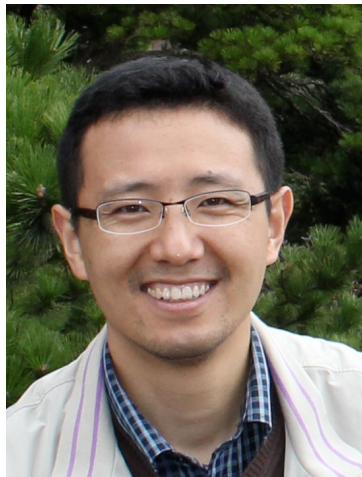


领域前沿 · 中国



惠利健, 中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所研究员。2003年于中国科学院上海生命科学院生化与细胞研究所获博士学位, 获得中国科学院院长奖和中国科学院优秀博士学位论文奖。2003年至2008年于奥地利维也纳分子病理学研究所从事博士后研究, 获得EMBO长期奖学金和居里夫人奖学金。2008年底回生化与细胞所工作, 担任研究员、博士生导师, 为中国科学院“百人计划”、上海市“浦江人才”获得者和上海市优秀学科带头人。2011年获中国青年科技奖和中国科学十大进展, 2012年获得国家自然科学基金杰出青年基金支持。惠利健研究员以肝细胞为研究对象, 长期从事细胞命运维持与转分化、癌化机理研究, 为肝癌等重症肝病治疗提供新策略。主要贡献有: (1)成功将成纤维细胞转分化为功能肝细胞, 给出获得功能肝细胞的一个全新方法(Nature 2011, Cell Stem Cell 2014); (2)运用小鼠遗传学模型和人类癌病组织, 揭示肝细胞的癌化分子机制(Nat Genetics 2007, J Clin Invest 2008, Nat Cell Biol 2012, Hepatology 2013)。

细胞命运转变——癌化和转分化的研究

高义萌 惠利健*

(中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 上海 200031)

一般认为, 在高等动物发育过程中, 干细胞向终末细胞分化的过程是单向且不可逆的, 这一现象被称之为细胞命运决定。在正常生理状态下, 已经决定了命运的终末分化细胞受到胞内信号通路、表观遗传以及胞外微环境的严格调控, 维持在一个相对稳定的类型和状态, 一般不会转变为其他类型的细胞。这种细胞命运的稳定对于维持高等动物细胞功能、组织稳态等都极为重要^[1]。

最近的研究发现, 在特定的条件下, 细胞命运是可以转变的。例如, 日本科学家Yamanaka等^[2]发现, 可以将终末分化的皮肤成纤维细胞去分化为多能干细胞。一系列关于转分化的研究也指出, 不同种类的细胞之间可以发生转化^[3]。此外一个极端的例子是, 极少数的终末分化细胞也会出现病态的命运转变, 成为恶性增殖的癌化细胞^[4-5]。这些事例都说

明, 终末分化细胞具有可塑性, 细胞命运是可以被改变的(图1)。那么既然细胞的命运是可以转变的, 那么在体内, 为了维持组织稳态, 细胞命运转变是如何被抑制的? 哪些条件下, 我们可以诱导细胞命运转变? 而在病理条件下, 细胞癌化又是如何发生的? 对这些问题的回答, 不仅对于理解基本的细胞生物学现象极为重要, 同时对于研究疾病发病机理和转化医学都具有深刻的意义。我们实验室以肝细胞为对象, 研究细胞命运转变, 特别是癌化与转分化, 希望能为临床治疗提供新思路和新策略。

