

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。

Nat Biotechnol: 干细胞生成血脑屏障

美国Wisconsin-Madison大学的研究人员在实验室中成功将干细胞转化为血脑屏障内皮细胞,有望帮助科学家揭开血脑屏障的神秘面纱,文章发表在*Nat Biotechnol*杂志上。

血脑屏障依赖独特的血管壁内皮细胞,内皮细胞排列得很紧密,形成一种半渗透的屏障,只允许必要的营养物和代谢物进入大脑,而将其他病原体 and 有害物质挡在门外。

研究团队分别将ES胞和iPS细胞转化为血脑屏障的内皮细胞。该研究中,人多能干细胞(hPSC)与提供相关物质的神经细胞(包括Wnt/ β -catenin信号传导相关物质)共同分化,使生成的上皮细胞获得了血脑屏障的多种特性。这些特性包括有组织的紧密连接、营养转运蛋白的适当表达和极化的外向转运蛋白活性。检测这些上皮细胞的跨内皮电阻,发现它们能对星形胶质细胞做出应答,为血脑屏障的基本特性。

使用特定神经性疾病患者的iPS细胞,能够帮助研究人员对疾病进行建模研究。另外,大量生产这种细胞可用于神经性疾病药物高通量筛选或进行药物神经毒性检测,对治疗中风或者抑制脑肿瘤或有重要意义。

Lippmann ES, Azarin SM, Kay JE, Nessler RA, Wilson HK, Al-Ahmad A, *et al.* Derivation of blood-brain barrier endothelial cells from human pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol* 2012; doi: 10.1038/nbt.2247.

Cell Stem Cell: 人类胚胎干细胞培育出立体视网膜组织

日本一研究团队利用人类ES细胞成功培育出了立体的视网膜组织,研究报告发表在*Cell Stem*

*Cell*杂志上。

理化学研究所发育生物学研究中心和住友化学公司的联合研究小组调整培养液的成分,使视网膜神经组织和色素上皮组织能同等程度发育。经过约4个月的时间,成功培育出直径约5毫米的视网膜组织,与人类胎儿的视网膜组织尺寸相同。

研究小组开发出了通过添加药剂缩短视网膜培养时间,并能大量培育视网膜组织的技术。此外,研究小组还开发出了冷冻保存视网膜组织的技术。由此,对培养出的视网膜组织进行高质量管理成为可能,远距离的医院也能利用培育出的组织。

研究小组指出,这是世界首次培育出拥有多层结构的立体视网膜组织。今后,导致失明的视网膜色素变性症等目前无法治疗和预防的眼科疾病,有望通过移植视网膜组织进行治疗。

Nakano T, Ando S, Takata N, Kawada M, Muguruma K, Sekiguchi K, *et al.* Self-formation of optic cups and storable stratified neural retina from human ESCs. *Cell Stem Cell* 2012; 10(6): 771-85.

Nat Commun: 骨骼肌干细胞可在机体死亡后采集

法国巴斯德研究所的科学家发现,某些干细胞在机体死亡后还能在体内存活两个星期之久,取出以后还能再生分裂为新的功能性细胞。这一发现不仅更进一步揭示了干细胞的多能性,也为将来修复受伤组织提供了新的细胞来源。相关论文发表在最近出版的*Nat Commun*上。

该研究由法国巴斯德研究所等4家机构共同进行,他们发现干细胞能在不利条件下幸存,骨骼肌干细胞会降低它们的新陈代谢,进入休眠状态,只消耗很少的能量。死亡后人类骨骼肌干细胞还能生存17天,小鼠是16天。此外,研究小组还在骨髓中发现了

干细胞,骨髓是制造血细胞的场所。在实验小鼠身上,小鼠死亡后骨髓干细胞还能保持活性4天,这些骨髓移植后也能重新发育为组织。论文还指出,有些人会同意死后捐献遗体,通过采集他们遗体的干细胞,能在一定程度上缓解组织和细胞短缺。

研究人员表示,尽管这种方法很有前景,但研究仍需谨慎,在用于人体测试之前,还需要开展更多的实验和论证。

Latil M, Rocheteau P, Châtre L, Sanulli S, Mémet S, Ricchetti M, *et al.* Skeletal muscle stem cells adopt a dormant cell state post mortem and retain regenerative capacity. *Nat Commun* 2012; 3: 903.

