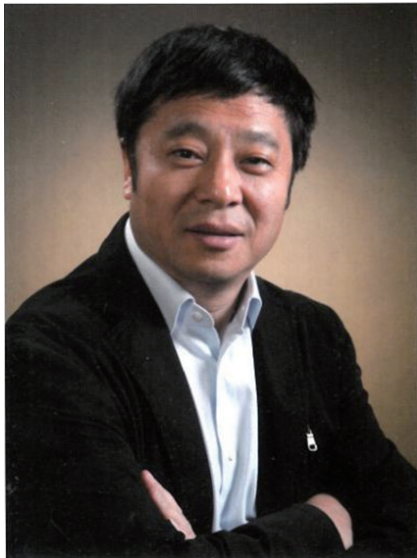


2015年度“中国生命科学领域十大进展”:化学重编程中间状态的鉴定和化学重编程新体系的建立



◀ 牵头科学家邓宏魁, 北京大学干细胞研究中心主任, 清华-北大生命科学联合中心成员, 北京大学生命科学学院教授, 教育部“长江学者”讲座教授, 国际干细胞生物学学会(ISS-CR)理事会理事。

🔑 中国科协生命科学学会联合体: 体细胞重编程技术可以将已经分化的体细胞诱导逆转成多潜能干细胞。北京大学邓宏魁研究团队在2013年报道了小分子化合物诱导的体细胞重编程技术(化学重编程技术)。在此工作基础上, 该团队发现了化学重编程的一个中间状态, 其基因表达谱、体内发育能力和重编程能力均类似于胚外内胚层细胞。这一发现提供了改进化学重编程体系的一个关键的分子路标, 以此为基础进一步优化化学重编程的诱导条件, 最终建立了一个高效的化学重编程体系。这项成果表明化学重编程是一个分子路径上完全不同于转基因诱导重编程的全新途径, 显示化学小分子是调控细胞命运的理想手段, 有望在再生医疗中为获得病人自体的组织和器官提供理想的细胞来源。该研究成果2015年12月在《Cell》上发表。

细胞重编程技术简介

邓宏魁

北京大学生命科学学院, 北京 100871

细胞是构成人体结构和功能的基本单位, 一个成年人体内有40万亿到60万亿个细胞。这些细胞可以被分成大约200多种, 不同类型的细胞具有不同的功能。比如, 骨骼肌细胞可以通过肌丝滑动导致细胞的伸缩和舒张, 从而完成人体的躯体运动; 神经细胞可以通过神经纤维上顺序发生电学变化从而传递神经信号; 表皮细胞可以通过角质化的发生, 对酸、碱和摩擦产生一定抵抗能力。

相比人体细胞繁多的种类和庞大的数量, 更令人震惊的是, 人体所有的细胞最初都来源于同一个细胞, 即受精卵。从受精卵逐渐形成人体不同种类细胞这种从统一来源细胞逐渐产生出形态结构和功能特征不同的细胞类群的过程, 被称为分化。那么, 人类是否

可以在体外获得类似于受精卵可以分化成所有种类细胞的“种子”细胞呢? 1981年, Evans等^[1]从小鼠早期胚胎中分离出一类细胞, 并将其命名为胚胎干细胞。胚胎干细胞在体外可以无限增殖, 并保持其自身的特性, 同时在特定条件下可以分化成为小鼠体内所有类型的细胞, 即具有多潜能性。1998年, Thompson等^[2]成功建立了第一株人的胚胎干细胞系。这种“种子”细胞的获得, 极大地加快了发育生物学研究的进程, 并使得细胞治疗成为可能。

然而, 若想将胚胎干细胞的技术应用于临床, 必须解决两个问题。首先, 不同个体之间的免疫排斥在一定程度上限制了其应用。其次, 更重要的是, 胚胎干细胞的获取, 会破坏胚胎, 这使得胚胎干细胞的应用存在重

大伦理争议。

1962年, 英国发育生物学家 John Gurdon 将蝌蚪的分化细胞核移植到卵母细胞中, 获得了成熟的青蛙, 从而首次证明了动物细胞核全能性^[3]。1996年, Wilmut等^[4]首次实现哺乳动物的体细胞核移植, 制造出著名的克隆羊“多莉”(图1)。但是细胞核移植技术需要



图1 克隆羊“多莉”(前)和它的代育母亲(后)

引用格式: 邓宏魁. 细胞重编程技术简介[J]. 科技导报, 2016, 34(13): 28-30; doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.2016.13.004

