

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。

Cell Res: 发现提高iPS重编程效率因子

中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所李劲松研究组与南开大学生命科学学院刘林研究组发现,将核移植过程中的重要因子Zscan4与Yamanaka因子共同使用,不仅能显著提高诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPS cells)的产生效率,而且显著改善了iPS细胞的质量。相关成果目前发表在*Cell Research*上。

近期研究发现,人体的iPS细胞存在不少遗传变异。由此可以推测,参与核移植诱导体细胞重编程的因子可能对遗传物质的稳定起重要作用。如果将这些因子应用到iPS技术中,可能会维持重编程过程中细胞遗传物质的稳定性,从而改善iPS细胞的质量。

此次研究人员建立了一个筛选系统,发现其中Zscan4能显著提高iPS细胞的形成效率。进一步研究发现,Zscan4能促进重编程过程中细胞端粒区以及非端粒区遗传物质的稳定,并快速延长重编程细胞的端粒。

由于Zscan4的介入稳定了重编程细胞的基因组,iPS细胞的质量得到了显著的改善,19株中有11株(58%)通过四倍体囊胚注射能获得完全来自iPS细胞的小鼠;而通过传统Yamanaka方法获得的iPS细胞,11株中只有1株能获得完全iPS细胞的小鼠。

相关专家认为,该研究为通过Yamanaka方法获得iPS细胞研究提供了新的思路,为获得更安全的iPS细胞并将其应用于再生医学提供了重要的理论依据。

Jiang J, Lv W, Ye X, Wang L, Zhang M, Yang H, *et al.* Zscan4 promotes genomic stability during reprogramming and dramatically improves the quality of iPS cells as demonstrated by tetraploid complementation. *Cell Res* 2012; doi: 10.1038/cr.2012.157.

Nat Genet: 发现癌症干细胞标志蛋白

治疗癌症如果不把癌症干细胞彻底清除,癌症很容易复发和转移。日本京都大学的研究人员说,他们找到了癌症干细胞含有的一种标志蛋白,有望对癌细胞做到“斩草除根”。相关成果发表在新一期《自然·遗传学》网络版上。

京都大学消化内科教授千叶勉领导的研究小组在研究中注意到消化道中的一种蛋白质Dclk1,他们分析了罹患大肠癌的实验鼠,发现含这种蛋白质的细胞会在较长一段时间内持续产生癌细胞。他们通过基因操作成功地、有选择地清除了含Dclk1蛋白质的细胞,实验鼠体内的大肠癌组织面积缩小了80%以上,有些甚至完全消失,而且未发现副作用。

治疗癌症如果不把癌症干细胞彻底清除,则癌症很容易复发和转移,因此必须找到癌症干细胞,对其“斩草除根”。而此前人们陆续发现的癌症干细胞所含的一些标志物同时也存在于正常干细胞内,如果以这些物质为目标清除癌症干细胞的话,会误伤到正常干细胞,导致副作用的出现。

研究人员表示,这是首次找到只存在于癌症干细胞内的标志物质,以此物质为目标,可实现对癌症干细胞的精准攻击,有望用来研发几乎没有副作用的抗癌药物。另外,Dclk1蛋白质很可能也是胰腺癌、胃癌等其他癌症的标志蛋白。

Nakanishi Y, Seno H, Fukuoka A, Ueo T, Yamaga Y, Maruno T, *et al.* Dclk1 distinguishes between tumor and normal stem cells in the intestine. *Nat Genet* 2012; doi: 10.1038/ng.2481.

