

·学科进展·

干细胞的可塑性——一个新的研究领域

褚建新

(中国医学科学院血液学研究所实验血液学国家重点实验室,天津 300020)

[摘要] 综述了骨髓相关细胞向骨、软骨、肺、脑大小胶质细胞、骨骼肌、肝及血管内皮细胞等转化,神经干细胞和肌肉间叶细胞向造血细胞转化的研究进展。列举了干细胞可塑性研究的重要价值。

[关键词] 干细胞,可塑性,分化

1 骨髓细胞转化为其他组织细胞的研究

近年的研究证明,骨髓内造血干细胞不仅可分化成熟为各类造血细胞和免疫细胞,而且骨髓内的间叶细胞还可成为多种非造血组织的前体细胞。1995年 Pereira 等人^[1]的实验证明,小鼠骨髓间叶前体细胞在体外扩增后可成为骨、软骨和肺的前体细胞。作者利用表达人 I 型胶原抗原微小基因(COLI-AI mini gene)的转基因小鼠作为供体,以未转基因的 FVB/N 小鼠做受体。取供体骨髓经体外培养后的贴壁细胞(1X10⁵)与正常小鼠骨髓细胞(6X10⁵)混合,移植给分次照射 9.0Gy 的正常 FVB/N 小鼠。结果,于移植 1—5 月后,用 RT-PCR 的方法检测发现,骨、软骨和肺组织细胞有 1.5%—12% 带有供体基因表达,在肺实质内带有供体标记的细胞呈弥漫性分布,表明它们是来自骨髓前体细胞。更有意义的是,1999 年 Horwitz 等人^[2]用骨髓间叶前体细胞(同种骨髓来源)治疗了 3 例遗传性骨形成缺陷病(缺乏 I 型胶原)的儿童患者,3 个月后骨钙含量明显增加(平均 28g),远高于同年龄的健康儿童。为遗传性疾病的细胞治疗提供新的途径,骨髓间叶干细胞不再是二等公民了^[3]。

大脑小胶质细胞的来源尚有争议,可能来自神经上皮细胞或造血细胞;但神经原细胞和大胶质细胞(包括星形和小树枝状胶质细胞)从未见有脑外来源的报道。1997 年 Eglitis^[4]等人首次证明,成年动物造血细胞可分化为脑的大胶质细胞和小胶质细

胞。作者用 C57BL/6j 雄性小鼠为供体,用 5-氟尿嘧啶富集造血干细胞(HSC),用带有 Neor 包装细胞与之共培养,48h 后收集骨髓细胞。受鼠为雌性 WBB6F1/J-kitw/kitwv 小鼠,由于其干细胞有缺陷,有利于供鼠干细胞增殖。受鼠经亚致死量照射后移植上述细胞。共 46 只,38 只为 Neor 基因标记的 BMC,8 只为雄性骨髓细胞(BMC)。通过 Neor 转录本和 Y 染色体探针原位杂交,以及大胶质细胞抗原(f4/80)和星形胶质细胞抗原(GFAP)相结合的方法进行检测。结果证明,骨髓移植(BMT)后第 3 d 在脑组织中可检测到 Neor + 细胞,经计算为 300 个,2—4 周为 2 000 个,有的达 10 000—30 000 个/脑。分布于海马、中隔、下丘脑、皮质、松果体、桥脑和小脑等。免疫组化表明 10% 的 Neor + 细胞有神经胶质细胞特异性抗原表达,证明它们确系骨髓细胞转化而来。这就为将有治疗作用的基因转染到骨髓前体细胞,再转化为大小胶质细胞来治疗脑病提供了新的途径。

众所周知,肌肉的生长和修复是由肌纤维周围的卫星细胞(satellite cells)介导的,未曾发现其他细胞参与肌肉再生的报道。1998 年 Ferrari 等人^[5]在观察肌肉再生时发现,肌性前体细胞(myogenic precursors)数明显超过卫星细胞数,因而推测,肌肉再生可能有其他未分化的前体细胞参与。实验供鼠为 C57/M lacZ 转基因小鼠,用其 BMC 移植给免疫缺陷小鼠 scid/bg,由供体细胞重建造血。然后用心肌毒素(cardiotoxin)诱发受体胫骨前肌肉再生。结果表

本文于 2000 年 2 月 28 日收到。

明,肌肉损伤后2—3周,取肌肉冰冻切片检测发现 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BM来源的前体细胞参与肌肉再生过程,可形成完全分化的肌纤维。1999年Jackson^[6]等人用Hoechst33342-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。由于注入肌肉卫星细胞在5d内就融入肌肉纤维,而BM来源的 β -Gal+细胞至2周才在肌肉中出现,因而认为BMC转化为肌肉前体细胞是一个多步骤的过程,包括迁移,细胞分裂,定向肌肉分化,最终成熟和融合成肌肉,因而时间较长^[5]。

