doi:10.11659/jjssx.02E017037

·综述·

干细胞移植治疗年龄相关性黄斑变性疾病的临床研究进展

王恩洪[1],吴 畏[2],杨永德[2],王昌鹏[2],段 平[3] (1.解放军第37医院五官科,四川 雅安 625000;2.解放军第22医院五官科,青海 格尔木 816000;3.第三军医大学西南医院眼科,重庆 400038)

Clinical research progress of stem cells transplantation for age-related macular degeneration

WANG En-hong[1], WU Wei[2], YANG Yong-de[2], WANG Chang-peng[2], DUAN Ping[3] (1. Department of Ophthalmology and Otorhinolaryngology, 37th Hospital of PLA, Yaan Sichuan 625000, China; 2. Department of Ophthalmology and Otorhinolaryngology, 22nd Hospital of PLA, Golmud Qinghai 816000, China; 3. Department of Ophthalmology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

[摘 要] 年龄相关性黄斑变性(AMD)是严重危害50岁以上人群视力的致盲性眼病,主要病理改变为视网膜色素上皮(RPE)细胞变性,目前尚无有效治疗措施。经过多年动物实验发现,干细胞移植有望保护或替代患者受损的RPE细胞,从而延缓AMD的发展,是针对AMD最有前景的治疗措施。从2011年开始,国际上陆续开展了干细胞移植治疗AMD的临床试验,所使用的种子细胞包括胚胎干细胞来源的RPE细胞、诱导多能性干细胞来源的RPE细胞和成体干细胞。三种种子细胞各有优劣势,临床试验的进展也各不相同,胚胎干细胞来源的RPE细胞移植治疗AMD的临床试验进展最快,已经初步证实其安全性和有效性。本文将从临床应用的角度分析比较三种种子细胞,并就这三种种子细胞移植治疗AMD疾病的最新临床研究进展进行综述。

[关键词] 干细胞移植;视网膜变性;细胞治疗;黄斑变性

[中图分类号] R774.5 [文献标识码] A [收稿日期] 2017-02-25

年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration,AMD)是一种由遗传、生活方式和环境等多种致病因素导致的视网膜变性疾病,是发达国家首要的致盲性因素,在我国发病率也逐年提高,严重危害50岁以上人群的视力[1]。AMD的共同病理改变为视网膜色素上皮细胞(retinal pigment epithelium,RPE)变性导致继发性感光细胞凋亡。根据其临床表现和病理改变的不同,AMD分为湿性AMD和干性AMD。其中湿性AMD约占10%,表现为视网膜下形成脉络膜新生血管,导致局部渗出、出血,虽然抗血管内皮生长因子(抗VEGF)对于大部分湿性AMD的疗效较好,但对部分湿性AMD患者完全没有效果[2]。大部分的AMD患者为干性AMD,约占90%,主要表现为脉络膜毛细血管萎缩、布氏膜(Bruch膜)增厚和RPE萎缩等,对于干性AMD目前尚无有效治疗措施[3]。干细胞移植有望替代或保护受损的RPE细胞,从而延缓感光细胞变性,对于难治性的湿性AMD和干性AMD是最有前景的治疗方式[4]。根据国际临床试验注册中心(www.clinicaltrials.gov)显示的信息,从2011年开始,国际上已陆续开展了许多干细胞移植治疗AMD的临床研究,所选用的种子细胞包括胚胎干细胞来源的RPE细胞、诱导多能性干细胞来源的RPE细胞和成体干细胞。这三种种子细胞各有优劣势,针对不同病情的AMD均有一定的应用前景。本文就这三种种子细胞移植治疗AMD疾病的最新临床研究进展进行综述。

1 胚胎干细胞来源的RPE细胞移植治疗AMD

胚胎干细胞(embryonic stem cell,ESC)是从早期胚胎中分离出来的一类细胞,它具有体外培养无限增殖、自我更新和多向分化的特性。为了促进ESC的临床应用,包括中国在内的许多国家已经建立了临床级胚胎干细胞系。经过在实验室的多年研究,ESC可通过自发分化法[5-7]、直接诱导法[8-9]或三维培养法[10]诱导为RPE细胞(ESC-RPE),并且发现ESC-RPE细胞具有类似于体内RPE细胞的形态和功能,移植到视网膜变性动物模型中能够有效延缓视网膜变性。2011年,美国先进细胞技术公司率先启动了ESC-RPE细胞移植治疗AMD的临床研究,并于2012年在Lancet期刊上报道了这次临床试验结果。在这次临床试验中,ESC-RPE细胞被移植到1例干性AMD和1例Star-