Cell Stem Cell: 健康所肿瘤间充质干细胞研究新进展

近日,中科院健康所时玉舫课题组的研究首次

揭示了作为肿瘤基质重要组成部分的肿瘤基质干细胞促进原位肿瘤生长的机制, 为目前临床肿瘤治疗提供了新的途径。研究成果在*Cell Stem Cell*在线发表。

近年来, 科学家们发现在肿瘤组织中也存在数量不少的MSCs。这些肿瘤基质MSCs据研究有很大一部分来源于健康组织(如骨髓), 并可能是肿瘤相关成纤维细胞的前体细胞。但是, 这些肿瘤基质MSCs在肿瘤中到底具有什么功能, 它们与正常组织中的MSCs有什么本质差别, 此方面研究仍然相当缺乏。该课题组任光文带领的团队, 基于此前研究健康组织MSCs的经验, 从小鼠自发性肿瘤组织中分离出多个MSC细胞系, 详细比较了这些肿瘤基质MSCs与健康组织MSCs的功能性差别。研究表明, 相对于健康组织MSCs, 肿瘤基质MSCs高表达多种细胞因子及趋化因子, 尤其是CCR2家族的趋化因子CCL-2、CCL-7和CCL-12。这些趋化因子介导肿瘤基质MSCs特异性招募巨噬细胞及单核细胞到肿瘤局部, 通过促进新血管生成及免疫抑制达到促进肿瘤生长的目的。因此, 相对于健康组织MSCs, 肿瘤基质MSCs表现出很强的促瘤效果, 而这种促进作用在CCR2及巨噬细胞缺失的小鼠中完全消失。

由于肿瘤基质MSCs相当一部分起源于健康组织中的MSCs, 那么当健康组织MSCs到达肿瘤微环境后是如何获得这种高效促瘤效果的呢? 进一步研究表明, 肿瘤相关的炎症环境中, 肿瘤坏死因子作为一种重要的炎症因子, 能促使健康组织MSCs获得类似于肿瘤基质MSCs的体外及体内的系列功能, 包括趋化因子的上调, 体内巨噬细胞招募及促瘤功能。因此, 肿瘤相关的炎症环境改变了正常MSCs功能, 使之获得高效招募炎性单核细胞及巨噬细胞的能力, 从而达到促进肿瘤生长的目的。这一发现首次阐明了肿瘤基质干细胞和肿瘤相关巨噬细胞作为两类重要的肿瘤基质细胞, 具有内在的关联。通过降低炎症效应及抑制CCR2信号通路, 破坏MSCs与巨噬细胞的有效关联, 可成为未来肿瘤治疗的一条新途径。

Ren G, Zhao X, Wang Y, Zhang X, Chen X, Xu C, *et al.* CCR2-dependent recruitment of macrophages by tumor-educated mesenchymal stromal cells promotes tumor development and is mimicked by TNF α . *Cell Stem Cell* 2012; 11(6): 812-24.

Nat Genet: 发现阻碍诱导多功能干细胞形成的“路障”

日前, 中国科学院广州生物医药与健康研究院裴端卿研究员、陈捷凯副研究员等准确定位了iPS细胞诱导过程中一个极为重要的障碍, 破解了产生障碍的原因并找到了清除这个障碍的办法。上述研究成果于12月2日在线发表在*Nature Genetics*上。

在研究iPS细胞的过程中, 裴端卿研究员及其团队发现, iPS细胞诱导过程中大量出现一类细胞克隆, 外观、生长速度等各方面酷似干细胞, 却没有干细胞应有的基因表达和功能。这种“pre-iPS细胞”在经典的诱导环境中大量存在, 而且状态稳定, 严重阻碍了科研人员获得真正的iPS细胞, 包括iPS技术创始人Yamanaka在其第一篇关于iPS细胞的*Cell*文章上, 获得的很多细胞株其实也只是这种pre-iPS细胞。然而, 经过研究发现, pre-iPS细胞在某些诱导条件下(比如用维生素C处理)也会变成真正的iPS细胞, 可见这只是一只未完全重编程的iPS细胞。

裴端卿研究员及其团队意识到这种稳定的半成品代表了iPS诱导过程的一个重要关口, 大部分细胞都被阻碍在这个关口之外, 于是“兵分两路”: 一路寻找这种半成品产生的条件, 另一路探索其转录调控情况。经过深入的研究, 他们发现诱导培养iPS细胞所使用的血清是诱发这个障碍的元凶, 尽管血清组成成分复杂, 他们依然鉴定出起到主要抑制作用的成分——BMP蛋白, 并用严谨的实验证实了BMP信号通路对重编程过程的抑制作用; 另一方面, 他们发现了一个奇怪的现象, 作为诱导iPS细胞四个因子之一的Oct4, 尽管在半成品中表达量也非常高, 却无法调控其在胚胎干细胞或真正iPS细胞中所调控的基因, 经过检测, 发现这些Oct4本应结合的位点, 无一例外处于一种抑制的表观遗传状态!

