

## 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,本刊将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。

## 近期国外干细胞研究进展

**Nat Methods: 获取非整合型人类iPSC的新方法**

来自日本京都大学iPS细胞研究与应用中心、RIKEN等处的研究人员发现了一种获得非整合型(integration-free)人类iPS细胞的更有效方法,这种方法可能更适合用于未来自体或同种干细胞治疗。这一研究成果公布在*Nature Methods*杂志在线版上。

研究人员使用p53抑制因子,结合非转化*L-Myc*基因,获得带有质粒载体的iPSC。研究人员从多个供体获得了iPS细胞,包括2个主要HLA基因座与约20%日本人口匹配的白血球抗原(HLA)同型接合型供体,多数iPS细胞为非整合型的。这种方法可产生iPS细胞将来用于自体或同种异体的干细胞治疗。

Okita K, Matsumura Y, Sato Y, Okada A, Morizane A, Okamoto S, *et al.* A more efficient method to generate integration-free human iPS cells. *Nat Methods* 2011; 8(5): 409-12.

**PNAS: 小鼠皮肤细胞直接转化成神经干细胞**

美国戴维·格拉斯通研究所的科学家丁盛报告称,通过细胞重组技术,对现有的诱导多功能干细胞(iPS细胞)技术进行改进,将小鼠皮肤细胞直接转化成神经干细胞,新方法在再生医学领域具有重要的应用潜力。相关研究发表于《美国国家科学院院刊》上。

诱导多能性技术可产生分化细胞用于细胞治疗和药物开发。但需要对体细胞进行重编程得到iPS细胞再分化。这个过程艰难而费时,丁盛领导的团队试图证明体细胞可一步转化为另一胚层特定的细胞系干/祖细胞,略过中间的多能状态。

科研人员运用4个重编程因子(Oct4、Sox2、Klf4和*c-Myc*),输入适当信号,高效地将成纤维细胞转分化为功能性神经元干/祖细胞(NPCs)。比起诱导的神经元(iN细胞,直接从成纤维细胞转化而来),转分化的

NPCs有特殊的优势:可在体外分化,保留产生多种神经元亚型和胶质细胞的能力。研究结果提供了一个特殊的iPS因子为基础的重编程范例,经过简单的改良可作为转分化的通用平台。

Kim J, Efe JA, Zhu S, Talantova M, Yuan X, Wang S, *et al.* Direct reprogramming of mouse fibroblasts to neural progenitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(19): 7838-43.

**Genome Res: 多能性控制片段(PluCRs)的基因组研究**

干细胞也有一个“决定”过程,选择自己是变成某种特殊类型的细胞,还是继续保持“多能”的灵活性。美国布朗大学研究人员发明了一种名为MEGA转换的技术,能分析关键转录因子的相互作用,有助于再生医学研究更好地理解干细胞的“多能性”。该研究近日发表在《基因组研究》杂志网站上。

全能性控制片段(PluCRs)被定义为体内与POU5F1、SOX2、NANOG结合的基因组片段。采用高通量结合实验,记录这些PluCRs中超过270 000种不同的DNA/蛋白质结合测定以及增加的DNA平铺窗口。这种高解析度图,用于系统定义POU因子结合的环境,揭示多能性网络中协同和竞争模式。最突出的模式是一个普遍的POU5F1和翼状转录因子之间结合的竞争。POU5F1与竞争对手POU2F1蛋白都能和一种8个字母的DNA序列相结合。但哪种蛋白先结合,会影响到一个干细胞是分化还是保持多能态。利用新技术进行的实验显示,一种名为SOX2的蛋白是决定因素,该蛋白能帮助这两种蛋白与DNA序列结合,但它对POU2F1的帮助比对POU5F1更大。

Ferraris L, Stewart AP, Kang J, Desimone AM, Gemberling M, Tantin D, *et al.* Combinatorial binding of transcription factors in the pluripotency control re-

gions of the genome. *Genome Res* 2011; doi:10.1101/gr.115824.110.

### **Cell Stem Cell: 神经嵴干细胞在运动神经元形成中的关键作用**

Sanford-Burnham研究院的Alexey Terskikh研究小组发现神经嵴干细胞具有通过表达SOX2来获得形成周围神经系统神经原细胞的潜能, 结果发表在5月5日*Cell Stem Cell*在线版上, 这一研究结果有助于神经嵴或神经元受损引起的疾病研究。

科研人员使用胚胎干细胞模型发现, 发育中的神经系统干细胞始于SOX2, 但是迁移神经嵴细胞的阶段丢失。之后, 神经嵴干细胞聚集, 在转化为神经元之后SOX2得以恢复。SOX2-free的神经嵴干细胞分化成其他类型的细胞, 但不会分化为神经元。研究人员认为SOX2的功能之一就是保持细胞的多/全能性, 该发现对神经嵴干细胞发育和干细胞分化研究有裨益。

Cimadamore F, Fishwick K, Giusto E, Gnedeva K, Cattarossi G, Miller A, *et al.* Human ESC-derived neural crest model reveals a key role for SOX2 in sensory neurogenesis. *Cell Stem Cell* 2011; 8(5): 538-51.

