

◆ 国家十二五规划图书·前沿科技聚焦

丛书顾问 / 谢家麟 刘嘉麒

人体更新之源 干细胞

贾艺峰◎著



科学普及出版社
POPULAR SCIENCE PRESS

国家十二五规划图书·前沿科技聚焦

丛书顾问：谢家麟 刘嘉麒

人体更新之源

干细胞

贾艺峰 著

科学普及出版社

·北 京·

图书在版编目 (CIP) 数据

人体更新之源——干细胞 / 贾艺峰著. —北京 : 科学普及出版社, 2015.7

(《前沿科技聚焦》)

ISBN 978-7-110-08925-5

I. ①人… II. ①贾… III. ①干细胞—普及读物
IV. ①Q24-49

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 134073 号

策划编辑	赵 晖 付万成
责任编辑	付万成 夏凤金
装帧设计	中文天地
责任校对	何士如
责任印制	张建农

出版发行	科学普及出版社
地 址	北京市海淀区中关村南大街16号
邮 编	100081
发行电话	010-62103130
传 真	010-62179148
网 址	http://www.cspbooks.com.cn

开 本	787mm × 1092mm 1/16
字 数	250千字
印 张	9.75
版 次	2015年7月第1版
印 次	2015年7月第1次印刷
印 刷	北京凯鑫彩色印刷有限公司
书 号	ISBN 978-7-110-08925-5 / Q·184
定 价	50.00元

(凡购买本社图书, 如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责调换)

前 言

自 1998 年美国科学家汤姆森（James Thomson）首次分离出人体胚胎干细胞，人类干细胞研究正式揭开帷幕，短短近二十年，干细胞研究的热潮此起彼伏，有关干细胞的新闻比比皆是，国内或国外的、胚胎或成人的、支持或反对的、官方或民间的、科研或临床的、成功或失败的……让人们眼花缭乱，很难从中理出头绪。面对种种纷乱，我们不禁要问，干细胞是什么？它们为何如此重要？它们承载的医学前景究竟是什么？当我们的身体出现疾病、功能衰退时，它们真的可以更新替换损伤衰老的组织器官吗？诱导干细胞与胚胎干细胞的区别在哪里？人类胚胎干细胞研究的伦理道德之争，孰是孰非？干细胞研究的政策变化意味着什么？允许做什么？不允许做什么？为什么干细胞临床应用似乎总是可望而不可即，是政策法规过于严厉？是科学家们的预言远远超越了现实？还是人为过度的渲染？

作为一门新兴前沿科学，干细胞的研究面临着种种前所未有的技术挑战，同时受到宗教、信仰、政治、经济和文化等诸多外在因素的影响。尽管人类干细胞的研究在过去数十年有着重大的进展，但其临床应用远远未达到预期目标，尤其是人类胚胎干细胞。当初的轰动和期望随着时间的推移和种种令人沮丧的临床试验结果而慢慢淡然，虽然诱导多能干细胞的发现，再一次轰动了世界激起干细胞研发的新热潮，但同样因为安全性问题，使它们的临床应用面临种种难以逾越的

挑战。正因如此，成体干细胞的研究逐渐得到再生医学和疑难疾病患者的极大关注和支持。目前有关成体干细胞的临床应用研究已经成为生命科学和医学界最活跃的领域，数以千计的临床试验在世界各国纷纷展开。但截至今日，除了造血干细胞的临床应用之外，其他干细胞疗法寥寥无几，大多数涉及干细胞的临床治疗仍然处于早期研发阶段。

千古以来，人们对“长生不老”梦寐以求，干细胞的发现为人类通向健康长寿的梦想种下了希望，人们期待着实现干细胞所承载的许诺，渴望着它们能为种种不治之症提供新的治疗途径和手段，使人类不再被诸多衰老退变性疾病所困扰，但实现干细胞的临床应用也绝非预期的数十年之遥。如同许多处于开拓阶段的科学领域，新的进展往往会引发出更多的相关问题，干细胞的研究面临越来越多的技术挑战，比如：治疗需要多少干细胞，它们在受者体内会被排斥吗？可以生存多长时间？能继续自我复制吗？可以自主到达指定的组织或器官内分化成为预期的功能细胞吗？怎样防止它们形成畸胎瘤和其他组织细胞类型？

