

对比研究胎儿和成年来源的胰岛前体细胞体外增殖和分化潜能

任振华^{1,2} 王淑艳¹ 张颖¹ 邹春林¹ 张愚^{1*}

(¹首都医科大学宣武医院细胞治疗中心, 北京 100053;

²安徽医科大学人体解剖学教研室, 合肥 230032)

摘要 对比研究胎儿和成年胰岛来源的前体细胞(hIPCs)体外增殖和分化, 探讨胎儿和成年hIPCs的体外增殖和分化潜能, 为细胞移植治疗糖尿病提供实验数据。体外分离培养胎儿和成体hIPCs, 诱导分化, 通过免疫组织化学、分子生物学方法, 检测hIPCs体外增殖潜能和分化效率。与成年hIPCs相比较, 胎儿hIPCs在体外具有更强的增殖潜能, BrdU掺入率明显高于成年胰岛来源的hIPCs($P < 0.05$)。体外诱导hIPCs分化成具有分泌胰岛素功能的胰岛样细胞团(ICC), 免疫荧光染色显示ICCs表达Insulin、Glucagon和Somatostatin, 定量检测Insulin、PDX-1和ISL-1基因的相对表达量, 胎儿来源的ICCs明显高于成年ICCs($P < 0.05$), 分别是成年ICCs的1.69倍、1.51倍和1.81倍。提示胎儿来源的胰岛前体细胞具有较强的增殖和分化能力。

关键词 胰岛前体细胞; 干细胞增殖; 干细胞分化; 糖尿病

糖尿病已成为继心脑血管疾病、各种癌症之后的第三大严重危害人类健康的疾病。胰岛细胞功能下降而导致的胰岛素分泌不足是糖尿病的重要原因^[1]。因此, 阻止细胞功能衰退, 增加细胞数量, 最大程度地挽救和恢复胰岛功能, 成为治疗糖尿病的新思路^[2,3]。而干细胞以其独特的生物学特性、极强的自我更新能力和多向分化潜能, 为临床治疗糖尿病提供了一个崭新的方法。

胰岛前体细胞来源于胎儿或成年胰岛, 可在体外大量扩增, 并能在体内或体外定向诱导其分化为胰岛素分泌细胞^[4-6], 是解决胰岛供体短缺和移植细胞来源的有效途径, 已逐渐成为胰岛 β 细胞替代物的理想资源。本实验对比研究了胎儿和成年hIPCs体外增殖和分化潜能, 结果显示胎儿hIPCs具有更强的增殖和分化潜能, 能提供更多的临床移植治疗糖尿病所需的功能性类胰岛细胞, 为干细胞体外分化移植治疗糖尿病提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 组织来源 成年和胎儿胰腺组织均来自于首都医科大学宣武医院。成年胰腺组织来自于临床非糖尿病患者组织标本, 供体年龄在25~36岁之间; 胎儿胰腺组织来自于流产胎儿, 胎龄在14~16w之间。

1.1.2 材料 培养皿购自Falcon; 培养基、胎牛血清、HEPES缓冲液、谷氨酰胺、丙酮酸钠、胰蛋白酶、B-27和DPBS购自Invitrogen公司; 肝细胞生长因子(HGF)、 β 细胞素、EGF和bFGF购自R&D公司; exendin-4、烟酰胺、激活素A、巯基乙醇、胶原酶V和BrdU购自Sigma-Aldrich公司; Ficoll分离液购自Stem Cell; rTaq酶和SYBR Green购自TaKaRa公司; 高敏胰岛素ELISA试剂盒购自Mercodia公司; 其他化学试剂购自北京华盛益利化工厂。

1.2 方法

1.2.1 hIPCs分离培养 按文献报道^[7,8], 将清理后的胰腺剪成1 mm³的碎块, 加入1 mg/ml胶原酶V 10 ml, 37°C手动振荡消化10 min, 加入预冷的含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基终止消化。Ficoll密度梯度离心, 初步分离胰岛, 含10%胎牛血清的1640培养基重悬胰岛, 双硫脲染色后镜下手工挑选纯化胰岛。纯化后的胰岛加入1640完全培养基, 包括10 mmol/L HEPES缓冲液、1 mmol/L丙酮酸钠、71.5 mmol/L巯基乙醇、20 ng/ml bFGF和EGF。