### **Cell Stem Cell: 神经干细胞消耗造成年龄相关性认知衰退**

美国冷泉港实验室的一项新研究解释了随着年龄增长, 大脑内的成人干细胞储存萎缩, 产生的神经元越来越少, 造成年龄相关性认知衰退的原因。这项研究作为封面故事刊登在5月6日出版的*Cell Stem Cell*上。

成年海马随着年龄增长, 新生神经元产量下降, 这种下降可能引起年龄相关性认知障碍。研究表明, 由于分裂, 神经干细胞池连续损耗, 可能造成年龄相关性海马神经形成下降。我们的研究表明, 成年海马干细胞, 退出静止状态后迅速进行一系列不对称分裂分化为神经元, 随后转化为成熟的星形胶质细胞。因此, 神经干细胞数量减少是一个分裂-伴随过程, 直接关系到产生的新生神经元数量。成年海马神经形成过程示意图中包含一种“一次性干细胞”模型, 解释了海马神经干细胞消失、新生星形胶质细胞出现和新生神经元年龄相关性减少之间的联系。

Encinas JM, Michurina TV, Peunova N, Park JH, Tordo J, Peterson DA, *et al.* Division-coupled astrocytic differentiation and age-related depletion of neural stem cells in the adult hippocampus. *Cell Stem Cell* 2011; 8(5): 566-79.

### **N Engl J Med: 肺干细胞的发现**

已首次确认可自我更新的人体肺干细胞, 来自经由外科分离的成人肺组织, 或许能够为治疗慢性肺病提供帮助。先前一些研究显示, 研究人员可以借助人体胚胎干细胞培育肺细胞。不过, 这次获得确认的是肺干细胞。最新研究成果论文刊载于美国《新英格兰医学杂志》周刊。

论文作者之一、美国布里格姆再生药物研究中心负责人皮耶罗·安韦萨告诉记者, 这项研究第一次描述了真正的肺干细胞, 这一干细胞的发现向慢性肺病患者提供了潜在的治疗选择, 可使肺部再生或修复肺部受损区域。之所以称这次发现的细胞为真正肺干细胞, 是因为这些细胞可以自我更新、形成各种不同形式的肺细胞。

Kajstura J, Rota M, Hall SR, Hosoda T, D'Amario D, Sanada F, *et al.* Evidence for human lung stem cells. *N Engl J Med* 2011; 364(19): 1795-806.

### **Nature: iPS细胞的免疫排斥反应**

加州大学圣地亚哥分校的生物学家们发现iPS细胞在未来的干细胞疗法使用中可能面临免疫排斥反应问题。在*Nature*发表的研究报告中, 首次明确证实自体iPS细胞分化生成的多种组织移植至动物体内会产生快速的免疫排斥反应。

由于iPS细胞使用没有伦理问题, 且来源于自体细胞衍生, 许多科学家认为这些干细胞不会被免疫系统识别、攻击、清除, 即不会发生免疫排斥反应, 被视为干细胞治疗的希望。加州大学圣地亚哥分校的生物学家发现iPS细胞和胚胎干细胞一样出现了被免疫系统排斥的问题。科学家发现, 老鼠的免疫系统确实无法识别来自同一系小鼠胚胎干细胞衍生的细胞。但实验还表明, 免疫系统排斥小鼠成纤维细胞重编程的iPS细胞, 这和病人接受自体iPS细胞治疗情况类似。科学家还发现, iPS细胞的分化过程中基因表达异常会导致免疫反应。

研究人员徐洋表示, 这个结果并不意味着iPS细胞不能用于临床, iPS技术还需要进一步改良以尽量减少iPS细胞与胚胎干细胞之间的差异, 从而确保iPS细胞能够运用到人类疾病治疗中。在接下来的研究中, 研究团队将进一步检测确定畸胎瘤中的哪一类特异细胞在何种条件下启动了免疫排斥。

Zhao T, Zhang ZN, Rong Z, Xu Y. Immunogenicity of induced pluripotent stem cells. *Nature* 2011; doi:10.1038/nature10135.

