

宫内干细胞治疗多种胎儿遗传性疾病的可能性

<https://doi.org/10.12307/2021.147>

揭秋玲^{1, 2, 3, 4}, 孙菲^{1, 2, 3, 4}

投稿日期: 2020-06-18

送审日期: 2020-06-24

采用日期: 2020-08-13

在线日期: 2020-12-31

中图分类号:

R459.9; R318; R71

文章编号:

2095-4344(2021)31-05034-06

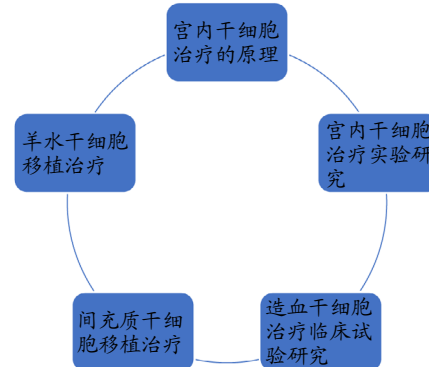
文献标识码: A

文章快速阅读:

文章特点一

△宫内干细胞应用于治疗多种先天遗传性基因疾病、血红蛋白病、免疫缺陷和代谢疾病等, 具有较大的研究前景;

△嵌合体植入水平和免疫耐受等为宫内干细胞移植治疗的临床应用奠定了基础, 但是受者的免疫系统依然是宫内干细胞治疗的重要屏障。



文题释义:

宫内干细胞治疗: 利用自体或同种异体干细胞进行宫内疾病的治疗。目前宫内干细胞治疗只在严重联合免疫缺陷症中取得成功, 其他疾病仍处于研究探索阶段。宫内干细胞治疗将胎儿医学推向细胞及分子水平, 应用前景广阔。

造血干细胞: 是指具有自我更新和分化为多系血细胞的一类祖细胞, 具有在胎儿时期和成人时期维持造血功能的能力。造血干细胞最早应用于宫内干细胞移植治疗, 也是目前关于宫内干细胞移植治疗研究最为广泛的细胞。

摘要

背景: 产前诊断筛查技术的发展使得产前治疗成为可能。对于多种胎儿遗传性疾病, 宫内干细胞治疗具有显著的优势。

目的: 通过目前已有的实验研究和临床资料分析宫内干细胞治疗产前胎儿疾病的可行性。

方法: 应用计算机检索中国知网、万方医学网、PubMed 数据库中的相关文献, 检索时间从建库至2020-06-16, 检索中文关键词为“宫内干细胞治疗, 胎儿”, 英文关键词为“*in utero stem cell therapy, fetal*”。

结果与结论: 随着产前诊断筛查技术和干细胞治疗技术的发展, 宫内干细胞在多种胎儿遗传性疾病治疗中具有显著的优势。胎儿自身发育的生理特点也为宫内干细胞移植提供了条件。临床前动物实验研究从嵌合体植入水平和免疫耐受等方面为宫内干细胞移植治疗的临床应用奠定了基础。近年来, 产前诊断筛查技术的发展, 伴随高通量分子检测、微创手术等方法, 可在妊娠早期检测出多种胎儿疾病, 也使得产前宫内治疗成为可能。

关键词: 宫内干细胞; 免疫; 遗传性疾病; 严重联合免疫缺陷症; 造血干细胞; 间充质干细胞; 羊水干细胞; 治疗; 综述

Possibility of *in utero* stem cell therapy for multiple fetal genetic diseases

Jie Qiuling^{1, 2, 3, 4}, Sun Fei^{1, 2, 3, 4}

¹Department of Obstetrics and Gynecology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China; ²Hainan Provincial Key Laboratory for Human Reproductive Medicine and Genetic Research, Department of Reproductive Medicine, Hainan Provincial Clinical Research Center for Thalassemia, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570102, Hainan Province, China; ³Key Laboratory of Tropical Translational Medicine of Ministry of Education, Hainan Medical University, Haikou 570102, Hainan Province, China; ⁴Haikou Key Laboratory for Preservation of Human Genetic Resource, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570102, Hainan Province, China
Jie Qiuling, Department of Obstetrics and Gynecology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China; Hainan Provincial Key Laboratory for Human Reproductive Medicine and Genetic Research, Department of Reproductive Medicine, Hainan Provincial Clinical Research Center for Thalassemia, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570102, Hainan Province, China; Key Laboratory of Tropical Translational Medicine of Ministry of Education, Hainan Medical University, Haikou 570102, Hainan Province, China; Haikou Key Laboratory for Preservation of Human Genetic Resource, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570102, Hainan Province, China

¹南方医科大学南方医院妇产科, 广东省广州市 510515; ²海南医学院第一附属医院海南省人类生殖与遗传重点实验室, 生殖医学科, 海南省地方病(地中海贫血)临床医学研究中心, 海南省海口市 570102; ³海南医学院热带转化医学教育部重点实验室, 海南省海口市 570102; ⁴海南医学院第一附属医院海口市人类遗传资源保藏重点实验室, 海南省海口市 570102