[基金项目] 国家自然科学基金(8140030635);第三军医大学西南医院军事医学科技创新计划(SWH2016JSYB-01)

[通信作者] 吴 畏,E-mail:wuwei_tmmu@163.com

gardt's 综合征(一种视网膜变性疾病)患者的视网膜下腔后,在 4 个月的随访中,移植的 ESC-RPE 细胞没有发现异常增殖,患者也没有产生对 ESC-RPE 细胞的免疫排斥反应,令人鼓舞的是这两名患者的视力均略有提高[11]。虽然该临床研究受试者较少,随访时间短,但却拉开了 ESC 来源的种子细胞进行临床研究的序幕,并且初步证实了 ESC-RPE 细胞的安全性。2015 年,美国先进细胞技术公司在万众瞩目下进一步报道了 ESC-RPE 细胞移植治疗干性 AMD 和 Stargardt's 综合征的临床Ⅰ/Ⅱ期试验结果。此次研究招募了 9 名干性 AMD 患者和 9 名 Stargardt's 综合征患者,平均随访时间达 22 个月。在随访期间,移植的 ESC-RPE 细胞仍然没有出现异常增殖,患者对 ESC-RPE 细胞也没有产生免疫排斥反应。在这 18 名患者中,10 名患者视力改善,7 名患者视力保持稳定,1 名患者视力下降,该研究进一步证实了 ESC-RPE 细胞移植治疗干性 AMD 的安全性和有效性[12]。随后,中国、英国、以色列和韩国等国家也相继开展了 ESC-RPE 细胞移植治疗干性 AMD 的临床试验。2015 年,韩国首先报道了 ESC-RPE 细胞移植治疗亚洲人干性 AMD 和 Stargardt's 综合征的初步临床试验结果。该研究招募了 2 名干性 AMD 和 2 名 Stargardt's 综合征的亚洲患者,在 1 年的随访时间内未发现 ESC-RPE 细胞移植相关的副作用,并且 3 名患者视力改善,1 名患者视力保持稳定[13]。我国 ESC-RPE 细胞移植治疗 AMD 的临床研究也居世界前沿水平,第三军医大学西南医院眼科报道了世界上首例采用 ESC-RPE 细胞移植治疗难治性湿性 AMD 的临床研究,在该项研究中,3 名患者视网膜下的脉络膜新生血管膜被手术剥除后再移植 ESC-RPE 细胞,3 个月的随访中这 3 名患者没有出现免疫排斥反应,并且视力均得到不同程度的改善[14]。到目前为止,一共有这 4 项临床研究报道了其临床试验的初步结果,其余临床试验尚在进行中,暂未公布其研究结果。通过现有结果可以初步说明 ESC-RPE 细胞移植治疗干性 AMD 和湿性 AMD 是安全有效的,但随访时间较短,入选患者人数较少,在完全进入临床之前还需要长时间、大规模的临床试验。除此之外,这种同种异体的 ESC-RPE 细胞存在免疫排斥的风险,所以在 ESC-RPE 细胞移植治疗 AMD 的临床试验中均使用了免疫抑制剂,部分患者出现了使用免疫抑制剂所带来的副作用。

