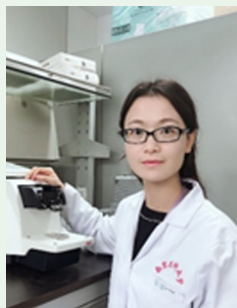


·特约综述·

人多能干细胞在帕金森综合症治疗与研究中的作用

陶梦丹^{1,2}, 刘妍²

(1. 东南大学生物科学与医学工程学院, 江苏 南京 210096; 2. 南京医科大学药学院干细胞与神经再生研究所, 江苏 南京 211166)



作者简介: 刘妍, 南京医科大学特聘教授, 博士生导师, 国家优秀青年科学基金获得者、江苏省杰出青年基金获得者, 获江苏省巾帼科技之星称号。研究聚焦于细胞治疗、人脑类器官构建及神经疾病发病机理的研究。研究成果多次发表在 *Nature Biotechnology*, *Nature Protocol*, *JCI* 和 *Molecular Psychiatry* 等期刊。刘妍教授目前担任中国神经科学学会理事、江苏省神经科学学会副理事长等学术兼职, 并主持中国科学院 A 类战略性先导科技专项、国家自然科学基金重大研究计划(培育项目)等项目。E-mail: yanliu@njmu.edu.cn。

摘要: 帕金森综合症(PD)是以中脑腹侧多巴胺能神经元缺失为病理特征的神经退行性疾病。虽有大量帕金森综合症的相关研究, 但其治愈手段以及细胞分子水平的病理原因仍未被完全阐明。随着研究的不断进展, 人多能干细胞(hPSC)成为帕金森综合症治疗与研究的主要方式之一。本篇综述中, 我们主要介绍了 hPSC 诱导的中脑多巴胺能前体细胞在帕金森综合症治疗中的研究进展以及帕金森综合症中脑类器官模型的建立及其运用与展望。

关键词: 帕金森综合症; 多能干细胞; 移植治疗; 类器官

中图分类号: R742.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2022)02-0173-08

DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2022.0202

hPSC in the Treatment and Research of Parkinson's Disease

TAO Meng-dan^{1,2}, LIU Yan²

(1. Department of Neurobiology, School of Biological sciences & Medical Engineering, Southeast University Nanjing 210096; 2. Institute of Stem Cell and Neural Regeneration, School of Pharmacology, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China)

Correspondence to: LIU Yan; E-mail: yanliu@njmu.edu.cn

Abstract: Parkinson's disease syndrome is characterized by the absence of dopaminergic neurons in the substantia nigra. There have been large amounts of studies on PD, while its treatments and pathological reasons at the molecular level have not been fully elucidated so far. With the development of research, human pluripotent stem cell (hPSC) may become one of the main ways to treat and study Parkinson's disease. In this review, we mainly introduce the research progress of hPSC-induced midbrain dopaminergic precursor cells in the treatment of Parkinson's disease, and the establishment and application of midbrain organoid models in Parkinson's Disease.

Key words: Parkinson's disease; pluripotent stem cells; transplantation therapy; organoids

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2022, 43(2): 173-180]

收稿日期: 2021-11-15

基金项目: 国家自然科学基金重大研究计划(91849117); 国家自然科学基金优秀青年科学基金(81922022); 国家重点研发计划重点专项(2019YFA0802703); 国家自然科学基金(21904069); 江苏省自然科学基金(BK20190653)