第一作者: 揭秋玲, 女, 1991年生, 广西壮族自治区博白县人, 汉族, 2016年中国医科大学毕业, 主要从事妊娠相关疾病研究。

通讯作者: 孙菲, 博士, 博士后, 南方医科大学南方医院妇产科, 广东省广州市 510515; 海南医学院第一附属医院海南省人类生殖与遗传重点实验室, 生殖医学科, 海南省地方病(地中海贫血)临床医学研究中心, 海南省海口市 570102; 海南医学院热带转化医学教育部重点实验室, 海南省海口市 570102; 海南医学院第一附属医院海口市人类遗传资源保藏重点实验室, 海南省海口市 570102

<https://orcid.org/0000-0002-1338-0888> (揭秋玲)

基金资助: 广东省基础与应用基础研究基金面上项目(2019A1515010019), 项目负责人: 孙菲; 南方医科大学南方医院院长基金(2018Z014, 2017C001), 项目负责人: 孙菲; 国家自然科学基金(81660433), 项目参与者: 孙菲

引用本文: 揭秋玲, 孙菲. 宫内干细胞治疗多种胎儿遗传性疾病的可能性[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(31):5034-5039.



Corresponding author: Sun Fei, MD, Department of Obstetrics and Gynecology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China; Hainan Provincial Key Laboratory for Human Reproductive Medicine and Genetic Research, Department of Reproductive Medicine, Hainan Provincial Clinical Research Center for Thalassemia, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570102, Hainan Province, China; Key Laboratory of Tropical Translational Medicine of Ministry of Education, Hainan Medical University, Haikou 570102, Hainan Province, China; Haikou Key Laboratory for Preservation of Human Genetic Resource, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570102, Hainan Province, China

Abstract

BACKGROUND: The development of prenatal diagnosis and screening technology has made prenatal treatment possible. For a variety of fetal genetic diseases, *in utero* stem cell therapy has significant advantages.

OBJECTIVE: To analyze the feasibility of *in utero* stem cell therapy in prenatal fetal diseases through the existing experimental research and clinical data.

METHODS: Databases of PubMed, Wanfang and CNKI were searched for the articles published from the inception to June 16, 2020. The keywords were “*in utero* stem cells, fetal” in English and Chinese, respectively.

RESULTS AND CONCLUSION: With the development of prenatal diagnosis screening technology and stem cell therapy technology, *in utero* stem cell therapy has a significant advantage in the treatment of various fetal genetic diseases. The physiological characteristics of fetal development also provide conditions for *in utero* stem cell transplantation. The preclinical animal experiment research has laid the foundation for the clinical application of *in utero* stem cell transplantation treatment from the aspects of chimera implantation level and immune tolerance. In recent years, the development of prenatal diagnosis and screening technology, along with high-throughput molecular testing and minimally invasive surgery, can detect a variety of fetal diseases in early pregnancy, and also makes prenatal intrauterine treatment possible.

Key words: *in utero* stem cell therapy; immunity; hereditary diseases; severe combined immunodeficiency; hematopoietic stem cell therapy; mesenchymal stem cell therapy; amniotic fluid stem cell; therapy; review

Funding: the General Project of Basic and Applied Basic Research Fund of Guangdong Province, No. 2019A1515010019 (to SF); Presidential Foundation of Nanfang Hospital, Southern Medical University, No. 2018Z014 (to SF), No. 2017C001 (to SF); the National Natural Science Foundation of China, No. 81660433 (to SF)

How to cite this article: JIE QL, SUN F. Possibility of *in utero* stem cell therapy for multiple fetal genetic diseases. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu.* 2021;25(31):5034-5039.

0 引言 Introduction

目前, 针对胎儿疾病开展的治疗方法多为外科手术。早在 1982 年, HARRISON 等^[1]报道了第 1 例宫内外科手术成功治疗先天性肾盂积水。此后, 在胎儿开放性手术和胎儿镜方面有长足的进展, 如开放性手术修复脊髓脊膜突出、脑积水、先天性肺损伤, 以及利用胎儿镜进行双胎输血综合征、膈疝造成的气管闭塞等治疗^[2-4]。目前胎儿手术多为纠正胎儿解剖学异常, 而对于多种基因遗传病, 宫内干细胞治疗具有显著的优势。

基因疾病对胚胎和胎儿发育具有不可逆转的重要损伤和影响。多种遗传代谢性疾病与神经系统发育损伤密切相关, 如 Lesch-Nyhan 综合征、Tay Sachs 病和 Gaucher's 病急性神经病变等, 由于无法逆转发育过程中疾病的损伤, 这些患儿产后利用目前最先进的治疗手段也仅仅能够达到非常有限的治疗效果^[5-6]。宫内干细胞有可能在早期治疗这些影响胚胎和胎儿发育的疾病, 避免进一步的产后损伤。许多疾病如先天遗传性基因疾病、血红蛋白病、免疫缺陷和代谢疾病等发病率较低, 但是这些疾病却带来较重的社会负担。对于那些即使能够产后治愈的疾病, 如能够产前治愈, 也具有明显的优势和减轻社会负担。

