

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 Med: 用人多能干细胞培育肠道组织作为体内研究模型

美国辛辛那提儿童医学中心的科学家报告称,用人多能干细胞(human pluripotent stem cells, hPSC)培育出功能性人体肠道组织并将其移植入小鼠体内,可作为胚胎发育、疾病治疗、药理研发的新工具。研究结果公布在最近的Nature Medicine上。

目前人类肠道的体内模型非常少,仅依靠原始上皮培养或手术切片消化组织,且不能完全复制生理学和解剖学上的变化和身体内肠道组织的功能。

此次研究,研究小组分别利用人ESC和iPSC,在体外再造人体肠道组织(human intestinal organoid, HIO)。将这种实验室生长的组织移植入小鼠的肾脏组织后,细胞迅速扩增,成熟为上皮和间质,内含肠道干细胞,可产生隐窝和绒毛的特征结构和多层间质;还有各种类型的肠道细胞,包括enterocyte、goblet cell、paneth cell、tuft cell和enteroendocrine cell;并有各种功能性酶,包括lactase、sucrase-isomaltase和dipeptidyl peptidase 4。这种肠道组织还展现出了消化功能,如将分子吸收输送到小鼠的血液中以及消化酶活动。研究人员还发现,如果将小鼠的盲肠切除,植入组织也响应宿主的系统信号,证明循环因素在肠道适应性反应中的作用。

这种组织模型或可用于研究发育过程、肠胃疾病以及测试针对特定病症的新治疗方法。

Watson CL, Mahe MM, Munera J, Howell JC, Sundaram N, Poling HM, *et al.* An *in vivo* model of human small intestine using pluripotent stem cells.

Nat Med 2014; 20(11): 1310-4.

Cell Stem Cell: 多能干细胞衍生GABA能神经元移植缓解癫痫发作

美国McLean医院/哈佛干细胞研究所的科学家研究证明,干细胞治疗可以帮助治疗癫痫病人。研究报告发表在Cell Stem Cell杂志上。

大多数癫痫患者可以用抗惊厥药治疗,但约有三分之一的患者使用无效。以前的研究显示,向癫痫小鼠移植GABA释放细胞可以抑制发作,而用人多能干细胞(hPSC)可以分化为中间神经元(interneuron),意味着干细胞治疗癫痫有临床转化的潜力。

在这项研究中,研究人员证明,从hPSC获得成熟的GABA能中间神经元(mGIN)广泛迁移并整合到癫痫小鼠功能失调的大脑网络。小鼠中半数不再有癫痫发作,同时另一半癫痫发作频率显著下降。

使用光遗传学的方法研究发现,植入的mGIN接收来自宿主海马神经元的兴奋性输入,从而产生抑制反应,逆转引起癫痫发作的电亢进。重要的是,细胞成熟之前,移植的神经元也能够抑制癫痫发作和改善行为异常,如认知缺陷、攻击性、多动等。

这些结果为hPSC衍生的mGIN治疗癫痫提供了有利支持。但如果用于临床,需要确保移植的细胞定向分化完全,没有任何污染。目前,研究小组正在改进分离中间神经元的方法。

Cunningham M, Cho JH, Leung A, Savvidis G, Ahn S, Moon M, *et al.* hPSC-derived maturing GABAergic interneurons ameliorate seizures and abnormal behavior in epileptic mice. Cell Stem Cell 2014; 15(5): 559-73.

Cell Stem Cell: 干细胞衍生多巴胺神经元移植帕金森大鼠安全有效

瑞典Lund大学的科研人员发现, 移植hESC衍生的多巴胺神经元, 可使帕金森氏病模型大鼠恢复运动功能。研究结果公布在近期Cell Stem Cell上。

从hESC产生全功能和可移植的多巴胺神经元的研 究已经取得了很大的进展。但用于临床帕金森病治疗前, 在动物模型中验证其功能特性和功效是非常重要的。在该项研究中, 研究人员对hESC衍生的中脑多巴胺神经元(hESC-DA)在帕金森病大鼠模型中的作用进行了全面的临床前评估。

研究人员将hESC-DA移植到帕金森病大鼠模型控制运动的大脑区域中。使用临床常用的MRI和PET成像技术, 科研人员观察到移植的细胞长期存活, 在5个月内将多巴胺水平恢复正常; 同时观察到大鼠运动功能恢复, 效果媲美人胎儿多巴胺神经元。此外, 研究证明, hESC-DA能延伸足够长的距离, 完全再生中脑-前脑投射, 并支配调整目标结构, 满足人类的临床使用。

该研究给hESC-DA的临床转化提供了有力的临床前支持, 所用方法与建立胎儿细胞治疗帕金森病的类似。

Grealish S, Diguët E, Kirkeby A, Mattsson B, Heuer A, Bramouille Y, *et al.* Human ESC-derived dopamine neurons show similar preclinical efficacy and potency to fetal neurons when grafted in a rat model of Parkinson's disease. *Cell Stem Cell* 2014; 15(5): 653-65.

