

国家“十一五”重点图书出版项目
——生物医学实验技术系列丛书

GANXIBAO
干细胞
应用新技术

YINGYONG XINJISHU

主编◎杨晓凤 张素芬 郭子宽



国家“十一五”重点图书出版项目——生物医学实验技术系列丛书

干细胞应用新技术

主 编 杨晓凤 张素芬 郭子宽

军事医学科学出版社

· 北 京 ·

内 容 提 要

本书是一部系统介绍干细胞技术在再生医学领域中的临床研究与应用专著。共分6章,详述了干细胞基础知识、干细胞实验条件与设备、干细胞保存与复苏、治疗性干细胞制备技术、干细胞临床应用技术、国内外干细胞研究政策与发展前景等。本书内容系统全面,科学性、实用性强。适于广大临床医师、高等院校师生、医疗科研工作者学习参考。

图书在版编目(CIP)数据

干细胞应用新技术/杨晓凤,张素芬,郭子宽主编.

-北京:军事医学科学出版社,2010.7

ISBN 978-7-80245-474-3

I. ①干… II. ①杨… ②张… ③郭…

III. ①干细胞-新技术应用 IV. ①Q24-39

中国版本图书馆CIP数据核字(2010)第063318号

出 版:军事医学科学出版社

地 址:北京市海淀区太平路27号

邮 编:100850

联系电话:发行部:(010)66931051,66931049,63827166

编辑部:(010)66931127,66931039,66931038

传 真:(010)63801284

网 址:<http://www.mmssp.cn>

印 装:北京冶金大业印刷有限公司

发 行:新华书店

开 本:787mm×1092mm 1/16

印 张:29(彩18)

字 数:488千字

版 次:2010年7月第1版

印 次:2010年7月第1次

定 价:60.00元

本社图书凡缺、损、倒、脱页者,本社发行部负责调换

《干细胞应用新技术》编委会

主 编 杨晓凤 张素芬 郭子宽

副主编 (按姓氏笔画排序)

孙鲁申 孙凌云 杨 波 郑红光

高连如 郭晓钟 韩 斌

编 委 (按姓氏笔画排序)

马英桓 王 华 王 迪 王玉慧 王红梅

尹富华 边素艳 闫 杨 吕 欣 吕乃武

刘心平 许忆峰 孙鲁申 孙凌云 苏东风

杨 波 杨晓凤 李 红 李晓敏 李鉴峰

李成浩 吴雁翔 宋 楠 张 诚 张素芬

张轶斌 张德伟 陆 辉 林 宁 昌广萍

周金旭 庞 剑 郑红光 单 鸿 贾建平

徐 冬 高连如 高翠华 郭子宽 郭晓钟

黄胜男 曹 宁 崔激平 韩 斌 戴 嵩

前 言

本书是一部系统介绍干细胞技术在再生医学领域中的临床研究与应用的专著,是由致力于干细胞研究和长期在临床第一线工作的骨干医师和专家撰写而成。

1998 年 Thomson 实验室和 Shamblott 实验室分别成功地建立了人体胚胎干细胞系,在全球掀起了继人类基因组计划之后的又一次生物医学的革命,先后被美国《Science》杂志分别于 1999 年、2000 年评为年度十大科技成就。2007 年度诺贝尔生理学或医学奖授予了美国和英国科学家,以表彰他们在干细胞研究方面所作出的贡献。鉴于干细胞的重要性,奠定了其在医药卫生、科技产业、国防等领域内的重要地位,各国政府和科学家们把干细胞技术的研究、开发和应用作为一项人类的健康工程。

以干细胞技术为代表的再生医学之所以受到全球瞩目,是由于干细胞给目前还难以或无法治愈的肌萎缩侧索硬化症、老年性痴呆、心脑血管疾病、糖尿病、肌营养不良及恶性肿瘤等疾病的治疗带来希望。本书的作者汲取了国内外专家在干细胞基础研究方面的宝贵经验,并结合在动物实验研究基础上对干细胞治疗技术进行的临床研究编著本书,有些研究成果已得到国内外专家的肯定与赞许。