可喜的是,1999年Peterson等人^[7]报道了骨髓细胞还参与肝细胞再生。实验用不同种系的大鼠进行,先用同系大鼠的骨髓细胞,在性别或基因表型不同的大鼠中重建造血,并经PCR和不同表型抗原的检测所证明。然后用CCL4损害受鼠的肝脏或行肝切除术。通过Y染色体原位杂交和不同基因表型的检测,结果发现,肝损伤后第9—13d非实质性肝细胞,包括肝卵圆形细胞(为肝脏的干细胞,表达thy-1+),Y染色体为阳性;13d后,再生的肝细胞出现Y+信号,与肝卵圆形细胞分化为肝细胞同步,表明骨髓细胞参与了肝细胞的再生。根据肝脏切片Y染色体原位杂交的观察,Y+肝细胞占0.16%,估计有 1.0×10^6 肝细胞由BMC转化而来。由于输注的BMC没有组分。因此,是何种BMC参与了肝细胞再生尚不能确定。此外,有作者用狗移植模型做实验,证明骨髓CD34+细胞可转化为血管内皮细胞^[8]。到目前为止,由骨髓相关细胞转化为其他组织细胞的有骨、软骨、肺、脑的大小胶质细胞、骨骼肌、肝以及血管内皮细胞等。

2 神经干细胞转化造血细胞的研究

脑室管膜细胞是一种已经特化的细胞,似乎不能再分化为其他组织和细胞了。但1999年,Johansson等人^[9]的研究证明,脑室管膜细胞,而不是以前认为的室管膜下区某种细胞,可产生新的神经原细胞和胶质细胞,因而它是一种多潜能的干细胞,即神经干细胞(NSC)。这种来自外胚叶的NSC能否分化造血细胞呢?这是以前不可想象的事。Bjornson等人^[10]用胚胎的和成年的NSC,以及在体外克隆的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。该文在《Science》上发表,编者称这是一项惊奇的发现。为了获得NSC向造血细

胞转化的确切的证据,作者用带有LacZ基因标记的ROSA26转基因小鼠(BALB/CH-2Kb,)为供鼠,受鼠为BALB/cH-2Kd,经亚致死剂量照射后,分别移植体外培养的胚胎的和成年的ROSA26小鼠前脑NSC(106/只);为了排除间叶来源细胞的污染,还移植了由成年ROSA26小鼠脑克隆的NSC(ROSA26/NSC)。结果证明,上述3种不同来源的NSC于移植后5—12个月,受鼠脾脏的DNA用PCR方法都能检测到LacZ基因;用小鼠BMC做集落培养,X-gal组化染色也显示为阳性,其中粒细胞集落(G)为13%,粒/巨噬细胞(GM)30%,单核细胞(M)22%,混合性(Mix)19%。受鼠的骨髓、脾和周围血细胞,用流式细胞仪进行H-2抗原(ROSA26 H-2Kb和BALB/cH-2Kd)和T(CD3e)、B(CD19)和髓系(CD11b)单抗双标记检测,结果进一步证明NSC在受体内可产生各类造血细胞。移植NSC后周围血中出现供体来源的细胞的时间(20—22周)比骨髓移植对照组(16—18周)明显增长。作者提出,由于人类NSC可长期持续地扩增^[11],因此,如果小鼠的上述研究结果在人类得到证实,那么人类的NSC可能提供一种有更新能力的(renewable)细胞来源,用于各种血液病的造血重建。

3 骨骼肌间叶细胞转化造血细胞的研究

如前所述,BMC可转化为肌肉前体细胞,参与肌肉再生。那么,肌肉间叶细胞能否成为造血细胞的前体细胞呢?Jackson等人^[12]在1999年最后1期的美国PNAS报道了这一研究结果。实验是用C57BL/6-Ly-5.1小鼠进行的。取小鼠大腿肌肉,按照制备肌肉卫星细胞的方法在体外培养5d后收集细胞。受体为C57BL/6-Ly-5.2,分次全身照射11.0 Gy。然后移植按上述方法制备的肌肉卫星细胞 18×10^3 和 200×10^3 的C57BL/6-Ly-5.2小鼠BMC,后者是为了使照射小鼠度过急性放射损伤期。共移植了6只小鼠。结果发现,于移植后第6周,在周围血中可见Ly-1.5+B细胞、T细胞和粒/巨噬细胞,平均为 $(56 \pm 20)\%$ 。由于输入肌肉细胞比BMC少11倍,而生成的造血细胞高于BMC移植鼠,故推算肌肉产生的造血活性要比骨髓高10—14倍。移植后12周Ly-1.5+细胞平均达到 $(53 \pm 15)\%$ 。1只小鼠(周血Ly-1.5+细胞为79%)活杀取BMC再移植给5只致死剂量照射的Ly-5.2+小鼠,小鼠全部活存,5周后周围血Ly-1.5+细胞平均为 $(37 \pm 23)\%$ 。其中1只小鼠活杀检测了BMC Ly-5.1+细胞数为63%,

