

## 诱导多功能干细胞治疗阿尔茨海默病的研究进展\*

王媛媛<sup>1)</sup> 鲍晓明<sup>2)</sup> 凌云翔<sup>1)</sup> 王钦文<sup>1)</sup> 徐淑君<sup>1)\*\*</sup>

(<sup>1)</sup> 宁波大学医学院, 浙江省病理生理学重点实验室, 宁波 315211; (<sup>2)</sup> 宁波市第二医院, 宁波 315010)

**摘要** 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种多因素相关的复杂性疾病, 临床主要表现为记忆力逐渐丧失和认知功能障碍。目前尚无有效的治疗方法。由AD病人来源的诱导多功能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)分化成的神经元具有AD的相关病理表现, 是AD发病机制研究和潜在药物筛选的模型之一。由于iPSCs的分化潜能, iPSCs又能分化为不同类型的神经细胞改善AD的症状。iPSCs相关研究成为目前AD研究的热点之一。本文主要综述iPSCs在AD病理机制研究和AD治疗中的作用。

**关键词** 阿尔茨海默病, 诱导多功能干细胞, 神经细胞

**学科分类号** Q2, Q4, R338

**DOI:** 10.16476/j.piibb.2017.0429

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种与年龄相关的神经退行性疾病。主要病理表现是大脑皮质萎缩, 脑细胞内神经纤维缠结, 细胞外老年斑以及海马和皮层神经元丢失<sup>[1]</sup>。临床表现为进行性记忆损伤和认知功能障碍。AD是21世纪医疗保健面临的一大挑战。2013年12月, 八国集团表示, 应将痴呆症作为一项全球优先事项, 并在2025年之前实现治疗或疾病修复治疗的目标。2015年, 全球约有990万例新发痴呆患者将被诊断——每3秒钟就有1例。到2050年, 全球患有AD的人数将从目前的4600万人增加至1.315亿人<sup>[2]</sup>。然而AD的发病机理仍然不明, 给临床上AD的预防及治疗带来了很大的困难。目前还没有有效的治疗方法或药物根治该疾病。通常只是借助综合治疗手段来缓解和治疗, 以提高患者的生存质量。美国食品药品监督管理局批准的药物只有两类: 胆碱酯酶抑制剂(利凡斯的明)以及NMDA受体拮抗剂(美金刚)<sup>[3]</sup>, 这两种药物只能一定程度上缓解AD的症状但不能治愈AD。近年来免疫因素在AD病理改变中的作用逐渐被凸显<sup>[4]</sup>。免疫疗法主要是减慢和清除 $\beta$ -淀粉样蛋白( $\beta$ -amyloid, A $\beta$ )的堆积, 但是免疫疗法也存在缺点, 即患者体内抗体反应的可变性, 这可能是由于老年患者的免

疫力下降导致的, 衰老的免疫系统不太可能产生足够的抗体来应对疫苗接种, 更有可能产生自身免疫方面的副作用<sup>[5]</sup>, 所以临床研究中的候选药物也多以失败告终。

诱导多功能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)技术由日本学者Takahashi等<sup>[6]</sup>在2006年《细胞》(*Cell*)杂志上首次发表, 在生物及医学界引起了巨大轰动。iPSCs是通过基因转染技术将4种转录因子Oct3/4、Sox2、Klf4和c-Myc导入成人体细胞, 使之重构成胚胎干细胞样的多潜能细胞<sup>[6]</sup>。这种细胞在形态学、基因表达、增殖方面与胚胎干细胞有相似之处<sup>[6-10]</sup>。iPSCs现在被广泛用于自体细胞疗法、单基因或多基因疾病模型构建以及药物毒性和治疗的潜在机制研究<sup>[11]</sup>。在神经退行性疾病研究中, 以往细胞生物学和生物化学的分析,

\* 国家自然科学基金(81771166, 81471398), 浙江省自然科学基金(LY16H090001), 宁波市自然科学基金(2015A610211), 宁波市生命健康科技创新团队-重大精神疾病转化医学(2015C110026)和宁波大学王宽诚幸福基金资助。