1 肝细胞癌化的早期分子事件

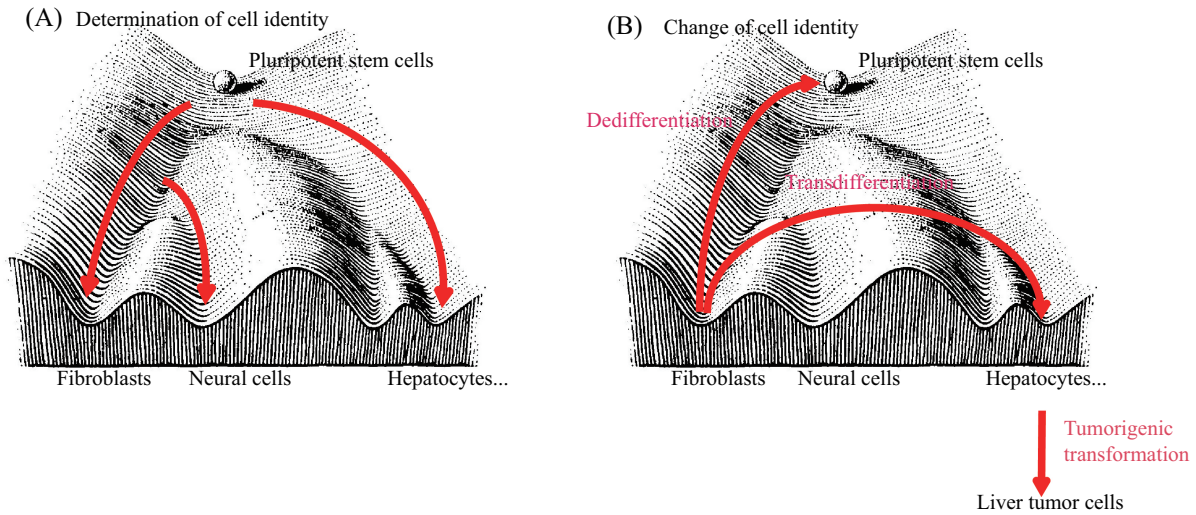
细胞癌化作为细胞命运的一种病态转变, 由于其机制的复杂和治疗的困难一直威胁着人类的健康。正常细胞发生癌化后表现出增殖信号的持续激活、增殖抑制通路的失活、免疫监视的逃避等多个特征。细胞癌化涉及到众多的基因突变或表达变化以及肿瘤细胞与微环境的相互作用^[6]。对肝细胞癌化过程

*通讯作者。Tel: 021-54921329; E-mail: ljhui@sibcb.ac.cn

*Corresponding author. Tel: +86-21-54921329; E-mail: ljhui@sibcb.ac.cn

网络出版时间: 2014-05-29 17:33

URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.06.9001.html>



A: 由多能干细胞向终末分化细胞的命运决定过程, 一般认为是单向不可逆的。这个过程可以用小球从山顶滚下坡来形象比喻, 最早由发育生物学家Conrad Hal Waddington描绘; B: 最近的研究成果表明, 终末分化的细胞具有可塑性, 可以发生去分化和转分化。特别是在一些病理条件下, 细胞的癌化也被认为是细胞身份改变的一种极端形式。

A: the determination of terminally differentiated cells from pluripotent stem cells is one-way and irreversible during development. This process could be metaphorized by a ball rolling down the slopes of a complex hillside, which was originally depicted by developmental biologist Conrad Hal Waddington; B: latest findings have demonstrated the plasticity of terminally differentiated cells, showing their potential to be dedifferentiated and transdifferentiated into other types of cells. Specifically, tumorigenic transformation under pathological conditions could be taken as an extreme form of cell identity changes.

图1 细胞命运的决定与改变

Fig.1 The determination and change of cell identity

分子病理机制的研究, 不仅对揭示维持细胞命运和组织稳态的调控机制有重要意义, 同时也将为癌症治疗提供新的靶点和方法。

在肝细胞发生癌化的早期, 伴随着HBV、HCV等感染引起的慢性炎症, 造成肝细胞死亡和代偿性增生等一系列反应。一方面, 在肝癌发生早期的炎症反应中, NF- κ B调控STAT3依赖的IL-6表达, 而IL-6的表达促进了肝细胞增殖和肝细胞发生癌化^[7]。NF- κ B信号通路和MAPK信号通路的抑制蛋白CYLD和TGF- β 激活激酶TAK1被证明在肝癌发生过程中具有重要的稳态维持作用。这些蛋白的失活导致炎症、肝细胞死亡和纤维化, 进而引起过度代偿性增生导致肝癌发生^[8-9]。另一方面, 肝细胞癌化早期由于癌基因激活导致肝细胞衰老并分泌细胞因子, 引起CD4+ T细胞的免疫反应, 从而清除癌化早期的衰老细胞, 抑制肝细胞癌化的发生^[10]。

