

• 专题研究:神经系统疾病 •

人诱导多能干细胞与脑类器官技术在亨廷顿病研究中的应用

陈星伊¹, 刘妍^{1*}, 尤卫艳^{2*}

¹南京医科大学药学院干细胞与神经再生研究所, ²基础医学院神经生物学系, 江苏 南京 211166

[摘要] 亨廷顿病(Huntington's disease, HD)是一种由亨廷顿(Huntingtin, HTT)基因CAG重复序列异常扩增导致的常染色体显性遗传病,其临床表现为舞蹈样动作、进行性认知障碍及精神症状,目前尚无根治方法。基于传统动物模型和人类组织的研究虽已揭示突变型HTT蛋白聚集、纹状体神经元选择性丢失等关键病理特征,但在人类细胞特异性致病机制研究方面仍存在明显局限。基于人诱导多能干细胞(human induced pluripotent stem cell, hiPSC)与脑类器官技术构建人类特异性HD模型,为阐明疾病发病机制以及开发新型治疗策略提供了革命性研究平台。文章分别回顾HD患者来源的诱导多能干细胞(HD patient-derived induced pluripotent stem cell, HD-iPSC)和人脑类器官技术的发展历程,系统介绍HD-iPSC及其来源的各类型细胞、各类型人脑类器官以及类组装体在HD研究中的研究成果和意义,并讨论脑类器官的应用前景与挑战。

[关键词] 诱导多能干细胞;人脑类器官;类组装体;突变型亨廷顿蛋白;亨廷顿病

[中图分类号] R742.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2026)04-489-10

doi: 10.7655/NYDXBNSN250919

The utilization of human induced pluripotent stem cells and brain organoid technologies in Huntington's disease research

CHEN Xingyi¹, LIU Yan^{1*}, YOU Weiyang^{2*}

¹Institute of Stem Cell and Neural Regeneration, School of Pharmacy, ²Department of Neurobiology, School of Basic Medical Sciences, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

[Abstract] Huntington's disease (HD) is an autosomal dominant genetic disorder caused by the abnormal CAG repeat expansion in the Huntingtin (HTT) gene. It is clinically characterized by choreiform movements, progressive cognitive impairments, and psychiatric symptoms, with no cure currently available. Although the research based on traditional animal models and human tissues has revealed key pathological features such as mutant HTT protein aggregation and selective striatal neuron loss, significant limitations remain in understanding human-specific disease mechanisms. The development of human induced pluripotent stem cell (hiPSC) and brain organoid technology has enabled the construction of human-specific HD models, providing revolutionary platforms for elucidating pathological mechanisms and developing novel therapeutic strategies. This review summarizes the developmental trajectories of both HD patient-derived induced pluripotent stem cell (HD-iPSC) and human brain organoid technology, highlights the research findings and significance of HD-iPSC-derived cells, various brain organoids, and assembloids in HD research, and discusses the current challenges and future prospects of brain organoid applications.

[Key words] induced pluripotent stem cell; human brain organoids; assembloids; mutant Huntingtin protein; Huntington's disease

[J Nanjing Med Univ, 2026, 46(04): 489-498]

[基金项目] 国家自然科学基金(82171528);江苏省高校自然科学基金(18KJB180017)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: yanliu@njmu.edu.cn (ORCID: 0000-0003-2918-5398); youweiyang@njmu.edu.cn (ORCID: 0009-0002-6487-9176)

亨廷顿病(Huntington's disease, HD)是一种常染色体显性遗传疾病,其病因是亨廷顿(Huntingtin, HTT)基因中CAG三核苷酸重复序列的异常扩增,导致其编码的HTT蛋白N端带有一段异常延伸的多聚谷氨酰胺(polyglutamine, polyQ)片段,即产生突

变型亨廷顿(mutant HTT, mHTT)蛋白^[1]。HD的临床表型主要包括舞蹈样运动、进行性认知功能障碍及精神行为异常。流行病学数据显示,HD的发病率约为1/万^[2],其典型发病年龄集中在30~50岁,另有5%~10%的病例在20岁之前发病,被称为青少年型HD。正常人群中,HTT基因的CAG重复序列为10~35次,而HD患者通常超过36次,并且CAG重复次数的增加通常导致发病年龄提前及病程进展更快^[3]。

HD的主要病理特征为选择性神经元变性,尤以纹状体中型棘状神经元(medium spiny neuron, MSN)退化最为显著。mHTT异常聚集是驱动HD神经退行性病变的核心因素,其通过引发细胞自噬功能障碍、线粒体功能失调及氧化应激等多个病理过程,最终导致神经元死亡^[3]。不仅如此,野生型HTT(wild-type HTT, wtHTT)在突触功能中发挥多种关键的调控作用,其基因突变则导致突触连接减少及神经网络退化,进一步加剧运动、认知及情感障碍^[4]。目前,HD的治疗策略仍局限于对症支持性治疗,且现有药物不良反应大,如丁苯那嗪能较好地控制舞蹈样症状,但也可导致帕金森样症状,加重抑郁和自杀倾向。迄今为止,尚无可延缓HD病程进展的治疗措施^[5]。