目前,对干细胞基础研究仍处于初期阶段,临床应用研究还只是刚刚起步,还需要一代甚至几代人的不懈努力。有待解决的问题还很多,如:干细胞在再生医学中的作用机制是什么,如何掌握各种疾病应用的适应证和禁忌证,干细胞产品能否标准化等等。总之,制定一套干细胞

技术应用规范化、标准化的管理条例,是引导干细胞技术临床应用与研究和健康发展的重要内容。

自2004年以来,有100余所医院的医师来我院共同探讨干细胞技术,他们经常提出希望得到有关干细胞应用技术方面的资料的想法,这就是我和编委们撰写本书的初衷。本书涉及的各种疾病治疗方案,都是编委们不断探索、艰苦实践的成果。尽管如此,尚可能存在对干细胞技术认知上的片面性和局限性。在您阅读本书时会有所收获,也可能会有不同意见,甚至观点相悖,这无可厚非。因为干细胞技术领域有如浩瀚汪洋,本书所展示的内容也仅是冰山一角。当今我国已经拥有一批干细胞基础研究的领军人物,还需要一批具有自主创新的理念、探索未知领域的勇气、甘愿为苦难中的患者和医学事业献身的医务工作者,他们必将成为中国干细胞应用技术领域的引领者。

带着目标上路的人,当会勇往直前。

编 者

目 录

第1章 绪论	(1)
1 概述	(1)
2 干细胞基础知识	(1)
3 干细胞的命运及影响因素	(4)
4 干细胞治疗	(7)
第2章 干细胞实验条件与设备	(11)
1 细胞实验技术平台	(11)
2 干细胞实验硬件设备	(21)
3 BIOMARKET BOX 系统	(42)
第3章 干细胞保存与复苏	(49)
1 冷冻保存设备	(49)
2 冷冻保存液	(53)
3 冷冻保存方法	(55)
4 干细胞复苏方法	(58)
第4章 治疗性干细胞制备技术	(60)
1 干细胞制备	(60)
2 间充质干细胞与组织再生	(155)
3 造血干/祖细胞及其分离培养技术	(188)
第5章 干细胞临床应用技术	(204)
1 干细胞与缺血性心脏病	(204)
2 间充质干细胞与神经系统疾病	(221)
3 干细胞与肝硬化	(272)
4 干细胞与糖尿病	(281)
5 干细胞与肾脏疾病	(302)
6 干细胞与自身免疫病	(316)
7 干细胞与肺动脉高压	(354)
8 干细胞与缺血性股骨头坏死	(361)
9 干细胞与眼科疾病	(373)

10	干细胞与感音神经性耳聋	(388)
11	干细胞与缺血性下肢血管病	(394)
12	干细胞与进行性肌营养不良症	(404)
13	干细胞与创面修复	(424)
14	干细胞与肿瘤	(437)
第6章 国内外干细胞研究政策与发展前景		(451)

第1章

绪论

1 概述

再生(regeneration)是一个涉及所有生物的正常过程,细胞、组织、器官乃至整个生命体都可以通过再生的形式,维持或恢复生命的延续。植物的根、干和叶片具有很强的再生能力,单个的细胞或组织可以发育成一株完整的植物。在动物界,非脊椎动物再生能力最强,一段水螅可以发育成一个个体;一条蜗虫,无论纵向或横向分离,都能再生出两条成体。脊椎动物的再生能力常局限于某些组织。在生理条件下,表皮细胞和血细胞不断更新,肌纤维、肝细胞和骨细胞的更新率极低,大多数神经细胞没有再生能力,而再生的根源是干细胞(stem cells)。无论组织再生能力的强弱,机体所有组织都含有干细胞。近年来,干细胞研究已经成为生物学领域中的重点内容,有些干细胞已经应用于临床,成为有希望的治疗新措施,为解决难治性疾病如股骨头坏死、脊髓损伤、肝脏纤维化等,提供了一个可供选择的途径。

本章将概括介绍干细胞的基本知识、相关研究进展及临床应用前景。有关干细胞的分离纯化、体外扩增及临床应用具体技术,将在各章节中详述。

(郭子宽)

