

干细胞可塑性争议及分化假说^{*}

马勇江^{1,2}, 杨学义¹, 窦忠英¹

(1 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100;

2 华南农业大学 兽医学院, 广东 广州 510642)

[摘 要] 对有关干细胞可塑性的不同观点进行了概述, 并关注了干细胞潜能和细胞表型多样性传统观点上的争议, 讨论了在当前公认动物模型上观察到的干细胞可塑性现象, 并对分化细胞发生细胞表型转变的试验性观察结果进行了总结。

[关键词] 干细胞; 可塑性; 横向分化; 细胞融合; 细胞异质性

[中图分类号] Q 254

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)10-0037-04

成体干细胞的分化潜能是有限的, 即只能分化产生其所在组织的细胞类型, 这是现代生物学的基本观点之一。许多研究^[1-3]表明, 在成体组织中有一些干细胞可跨越组织类型向其他组织类型细胞分化, 即表现出干细胞可塑性。例如造血干细胞(Hematopoietic stem cells, HSC)具有形成肝、肺、胃肠道、血管及心脏细胞的能力^[1, 4-6], 骨髓间质干细胞(Mesenchymal stem cells, MSC)具有形成血液、肺、肝及肠细胞类型的能力^[7-8], 在脑、皮肤和脂肪组织中发现的干细胞也表现出先前未知的多能性^[9-16]。但上述研究成果仍不能使一些科学家^[17-25]确信细胞可塑性的存在, 他们认为有充足的理由怀疑细胞可塑性现象的存在。本文概述了干细胞可塑性及其与细胞融合、细胞异质性和细胞横向分化等现象的关系, 以期为该问题的研究及讨论提供参考。

1 干细胞可塑性与干细胞分化

为什么干细胞可塑性研究成果遭受质疑, 要回答这个问题, 首先应了解干细胞和细胞表型多样性的传统观点。干细胞是指具有自我更新和分化形成至少一种成熟细胞类型能力的细胞^[26]。各类干细胞的不同之处在于其产生不同类型细胞的能力不同, 即是否具有全能性(Totipotent)、多潜能性(Pluripotent)、多能性(Multipotent)、双能性(Bipotent)及单能性(Unipotent)。胚胎干细胞(Embryon-

ic stem cell)被公认是全能性干细胞, 因为其可产生个体所有类型细胞。多潜能性干细胞(Pluripotent stem cell)常被定义为能产生所有3个生殖胚层(外胚层、中胚层和内胚层)细胞类型的干细胞; 而多能性干细胞(Multipotent stem cell)是能限定性分化形成所在组织细胞类型的干细胞^[27], 其分化潜能仅次于多潜能性干细胞。例如, 泛中胚层干细胞(Pan-mesodermal stem cell)是一类多能性干细胞, 能产生所有中胚层细胞系谱; 多能性造血干细胞(Multipotent hematopoietic stem cells, multipotent HSC)具有更局限的分化潜能, 是所有血液细胞系的前体细胞, 被认为不存在或存在十分有限的产生非血液细胞的能力; 淋巴样祖细胞是一种双能性干细胞(Bipotent stem cell), 能产生B淋巴细胞和T淋巴细胞; 骨骼肌母细胞是一种代表性的单能性干细胞(Unipotent stem cell), 其仅能产生骨骼肌细胞。

干细胞分化的传统观点建立在干细胞亚群严格等级机制之上, 单个细胞系由干细胞单方向逐级分化而来^[21, 23-24, 28], 即干细胞发育异质性假说。根据这一观点, 干细胞经历一系列限定性分化, 不可逆地按次序、逐级产生多潜能性、多能性、双能性、单能性细胞及终末分化子细胞。该传统观点^[21, 24, 28]还认为, 在胚胎发育过程中, 不可逆的限定性分化导致组织特异性干细胞严格分布在特定的成体组织中。该干细胞分类观点认为, 成体组织中存在的干细胞具有

^{*} [收稿日期] 2005-10-26

[基金项目] 国家高技术研究与发展计划项目(863计划)(2002AA216161)

[作者简介] 马勇江(1974-), 男, 江西临川人, 博士, 主要从事哺乳动物组织学与胚胎学研究。

[通讯作者] 窦忠英(1939-), 男, 陕西兴平人, 教授, 博士生导师, 主要从事哺乳动物胚胎干细胞和动物克隆研究。E-mail: douzhongying@china.com

十分有限的分化潜能,即只产生该组织类型的分化细胞。

但有研究^[1-3]证实,成体干细胞具有较传统观点更为广泛的分化潜能。这一观点与传统的干细胞分化观点不一致。因此,要接受干细胞可塑性观点就必须修正细胞表型多样性的传统观点。目前,干细胞可塑性研究受到来自以下几个方面的质疑:成年组织干细胞真的存在“可塑性”吗,成体干细胞“可塑性”是实验设计不严谨而造成的失误,抑或是一种主观判断错误所致,成体干细胞的“可塑性”与全能干细胞或胚胎干细胞有何关联,他们认为^[20-21]成体干细胞所谓的“可塑性”缺乏科学依据,成体干细胞的“可塑性”是成年组织中余存的胚胎原始干细胞所为,抑或与自发融合相关。