结合这些结果, 研究人员推测BMP信号通路与此“上锁”的过程直接相关, 并发现BMP信号的激活与其中一种称之为H3K9(组蛋白H3上的9位赖氨酸)甲基化的现象直接相关, 这种甲基化一般被认为是染色质浓缩化形成异染色质的标志。进一步实验说明, BMP信号通路能够通过调节H3K9的甲基转移酶来阻碍细胞进一步前进成为iPS细胞, 而维生素C则可以依赖于H3K9的去甲基化酶清除这种障碍。

为了鉴定这个障碍的重要性及其对应的酶, 研究人员尝试用siRNA失活各种H3K9甲基化酶, 结果

发现,失活Setdb1这个酶可以使半成品细胞(pre-iPS细胞)在96小时内接近100%被继续重编程为真正的iPS细胞,因此,Setdb1和H3K9甲基化被证实是iPS诱导过程中一个极其重要的障碍。

这项历时四年的研究结果抽丝剥茧,将iPS诱导过程中一个常见的重要障碍的形成原因和分子机理详细阐述清楚,不仅对克服不完全重编程障碍、促进iPS技术发展有显而易见的贡献,也提供了一个胞外信号通路经由表观遗传酶调节细胞命运的范例。

Chen J, Liu H, Liu J, Qi J, Wei B, Yang J, *et al.* H3K9 methylation is a barrier during somatic cell reprogramming into iPSCs. *Nat Genet* 2012; doi: 10.1038/ng.2491.

Nat Methods: 干细胞重编程新方法——“间接谱系转换”

美国萨克生物研究所开发出一种“间接谱系转化(ILC)”技术,能由成熟细胞生成干细胞,允许干细胞及其衍生物无限生产,并可将生成时间从2个月缩短至15天。相关研究报告发表在《自然·方法》杂志上。

推广干细胞疗法需要克服的障碍之一就是快速生产出足够的细胞,以满足紧急临床应用。此外,iPS细胞有时还会转化成畸胎瘤,因此这一方法也存在着相当风险。

之前有科学家开发出一种名为“直接谱系转化”的技术。基于这种技术,科学家只能将体细胞转化成特定谱系的细胞;而萨克生物研究所改进了这一技术,开发出了“间接谱系转化”技术,使体细胞回溯至更早的状态,适宜在未来转化成祖细胞(一种具有增殖能力的原始细胞,不像干细胞具有多向分化能力,只能向一个或几个细胞系定向增殖分化)。这意味着ILC在特定的化学环境中,具有转化出多个谱系细胞的潜能。更重要的是,ILC无需将体细胞先转化为iPS细胞,而可将体细胞直接转化成特定谱系的祖细胞,这能有效节省时间,并可降低出现畸胎瘤的风险。

借助ILC,研究小组重新编程了人类皮肤细胞,使其转化为血管细胞的祖细胞。这不仅保证了新细胞的增殖,还能使其进一步分化成内皮细胞和平滑肌血管谱系。当被植入小鼠体内后,这些细胞也能融入其现有的脉管之中。研究人员称,他们研究的长期目标是令干细胞自我组装成三维结构,随后整合到人体现有的身体组织当中。虽然这一技术进入

临床应用还需等上数年,但它却具有安全、高产和快速等诸多优势,也因而能够降低细胞生产过程中发生突变的几率。

Kurian L, Sancho-Martinez I, Nivet E, Aguirre A, Moon K, Pendaries C, *et al.* Conversion of human fibroblasts to angioblast-like progenitor cells. *Nat Methods* 2012; doi: 10.1038/nmeth.2255.

SCTM: 将血液细胞变成干细胞

英国剑桥大学的科学家将一名病人血液中一种能修复血管壁损伤的细胞变成了干细胞。他们在最新一期《干细胞:转换医学》杂志上表示,这可能是迄今为止制造干细胞最简单、安全的方法,有望用来治疗多种疾病。不过,也有专家警告称,这种方法获取的干细胞的安全性仍有待验证。

现在,剑桥大学的科学家从一名病人血液中提取出一类修复细胞。这种细胞能迅速通过血管并修复血管壁上的各种损伤,他们随后将其培养成干细胞。研究人员埃默·拉那博士表示:“这种方法比用皮肤细胞制造干细胞更实用、更有效、更安全,因为对病人来说,提取血液样本非常容易。另外,这样获得的细胞非常稳定,这一点在医学领域很有利用价值,接下来,我们将在临床中使用这项技术。”

伦敦大学学院再生医学领域的专家克里斯·马森表示:“获取血液样本要比获取高质量的皮肤样本更容易,因此,最新研究非常有用。”不过,他也指出,这还是一个非常新的研究领域,需要更多实验来验证这种干细胞的安全性。

Geti I, Ormiston ML, Rouhani F, Toshner M, Movasagh M, Nichols J, *et al.* A practical and efficient cellular substrate for a generation of induced pluripotent stem cells from adults: Blood-derived endothelial progenitor cells. *Stem Cells Trans Med* 2012; doi: 10.5966/sctm.2012-0093.