收稿日期: 2010-02-03 接受日期: 2010-07-06

国家高技术研究发展计划(863计划)(No.2006AA02A112)资助项目

* 通讯作者。Tel: 010-63184557, Fax: 010-83198889, E-mail:

yaz@bjsap.org

37℃, 5% CO₂ 培养箱中培养。12~15 d 后, 从胰岛迁移出的胰岛前体细胞 80% 融合后, 用 0.25% 胰酶消化传代。

细胞以 2×10⁴/孔接种于 24 孔培养板, 培养 1 d, 然后加入 10 mmol/L BrdU。DPBS 洗涤 2 次后, 甲醇/醋酸固定 150 min, 2 N 盐酸作用 40 min, 血清封闭后加入 BrdU 抗体(表 1), 4℃ 过夜, 复温后加入二抗(表 2)。DAPI 复染后镜下计数 10 个视野中细胞总数及 BrdU 阳性细胞数, 计算标记指数。

1.2.2 hIPCs 诱导分化 5×10⁵ 细胞接种于 60 mm 的 Petri 培养皿中, DMEM/F12 培养基包含 20 ng/ml bFGF、20 ng/ml EGF、1% B27、0.05% BSA、1 mmol/L 丙酮酸钠和 2 mmol/L L-谷氨酰胺, 培养 4 d 后, 培养基换成 DMEM/F12 包含 10 mmol/L 烟酰胺、500 pmol/L β 细胞素、2 nmol/L 激活素 A、10 nmol/L exendin-4 和 10 ng/ml 肝细胞生长因子, 继续培养 6 d。收集 ICCs, 准备下一步实验。

1.2.3 免疫化学检测 培养的 hIPCs 和贴壁的 ICCs 用 4% 的多聚甲醛固定 15 min, PBS 洗涤 2 次, 0.03% Triton X-100 透化 40 min, 5% 血清封闭 1 h 后, 加入一抗(表 1), 4℃ 过夜, 室温复温 30 min 后, 加入二抗(表 2)室温 1 h, PBS 洗涤 2 次, 1% DAPI 复染。10% 甘油封片, 镜下观察拍片。

1.2.3 PCR 检测 hIPCs 和 ICCs 分别加入 TRIzol, 提取总 RNA。以 3~5 μg RNA 作为模板在 Superscript II 反转录酶作用下合成 cDNA。25 μl 的 PCR 反应体系, 加入 1 μl 的 cDNA, 特异性引物进行梯度 PCR 反

应, 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测扩增结果。Real-time PCR 定量分析 ISL-1、PDX-1 和 Insulin 基因表达, 反应条件为总循环数 39, 95℃ (15 s), 60℃ (1 min), 72℃ (30 s)。总的反应体系 20 μl, 包括 1 μl 的 cDNA、SYBR Green PCR Master mix 和上下游引物各 0.5 μl。同时检测 GAPDH 的表达量, 各基因 RNA 表达量与 GAPDH 的比值表示各基因的相对表达量。引物序列见表 3。

1.2.4 ICCs 葡萄糖刺激实验 镜下手工挑选 100 个直径大小一致的 ICCs, 含有 0.5% BSA 的 PBS 洗涤 2 次, 顺序地加入含有 0、2.8 和 16.7 mmol/L 葡萄糖的 Krebs-Ringer 重碳酸盐缓冲液(KRBB), 5% CO₂、37℃ 分别孵育 90 min。收集 KRBB 溶液, ELISA 试剂盒测定胰岛素含量。

1.3 统计分析

数据以均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, SPSS16.0 软件进行统计分析。采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 hIPCs 体外培养

分离纯化后的胰岛接种于 60 mm 培养皿中(图 1A), 24 h 后胰岛贴壁。和报道一致^[8], 2~3 d 后胰岛的形态发生改变, 可见鹅卵石样圆形的细胞爬出(图 1B), 细胞逐渐转变成梭形, 12~15 d 后长满 80%, 消化传代, 与原代培养的细胞比较, 传代后的细胞形态与成纤维细胞相似(图 1C)。