帕金森综合症(Parkinson's disease, PD)又名震颤麻痹,由英国医学家兼地质学家James Parkinson在其个人专著《论震颤麻痹》中首次提出^[1-2],现已成为继阿尔兹海默病之后,第二常见的慢性中枢神经系统退行性疾病^[3]。截至2020年,全球已超过6百万帕金森综合症患者^[4],且患病率逐年增加^[5],给个人、家庭以及整个社会带来了沉重的负担。因此,探究有效的治疗方式以及明确发病机制极具意义。迄今为止,帕金森综合症治疗方案仍以药物治疗及手术治疗法为主。药物治疗的主要机制在于增加脑内的多巴胺递质。然而药物治疗虽可延缓病程,但无法进行根治。此外,药物治疗具有脱靶效应以及严重的不良反应,如“开关”现象等^[6]。手术治疗以深层脑部刺激(deep brain stimulation, DBS)为主,该法旨在利用电脉冲引起脑内神经元的异常放电来调控患者行为。DBS常用于治疗对于药物治疗或其他治疗无效的严重患者^[7]。然而DBS具有一定有限性:①极易引起颅内出血,其治疗效果也难以控制^[8];②手术治疗费用高;③仅适用于PD晚期且未痴呆患者。近二十年来,随着研究深入,帕金森综合症的治疗手段层出不穷。其中,干细胞治疗法成为了研究热点之一^[4]。1981年,Evans和Kaufman首次将小鼠胚胎干细胞进行分离,并证明小鼠胚胎干细胞不仅可以维持其多能性,还可被诱导分化为心肌细胞、神经细胞、造血细胞等。该分离技术的成功建立为1998年Thomson等人从胚泡中成功分离人胚胎干细胞(human embryonic stem cell, hESC)提供了前提^[9]。虽然研究者运用hESC进行许多人类胚胎发生以及疾病相关的研究,并取得了巨大的进展,但鉴于人胚胎干细胞来自人类胚胎,其数量有限性以及伦理限制性成为人胚胎干细胞发展的主要制约因素。而后,2006年,Yamanaka等^[10]利用逆转录因子Sox2 (sex determining region Y-box2), c-Myc (myelocytomatosis), Oct3/4 (octamer-binding transcription factor 3/4)和Klf4 (Kruppel-like factor 4)诱导小鼠成纤维细胞产生具备无限增殖且多分化潜能的hiPSC。hiPSC与hESC具备相似的分化潜力、形态、基因等特征。hiPSC不仅可极大地避免hESC引发的伦理问题,还包含了供体细胞的遗传基因等背景,理论上更适合

于个性化医疗的研究^[11]。干细胞治疗机制在于利用外源性多巴胺能神经元替代内源性受损细胞。研究者首先将hPSC进行定向诱导分化,之后再将所得细胞移植入黑质等特定区域。干细胞移植治疗法为帕金森综合症的治愈带来了希望。除治疗外,hPSC作为生物模型,在帕金森综合症机制研究中也发挥着不可或缺的作用。理想的帕金森综合症模型应当可模拟人类疾病表征以及疾病进程。然而化学损伤模型作为常用的帕金森综合症模型^[12],虽可以部分模拟帕金森综合症患者的临床症状,如运动迟缓,静止性震颤等,但其无法重现患者脑内的神经变性以及蛋白异常聚集的病变过程。此外,转基因帕金森综合症小鼠模型较少能观察到黑质区域的神经损伤^[13]。因此,亟须一种可模拟病情进展的疾病模型出现。人多能干细胞衍生而得的帕金森综合症中脑类器官模型的发育过程类似于人类中脑的发育过程,理论上可模拟不同阶段的帕金森综合症征。并且,研究表明,该类器官模型可良好地模拟路易小体聚集等病理现象^[14]。类器官弥补了细胞简单模型以及动物复杂模型的不足之处,为帕金森综合症等神经退行性疾病的研究提供了重要的实验平台(图1)。

1 hPSC在帕金森综合症治疗研究中的进展

1980年,奥尔森等人将肾上腺髓质细胞植入PD患者的纹状体内。结果阐明,富含儿茶酚胺的细胞植入物对患有严重帕金森综合症的患者具有短暂的有益效应^[15]。此后,研究者将富含多巴胺能神经祖细胞的胚胎腹侧中脑组织移植到帕金森综合症患者的壳核中。患者的行为障碍不仅得以显著改善,患者脑内产生大量的外源性多巴胺神经元并存活24余年^[16]。然而,胚胎腹侧中脑组织经移植后,虽可以在体内产生新的多巴胺能神经元,并且该神经元可与宿主内的神经环路整合,但也仅有3%~5%的外源性神经元存活,远不足脑内所需量^[17]。此外,人胚胎腹侧中脑组织的获取受伦理限制,无法大量运用。这些因素都极大的限制了胚胎组织移植治疗的发展。组织移植治疗结果虽良莠