在干细胞研究发展的过程中，难免会有挫折和失败，骨髓造血干细胞在临床上的成功应用，标志着干细胞疗法在未来医疗中起着重大作用，如何面对社会质疑、科研挫折、伦理道德的挑战，实现干细胞所承载的健康长生梦想，需要全社会的理解和支持，需要一代又一代的科学家们投身于这一引人入胜的非凡领域。本书通过介绍人类干细胞研究的历史和现状，希望能帮助读者了解干细胞研究的意义，也希望能帮助读者了解伦理道德和政策法规在人类干细胞研究中的作用和意义。

目录

前 言

第一章 干细胞概论 / 001

第一节 胚胎干细胞 / 003

第二节 成体干细胞 / 008

第三节 诱导多能干细胞 / 010

第四节 生物学专业术语和相关技术 / 012

第二章 干细胞研究与伦理和政策的交锋 / 019

第一节 新生命的起点 / 019

第二节 国家政策对人胚胎干细胞研究的影响 / 021

第三节 克隆人 / 023

第四节 克隆人胚胎 / 029

第五节 决策与科研的沟通平台 / 033

第三章 临床试验与法律法规 / 035

第一节 临床试验简史 / 036

第二节 临床试验的基本方法 / 037

第三节 临床试验的监管体系 / 039

第四节 知情同意书和伦理审查委员会 / 048

第五节 干细胞临床试验规范化管理 / 055

第四章 胚胎干细胞的临床研究现状与未来 / 057

- 第一节 优势与风险 / 057
- 第二节 体外扩增 / 058
- 第三节 细胞移植与免疫排斥 / 060
- 第四节 现状与未来 / 061

第五章 成体干细胞的临床研究现状与未来 / 068

- 第一节 优势与挑战 / 068
- 第二节 质量控管 / 070
- 第三节 临床前研究 / 071
- 第四节 现状与未来 / 072

第六章 骨髓移植 / 087

- 第一节 骨髓移植之父：唐纳尔·托马斯 / 088
- 第二节 造血干细胞之父：非谁莫属 / 095
- 第三节 造血干细胞与骨髓移植 / 102
- 第四节 移植物抗宿主反应 / 105
- 第五节 挑战与未来 / 108

第七章 干细胞与人类疾病模型 / 110

- 第一节 动物模型 / 110
- 第二节 小鼠基因敲除 / 111
- 第三节 大鼠基因敲除 / 115
- 第四节 其他动物模型 / 117
- 第五节 细胞模型 / 119

第八章 诱导多能干细胞的研究现状与未来 / 122

- 第一节 临床优势与风险 / 122
- 第二节 临床研究进展 / 123
- 第三节 基础研究进展 / 126

第四节 挑战与未来 / 127

第九章 干细胞与再生医学 / 130

第一节 动物再生模型 / 131

第二节 再生的方式 / 134

第三节 人体组织和器官的再生 / 138

第四节 干细胞与再生医学 / 141

第五节 展望未来 / 144

干细胞概论

干细胞是指体内所有尚未分化的细胞，它们具有强大的自我复制功能和分化成为其他类型细胞的能力。干细胞在生命中的重要性主要体现在两个方面：①它们是个体发生和发育的基础。人的精子与卵子的结合形成受精卵，它是启动生命的第一个干细胞，人体内所有的细胞均来源于它；②从胚胎发育到生命终止，干细胞存在于生命的各个阶段，在身体的生长、维修、更新、损伤修复中起着主要作用。干细胞的发现之所以引起了全世界的关注，因为人们期望可以利用它们的功能，治疗目前医学上的疑难杂症，更新改善衰老退变器官的生理功能。