2 干细胞基础知识

严格地讲,一个干细胞应该具有以下能力:①自我更新,从而维持干细胞池的稳定性;②可以分化为祖细胞,并至少能产生一种成熟细胞;③对组织损伤产生反应,可迁徙、增殖分化并参与修复过程;④具有可移植性,并重

建某种组织;⑤连续移植仍然具有以上能力。

这些定义源自实验血液学的研究结果。事实上,实验血液学一直是干细胞研究的主要内容。早在 19 世纪,人们就发现骨髓是产生红细胞和白细胞的场所。第二次世界大战,原子弹爆炸成为一个原动力,促使人们探讨致死量放射后造血抑制的新方法。人们利用小鼠放射线照射后骨髓细胞移植模型,开展了大量的造血细胞移植研究,试图找出治疗急性放射病的有效途径。1961 年,Till 和 McCulloch 创造性的实验发现,在小鼠骨髓细胞移植过程中,脾出现可能源自一个骨髓细胞的脾集落生成单位(colony-forming units-spleen, CFU-S)。CFU-S 主要由原始和成熟的红细胞和粒细胞组成,而收集部分集落再次移植后,仍然可以产生新的 CUF-S。由此作者推测,一个 CUF-S 来源于一个骨髓细胞,这个细胞具有自我更新的能力,是产生多种血细胞的根源,称之为造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSC)。至今,自我更新和多向分化两种能力仍是定义干细胞的主要依据。

随着单克隆抗体技术的发展和造血细胞体外培养方法的成熟,人们发现 HSC 级系下存在只能单向发育的细胞,分别称之为淋巴祖细胞或髓系祖细胞。两者在增殖的过程中分化为淋巴细胞或髓系细胞(红细胞、粒细胞、单核巨噬细胞和血小板),但只具备有限的自我更新能力,也不能自主地去分化编程为 HSC。利用抗体标记和细胞筛选技术,人们可以体外富集 HSC,结合单细胞移植实验研究发现,干细胞发育是一个连续的过程。对多数干细胞而言,伴随着细胞的增殖,其自我更新和多向分化能力逐步而不可逆的减弱。以小鼠 HSC 为例,细胞表达 Sca-1 和 c-kit 但不表达粒细胞、红细胞、巨核细胞和淋巴细胞等系列特异性(lineage-specific)标记,故称为 KSL 细胞。KSL 细胞也是一个不均一的群体;在单个细胞移植实验中,约 20% KSL 细胞具有造血重建功能。进一步研究发现,结合其他表面分子标志,可以将 KSL 细胞分为五群,分别为 $CD34^{-}/CD38^{-}/CD150^{+}/CD135^{-}$; $CD34^{+}/CD38^{-}/CD150^{+}/CD135^{-}$; $CD34^{+}/CD38^{+}/CD150^{+}/CD135^{-}$; $CD34^{+}/CD38^{+}/CD150^{+}/CD135^{+}$ 。它们的造血重建能力随着 CD34、CD38 和 CD135 的表达而逐渐减低,但体内增殖能力却随之增强。因此,依据细胞表面分子的表达,可以将造血细胞分为不同的级别,它们组成金字塔形的级系(hierarchy)。最原始的 CD150 阳性而其他标记阴性的 KSL 细胞位于级系的顶端,在生理情况下,绝大多数处于细胞周期的 G_0 期,进入细胞增殖周期的比例约为 1%,因此,细胞具有很强的抗辐射能力。单细胞移植后,约一半细胞可重建髓系和淋巴细胞造血,并可进行连续移植,因此具有完备的长期造血重建能

力。CD34 和 CD150 双阳性 KSL 细胞具有一定的自我更新能力,单细胞移植后也可在受体小鼠体内检测到外源髓系和淋巴系细胞,但移植造血维持时间短,收集该细胞再次移植成功率低。CD38 和 CD135 阳性可能是小鼠 HSC 分化为祖细胞的重要标志,它们自我更新能力极弱,但仍具有髓系和淋巴系细胞分化能力,可以分裂产生不同系列祖细胞;后者进一步增殖分化为成熟的血细胞。