约0.03%为干细胞表型。

我们实验室早在90年代初,在用骨形态发生蛋白(BMP)在骨髓外再建骨髓的实验研究中,提出造血干细胞有可能来自BMP植入部位(包括肌肉)的间叶细胞,并进行了多方面的研究。本实验室庞文新(Blood, 2000年,印刷中)在体外用BMP诱导小鼠肌肉间叶细胞实验中,发现给致死剂量照射小鼠输入未加BMP培养的肌肉细胞有个别小鼠存活,并初步证明其造血细胞是来自供体细胞。提示肌肉中可能存在能转化为造血的前体细胞。这一发现显然早于Goodell实验室^[12]。以上结果表明,小鼠骨髓间叶细胞有明显造血分化能力,移植后3个月能分化各系造血细胞;通过竞争增殖试验证明,肌肉来源的HSC的增殖活性比骨髓高10—14倍;肌肉中有多种细胞,向造血细胞分化的可能为卫星细胞。

4 干细胞可塑性研究的重要价值

以上研究证明,成年动物组织中存在一种多潜能的间叶干细胞,甚至已转化的功能细胞,在特定条件下可转化(或分化)为与己不同的细胞,这就是体细胞的可塑性。神经原细胞原认为不能再生,现在被认为是最可塑性的^[13]。可以预料,不久将有更多的体细胞相互转化被揭示出来。

体细胞在体内条件下可塑性的揭示,是继克隆羊成功后细胞生物学研究又一突破性进展,它给我们开阔了新的思路,提出了许多新的研究课题,是细胞生物学研究的一个新的领域,具有重要的理论意义和实用价值。

(1)组织间叶干细胞可塑性的揭示,提示成年组织干细胞可能存在广谱的分化潜能;人类组织工程细胞的来源不一定取自胚胎干细胞,可从自体的体细胞中获得,因而可不受组织相容性的限制。

(2)造血干细胞的概念需要更新,造血干细胞不仅是CD34⁺和/或CD34⁻细胞,或更早发育阶段的细胞,而且还应考虑来自体内其他组织的间叶干细胞,如肌肉间叶细胞、神经干细胞等。这些细胞由于在体外能长期培养和扩增,增殖潜能强,不需组织配型,无肿瘤细胞污染等优点,因而有可能代替骨髓移植用来治疗一些恶性疾患。

(3)组织间叶细胞可塑性的研究证明,组织微环境在细胞转化中具有非常重要作用。Jackson等人在分析肌肉细胞转化为造血细胞时明确提出,肌肉卫星细胞转化为造血细胞更多地是决定于环境信号,而不是原组织的信号。因此,深入研究组织微环

境在细胞转化中的分子机制有着十分重要的意义。

(4)组织间叶干细胞常向病理部位迁移,成为它们的间叶前体细胞,并分化为终末成熟细胞的特性。因而,不仅可利用它来修复组织的损伤,而且还可把它作为基因治疗的理想载体。如许多药物和蛋白因子难以通过血脑屏障,如以骨髓来源的细胞作基因载体,利用它输入后成为脑的胶质细胞,将有治疗作用的蛋白产物释放到中枢神经系统,则可长期发挥治疗作用;而且其转化的速度较快(约3d),因而有可能用于急性脑病^[4]。又如许多骨骼、肌肉和肺间质性疾病是全身性或弥漫性的,利用骨髓来源的细胞作载体进行基因治疗,将有广泛的应用前景。

通过以上几方面的研究,将大大加速干细胞在人类各种疾病中的应用。新近,国际权威杂志《Science》开辟专栏就干细胞研究和伦理问题进行了讨论。一致认为开展干细胞研究将使千百万患者受益^[14],建议加大投入。

