

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 Stem Cell: 日本利用iPS细胞开发出低成本大量制作心肌细胞的方法

日本庆应大学和ASUBIO药品研发公司的联合研究小组利用iPS细胞开发出了比现有技术更高效、成本更低的大量制作心肌细胞的方法,相关研究结果于*Cell Stem Cell*上在线发表。

庆应大学福田惠一教授与ASUBIO药品研发公司的服部文幸主任研究员领导的研究小组对心肌细胞中较多的细胞内小器官“线粒体”进行标记,从而找到将心肌细胞从其他细胞中筛选出来的方法。相比于其他细胞以葡萄糖为营养源,心肌细胞则以线粒体内的化学反应为主要营养源,并不需要葡萄糖。因此,在培养iPS细胞或胚胎干细胞(ES细胞)的过程中,使用不含葡萄糖的成本低廉的培养液就可培养心肌细胞。

使用该制作方法得到的心肌细胞中几乎不存在具有癌化风险的iPS细胞或ES细胞。实验证明,将心肌细胞移植到猴子的心脏中也不会发生癌化。福田教授说,“该方法不需要利用昂贵的设备进行细胞筛选即可获得纯度高达99%的心肌细胞”。

Tohyama S, Hattori F, Sano M, Hishiki T, Naga-hata Y, Matsuura T, *et al.* Distinct metabolic flow enables large-scale purification of mouse and human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *Cell Stem Cell* 2013; 12(1): 127-37.

Biomaterials: 三维培养干细胞调控机制研究新发现

中科院遗传与发育生物学研究所戴建武课题组发现,在三维胶原支架上培养的神经干细胞,其向神经元的分化明显低于二维培养的神经干细胞,同时维持神经干细胞自我更新的bHLH转录因子Hes和

Id的表达水平有明显的上调,说明三维胶原支架能够更好地维持神经干细胞的自我更新。相关研究结果发表在*Biomaterials*杂志。

他们还发现,mTOR信号的活性降低起到了重要作用。这种mTOR的失活并不能通过用胰岛素这种mTOR的常用激活剂而解除。而mTOR抑制分子REDD1在三维培养的神经干细胞中高表达,REDD1的高表达对mTOR的失活起到了重要作用。敲降REDD1可以有效地激活mTOR,同时提高三维培养神经干细胞的分化水平。三维培养体系有利于神经干细胞自我更新能力的维持的机制是通过REDD1抑制mTOR活性实现的。

Han J, Xiao Z, Chen L, Chen B, Li X, Han S, *et al.* Maintenance of the self-renewal properties of neural progenitor cells cultured in three-dimensional collagen scaffolds by the REDD1-mTOR signal pathway. *Biomaterials* 2013; 34(8): 1921-8.

Cancer Res: 神经胶质瘤研究新发现

来自中山大学中山医学院的研究人员近日研究证实,miR-204表达丧失与神经胶质瘤的迁移和干细胞样表型密切相关,该论文在*Cancer Res*上发表。

神经胶质瘤(glioma)发生的病因尚不明确,治疗效果不理想,预后差,是困扰临床医生的难题。近年来一些研究发现,部分胶质瘤表面同时表达神经元和神经胶质细胞的标志物,表明其分化状态紊乱,可能起源于一种具有多项分化潜能的细胞。相关研究也证实胶质瘤中确实存在这种细胞。由于它们具有与神经干细胞(neural stem cells, NSCs)相似的特征,故称之为胶质瘤干细胞(glioma stem cells, GSCs),目前,对于这类细胞分子机制仍知之甚少。

在这篇文章中, 研究人员筛查比较了胶质瘤干细胞和神经干细胞之间的差异miRNA表达, 发现在两种类型的细胞中miR-204均显著下调。机制研究揭示, miR-204可通过靶向干细胞特性支配转录因子SOX4以及迁移促进受体EphB2, 抑制胶质瘤细胞的自我更新、干细胞相关表型和迁移。在胶质瘤细胞中恢复miR-204表达, 可以抑制体内的肿瘤形成和侵袭, 提高宿主存活率。进一步的研究揭示, miR-204启动子存在超甲基化, 减弱miR-204启动子甲基化可以上调胶质瘤细胞中的miR-204表达。

这些结果表明, miR-204是恶性胶质瘤细胞干细胞样表型和细胞运动的一个极其重要的调控因子。新研究对于了解胶质瘤的发生发展分子机制、寻找胶质瘤预防判断和生物治疗的新潜在靶标具有重要意义。

Ying Z, Li Y, Wu J, Zhu X, Yang Y, Tian H, *et al.* Loss of miR-204 expression enhances glioma migration and stem cell like phenotype. *Cancer Res* 2013; 73(2): 990-9.