不齐,但细胞替代治疗法的可行性有目共睹。因此,如何获得足量且有效的外源性多巴胺神经元成为研究者们关注的焦点之一。

一般而言,多能干细胞具有多向分化潜能,并不适宜直接移植。并且,神经干细胞倾向于分化为星形胶质细胞以及中间神经元^[18],无法在脑内产生足量的多巴胺能神经元。因此,移植多巴胺能前体细胞更具有可行性和安全性。2006年,Roy等^[19]首次将hESC来源的多巴胺能神经前体细胞移植入小鼠脑内。经检测,鼠脑内存在大量具有黑质表型的外源性多巴胺能神经元,小鼠行为也得以改善。然而,于鼠脑内,可观测到大量具有致瘤潜质的处于有丝分裂期的神经上皮细胞。之后,Kirkeby^[20]、Kirkes等^[21]将hPSC诱导方案进行优化,他们在分化过程中添加了SMAD信号双重抑制剂以及高浓度的Sonic Hedgehog,以促进多巴胺能前体细胞的产生。所得细胞经移植后,鼠脑内未有畸胎瘤产生。此后,hESC诱导所得的多巴胺能前体细胞移植治疗在非人类灵长动物模型中也展现了优异的结果^[22],极大的推动了干细胞移植治疗帕金森综合症的临床试验。然而,移植治疗实验中,模型动物需较长时间地被给与免疫抑制剂,如SRL、FTY720、FK506等。免疫抑制剂虽可以降低患者的免疫排斥反应,但长期使用,会出现肾功能损伤、中性粒细胞减少等不良反应。要在临床试验中使用基于多能干细胞的疗法,不仅需要克服宿主对外源性细胞的排斥反应,还需减弱甚至避免免疫抑制剂的副作用。科学家认为,hiPSC源自患者体细胞,具有与患者相同的遗传背景。因此在应用理论上,hiPSC可以显著减少甚至消除免疫反应的产生。将iPSC诱导分化为神经元,为之后hiPSC来源的多巴胺能前体细胞移植实验提供了基础。2013年,Morizane^[23]将自体移植与异体移植进行对比,研究结果表明自体移植会减少约50%的排斥反应,或将解决免疫排斥问题。2017年,来自日本京王大学的Kikuchi^[24]将人源性多能干细胞诱导产生的多巴胺能前体细胞移植入帕金森综合症灵长类动物模型的纹状体中,并利用MRI以及正电子发射断层扫描技术(PET)检测移植细胞的存活、扩增、整合以及宿主的免疫反应。研究表明,人源性多巴胺能

前体细胞移植治疗对模型动物的组织学以及行为学均有改善作用。

至此,hPSC衍生的多巴胺能前体细胞移植试验均已进入临床试验期。2017年5月,我国科学家周琪领先于全球,进行了hESC源的多巴胺能前体细胞移植治疗帕金森综合症的临床试验。此外,于2018年,Barker等^[25]首次进行hiPSC源的多巴胺能前体细胞移植治疗帕金森综合症的人体实验。2020年5月,Schweitzer及其同事完成了全球首例帕金森综合症人自体诱导的中脑多巴胺能神经元前体细胞移植实验,实现了帕金森综合症人运动功能完全恢复的案例。充分证明了神经前体细胞移植,是重构受损的脑环路以及治疗神经退行性疾病的重要途径^[26],也是继药物治疗和手术治疗之后的第三大医学干预模式。

2 hPSC在帕金森综合症机制研究中的进展

2.1 帕金森综合症中脑类器官模型的建立

2008年,Park及其同事首次将病人体细胞诱导转化为hiPSC,成功构建唐氏综合征、亨廷顿、帕金森综合症患者来源的hiPSC^[27-28]。之后,研究人员利用2D培养体系将hiPSC诱导分化为神经元,作为体外分化以及发育调控研究的模型,如对精神分裂症^[29-30]、双相情感障碍^[31-32]、抑郁症^[33]、帕金森综合症等^[34-35]的研究。然而,尽管2D培养技术相对成熟及稳定且疾病研究也取得了相应的成果,但2D培养无法良好地模拟脑内三维空间上的结构以及由各种因子和信号所组成的复杂的微环境,更无法准确概括细胞与细胞/细胞外基质之间的相互作用^[36-37]。研究表明,2D所得的多巴胺能神经元虽具备部分病理特征,如上调的氧化应激的敏感性^[35],但分化所得神经元不仅成熟度较低^[38],目前也极少有报道表明该模型可模拟路易小体的异常聚集现象^[39]。