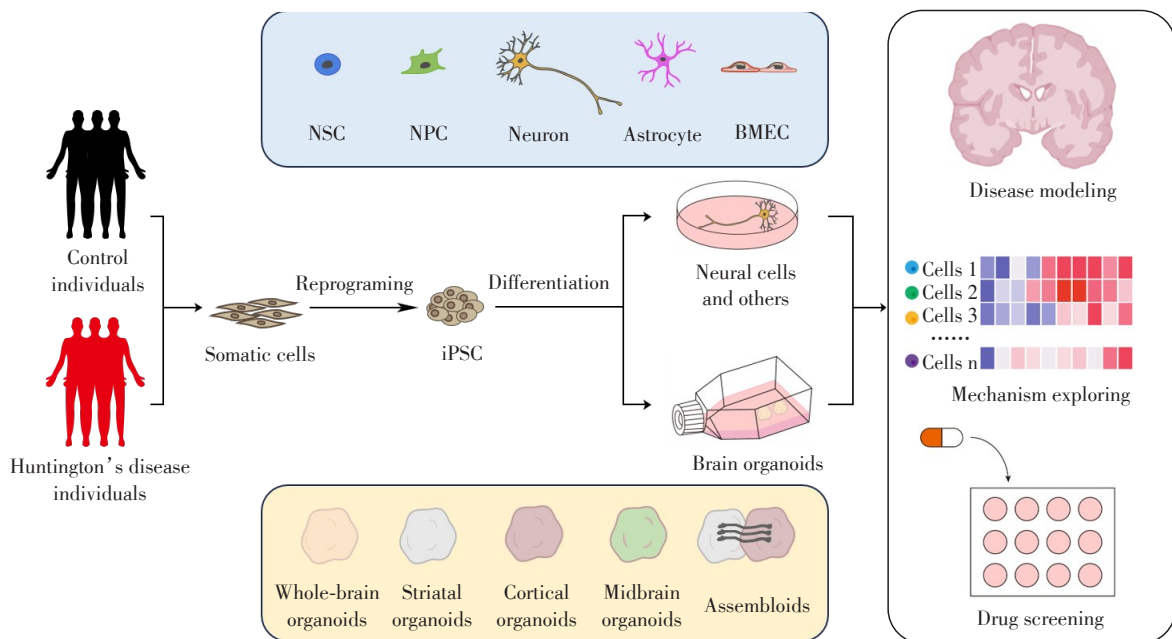
既往常用于HD研究的动物模型包括R6/2小鼠、YAC128小鼠等,这些模型通过表达mHTT基因,部分重现人类HD的核心病理特征,在疾病机制解

析和临床前药物筛选中发挥了重要作用。然而,模式动物与人类大脑之间存在着显著的种属差异,这限制了其对人类特异性病理过程的精准模拟^[6]。基于HD患者尸检标本的研究虽然为HD特征性神经病理改变提供了最直接的证据,但存在明显的局限性:一是仅能反映疾病终末期的病理改变;二是尽管这些研究成功鉴定了HD相关的关键细胞表型,但这些发现可能更多反映了继发性病理改变,而非疾病起始时的原发性分子事件^[7]。近年来,诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)和人脑类器官技术的出现为HD研究开辟了新方向(图1)。文章旨在介绍iPSC与人脑类器官技术的发展历程,系统呈现其在HD研究领域最新进展,最后简要讨论人脑类器官技术的应用前景与挑战。

1 iPSC技术在HD研究中的应用

1.1 HD患者来源的诱导多能干细胞(HD patient-derived induced pluripotent stem cell, HD-iPSC)技术的发展历程

2006年,Takahashi等^[8]通过引入4种重编程因子,首次将小鼠成纤维细胞重编程为具备多能性的iPSC。次年,该团队与Thomson实验室分别独立构建出第1批人诱导多能干细胞(human induced pluripotent stem cell, hiPSC)^[9-10]。2008年,Park等^[11]率先将多种遗传性患者的体细胞重编程,建立了



NSC: neural stem cell; NPC: neural progenitor cell; iPSC: induced pluripotent stem cell; BMEC: brain microvascular endothelial cell.

图1 iPSC和人脑类器官技术在HD研究中的应用

Figure 1 Application of iPSC and human brain organoid technologies in HD research

一系列疾病特异性 iPSC 细胞系, 包括 HD-iPSC。

在采用 HD-iPSC 与健康对照 iPSC 的配对研究中, 个体间遗传背景的异质性可能对疾病相关表型的准确归因造成显著干扰。为解决这一关键问题, 2012年, An 等^[12]首次运用同源重组技术将 HD-iPSC 中 HTT 基因的 CAG 重复序列由致病的 72 个修正至正常范围, 由此构建了一个由 HD-iPSC 和经基因修正的对照 iPSC 组成的等基因配对体系, 该策略在相同遗传背景下仅保留致病突变的差异, 实现疾病表型的精准归因。

1.2 未分化阶段的 HD-iPSC 在 HD 研究中的应用

2012年, Chae 等^[13]通过比较蛋白组学分析, 揭示 HD-iPSC 与正常胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)及健康对照 iPSC 之间存在显著的蛋白表达差异, 这些差异蛋白主要参与氧化应激、细胞凋亡和细胞骨架等生物学过程。2015年, Szlachcic 等^[14]也发现 HD-iPSC 中存在分子通路异常。2018年, Świtońska 等^[15]基于转录组数据系统地分析了携带不同 CAG 重复序列的 HD-iPSC 中异常的发育通路。2020年, Lopes 等^[16]发现 HD-iPSC 存在线粒体功能障碍和氧化还原失衡, 而通过 CRISPR/Cas9 技术删除 CAG 重复序列, 可以有效逆转这些病理表型。上述研究均显示, 未分化的 HD-iPSC 已存在异常, 提示 HD 的发病根源或可追溯至发育早期。然而, 这些 iPSC 中通常不会出现 mHTT 聚集体这一 HD 典型的病理特征。Koyuncu 等^[17]研究揭示了这一现象背后的分子机制, 即相比其分化而来的神经前体细胞(HD-iPSC-derived neural progenitor cell, HD-NPC)和神经元, HD-iPSC 中高表达泛素连接酶 UBR5, 促进蛋白酶体途径对 HTT 和 mHTT 蛋白的降解, 从而有效阻止了病理性蛋白聚集。

