

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。

聚焦2012诺贝尔生理/医学奖

英国科学家约翰·戈登(John B. Gurdon)和日本科学家山中伸弥(Shinya Yamanaka)由于“成熟细胞可被重编程恢复多能性”的研究成果,获得了2012年诺贝尔生理/医学奖。*Science*、*Nature*等各大顶级期刊纷纷报道介绍相关技术成果。

今年的诺贝尔生理/医学奖授予了改变细胞发育只是单向通道观点的研究成果。英国剑桥大学的John B. Gurdon和日本京都大学的山中伸弥两位教授发现,成熟细胞能通过重编程,转变成类似胚胎发育早期阶段的多能细胞状态,这些所谓的多能干细胞能分化成身体的任何组织。这两人的工作搭建起了现代生物学两个时代之间的桥梁,“彻底改变了我们对于细胞和机体发育的理解”,诺贝尔委员会在获奖公告中写道。

1962年, Gurdon教授发现,取自青蛙肠道中一个细胞的遗传信息包含有创建一个全新青蛙个体所需的所有信息,他将这些遗传信息提取出来,并把它放入到一个青蛙卵细胞中,结果发现这个克隆发育成了一个正常的蝌蚪。正是这项技术最终导致了多莉羊——第一只克隆哺乳动物的出现。四十年后,山中伸弥发现,使细胞DNA恢复多能性并不需要卵细胞,他们通过小鼠细胞实验,发现添加4种转录因子,就能使皮肤细胞转化成干细胞。

这种使成体细胞重新编程的能力,能帮助研究人员以全新的方式分析某些疾病,并在未来实现实验室里生长替换的组织,甚至器官。

Nature: 人类胚胎干细胞首次恢复动物听力

英国谢菲尔德大学的Marcelo Rivolta领导的研究小组终于让耳聋的沙鼠又一次听到了声音,这些细胞能够发育成神经,进而从耳向脑传输听觉信息,这一进展将成为治疗不同类型听觉损失的理论基

础,研究结果发表在*Nature*上。

导致耳聋的最常见原因是内耳毛细胞受损或是向大脑传输信息的神经细胞损伤。过去,有人曾经合成出单个的毛细胞,或是一些看起来像是来自干细胞的单个神经细胞,但难以达到临床治疗的标准。

研究人员将人类胚胎干细胞暴露在FGF3和FGF10之中,形成前体内耳毛细胞,分离出那些开始分化为想要的螺旋神经节的细胞,移植到耳神经受损的沙鼠内耳中,并在之后的10周对动物进行了跟踪。结果表明,神经细胞的功能被修复了。

目前,只有不足20%的用于治疗干细胞能够发育成耳神经细胞。研究人员推测,添加其他生长因子能够收获更多的耳前体细胞,并进行进一步的探索。

Chen W, Jongkamonwiwat N, Abbas L, Eshtan SJ, Johnson SL, Kuhn S. Restoration of auditory evoked responses by human ES-cell-derived otic progenitors. *Nature* 2012; 490(7419): 278-82.

Cancer Discov: 癌症与间充质干细胞

美国Whitehead研究所Robert A. Weinberg领导的研究小组研究指出,间充质干细胞MSCs及其衍生的细胞类型能构建一个癌症干细胞微环境,帮助肿瘤通过释放PGE2和细胞因子,促进肿瘤发生发展,研究结果发表在*Cancer Discov*上。

研究人员发现,癌细胞来源的白细胞介素-1(IL-1)能诱导MSCs介导的前列腺素E2(PGE2)的分泌。由此产生的PGE2就以自分泌的方式与旁分泌的IL-1信号合作,诱导间充质干细胞一组细胞因子的表达。之后PGE2和这些细胞因子,继续通过旁分泌的方式激活 β -catenin信号通路,并促进癌症干细胞的形成。

研究表明,间充质干细胞及其衍生的细胞类型

能构建一个癌症干细胞微环境,帮助肿瘤通过释放PGE2和细胞因子,促进发生发展。

Li HJ, Reinhardt F, Herschman HR, Weinberg RA. Cancer-stimulated mesenchymal stem cells create a carcinoma stem cell niche via prostaglandin E2 signaling. *Cancer Discov* 2012; 2(9): 840-55.

