

## 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: 昼夜节律调节表皮干细胞功能**

西班牙Centre for Genomic Regulation(CRG)的科学家发现,人类皮肤干细胞(hEpSCs)的特殊机制能够应对周期性的紫外线(UV)威胁。相关研究论文刊登在了近期出版的Cell Stem Cell杂志上。

细胞的节律形式能够保护细胞免受损伤,缺少正常周期的hEpSCs会过早衰老。但是至今为止节律如何影响hEpSCs的功能还是未知的。

这项研究发现 hEpSCs自身有生物钟基因(core clock genes),持续地阶段性地达到高峰,以一天24小时为周期,建立特殊的功能间隔。hEpSCs中的不同的基因表达在每天的不同时刻达到高峰。而与UV保护相关的基因在白天最活跃,保护细胞免受射线引起的损伤。此外,通过体外细胞和体内动物实验验证了昼夜节律能够显著调节hEpSCs的功能。

这项研究的目的在于揭示hEpSCs遭到破坏的原因,希望能够找到防止或延迟hEpSCs破坏的方法。通过该方法皮肤免受辐射引起的DNA损伤。有助于衰老和癌症治疗研究。

Janich P, Toufighi K, Solanas G, Luis NM, Minkwitz S, Serrano L, *et al.* Human epidermal stem cell function is regulated by circadian oscillations. *Cell Stem Cell* 2013; 13(6): 745-53.

**ELife: Hippo信号通路通过调控染色体重塑复合物Brahma蛋白影响果蝇肠干细胞的增殖**

中科院上海生科院生物化学与细胞生物学研究所的科研人员揭示了染色质重塑复合物——Brahma复合物在果蝇肠干细胞的增殖及分化中发挥不可或缺的作用,并且发现Hippo信号通路通过调节Brahma蛋白切割从而调控Brahma复合物在肠干细胞中的作用。研究结果在线发表于ELife上。

Brahma是染色质重塑复合物SWI/SNF(switch/sucrose non-fermentable)的催化亚单位,具有DNA依赖的ATP酶活性,并能够通过调节染色质的结构来影响基因的表达。

科研人员通过一系列遗传、分子和细胞生物学手段发现, Brahma在果蝇肠干细胞的增殖以及肠上皮细胞的分化过程中起重要作用,并且参与调节肠的修复再生。科研人员进一步研究发现, Brahma复合物与Hippo信号通路转录复合物Yorkie-Scalloped相互作用,介导了Yorkie-Scalloped复合物的活性,在肠干细胞以及前体细胞中维持肠干细胞增殖能力。此外, Hippo信号通路通过激活含半胱氨酸的caspase3切割Brahma蛋白,从而调节Brahma蛋白水平。

Jin Y, Xu J, Yin MX, Lu Y, Hu L, Li P, *et al.* Brahma is essential for *Drosophila* intestinal stem cell proliferation and regulated by Hippo signaling. *ELife* 2013; 2: e00999.

**PLoS One: 日本利用皮肤细胞直接培育出软骨细胞**

日本京都大学iPS细胞研究所报告向人类皮肤细胞植入3种基因*c-MYC*、*KLF4*和*SOX9*可以绕过iPS细胞阶段,培育出具有软骨细胞特征的细胞(iChon)。利用这种基因直接转分化人工培育出的iChon可修复受损的软骨组织。研究结果发表在PLoS One上。

外源基因重编程方法培育出的iPS细胞植入生物体内出现肿瘤的风险较大。因此,临床应用一直受到质疑。

研究小组利用软骨特定的逆转录病毒(CO-L11A2 promoter/enhancer lentiviral reporter vector)将重编程所需的*c-MYC*、*KLF4*以及分化为软骨细胞时所需的*SOX9*等三种基因植入人皮肤细胞,经过两周

时间培育出的iChon, 具有软骨细胞特征, 移植到实验鼠体内后, 形成软骨组织, 没有出现肿瘤。

新的方法直接将成纤维细胞转化为软骨细胞而不经iPS细胞阶段, 比起传统方法, 时间可以缩短一半, 培育得到的软骨细胞不会混杂未分化的细胞, 致瘤性大为降低。研究人员希望这项研究中开发出的技术能够提供高纯度软骨细胞, 用于软骨再生。

Outani H, Okada M, Yamashita A, Nakagawa K, Yoshikawa H, Tsumaki N. Direct induction of chondrogenic cells from human dermal fibroblast culture by defined factors. *PLoS One* 2013; 8(10): e77365.