分娩一个健康的婴儿, 不仅对胎儿发育具有多种生理上的益处, 对整个社会来说也有显著的优势。胎儿发育的独特条件, 使得在其发育过程中进行干细胞移植, 将比产后治疗更为经济有效, 而胎儿外科手术、产前早期超声诊断、产前早期分子诊断, 都为宫内干细胞移植提供了有利的条件。

随着再生医学的发展, 多种干细胞研究取得了瞩目的成果。虽然理论上多种干细胞都具有自我更新和分化的潜能, 但是考虑到安全性和伦理等问题, 目前关于宫内干细胞治疗的研究还是以宫内造血干细胞移植治疗 (*in utero* hematopoietic stem cell transplantation, IUH SCT) 为主。该文

章对宫内干细胞治疗胎儿疾病进行了综述, 以造血干细胞移植治疗为主, 就目前宫内干细胞治疗的原理、动物实验、临床试验、障碍和风险的发展历程和进展进行论述, 并对将来临床应用和广阔的治疗前景进行展望。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 由第一作者用计算机在中国知网、万方数据库和 PubMed 数据库检索 2020-06-16 前所发表的相关文献, 英文检索词为 “*in utero* stem cell therapy, fetal”, 中文检索词为 “宫内干细胞治疗, 胎儿”。

1.2 纳入和排除标准

纳入标准: ①原创性文章; ②与宫内干细胞治疗相关程度高的文章; ③宫内干细胞方面相关联的动物实验和临床试验研究论文; ④具有时效性、权威性的综述文章。

排除标准: ①与研究目的无关的文献; ②重复性研究; ③质量低且较陈旧的文献。

1.3 数据提取 首先根据检索策略初检共得到 563 篇文章。阅读所有检索文献, 并根据筛选标准进行纳入与排除, 得到符合标准的论文共计 50 篇, 文献检索流程见图 1。

2 结果 Results

2.1 宫内干细胞治疗的原理 造血干细胞最早应用于宫内干细胞移植治疗, 也是目前关于宫内干细胞移植治疗研究最为广泛的细胞。造血干细胞是具有自我更新和分化为多系血细胞的一类祖细胞, 具有在胎儿时期和成人时期维持造血功能的能力^[7]。

造血干细胞在胚胎发育期从卵黄囊到主动脉-性腺-中肾区再到胎儿肝脏, 最终迁移至骨髓^[8]。最初进行宫内干细胞治疗也是希望在造血发育、造血干细胞不断迁移和形成的微环境中, 外来的供者细胞能够易于植入胎儿组织。供者细

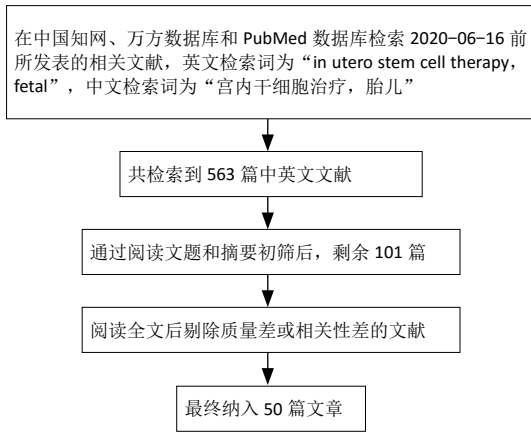


图 1 | 文献检索流程图

胞随着胎儿造血干细胞移植、迁移、分化、扩增，最终能够修正缺陷的造血干细胞，植入胎儿体内形成嵌合体，达到治愈疾病的目的。早在 1945 年就发现，牛单绒毛膜内 2 个受精卵发育过程中会发生宫内造血干细胞交换，使得 2 个胎牛终生都为嵌合体^[9]。在人异卵双胞胎中，嵌合体发生率也很高（双胞胎 8%，三胞胎 21%）^[10]。

宫内干细胞治疗还可以诱导胎儿的供体特异性免疫耐受^[11-12]。妊娠早期免疫系统发育不全，胎儿胸腺内将进行阳性选择和阴性选择，保留可以通过自身 MHC 类分子识别外来抗原的淋巴细胞。目前预测效应 T 细胞在妊娠 12-14 周形成，此时即为移植供体细胞的机会窗口期，将会诱导胎儿对供体细胞的免疫耐受。动物实验和临床进展中都证实，即使植入的造血干细胞数量不足以达到治愈效果，但是可成功诱导免疫耐受，因此，产后继续利用同一供体再次移植造血干细胞甚至器官可避免免疫抑制剂的使用^[13-14]。

此外，胎儿个体较小，相比于产后和成人移植造血干细胞所需要的细胞量较少。子宫内相对无菌的环境为宫内移植提供了有利的条件。宫内治疗免疫缺陷疾病时，母体子宫作为相对无菌独立的空间，又可以使得胎儿在接触到外界抗原之前进行免疫系统重建^[15]。造血干细胞移植是目前研究最为深刻、临床试验最早的技术，并且由于可获得高纯度的造血干细胞群，也提供了有利条件。

