

## 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。

**PNAS: 干细胞研究帮助探索运动神经元疾病治疗方法**

日前,由爱丁堡大学Euan MacDonald中心组织发起的运动神经元疾病(MND)研究项目研究组,提取一名MND患者的表皮细胞以分化运动神经元,这一研究使得科学家们首次观察到了MND的产生机理,极大地推动了该疾病治疗方法的探索。

MND破坏性强,难以治愈,最终会导致患者死亡。研究发现,90%的MND与TDP-43蛋白质的畸形有关,它可以导致运动神经元细胞死亡。在此次研究中,科学家们利用患者表皮细胞分化出运动神经元,观察到畸形的TDP-43直接影响人体运动神经元的过程。

研究认为,通过提取患者的干细胞来模拟供实验用的MND,可以进一步探究此疾病的发病原因,并加速药品的开发。

Bilican B, Serio A, Barmada SJ, Nishimura AL, Sullivan GJ, Carrasco M, *et al.* Mutant induced pluripotent stem cell lines recapitulate aspects of TDP-43 proteinopathies and reveal cell-specific vulnerability. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(15): 5803-8.

**PLoS One: 用iPS细胞培育出癌症干细胞**

日本冈山大学教授妹尾昌治领导的研究小组用小鼠iPS细胞培育出了癌症干细胞,并确认其发展成癌细胞的过程,这将有助于提高iPS细胞的安全性。研究结果在线发表在*PLoS One*杂志上。

研究小组首先用小鼠细胞培育出iPS细胞,然后向培养液中添加曾培育过肺癌、皮肤癌等癌细胞的液体,4周后将其中未分化的iPS细胞移植到小鼠皮下。结果,小鼠全部患上了癌症,其部分癌细胞不断分化,还有一些癌细胞向肺转移,研究小组由此确认未分化的上述iPS细胞就是癌症干细胞。

研究人员同时发现,在普通培养液中用常规方

法培育的iPS细胞,移植后不会癌变,但如果与癌细胞一起培养,多数iPS细胞会死亡。妹尾昌治指出,少数iPS细胞癌变也许是受到癌细胞碎片或者其排出的分泌物影响。

研究小组认为,如果能更深入地了解iPS细胞癌变过程及其发展成的癌细胞特点,将有助于预防和治疗癌症。利用iPS细胞培养成的癌症干细胞可供制药企业开发新药。

Chen L, Kasai T, Li Y, Sugii Y, Jin G, Okada M, *et al.* A model of cancer stem cells derived from mouse induced pluripotent stem cells. *PLoS One* 2012; 7(4): e33544.

**Nat Commun: 培育生发细胞**

东京理科大学教授辻孝领导的研究小组报告,利用成年实验鼠干细胞和人类干细胞分别培育出毛囊,并移植到没毛发的实验鼠皮肤上,成功让它长出毛发,未来有望将这一技术用于治疗秃头症。研究结果发表在*Nat Commun*杂志上。

辻孝领导的研究小组从实验鼠皮肤上获取了两种干细胞,并在实验室中将它们培育成毛囊,然后将这种人工培育的毛囊移植到本身没有毛发的实验鼠皮肤上,结果后者成功长出了毛发。分析显示,移植的毛囊与周围的皮肤和神经等组织融合良好,毛发脱落后还能继续长出新的毛发。

研究小组从一名人类秃头症患者的头皮上提取了相关组织,并按同样方法培育出毛囊,移植到实验鼠皮肤上后也能长出毛发。

如果进一步临床实验取得成功,秃头症患者只需提供一些头皮细胞,就能重新长出头发。除了头发再生外,通过改变毛囊细胞构成可控制毛囊移植后所长出毛发的密度和颜色,利用这项技术可获得满头浓密的黑发。研究人员将力争在10年内把这项技术转化为可临床应用的新疗法。

Toyoshima K, Asakawa K, Ishibashi N, Toki H, Ogawa M, Hasegawa T, *et al.* Fully functional hair follicle regeneration through the rearrangement of stem cells and their niches. *Nat Commun* 2012; 3: 784.