事实上,随着小鼠胚胎干细胞系的建立和基因操作技术在干细胞研究中的广泛应用,人们逐步认识到,就绝大多数哺乳动物而言,受精卵和随之出现的桑葚胚中的部分细胞,才具有发育成一个个体的能力,称之为全能干细胞(totipotent stem cells)。桑葚胚后期即出现细胞分化现象,产生两类细胞,即构成囊胚外壁的胚外组织细胞和囊胚内细胞团(inner cell mass, ICM)。前者在胚胎着床后发育为胎盘和脐带组织;后者发育成一个胚胎。在体外适宜的条件下,ICM 中的细胞可以连续传代培养,称为胚胎干细胞(embryonic stem cells, ES 细胞)。内细胞团具有形成个体的各种组织和器官的能力,因此是一种万能干细胞(pluripotent stem cells)。在胚胎发育过程中,ES 细胞不断分化产生组织特异性干细胞,如可以产生血细胞的 HSC、分化为内皮细胞的内皮祖细胞、产生神经元和胶质细胞的神经干细胞、产生皮肤表皮细胞的表皮干细胞、形成骨骼肌的肌肉卫星细胞和具有骨、软骨及脂肪形成能力的间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)等。这些干细胞具有多向(multipotent)或单向(unipotent)分化能力,正是这些干细胞迁徙、定居、增殖并定向分化,才组成了由各种组织结构和完善器官功能的个体。这些组织特异性干细胞不仅存在于胚胎发育早期,在胚胎发育结束及出生后,仍定向或广泛地分布于机体各种组织中,并在损伤修复或替代过程中,重新进入增殖周期,通过再生的方式实现组织修复。对代谢旺盛的组织而言,如造血组织、消化道黏膜、皮肤等,组织更新伴随生命全过程,相应的干细胞也不断地增殖分化。人们将这些胚胎已经成体后存在的干细胞,也称为成体干细胞(adult stem cells)。

综上所述,按照分化能力的不同,干细胞可以分为全能干细胞、万能干细胞、多能干细胞和单能干细胞。前两者只在胚胎发育期短暂存在,后两者常称为组织特异性干细胞或成体干细胞。近年的研究表明,成体干细胞不仅存在于胎儿组织和出生后的各种组织器官,胎盘、脐带和脐带血也是成体干细胞丰富的来源。如图 1-1 所示。