Table 1 Details of primary antibodies used

Primary antibody	Species	Dilution	Cat No.	Sources
Polyclonal anti-nestin	Rabbit	1:200	AB5922	Chemicon International Inc.
Monoclonal anti-BrdU	Mouse	1:200	1170376	Roche applied science
Monoclonal anti-vimentin	Mouse	1:200	MAB1687	Chemicon International Inc.
Polyclonal anti-Isl-1	Rabbit	1:200	AB5754	Chemicon International Inc.
Monoclonal anti-glucagon	Mouse	1:1 000	G2654	Sigma-Aldrich Inc.
Polyclonal anti-somatostatin	Rabbit	1:300	A056601	DAKO Denmark
Polyclonal anti-insulin	Guinea pig	1:500	18-0067	Zymed Laboratories

Table 2 Details of secondary antibodies used

Secondary antibody	Species	Fluorescent	Dilution	Product code	Sources
Anti-guinea pig	Donkey	Texas red	1:400	706-076-148	Jackson ImmunoResearch
Anti-mouse	Goat	Texas red	1:400	115-076-062	Jackson ImmunoResearch
Anti-rabbit	Goat	Texas red	1:400	111-076-045	Jackson ImmunoResearch
Anti-rabbit	Goat	Cy2	1:400	111-226-045	Jackson ImmunoResearch
Anti-mouse	Goat	Cy2	1:400	115-226-062	Jackson ImmunoResearch

胎儿 hIPCs 体积较小, 以螺旋方式生长, 而成年 hIPCs 相对较大, 平行排列生长。与成年 hIPCs 比较, 胎儿 hIPCs 具有更强的增殖潜能, 能在体外大量扩

增。250 个胎儿胰岛来源的 hIPCs 体外能传代至少 20 代, 扩增到 10^{12} ~ 10^{13} 个细胞; 而等量的成体胰岛来源地 hIPCs 体外只能传 14 代左右, 只能扩增到 10^8 ~ 10^9

Table 3 Sequence of specific PCR primers and expected product size of different target genes

Gene	Sense primer(5'-3')	Antisense primer(5'-3')	Product size (bp)
For RT-PCR			
β -Actin	TGG CAC CAC ACC TTC TAC AAT GAG C	GCA CAG CTT CTC CTT AAT GTC ACG C	396
Isl-1	TGT TTG AAA TGT GCG GAG TG	GTT CTT GCT GAA GCC GAT G	144
PDX-1	TGA TAC TGG ATT GGC GTT GT	GCA TCA ATT TCA CGG GAT CT	270
Insulin	GCC TTT GTG AAC CAA CAC CTG	GTT GCA GTA GTT CTC CAG CTG	268
Glucagon	ATT CAC AGG GCA CAT TCA CC	AAC AAT GGC GAC CTC TTC TG	260
Somatostatin	GCT GCT GTC TGA ACC CAA C	CGT TCT CGG GGT GCC ATA G	138
For real-time PCR			
GAPDH	ATG ACA TCA AGA AGG TGG TG	CAT ACC AGG AAA TGA GCT TG	177
Isl-1	TGC CCG CTC CAA GGT GTA	CCG AAG CGC AAA TTC GTC	86
PDX-1	GGA GCC GGA GGA GAA CAA G	CTC GGT CAA GTT CAA CAT GAC AG	137
Insulin	GCA GCC TTT GTG AAC CAA CAC	CCC CGC ACA CTA GGT AGA GA	67