### **Stem Cells: 干细胞——攻击癌症的新武器**

近日,新加坡生物工程与纳米技术研究所的科学家们发现神经干细胞(NSC)具有天然靶向中枢神经系统以外的肿瘤细胞——乳腺癌细胞的能力,研究论文发表在期刊*Stem Cells*上。

近年来乳腺癌死亡率迅速上升,占女性恶性肿瘤死亡的第一位,主要原因是癌症扩散以及常规疗法无法彻底根除癌细胞。

新加坡生物工程与纳米技术研究所的Shu Wang博士领导的研究小组经研究证实,来源于人类诱导多能干细胞(iPS)的NSC能够用于治疗乳腺癌。过去的研究利用源于中枢神经细胞的NSC可有效治疗脑肿瘤。

为了测试NSC靶向和治疗乳腺癌的效率,研究人员将昆虫杆状病毒载体负载一种自杀基因(单纯疱疹病毒胸苷)的NSC注入到乳腺癌小鼠体内。随后将药物更昔洛韦(ganciclovir)注射到小鼠体内,可激活自杀基因杀伤癌细胞。成像结果显示,iPS-NSC定位到小鼠的乳腺肿瘤以及被浸润的肺脏、胃和骨等器官。荷瘤小鼠的生存期从34天延长至39天。

研究人员认为,来源人类iPS细胞的神经干细胞可以靶向肿瘤,这些细胞或可用于联合基因治疗,抑制肿瘤生长,这是基于干细胞的癌症治疗的一个重大发现。研究小组下一步的计划是改善和优化神经干细胞系统,防止治疗基因在非肿瘤区域的不必要激活,减少可能存在的副作用。

Yang J, Lam DH, Goh SS, Lee EX, Zhao Y, Tay FC, *et al.* Tumor tropism of intravenously injected human-induced pluripotent stem cell-derived neural stem cells and their gene therapy application in a metastatic breast cancer model. *Stem Cells* 2012; 30(5): 1021-9.

### **Cell: 生化与细胞所建立小鼠孤雄单倍体胚胎干细胞系**

中国科学院生物化学与细胞生物学研究所李劲松研究组和徐国良研究组的合作建立了来自孤雄囊胚的单倍体胚胎干细胞系,证明这些细胞保持了一定水平的雄性印记,进一步验证这些细胞能够代替精子在注入卵母细胞后产生健康的小鼠。研究结果发表在*Cell*杂志上。

研究人员采用了核移植的技术,即将卵母细胞

的核通过显微操作的方法去掉,然后注入一个精子,形成携来自父本基因组的单倍体重构胚胎。这些胚胎在体外能够发育到囊胚,从这些囊胚中分离建立了单倍体胚胎干细胞系。

单倍体胚胎干细胞系具有典型的小鼠胚胎干细胞特征,能够在注入两倍体囊胚中之后形成嵌合体小鼠。因为精子在形成过程中会产生雄性印记状态,这种印记状态是受精后胚胎发育的重要保证,而且在整个发育过程中一直维持,因此,研究人员分析了单倍体胚胎干细胞系的雄性印记水平,发现这些细胞保持了一定的雄性印记。

接下来,为了验证这些细胞是否能像精子一样具有“受精”能力,研究人员将单倍体胚胎干细胞系注入卵母细胞中,发现部分“受精”的胚胎能够发育成健康的小鼠。最后,研究人员成功地利用单倍体胚胎干细胞系进行了基因打靶的尝试。

单倍体胚胎干细胞系的建立为获取遗传操作的动物模型提供了一种新的手段,也为细胞重编程研究提供了一种新的系统。

Yang H, Shi L, Wang BA, Liang D, Zhong C, Liu W, *et al.* Generation of genetically modified mice by oocyte injection of androgenetic haploid embryonic stem cells. *Cell* 2012; 149(3): 605-17.