PLoS One: 研究发现高龄实验鼠干细胞能培育出血管

名古屋大学的一个研究小组在实验中利用来自实验鼠胎儿和已出生20个月(相当于人类80岁)的高龄实验鼠的细胞培育出iPS细胞,然后利用两者培育出可发育为血管的细胞。这一成果已发表在新一期的*PLoS One*上。

研究发现,来自高龄实验鼠的iPS细胞与来自实验鼠胎儿的iPS细胞在血管再生方面具有相同的功能,而且在实验鼠治疗实验中,两者功能的相似性得以证实。

研究小组认为,脑梗塞和动脉硬化等疾病将能够利用iPS细胞进行治疗,如果能用高龄者本人的体细胞培育出iPS细胞,治疗中将不易出现排异反应。

Suzuki H, Shibata R, Kito T, Yamamoto T, Ishii M, Nishio N, *et al.* Comparative angiogenic activities of induced pluripotent stem cells derived from young and old mice. *PLoS One* 2012; 7(6): e39562.

Diabetes: 胚胎干细胞移植治疗糖尿病动物实验成功

加拿大和美国科学家在一项最新研究中,通过向罹患糖尿病的实验鼠移植人类胚胎干细胞,成功使实验鼠恢复了胰岛素分泌功能,研究结果发表在*Diabetes*期刊上。

这项研究由加拿大不列颠哥伦比亚大学和英国扬森研发公司共同完成,科学家希望这一新发现能为寻求治疗糖尿病的新疗法铺平道路。

在研究中,患有糖尿病的实验鼠在接受干细胞

移植后,研究人员停止向它们注射胰岛素。三、四个月后,实验鼠即使喂食大量的糖,也依然能够保持健康的血糖水平。

研究所用的患病实验鼠缺乏正常运行的免疫系统,而正常的免疫系统可能会对移植的干细胞产生排异反应。他说,现在研究团队要做的就是找到一种保护干细胞免受免疫系统攻击的合理方法,从而使移植最终可以在不需要免疫抑制的情况下进行。

Rezania A, Bruin JE, Riedel MJ, Mojibian M, Asadi A, Xu J, *et al.* Maturation of human embryonic stem cell-derived pancreatic progenitors into functional islets capable of treating pre-existing diabetes in mice. *Diabetes* 2012; doi: 10.2337/db11-1711.

Cell: 破解干细胞的秘密

欧洲的一个研究小组对处于纯粹未分化生长状态的胚胎干细胞进行了评估。利用新一代测序技术,他们分析了基因的表达(即转录组)和表观遗传学组,指出纯干细胞与在实验室条件下培养的胚胎干细胞之间的关键差异,研究结果发表在近期的*Cell*杂志上。

研究人员一直致力于解析是什么使得胚胎干细胞维持在多能状态。荷兰内梅亨大学的Hendrik G. Stunnenberg博士和英国剑桥大学Wellcome Trust干细胞研究所胚胎干细胞专家Austin Smith教授领导的工作提供了关键的答案,新发现颠覆了以前研究认为的胚胎干细胞是不稳定且随时准备分化的。这一信息有可能帮助推动开发新的治疗方法。

研究人员将小鼠胚胎干细胞分为两组。一组用血清培养,另一组加入两种激酶Mek和GSK3抑制子(称为“2i”条件)。研究结果证实,血清培养ES细胞相比于“2i”处理的细胞在形态和多能性因子表达上显示出更大的异质性。研究人员证实,血清和“2i”培育的ES细胞转录组和表观遗传组图谱存在差异。“2i”处理细胞显示出谱系相关基因低表达,启动子区域抑制性组蛋白修饰H3K27me3较少,且具有更少的二价结构域。然而,血清和“2i”培育ES也具有一些相似的分化潜力。在“2i”细胞中发育基因的早转录受到RNA聚合酶II启动子近端暂停(proximal pausing)抑制。

转录组分析可确定细胞中哪些基因被开启或

关闭, 计算基因的活性水平。同时, 表观遗传学分析提供了基因受控机制的新认识。通过这项研究, 研究人员获得了构建新型人类多能干细胞种类的关键信息。

研究人员说, 这些研究结果表明了干细胞研究的进展, 也指出了从小鼠分离的真正胚胎干细胞与当前获得的相对没那么纯且更多变的干细胞之间的潜在差异。

Marks H, Kalkan T, Menafra R, Denissov S, Jones K, Hofmeister H, *et al.* The transcriptional and epigenomic foundations of ground state pluripotency. *Cell* 2012; 149(3): 590-604.