2 干细胞可塑性与细胞融合

干细胞可塑性争论的焦点之一就是支持成体干细胞发生“横向分化”、“跨胚层分化”或“跨系分化”(Transdifferentiation)的证据是否是细胞融合引发的假象^[19, 22, 29]。近年来,成体组织干细胞与其他类型细胞发生融合的证据,更是证实了上述质疑^[17-18, 30-31]。

2002年, Terado等^[17]和Ying等^[18]几乎同时发表了各自的研究结果。他们先从导入外源性绿色荧光蛋白基因(GFP基因)和抗生素(嘌呤霉素或G418)耐受基因的转基因小鼠中分离得到神经干细胞或骨髓干细胞,并将这些组织干细胞与胚胎干细胞共培养。培养过程中,在培养液中添加嘌呤霉素或G418。几周之后,一些GFP阳性克隆形成。再将这些GFP阳性克隆细胞用于干细胞分化培养液培养,发现这些GFP阳性克隆细胞具有胚胎干细胞样的多潜能性。同时,对这些GFP阳性胚胎干细胞样细胞进行进一步分析,发现这些细胞是多核的,并拥有共培养前两类细胞(即分离得到的组织干细胞和共培养的胚胎干细胞)的表面标记。显然,这种观察结果只有在组织源干细胞与胚胎干细胞发生融合后才可能出现。

基于上述现象,研究者^[29]认为细胞融合现象可以解释所谓的干细胞可塑性现象。但是,这种解释很勉强,因为在严格筛选的培养条件下,细胞融合出现的几率很低。Terado等^[17]报道,骨髓干细胞出现融合的概率只有百万分之二至百万分之十一。细胞融合现象的产生暗示细胞融合也许具有比人们所预料的更大的生物学意义,而不应该仅仅用作质疑干

胞可塑性的工具。

3 干细胞可塑性与细胞异质性

在已发表的有关干细胞横向分化的研究报告^[1-16]中,存在的一个共同问题就是:早期用于横向分化研究的细胞是富集的组织干细胞,而不是纯化的组织干细胞。因此,这些研究观察到的干细胞可塑性现象也许是成体组织中干细胞亚群高度异质性(细胞不纯,含有不同分化阶段的干细胞亚群)引起的假象。这种干细胞发育异质性假说^[20, 22]认为,极少数胚胎源多潜能性干细胞和多能性干细胞可在成体组织微环境中存留,并可自我更新。早先报道造血干细胞可分化产生非造血细胞,实际上可能是造血干细胞中混有的极少数泛中胚层干细胞分化的结果,而非造血干细胞自身分化所为。

根据干细胞发育异质性假说,有限可塑性维持了干细胞亚群的基本等级机制,即仍然沿着单一细胞谱系分化路径进行分化。然而,这一观点同时又整合了干细胞另一特性,即允许干细胞根据其周围组织环境的变化重新定向分化。这种干细胞重新定向分化表现为系统性地沿着另一条单个细胞谱系分化路径进行分化。例如,当暴露于不同的体内环境时,正常形成血液系统的干细胞(例如多能性造血干细胞)可以重新编程形成神经干细胞,这种可塑性称作“重新编程”,可将正常分化和横向分化区别开来,使得干细胞生物学传统观点的基本构成得以保留。

4 干细胞可塑性与细胞横向分化

横向分化是指一种完全分化的细胞转而具有另一种分化细胞的表型特征,而没有细胞分裂的发生。横向分化被普遍接受的例子是两栖类动物肢再生现象以及色素上皮细胞向晶状体和神经视网膜细胞转变的现象^[32-34]。其他横向分化例子也有报道,如胰腺细胞变成肝细胞^[35],血管内皮细胞变成平滑肌细胞^[36],骨髓巨噬细胞横向分化形成心肌细胞^[37]。横向分化的机制可能是分化细胞发生去分化(Dedifferentiation)生成具有干细胞表型的细胞,然后分化成为另一种细胞类型。被去分化的细胞可以是一个完全分化的细胞,也可能是一个定向干细胞。目前,横向分化这个词语经常用于表示干细胞的可塑性。

在成体愈伤反应时期,新生成的分化细胞显著增多。由此可推测干细胞感应到组织损伤并远距离移行到伤口部位^[4, 38-39]。与此同时,一些科学家^[36-40]已经证实,当组织或细胞移植到宿主后,免疫反应被

