

sera[J]. Arthritis Res Ther, 2004, 6(2): R95-102.

25.

[24] Wallis D, Greig A, Dunphy J, et al. Anti-Golgi autoantibodies: prevalence and disease associations in a rheumatic disease population[J]. Int J Rheum Dis, 2012, 15(2): e23-

(收稿日期: 2015-04-19 修回日期: 2015-07-28)

• 综述 •

帕金森病治疗新进展

胡洪峰, 罗海彦 综述, 吴 禹 审校(重庆医科大学附属第二医院 400010)

【关键词】 帕金森病; 神经营养因子; 细胞移植; 联合治疗

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2015. 23. 064 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)23-3598-03

帕金森病(PD)是继 Alzheimer's 后最为常见的进展性神经变性疾病,并且影响了全世界将近 500 万 50 岁以上的人,在未来的 20 年中很可能会翻倍^[1]。PD 的主要症状是静止性震颤、肌强直、运动迟缓和姿势平衡障碍。疾病的病理学特征是一种被叫做 α -突触蛋白的物质在神经元中堆积形成路易小体,并导致选择性的多巴胺能神经元损伤,进而继发性纹状体中多巴胺减少。当 50%~60% 多巴胺的神经元变性及 70%~80% 的大脑神经末梢被消耗时,运动障碍症状将变得明显。随着大脑多巴胺水平持续减少,运动症状也随之持续恶化,最终使 PD 患者病死率风险提高 2 倍,并且大大缩短了 PD 患者的预期寿命^[2]。

1 药物治疗

随着对 PD 的病因学及病理生理学的深入研究,各种药物治疗也随之发展,包括抗胆碱能药、麦角类及一些植物类制剂(类左旋多巴)等,其中选择性多巴胺靶向替代治疗已经成为缓解运动症状的主流。最为广泛的调节剂就是多巴胺前体,即所谓的左旋-3-4 苯丙氨酸(L-多巴),其主要功效是有助于缓解震颤及其伴随的肌强直症状,被誉为 PD 治疗的金标准。但是长期 L-多巴治疗最终将减低临床获益,并且转变为更加难治的所谓左旋多巴相关性运动障碍。长期使用也能导致幻觉。其他作用机制不同的调节剂作为传统药物辅助用药也被用于治疗 PD。最近,一种新型多巴胺受体激动剂普拉克索缓释剂,以其显著改善 PD 患者运动及认知功能障碍而备受临床医生关注^[3]。另外,中草药由于其对部分 PD 患者显著的症状改善作用而引起广泛关注。Kim 等^[4]通过对大量文献进行有关中草药对 PD 作用效果的随机对照试验系统分析,最后得出结论,相对于安慰剂组,中草药确切的具体作用没有观察到,并且与传统药物相比,也没有明显证据表明中草药有更好的作用,但是如果两种药物联合治疗能明显改善 PD 患者相关症状,并能减少抗帕金森病药物剂量,降低药物不良反应发生率。

2 神经营养因子治疗

胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)和抗神经因子抗体(NTN)是神经营养因子家族中广泛被检测的成分。GDNF 的表达能减少 PD 患者黑质致密斑,并能促进多巴胺神经元再生,保护多巴胺神经细胞避免毒素的侵袭^[5]。一项最近的研究将携带 GDNF 基因病毒转染到一个老年恒河猴 PD 动物模型中,结果表明神经保护水平取决于神经营养因子水平^[6]。更进一步的啮齿类 PD 动物模型和 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶啉类 PD 动物模型研究表明,即使是神经营养因子颅内直接灌注也能起到很好的多巴胺神经元保护及修复功

能^[7]。另外,NTN 作为 GDNF 的同系物,在最近的研究中表明也能促进神经元恢复。NTN 占有神经营养因子蛋白成分 42%,是有着与神经营养因子相似的信号通路,并且同样能促进多巴胺神经元的恢复。