Cell Stem Cell: 解析组蛋白变体H2A.Z调控干细胞

美国国立卫生研究院的研究人员在新研究中证实, 一种称作H2A.Z的组蛋白变体在胚胎干细胞(ESC)自我更新和分化过程中扮演重要角色, 这将有助于对胚胎干细胞命运机制的进一步研究。相关论文发表在*Cell Stem Cell*杂志上。

H2A.Z是组蛋白H2A的变体之一, 是高度保守的组蛋白变体, 参与保护常染色体, 防止形成异染色质; 并且与转录调节、抗沉默、沉默和基因组稳定性有关。组蛋白变体H2A.Z还可能与染色体形成独立的结构域, 从而调节染色质结构功能。基于此, 研究人员推测H2A.Z有可能在胚胎干细胞命运中发挥某些特殊的作用。

研究人员发现, H2A.Z高度富集在启动子和增强子上。H2A.Z沉积会导致核小体结构异常, 核小体占位减少, 染色质可接近性增高。在自我更新的胚胎干细胞中, 抑制H2A.Z会破坏OCT4与靶基因结合, 导致MLL复合物与活性基因结合以及PRC2复合体与抑制基因结合减少。在胚胎干细胞的分化过程中, 抑制H2A.Z也会使RA诱导的RAR α 结合, 分化标记物激活以及多能性基因抑制受到损害。这些研究结果表明, H2A.Z是小鼠胚胎干细胞有效自我更新

和分化的必要条件。

Hu G, Cui K, Northrup D, Liu C, Wang C, Tang Q, *et al.* H2A.Z facilitates access of active and repressive complexes to chromatin in embryonic stem cell self-renewal and differentiation. *Cell Stem Cell* 2012; doi: 10.1016/j.stem.2012.11.003.

Cell: 体细胞重编程分子线路图

麻省总医院、哈佛干细胞研究所组成的一个国际研究小组, 在新研究中绘制出了体细胞重编程为iPS细胞的分子线路图, 相关论文发表在12月21日的*Cell*杂志上。

iPS细胞和ES细胞功能类似, 且具有超越ES细胞的优势, iPS细胞可以由体细胞生成, 从而绕开了ES细胞研究一直面临的伦理和法律等诸多障碍。但科学人员长期受困于iPS细胞诱导效率低下、速度慢、组成复杂等障碍。对于体细胞重编程过程的具体细节至今仍知之甚少。

在这篇文章中, 研究人员通过全基因组分析检测了预备转变为iPS细胞的中间前体细胞。研究人员证实诱导多能性过程引起了两次转录波, 第一波是由c-Myc/Klf4驱动, 第二波是由Oct4/Sox2/Klf4驱动。难以发生重编程的细胞激活了第一波, 但却无法启动第二转录波, 提高4个因子的表达则可以解决这一问题。此外, 研究人员发现, 在第一波后逐渐形成了一些双价基因(bivalent genes), 而在第二波后细胞获得稳定的多能性之时细胞才发生DNA甲基化改变。通过这一综合性的分析, 研究人员还确定了在重编程过程中充当路障的基因, 以及细胞进一步富集从而使之更易于形成iPS细胞的表面标记物。

这些研究数据为我们提供了关于细胞重编程固有分子事件的特征、顺序及分子机制的详细的见解。这些认识对于提高重编程的效率及其未来的治疗应用具有非常重要的意义。

Polo JM, Anderssen E, Walsh RM, Schwarz BA, Nefzger CM, Lim SM, *et al.* A molecular roadmap of reprogramming somatic cells into iPS cells. *Cell* 2012; 151(7): 1617-32.

Mol Cell: 表观遗传信号协同作用决定干细胞最终命运

近日, 来自北卡罗来纳大学教堂山分校医学院

的研究人员在新研究中揭示了表观遗传信号协同作用决定干细胞最终命运的机制, 相关论文发表在*Mol Cell*杂志上。

核心蛋白复合体PRC有两种: PRC1和PRC2, 其中PRC2介导H3K27的甲基化调控, 这对于Polycomb (Pc)基因沉默至关重要, 这也是通过细胞分裂维持转录沉默的一种经典表观遗传现象。干细胞中, PRC2复合体关闭了一些基因, 这些基因可以促进重编程形成如心脏或肺脏等器官特化细胞。研究发现, 一类称作PCL's(polycomb-like proteins)的独特蛋白质通过PRC2, 使表观遗传信号相关的某些基因被关闭。

此外, 在多种癌症类型中发现PRC2水平增高。如果在癌细胞中发现一种能控制PRC2的特异PCL, 或许能够开发出靶向这一PCL的药物从而以更可控的方式调控PRC2功能, 以实现在干细胞中维持PRC2的功能, 在肿瘤中抑制它。

Cai L, Rothbart SB, Lu R, Xu B, Chen WY, Tripathy A, *et al.* An H3K36 methylation-engaging tudor motif of polycomb-like proteins mediates PRC2 complex targeting. *Mol Cell* 2012; doi: 10.1016/j.molcel.2012.11.026.