Cell: 追踪干细胞分化的轨迹

美国麻省理工学院和加州大学旧金山分校的研究人员首次成功追踪了心脏细胞随时间的分化状况,有可能帮助科学家们更好地了解心脏缺陷疾病机制,帮助人工心脏组织的研究开发,研究结果发表在*Cell*上。

研究人员在培养皿中培育了小鼠胚胎干细胞,并加入促进心脏细胞发育的蛋白质和生长因子。并分四个不同的分化阶段进行追踪,用高通量测序技术分析组蛋白修饰,确定表达基因。研究发现,当干细胞分化时,组蛋白修饰模式发生快速改变,不同阶段处于活性状态的基因以及调控元件也不尽相同。可以通过比较基因的修饰模式以及它们是否在特异时间获得转录来确定具有相关功能的基因群。他们还确定了远离调控基因的调控区域。开始将基因与有可能激活它们的调控元件连接起来,并开始绘制控制和驱动这些心脏特异性程序的分子线路图。这些DNA元件对于开启生成心脏细胞所需要的所有基因至关重要。

研究小组还确定了似乎在调控区域协同作用驱动心脏发育重要的基因转录的转录因子。其中,许多转录因子的缺陷过去证实与先天性心脏缺陷相关联。该研究获得的数据应该可帮助研究人员找出这些变异导致那些疾病的原因和可供治疗用途的心脏细胞。

新研究给出了心脏细胞发育过程的一个线路图,证实心脏细胞是通过协调基因表达的转变而形成的,并揭示了这些转变的控制机制。研究人员正在寻找参与控制心脏分化的其他转录因子组合。他们还在研究他们发现的调控序列中的变异以找到这些序列有可能导致先天性心脏病或生命晚期心血管疾病易感性的机制。

Wamstad JA, Alexander JM, Truty RM, Shrikumar A, Li F, Eilertson KE, *et al.* Dynamic and coordinated epigenetic regulation of developmental transitions in the cardiac lineage. *Cell* 2012; 151(1): 206-20.

Stem Cells Dev: iPSCs和癌细胞的相似之处

美国加州大学戴维斯分校的研究人员发现iPSCs(诱导性多能干细胞)非常类似于癌细胞,可能导致恶性肿瘤产生,研究结果在*Stem Cell Dev*期刊上。

研究表明,iPSCs和胚胎干细胞有产生畸胎瘤的倾向。在这项新研究中,研究人员首次证实iPSC和胚胎干细胞与恶性肿瘤细胞存在着显著的相似性。研究人员比较了iPSC和恶性肉瘤细胞,对比了这些不同细胞的转录组,即细胞内全部RNA分子。不同于DNA分析,转录组只能反映给定时间内活跃表达的基因,因而能够反映实际的细胞活性。

从这些转录组分析来看,iPSC和恶性肉瘤细胞具有惊人的相似性。两者具有很多相同的沉默基因,包括很多诱导细胞在某种方向进行正常分化的基因。两者还表现出类似的代谢活性,这从另一个方面表明它们是相关联的细胞类型。

目前的研究中,iPSC用来产生已分化的细胞或组织,然后植入到病人体内,能够避免引入未分化的iPSCs,减少肿瘤形成的风险。然而,还是存在微量残留的iPSCs致癌的风险。

研究中也发现,iPSCs和恶性肉瘤细胞之间存在一些重要差别,借此研究人员通过基因操作可以使癌细胞重编程为一种更加正常的细胞类型,在本质上也就是让肿瘤变成正常的干细胞,为人们开发出癌症新疗法打开大门。研究人员继续研究iPSCs和癌细胞之间的不同和相似性,希望开发出更安全的iPSC疗法。

Riggs JW, Barrilleaux B, Varlakhonova N, Bush K, Chan V, Knoepfler P. Induced pluripotency and oncogenic transformation are related processes. *Stem Cells Dev* 2012; doi:10.1089/scd.2012.0375.