### **PLoS One: iPS细胞与视网膜重建**

Schepens眼科研究所的科学家首次用皮肤获得的iPS细胞(诱导多能干细胞)重建大面积受损的视网膜并改善视觉功能。研究发表在本月的*PLoS One*上,可用于治疗年龄相关性黄斑变性/视网膜色素变性、糖尿病视网膜病变等其他疾病,给全球数百万视网膜疾病的治疗带来希望。

研究人员Tucker和Young采集红色荧光小鼠尾皮肤细胞。选用红色老鼠,因为红色的组织在移植到非荧光病鼠的眼睛后很容易追踪。在转入4个YA-MANAKA转录因子后,得到红色荧光iPS细胞,以及化学处理过的视网膜细胞前体。经过33天培养后,细胞移植到视网膜病变小鼠模型中。4~6周后,研究人员观察到移植的“红色”细胞已经定位在眼睛相应的视网膜区(感光层),并开始整合和组装成健康的有视力的视网膜组织。研究小组发现通过光线刺激新集成的感光细胞,可以在下游神经元检测到信号,而未治疗眼睛则没有观察到这个现象。

在此研究结果的基础上,研究小组认为来自皮肤的细胞对视网膜再生是一个巨大资源。下一步将考虑将此技术运用到大型动物的视网膜变性疾病模型,并最终将这项技术运用于人类临床试验。

Tucker BA, Park IH, Qi SD, Klassen HJ, Jiang C, Yao J, *et al.* Transplantation of adult mouse iPS cell-derived photoreceptor precursors restores retinal structure and function in degenerative mice. *PLoS One* 2011; 6(4): e18992.

### **近期国内干细胞研究进展消息**

#### **Cell Stem Cell: 四倍体胚胎补偿克隆动物出生率**

中国科学院上海生命科学研究院分子与细胞生物学研究所、扬州大学等处的研究人员确证了克隆胚胎发育失败的关键原因,进而通过修复其中缺陷,使克隆动物出生率提高了6倍,这对生命科学的核移植研究具有启示意义。报告发表于4月8日出版的*Cell Stem Cell*上。

研究人员采用了一种被称为四倍体胚胎补偿的技术,先将一个克隆胚胎与两个四倍体胚胎聚合在一起,发现聚合胚胎的出生率提高了2.6倍。这说明当克隆滋养外胚层嵌入具有正常功能的四倍体细胞后,克隆胎儿的发育率得到了明显的改善。又采用免疫手术法去掉克隆囊胚的滋养外胚层细胞,然后将分离出来的内细胞团细胞与两个四倍体胚胎进

行聚合,结果发现克隆动物的出生率提高了6倍。最后,研究人员又做了一个相反的实验,充分证明了克隆囊胚的滋养外胚层中存在重编程异常细胞,并能够影响胎儿的发育。

这一结果对核移植研究领域的发展具有重要的意义,也为提高动物克隆效率以及核移植技术在人口健康领域(治疗性克隆)的应用提供了重要的理论依据。

Lin J, Shi L, Zhang M, Yang H, Qin Y, Zhang J, *et al.* Defects in trophoblast cell lineage account for the impaired *in vivo* development of cloned embryos generated by somatic nuclear transfer. *Cell Stem Cell* 2011; 8(4): 371-5.

#### **Dev Biol: 果蝇肠上皮干细胞新的调节机制**

来自北京生命科学学院的研究人员发表了题为“EGFR, Wingless and JAK/STAT signaling cooperatively maintain *Drosophila* intestinal stem cells”的文章,报道了果蝇肠上皮干细胞新的调节机制,并进一步证明了环形肌作为微环境维系干细胞的重要作用。研究结果将发表在6月出版的*Developmental Biology*上。

研究发现EGFR信号通路对肠上皮干细胞的维持和更新起重要作用,人肠道肿瘤中发现EGFR通路的激活突变,该研究也将有助于理解肠道肿瘤等疾病的发生机制。

Xu N, Wang SQ, Tan D, Gao Y, Lin G, Xi R. EGFR, Wingless and JAK/STAT signaling cooperatively maintain *Drosophila* intestinal stem cells. *Dev Biol* 2011; 354(1): 31-43.

#### **J Cell Physiol: hMSC对肿瘤细胞生长的双向作用**

一些证据表明人类间充质干细胞(hMSC)有利于肿瘤的生长;但其他研究显示,hMSC可以抑制肿瘤的形成和生长。山东大学的科研人员发现MSC与肺癌细胞A549或食道癌细胞Eca-109在体外共培养过程中显示出对肿瘤细胞的抑制和诱导凋亡作用,但动物试验却得出相反的情况——MSC促进肿瘤血管形成。提示在探索MSC做为新的治疗策略时要慎重。研究结果将发表在6月出版的*Journal of Cellular Physiology*上。

Li L, Tian H, Yue W, Zhu F, Li S, Li W. Human mesenchymal stem cells play a dual role on tumor cell growth *in vitro* and *in vivo*. *J Cell Physiol* 2011; 226(7): 1860-7.

朱丽华 整理