

成体干细胞的可塑性*

赵慧英, 郑月茂, 曹鸿国, 温叶飞, 张 涌

(西北农林科技大学 生物工程研究所, 陕西 杨凌 712100)

〔摘 要〕 传统观念认为, 成体干细胞只能分化成其自身来源组织的细胞类型。但近年大量的研究表明, 成体干细胞可跨系甚至跨胚层分化成在发育上与之无关的其他组织的细胞类型, 即具有可塑性。文章对成体干细胞可塑性的研究结果、分化机制、应用前景及需解决的问题等进行了综述。

〔关键词〕 成体干细胞; 可塑性; 细胞分化

〔中图分类号〕 Q 254

〔文献标识码〕 A

〔文章编号〕 1671-9387(2005)01-0021-04

根据干细胞在个体发育过程中出现的先后次序不同, 可将干细胞分为胚胎干细胞 (Embryonic Stem Cells, ES 细胞) 和成体干细胞 (Adult Stem Cells/Stomatic Stem Cells)。1981 年, Evans 等^[1]首次从小鼠囊胚中分离出小鼠 ES 细胞, 随后的研究进一步证实, ES 细胞具有发育的全能性 (totipotent), 在一定条件下可以分化成 3 个胚层中几乎所有组织器官的原始细胞。人们通常把这类由 ES 细胞分化形成且储存在胎儿和成体组织中的多能干细胞 (pluripotent cell) 或专能干细胞 (multipotent cell) 统称为“成体干细胞”。传统观念认为, 成体干细胞的分化具有定向性, 即只能生成它们自身来源组织的细胞类型。1999 年, Jackson 等^[2]研究却发现, 肌肉干细胞不仅能分化为肌肉细胞, 还能分化为各种血细胞系, 这一发现引起了生命科学研究领域的极大震动, 并迅速成为科学家们的研究热点, 在《Nature》《Science》及《Cell》等权威杂志上相继出现了大量有关各种成体组织干细胞“可塑性”研究的报道, 证实成体组织干细胞可分化成在发育上与其无关的其他组织的细胞类型, 实现跨系统甚至跨胚层分化发育, 即成体组织干细胞具有“可塑性 (plasticity)”、“横向分化 (trans-differentiation)”或“跨系分化”的潜能^[3~5]。目前, 成体干细胞可塑性因其诱人的应用前景而成为生命科学领域的研究热点之一。

1 干细胞可塑性的研究

目前已发现的成体组织干细胞包括造血干细胞

(hematopoietic stem cell, HSC)、间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC)、神经干细胞 (neural stem cell, NSC)、胰岛干细胞 (pancreas stem cell, PSC)、肝脏干细胞 (hepatic stem cell, HSC)、肌肉干细胞 (muscle stem cell) 以及表皮干细胞 (epithelial stem cell, ESC) 等, 其中证明能够实现横向分化的成体干细胞越来越多。

1.1 骨髓间充质干细胞的可塑性

骨髓间充质干细胞由于具有分布广泛、取材方便、扩增迅速、可在体外长期培养、遗传背景稳定及避免了免疫排斥反应等优点, 而成为近年研究成体干细胞横向分化较多的一种干细胞。

对于骨髓间充质干细胞 (BMSC) 可塑性的研究, 最早可追溯到 20 世纪 80 年代初, Sale 等^[6]发现, 将骨髓移植后, 受体动物肺部因大量骨化而导致呼吸困难并致死, 可能就是由于骨髓细胞在体内分化出成骨细胞所致。1995 年, Pereira 等^[7]证明, 小鼠骨髓细胞在体外培养后具有向骨、软骨和肺基质转化的能力。1999 年, Horwitz 等^[8]用 BMSC 治疗遗传性骨缺陷病, 取得了一定效果, 为遗传性疾病的细胞治疗提供了新的途径。