2.2 宫内干细胞治疗的应用

2.2.1 干细胞治疗实验研究

1953 年，BILLINGHAM 首次进行了宫内细胞移植实验，小鼠宫内移植同种异体细胞，可成功诱导小鼠产后对供体的免疫耐受^[16]。直到 1979 年，首次进行宫内移植造血干细胞并成功获得嵌合体，并且证明了宫内干细胞治疗是有望治愈基因疾病的^[17]。FLEISCHMAN 等^[17]将正常成年小鼠的造血干细胞通过胎盘移植到 E11 d 的 c-Kit 基因缺陷遗传性贫血胎鼠，成功修复了遗传性贫血，其中发现红系植入替代受体的程度与贫血的严重程度相关，并且在致死性纯合子小鼠中，供体的红系可完全替代受体。1995 年 BLAZAR 等^[18]对这一现象进一步研究发现，只有在重症联合免疫缺陷病 (severe combined immunodeficiency, SCID) 小鼠中，

其由于 T 细胞增殖和发育障碍，宫内干细胞治疗后可发生多种淋巴重建 (分裂嵌合体)，即多系发育都构成了嵌合体。与异基因干细胞治疗相比，自体/同源干细胞的宫内治疗可避免诱导免疫排斥反应，较易使移植治疗成功^[19]。SHANGARIS 等^[20]研究也显示自体/同源干细胞宫内治疗中 100% 的供体动物具有 8% 的嵌合体，并在免疫缺陷小鼠中成功进行了长期造血移植。因此，这些研究发现受体细胞可能与供体细胞之间存在竞争关系。只有对于免疫缺陷的受体，移植后治疗效果才更明显^[21]。

正常具有免疫活性的野生型小鼠宫内干细胞治疗极为困难，而成为这一研究中使用最多的模型^[22]。成功获得嵌合体和建立免疫耐受成为宫内干细胞治疗的关键^[23]。一方面，通过腹腔移植高剂量的供体细胞，可获得高嵌合体，利用血管内注射模型也可达到提高供体细胞数量的目的^[24]；另一方面，同种异体的造血干细胞移植后只需要非常低剂量 (1%-2%) 的供体细胞稳定存在于受体中，就能够达到 MHC 类分子全方面的免疫耐受^[25]。除了诱导供体特异的 Treg 细胞，最近的研究还发现，NK 细胞在诱导免疫耐受中也起到了关键性的作用^[26-27]。

宫内干细胞治疗在大型动物模型如山羊、猪、灵长类动物进行实验研究。在大型动物模型中，胎羊为宫内干细胞治疗研究提供了相对封闭的环境，并且由于不排斥异种细胞 (妊娠早期移植)，因此可用来研究多种人类干细胞。绵羊一胎仅有 1 个或 2 个，羊的体积、体质量、免疫和造血系统发育与人类相似，较长的寿命也有利于长期研究。此外，犬类模型在宫内干细胞治疗的研究中也起到了重要作用。造血正常的犬类也可接受异种移植，且移植后免疫反应较低^[28]。最近研究发现，犬类受体宫内干细胞治疗后可以减轻或治愈临床表型类似人类白细胞黏附缺陷病的犬类白细胞黏附缺陷病；仅使用低剂量的白消安预处理方案，诱导供体特异性免疫耐受，并可在产后使受体保持嵌合体状态，骨髓移植后未出现移植排斥反应^[28-29]。近期研究显示在小鼠模型中增加造血干细胞和骨髓辅助细胞的结合剂量可以显著改善宫内干细胞治疗的结局^[30]。这些大量的动物实验为宫内干细胞治疗的临床试验奠定了基础。

2.2.2 造血干细胞治疗临床试验研究

1989 年首次在临床试验中利用宫内干细胞成功治疗裸淋巴综合征^[31]。此后，利用宫内干细胞治疗 SCID 综合征在一些研究中心取得成功^[21]。在这些病例中，胎儿肝脏、亲代骨髓或者母体骨髓来源的 CD34⁺ 细胞移植到 16-26 周的胎儿体内，产后可在胎儿体内检测到供体来源细胞，其临床症状也有明显改善。目前，宫内干细胞治疗已对十几种不同的基因疾病进行临床试验，包括血红蛋白病、 α 和 β 地中海贫血、慢性肉芽肿病、Chediak-Higashi 综合征、先天性代谢缺陷病等^[32-34]。

然而，目前为止，除了 SCID 综合征之外，宫内干细胞治疗的效果则不尽理想。SCID 综合征患者体内为供体 T 细胞提供了极佳的生成和增殖环境。其他类型的疾病，则由于受

体本身免疫系统的竞争性过强,而不足以达到临床治愈的效果。目前,由于实施宫内干细胞治疗的医学中心技术条件不同、移植的妊娠时间不同、供体细胞的处理不同等因素,大部分预期可利用宫内干细胞治疗的基因疾病,如血红蛋白病和溶酶体病等,由于胎儿自身的细胞具有强竞争性,供体植入率较低,还需要进一步的动物实验数据支持。VRECENAK等^[29]利用犬类模型,通过超声引导下血管内注射方式,可获得较高的植入率,相比于临床上大多数采用腹腔注射,或许未来使用这种方法能获得更高的植入率。