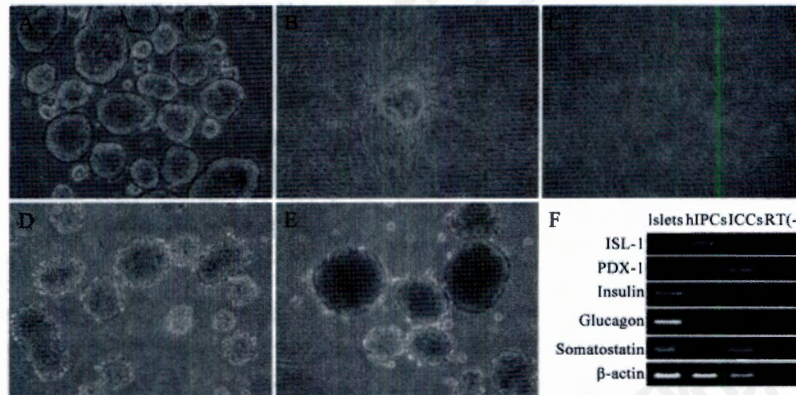


Fig.1 Human islet-derived precursor cells in culture and hIPCs differentiated into ICCs

A: isolated islets in culture (24h); B: the primary culture of hIPCs (48h); C: hIPCs in culture (passage 2); D: adult ICCs (48h); E: fetal ICCs (48h); F: the expression of genes related to islets by RT-PCR. Original magnification, 200 \times .

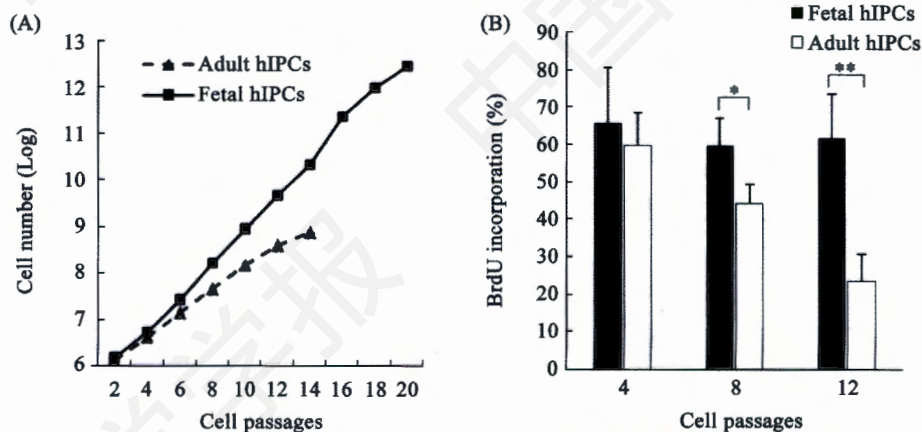


Fig. 2 Comparison of the proliferation potential of fetal and adult hIPCs

A: the growth curve of fetal and adult hIPCs; B: comparison of the BrdU incorporation of fetal and adult hIPCs at passages 4, 8 and 12. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

个细胞(图2)。相同代数胎儿和成年 hIPCs 的 BrdU 增殖实验结果显示, 前4代胎儿和成年 hIPCs 的 BrdU 掺入率基本相同, 但第8代以后成年 hIPCs 的 BrdU 掺入率明显下降(图2B, $*P<0.05$, $**P<0.01$)。

2.2 hIPCs 体外分化

hIPCs 接种于 Petri 培养皿中, 在分化培养基的诱导下, 24 h 自发形成 ICCs。开始形成的 ICCs 体积相对较小, 随诱导时间的延长, ICCs 不断融合, 形成较大体积的 ICCs, 48 h 后 ICCs 大小将不会明显改变。成年 ICCs 体积较小, 结构相对疏松, 随着 ICCs 形成, 细胞死亡较多(图1D); 而胎儿 ICCs 体积相对较大, 结构紧密, 但形成 ICCs 相对困难, 容易贴壁(图1E)。

2.3 免疫组化染色结果

染色结果显示 hIPCs 表达胰岛前体细胞标志 Nestin(图3A)、间质细胞标志 Vimentin(图3B)和 β 细胞转录因子 ISL-1(图3C); 并不表达成熟胰岛内分泌标志 Insulin、Glucagon 和 Somatostatin(图3D~图3F)。而体外诱导分化后, ICCs 表达 Insulin、Glucagon 和 Somatostatin(图3G~图3L), 且 Insulin 分别