对肝细胞癌化的研究发现, MAPK信号通路常常被异常激活, 诱导肝癌的产生^[11]。MAPK的一个成员蛋白JNK下游的c-Jun转录因子对小鼠以及人的肝癌形成有重要作用^[12-13]。我们利用可诱导的c-Jun缺失小鼠, 对肝癌发生早期分子机制进行了研

究。结果表明, c-Jun通过增强肝癌起始细胞的存活, 促进肿瘤的形成。在c-Jun被敲除的细胞中, 另一个AP-1转录因子c-Fos的表达会被上调, 引起去乙酰化酶SIRT6的高表达。高水平的SIRT6进而使*Survivin*基因启动子区域组蛋白H3第9位赖氨酸(H3K9)的乙酰化水平降低, 造成*Survivin*这个细胞凋亡抑制蛋白基因的转录表达下调。降低的*Survivin*水平会使细胞凋亡增加, 肝癌起始细胞数目降低, 最终表现为肿瘤形成减少^[14]。分离鉴定这一在肝细胞癌化早期阶段发挥重要作用的分子机制, 为肝癌的预防治疗提供了新策略。

2 成纤维细胞的肝向转分化

肝脏作为人体的重要器官调节许多生理过程, 如糖原储存、脂质代谢、血浆白蛋白分泌、细胞解毒等^[15]。对于重症肝病和晚期肝癌, 唯一有效的治疗就是肝脏移植。最近, 肝细胞移植作为器官移植的替代方法也在临床治疗中被尝试^[16]。但是, 肝供体的严重缺乏限制了这些应用, 所以如何获得具有功能的肝细胞成为了研究的热点。利用特定的培养条件, 胚胎干细胞或者iPS细胞可以在体外定向分化

成具有功能的肝细胞类似细胞^[17]。但是, 采用此方法获得肝脏细胞, 具有步骤繁琐、效率低和成本过高等缺点。因此, 如何建立新方法获得非供体依赖的有功能的肝细胞, 具有很高的理论及应用价值, 也具有极大的挑战性。

目前, 采用过表达组织特异的转录因子来改变细胞命运的方法已经被科学家们广泛地采用^[3]。通过这种重编程的方式直接实现细胞谱系间的转换, 可以在不依赖供体器官的情况下快速地产生细胞, 应用于再生医学和个性化药物治疗^[5]。在2011年, 我们以及其他研究者证明了通过在小鼠成纤维细胞中过表达肝细胞特异转录因子将其转分化为肝细胞^[18-19]。最近, 还发现利用Hnf1 β 、Foxa3两个转录因子, 可将小鼠成纤维细胞转变为肝干细胞^[20]。

利用人类细胞获得转分化的肝细胞, 是将此种方法应用于再生医学的必经之路^[5,21]。尽管很多研究已经成功将小鼠的成纤维细胞直接转变为其他类型的细胞, 然而诸多研究也表明人类细胞较难进行重编程^[22-24]。有研究人员将人类成纤维细胞转分化为神经细胞, 但是转分化产生的神经细胞的体内治疗功能并没有很好鉴定^[22-23]。最近的一项研究将人类成纤维细胞转分化为心肌细胞, 但是这些细胞缺乏相应的成熟心肌细胞功能^[24]。

我们以人类成纤维细胞作为起始细胞, 转入FOXA3、HNF1A和HNF4A后, 可诱导获得具有功能的肝细胞(hiHep)^[25]。hiHep细胞具有原代肝细胞的上皮样形态, 表达肝特异性基因。hiHep细胞能够积累糖原、分泌血清白蛋白、吸收和积累脂质。转分化获得的hiHep细胞还具有药物代谢和胆汁排泄功能。由于转分化产生的细胞不能持续增殖, 因此无法获得大量细胞用于体内治疗和生物医药的应用^[26]。我们发现过表达SV40 Large T可以诱导hiHep细胞的持续增殖。可增殖的hiHep细胞同样具有肝特异基因表达、糖原贮存、脂质积累以及药物代谢等功能。

