

1 型糖尿病治疗的新希望：人化学诱导多能干细胞衍生胰岛细胞移植

杜媛媛 邓宏魁

教育部再生医学工程研究中心 基础医学院 北京大学天然与仿生药物国家重点实验室
生命科学学院细胞增殖与分化教育部重点实验室 北京大学-清华生命科学中心 北京大
学,北京 100871

通信作者:邓宏魁,Email: hongkui_deng@pku.edu.cn

【摘要】 基于人多能干细胞的再生医学为 1 型糖尿病的治疗带来了全新的可能。人多能干细胞具备无限的增殖潜能和向人体任何细胞分化的潜能,通过定向分化技术,可以利用人多能干细胞在体外大规模制备人胰岛细胞,用于糖尿病的细胞替代治疗。

【关键词】 糖尿病,1 型; 多潜能干细胞; 人化学诱导多能干细胞; 多能干细胞衍生胰岛细胞

A novel approach for the treatment of type 1 diabetes mellitus: transplantation of pancreatic islets derived from human chemically induced pluripotent stem cells

Du Yuanyuan, Deng Hongkui

MOE Engineering Research Center of Regenerative Medicine, School of Basic Medical Sciences, State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Peking University Health Science Center and the MOE Key Laboratory of Cell Proliferation and Differentiation, College of Life Sciences, PekingTsinghua Center for Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China

Corresponding author: Deng Hongkui, Email: hongkui_deng@pku.edu.cn

全世界约有 1/10 的成年人患有糖尿病,总数约 5.1 亿,我国患病人数超过 1.4 亿^[1]。糖尿病患者中,所有的 1 型糖尿病(T1DM)患者和约 1/3 的 2 型糖尿病患者需要终身注射胰岛素。然而,胰岛素注射不能根据血糖动态变化灵活地调整注射剂量,部分患者面临血糖控制差、糖化血红蛋白(HbA_{1c})不达标、并发症严重,甚至出现低血糖昏迷等致命性的情况。

2000 年,加拿大 Shapiro 团队建立了埃德蒙顿方案,将人胰腺组织供体中的胰岛在体外分离以后,移植入 T1DM 患者体内,可以使其完全脱离外源胰岛素注射,血糖恢复至正常水平,实现了疾病的功能性治愈^[2]。移植入患者体内的胰岛,能够根据血糖的生理变化,精准调控胰岛素释放,有效纠正糖、脂、蛋白质代谢紊乱,减少糖尿病并发症的发生发展^[3]。因此,胰岛移植被认为是目前治疗

T1DM 最有潜力的方法。今年 6 月,美国食品药品监督管理局也批准了同种异体胰岛疗法 Lantidra 的上市申请,用于治疗 T1DM,这是全球首款从人供体获取胰岛用于糖尿病治疗的细胞产品。然而,由于人供体器官严重不足,全球每年开展的临床胰岛移植病例数量非常有限;加之胰岛移植通常需要 2 个或以上数量的供体,才能使 1 名移植受者完全脱离外源胰岛素注射,这使得供体不足的问题在胰岛移植中更为突出^[4]。供体不足严重地限制了临床胰岛移植的广泛应用。因此,如何解决胰岛的来源问题,是糖尿病细胞疗法面临的一个重要挑战。

基于人多能干细胞的再生医学,为解决胰岛供体不足,提供了全新的可能性^[5-6]。人多能干细胞是一种胚胎发育早期的细胞,在体外具备稳定的增殖能力和向人体各种细胞分化的能力,借助人多能

DOI:10.3760/cma.j.cn112138-20230713-00365

收稿日期 2023-07-13 本文编辑 赵景辉

引用本文:杜媛媛,邓宏魁. 1 型糖尿病治疗的新希望:人化学诱导多能干细胞衍生胰岛细胞移植[J]. 中华内科杂志, 2023, 62(9): 1043-1045. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20230713-00365.