目前用于科学研究的人类干细胞主要有 3 种类型：胚胎干细胞（embryonic stem cell）、成体干细胞（somatic stem cell）和诱导多功能干细胞（induced pluripotent stem cell）（图 1-1）。胚胎干细胞指的是胚胎发育早期的细胞，成体干细胞的概念比较广泛，包括来自胎儿、胎盘、脐带血和成人组织中的干细胞；诱导多能干细胞是通过人工操作，用转基因方法将非干细胞转化成为类似于胚胎干细胞。三类干细胞具有 3 大共同特征：未分化、具有自我复制和形成其他细胞类型的潜能；它们之间的差异主要表现在潜能的高低：胚胎干细胞在体外具有无限自我复制潜能，可以分化成人体内所有的细胞类型；成体干细胞是胚胎干细胞的后代，在体外自我复制的能力相对有限，通常定向分化形成相应的细胞类型；诱导多功能干细胞的自我复制和分化能力类似胚胎干细胞。

干细胞的差异性使它们在基础研究和临床应用上各具优缺点，比如，胚胎干细胞可以在体外大量扩增，满足临床应用所需，它们强大的分化能力可以用于制备不同功能的细胞来治疗相应疾病，但研究者们还不能控制胚胎干细胞输入体内后的生长分化，极大地增加了临床应用的风险，目前多用于基础研究。成体干细胞虽然不易大量培养，但分化相对稳定，临床应用的安全性远远高于胚胎干细胞，目前很多类型的成体干细胞已经进入临床研究阶段。诱导多功能干细胞具有在体外大量扩增和分化成为其他细胞的优势，它们的制备不需要破坏胚胎，但因为缺乏对细胞转化机理的了解，临床应用的安全性有待进一步评估，目前以基础研究为主。

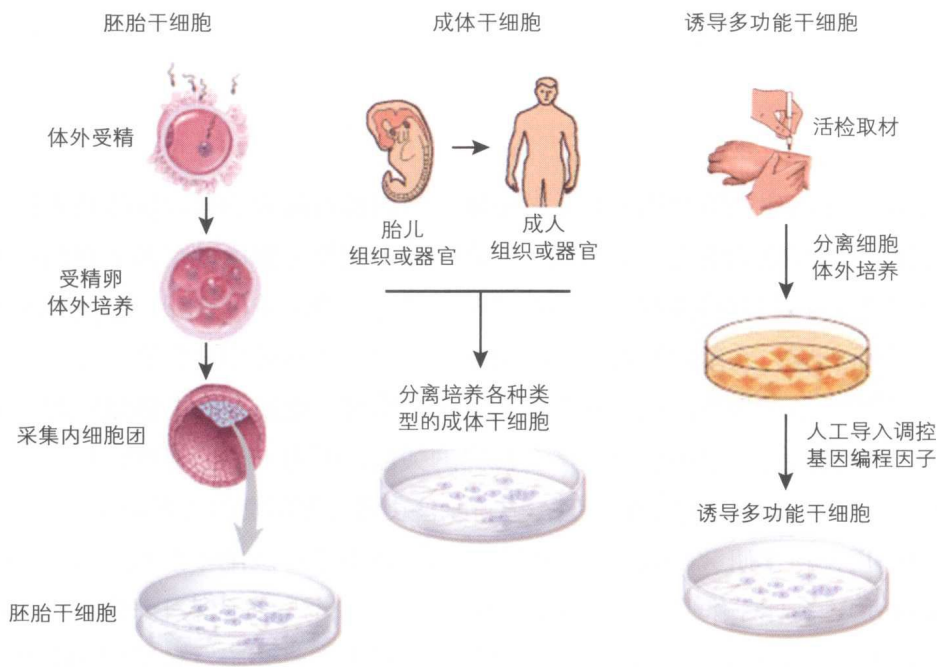


图 1-1 胚胎干细胞、成体干细胞和诱导多功能干细胞的制备流程

胚胎干细胞，成体干细胞，诱导多功能干细胞所具有的不同生物学属性为科学家们创造了从不同层次、角度、发育阶段探索人生长发育的奥秘，他们希望通过研究调节控制干细胞生长分化的机制，了解衰老退变性疾病以及癌症发生发展的原因和机理，进而能够充分利用不同干细胞的优势，为预防和治疗目前医学不治之症提供安全有效的途径。下面我们首先了解一些干细胞研究中的重大发现和现状。