Nat Methods: 从人尿液细胞中获得神经干细胞

脊髓损伤、帕金森病、脑损伤等疾病的治疗急需新技术手段。我国科学家成功从人尿液细胞中获得了安全性好的神经干细胞,为这些病患者进行神经干细胞移植治疗提供了一种新途径,有望直接用于临床治疗。这一成果于12月9日在线发表在国际科学期刊《自然·方法学》上。

据介绍,帕金森病等神经损伤及神经退行性疾

病由于神经细胞的再生能力差而目前尚无有效的治疗方法。人们长期以来的梦想是通过移植神经干细胞来替代病人本身已经损伤丧失的细胞,从而达到治愈这类疾病的目的。神经干细胞的来源是目前尚未解决的难题。来自异体的神经干细胞往往会被病人的免疫系统排斥,最佳解决方案是来源于自身的神经干细胞。然而通常情况下,在人体外很难获得病人本身的神经干细胞用于临床治疗。

中科院广州生物医药与健康研究院裴端卿研究员和潘光锦研究员的研究,在探索诱导更具有多能性干细胞的实验过程中,开发出一种特殊的手段,将人尿液中分离而来的细胞成功诱导转变为具有功能的神经干细胞。

“这是一个意外的发现。我们是想将尿液细胞转变为比目前诱导多能干细胞更加具有多能性的干细胞,但我们设计的方法却诱导出了神经干细胞。”裴端卿介绍说,“这些神经干细胞能够在体外扩增,并在适当的条件下能够分化成熟为人体中存在的各种神经元和角质细胞。在进一步的动物模型移植实验中,它们能够很好地在宿主体内存活和融入宿主的脑环境中。”

裴端卿表示,这一发现为获得病人特异性神经干细胞并用于自体移植治疗提供了一个具有很强实用性的技术手段和途径,有望在将来的临床应用中发挥重要作用。

Wang L, Wang L, Huang W, Su H, Xue Y, Su Z, *et al.* Generation of integration-free neural progenitor cells from cells in human urine. *Nat Methods* 2012; doi: 10.1038/nmeth.2283.

Cell: 细胞重编程突破性发现

由宾夕法尼亚大学Perelman医学院的Kenneth

Zaret博士领导的一个科学家小组开展了一些细致的检测研究,更深入地了解了iPS细胞的形成机制,研究揭示了iPS细胞形成的一些细胞障碍,相关论文发表在*Cell*杂志上。

现有方法生成iPS细胞的程序效率非常低下,而且iPS细胞的可塑性逊于胚胎干细胞。研究小组分析了启动iPS细胞重编程48 h后四个重编程因子Oct4、Sox2、Klf4和c-Myc (O、S、K、M)在人类基因组中的目的地,比较了它们在起始细胞群、完全重编程iPS细胞、接近重编程过程末期的细胞(前iPS细胞)和胚胎干细胞这四种细胞类型中的位置。

他们发现在48 h时,重编程因子往往结合到了远离它们所调控的基因,称作增强子的基因调控元件上,而非靶向基因自身。这表明O、S和K作为“先锋因子”打开了DNA封闭的染色质结构从而促进了重编程过程。

研究小组还发现在48 h时基因组中有大量的区域重编程因子难于结合,这些难接近的序列往往用一种称作H3K9me3的组蛋白修饰进行化学标记。当研究小组阻断生成这种修饰的酶时,他们“显著加速”了重编程过程。

这些结果揭示了减慢和阻碍iPS细胞重编程过程的遗传障碍,以及有可能是iPS细胞和胚胎干细胞之间细微差异基础的因子。他们还提出了解决这些问题的一种有潜力的方法——添加H3K9me3抑制剂。研究结果还揭示细胞有可能利用了一条与细胞生物学完全不同的正常的细胞机制来抑制该基因区段。

Soufi A, Donahue G, Zaret KS. Facilitators and impediments of the pluripotency reprogramming factors' initial engagement with the genome. *Cell* 2012; 151(5): 994-1004.

朱丽华 整理