

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。

Oncotarget: 抗生素靶向线粒体可消除癌症干细胞

英国曼彻斯特大学的科学家尝试用抗生素消除癌症干细胞,治疗癌症取得进展,有望开辟新的癌症治疗方法。这一研究结果发表在Oncotarget上。

癌症干细胞与所有癌症的生长和复发密切相关,普通治疗方法难以消除。但癌症干细胞也有弱点,其克隆扩增和生存严重依赖线粒体的生物合成(mitochondrial biogenesis)为其提供能量。有趣的是,一些FDA批准的抗生素就有抑制线粒体生物合成的“副作用”,或许可作为抗癌治疗的作用靶标。

研究小组使用5种抗生素,分别是阿奇霉素(azithromycin)、多西环素(doxycycline)、替加环素(tigecycline)、扑蛻灵(pyrvinium pamoate)和氯霉素(chloramphenicol),针对8种不同类型的肿瘤(包括乳腺癌、导管原位癌、卵巢癌、前列腺癌、肺癌、胰腺癌、黑色素瘤和脑胶质瘤)的12个细胞系进行实验,像治疗感染一样,用抗生素治疗癌症。实验发现,这5种抗生素均能有效抑制实验肿瘤细胞系的肿瘤细胞球(tumor-sphere)形成。

在已公布的多西环素和阿奇霉素治疗癌症相关感染的临床试验(NCT01820910和NCT00644176)中,抗生素对癌症患者有积极的治疗效果。例如,肺癌患者中,使用抗生素阿奇霉素,可使患者的生存率从45%提高到75%。这些结果表明,抗生素对癌症的治疗效果很可能不是针对感染,而是预防癌症的复发和转移。并且,这些药品对正常细胞没有毒性,可以减少抗癌治疗的副作用。

该研究证明,抗生素可用于对抗癌症,为开展相关临床试验提供了强有力的证据支持。这些抗生

素已被FDA批准用于临床,对正常细胞损伤很少或者没有损伤,可保证用药安全,只待进一步确认其抗癌疗效,对于加速新的肿瘤治疗方法的开发具有重要意义。

Lamb R, Ozsvari B, Lisanti CL, Tanowitz HB, Howell A, Martinez-Outschoorn UE, *et al.* Antibiotics that target mitochondria effectively eradicate cancer stem cells, across multiple tumor types: Treating cancer like an infectious disease. Oncotarget 2015 [Internet].

<http://www.impactjournals.com/oncotarget/index.php?journal=oncotarget&page=article&op=view&path%5B%5D=3174>

Nat Commun: 利用人类胚胎干细胞培养视网膜组织

日本理化学研究所的研究人员利用人类ESC(embryonic stem cell),首次培养出包括睫状缘在内的立体视网膜组织,为研究视网膜形成机制提供了线索。研究结果公布在近期Nature Communacation上。

在发育中的神经视网膜(neural retina, NR)中,睫状缘(ciliary margin, CM)中的多能干细胞促进视网膜组织的生长。研究小组曾经报告,用3D培养技术可使人ESC自组织分化为NR结构。

此次,研究人员改良了无血清浮游培养法,在胚胎干细胞分化培养初期,向培养液中添加BMP 4(bone morphogenetic protein 4)。在培养至第150 d时,研究人员获得了与胎儿期视网膜大小和形状都非常相似的含睫状缘的立体视网膜组织,且分化效率可达80%。

研究还发现,睫状缘内存在干细胞,如果这种干细胞能发挥增殖功能,就能在试管中形成视网膜。进一步研究发现,抑制GSK3和FGFR可诱导NR组织向RPE(retinal pigment epithelium)转化,取消抑制则可逆转NR-RPE转变。培养得到的NR-RPE复合组织可自组织形成CM干细胞niche,促进NR生长。

这项新技术能稳定、高效地培养立体视网膜组织。救援人员将开展后续研究,希望能够用于治疗视网膜色素变性症等眼疾。

Kuwahara A, Ozone C, Nakano T, Saito K, Eiraku M, Sasai Y. Generation of a ciliary margin-like stem cell niche from self-organizing human retinal tissue. *Nat Commun* 2015; 6: 6286.