与 Glucagon 和 Somatostatin 共表达。

2.4 PCR 结果

PCR 结果显示 hIPCs 不表达 PDX-1 和内分泌标志 Insulin、Glucagon 和 Somatostatin, 但 ICCs 表达 PDX-1 和成熟胰腺内分泌标志 Insulin、Glucagon 和 Somatostatin(图1F)。Real-time PCR 定量结果显示, 与未分化的 hIPCs 相比, 胎儿和成年 ICCs 的基因相对表达量显著升高, 分别是 474 倍和 316 倍(insulin)、2.65 倍和 2.17 倍(ISL-1)、159 倍和 83 倍(PDX-1)(图4A, 4B and 4C; $*P<0.05$, $**P<0.01$)。胎儿 hIPCs 体外诱导分化效果明显, 胎儿 ICCs 的 Insulin 基因、PDX-1 基因和 ISL-1 基因的相对表达量分别是成年 ICCs 的 1.69 倍、1.51 倍和 1.81 倍(图4A~图4C)。

2.4 ICCs 葡萄糖刺激实验结果

葡萄糖刺激结果显示, 0 mmol/L 葡萄糖刺激液中胰岛素含量非常低; 2.8 mmol/L Glucose 刺激液中, 胎儿和成年 ICCs 的刺激液中 insulin 的含量分别是 (10.87 ± 1.32) 和 (3.18 ± 0.82) ; 16.7 mmol/L 葡萄糖刺激液中, 胎儿和成年 ICCs 的刺激液中 insulin 的含量分

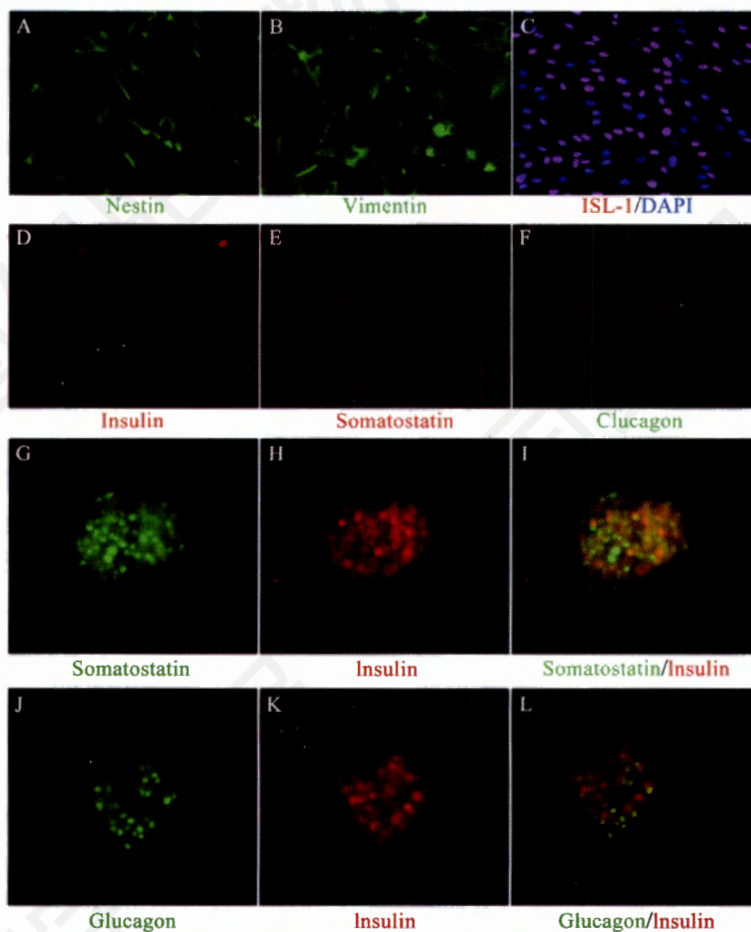


Fig.3 Immunostaining in hIPCs (A~F) and ICCs (G~L)