目前对于宫内干细胞治疗最有临床意义的应用方向是通过产前诱导供体特异性免疫耐受,产后无需接受细胞毒性药物处理,即可接受同一供体骨髓移植^[35],仅需要1%-2%的供体细胞植入,就能够成功诱导免疫耐受。PARENTEAU等^[13, 29]最近对这一方法的治疗效果进行了研究,在 β 地中海贫血和镰刀状细胞贫血的小鼠模型中,利用宫内干细胞治疗诱导免疫耐受,产后利用非骨髓清除剂量的化疗药物后再进行骨髓移植,发现供体细胞植入率较高,并且能够达到临床治愈效果。

2.2.3 间充质干细胞移植治疗 间充质干细胞是一类多系祖细胞的合称,具有中胚层分化潜能,可诱导分化为骨、软骨和脂肪组织^[36-37]。在绵羊模型中异种移植间充质干细胞,可检测到供体细胞在受体的多种组织中存活超过1年^[38]。利用人类胎儿间充质干细胞通过腹腔内移植到杜氏肌营养不良小鼠模型中,尽管嵌合程度未达到治疗效果,但发现在肌肉中的供体细胞能够长期存活^[39-40]。GUILLLOT等^[41]研究发现,在III型成骨不全小鼠模型上利用人类胎儿间充质干细胞进行宫内移植后,骨折明显减少,并且骨强度、长度和密度都得到明显改善。此外,WANG等^[42]利用人类胎盘来源间充质干细胞在脊髓脊膜膨出胎羊模型进行移植,能显著改善实验动物的神经功能,并保留脊髓神经元密度,67%经治疗后的羔羊能够独立行走。这些研究都为临床试验奠定了基础,目前一项关于利用间充质干细胞进行宫内移植的临床试验正在评估中。

2.2.4 羊水干细胞移植治疗 羊水干细胞是一类从羊水细胞中分离出来的干细胞,具有表达胚胎干细胞和成人干细胞的标记物,可诱导分化为成脂细胞、成骨细胞、肌细胞、内皮细胞、神经细胞和肝细胞^[43-44]。随着羊膜腔穿刺术在产前诊断染色体及遗传疾病中的广泛应用,超声引导下的羊膜穿刺术导致流产率小于1%,因此,采集羊水来源干细胞相对于其他来源干细胞具有明显的优势和可行性。WEBER等^[45]采用人CD133⁺羊水干细胞成功创建了功能性心脏瓣膜,具有潜在治疗先天性心脏疾病的意义。SHAW等^[46]在绵羊母胎模型中采用羊水穿刺术收集羊水,分离出羊水干细胞,采用带有绿色荧光蛋白的HIV载体转导细胞后进行腹膜内注射,结果发现胎儿组织(包括肝脏、心脏、胎盘、膜、脐带、肾上腺和肌肉)中有绿色荧光蛋白阳性细胞,说明羊水干细胞具有体内器官广泛迁移的能力,提示其可能应用于治疗或改善

产前先天性疾病。近期,ABE等^[47]研究发现,利用人类羊水干细胞在脊髓脊膜膨出小鼠模型上进行宫内治疗后,损伤处脊髓暴露面积明显减少,神经退行性变和星形胶质细胞增生减少,肝细胞生长因子水平上调,诱导神经发生。羊水干细胞治疗胎儿先天性疾病是未来再生医学发展的一大趋势,但是目前依然存在一些障碍,如用于干细胞治疗的先天性疾病病例较少,不能客观评判其有效性。另外,腺病毒和慢病毒重编程方法仍是目前常用的治疗方法,但是如果在患者中使用,插入的突变可能与肿瘤有关。此外,干细胞制备过程中使用的异种试剂也存在伦理问题,限制了羊水干细胞应用于临床治疗。

2.3 障碍和风险 近年来研究发现受体的免疫系统是宫内干细胞治疗的重要屏障。除非受体本身患有某种造血系的缺陷,如遗传性贫血或者SCID综合征,否则受体对于移植物具有强竞争性^[22]。有实验证实了小鼠移植同品系鼠的细胞,相比于同种异体细胞,可获得更高的植入率。对供体细胞嵌合情况的长期追踪发现,同种异体和同品系的供体细胞移植后3周,所有受体均可维持高植入水平;移植后3-5周时,70%同种异体移植受体出现供体细胞植入丢失,而所有同品系移植的受体都能够保持植入细胞的活性^[48]。