第一节 胚胎干细胞

如同许多重大生物医学的发现一样，胚胎干细胞的发现首先来自对动物的研究。1981年，英国和美国两组科研团队相继发表了分离培养小鼠胚胎干细胞的方法，首先是英国剑桥大学的马丁·埃文斯（Martin Evans，图1-2）和马修·卡夫曼（Matthew Kaufman）发表在1981年7月《自然》杂志上建立小鼠胚胎干细胞论文[*Nature*, 292 (5819): 154-6, 1981]，同年12月加州大学的格尔·马丁（Gail R. Martin，图1-3）在*PNAS*上发表的论文[*Proc Natl Acad Sci USA* 78 (12): 7634-8, 1981]，马丁·埃文斯是格尔·马丁的导师，20世纪70年代初期格尔·马丁在他的实验室从事博士后研究。1998年，在小鼠胚胎干细胞建立17年之后，威斯康星大学的詹姆斯·汤姆森（James Thomson，图1-4）教授首次发表了建立人胚胎干细胞系的论文[*Science*, 1998, 282 (5391): 1145-7]。

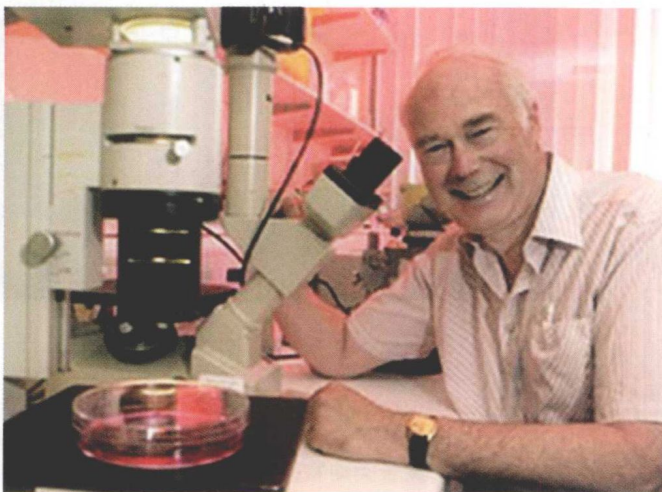
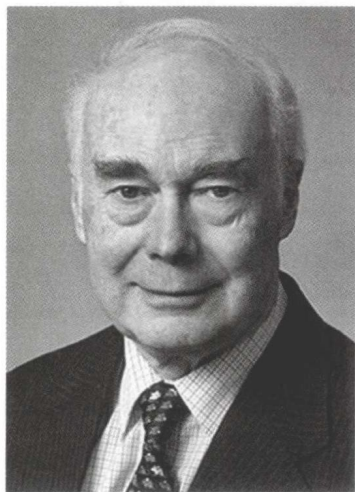


图1-2 马丁·埃文斯（Martin Evans）于1941年1月1日出生在英国，1963年毕业于剑桥大学，1969年获得伦敦大学学院博士学位。1980年他开始与马修·考夫曼合作研究小鼠胚胎发育，1981年二人在学术权威杂志《自然》上发表了小鼠的囊胚分离胚胎干细胞的方法。



图 1-3 格尔·马丁 (Gail Martin) 于 1971 年获得美国加州大学伯克利分校的博士学位，随后赴英国伦敦大学在马丁·埃文斯的实验室做博士后，当时的格尔还是一个不起眼的博士后研究员，1974 年格尔·马丁发现了培养干细胞的方法。1976 年格尔·马丁回美国，在美国加州大学旧金山分校任职。1981，几乎与马丁·埃文斯的实验室同一时间，格尔·马丁的加州实验室也发表了从小鼠胚胎组织中分离出胚胎干细胞的论文。

