

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。

Cancer Cell: 来源区域和发育阶段决定脑瘤类型

加州大学旧金山分校William A. Weiss领导的研究小组的研究首次阐明时空性转录差异导致神经干细胞对癌基因*N-myc*信号不同的反应可引发不同类型的脑瘤。研究结果发表在*Cancer Cell*上。

William A. Weiss研究组将野生型和突变型(*N-myc* T58A)小鼠*N-myc*基因转入来源于围产期小鼠小脑、脑干及前脑的神经干细胞(NSCs)中。结果发现,转入了野生型*N-myc*的神经干细胞不能通过移植形成肿瘤。转入了突变型(*N-myc* T58A)小鼠*N-myc*基因的小脑和脑干NSCs形成了神经管细胞瘤和原始神经外胚层瘤,而*N-myc* T58A的前脑NSCs则形成了扩散性胶质细胞瘤。

分析表明,胚胎期小脑NSCs的肿瘤表现为Sonic Hedgehog(SHH)依赖型,而来源于出生后小鼠小脑NSCs的肿瘤表现为SHH非依赖型。这种差异部分受到转录因子SOX9的调节。NSCs由于发育阶段和区域位置的不同而做出不同的反应,发生不同的转化。

Phoenix TN, Gilbertson RJ. There's a time and a place for MYCN. *Cancer Cell* 2012; 21(5): 593-5.

PNAS: 胚胎干细胞可成功分化为骨细胞

近日,纽约干细胞研究中心(NYSCF)的研究发现人类胚胎干细胞可以分化成骨组织用以进行移植研究以及潜在的临床治疗,研究结果公布在*PNAS*上。

Marolt博士领导的研究小组首次使用源于胚胎干细胞的骨细胞祖细胞来大量生成紧凑的骨组织用以修复厘米大小的骨组织缺陷。当祖细胞植入小鼠体内后,植入的骨组织支持血管再生,并且使得正常的骨结构继续发育,而且没有任何肿瘤生长的可能性。

研究者开发了使用诱导性的多能干细胞(iPS)来进行骨移植的方法。iPS和胚胎干细胞类似,可以产生机体任何种类的细胞,但是iPS来源于成体细胞

中,而且能对单一病人单一使用,对iPS进行工程技术处理,研究者希望避免用免疫注射或者别的注射方式进行个性化的骨移植、修复以及替换骨组织。骨替代疗法可以在许多种的情况下使用,包括受伤的军人、出生缺陷的病人以及跌打损伤的病人等。

Marolt D, Campos IM, Bhumiratana S, Koren A, Petridis P, Zhang G, *et al.* Engineering bone tissue from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(22): 8705-9.

Nature: 延缓干细胞的衰老

美国萨克生物研究院的科学家们发现了一种可以延缓干细胞衰老的新方法,有可能带来老年病治疗和再生医学的新策略。相关论文发表在*Nature*杂志上。

干细胞被认为是永生的,能够不断重建自身和再生组织,但这并不意味着它们就不会衰老。它们会逐渐丧失有效维持组织和器官的能力。

研究人员揭示了与干细胞环境相关的一系列生物事件,发现干细胞的niche会影响衰老导致的干细胞损失。众所周知,微环境对于干细胞的功能起着重要作用。例如在组织受损后,微环境会向干细胞发出信号形成新组织。人们认为是干细胞和它们的微环境向彼此相互发送信号帮助维持了其在整个生命过程中的潜能。为了探究干细胞的衰老, Jones利用了一些在雄性果蝇睾丸中存在的细胞进行实验,它们与人类的细胞非常相似。研究显示了来自微环境为维持果蝇干细胞活力的信号是如何随时间丧失的,由此导致干细胞数目下降。重新恢复这些信号可使细胞获得新活力。

研究发现,随着干细胞微环境的衰老,细胞生成了一种在RNA翻译成蛋白质中起负性调控作用的microRNA分子let-7。let-7增高会通过影响一种称为Imp的蛋白质逆转衰老的开关导致多米诺效应。

Imp的功能是保护微环境一个关键区域分泌的Upd分子。Upd是促进维持干细胞活力和与微环境联系以确保干细胞自我更新的信号。随着衰老进程的发生, let-7表达增高, 最终导致了较低的Upd水平, 减少了微环境中的活性干细胞数目。

这种对抗衰老的方法可以通过多种途径来实现, 例如阻止let-7增高、阻止Upd破坏或是提高Imp表达。“这一研究为针对刺激患者自身干细胞克服衰老的药物开发开启了新的途径”, Toledano说。

Toledano H, D'Alterio C, Czech B, Levine E, Jones DL. The let-7-Imp axis regulates ageing of the *Drosophila* testis stem-cell niche. *Nature* 2012; 485(7400): 605-10.

