

## 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 Cell Biol:** 干细胞分化制造自组织肾脏

澳大利亚昆士兰大学的研究人员采用人胚胎干细胞(ES)成功地培育出了人工肾脏,朝着治疗肾病迈出了重要的一步。相关论文刊登在了近期出版的*Nat Cell Biol*杂志上。

全球每年肾病患者增加8%,亟需有更好的治疗策略。肾脏位于间介中胚层(intermediate mesoderm, IM),中胚层分化形成前肾导管,经进一步诱导形成中肾导管至输尿管芽(ureteric bud, UB),在输尿管芽诱导下,胚体尾端两侧的生肾素分化为后肾胚基(metanephric mesenchyme, MM),肾脏的胚胎发育正是由输尿管芽和后肾胚基二部分完成的。出生前,人体肾脏的肾单位已经形成。因此,没有干细胞可以替换丢失的肾单位。

在新的研究中,科研人员从ES细胞,通过添加一系列诱导因子(BMP4/activin A-FGF9-FGF9/BMP7/RA)逐步分化为原条(primitive streak)和IM,并同步诱导UB和MM,形成自组织结构,产生肾单位。经过检测,这些ES来源的部件具有广阔的肾脏潜能。

未来,医生或许采用人工方法培育出的肾脏来进行移植,修复受损的肾脏。

Takasato M, Er PX, Becroft M, Vanslambrouck JM, Stanley EG, Elefanty AG, *et al.* Directing human embryonic stem cell differentiation towards a renal lineage generates a self-organizing kidney. *Nat Cell Biol* 2014; 16(1): 118-26.

### **Nat Chem Biol:** 发现VMAT2调控 $\beta$ -细胞的终期分化

日本熊本大学的科研人员利用小鼠发现了一种方法,能够将干细胞高效分化为分泌胰岛素的 $\beta$ -

细胞,将其移植到糖尿病模型小鼠,效果良好,该研究报告刊登在*Nat Chem Biol*杂志上。

糖尿病细胞治疗的关键在于产生大量的、高效的分泌胰岛素的 $\beta$ -细胞。但是,由于对 $\beta$ -细胞分化的分子机制缺乏了解,此前,研究人员利用ES细胞培养分化,只能培养得到胰岛前体细胞。

通过化合物筛选,研究人员发现, reserpine和 tetrabenazine(TBZ)可以促进胰岛前体细胞到分泌前体细胞的终期分化。这两种药物均为囊泡单胺类转运蛋白2(vesicular monoamine transporter 2, VMAT2)抑制剂。VMAT2控制的单胺类递质,如多巴胺、组胺和5-羟色胺负调控 $\beta$ -细胞的分化。此外,这两种药物与dBu-cAMP相互作用,增强 $\beta$ -细胞的分化。研究人员将分化得到的细胞移植到AKITA糖尿病小鼠,6周后逆转了小鼠的高血糖。

本研究提供了 $\beta$ -细胞高效分化的策略,有望为糖尿病患者的细胞治疗带来光明。

Sakano D, Shiraki N, Kikawa K, Yamazoe T, Kataoka M, Umeda K, *et al.* VMAT2 identified as a regulator of late-stage  $\beta$ -cell differentiation. *Nat Chem Biol* 2014; 10(2): 141-8.

### **Cell Res:** 高通量测序揭示iPS细胞印记基因甲基化异常

中国农业大学田见晖教授课题组与北京生命科学研究所高绍荣研究员实验室共同发现*Zrsr1*基因低甲基化影响iPS细胞的质量,并能用于鉴别iPS细胞的多能性,该研究论文日前发表在*Cell Res*杂志上。

科学家一直担忧,iPS细胞诱导过程中积累的异常表观修饰最终会影响iPS细胞的多能性。因此,鉴别出与多能性相关的一些关键因子是应用iPS细胞

的前提。研究人员首先建立了一批具有经病毒感染的相同遗传背景的iPS细胞系,并用4倍体补偿鉴定方法(4N)确定了每个细胞系的多能性;然后通过深度测序分析(包含mRNA expression、small RNA profile、histone modifications、DNA methylation),比较“4N-ON”和“4N-OFF” iPS细胞系的基因表达和表观修饰全图谱。

研究发现,多能性降低的iPS细胞系中的一个印记基因*Zrsr1*的甲基化普遍较低。而且,无法通过改善培养条件或亚克隆技术来挽救这个基因的低甲基化。

此外,其他独立的重编程系统的iPS细胞系研究结果,也验证了*Zrsr1*基因的低甲基化影响iPS细胞系的多能性。

Chang G, Gao S, Hou X, Xu Z, Liu Y, Kang L, *et al.* High-throughput sequencing reveals the disruption of methylation of imprinted gene in induced pluripotent stem cells. *Cell Res* 2013; Doi: 10.1038/cr.2013.173.

### ***J Immunol*: TGF- $\beta$ 促进MSCs免疫调节功能**

中科院健康所时玉舫研究组报道了抗炎症细胞因子-TGF- $\beta$ 在阻断间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)免疫抑制功能中的独特作用,该研究成果发表于*J Immunol*杂志上。

MSCs具有潜在的免疫抑制能力, TGF- $\beta$ 是一种经典的抗炎细胞因子,可以下调多种免疫反应,参与免疫紊乱性疾病的病理进程。

研究人员发现, TGF- $\beta$ 并没有像预想的那样增强MSCs对淋巴细胞的抑制作用,反而逆转了MSCs对T淋巴细胞增殖的抑制能力。进一步研究发现, TGF- $\beta$ 通过直接作用于MSCs,抑制了由炎症因子诱导的免疫抑制分子——NO合成酶的表达,使MSCs产生较少的NO,不足以杀伤淋巴细胞。与此同时, MSCs还可以通过自分泌的方式表达TGF- $\beta$ ,而抑制MSCs自身TGF- $\beta$ 的信号通路可以促进MSCs发挥更好的免疫抑制能力。至此,该研究首次揭示了TGF- $\beta$ 在阻断间充质干细胞免疫抑制功能中的独特作用。

Xu C, Yu P, Han X, Du L, Gan J, Wang Y, *et al.* TGF- $\beta$  promotes immune responses in the presence of mesenchymal stem cells. *J Immunol* 2014; 192(1): 103-9.