1.3 HD-iPSC 来源的细胞在 HD 研究中的应用

1.3.1 HD-iPSC 来源的神经干细胞(HD-iPSC-derived neural stem cell, HD-NSC)和 HD-NPC

2010年, Zhang 等^[18]发现, 与正常神经干细胞(neural stem cell, NSC)(其来源包括健康个体 iPSC 和 H9 细胞系)相比, HD-NSC 在生长因子缺失条件下表现出更强的半胱天冬酶活性(表 1)。2012年, HD iPSC 联盟通过全转录组表达谱分析在 HD-NSC 中共鉴定出 1 601 个差异表达基因^[19], 这些基因主要富集于信号转导、细胞周期调控、轴突导向以及神经元发育等生物学过程。该研究还发现 HD-NPC 已存在细胞骨架改变、细胞间黏附功能下降及能量代谢障碍, 而既往基于 HD 小鼠模型的研究只是在

纹状体神经元中发现细胞黏附功能异常。同年, An 等^[12]通过修正 HD-iPSC 中 mHTT 基因的突变, 结合基因阵列技术发现修正前后 259 个基因表达发生显著改变, 还发现与 HD-NSC 相比, 经基因修正的 NSC 表现出多重病理表型的显著改善, 包括关键信号通路的重建、细胞抗凋亡能力的显著增强以及线粒体功能的修复。2021年, Bailus 等^[20]发现 HD-NSC 中 FK506 结合蛋白 5(FK506 binding protein 5, FKBP5)水平显著降低, 而抑制 FKBP5 可增加自噬-溶酶体通路对 mHTT 的清除。以上研究均表明 HD 的发病根源可追溯至发育早期, 部分研究还验证了在发育早期进行补救的可行性。

1.3.2 HD-iPSC 来源的神经元

2012年, HD-PSC 联盟先采用 21 d 的短期分化策略, 成功将 HD-NSC 分化为成熟神经元^[19], 但发现与正常对照相比, HD-NSC 分化而来的神经元存在电生理功能缺陷和短期(3 周内)死亡现象, 难以实现向纹状体谱系的定向分化, 为此, 研究者改用了 72 d 的长期分化策略(表 1)。差异表达基因筛选结合 Ingenuity 通路分析发现多个受显著影响的信号通路, 主要包括细胞增殖、信号转导和组装。此外, 研究者发现 HD-iPSC 来源的神经细胞在神经营养因子剥夺、谷氨酸脉冲刺激以及各类细胞毒性应激处理后的死亡风险显著高于对照。2017年, 该联盟又将 HD-iPSC 分化获得的混合神经细胞进行多组学分析, 结果显示, HD 细胞中存在多条与神经元发育和成熟相关的异常调控通路^[21], 可能源于其表观遗传调控异常。

mHTT 聚集体是 HD 的核心病理标志和关键致病机制。2013年, Cheng 等^[22]在 HD-iPSC 来源的神经元模型中, 通过蛋白酶体抑制剂 MG-132 处理, 成功诱导出 mHTT 聚集体这一 HD 典型病理表型, 并发现过表达 microRNA-196a 可显著降低 mHTT 的表达及病理聚集体形成, 其作用机制涉及增强泛素-蛋白酶体系统、抑制胶质增生反应及激活 CREB 信号通路等多条途径。

线粒体功能障碍是 HD 进展的核心病理机制。Guo 等^[23]首次在 HD-iPSC 来源的神经元模型中观察到线粒体膜电位丧失、活性氧生成增加以及 ATP 水平下降等典型线粒体功能障碍特征。Wu 等^[24]通过低温电子断层扫描技术观察到 HD-iPSC 来源的 MSN(HD-iPSC-derived MSN, HD-MSN)中线粒体超微结构异常, 并通过蛋白组学分析, 发现线粒体蛋白组成显著改变。这些研究均表明 HD-iPSC 来源

的神经元模型能可靠模拟患者特异性的线粒体结构和功能异常。基于该模型的研究发现P110-TAT^[23]、HV-3^[25]及CHIR99021^[26]能有效改善HD-MSN的线粒体功能,证明其在神经保护药物筛选中的独特价值。

钙信号紊乱是HD神经元退行性变的重要病理机制之一。Nekrasov等^[27]在HD-MSN模型中,检测到钙池操纵的钙通道(store-operated calcium channel, SOC)介导的钙离子流入显著增加,而通过药物抑制SOC可以降低由MG132处理导致的神经元过早死亡。Vigont等^[28]发现HD-MSN中SOC通道的关键激活因子STIM2的表达水平显著上调,而降低STIM2的表达可有效抑制病理性钙内流。这些研究不仅在人源神经元模型中验证了钙稳态失衡在HD发生发展中的作用,还提示通过调控SOC通道活性从而恢复钙稳态可能成为干预方向。

既往研究显示,wtHTT蛋白在小鼠皮层发育中发挥关键作用,而mHTT不利于皮层-纹状体环路的发育。为突破物种差异的研究局限,2018年,Mehta等^[29]利用HD-iPSC衍生的皮层神经元模型进行研究,发现mHTT不影响iPSC向功能性皮层神经元的分化,但会导致分化后的神经元出现显著的转录异常、树突形态缺陷和电活动功能障碍。

1.3.3 HD-iPSC来源的非神经元细胞

HD-iPSC来源星形胶质细胞谱系(HD-iPSC-derived astrocyte, HD-astrocyte)为HD研究提供了重要研究模型。2012年, Juopperi等^[30]首次发现HD-astrocyte出现细胞质空泡化,且空泡数量与CAG重复长度呈正相关(表1)。2019年, Garcia等^[31]发现HD-astrocyte具有与小鼠模型一致的电生理异常特征,并且与其共培养的iPSC来源的神经元存在成熟障碍。2023年, Reyes-Ortiz等^[32]利用单核RNA测序技术,发现HD-astrocyte存在成熟障碍、谷氨酸信号功能受损和肌动蛋白通路异常激活等细胞自主性缺陷。