BMSC 还可以形成心肌、骨骼肌和平滑肌。1998 年, Ferrari 等^[9]用 C57/M lacZ 转基因小鼠作供体小鼠, 将其骨髓细胞移植给免疫缺陷小鼠重建造血, 然后用心肌毒素 (cardio toxin) 诱发受体胫骨前肌肉再生, 结果发现 β Gal⁺ 细胞见于不成熟的中心性纤维细胞和较成熟的周围性细胞, 证明骨髓来源的前体

* 〔收稿日期〕 2003-12-26

〔基金项目〕 国家“863”高技术研究发展计划项目 (2001AA 213081)

〔作者简介〕 赵慧英 (1966-), 女, 陕西韩城人, 副教授, 在职博士, 主要从事神经生物学研究。

〔通讯作者〕 张 涌 (1956-), 男, 内蒙古和林格尔人, 教授, 博士生导师, 主要从事动物胚胎工程方向的研究。

细胞参与了肌肉再生过程,可形成完全分化的肌纤维。1999年,Jackson等^[2]用Hoechst 33342-low SP纯化的HSC进一步证明,它可迁移到肌肉损伤部位,不仅参与肌肉再生,而且也参与血管再生^[10]。Orlic等^[11]用骨髓细胞修复了因梗塞而造成的心肌损伤。

近几年的研究证明,BMSC还能形成脑细胞,为脑组织损伤的修复及疾病的治疗开辟了新途径。Woodbury等^[12]对小鼠和人的BMSC用DMEM/2%DMSO/200 $\mu\text{mol/L}$ BHA进行诱导,得到NSE⁺,NeuN⁺,NF-M⁺和tau⁺细胞以及nestin的表达;本实验室已成功地在体外分离得到山羊的BMSC并诱导分化为神经细胞和软骨细胞^[13]。当把人和啮齿类动物的BMSC移植到小鼠侧脑室或纹状体时,BMSC能迁移到脑,并分化成星形胶质细胞,并且使帕金森氏病模型鼠疾病症状明显减轻^[14,15],说明即使不预先在体外对要移植的细胞进行诱导,而将其直接注入受体动物中,移植部位本身也存在着一些信号,可对移植的细胞产生诱导分化作用,从而诱导神经细胞或胶质细胞出现。另有最新研究^[16]证明,成体骨髓源多能MSC在体内可以分化成皮肤干细胞及皮肤组织。

1.2 其他成体干细胞的可塑性

近年对其他成体干细胞横向分化的研究逐渐多起来,NSC可塑性的研究就是其中之一。Galli等^[17]将从人胎儿和成年小鼠体内快速分离的NSC与成体肌细胞共培养,结果NSC可分化为骨骼肌细胞。Clarke等^[18]将从成年小鼠脑组织中取出的NSC与鸡胚胎体一起培养,结果NSC可以分化为各胚层类型细胞,形成了嵌合体。Bjornson等^[3]将胎儿和成年的NSC及在体外克隆的NSC移植给亚致死剂量照射的小鼠,结果证明NSC可转化为造血细胞。过七根等^[19]最新研究报道,从成体小鼠的骨髓中分离得到了外胚层来源的NSC。显示神经干细胞具有更广阔的应用前景。

Alison等^[20]和Lagasse等^[21]分别报道HSC可在体内分化成肝细胞。Shen等^[22]在骨髓移植的试验中发现,肝脏干细胞能表达供体造血细胞的遗传标志。1999年,Jackson等^[2]分离出小鼠的肌肉干细胞,体外培养5d后,与少量的骨髓间充质细胞一起移植入接受致死量辐射的小鼠中,结果发现肌肉干细胞会分化为各种血细胞系。新华网伦敦2001-02-23专电,英国PPL公司科学家用牛的皮肤干细胞培育出了心肌细胞。2002-10美国杜克大学医学中心

的威克姆在美国整形外科研究学会年会上公布,他们已成功地利用成年人的脂肪干细胞培育出了骨骼、软骨细胞及神经细胞,这些成果再次证明,成年人体内的特定干细胞具有转化成其他多种类型细胞的潜力。本实验室已将成年山羊皮肤干细胞诱导分化为神经细胞的研究结果也进一步证明了这一点。