Curr Opin Cell Biol: 生物物理所等发表关于干细胞与衰老研究综述

中科院生物物理研究所刘光慧研究组深入讨论了利用iPSC进行人类衰老及其相关疾病研究的可行性及其应用前景,在线发表在*Curr Opin Cell Biol*上。

该文点评了近年来人类衰老研究领域的最新进展,着重指出早衰症和多种退行性疾病来源的iPSC可作为实验材料,在实验室中通过定向分化和重构应激环境复制人类衰老及疾病的主要表型,可供科研人员研究人类衰老及相关疾病的发生发展机

制和过程。

文章还重点解析了用iPSC模型研究神经退行性疾病(包括帕金森氏症、阿尔茨海默氏症和肌萎缩性侧索硬化等)的种种范例,突出了这些模型作为机理研究和药物验证平台的可能性和优势。此外,文章指出基因组靶向编辑技术、器官分化培育技术以及定向移植技术的应用将进一步促进人类iPSC衰老模型的发展,这些新型的研究工具将对理解人类衰老机制以及发展“健康衰老”的防治策略产生重要影响。

Liu GH, Ding Z, Izpisua Belmonte JC. iPSC technology to study human aging and aging-related disorders. *Curr Opin Cell Biol* 2012; doi.org/10.106/j.ceb.2012.08.14.

Nature: 单倍体胚胎干细胞获得转基因动物

9月30日, *Nature*在线发表了中国科学院动物研究所周琪研究组和赵小阳研究组合作完成的一项研究工作,该研究首次实现了利用基因修饰的单倍体胚胎干细胞而获得健康成活的转基因哺乳动物。

单倍体细胞及其发育而成的个体是研究隐性遗传基因的理想模型。针对单倍体胚胎干细胞进行基因操作可以将基因修饰直接遗传给后代,从而避免了其他转基因方法种系嵌合等方面的要求,可以极大提高基因修饰的效率极其应用范围。但在此工作前,尚未获得通过单倍体胚胎干细胞产生的健康成活的基因修饰动物。

研究人员证实通过将精子注入到细胞核移除的卵母细胞中可以构建出小鼠雄性单倍体胚胎干细胞。这些雄性单倍体胚胎干细胞(ahES cells)可超过30代维持单倍性和稳定生长,表达多能性标记,在体内外具有分化为所有三个胚层的能力,当注入到胚泡时生成了嵌合体生殖细胞系。尽管在表观遗传上不同于精子细胞,在胞质内注射到成熟卵母细胞后ahES细胞能够生成活体具有生育能力的后代。这种卵母细胞注入程序也可生成来自遗传工程ahES细胞的活体转基因小鼠。

新研究证实了实验室培育雄性单倍体多能干细胞能够在功能上像配子一样形成受精卵,并可生成活体后代,或许有可能为辅助生殖提供一个宝贵的资源。由ahES细胞生成的具生育能力的小鼠表明了单倍体胚胎干细胞中的遗传信息在功能上是完整且稳定的,因此提高了单倍体ES细胞在遗传学研究中的价值。建立的稳定单倍体外胚层干细胞样细胞系证实ahES细胞的单倍体状态可以在某些情况下在

其他细胞类型中传递及维持稳定。该研究还提供了在无法获得具有生殖能力的胚胎干细胞动物模型,包括非人类灵长动物中进行遗传操作的一种新方法。由于这样的单倍体干细胞中的修饰可通过胞质内注射到成熟卵母细胞中传递至后代,这可能作为基因靶向研究的一种更有效和简单的策略。

Li W, Shuai L, Wan H, Dong M, Wang M, Sang L, et al. Androgenetic haploid embryonic stem cells produce live transgenic mice. *Nature* 2012; doi: 10.1038/nature11435.