HD存在血-脑屏障功能障碍,包括血管密度增加、血-脑屏障破坏及血流动力学异常等。传统观点认为,这些病理改变源于神经元退行性病变引发的继发性损伤。但Lim等^[33]通过将HD-iPSC分化为脑微血管内皮细胞(HD-iPSC-derived brain microvascular endothelial cell, HD-iBMEC),首次观察到其血管生成能力降低和血-脑屏障功能损伤,结合转录组分析,结果表明这些异常与Wnt信号通路过度激活密切相关,而Wnt抑制剂可部分逆转该病理表型。Linville等^[34]利用等基因对照iPSC体系,发现青少年型HD相关的CAG扩展会改变iBMEC的分化轨迹,降低其屏障功能,引起广泛的转录失调,以及

表1 iPSC定向分化的细胞类型及其分子标志物概况

Table 1 Overview of the directed differentiation of iPSC: types and molecular markers

Type of differentiated cell	Molecular marker	Main result	Reference
NSC	NESTIN/SOX1/PAX6	Enhanced caspase activity under growth factor deprivation	[18]
Striatal neuron	DARPP32/TUJ1/Calbindin/GABA		
NSC	NESTIN/PAX6	Disease-associated changes in electrophysiology, metabolism, cell adhesion, and ultimately cell death; vulnerable to cellular stressors and BDNF withdrawal	[19]
NPC	NESTIN/PAX6/SOX1/SOX2/Musashi		
Striatal neuron	DARPP32/BCL11B/MAP2/TUJ1/GABA		
NSC	NESTIN/SOX1	Correction of disease mutations normalized pathogenic HD signaling pathways and reversed disease phenotypes	[12]
Striatal neuron	DARPP32/TUJ1/Calbindin/GABA		
Mixed neural culture	GFAP/TUJ1/MAP2/DARPP32	Altered neurodevelopment; altered cellular pathways related to neuronal function; altered maturation; epigenetic changes; treatment with isoxazole-9 led to amelioration of phenotypes	[21]
Neuron	TUJ1	MiR-196a decreased HTT expression and pathological aggregates	[22]
GABAergic neuron and MSN	TUJ1/MAP2/GAD67/Calbindin/DARPP32	P110-TAT treatment prevented or slowed the progression of HD and reduced mitochondrial dysfunction and neurite shortening	[23]

(续表1)

Type of differentiated cell	Molecular marker	Main result	Reference
MSN	DARPP32/CTIP2	Mitochondria with abnormal cristae and enlarged granules in neurites	[24]
MSN	DARPP32/TUJ1	HV-3 blocked mHTT/VCP mitochondrial interaction, corrected excessive mitophagy and reduced cell death	[25]
GABAergic neuron and MSN	MAP2/GAD67/DARPP32	CHIR99201 treatment improved mitochondrial function and cell survival	[26]
GABA MSN-like neuron (GMSLN)	DARPP32/TUBB3/GAT1	Abnormal SOC-mediated calcium entry; EVP4593 exerted neuroprotective effects	[27]
MSN	MAP2/DARPP32	Pathologically enhanced SOC entry mediated by STIM2	[28]
Cortical neuron	TUJ1/MAP2/FOXG1/TBR2/TBR1/CTIP2/SATB2	Altered transcriptomics, morphological and functional phenotypes indicative of altered corticogenesis	[29]
Astrocyte	GFAP/S100 β	Cytoplasmic vacuolation	[30]
Astrocyte	GFAP/S100 β	Electrophysiological impairments; reduced neuronal support	[31]
Astrocyte	GFAP	Maturation and functional deficits	[32]
Brain microvascular endothelial cell	CD31/GLUT1/CLDN5/OCLN/ZO1	Intrinsic abnormalities in angiogenesis and barrier properties, as well as in signaling pathways	[33]
Brain microvascular endothelial cell	CD31/GLUT1	Altered trajectory of iBMEC differentiation, barrier function and gene expression	[34]

GABA: γ -aminobutyric acid.

对血管生成因子、氧化应激和渗透应激等病理刺激的反应异常。这些研究成果完善了现有对HD病理机制的认知体系。

2 人脑类器官技术在HD研究中的应用

2.1 人脑类器官技术的发展历程

2001年, Zhang等^[35]首次在体外成功将人胚胎干细胞(human embryonic stem cell, hESC)诱导分化为拟胚体, 并通过贴壁培养获得了“玫瑰花环样”神经管结构。2008年, Eiraku等^[36]采用无血清悬浮培养的方法, 成功诱导hESC 3D聚集体自组织形成具有顶端-基底极性的神经上皮结构, 并观察到时空协调的皮层神经发生过程, 为体外模拟早期皮层发育提供了重要模型系统。2013年, Lancaster等^[37]构建了“全脑类器官”模型, 该模型通过3D培养技术、时序性生长因子调控和基质胶包埋技术, 将hESC和hiPSC成功培育出可模拟9~10周人类胚胎大脑结构的类器官。该研究团队还利用小头畸形症患者特

异性的iPSC成功构建了首个人脑类器官疾病模型, 并证实该模型可以展示特定疾病的早期发育缺陷和病理特征, 是研究神经系统疾病的理想平台。

全脑类器官虽然包含多种神经细胞谱系, 但在模拟特定脑区的时空发育模式和区域特异性病理表型方面存在明显不足。因此, 研究者采用小分子化合物时序性精确调控Smad、Wnt、Shh等关键信号通路, 从而获得特定脑区类器官^[38]。目前, 研究者已成功构建出涵盖大脑皮层、纹状体、海马体、脉络丛、丘脑、下丘脑、中脑及小脑等多种特异性的脑类器官^[39]。