Cell Stem Cell: m⁶A甲基化促进细胞重编程

中国科学院动物研究所、中国科学院遗传与发育生物学研究所的科研人员开展合作,整合各自在干细胞、RNA修饰、高通量数据分析方面的研究优势,绘制了小鼠ESC、iPSC、神经干细胞(neural stem cell, NSC)和睾丸支持细胞(Sertoli cells, SC)转录组的m⁶A修饰图谱。研究结果公布在近期*Cell Stem Cell*杂志上。

腺嘌呤第6位氮原子上的甲基化修饰(N⁶-methyladenosine, m⁶A)是高等生物mRNA上含量最为丰富的修饰。m⁶A修饰参与调控mRNA的剪接、运输、稳定性和翻译效率等,但m⁶A修饰是否影响细胞重编程尚属未知。

研究发现, m⁶A修饰区域富集的特征序列具有与重要的调控非编码RNA ¾ microRNA的种子区(5' 2-8 nt) 序列互补配对的偏好性。多层次的细胞与分子生物学实验证明, microRNA可以通过序列互补的方式,引起mRNA相应位点区域m⁶A修饰的产生。提高m⁶A修饰水平可以提高*Oct4*等关键多能性调控基因的表达量,促进小鼠成纤维细胞重编程为iPSC。

该研究成果揭示, MicroRNA调节m⁶A甲基化修饰,促进体细胞重编程为多能性干细胞,在解析m⁶A修饰形成的位点选择机制、拓展microRNA的新功能和发现新的细胞重编程调控因素方面均取得了开创性的重要突破。

Chen T, Hao YJ, Zhang Y, Li MM, Wang M, Han W, *et al.* m⁶A RNA methylation is regulated by micrnas and promotes reprogramming to

pluripotency. *Cell Stem Cell* 2015; 16(3): 289-301.

J Virol: 移植人造血干细胞建立埃博拉病毒小鼠模型

德国汉堡Pette Heinrich研究所的科学家将人造血干细胞移植到小鼠体内,模拟人类感染埃博拉病毒及发病的过程。这一研究成果日前发表在*Journal of Virology*上。

为了详细了解感染埃博拉病毒的症状、病程发展并研发治疗手段,研究人员首先要有合适的实验动物。但是,目前常用的实验小鼠对天然埃博拉病毒不敏感,不适合建模。

研究小组采集人脐带内的造血干细胞,植入实验小鼠体内,重建人体免疫系统。由此培育出的小鼠能感染天然埃博拉病毒,并表现出类似人体感染埃博拉病毒后出现的病毒血症、细胞受损、大出血和高死亡率等特征。研究人员称,这种新型小鼠将促进埃博拉出血热研究和疫情防控。

Lüdtke A, Oestereich L, Ruibal P, Wurr S, Pallasch E, Bockholt S, *et al.* Ebola virus disease in mice transplanted with human hematopoietic stem cells. *J Virol* 2015; doi:10.1128/JVI.03546-14.

Cell Stem Cell: 小分子化合物提高多能干细胞的CRISPR基因编辑效率

美国Gladstone研究所和斯坦福大学的科学家们合作研究,鉴定出能够显著提高CRISPR基因编辑效率的小分子化合物。研究论文发表在*Cell Stem Cell*杂志上。

CRISPR-Cas9系统是新型高效的基因编辑工具,但进行精确的基因编辑效率不高。科研人员采用E14小鼠ESC,转入Cas9、sgNanog和sfGFP,建立了一个荧光指示系统。筛选测试使用ESC是因为其HDR(homology-directed repair)效率高于体细胞,方便基因插入频率的测量。

