

## 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。

**Science: 染色质高级结构的改变驱动人类细胞衰老**

中国科学院生物物理所、北京大学以及美国Salk研究所的科研人员结合多能干细胞定向分化技术、基因组靶向编辑技术、以及表观遗传组分析技术,首次揭示了异染色质解体(heterochromatin disorganization)是人类干细胞衰老的驱动力之一,在线发表在*Science*杂志上。

成年早衰症(Werner Syndrome, WS)是*WRN*基因突变引起的早衰病。*WRN*蛋白发生突变时,破坏DNA的复制和修复以及一些基因的表达,由此引起早衰。患者自青春期开始提前启动衰老程序,引发多种老年病。相关研究对于衰老机制及相关疾病研究具有重要的科学意义。

研究小组用hESC建立了一个人WS细胞模型,*WRN*-null ESC分化为间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)再现了细胞早衰,不仅表现出生长速度减慢、DNA损伤反应加剧和分泌大量炎症因子等衰老指征,而且表现出内层核膜蛋白以及核周异染色质的加速缺失。通过对组蛋白共价修饰、DNA甲基化以及RNA转录本进行全基因组扫描,研究人员发现,WS干细胞的异染色质发生了显著的结构退化性变化,主要表现为着丝粒和端粒附近的H3K9me3“山脉”(mountains)的缺失。

这项研究发现,*WRN*基因突变可导致异染色质解体,指出了*WRN*蛋白在维持异染色质中起重要作用。该研究第一次揭示了突变*WRN*蛋白和异染色质解体的确凿证据。这些发现为逆转细胞衰老奠定了理论基础。

Zhang W, Li J, Suzuki K, Qu J, Wang P, Zhou J, *et al.* A Werner syndrome stem cell model unveils heterochromatin alterations as a driver of human aging. *Science* 2015; doi:

10.1126/science.aaa1356.

**Nucleic Acids Res: Oct4-DNA识别的自我调节机制在干细胞维持和细胞重编程中的作用**

中国科学院上海药物研究所的最新研究揭示了Oct4在调节干细胞多能性及生成iPSC过程中发挥作用的机理。该研究成果于近日在线发表在*Nucleic Acids Res*上。

POU家族转录因子Oct4在调节干细胞多能性及生成iPSC过程中发挥重要作用,然而,其与DNA特异性识别的分子机制尚不清楚。传统观点认为,Oct4与DNA的识别主要依赖其POUs和POU<sub>H</sub>结构域和DNA大沟的结合,忽视了进化中高度保守且富含碱性残基的POU<sub>H</sub>结构域N端RK序列以及连接两个结构域之间Linker序列的贡献。

研究人员综合利用分子模拟和生物实验,揭示了Oct4的RK序列与DNA小沟相互作用在其特异性识别及转录激活过程中的重要性。以此为基础,研究人员进一步发现,Linker结构中的酸性氨基酸可以与RK序列中的碱性氨基酸形成氢键相互作用,通过分子内自调控方式对该识别过程进行更加精细的调控。定点突变破坏分子内氢键作用后,Oct4与DNA的亲合力明显增强,其转录激活及诱导生成iPSC的效率都得到显著提高。

该研究结果不仅揭示了分子内自调控机制在Oct4识别DNA及诱导生成iPSC中的重要性,为进一步阐释Oct4的多能性调控、重编程研究以及再生医疗提供工具。

Kong X, Liu J, Li L, Yue L, Zhang L, Jiang H, *et al.* Functional interplay between the RK motif and linker segment dictates Oct4-DNA recognition. *Nucleic Acids Res* 2015; doi: 10.1093/nar/gkv323.

## **Nature: 筛选药物调节体内干细胞促进髓鞘再生**

最近, 美国Case Western Reserve University医学院的科研人员筛选出两种药物miconazole和clobetasol, 能有效调节体内干细胞促进髓鞘再生, 进行神经修复, 为脱髓鞘疾病的治疗带来希望。相关论文在线发表于Nature上。

多发性硬化症患者的神经系统内, 由于脱髓鞘, 神经信号不能沿轴突正确传输, 神经功能受损。当前大部分研究都是直接移植从干细胞分化培养的组织, 进行替换修复。科研人员想找到一种更快更少入侵性的方法, 用药物激活成人神经系统中已有的干细胞, 指挥它们形成髓磷脂。

研究小组此前开发的技术可以大规模培养小鼠上胚层干细胞来源的少突前体细胞(mouse pluripotent epiblast stem-cell-derived oligodendrocyte progenitor cells), 以此为平台筛选活性小分子化合物。体外试验中, 7个化合物低浓度下就可促进产生成熟的少突细胞(oligodendrocytes), 其中2种化合物可以在脑切片培养和新生小鼠体内, 促进髓鞘形成。对脱髓鞘模型小鼠, 这两种药物全身给药可显著增加新生少突细胞的数量, 提高髓鞘再生。慢性MS模型小鼠病重时, 给予这两种药可以显著逆转病情。免疫应答测试说明, miconazole不影响免疫系统, 直接发挥髓鞘再生的作用; 而clobetasol既是高效的免疫抑制剂, 也是髓鞘再生药。

机理研究表明, miconazole和clobetasol分别通过MAPK和糖皮质激素(glucocorticoid)受体通路, 作用于少突前体细胞。而且, 这两种药物都能帮助人少突前体细胞形成成熟的少突细胞, 或许能在人体临床实验中也有效果。

研究人员计划深入研究药物的作用机制, 优化化合物结构, 推进对多发性硬化症的临床实验。

Najm FJ, Madhavan M, Zaremba A, Shick E, Karl RT, Factor DC, *et al.* Drug-based modulation of endogenous stem cells promotes functional remyelination *in vivo*. Nature 2015; doi:10.1038/nature14335.

