

全性开展I/II期临床试验。研究针对3名检测出先天MLD尚未发病的患儿,采集患儿的HSC,通过慢病毒转入活性的*ARSA*基因,把基因改造的HSC回输给患儿。结果发现患儿的*ARSA*基因全面稳定地被替换,造血细胞和脑脊液的酶表达升高。载体整合分析没有发现畸变行为。3名患儿疾病无进展期为7~21个月,超过了预计的发病年龄。该研究说明利用慢病

毒对人HSC全面的基因改造是可行的,这种方法对MLD患者有临床疗效。

Biffi A, Montini E, Lorioli L, Cesani M, Fumagalli F, Plati T, *et al.* Lentiviral hematopoietic stem cell gene therapy benefits metachromatic leukodystrophy. *Science* 2013; 341(6148): 1233158.

朱丽华 整理

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 Commun: 利用人iPS细胞分化的心脏前体细胞重建去细胞小鼠心脏

美国匹兹堡大学的科学家取老鼠的心脏并将心脏内的细胞移除,再用从人体皮肤获得的诱导多能干细胞(iPS细胞)对老鼠剩下的心脏支架进行处理,使其再次跳动起来。这项发表在*Nat Commun*杂志上。

全球范围内,心脏疾病致死率居首,药物治疗往往效果不佳,移植供体资源紧张,因此寄希望于心脏组织工程再建个体化的心脏组织用于未来的心脏疾病治疗。科研人员将小鼠心脏剥离,并用含有一系列消化酶的溶液通过灌流而彻底消化其中的细胞,只留下一个保持心脏外部形态的外膜结构(scaffold)。同时,取捐献者皮肤诱导iPS细胞,再分化为多能心血管前体细胞(MCP),放入去细胞的心脏支架中,观察MCP的迁移增殖分化为心肌细胞,平滑肌细胞和内皮细胞,重建心脏结构。

20天灌注后,观察到工程心脏组织开始自发地以每分钟40~50次的频率收缩,表现出了预料中的电生理特征,并对已知刺激心跳的药物有正常反应。此外还发现,心脏细胞外基质促进植入人MCP增殖分化为心肌细胞以及肌原纤维的形成。不过由于细胞量或细胞分化的程度不足,工程心脏的机械力目前还不足以泵输血,而且其导电性也较低,还需对实验条件进一步优化。作者提出,这一发现说明这些

人造心脏组织有潜在临床前应用价值。

这项成果被认为可以用于未来的器官移植和新药研发的实验。在未来,或许可以用病患自身的细胞,再生出一个适合移植的心脏。

Lu TY, Lin B, Kim J, Sullivan M, Tobita K, Salama G, *et al.* Repopulation of decellularized mouse heart with human induced pluripotent stem cell-derived cardiovascular progenitor cells. *Nat Commun* 2013; 4: 2307.

Cell: 成年c-kit阳性心脏干细胞的再生和修复能力

英国伦敦国王学院的研究人员发现,成年心脏中c-kit阳性的干细胞存在自然再生能力,能够帮助修复和再生损伤的心肌组织。相关研究论文刊登在近期出版的*Cell*杂志上。

心力衰竭的普遍发生引起了对心脏再生研究的关注。手术治疗有时能够预防或是延缓心力衰竭。但一旦发生心力衰竭,唯一的治疗方法只能是心脏移植,已经证明多种细胞移植可以支持心脏的再生。在这项研究中,研究人员发现,成年心肌中存在内源性的c-kit阳性心脏干细胞(eCSCs),与再生相关。研究人员利用不同的弥散性心肌损伤造成的急性心力衰竭大鼠模型,证明eCSCs再生受损的心肌细胞恢复心脏功能。研究表明,如果除去eCSCs,心脏将无法在损伤后得到修复。而在植入除去eCSCs的子代细胞后,再生过程得以完全恢复。再生后,如

果选择性杀灭这些外源CSC与其子代细胞又会中断再生过程,严重影响心室功能。

这些研究表明, c-kit阳性cCSCs对于心肌损伤的修复是必需的、足够的。健康心脏中,心脏干细胞的数量充足,足以修复心脏的心肌组织。受损严重的情况下,或许能够植入外源心脏干细胞进行心脏修复。研究人员计划下一步将在2014年初启动临床试验,以评估心脏干细胞在预防和治疗人类心力衰竭中的效力。

Ellison GM, Vicinanza C, Smith AJ, Aquila I, Leone A, Waring CD, *et al.* Adult c-kit(pos) cardiac stem cells are necessary and sufficient for functional cardiac regeneration and repair. *Cell* 2013; 154(4): 827-42.