干细胞定向分化策略,在体外大规模地制备人胰岛,有望解决糖尿病细胞治疗面临的供体组织不足的问题^[7-9]。利用人多能干细胞治疗T1DM需要解决3个关键问题:(1)如何获得高质量的多能干细胞;(2)如何将人多能干细胞高效地诱导分化为胰岛;(3)如何将人多能干细胞分化的胰岛移植到体内使其长期存活并发挥功能。

一、建立高质量的多能干细胞

1998年,James Thomson团队使用体外受精废弃的人类囊胚,建立了全球第一株人胚胎干细胞系,这种利用早期发育的人胚胎建立的细胞系,可以在体外稳定扩增和定向分化,为再生医学提供了一种非常有潜力的种子细胞^[10]。然而,由于人胚胎干细胞建系过程存在伦理争议,其广泛应用受到了一定的阻滞。2006年,Shinya Yamanaka团队利用4个转录因子过表达的办法,将终末分化的体细胞逆转为胚胎发育早期的多能干细胞状态,成功建立了诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPS细胞)^[11]。iPS技术克服了胚胎干细胞建系面临的伦理挑战,并且使建立成人、自体的多能干细胞建系成为可能,这项技术也在2012年获得诺贝尔奖。然而,传统的iPS技术依赖转录因子过表达,其过程不可控,且重编程过程中需要抑制p53等抑癌基因,存在潜在的安全性风险^[12-13]。

2013年,本研究团队发表了一项原创性的成果,开辟了一条全新的体细胞重编程的路径——化学重编程,即仅使用化学小分子,不需要转录因子过表达,就可以将小鼠的体细胞重编程至多能性状态,建立化学诱导多能干细胞(chemically induced pluripotent stem cells, CiPS细胞)^[14]。2022年,本研究团队实现了人成体细胞的化学重编程,建立人CiPS细胞^[15],并在此基础上建立了一套成分明确、无动物来源组分的人化学重编程方案,实现在体外快速、高效、稳定地建立人CiPS细胞^[16]。与传统的转录因子过表达策略相比,化学小分子具有不整合基因组、作用可逆、操作简单等优势,更好地满足了临床应用对人多能干细胞的的要求。

二、将人多能干细胞定向分化为胰岛细胞

获得高质量的多能干细胞后,下一步需要将人多能干细胞定向分化为具备血糖调节能力的胰岛。利用人多能干细胞制备胰岛,已经有一些方案报道,但该领域仍面临从胰腺前体细胞向胰岛内分泌细胞高效率分化困难的问题,导致终末分化产生的具有降糖能力的胰岛 β 细胞比例低。本研究团

队通过对小分子化合物筛选和信号通路分析,发现重构胰岛三维组织结构并通过小分子化合物ISX9和WntC59组合调控胰腺前体向胰腺内分泌细胞命运转变,可以大幅提升胰岛 β 细胞分化效率^[9]。基于这些发现,本研究团队建立了一套分化方案,在不同供体来源的人CiPS细胞上实现了稳定、高效的胰岛分化,分化终末胰腺内分泌细胞比例超过80%。人CiPS衍生胰岛的直径主要分布在100~300 μm ,相较于人原代胰岛更加均匀;这些体外分化胰岛也包含参与血糖调控的3种主要内分泌细胞—— β 细胞、 α 细胞和 δ 细胞,且其基因表达谱与人原代胰岛细胞相似。更重要的是,人CiPS衍生胰岛包含成熟的胰岛素分泌颗粒,能够响应葡萄糖浓度变化调节胰岛素分泌水平。这些结构、基因表达和细胞功能方面的特征,使得CiPS衍生胰岛具备潜力,在体内移植后改善甚至逆转糖尿病^[9]。