基于来自动物研究令人鼓舞的结果,第 1 次将神经营养因子使用到 PD 患者上的试验在 1996 年启动。直接大剂量注射侧脑室启动神经营养保护,8 个月后结果公开,但令人失望。患者并没有出现令人满意的功能恢复,并且出现许多不良反应,包括厌食、恶心、呕吐等,并且在神经营养因子注射后的许多天后仍有发生^[8]。那些接受大剂量神经营养因子的患者也经历了体质量减轻及消瘦等症状。来自于本试验死后病例分析表明,神经营养因子并没有有效从侧脑室中弥散开来,因此也就不能在黑质或者纹状体中发挥任何作用^[9]。以后的相似试验同样以失败告终,其主要原因主要涉及 2 个问题,一是一些患者血液样本中发现针对 GDNF 的抗体产生,另一个就是安全考虑。有试验表明,在恒河猴大脑中大剂量胚胎干细胞及诱导的多能干细胞注射 6 个月后产生了不可接受的肿瘤风险^[10]。

3 细胞移植

3.1 细胞移植治疗 对于 PD 患者的细胞移植治疗主要分成两类,纹状体移植和黑质移植。神经组织移植已经在动物模型及临床试验中被广泛研究,其目的是使 PD 患者重获失去的运动功能。在啮齿类 PD 动物模型中广泛的最普通的移植细胞类型是来自于发育中的胚胎中脑腹侧的多巴胺神经元,并且是直接注射这些细胞到啮齿类动物纹状体^[11]。最后发现,多巴胺神经元在严重 PD 病例中存活得非常好,并且有临床获益^[12]。但另外一个安慰剂双盲试验对照组,在黑质移植后未获得显著临床获益,尽管有证据表明移植细胞大量存活。因此黑质移植作为一种 PD 治疗手段仍旧不成熟。

人类胎儿组织细胞作为移植来源总是遇到许多的伦理及实践争论。现在通过使用人类胚胎干细胞或者诱导的多能干细胞移植将会避免这一问题。依靠适当的神经前体细胞分类采选或者细胞体外培育技术,人类胚胎干细胞能提供无限中脑多巴胺神经细胞^[13]。这些细胞移植进入帕金森动物模型,使部分 PD 患者成功恢复功能,尽管在有机生命体内没有证据证明纹状体细胞再生及多巴胺分泌及功能重建,与胚胎干细胞不同,多能干细胞是潜在自身多巴胺细胞来源,并且避免了伦理非议及细胞免疫问题。它们可以取材于患者自身躯体细胞,如成纤维细胞,并进行基因操作,这个试验已经在老鼠模型上得到验证。同时一些研究发现,星形细胞在老鼠 PD 模型中被

激活,在 PD 患者脑组织尸检中大规模的星形细胞聚集也被观察到^[14]。通过对多发性硬化及自身免疫性脑脊髓炎动物模型的研究发现,星形细胞的抗原呈递作用及炎性细胞因子前体,诸如白细胞介素-5、肿瘤细胞坏死因子、组胺等炎性因子,能够使中枢神经系统避免巨噬细胞及 T-淋巴细胞的炎性侵袭损伤^[15-16]。

3.2 轴索靶向移植治疗 PD 一些研究正在尝试直接将移植物置入黑质纹状体内重构黑质-纹状体通路^[17]。同时另一些研究试图通过“桥”技术创建一个从黑质直达纹状体靶点的成长支持通道,并且这个所谓的“桥”已经能够通过注射神经营养因子创造,其具有隔离纹状体组织,防止成纤维细胞干扰,促进分泌神经营养因子的 Schwann 细胞的生长作用^[18]。尽管这一技术能够增强神经纤维从黑质到达纹状体,并且能导致运动功能改善,但是纹状体再生多巴胺细胞数量有限,生长速度太慢,以至于无法达到临床预期效果。

可喜的是经过进一步改进技术,Ghosh 等^[19]已经能够在鼠脑模型中通过 NTN-1 和 GDNF 培育脑来源的多巴胺能神经轴突的长程生长。这个研究的目的就是重建黑质纹状体通路,通过在一个 6-羟基多巴胺诱导的鼠模型中用 NTN-1、GDNF、生长因子受体等轴索生长支持因子创建一个从黑质到纹状体的液体支撑通道,从而引导移植的多巴胺神经元细胞轴索从黑质到纹状体生长^[20]。现在最主要问题是识别区分这些能够指引移植神经元生长的导引分子,因为正是这些分子指引了移植神经元从黑质到纹状体的长程旅行。这样就能运用相同的方法来改进移植治疗,造福 PD 患者。

