

## 干细胞专题

## 干细胞研究进展消息

干细胞是人体及其各种组织细胞的最初来源,具有高度自我复制、高度增殖和多向分化的潜能。干细胞研究正在向现代生命科学和医学的各个领域交叉渗透,干细胞技术也从一种实验室概念逐渐转变成能够看得见的现实。干细胞研究已成为生命科学中的热点。鉴于此,本刊就干细胞的最新研究进展情况设立专栏,为广大读者提供了解干细胞研究的平台。

**Stem Cell Reports: 胰腺祖细胞移植和抗糖尿病药物治疗II型糖尿病小鼠**

加拿大英属哥伦比亚大学的Timothy Kieffer博士和Janssen公司合作,联合使用hESC分化的胰腺祖细胞移植和抗糖尿病药物,治疗II型糖尿病小鼠,使其体重和葡萄糖新陈代谢得到了有效控制。研究结果发表在近期*Stem Cell Rep*上。

II型糖尿病占糖尿病患者的90%~95%,hESC分化的胰腺祖细胞可以有效逆转I型糖尿病小鼠的高血糖症,但其对II型糖尿病的功效尚不清楚。

研究人员为SCID小鼠提供了高脂肪饮食(high-fat diet, HFD),从而诱发肥胖、对胰岛素的低反应性以及高血糖,建立了II型糖尿病模型,随后向其移植hESC分化的胰岛素祖细胞。移植细胞在小鼠体内成熟为分泌胰岛素的 $\beta$ 细胞,从而改善小鼠的葡萄糖耐受;但其对高血糖症和肥胖改善效果有限。另一组试验中,细胞移植结合抗糖尿病药物可以快速降低小鼠的体重,并明显改善它们的葡萄糖新陈代谢。

科研人员希望干细胞移植可以代替胰岛素,配合传统药物,治疗I型和II型糖尿病患者。

Bruin JE, Saber N, Braun N, Fox JK, Mojibian M, Asadi A, *et al.* Treating diet-induced diabetes and obesity with human embryonic stem cell-derived pancreatic progenitor cells and antidiabetic drugs. *Stem Cell Reports* 2015; 4(4): 605-20.

**Nature: 打破造血干细胞休眠状态引起DNA损伤**

德国海德堡干细胞技术与实验医学gGmbH研究所等单位的研究人员发现,频繁打破HSC休眠状态是引起DNA损伤的一个主要因素,该研究成果发表在*Nature*杂志上。

HSC负责产生血细胞,正常情况下处于一种静

息状态,免受DNA损伤,避免过早老化。HSC不断积累DNA损伤是老化的标志,也可能是导致年龄相关的组织退化和恶性转化的驱动因素。一些加速老化综合征与有缺陷的DNA修复和基因不稳定有关,包括最常见的遗传性骨髓衰竭综合征、范可尼贫血症(Fanconi anaemia, FA)。但是,健康人和患者的DNA损伤来源尚不清楚。

该研究发现,在诸如慢性失血或感染等生理应激条件下,HSC退出其稳定的静息状态,进入快速的细胞分裂状态,以生成新的血细胞并修复受损组织。过程中,DNA损伤的几率大幅提高。

反复激活HSC使其退出休眠状态,会激发正常HSC的消耗,不能有效修复损伤,干细胞癌变的可能性增大;而在一种早衰小鼠模型中DNA修复通路功能障碍,会导致造血系统的全面崩溃,重演了FA患者高渗透性骨髓衰竭的病程,能帮助研究这一疾病的发生机制,以及开发新的治疗方法。

该研究揭示了生理应激和正常HSC的DNA损伤的关联,解释了HSC老化过程中普遍的DNA损伤积累以及加速FA患者造血系统崩溃的机理。

Walter D, Lier A, Geiselhart A, Thalheimer FB, Huntscha S, Sobotta MC, *et al.* Exit from dormancy provokes DNA-damage-induced attrition in haematopoietic stem cells. *Nature* 2015; 520(7548): 549-52.