Nat Immunol: GATA-3调控造血干细胞自我更新

加拿大卫生网络大学和多伦多大学的科学家们证实, GATA-3基因调控造血干细胞(HSC)的自我更新,这一研究发现有助于HSC扩增用技术的发展,研究结果发表在*Nat Immunol*杂志上。

目前, HSC移植已经在许多血液疾病的治疗中应用,例如白血病、再生障碍性贫血、淋巴瘤、多发性骨髓瘤和免疫缺陷病等。而移植的有效性、安全性和可用性均依赖于移植干细胞的数量。T淋巴细胞表达转录因子GATA-3,且对其分化和功能非常关键。HSC也表达GATA-3,但功能未知。

研究人员发现,在稳态骨髓中的休眠长期干细胞中, GATA-3位于细胞质中,当HSC循环时,又迁移到细胞核,迁移过程取决于有丝分裂原活化的蛋白激酶P38信号通路,该基因转入辐照小鼠后,长期重建能力减弱。去除GATA-3能够提高长期HSC的重植能力,增加自我更新,以自发的方式不影响细胞周期。

研究发现, GATA-3是HSC自我更新和分化的调节因子,受到p38信号通路的调控。科学家们希望利用这一新信息来培育出更多数量的造血干细胞用于骨髓移植以及基因治疗。

Frelin C, Herrington R, Janmohamed S, Barbara M, Tran G, Paige CJ, *et al.* GATA-3 regulates the self-renewal of long-term hematopoietic stem cells. *Nat Immunol* 2013; 14(10): 1037-44.

Nature: 血小板干细胞位于造血干细胞系的顶层

英国爱丁堡大学、意大利EMBL Mouse Biology

Program的研究人员在小鼠体内鉴定出一种造血血小板干细胞,而且其等级最高,造血血小板干细胞可以分化为不同类型的血细胞,但主要分化为血小板。该研究发表在近期的*Nature*上。

血液系统是由一小群造血干细胞(HSC)维持的。这些HSC终其一生能够分化为数百万的血细胞。骨髓中的巨核细胞负责不断产生血液中的血小板,防止大出血,这是许多肿瘤治疗中经常遇到的危及生命的副作用,在患者接受骨髓移植或化疗后,巨核细胞能够识别最合适的细胞的分子靶标,提高血小板产量。目前已知,一些HSC亚群容易分化产生淋巴细胞或髓样血细胞。研究人员想了解是否有其他定向分化的HSC及其内在关系以及产生和维持方式。研究人员鉴别并分离了一些功能和结构特殊的小鼠HSC亚型,具有血小板特异性基因表达,短期长期血小板重建能力高。这种血小板HSC非常依赖于血小板生成素(thrombopoietin)。而且发现血小板HSC位于HSC的顶端,主要分化为血小板,也可以分化为不同类型的血细胞,能够补充免疫系统中的关键性血细胞。

该研究提示着这些血小板HSC能够以一种可持续的方式产生数量巨大的血小板。在未来的研究中,研究人员将重点研究其临床应用。

Sanjuan-Pla A, Macaulay IC, Jensen CT, Woll PS, Luis TC, Mead A, *et al.* Platelet-biased stem cells reside at the apex of the haematopoietic stem-cell hierarchy. *Nature* 2013; doi: 10.1038/nature12495.

Stem Cells: Caspase-3调节脑卒中后的再生应答

复旦大学医学神经生物学国家重点实验室、脑科学研究院赵冰樵教授带领其研究团队首次发现,脑内一种名叫“Caspase-3”的分子被激活后,不但在人的脑卒中初期起“细胞杀手”的作用,而且在脑卒中中的恢复期继续起“破坏作用”。目前该成果已刊登在*Stem Cells*杂志上。

脑卒中往往造成残疾,而且没有有效的治疗手段。最近的研究表明,成年大脑卒中有神经元再生,这种神经再生应答对于受损后大脑修复非常关键,但是对于其内在机制尚未明确。Caspase-3被称为“细胞杀手”,是脑内神经干细胞再生的重要抑制分子,也是一种关键的导致正常细胞死亡的执行因子。然而最近的多项研究表明, Caspase-3参与各种生物反应不导致细胞死亡。