4 展 望

在 PD 患者中,起初的黑质纹状体多巴胺能神经系统的恢复主要关注的是药物重建生理过程,弥补中枢性神经递质失衡,但均未能彻底阻断 PD 的自然病程,长期疗效并不令人满意^[21]。现阶段,PD 治疗的新进展关注的是有可能取代传统药物重建治疗的细胞移植及细胞因子治疗。主要的策略是将胚胎多巴胺能神经元移植进纹状体,很少研究移植进黑质来重构完整的黑质纹状体通路^[22]。本研究讨论过去 10 年的移植研究,并且概括了目前有关多巴胺能神经元的存活、生长、引导的细胞、分子信号知识,以试图抛砖引玉似的综合各种治疗手段期许得到更好的治疗方案。PD 的确切有效治疗仍旧依赖于对潜在的神经变性过程的彻底理解,并且未来的治疗策略应该是能够阻止甚至是逆转神经变性疾病的进展。细胞移植及神经营养因子相互作用的分子水平作用机制的澄清将是未来需要努力的方向,并且可能是未来 PD 完全治愈的仅有希望。

参考文献

[1] Kim SU, Lee HJ, Kim YB. Neural stem cell-based treatment for neurodegenerative diseases[J]. *Neuropathology*, 2013, 33(5):491-504.

[2] Diem-Zangerl A, Seppi K, Oberaigner W, et al. Mortality in Parkinson's disease, a 20-year follow-up study[J]. *Mov Disord*, 2010, 25(5):661-662.

[3] 何海蓉, 张旭. 帕金森病药物治疗的新进展[J]. *检验医学与临床*, 2012, 9(4):450-452.

[4] Kim TH, Cho KH, Jung WS, et al. Herbal medicines for Parkinson's disease: a systematic review of randomized controlled trials[J]. *PLoS One*, 2012, 7(5):e35695.

[5] Weissmiller AM, Wu C. Current advances in using neuro-

trophic factors to treat neurodegenerative disorders[J]. *Transl Neurodegener*, 2012, 1(1):1-14.

[6] Emborg ME, Moirano J, Raschke J, et al. Response of aged parkinsonian monkeys to in vivo gene transfer of GDNF[J]. *Neurobiol Dis*, 2009, 36(2):303-311.

[7] Zhao Y, Haney MJ, Gupta R, et al. GDNF-transfected macrophages produce potent neuroprotective effects in Parkinson's disease mouse model[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9):e106867.

[8] Hegarty SV, O'Keefe GW, Sullivan AM. Neurotrophic factors: from neurodevelopmental regulators to novel therapies for Parkinson's disease[J]. *Neural Regene Res*, 2014, 9(19):1708-1711.

[9] Herzog CD, Dass B, Gasmi M, et al. Transgene expression, bioactivity, and safety of CERE-120 (AAV2-neurturin) following delivery to the monkey striatum[J]. *Mol Ther*, 2008, 16(10):1737-1744.

[10] Ben-David U, Benvenisty N, Maysnar Y. Genetic instability in human induced pluripotent stem cells: classification of causes and possible safeguards[J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(23):4603-4604.

[11] Thompson LH, Grealish S, Kirik D, et al. Reconstruction of the nigrostriatal dopamine pathway in the adult mouse brain[J]. *Eur J Neurosci*, 2009, 30(4):625-638.

[12] 王艳, 赵新利, 张军艳, 等. 脐带间充质干细胞治疗帕金森病的应用[J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(6):932-937.

[13] Cho MS, Lee YE, Kim JY, et al. Highly efficient and large-scale generation of functional dopamine neurons from human embryonic stem cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(9):3392-3397.

[14] Henning J, Strauss U, Wree A, et al. Differential astroglial activation in 6-hydroxydopamine models of Parkinson's disease[J]. *Neurosci Res*, 2008, 62(4):246-253.