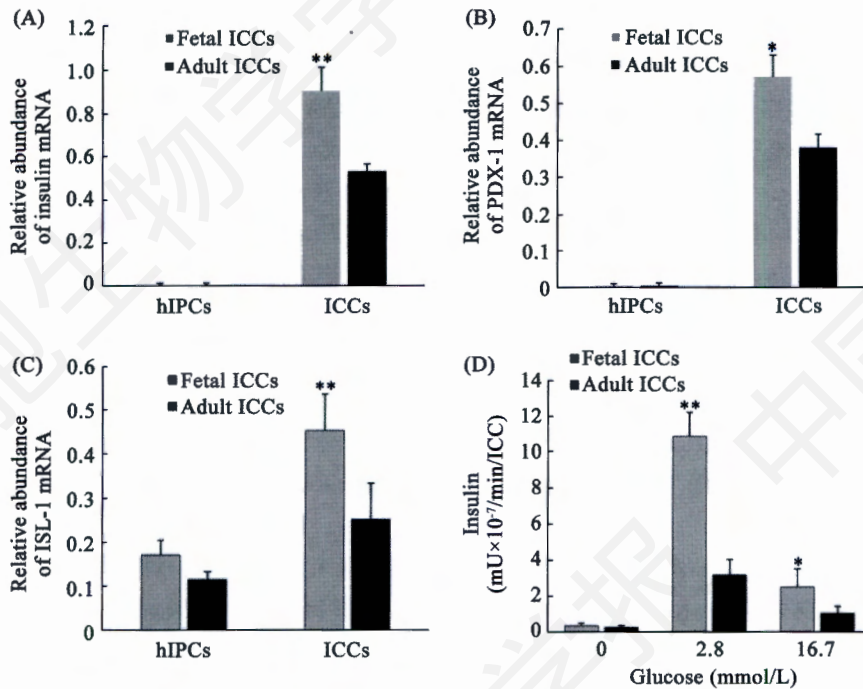


Fig.4 Relative abundance of genes mRNA and insulin secretion by ELISA

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

别是(2.47±1.03 和 1.02±0.38) (图 4D; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)。与基因相对表达量一致, 胎儿 ICCs 在葡萄糖刺激作用下, 分泌 insulin 的量明显高于成体的 ICCs。

3 讨论

1 型糖尿病血糖升高是由于胰岛 β 细胞的选择性损伤引起的, 而 2 型糖尿病的血糖升高是晚期出现胰岛素绝对分泌不足而引起的^[1]。胰岛移植是针对 1 型糖尿病或 2 型糖尿病晚期患者, 特别是对疾病晚期药物治疗效果不佳的患者的有效治疗方法之一。但由于胰岛供体严重不足和免疫抑制剂的使用, 严重限制着胰岛移植在临床上的广泛开展^[9]。干细胞独特的生物学特性、极强的自我更新能力及多向分化潜能, 无疑是获得大量胰岛细胞的最佳种子细胞^[2,3]。

关于胰腺前体细胞的存在部位, 存在多种观点, 尚无最终定论。胚胎发育期, 胰岛 β 细胞来自于胰腺腺管迁移分化^[10]。成体胰腺中, 胰岛 β 细胞仍然有增殖能力, 生理状态下 β 细胞的更新主要是依靠 β 细胞的自我复制^[11]。体外培养的胰岛前体细胞来源主要包括胰腺导管和胰岛, 胰腺导管来源于前体细胞表达 CK19^[12,13], 而胰岛来源的前体细胞表达 nestin^[4,14], 这两种干细胞在体外特定的培养条件下, 均可分化为 β 细胞。

但与胰岛来源的前体细胞比较, 胰腺导管来源的前体细胞尚不能在体外大量扩增。250 个胎儿胰岛来源的前体细胞体外能扩增 $10^{12} \sim 10^{14}$ 个细胞^[7], 而相同量的成体胰岛来源的前体细胞体外能扩增 10^8 个细胞以上。本实验所研究的胰岛前体细胞分别来源于成人和胎儿, 与文献报道的一致^[8], 相对于成体胰岛来源的前体细胞, 胎儿来源的前体细胞具有更强的增殖能力。另一方面, 到目前为止, 胰腺导管来源的前体细胞尚不能在体外大量扩增, 传代不超过 3~4 代。因此, 没有足够的细胞数量用于细胞移植治疗糖尿病的临床或实验研究。