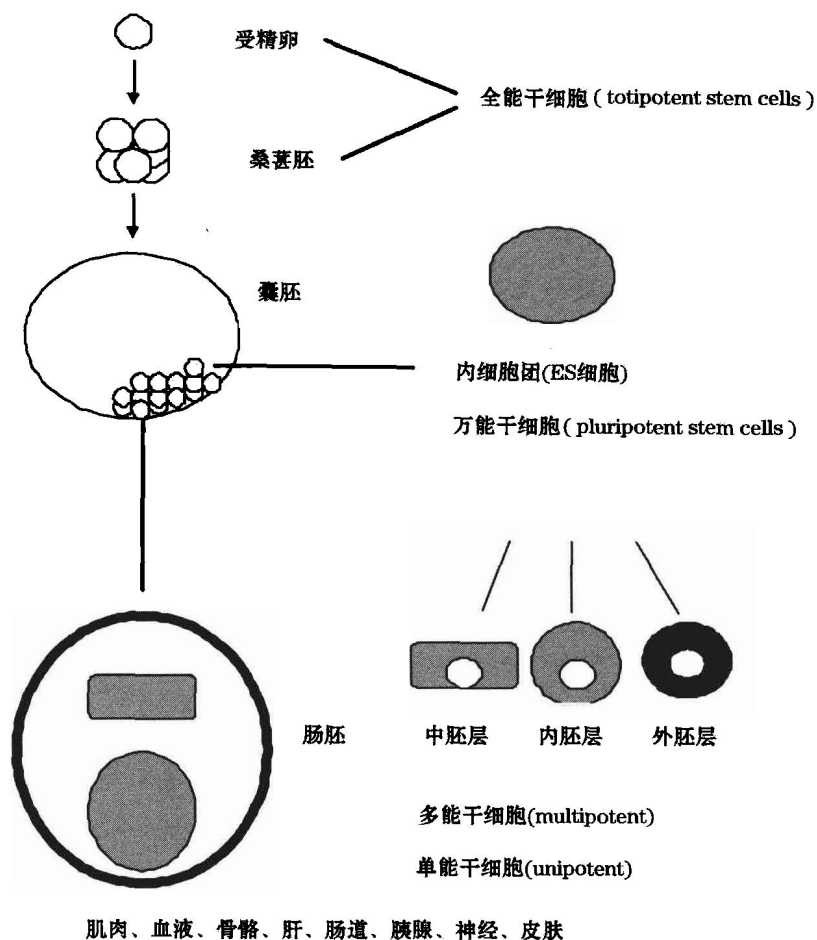


图 1-1 脊椎动物干细胞发育

注:脊椎动物发育源于受精卵,也可将之称为最原始的干细胞。随着胚胎发育过程,细胞分化并形成胚胎和胚外组织,ES 细胞和成体干细胞出现,并发育为三胚层组织和器官

(郭子宽)

3 干细胞的命运及影响因素

依据自我更新过程中的表现,干细胞可能存在 4 种不同的结局。如图 1-2 所示,绝大多数干细胞在体内处于静息状态(A),少量细胞进入细胞增殖周期,通过非对称性分裂的方式产生一个干细胞和一个祖细胞(C),从而保持体内干细胞池的稳定。然而,在特殊情况下,如胚胎发育期、病人接受大

剂量放化疗后、骨髓移植后, HSC 也通过对称分裂实现数量的扩增(B)。随着机体的老化, 体内干细胞数量逐渐减少。这种变化自然与干细胞本身的老化有关, 当机体受损伤或未知因素刺激时, 进入细胞周期的干细胞也可能产生两个祖细胞, 从而导致干细胞总量的减少。

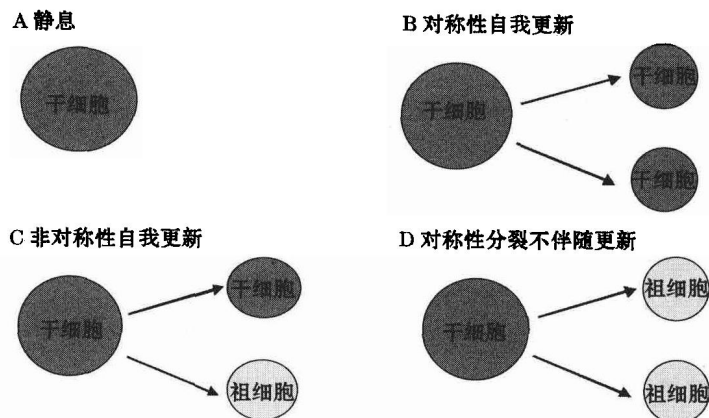


图 1-2 干细胞的命运

注: 体内的干细胞受所处微环境的调节, 或静息或增殖产生不同功能的细胞

那么, 决定干细胞命运和功能的调节因素是什么呢? 近年的研究逐步揭示, 细胞的干性 (stemness) 或其多向分化性是某些蛋白质分子决定的, 而这些分子的表达主要由基因的甲基化修饰、组蛋白的甲基化和乙酰化修饰和微小 RNA 控制, 干细胞的命运由其所处的微环境 (或称龛, niche) 调节。

最近的研究发现, OCT-4、Nanog-3、Sox-2 是维持 ES 细胞干性最重要的核转录因子; 其中, OCT-4 是激活 Nanog-3 继之 Sox-2 的关键分子。在胚胎发育过程中, OCT-4 在桑葚胚细胞中表达; 在囊胚中, 只有内细胞团表达 OCT-4, 滋养外胚层表达低下。在胚胎发育晚期, OCT-4 表达只见于精原细胞。更有意义的是, 将 OCT-4、Nanog-3 等基因转染小鼠成纤维细胞后, 细胞基因组出现重编程, 细胞具有类似于胚胎干细胞的功能特点, 称为诱导全能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPS 细胞)。事实上, 将成熟细胞核转染卵母细胞后, 基因组 DNA 也发生编程现象, 表达 OCT-4 分子。这是卵母细胞固有的信息作用的结果。OCT-4 表达决定胚胎发育早期内细胞团的形成, 是维系胚胎早期干细胞“干性”的主要因素。