Cell: Ell3蛋白调控干细胞分化

美国Stowers医学研究所Ali Shilatifard博士领导的科研小组发现了一条细胞维持可塑性的途径: 一种称作Ell3的蛋白定位在了发育调控基因的增强子上, 即便是基因沉默之时, 使其为未来表达做好准备。研究结果发表在*Cell*杂志上。

Ell3为Ell(eleven-nineteen lysine-rich leukemia gene)家族第3个成员。研究人员经过多年研究发现, Ell3定位在5 000多个增强子上, 其中许多增强子调控了支配干细胞成熟形成脊髓细胞、肾细胞和血细胞的基因。RNA聚合酶-II(Pol II)负责将DNA转录为RNA, 常常会停顿在基因的起点, 可能是快速转录诱导的先决条件。

当研究人员利用一种分子技术耗尽小鼠ES细胞中的Ell3, 随后进行基因组调查时获得了意外的发现。他们发现在Ell3缺陷细胞中, 停顿的Pol II从许多基因的起始位点消失。这意味着, Ell3不仅优先标记增强子, 而且它的存在是将空转Pol II维持在预备行动状态的必要条件。

该研究小组高度放大了小鼠精子的图像, 对精子细胞核中的Ell3和Pol II进行了观察。在哺乳动物

中, 直至形成单细胞受精卵, Pol II才会开始对基因表达进行调控。在精子中发现, Ell3和其他调控转录的因子具有非常重要的意义, 需要进一步检测精子中发现的转录因子是否促成了精子染色质解凝缩, 或甚至在受精后作为表观遗传标记进一步促成了基因激活。

Lin C, Garruss AS, Luo Z, Guo F, Shilatifard A. The RNA Pol II elongation factor Ell3 marks enhancers in ES cells and primes future gene activation. *Cell* 2012; 152(1/2):144-56.

Cell Stem Cell: 用iPS技术培养癌症特异性杀伤性T淋巴细胞

日本科学家的最新研究结果表明, iPS细胞可用于大量培育具有抗癌功能的免疫细胞, 将来有望在此基础上开发出治疗癌症的新型免疫疗法。研究结果发表在近期的*Cell Stem Cell*上。

现有的免疫疗法常是单纯刺激患者的T淋巴细胞以使其增殖, 但是由于难以大量增加, 效果很有限。此次开发的方法能够大量培养T淋巴细胞, 所以有望解决这个问题。

日本的研究人员从恶性黑色素瘤患者体内提取出正在攻击癌细胞的T淋巴细胞培育出iPS细胞。这些iPS细胞再次被培育分化成为T淋巴细胞, 关键的是, 这样得到的T淋巴细胞能够识别黑色素瘤特异性蛋白MART-1。研究小组指出, T淋巴细胞在识别癌细胞的时候会通过改变基因排列的方式来“记住”癌细胞的特征, 这种“记忆”能够传递给iPS细胞, 由此再培育出的T淋巴细胞可以像从前一样攻击癌细胞。

在另外一项研究中, 东京大学的研究人员采用HIV感染者的T细胞诱导iPS细胞再进行分化得到的永生细胞端粒酶很长, T细胞的正常老化限制其扩增, 使其临床应用困难。该方法能够获得“年轻的活性”T细胞, 可用于病毒感染或癌症的获得性免疫治疗。

这些技术目前还处于实验阶段, 将来有可能在其基础上开发出治疗癌症的新型免疫疗法。

Vizcardo R, Masuda K, Yamada D, Ikawa T, Shimizu K, Fujii S, *et al.* Regeneration of human tumor antigen-specific T cells from iPSCs derived from mature CD8(+) T cells. *Cell Stem Cell* 2013; 12(1): 31-6.

Nishimura T, Kaneko S, Kawana-Tachikawa A, Tajima Y, Goto H, Zhu D, *et al.* Generation of rejuvenated antigen-specific T cells by reprogramming to pluripotency

and redifferentiation. *Cell Stem Cell* 2013; 12(1): 114-26.