Stem Cell Reports: Sox2重编程胶质细胞NG2修复成年大脑皮层损伤

德国 Johannes Gutenberg 大学的研究人员发现, Sox2蛋白与Ascl1蛋白促进非神经元胶质细胞NG2在成年小鼠的损伤大脑皮层中转化成为神经元。研究结果在线公布于Stem Cell Reports上。

成年大脑皮层在脑外伤后不能自我修复, 因此将大脑内非神经元诱导转化为神经元是修复损伤的策略之一。Sox2一直被认为可以抑制干细胞分化, 但之前就有研究者发现, Sox2、Ascl1蛋白及其他转录因子可以结合到特殊的DNA上来控制基因的表达, 从而诱导胶质细胞转化为神经元。胶质细胞NG2在大脑皮层的含量非常丰富。

研究人员利用逆转录病毒介导转录因子 Sox2

和Ascl1的表达, 甚至单独Sox2的表达, 就能使受损的成年小鼠大脑皮层中的胶质细胞NG2转化为doublecortin (DCX)+神经元。相反, 在未受损皮层中慢病毒介导Sox2的表达不能将胶质细胞转化为DCX+细胞。诱导得到的神经元形态成熟, 部分在丢失DCX后获得NeuN。Patch-clamp检测发现, 部分细胞能够接受病灶周围的神经元发出的突触输入信号。

此研究首次阐明了胶质细胞NG2的转化机制, 可以利用细胞重编程策略进行皮层神经元修复, 为开发新型疗法治疗神经变性疾病指明了新的方向。

Heinrich C, Bergami M, Gascón S, Lepier A, Viganò F, Dimou L, *et al.* Sox2-mediated conversion of NG2 glia into induced neurons in the injured adult cerebral cortex. *Stem Cell Reports* 2014; doi: 10.1016/j.stemcr.2014.10.007.

Stem Cells Transl Med: 通过磁性纳米粒子进行力学信号传导联合BMP2蛋白刺激骨骼再生

英国基尔大学和诺丁汉大学的研究人员发现, 外层包覆目标蛋白的磁性纳米粒子可以刺激骨骼干细胞的再生。研究结果在线发表于Stem Cells Translational Medicine。

再生医学中的注射治疗是引入治疗性干细胞的微创方法, 能够将药物和生物材料直接送达患处。骨再生过程中, 机械力刺激可以形成和维持功能组织。

此项研究中, 科研人员利用磁场控制纳米粒子产生机械力, 将干细胞直接传送到损伤区域, 研究其对干细胞恢复骨骼功能的影响。同时, 粒子内不断释放骨形态发生蛋白2(bone morphogenetic protein 2, BMP2)刺激细胞生长。磁性纳米粒子会附着在人骨髓间充质干细胞的TREK1 K⁺通道或整合蛋白的RGD结合域。

向软骨形成模型鸡胚股骨(胚胎11 d)中微注射人骨髓间充质干细胞, 25-mT振荡磁场中, 通过纳米粒子接受机械刺激的细胞, 比起未受控制的细胞分布更广泛。成骨组织工程中, 纳米粒子标记的细胞接种在胶原凝胶中, 靶向TREK1诱导信号转导使骨盐沉积增加2.4倍, 基质密度显著增加。在这两种模型中, 机械刺激加上粒子中持续的BMP2释放显著促进骨形成。

这项工作表明, 提供适当的机械力与添加生长因子, 可以改善骨骼生长, 与骨组织工程化骨形成的药物

治疗方法联合应用,推进骨骼再生疗法的临床转化。

Henstock JR, Rotherham M, Rashidi H, Shakesheff KM, El Haj AJ. Remotely activated mechanotransduction via magnetic nanoparticles promotes mineralization synergistically with bone morphogenetic protein 2: Applications for injectable cell therapy. *Stem Cells Transl Med* 2014; 3(11): 1363-74.

