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: 恒河猴皮肤细胞诱导成为原始iPSC

日前,北京大学生命科学学院邓宏魁研究组在首次成功将恒河猴皮肤细胞诱导成为了原始iPSC,这是干细胞领域的一项重要突破。研究成果刊登在*Cell Stem Cell*上。

2009年,邓宏魁研究团队首次建立了恒河猴iPSC。在此基础上,他们发现了一些关键信号通路的调控因子,在传统的bFGF和2i/LIF配方中添加化合物SP600125和SB203580,科研小组成功将恒河猴iPSC逆转到了原始的状态,建立了稳定表达多能标记TRA-1-81/TBX3的原始iPSC,且效率是传统方法的10倍。

经检验,这些细胞表达多能细胞标记,如TRA-1-60、TRA-1-81和SSEA-4,但不表达SSEA-1,具有正常细胞核型,传到第8代仍然维持圆顶状外形和ALP活性。分化测试证明其能向三胚层分化。植入小鼠体内4~5周会形成具有三胚层组织的畸胎瘤。以上结果说明,恒河猴原始iPSC具有多能性和分化潜能。另外,原始iPSC还具有原始细胞特有的表达谱和X-激活(X-activation)状态。有趣的是,研究还发现,恒河猴细胞重编程依赖MAPK-bFGF通路。

这项研究在体外获得灵长类动物的原始iPSC,不仅为未来建立转基因灵长类动物模型提供了潜在的细胞来源,而且为体外建立其它物种的原始iPSC提供了重要参考依据。

Fang R, Liu K, Zhao Y, Li H, Zhu D, Du Y, *et al.* Generation of naive induced pluripotent stem cells from rhesus monkey fibroblasts. *Cell Stem Cell* 2014; 15(4): 488-96.

Cell Stem Cell: 体细胞重编程中的转录暂停释放“开关”

中国科学院广州生物医药与健康研究院的

Miguel A. Esteban研究小组发现体细胞逆转为干细胞的“开关”,即细胞里的RNA聚合酶II(polymerase II, Pol II),其在干细胞特异性基因的表达上处于“暂停”的状态,导致逆转效率很低。研究论文在线发表于*Cell Stem Cell*。

外源导入转录基因诱导的体细胞重编程过程中,会产生染色质重塑,招募polymerase II到目标基因位点。但其调控机制尚未清楚。

这项研究通过比较体细胞、重编程过程中的细胞、干细胞这三种细胞中Pol II的分布,试图研究基因表达模式在重编程过程中的变化。研究发现,重编程中,Pol II占据多能启动子,但处于“暂停”的状态,导致重编程效率很低。实验组用BRD4(bromodomain-containing protein 4)蛋白通过分离暂停释放因子P-TEFb和含HEXIM1的非活性复合物,刺激多能基因的转录延长,过表达BRD4能显著提高体细胞重编程的效率,而HEXIM1的具有相反的作用。研究进一步证明,重编程因子KLF4协助招募P-TEFb至转录启动子。

这一研究有助于解释体细胞重编程中多能基因再激活的机制,揭示了KLF4意外的转录暂停释放的作用。

Liu L, Xu Y, He M, Zhang M, Cui F, Lu L, *et al.* Transcriptional pause release is a rate-limiting step for somatic cell reprogramming. *Cell Stem Cell* 2014; doi: 10.1016/j.stem.2014.09.018.

Lancet: hESC来源的细胞移植治疗眼疾临床试验公布积极结果

美国的研究人员宣布将hESC衍生的细胞植入18名视力退化的患者眼中,有超过半数患者恢复部分视力,并且没有形成肿瘤,也没有发生严重的不良

反应。研究结果公布在近期的*Lancet*上。

加州大学等单位的研究人员进行了2项1/2期临床研究,探索hESC来源的视网膜色素上皮细胞(retinal pigment epithelium in, RPE)视网膜下移植治疗斯特格氏病(targardt's macular dystrophy)和老年黄斑退化病(atrophic age-related macular degeneration, AMD)各9例的安全性和耐受性。移植后,对病人进行了22月的随访。临床研究登记号分别为NCT01345006和NCT01344993。移植所用的细胞由美国Advanced Cell Technology公司提供。

治疗过程中,没有出现与移植相关的异常增殖、排斥或严重的眼睛/全身安全事件。18位患者中13位(72%)移植的RPE组成的视网膜色素斑块增加,10位患者矫正视力改善,7位改善或维持,1位变差。移植3~12月后,对患者视力相关的生活质量进行评分,斯特格氏病患者提高8~20分,AMD患者提高16~25分。

这项研究首次证实了干细胞治疗的中长期的安全性和有效性,说明hESC来源的细胞可用于临床应用,修复替代受损组织。

Schwartz SD, Regillo CD, Lam BL, Elliott D, Rosenfeld PJ, Gregori NZ, *et al.* Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy: Follow-up of two open-label phase 1/2 studies. *Lancet* 2014; 10.1016/S0140-6736(14)61376-3.