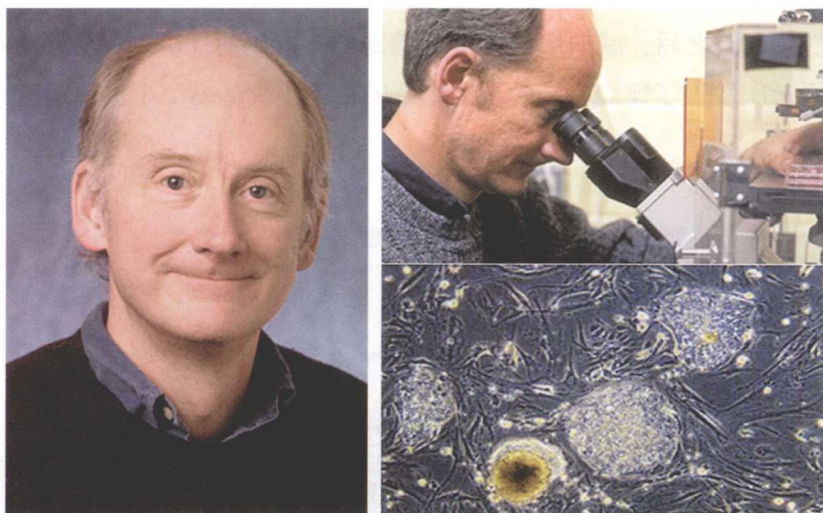


图 1-4 詹姆斯·汤姆森 (James Thomson) 于 1958 年 12 月 20 日生于美国，1981 年获得伊利诺伊大学生物物理学学士学位，1985 年和 1988 年分别获得宾夕法尼亚大学兽医博士学位和分子生物学博士学位。1989—1991 年汤姆森作为博士后研究员在俄勒冈国家灵长类动物研究中心，灵长类动物体外受精和胚胎实验室工作，1991—1994 年在威斯康星—麦迪逊大学完成了兽医病理学住院医师。1998 年汤姆森首次建立了人的胚胎干细胞系，被美国《时代》杂志誉为 2001 年“美国最佳科学家”。右上图是汤姆森在显微镜下观察培养的人胚胎干细胞，右下图他培养的人胚胎干细胞的显微图像。

如上所述,受精卵是人体所有细胞之祖,由其而来的胚胎干细胞可以根据它们的分化潜能,分为全能干细胞(totipotent stem cell)和亚全能干细胞[pluripotent stem cell(图1-5)]。全能干细胞是指受精卵最初的1~3分裂所产生的2~8枚细胞,这些细胞聚集成团,还没有开始分化,其中任何一个细胞都具有形成胚胎、胎盘和胎膜的能力,也就是说在适当的环境中,每一个细胞可以发育成胎儿,所以称之为全能干细胞。随着全能干细胞的分裂,细胞数目迅速增加,细胞团内出现空腔,细胞开始初步分化,位于腔壁细胞称为滋养层,将来形成胎盘、胎膜;位于腔内的细胞称为内细胞团,这些细胞未来生长发育成胎儿,但它们不能形成胎盘和胎膜,所以称为亚全能干细胞。用于科学研究的胚胎干细胞通常来自胚胎的内细胞团。