Stem Cells: 成体干细胞重建3D肾单位

日本冈山大学和杏林大学的研究人员利用成体干细胞首次成功培养出了类似肾单位的立体管状组织。研究结果在线发表于Stem Cells。

肾的结构、功能复杂,再生研究进展缓慢。肾是从后肾间质(metanephric mesenchyme)和输尿管芽(ureteric bud)两个不同原始组织发育而成。后肾间质发育为肾单位,是组成肾脏结构和功能的基本单位,调节血液中的水份和溶解物质,将身体废物排出,还可以调节血量和血压,控制电解质和代谢,并调节血液的酸碱值。

研究人员从成年实验鼠肾脏内采集了肾干细胞(KS cell),将其细胞团块悬浮于细胞外基质胶,加入5种蛋白促进细胞生长。3周后,形态学检测发现成功重建了肾单位。再建的肾单位包含肾小球、近端肾小管、Henle环、远端肾小管和收集管等亚结构,但不含脉管系统。研究发现,这些肾单位具有部分肾脏的功能。

这是世界上首次利用动物的成体干细胞制作出立体的肾脏结构,这一成果已接近完整的肾单位形态,是人工制作肾脏的第一步。

Kitamura S, Sakurai H, Makino H. Single adult kidney stem/progenitor cells reconstitute 3-dimensional nephron structures in vitro. *Stem Cells* 2014; doi: 10.1002/stem.1891.

Cell Rep: SCNT技术重建端粒酶基因单倍不足的体细胞的端粒酶和多能性

用端粒酶缺陷小鼠的细胞利用体细胞核转移(SCNT)技术制备ESC(ntESC),并发现端粒酶成功延长。这一成果在线发表在Cell Reports杂志上。

端粒酶基因的单倍不足(haplo-insufficiency)会引发严重的人类疾病,比如先天性角化不良(dyskeratosis congenital)和特发性肺间质纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis)。

研究人员利用体细胞核转移(SCNT)技术得到了端粒酶缺陷小鼠的ntESC,测试SCNT技术有效延长模型小鼠端粒的猜想。事实上,端粒酶单倍不足小鼠模型的Terc+/-细胞端粒酶在ntESC中延长。而且,源自Terc+/-细胞的ntESC通过四倍体补偿获得了原始态多能性(naive pluripotency)。

此项研究表明,SCNT技术是改编端粒的重要手段,可以借此重建端粒酶基因的单倍不足的小鼠成体细胞的端粒酶和多能性。

Sung LY, Chang WF, Zhang Q, Liu CC, Liou JY, Chang CC, et al. Telomere elongation and naive pluripotent stem cells achieved from telomerase haplo-insufficient cells by somatic cell nuclear transfer. *Cell Rep* 2014; doi: 10.1016/j.celrep.2014.10.052.

Cell Stem Cell: 用CRISPR/Cas基因编辑技术高效编辑造血干细胞和T细胞

美国哈佛干细胞研究所(HSCI)、麻省总医院(MGH)和波士顿儿童医院(BCH)的研究人员,首次利用CRISPR/Cas技术精确删除人类造血干细胞和T细胞中的致病基因,研究结果公布在近期Cell Stem Cell上。

HIV病毒通过CCR5基因受体进入到T细胞,破坏机体免疫系统。之前一位同时罹患AIDS和白白血病的患者在接受罕见CCR5受体缺失的捐献者采集的骨髓移植后,在6年的时间里体内都没有HIV,被视为有史以来唯一“治愈”的艾滋病患者。

研究小组利用CRISPR/Cas基因编辑技术,敲除了造血干细胞的CCR5,改造后的造血干细胞保留了分化能力,且分化的血细胞缺失CCR5受体。理论上,可通过骨髓移植将基因编辑的造血干细胞导入到HIV患者体内,来抵御HIV。研究人员还用相同方法,敲除了T细胞的B2M基因。

研究人员在6种不同的实验条件下在原代造血干细胞中测试CRISPR/Cas9系统的精确度,发现基因编辑异常的风险实际上为零。同时,预期的CCR5打靶非常得高。这些结果提供了临床前证据,下一阶段的工作是开展动物实验。

Mandal PK, Ferreira LMR, Collins R, Meissner TB, Boutwell CL, Friesen M, et al. Efficient ablation of genes in human hematopoietic stem and effector cells using CRISPR/Cas9. *Cell Stem Cell* 2014; 15(5): 643-52.

朱丽华 整理