



科爱传播
KE AI COMMUNICATIONS

· 导读版 ·

Stem Cell Anthology

干细胞技术

Bruce M. Carlson



ELSEVIER
原版引进



科学出版社

Stem Cell Anthology

干细胞技术

Edited By

Bruce M. Carlson, M. D. , Ph. D.

University of Michigan

科 学 出 版 社

北 京

图字：01-2012-3662

This is an annotated version of

Stem Cell Anthology

Edited by Bruce M. Carlson.

Copyright © 2010 Elsevier Inc.

ISBN: 978-0-12-375682-4.

All rights reserved.

No part of this publication may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopy, recording, or any information storage and retrieval system, without permission in writing from the publisher.

AUTHORIZED EDITION FOR SALE IN P. R. CHINA ONLY

本版本只限于在中华人民共和国境内销售

图书在版编目(CIP)数据

干细胞技术 = Stem Cell Anthology: 英文 / (美) 卡尔森 (Carlson, B. M.)
编著. — 北京: 科学出版社, 2012

ISBN 978-7-03-034146-5

I. ①干… II. ①卡… III. ①干细胞—研究—英文 IV. ①Q24

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 105902 号

责任编辑: 孙红梅 责任印制: 钱玉芬

封面设计: 耕者设计工作室

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

http: www. sciencep. com

北京通州皇家印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

2012 年 6 月第 一 版 开本: 787 × 1092 1/16

2012 年 6 月第一次印刷 印张: 27 1/4

字数: 616 000

定价: 136.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

导 读

(刘清华, 北京大学医学部, 北京 100191, E-mail: qinghualiu@bjmu.edu.cn)

1981年, 美国加利福尼亚大学的 Martin 与英国剑桥大学的 Evans 分别报告, 说他们成功建立了世界上首个小鼠胚胎干细胞系。1998年, 美国威斯康辛大学的 Thomson 团队报告说第一个人类胚胎干细胞系问世。此后 10 余年, 干细胞的秘密被逐步揭开, 人们越来越多地了解了这种“能够产生多种特化细胞类型并且能够自我复制”的未分化细胞所具有的独特性质和巨大潜能, 使“干细胞”从一个冷僻的概念变成当今生命科学和生物医学界最活跃且最具影响力的领域, 不但生物学家、医学家和工程技术人员对干细胞有着近乎痴迷的热情, 笃定它们能在细胞生物学、发育生物学、动植物品种改良、生物反应器研发, 以及新药研发与评价等方面扮演十分重要的角色, 坚信它们能在攻克恶性肿瘤、代谢性疾病如糖尿病、老年性疾病如帕金森病等人类面临的重大医学难题上大显身手, 期盼它们能够满足人类社会对组织修复和器官移植的巨大需求; 就连普通公众也对于细胞不再陌生, 街头巷尾地议论着干细胞的神奇以及它们对社会伦理和宗教信仰的挑战。

干细胞研究前景预示的社会与经济效益, 引发了空前激烈的国际竞争, 各国政府纷纷投入巨大的人力物力。例如美国, 2006 年以后, 每年投入的研究经费都超过 20 亿美元。我国的干细胞研究工作虽然起步较晚, 但据 2010 年的统计, 旨在解决国家战略需求中的重大科学问题和科学前沿问题的国家“973 计划”和国家重大科学研究计划累计部署了 29 个项目共 125 个课题进行支持, 对干细胞领域的研究热点, 如胚胎干细胞的分化与移植、诱导性亚全能性干 (iPS) 细胞, 干细胞调控网络, 肿瘤干细胞, 组织干细胞应用于临床治疗等大方向都有覆盖。国家“十二五计划”仍将干细胞列为重点支持的研究领域。科技部在 2011 年 10 月牵头成立了“国家干细胞研究指导协调委员会”, 以便对国内参与研究的几十家高等院校、研究院 (所) 和临床医院进行统一的指导和协调。2011 年 11 月, 中国细胞生物学学会干细胞分会在北京召开年会, 这次年会更像是我国干细胞研究的阶段盘点, 与会的干细胞研究领域专家与心血管、神经、消化、血液、免疫、生殖医学、肿瘤、内分泌以及创伤康复等临床专家对以往的合作进行了深入交流, 其结果必将大大推进干细胞从基础研究向临床应用的转化过程。

科学出版社适时推出的导读版《干细胞技术》, 里面 32 篇文章选自近年来出版的 5 本重要的干细胞专著, 80 位著者为美国、英国、加拿大、德国、意大利、瑞士、以色列、比利时、澳大利亚、新加坡等 10 余个国家干细胞研究领域的领军人物。这本文集展现的观点和视角, 肯定有益于我国的生物医学研究者和青年学子, 助力我国的干细胞研究。

《干细胞技术》分为 5 个部分。

第一部分“干细胞生物学介绍”包括 5 篇文章。开篇之作选自 2009 年再版的《精编干细胞生物学》, 著者 Richard L. Gardner 在牛津大学致力于哺乳动物胚胎发育研究 40 余