宫内干细胞治疗的障碍还可能来自于母体免疫系统,这是由于宫内干细胞治疗后非嵌合体小鼠比嵌合体小鼠的细胞免疫和体液免疫反应更为强烈。如果宫内干细胞治疗后的幼崽与代孕母亲同处,将不会暴露于供体抗原,受体都保持嵌合体状态。这些研究结果提示宫内干细胞治疗可能通过激发母体的自身免疫,然后通过乳汁将同种免疫抗原传递给受体,引起受体丢失嵌合。同期的研究也发现,由于胎儿接受宫内干细胞治疗而触发母体的同种异体免疫反应,母胎之间T细胞的交换是嵌合丢失的主要原因^[49]。有研究者对母体免疫反应进行了一系列研究,不论临床结局成功与否,接受宫内干细胞治疗后母体免疫系统仍保持完整,因此认为母体免疫反应可能并非宫内干细胞植入失败的主要原因^[49]。此外,胎儿NK细胞可能发挥了更大的作用。除了胎儿、母体的免疫反应外,同种异体移植的障碍还在于宿主细胞的竞争性。在无造血缺陷的受体中,造血系统仍然被内源性造血干细胞占据,对于供体的造血干细胞具有强竞争性,难以植入形成嵌合体。

适宜造血干细胞增殖的微环境和有限的胎儿发育环境,也是限制宫内干细胞治疗的重要障碍。成功的宫内干细胞治疗需要大量的成人供体细胞或者胎儿供体细胞。然而,至今仍不能确定SCID综合征和 β 地中海贫血等难以纠正的遗传性贫血受体所需要移植的造血干细胞数量。在绵羊模型中发现,增加供体细胞的数量确实可以诱导同种异体和异种供体的植入率。胎羊接受宫内干细胞治疗前6d,母体摄入白消安,可明显增加供体植入率。当然,临床上母体是否能够接受骨髓移植的药物还是未知。研究发现,利用ACK2抗体在宫内选择性抑制胎儿ACK2蛋白的功能,然后实施宫内干细胞治疗,可达到治愈效果,避免了使用细胞毒性药物^[50]。尽管这

综述

些研究取得了较好的疗效，但是对于母体的影响等还需要进一步研究。

此外，安全因素及伦理问题是限制宫内干细胞治疗应用于临床的障碍之一。异体造血干细胞移植不仅会引发机体的移植排斥反应，同时存在伦理问题。自体造血干细胞移植来源于自身细胞，进行宫内移植可有效避免伦理与免疫排斥问题，但是细胞处理过程中带入的外源物质也可能存在未知的安全隐患。同时，宫内干细胞治疗是否可能导致植入的干细胞迁移至其他器官，从而引起癌变，这也是需要关注的问题，因此需要更多的研究考证宫内干细胞治疗用于治疗先天性疾病的有效性。

3 结论 Conclusions

近年来关于宫内干细胞治疗的实验研究和临床试验都发展迅速，成为新的研究热点，但目前大多数宫内干细胞治疗相关研究仍处于临床前期研究和临床试验阶段。宫内干细胞治疗相比于传统产后治疗有显著的优势，不仅有利于胎儿发育和健康，也减轻了家庭和社会的负担，具有明显的研究意义。虽然目前宫内干细胞治疗可通过产前诱导免疫耐受、产后干细胞移植的两步法治疗胎儿疾病，但更期待一步法达到临床治疗效果及临床应用转化。

作者贡献: 孙菲负责综述构思设计，揭秋玲、孙菲负责文章写作校对，揭秋玲、孙菲参与文献收集、分析总结，孙菲负责项目指导。全体作者都阅读并同意最终的文本。

经费支持: 该文章接受了“广东省基础与应用基础研究基金面上项目(2019A1515010019)”“南方医科大学南方医院院长基金(2018Z014, 2017C001)”及“国家自然科学基金(81660433)”的资助。所有作者声明，经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

写作指南: 该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA指南)。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

[1] HARRISON MR, GOLBUS MS, FILLY RA, et al. Fetal surgery for congenital hydronephrosis. *N Engl J Med.* 1982;306(10):591-593.
[2] KOVLER ML, JELIN EB. Fetal intervention for congenital diaphragmatic hernia. *Semin Pediatr Surg.* 2019;28(4):150818.