2 成体组织干细胞横向分化的机制

上述大量研究证明,成体组织来源的干细胞具有多向分化潜能,在体外可诱导分化成许多重要的组织细胞。目前,对干细胞横向分化的机制尚未见充分、合理的阐述,探讨成体干细胞横向分化的机制是干细胞研究的另一个主要课题。

从发育生物学的角度讲,只有ES细胞才能产生不同胚层的各类细胞,而成年组织干细胞在其进化潜能上有更多的局限性,即成年组织干细胞只能向其所在胚层的某些或某类细胞进行分化或转分化,不能跨胚层或跨系分化。

大多数观点认为,干细胞所处的微环境对干细胞分化调控的影响极为重要。干细胞进入新的微环境后,对分化信号的反应受到周围正在进行分化的细胞的影响,从而对新的微环境中的调节信号作出反应。同时,成体干细胞横向分化出的细胞类型受所使用的化学物质、细胞因子等环境因素的影响,因此只能笼统地以横向分化、脱分化(dedifferentiation)或者细胞重新程序化(reprogrammed)等对这种可塑性现象进行解释。如Dennis等^[23]认为,在MSC分化发育的不同阶段,基因的表达情况会发生变化,即有的被诱导,有的被抑制,从而解释了单克隆的MSC具有多能性的现象,也解释了分化的脂肪细胞被诱导分化成成骨细胞的现象。

另外,以Verfaillie实验室和中国科学院的赵春华为代表,分别提出了亚全能干细胞假说^[24,25]:认为在人体发育过程中,在多种组织中存留着具有多系分化能力的亚全能干细胞群体,作为ES细胞的后代在组织中与其他各个成熟阶段的干/祖细胞共存。亚全能干细胞处于这种等级结构的最上层,它们在胚胎发育成熟后逐渐丢失部分分化潜能,然后储存在某些组织器官中,应需进入细胞增殖周期,以维持人体发育和组织代谢的平衡。从人体生理、病理角度上讲,该学说更加符合自体修复、自我更新的生理规则,是机体生命过程中组织的新陈代谢和修复再生所必需的细胞来源。

新近有部分研究者^[26~31]对成体干细胞的可塑

性提出了不同的看法,主要包括以下几方面: 1) 成体组织干细胞与ES 细胞自发融合导致“可塑性”。2002年, Ying 等^[27]的研究结果表明, ES 细胞在体外与神经或HSC 共同培养时, 能自发地发生神经或HSC 与ES 细胞之间的融合, 诱导NSC 或HSC“横向分化”为胚胎样干细胞, 然后展现出ES 细胞的表型特征与相应功能, 使所谓的成年组织干细胞具有了“可塑性”潜能。Terada 等^[29]用充分的证据证明, 骨髓细胞的多向分化是因为与ES 细胞融合所致, 而不是骨髓细胞直接横向分化的结果。2) 成体组织干细胞的横向分化是成体组织中余存的胚胎原始干细胞所为。Jiang 等^[30]的研究结果证实, 在成体组织中余存着一种数量稀少的胚胎样原始干细胞, 表达ES 细胞的标志如Oct-4, Rex-1 及SSEA-1, 体外培养条件也类似于ES 细胞, 所谓的成体组织干细胞的“可塑性”很可能是这些细胞所为。3) 成体组织干细胞可塑性缺乏科学依据^[31]; 有些结果可能是试验设计不严谨、判断错误所致等。

作者认为, 细胞融合的发生率只有百万分之一, 不能解释大量成体干细胞的可塑性现象, 虽然有些作者的试验结果可能存在干细胞污染的问题, 但更多作者的试验结果在研究方法上是可靠的, 因而可塑性是客观存在的事实。

3 成体干细胞可塑性研究展望

干细胞可塑性的发现, 不仅打破了组织再生来源于该组织干细胞这一传统观念, 而且具有重要的实用价值。对成体干细胞体外培养、诱导及其横向分化机制的深入研究, 将极大地扩展干细胞应用于组