年。文章从界定全能性、亚全能性等术语开始，介绍了已经建系的脊椎动物胚胎癌细胞、胚胎干细胞和胚胎生殖细胞的获得来源、培养条件、衍化易感性和发育潜能等生物学特征，展望了不同来源的干细胞在未来临床治疗中的应用前景和潜在的障碍。美国 NIH 的资深科学家 Pamela Gehron Robey，以她在视网膜、眼结缔组织、骨骼肌和骨等多个领域的工作积累和经验，贡献了第 2 章“出生后的干细胞”。该文从组织工程在临床中的应用这一视角出发，综述了成体组织，特别是骨髓中的干细胞储备状况，将生后干细胞回输到体内进行扩增培养所需的条件和时间，当前应用的干细胞递送方法，以及联合使用生长因子和形态发生素甚至合适的支架，去激活损伤部位局部和远程部位的内源性干细胞。著者在递送方法一节中，专门讲述了组织工程干细胞被递送到损伤部位以后，骨、软骨和牙齿重建和骨骼肌、心肌等的再生过程。第 3 章“成体上皮组织干细胞”选自 2007 年第三版《组织工程原理》，著者 Christopher S. Potten 在缜密诠释了干细胞的定义后，依次阐述了当下充分研究的皮肤、小肠绒毛和舌干细胞。第 4 章“间充质干细胞”选自《精编干细胞生物学》，著者 Arnold I. Caplan 是美国凯斯西储大学生物学和医学（肿瘤学）教授，他的研究长项宽泛，同时任该校生理学、病理学、生物医学工程和生物物理学教授，在 2010 年获得国际组织工程与再生医学学会-北美地区终身荣誉奖。在本文引言中，他介绍了自己非常有趣的研究经历。随后，综述了成体内间充质干细胞的位置，它们的可塑性和检测方法。本文的重点是其长项之一的如何分离和培养间充质干细胞，以及它们在组织工程中的应用。这部分的最后一篇文章“干细胞的可塑性和再生”选自 2007 年出版的《再生生物学原理》，著者是该书和本书的主编 Bruce M. Carlson。他曾任密歇根大学医学院解剖学系、细胞生物学和发育学系教授，老年学研究所所长，其学术轨迹除了美国外，还遍布俄罗斯、捷克、荷兰和新西兰。作为胚胎学与再生医学的先驱和泰斗级人物，他出版了 10 余本胚胎学和再生医学专著，近年完成的有《再生医学原理》（2007）和第四版《人类胚胎和发育生物学》（2008）。他获奖很多，其中包括美国科学进步协会颁发的杰出论文奖（AAAS Newcomb-Cleveland Prize）和美国解剖学会奖（Henry Gray Award）。鉴于他在科学领域的卓越贡献，密歇根大学 2006 年授予他名誉教授称号。在这篇文章中，他详述了再生医学领域的各个阶段性成果：成体干细胞是怎样发现的，它们的特征，以及它们在组织再生和重建中的潜能。他特别引用了 10 余篇应用干细胞疗法重建心脏功能的论著，评述了它们的相关性以及进一步研究策略，并指出骨骼肌再生也可利用相同策略。对人们长期以来忽略的中枢神经系统再生，他也引用了 10 余篇文章来说明干细胞疗法的进展。

第二部分也包括 5 篇文章，各自围绕着制备胚胎干细胞或亚全能干细胞的方法展开。第 6 章“建立用于人类胚胎干细胞研究的实验室”，著者 Ian Lyons 等不仅细致地给出了标准配置的实验室图片，还有实验仪器、物品和细胞材料清单，以及实验室安全、质控标准，对准备开始进行干细胞研究而组建实验室的读者来说，无疑会有巨大的帮助。第 7 章“人类胚胎干细胞的衍生和维持培养方法：细则和备选方案”选自《精编干细胞生物学》，著者 Irina Klimanskaya 是美国高级细胞技术公司（ACT）干细胞生物学部主任。该文侧重人胚干细胞从分离直至冻存的衍化过程，每一个步骤都列出了质控标准，有很强的操作

指导性。第 8 章“人类胚胎生殖细胞的衍生和分化”选自《精编干细胞生物学》，该文不但详述了人胚生殖细胞的衍化，而且描述了由生殖细胞形成拟胚体后，其生长和表达特征及移植方法。值得一提的是该文最后署名著者 John D. Gearhart。他是《精编干细胞生物学》的主编之一，他所领导的约翰·霍普金斯大学团队在 1989 年首次成功分离和培养了和胚胎干细胞具有相似性质的人胚胎生殖细胞，在《美国科学院院报》(PNAS)上报告的时间甚至比威斯康辛大学的 James A. Thomson 还要更早一点，但因为他们是从流产胎儿性腺获得的 EG，而人类胎儿组织在当时还是美国政府禁止使用的材料，因此与“人类干细胞奠基人”的殊荣失之交臂。第 9 章“人类胚胎干细胞的基因操作”选自《精编干细胞生物学》。该文综述了用于干细胞领域的多种基因操作方法。可以肯定地说，著者“在不远的将来，我们肯定可以看到大量基因操作技术用于人类胚胎干细胞研究”的预言已经实现。这部分最后一篇文章“诱导性亚全能干细胞衍生物”的第一著者是我们北京大学的毕业生余君英博士。2007 年 11 月，她所领导的美国威斯康辛大学麦迪逊分校团队和中山伸弥领导的日本京都大学团队同一天在《科学》与《细胞》上发表研究成果，说利用基因转移等操作手段，使成熟细胞高表达原始细胞特异性的转录因子，从而诱导细胞的表观遗传特性发生改变，使其获得了类似于胚胎干细胞的高增殖活性和多向分化潜能，这就是具有划时代意义的 iPS 细胞。余博士在本文中以新生儿包皮成纤维细胞为例，详细讲述了 iPS 细胞的衍化过程。