## **Proc Natl Acad Sci USA: 发现更高潜能的多能干细胞**

美国密苏里大学的研究人员在培育胎盘细胞的过程中, 偶然发现了新型人类胚胎干细胞, 具有

更多的分化潜能。研究结果发表在近期*Proc Natl Acad Sci USA*上。

多能干细胞包括ESC和iPSC, 在形成拟胚体或培养基中添加BMP4及其同族蛋白时形成胚外滋养层, 其中机理尚未明确。研究小组试图利用胚胎干细胞培育出胎盘细胞的实验中, 控制了添加BMP4的时间为24~36 h; 还另外添加了A83-01和PD173074, 抑制与干细胞分化状态相关的ACTIVIN信号通路和FGF2, 形成很多细胞克隆, 并能在标准的多能干细胞培养基中生长。这些干细胞能自我更新, CDX2表达弱, NANOG表达强, 外观与多能干细胞不同, 但符合体外多能性的标准, 能在免疫缺陷小鼠内形成畸胎瘤, 能在宿主小鼠体内分泌人绒毛膜促性腺激素(hCG)。其转录组也不同于多能干细胞, NANOG、LEFTY1和LEFTY2表达高。在缺乏FGF2的培养基中, 这些细胞克隆自发地多向分化, 包括分化为滋养层细胞。

研究发现, 与传统干细胞相比, 这些干细胞更容易在实验室中操作, 因为它们更容易培养, 特性也更加一致, 可以大规模培养用于研究及临床转化。在此之前, 普遍认为胚胎干细胞是直接由干细胞状态过渡到最终分化的细胞形态的。新研究使我们认识到, 胚胎干细胞存在许多不同的过渡状态, 可能与早期胚胎中的情况很类似。这为将来更有效率的干细胞研究打开了大门。

Yang Y, Adachi K, Sheridan MA, Alexenko AP, Schust DJ, Schulz LC, *et al.* Heightened potency of human pluripotent stem cell lines created by transient BMP4 exposure. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; doi: 10.1073/pnas.1504778112.

## **Nat Commun: Wip1缺陷通过p53和mTORC1通路损伤造血干细胞功能**

日前, 杭州师范大学的一项研究揭示了造血干细胞(haematopoietic stem cell, HSC)衰老的一个重要机制。相关论文发表在*Nat Commun*杂志上。

研究发现, HSC的衰老会直接影响免疫系统的功能, 但其具体衰老机制尚不清楚。Wip1(野生型p53诱导的蛋白磷酸酶1)能对一些肿瘤抑制子和DNA损伤应答通路进行负调控。但人们还不了解Wip1对HSC内稳态和衰老的影响。

研究显示, Wip1在HSC中高水平表达, 并随着年龄增加而减少。Wip1<sup>-/-</sup>小鼠在多个层面上表现出

HSC的衰老, 比如HSC池增大, 再生活性受损。删除p53可以挽救*Wip1*<sup>-/-</sup> HSC的再生缺陷, 同时不影响细胞衰老或凋亡。这说明Wip1-p53通路能够调控HSC的分化, 而且不依赖传统的p53通路。不过, 删除p53不会影响Wip1缺陷型小鼠HSC池的大小。进一步研究表明, Wip1缺陷型小鼠的HSC池扩大是由mTORC1介导的。

这项研究为人们展示了一个重要的干细胞衰老机制, p53和mTORC1通路对HSC衰老的不同影响受到Wip1的控制。

Chen Z, Yi W, Morita Y, Wang H, Cong Y, Liu J-P, *et al.* Wip1 deficiency impairs haematopoietic stem cell function via p53 and mTORC1 pathways. *Nat Commun* 2015; doi: 10.1038/ncomms7808.

### ***J Mater Chem B*: 化学固定的自体滋养层细胞支持iPSC生长**

美国德克萨斯大学El Paso分校和日本理化学研究所(RIKEN)合作进行的研究中, 成功地利用化学固定的滋养层细胞来培养干细胞。目前常用的滋养层细胞, 对于干细胞生长来说, 可能根本并不重要。相关研究结果发表在*J Mater Chem B*期刊上。

干细胞是很难维持和培养, 很容易分化, 因此科研人员将其放在滋养层细胞上附着培养, 认为饲

养细胞作为一种支持系统给干细胞提供必需的营养物。

为了调查滋养层细胞在干细胞培养中的作用, 研究小组按照标准培养程序, 制备了人真皮成纤维细胞, 戊二醛或甲醛固定, 使细胞层的拓扑结构稳定。去除固定剂之后, 把人类诱导多能干细胞(hiPSC)分层堆放在死亡的滋养层细胞上。

他们发现, hiPSC不仅粘附并生长为健康的培养集落, 而且持续表达多能性标志, 如碱性磷酸酶(alkaline phosphatase)、Oct-3/4和SSEA-4(stage-specific embryonic antigen-4), 表明干细胞分化被阻断。这些细胞也能形成具有三胚层的畸胎瘤。

因为固定、死亡的滋养层细胞不能提供营养, 研究人员认为, 滋养细胞层的拓扑结构, 而非其提供的营养, 在干细胞培养中发挥重要作用。

研究人员计划用纳米技术模仿滋养层细胞的微毫米拓扑(nanotopology)用于干细胞培养, 可以降低成本、劳动力, 并简化干细胞培养技术。

Joddar B, Nishioka C, Takahashi E, Ito Y. Chemically fixed autologous feeder cell-derived niche for human induced pluripotent stem cell culture. *J Mater Chem B* 2015; 3(11): 2301-7.

朱丽华 整理