激活,从而增强了细胞再生能力。例如,在检测移植了女性心脏的男性病人心脏组织时,发现在严重排斥区Y染色体阳性心肌细胞数目最多^[40]。根据这一结果可以认为,组织损伤时,募集到受损部位的第一批细胞是免疫反应细胞,这些细胞被最先归巢到受损最严重的部位。如果这些免疫细胞随后能为修复受损组织提供新的细胞来源的话,那么它们的横向分化将减少第二批细胞归巢的必要性。这一假说与骨髓源巨噬细胞整合到心肌组织后发生横向分化形成心肌样细胞的研究结果一致^[37]。此后,单核细胞的特性研究^[40-41]进一步证明,免疫反应细胞能够发生横向分化,单核细胞通常被认为是巨噬细胞的直接祖细胞。许多研究^[4, 41-42]结果显示,单核细胞能分化形成内皮细胞。例如,单核细胞分化形成内皮细胞,促进损伤修复部位形成新的血管^[4]。有研究^[43]表明,单核细胞能生成其他造血细胞谱系。这些现象的发现对干细胞生物学研究具有重要意义,但这一发现偏离了干细胞分化的传统模式,在多能性干细胞水平上描述了细胞谱系的多样性。如果单能性干

细胞可被重新横向分化为多种细胞类型,那么多能性干细胞与单能性干细胞之间似乎没什么差别。

5 存在问题及展望

目前,观察到的干细胞可塑性现象到底是细胞融合引起的,还是胚胎样原始干细胞异位存留于成年组织所致,或是成体组织中干细胞亚群高度异质性等其他原因所为,这些都是成体干细胞可塑性研究有待解决的问题。目前研究的焦点是:(1)如何制备完全纯化的胚层或组织定向的成体干细胞克隆;(2)如何在体外扩增纯化的成体干细胞;(3)如何从分子水平、基因水平分析研究细胞所处的局部微环境;(4)应尽快制定评价成体干细胞可塑性的统一标准。(5)应当建立一种机制或假说来解释观察到的各种现象。

总之,成体干细胞可塑性的研究仍处于初始阶段,那些证实或质疑干细胞可塑性的依据都不是最后的结论。人们应以冷静的头脑、科学的态度、严密的思维来进行成体干细胞可塑性的研究。

[参考文献]

- [1] Krause D S, Theise N D, Collector M I, et al Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow derived stem cell[J]. Cell, 2001, 105: 369-377.
- [2] Poulsom R, Alison M R, Forbes S J, et al Adult stem cell plasticity[J]. J Pathol, 2002, 197: 441-456
- [3] Verfaillie C M. Adult stem cells: assessing the case for pluripotency[J]. Trends Cell Biol, 2002, 12: 502-508
- [4] Harraz M, Jiao C, Hanlon H D, et al CD34(-) blood-derived human endothelial cell progenitors[J]. Stem Cells, 2001, 19: 304-312
- [5] Anversa P, Nadal-Ginard B. Myocyte renewal and ventricular remodelling[J]. Nature, 2002, 415: 240-243
- [6] Bonnet D. Haematopoietic stem cells[J]. J Pathol, 2002, 197: 430-440
- [7] Pittenger M F, Mackay A M, Beck S C, et al Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells[J]. Science, 1999, 284: 143-147.
- [8] Jiang Y, Jahagirdar B N, Reinhardt R L, et al Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow[J]. Nature, 2002, 418: 41-49
- [9] Clarke D, Johansson C, Wilbertz J, et al Generalized potential of adult neural stem cells[J]. Science, 2000, 288: 1660-1663
- [10] Zuk P A, Zhu M, Mizuno H, et al Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies[J]. Tissue Eng, 2001, 7: 211-228
- [11] Liang L, Bickenbach J R. Somatic epidermal stem cells can produce multiple cell lineages during development[J]. Stem Cells, 2002, 20: 21-31.
- [12] Galli R, Gritti A, Bonfanti L, et al Neural stem cells: an overview[J]. Circ Res, 2003, 92: 598-608
- [13] Cao Y, Sun Z, Liao L, et al Human adipose tissue-derived stem cells differentiate into endothelial cells *in vitro* and improve postnatal neovascularization *in vivo*[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2005, 332(2): 370-379
- [14] Brzoska M, Geiger H, Gauer S, et al Epithelial differentiation of human adipose tissue-derived adult stem cells[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2005, 330(1): 142-150
- [15] Rodriguez A M, Elabd C, Amri E, et al The human adipose tissue is a source of multipotent stem cells[J]. Biochimie, 2005, 87(1): 125-128
- [16] Timper K, Seboek D, Eberhardt M, et al Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells differentiate into insulin, somatostatin, and glucagon expressing cells[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2006, 341(4): 1135-1140
- [17] Terada N, Hamazaki T, Oka M, et al Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous fusion[J]. Nature, 2002, 416: 94-98

