

# 干细胞研究现状及发展前景

纵观当今生物医学研究，干细胞研究无疑是最热门的领域。1998年，来自威斯康辛大学的 Thomson JA 等人在 *science* 杂志上报道首次成功建立了人胚胎干细胞系。由于人胚胎干细胞系可以分化成人体任何一种细胞（包括神经、心肌、造血、肝脏、胰腺等细胞）并应用于移植，为多种困扰人类的疾病提供了全新疗法，因此，该研究立即引起科学界巨大轰动，开创了干细胞研究的全球浪潮。2006年，日本京都大学教授山中伸弥（Shinya Yamanaka）等人在 *Cell* 杂志上报道通过转染四种转录因子（*Oct4*, *Sox2*, *Klf4* 和 *C-Myc*）将小鼠成纤维细胞重编程为诱导多能性干细胞（induced pluripotent stem cells, iPS cells）。由于该方法解决了传统方法建立病人特异多能干细胞的致命缺点（效率低，需要大量卵细胞；建立胚胎干细胞系需要破坏胚胎，引起道德伦理争议；目前尚无人核移植多能干细胞建系的成功报道），因此，该研究立即在全球掀起 iPS 研究的浪潮，使该领域称为热门中的热门。2009年，奥巴马上台后宣布废除对胚胎干细胞研究的禁令，该项措施极大推动了美国的干细胞研究。总之，干细胞研究是当前最热门、进展最快、最振奋人心的领域。顺应国际形势，在政府大力支持和广大科研人员努力攻关下，我国的干细胞研究发展迅速。下面就各个领域展开综述。

目前科学界公认的干细胞的定义是：干细胞（stem cells）是这样一类细胞，它们可以自我更新（self-renew），即通过细胞分裂产生的两个子细胞中至少有一个仍是干细胞；同时它们在特定的条件下可以分化成不同类型的功能细胞，与之相关的一个衡量标准是可以形成有功能的器官或整个个体。

20世纪初就有科学家提出“干细胞”这个概念，然而直到1963年，加拿大研究员 Ernest A. McCulloch 和 James E. Till 才首次通过实验证实干细胞的存在。他们发现小鼠的骨髓细胞中存在可以重建整个造血系统的细胞，即造血干细胞。经过近五十年的研究，造血干细胞是目前研究最清楚的干细胞，为干细胞其他领域的研究提供了许多指导性意见。迄今为止，人类陆续在其他器官中发现成体干细胞（adult stem cells），如小肠、皮肤等。

## 1 造血干细胞研究现状

### 1.1 利用实验鼠的 iPS 细胞高效制造造血干细胞技术

日本研究人员日前宣布，他们开发出了利用实验鼠的诱导多功能干细胞（iPS 细胞）高效制造造血干细胞的技术。医生未来在治疗白血病时，有望利用这种技术制造大量造血干细胞，从而代替骨髓移植。

造血干细胞位于骨髓中，可以分化为红细胞和白细胞。东京都临床医学综合研究所与大阪大学的研究人员利用 iPS 细胞先制作出了中胚层细胞。这种细胞可以发育为血管和肌肉等组织。随后研究人员向中胚层细胞植入 Lhx2 基因，最终生成了大量的造血干细胞。

研究人员接下来用放射线照射实验鼠，使其失去造血功能，再将用上述方法得到的造血干细胞移植到一部分实验鼠体内。结果显示，和没有接受造血干细胞移植的实验鼠相比，接受移植的实验鼠寿命大幅延长，生存了4个月。

研究人员指出，此前利用 iPS 细胞培养造血干细胞时，难以单纯生成造血干细胞，还会混杂其他细胞，而这次开发出的新技术使造血干细胞的生成效率达到了原有方法的四五倍。

目前在对白血病患者进行治疗时，主要是移植与患者血液类型接近的正常人骨髓，以利用其中的造血干细胞，帮助患者恢复。研究人员希望在确认安全性后，将这种新技术用于人类的白血病治疗。

## 1.2 Nrf2 和 Keap1 基因具有调控干细胞功能的作用

人体具有非凡的自愈能力，机体内存在的专用干细胞确保许多器官可不断地进行自我更新。当某一器官受到损伤时，器官内的干细胞即被激活生成新细胞促使器官组织再生。然而在机体内这种干细胞活性却受到了严格地调控，因为过度的干细胞活性也可能导致疾病发生比如癌症。当前科学家们纷纷将干细胞生物学的研究转向揭示维持有效再生和适当干细胞功能之间平衡的调控机制。值得注意的是越来越多的数据表明氧化应激在这一调控中发挥了核心作用。

