

## 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 Res: BrdU与小分子化合物组合实现全化学诱导iPSC**

中国科学院上海药物研究所谢欣研究组研究发现,实验室常用的生物学试剂BrdU(bromodeoxyuridine)可以提高体细胞重编程效率。相关论文在线发表于近期的*Cell Res*上。

研究显示,小分子化合物对转录因子诱导的iPSC产生具有良好的促进作用,但是全化学诱导iPSC已经被证明极其困难。谢欣研究组建立了筛选可促进iPSC产生的小分子化合物的体系,并陆续报道了LiCl、高渗条件及VEGF受体抑制剂等可以提高因子介导的iPSC产生。

此项研究中, BrdU处理组可观察到40个阳性克隆,而对照组仅2个。BrdU可以提高OKSM因子诱导的重编程效率,主要作用于重编程早期,转染后3~7 d连续处理效果最佳。而且, BrdU可以加快重编程进程。

更有意思的是, BrdU可以替代Yamanaka因子中最重要的Oct4, 与其他转录因子诱导iPSC产生。进一步研究显示, BrdU可以小分子化合物组合实现全化学诱导iPSC, 最小组合为: BrdU、CHIR99021、Repsox和Forskolin。这些全化学诱导产生的iPSC具有胚胎干细胞的特征, 在体内外具有自我更新及分化能力, 并能成功产生嵌合小鼠。基因突变实验证实, 在重编程所使用的浓度下, BrdU并不会导致基因突变及基因组的不稳定。

BrdU参与体细胞重编程的机制有待进一步研究, 但全化学诱导条件的发现及优化将有利于iPSC的临床应用。

Long Y, Wang M, Gu H, Xie X. Bromodeoxyuridine promotes full-chemical induction of mouse pluripotent stem cells. *Cell Res* 2015; doi: 10.1038/cr.2015.96.

**Cell Stem Cell: 单细胞RNA测序联合Waterfall技术揭示成体神经发生的分子级联反应**

美国约翰霍普金斯大学的科学家结合单细胞RNA测序(single-cell RNA-sequencing, SCRS)和Waterfall生物信息学流程, 揭示出了成体神经发生的分子级联反应。这项研究发布在近期的*Cell Stem Cell*杂志上。

成体神经发生是神经科学领域中的重要研究方向之一, 但由于成体神经干细胞数量稀少、环境复杂, 对成体神经细胞行为进行系统的分子分析仍是一个巨大的挑战。单细胞RNA测序是分析单个细胞或微量RNA中基因组表达的一个强有力的技术。

在这项研究中, 研究人员采用SCRS获得了成体海马静息神经干细胞(qNSC)和它们的直接后代细胞丰富的单细胞转录组资源; 此外, 利用Waterfall生物信息学流程, 沿着重新建立的连续的发育轨迹统计量化单细胞基因表达, 科研人员发现了成体qNSC具有积极的微环境信号整合能力, 但其蛋白质翻译能力较低。分析结果进一步描绘出了qNSC激活及启动神经发生潜在的分子级联反应, 比如外部信号传导能力下降及翻译能力提高、预处理的翻译机器、转录因子的调控开关、代谢及能量来源。

新研究揭示出了成体神经发生潜在的分子级联反应, 并演示了如何利用Waterfall来对各种连续的生物学过程进行单细胞组学分析。

Shin J, Berg DA, Zhu Y, Shin JY, Song J, Bonaguidi MA, *et al.* Single-cell RNA-Seq with Waterfall reveals molecular cascades underlying adult neurogenesis. *Cell Stem Cell* 2015; 17(3): 360-72.