### **Nat Mater:** 生物物理学方法调节细胞表观状态和重编程

美国加州大学伯克利分校的研究人员发现, 在对成熟细胞进行重新编程过程中, 一些物理特性能取代某些化合物, 显著提升效率。相关研究发表在*Nat Mater*网络版上。

科学家们一般会使用一个病毒或生化因子, 将改变基因的蛋白质引入成熟细胞内, 进行细胞重新编程。这些方法效率比较低, 且某些强加的遗传或化学操控可能会产生无法预期的影响。比如, 丙戊酸钠能显著改变细胞的表观遗传状态, 也能导致细胞内出现无法预料的变化。科学家希望改进重编程方法。

实验中, 科研人员将人体皮肤和老鼠耳朵中提取出的成纤维细胞利用慢病毒转入外源OSKM或OSK一天后, 放置在10微米宽、3微米高平行沟槽的细胞贴壁材料表面, 加入ES细胞培养液进行培养, 陆续出现克隆球。新方法得到的iPS细胞是平面培育的5倍。这一方法得到的诱导多能干细胞能分化或发育成身体内的任何细胞, 在再生医学领域具有重大价值。

该研究首次证明, 生物材料的物质特性能替代某些生物化学因子; 生物物理信号能变成细胞内的化学信号, 诱导细胞发生改变。研究人员希望这种新方法能够替代化合物, 促进细胞重编程。

Downing TL, Soto J, Morez C, Houssin T, Fritz A, Yuan F, *et al.* Biophysical regulation of epigenetic state and cell reprogramming. *Nat Mater* 2013; 12(12): 1154-62.

### **Cell Transplant:** 利用分化的脂肪干细胞进行自体肝脏再生

美国斯坦福大学医学院的研究人员开发出一项将自体脂肪干细胞(ASCs)转化为肝细胞(i-Heps)进行肝脏修复的方法。相关研究结果在线发表于*Cell Transplant*期刊上。

肝脏移植能够拯救生命, 但是供体稀缺而且移植后需要终生服用免疫抑制剂克服排异反应。现有的干细胞技术(iPS细胞和ES细胞)存在产生肿瘤的风险。

研究人员从人脂肪抽出物提取ASCs, 改进了球形培养方法(spherical culture), 在9天内就可转化为SCi-Heps, 具有成熟肝细胞的特征, 可以重构功能性肝脏。肝细胞的转化效率为37%。进一步改进已能够在7到8天内让转化效率超过50%。比起之前报道的方法大大缩短时间, 并提高了转化率。而且, 这种新方法不涉及多能性中间阶段, 致瘤风险较低。

科研人员将SCi-Heps植入肝细胞受损的小鼠模型中。4周后检测发现, 小鼠血液中出现人血清白蛋白, 并且随时间人血清白蛋白的水平不断增加, 证明在这些小鼠的肝脏中存在着大量的人肝脏细胞, 帮助修复小鼠受损肝脏。血液检测结果还揭示出新生的肝脏组织具有过滤废弃物的能力。对这些肝脏进行研究证实这些移植的细胞已整合到肝脏之中, 表达人成熟肝细胞独特的表面标记物, 并且产生形成胆管所必需的多细胞结构, 类似于天然的人肝细胞。最重要的是, SCi-Heps两个月后, 小鼠体内没有发现肿瘤形成。

研究人员估算, 利用患者自身1升脂肪抽出物, 经过球形培养能够产生10亿个可注射的i-Heps细胞。注射到体内后细胞增殖到1 000亿以上i-Heps细胞, 或许可以满足临床移植修复肝脏的需求。

Xu D, Nishimura T, Zheng M, Wu M, Su H, Sato N, *et al.* Enabling autologous human liver regeneration with differentiated adipocyte stem cells. *Cell Transplant* 2013; doi: 10.3727/096368913X673432.

### **Stem Cells:** 骨桥蛋白调节间充质干细胞成脂成骨分化

中科院健康所时玉舫研究组报道了骨桥蛋白(Osteopontin, OPN)在间充质干细胞(MSC)成脂成骨分化平衡中的重要作用。研究论文在线发表于期刊*Stem Cells*上。

近年来, 研究认为骨髓MSCs是脂肪细胞和成骨细胞的共同前体细胞, 骨和脂肪之间存在竞争性

平衡,这一平衡的打破与多种代谢疾病密切相关,例如:在骨质疏松和骨量减少患者的骨髓中,脂肪含量明显高于健康对照。但MSCs的成脂成骨分化平衡失调在这些疾病病理进程中的作用仍不清楚。