近日罗切斯特大学的研究人员在新研究中发现了一个调控干细胞氧化应激的基因开关，证实它具有调控干细胞功能的作用。相关研究成果发表在最新一期的《细胞干细胞》(*Cell Stem Cell*) 杂志上。

这一研究工作是由罗切斯特大学的生物学家 Heinrich Jasper、Christine Hochmuth、Benoit Biteau 以及罗切斯特大学医学中心遗传学家 Dirk Bohmann 共同完成的。科学家们在果蝇肠干细胞中研究了 Nrf2 和 Keap1 基因的功能。过去的研究表明 Nrf2 和 Keap1 是细胞氧化应激反应中的重要调控因子。在新研究中，研究人员惊讶地发现不同其他的细胞类型，干细胞中的 Nrf2 甚至在缺乏压力的情况下仍可保持活性。这一研究发现表明 Nrf2 有可能在干细胞功能调控中发挥了不同寻常的作用。

在进一步的试验中，研究人员证实 Nrf2 具有抑制干细胞分裂的作用。而当果蝇肠道受到损伤时，受损细胞分泌信号蛋白激活干细胞。负调控因子 Keap1 在此时抑制干细胞中 Nrf2 的功能从而促使干细胞分裂，肠道组织再生。

此外，研究人员还发现 Nrf2 对干细胞活性的调控作用受到这些细胞中活性氧簇 (ROS) 水平的影响。活性氧簇是一类自然存在于细胞中的高活性反应分子，当其浓度显著增高时可损伤细胞结构。研究人员发现只有当 ROS 水平增高时，肠道干细胞才会发生分裂。Nrf2 可通过降低细胞中 ROS 的水平从而抑制肠道干细胞增殖。当研究人员利用 Keap1 抑制 Nrf2 时，观察到 ROS 水平增高，干细胞分裂，并启动再生。从而表明这一基因开关在肠道干细胞活性调控中发挥了关键性

的压力感受器作用。相一致地，研究人员还证实当 Nrf2 功能受到破坏时，由于干细胞过度生成新细胞导致了果蝇肠道的退化。

Jasper 期望其他的科学家们一同开展研究以确定在一些小脊椎动物和人类中是否存在相同的干细胞调控机制。“如果情况确是如此，这些研究发现或将推动开发出新的治疗方法。科学家们亦可最终了解到如何通过控制干细胞的功能安全地置换人类受损组织。” Jasper 说。

现在罗切斯特大学的研究人员正在致力于解析隐藏在 Keap1 和 Nrf2 活性下的相关过程。“例如 Keap1 是如何获得来自损伤组织的信号的？” Jasper 说道：“我们正致力去了解 Keap1 激活前后上游以及下游发生的事件。”

## 2 干细胞与肝细胞的研究

### 2.1 来自胎儿皮肤细胞的 iPSc 和 ESc 可生成肝细胞

由于缺少移植器官，目前，慢性肝病患者得不到足够的治疗。不过，来自于诱导多能干细胞 (iPSc) 的肝细胞今后将是一个不错的选择。柏林马克斯普朗克分子遗传学研究所的科学家将来自 iPSc 和来自胚胎干细胞 (ESc) 的肝细胞相比较，发现两者的基因表达上非常类似。

然而，与“真正”的肝细胞比较，仅有不到一半的基因显示出不同的基因表达。因此，来自于 iPSc 的肝细胞的基因表达在应用于肝脏疾病治疗前，仍然需要调整。

该研究发表在 2010 年 12 月 20 日的《干细胞与发展》上 (*Stem Cells and Development*)。iPSc 来自于不同的细胞类型，与其祖细胞有相同的基因来源。来自于 iPSc 的肝细胞可作为今后再生医学方面的一个理想出发点，并可避免细胞免疫排斥的问题。

通过早期和后期阶段比较，马克斯普朗克学院贾斯坦称，这是唯一确定细胞类型间实际差异的方法，在“合成”肝细胞中仍然存在缺陷。研究表明基于 ESc 和 iPSc 的肝细胞基因表达有 80% 的相似性。而来自胎儿肝脏的分离细胞基因表达的匹配率只有 53%。