第三部分“干细胞的类型和性质”包括 8 篇文章。第 11 章“亚全能性的分子基础”的著者之一 Hans Scholer 是德国明斯特大学教授，兼任美国宾夕法尼亚大学教授。在分子生物学和细胞生物学领域工作 30 余年的 Scholer 发表了 150 多篇文章，被引次数超过 6 000 次。第 11 章从细胞因子 IL6 家族、外在决定因素、内在决定因素如转录因子和表观遗传构型等 4 个方面阐述亚全能细胞的分子特征，所列数据全面而确凿，因此很有说服力。第 12 章“人类亚全能干细胞的特征和描述”，先是比较了胚源性的三种细胞 EC、ES 和 EG 中的标记物，然后简述核移植和基因转移两种重编程方法，最后从标记物、细胞遗传学分析和分化能力等方面总结了亚全能细胞的特征。第 13 章“多潜能的成体祖细胞”来自《精编干细胞生物学》。著者 Catherine M. Verfaillie 是比利时天主教鲁汶大学的分子生物学教授。2002 年，她当时领导的美国明尼苏达大学实验团队在《自然》杂志上发表文章，报告从成体骨髓中发现了一个罕见的细胞群体，并将其命名为多潜能成体祖细胞 (MAPC)。因为这是首次发现成体来源的干细胞具有胚胎干细胞性质，所以在当时引起极大震动的同时也极具争议。Verfaillie 以她实验室的后续研究结果对 MAPC 的信息进行了更新，并讨论了该细胞的潜在机制。第 14 章“骨髓干细胞的性质和亚全能性”选自 2007 年出版的《再生医学原理》，著者群是一个加拿大团队，其中的 Richard D. Weisel 在骨髓移植，特别是心肌组织再生领域工作多年，成绩斐然。文章先讲述了骨髓干细胞的种类，如造血干细胞、间充质干细胞和内皮祖细胞等，然后重点讨论了它们在心脏、肌肉、骨骼、肝和神经组织的再生能力，例举了影响干细胞归巢和分化的因子，如 VEGF、G-CSF、SDF-1 和 SCF 等，参考资料翔实。第 15 章“造血干细胞的性质、标志物和疗

法”选自《再生医学原理》，著者全面介绍了这种研究最多的组织干细胞，主要讨论了它们在体外的分化、扩增和纯化过程。第16章讲述胃肠道中的干细胞。对已有10~50年研究历史的胃肠道干细胞来说，著者综述了它们存在于肠隐窝和胃腺体位置，通过共同点定向祖细胞分化产生胃肠道所有上皮谱系，参与修复胃肠道损伤的研究状况，还对它们的调控信号通路，例如Wnt/ β -catenin、受体酪氨酸激酶EphB2和EphB3、Notch受体、BMP和Hh等给予了特别的关注，文章的最后，著者还讨论了热点问题之一的干细胞成瘤性。第17章“源自羊水和胎盘的干细胞”选自《再生医学原理》，著者Anthony Atala所领导的Wake Forest研究团队在组织工程和细胞疗法领域成绩卓越，他的实验室培养出第一例人工膀胱并成功植入人体。本文描述了他们另一个成就——从孕妇羊水和胎盘组织中收集干细胞。这些亚全能性细胞被成功地定向分化为神经、肌肉、骨骼等各种成熟的组织细胞，不但解决了胚胎干细胞来源奇缺的问题，同时避免了与应用胚胎干细胞相关的伦理争执。第18章“利用核移植产生干细胞”的著者——澳大利亚生物学家Alan Trounson是声名显赫的“试管婴儿之父”，1980年，因他首创的联合使用药物促排卵和胚胎冷冻技术，使当时的体外授精的成功率大大提高，至今已让全世界30多万不孕妇女受益。Trounson还是澳大利亚干细胞中心的创始人，早在2000年，其团队报告从胚胎干细胞成功诱导分化出神经干细胞，从而引领了一波对于干细胞潜能研究的世界性浪潮。Trounson对核移植有特殊的兴趣和心得，2006年出版了专著*Nuclear Transfer Protocols: Cell Reprogramming and Transgenesis*，全面论述了核移植的相关问题。著者借本文强烈表达了应用“利用核移植产生干细胞（NTSC）”一词代替“治疗性克隆”的意见。

第四部分“干细胞生物学在再生医学中的应用”包括10篇文章。第19章“肿瘤干细胞”的著者就职于斯坦福大学干细胞和再生医学研究所，同时是肿瘤科医生。他们在本文中综述了近年来非常引人注目的肿瘤干细胞（CSC）模型及其支持数据。当前胚胎干细胞治疗的研究热点之一是其成瘤风险，我国“973计划”也曾设有研究CSC的产生、可塑性和相关标志物的专项课题。著者认为CSC模型所提供的CSC干细胞特征和解释，肯定会对人们重新认识和定义肿瘤概念，以及肿瘤治疗产生深远的影响。第20章“神经干细胞对中枢神经系统的修复”的著者综述了一些利用啮齿类动物模型所做的神经干细胞（NSC）移植实验，目的是治疗先天性的或后天获得性的神经退行性变、遗传代谢病、年龄相关的退行性变和肿瘤。这些疾病共同的病理特点，是由病变导致的神经细胞缺失分布广泛而散在，例如脱髓鞘疾病和贮积性疾病，其病变甚至是“全球性的”，使得常规的细胞移植方法甚至基因疗法都因为作用部位局限、辐射半径不够大等障碍而难以奏效。而NSC移植，由于NSC能够整合损伤部位周边信息，分化生成多种神经细胞类型，形成与原有脑组织的“无缝衔接”，更由于其出色的迁徙能力，可到达全脑的任何部位，而成为意义重大的新型疗法。第21章“烧伤和皮肤溃疡”选自《精编干细胞生物学》。著者是澳大利亚干细胞生物学家，同时也是皮肤科医师。他们从皮肤科有最大植皮需求的烧伤和溃疡视角，介绍了干细胞自体移植和异体移植的应用。本文还用一定篇幅展望了快速发展的基因疗法和组织工程的应用前景。第22章“心血管再生修复和新血管形成的细胞基础：