\*\* 通讯联系人。

Tel:0574-87609594, Fax:0574-87608638, E-mail: xushujun@nbn.edu.cn

收稿日期: 2018-02-08, 接受日期: 2018-03-06

主要是在细胞或小鼠过表达或敲除致病基因中进行研究。随着 iPSCs 技术的发展, 从人的体细胞中构建多潜能干细胞用于疾病的研究成为可能, 且它不受种族、遗传背景或异体生物学差异的限制。利用 iPSCs 技术产生的特定疾病相关的 iPSCs 是重现体内前病症的有效方法, 尤其是神经系统疾病。将 iPSCs 分化成的胆碱能前体细胞转移至 AD 转基因小鼠中, 能够修复 AD 小鼠的空间记忆损伤<sup>[12]</sup>。从事神经系统疾病的 iPSCs 研究引起了广泛关注, 并成为神经退行性疾病研究的热点领域<sup>[13-14]</sup>。本文主要阐述了 iPSCs 在 AD 病理机制研究和 AD 治疗中的作用。

## 1 AD 病人来源的 iPSCs 诱导成神经细胞模型有助于 AD 病理机理以及潜在药物筛选的研究

在生物医学和临床医学上, 通常采用动物模型来研究各种疾病的病理机制。但实验动物本身就与人类之间存在生物学差异<sup>[15]</sup>, 这使得动物模型不能很好地体现疾病状态。病人来源的 iPSCs 的优点是可以从病人体内提取细胞诱导分化成特定的细胞类型, 在更接近疾病的人体细胞模型中研究病理特征。在 AD 病人来源的 iPSCs 诱导的神经元中, 用膜片钳技术能够检测到自发抑制性和 / 或兴奋性突触电流, 并且分别能够被 GABA<sub>A</sub> 或 AMPA 受体拮抗剂阻断。由此证明, AD 病人来源的 iPSCs 诱导的神经元不仅能引发动作电位, 而且还能形成功能性突触联系<sup>[16]</sup>。A $\beta$  造成神经细胞的死亡是 AD 的发病机理之一。使用 AD 病人来源的 iPSCs 分化成的神经元, 分析 A $\beta$  引起的突触病理变化, 为发现 AD 疾病发展提供新的研究手段<sup>[17]</sup>。AD 病人来源的 iPSCs 分化成的神经元具有产生 A $\beta$  所需的  $\beta$  分泌酶和  $\gamma$  分泌酶, 该神经元中的 A $\beta$ <sub>1-40</sub>、磷酸化 tau 蛋白 (phosphorylated tau, p-tau) 和活性糖原合成酶激酶 3 $\beta$  (active glycogen synthase kinase-3 $\beta$ , aGSK-3 $\beta$ ) 的含量较高, 而且具有更多中等大小和非常大的 Rab5 阳性的早期内涵体。用  $\beta$  分泌酶抑制剂 ( $\beta$ Si-II 和 OM99-2) 或  $\gamma$  分泌酶抑制剂 (CPD-E 和 DAPT) 处理淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 过表达和散发性 AD 病人来源的 iPSCs 衍生的神经元,  $\beta$  分泌酶抑制剂显著降低了 aGSK-3 $\beta$  的含量以及 p-tau/总 tau 的比值<sup>[16, 18]</sup>。相对于健康者和散发型 AD 患者, 家族型 AD 患者的神经细胞对 A $\beta$  寡聚体毒性更敏感<sup>[19]</sup>。不论是家族

型还是散发型 AD 患者中提取的体细胞, A $\beta$  寡聚体都能够在 iPSCs 分化成的神经细胞和胶质细胞内积聚, 引起内质网应激<sup>[20]</sup>, 并且 AD 患者体内的 iPSCs 分化成的神经元比健康人受内质网应激压力更强<sup>[21]</sup>。人 iPSCs 产生的前脑神经元暴露于 A $\beta$  寡聚体中表现出了异常的细胞周期循环和细胞凋亡。以人 iPSCs 诱导的神经元作为模型, 对 GSK 化合物库的数百种化合物进行筛选。结果显示, 有 19 种化合物能够抑制 A $\beta$  毒性, 其中包括细胞周期蛋白依赖性激酶 2 (cyclin-dependent kinase 2, Cdk2) 抑制剂, 基于人 iPSCs 衍生出的神经元对抗 A $\beta$  药物筛选具有可靠和灵敏等优点<sup>[22]</sup>。因此, AD 病人来源的 iPSCs 建立的疾病模型, 有利于 AD 疾病的研究以及潜在药物的筛选。

## 2 iPSCs 在 AD 治疗中的作用及机制

### 2.1 iPSCs 可诱导分化成不同类型的神经细胞改善 AD 的症状

iPSCs 可诱导分化成神经干细胞。研究表明, 从一个携带神经退行性疾病突变基因的患者体内诱导形成的多功能干细胞, 有能力分化成不同的神经细胞, 这些神经细胞能进一步分化为与神经退行性疾病相关的成熟的特定神经细胞亚型<sup>[14]</sup> (图 1)。