尽管一些研究已经在啮齿类动物模型上证明了人多能干细胞衍生胰岛具备逆转糖尿病的能力^[7-8, 17]。然而,啮齿类动物在遗传学、解剖学、代谢和生理学方面与人类存在较大差异。如能使用和人类更为接近的非人灵长类模型评价人CiPS衍生胰岛的安全性和有效性,将为未来临床实践提供更多有价值的参考。本研究团队利用临床常用的肝脏门静脉移植策略,将人CiPS衍生胰岛移植入非人灵长类糖尿病模型体内,评价其治疗糖尿病的可行性。实验结果显示,接受人CiPS衍生胰岛移植的糖尿病模型猴,内源胰岛素分泌水平明显提升,且胰岛素分泌量能够响应葡萄糖或餐食的刺激进行相应调节。内源胰岛素分泌水平的恢复,有效改善了血糖控制,糖尿病模型猴的空腹血糖和餐前血糖均在移植后显著降低;同时,HbA_{1c}与移植前峰值相比,下降2%以上。作为全球首项非人灵长类研究,该研究论证了人CiPS衍生胰岛在糖尿病治疗中的安全性和有效性,提示了人CiPS衍生胰岛在T1DM治疗中的巨大潜力^[9]。

三、将人多能干细胞衍生胰岛细胞移植入体内
在解决了人多能干细胞来源和定向分化两个难题后,关键瓶颈是如何高效地将多能干细胞衍生的胰岛移植入体内、长期发挥功能。临床常用的胰岛移植策略是肝门静脉移植,移植后胰岛长期定植于肝脏内。但胰岛进入血液后,会发生即刻炎症反应,导致大量细胞在移植早期迅速死亡;同时,肝门静脉内移植也存在较高的出血和凝血风险^[18-19]。另一方面,移植后胰岛弥散分布于肝脏中,难以追踪观

察,且如发生不良反应或移植受者不再获益时,移植植物不能被移除^[4]。

本研究团队解析了影响胰岛体内存活和功能维持的关键因素,找到了一个独特的移植位点——腹直肌前鞘下,在该位点建立了一套全新的胰岛移植方案,并在非人灵长类模型充分地评价了该方案的可行性。腹直肌前鞘下移植解决了传统肝门静脉移植面临的移植早期细胞大量死亡、出血和凝血风险高且移植植物不可回收的问题。同时,定植于腹直肌前鞘下的人 CiPS 衍生胰岛能够在体内逐渐成熟并维持功能稳定,其胰岛素分泌水平相较于肝门静脉移植提升 5 倍以上。本研究团队在 1 只糖尿病模型猴体内,检测到移植的人 CiPS 衍生胰岛的胰岛素分泌水平达到了健康人的水平^[20],这个结果提示在未来临床治疗中,该移植方案有可能使患者完全脱离胰岛素注射,实现 T1DM 的治愈。

综上所述,本研究团队在人多能干细胞制备、胰岛定向分化和人多能干细胞衍生胰岛移植方面取得的研究进展,使人 CiPS 衍生胰岛有望被应用于 T1DM 临床治疗。从临床前研究跨越到临床实践,应该重点关注细胞移植后的安全性问题,特别是人多能干细胞残留导致的移植植物成瘤问题。本研究团队在超过 500 只小鼠和 15 只恒河猴体内实施了人 CiPS 衍生胰岛移植实验,在最长达 1 年的观察窗内,所有受试动物均未观察到移植植物成瘤问题。充分的动物实验为开展临床研究提供了重要的安全性数据。尽管人 CiPS 衍生胰岛解决了组织供体不足的问题,但接受同种异体移植的受者,仍需长期服用免疫抑制剂。如何解决移植受者的免疫抑制负担,可能是未来影响人 CiPS 衍生胰岛治疗 T1DM 的关键因素。一系列的应对策略,如诱导免疫耐受、构建低免疫原性人多能干细胞和开发免疫隔离装置等,都有潜力降低移植受者的免疫抑制负担,相关研究的突破将大幅拓展人 CiPS 衍生胰岛的治疗 T1DM 的应用范围。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

