

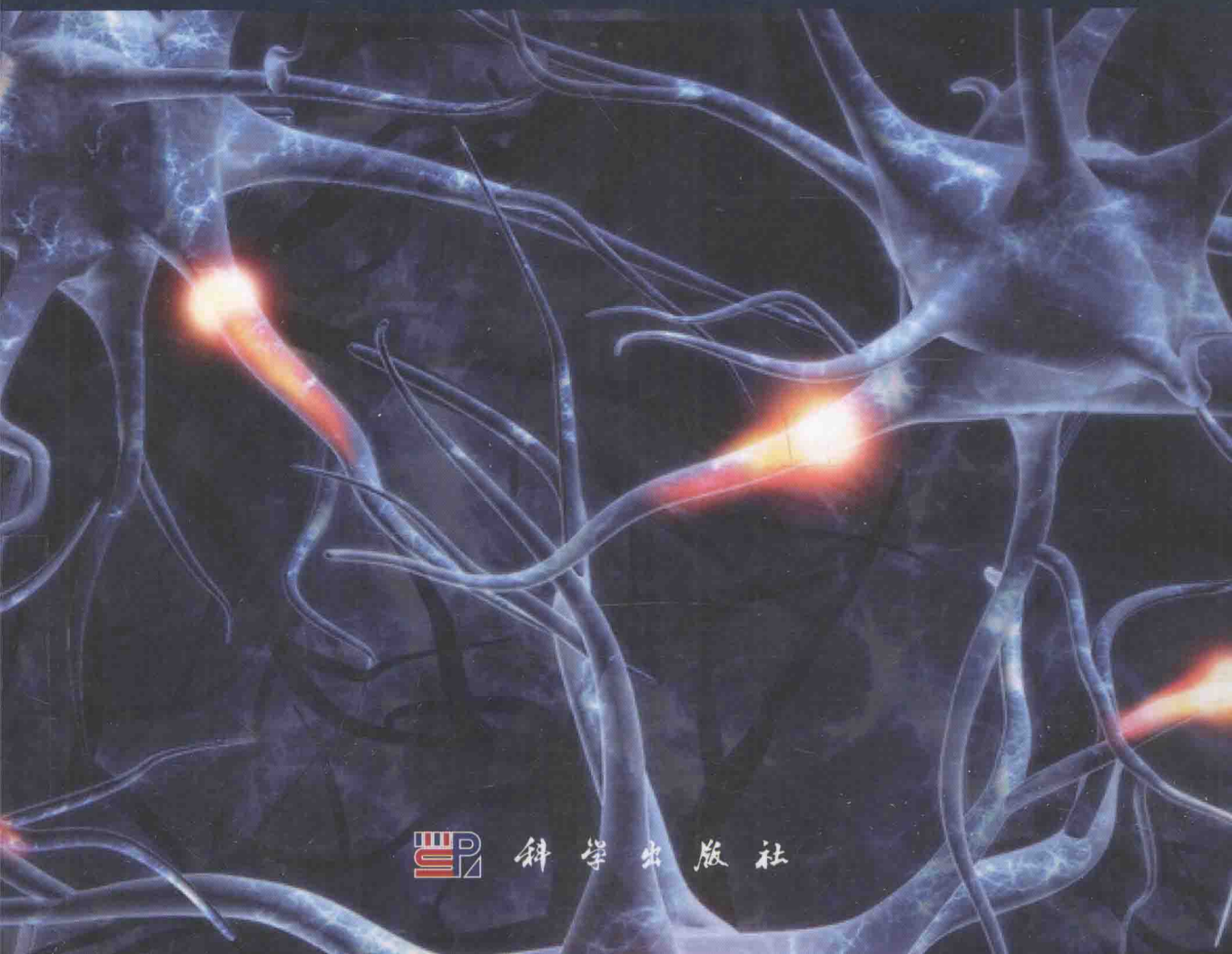


生命科学实验指南系列



神经干细胞基础与培养

主 编 刘民培 梁国标
副主编 宋起滨 李学彦 于春泳
李 欣 高 旭



科学出版社

神经干细胞基础与培养

主 编 刘民培 梁国标

副主编 宋起滨 李学彦 于春泳

李 欣 高 旭



科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书共计三篇。上篇主要是胚胎干细胞和成体干细胞的概述。中篇重点介绍神经干细胞的基础理论,其中主要包括神经干细胞的发育调控、迁移与分化、细胞信号转导、体内转归与整合、生物学特性和神经干细胞工程等。下篇介绍不同部位来源神经干细胞的分离培养和诱导分化。

全书内容新颖丰富,突出前瞻性,不仅系统阐述了神经干细胞有关的基本理论,同时对其培养的有关方法进行详细介绍,可供神经科学基础与临床专业人员、研究生和本科生,以及从事基础医学、细胞生物学及干细胞研究人员阅读和实验参考。

图书在版编目(CIP)数据

神经干细胞基础与培养/刘民培,梁国标主编. —北京:科学出版社,2016
(生命科学实验指南)

ISBN 978-7-03-048924-1

I. ①神… II. ①刘… ②梁… III. ①神经生理学—干细胞—细胞培养—研究 IV. ①Q421

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 138411 号

责任编辑:罗静 刘晶 / 责任校对:桂伟利 张凤琴 刘亚琦 张小霞
责任印制:张伟/封面设计:刘新新

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>

北京教图印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2016 年 7 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2016 年 7 月第一次印刷 印张:39 1/8 插页:2

字数:907 000

定价:198.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《神经干细胞基础与培养》编写人员名单