我们在未来 5~10 年中做什么、为什么做、如何做以及在哪里做?”选自《再生医学原理》。著者 Doris A. Taylor 是明尼苏达大学心血管修复中心的主任。2008 年, 她的实验室利用“全器官脱细胞化”(whole-organ decellularization) 策略制备了一个仅存心肌骨架的大鼠心脏, 再将心肌干细胞移植在这个骨架上, 培育出了首例活的、有搏动功能的“生物人工心脏”。在其后不到两年的时间里, 她的实验室和世界上其他实验室分别报告, 说利用相同策略培育出了“生物人工肝”、“生物人工肺”等, 移植到动物体内还具备相应的功能, 对于细胞基础研究到临床应用的转化过程起了重要的促进作用。这篇综述非常突出的一点, 是 Taylor 引用了 200 多篇参考文献, 全面、详实地总结了细胞疗法用于心血管再生修复的现状, 并以此为依据, 提出对该领域在未来发展的远景。第 23 章“胰腺干细胞”选自《精编干细胞生物学》。本文著者 Yuval dor 是以色列希伯来大学教授, 潜心研究胰腺发育特别是 β 细胞动力学多年。他 2004 年在《自然》杂志发表“小鼠胰腺中分化成熟的 β 细胞, 而不是导管来源的干细胞, 是其新生 β 细胞的主要来源”分析结果, 曾在该研究领域产生很大影响; 他实验室培育的 Insulin-CreER 和 ROSA26-LSL-mtGCK 转基因小鼠品系, 是胰岛细胞研究中的重要模型工具。本文另一位著者, 哈佛大学 Douglas A. Melton 更是胰腺发育生物学界的重量级人物。他的团队利用功能基因组学、化学筛选、组织移植等方法分析胰腺发育过程中的基因, 信号转导通路, 以及影响基因功能的因素, 近 20 年来的文章多达百篇以上。在本文中, 两位著者综述了胰腺发育过程中的祖细胞存在的证据和它们的位置, 以及利用已知的转导通路, 诱导其他组织干细胞表达胰腺细胞表型的方法。在第 24 章“利用胚胎干细胞治疗心脏病”中, 著者先给出利用细胞移植方法治疗患病心脏的范例, 然后讨论了怎样从 ES 细胞衍化生成心肌细胞, 以及哪些因素可以促进这一分化过程, 最后考虑了在临床前研究中, 移植 ES 细胞来源的心肌细胞有哪些困难, 以及在临床应用时这些问题带来的挑战。从选自《精编干细胞生物学》的第 25 章“成体角质干细胞相关的表皮再生”一文, 读者可以深刻感受干细胞“从实验台到临床”(from bench to bedside) 的转化过程是如何实现的。该文著者是两位瑞士学者。Ariane Rochat 团队一直深入研究皮肤毛囊干细胞; Yann barrandon 团队目前专注于微环境对皮肤干细胞行为的影响, 两人均为转化医学理念的实践者, 特别是后者, 早在 20 世纪 80 年代就参与了当时由细胞疗法的先驱——哈佛大学 Howard Green 教授领导的为治疗皮肤 III 度烧伤患者而进行的世界首例表皮干细胞移植; 90 年代曾在《细胞》杂志上首发在皮肤毛囊发现干细胞的研究结果; 近十几年来, 对遗传病营养不良性大疱性表皮松解症的基因治疗做出了卓越贡献。第 26 章“骨骼肌内的成肌细胞移植”是又一篇有关干细胞临床应用的文章。著者以成肌细胞移植治疗杜兴肌营养不良为例, 围绕干细胞移植中①如何获取植入细胞; ②如何将其正确地递送到靶组织; ③如何确保其生存等三个关键问题进行了论述。选自《再生医学原理》的第 27 章“肌肉骨骼系统修复的细胞疗法”, 对骨骼肌肉系统中的间充质细胞, 例如成骨细胞、成软骨细胞、成肌细胞、肌腱和韧带细胞等细胞类型的生物学特征进行了系统的归纳, 著者还特别关注到间充质干细胞的定义和小生境、其分离方法和体外特征, 其谱系分化和调节, 以及其免疫调节特征等, 综述了目前以间充质干细胞为基础

的细胞疗法在治疗骨关节炎、风湿性关节炎、椎间盘退行性变、肌腱和韧带损伤中的应用，应用中存在的问题以及将来如何改善等问题。第 28 章“源自胚胎干细胞的视网膜色素上皮”的著者是第 7 章的第一著者 Irina Klimanskaya，他在本文中从视网膜色素上皮（RPE）的发育讲起，详述了其特征，RPE 在培养物中的转分化现象，重点是从亚全能性的 ES 细胞衍化生成 RPE 的全过程。和第 7 章一样，由于步骤清晰以及图文并茂，使这一衍化过程有很强的可操作性。

