

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。

Nature: Niche诱导细胞死亡和上皮细胞内吞调节毛囊干细胞池

美国耶鲁医学院的Valentina Greco领导的研究小组发现,组织退化涉及niche诱导的干细胞凋亡和上皮细胞内吞的综合作用。研究发表在近期的*Nature*杂志上。

组织的稳态是通过细胞产生(生长)和消灭(退化)的平衡维持的。相对于细胞生长,细胞退化相关的细胞和分子通路尚未查明。

研究人员使用小鼠毛囊来研究生理性组织退化。毛囊在生长和退化之间规律地循环,同时维持一组用于再生的干细胞。对活小鼠体内荧光显微观察发现,大多数上皮细胞在退化期是通过两种不同机制清除的,鳞状细胞的终末分化和基底细胞的空间梯度凋亡。另外观察到,基底上皮细胞可作为吞噬细胞,清理周围失去活力的上皮细胞。通过细胞和基因消除,证明上皮细胞的死亡是通过外源的TGF- β 活化和间叶细胞串扰(mesenchymal dermal papilla crosstalk)诱导的。

最引人注意的是,研究数据显示,退化的作用是缩小干细胞池,因为抑制退化产生了过量的具有再生能力的基底上皮细胞。退化是组织平衡的重要组成部分。该研究阐明了组织退化的细胞行为和分子机制。

Mesa KR, Rompolas P, Zito G, Myung P, Sun TY, Brown S, *et al.* Niche-induced cell death and epithelial phagocytosis regulate hair follicle stem cell pool. *Nature* 2015; 522(7554): 94-7.

Nat Cell Biol: 自噬和mTORC1调节细胞重编程

中科院广州生物医药与健康研究院的科研人

员发现,细胞重塑是重编程早期的必须事件,它来自重编程因子关闭mTORC1,而mTORC1关闭引发的自噬激活则阻碍重编程的发生。研究成果发表于*Nat Cell Biol*上。

多能干细胞和体细胞在结构上有许多不同,体细胞重编程为多能干细胞必然会涉及结构组成层面的细胞重塑。以往研究认为,自噬在重编程的细胞重塑中发挥关键作用,重编程在自噬缺失的细胞中无法发生。

研究人员发现,自噬的确在重编程中被强烈激活。但令人意外的是,阻断自噬之后细胞重塑和重编程依然可以发生,而且效率更高。这说明,自噬激活并不是介导细胞重塑和重编程的必须事件。出乎意料的是,自噬的激活对重编程非但不是必须,反而起阻碍作用。重编程在自噬缺失的细胞中不仅效率更高,而且获得的iPS细胞具有正常的多能性。研究人员进一步发现,自噬与细胞重塑无关,实际上mTORC1的关闭是细胞重塑发生的关键原因,其持续开启则阻断细胞重塑、线粒体代谢转变以及重编程的发生。

这一研究不仅阐明了重编程中细胞重塑的关键作用和调节机制,而且由于自噬和mTORC1参与细胞生长和代谢等过程,该成果还为相关代谢疾病的研究、治疗提供有力依据。

Wu Y, Li Y, Zhang H, Huang Y, Zhao P, Tang Y, *et al.* Autophagy and mTORC1 regulate the stochastic phase of somatic cell reprogramming. *Nat Cell Biol* 2015; 17: 715-25.

Cell: 采用单细胞转录组技术揭示静息神经干细胞的激活信号通路

上海同济医院干细胞研究团队采用单细胞转

录组技术(single-cell RNA-seq)首次揭示了室管膜静息态神经干细胞激活的信号通路。研究论文发表在近日*Cell*杂志上。

成体神经发生主要存在于脑内两个狭小的区域:侧脑室的室管膜下区和海马齿状回颗粒下区。成体神经干细胞数量稀少,所处环境复杂,使得在体识别、解析成体神经干细胞的分子特征及示踪成体干细胞的谱系面临巨大的挑战。