### **Nature: 光感受器细胞移植可恢复视力受损小鼠的视力**

英国伦敦大学的科学家们首次证实,移植光敏感性感光细胞(light-sensitive photoreceptor)到视力受损的小鼠眼睛中能够恢复它们的视力。相关研究结果于2012年4月18日在线发表在*Nature*杂志上。

很多引起失明的疾病原因是感光细胞丢失,包括老年性黄斑退化症(age-related macular degeneration)、色素性视网膜炎(retinitis pigmentosa)和糖尿病相关性失明(diabetes-related blindness)。

研究小组将来自健康年轻小鼠的感光细胞直接注射进缺乏功能性视杆细胞的成年小鼠的视网膜中。在4到6周之后,被移植进视网膜的细胞发挥出的功能似乎与正常的视杆细胞一样良好,而且建立起传递视觉信息到大脑中必需的连接。

迷宫测试中,这些刚接受视杆细胞移植的小鼠能够利用视觉线索来快速地找到放置在迷宫中的一个隐蔽平台,然而,那些未接受治疗的小鼠在经过大量迷宫探索之后也只能够凭运气才能找到这个隐蔽平台。

此项研究证实移植到视网膜的感光细胞能够成功地整合进现有的视网膜神经元回路,从而真正

地改善视力。小组下一步计划能够利用来源于胚胎干细胞的感光细胞来成功地重复这项研究,以便最终能够进行人体临床试验。

Pearson RA, Barber AC, Rizzi M, Hippert C, Xue T, West EL, *et al.* Restoration of vision after transplantation of photoreceptors. *Nature* 2012; 485(7396): 99-103.

### **Cell Stem Cell: 骨髓细胞来源的iPS细胞全基因组研究**

来自约翰·霍普金斯大学和美国国立人类基因组研究所(NHGRI)的研究人员组成的一个研究小组近期对人类骨髓细胞来源的iPS细胞展开了全基因组测序,并发现了一种可使干细胞转变过程中生成相对较少遗传改变的改良技术。这些研究结果发表在*Cell Stem Cell*杂志上。

在新研究中,科研人员发现,来源于成人骨髓细胞的iPS细胞包含的一些随机遗传改变并不会导致细胞特别倾向于形成癌症。

研究小组通过开启特异的基因,给予特别的营养物质,首次将成人骨髓中的骨髓基质细胞(MSCs)转变生成了iPS细胞。研究人员随后分离出每种iPS细胞类型的DNA,进行全基因组测序,并与iPS细胞的起源细胞基因组序列进行了比对。

随后,研究人员将每个细胞系中对比原始骨髓细胞的小DNA差异数量进行了计数。在每个基因组中约存在有1 000~1 800个核酸碱基A、C、T和G改变,然而却只有少量存在于作为蛋白质编码蓝图的DNA序列——即真正的基因中。这样的基因约占基因组2%的比例。

血源性的iPS细胞包含6个定位在基因中的DNA碱基改变,MSC衍生的iPS细胞包含12个。由此,研究人员推断iPS细胞中的DNA改变更有可能发生在基因间区域,而非基因中。

Cheng L, Hansen NF, Zhao L, Du Y, Zou C, Donovan FX, *et al.* Low incidence of DNA sequence variation in human induced pluripotent stem cells generated by nonintegrating plasmid expression. *Cell Stem Cell* 2012; 10(3): 337-44.

### **Cell Stem Cell: 间充质干细胞治疗自身免疫疾病研究**

来自美国南加州大学、南京医科大学等处的研究人员报告了如何通过注入间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)控制自身免疫疾病,相关成果公布在*Cell Stem Cell*杂志上。

MSCs来源于发育早期的中胚层和外胚层。MSC最初在骨髓中发现,因其具有多向分化潜能、造血

支持和促进干细胞植入、免疫调控和自我复制等特点而日益受到人们的关注。

之前的研究表明,注入间充质干细胞能抑制过度活跃的免疫细胞——包括T淋巴细胞和B淋巴细胞。在这篇文章中,研究人员给患有系统性硬化病(SS)的小鼠注入MSCs并观察,发现了一种新的FAS/FASL配体(FASL)途径,是干细胞产生显著免疫系统应答的关键所在。