### ***Cell Stem Cell*: 克服ES细胞移植免疫排斥的有效方法**

美国加州大学圣迭戈分校的徐洋教授团队与国内的科学家合作发现,使用两种免疫抑制分子组合(CTLA4-Ig和PD-L1)能有效保护异体人类ES细胞分化的细胞及组织免于免疫排斥。

干细胞疗法发展面临的一个主要瓶颈就是移植后的免疫排斥。长期使用免疫抑制剂有很大毒性及其他副作用。引起异体免疫排斥的主要是T细胞,而这次研究发现的两种免疫抑制分子CTLA4-Ig和PD-L1,均能抑制T细胞的激活。

科研人员首先开发出一种“人源化”实验鼠(Hu-mice),将人胚胸腺及胚肝中的造血干细胞移植到免疫缺陷小鼠体内,用来研究人的免疫系统对人ES细胞的免疫排斥反应。利用Hu-mice,科研人员对各种免疫抑制分子及其组合进行了测试,发现CTLA4-Ig和PD-L1能极好地发挥作用。ES细胞经过CTLA4-Ig和PD-L1 knockin,移植入Hu-mice后,可以提供局部的免疫保护,而且经过基因修饰的ES细胞衍生的畸胎瘤、成纤维细胞和心肌细胞等不会引发全身的免疫抑制反应。

研究发现, CTLA4-Ig破坏T细胞共刺激通路, PD-L1激活T细胞抑制通路,只有两者共同作用才能给予免疫保护,缺一不可。

科研人员下一步将在大动物验证此免疫抑制策略,希望能克服免疫排斥,促进ES细胞的临床应用。

Rong Z, Wang M, Hu Z, Stradner M, Zhu S, Kong H, *et al.* An effective approach to prevent immune rejection of human ESC-derived allografts. *Cell Stem Cell* 2014; 14(1): 121-30.

### ***Sci Rep*: 新的高效培养iPS的新方法**

日本京都大学iPS细胞研究所的山中伸弥和中川诚人等开发出新方法,可以不用滋养层细胞和动物血清,简单高效地培养iPS细胞,同时减少移植过程中引发感染的风险。相关论文刊登在近期的*Sci Rep*上。

为了iPS能够在再生医学临床应用, iPS的诱导培养应该符合GMP指南的严格条件。但目前培养iPS细胞时,需使用含有实验鼠饲养细胞和牛血清培养液补充营养,这有可能带入动物性的感染。

新研究中, 科研人员注意到应用一种无血清培养基StemFit™, 同时使用一种Laminin-511 E8蛋白质, 无论是ES细胞还是iPS细胞都能够在培养皿长期培养及顺利传代, 而且检测不到核型异常。

该培养体系可以从人成纤维细胞或血细胞诱导iPS细胞, 保持分化潜能, 无需滋养层细胞(Ff)及动物血清(Xf)。此外, 该系统也适用于ES细胞, 令干细胞可早日在再生医疗领域实际应用。

Nakagawa M, Taniguchi Y, Senda S, Takizawa N, Ichisaka T, Asano K, *et al.* A novel efficient feeder-free culture system for the derivation of human induced pluripotent stem cells. *Sci Rep* 2014; 4: 3594.

### ***Lancet Respir Med*: 自体MSC辅助治疗耐药性结核病的一期临床试验结果**

白俄罗斯、瑞典等多国的科学家进行了自体骨髓间充质干细胞(MSC)针对多药耐药(MDR)和广泛耐药(XDR)结核病的一期临床试验, 并在*Lancet Respir Med*杂志上报告了该实验结果。

耐药结核病免疫功能紊乱、各种治疗效果不

佳。骨髓MSC可以控制机体内的慢性炎症, 改善临床治疗效果。研究人员在白俄罗斯明斯克一个治疗中心进行了一期临床试验, 确定骨髓MSC治疗的安全性有30位耐药肺结核患者, 年龄21~65岁, 接受常规抗结核治疗的同时, 接受一个单剂量自体骨髓MSC治疗, 剂量为 $1 \times 10^6$ 细胞/kg。连续观察6个月, 研究相关炎症是否有恶化, 是否有临床不良反应。

研究发现, 自体骨髓MSC治疗并无严重不良反应, 常见的不良反应是胆固醇升高14例, 恶心11例, 淋巴细胞减少或腹泻10例。

一期临床试验的结论为: 采用自体骨髓MSC辅助标准药物治疗方案, 对于耐药性结核病是安全的, 可以进行2期临床试验, 评估其对患者的药效。

Skrahin A, Ahmed RK, Ferrara G, Rane L, Poirer T, Isaikina Y, *et al.* Autologous mesenchymal stromal cell infusion as adjunct treatment in patients with multidrug and extensively drug-resistant tuberculosis: An open-label phase 1 safety trial. *Lancet Respir Med* 2014; 2(2): 108-22.

朱丽华 整理