**Sci Rep: 利用iPSC技术建立心脏微生理系统进行药物筛选**

美国加州大学伯克利分校的科研人员使用iPSC技术,生产芯片心脏(heart-on-a-chip),可用于药物筛选。该研究成果发表于*Sci Rep*上。

一直以来,科研人员在药物研发过程中依赖动物模型,而动物模型不能很好地再现人体生理学,致

使成功率很低。约1/3的研究因为药品对心脏的毒性(cardiotoxicity)而被撤回,因此,急需研发出预测药品对心脏毒性的体系。

科研人员开发的芯片心脏——MPS(microphysiological system)通过3D仿生技术,使iPSC分化的心肌细胞自组织形成平行的3D $\mu$ -tissue。研究人员强调,MPS具有以下适用于药物测试应用的属性:(1)拥有人类遗传背景的细胞;(2)生理学相关的组织结构(例如细胞排列组);(3)模拟人类脉管系统的灌注(可预测可计算);(4)多种模式的分析(生物学、电子生理学和生理学)。

MPS可以在几周内保持可行性和功能性,可供各种药物测试。研究人员通过监测心脏细胞对4个常用心血管药物:异丙肾上腺素、e-4031、维拉帕米、美托洛尔的反应,来检验这个系统。

研究人员指出,MPS可用于模拟人类遗传疾病或监测个体对药物的反应,显著提高预测药物功效和毒性的体外研究的效率,节约时间,减少新药研发上市的成本。

Mathur A, Loskill P, Shao K, Huebsch N, Hong S, Marcus SG, *et al.* Human iPSC-based cardiac microphysiological system for drug screening applications. *Sci Rep* 2015; 5: 8883.

### **Sci Rep: iPSC诱导分化为浦肯野细胞**

首都医科大学宣武医院细胞生物室陈志国教授课题组在国际上首次将人iPSC诱导分化成为成熟具有电生理活性的浦肯野细胞(Purkinje cell),研究成果发表在*Sci Rep*上。

浦肯野细胞位于小脑浦肯野细胞层,在人体运动协调中发挥重要作用。浦肯野细胞损伤是小脑共济失调的主要病因之一。

课题组尝试将遗传性共济失调患者的皮肤成纤维细胞重编程为iPSC,然后经胶原酶处理,重悬为EBs(embryoid bodies)样细胞团,每日添加Fgf2和insulin,激活内源性Wnt1和Fgf8的产生,使其向mid-brain-hindbrain-boundary(MHB)组织分化。第7~10 d,添加Shh抑制剂cyclopamine,第10 d挑选细胞团进行贴壁培养,形成神经细胞的玫瑰结(rosette)结构。使用流式细胞术分选Neph3<sup>+</sup>浦肯野前体细胞,通过与大鼠脑切片共培养,获得了成熟的人浦肯野细胞。

该研究成果为研究浦肯野细胞的功能,揭示小

脑共济失调类疾病的发病机制奠定了有力的基础,也为浦肯野细胞损伤和退行性疾病的细胞移植治疗带来了希望。

Wang S, Wang B, Pan N, Fu L, Wang C, Song G, *et al.* Differentiation of human induced pluripotent stem cells to mature functional Purkinje neurons. *Sci Rep* 2015; 5: 9232.

### **eLife: 多能干细胞分化产生3D肺类器官**

美国密歇根医学院大学等单位的科学家们诱导干细胞形成一种仿人体肺的3D结构——人肺类器官(human lung organoids, HLOs),有助于科学家们研究肺部疾病、探索新疗法。该研究发表在*eLife*上。

近来,科学家利用3D类器官培养技术,建立了多种能模拟复杂组织、器官的体外模型,用于器官发育和病理研究。此次研究中,科研人员将人ESC和iPSC逐步分化培养为HLOs。

研究人员对负责肺形成的几个信号通道进行了操控。首先,诱导干细胞形成内皮层,接着激活了FGF和HH信号通路,使内皮层形成3D组织,同时抑制了BMP和TGF $\beta$ 信号通路,使内皮层发育成泪肺相似的组织。随后,这一组织在实验室内发育成三维球形结构,最后,通过让其与肺部发育有关的蛋白质接触,这些结构最终发育成肺部组织,其中有类似大气道(支气管)和小肺囊(肺泡)的结构。而且,得到的HLOs在实验室存活了100多天。

由于HLOs是在培养皿中发育而成,缺乏人体肺部的几个关键组件,包括在呼吸过程中对气体交换至关重要的血管等。即便如此,这种类器官仍可作为研发工具,进行相关的发育、突变和疾病研究。

Dye BR, Hill DR, Ferguson MA, Tsai YH, Nagy MS, Dyal R, *et al.* *In vitro* generation of human pluripotent stem cell derived lung organoids. *Elife* 2015; doi: 10.7554/eLife.05098.