Nat Commun: 筛选激酶抑制剂更高效地制造iPSC

来自美国桑福德-伯纳姆医学研究所(Sanford-Burnham Medical Research Institute)的研究人员发现,几个激酶抑制剂当加入到起始细胞(如皮肤细胞)时,有助于产生比标准方法还要多的iPSCs。这些发现将可能加快很多领域的研究,更好地让全世界的科学家们研究人类疾病和开发出新的治疗方法。相关研究结果于9月25日刊登在*Nat Commun*上。

获得iPSCs依赖于调节细胞内的通信网络。激酶在细胞通信、存活和生长等方面发挥着重要作用,许多活性的激酶可能抑制iPSCs产生。研究人员从240多种抑制激酶的化合物中筛选出强效的抑制剂靶向三种激酶: Aurka、p38和PI3K。

Li Z, Rana TM. A kinase inhibitor screen identifies small-molecule enhancers of reprogramming and iPSC cell generation. *Nat Commun* 2012; doi: 10.1038/ncomms2059.

Cell Stem Cell: 细胞转分化研究新突破

慕尼黑大学的科学家仅利用两种蛋白质,无需细胞分裂,成功在人类和小鼠的培养细胞中将周细胞重编程为神经元,对于患有退行性脑部疾病的患者有可能具有重要意义,这一研究结果发表在*Cell Stem Cell*上。

研究人员收集了来自癫痫手术患者移除区域的30份脑组织样品,进行培养获得周细胞。接着利用两种转录因子Mash1和Sox2将人类周细胞转变为了神经元。在4~5周内,许多的周细胞成功地重编程为神经元: 大约一半包含神经元特异性蛋白beta-III-tubulin,超过四分之一呈现出神经元形态。并用时移视频显微镜拍摄下了这些转变。新生神经元呈现正确的形状,释放电脉冲,并似乎生成了神经递质GABA。

目前,这种重编程的作用机制尚未探明,而且

只有19%的周细胞转变为正常神经元。接下来科研人员想利用小分子来取代转录因子进行重编程,并提高重编程效率满足临床应用。

Karow M, Sánchez R, Schichor C, Masserdotti G, Ortega F, Heinrich C, *et al.* Reprogramming of pericyte-derived cells of the adult human brain into induced neuronal cells. *Cell Stem Cell* 2012; 11(4): 471-6.

Mol Cell: 浙江大学课题组发现干细胞癌变机理

浙江大学王英杰、沈炳辉教授的联合课题组在干细胞研究中发现,当两种关键蛋白质“失控”发生越位碰撞后,就会引发一系列变化,将一个正常的干细胞变成肿瘤干细胞。这项揭示干细胞癌变重要机制的研究成果在线公布在*Mol Cell*上。

目前的一些证据显示,肿瘤干细胞可能主要来源于正常干细胞的癌变。王英杰与沈炳辉的研究团队经过近3年的努力探索,终于解开了Oct4和Akt在胚胎癌细胞中的互作之谜。在胚胎癌细胞Akt能将Oct4“变异”,变成自己的帮凶,更轻易地定位在细胞核内,并促进它与另一干细胞转录因子Sox2形成复合物,增强胚胎癌细胞的自我更新能力。Oct4和Akt间彼此结盟,形成了一个相互促进的调控机制,即“Oct4-Akt正反馈回路系统”,这也许是肿瘤干细胞比正常干细胞具有更强的自我更新能力和抗凋亡能力的一个重要原因。

这些发现揭示了干细胞癌变的一种重要机制,为进一步深入了解肿瘤干细胞发生机理提供了全新的线索。

Lin Y, Yang Y, Li W, Chen Q, Li J, Pan X, *et al.* Reciprocal regulation of Akt and Oct4 promotes the self-renewal and survival of embryonal carcinoma cells. *Mol Cell* 2012; doi: 10.1016/j.molcel.2012.08.030.