Cell Death Differ: 健康所间充质干细胞介导的免疫调节研究新进展

最近, 中科院上海生科院/上海交大医学院健康所时玉舫研究组最新发现, MSC在调节免疫反应具有双重调节作用, 研究结果在线发表于*Cell Death Differ*杂志。

近些年来在疾病模式动物模型和临床研究上, MSC被尝试应用于治疗免疫紊乱疾病。尽管有不少报道称MSC有非常良好的治疗效果, 但其治疗适应症、诊疗时机选择和作用机制等有待进一步研究。此前已发现MSC在炎症因子刺激下能够分泌大量的趋化因子和具有免疫抑制特性的一氧化氮或是吲哚2,3-双加氧酶(IDO)。在趋化因子的作用下, 免疫细胞被趋化到MSC周围并被其局部高浓度的一氧化氮或IDO引起的色氨酸缺乏所抑制。

该研究发现, MSC在一定条件下同样可以促进免疫反应。首先, 如果MSC所处环境中没有足够的促炎症细胞因子诱导其产生足量的一氧化氮, MSC是可以增强免疫反应的。其次, 即便在能引起MSC发挥免疫抑制的环境中, 当一氧化氮的形成被阻断的时候, MSC同样可以显著地增强T细胞的增殖, 这一现象在体外的细胞增殖实验以及迟发超敏反应的疾病动物模型中都得到了充分的验证。进一步的研究发现, iNOS缺失的MSC能明显抑制黑色素瘤在小鼠上的生长。而在CCR5和CXCR3这两种趋化因子受体缺失的小鼠体内没有发现这种免疫促进作用, 表明MSC介导的免疫促进作用依赖于其自身产生的趋化因子。因此, 一氧化氮是控制MSC介导的免疫调节作用的核心调控因素。当一氧化氮的合成被阻

断时, 促炎症因子激活的MSC可以通过趋化作用吸引免疫细胞聚集到其周围进而促进免疫反应。同样的, 在人来源的MSC中阻断IDO的作用时也能观察到免疫促进的现象。

总之, MSC发挥免疫调节作用受到炎症反应状态和一氧化氮/IDO产生量的影响: 当一氧化氮或IDO产生量较高的时候可以抑制免疫反应, 反之则可以通过其产生的趋化因子对免疫细胞的募集来促进免疫反应。这些发现对间充质干细胞的临床应用具有重要的实践意义。在疾病动物模型和临床应用应用中, 须评价和调节患者炎症状况和能影响iNOS/IDO表达的药物, 以建立新的优化治疗策略。

Li W, Ren G, Huang Y, Su J, Han Y, Li J, *et al.* Mesenchymal stem cells: A double-edged sword in regulating immune responses. *Cell Death Differ* 2012; doi: 10.1038/cdd.2012.26.

Neural Regen Res: 尿酸可浓度和时间依赖性地促进胎盘间充质干细胞向神经元样细胞分化

中国山东青岛大学医学院的科研人员研究发现, 尿酸可浓度和时间依赖性地促进胎盘间充质干细胞向神经元样细胞分化。研究结果发表在《中国神经再生研究(英文版)》上。

有研究显示尿酸为血清中重要的抗氧化剂, 近年来, 尿酸的抗氧化作用、促进细胞生长、保护神经细胞免受损伤及促进受损神经细胞的恢复等有益作用成为研究热点。

青岛大学的科研人员以含0, 0.2, 0.4, 0.8 mmol/L尿酸和1 mmol/L β -巯基乙醇的培养液预诱导从人类胎盘组织中分离、培养间充质干细胞24 h, 然后用0, 0.2, 0.4, 0.8 mmol/L尿酸和5 mmol/L β -巯基乙醇的培养液进行诱导分化6, 10 h后, 可见细胞呈伸展样生长、形成突起, 呈放射状, 并可互相连接。免疫(荧光)细胞化学染色显示各组细胞均可见神经元特异性烯醇化酶免疫阳性反应, 以0.8 mmol/L尿酸和5 mmol/L β -巯基乙醇联合诱导10 h时的细胞免疫反应阳性率最高; 诱导24 h后, 各组细胞胞质中均可见到尼氏体, 以0.8 mmol/L尿酸和5 mmol/L β -巯基乙醇联合诱导的细胞中最多。说明尿酸可呈时间及浓度依赖性地促进胎盘间充质干细胞向神经元样细胞的分化。