类组装体是指通过将不同脑区特异性类器官在3D空间中共培养, 使其自组织形成功能性神经连接的体外模型系统, 该模型可模拟不同脑区间的神经环路发育动态及功能异常, 为研究神经环路相关疾病提供理想的平台^[40]。目前, 研究者已成功构建出皮层-纹状体、皮层-中脑等多种类组装体^[39]。2020年, Andersen等^[41]创新性地将大脑皮层类器官、后脑脊髓类器官与人骨骼肌类器官三者相融合, 体外再现

了从皮层神经元电刺激、到脊髓运动神经元激活、再到骨骼肌收缩的跨多突触信号传导通路。

2.2 人脑类器官在HD研究中的应用

2018年,Conforti等^[42]首次通过使用HD-iPSC来源的人脑类器官模型模拟了端脑发育过程,发现mHTT会导致早期的神经外胚层分化障碍、腹侧端脑细胞命运决定缺陷、纹状体神经元终末分化及成熟障碍、皮层神经元分化缺陷与细胞构筑异常等一系列发育异常;而下调mHTT表达或药物抑制其效应分子ADAM10的活性,可有效逆转神经发育缺陷(表2)。次年,Zhang等^[43]的研究表明HD前脑类器官的神经上皮结构异常程度与CAG重复次数呈正相关。该研究还发现HD前脑类器官存在细胞周期调控紊乱、G1期延长以及顶侧前体细胞不对称分裂增加等异常,最终导致神经元过早分化,其调控机制可能与ATM-p53通路过度激活有关,而应用ATM抑制剂KU60019可部分改善神经祖细胞扩增缺陷。2024年,Galimberti等^[44]同样发现HD端脑类器官存在神经发育异常,其中腹侧神经谱系的发育障碍较背侧谱系更为显著。通过构建由健康和HD细胞组成的嵌合型端脑类器官,该研究发现健康细胞对HD细胞的修复作用,而健康细胞自身并未受HD细胞的影响。

HD以纹状体神经元选择性退化为特征,但其病理机制可追溯至胚胎期神经发生异常,因此建立能准确模拟人类纹状体发育过程的人源模型具有至关重要的意义。2020年,Miura等^[45]通过整合基因编辑和3D培养技术,并添加视黄酸X受体选择性激动剂SR11237等小分子,成功构建出首个具有区域特异性的人纹状体类器官(human striatal organoid, hStrO)。该模型能重现人类纹状体的发育轨迹,其神经元具有MSN的典型特征,包括丰富的树突棘和一些电生理特性。2022年,Chen等^[46]开发了一种更简便的基于hiPSC的hStrO诱导方案,并证实该hStrO模型能够精确再现胚胎纹状体的关键发育特征,包括纹状小体(striosome)和基质区(matrix)这两种分区。该研究进一步构建了HD-iPSC来源的纹状体类器官(HD iPSC-derived hStrO, HD-hStrO),发现该类器官存在整体面积较小、神经前体细胞数目减少以及神经上皮玫瑰花环结构缩小等发育异常表现。同年,Liu等^[47]发现HD-hStrO中DARPP32阳性神经元的比例降低、神经突长度缩短以及其线粒体的结构和功能异常。该研究揭示热休克转录因子1(heat shock factor 1, HSF1)通过与线粒体动力相关

蛋白(dynamin-related protein 1, DRP1)的异常相互作用,在线粒体聚集,驱动HD神经退行性变,并开发肽抑制剂DH1阻断该异常相互作用,显著改善线粒体功能及病理表型。2024年,Wu等^[48]的研究表明HD-hStrO可重现mHTT蛋白异常聚集、祖细胞增殖能力下降、纹状体神经元选择性丢失、细胞凋亡增加及电生理特性改变等HD的关键病理特征,再次验证了该模型模拟HD发生发展过程的可靠性。近期,Fan等^[49]则是基于HD-hStrO阐明“E3泛素连接酶NEDD4L通过促进脂酰转移酶2[lipoyl(octanoyl)transferase 2, LIPT2]降解,破坏线粒体功能,从而引发神经元退行性变”这一致病机制。

HD虽以纹状体退化为主要病理特征,但大脑皮层同样存在显著的病理改变。2024年,Liu等^[50]利用HD-iPSC来源的皮层类器官(HD-iPSC-derived human cortical organoid, HD-hCO)模型,成功模拟了HD胎儿大脑发育过程中的皮层异常发育现象,并揭示mHTT通过干扰神经上皮细胞中高尔基体对ADP-核糖基化因子1(ADP-ribosylation factor 1, ARF1)的招募,导致高尔基体结构紊乱、囊泡运输功能障碍及神经发育异常。同年,Lisowski等^[51]借助hCO和中脑类器官,发现mHTT可引发早期神经发育缺陷。通过多组学分析发现,mHTT会导致含卷曲螺旋-卷曲螺旋结构域2(coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain containing 2, CHCHD2)的蛋白表达异常、线粒体整合应激反应激活和线粒体形态动力学紊乱。这些研究不仅揭示了mHTT在神经发育早期的重要致病作用,同时也为深入理解HD的皮层病理机制提供了新的分子视角。

2.3 类组装体在HD研究中的应用

纹状体作为基底神经节的核心枢纽,其神经环路功能障碍在HD的发病机制中起着关键作用^[52]。研究显示,mHTT通过破坏皮层-纹状体谷氨酸能投射的突触可塑性,导致直接通路和间接通路的失衡;还会损害纹状体与黑质网状部及苍白球之间的连接,加剧环路功能障碍^[53]。这种多层次的神经环路紊乱不仅导致HD的舞蹈样动作等运动症状,也与其抑郁、焦虑等精神症状密切相关。然而,传统动物模型在重现人类特异性神经环路结构和功能方面存在显著不足。

2020年,Miura等^[45]首次开发了皮层-纹状体类组装体,并证实皮层神经元能够向hStrO发出轴突投射并建立功能性突触连接,且该组装过程会改变MSN的内在放电特性。随后,Chen等^[46]的研究同样