研究小组采用single-cell RNA-seq分析技术和权重基因共表达网络分析技术(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)研究成年小鼠前脑神经发生区的神经干细胞。研究发现,整个中枢神经系统室管膜区域存在丰富的CD133+/GFAP-神经干细胞, VEGF和bFGF可以促进这些神经干细胞的谱系分化和迁移。

本研究揭示了室管膜区也存在丰富的静息态神经干细胞。而single-cell RNA-seq技术首次成功用于单个体细胞的研究,为临床细胞治疗等精准医学构建了必要技术体系。

Luo Y, Coskun V, Liang A, Yu J, Cheng L, Ge W, *et al.* Single-cell transcriptome analyses reveal signals to activate dormant neural stem cells. *Cell* 2015; 161(5): 1175-86.

Nat Commun: March5调控小鼠胚胎干细胞干性

中科院天然免疫与慢性疾病重点实验室及中科大生命科学学院吴緬教授研究组和安徽医科大学第二附属医院缪琳副教授合作,揭示了March5线粒体蛋白参与胚胎干细胞干性维持的新机制。相关研究成果发表于*Nat Commun*上。

胚胎干细胞因具有分化为体内所有细胞类型的潜能,被认为具有极大的临床应用价值。目前越来越多的证据表明,胚胎干细胞的多能性受到外部因子和内部因子的共同调控,但其中的机制仍未完全阐明。

研究人员发现, E3泛素连接酶March5在维持小鼠胚胎干细胞多能性方面发挥重要作用。他们在小鼠胚胎干细胞中敲低March5,会导致mESC从未分化的多能性状态向分化状态转变,随后的机制研究发现, March5作为Klf4的下游转录靶蛋白,催化蛋白激酶PKA的负调节亚基Prkar1a,使之发生K63位多聚泛素化,进而激活PKA,最终抑制Raf/MEK/ERK

信号通路,以此来维持胚胎干细胞的干性。

这一研究结果揭示了Klf4-March5-ERK信号通路调控干细胞干性的全新机制,对于了解胚胎干细胞干性维持机制及开发胚胎干细胞应用潜能具有重要意义。

Gu H, Li Q, Huang S, Lu W, Cheng F, Gao P, *et al.* Mitochondrial E3 ligase March5 maintains stemness of mouse ES cells via suppression of ERK signaling. *Nat Commun* 2015; 6: 7112.

J Neurosci: 小鼠海马中发现新型干细胞

澳大利亚昆士兰脑研究所的研究人员在小鼠海马中发现两种新型干细胞,并进行分离纯化。研究结果发表于近期*J Neurosci*上。

大脑中新神经元的生成是学习和认知功能所必不可少的。以前这些神经元被认为是相同的,所以人们不理解海马区域是如何调节与行为不同的学习和情绪的。

研究人员开发了新的细胞分选和DNA技术,对小鼠海马中的静息神经干细胞进行分离纯化,并测试其对不同刺激的应答。研究发现,这些干细胞的主体是Hes5⁻GFP⁺/Nestin⁻GFP⁺/EGFR⁺细胞,其中一种可被高浓度KCl去极化直接激活,另一种可被去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)激活。研究表明,这两种细胞分别沿着海马septotemporal axis不同位置分布。NE激活的干细胞受GABA选择性调控,而KCl激活的干细胞受皮质酮(corticosterone)选择性调节。根据RNAseq分析,两种干细胞产生的子代细胞分子结构完全不同。

该研究表明,海马不同区域有不同的神经干细胞,由不同的机制激活,并生成基因表达不同的神经细胞。由此,我们可以深入探究海马内的不同区域控制空间学习与情绪的细胞、分子机制。

Jhaveri DJ, O'Keefe I, Robinson GJ, Zhao QY, Zhang ZH, Nink V, *et al.* Purification of neural precursor cells reveals the presence of distinct, stimulus-specific subpopulations of quiescent precursors in the adult mouse hippocampus. *J Neurosci* 2015; 35(21): 8132-44.