542-545

- [18] Ying Q L, Nichols J, Evans E P, et al Changing potency by spontaneous fusion[J]. Nature, 2002, 416: 545-548
- [19] Wumser A E, Gage F H. Cell fusion causes confusion[J]. Nature, 2002, 416: 485-487.
- [20] 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: 2256-2259
- [21] Anderson D J, Gage F H, Weissman IL. Can stem cells cross lineage boundaries? [J]. Nat Med, 2001, 7: 393-395
- [22] Hawley R G, Sobieski D A. Somatic stem cell plasticity: to be or not to be[J]. Stem Cells, 2002, 20: 195-197.
- [23] Lemischka I A. A few thoughts about the plasticity of stem cells[J]. Exp Hematol, 2002, 30: 848-852
- [24] Orkin S H, Zon L I. Hematopoiesis and stem cells: plasticity versus developmental heterogeneity[J]. Nat Immunol, 2002, 3: 323-328
- [25] Goodell M A. Stem cell "plasticity": befuddled by the muddle[J]. Curr Opin Hematol, 2003, 10: 208-213
- [26] Krause D S. Plasticity of marrow derived stem cells[J]. Gene Ther, 2002, 9: 754-758
- [27] Preston S L, Alison M R, Forbes S J, et al The new stem cell biology: something for every[J]. J Clin Pathol Mol Pathol, 2003, 56: 86-96
- [28] Alison M R, Poulson R, Forbes S, et al An introduction to stem cells[J]. J Pathol, 2002, 197: 419-423
- [29] Medvinsky A, Smith A. Fusion brings down barriers[J]. Nature, 2003, 422: 823-825
- [30] Vassilopoulos G, Wang P R, Russell D W. Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion[J]. Nature, 2003, 422: 901-904
- [31] Wang X, Willenbring H, Akkari Y, et al Cell fusion is the principal source of bone marrow-derived hepatocytes[J]. Nature, 2003, 422: 897-901.
- [32] Tsonis P A. Regeneration in vertebrates[J]. Dev Biol, 2000, 221: 273-284
- [33] Del Rio-Tsonis K, Tsonis P A. Regeneration in invertebrates[J]. Dev Dyn, 2003, 226: 211-224
- [34] Nye H L D, Cameron J A, Chernoff E A G, et al Regeneration of the urodele limb: a review [J]. Dev Dyn, 2003, 226: 280-294
- [35] Frid M G, Kale V A, Stenmark K R. Mature vascular endothelium can give rise to smooth muscle cells via endothelial mesenchymal transdifferentiation-*in vitro* analysis[J]. Circ Res, 2002, 90: 1189-1196
- [36] Shen C N, Horb M E, Slack J M W, et al Transdifferentiation of pancreas to liver[J]. Mech Dev, 2003, 120: 107-116
- [37] Eisenberg L M, Burns L, Eisenberg C A. Hematopoietic cells from the bone marrow have the potential to differentiate into cardiomyocytes *in vitro*[J]. Anatomy Record Part A, 2003, 274A: 870-882
- [38] Theise N D, Nimmakayalu M, Gardner R, et al Liver from bone marrow in humans[J]. Hepatology, 2000, 32: 11-16
- [39] Mahmood A, Lu D, Wang L, et al Treatment of traumatic brain injury in female rats with intravenous administration of bone marrow-stromal cells[J]. Neurosurgery, 2001, 49: 1196-1203
- [40] Laflamme M A, Merson D, Saffitz J E, et al Evidence for cardiomyocyte repopulation by extracardiac progenitors in transplanted human hearts[J]. Circ Res, 2002, 90: 634-640
- [41] Schmeisser A, Garlisch C D, Zhang H, et al Monocytes coexpress endothelial and macrophagocytic lineage markers and form cord-like structures in Matrigel under angiogenic conditions[J]. Cardiovasc Res, 2001, 49: 671-680
- [42] Fernandez Pujol B, Lucibello F C, Gehling U M, et al Endothelial-like cells derived from human CD14 positive monocytes[J]. Differentiation, 2000, 65: 287-300
- [43] Zhao Y, Glesne D, Huberman E. A human peripheral blood monocyte-derived subset acts as pluripotent stem cell[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100: 2426-2431.

Plasticity controversy and differentiation hypotheses of stem cells

MA Yong-jiang^{1,2}, YANG Xue-yi¹, DOU Zhong-yong¹

(1 College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

Abstract: The present review not only examined the different points of stem cell plasticity focused on the controversies of traditional views on stem cell potentiality and cell type variety, but also discussed the phenomenon of plasticity observed in the widely accepted animal models. In addition, the experimental results derived from research of trans-differentiation of somatic cells were summarized.

Key words: stem cell; plasticity; transdifferentiation; cell fusion; heterogeneity