证明皮层-纹状体类组装体可作为体外模拟皮层-纹状体投射的有效模型, 该研究还通过构建中脑-纹状体类组装体证明中脑神经元同样能够向 hStrO 发出轴突投射。可见, 类组装体能够为 HD 的环路机制研究提供可靠的研究平台(表 2)。2024 年, Liu 等^[50]将对照 hCO 和 HD-hCO 分别与健康 hStrO 融合形成类组装体, 发现 HD-hCO 中的皮层神经元在发育早期即存在轴突投射异常和突触过早形成的现象。

同年, Wu 等^[48]利用纹状体-黑质类组装体成功模拟了 HD 纹状体-黑质回路的功能异常, 体现在 MSN 轴突投射能力减弱, 钙信号幅度显著降低以及突触活动不足等多个方面, 而脑源性神经营养因子处理可显著改善上述功能缺陷, 提示类组装体同样可作为 HD 药物筛选的实验平台。

3 总结与展望

iPSC 和人脑类器官技术在 HD 研究领域已取得显著进展, 但仍存在诸多瓶颈和不足。首先, 在模型构建的技术层面。现有 iPSC 分化方案产生的人脑类器官存在细胞组成异质性和批次间差异大的问题, 不同实验室建立的 HD 类器官模型在细胞类型比例、成熟度和组织结构上缺乏可比性^[54-55]。其次, HD 作为一种神经退行性疾病, 其病理特征往往需要数十年才能完全显现。此外, 传统的人脑类器官缺乏血管系统和免疫细胞的参与, 前者限制了其长期培养, 后者使其无法模拟神经炎症这一 HD 重要的病理特征。近来研究显示, 通过共培养、微流控系统或双光子聚合 3D 打印血管技术等策略可有效改善类器官由于缺氧和营养供应不足而引发核

表 2 人脑类器官的类型及其分子标志物概况

Table 2 Overview of human brain organoids: types and molecular markers

Types of human brain organoid	Molecular marker	Main result	Reference
Cortical organoid	Ki67/ α PKC/p-VIM/ NESTIN/SOX2/MAP2/ PAX6/TBR1/CTIP2	Precluded neuronal fate acquisition; affected early telencephalic induction and late neural identity; defects in neuroectoderm and rosette formation could be rescued by molecular and pharmacological approaches	[42]
Forebrain organoid	Ki67/SOX2/PAX6/ FOXP1	Imbalance between neural progenitor expansion and differentiation	[43]
Telencephalic organoid	ASCL1/GSX2/ISL1/ NKX2.1/GAD67/ CTIP2/GFAP/MAP2/ GABA/TBR1	Ventral and dorsal fate acquisition with altered differentiation pattern; altered self-organization and ventral maturation; non-cell autonomous recovery of HD ventral identities by healthy cells	[44]
Striatal organoid	DARPP32/MAP2	Modeled some aspects of HD, including altered rosette structures and the proportion of striatal progenitors	[46]
Striatal organoid	DARPP32/SOX2/ CTIP2/GSH2/NeuN/ Ki67	Mitochondrial HSF1 triggered mitochondrial dysfunction and neurodegeneration; suppression of HSF1 mitochondrial localization by DH1 reduced mitochondrial dysfunction and neurotoxicity	[47]
Striatal organoid	DARPP32/SOX2/ CTIP2/GSH2/MAP2	Neuronal projection defects; BDNF rescued reciprocal projection and calcium signaling	[48]
Striatal organoid	DARPP32/MAP2	NEDD4L disrupted mitochondrial function by binding to LIPT2 and promoting its degradation through ubiquitination and lysosomal pathways	[49]
Cortical organoid	SOX2/TUJ1/Ki67	Altered corticogenesis <i>via</i> lowering Golgi recruiting ARF1; HD cortical projections aberrantly targeted striatal organoids early	[50]
Cortical organoid	SOX2/TUJ1	Disrupted neurodevelopment was paralleled by aberrant neurometabolic programming mediated by dysregulation of CHCHD2	[51]

心区域坏死的情况^[56-58]。这些技术本身的突破不仅能在实验室里培养出更接近真实人脑的组织,也将更准确地模拟HD的发生发展。

综上所述,未来的研究仍需要开发更先进的培养系统来延长神经元的存活时间,引入微流控等技术模拟脑内微环境,并构建多脑区功能互作的整合模型,才能更精准地模拟HD的复杂病理过程。同时,将iPSC技术与基因编辑、单细胞组学等新兴技术相结合,有望为解决现有技术难题开辟新路径。虽然从基础研究到临床应用的转化之路漫长,但每一步进展都将为最终攻克这一顽疾积累宝贵经验。

利益冲突声明:

作者单位与期刊编辑部同属南京医科大学,但无利益冲突。

Conflict of Interests:

The author's affiliation and the publishing department of this journal are affiliated with Nanjing Medical University, but there is no conflict of interest in this work.

作者贡献声明:

陈星伊负责文献收集、分析与初稿撰写;刘妍负责资金支持与文稿审阅;尤卫艳负责综述的框架设计、论文撰写与最终审定。

Author's Contributions:

CHEN Xingyi was responsible for literature collection, analysis, and initial manuscript writing. LIU Yan was responsible for funding support and manuscript review. YOU Weiyan was responsible for the framework design of the review, manuscript writing, and final approval.