为了更好的探究帕金森综合症患者脑内细胞的状态,研究者采用类器官技术进行探究。类器官是指在体外环境下产生的具备三维结构的微型模器官,可模拟部分人体组织或器官的生理功能。并

且,组成类器官的细胞具有与体内发育过程相似的定向分化性^[40]。研究表明,类器官与脑内器官具有极高的相似度^[41]。类器官培养技术最早期运用于小肠类器官的建立^[37],直至2013年,人脑类器官才得以建立,例如 Lancaster^[42]建立的皮层类器官、Muguruma^[43]建立的小脑类器官等。

中脑是多巴胺能神经元的主富集区域,该区域参与控制一系列听觉、视觉以及运动,是人脑不可或缺的区域之一。2016年,新加坡科学家Jo与其

同事建立了模拟人中脑结构的类器官模型^[44],并通过一系列手段证明了该模型的功能活性。此外,研究者在该类器官模型内检测到多巴胺能神经元的主要标志物神经黑色素。在此基础上,研究者们也通过自体衍生的iPSC建立了具有自身遗传信息的帕金森综合症中脑类器官模型^[45]。帕金森综合症中脑类器官模型的建立为帕金森综合症发病机制的阐明以及分子机制的研究提供了平台(表1)。

表1 2D多巴胺能神经元及3D中脑类器官分化方法
Table 1 Differentiation of 2D dopaminergic neurons and 3D midbrain organoids

Authors	Year of publication	Major exogenous molecules	FOXA2/ HO	TH/ HO	References
2D Rudolf Jaenisch	2009	ascorbic acid, FGF2, murine N-terminal fragment of Shh, murine FGF8 isoform b	-	>40%	Nat Protoc. 2017 Sep; 12(9):1962-1979.
2D Lorenz Studer	2011	LDN193189, SB431542, CHIR99021, SHH C25 II, Purmorphamine, FGF8	>80%	>70%	Nature. 2011 Nov 6; 480(7378):547-51.
2D SU-CHUN ZHANG	2016	DMH1, SB431542, CHIR99021, SHH C25 II, SAG, FGF8b	>80%	>60%	Cell Stem Cell. 2016 Jun 2; 18(6):817-826.
2D Agnete Kirkeby	2017	CHIR99021, Purmorphamine, Noggin, SB431542, SHHC24 II, FGF8b	-	>10%	Nat Protoc. 2017 Sep; 12(9):1962-1979.
2D Jun Takahashi	2014	LDN193189, A83-01, CHIR99021, FGF8, Purmorphamine	>60%	>40%	Stem Cell Reports. 2014 Mar 6; 2(3):337-50.
3D Huck-Hui Ng	2016	heparin, SB431542, Noggin, CHIR99021, SHH-C25 II, FGF8	>30%	>20%	Cell Stem Cell. 2016 Aug 4; 19(2):248-257
3D Sang-Hun Lee	2021	SB431542, Noggin, CHIR99021, doxycycline, SHH C25 II	>80%	>30%	Sci Adv. 2021 Feb 17; 7(8):eabb1540.