PNAS: 感光细胞移植治疗盲鼠

英国牛津大学和新加坡国立大学医院的研究人员发现,将发育中的感光细胞移植到盲鼠眼睛中,它们能够再次形成视网膜的整个光敏感层,恢复视觉。相关研究结果于在线发表于*PNAS*期刊上。

色素性视网膜炎患者视网膜中的感光细胞逐渐死亡从而导致渐进性失明。

模型小鼠视网膜中光敏感性的感光细胞(photo-receptor cell)完全缺失而失明,研究人员选用处于发育成视网膜细胞的初始过程中的小鼠前体细胞进行感光细胞移植,两周后移植小鼠的视网膜上再次形成完整的光敏感层。移植组12只小鼠中,10只小鼠在对光线作出反应时产生的瞳孔收缩得到改善。这些感光细胞拥有高度复杂的结构。研究人员观察到在移植到完全失明的视网膜中之后,它们能够作为一个细胞层恢复功能,并恢复连接。

研究人员计划利用iPS技术,通过重编程病人自己的细胞如皮肤细胞或血细胞而获得,然后经诱导后分化为视网膜细胞的前体细胞。下一步就是在病人体内找到一种可靠的细胞来源,这样就能够提供干细胞用于这些移植实验中。尽管这些是更为长期的开发目标,但是这项研究证实他们可能开发出一种基于细胞的方法。

Singh MS, Charbel Issa P, Butler R, Martin C, Lipinski DM, Sekaran S, *et al.* Reversal of end-stage retinal degeneration and restoration of visual function by photoreceptor transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(3): 1101-6.

Nat Commun: 新型材料加速干细胞生长

近日,英国爱丁堡大学的研究者开发了一种新型的产生干细胞的方法来提高疾病的药物筛选速率,研究结果刊登在*Nat Commun*杂志上。

该研究中,科学家通过对成千上万种化合物进行筛选,检测其支持干细胞生长的能力,得到一种化合物2-(乙胺基)丙烯酸乙酯[2-(diethylamino)ethyl acrylate],其水性凝胶具有热响应,扮演着小型支架的作用,细胞可以黏附在其上面并且进行生长,可以维持人ES细胞增殖及多能性长达2~6月。一旦细胞按照预期分化的目的进行充分扩增的时候,这种水

性凝胶就能够冷却,使得附着在其上的干细胞从支架上脱落而不被损伤。

这项技术大大加快了ES细胞的增殖能力,降低了干细胞生产的成本,但还需进行深入研究来确定这项研究是否可以适用于iPS细胞的培养。

Zhang R, Mjoseng HK, Hoeve MA, Bauer NG, Pells S, Besseling R, *et al.* A thermoresponsive and chemically defined hydrogel for long-term culture of human embryonic stem cells. *Nat Commun* 2013; 4: 1335.

Nature: iPS细胞移植的免疫反应

来自日本的科学家们利用小鼠iPS细胞生成了皮肤和骨髓,并将它们移植到基因相同的小鼠体内,证实不会引发强烈的免疫反应。研究结果发表在*Nature*杂志上,应该可以消除人们对iPS细胞的疑虑。

由于iPS细胞来自患者自身组织,移植回相同个体可能不会引发免疫反应。然而在2011年,来自加州大学圣地亚哥分校的徐洋(Yang Xu)教授利用一种小鼠皮肤细胞生成了iPS细胞,将其移植到基因相同的小鼠体内却无法形成畸胎瘤,因为它们受到了小鼠白细胞的攻击,遭到了排斥。

日本国立放射学研究所的Masumi Abe研究小组用iPS细胞或ES细胞与小鼠胚胎相融合,随后小鼠胚胎发育形成了包含各种细胞类型的嵌合子小鼠。然后,他们将来自这些动物的皮肤移植到基因相同的小鼠身上。来自两组的移植物在2个月後仍然如前,表明iPS细胞和ES细胞一样,触发的免疫反应极其微小。骨髓移植物显示出同样的情形。不论是来自iPS细胞或是ES细胞,它们同样能很好地存活,让遭受致命辐射的小鼠的骨髓获得重建。

实验中没有观察到对iPS细胞或ES细胞衍生的组织的免疫反应,包括T细胞浸润、退化皮肤和畸胎瘤的组织中免疫原性引起的*ZG16*和*Hormad1*基因也没有增加。研究结果表明,iPS细胞与ES细胞分化的移植细胞的免疫原性有限。

Araki R, Uda M, Hoki Y, Sunayama M, Nakamura M, Ando S, *et al.* Negligible immunogenicity of terminally differentiated cells derived from induced pluripotent or embryonic stem cells. *Nature* 2013; doi: 10.1038/nature11807.

朱丽华 整理