虽然, OCT-4 能否在成体干细胞中表达至今仍有争论, 但是, 更多的实验证实, OCT-4 在多种成体干细胞中不表达。此外, 更为重要的是, 利用基

因操作技术特异性地抑制 OCT-4 在组织中的表达,并不影响小肠上皮、造血系统、间充质干细胞、神经系统、肝和毛囊等多种组织或器官的功能,提示 OCT-4 功能表达与否是区别 ES 细胞和成体干细胞的分子标志之一。为什么成体干细胞中不表达 OCT-4 呢?

利用亚硫酸盐测序技术分析基因调节区 CpG 岛分布,发现 OCT-4 基因启动子和增强子部位出现 DNA 甲基化,而 Nanog-3 和 Sox-2 没有甲基化。因此,基因组甲基化状态决定了某些特异性基因的表达水平,是影响细胞行为的方式之一。这种方式同样决定了某些成体干细胞的功能特性。例如,对造血干细胞的研究发现,DNA 甲基化状态是造血干细胞自我更新所必需的,DNA 的甲基化可避免干细胞过早地激活分化程序。另一项研究比较了人类 CD34⁺ 细胞和 CD34⁻ 细胞的甲基化状态,发现未分化的人类 CD34⁺ 细胞基因组中转录起始位点附近的 DNA 序列的甲基化水平很低,而两侧的序列则多被高度甲基化。这些结果表明,造血干细胞的基因组具有独特的甲基化特性,其不同的甲基化水平控制着造血干细胞的功能。

另一种重要的调控方式是组蛋白的甲基化和乙酰化修饰。大家知道,染色质的基本结构单位是组蛋白八聚体缠绕一小段 DNA 形成的核小体。组蛋白与 DNA 的相互作用调控基因的转录活性。在干细胞增殖分化过程中,特定染色质上的组蛋白受到不同的甲基化和乙酰化修饰,这些修饰决定了特定染色质区域的开放或关闭状态,从而影响该区域基因转录的活化或失活。这些修饰在细胞分裂过程中可以遗传,因而形成了影响基因转录的“组蛋白代码”。以 OCT-4 基因为例,胚胎干细胞分化时,与 OCT-4 活跃转录相关的组蛋白修饰 H3K4me3、H3K7 和 H3K9 乙酰化丢失,获得了与 OCT-4 转录抑制相关的组蛋白修饰 H3K9me2/3,从而导致了 OCT-4 基因的转录失活。

微小 RNA (micro RNA, miRNA) 也是调控网络的重要组成部分。微小 RNA 是一些长度为 21 ~ 25 个核苷酸,在转录后水平调控基因表达的非编码小 RNA 分子。微小 RNA 基因首先在细胞核内转录成前体转录本 (primary transcripts miRNA, pri-miRNA),在 Drosha 酶的作用下剪切形成为 60 ~ 70 核苷酸的 miRNA 前体 (或者称为 pre-miRNA)。之后,前体被转运到细胞质,由另一个核酸酶 Dicer 将其剪切产生约为 22 个核苷酸长度的 miRNA,miRNA 为双链。这种双链很快被引导进入 RNA 诱导沉默复合体 (RISC) 中;其中一条单链 miRNA 被降解,另一条成熟的单链 miRNA 分子,通过与靶基因的 3'UTR 区互补配对,对靶基因 mRNA 进行切割或者抑制翻译。胚胎干细胞和造血干细胞中相关 miRNA 的发现和功能的研究,揭示了 miRNA 可能在干细