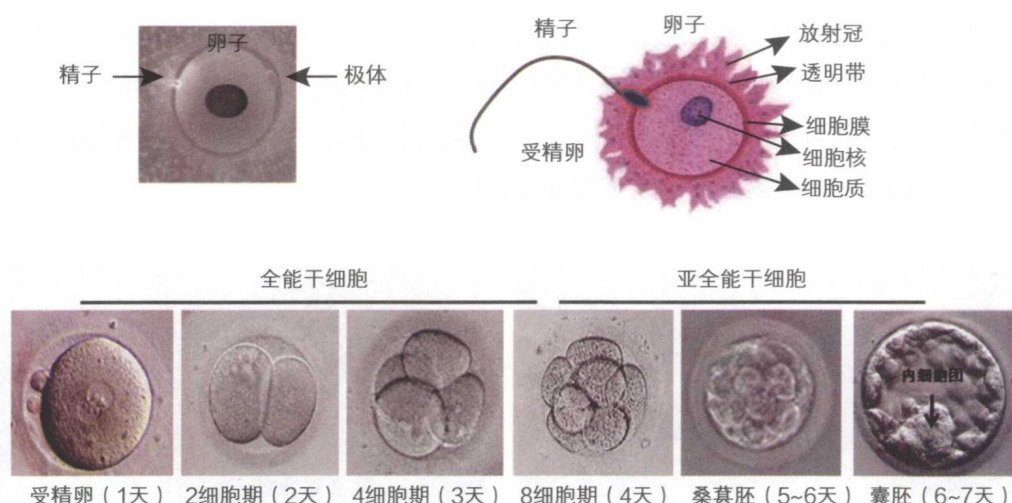


图1-5 全能干细胞和亚全能干细胞发育图解。精卵结合标志着胚胎发育的开始,受精卵最初1~3天时分裂产生的每一个细胞都具有发育胎儿、胎盘和胎膜的潜能,所以称为全能干细胞。在4天左右,全能干细胞继续分裂,它们的后代细胞聚集成球型,外形类似桑葚,称为桑葚胚。桑葚胚的细胞进一步分裂分化,内部出现空腔,称为囊胚。位于囊胚腔外层的是滋养层细胞,主要形成胎盘,为胚胎发育提供营养,位于里面是内细胞团,未来发育形成胎儿,但是不能形成胎盘和胎膜的部分,称为亚全能干细胞。

这里需要指出的是胚胎干细胞只存在于胚胎发育的早期阶段,随着胚胎的生长发育,全能干细胞和亚全能干细胞将迅速演变成为其他类型的细胞包括多能干细胞或单能干细胞。亚全能干细胞的英文名称是“pluripotent stem cell”,常

常被翻译成多功能干细胞，但它的英文意思与“multipotent stem cell”相差甚远，所以在此书将“pluripotent stem cell”译为亚全能干细胞，“multipotent stem cell”译为多功能干细胞，以避免字面上混淆也更符合英文原意和二者的生物学属性。

制备胚胎干细胞需要利用人的早期胚胎，它们的制备与体外受精技术的发展密切相关。体外受精是用于治疗不孕的方法之一，在这个过程中，通常会制备数十个胚胎，从中挑选2~3个植入母体，剩余的胚胎可以超低温储存以备后用或者丢弃，也可以用于科学研究。研究人员将多余胚胎转移到培养皿中，把细胞分散在培养皿表面，加入培养液，放入无菌、恒温、恒湿的条件下培养（图1-6）。为了支持人胚胎干细胞的生长，培养皿表面需要预先铺满一层小鼠的胚胎细胞，这些细胞已经被处理过，不会再分裂，它们的作用相当于胚胎滋养层细胞，供人胚胎干细胞贴附其表面，并释放营养物质进入培养液中，帮助人胚胎干细胞保持在无分化自我复制状态。当培养皿内长满人胚胎干细胞时，可以收集细胞，分放到新的培养皿中继续培养，称为传代；也可以将它们分装在冷冻管中，冻存在液氮中，需要时解冻，继续培养，这个过程称为复苏。



图1-6 细胞或早期胚胎均可以超低温长期储存。通常是将细胞或胚胎放入冷冻培养液，分装到冷冻小管中，做好标记，放入液氮（ -196°C ）中长期储存，需要时可以取出解冻，将胚胎植入母体发育或者继续进行细胞培养。如果冻存条件适当，细胞和胚胎都可以存活数十年以上。

目前对胚胎干细胞的鉴定还没有统一的标准，常用以下数种方法综合检测：

- （1）长期连续培养：确定细胞能否可以长期自我复制；
- （2）反复冷冻复苏：确定细胞能否持续生长；

(3) 定期检测特定转录因子的表达水平: 转录因子可以调控基因的开启和关闭, 在干细胞的生长分化过程中起着重要作用, 比如 Oct4、Sox2、Nanog 等;

(4) 定期检测干细胞标记蛋白: 因为还没有发现干细胞的特异标记蛋白, 通常需要用数种标记蛋白综合检测, 比如 Sca1、STRO-1、CD29、CD105、CD44、CD34 等;

(5) 定期检测分化功能:

1) 自发性分化: 在合适的培养条件下, 胚胎干细胞可以长期处于自我复制的未分化状态, 但如果让培养的胚胎干细胞聚集成团, 可以诱发它们自然分化形成肌肉细胞或神经细胞等;

2) 诱导性分化: 在培养液中添加化学试剂或细胞生长因子可以诱导胚胎干细胞分化成为其他功能细胞, 比如心肌细胞、骨骼肌细胞、神经细胞等;

3) 畸胎瘤: 将胚胎干细胞接种在免疫缺陷型的裸鼠体内, 它们在小鼠体内生长发育成畸胎瘤。畸胎瘤是多种组织细胞的混合物, 表明胚胎干细胞可以在体内分化形成不同类型的细胞。