我们采用了两种动物疾病模型来检验hiHep细胞的治疗效果。首先, 我们采用了Fah^{-/-}小鼠模型。这种小鼠罹患致命肝脏代谢疾病, 需要依赖NTBC药物来维持肝脏功能。停止NTBC治疗后6~8周, 动物会全部死亡^[27]。移植hiHep细胞可以使40%的Fah^{-/-}小鼠在停止NTBC后仍然存活。我们进一步验证了hiHep细胞能否治疗刀豆蛋白诱导的急性肝衰竭小鼠^[28]。我

们用海藻酸钠-聚左赖氨酸-海藻酸钠形成的半透膜微囊包裹hiHep细胞来防止免疫排斥, 并维持物质交换。移植了hiHep细胞的14只急性肝衰竭小鼠中, 有5只完全康复; 而移植成纤维细胞或者HepG2肝癌细胞的对照组全部死亡。

在我们工作发表的同时, 其他实验室也报道了从人类成纤维细胞转变为具有功能的肝细胞的方法^[29-30]。今后可以通过转分化产生病人自体来源的功能肝细胞进行早期药物毒性研究、药物筛选以及细胞移植治疗, 这可以很大程度上解决肝供体不足以及不同个体表观遗传上的差异问题, 从而增强临床治疗效果^[5]。

3 展望

终末分化细胞基因表达、形态和功能的稳定维持对于高等动物保持组织器官的稳态和功能极为重要。这个相对稳定状态的维持需要多种机制的协同作用, 以防止细胞命运的转变。研究肝细胞癌化发生早期的信号通路, 有助于了解细胞癌化的机制, 从而发现有效防止肝癌发生的方法。利用转分化手段改变细胞命运而产生的hiHep细胞, 可作为实验模型研究细胞命运维持的机制, 也可用于肝脏疾病的研究模型或者晚期肝脏疾病的治疗手段。最后, 我们认为癌化和转分化两个细胞命运转变过程, 可能存在一些共同的调控机制。譬如, p53的激活可以抑制转分化和细胞癌化的发生。能否在此共同调控机制的基础上, 灵活地控制细胞命运的转变, 将有待科学家们后续的研究。

参考文献 (References)

- 1 Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: How the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet* 2003; 33 Suppl: 245-54.
- 2 Yamanaka S, Blau HM. Nuclear reprogramming to a pluripotent state by three approaches. *Nature* 2010; 465(7299): 704-12.
- 3 Vierbuchen T, Wernig M. Direct lineage conversions: Unnatural but useful? *Nat Biotechnol* 2011; 29(10): 892-907.
- 4 Holmberg J, Perlmann T. Maintaining differentiated cellular identity. *Nat Rev Genet* 2012; 13(6): 429-39.
- 5 Cherry AB, Daley GQ. Reprogramming cellular identity for regenerative medicine. *Cell* 2012; 148(6): 1110-22.
- 6 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144(5): 646-74.
- 7 He G, Karin M. NF-kappaB and STAT3 key players in liver inflammation and cancer. *Cell Res* 2011; 21(1): 159-68.
- 8 Nikolaou K, Tsagaratou A, Eftychi C, Kollias G, Mosialos