以此为筛选平台,科研人员进行了化合物的大通量筛选,寻找提高CRISPR/Cas9系统效率的小分子化合物。在4 000多种化合物中,研究人员发现,β₃-肾上腺素受体拮抗剂L755507能够提高HDR效率;而azidothymidine(AZT)和Trifluridine(TFT)则降低HDR效率。

研究人员表示,这些小分子化合物可用于不同

细胞系的基因编辑,方便高效地创建疾病模型。

Yu C, Liu Y, Ma T, Liu K, Xu S, Zhang Y, *et al.* Small molecules enhance CRISPR genome editing in pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 2015; 16(2): 142-7.

Nat Commun: 连续诱导重编程系统揭示基因突变的特质

中国科学院北京基因组研究所、同济大学和中国农业大学的科学家展开合作研究,建立iPSC连续诱导重编程系统,通过二代测序和生物信息分析,确立了基因突变对iPSC发育潜能的影响。相关研究成果发表在Nature Communications上。

重编程过程中,iPSC整合了外源的转录因子,其安全性备受争论,限制了临床应用,为此对iPSC的安全性和遗传风险进行科学评估十分必要。

研究人员通过四倍体囊胚补偿的方法,建立了Tet-on诱导iPS系统,评价iPSC的后代细胞的发育潜能,测定基因变化的影响。连续诱导重编程得到的iPSC,分别发育为all-iPSC小鼠,可以到第6代,但小鼠的活力逐代降低。

研究人员通过基因组测序分析发现,all-iPSC小鼠的活力降低伴随着大量单核苷酸突变的积累,参与心、肾发育的*EP300*、*Ryr2*和*Chd2*基因被破坏,与致死小鼠的组织病理信息一致。

该研究首次利用连续重编程系统,证明重编程过程中产生的单核苷酸突变会影响iPSC的发育潜能,继而影响到all-iPSC的小鼠活力和生物学功能,为后续的iPSC应用提供参考。

Gao S, Zheng C, Chang G, Liu W, Kou X, Tan K, *et al.* Unique features of mutations revealed by sequentially reprogrammed induced pluripotent stem

cells. *Nat Commun* 2015; doi: 10.1038/ncomms7318.

Stem Cell Reports: 利用人iPSC培养透明软骨组织

日本京都大学的Noriyuki Tsumaki教授等人利用人类iPSC成功培育出了软骨,可用于治疗关节软骨损伤,研究在线发表于Stem Cell Reports。

关节处的透明软骨(hyaline cartilage)是由软骨细胞及其分泌物、细胞外基质蛋白包括胶原蛋白II和VI组成,具有吸收冲击的作用,不能再生。年龄增长或受伤导致透明软骨纤维化,关节功能受损,影响日常生活。常用的治疗策略是采集自体软骨细胞,进行扩增,移植回患处。但是,扩增中需要酶消化细胞外基质蛋白,使软骨细胞分泌胶原蛋白I,不可避免地出现纤维组织,影响移植效果。

此项研究中,科研人员在培养基中加入BMP2、TGF- β 1和GDF5,经过6周培养,使iPSC分化为软骨细胞,后续的无支架悬浮培养有利于纯化,产生均一的软骨细胞群。研究人员将软骨细胞移植到免疫缺陷小鼠体内,只产生表达胶原蛋白II而非胶原蛋白I的软骨。在免疫缺陷大鼠和免疫抑制迷你猪的移植实验表明,再生的软骨可以存活,并能够整合到天然软骨中。

此项研究将iPSC成功诱导分化为软骨细胞,向软骨损伤的移植再生治疗迈开了第一步。今后将开展更多研究,为确保临床应用的安全有效积累更多的实验数据。

Yamashita A, Morioka M, Yahara Y, Okada M, Kobayashi T, Kuriyama S, *et al.* Generation of scaffoldless hyaline cartilaginous tissue from human iPSCs. *Stem Cell Reports* 2015; 4(3): 404-18.

朱丽华 整理