**Cell Stem Cell: iPSC分化的各类细胞免疫原性有差异**

近日, 美国加州大学圣地亚哥分校的研究人员

发现,由iPSC分化得到的不同类型细胞在免疫排斥方面具有不同的命运,由iPSC分化形成的视网膜色素上皮(retinal pigment epithelial, RPE)细胞不会被免疫系统所排斥。这项研究为应用人类干细胞疗法治疗黄斑退化提供了新的希望,研究结果发表在*Cell Stem Cell*上。

免疫排斥反应是阻碍iPSC进行再生治疗的障碍之一,即使是自体iPSC分化得到的细胞,一些异常的基因表达也会导致免疫系统对iPSC分化所得细胞产生排斥反应。

研究人员利用人类iPSC分化得到不同种类的细胞,利用人源化小鼠模型(Hu-mice)检测免疫系统对不同细胞类型的免疫应答情况。研究发现,大多数iPSC形成的畸胎瘤出现免疫排斥反应,如抗原特异性T细胞的局部渗漏和组织坏死。其中,平滑肌细胞具有最高的免疫原性,会受到免疫系统的强烈排斥,而RPE细胞则会被免疫系统所耐受,即使是移植到眼部以外的身体其他部位也不发生排斥。进一步研究发现,平滑肌细胞表面异常表达具有免疫原性的抗原,导致免疫排斥反应发生,而视网膜色素上皮细胞表面则没有这种抗原。

这项研究利用人源化小鼠模型对iPSC分化得到的不同类型细胞进行免疫排斥反应检测,证明iPSC分化的RPE细胞不会受到免疫系统排斥,为黄斑变性疾病的干细胞疗法带来了新的希望。

Zhao T, Zhang Z, Westenskow PD, Todorova D, Hu Z, Lin T, *et al.* Humanized mice reveal differential immunogenicity of cells derived from autologous induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 2015; 17(3): 353-9.

### **Nat Cell Biol:** 日本研究实验成功利用ES细胞制造出“胃”

日本产业技术综合研究所等团队利用小鼠胚胎干细胞成功制造了大小约为3 mm的“胃”。该研究成果发表在近期的*Nat Cell Biol*上。

利用多能干细胞分化技术,科研人员已经成功获得了内胚层细胞,如:肝细胞、 $\beta$ 细胞和肠道细胞。但是,用多能干细胞进行胃细胞的定向分化还是一个挑战。

科研人员建立了一个诱导胃部特异性间质*Barx1*基因的方法,模拟体内环境尝试将小鼠胚胎干

细胞分化为胃。首先需要形成拟胚体,然后在无血清培养条件下贴壁培养,16 d即可观察到类似肠道的结构,qPCR检测表明肠道特异性因子表达升高。如果在第6 d加入SHH、DKK1和NOGGIN组合因子,则诱导胃的定向分化,第19 d形成胃的原基结构细胞团(primordium-like spheroids),22 d分化为上皮组织,进一步采用3D培养得到成熟的胃组织。该组织内部存在胃里特有的胃酸和可以分泌消化酶的细胞。

这是科学家首次成功制造出能够产生胃酸细胞的“胃”,能够为胃的相关研究提供一个极好的实验平台。

Noguchi TK, Ninomiya N, Sekine M, Komazaki S, Wang PC, Asashima M, *et al.* Generation of stomach tissue from mouse embryonic stem cells. *Nat Cell Biol* 2015; 17(8): 984-93.

### **Cell:** 门静脉周围的混合肝细胞再生受损肝组织无肿瘤发生

美国加州大学的研究人员发现一种混合肝细胞(hybrid hepatocytes, HybHP)能够使肝组织再生且不引起癌症。这项研究发表在近期的*Cell*上。

肝脏受损时引发的补偿性肝细胞增殖是肝脏再生的必要条件,但也可能引发肝癌。但是对引起肝细胞修复或肝癌发生的细胞的研究还不多。

研究人员利用四氯化碳造成慢性肝损伤,追踪负责补充损伤肝细胞的细胞。研究发现,健康肝脏的门脉三连管(portal triads)处有一群肝细胞,表达少量的Sox9和其他胆管特异性基因。在慢性肝损伤发生后,这些肝细胞会全面增殖、修复肝组织。尽管这些细胞有很强的再生潜能,但其性质比起干细胞,更类似于正常肝细胞,因此将其称为混合肝细胞。为了测试混合肝细胞的安全性,研究人员检查了患肝癌的三种不同的小鼠模型,没有发现混合肝细胞引起肿瘤的任何迹象。

多能干细胞会增加肿瘤发生的风险,而此项研究中发现的混合干细胞在修复肝损伤的同时不引发肝癌,将来或许可以用做种子细胞治疗各类肝损伤疾病。

Font-Burgada J, Shalapour S, Ramaswamy S, Hsueh B, Rossell D, Umemura A, *et al.* Hybrid periportal hepatocytes regenerate the injured liver without

giving rise to cancer. *Cell* 2015; 162(4): 766-79.