值得注意的是,在患有SS状疾病的小鼠体内,注入的干细胞能通过FAS/FASL信号,引发T淋巴细胞死亡,并减轻免疫疾病的症状。反之,缺乏FAS/FASL的MSC不能治疗患有全身性硬化病状的免疫疾病的小鼠。

基于动物模型的卓越成果,南京医科大学的研究人员对患有这一疾病的病人也进行了初步研究,他们给一些病人注入MSCs,结果获得了相似的临床结果,实验分析也揭示出FAS/FASL途径在患有全身性硬化病的病人身上也起着同样的作用。

这项研究表明,移植MSCs将有助于治疗免疫相关性疾病,比如移植物抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)、系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)、类风湿性关节炎等。

Akiyama K, Chen C, Wang D, Xu X, Qu C, Yamaza T, *et al.* Mesenchymal-stem-cell-induced immunoregulation involves FAS-ligand-/FAS-mediated T cell apoptosis. *Cell Stem Cell* 2012; 10(5): 544-55.

### **Mol cell: 干细胞的自我毁灭机制**

美国北卡罗来纳大学的研究人员发现, hESCs总是准备着一旦发生DNA损伤时便立即自我毁灭,研究结果发表在*Mol Cell*杂志上。

Mohanish Deshmukh和同事们在之前的研究中发现神经元可以限制细胞凋亡,使自身度过压力或在细胞损伤时期存活下来。此项研究中则对不断分裂的人类胚胎干细胞进行了分析。

首先,研究人员将胚胎干细胞置于可引起DNA损伤的化疗药物中,100%的胚胎干细胞仅在短短5小时内便全部死亡,对照组成纤维细胞在24小时之后才发生死亡。而在另外一组破坏细胞骨架来对胚胎干细胞施压时,细胞并没有快速死亡,表明它们只是对DNA损伤敏感。

Deshmukh说:“DNA损伤是一种胚胎干细胞无法容忍的创伤。这对于它们而言是灾难性的。它们发生任何的突变都会通过系统迅速地扩散。”

Bax蛋白常被用来标记细胞凋亡, 研究人员用抗体标记了Bax, 却发现在健康人类胚胎干细胞中Bax就已经处于活性状态, 这完全不同于其他细胞类型只有在细胞损伤或死亡时Bax才会被激活。研究中还观察到活性的Bax定位在高尔基体中而非线粒体。Bax一旦接受到命令便启动凋亡过程。而且人类胚胎干细胞一旦开始分化, 就不再检测到活性的Bax, 这表明对DNA损伤的极度敏感只存在于早期发育的短短数天内。

Dumitru R, Gama V, Fagan BM, Bower JJ, Swahari V, Pevny LH, *et al.* Human embryonic stem cells have constitutively active Bax at the Golgi and are primed to undergo rapid apoptosis. *Mol Cell* 2012; doi: 10.1016/j.molcel.2012.04.002

### **Cell Stem Cell: 造血干细胞的老化和再生**

美国辛辛那提儿童医院医学中心和德国乌尔姆大学医学院的科学家们对造血干细胞的老化和再生进行了研究, 研究成果发表在*Cell Stem Cell*杂志网络版上。

造血干细胞(HSC)在骨髓中产生, 分化生成机体所有红细胞、白细胞和血小板, 随着年龄的增长造血干细胞变得越来越多, 但其生成血细胞和免疫细胞的能力却逐渐下降。这使得老年人更容易感染, 也更易患上血液病。

Hartmut Geiger领导的研究小组发现, Cdc42蛋白可控制小鼠HSC老化的分子进程。用药物抑制Cdc42能逆转HSC老化进程, 恢复年轻造血干细胞的功能。该研究说明, Cdc42在衰老过程中有独特而重要的作用, 它也是改善自然HSC老化的作用靶点。

在该研究中, 科学家发现在老年小鼠的HSC中Cdc42的活性增强。通过在遗传学上增加细胞中Cdc42的活性, 成功诱导小鼠HSC提早老化。这些老化细胞丧失了组织构架和极性, 致使细胞内成分定位发生故障, 细胞功能受到影响。