神经细胞内 A $\beta$  在基底前脑胆碱能神经元特异性地积聚并导致胆碱能神经元丢失是 AD 的病理表现之一。A $\beta$  积聚和寡聚化促成了 AD 中胆碱能神经元的损伤<sup>[23]</sup>。APP 转基因小鼠中烟碱型乙酰胆碱受体 ( $\alpha$ 7-nicotinic acetylcholine receptor,  $\alpha$ 7nAChR) 的表达下调, 记忆功能受损。将未分化的人 iPSCs 细胞系 253G1 (经过 Oct3/4、Sox2、Klf4 诱导) 培养 4 天后成为胚状体 (embryoid bodies, EB), 在视黄酸、人 Noggin 蛋白和声波刺猬蛋白 (sonic hedgehog, SHH) 培养液中进一步的诱导成神经元, 在 APP 转基因小鼠海马内转入该神经元后, 可以检测到分化生成新的胆碱能神经元<sup>[12]</sup>。海马神经元中的胆碱乙酰基转移酶 (choline acetyltransferase, ChAT) 和  $\alpha$ 7nAChR 表达量增加,  $\alpha$ 7nAChR 被激活, 并进一步激活下游 P-AKT 和 c-fos, 改善 APP 转基因小鼠的空间记忆能力。改善 APP 转基因小鼠认知功能障碍的可能机制是由于 iPSCs 诱导作用促进 ChAT 合成乙酰胆碱, 而乙酰胆碱与其受体  $\alpha$ 7nAChR 激活下游信号通路, 使受损神经元功能得到恢复; 也可能是新移植的 iPSCs 诱导分化成神经元, 新神经元分泌的生长因子和其他可溶性介质

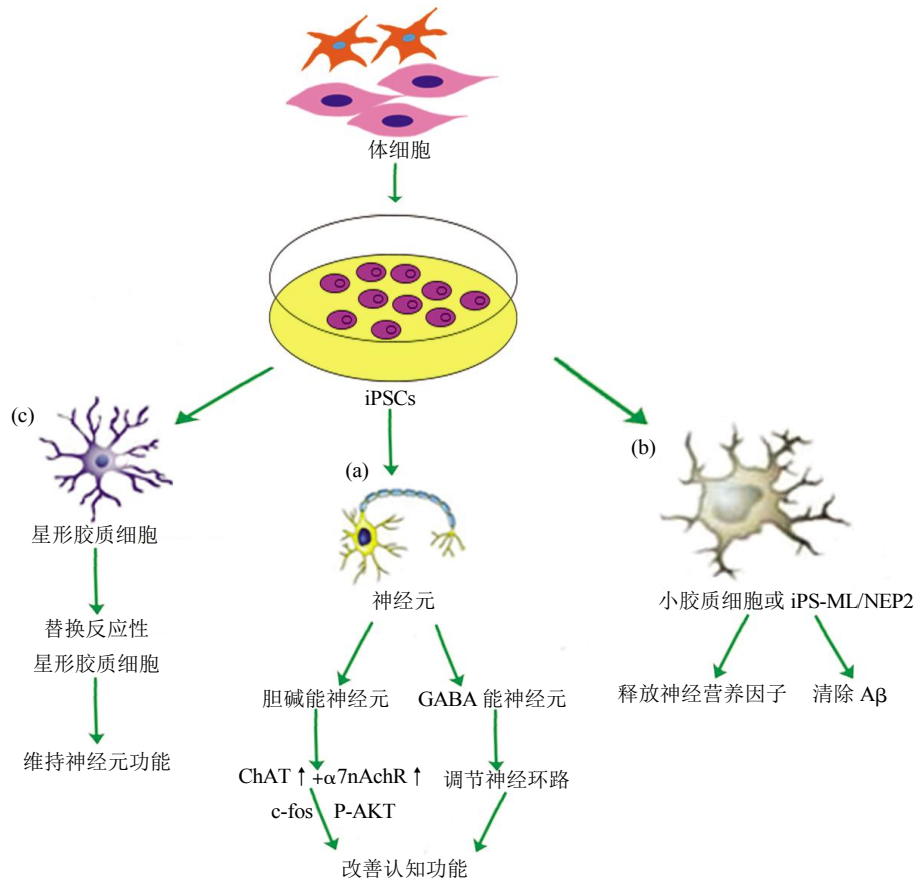


Fig. 1 The protective role and mechanisms of induced pluripotent stem cells in Alzheimer's disease