[3] DANZER E, JOYEUX L, FLAKE AW, et al. Fetal surgical intervention for myelomeningocele: lessons learned, outcomes, and future implications. *Dev Med Child Neurol.* 2020;62(4):417-425.
[4] HOLWERDA JC, VAN LINDERT EJ, BUIS DR, et al. Surgical intervention for hydrocephalus in infancy; etiology, age and treatment data in a Dutch cohort. *Childs Nerv Syst.* 2020;36(3):577-582.
[5] ZHANG J, CHEN H, KORNREICH R, et al. Prenatal Diagnosis of Tay-Sachs Disease. *Methods Mol Biol.* 2019;1885:233-250.
[6] MOMOSAKI K, KIDO J, MATSUMOTO S, et al. The Effect of S-Adenosylmethionine Treatment on Neurobehavioral Phenotypes in Lesch-Nyhan Disease: A Case Report. *Case Rep Neurol.* 2019;11(3):256-264.
[7] WROBLEWSKI M, SCHELLER-WENDORFF M, UDONTA F, et al. BET-inhibition by JQ1 promotes proliferation and self-renewal capacity of hematopoietic stem cells. *Haematologica.* 2018;103(6):939-948.
[8] GAO P, CHEN C, HOWELL ED, et al. Transcriptional regulatory network controlling the ontogeny of hematopoietic stem cells. *Genes Dev.* 2020;34(13-14):950-964.
[9] ANDERSON D, BILLINGHAM RE, LAMPKIN GH, et al. The use of skin grafting to distinguish between monozygotic and dizygotic twins in cattle. *Heredity.* 1951;5(3):379-397.
[10] SAGAR R, GÖTHERSTRÖM C, DAVID AL, et al. Fetal stem cell transplantation and gene therapy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2019;58:142-153.
[11] RODRIGUEZ M, PORADA CD, ALMEIDA-PORADA G. Mechanistic Insights into Factor VIII Immune Tolerance Induction via Prenatal Cell Therapy in Hemophilia A. *Curr Stem Cell Rep.* 2019;5(4):145-161.
[12] ALHAJJAT A, SHAABAN A. Maternal and Fetal Immune Response to in Utero Stem Cell Transplantation. *Curr Stem Cell Rep.* 2018;4(2):182-187.
[13] PERANTEAU WH, HAYASHI S, ABDULMALIK O, et al. Correction of murine hemoglobinopathies by prenatal tolerance induction and postnatal nonmyeloablative allogeneic BM transplants. *Blood.* 2015;126(10):1245-1254.
[14] AHN NJ, STRATIGIS JD, COONS BE, et al. Intravenous and Intra-amniotic In Utero Transplantation in the Murine Model. *J Vis Exp.* 2018;(140):58047.
[15] ALMEIDA-PORADA G, ATALA A, PORADA CD. In utero stem cell transplantation and gene therapy: rationale, history, and recent advances toward clinical application. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2016;5:16020.
[16] BILLINGHAM RE, BRENT L, MEDAWAR PB. Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature.* 1953;172(4379):603-606.
[17] FLEISCHMAN RA, MINTZ B. Prevention of genetic anemias in mice by microinjection of normal hematopoietic stem cells into the fetal placenta. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1979;76(11):5736-5740.
[18] BLAZAR BR, TAYLOR PA, VALLERA DA. Adult bone marrow-derived pluripotent hematopoietic stem cells are engraftable when transferred in utero into moderately anemic fetal recipients. *Blood.* 1995;85(3):833-841.
[19] LOUKOGEORGAKIS SP, SHANGARIS P, BERTIN E, et al. In Utero Transplantation of Expanded Autologous Amniotic Fluid Stem Cells Results in Long-Term Hematopoietic Engraftment. *Stem Cells.* 2019;37(9):1176-1188.
[20] SHANGARIS P, LOUKOGEORGAKIS SP, BLUNDELL MP, et al. Long-Term Hematopoietic Engraftment of Congenic Amniotic Fluid Stem Cells After in Utero Intraperitoneal Transplantation to Immune Competent Mice. *Stem Cells Dev.* 2018;27(8):515-523.