第五部分“伦理和监管方面的考虑”包括 4 篇文章。第 29、30、32 章选自《精编干细胞生物学》，第 31 章选自《再生医学原理》。“将胚胎干细胞用于研究和临床治疗是不是杀戮”的伦理纷争几乎和干细胞研究如影相随，几十年来从未停息过；各派宗教力量亦从正义、道德、尊严和善等不同侧面对干细胞领域施加着强大的影响力；相比较欧盟对干细胞专利不予注册的专利法，美国现行的专利法有自己的特色；美国食品和药物管理局对开展干细胞疗法有着全面而细致的规定；所有这些都对干细胞领域的健康进展起着积极的作用。本部分的 4 篇文章分别从伦理、宗教、专利和政府监管的角度讨论了干细胞研究和应用，读者会从中获取对干细胞的全貌认识。

导 言

在过去的 10 年里，干细胞生物学已经成为生物医学研究方面的主流议题。之所以如此，不仅由于胚胎干细胞具有治疗许多疑难杂症的潜力，还由于民众因为使用胚胎来建立诸多干细胞系而产生的不解和怒气。在某些政治和宗教团体中，有关干细胞来源和应用的辩论已经变得相当尖刻。但就在这些辩论持续之际，最新的技术进展已经改变了干细胞，使它们的性质不同于以往了。就在公众激辩和讨论的背景下，世界各国的实验室竞相开展了干细胞研究。一方面由于这是一个新领域，更因为直接应用了一些新研发的分子生物学和细胞生物学研究工具，干细胞生物学领域已经取得了惊人的进展。

尽管“血液中存在有干细胞”的事实早已被人们广为接受了几十年，但生物医学研究界却长期抵制“干细胞”概念。但因为干细胞研究在 20 世纪 90 年代和 21 世纪初期取得的突破性进展，让形势像钟摆一样荡到了另一个极端。目前干细胞治疗性应用的乐观结果，以及在某些特定组织、器官中发现有干细胞，都使得无论是公众还是科学界，对将来应用干细胞治疗人类疾病产生了不切实际的期盼。

在过去的 10 年中，成长起一个被称为再生医学的新领域，世界上几乎所有主要医学中心的研究所或大的跨学科团队都有涉足。再生医学的一个主要目标，就是应用干细胞疗法，通常还要联合应用组织工程技术，修复受损的组织和器官，特别是针对那些通过自然再生过程不足以有效修复的组织和器官。再生医学一般涉及利用组织工程技术生产人造基质或组织基质材料，在这些基质中接种干细胞，然后把它们植入体内的病患部位等过程。在多数情况下，机体会随即出现组织重建，而组织重建后的再生组织与受损的原有组织相比，无论是在结构还是功能方面，都有着惊人的相似。当然也有例外，比如在心脏，就不能完全重建成原有组织，组织的某些功能可能还需要完善。有关干细胞在植入体内后到底发生了什么，还有许多内容需要我们去了解。

在干细胞疗法中，其细胞来源是一个主要应该考虑的问题。虽然我们已知胚胎干细胞具有分化成为多种多样特异性细胞类型的潜能，但仍有许多生物学难题需要进行研究，比如干细胞在植入体内之前和植入之后的分化通路调控问题。人们在越来越多的成体组织、器官中发现有自然存在的干细胞，但要利用它们进行干细胞治疗，也还面临着其他难题，其中包括怎样获取足够数量的成体干细胞，以及如何克服大多数类型成体干细胞的有限分化能力等。

人们为了确定在细胞和分子水平影响干细胞行为的因素做了大量实验研究。研究的结果不仅能更好地定义干细胞的特征和调控其细胞行为，而且在最近的报告中，还提供了将特定的成体干细胞类型转变成具备诸多胚胎干细胞特征的细胞类型的基本信息。

本书收集了多位干细胞领军人物的著述。它们既展示了干细胞生物学和再生医学的前景，也指出了干细胞潜在的局限性，既可以作为非专业人士进入干细胞领域的入门指导，又能为在这个领域工作的人群提供最新进展。在干细胞生物学介绍部分（第一部分）中，

本书向读者介绍了干细胞的基本特征，并详细描述了胚胎干细胞和成体干细胞的主要类型；接着的技术指导部分（第二部分），本书为那些计划进行或正在进行干细胞研究的读者提供了建立实验室和技术操作的详细步骤；接下来的第三部分，除了综述了一般干细胞的特征以外，还讨论了特殊种类的干细胞在体内的位置以及生物学特性。本书的第四部分重点关注特定组织和器官的干细胞生物学，即当前最适合于针对某些特定的病理类型而应用的再生医学。这些技术主要面向实验室研究，因为其中只有很少部分能够完全适用于人类细胞，但这种应用的确会为整个领域的发展带来好的影响。最后的第五部分收集了重大伦理、宗教问题，以及重要的法规方面的考虑。由于写作期间法律环境的快速变化，本书没有收入有关讨论干细胞法律状态的章节。

在过去的半个世纪中，很少出现像干细胞这种能够激发起公众如此强烈的想象力的生物医学科学命题。我希望本书能为读者展示一个精准的、容易理解的干细胞领域，并且真实地描述它们最终应用于临床再生医学时的前景。