研究人员发现,缺失OPN的MSCs易于成脂分化,成骨分化能力明显减弱。由于OPN在小鼠整个胚胎发育过程中的缺失会引起许多生理变化,为了证明上述OPN缺失MSCs的分化表型是OPN直接作用的结果,他们利用shRNA特异性敲除OPN或在OPN缺失MSCs中重新表达OPN等实验证明OPN缺失MSCs成脂成骨分化能力的变化来自于OPN的直接作用。结合OPN特异性中和抗体实验和补充外源性OPN实验,研究进一步证明胞外形式OPN在调控MSCs分化中发挥重要作用。这一作用依赖于OPN的受体integrin  $\alpha v/\beta 1$ 及其参与调控的C/EBPs信号通路,进而调节MSCs的成脂成骨分化。体内研究发现,尽管OPN缺失小鼠的骨及骨髓中脂肪细胞含量正常,但是OPN缺失小鼠的体脂比要明显高于野生型小鼠。至此,该研究首次揭示了OPN在调控MSCs成脂成骨分化平衡中的重要调节作用。

Chen Q, Shou P, Zhang L, Xu C, Zheng C, Han Y, *et al.* An osteopontin-Integrin interaction plays a critical role in directing adipogenesis and osteogenesis by mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2013; doi: 10.1002/stem.1567.

### **Science: 脊髓损伤后干细胞形成的瘢痕组织并不损害复原**

瑞典Karolinska研究所的研究人员证实,小鼠脊髓损伤后神经干细胞(NSC)形成的瘢痕组织阻止了损伤扩大,帮助了受损神经细胞生存。研究结果发表在*Science*杂志上。

脊髓损伤是各种原因引起的脊髓的结构及功能损害,发生率呈现逐年增高的趋势。人们一直认为是损伤处形成的瘢痕组织阻碍了再生。而当前的研究中,研究人员关注小鼠脊髓中的ependymal cells,脊髓损伤发生后迁移到病灶区分化为星形胶质细胞,是形成瘢痕组织的主要细胞类型。

研究人员采用FoxJ1-CreER转基因鼠,可以切断NSC的迁移并阻断瘢痕形成,此时损伤会逐渐扩大,越来越多的神经纤维被切断。他们还观察到,这

些小鼠相比于干细胞功能完整、能够形成正常瘢痕组织的小鼠有更多的脊髓神经细胞死亡。

研究表明,瘢痕是稳定损伤、防止其扩大的必要条件。瘢痕组织还促进了受损神经细胞存活。刺激脊髓自身的干细胞能够提供一种替代干细胞移植的方法。

Sabelström H, Stenudd M, Réu P, Dias DO, Elfineh M, Zdunek S, *et al.* Resident neural stem cells restrict tissue damage and neuronal loss after spinal cord injury in mice. *Science* 2013; 342(6158): 637-40.

### **Science: 光线控制神经前体细胞多能性和分化**

日本京都大学报告开发了利用照射光线来控制神经前体细胞(NPC)增殖和分化的技术。该研究论文发表在*Science*上。

研究显示, bHLH(basic-helix-loop-helix)型转录因子Ascl1/Mash1、Hes1和Olig2分别调控NPC向神经元、星形胶质细胞、少突胶质细胞分化。每种细胞分化中,都有一种因子占据主导。NPC也表达这些因子。

研究小组利用缩时成像技术,经过实验鼠研究发现,在NPC中,Hes1、Ascl1是以2至3个小时为一个周期来表达,Olig2是以5至8个小时为一个周期表达的。而且,如果NPC中这3种因子之一出现缺损,NPC的增殖就会减少。研究小组由此认为,bHLH型转录因子通过周期性表达,促进了NPC分裂。

研究小组利用光遗传技术,促进Ascl1的生成,然后将这种光反应分子植入从实验鼠胎儿体内取出的NPC内。结果发现,如果每3小时向NPC照射一次蓝光,就会促进Ascl1的表达,从而促进神经干细胞的增殖复制,而每30分钟照射一次,则可以促进Ascl1的蓄积,促进NPC分化为神经元。

研究小组认为,这种通过照射光线遥控NPC,促进其增殖和分化的技术,有望为今后的再生医疗研究作出贡献。

Imayoshi I, Isomura A, Harima Y, Kawaguchi K, Kori H, Miyachi H, *et al.* Oscillatory control of factors determining multipotency and fate in mouse neural progenitors. *Science* 2013;342(6163): 1203-8.