随后, 使用Cdc42抑制药物CASIN降低细胞内Cdc42的活性, 发现老化细胞的功能回到年轻细胞的水平。通过连续竞争性移植(serial competitive transplantation)来测试这些再生的细胞, 证实抑制Cdc42后的再生HSC在功能上与年轻干细胞相似。

科学家们下一步计划在小鼠体内检测Cdc42抑制物CASIN, 研究HSC和多种组织的体内活性。尤其将检测小鼠的红细胞生成量、存活情况和免疫应答情况。研究团队同时也会研究人类HSC在体外试

验中对Cdc42的反应情况。

目前这还只是一项初步研究, 不过该研究成果依然拓展了人们对衰老过程的分子及细胞基础机制的了解, 这对将来设计合理的抗衰老疗法十分有意义。

Florian MC, Dörr K, Niebel A, Daria D, Schrezenmeier H, Rojewski M, *et al.* Cdc42 activity regulates hematopoietic stem cell aging and rejuvenation. *Cell Stem Cell* 2012; 10(5): 520-30.

### **Cell Res: 多能干细胞新型表面标记物Claudin 6**

上海交通大学和中国科学院动物研究所的研究人员在一项新研究中鉴别出了一个小鼠多能干细胞特征性的新型表面标记物Claudin 6(Cldn6), 相关论文发表在*Cell Res*杂志上。

干细胞表面蛋白一直以来被用作分离和纯化未分化多能干细胞(PSCs)的标记物, 并在调控这些干细胞的多能性和分化中发挥重要的作用。然而迄今为止, 在未分化多能干细胞中只有极少的特异性高度敏感的标记物被鉴别出来。

曾一凡领导的研究小组将小鼠胚胎干细胞(mESCs)和诱导多能干细胞(iPSCs)与小鼠胚胎成纤维细胞(MEFs)、骨髓间充质干细胞、拟胚体(embryoid bodies, EBs)、成骨细胞、神经元、骨髓单核细胞以及其他分化细胞的表达图谱进行了比较, 发现Cldn6始终以高水平表达于干细胞中。研究人员在RNA和蛋白质水平上检测了干细胞和体细胞之间Cldn6的表达水平差异, 表明Cldn6只在干细胞中高表达, 而小鼠成体组织则显示非常有限的表达水平。

研究人员接下来分析了整个干细胞分化过程中Cldn6的表达。随着干细胞分化, Cldn6阳性细胞数量显著减少, Cldn6表达量显著降低。研究结果进一步支持Cldn6下调伴随多能性的丧失, 表明了干细胞早期分化状态。随后, 研究人员又通过体内外实验进一步检测并证实了Cldn6是一种有潜力的选择性标记, 可用于分离和纯化干细胞。新研究证实了Cldn6特异性表达于未分化干细胞中, 可作为一种特异选择性标记用于鉴别小鼠未分化多能干细胞。

Wang L, Xue Y, Shen Y, Li W, Cheng Y, Yan X, *et al.* Claudin 6: A novel surface marker for characterizing mouse pluripotent stem cells. *Cell Res* 2012; doi: 10.1038/cr.2012.77.

### **Cell: 新的肿瘤干细胞调控方式**

来自美国Whitehead生物医学研究所、麻省理

工学院等地的研究人员发现了新的肿瘤干细胞调控方式,相关成果发表在*Cell*杂志上。

此项研究的核心是成人干细胞转录调控因子。研究人员发现两种转录因子*Slug*和*Sox9*合作决定哺乳动物干细胞(MaSC)的状态,抑制*Slug*和*Sox9*这两个因子中的一个,就会阻断原发性哺乳动物上皮细胞MaSC的活性,相反,如果瞬时共表达外源性*Slug*和*Sox9*,则能促进已分化的管腔细胞重新转换为具有乳腺长期重构能力的MaSCs。

除此之外,研究人员还发现*Slug*和*Sox9*共表达将促进人类乳腺癌细胞发展、转移的能力,并降低患者的生存率,证明人类乳腺癌干细胞的调控方式与正常小鼠MaSCs调控方式相似。

Guo W, Keckesova Z, Donaher JL, Shibue T, Tischler V, Reinhardt F, *et al.* *Slug* and *Sox9* cooperatively determine the mammary stem cell state. *Cell* 2012; 148(5): 1015-28.