2.2 帕金森综合症中脑类器官模型的应用与展望

自帕金森综合症中脑类器官技术建立以来,已有许多科学家依此进行分子机制等层面的探究且取得了良好的研究成果。如 Kim^[46]利用患者自体细胞建立含有自身遗传信息的 hiPSC,并结合中脑类器官分化技术成功模拟了 G2019S-LRRK2 散发性帕金森综合症。研究者证明该中脑类器官可

呈现与 PD 患者相似的病理学特征,如 α -突触核蛋白异常聚集及清除。除此之外,研究者还发现 TXNIP 可以介导 G2019S-LRRK2 的病理表型,该发现不仅为治疗该疾病提供了新的药物作用靶点,也为靶向性药物的筛选提供了新的方向。

类器官模型除了可应用于细胞水平机制的探究外,或可运用于亚细胞水平机制的研究,如对多

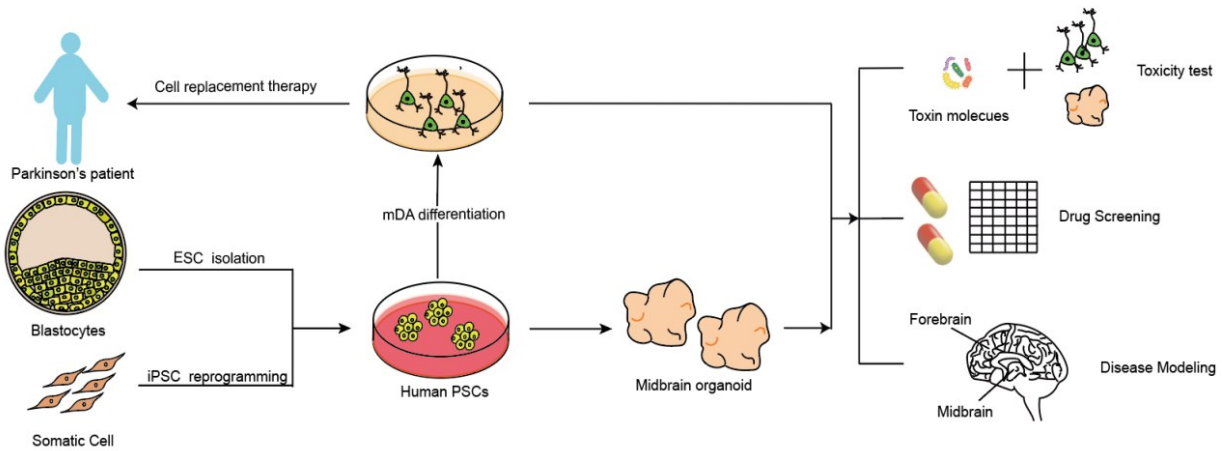


图1 基于hPSC技术进行疾病模型建立的示意图

Fig. 1 Schematic representation of pluripotent stem cell generation and application

多巴胺神经元内递质释放等行为的探究。递质作为生物信息传递的要素之一,是细胞维持正常活动的基本元素。单细胞内递质释放的准确检测对探索相关疾病研究具有重要意义。细胞内递质储存于囊泡内。囊泡膜由磷脂层、跨膜蛋白以及细胞膜表面的亲水化合物组成,其内含物的正常释放是维持细胞机能的重要机制之一^[47]。 α -突触蛋白的异常聚集已被证明与家族型帕金森综合症相关。有研究报道表明该蛋白可通过与磷脂的结合发生作用,并累积于突触前端,从而造成囊泡释放障碍^[48]。因此,实时准确的检测囊泡释放的方法是帕金森综合症分子机制研究中不可或缺的一部分。递质的检测一般有微量透析法、高效液相法(HPLC)、伏安法等。以往研究中常使用微量透析法和高效液相法,它们虽可以检测环境内多巴胺浓度的变化,但无法实现在体的神经递质检测。伏安法主要利用了多巴胺具有易氧化的特性,当外界给予700~1200 mV的电压刺激时,多巴胺能神经元内囊泡中所含的分子得以释放并发生氧化还原反应,之后该分子释放的电子产生电流信号。该方法优势在于其可进行多巴胺释放时的实时监测与定量分析,为多巴胺的在体检测提供可能^[49]。2014年,周专课题组^[50]将人源性多巴胺能神经前体细胞移植入帕金森综合症小鼠内,并通过微透析的高效液相色谱法和电化学碳纤维电极共同测定。结果显示在体外(脑片)和体内纹状体中均有出现多巴胺释放和再摄取的恢复。该实验表明了电化学碳纤维电极