在新的研究中, 科研小组发现卒中恢复期, 脑室下区(SVZ)和齿状回(DG)的新生神经元前体细胞(NPC)的裂解Caspase-3增加, 没有证据表明细胞凋亡。NPC表达裂解的Caspase-3, 限制其自我更新但不触发缺血小鼠的SVZ区培养的细胞凋亡。而且研究发发现, Caspase-3通过减少Akt的磷酸化来负调控NPC的增殖。重要的是, 研究证实用多肽药物抑制Caspase-3的活性, 显著促进SVZ NPC的增殖和迁移, 引导神经元再生和功能恢复。

该研究首次揭示了Caspase-3抑制卒中引发的神经再生的机制, 或许可以将Caspase-3作为卒中治疗的靶标进行相关研究。

Fan W, Dai Y, Xu H, Zhu X, Cai P, Wang L, *et al.* Caspase-3 modulates regenerative response after stroke. *Stem Cells* 2013; doi: 10.1002/stem.1503.

Nat Biotechnol: 用iPS细胞制造肿瘤靶向T淋巴细胞用于肿瘤治疗

美国纪念斯隆-凯特琳癌症中心(SKCC)的科研人员报道了一种利用iPS细胞制造出大量可杀死小鼠体内肿瘤细胞的人T淋巴细胞的技术。该技术可用于肿瘤免疫疗法, 公布在近日在线出版的*Nat Biotechnol*上。

由于缺少稳定来源, 抗原特异性的人T淋巴细胞, 因此肿瘤或传染病的免疫疗法发展受到抑制。如何大批量生产出这种细胞一直没能解决。人iPS细胞是很好的资源, 但是人iPS来源的T淋巴细胞的临床效果未明。

研究小组结合iPS与嵌合抗原受体(CAR)技术, 培养出靶向恶性B细胞表达的抗原CD19的人T淋巴细胞, 这些细胞与天然的 $\gamma\delta$ T细胞表型类似, 在移植瘤模型中, 能够抑制小鼠肿瘤的生长, 效果与从同一人源血液中分离并经过改造来表达肿瘤特异性受体的天然T细胞的作用相似。

如果这种新技术能够转化应用于临床, 或许能够推动肿瘤免疫疗法的进一步发展。

Themeli M, Kloss CC, Ciriello G, Fedorov VD, Perna F, Gonen M, *et al.* Generation of tumor-targeted human T lymphocytes from induced pluripotent stem cells for cancer therapy. *Nat Biotechnol* 2013; doi: 10.1038/nbt.2678.

Nature: 大脑类器官模拟人脑发育和模仿小头畸形奥地利维也纳分子生物技术研究所的Juergen

Knoblich与其团队利用人iPS细胞采用3D培养, 得到大脑类器官, 通过大脑类器官可以再现人皮层发育的特点进行多种病理研究。该研究结果发表在*Nature*杂志上。

他们将取自小头畸形患者身上的细胞重编程为iPS细胞进行3D培养。15到20天后, 大脑细胞团就已成型。20到30天后, 部分细胞团长成各种能互相影响的大脑区域, 大脑皮层、视网膜和早期海马区, 一层一层的生物组织, 展示出类似大脑发育早期的复杂结构。由于没有血液供应, 其内部无法吸收氧气和养料, 因而没有进一步生长。截至目前, 它已经在实验室里存活了10个月。

研究人员利用这项新技术对小头畸形进行研究。与健康捐献者细胞培育的大脑类器官相比, 小头畸形患者细胞培育的类器官中出现过早的神经元分化, 可能就是这种疾病的产生机制。

Lancaster MA, Renner M, Martin CA, Wenzel D, Bicknell LS, Hurler ME, *et al.* Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. *Nature* 2013; 501(7467): 373-9.