[15] Hirsch EC, Vyas S, Hunot S. Neuroinflammation iParkinson's disease[J]. *Parkinsonism Relat Disord*, 2012, 18(Suppl 1):S210-212.

[16] Rubio-Perez JM, Morillas-Ruiz JM. A review: inflammatory process in Alzheimer's disease, role of cytokines[J]. *Scientific World Journal*, 2012, 4(1):756357.

[17] Gaillard A, Decressac M, Frappe I, et al. Anatomical and functional reconstruction of the nigrostriatal pathway by intranigral transplants[J]. *Neurobiol Dis*, 2009, 35(3):477-488.

[18] Zhang C, Jin Y, Ziemba KS, et al. Long distance directional growth of dopaminergic axons along pathways of netrin-1 and GDNF[J]. *Exp Neurol*, 2013, 250(4):156-164.

[19] Ghosh B, Zhang C, Smith GM. Bridging between transplantation therapy and neurotrophic factors in Parkinson's disease[J]. *Front Biosci (Elite Ed)*, 2014, 6(1):225-235.

[20] Xu X, Warrington AE, Bieber AJ, et al. Enhancing CNS repair in neurological disease: challenges arising from neurodegeneration and rewiring of the network[J]. *CNS Drugs*, 2011, 25(7):555-573.

[21] Yasuhara T, Kameda M, Agari T, et al. Regenerative medicine for Parkinson's Disease[J]. Neurol Med Chir (Tokyo), 2015, 55(Suppl 1):113-123.

plantation in Parkinson's disease[J]. Trends Neurosci, 2011, 34(3):124-133.

[22] Gaillard A, Jaber M. Rewiring the brain with cell trans-

(收稿日期:2015-03-21 修回日期:2015-06-12)

• 综述 •

棒状和环状蛋白在丙型肝炎病毒感染治疗中的研究进展

牛志立 综述, 张平安 审校(武汉大学人民医院检验科 430060)

【关键词】 丙型肝炎病毒; 聚乙二醇干扰素-α; 利巴韦林; RR 抗体

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.23.065 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)23-3600-02

丙型肝炎病毒(HCV)是单股正链 RNA 病毒,全球超过 1.7 亿感染者,仅 15% 的感染者能自行清除 HCV,大部分发展为慢性持续性感染,部分患者可发展成为肝硬化和肝癌。临床治疗发现,标准化聚乙二醇干扰素(Peg-IFN-α)和利巴韦林联合用药,慢性丙型肝炎(简称丙肝)总体有效率不佳并且药物不良反应多。最近研究表明,HCV 感染者经 Peg-IFN-α 和利巴韦林联合治疗后,体内可出现棒和环状(RR)自身抗体,尤其在无应答和复发的患者中比率较高。本文将从 HCV、RR 结构,以及 HCV 治疗和 RR 抗体之间的关系进行分析,综述如下。

1 HCV

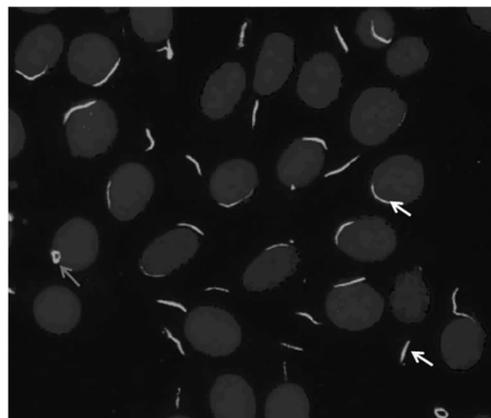
HCV 属于黄病毒科,是单股正链 RNA 病毒,其宿主限于人类和黑猩猩,可引起人类丙型肝炎[1]。HCV 基因全长约 9 600 kb,编码 3 014 个氨基酸多聚蛋白前体,经宿主细胞和病毒自身蛋白酶裂解成 3 种结构蛋白(核心蛋白、E1 和 E2)和 7 种非结构蛋白(P7、NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A 和 NS5B)[2]。HCV 进入宿主细胞主要通过病毒蛋白和细胞表面分子 CD1、LDL 受体、清道夫受体 B1、紧密连接蛋白-1 和紧密连接蛋白 Occludin 相互作用,并借助细胞内机制完成自我复制[3]。由于其 RNA 依赖性 RNA 聚合酶缺乏 3'-5' 外切酶活性,从而导致 HCV-RNA 的高突变率[4]。目前研究发现,HCV 基因型有 6 型,其中基因型 1、2、4、5 普遍存在于非洲,而基因型 3 和 6 在亚洲较为常见[5]。