图 1 诱导多功能干细胞在阿尔茨海默病中的保护作用及机制

体细胞在诱导因子的作用下形成具有分化潜能的诱导多功能干细胞(iPSCs),进一步分化为以下3种神经细胞:a.神经元,神经元包括胆碱能神经元和GABA能神经元,胆碱能神经元中的ChAT和 $\alpha 7nAChR$ 表达量增加,进一步激活P-AKT和c-fos,改善AD的认知功能障碍,GABA能神经元通过调节神经环路,发挥神经保护作用。b.小胶质细胞,通过清除 $A\beta$ 和分泌神经营养因子起保护作用。c.星形胶质细胞,起到替换反应性星形胶质细胞和维持正常神经元功能的作用。

影响了宿主神经干细胞的生存和分化,恢复损伤神经元的功能<sup>[24]</sup>。

在AD患者脑区神经元中,抑制性神经元和兴奋性神经元都受到了影响,抑制性神经元的损伤与AD发病机制也有着紧密的联系<sup>[25]</sup>,抑制性神经元能够阻止被谷氨酰胺能神经元过度激活引起神经元的死亡。 $\gamma$ 氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)能系统功能紊乱,在AD病理机制中占据重要角色。GABA能神经元在改善空间学习记忆方面也有着重要的作用。在 $A\beta$ 诱导的神经毒性产生过程中,GABA释放代偿性增加,通过抑制效应发挥神经保护作用。 $\alpha$ 促黑素细胞激素能抑制GABA能神经元丢失,并改善AD的认知功能障碍<sup>[26]</sup>。移植人ChAT过表达神经干细胞减轻了痴呆模型的记忆损

伤,除胆碱能神经元外,GABA能神经元也出现在体外受试者脑中<sup>[27]</sup>。在特定条件下,iPSCs能分化成前脑GABA能神经元<sup>[28]</sup>。神经干细胞分化成GABA能神经元也参与改善AD的认知功能障碍。

小胶质细胞由于分子环境的不同,表现为神经保护或毒性损伤作用<sup>[29-31]</sup>。少量 $A\beta$ 即可激活小胶质细胞,到达斑块周围清除 $A\beta$ ,发挥神经保护作用;随着 $A\beta$ 的增多,小胶质细胞被过度激活,吞噬功能减弱,同时大量释放白介素 $1\beta$ (interleukin- $1\beta$ , IL- $1\beta$ )、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )等促炎症因子,反而加快 $A\beta$ 的产生和沉积。因此,在治疗中不能因其会释放炎症因子而用抗炎药物完全抑制小胶质细胞的作用,关键是要调节小胶质细胞,使其有不同的表

型,而这种表型能够起保护作用<sup>[32]</sup>.因为小胶质细胞的独特起源,相对于其他神经细胞,iPSCs分化成小胶质细胞更具有挑战性.神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞产生于外胚层谱系,不同的是小胶质细胞产生于卵黄囊中的髓样前体细胞,然后在胚胎时间点迁移至脑中<sup>[33]</sup>.从iPSCs分化的胚状体获得神经前体细胞群,在含有胰岛素、粒细胞-巨噬细胞集合刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)、巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony-stimulating factor, M-CSF)、白介素3(interleukin-3, IL-3)的培养基中培养来获得小神经前体细胞,在胰岛素和GM-CSF的培养基中扩增小胶质前体细胞,最终可获得CD45阳性的小胶质前体细胞<sup>[34]</sup>.有研究显示,从人周边血单核细胞中,利用重组细胞因子的方法能够形成小胶质细胞<sup>[35]</sup>.小胶质细胞能够通过吞噬作用减少A $\beta$ 积聚<sup>[36]</sup>.脑啡肽酶(neprilysin, NEP)是一种膜结合蛋白酶,具有高效降解A $\beta$ 的活性.脑啡肽酶2(neprilysin-2, NEP2)与NEP有高度同源性,能够在体内促成A $\beta$ 的降解<sup>[37]</sup>.在AD病人体内,NEP2活性降低<sup>[38]</sup>.人来源的iPSCs分化成具有增殖能力的巨噬细胞样髓系细胞(macrophage-like myeloid lineage cells, ML, iPS-ML),将过表达NEP2的iPS-ML(iPS-ML/NEP2)注入AD小鼠脑部,结果发现脑内A $\beta$ 含量减少.iPS-ML/NEP2细胞的上清液中含有神经生长因子( $\beta$ -nerve growth factor,  $\beta$ -NGF)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)<sup>[39]</sup>.iPS-ML/NEP2发挥神经保护作用除了增加对A $\beta$ 的降解以外,还可能通过释放神经营养因子<sup>[39]</sup>.所以将iPSCs分化成小胶质细胞,用于治疗AD也不失为一种方法.