细胞的自我更新和多向分化中发挥重要作用。比如,研究表明肌特异性 miRNA-1 和 miRNA-133,能促进胚胎干细胞向中胚层分化。miRNA-145 上调后可直接抑制 OCT-4、KLF-4 和 Sox-2 的表达从而促进胚胎干细胞的分化。

干细胞的功能和命运也受其所处的外部微环境(或称龕, niche)的调节。干细胞龕一般包括干细胞的相邻细胞、黏附分子及基质等,但不同的干细胞有不同的龕结构。干细胞龕提供了一个不对称的结构,因此干细胞分裂后一些子代细胞留在龕中保持干细胞的特性,另一些子代细胞则离开龕发生增殖和分化最终形成成熟的功能细胞。细胞龕通过不同信号途径如 Wnt、BMP、Notch、Hedgehog 等调控着干细胞的行为,使干细胞的自我更新和分化处于平衡状态。在果蝇中,其性腺的结构简单而清楚,仅由生殖干细胞及其支持细胞组成,可根据细胞表面或细胞内部特异性的蛋白分子进行精确区分,是用来研究干细胞及干细胞龕的常用模型。哺乳动物中对造血干细胞、肠干细胞、毛囊表皮干细胞和神经干细胞的微环境研究较多,以造血干细胞龕的研究最为成熟。

造血干细胞是研究最多的成体干细胞,HSC 的自我更新和分化调控依赖骨髓中的造血微环境,这种对干细胞增殖分化具有调节作用的微环境即造血干细胞龕。我们可以把造血干细胞龕看成是贮藏造血干细胞的场所,它既可以保护造血干细胞免受分化刺激及来自外部环境的损伤而使其不被耗尽,又可以防止过多的造血干细胞增殖而引起癌症。造血干细胞龕不仅仅是一个结构单位,更重要的是它能够提供特殊的信号来调节干细胞功能和命运。如果没有适当的龕,造血干细胞不能行使正常的功能。例如,造血干细胞可以在骨髓中重建整个血液和免疫系统,但循环于外周的造血干细胞在生理情况下不具有造血功能。所以在造血重建中,干细胞龕起着与干细胞本身同样重要的作用。

(郭子宽)

4 干细胞治疗

干细胞治疗,是通过静脉或肌内注射或其他方式,使自己或他人的干细胞或由干细胞分化而来的成熟细胞到达某一组织,进行替代或修复损伤组织的治疗技术。

除有效性外,干细胞是否适用于治疗还必须考虑下述关键因素。首先,伦理道德上必须是可接受的。从成人骨髓中分离干细胞在伦理道德上是毫

无争议的,但破坏正在发育的胚胎以获得人胚胎干细胞在许多国家和地区被认为是不可接受的。第二,必须易于获取。相对于肝、脑等组织,从骨髓和血液中获取干细胞是最容易的。第三,表型明确,易于纯化鉴定。例如,依赖流式细胞术的侧群细胞及 Hoechst-low/rhodamine-low 细胞的纯化方法也不符合临床需要,而使用免疫磁珠分离 $CD34^+$ 细胞的方法则是临床上可以接受的。第四,数量必须充足。这就要求能安全地扩增,不会引起基因组不稳定及恶性转化。最重要的是,干细胞治疗必须是安全的。尽管胚胎干细胞具有全能性且能无限增殖,但目前被排除在干细胞治疗之外。除了伦理因素外,安全性是一个重要原因。首先,不同个体来源的胚胎干细胞会引发免疫排斥。其次,胚胎干细胞植入体内后可成瘤。注射 500 个人或小鼠的胚胎干细胞被发现足以成瘤。此外,也有由于体外长期培养累积基因组变异导致骨髓间充质干细胞恶化并在小鼠中形成肉瘤的报道。