Nature: 发现肌肉老化原因

最近,一国际研究小组发现一种名为FGF2的蛋白在肌肉老化过程中扮演着重要角色,对小鼠的研究表明,利用常规药物可以阻止这一进程。这一研究发现对于了解肌肉老化的进程十分重要,且使得未来开发可使肌肉“返老还童”的新疗法成为可能。研究结果发表在*Nature*上。

英国伦敦国王学院、美国哈佛大学及麻省总医院的研究人员发现在人体内的每一块肌肉组织中,都有一些处于休眠状态的干细胞,这些干细胞会在

肌肉受损伤时被激活,分裂成数百个新的肌肉纤维来修复受损肌肉。在修复过程结束时,会有一些细胞重新补充到休眠状态的干细胞群中,以保持未来对肌肉的持续修复能力。

研究人员进行了一项针对衰老期小鼠的研究。他们发现,随着年龄增长,小鼠体内处于休眠状态的干细胞会逐渐减少,这或许解释了为什么随着年龄的增长,肌肉的修复和再生能力会逐渐下降。通过对小鼠老化肌肉进行扫描发现,在老化的肌肉中,一种名为FGF2的蛋白水平极高。这种蛋白具有刺激细胞分裂的能力,即使在不需要的时候,它们也会唤醒休眠干细胞。而对休眠干细胞的持续激活,则意味着干细胞群内细胞数量会逐渐减少,而当肌肉组织真正需要干细胞来修复的时候,却无法作出正常的反应。

进一步研究表明,通过一种常见的FGF2抑制药物,可以抑制FGF2蛋白,阻止干细胞被不必要的激活,进而抑制小鼠肌肉组织内干细胞数量的下降。

研究人员表示,现在还不知道为何FGF2蛋白水平会随着年龄的增长而增加,并在不需要的时候激活干细胞,这需要进行更多的研究。而下一步工作则是要分析人体老化肌肉的状况,看人体肌肉纤维中干细胞的损耗是否与小鼠具有同样的机制。

Chakkalakal JV, Jones KM, Basson MA, Brack AS. The aged niche disrupts muscle stem cell quiescence. *Nature* 2012; doi: 10.1038/nature11438.

Science: 人造卵子

近日,日本的研究人员成功地诱导小鼠干细胞成为了可生长发育的卵子,受精后长成了健康的幼鼠。这项工作为研究长期笼罩在神秘中的哺乳动物发育及不育症的基本元素提供了一个强有力的工具,研究结果发表在*Science*上。

去年,京都大学Mitinori Saitou实验室的同一研究小组成功地利用小鼠干细胞生成了功能性的精子。精子是机体中一种较简单的细胞,而卵母细胞则复杂得多。

在最新的研究中,Saitou和他的同事们用两种细胞类型(小鼠胚胎干细胞和诱导多能干细胞)展开了研究。利用一种信号分子首先将干细胞转化成了外胚层细胞,然后生成了原生殖细胞(PGCs)。研究人员分离出不包含性细胞的胚胎卵巢组织,然后将他们实验室生成的PGCs加入到培养皿中。混合物

自发地形成了卵巢样结构,它们随后被移植到雌性小鼠体内。4周后,干细胞源性PGCs发育成了卵母细胞。研究小组让它们受精,并将胚胎移植到了代孕小鼠体内。生成的后代能够长大且具有生育能力。

Saitou说,PGCs稀少且难以从小鼠分离,因此研究人员对于他们的调控所知甚少。当PGCs发育成为精细胞或卵细胞,在一个称作基因组印记的过程中某些基因被沉默。尽管这对于发育至关重要,但对于它是如何启动或者说基因是如何选择性沉默的仍不是很清楚。

对于减数分裂的细节目前也了解甚少——尤其是卵母细胞,它们在雌性胚胎中形成直至生物体开始排卵一直维持着静止状态。“这是这项工作最大的直接影响。因为我们已经成功地生成了功能性的精子和卵母细胞,我们能够真正地研究在这一重要的细胞系中正在发生的事情,”Saitou说。

Saitou研究小组现在正设法用人类细胞生成PGCs。由于人类和小鼠干细胞的差异这可能难于证实。更重要的是,实践和伦理问题意味着研究人员将无法获得人类卵巢组织来培养细胞。

Hayashi K, Ogushi S, Kurimoto K, Shimamoto S, Ohta H, Saitou M. Offspring from oocytes derived from *in vitro* primordial germ cell-like cells in mice. *Science* 2012; doi: 10.1126/science.1226889.