Cell: 抗精神病药物可使癌症干细胞“改邪归正”

加拿大研究人员在实验中发现, 抗精神病药物甲硫达嗪可使癌症干细胞恢复为正常细胞, 而对其他正常的人体细胞无副作用。研究报告发表在学术期刊*Cell*上。

癌症干细胞被认为是很多癌症的“罪魁祸首”, 传统的癌症疗法(如化疗)在杀死癌症细胞的同时也伤害了人体其他的正常细胞, 导致脱发、恶心和贫血等副作用; 而且无法完全消灭癌症干细胞, 使得癌症容易复发。

加拿大麦克马斯特大学的研究人员利用癌症干细胞不容易分化的特点, 对大量药剂进行筛选, 从中找到了近20种可对抗癌症干细胞的药物, 其中抗精神病药物甲硫达嗪的实验效果最为理想。实验发现, 甲硫达嗪通过促进癌症干细胞分化成正常细胞来实现了消除癌症干细胞的目的, 这一过程不会对其他正常细胞产生副作用, 这显然更有利于癌症病人的治疗和康复。

研究小组下一步将在临床试验中检测甲硫达嗪的实际疗效, 尤其是针对那些经化疗后复发的急性骨髓性白血病病人。

Sachlos E, Risueño RM, Laronde S, Shapovalova Z, Lee JH, Russell J, *et al.* Identification of drugs including a dopamine receptor antagonist that selectively target cancer stem cells. *Cell* 2012; 149(6): 1284-97.

J Hepatol: 诱导干细胞分化为肝细胞来筛查药物的肝脏毒性

日本大阪大学的研究人员将FOXA2及HNF1 α 转导到人多功能干细胞后, 得到了具有代谢功能的

肝细胞。相关研究成果在线发表在*J Hepatol*上。

由人ES细胞以及iPS细胞分化而来的肝细胞样细胞能够用于筛查药物的肝脏毒性, 帮助药物开发。之前的研究表明, hESC或iPS细胞衍生细胞连续转导SOX17、HEX及HNF4 α 能促进肝细胞的分化。

研究人员检测了与肝脏发育相关的7种候选基因以便挑选能够更高效促进肝细胞分化的因子。通过筛选发现, FOXA2及HNF1 α 联合促进了hESCs及iPSs细胞有效分化为肝细胞。通过FOXA2及HNF1 α 的转导, 这些干细胞获得了肝细胞相关基因的表达谱, 比如细胞色素P450基因、结合酶基因、肝细胞转运体基因以及肝细胞核受体基因。进一步研究发现, 这些功能特性与原代人类肝细胞没有差异。经检测, FOXA2及HNF1 α 转导所产生的肝细胞样细胞表现出全面的肝细胞功能, 包括白蛋白及尿素分泌、摄取吲哚菁绿及低密度脂蛋白。此外, 还发现这些细胞能够代谢所测试的9种药物, 并能用于评估药物引起的细胞毒性。

研究人员表示, ES细胞/iPS细胞导入FOXA2及HNF1 α 产生具有代谢功能的肝细胞是一种有效的策略, 对筛查由药物引起的细胞毒性将具有重大意义。

Takayama K, Inamura M, Kawabata K, Sugawara M, Kikuchi K, Higuchi M, *et al.* Generation of metabolically functioning hepatocytes from human pluripotent stem cells by FOXA2 and HNF1 α transduction. *J Hepatol* 2012; doi.org/10.1016/j.jhep.2012.04.038.

PNAS: 新的高效干细胞转化技术培养心肌细胞

美国威斯康辛州大学一个科研小组通过对一个关键发育途径的简单操作, 使得人类干细胞(包括ES细胞和iPS细胞)可以转化为心肌细胞。该技术有望取代现有技术, 成为一种稳定、廉价而又更高效的选择。研究结果发表在*PNAS*上。

很多类型的心脏病都是由于心肌细胞功能缺失或心肌细胞死亡、心脏的自我修复能力有限造成的, 所以如果能够人为提供大量和病人相匹配的心肌细胞将会起到很大作用。目前的心肌细胞分化方法条件复杂, 成功率偏低(30%)。

研究发现, 对Wnt信号通路做一定的操作, 也仅仅用两个小分子化合物在规定的时点上开启和关闭该信号通路, 就足以高效地直接将干细胞定向分化为心肌细胞。最终的细胞数量中心肌细胞超过80%, 该方法具有重复性。而且所用的小分子化合

物比蛋白质生长因子廉价的多。截至目前为止,利用新技术培养的心肌细胞已经在实验室持续培养了6个月,而且这些细胞的活性和稳定性都依然保持在刚培育出来的状态。

使用iPS细胞获得心肌细胞意味着科学家们将能够更容易地在实验室模拟那些疾病,进行病理研究、药物筛选等临床前研究。

科学家最终希望这些实验室里培育出的健康的心脏细胞能用于替代由于心脏病而导致的坏死心肌细胞。

Lian X, Hsiao C, Wilson G, Zhu K, Hazeltine LB, Azarin SM, *et al.* Robust cardiomyocyte differentiation from human pluripotent stem cells via temporal modulation of canonical Wnt signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; doi: 10.1073/pnas.1200250109.