Bruce M. Carlson

（刘清华 译）

序

干细胞的出现，给人们带来了让缺失的身体部位再生以及治疗组织缺损或功能障碍疾患的希望。也许有一天，人们会利用干细胞技术来治疗世界上高达 1 600 万帕金森病、阿尔茨海默病等神经退行性病患者，超过 2 亿的糖尿病患者，以及数百万心血管疾病、失明和其他疾病患者。由于诱导性亚全能干细胞（iPS 细胞）的问世，人们甚至有可能找到克服免疫排斥反应的路径。就干细胞本身而言，它除了可以作为一种前途光明、潜在而取之不尽的细胞源而被应用于再生医学和药物开发研究以外，还可以在脊椎动物正常和异常发育研究中充当绝好的模型。

对于细胞的研究热潮及其快速进展，促使细胞重编程、克隆和组织工程等多个相关科学领域中的新知识和新型研究工具呈雪崩式增长。尽管各种干细胞主题的书籍可谓汗牛充栋，但本书的特色，在于将《精编干细胞生物学》、《组织工程原理》、《再生医学原理》、《人类干细胞指南》和《克隆原理》等 5 本重量级的干细胞专著中的权威章节和精编要义纳于一卷之中。

《干细胞技术》以全面了解成体干细胞、胚胎干细胞和诱导性亚全能干细胞为前提，成功整合了在这个令人振奋的生物学领域中的进展。文集的主题包括干细胞与祖细胞的制备，它们的维持培养和基因操作，干细胞的类型、性质和特征，干细胞在特定器官系统，例如神经、胰腺、肌肉骨骼疾病修复中的应用，以及对伦理、宗教和 FDA 的产品及临床应用前的监管考虑等等，无一遗漏。这本出自世界级专家之手的全面和易于遵循的参考书目，肯定会对学生、科学工作者和临床医生有益。

Robert Lanza, M. D.

（刘清华 译）

Numbers in parentheses indicate the chapter number of the author's contribution

Russell C. Addis (8) John Hopkins University, School of Medicine, Baltimore, MD

Anthony Atala (17) Wake Forest Institute for Regenerative Medicine, Wake University School of Medicine, Winston-Salem, NC

Joyce Axelman (8) John Hopkins University, School of Medicine, Baltimore, MD

Anne G. Bang (12) Novocell, Inc., 3500 General Atomics Ct, San Diego, CA

Yann Barrandon (25) Laboratory of Stem Cell Dynamics, School of Life Sciences, Swiss Federal Institute of Technology Lausanne and Department of Experimental Surgery, Lausanne University Hospital 1015, Lausanne, Switzerland

Steven R. Bauer (32) Laboratory of Stem Cell Biology, Division of Cellular and Gene Therapies, Office of Cellular, Tissue and Gene Therapies, Center for Biologics Evaluation and Research, US Food and Drug Administration, Rockville, MD

Nissim Benvenisty (9) Department of Genetics, Silberman Institute of Life Sciences, The Hebrew University, 91904 Jerusalem, Israel

Paolo Bianco (2) Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sapienza, Università di Roma, Rome, Italy; Parco Scientifico Biomedico San Raffaele, Rome, Italy

Mairi Brittan (16) Centre for Gastroenterology, Institute of Cell and Molecular Sciences, Barts and the London School of Medicine and Dentistry, London, UK

Arnold I. Caplan (4) Skeletal Research Center, Case Western Reserve University, Cleveland, OH

Bruce M. Carlson (5) University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109

Melissa K. Carpenter (12) Carpenter Group, 10330 Wateridge Circle #290, San Diego, CA

Fatima Cavaleri (11) Max Planck Institute for Molecular Biomedicine, Muenster, Germany

S.M. Chambers (15) Center for Cell & Gene Therapy Baylor College of Medicine

Massimo Cimini (14) MaRS Center Toronto Medical Discover Tower

Gregory O. Clark (8) Division of Endocrinology, John Hopkins University, School of Medicine, Baltimore, MD

Michael F. Clarke (19) Stanford Institute for Stem Cell and Regenerative Medicine; Department of Medicine, Division of Oncology, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA

Chad Cowen

Annelies Crabbe (13) Interdepartementeel Stamcelinstituut, Katholieke Universiteit Leuven, Belgium

Paolo De Coppi (17) Department of General Paediatric Surgery Great Ormond Street Hospital and Institute of Child Health

Natalie C. Direkze (16) Centre for Gastroenterology, Institute of Cell and Molecular Sciences, Barts and the London School of Medicine and Dentistry, London, UK; Histopathology Unit, London Research Institute, Cancer Research UK, London, UK

Yuval Dor (23) Department of Cellular Biochemistry and Human Genetics, The Hebrew University-Hadassah Medical School, Jerusalem, Israel

Margaret A. Farley (30) Yale University Divinity School, New Haven, CT

Loren J. Field (24) The Riley Heart Research Center, Herman B Wells Center for Pediatric Research; the Krannert Institute of Cardiology, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, IN

Donald W. Fink (32) Cell Therapy Branch, Division of Cellular and Gene Therapies, Office of Cellular, Tissue and Gene Therapies, Center for Biologics Evaluation and Research, US Food and Drug Administration, Rockville, MD

Richard L. Gardner (1) University of Oxford, Dept of Zoology, Oxford, UK

John D. Gearhart (8) Institute for Cell Engineering, John Hopkins University, School of Medicine, Baltimore, MD

Pamela Gehron Robey (2) Craniofacial and Skeletal Diseases Branch, National Institute of Dental and Craniofacial Research, National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, Bethesda, MD

Kiran Gollapudi (27)