胰岛来源的前体细胞在体外大量扩增, 并能诱导分化成分泌胰岛素的类胰岛细胞^[4-6], 将这种前体细胞或分化后的细胞移植到 NOD/SCID 鼠的肾被膜下, 能降低 NOD/SCID 鼠的血糖^[15]。与以前的报道一致^[7], 胰岛来源的前体细胞表达神经前体细胞标志 Nestin^[16], 间充质干细胞标志 Vimentin^[8] 和胰岛 β 细胞特异性基因 ISL-1^[13,17-19], 但并不表达胰岛内分泌成熟基因 Insulin、Somatostatin 和 Glucagon。体外诱导分化成 ICCs 后, 显著提高 Insulin、Glucagon 和 Somatostatin 基因的表达, 体外糖刺激 ICCs 能分泌 Insulin, 移植 ICCs 能降低糖尿病模型动物的血糖水平^[7]。但是现有的分化方案还不能达到理想的状态, 分化后的

ICCs 分泌 Insulin 的能力远远不能和胰岛相比^[20]。因此, 改进分化方案或发现新的更有效率的诱导因子是进一步研究的方向。

本实验研究了胎儿和成年胰岛来源的前体细胞, 比较了两者的体外增殖和分化潜能。实验结果表明, 尽管两种来源的前体细胞都能体外扩增和诱导分化, 但很明显胎儿胰岛来源的前体细胞具有更强的增殖和分化潜能, 更适合应用于干细胞移植治疗的临床和实验研究。虽然干细胞以其独特的生物学特性、极强的自我更新能力和多向分化潜能, 为临床治疗糖尿病提供了一个崭新的方法。但在现有的条件下, 其分化效率仍十分低下, 离临床的应用还有很远的距离, 所以进一步明确胰腺的发育机制, 优化胰岛来源的前体细胞体外分化环境将成为日后研究工作的目标。

参考文献(References)