[参考文献]

- [1] JURCAU A. Molecular pathophysiological mechanisms in Huntington's disease [J]. *Biomedicines*, 2022, 10(6): 1432
- [2] ROSS C A, TABRIZI S J. Huntington's disease: from molecular pathogenesis to clinical treatment [J]. *Lancet Neurol*, 2011, 10(1): 83-98
- [3] SRINIVASAN E, RAM V, RAJASEKARAN R. A review on Huntington protein: insight into protein aggregation and therapeutic interventions [J]. *Curr Drug Metab*, 2022, 23(4): 260-282
- [4] BARRON J C, HURLEY E P, PARSONS M P. Huntington and the synapse [J]. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15: 689332
- [5] FRANK S. Tetrabenazine: the first approved drug for the treatment of chorea in US patients with Huntington disease [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2010, 6: 657-665
- [6] BIRTELE M, LANCASTER M, QUADRATO G. Modelling human brain development and disease with organoids [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2025, 26(5): 389-412
- [7] CARTER R L, CHAN A W S. Pluripotent stem cells models for Huntington's disease: prospects and challenges [J]. *J Genet Genomics*, 2012, 39(6): 253-259
- [8] 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
- [9] YU J Y, VODYANIK M A, SMUGA-OTTO K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells [J]. *Science*, 2007, 318(5858): 1917-1920
- [10] 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
- [11] PARK I H, ARORA N, HUO H G, et al. Disease-specific induced pluripotent stem cells [J]. *Cell*, 2008, 134(5): 877-886
- [12] AN M C, ZHANG N Z, SCOTT G, et al. Genetic correction of Huntington's disease phenotypes in induced pluripotent stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 11(2): 253-263
- [13] CHAE J I, KIM D W, LEE N, et al. Quantitative proteomic analysis of induced pluripotent stem cells derived from a human Huntington's disease patient [J]. *Biochem J*, 2012, 446(3): 359-371
- [14] SZLACHCIC W J, SWITONSKI P M, KRZYZOSIAK W J, et al. Huntington disease iPSCs show early molecular changes in intracellular signaling, the expression of oxidative stress proteins and the p53 pathway [J]. *Dis Model Mech*, 2015, 8(9): 1047-1057
- [15] ŚWITOŃSKA K, SZLACHCIC W J, HANDSCHUH L, et al. Identification of altered developmental pathways in human juvenile HD iPSC with 71Q and 109Q using transcriptome profiling [J]. *Front Cell Neurosci*, 2019, 12: 528
- [16] LOPES C, TANG Y, ANJO S I, et al. Mitochondrial and redox modifications in Huntington disease induced pluripotent stem cells rescued by CRISPR/Cas9 CAGs targeting [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 576592
- [17] KOYUNCU S, SAEZ I, LEE H J, et al. The ubiquitin ligase UBR5 suppresses proteostasis collapse in pluripotent stem cells from Huntington's disease patients [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2886
- [18] ZHANG N Z, AN M C, MONTORO D, et al. Characterization of human Huntington's disease cell model from induced pluripotent stem cells [J]. *PLoS Curr*, 2010, 2: RRR1193
- [19] The HD iPSC Consortium. Induced pluripotent stem cells from patients with Huntington's disease show CAG-repeat-expansion - associated phenotypes [J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 11(2): 264-278
- [20] BAILUS B J, SCHEELER S M, SIMONS J, et al. Modulat-

- ing FKBP5/FKBP51 and autophagy lowers HTT(huntingtin) levels[J]. *Autophagy*, 2021, 17(12): 4119-4140
- [21] CONSORTIUM H I. Developmental alterations in Huntington's disease neural cells and pharmacological rescue in cells and mice[J]. *Nat Neurosci*, 2017, 20(5): 648-660
- [22] CHENG P H, LI C L, CHANG Y F, et al. miR-196a ameliorates phenotypes of Huntington disease in cell, transgenic mouse, and induced pluripotent stem cell models[J]. *Am J Hum Genet*, 2013, 93(2): 306-312
- [23] GUO X, DISATNIK M H, MONBUREAU M, et al. Inhibition of mitochondrial fragmentation diminishes Huntington's disease-associated neurodegeneration[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(12): 5371-5388
- [24] WU G H, SMITH-GEATER C, GALAZ-MONTOYA J G, et al. CryoET reveals organelle phenotypes in Huntington disease patient iPSC-derived and mouse primary neurons[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 692
- [25] GUO X, SUN X Y, HU D, et al. VCP recruitment to mitochondria causes mitophagy impairment and neurodegeneration in models of Huntington's disease[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12646
- [26] HU D, SUN X Y, MAGPUSAO A, et al. Small-molecule suppression of calpastatin degradation reduces neuropathology in models of Huntington's disease[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 5305
- [27] NEKRASOV E D, VIGONT V A, KLYUSHNIKOV S A, et al. Manifestation of Huntington's disease pathology in human induced pluripotent stem cell-derived neurons[J]. *Mol Neurodegener*, 2016, 11: 27
- [28] VIGONT V A, GREKHNEV D A, LEBEDEVA O S, et al. STIM2 mediates excessive store-operated calcium entry in patient-specific iPSC-derived neurons modeling a juvenile form of Huntington's disease[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 625231
- [29] MEHTA S R, TOM C M, WANG Y Z, et al. Human Huntington's disease iPSC-derived cortical neurons display altered transcriptomics, morphology, and maturation[J]. *Cell Rep*, 2018, 25(4): 1081-1096
- [30] JUOPPERI T A, KIM W R, CHIANG C H, et al. Astrocytes generated from patient induced pluripotent stem cells recapitulate features of Huntington's disease patient cells[J]. *Mol Brain*, 2012, 5: 17
- [31] GARCIA V J, RUSHTON D J, TOM C M, et al. Huntington's disease patient-derived astrocytes display electrophysiological impairments and reduced neuronal support[J]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 669
- [32] REYES-ORTIZ A M, ABUD E M, BURNS M S, et al. Single-nuclei transcriptome analysis of Huntington disease iPSC and mouse astrocytes implicates maturation and functional deficits[J]. *iScience*, 2022, 26(1): 105732
- [33] LIM R G, QUAN C, REYES-ORTIZ A M, et al. Huntington's disease iPSC-derived brain microvascular endothelial cells reveal WNT-mediated angiogenic and blood-brain barrier deficits[J]. *Cell Rep*, 2017, 19(7): 1365-1377
- [34] LINVILLE R M, NERENBERG R F, GRIFNO G, et al. Brain microvascular endothelial cell dysfunction in an isogenic juvenile iPSC model of Huntington's disease[J]. *Fluids Barriers CNS*, 2022, 19(1): 54
- [35] ZHANG S C, WERNIG M, DUNCAN I D, et al. *In vitro* differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells[J]. *Nat Biotechnol*, 2001, 19(12): 1129-1133
- [36] EIRAKU M, WATANABE K, MATSUO-TAKASAKI M, et al. Self-organized formation of polarized cortical tissues from ESCs and its active manipulation by extrinsic signals[J]. *Cell Stem Cell*, 2008, 3(5): 519-532
- [37] LANCASTER M A, RENNER M, MARTIN C A, et al. Cerebral organoids model human brain development and microcephaly[J]. *Nature*, 2013, 501(7467): 373-379
- [38] ZHU W Y, XU L, LI X R, et al. iPSCs-derived neurons and brain organoids from patients[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2023, 281: 59-81
- [39] KELLEY K W, PASÇA S P. Human brain organogenesis: toward a cellular understanding of development and disease[J]. *Cell*, 2022, 185(1): 42-61
- [40] URENDA J P, DEL DOSSO A, BIRTELE M, et al. Present and future modeling of human psychiatric connectopathies with brain organoids[J]. *Biol Psychiatry*, 2023, 93(7): 606-615
- [41] ANDERSEN J, REVAH O, MIURA Y, et al. Generation of functional human 3D cortico-motor assembloids[J]. *Cell*, 2020, 183(7): 1913-1929
- [42] CONFORTI P, BESUSSO D, BOCCHI V D, et al. Faulty neuronal determination and cell polarization are reverted by modulating HD early phenotypes[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(4): E762-E771
- [43] ZHANG J, OOI J, UTAMI K H, et al. Expanded huntingtin CAG repeats disrupt the balance between neural progenitor expansion and differentiation in human cerebral organoids[J]. *bioRxiv*, 2019: 850586
- [44] GALIMBERTI M, NUCERA M R, BOCCHI V D, et al. Huntington's disease cellular phenotypes are rescued non-cell autonomously by healthy cells in mosaic telencephalic organoids[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 6534
- [45] MIURA Y, LI M Y, BIREY F, et al. Generation of human striatal organoids and cortico-striatal assembloids from human pluripotent stem cells[J]. *Nat Biotechnol*, 2020, 38(12): 1421-1430