HCV 持续感染可能与病毒通过破坏宿主防御功能有关[6]。从 1990~2005 年,全球血清 HCV 抗体阳性率从 2.3% 上升至 2.8%。其中中亚和东亚、北非和中东患病率最高(>3.5%),东欧和西欧次之(1.5%~3.5%)。目前慢性丙型肝炎标准治疗方法是 Peg-IFN-α 和利巴韦林联合用药,但是总体有效率不佳,其中 HCV 1b 型慢性丙肝者仅为 50%[7]。同时,Peg-IFN-α 和利巴韦林联合治疗的不良反应和患者的耐受性差,以及治疗晚期患者的有效率较低的情况也不容忽视。近来研究发现,RR 自身抗体与 Peg-IFN-α 和利巴韦林联合治疗 HCV 感染具有一定的关系。

2 RR 结构

1987 年首次提出 RR 并命名为 Nematins,后被证实为棒状抗原。RR 是一种新型的细胞质结构,既不富含波形蛋白、微管蛋白或肌动蛋白,也没有与任何已知细胞质结构相关联,并且不具有脂质双层膜的 58×10³ 大小的蛋白质[8]。RR 形状主要包括棒状和环状。棒状蛋白在细胞质内的位置主要有两种,一种是沿着细胞核膜分布,另一种是散在分布在胞浆中,见图

1。RR 在大鼠(NRK)、大鼠(PTK2)和小鼠(3T3, RAW264.7)细胞系中较为常见,在人细胞株内还没有发现。到目前为止,RR 的组成部分主要包含 67×10³ 的胞苷三磷酸合成酶(CTPS)和 55×10³ 的肌苷单磷酸脱氢酶(IMPDH),有无其他成分尚有争议[8]。



注:红色箭头指环状蛋白,白色箭头指棒状蛋白紧贴细胞核膜,黄色箭头指棒状蛋白位于胞浆。

图 1 RR 在细胞中的免疫荧光模型

2.1 CTPS 和 IMPDH 人 CTPS 有 2 个亚型,即 CTPS1 和 CTPS2,具有 74% 相同的氨基酸[9]。CTPS 能够催化尿苷三磷酸生成胞苷三磷酸及核酸和磷脂的生物合成。目前,CTPS 主要作为抗病毒、抗肿瘤和抗寄生虫治疗的靶向分子。IMPDH 有 2 个亚型,即 IMPDH1 和 IMPDH2,具有 84% 相同的氨基酸序列[9]。IMPDH 能够催化肌苷单磷酸(IMP)转化为黄苷-5'-单磷酸,是启动合成鸟嘌呤核苷酸的限速步骤。IMPDH 是细胞增殖的重要调节器,是肿瘤和病毒性疾病的靶向分子。

2.2 RR 的其他成分 Stinton 等[10]利用 RR 阳性的血清和蛋白质芯片技术检测 RR 的其他靶抗原,结果发现 7 种蛋白阳性,包括 Myc 基因相关的锌指蛋白、电压依赖性阴离子通道 1、锚蛋白重复及 SAM 结构域蛋白 6、肌动蛋白相关蛋白 1 及 3 个未知功能的蛋白质。这 7 种蛋白在功能上具有相似性,均参与嘌呤代谢、蛋白质折叠和聚合。虽然蛋白芯片能检测 RR 相关蛋白,但是无法阐明这些蛋白质在 RR 结构中的定位,而且蛋白中表位互补的干扰不利于免疫荧光定位研究 RR 的立体结构,这需要结合其他技术对 RR 进一步研究,如采用质谱仪对 RR 结构进行分析鉴定。

△ 通讯作者, E-mail: zhangpingan@aliyun.com。