- Mathis D, Vence L, Benoist C. beta-Cell death during progression to diabetes. *Nature* 2001; 414(6865): 792-8.
- Bonner-Weir S, Weir GC. New sources of pancreatic beta-cells. *Nat Biotechnol* 2005; 23(7): 857-61.
- Bouckenooghe T, Vandewalle B, Lukowiak B, Kerr-Conte J, Belaïch S, Gmyr V, *et al.* Modulation of specific beta cell gene (re)expression during *in vitro* expansion of human pancreatic islet cells. *Cell Transplant* 2003; 12(7): 799-807.
- Zulewski H, Abraham EJ, Gerlach MJ, Daniel PB, Moritz W, Müller B, *et al.* Multipotential nestin-positive stem cells isolated from adult pancreatic islets differentiate *ex vivo* into pancreatic endocrine, exocrine, and hepatic phenotypes. *Diabetes* 2001; 50(3): 521-33.
- Davani B, Ikonomidou L, Raaka BM, Geras-Raaka E, Morton RA, Marcus-Samuels B, *et al.* Human islet-derived precursor cells are mesenchymal stromal cells that differentiate and mature to hormone-expressing cells *in vivo*. *Stem Cells* 2007; 25(12): 3215-22.
- Suen PM, Zou C, Zhang YA, Lau TK, Chan J, Yao KM, *et al.* PDZ-domain containing-2 (PDZD2) is a novel factor that affects the growth and differentiation of human fetal pancreatic progenitor cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; 40(4): 789-803.
- Zou C, Suen PM, Zhang Y, Wang Z, Chan P, Leung PS, *et al.* Isolation and *in vitro* characterization of pancreatic progenitor cells from the islets of diabetic monkey models. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38(5-6): 973-84.
- Gallo R, Gambelli F, Gava B, Sasdelli F, Tellone V, Masini M, *et al.* Generation and expansion of multipotent mesenchymal progenitor cells from cultured human pancreatic islets. *Cell Death Differ* 2007; 14(11): 1860-71.
- Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, Korbutt GS, Toth E, Warnock GL, *et al.* Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med* 2000; 343(4): 230-8.
- Madsen OD, Jensen J, Blume N, Petersen HV, Lund K, Karlens C, *et al.* Pancreatic development and maturation of the islet beta cell. *Eur J Biochem* 1996; 242(3): 435-45.
- Dor Y, Brown J, Martinez OI, Melton DA. Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. *Nature* 2004; 429(6987): 41-6.
- Bonner-Weir S, Taneja M, Weir GC, Tatarkiewicz K, Song KH, Sharma A, *et al.* *In vitro* cultivation of human islets from expanded ductal tissue. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(14): 7999-8004.
- Ramiya VK, Maraist M, Arfors KE, Schatz DA, Peck AB, Cornelius JG. Reversal of insulin-dependent diabetes using islets generated *in vitro* from pancreatic stem cells. *Nat Med* 2000; 6(3): 278-82.
- Abraham EJ, Leech CA, Lin JC, Zulewski H, Habener JF. Insulinotropic hormone glucagon-like peptide-1 differentiation of human pancreatic islet-derived progenitor cells into insulin-producing cells. *Endocrinology* 2002; 143(8): 3152-61.
- Gershengorn MC, Hardikar AA, Wei C, Geras-Raaka E, Marcus-Samuels B, Raaka BM. Epithelial-to-mesenchymal transition generates proliferative human islet precursor cells. *Science* 2004; 306(5705): 2261-4.
- Wang R, Li J, Yashpal N, Gao N. Nestin expression and clonal analysis of islet-derived epithelial monolayers: Insight into nestin-expressing cell heterogeneity and differentiation potential. *J Endocrinol* 2005; 184(2): 329-39.
- Li L, Lili R, Hui Q, Min W, Xue W, Xin S, *et al.* Combination of GLP-1 and sodium butyrate promote differentiation of pancreatic progenitor cells into insulin-producing cells. *Tissue Cell* 2008; 40(6): 437-45.
- Suzuki A, Nakauchi H, Taniguchi H. Prospective isolation of multipotent pancreatic progenitors using flow-cytometric cell sorting. *Diabetes* 2004; 53(8): 2143-52.
- Thor S, Ericson J, Brännström T, Edlund T. The homeodomain LIM protein Isl-1 is expressed in subsets of neurons and endocrine cells in the adult rat. *Neuron* 1991; 7(6): 881-9.
- Mutskov V, Raaka BM, Felsenfeld G, Gershengorn MC. The human insulin gene displays transcriptionally active epigenetic marks in islet-derived mesenchymal precursor cells in the absence of insulin expression. *Stem Cells* 2007; 25(12): 3223-33.

Comparative Study on the Proliferation and Differentiation of Fetal and Adult Human Islet-derived Precursor Cells *in vitro*

Zhen-Hua Ren^{1,2}, Shu-Yan Wang¹, Ying Zhang¹, Chun-Lin Zou¹, Y. Alex Zhang^{1*}

(¹Cell Therapy Center, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China; ²Department of Anatomy, Anhui Medical University, Hefei 230032, China)

Abstract Hyperglycemia arises from the selective destruction of pancreatic insulin producing β -cells in type 1 and the late stages of type 2 diabetes. Cell therapy represents a potential cure for diabetes mellitus, but is limited by availability of human pancreatic tissue. Stem/progenitors cells within pancreatic tissue are a potential source for transplantation because they can expand exponentially and produce functional insulin-producing cells. Human islet-derived precursor cells (hIPCs) are capable to proliferate and differentiate into functional cells that secreted insulin in response to glucose *in vivo* and *in vitro*. In this study, we isolated and cultured hIPCs from fetal and adult human islets, and compared the proliferation and differentiation ability of hIPCs *in vitro*. Results showed that fetal hIPCs had greater potentiality for proliferation and differentiation than that of adult hIPCs. Our finding suggested that fetal hIPCs might be more suitable for clinical and experimental study on cell transplantation for diabetes.

Key words human islet-derived precursor cells; cell proliferation; cell differentiation; diabetes

Received: February 3, 2010 Accepted: July 6, 2010

This work was supported by Chinese National Programs for High Technology Research and Development(863 Program)(No. 2006AA02A112)

*Corresponding author. Tel: 86-10-63184557, Fax: 86-10-83198889, E-mail: yaz@bjsap.org