充足的卵细胞来源,并且会破坏胚胎,受到了极大的伦理质疑和挑战。

2006年,日本京都大学 Shinya Yamanaka 等^[5]通过病毒介导,将4个特定基因转入到小鼠分化的细胞中,成功逆转了其分化过程并得到了功能上类似于胚胎干细胞的细胞,将其命名为诱导多潜能干细胞(iPS细胞)。诱导性多能干细胞产生,极大地缩短了药物研发的过程,并使细胞治疗的应用成为可能。例如,2011年美国科学家 Itzhaki 等^[6]将患有先天性心率失常病人的细胞诱导成iPS细胞,并进一步分化成具有先天性心率失常病理特征的心肌细胞,从而建立了该疾病的体外研究模型,极大地加快了针对该疾病的药物研发速度。另外,2007年美国科学家 Hanna 等^[7]将患有镰刀形贫血症的小鼠细胞诱导成iPS细胞,并对其中的致病基因进行了修复(图2)。而后,将修复后的iPS细胞诱导分化成为造血干细胞并移植进入小鼠体内,成功治疗了小鼠的镰刀状贫血症。这不仅证明了诱导性多能干细胞具有巨大的研究价值,更阐述了其在临床应用上的无限前景。iPS技术的发现是干细胞领域新的里程碑,被誉为继克隆技术、胚胎干细胞技术之后干细胞领域的第三次革命,

它的出现极大地促进了干细胞研究领域的发展。Yamanaka 和 Gurdon 共同分享了2012年度诺贝尔生理学或医学奖。

尽管iPS技术具有广泛的应用前景,但该技术应用在临床之前还有几个重要缺陷需要克服。首先,该技术需用病毒介导基因转入,而病毒的引入会导致基因组的不稳定性,并且病毒的整合存在干扰正常基因功能的隐患。更重要的是,该技术所用到的基因中包含明确的致癌基因,这极大地提高了其致癌的可能性,使其应用价值大打折扣。因此一种全新的方法亟待开发。小分子化合物由于其简单、安全、有效和可操作性强等特性被认为是诱导多潜能性干细胞最有希望的一条全新途径。

北京大学邓宏魁课题组2013年发表在《Science》上的工作率先证实了化学小分子诱导产生iPS细胞的可能性^[8](图3)。通过筛选和组合他们发现只利用6个小分子化合物,能够在完全无外源转录因子条件下成功诱导获得小鼠多潜能干细胞,并将其称为化学诱导的多潜能干细胞(CiPS细胞)。CiPS细胞使得体细胞能够非常简单地重新逆转回多潜能性状态,同时也摆脱了胚胎

干细胞和Yamanaka转基因技术原有的伦理和安全性问题,更为简单安全地调控细胞命运发生转变。已经分化的体细胞如何被逆转命运转变为多潜能干细胞,已然成为近几年干细胞领域的研究热点。到目前为止,Yamanaka转基因技术诱导重编程的实验中,已广泛地研究了重编程过程的分子线路图。以往的研究报道表明,在重编程过程中主要经历了2次基因表达和表观遗传状态改变^[9]。此外,有研究显示,在细胞命运从体细胞转变为多潜能干细胞的过程中经历了一种原条(primitive streak)样的中间状态^[10]。

由于化学重编程是近年来才确立的方法,对于小分子诱导重编程过程相对知之甚少。尤其是,有研究表明在化学重编程中利用的小分子没有直接激活Yamanaka因子,因而引发了人们的兴趣,猜测Yamanaka转基因技术和化学方法诱导的重编程之间的相似和差异之处。化学方法一个主要的优点在于可以微调小分子的浓度、持续时间、结构和组合,为更精细地分阶段操控CiPS细胞的生成提供了机会。因此,确定关键分子时间和中间细胞状态,做到能够基于每个重编程阶段的标志物来微调小分子及培养条件,将有助于大

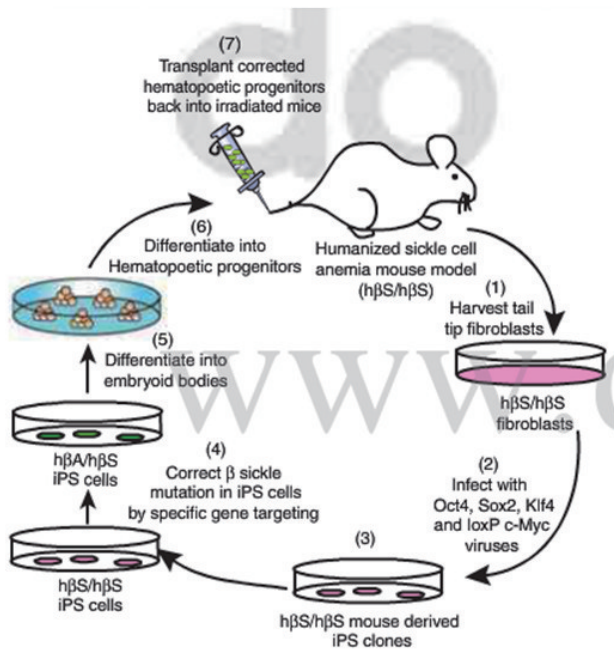


图2 小鼠皮肤纤维母细胞体外重编程示意



图3 一个嵌合的小鼠胚胎,几乎完全由“化学诱导的多潜能干细胞”来源的细胞(被用红色荧光标记)所构成

(图片来源:北京大学生命科学学院)

大提高重编程效率。

现在,北京大学邓宏魁课题组证实早期形成胚外内胚层(XEN)样细胞及晚期从XEN样细胞转变为CiPSCs是化学重编程的必经途径,而这一独特的线路与Yamanaka转基因技术所走的原条样过度状态截然不同(图4)^[11]。并且,通过XEN状态以分步方式精确操控细胞命运转变,使得研究人员鉴别出了一