### **Nature: Sox9控制干细胞的可塑性和细胞分化**

美国洛克菲勒大学的科研人员发现,蛋白Sox9主导控制了干细胞的可塑性,为激活毛囊中与干细胞身份相关的基因奠定了基础。这项研究发表于*Nature*杂志上。

在此项研究中,以毛囊干细胞为模型,科研人

员进行了核染色质免疫沉淀和ChIP-seq检测, 鉴别出了377个super-enhancers。其中, 一些super-enhancers特异性地在处于niche的干细胞中激活, 而另一些在损伤过程中特异性地开启。毛囊干细胞通过转换super-enhancers/epicentres, 可以适应不同的环境, 向新的方向分化。

深入研究发现, 一些关键super-enhancers控制了这些转换, Sox9是能够启动这样的基因表达动态改变的先锋因子之一。首先, Sox9使得干细胞需要的一些基因容易被接近, 因此它们能够活化。随后, Sox9招募其他蛋白协同作用推动干性基因, 放大了它们的表达。没有Sox9, 这一过程不会发生, 毛囊干细胞无法存活。

这表明, Sox9不仅控制干细胞分化, 而且其激活超级增强子放大了与干性相关的基因; 使人们重新认识了干细胞在过渡状态时选择命运和维持多能性的方式。

Adam RC, Yang H, Rockowitz S, Larsen SB, Nikolova M, Oristian DS, *et al.* Pioneer factors govern super-enhancer dynamics in stem cell plasticity and lineage choice. *Nature* 2015; Doi: 10.1038/nature14289.

### **Cell Stem Cell: lncTCF7介导Wnt信号促进肝癌干细胞的自我更新**

中科院生物物理研究所的研究人员发现, 长链非编码RNA lncTCF7通过激活Wnt信号促进人类肝癌干细胞自我更新。该研究发表在*Cell Stem Cell*杂志上。

肝癌是世界范围内常见的恶性肿瘤之一。癌症干细胞(cancer stem cells, CSCs)被认为是癌症发生、复发、转移以及对治疗的耐受相关。近期报道发现, lncRNA能够调控干细胞的自我更新和谱系分化。

研究人员利用转录组芯片进行分析, 鉴别出lncTCF7在肝癌肿瘤和肝癌干细胞中高水平表达。lncTCF7是肝癌干细胞自我更新和肿瘤增殖的必要条件。机制研究证实, lncTCF7将SWI/SNF复合物招募至TCF7启动子处调控了它的表达, 导致了Wnt信号激活。这些数据表明, lncTCF7介导Wnt信号促进了肝癌干细胞自我更新和肿瘤增殖。

此项研究鉴别出了一条基于lncRNA、提高肝

癌干细胞致癌活性的Wnt信号调控回路, 突显了lncRNAs在肿瘤生长和增殖中的重要作用。

Wang Y, He L, Du Y, Zhu P, Huang G, Luo J, *et al.* The long noncoding RNA lncTCF7 promotes self-renewal of human liver cancer stem cells through activation of Wnt signaling. *Cell Stem Cell* 2015; 16(4): 413-25.

### **Science: 老化线粒体的不对称分配是保持细胞干性的必要条件**

美国MIT的科学家领导的一项研究发现, 干细胞在分裂的时候能够区分老化和年轻的线粒体, 并将它们不对称地分配给子细胞。变为干细胞的子细胞只分到极少的老化线粒体, 或许揭示了干细胞抗老化的机制。研究成果发表在近期的*Science*杂志上。

不对称细胞分裂是干细胞的标志, 干细胞分裂会生成一个干细胞和一个分化的细胞。细胞内容物的不对称分配可能是干细胞防止损伤累积的一种机制。但是哺乳动物的相关研究罕有报道。

此项研究中, 研究人员对类似干细胞的永生生化人乳腺上皮细胞进行了研究。用荧光蛋白选择性标记老化的细胞器, 如线粒体、溶酶体、高尔基体、核糖体和染色质, 在细胞分裂过程中追踪其命运。研究显示, 永生生化乳腺上皮细胞将大部分老化线粒体传递给要分化的子细胞。这些细胞中的老化线粒体大约是保持干性子细胞的6倍; 新产生的干细胞则只接收年轻线粒体。正常上皮细胞会将这些组分对称分配给子细胞。

线粒体对干细胞颇为重要, 但干细胞如何区分新老线粒体的机制还不清楚。进一步研究显示, 用化合物干扰细胞的线粒体质量控制机制, 会阻止老化线粒体和年轻线粒体的不对称分配, 导致子细胞丧失干细胞特征。这些结果说明, 干细胞分裂过程中老化线粒体的不对称分配的研究或许能抵抗为干细胞耗竭和老化提供思路。

Katajisto P, Döhla J, Chaffer C, Pentimikko N, Marjanovic N, Iqbal S, *et al.* Asymmetric apportioning of aged mitochondria between daughter cells is required for stemness. *Science* 2015; 348(6232): 340-3.