- Rodolfo Gonzalez** (20) Program in Stem Cell Biology (Developmental & Regeneration Cell Biology), The Burnham Institute, La Jolla, CA
- M.A Goodell** (15) Center for Cell & Gene Therapy Baylor College of Medicine
- Trevor A. Graham** (16) Centre for Gastroenterology, Institute of Cell and Molecular Sciences, Barts and the London School of Medicine and Dentistry, London, UK
- Ronald M. Green** (29) Ethics Institute, Dartmouth College, Hanover, NH
- George T.-J. Huang** (27) Division of Endodontics Baltimore College of Dental Surgery University of Maryland
- Adam Humphries** (16) Centre for Gastroenterology, Institute of Cell and Molecular Sciences, Barts and the London School of Medicine and Dentistry, London, UK
- Pritinder Kaur** (21) The University of Melbourne, Epithelial Stem Cell Biology Laboratory, Peter MacCallum Cancer Institute, East Melbourne, Victoria, Australia
- Kathleen C. Kent** (8) Johns Hopkins University, School of Medicine, Baltimore, MD
- Candace L. Kerr** (8) Department of Gynecology and Obstetrics, John Hopkins University, School of Medicine, Baltimore, MD
- Irina Klimanskaya** (7, 28) Advanced Cell Technology, 381 Plantation Street, Worcester, MA
- Jennifer N. Kraszewski** (8) Johns Hopkins University, School of Medicine, Baltimore, MD
- Ren-Ke Li** (14) MaRS Center Toronto Medical Discover Tower
- Wan-Ju Li** (27) Cartilage Biology and Orthopaedics Branch National Institute of Arthritis
- William J. Lindblad** (15) Department of Pharmaceutical Sciences Massachusetts College of Pharmacy & Health Sciences
- John W. Littlefield** (8) Johns Hopkins University, School of Medicine, Baltimore, MD
- Ian Lyons** (6) Stem Cell Innovations 11222 Richmond Ave Ste 180 Houston, TX77082, USA
- Yoav Mayshar** (9) Department of Genetics, Silberman Institute of Life Sciences, The Hebrew University, Jerusalem, Israel
- Stuart A.C. McDonald** (16) Centre for Gastroenterology, Institute of Cell and Molecular Sciences, Barts and the London School of Medicine and Dentistry, London, UK; Histopathology Unit, London Research Institute, Cancer Research UK, London, UK
- Jill McMahon** (7) Harvard University, 16 Divinity Ave, Cambridge, MA
- Douglas A. Melton** (23) Department of Molecular and Cellular Biology and Howard Hughes Medical Institute, Harvard University, Cambridge, MA
- Patrea L. Pabst** (31) Pabst Patent Group LLP
- David P. Patterson** (27) Cartilage Biology and Orthopaedics Branch National Institute of Arthritis
- Ethan S. Patterson** (8) Johns Hopkins University, School of Medicine, Baltimore, MD
- Christopher S. Potten** (3) EpiStem Limited, Incubator Building, Manchester, UK
- Sean L. Preston** (16) Centre for Gastroenterology, Institute of Cell and Molecular Sciences, Barts and the London School of Medicine and Dentistry, London, UK; Histopathology Unit, London Research Institute, Cancer Research UK, London, UK
- Jean Pyo Lee** (20) Program in Stem Cell Biology (Developmental & Regeneration Cell Biology) The Burnham Institute, La Jolla, CA
- Mahendra Rao** (6) Invitrogen 1600 Faraday Ave PO Box 6482 Carlsbad, CA
- Ariane Rochat** (25) Laboratory of Stem Cell Dynamics, School of Life Sciences, Swiss Federal Institute of Technology Lausanne and Department of Experimental Surgery, Lausanne University Hospital 1015, Lausanne, Switzerland
- Michael Rothenberg** (19) Stanford Institute for Stem Cell and Regenerative Medicine; Department of Medicine, Stanford University School of Medicine; Division of Gastroenterology and Hepatology, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA
- Michael Rubart** (24) The Riley Heart Research Center, Herman B Wells Center for Pediatric Research, Indianapolis, IN
- Hans Schöler** (11) Max Planck Institute for Molecular Biomedicine, Muenster, Germany
- Philip H. Schwartz** (6) Center for Neuroscience Research, Children's Hospital of Orange County Research Institute, Orange, CA
- Michael J. Shablott** (8) Institute for Cell Engineering, Johns Hopkins University, School of Medicine, Baltimore, MD
- Daniel Skuk** (26) Human Genetic Unit Centre de Recherche du CHUL
- Evan Y. Snyder** (20) Stem Cell Center Burnham Institute for Medical Research 10901 N. Torrey Pines Rd La Jolla, CA