检测脑内多巴胺的释放以及再摄取的可行性,但该实验的检测仍停留于多细胞水平,普通的微电极用于单突触及单个囊泡的释放的检测依然面临着巨大的挑战。随着研究的不断深入,纳米电极的制备技术使得检测单个突触间隙递质,甚至单个囊泡的释放成为了现实^[51]。然而,如何进行人源性单细胞甚至单囊泡水平的神经递质多巴胺的检测尚未见报道。

帕金森综合症类器官模型的建立为人源性单细胞的检测提供了平台。因此,之后研究中或可将帕金森综合症类器官模型与纳米电极相结合,应用于单细胞中单个囊泡储存与释放行为检测,并以此探究人类帕金森综合症进程中囊泡释放与重摄取行为的差异以及特异性分子等在神经递质释放中的作用,为帕金森综合症的病因研究提供支持。

随着干细胞技术的不断革新与优化,科学家运用hPSC进行了许多开创性试验,为帕金森综合症等神经退行性疾病的治愈带来了新的希望。此外,hPSC衍生所得的中脑类器官也已成为了帕金森综合症机制研究中不可或缺的模式之一。然而,目前为止,类器官仍具有一定的局限性,如缺乏血管^[52]以及免疫细胞,细胞类型及亚型也有所缺失等^[53-54]。但随着共培养体系等科研手段的不断突破,类脑器官的功能与性状正不断趋向于人类大脑,可更好的模拟神经退行性疾病。总之,多能干细胞在组织替代治疗,疾病形成的机制、药物实验等方面具有极大的探究与应用价值。

参考文献

- [1] Meireles J, Massano J. Cognitive impairment and dementia in Parkinson's disease: clinical features, diagnosis, and management [J]. *Frontiers Neurol*, 2012, 3: 88.
- [2] Lees AJ. Unresolved issues relating to the shaking palsy on the celebration of James Parkinson's 250th birthday [J]. *Mov Disord*, 2007, 22 Suppl 17: S327-334.
- [3] Beitz JM. Parkinson's disease: a review [J]. *Front Biosci (Schol Ed)*, 2014, 6: 65-74.
- [4] Armstrong MJ, Okun MS. Diagnosis and treatment of Parkinson disease: a review [J]. *JAMA Neurology*, 2020, 323(6): 548-560.
- [5] Dorsey ER, Bloem BR. The Parkinson pandemic - a call to action [J]. *JAMA Neurology*, 2018, 75(1): 9-10.
- [6] Bronstein JM, Tagliati M, Alterman RL, et al. Deep brain stimulation for Parkinson disease: an expert consensus and review of key issues [J]. *Arch Neurol*, 2011, 68(2): 165.
- [7] Graat I, Figeo M, Denys D. The application of deep brain stimulation in the treatment of psychiatric disorders [J]. *Inte Rev Psychiatry*, 2017, 29(2): 178-190.
- [8] Bernstein JE, Kashyap S, Ray K, Ananda A. Infections in deep brain stimulator surgery [J]. *Cureus*, 2019, 11(8): e5440.
- [9] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts [J]. *Science*, 1998, 282(5391): 1145-1147.
- [10] 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.
- [11] Kelava I, Lancaster MA. Dishing out mini-brains: current progress and future prospects in brain organoid research [J]. *Developmental*, 2016, 420(2): 199-209.
- [12] Morris A, Yelin EH, Panopalis P, et al. Long-term patterns of depression and associations with health and function in a panel study of rheumatoid arthritis [J]. *J Health Psychol*. 2011, 16(4): 667-677.
- [13] 杨东明, 杨利峰, 赵德明, 等. 帕金森病动物模型的研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(3): 397-404.
- Yang DM, Yang LF, Zhao DM, et al. Research progress regarding animal models of Parkinson's disease [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2020, 28(3): 397-404.
- [14] Wulansari N, Darsono WHW, Woo HJ, et al. Neurodevelopmental defects and neurodegenerative phenotypes in human brain organoids carrying Parkinson's disease-linked DNAJC6 mutations [J]. *Sci Adv*, 2021, 7(8).
- [15] Olanow CW, Goetz CG, Kordower JH, et al. A double-blind controlled trial of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson's disease [J]. *Ann Neurol*, 2003, 54(3): 403-414.
- [16] Li W, Englund E, Widner H, et al. Extensive graft-derived dopaminergic innervation is maintained 24 years after transplantation in the degenerating parkinsonian brain [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(23): 6544-6549.
- [17] Studer L, Tabar V, McKay RD. Transplantation of expanded mesencephalic precursors leads to recovery in parkinsonian rats [J]. *Nat Neurosci*, 1998, 1(4): 290-295.
- [18] 王昱凯, 周琪, 胡宝洋. 人胚胎干细胞来源多巴胺前体细胞治疗帕金森病猴 [J]. *生命科学*. 2016, 28(8): 902-906.
- Wang YK, Zhou Q, Hu BY. Long-term evaluation of human ESC-derived dopaminergic progenitor in monkey models of Parkinson disease [J]. *Chin Sci Bull*, 2016, 28(8): 902-906.
- [19] Roy NS, Cleren C, Singh SK, et al. Functional engraftment of human ES cell-derived dopaminergic neurons enriched by coculture with telomerase-immortalized midbrain astrocytes [J]. *Nat Methods*, 2006, 12(11): 1259-1268.
- [20] Kirkeby A, Grealish S, Wolf DA, et al. Generation of regionally specified neural progenitors and functional neurons from human embryonic stem cells under defined conditions [J]. *Cell Rep*, 2012, 1(6): 703-714.
- [21] Kriks S, Shim JW, Piao J, et al. Dopamine neurons derived from human ES cells efficiently engraft in ani-

