* Induction of functional dopamine neurons from human astrocytes in vitro and mouse astrocytes in a Parkinson's disease model. *Nature Biotechnology*, 2017, **35**(5): 444-452
- [43] Yoo J, Lee E, Kim H Y, *et al.* Electromagnetized gold nanoparticles mediate direct lineage reprogramming into induced dopamine neurons *in vivo* for Parkinson's disease therapy. *Nature Nanotechnology*, 2017, **12**(10): 1006-1014
- [44] Erharter A, Rizzi S, Mertens J, *et al.* Take the shortcut - direct conversion of somatic cells into induced neural stem cells and their biomedical applications. *FEBS Letters*, 2019, **593**(23): 3353-3369
- [45] Sheng C, Zheng Q, Wu J, *et al.* Direct reprogramming of sertoli cells into multipotent neural stem cells by defined factors. *Cell Research*, 2012, **22**(1): 208-218
- [46] Wu J, Sheng C, Liu Z, *et al.* Lmx1a enhances the effect of iNSCs in a PD model. *Stem Cell Research*, 2015, **14**(1): 1-9
- [47] Choi D H, Kim J H, Kim S M, *et al.* Therapeutic potential of induced neural stem cells for Parkinson's disease. *Int J Mol Sci*, 2017, **18**(1): 224
- [48] Ghasemi-Kasman M, Hajikaram M, Baharvand H, *et al.* MicroRNA-mediated in vitro and *in vivo* direct conversion of astrocytes to neuroblasts. *Plos One*, 2015, **10**(6): e0127878
- [49] Barker R A, Drouin-Ouellet J, Parmar M. Cell-based therapies for Parkinson disease—past insights and future potential. *Nature Reviews Neurology*, 2015, **11**(9): 492-503
- [50] Li W, Englund E, Widner H, *et al.* Extensive graft-derived dopaminergic innervation is maintained 24 years after transplantation in the degenerating parkinsonian brain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, **113**(23): 6544-6549
- [51] Zambon F, Cherubini M, Fernandes H J R, *et al.* Cellular  $\alpha$ -synuclein pathology is associated with bioenergetic dysfunction in Parkinson's iPSC-derived dopamine neurons. *Human Molecular Genetics*, 2019, **28**(12): 2001-2013
- [52] Chung S Y, Kishinevsky S, Mazzulli J R, *et al.* Parkin and PINK1 patient iPSC-derived midbrain dopamine neurons exhibit mitochondrial dysfunction and  $\alpha$ -synuclein accumulation. *Stem Cell Reports*, 2016, **7**(4): 664-677
- [53] Bieri G, Brahic M, Bousset L, *et al.* LRRK2 modifies  $\alpha$ -syn pathology and spread in mouse models and human neurons. *Acta Neuropathologica*, 2019, **137**(6): 961-980
- [54] Games D, Valera E, Spencer B, *et al.* Reducing C-terminal-truncated alpha-synuclein by immunotherapy attenuates neurodegeneration and propagation in Parkinson's disease-like models. *J Neurosci*, 2014, **34**(28): 9441-9454
- [55] Bohnen N I, Kanel P, Zhou Z, *et al.* Cholinergic system changes of falls and freezing of gait in Parkinson's disease. *Annals of Neurology*, 2019, **85**(4): 538-549
- [56] Nahimi A, Sommerauer M, Kinnerup M B, *et al.* Noradrenergic deficits in Parkinson disease imaged with (11)C-MeNER. *Journal of Nuclear Medicine*, 2018, **59**(4): 659-664
- [57] Pagano G, Politis M. Molecular imaging of the serotonergic system in Parkinson's disease. *International Review of Neurobiology*, 2018, **141**: 173-210
- [58] Adler A F, Cardoso T, Nolbrant S, *et al.* HESC-derived dopaminergic transplants integrate into basal ganglia circuitry in a preclinical model of Parkinson's disease. *Cell Reports*, 2019, **28**(13): 3462-3473.e3465
- [59] Habibey R, Sharma K, Swiersy A, *et al.* Optogenetics for neural transplant manipulation and functional analysis. *Biochemical and*

- Biophysical Research Communications, 2020, **527**(2): 343-349
- [60] Roth B L. DREADDs for neuroscientists. *Neuron*, 2016, **89**(4): 683-694
- [61] Björklund A, Parmar M. Neuronal replacement as a tool for basal ganglia circuitry repair: 40 years in perspective. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2020, **14**: 146
- [62] Yener Ilce B, Cagin U, Yilmazer A. Cellular reprogramming: a new way to understand aging mechanisms. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*, 2018, **7**(2).DOI:10.1002/wdev.308
- [63] Lee Y, Lee S, Chang S C, *et al.* Significant roles of neuroinflammation in Parkinson's disease: therapeutic targets for PD prevention. *Archives of Pharmacal Research*, 2019, **42**(5): 416-425
- [64] Barker R A, Götz M, Parmar M. New approaches for brain repair-from rescue to reprogramming. *Nature*, 2018, **557**(7705): 329-334
- [65] Zhang D, Yang S, Toledo E M, *et al.* Niche-derived laminin-511 promotes midbrain dopaminergic neuron survival and differentiation through YAP. *Science Signaling*, 2017, **10**(493): eaal4165

## Recent Progress of Cellular Reprogramming and Transplantation Technologies in Parkinson Disease\*

LI Ling-Jie, CUI Wei, XU Shu-Jun, WANG Qin-Wen\*\*

(Zhejiang Provincial Key Laboratory of Pathophysiology, School of Medicine, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

**Abstract** Parkinson disease (PD) is a complex neurodegenerative disorder of the central nervous system(CNS), the core pathological hallmark of which is the progressive loss of dopamine neurons in the substantia nigra pars compacta. At present, the main treatments of PD include drugs and surgery. However, the drugs lack enough neuroprotective activity, etiological treatment, and are not available in the later period, and the risk of surgery is high. Recently, cellular reprogramming technologies have made breakthrough developments. Induced pluripotent stem cells(iPSCs), induced dopamine neurons(iDNs) and induced neural stem cells(iNSCs) which are generated through reprogramming can be applied to treatment of PD. Transplantation of dopaminergic neurons differentiated from iPSCs, iDNs and iNSCs to specific brain regions can replace the lost neurons or restore the functional integrity of neurons, thus providing an effective treatment for PD. This article introduces mechanisms of cellular reprogramming, and summarizes advantages, disadvantages and efficacy of iPSCs, iDNs and iNSCs in the treatment of PD. It also explains current challenges and discusses the possible solutions.

**Key words** Parkinson disease, cellular reprogramming, induced pluripotent stem cells, induced dopamine neurons, induced neural stem cells, transplantation, dopaminergic neurons

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2020.0149

---

\* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China(U1503223), the Key Research and Development Project of Ningbo(2019B10034), and the K.C. Wong Magna Fund in Ningbo University.

\*\* Corresponding author.

Tel: 86-574-87605175, E-mail: wangqinwen@nbu.edu.cn

Received: May 17, 2020 Accepted: August 7, 2020