星形胶质细胞能够保持脑内平衡、储存和分配能量物质,与突触发生和突触维持密切相关<sup>[40]</sup>.星形胶质细胞在清除脑实质的代谢物和毒素方面发挥重要作用,可以对细胞外A $\beta$ 进行内化和摄取,进而降解和清除A $\beta$ <sup>[41]</sup>.被激活的星形胶质细胞能够通过多种机制影响AD病理过程,比如增加A $\beta$ 沉积和毒性、加速异常tau蛋白的缠结、参与神经递质释放障碍等.保护星形胶质细胞的正常功能可能成为治疗AD的新方向.iPSCs在含有N2、成纤维细胞生长因子2(fibroblast growth factor-2, FGF-2)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)和睫状神经营养因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)的培养基中能产生胚状体和神经上皮(neuro-

epithelial, NE)细胞,并进一步分化成星形胶质细胞<sup>[42]</sup>.以移植为基础的对有损伤的星形胶质细胞进行替换是脊髓治疗的一种很有前景的方法.研究显示,来源于人iPSCs产生的星形胶质细胞移植后,能保护脊髓损伤后的呼吸功能<sup>[43]</sup>.尽管星形胶质细胞在中枢神经系统中扮演了不可或缺的角色,但尚未得到广泛的探索.有研究显示,使用无源性介质培养系统,得到iPSCs分化成的神经胶质细胞.该方法产生的星形胶质细胞,具有与源星形胶质细胞有相似的基因表达模式、形态特征和功能特性,并能在异种移植后存活与被整合<sup>[44]</sup>.将iPSCs分化成所需的胶质细胞,替换或者补充AD患者的反应性星型胶质细胞,可能是一种治疗AD的新方法.

## 2.2 iPSCs治疗AD的可能性与局限性

iPSCs治疗AD的可能性如下:从人iPSCs中获得的自体神经前体细胞可以提供足够的源细胞移植,对治疗神经性疾病有一定的潜力<sup>[45]</sup>.此外,由成人体细胞重组而得,可以最大程度避免组织不相容性,也不会引发伦理问题.iPSCs分化成的神经细胞不仅具有神经元的轴突树突等形态学结构,还具有电生理学特性,比如对当前刺激的反应以及与宿主在体外和体内结合的突触连接的重复动作电位,能有效地整合至原神经网络<sup>[46]</sup>.

iPSCs治疗AD虽然有一定的潜力,但目前临床上仍难以取得成功.通过向不同AD患者海马和楔前叶注射不同剂量的干细胞,在治疗后的24个月内,干细胞移植并没有延缓随访AD患者的认知能力下降,也没有改善AD病理症状<sup>[47]</sup>.分析临床难以成功的原因,主要包括以下几个方面:a. AD的病因不明,病人往往出现体内物质和能量代谢失调,代谢产物聚集,涉及的系统较多.采用干细胞脑内局部移植的治疗方法,解决不了病人全身内环境逐渐恶化的问题,有“头痛治头,脚疼治脚”的嫌疑.b.由于技术限制,目前产生AD病人特异性的iPSCs效率较低,而且iPSCs保留其前表型的表观遗传记忆,从而限制它们的分化潜能<sup>[48-49]</sup>.当前需要开发可靠的方案以更快地得到AD病人特异性的iPSCs,优化培养条件,以消除分化过程中出现的克隆变异性和神经元的异质性.寻找适当的方法检测iPSCs保留的前表型的遗传记忆,加速定向分化.c.在靶点处残存的未分化的干细胞可能具有较高的致癌风险<sup>[50]</sup>.原癌基因Myc家族的过度表达与一系列人类肿瘤有关<sup>[51]</sup>.iPSCs可以从没有Myc逆转录病毒的小鼠和人成纤维细

胞中产生, 与同时用 Oct3/4、Sox2、Klf4 和 Myc 四种因子转导的细胞相比, 虽然来自未经 Myc 逆转录病毒转导的 iPSCs 致瘤性的发生率显著降低, 但是, iPSCs 产生的效率也显著下降<sup>[52-53]</sup>. 因此需要一种因子或小分子, 既没有 Myc 致瘤性, 也不会降低 iPSCs 的产率. d. AD 患者脑区各个部位都会产生损伤, 选择 iPSCs 的最佳移植位点比较困难. 将干细胞移植到脑部特定受损部位, 并诱导分化为各种细胞类型是治疗的关键. e. 目前关于干细胞的研究主要是动物模型, 而动物模型与人类临床结果并不完全一致<sup>[47]</sup>. 所以, 要寻找更高级别的哺乳动物, 来验证目前的研究结果.