#### **Lancet:** 心脏干细胞疗法有助于修复心脏疤痕组织

美国锡达斯-赛奈心脏研究所等机构的研究人员对一些心脏病患者展开的临床试验显示,干细胞疗法有助于修复心脏病留下的心脏疤痕组织。研究结果发表在近期出版的*Lancet*上。

在心脏病发作后,患者的一些心脏组织会因为缺血等原因而死亡,随后在心脏中留下疤痕,这些疤痕组织会影响心脏发挥正常功能。

研究人员报告说,有25名心脏病患者参与了试验,其中17人接受了干细胞疗法,另外8人接受常规治疗用于对照。在试验中,研究人员首先从患者自身体内提取出心脏干细胞,并在试管中进行培养。干细胞是还没有完全发育为成体细胞、拥有生长为特定器官潜力的细胞,用自身干细胞培养出的组织,在移植回体内后不易引发排异反应。

参与试验的患者心脏左室中疤痕组织比例平均为24%,但在将试管中培养出的干细胞注射回自身心脏后,这一比例在半年后下降到16%,一年后下降到12%。

研究人员表示,这只是一项初步研究,其主要目的是验证这种干细胞疗法的安全性,结果显示接受这种治疗的患者相比对照组未出现明显不良症状,可进一步探索这种干细胞疗法的效果。

Makkar RR, Smith RR, Cheng K, Malliaras K, Thomson LE, Berman D, *et al.* Intracoronary cardio-sphere-derived cells for heart regeneration after myocardial infarction (CADUCEUS): A prospective, randomised phase 1 trial. *Lancet* 2012; 379(9819): 895-904.

#### **Lancet:** 多学科共同研发心脏疾病干细胞疗法

《柳叶刀》杂志发表文章称,为实现心脏疾病再生治疗方法的有效性,目前多学科展开了密切合作,但关键还要克服现有的科研专业领域之间的传统障碍,从科研和私营部门建立跨学科团队。

该论文的第一作者、美国哈佛大学Kenneth Chien解释说,“开展扭转晚期心脏衰竭再生战略是本世纪最迫切的临床需求之一,已成为现代心血管科学的圣杯。但如果要让干细胞生物学运用到真正的心血管再生疗法中,我们有必要努力改变现有的科研学术氛围和环境。”

最近的调查发现,心脏中有几种不同类型的胚胎祖细胞,心肌损伤的人体内存在一定数量的上述细胞被激活现象,科学家希望通过细胞转化或通过激活和转换有功能的心脏细胞等方法,有针对性地开发出新型心脏再生疗法。例如,临床研究表明,自身心脏组织的细胞可以减少心脏病发作后疤痕的形成。尽管仍然不确定上述细胞是否是干细胞,但这些研究表明,我们已经在利用心脏的自我修复功能的道路上迈出了一小步。

心脏的复杂性意味着要想恢复其功能需要再生不止一种细胞类型,这也意味着心脏的天然结构需要重新构建。一个理想的心脏再生治疗是将关键细胞和旁分泌因子相组合优化,创造一个有利于增强细胞移植和分化的心肌组织,并使急性和长期副作用风险都是最小的。

总之,多学科协作是绝对至关重要的,包括干细胞生物学、移植、组织工程以及临床心血管内科和相关设备技术。各国正不断投资鼓励那些能将科学发现转化成令人信服的临床结果的新一代研究人员进行干细胞研究。

Ptaszek LM, Mansour M, Ruskin JN, Chien KR. Towards regenerative therapy for cardiac disease. *Lancet* 2012; 379(9819): 933-42.

朱丽华 整理