Cell Res: 应激引起的p38活化有利于多能干细胞(iPSC)的诱导

近日,同济大学和中科院上海药物所/国家新药筛选中心发表了关于小分子化合物提高iPSC诱导效率的最新研究结果,发表在*Cell Res*上。

博士研究生许新秀、王荃等在筛选化合物时无意中发现,位于96孔板边缘的孔中的iPSC诱导效率高于中间的孔。多孔板的边缘效应经常可以在高通量筛选体系中观察到,主要是因为边缘孔的液体蒸发更强,从而导致边缘孔的渗透压提高、pH及营养状况变化。研究模拟了这几种情况,发现渗透压的提高可以明显提高iPSC诱导效率。高渗条件能使四因子诱导效率提高10倍,使重编程效率接近25%。在两种因子(OK, OS)或一种因子(O)体系中,高渗条件也能提高诱导效率3~5倍。高渗能够激活体细胞中的三条MAPK(ERK、JNK和p38)通路,但只有当p38的激活被抑制时,高渗所提高的重编程效率才会被抑制。利用其他化合物短时激活p38或过表达组

成活性活性的p38均可提高iPSC诱导效率,相反过表达显性负性突变体可抑制重编程效率。

p38的激活被普遍认为是促进细胞分化的,为何会提高重编程效率呢?进一步研究发现,p38的激活可以在整体上降低DNA甲基化程度,使细胞处于一种不稳定的中间状态,随着重编程因子的导入或分化信号的出现,就可以更容易地被重编程回多能状态或分化。环境应激一直是生物进化的有力推动因素,研究显示在应激条件下,细胞的表现遗传状态及基因转录水平发生变化,从而有利于细胞命运的改变。

Xu X, Wang Q, Long Y, Zhang R, Wei X, Xing M, *et al.* Stress-mediated p38 activation promotes somatic cell reprogramming. *Cell Res* 2012; doi: 10.1038/cr.2012.143.

Mol Brain: 用iPS细胞再现帕金森氏症脑内异常

日本庆应义塾大学和顺天堂大学的研究人员10月10日宣布,他们用帕金森氏症患者的皮肤细胞培养出诱导性多功能干细胞(iPS细胞),并首次再现了患者脑内出现的异常蛋白质蓄积,研究结果发表在*Mol Brain*上。

帕金森氏症是一种中老年人常见的中枢神经系统变性疾病,主要表现为手脚震颤和身体僵硬等,并发认知障碍的概率很高。该病因目前仍不清楚,一般认为病因之一是脑部分泌神经递物质多巴胺的神经细胞减少。

研究人员用一名70多岁帕金森氏症患者的皮肤细胞,培养出了iPS细胞,并让iPS细胞分化形成神经细胞。经过分析,他们发现神经细胞内出现了与发病相关的异常蛋白质蓄积。

这名患者去世后,研究人员在调查其脑部时,发现了同样的蛋白质蓄积,从而确认由iPS细胞发育成的神经细胞准确再现了患者生前脑内的情况。

研究小组带头人、庆应义塾大学教授冈野荣之指出,帕金森氏症要经过数十年时间才会发病,而通过在试管内培养神经细胞,数周时间就能检测出疾病的征兆。这一发现将有助于弄清帕金森氏症的发病机制,并有助于该病的早发现和早治疗。

Imaizumi Y, Okada Y, Akamatsu W, Koike M, Kuzumaki N, Hayakawa H, *et al.* Mitochondrial dysfunction associated with increased oxidative stress and alpha-synuclein accumulation in PARK2 iPSC-derived neurons and postmortem brain tissue. *Mol Brain* 2012; 5(1): 35.

朱丽华 整理