### 3 总结与展望

iPSCs 治疗作为 AD 的潜在治疗手段, 越来越引起研究者的关注. 近来的实验研究发现以 iPSCs 为基础的细胞疗法不仅对 AD, 对其他神经退行性疾病, 如帕金森病、肌萎缩侧索硬化、亨廷顿病等均具有一定的治疗前景. iPSCs 建立 AD 细胞模型, 不仅可以用于 AD 病理机制的研究, 还可以用于抗 AD 药物筛选. 该方法的药物筛选, 是在与疾病相近的条件下进行, 加快了从体外实验到临床试验的速度. iPSCs 用于细胞疗法首先要诱导成神经干细胞, 再进一步分化, 所以提高神经干细胞向神经元细胞分化和增殖的效率以及移植的存活率、降低致瘤性, 都是目前需要解决的问题. 这一系列问题的解决有助于干细胞治疗向临床转化的转化.

### 参 考 文 献

- [1] Hirao K, Pontone G M, Smith G S. Molecular imaging of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's and Parkinson's disease. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2015, **49**(2015): 157-170
- [2] Prince M, Wimo A, Guerchet M, *et al.* World Alzheimer's report 2015: global impact of dementia. *Alzheimer's Disease International*, 2015
- [3] Reitz C, Brayne C, Mayeux R. Epidemiology of Alzheimer disease. *Nature Reviews Neurology*, 2011, **7**(3): 137-152
- [4] Wyss-Coray T, Rogers J. Inflammation in Alzheimer disease—a brief review of the basic science and clinical literature. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2012, **2**(1): a006346–a006368
- [5] Lannfelt L, Relkin N R, Siemers E R. Amyloid- $\beta$ -directed immunotherapy for Alzheimer's disease. *Journal of Internal Medicine*, 2014, **275**(3): 284–295
- [6] 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
- [7] Hochedlinger K, Jaenisch R. Nuclear reprogramming and pluripotency. *Nature*, 2006, **441**(7097): 1061–1067
- [8] 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
- [9] Wernig M, Meissner A, Foreman R, *et al.* *In vitro* reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. *Nature*, 2007, **448**(7151): 318–324
- [10] Hadadeh O, Barruet E, Peiretti F, *et al.* The plasminogen activation system modulates differently adipogenesis and myogenesis of embryonic stem cells. *Plos One*, 2012, **7**(11): e49065–e49075
- [11] Bahmad H, Hadadeh O, Chamaa F, *et al.* Modeling human neurological and neurodegenerative diseases: from induced pluripotent stem cells to neuronal differentiation and its applications in neurotrauma. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2017, **10**(2): 50–66
- [12] 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. *Neuroscience Letters*, 2013, **557**(2013): 129–134
- [13] Mattis V B, Svendsen C N. Induced pluripotent stem cells: a new revolution for clinical neurology? *The Lancet Neurology*, 2011, **10**(4): 383–394
- [14] Marchetto M C, Gage F H. Modeling brain disease in a dish: really? *Cell Stem Cell*, 2012, **10**(6): 642–645
- [15] Oberheim N A, Takano T, Han X, *et al.* Uniquely hominid features of adult human astrocytes. *The Journal of Neuroscience*, 2009, **29**(10): 3276–3287
- [16] Israel M A, Yuan S H, Bardy C, *et al.* Probing sporadic and familial Alzheimer's disease using induced pluripotent stem cells. *Nature*, 2012, **482**(7384): 216–220
- [17] Niewieg K, Andreyeva A, Van Stegen B, *et al.* Alzheimer's disease-related amyloid- $\beta$  induces synaptotoxicity in human iPS cell-derived neurons. *Cell Death & Disease*, 2015, **6**(2015): e1709–e1721
- [18] Yahata N, Asai M, Kitaoka S, *et al.* Anti-Abeta drug screening platform using human iPS cell-derived neurons for the treatment of Alzheimer's disease. *Plos One*, 2011, **6**(9): e25788–e25798
- [19] Armijo E, Gonzalez C, Shahnawaz M, *et al.* Increased susceptibility to Abeta toxicity in neuronal cultures derived from familial Alzheimer's disease (PSEN1-A246E) induced pluripotent stem cells. *Neuroscience Letters*, 2017, **639**(2017): 74–81
- [20] Kondo T, Asai M, Tsukita K, *et al.* Modeling Alzheimer's disease with iPSCs reveals stress phenotypes associated with intracellular Abeta and differential drug responsiveness. *Cell Stem Cell*, 2013, **12**(4): 487–496
- [21] Li J Q, Yu J T, Jiang T, *et al.* Endoplasmic reticulum dysfunction in Alzheimer's disease. *Molecular Neurobiology*, 2015, **51**(1): 383–395
- [22] Xu X, Lei Y, Luo J, *et al.* Prevention of beta-amyloid induced toxicity in human iPS cell-derived neurons by inhibition of cyclin-dependent kinases and associated cell cycle events. *Stem*