- mal models of Parkinson's disease[J]. *Nature*, 2011, 480(7378): 547-551.
- [22] Hu X, Mao C, Fan L, et al. Modeling Parkinson's disease using induced pluripotent stem cells [J]. *Stem Cells Int*, 2020, 2020: 1061470.
- [23] Morizane A, Doi D, Kikuchi T, et al. Direct comparison of autologous and allogeneic transplantation of iPSC-derived neural cells in the brain of a non-human primate[J]. *Stem Cell Rep*, 2013, 1(4): 283-292.
- [24] Kikuchi T, Morizane A, Doi D, et al. Human iPSC cell-derived dopaminergic neurons function in a primate Parkinson's disease model [J]. *Nature*, 2017, 548(7669): 592-596.
- [25] Barker RA, Parmar M, Studer L, et al. Human trials of stem cell-derived dopamine neurons for Parkinson's disease: dawn of a new era[J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 21(5): 569-573.
- [26] Schweitzer JS, Song B, Herrington TM, et al. Personalized iPSC-derived dopamine progenitor cells for Parkinson's disease[J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(20): 1926-1932.
- [27] Park IH, Arora N, Huo H, et al. Disease-specific induced pluripotent stem cells [J]. *Cell*, 2008, 134(5): 877-886.
- [28] Lebedeva OS, Lagarkova MA. Pluripotent stem cells for modelling and cell therapy of Parkinson's disease [J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2018, 83(9): 1046-1056.
- [29] Wen Z, Nguyen HN, Guo Z, et al. Synaptic dysregulation in a human iPSC model of mental disorders [J]. *Nature*, 2014, 515(7527): 414-418.
- [30] Huang J, Perlis RH, Lee PH, et al. Cross-disorder genomewide analysis of schizophrenia, bipolar disorder, and depression[J]. *Am J Psychiatry*, 2010, 167(10): 1254-1263.
- [31] Harrison PJ, Cader MZ, Geddes JR. Reprogramming psychiatry: stem cells and bipolar disorder [J]. *Lancet*, 2016, 387(10021): 823-825.
- [32] Madison JM, Zhou F, Nigam A, et al. Characterization of bipolar disorder patient-specific induced pluripotent stem cells from a family reveals neurodevelopmental and mRNA expression abnormalities [J]. *Mol Psychiatry*, 2015, 20(6): 703-717.
- [33] Vadodaria KC, Mertens J, Paquola A, et al. Generation of functional human serotonergic neurons from fibroblasts[J]. *Mol Psychiatry*, 2016, 21(1): 49-61.
- [34] Haenseler W, Zambon F, Lee H, et al. Excess alpha-synuclein compromises phagocytosis in iPSC-derived macrophages[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9003.
- [35] Nguyen HN, Byers B, Cord B, et al. LRRK2 mutant iPSC-derived DA neurons demonstrate increased susceptibility to oxidative stress[J]. *Cell stem cell*, 2011, 8(3): 267-280.
- [36] Garcez PP, Loiola EC, Madeiro da Costa R, et al. Zika virus impairs growth in human neurospheres and brain organoids [J]. *Science*, 2016, 352(6287): 816-818.
- [37] Monzel AS, Smits LM, Hemmer K, et al. Derivation of human midbrain-specific organoids from neuroepithelial stem cells [J]. *Stem Cell Rep*, 2017, 8(5): 1144-1154.
- [38] Chung CY, Khurana V, Auluck PK, et al. Identification and rescue of alpha-synuclein toxicity in Parkinson patient-derived neurons [J]. *Science*, 2013, 342(6161): 983-987.
- [39] Beal MF. Experimental models of Parkinson's disease [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2001, 2(5): 325-334.
- [40] Neal JT, Li X, Zhu J, et al. Organoid modeling of the tumor immune microenvironment[J]. *Cell*, 2018, 175(7): 1972-1988.e16.
- [41] Pollen AA, Bhaduri A, Andrews MG, et al. Establishing cerebral organoids as models of human-specific brain evolution [J]. *Cell*, 2019, 176(4): 743-756.e17.
- [42] Lancaster MA, Renner Magdalena, Knoblich Juergen A, et al. Cerebral organoids model human brain development and microcephaly [J]. *Nature*, 2013, 501(7467): 373-379.
- [43] Muguruma K, Nishiyama A, Kawakami H, et al. Self-organization of polarized cerebellar tissue in 3D culture of human pluripotent stem cells [J]. *Cell Rep*, 2015, 10(4): 537-550.
- [44] Jo J, Xiao Y, Sun AX, et al. Midbrain-like organoids from human pluripotent stem cells contain functional dopaminergic and neuromelanin-producing neurons [J]. *Cell Stem Cell*, 2016, 19(2): 248-257.
- [45] Smits LM, Reinhardt L, Reinhardt P, et al. Modeling