些小分子促进剂,建立了一个强大的化学重编程系统,相比以往报道的实验方法将产量提高了1000倍。这些研究结果证实了,化学重编程是一种有前景的操控细胞命运的方法。此后,该实验团队还将化学诱导重编程技术拓展到神经干细胞、小肠干细胞上,成功诱导不同胚层来源的成体细胞重编程获得多潜能干性,并且证明了小分子诱导不同

细胞类型重编程均经历了相似的XEN分子路径。从而为该技术的广泛应用提供了更坚实的理论依据^[12]。

化学诱导重编程的方法开辟了一条全新的实现体细胞重编程的途径,是体细胞重编程技术的一个飞跃,为未来细胞治疗及人造器官提供了理想的细胞来源,甚至可能使得人类未来有可能通过使用小分子化合物的方法直接在体内改变细胞的命运。

比如,2014年,日本眼科专家高桥政代利用诱导多潜能干细胞(iPS细胞)分化成为视网膜色素上皮细胞(RPE)治疗老年性黄斑变性。这是首个获得批准的iPS技术临床试验。此外,诱导多潜能干细胞还被分化成为胰岛β细胞治疗糖尿病,或者分化为神经细胞治疗神经退行性疾病。CiPS技术的发现,将使得这些临床应用变得更加安全可靠,甚至可能可以进行原位再生。此外,利用CiPS细胞还可以在体外制造人造器官,比如软骨、大脑、肾脏、心脏等,将来可能为器官再生、器官移植提供来源。

如果这一目标得以实现,许多难以治疗的疾病将会得到全新的解决方案,整个再生医学领域也将会发生新的变革。

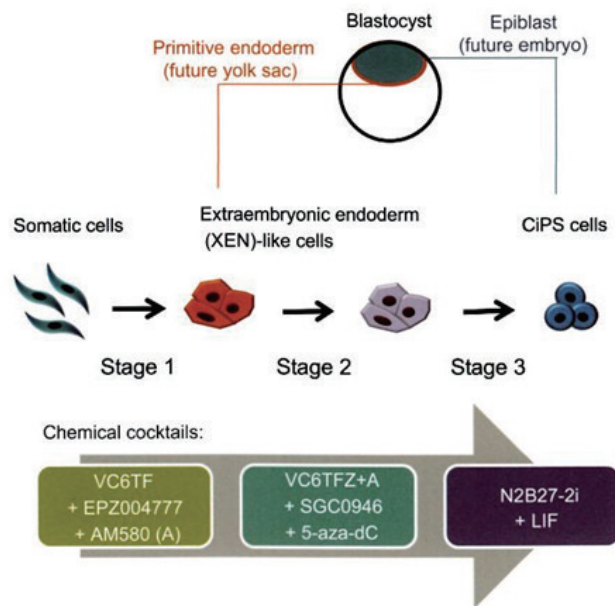


图4 化学重编程的途径

参考文献

- [1] Evens M, Kaufman M. Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryo[J]. Nature, 1981, 292: 154-156.
- [2] Thomson J A, Itskovitz-Eldor J, Shapiro S S, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts[J]. Science, 1998, 282: 1145-1147.
- [3] Gurdon J B. The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles[J]. Journal of Embryology and Experimental Morphology, 1962, 10: 622-640.
- [4] Wilmut I, Schnieke A E, McWhir J, et al. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells[J]. Nature, 1997, 385: 810-813.
- [5] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors[J]. Cell, 2006, 126(4): 663-676.
- [6] Itzhaki I, Maizels L, Huber I, et al. Modelling the long QT syndrome with induced pluripotent stem cells[J]. Nature, 2011, 471(7337): 225-229.
- [7] Hanna J, Wernig M, Markoulaki S, et al. Treatment of sickle cell anemia mouse model with iPS cells generated from autologous skin[J]. Science, 2007, 318(5858): 1920-1923.
- [8] Hou P P, Li Y Q, Zhang X, et al. Pluripotent stem cells induced from mouse somatic cells by small-molecule compounds[J]. Science, 2013. doi: 10.1126/science.1239278.
- [9] Polo J M, Anderssen E, Walsh R M, et al. A molecular roadmap of reprogramming somatic cells into iPS cells[J]. Cell, 2012, 151(7): 1617-1632.
- [10] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotency in human somatic cells via a transient state resembling primitive streak-like mesendoderm[J]. Nature Communications, 2014, 5: 3678.
- [11] Zhao Y, Zhao T, Guan J, et al. A XEN-like state bridges somatic cells to pluripotency during chemical reprogramming[J]. Cell, 2015, 163(7): 1678-1691.
- [12] Ye J Q, Ge J, Zhang X, et al. Pluripotent stem cells induced from mouse neural stem cells and small intestinal epithelial cells by small molecule compounds[J]. Cell Research, 2016, 26(1): 34-45.

(责任编辑 王媛媛)