Nat Biotechnol: mRNA改变心脏前体细胞分化方向并诱导心肌衰竭后的心血管再生

美国哈佛大学和瑞典卡罗琳斯卡医学院的一个研究小组通过在小鼠受损心脏中表达一个作用因子血管内皮生长因子-A(VEGF-A), 启动天然心脏干细胞的心血管再生, 这一成果公布在*Nat Biotechnol*杂志上。

之前有研究小组发现一种公认的成人心脏血管内皮细胞生长因子VEGF-A, 可将心脏干细胞转换分化成心肌细胞, 促进胎儿心脏冠状动脉血管的形成。在新的研究中, 研究人员对小鼠心肌梗塞模型心肌注射编码人VEGF-A的合成改良的RNA(modRNA), 观察到细胞扩增以及转接分化为内源性心脏前体细胞。VEGF-A modRNA显著改善心脏功能, 并提高移植受体的长期存活率。这种改善部分是由于调动了心外膜前体细胞并使其转分化为心血管细胞。

科研人员希望能改进技术, 将这些合成的mRNA通过常规的导管技术传递进体内, 进行各种疾病的治疗研究。

Zangi L, Lui KO, von Gise A, Ma Q, Ebina W, Ptaszek LM, *et al.* Modified mRNA directs the fate of heart

progenitor cells and induces vascular regeneration after myocardial infarction. *Nat Biotechnol* 2013; doi: 10.1038/nbt.2682.

Nature: 体内重编程产生全能畸胎瘤和iPS细胞

西班牙国家癌症研究中心CNIO的研究团队证实,成年体细胞可在活鼠体内被重编程为多能干细胞。科学家在此之前一直不清楚,生物体内环境是否适合重编程,而最新研究表明这是可行的。研究发表在*Nature*期刊上。

研究小组在研究中发现,使用Oct4、Sox2、Klf4和c-Myc四种诱导因子,不但可用于培养皿中,更可用于活鼠体内形成畸胎瘤。他们检验了从老鼠多个器官,发现肾、胃、小肠和胰腺抽取出来的去分化细胞表达多能标记NANOG,表明被重编程过。

通过骨髓移植,证明HSC也能在体内被重编程,观察到重编程小鼠血液中有循环的iPS细胞,比起体外重编程iPS,这些细胞与ES细胞更接近。

此外,由于滋养外胚层细胞的关系,活鼠体内产生的iPS细胞比ES细胞拥有更大的分化潜力,也更为原始,这表明在生物体内进行重新编程有助于提高干细胞的可塑性。

这些细胞被腹腔注射后会产生畸胎瘤,表达胚胎和胚胎外标记。因此,体内重编程是可行的,能产生高于普通iPS和ES细胞的全能性,这个发现或许对再生医学有巨大意义。

Abad M, Mosteiro L, Pantoja C, Cañamero M, Rayon T, Ors I, *et al.* Reprogramming *in vivo* produces teratomas and iPS cells with totipotency features. *Nature* 2013;

doi:10.1038/nature12586.

Nat Cell Biol: 异核体RNA-seq技术揭示IL-6信号在iPS生成的早期作用

美国斯坦福大学的Helen M. Blau领导的科研小组发现了c-Myc的一个替代物,成功进行iPS重编程,研究论文发表在*Nat Cell Biol*杂志上。

科学家们通常采用病毒将Oct-4、Sox-2、Klf-4、c-Myc四个在ES细胞中高表达的基因导入进行重编程。其中,c-Myc常常在人类癌症中表达增高。因此,人们非常担心iPS的安全性。

研究人员通过异核体(heterokaryon,小鼠ES融合到人成纤维细胞)进行重编程,重编程效率远高于普通iPS的0.1%~1%,方便鉴别开启重编程需要的瞬时调节因子,同时利用异核体RNA-seq来定量人成体细胞的细胞核在重编程中的转录组变化。

研究人员发现,在重编程的开始,IL-6的信号分子被诱导达到50倍。加入IL6经过4天培养生成iPS细胞证明,短暂接触IL-6可以替代c-Myc,只需要Oct4、Klf4和Sox2就可重编程细胞。IL6同时激活Jak/Stat靶标,serine/threonine激酶基因*Pim1*,使得iPS产率倍增。

在没有c-Myc的情况下构建的iPS细胞应该可以更安全地应用于人类治疗。同时,研究人员从这一异核体模型真正地了解iPS重编程过程。

Brady JJ, Li M, Suthram S, Jiang H, Wong WH, Blau HM. Early role for IL-6 signalling during generation of induced pluripotent stem cells revealed by heterokaryon RNA-Seq. *Nat Cell Biol* 2013; doi: 10.1038/ncb2835.

朱丽华 整理

勘 误

本刊2013年(35卷)第5期P705图2的图题应为“在小鼠第一次生精波期间c-kit受体的表达分布模式图”,特此更正。