- Cell Research, 2013, **10**(2): 213–227
- [23] Alaina Baker-Nigh, Shahrooz Vahedi, Elena Goetz Davis, *et al.* Neuronal amyloid- $\beta$  accumulation within cholinergic basal forebrain in ageing and Alzheimer's disease. *Brain*, 2015, **138**(2015): 1722–1737
- [24] Fujiwara N, Shimizu J, Takai K, *et al.* Cellular and molecular mechanisms of the restoration of human APP transgenic mouse cognitive dysfunction after transplant of human iPSC cell-derived neural cells. *Experimental Neurology*, 2015, **271**(2015): 423–431
- [25] Hazra A, Gu F, Aulakh A, *et al.* Inhibitory neuron and hippocampal circuit dysfunction in an aged mouse model of Alzheimer's disease. *Plos One*, 2013, **8**(5): e64318–e64326
- [26] Ma K, McLaurin J. Alpha-melanocyte stimulating hormone prevents GABAergic neuronal loss and improves cognitive function in Alzheimer's disease. *The Journal of Neuroscience*, 2014, **34** (20): 6736–6745
- [27] Park D, Lee H J, Joo S S, *et al.* Human neural stem cells over-expressing choline acetyltransferase restore cognition in rat model of cognitive dysfunction. *Experimental Neurology*, 2012, **234**(2): 521–526
- [28] Liu Y, Liu H, Sauve C, *et al.* Directed differentiation of forebrain GABA interneurons from human pluripotent stem cells. *Nature Protocols*, 2013, **8**(9): 1670–1679
- [29] Hampton D W, Webber D J, Bilican B, *et al.* Cell-mediated neuroprotection in a mouse model of human tauopathy. *The Journal of Neuroscience*, 2010, **30**(30): 9973–9983
- [30] Perry V H. Contribution of systemic inflammation to chronic neurodegeneration. *Acta Neuropathologica*, 2010, **120**(3): 277–286
- [31] Garwood C J, Pooler A M, Atherton J, *et al.* Astrocytes are important mediators of A $\beta$ -induced neurotoxicity and tau phosphorylation in primary culture. *Cell Death & Disease*, 2011, **2**(2011): e167–e175
- [32] Wes P D, Sayed F A, Bard F, *et al.* Targeting microglia for the treatment of Alzheimer's disease. *Glia*, 2016, **64**(10): 1710–1732
- [33] Julien Muffat, Yun Li, Bingbing Yuan, *et al.* Efficient derivation of microglia-like cells from human pluripotent stem cells. *Nature Medicine*, 2016, **22**(11): 1358–1367
- [34] Harald Neumann, Kristin Roy, Oliver Brüstle, *et al.* Method for obtaining human microglial precursor cells from pluripotent stem cells. *US*, 2015, US9192631 B2: 20151124
- [35] Etemad S, Zamin R M, Ruitenber M J, *et al.* A novel *in vitro* human microglia model: characterization of human monocyte-derived microglia. *Journal of Neuroscience Methods*, 2012, **209**(1): 79–89
- [36] Gentleman S M. Review: microglia in protein aggregation disorders: friend or foe? *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 2013, **39**(1): 45–50
- [37] Hafez D, Huang J Y, Huynh A M, *et al.* Nephilysin-2 is an important beta-amyloid degrading enzyme. *The American Journal of Pathology*, 2011, **178**(1): 306–312
- [38] Huang J Y, Hafez D M, James B D, *et al.* Altered NEP2 expression and activity in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2012, **28**(2): 433–441
- [39] Takamatsu K, Ikeda T, Haruta M, *et al.* Degradation of amyloid beta by human induced pluripotent stem cell-derived macrophages expressing Nephilysin-2. *Stem Cell Research*, 2014, **13** (2014): 442–453
- [40] Haydon P G, Nedergaard M. How do astrocytes participate in neural plasticity? *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2014, **7**(3): a020438–a020452
- [41] Jessen N A, Munk A S, Lundgaard I, *et al.* The glymphatic system: a beginner's guide. *Neurochemical Research*, 2015, **40** (12): 2583–2599
- [42] Emdad L, D'souza S L, Kothari H P, *et al.* Efficient differentiation of human embryonic and induced pluripotent stem cells into functional astrocytes. *Stem Cells and Development*, 2012, **21** (3): 404–410
- [43] Li K, Javed E, Scura D, *et al.* Human iPSC cell-derived astrocyte transplants preserve respiratory function after spinal cord injury. *Experimental Neurology*, 2015, **271**(9): 479–492
- [44] Shaltouki A, Peng J, Liu Q, *et al.* Efficient generation of astrocytes from human pluripotent stem cells in defined conditions. *Stem Cells*, 2013, **31**(5): 941–952
- [45] Yu D X, Marchetto M C, Gage F H. Therapeutic translation of iPSCs for treating neurological disease. *Cell Stem Cell*, 2013, **12**(6): 678–688
- [46] Lihui W, Linli W, Wenhao H, *et al.* Generation of integration-free neural progenitor cells from cells in human urine. *Nature Methods* 2013, **10**(1): 84–91
- [47] Kim H J, Seo S W, Chang J W, *et al.* Stereotactic brain injection of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells in patients with Alzheimer's disease dementia: a phase I clinical trial. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*, 2015, **1**(2): 95–102
- [48] Kim K, Doi A, Wen B, *et al.* Epigenetic memory in induced pluripotent stem cells. *Nature*, 2010, **467**(7313): 285–290
- [49] Polo J M, Liu S, Figueroa M E, *et al.* Cell type of origin influences the molecular and functional properties of mouse induced pluripotent stem cells. *Nature Biotechnology*, 2010, **28**(8): 848–855
- [50] Sergio Menendez, Suzanne Camus, Aida Herreria, *et al.* Increased dosage of tumor suppressors limits the tumorigenicity of iPSC cells without affecting their pluripotency. *Aging Cell*, 2012, **11** (2012): 41–50
- [51] Xiao D, Yue M, Su H, *et al.* Polo-like kinase-1 regulates Myc stabilization and activates a feedforward circuit promoting tumor cell survival. *Molecular Cell*, 2016, **64**(3): 493–506
- [52] Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, *et al.* Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. *Nature Biotechnology*, 2008, **26**(1): 101–106
- [53] Habib O, Habib G, Choi H W, *et al.* An improved method for the derivation of high quality iPSCs in the absence of c-Myc. *Experimental Cell Research*, 2013, **319**(20): 3190–3200