2 诱导多能性干细胞来源的 RPE 细胞移植治疗 AMD

诱导多能性干细胞(induced pluripotent stem cells,iPSC)是指体细胞经诱导后重编程为具有多向分化潜能的干细胞。将患者的体细胞重编程为 iPSC 后,再诱导为所需的种子细胞,最后将 iPSC 来源的种子细胞移植到患者体内,可大大降低免疫排斥反应,因此,iPSC 细胞在再生医学领域受到了广大关注。研究证实,iPSC也可以分化为具有与体内 RPE 细胞形态和功能相似的 RPE 细胞(iPSC-RPE)[15-17]。2013 年,日本理化研究所开展了首例 iPSC-RPE 细胞移植治疗干性 AMD 的临床试验[18],该试验也是 iPSC 来源的种子细胞首次应用于临床试验。这项研究招募了 1 名难治性湿性 AMD 患者,首先将患者皮肤成纤维细胞诱导为 iPSC 细胞,再将 iPSC 分化为 RPE 细胞(iPSC-RPE),在证实 iPSC-RPE 细胞的遗传稳定性和安全性后,将 iPSC-RPE 细胞片移植到患者视网膜下腔,但日本理化研究所尚未公布该项研究的随访结果。这种"私人订制"疗法耗时长(从取皮肤成纤维细胞到移植需要 11 个月),且花费巨大(约 90 万美元),并不适合于大规模临床应用。并且患者自身来源的 iPSC-RPE 细胞仍然存在患者的遗传致病因素,不利于种子细胞的存活和功能发挥,可见患者自身来源的 iPSC-RPE 细胞并不是移植治疗 AMD 的理想种子细胞。而使用一些健康志愿者的体细胞(如皮肤成纤维细胞等)来源的 iPSC-RPE 细胞移植治疗 AMD,不仅可以大大降低成本,缩短了所需时间,还避免了患者 iPSC-RPE 细胞中的遗传致病因素,有利于种子细胞的存活和发挥功能。但如何降低这种同种异体的 iPSC-RPE 细胞的免疫排斥反应是亟待解决的问题。最近,日本理化研究所在临床前研究中,将一种猕猴的皮肤成纤维细胞重编程为 iPSC 后,再诱导为 iPSC-RPE 细胞,最后移植到另一种主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex,MHC)相匹配的猕猴视网膜下腔,在 6 个月的随访中即使不使用免疫抑制剂 iPSC-RPE 细胞移植也不会引起宿主的免疫排斥反应;相反,将供体的 iPSC-RPE 细胞移植到 MHC 不匹配的猕猴视网膜下腔,将会诱发宿主的免疫排斥反应[19]。在进一步的研究中,日本理化研究所将人 iPSC-RPE 细胞与健康志愿者的外周血单核细胞(包括淋巴细胞和单核细胞)相混合,发现当 iPSC-RPE 细胞与外周血单核细胞的人类白细

胞抗原(human leukocyte antigen,HLA)相匹配的时候,不会诱发免疫排斥反应;相反,当二者的 HLA 不匹配的时候,则会发生免疫排斥反应[20]。由此可见,只要免疫匹配,同种异体的 iPSC-RPE 细胞也具有免疫赦免性。目前,日本政府已经批准采用同种异体 iPSC-RPE 细胞移植治疗 AMD 的临床试验了,相关工作正在准备中。

3 成体干细胞移植治疗 AMD

成体干细胞是存在于已分化组织中具有自我复制能力的干细胞,可分化为其所在组织起源的所有细胞类型。与 ESC 和 iPSC 的"多能性"不同,成体干细胞是仅仅具有一些"可塑性"的干细胞,直接移植到体内后不仅不会成瘤,还有望在移植区微环境的作用下分化为特定谱系的细胞,从而进行组织修复。成体干细胞包括脐带血干细胞(umbilical cord blood stem cells,UCSC)、骨髓间充质干细胞(bone marrow stem cells,BMSC)、神经干细胞(Neural stem cells,NSC)等。其中 UCSC 和 BMSC 都属于间充质干细胞,UCSC 来源于脐带组织,避免了伦理学问题,国际上已开展了 UCSC 细胞视网膜下腔移植治疗 AMD 的临床试验。BMSC 来源于患者的骨髓中,可实现自体移植,大大降低了免疫排斥风险,还具有免疫调节、分泌营养因子等作用,美国多家研究中心已开展了玻璃体腔注射自体 BMSC 细胞治疗 AMD 的临床研究[21]。但移植的 BMSC 细胞难以接触视网膜,主要是通过分泌营养因子来延缓视网膜变性。美国 Stem Cells 采用流产胎儿的 hNSC 细胞视网膜下腔移植治疗 AMD,发现 hNSC 细胞不会成瘤,具有吞噬能力,可以保护感光细胞,相关临床试验正在进行中[22]。与 ESC-RPE 和 iPSC-RPE 细胞相比,成体干细胞可塑性强,除了可分化为 RPE 细胞外,还可以分化为感光细胞等多种视网膜细胞,有望同时替代患者受损的 RPE 细胞和感光细胞。但目前认为,成体干细胞移植后受微环境的影响分化为视网膜细胞的比例较小,主要是通过分泌营养因子来保护感光细胞。到目前为止,成体干细胞移植治疗 AMD 的临床试验结果均未见报道。