- [46] CHEN X Y, SAIYIN H, LIU Y, et al. Human striatal organoids derived from pluripotent stem cells recapitulate striatal development and compartments [J]. *PLoS Biol*, 2022, 20(11): e3001868
- [47] LIU C Y, FU Z X, WU S S, et al. Mitochondrial HSF1 triggers mitochondrial dysfunction and neurodegeneration in Huntington's disease [J]. *EMBO Mol Med*, 2022, 14(7): e15851
- [48] WU S S, HONG Y, CHU C, et al. Construction of human 3D striato-nigral assembloids to recapitulate medium spiny neuronal projection defects in Huntington's disease [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2024, 121(22): e2316176121
- [49] FAN P, LIU Y Q, LIU C Y, et al. NEDD4L induces mitochondrial dysfunction and neurodegeneration by promoting LIPT2 degradation in Huntington's disease [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2025, 122(29): e2503342122
- [50] LIU Y, CHEN X Y, MA Y L, et al. Endogenous mutant Huntingtin alters the corticogenesis *via* lowering Golgi recruiting ARF1 in cortical organoid [J]. *Mol Psychiatry*, 2024, 29(10): 3024–3039
- [51] LISOWSKI P, LICKFETT S, RYBAK-WOLF A, et al. Mutant huntingtin impairs neurodevelopment in human brain organoids through CHCHD2 - mediated neurometabolic failure [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 7027
- [52] WERNER C T, WILLIAMS C J, FERRELIA M R, et al. Circuit mechanisms of neurodegenerative diseases: a new frontier with miniature fluorescence microscopy [J]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 1174
- [53] CRITTENDEN J R, GRAYBIEL A M. Basal ganglia disorders associated with imbalances in the striatal striosome and matrix compartments [J]. *Front Neuroanat*, 2011, 5: 59
- [54] QUADRATO G, NGUYEN T, MACOSKO E Z, et al. Cell diversity and network dynamics in photosensitive human brain organoids [J]. *Nature*, 2017, 545(7652): 48–53
- [55] VELASCO S, KEDAIGLE A J, SIMMONS S K, et al. Individual brain organoids reproducibly form cell diversity of the human cerebral cortex [J]. *Nature*, 2019, 570(7762): 523–527
- [56] XU L, DING H B, WU S S, et al. Artificial meshed vessel-induced dimensional breaking growth of human brain organoids and multiregional assembloids [J]. *ACS Nano*, 2024, 18(38): 26201–26214
- [57] ZHU Y J, ZHANG X X, SUN L Y, et al. Engineering human brain assembloids by microfluidics [J]. *Adv Mater*, 2023, 35(14): e2210083
- [58] SUN X Y, JU X C, LI Y, et al. Generation of vascularized brain organoids to study neurovascular interactions [J]. *Elife*, 2022, 11: e76707
- (收稿: 2025-08-18; 修回: 2025-09-29; 录用: 2025-10-11)
(本文编辑: 陈汐敏)

本刊现已启用网上稿件管理系统, 作者登陆
<http://jnmn.njmu.edu.cn/>即可在线投稿并查询
稿件审理情况。