## Recent Progress of Induced Pluripotent Stem Cells in Alzheimer's Disease\*

WANG Yuan-Yuan<sup>1)</sup>, BAO Xiao-Ming<sup>2)</sup>, LING Yun-Xiang<sup>1)</sup>, WANG Qin-Wen<sup>1)</sup>, XU Shu-Jun<sup>1)\*\*</sup>

<sup>1)</sup> School of Medicine, Ningbo University, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Pathophysiology, Ningbo 315211, China;

<sup>2)</sup> The No.2 Hospital of Ningbo 315010, China)

**Abstract** Alzheimer's disease (AD) is a complex multifactorial disease, characterized by progressive cognitive impairments and loss of memory. At present, there is no effective treatment for AD. The neurons differentiated from induced pluripotent stem cells (iPSCs) which are derived from AD patients have the relevant pathological manifestations of AD. Thus iPSCs is one of models for the study of the pathogenesis of AD and for finding the underlying drug target for AD. iPSCs can differentiate into different types of nerve cells to improve the symptoms of AD. The study of iPSCs in AD became an important issue. The advantages of iPSCs as a model in the pathological study of AD and the role of iPSCs in AD treatment were summarized in this article.

**Key words** Alzheimer's disease, induced pluripotent stem cells, neuronal cells

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2017.0429

---

\* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81771166, 81471398), Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LY16H090001), Natural Science Foundation of Ningbo (2015A610211), Ningbo Municipal Innovation Team of Life Science and Health (2015C110026), and the K.C.Wong Magna Fund in Ningbo University.

\*\*Corresponding author.

Tel: 86-574-87609594, Fax: 86-574-87608638, E-mail: xushujun@nbu.edu.cn

Received: February 8, 2018 Accepted: March 6, 2018