织修复与移植的应用潜能。因为成体干细胞与ES 细胞相比具有许多优势: 首先, 解决了免疫排斥问题; 其次, 成体干细胞治疗不容易导致畸胎瘤; 另外, 成体干细胞也具有类胚胎干细胞的高度分化能力。为血液系统疾病、先天性遗传疾病以及多发性转移性恶性肿瘤疾病提供了最有效的治疗方法, 也为组织工程研究提供了细胞来源。目前已有部分实验室开始尝试将其应用于疾病的治疗。

时至今日, 人类对成体干细胞的认知还仅仅处于起步阶段, 所面临的许多细胞基础性的复杂问题尚需解决。首先, 不同组织来源的干细胞的培养条件不尽相同, 要在应用前依靶组织类型对培养的干细胞进行准确的定向分化诱导, 必须先对干细胞发育的基因调控及微环境的影响进行系统研究。其次, 需搞清楚干细胞通过可塑性分化成的其他组织细胞, 其结构与功能是否与正常的组织细胞相同。第三, 成体干细胞的特性, 如表面标记、分离方法、培养等有待深入探讨, 以明确成体干细胞的生物学特性和实现干细胞有目的分离纯化。第四, 成体干细胞应用的安全性, 诱导分化的细胞是否具有正常的结构与功能, 它能否归巢到相应的组织中, 移植的相容性如何, 以及转基因的安全性等^[32], 这些问题都有待于进一步研究。

面对成体干细胞可塑性存在的诸多问题, 在以后的研究中, 需要用更精密的仪器和更精确的方法, 从克隆水平、分子水平、解剖、功能、体内、体外试验等多方面综合研究来提高结果的可信度, 并探讨横向分化的具体机制。虽然成体干细胞应用于临床尚有很多工作要做, 但毕竟给了人们一个美好的希望。

[参考文献]

- [1] Evans M J, Kaufman M H. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos[J]. Nature, 1981, 292(5819): 154- 156
- [2] Jackson K A, Mi T, Goodell M A, et al Hematopoietic potential of stem cells isolated from murine skeletal muscle[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96(25): 14482- 14486
- [3] Bjornson C R, Rietze R L, Reynolds B A, et al Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo[J]. Science, 1999, 283: 534- 537
- [4] Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, et al Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo[J]. Nature Medicine, 2000, 6(11): 1229- 1234
- [5] Sata M, Saiura A, Kunisato A, et al Hematopoietic stem cells differentiate into vascular cells that participate in the pathogenesis of atherosclerosis[J]. Nature Medicine, 2002, 8(4): 403- 409
- [6] Sale G E, Storb R. The bone marrow transplant into blood[J]. Exp Hematol, 1983, 10: 961- 966
- [7] Pereira R F, Halford K W, O'Hara M D, et al Cultured adherent cells from marrow can serve as long-lasting precursor cells for bone, and lung in irradiated mice[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995, 92: 4857- 4861
- [8] Horwitz E M, Prockop D J, Fitzpatrick L A, et al Transplantability and therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal cells in children with osteogenesis imperfecta[J]. Nature Medicine, 1999, 5: 309- 313
- [9] Ferrari G, Cusella-De Angelis G, Coletta H, et al Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors[J]. Science, 1998,