Cell Stem Cell: 利用单个转录因子将皮肤细胞直接变成脑细胞

美国格拉德斯通研究所的研究人员首次利用单个转录因子将皮肤细胞转化为脑细胞,并独自发展为一个相互连接的功能性脑细胞网络。研究结果发表在*Cell Stem Cell*上。

2011年,格拉德斯通研究所Sheng Ding小组报道了利用小分子和转录因子的组合来将皮肤细胞直接转变为神经干细胞。如今,Huang博士利用一种转录因子Sox2直接将一种细胞类型转变为另一种细胞类型。研究人员将单个Sox2基因导入到小鼠和人的皮肤细胞中。几天之内,这些皮肤细胞转变为早期阶段的脑干细胞(brain stem cell),也被称作诱导性神经干细胞(iNSC)。这种iNSC开始自我更新,很快就成熟为能够传递电信号的神经元。一个月内,这些神经元就已形成神经网络。这种方法不用经历产生iPS细胞阶段,避免了iPS可能产生肿瘤的潜在危险。

这项研究还揭示出Sox2作为一种主要调节物,控制神经干细胞的干性。研究小组希望鉴定出类似的指导大脑中特定神经祖细胞和一小部分神经元发育的调节物。

皮肤细胞进行重编程而产生的人神经元可能有助于评估药物的疗效和安全性,特别是用于筛选神经退行性疾病治疗药物,可降低与人临床试验相关的风险和资源消耗,加快新药物开发的步伐。

Ring KL, Tong LM, Balestra ME, Javier R, Andrews-

Zwilling Y, Li G, *et al.* Direct reprogramming of mouse and human fibroblasts into multipotent neural stem cells with a single factor. *Cell Stem Cell* 2012; doi.org/10.1016/j.stem.2012.05.018.

PNAS: 干细胞触发肿瘤生长

美国康奈尔大学的生物医学研究人员发现重建手术中应用的干细胞与即便是微量的癌细胞接触,也能产生一种适合更多肿瘤生长的微环境。研究结果在线发表在*PNAS*上。

脂肪干细胞(adipose-derived stem cell)非常适合用于组织再生和重建手术,这是因为它能非常好地承担起健康组织的功能和招募新的血管来促进愈合。但是,研究人员发现癌细胞基质含有肿瘤细胞分泌的可溶性化学物质,能阻止脂肪干细胞分化为脂肪细胞;相反却会触发这些干细胞分泌出促进血管形成的化学因子,使其发展为肌成纤维细胞(myofibroblast),而肌成纤维细胞在肿瘤发展中发挥着重要作用。

研究人员收集来自肿瘤细胞的可溶性基质,并观察脂肪干细胞对这种基质做出反应后如何发生改变。他们发现TGF- β 和IL-8是特异性的肿瘤分泌因子,促进这些干细胞在表型上最终变化为肌成纤维细胞。小鼠体内实验也证实了这些实验结果。

更多脂肪组织的存在意味着更多的脂肪干细胞,因此人们可以推测更大的干细胞池可能会促进肿瘤的发展过程。

Chandler EM, Seo BR, Califano JP, Eguiluz RCA, Lee JS, Yoon CJ, *et al.* Implanted adipose progenitor cells as physicochemical regulators of breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; doi: 10.1073/pnas.1121160109.

Mol Cell: RNF12调控胚胎干细胞命运和形态的新机制

来自荷兰莱顿大学和重庆医科大学的研究人员发现了一种通过连接酶RNF12调控TNF- β 信号通路,从而影响胚胎干细胞命运与形态发生的新机制,这为深入研究胚胎干细胞发生发展提供了重要信息。相关成果公布在*Mol Cell*杂志上。

肿瘤坏死因子(TNF)具有促进细胞生长、分化、凋亡及诱发炎症等生物学效应。其中,TNF- β 是一种淋巴因子,之前的研究表明,TNF- β 成员在胚胎发

育与组织动态平衡中扮演了关键作用。研究人员发现编码RING结构域的E3连接酶RNF12是TNF- β 信号通路中的关键组成成分。当RNF12大量消耗时, TNF- β 家族诱导效应降低; 而另一方面, 大量表达RNF12能强烈增强TNF- β 家族/Smad7的诱导效应。

研究人员还发现, Smad7消耗或异常引起的原肠胚形成缺陷可以分别通过RNF12功能的获得或缺失而部分恢复, 证明了RNF12在TNF- β 家族信号通路中的决定作用及调控胚胎干细胞命运和形态发生的新机制。

Zhang L, Huang H, Zhou F, Schimmel J, Pardo CG, Zhang T, *et al.* RNF12 controls embryonic stem cell fate and morphogenesis in Zebrafish embryos by targeting Smad7 for degradation. *Mol Cell* 2012; 46(5): 650-61.