- Parkinson's disease in midbrain-like organoids [J]. *NPJ Parkinson's Dis*, 2019, 5: 5.
- [46] Kim H, Park HJ, Choi H, et al. Modeling G2019S-LRRK2 sporadic Parkinson's disease in 3D midbrain organoids[J]. *Stem Cell Rep*, 2019, 12(3): 518-531.
- [47] They C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses [J]. *Nature: Reviews Immunology*, 2009, 9(8): 581-593.
- [48] Selkoe DJ. Showing transmitters the door: synucleins accelerate vesicle release [J]. *Nat Neurosci*, 2017, 20(5): 629-631.
- [49] Najafinobar N, Mellander LJ, Kurczy ME, et al. Cholesterol alters the dynamics of release in protein independent cell models for exocytosis [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 33702.
- [50] Kang X, Xu H, Zhuan Z, et al. Dopamine release from transplanted neural stem cells in Parkinsonian rat striatum in vivo [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(44): 15804-15809.
- [51] Li YT, Zhang SH, Wang L, et al. Nanoelectrode for amperometric monitoring of individual vesicular exocytosis inside single synapses [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2014, 53(46): 12456-12460.
- [52] Cakir B, Xiang Y, Tanaka Y, et al. Engineering of human brain organoids with a functional vascular-like system [J]. *Nat Methods*, 2019, 16(11): 1169-1175.
- [53] Bhaduri A, Andrews MG, Mancia Leon W, et al. Cell stress in cortical organoids impairs molecular subtype specification [J]. *Nature*, 2020, 578 (7793) : 142-148.
- [54] Clevers H. Modeling development and disease with organoids [J]. *Cell*, 2016, 165(7): 1586-1597.

(编辑 祁方昉)