- [1] Magliano DJ, Boyko EJ, IDF Diabetes Atlas 10th edition scientific committee. IDF diabetes atlas[EB/OL]. 10th ed. Brussels: International Diabetes Federation, 2021(2021-11-08) [2023-06-29]. <https://diabetesatlas.org/data/en/>.
- [2] Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen[J]. N Engl J Med, 2000, 343(4): 230-238. DOI: 10.1056/NEJM200007273430401.
- [3] Shapiro AM, Pokrywczynska M, Ricordi C. Clinical pancreatic islet transplantation[J]. Nat Rev Endocrinol, 2017, 13(5): 268-277. DOI: 10.1038/nrendo.2016.178.
- [4] Rickels MR, Robertson RP. Pancreatic islet transplantation in humans: recent progress and future directions[J]. Endocr Rev, 2019, 40(2): 631-668. DOI: 10.1210/er.2018-00154.
- [5] Katsarou A, Gudbjörnsdóttir S, Rawshani A, et al. Type 1 diabetes mellitus[J]. Nat Rev Dis Primers, 2017, 3: 17016. DOI: 10.1038/nrdp.2017.16.
- [6] Vantyghem MC, de Koning E, Pattou F, et al. Advances in β -cell replacement therapy for the treatment of type 1 diabetes[J]. Lancet, 2019, 394(10205): 1274-1285. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)31334-0.
- [7] Pagliuca F, Millman J, Mads Gürtler, et al. Generation of functional human pancreatic β cells InVitro[J]. Cell, 2014, 159(2): 428-439. DOI: 10.1016/j.cell.2014.09.040.
- [8] Rezaia A, Bruin JE, Arora P, et al. Reversal of diabetes with insulin-producing cells derived in vitro from human pluripotent stem cells[J]. Nat Biotechnol, 2014, 32(11): 1121-1133. DOI: 10.1038/nbt.3033.
- [9] Du Y, Liang Z, Wang S, et al. Human pluripotent stem-cell-derived islets ameliorate diabetes in non-human primates[J]. Nat Med, 2022, 28(2): 272-282. DOI: 10.1038/s41591-021-01645-7.
- [10] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts [J]. Science, 1998, 282(5391): 1145-1147. DOI: 10.1126/science.282.5391.1145.
- [11] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors[J]. Cell, 2006, 126(4): 663-676. DOI: 10.1016/j.cell.2006.07.024.
- [12] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors[J]. Cell, 2007, 131(5): 861-872. DOI: 10.1016/j.cell.2007.11.019.
- [13] Okita K, Matsumura Y, Sato Y, et al. A more efficient method to generate integration-free human iPS cells[J]. Nat Methods, 2011, 8(5): 409-412. DOI: 10.1038/nmeth.1591.
- [14] Hou P, Li Y, Zhang X, et al. Pluripotent stem cells induced from mouse somatic cells by small-molecule compounds[J]. Science, 2013, 341(6146): 651-654. DOI: 10.1126/science.1239278.
- [15] Guan J, Wang G, Wang J, et al. Chemical reprogramming of human somatic cells to pluripotent stem cells[J]. Nature, 2022, 605(7909): 325-331. DOI: 10.1038/s41586-022-04593-5.
- [16] Liuyang S, Wang G, Wang Y, et al. Highly efficient and rapid generation of human pluripotent stem cells by chemical reprogramming[J]. Cell Stem Cell, 2023, 30(4): 450-459.e9. DOI: 10.1016/j.stem.2023.02.008.
- [17] Jiang W, Shi Y, Zhao D, et al. In vitro derivation of functional insulin-producing cells from human embryonic stem cells[J]. Cell Research, 2007, 17(4): p.333-344. DOI: 10.1038/cr.2007.28.
- [18] Cantarelli E, Piemonti L. Alternative transplantation sites for pancreatic islet grafts[J]. Curr Diab Rep, 2011, 11(5): 364-374. DOI: 10.1007/s11892-011-0216-9.
- [19] McCall M, Shapiro AM. Update on islet transplantation[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2012, 2(7): a007823. DOI: 10.1101/cshperspect.a007823.
- [20] Liang Z, Sun D, Lu S, et al. Implantation underneath the abdominal anterior rectus sheath enables effective and functional engraftment of stem-cell-derived islets[J]. Nat Metab, 2023, 5(1): 29-40. DOI: 10.1038/s42255-022-00713-7.