参 考 文 献

- [1] Pereira R F, Halford K W, O'Hara M D et al. Cultural adherent cells from marrow can serve as long-lasting precursor cells for bone, cartilage, and lung in irradiated mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995, **92**:4 857—4 861.
- [2] 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. *Nature Medicine*, 1999, **5**: 309—313.
- [3] Gerson S L. Mesenchymal stem cells: No longer second class marrow citizens. *Nature Medicine* 1999, **5**(3):262—264.
- [4] Eglitis M A, Mezey E. Hematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brains of adult mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, **94**:4 080—4 085.
- [5] Ferrari G, Cusells-De Angellis G, Coletta M et al. Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science*, 1998, **270**:1 538—1 540.
- [6] Jackson K, Hirschi K, Goodell. Hematopoietic stem cells can function as myogenic and endothelial precursors. *Blood*, 1999, **94**(10, suppl. 1):135.
- [7] Peterson B E et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science*, 1999, **284**:1 168—1 170.
- [8] Shi Q, Rafii S, Wu M H et al. Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. *Blood*, 1998, **92**:362—367.
- [9] Johansson C B, Momma S, Carke D L et al. Identification of a neural stem cell in the adult mammalian central nervous system. *Cell*, 1999, **96**:25—34.
- [10] Bjornson C R R, Rietze R L, Reynolds B A et al. Turning brain into blood: A hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. *Science*, 1999, **283**:534—537.
- [11] Flax J D, Aurora S, Yang C et al. Engraftable human neural stem cells

- Respond to developmental cues, replace neuron, and express foreign gene. *Nature Biotechnol.*, 1998, **16**:1 033—1039.
- [12] Jackson K N, Mi T, Goodell M A. Hematopoietic potential of stem cells isolated from murine skeleton muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, **96**: 144 482—144 486.
- [13] Bjorklund A, Svendsen C. Breaking the brain - blood barrier. *Nature*, 1999, **397**:569—570.
- [14] Perry D. Patients' voices: The powerful sound on the stem cell debate. *Science*, 2000, **287**:1423.

PLASTICITY OF STEM CELLS—A NEWLY RESEARCH FIELD IN THE CELL BIOLOGY

Chu Jianxin

(*State Key Lab. of Experimental Hematology, Institute of Hematology, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300020*)

Abstract Recent reports have suggested that some ostensibly tissue-specific progenitors may have differentiation potential outside of their tissue of origin, that is to say stem cells derived from adult tissues may retain a previously unrecognized degree of plasticity. After bone marrow transplantation, donor-derived cells may be transformed to bone, cartilage, lung, astroglia in the brain, skeletal muscle, liver and vascular endothelial cells, etc. On the contrary, neural stem cells and skeletal muscle cells could repopulate the hematopoietic cells. This paper reviewed these achievements and made an evaluation in the further research.

Key words stem cells, plasticity, differentiation

·资料·信息·

国家自然科学基金委员会生命科学部与 国际水稻研究所签署合作协议

国家自然科学基金委员会生命科学部与国际水稻研究所(International Rice Research Institute, IRRI) 2000年6月2日在杭州签署了一项合作协议,双方将在未来5年内就有关水稻基础性研究和人才培养方面开展广泛的合作交流。该协议是继国家自然科学基金委员会1999年5月与国际小麦玉米改良中心签署合作协议后,与国际农业研究组织签署的第2个协议。这些协议的签署,标志着我们与国际农业研究组织的合作迈上了一个新的台阶。

IRRI成立于1960年,是世界银行和联合国粮农组织下属的国际农业研究咨询组织的16个研究所之一,同时它也是世界上最大的单一作物、独立的、非赢利性国际研究机构。IRRI的研究工作目标是:“研究、传播与水稻有关的科学技术,提高与水稻生产有关的短期与长期的环境、社会与经济效益,并帮助各水稻生产国开展水稻研究。”1999年,IRRI的研究经费为3246万美元。目前IRRI设有农学系、土壤与水科学系、植物病理系、遗传育种与生化系、农业工程系、社会科学系及培训中心,其研究课题覆盖了水稻科学的各个方面。

水稻是我国种植面积最大、总产量最高的粮食

作物,水稻的研究水平直接影响着水稻的产量水平和品质。国家自然科学基金委员会生命科学部非常重视对水稻研究工作的支持,先后组织了“湖北光敏核不育水稻育性转换机理研究”重大项目,“水稻起源与演化”、“水稻稻米品质性状遗传及环境调控机理研究”等方面的重点项目;近几年来,每年约资助35项有关水稻生理、营养、病理、遗传和资助方面具有核心地位的国际水稻研究所合作与交流,这将有利于双方优势互补,提高我国水稻研究的水平。

根据双方签署的协议,国家自然科学基金委员会和国际水稻研究所将共同资助有国家自然科学基金项目的科学家与国际水稻研究所的科学家围绕双方共同的优先研究领域开展的合作研究。目前,双方已就共同资助“水稻分子技术育种基础研究”项目达成共识,国际水稻研究所将出资35万美元,国家自然科学基金委员会将作为国际合作重点项目对该项研究给予资助。另外,双方还将共同资助承担中国国家自然科学基金项目的科学家和国际水稻研究所科学家之间的交流活动及在华召开的水稻方面的国际学术会议。

(生命科学部 冯锋 供稿)