4 展望

综上所述,目前用于治疗 AMD 的临床研究中种子细胞主要分为 ESC-RPE、iPSC-RPE 和成体干细胞。成体干细胞来源有限,难以实现大规模临床转化,相比而言,ESC-RPE 和 iPSC-RPE 细胞来源广泛。并且 iPSC 避免了伦理学问题,可大大降低免疫排斥反应,但 iPSC 可能存在基因变异风险,并且不同的 iPSC 系分化为 RPE 细胞的效率不同,难以实现 RPE 种子细胞的标准化和产业化生产[23]。ESC-RPE 细胞无基因变异风险,分化效率高,可实现标准化、产业化生产,但存在免疫排斥风险[24]。可见三种种子细胞各有优缺点,究竟哪种种子细胞更适合于治疗 AMD 疾病,还需要等待临床试验结果。到目前为止,美国先进细胞技术公司采用 ESC-RPE 细胞移植治疗干性 AMD 的临床试验进展最快,已启动了Ⅱ期临床试验,该试验将进一步阐明 ESC-RPE 细胞移植治疗干性 AMD 的有效性。而 iPSC-RPE 和成体干细胞移植治疗 AMD 的临床试验大部分还处于Ⅰ期临床试验阶段。在临床试验中发现问题,通过基础研究解决问题,相信通过基础研究与临床试验相结合的方式,干细胞移植治疗 AMD 终将取得良好疗效。

[参考文献]

[1] Ferrington DA, Sinha D, Kaarniranta K. Defects in retinal pigment epithelial cell proteolysis and the pathology associated with age-related macular degeneration[J]. Prog Retin Eye Res, 2016, 51: 69 - 89. doi: 10.1016/j.preteyeres.2015.09.002.

[2] Carr AJ, Smart MJ, Ramsden CM, et al. Development of human embryonic stem cell therapies for age-related macular degeneration[J]. Trends Neurosci, 2013, 36(7): 385 - 395. doi: 10.1016/j.tins.2013.03.006.

[3] Nazari H, Zhang L, Zhu D, et al. Stem cell based therapies for age-related macular degeneration: the promises and the challenges[J]. Prog Retin Eye Res, 2015(48): 1 - 39. doi: 10.1016/j.preteyeres.2015.06.004.

[4] Zarbin M. Cell-Based therapy for degenerative retinal disease[J]. Trends Neurosci, 2016, 22(2): 115 - 134. doi: 10.1016/j.molmed.2015.12.007.

[5] Vugler A, Carr AJ, Lawrence J, et al. Elucidating the phenomenon of HESC-derived RPE: anatomy of cell genesis, expansion and retinal transplantation[J]. Exp Neurol, 2008, 214(2): 347 - 361. doi: 10.1016/j.expneurol.2008.09.007.

[6] Klimanskaya I, Hipp J, Rezai KA, et al. Derivation and comparative assessment of retinal pigment epithelium from human embryonic stem cells using transcriptomics[J]. Cloning Stem Cells, 2004, 6(3): 217 - 245. doi: 10.1089/clo.2004.6.217.

[7] Li WB, Zhang YS, Lu ZY, et al. Development of retinal pigment epithelium from human parthenogenetic embryonic stem cells and microRNA signature[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(9): 5334 - 5343. doi: 10.1167/iovs.12 - 8303.

[8] Idelson M, Alper R, Obolensky A, et al. Directed differentiation of human embryonic stem cells into functional retinal pigment epithelium cells[J]. Cell Stem Cell, 2009, 5(4): 396 – 408. doi: 10.1016/j.stem.2009.07.002.

[9] Buchholz DE, Pennington BO, Croze RH, et al. Rapid and efficient directed differentiation of human pluripotent stem cells into retinal pigmented epithelium[J]. Stem Cells Transl Med, 2013, 2(5): 384 – 393. doi: 10.5966/sctm.2012 – 0163.