来自于 iPSc 与 ESc 的类肝细胞激活了许多特殊的肝脏蛋白质，比如白蛋白， $\alpha$ -胎儿蛋白及细胞角蛋白 18。然而，“合成”肝细胞可以存储肝糖，并产生豚和“真正”的肝细胞发挥相同的功能。此外，他们能够吸收和破坏异分子。与此相反，在诱导多能干细胞和真正的肝细胞中，围绕酶群的细胞色素 P450 的基因显示不同的基因表达水平。这些酶在药物和外来物质中进行新陈代谢。

这不仅帮助我们更好地理解肝脏疾病的病因，也有助于对病人更有效的药物的开发。

## 2.2 利用肝病患者的皮肤细胞成功培育出肝脏细胞

2009年8月25日，英国剑桥大学发布公报说，该校研究人员成功利用肝病患者的皮肤细胞培育出肝脏细胞，这样得到的肝脏细胞与病人肝脏中的细胞高度相似，将有助于对特定肝病患者进行研究并开展治疗。

公报说，研究人员从7名有遗传性肝脏疾病的患者身上提取了皮肤细胞，先将其改变为诱导多功能干细胞，然后培育成肝脏细胞。诱导多功能干细胞技术是2007年日美科学家的一项重大研究成果，它可以对皮肤细胞进行改造，使其具有与干细胞相似的功能。

本次研究显示，利用这种方法得到的肝脏细胞在生理特征上与病人肝脏中的细胞高度相似，因此可用于试验各种药物，验之有效后再对病人进行治疗。

## 3 神经干细胞的研究现状

### 3.1 特殊化合物能促进神经干细胞定向分化

神经干细胞分化调控分子机制以及影响神经干细胞命运外在因素的研究对于神经发育、组织再生、神经系统退行性疾病以及脑肿瘤的发生发展和治疗都有非常重要的意义。虽然目前对神经干细胞增殖分化调控的研究很多，但是迄今为止，有关小分子化合物调控神经元增殖和定向分化的报道非常少。

AICAR 是一个 AMP 类似物，广泛的用作细胞水平激活 AMPK 的工具化合物。目前对其的研究主要集中在代谢调节方面，而其绝大多数的作用都是通过激活单磷酸腺苷激活蛋白激酶（AMPK）而发挥的。AMPK 作为细胞中的“燃料开关”在动物抵御和适应环境应激的过程中起着重要作用。

该研究首次发现小分子化合物 AICAR 对于生化神经干细胞 C17.2 及来源于不同发展时期及不同部位来源的神经干细胞（P0-NSCs 及 E14-NSCs）均有明显的诱导分化作用。通过对神经元、胶质细胞等标志性蛋白的鉴定，明确了 AICAR 能定向诱导神经干细胞分化为星形胶质细胞。有意思的是 AMPK 的另一个传统激活剂二甲双胍却没有这个促分化的作用。而过表达功能缺失性 AMPK 等方式也不能逆转 AICAR 的促胶质细胞定向分化作用。研究中，还首次发现了 AICAR 能激活与神经干细胞向胶质细胞分化密切相关的 JAK-STAT 信号通路，Metformin 则无法激活该通路，JAK 特异性抑制剂可完全逆转 AICAR 的促分化作用。这些结果表明，AICAR 的定向诱导神经干细胞分化为胶质细胞的作用可能并不依赖于其传统胞内靶点 AMPK 信号通路，而有可能是通过激活 JAK-STAT3 信号通路而起作用的。

以上结果已在《生物化学杂志》（*J. Biol. Chem.*）杂志上发表，为定向诱导神经干细胞分化小分子诱导剂的发现及神经胶质细胞分化机制研究提供了线索。

### 3.2 利用神经干细胞修复脑损伤

我国科研人员在神经干细胞研究领域取得重要进展，由复旦大学脑科学研究院杨振纲副教授领衔的课题组通过大鼠实验，发现了神经干细胞在神经再生中的独特行为方式。这一结果提示，神经干细胞移植需要进行干预，才能起到有效治疗脑部疾病的作用，从而为神经干细胞用于脑损伤修复指明了新的道路。