***Proc Natl Acad Sci USA*: 神经干细胞植入帕金森病释放多巴胺**

北京大学周专实验室,将人源的神经干细胞移植到帕金森病大鼠大脑纹状体内,减轻大鼠的运动功能障碍,这种改善是源于移植细胞直接释放的多巴胺神经递质。该项研究于近日在线发表于*Proc Natl Acad Sci USA*。

帕金森病在中国发病率很高,目前约有200万患者。患者脑部纹状体内神经细胞的退行性变,多巴胺分泌减少,从而引起麻痹震颤等症状。科研人员一直在尝试用干细胞治疗帕金森病。

周专实验室首次联合两种体内检测技术,实现原位鉴定和记录多巴胺分泌信号。一是基于在体透析的高效液相色谱大鼠大脑纹状体HPLC技术,以原位定性分析多巴胺分泌;二是电化学微碳纤维电

极技术,以原位定量实时记录多巴胺分泌。结果表明,移植人源多巴胺干细胞16周后动物帕金森病行为得到改善。

该研究首次证明此时的多巴胺干细胞能直接分泌多巴胺。这项转化医学的突破性应用了电化学低噪音微碳纤维电极技术,为其它干细胞治疗机理研究提供了新的检测方法。

Kang X, Xu H, Teng S, Zhang X, Deng Z, Zhou L, *et al.* Dopamine release from transplanted neural stem cells in Parkinsonian rat striatum *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(44): 15804-9.

***Nature*: 蛋白质C受体鉴定乳腺干细胞**

中国科学院上海生科院生化与细胞所曾艺团队发现乳腺中的多能干细胞,从而“刷新”了乳腺干细胞性质的现有理论,相关成果在线发表于*Nature*。

乳腺干细胞(mammary stem cells, MaSC)的病发极有可能是乳腺癌发生的重要原因之一,但目前对MaSC的存在还有争议,对其性质的了解也很少。因此,寻找乳腺干细胞具有重大的意义。

研究人员通过筛选找到了干细胞特异的表面标记蛋白质C受体(Procr),并采用乳腺干细胞移植技术以及在模式动物体内对干细胞进行谱系追踪的方法,发现成体乳腺器官中存在未分化的干细胞。

Procr是乳腺中Wnt通路的靶标。研究发现,Procr能够标记一群特殊的多能小鼠MaSC。Procr+细胞位于基底层,具有EMT(epithelial-to-mesenchymal transition)特性。移植试验中发现,Procr+细胞具有很强的再生能力,可以分化形成所有的乳腺细胞类型。Procr是细胞膜表面受体,是理想的药物靶点,有望治疗干细胞异变引起的乳腺癌。

该研究定义了一群新的多能MaSC,为探讨乳腺癌细胞的起源及其与干细胞的关系奠定了基础

Wang D, Cai C, Dong X, Yu QC, Zhang XO, Yang L, *et al.* Identification of multipotent mammary stem cells by protein C receptor expression. *Nature* 2014; doi: 10.1038/nature13851.

***Sci Rep*: 具有心肌和血管细胞的iPS人工心脏组织**

京都大学的研究小组日前利用iPS细胞,首次成功培育出了由心肌和血管等数种细胞组成的心脏组

织细胞层,有望用于对心脏疾病的再生医疗。研究论文发表在*Sci Rep*上。

在培育心肌细胞时,科研人员分阶段加入血管内皮生长因子。结果,iPS细胞除了发育成心肌细胞外,还同时发育出了形成血管的血管内皮和血管壁细胞。接下来,在培养皿将这种细胞团块培育出了直径约1厘米的薄片状细胞层,然后利用细胞层技术,三层细胞重叠形成整合的心脏组织,移植给9只心肌梗塞模型大鼠。移植细胞层之后,有4只大鼠在移植的部位形成了血管,细胞层的一部分扎下根来,并改善了心肌功能。而且在移植两个月之后,也未发现癌变现象。移植4周后,检测发现,移植物中超过40%为心肌细胞

研究小组指出,这是世界上首次利用iPS细胞培育出的含有血管细胞的类似心脏组织。有望用于心脏再生治疗。

Masumoto H, Ikuno T, Takeda M, Fukushima H, Marui A, Katayama S, *et al.* Human iPS cell-engineered cardiac tissue sheets with cardiomyocytes and vascular cells for cardiac regeneration. *Sci Rep* 2014; doi: 10.1038/srep06716.

Nature: 用多能干细胞培育类胃器官进行发育和疾病研究

最近,美国辛辛那提儿童医院医学中心的科学家在实验室成功利用人类干细胞经过胚胎阶段发育,培养出微缩版功能性人类类胃器官(human gastric organoids, hGO),有着和人胃一样的腺体结

构。这些“类胃器官”可用于研究疾病,测试胃对药物的反应等。相关论文在线发表*Nature*上。

研究小组用于培养hGO的是多能干细胞,之前的研究曾用这一技术培养出的肾、肝、脑和肠组织。研究关键在于要鉴别出胚胎发育过程中与正常胃形成相关的一些步骤。在两年的时间里,科研人员利用了驱动胃形成的不同因子来开展实验,优化培养条件。通过人工操纵FGF、WNT、BMP、etinoic acid和EGF信号通路和3D培养,最终在培养皿培养出了hGO。得到的hGO直径只有几mm,但具有人体胃组织的腺体结构和发育中的每个特征,和一个真正的胃极为相似。

科研人员用hGO开展幽门螺旋杆菌感染的研究。研究发现,在24 h内,幽门螺旋杆菌使hGO组织细胞分裂的速度加快了两倍,并激活了一种特殊基因c-Met,而这种基因会引起肿瘤。在人类胃组织感染了幽门螺旋杆菌后也会出现这些后果。

研究小组的长期目标是培养人类胃部组织以修补胃溃疡。这是首次通过分子诱导在实验室生成人体胃类器官,为药物开发、早期阶段胃癌和肥胖相关糖尿病基础研究提供全新机遇。

McCracken KW, Cata EM, Crawford CM, Sinagoga KL, Schumacher M, Rockich BE, *et al.* Modelling human development and disease in pluripotent stem-cell-derived gastric organoids. *Nature* 2014; doi: 10.1038/nature13863.

朱丽华 整理