- [21] MAGNANI A, JOUANNIC JM, ROSAIN J, et al. Successful in utero stem cell transplantation in X-linked severe combined immunodeficiency. *Blood Adv.* 2019;3(3):237-241.
- [22] CARRIER E, GILPIN E, LEE TH, et al. Microchimerism does not induce tolerance after in utero transplantation and may lead to the development of alloreactivity. *J Lab Clin Med.* 2000;136(3):224-235.
- [23] LEVEQUE L, KHOSROTEHRANI K. Feto-maternal allo-immunity, regulatory T cells and predisposition to auto-immunity. Does it all start in utero? *Chimerism.* 2014;5(2):59-62.
- [24] JAVAZON EH, MERCHANT AM, DANZER E, et al. Reconstitution of hematopoiesis following intrauterine transplantation of stem cells. *Methods Mol Med.* 2005;105:81-94.
- [25] DURKIN ET, JONES KA, RAJESH D, et al. Early chimerism threshold predicts sustained engraftment and NK-cell tolerance in prenatal allogeneic chimeras. *Blood.* 2008;112(13):5245-5253.
- [26] ALHAJJAT AM, LEE AE, STRONG BS, et al. NK cell tolerance as the final endorsement of prenatal tolerance after in utero hematopoietic cellular transplantation. *Front Pharmacol.* 2015;6:51.
- [27] ABUMAREE MH, BAHATTAB E, ALSADOUN A, et al. Characterization of the interaction between human decidua parietalis mesenchymal stem/stromal cells and natural killer cells. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):102.
- [28] PeRANTEAU WH, HEATON TE, GU YC, et al. Haploidentical in utero hematopoietic cell transplantation improves phenotype and can induce tolerance for postnatal same-donor transplants in the canine leukocyte adhesion deficiency model. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009;15(3):293-305.
- [29] VRECENAK JD, PEARSON EG, SANTORE MT, et al. Stable long-term mixed chimerism achieved in a canine model of allogeneic in utero hematopoietic cell transplantation. *Blood.* 2014;124(12):1987-1995.
- [30] VRECENAK JD, PARTRIDGE EA, PEARSON EG, et al. Simple Approach to Increase Donor Hematopoietic Stem Cell Dose and Improve Engraftment in the Murine Model of Allogeneic In Utero Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020;26(1):e21-e24.
- [31] DONAHUE J, GILPIN E, LEE TH, et al. Microchimerism does not induce tolerance and sustains immunity after in utero transplantation. *Transplantation.* 2001;71(3):359-368.
- [32] WALKER JA, VUYURU R, MANSER T, et al. Humoral Immunity in Mice Transplanted with Hematopoietic Stem Cells Derived from Human Umbilical Cord Blood Recapitulates That of Human Infants. *Stem Cells Dev.* 2017;26(23):1715-1723.
- [33] NGUYEN QH, WITT RG, WANG B, et al. Tolerance induction and microglial engraftment after fetal therapy without conditioning in mice with Mucopolysaccharidosis type VII. *Sci Transl Med.* 2020;12(532):eaay8980.
- [34] KREGER EM, SINGER ST, WITT RG, et al. Favorable outcomes after in utero transfusion in fetuses with alpha thalassemia major: a case series and review of the literature. *Prenat Diagn.* 2016;36(13):1242-1249.
- [35] MCCLAIN LE, FLAKE AW. In utero stem cell transplantation and gene therapy: Recent progress and the potential for clinical application. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2016;31:88-98.
- [36] DEMERDASH Z, EL BAZ H, ALI N, et al. Cloning of human cord blood-mesenchymal stem cells for isolation of enriched cell population of higher proliferation and differentiation potential. *Mol Biol Rep.* 2020;47(5):3963-3972.
- [37] SANGEETHA KN, VENNILA R, SECUNDA R, et al. Functional variations between Mesenchymal Stem Cells of different tissue origins: A comparative gene expression profiling. *Biotechnol Lett.* 2020;42(7):1287-1304.
- [38] LIECHTY KW, MACKENZIE TC, SHAABAN AF, et al. Human mesenchymal stem cells engraft and demonstrate site-specific differentiation after in utero transplantation in sheep. *Nat Med.* 2000;6(11):1282-1286.
- [39] CHAN J, WADDINGTON SN, O'DONOGHUE K, et al. Widespread distribution and muscle differentiation of human fetal mesenchymal stem cells after intrauterine transplantation in dystrophic mdx mouse. *Stem Cells.* 2007;25(4):875-884.
- [40] BIER A, BERENSTEIN P, KRONFELD N, et al. Placenta-derived mesenchymal stromal cells and their exosomes exert therapeutic effects in Duchenne muscular dystrophy. *Biomaterials.* 2018;174:67-78.
- [41] GUILLOT PV, ABASS O, BASSETT JH, et al. Intrauterine transplantation of human fetal mesenchymal stem cells from first-trimester blood repairs bone and reduces fractures in osteogenesis imperfecta mice. *Blood.* 2008;111(3):1717-1725.
- [42] WANG A, BROWN EG, LANKFORD L, et al. Placental mesenchymal stromal cells rescue ambulation in ovine myelomeningocele. *Stem Cells Transl Med.* 2015;4(6):659-669.
- [43] DE COPPI P, BARTSCH G JR, SIDDIQUI MM, et al. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nat Biotechnol.* 2007;25(1):100-106.
- [44] GHOLIZADEH-GHALEH AZIZ S, FARDYAZAR Z, PASHAIASL M. The human amniotic fluid mesenchymal stem cells therapy on, SKOV3, ovarian cancer cell line. *Mol Genet Genomic Med.* 2019;7(7):e00726.
- [45] WEBER B, EMMERT MY, BEHR L, et al. Prenatally engineered autologous amniotic fluid stem cell-based heart valves in the fetal circulation. *Biomaterials.* 2012;33(16):4031-4043.
- [46] SHAW SWS, BOLLINI S, NADER KA, et al. Autologous Transplantation of Amniotic Fluid-Derived Mesenchymal Stem Cells into Sheep Fetuses. *Cell Transplant.* 2016;25(3):615.
- [47] ABE Y, OCHIAI D, MASUDA H, et al. In Utero Amniotic Fluid Stem Cell Therapy Protects Against Myelomeningocele via Spinal Cord Coverage and Hepatocyte Growth Factor Secretion. *Stem Cells Transl Med.* 2019;8(11):1170-1179.
- [48] SANTORE MT, ROYBAL JL, FLAKE AW. Prenatal stem cell transplantation and gene therapy. *Clin Perinatol.* 2009;36(2):451-471.
- [49] WEGORZEWSKA M, NIJAGAL A, WONG CM, et al. Fetal intervention increases maternal T cell awareness of the foreign conceptus and can lead to immune-mediated fetal demise. *J Immunol.* 2014;192(4):1938-1945.
- [50] DERDERIAN SC, TOGARRATI PP, KING C, et al. In utero depletion of fetal hematopoietic stem cells improves engraftment after neonatal transplantation in mice. *Blood.* 2014;124(6):973-980.

(责任编辑: MZH, ZN, JY)