- Shay Soker** (17) Wake Forest University School of Medicine Institute for Regenerative Medicine
- David Tan** (6) Singapore Biomedical Research Council 27 Jalan Layang Layang Singapore 598493
- Doris A. Taylor** (22) Center for Cardiovascular Repair
- James A. Thomson** (10, 46) Department of Biopharmaceutical Sciences, UCSF, San Francisco, CA
- Jacques P. Tremblay** (26) Human Genetic Unit Centre de Recherche du CHUL
- Alan Trounson** (18) Institute of Reproduction and Development, Monash University, Clayton, Victoria 3168, Australia
- Rocky S. Tuan** (27) Cartilage Biology and Orthopaedics Branch National Institute of Arthritis
- Edward Upjohn** (21) The University of Melbourne, Epithelial Stem Cell Biology Laboratory, Peter MacCallum Cancer Institute, East Melbourne, Victoria, Australia
- George Varigos** (21) The University of Melbourne, Epithelial Stem Cell Biology Laboratory, Peter MacCallum Cancer Institute, East Melbourne, Victoria, Australia
- Catherine M. Verfaillie** (13) Interdepartementeel Stamcelinstituut, Katholieke Universiteit Leuven, Belgium
- Richard D. Weisel** (14) MaRS Center Toronto Medical Discover Tower
- James W. Wilson** (3) EpiStem Ltd., M139XX, Manchester, UK
- Nicholas A. Wright** (16) Centre for Gastroenterology, Institute of Cell and Molecular Sciences, Barts and the London School of Medicine and Dentistry, London, UK; Histopathology Unit, London Research Institute, Cancer Research UK, London, UK
- Munira Xaymardan** (14) MaRS Center Toronto Medical Discover Tower
- Junying Yu** (10) The Genetics and Biotechnology Building University of Wisconsin-Madison Anthony Atala Department of Urology Wake Forest University
- Andrey G. Zenovich** (22) Center for Cardiovascular Repair

Over the past decade, stem cell biology has been a dominant theme in biomedical research. Its prominence is due not only to the potential of employing stem cells in the treatment of many otherwise intractable diseases, but also to the public furor that has arisen because of the use of human embryos as the source of many lines of stem cells. The debate over the source and use of stem cells has been especially acrimonious in some political and religious circles, but even as the debate has continued, new recent technological developments have altered its character. Beneath the public aspect of the debate and discussion about stem cells, intense research activity has been taking place in laboratories throughout the world. The pace of progress in the field of stem cell biology has been breath-taking, in part because it is a new field, but also because of the relatively recent development of tools in the fields of molecular and cell biology that have direct application to stem cell research.

Despite the fact that in the field of hematology the existence of stem cells has been widely accepted for decades, the biomedical research community was for many years quite resistant to the notion. Since the major breakthroughs of the 1990s and early years of this century, however, the pendulum has swung the other way, and currently optimism about the therapeutic applications of stem cells, and even their existence in certain tissues and organs, has led to often unrealistic expectations in the eyes of both the public and the scientific community about the potential application of stem cell therapy for the treatment of human disease in the near future.

Within the past decade a new field, called regenerative medicine, has been created. It is now represented by research institutes or large interdisciplinary groups in almost all major medical centers throughout the world. A prime goal of regenerative medicine is to restore damaged tissues and organs through the applications of stem cell therapy, usually in combination with techniques of tissue engineering, especially in situations where natural biological regenerative processes are not sufficiently well developed to produce effective repair. The application of techniques of regenerative medicine typically involves the production of an artificial substrate or tissue matrix by tissue engineers and then the seeding of that matrix by stem cells before it is introduced into a pathological site within the body. In a number of cases, this is followed by the reconstruction within the body of a regenerated tissue that bears a remarkable similarity in both structure and function to the original tissue that had been damaged. In other cases, however, such faithful restitution does not occur,

but yet, e.g. in the heart, some functional improvement may take place. Much yet remains to be learned about what happens after stem cells have been introduced into the body.

A major consideration in stem cell therapy is the source of stem cells. Although embryonic stem cells have the potential to differentiate into a large variety of specialized cell types, many biological issues, such as controlling the pathway of differentiation both before and after implantation into the body, face researchers. Naturally occurring stem cells have been found in an increasing number of adult tissues and organs, but other problems face those who wish to use these as sources of stem cell therapy. These include obtaining sufficient numbers of adult stem cells, as well as a relatively limited repertoire for differentiation in most types of adult stem cells.

Considerable research effort has gone into defining at both a cellular and molecular level what makes a cell behave as a stem cell. The results of this research have not only allowed better definitions of stem cell characteristics and better control over their behavior, but this information has provided the basis for the recent reports of conversion of certain types of adult cells into cells with many of the characteristics of embryonic stem cells.

This volume is a collection of chapters by leaders in the stem cell field. They place in perspective both the promise and the potential limitations of stem cell biology and regenerative medicine. It is designed to provide both an introduction to the field of stem cell biology for the non-specialist and an up-to-date summary of progress for those working in the field. An introductory section (I) introduces the reader to basic properties of stem cells and then describes in greater detail the major types of stem cells in both embryos and adults. This is followed by a practically-oriented section (II) that provides technical laboratory detail for those who are actually planning or carrying out stem cell research. Section III comprises a collection of chapters that, in addition to reviewing characteristics of a generic stem cell, discuss specific types of stem cells, their locations in the body and their biological properties. Section IV concentrates on stem cell biology as it applies to specific tissues and organs that seem at present to be most amenable to the application of regenerative medicine to specific types of pathology. These chapters are heavily oriented toward laboratory studies, because in very few cases are the techniques sufficiently well developed for application to humans, but they do give a good sense of perspective concerning the state of development of the field overall. The final section (V) is a collection of

chapters that outline major ethical and religious concerns, as well as important regulatory considerations. Because of the rapidly changing legal environment as of this writing, chapters on the legal status of stem cells have not been included in this anthology.

Few aspects of biomedical science over the past half-century have captured the public imagination as much as

stem cells. It is my hope that the chapters in this volume will provide the reader an accurate and accessible overview of the present status of the field, as well as a realistic depiction of the potential for the eventual clinical application of regenerative medicine.

Bruce M. Carlson