- 主 编 刘民培 中国人民解放军沈阳军区总医院全军神经医学研究所
梁国标 中国人民解放军沈阳军区总医院全军神经医学研究所
- 副主编 宋起滨 中国医科大学附属盛京医院整形美容外科
李学彦 中国人民解放军沈阳军区总医院全军胆胰疾病及消化内镜诊治中心
于春泳 中国人民解放军沈阳军区总医院全军神经医学研究所
李 欣 沈阳药科大学生理教研室
高 旭 美国加州大学洛杉矶分校神经外科

编 者 (以汉语拼音排序)

- 曹 鹏 芬兰赫尔辛基大学神经外科中心
曹惠鹃 中国人民解放军沈阳军区总医院麻醉科
陈 军 中国人民解放军沈阳军区总医院全军神经医学研究所
陈 江 中国人民解放军沈阳军区总医院全军胆胰疾病及消化内镜诊治中心
陈 伟 中国人民解放军沈阳军区总医院全军肿瘤诊治中心
段 阳 中国人民解放军沈阳军区总医院放射诊断科
范 涤 中国人民解放军沈阳军区总医院全军神经医学研究所
傅炜昕 中国医科大学科学实验中心
高明宏 中国人民解放军沈阳军区角膜眼表疾病治疗中心
顾鹏毅 中国医科大学科学实验中心
郝广志 辽宁省锦州医科大学神经外科
蒋 为 辽宁省大连医科大学附属二院神经外科
焦明义 辽宁省锦州医科大学神经外科

李 宾	山东省滕州市中心人民医院神经外科
李 冠	中国人民解放军沈阳军区总医院放射诊断科
李晋江	中国人民解放军总医院神经医学研究所
李晓明	中国人民解放军沈阳军区总医院全军神经医学研究所
李延锋	中国人民解放军沈阳军区总医院放射诊断科
李志清	中国人民解放军沈阳军区总医院全军神经医学研究所
刘 洋	中国人民解放军第四军医大学西京医院神经医学研究所
任丽楠	中国人民解放军沈阳军区总医院全军胆胰疾病及消化内镜诊治中心
孙晓谦	中国人民解放军沈阳军区总医院全军神经医学研究所
武彩虹	中国石油天然气集团公司中心医院检验科
熊 剑	中国人民解放军沈阳军区总医院全军神经医学研究所
薛晓东	中国人民解放军沈阳军区总医院全军心血管病研究所
杨玲玲	中国人民解放军沈阳军区总医院烧伤与创面修复外科
于冬梅	中国人民解放军沈阳军区总医院麻醉科
张海峰	中国人民解放军第二军医大学长海医院全军神经医学研究所
赵 旭	山东省泰山医学院附属医院神经外科
赵明光	美国亚利桑那州圣约瑟夫医院和医学中心巴罗神经科学研究所
周 锦	中国人民解放军沈阳军区总医院麻醉科
朱廷准	辽宁省大连医科大学附属二院神经外科