这一研究成果 4 月 23 日发表在国际知名学术期刊《神经科学杂志》上，并被选为亮点文章重点介绍。

科学研究已经证实，人脑内终生都有神经干细胞，在脑内能够不断产生新的神经元，但是遗憾的是，受损伤的人脑并不能因此成功自我修复。主流观点认为，这是因为脑内神经干细胞的数量太少，因此，全世界众多科研人员大多聚焦于想方设法地扩增神经干细胞的数量。

复旦大学脑科学研究院的科研人员利用脑中风的大鼠模型，发现极易受损伤的脑区是脑部纹状体，纹状体内 90% 以上的神经元都是投射神经元，它们“个头”中等，浑身上下长满了“刺”，而研究发现大鼠脑部自身的神经干细胞产生的新生神经元“个头”很小，身上几乎没有“刺”，不能满足修复纹状体的要求。

研究领衔者、复旦大学脑科学研究院神经干细胞和神经发育研究组组长杨振纲副教授指出：不论是胚胎时期还是成年后，脑部神经干细胞都只能产生一定种类的神经元。大脑内有近 1000 亿个神经元，其中分为近 1 万种不同类型，神经干细胞在胚胎发育时就已经分工明确，在成人脑内找不到一种能分化出所有类型神经元的“全能干细胞”。

在这一研究的基础上，未来科学家将有望利用各种遗传学干预手段，去诱导人脑部神经干细胞分化出特定功能的神经元，治疗阿尔茨海默病、帕金森病等多种神经退行性疾病。据悉，相关探索已经在复旦大学脑科学研究院神经干细胞和神经发育研究组展开，并获得了教育部和国家自然科学基金委的课题资助。

### 3.3 脑癌源于脑下室区的神经干细胞

美国密歇根大学的一个研究小组发现，脑癌与大脑神经干细胞中的肿瘤抑制基因 p53 缺陷有关。此项发现将有助于找到更好的预防和治疗脑癌的方法。该研究成果刊发在 2009 年 6 月 2 日出版的《癌细胞》杂志上。

研究文章称，研究人员首次发现，恶性胶质瘤可能源于位于在脑下室区(SVZ)的神经干细胞；在试验小鼠身上，神经干细胞巢内的干细胞会制造很多具有专门用途的神经细胞并释放出去。而肿瘤抑制基因 p53 的突变使得神经干细胞和它制造的神经细胞一样出现转移，从而诱发脑瘤。

恶性胶质瘤，也称为多形性胶质母细胞瘤，是一种非常难以治疗的癌症。目前几乎所有的治疗方法，包括手术、放疗和化疗，都不太有效，其死亡率在 20 多年来一直未有改观。科学家最近发现，某些基因和细胞的作用途径在恶性胶质瘤中被改变，其中最关键的变化就包括 p53 基因突变。但科学家一直不知道是什么类型细胞的 p53 缺陷促成脑细胞发生癌变。

密歇根大学医学院的副教授朱原（音译）博士带领的研究小组采用中枢神经系统具有 p53 变异的小鼠进行了一系列试验。他们发现，这些小鼠中大多数得了恶性脑肿瘤，肿瘤细胞中都出现了 p53 变异。该发现将有助于对恶性胶质瘤进行及时有效的早期筛查，表明变异 p53 可作为一个有用的标记，在各种阶段跟踪神经胶质瘤细胞。而在发病早期检测到疾病，无疑会提高治疗的成功几率。这个发现也会有助于改善治疗手段，降低此种癌症患者的死亡率。如果人类的恶性胶质瘤同小鼠一样源于脑下室区的神经干细胞，就必须在早期的诊断和治疗阶段更多地关注干细胞巢，如同对待肿瘤一样对待它，进行有针对性的直接治疗，以消除癌症源并防止它死灰复燃。

研究结果表明，老鼠大脑的神经干细胞具有较高的积累遗传病变的潜力，并成为癌细胞的攻击标靶。从某种程度上讲，癌症细胞在早期阶段与正常的干细胞并没有太大的差别，但它非正常地结合了神经干细胞（自我更新）和专业子代（转移）的关键特征。在能够对其进行约束以治疗疾病之前，必须要对其有更广泛深入的了解。朱原小组发现这些有 p53 突变的细胞具有高度适应性，如果治疗阻止了它们的活动路径，它们则会学着找到另一种方式来成长，这解释了为什么恶性胶质瘤会产生抗药性。