从人胚胎中分离培养胚胎干细胞的成功率很低, 胚胎干细胞对培养条件要求非常苛刻, 培养的过程中可能因为各种原因而丢失, 比如微生物污染或者自然分化, 因为一旦分化成其他细胞, 胚胎干细胞就丧失继续自我复制的能力。如果经过多次传代后胚胎干细胞仍然保持未分化的状态, 染色体没有异常变化, 就可以称为胚胎干细胞系, 这时就可以进行大量扩增, 分批冻存, 需要时可以复苏或者提供给其他实验室进行研究。

人胚胎干细胞强大的生长分化能力蕴藏着巨大的临床应用价值, 如何控制胚胎干细胞输入体内后的生长分化是临床应用的关键。早期动物实验发现, 植入动物体内的胚胎干细胞往往形成畸胎瘤 (teratoma, 图 1-7), 虽然可以手术切除畸胎瘤, 但如果发生在大脑或心脏等重要部位, 会有致命性的危险。所以研究者们非常担心胚胎干细胞输入患者体内后的命运, 如果它们在体内的生长分化失控, 就有导致肿瘤或者畸胎瘤, 或者植入非靶组织、形成非靶细胞等风险。基于上述原因, 目前有关人类胚胎干细胞的临床试验非常有限。科学家们希望通过更多的基础研究, 阐明控制胚胎干细胞生长分化的机理, 早日将它们用于治疗多种不治之症, 比如: 帕金森氏病、糖尿病、脊髓损伤、肌肉萎缩、心肌梗死以及视力和听力等功能性衰老退化疾病。

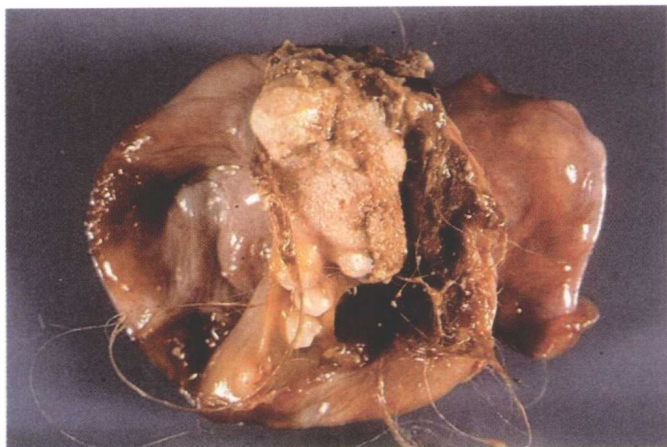


图 1-7 畸胎瘤 (teratoma) 是一种特殊类型的肿瘤，来自生殖细胞的异常生长，瘤体内常见毛发、牙齿、软骨、脂肪、腺体等组织。大多数畸胎瘤属于良性肿瘤，可以通过手术切除。人胚胎干细胞植入免疫缺陷小鼠体内后，形成畸胎瘤概率可高达 100%。

第二节 成体干细胞

成体干细胞的研究可以追溯到 19 世纪，但主要开始于 20 世纪 50 年代，早期研究对象主要是骨髓干细胞，科学家们发现骨髓中包含至少两种干细胞：造血干细胞和间质干细胞。骨髓造血干细胞可以分化形成各种血液细胞，现已被广泛地用于多种血液性疾病和癌症的治疗。骨髓间质干细胞可以分化成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞，并为造血干细胞提供生长分化的微环境，可以辅助骨髓干细胞疗法。随着生物医学研究的发展，人们发现不同类型的干细胞广泛存在于人体多种组织和器官中，它们组成体内的修复系统，在生理状态下，它们可分裂分化更新替代衰老损伤的细胞，维持生长与衰退的平衡；在病变或损伤时，它们可以生长分化成为特定功能细胞，修复损伤促进再生。这些干细胞统称为成体干细胞。

成体干细胞的名称常常根据它们所在组织或器官而定，比如心肌干细胞，骨骼肌干细胞，造血干细胞等。根据成体干细胞的分化功能，可以将它们分为两大类：多功能干细胞 (multipotent stem cell) 和单功能干细胞 (unipotent stem cell) (图 1-8)。多功能干细胞可以分化形成同一家族内的不同细胞类型，比如造血干细胞可以分化形成各种血液细胞，比如红细胞、血小板、B 淋巴细胞、T 淋巴细胞、中性粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、单核细胞；间充质干细