### **Cell Stem Cell: 小分子化合物直接将小鼠成纤维细胞重编程为功能性神经元**

北京大学生命科学学院邓宏魁与柴真课题组使用小分子化合物直接诱导小鼠成纤维细胞重编程获得功能神经元, 相关研究成果刊登在近期的*Cell Stem Cell*上。

2013年, 邓宏魁研究组使用纯化学方法, 成功将小鼠体细胞诱导成为“多潜能性”细胞。使用化学方法诱导体细胞重编程, 摆脱了以往的重编程方法对遗传操纵的依赖, 为再生医学开辟了一条新途径。

在新的研究中, 研究人员则筛选了5 000多种小分子化合物, 发现一组全新的小分子化合物组合FICS(Forskolin、ISX9、CHIR99021和SB431542)直接将小鼠成纤维细胞重编程成为了功能神经元。整个诱导过程不经历中间增殖过程。这些化学诱导的功能神经元表达神经元特异的蛋白, 能够激发出完整的动作电位, 并能和原代神经元形成功能突触联系, 表现出较为成熟的功能特性, 并主要特化为谷氨酸能神经元亚型。而在神经元分化关键基因*Ascl1*存在情况下, FICS组合重编程获得CiN细胞的效率提高十倍以上。

进一步研究发现, FICS主要激活了内源的神经营运决定转录因子*Ngn2*和*NeuroD1*, 并且抑制了成纤维细胞固有的核心转录调控网络, 从而最终实现了细胞命运的转变。

该研究证明了使用化学方法诱导细胞命运转变的可行性, 有助于研究体细胞命运的可塑性, 为化学诱导方法广泛应用于体细胞重编程和再生医学奠定了基础。

Li X, Zuo X, Jing J, Ma Y, Wang J, Liu D, *et al.* Small-molecule-driven direct reprogramming of mouse fibroblasts into functional neurons. *Cell Stem Cell* 2015; 17(2): 195-203.

### **Stem Cell Rep: iPSC结合iC9-CID防护系统分化为T细胞治疗癌症**

日本东京大学教授中内启光等人利用iPSC技术治疗癌症的实验在小白鼠身上取得成功。研究人员将iPSC培养出的T细胞注入小白鼠体内, 恢复其免疫功能, 进而攻击癌细胞使之变小。相关研究在线发表于*Stem Cell Rep*上。

正常机体内, 免疫细胞会攻击体内产生癌变的细胞, 但是, 癌变细胞在某些情况下能通过多种机制逃避机体的免疫监视, 免疫细胞的作用被削弱, 癌症由此形成。之前, 研究人员将来自HIV患者iPSC分化为细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL), 发现其恢复了对EBV诱导产生的癌细胞的体内杀伤活性, 因此将其称为“恢复活力的”CTL(rejCTL)。

此项研究中, 科研人员在培养iPSC的过程中引入自杀基因caspase-9(iC9), 可用一种特异的二聚化化学诱导剂(chemical inducer of dimerization, CID)将其激活并开启caspase级联诱导细胞凋亡。iC9-iPSC及其衍生的CTL在注射到小鼠体内, 经激活后可完全凋亡消除, 避免恶变的发生。iC9-CID可作为临床iPSC细胞治疗中的防护系统, 而且iC9的引入既不影响iPSC向CTL的分化, 也不影响CTL的活性。

研究结果显示, 经过改造的reCTL在输入小鼠体内后充分发挥作用, 使癌细胞缩小到了原来的二十分之一左右。而对照小鼠的癌细胞扩大到了原来的十倍。

此项研究证实, 经过iPSC技术重分化后, 免疫细胞CTL恢复攻击能力。研究小组正在努力将基于这一原理的癌症免疫疗法实际投入使用。

Ando M, Nishimura T, Yamazaki S, Yamaguchi T, Kawana-Tachikawa A, Hayama T, *et al.* A safeguard system for induced pluripotent stem cell-derived rejuvenated T cell therapy. *Stem Cell Rep* 2015; doi: 10.1016/j.stemcr.2015.07.011.