- G, Talianidis I. Inactivation of the deubiquitinase CYLD in hepatocytes causes apoptosis, inflammation, fibrosis, and cancer. *Cancer Cell* 2012; 21(6): 738-50.
- 9 Bettermann K, Vucur M, Haybaeck J, Koppe C, Janssen J, Heymann F, *et al.* TAK1 suppresses a NEMO-dependent but NF-kappaB-independent pathway to liver cancer. *Cancer Cell* 2010; 17(5): 481-96.
- 10 Kang TW, Yevsa T, Woller N, Hoenicke L, Wuestefeld T, Dauch D, *et al.* Senescence surveillance of pre-malignant hepatocytes limits liver cancer development. *Nature* 2011; 479(7374): 547-51.
- 11 Min L, He B, Hui L. Mitogen-activated protein kinases in hepatocellular carcinoma development. *Semin Cancer Biol* 2011; 21(1): 10-20.
- 12 Hui L, Zatloukal K, Scheuch H, Stepniak E, Wagner EF. Proliferation of human HCC cells and chemically induced mouse liver cancers requires JNK1-dependent p21 downregulation. *J Clin Invest* 2008; 118(12): 3943-53.
- 13 Eferl R, Ricci R, Kenner L, Zenz R, David JP, Rath M, *et al.* Liver tumor development: c-Jun antagonizes the proapoptotic activity of p53. *Cell* 2003; 112(2): 181-92.
- 14 Min L, Ji Y, Bakiri L, Qiu Z, Cen J, Chen X, Chen L, *et al.* Liver cancer initiation is controlled by AP-1 through SIRT6-dependent inhibition of survivin. *Nat Cell Biol* 2012; 14(11): 1203-11.
- 15 Hengstler JG, Brulport M, Schormann W, Bauer A, Hermes M, Nussler AK, *et al.* Generation of human hepatocytes by stem cell technology: Definition of the hepatocyte. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2005; 1(1): 61-74.
- 16 Dhawan A, Puppi J, Hughes RD, Mitry RR. Human hepatocyte transplantation: Current experience and future challenges. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7(5): 288-98.
- 17 Ji S, Zhang L, Hui L. Cell fate conversion: Direct induction of hepatocyte-like cells from fibroblasts. *J Cell Biochem* 2013; 114(2): 256-65.
- 18 Huang P, He Z, Ji S, Sun H, Xiang D, Liu C, *et al.* Induction of functional hepatocyte-like cells from mouse fibroblasts by defined factors. *Nature* 2011; 475(7356): 386-9.
- 19 Sekiya S, Suzuki A. Direct conversion of mouse fibroblasts to hepatocyte-like cells by defined factors. *Nature* 2011; 475(7356): 390-3.
- 20 Yu B, He ZY, You P, Han QW, Xiang D, Chen F, *et al.* Reprogramming fibroblasts into bipotential hepatic stem cells by defined factors. *Cell Stem Cell* 2013; 13(3): 328-40.
- 21 Tiscornia G, Vivas EL, Belmonte JC. Diseases in a dish: Modeling human genetic disorders using induced pluripotent cells. *Nat Med* 2011; 17(12): 1570-6.
- 22 Pang ZP, Yang N, Vierbuchen T, Ostermeier A, Fuentes DR, Yang TQ, *et al.* Induction of human neuronal cells by defined transcription factors. *Nature* 2011; 476(7359): 220-3.
- 23 Qiang L, Fujita R, Yamashita T, Angulo S, Rhinn H, Rhee D, *et al.* Directed conversion of Alzheimer's disease patient skin fibroblasts into functional neurons. *Cell* 2011; 146(3): 359-71.
- 24 Nam YJ, Song K, Luo X, Daniel E, Lambeth K, West K, *et al.* Reprogramming of human fibroblasts toward a cardiac fate. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(14): 5588-93.
- 25 Huang P, Zhang L, Gao Y, He Z, Yao D, Wu Z, *et al.* Direct reprogramming of human fibroblasts to functional and expandable hepatocytes. *Cell Stem Cell* 2014; 14(3): 370-84.
- 26 Graf T, Enver T. Forcing cells to change lineages. *Nature* 2009; 462(7273): 587-94.
- 27 He Z, Zhang H, Zhang X, Xie D, Chen Y, Wangenstein KJ, *et al.* Liver xeno-repopulation with human hepatocytes in Fah^{-/-} Rag2^{-/-} mice after pharmacological immunosuppression. *Am J Pathol* 2010; 177(3): 1311-9.
- 28 Tiegs G, Hentschel J, Wendel A. A T cell-dependent experimental liver injury in mice inducible by concanavalin A. *J Clin Invest* 1992; 90(1): 196-203.
- 29 Zhu S, Rezvani M, Harbell J, Mattis AN, Wolfe AR, Benet LZ, *et al.* Mouse liver repopulation with hepatocytes generated from human fibroblasts. *Nature* 2014; 508(7494): 93-7.
- 30 Du Y, Wang J, Jia J, Song N, Xiang C, Xu J, *et al.* Human hepatocytes with drug metabolic function induced from fibroblasts by lineage reprogramming. *Cell Stem Cell* 2014; 14(3): 394-403.