[10] Wu W, Zeng Y, Li Z, et al. Features specific to retinal pigment epithelium cells derived from three-dimensional human embryonic stem cell cultures-a new donor for cell therapy[J]. Oncotarget, 2016, 7(16): 22819 – 22833. doi: 10.18632/oncotarget.8185.

[11] Schwartz SD, Hubschman JP, Heilwell G, et al. Embryonic stem cell trials for macular degeneration: a preliminary report[J]. Lancet, 2012, 379(9817): 713 – 720. doi: 10.1007/s12015 – 012 – 9377 – 4.

[12] Schwartz SD, Regillo CD, Lam BL, et al. Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies[J]. Lancet, 2015, 385(9967): 509 – 516. doi: 10.1016/S0140 – 6736(14)61376 – 3.

[13] Song WK, Park KM, Kim HJ, et al. Treatment of macular degeneration using embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium: preliminary results in Asian patients[J]. Stem Cell Reports, 2015, 4(5): 860 – 872. doi: 10.1016/j.stemcr.2015.04.005.

[14] Yin ZQ, Liu Y, Li S, et al. Clincal trial: subretinal transplantation of CTS hESC derived RPE in the treatment of wet Age-related Macular Degeneration (wAMD)[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2016, 57(12): 3742 – 3742. doi: 10.1167/iovs.15 – 17111.

[15] Buchholz DE, Hikita ST, Rowland TJ, et al. Derivation of functional retinal pigmented epithelium from induced pluripotent stem cells[J]. Stem Cells, 2009, 27(10): 2427 – 2434. doi: 10.1002/stem.189.

[16] Meyer JS, Howden SE, Wallace KA, et al. Optic vesicle-like structures derived from human pluripotent stem cells facilitate a customized approach to retinal disease treatment[J]. Stem Cells, 2011, 29(8): 1206 – 1218. doi: 10.1002/stem.674.

[17] Gong J, Fields MA, Moreira EF, et al. Differentiation of human protein-induced pluripotent stem cells toward a retinal pigment epithelial cell fate[J]. PLoS One, 2015, 10(11): e0143272. doi: 10.1371/journal.pone.0143272. eCollection 2015.

[18] Reardon S, Cyranoski D. Japan stem-cell trial stirs envy[J]. Nature, 2014, 513(7518): 287 – 288. doi: 10.1038/513287a.

[19] Sugita S, Iwasaki Y, Makabe K, et al. Successful transplantation of retinal pigment epithelial cells from MHC homozygote iPSCs in MHC-Matched models[J]. Stem Cell Reports, 2016, 7(4): 635 – 648. doi: 10.1016/j.stemcr.2016.08.010.

[20] Sugita S, Iwasaki Y, Makabe K, et al. Lack of T cell response to iPSC-derived retinal pigment epithelial cells from HLA homozygous donors[J]. Stem Cell Reports, 2016, 7(4): 619 – 634. doi: 10.1016/j.stemcr.2016.08.011.

[21] Jones MK, Lu B, Girman S, et al. Cell-based therapeutic strategies for replacement and preservation in retinal degenerative diseases[J]. Prog Retin Eye Res, 2017. doi: 10.1016/j.preteyeres.2017.01.004.

[22] Cuenca N, Fernández-Sánchez L, McGill TJ, et al. Phagocytosis of photoreceptor outer segments by transplanted human neural stem cells as a neuroprotective mechanism in retinal degeneration[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54(10): 6745 – 6756. doi: 10.1167/iovs.13 – 12860.

[23] Pennington BO, Clegg DO. Pluripotent stem cell-based therapies in combination with substrate for the treatment of Age-Related Macular Degeneration[J]. J Ocul Pharmacol Ther, 2016, 32(5): 261 – 271. doi: 10.1089/jop.2015.0153.

[24] 吴 畏,阴正勤. 加强胚胎干细胞三维培养研究,优化干细胞移植种子细胞获取策略[J]. 中华眼底病杂志,2016,32(6):573 – 575. doi: 10.3760/cma.j.issn.1005 – 1015.2016.06.003.

(编辑:左艳芳)