279(5356): 1528- 1530

- [10] Shi Q, Rafii S, Wu M H, et al Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells[J]. *Blood*, 1998, 92(2): 362- 367.
- [11] Orlic D J, L cajstura S, Chimenti F, et al Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98: 10344- 10349
- [12] Woodbury D, Schwarz E J, Prockop D J, et al Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons[J]. *J Neurosci Res*, 2000, 61: 364- 370
- [13] 华松, 武浩, 赵慧英, 等. 山羊骨髓间充质干细胞的体外分离培养及向神经细胞的诱导分化[J]. *安徽农业大学学报(自然科学版)*, 2004, 31(3): 273- 277.
- [14] Sawamoto K, Nakao N, Kobayashi K, et al Visualization, direct isolation, and transplantation of midbrain dopaminergic neurons[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98: 6423- 6428
- [15] 侯玲玲, 郑敏, 王冬梅, 等. 人骨髓间充质干细胞在成年大鼠脑内的迁移及分化[J]. *生理学报*, 2003, 55(2): 153- 159
- [16] 邓为民, 李长虹, 廖联明, 等. 成体骨髓源多能间充质干细胞体内分化皮肤干细胞和皮肤组织[J]. *细胞生物学杂志*, 2003, 25(2): 98- 104
- [17] Galli R, Borello U, Gritti A, et al Skeletal myogenic potential of human and mouse neural stem cells[J]. *Nat Neurosci*, 2000, 3: 986- 991
- [18] Clarke D L, Johansson C B, Wilbertz J, et al Generalized potential of adult neural stem cells[J]. *Science*, 2000, 288: 1660- 1663
- [19] 过七根, 陈付学, 宋红生, 等. 成体小鼠骨髓中神经干细胞的分离培养[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2003, 31(6): 107- 109
- [20] Alison M R, Poulson R, Jeffery R, et al Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells[J]. *Nature*, 2000, 406: 257.
- [21] Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, et al Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes *in vivo*[J]. *Nat Med*, 2000, 6: 1229- 1234
- [22] Shen H, Cheng T, Olszak I, et al CXCR-4 desensitization is associated with tissue localization of hemopoietic progenitor cells[J]. *J Immunol*, 2001, 166: 5027- 5033
- [23] Dennis J E, Charbord P. Origin and Differentiation of Human and Murine Stromal Cells[J]. *Stem Cells*, 2002, 20(3): 205- 214
- [24] Reyes M, Verfaillie C M. Characterization of Multipotent Adult Progenitor Cells, a subpopulation of mesenchymal stem cells[J]. *NY Acad Science*, 2001, 938: 231- 235
- [25] 赵春华, 廖联明. 对成体干细胞可塑性的新认识及其在再生医学中的意义[J]. *中华血液学杂志*, 2003, 24(2): 57- 58
- [26] Issarachai S, Priestley G V, Nakamoto B, et al Cells with hemopoietic potential residing in muscle are itinerant bone marrow-derived cells[J]. *Exp Hematol*, 2002, 30: 366- 373
- [27] Ying Q L, Jennifer Nichols, Edward P, et al Changing potency by spontaneous fusion[J]. *Nature*, 2002, 416: 545- 548
- [28] Andrew E, Wumser & Fred H, Gage. Stem cells: cell fusion causes confusion[J]. *Nature*, 2002, 416: 485- 487.
- [29] Terada N, Hamazaki T, Okamoto M, et al Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion[J]. *Nature*, 2002, 416(6880): 542- 545
- [30] Jiang Y, Jahagirdar B N, Reinhardt R L, et al Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow [J]. *Nature Magazine*, 2002, 418(6893): 41- 49
- [31] Wagers A J, Sherwood R I, Christensen J L, et al Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells[J]. *Science*, 2002, 297(5590): 2256- 2259
- [32] William W A. Is transdifferentiation in trouble[J]. *J Cell Biol*, 2002, 157: 15- 18

Plasticity of adult stem cells

ZHAO Hui-ying, ZHENG Yue-mao, CAO Hong-guo, WEN Ye-fei, ZHANG Yong

(Institute of Bio-Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: A long-standing concept has been that organ-specific stem cells are restricted to marking the differentiated cell types of the tissue in which they reside. A recent series of studies, however, show that adult stem cells from one tissue or organ can be induced to trans-differentiate into cells of other organs, system or blastoderm unrelated in development. That is to say, adult stem cells possess plasticity. Here, the paper reviews the current study results and speculates about the underlying mechanisms, clinical application and problem existed in adult stem cells plasticity.

Key words: adult stem cells; plasticity; cell differentiation