胞分化形成结缔组织细胞，比如成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞；神经干细胞可以分化形成神经细胞、星形胶质细胞、少突胶质细胞。而单功能干细胞通常只能分化成一种特定的细胞类型，比如骨骼肌干细胞只能分化成骨骼肌细胞，而心肌干细胞只能分化成心肌细胞。

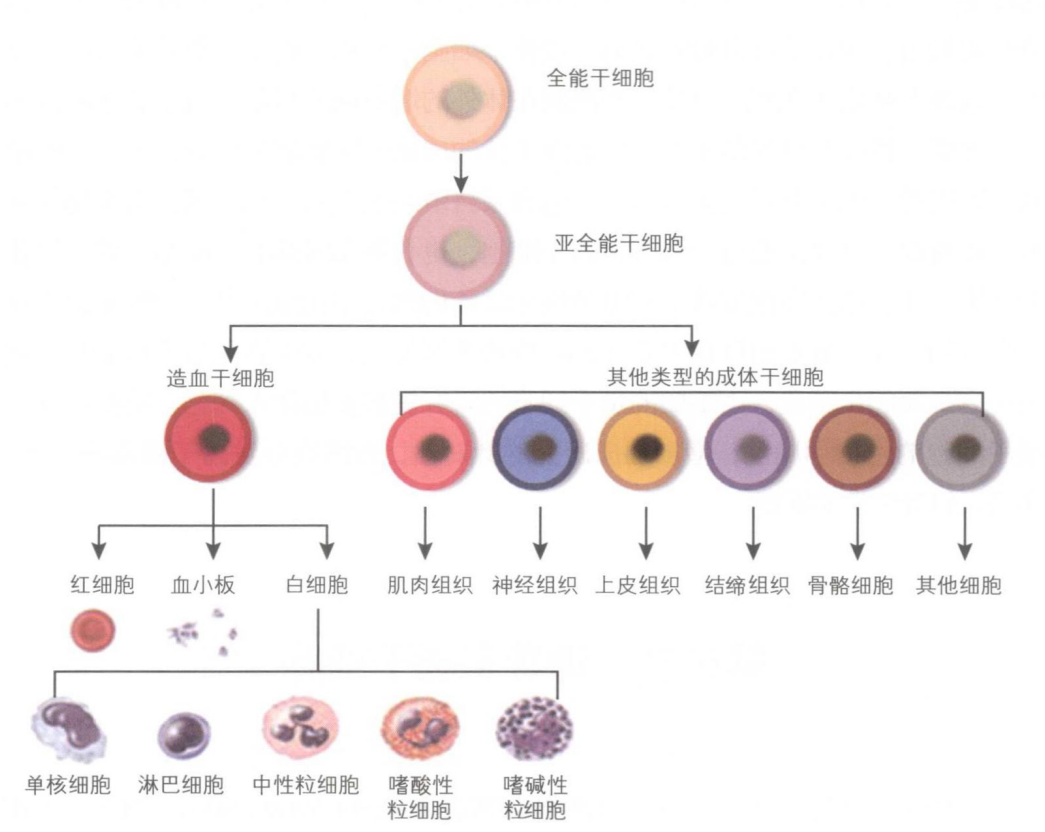


图 1-8 全能干细胞到成体干细胞的分化示意

成体干细胞的研究常常受限于人体组织材料的来源，目前研究最多的是从骨髓、外周血、脂肪、皮肤和肌肉组织中分离的干细胞，因为在正常情况下，基本上不可能采集人体其他的组织和器官。为了扩大成体干细胞的研究范围，很多研究者利用流产胎儿以及附属组织，比如羊水、羊膜、脐带和胎盘，分离培养不同类型的成体干细胞，探索它们的生物学属性以及临床应用的可行性。已有报道指出胎儿时期的干细胞免疫原性比较低，而自我复制的能力高于同类来自成人的干细胞，表明它们可能比成人的干细胞更适合临床应用。