最成熟的干细胞治疗方式是造血干细胞移植,也称骨髓移植,在 20 世纪 80 年代即用于临床,目前已经是多家医院开展的医疗技术。间充质干细胞是最有可能成为继造血干细胞之后,进入广泛临床应用的成体干细胞。美国 FDA 已批准了近 90 余项有关间充质干细胞的临床试验,主要包括以下几个方面:①辅助造血干细胞移植:增强造血功能,促使造血干细胞移植物的植入,治疗移植物抗宿主病;②组织损伤的修复:骨、软骨、关节损伤,心脏损伤,肝损伤,脊髓损伤和神经系统疾病;③自身免疫性疾病:系统性红斑狼疮、硬皮病、炎性肠炎等;④作为基因治疗的载体。其中移植物抗宿主病、克罗恩病的治疗在美国已经完成Ⅲ期临床试验研究。在第Ⅰ和Ⅱ期临床试验中,人们证实了间充质干细胞治疗的安全性,并在部分病例中观察到这种治疗手段的有效性。此外,德国科学家已报道了用自体骨髓来源的单个核细胞治疗心脏疾病的临床试验结果显示,病人对干细胞移植完全能耐受,没有明显的不良反应,而且移植后心脏功能得到明显改善,病人的生活质量得到明显提高。英国科学家用动员的自体 $CD34^+$ 细胞治疗肝损伤病人,也取得了成功。所有受试者对干细胞移植耐受良好,目前没有发现明显副反应。而且疗效明显,大多数病人的肝功能得到了明显的改善。

胚胎干细胞虽然不能直接用于干细胞治疗,但是因为其全能性及无限增殖的特性,可源源不断地分化成熟为神经细胞、心肌细胞、胰岛细胞、肝细胞等功能细胞用于移植,具有重大的临床应用价值。诱导全能干细胞(iPS 细胞)的出现更显得意义重大,这意味着人们可以利用易于获取的自体来源的正常细胞,通过导入重编程因子制造类似于胚胎干细胞的全能干细胞,为

自身的组织器官修复提供细胞来源,具有广阔的应用前景。

(杨晓凤)

参 考 文 献

- [1] Zech NH, Shkumatov A, Koestenhauer S. the magic behind stem cells. *J Assist Reprod Genet*, 2007, 24: 208 – 214.
- [2] Till JE, McCulloch EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat Res*, 1961, 14: 213 – 222.
- [3] Becker A, McCulloch E, Till J. Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells. *Nature*, 1963, 197: 452 – 454.
- [4] Kondo M, Weissman IL, Akashi K. Identification of clonogenic common lymphoid progenitors in mouse bone marrow. *Cell*, 1997, 91: 661 – 672.
- [5] Alison MR, Islam S. Attributes of adult stem cells. *J Pathol*, 2009, 217: 144 – 160.
- [6] Weissman IL. Translating stem and progenitor cell biology to the clinic: barriers and opportunities. *Science*, 2000, 287: 1442 – 1446.
- [7] Wilson A, Laurenti E, Gabriela O, *et al.* Hematopoietic stem cells reversibly switch from dormancy to self-renewal during homeostasis and repair. *Cell*, 2008, 135: 1118 – 1129.
- [8] Wilson A, Oser GM, Jaworski M, *et al.* Dormant and self-renewing hematopoietic stem cells and their niches. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1106: 64 – 75.
- [9] Blank U, Karlsson G, Karlsson S. Signaling pathways governing stem-cell fate. *Blood*, 2008, 111: 492 – 503.
- [10] Esce M, Scholer HR. Oct4: Gatekeeper in the beginnings of mammalian development. stem cells, 2001, 19: 271 – 278.
- [11] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, 126: 663 – 676.
- [12] Lengner CJ, Camargo FD, Hochedlinger K, *et al.* Oct4 expression is not required for mouse somatic stem cell selfrenewal. *Cell Stem Cell*, 2007, 1: 403 – 415.
- [13] Barrand S, Collas P. Chromatin states of core pluripotency-associated genes in pluripotent, multipotent and differentiated cells. *Biophys Biochem Rapid Commun*, 2010, 391 (1): 762 – 767.
- [14] Bröske AM, Vockentanz L, Kharazi S, *et al.* DNA methylation protects hematopoietic stem cell multipotency from myeloerythroid restriction. *Nat Genet*, 2009, 41 (11): 1207 – 1215.
- [15] Chung YS, Kim HJ, Kim TM, *et al.* Undifferentiated hematopoietic cells are character-