尽管一些研究表明, 尿酸是血清中重要的抗氧

化剂,它可以清除体内的单氧、双氧自由基及羟自由基作用,但是尿酸是嘌呤核苷酸代谢的终产物,在许多疾病中的发生发展中起着重要的作用。因此,对于尿酸对神经干细胞分化的研究是否有意义,还需要进一步探讨。

Yang NL, Xu LL, Lin P, Cui J. Uric acid promotes neuronal differentiation of human placenta-derived mesenchymal stem cells in a time- and concentration- dependent manner. *Neu Regen Res* 2012; 7(10): 756-60.

Nature: 活体实时追踪干细胞

美国耶鲁医学院的研究人员首次在未受损伤的动物体内观察和操纵了组织再生过程中干细胞的行为。相关论文提前发布在*Nature*网站上。

组织发育与再生依赖于细胞与细胞间的相互作用和靶向干细胞及直系后代的信号。然而,目前对于导致适当组织再生的细胞行为还不是很理解。

研究人员利用一种新型的非侵入式的活体双光子成像技术,观察了活体小鼠中随时间推移生理性的毛囊再生,监控在生理性毛发再生过程中上皮干细胞及其子代细胞的行为。干细胞在毛发再生最初阶段处于静息状态,而子细胞则更为活跃地分裂。此外,子代细胞的分裂在毛囊中受到空间上的组织。除细胞分裂,子细胞协调的细胞移动也使得毛囊能够快速扩充。研究表明,干细胞和子代细胞与直接微环境间的互作决定了细胞如何分裂、迁移至何处以及变为何种特化细胞。最后,通过针对性细胞清除和长期追踪活体毛囊表明了毛发再生对间充质的需求。

新研究首次实现了在未受损的活体动物内以高空间和时间分辨率成像毛囊干细胞及子细胞。表明了毛发再生涉及一系列的动态细胞行为,依赖于间充质的存在。了解在生理条件下干细胞和子细胞的行为调控机制有可能是推动干细胞在再生医学中应用以及揭示大量疾病细胞机制的必要条件。

Rompolas P, Deschene ER, Zito G, Gonzalez DG, Saotome I, Haberman AM, *et al.* Live imaging of stem cell and progeny behaviour in physiological hair-follicle regeneration. *Nature* 2012; doi: 10.1038/nature11218.

Nature: 热量限制和小肠功能之间的联系

减少热量摄取同时维持充足营养可延长多种不同生物的生命,这可能是通过保持干细胞和先祖细胞的功能来进行的。David Sabatini及其同事发现,在小鼠的小肠中,热量限制导致具有增强的再生能力的小肠干细胞(ISC)数量增加。这种效应可通过Paneth细胞(ISC生存环境中的重要成分)中的mTOR信号作用的调制来介导。研究结果发表在最新一期的*Nature*杂志上。

卡路里限制的一个核心作用因子就是蛋白质mTOR。在与其他蛋白结合后,mTOR形成两种复合物,称为mTORC1和mTORC2。mTORC1抑制剂雷帕霉素(Rapamycin),也可促进包括中年小鼠在内的几种生物体长寿。这些研究发现使得研究人员猜测雷帕霉素有可能模拟了卡路里限制,减慢人类年龄相关疾病的进展。

研究人员分别将从卡路里限制的动物和非限制动物处获得的肠道干细胞与潘氏细胞一起培养时,发现卡路里限制的动物其肠道干细胞更有可能形成类器官。热量限制导致Paneth细胞中Bst1的表达及“环ADP核糖”(它以一种“旁分泌”方式作用于ISC上)随后的分泌。

以上研究反映了一种生物的干细胞功能与营养状态之间的一个联系,也提出这样一种可能性:mTORC1抑制因子或Bst1模拟物在提高小肠再生和功能方面也许有治疗作用。

Yilmaz ÖH, Katajisto P, Lamming DW, Gültekin Y, Bauer-Rowe KE, Sengupta S, *et al.* mTORC1 in the Paneth cell niche couples intestinal stem-cell function to calorie intake. *Nature* 2012; 486(7404): 490-5.

朱丽华 整理