朱原小组计划继续进行小鼠实验，看看 p53 的功能是否可以在肿瘤细胞中恢复。他们也要检验抑制脑下室区的神经干细胞是否会是一种潜在的治疗手段。

## 4 干细胞与糖尿病治疗的研究

### 4.1 成年细胞可重编程为分泌胰岛素的细胞

贝塔细胞正常分泌胰岛素是治疗糖尿病的关键。如果能将大量完全分化的成年细胞以受控方式转变成能分泌胰岛素的贝塔细胞的话，糖尿病治疗的前景将会改变。虽然以前文献中有几个以这种方式生成贝塔细胞的例子，但这个过程迄今为止是无法控制的。

美国科研人员最新研究发现，患糖尿病的活小鼠的外分泌腺细胞可被重新编程（重编程即细胞的再程序化，使分化后的细胞重新分化的技术），成为能够产生胰岛素的内分泌细胞，与贝塔细胞相似，从一种分化状态进入另一种分化状态，中间并不需转变成干细胞。这种策略是基于早先关于胰腺发育中所涉及转录因子的研究成果：三种因子（Ngn3, Pdx1 和 Mafa）的组合是该过程中的关键成分。

## 5 干细胞与抗衰老的研究

### 5.1 干细胞使与衰老有关的肌无力的速度放缓

在小鼠中的一则新的研究报告指出，用干细胞来增加年轻的肌肉可减缓与年龄老化相关的肌无力的进程。这些发现可能会导致再生性肌肉疗法的出现，这种疗法也许会对罹患肌营养不良症的病人或是那些虚弱的老年人有帮助。文章的作者提出，如果科学家们能够发现可刺激肌肉中干细胞的小分子或分子组合（这可能会比将干细胞移植到人体内要更容易些），那么这些分子可被用于增进肌肉修复或减少肌肉丧失。在成年期，损伤后或疾病后肌肉再生主要是靠卫星细胞，这是一种会分裂并参与修复、重新恢复活力和控制骨骼肌组织的干细胞，它可通过发育成为肌肉细胞而令肌肉生长。

Bradley Olwin 及其同事在这里利用了干细胞的能力并防止了在幼小的小鼠中某一单一肌肉的与年龄老化有关的消瘦。在该研究中，研究人员将少数的干细胞移植到肌肉受伤的幼小小鼠体内。该研究小组在两年后对这些小鼠进行检查时发现，这种手术永久性地改变了移植的细胞，使得它们能够抵抗肌肉中的老化过程。明确地说，这些移植的细胞能够控制它们所在的肌肉并与肌肉融合以形成新的肌肉纤维。尽管人们对这一过程的机制还不了解，但这些发现提示，通过模仿这些移植的干细胞的功效，科学家们也许能够防止肌肉功能和重量的丧失，而这些通常是在人类老化时出现的情况。

### 5.2 色素干细胞损伤致使黑发变白

日本东京医科齿科大学与金泽大学的一个研究小组近日发布消息，他们证实由于保持黑发的色素干细胞的基因损伤不断加重，人才会随着年龄的增长头发不断变白。该项研究有助于推动抗老化以及再生医疗药物的研究。美国《细胞》杂志发表了这一消息。

据介绍，色素干细胞存在于毛根与皮肤之间，正是由于其制造的色素细胞，人的头发才会保持黑色。如果这种干细胞减少或枯竭，人的头发就会变成白色，而其为何枯竭却一直不为人知。人们已知生物随着年龄的增长，基因的损伤就会不断加重，那么色素干细胞是不是也因为损伤加重而枯竭呢？为了证实这个设想，日本的研究人员用可造成基因损伤的放射线照射试验大鼠，使其出现与老化相似的状态，然后再检查大鼠的色素干细胞情况。结果发现大鼠的色素干细胞已经失去了分化再生的能力，由于缺少其制造的色素细胞，大鼠的毛色也变为了白色，从而证实了毛发变白的机理。

研究人员称，这项研究成果除了有助于人们揭开其他方面的老化之谜，还有助于推动抗白发药剂以及抗老化和再生医疗方面药物的研制。

随着基因工程、胚胎工程、细胞工程等各种生物技术的快速发展，按照一定的目的，在体外人工分离、培养干细胞已成为可能，利用干细胞构建各种细胞、组织、器官作为移植器官的来源，这将成为干细胞应用的主要方向。