Stem Cells: 新干细胞培养系统帮助修复头骨

美国Michigan大学的研究人员发现一种无生物源污染的特殊表面能支持成体干细胞生长繁殖并转化为多种细胞类型, 这项研究将推动干细胞治疗迈上新台阶, 研究结果发表在*Stem Cells*杂志上。

在干细胞用于机体修复之前, 必须培养并诱导它们成为所需的细胞类型。研究人员通常使用动物细胞表面和干细胞生活环境所需的蛋白质, 但要制造这种基质很昂贵, 而且不同动物细胞产生的该基质批间差异很大。

研究人员通过合成高分子多聚物制造了一种人类胚胎干细胞的培养系统PMEDSAH并证实PMEDSAH能够支持胚胎干细胞生长。最新的研究证实这种表面也能支持更有医疗前景的iPS细胞生长, 并使它们保持多功能状态, 随后还能分化为间质干细胞(iPS-MSC)。为了证明这些细胞能转化为不同类型, 研究团队将它们转化为脂肪、软骨和骨细胞。为了证明这种材料所培养细胞的再生能力, 研究人员将培养的骨细胞转入小鼠头骨的洞中, 八周之后, MicroCT和组织学分析显示, 用iPS-MSC治疗的小鼠新骨生成是对照组的4.2倍, 而且研究证实这些额外生成的骨是人骨。

研究小组将继续进行研究, 用PMEDSAH培养干细胞并将其分化为不同的外形, 如类骨细胞形态或类神经细胞的纤维形态。目前, Michigan大学正在为这项知识产权申请专利, 并寻找将这项技术市场化的商业伙伴。

Villa-Diaz LG, Brown SE, Liu Y, Ross AM, Lahann J, Parent JM, *et al.* Derivation of mesenchymal stem cells from human induced pluripotent stem cells cultured on synthetic substrates. *Stem Cells* 2012; 30(6): 1174-81.

Nature: 利用干细胞进行心脏修复

德州大学西南医学中心的研究人员将四种转录因子GATA4、HAND2、MEF2C和TBX5混合在一起, 组成了一种“鸡尾酒”试剂, 该试剂能将小鼠尾尖成纤维细胞和心脏成纤维细胞转化为跳动的心肌细胞样细胞。这些心肌样细胞为双核, 能组装成心肌, 并表现为心肌样的基因表达。单细胞分析结果显示, 心室心肌样的动作电位和电刺激可以激发波动和电耦反应; 而且在进行活体实验的时候, 研究人员还利用了一种反转录酶病毒将转录因子输送到小鼠的心脏中, 结果发现这四个转录因子的表达会将非肌细胞重新编程为心肌细胞, 同时减轻心肌梗塞后的心脏功能失调。

加州大学旧金山分校利用一种反转录酶病毒向成年小鼠的心脏直接输送转录因子Gata4、Mef2c、Tbx5(GMT), 研究人员完成了非肌细胞向心肌细胞的诱导转化。在小鼠体内经冠状动脉结扎处理后, 注射GMT基因, 也可以使非心肌细胞被重新编程, 转化为心肌样细胞。这些心肌样细胞为双核, 能组装成心肌, 并表现为心肌样的基因表达。单细胞分析结果显示心室心肌样的动作电位和电刺激可以激发波动和电耦反应。在冠状动脉结扎动物模型中, 体内给予GMT基因可以减少心肌梗死面积和减轻心脏功能不全的程度。在给予GMT的同时, 也给予促血管生成肽和成纤维细胞活化肽胸腺素 β 4, 可导致瘢痕面积和心功能的进一步改善。

这些结果表明, 心脏成纤维细胞可以在其原环境下经重新编程转化成为心肌样细胞, 这对于将来再生医学领域的临床应用有重要的实践意义。

Song K, Nam YJ, Luo X, Qi X, Tan W, Huang GN, *et al.* Heart repair by reprogramming non-myocytes with cardiac transcription factors. *Nature* 2012; 485(7400): 599-604.

Qian L, Huang Y, Spencer CI, Foley A, Vedantham V, Liu L, *et al.* *In vivo* reprogramming of murine cardiac fibroblasts into induced cardiomyocytes. *Nature* 2012; 485(7400): 593-8.