Cell Rep: 单个转录因子将血液细胞转化为神经干细胞

加拿大McMaster大学的一个研究小组能够直

接把人的血液细胞转化为诱导神经干细胞(induced neural progenitor cell, iNPC), 并进一步分化为中枢神经系统神经元以及周围神经系统神经元。研究结果发表在近期*Cell Rep*上。

细胞直接转化技术在再生医疗领域具有广阔的前景, 但前提是细胞的采集、储藏和转化操作简便易行。

研究小组分别采集了新生儿脐血和成人的外周血, 表达CD34, 慢病毒转入OCT4单因子。2 d后用重编程培养基添加bFGF培养5 d, 再换用神经干细胞培养基继续培养, 10~14 d后就可以得到神经干细胞的克隆球。收集克隆继续培养纯化。通过免疫组化方法证实, 血液转化得到的iNPC表达神经干细胞相关标记PAX6、NESTIN、SOX2和CD133, 而且连续传代也不会丢失; 不表达多能干细胞标记TRA1-60和SSEA3, 保障其在临床应用中的安全性。5万个血细胞可以获得约12个iNPC克隆, 10代可以获得 10^{12} 的神经干细胞, 满足临床应用的需求。

不像成纤维细胞具有和神经嵴相同的分子标记, 血液细胞来自中胚层, OCT4重编程借助SMAD+GSK-3抑制, 跨越了神经细胞转化的限制。血液来源的iNPC可在体外定向分化产生胶质细胞(星形胶质细胞和少突胶质细胞)和多种神经元, 包括中枢神经系统的多巴胺能神经元和外周神经系统的痛感神经元。

研究人员认为, 这种革新性的导向转化技术具有很好的应用前景, 有助于为神经性病变的患者提供个性化或定制化的药物治疗方案。

Lee JH, Mitchell RR, McNicol JD, Shapovalova Z, Laronde S, Tanasijevic B, *et al.* Single transcription factor conversion of human blood fate to NPCs with CNS and PNS developmental capacity. *Cell Rep* 2015; 11(9):1367-76.

Cell Stem Cell: 干细胞衰老与性别

美国斯坦福大学的研究人员通过对干细胞衰老和性别差异进行研究, 揭示了男性和女性随着机

体老化而表现出的再生能力下降的差异。研究结果发表在近期*Cell Stem Cell*上。

女性一般更为长寿, 但目前并不清楚其中原因。衰老的一个标志是干细胞功能衰退。科学家着手研究不同性别的干细胞衰老是否有差异, 是否与寿命相关。

有研究发现, 太监的寿命比普通男性延长14年; 补充雌激素可以延长雄性小鼠的寿命。比起雄鼠, 雌鼠的造血干细胞由于雌激素信号通路的作用, 更加丰富、有活力; 由于雌激素作用, 妊娠期内造血干细胞的数量和增殖上升。神经干细胞也有类似情况, 雌激素水平特别高的发情期, 神经干细胞的增殖达到峰值。雌激素也能促进神经干细胞的体外增殖。其他研究也表明, 雌性动物在损伤修复、肝再生等方面有优势。因此, 雌性具有较强的干细胞自我更新、再生及增殖的能力。

随着年龄增长, 许多干细胞的自我更新能力下降。研究发现, 敲除小鼠机体不同基因的表达会增加某一性别个体的长寿效应, 而对另一性别并无影响。对一组龙凤胎的研究表明, 男性细胞的端粒较短, 端粒较短就意味着细胞寿命较短。科学家猜想, 雌性机体提供的环境更适于干细胞自我更新能力的维持。

研究者推测关联干细胞和寿命的机制, 一是对DNA修复和ROS(reactive oxygen species)的性别特异性调控; 另一个有可能涉及到‘pro-longevity’转录因子FOXO3。还有一个可能是关于端粒酶, 雌激素可以通过雌激素受体调节的TERT转录, 直接激活端粒酶。

干细胞维持对组织再生非常重要, 干细胞衰老的性别差异又与寿命相关。但相关的直接研究十分有限。总之性别是改善机体老化及维持机体干细胞再生的重要因素。

Dulken B, Brunet A. Stem cell aging and sex: Are we missing something? *Cell Stem Cell* 2015; 16(6): 588-90.

朱丽华 整理