前言

在科学技术发展日新月异的今天，无论是现代的核技术、运载火箭技术、网络信息技术和生物工程技术等多么尖端和复杂，还是当前科学家们对未来百年科学技术预测的人体器官生产、灭绝动物复活、延缓衰老、战胜癌症、星际飞船和太空电梯等技术是何等的神奇和奥秘。甚至，一些飞天梦等空间技术也得以成真。这些前所未有的无数人间奇迹，无不都是人类大脑的产物及智慧的结晶。

人类的大脑不仅是人体中枢神经系统中最主要而最复杂的器官，也是宇宙中已知的最为复杂的组织结构。时至今日，人们仍然无法确切地了解人类思考、计算和写作等复杂神经回路是如何形成的。大脑皮层包括有千亿个以上的神经元，每立方毫米则有约数万个，而且每秒可以处理 2000 太字节的信息。在大脑中，30s 内产生的信息量与哈勃太空望远镜在其生命周期中产生的信息量相同。这些神经细胞连接形成神经网络(neural network)，通过感觉器官和神经接收来自身体内外的各种信息，传递至中枢神经系统内，经过对信息的汇集和分析，再通过运动神经发出调控信息，以此实现机体与内外环境的联系，协调全身的各种机能活动。

在对人类大脑许多重要作用仍一无所知的今天，20 世纪末，美国、欧洲联盟委员会和日本都纷纷制订脑科学研究的长远计划，并宣布 21 世纪是“脑科学时代”。2013 年 1 月 28 日，欧洲联盟委员会宣布将推出世界第一个人类脑计划。紧接着的 4 月 4 日，美国总统奥巴马宣布计划投入 1 亿美元以启动人类大脑研究计划。随后，英国、瑞士和中国等也都制定和参与了此方面的研究。由于该研究是生命科学及神经系统科学面对的终极挑战，因此引起世界的瞩目。

神经系统是人体最复杂的系统之一，包括中枢神经系统和周围神经系统。中枢神经系统是整合和分析其他器官及系统功能活动的结构，周围神经系统是联络中枢神经系统与周围器官之间的神经系统。神经干细胞(neural stem cell, NSC)是指分布于神经系统的，具有自我复制更新、高度增殖和多向分化潜能的干细胞。其主要功能是作为一种后备储备，参与神经系统损伤的再生修复、重建或细胞程序性死亡的更新。20 世纪最后十几年来，在神经生物学领域中最具划时代意义的发现是，证实了成年脑组织内确实存在多能干细胞，即 NSC 不仅存在于胚胎时期，也存在于成年动物的中枢神经系统中，它们有着类似于皮肤和造血系统等干细胞的生物学功能。

从理论上讲，任何一种中枢神经系统的疾病都可能与 NSC 功能的紊乱有关。由于 NSC 有望成为因神经系统损伤、衰老而丧失的神经元或神经胶质细胞的一种替代修复治疗的新的细胞来源，并为细胞移植治疗提供细胞行为的调控手段，也可能为其他干细胞甚至肿瘤干细胞的生物特性研究提供线索和依据，以及成为基因治疗的载体细胞和在药物检测等诸多方面可能发挥重要作用。这些均致使该领域的研究如雨后春笋，备受关

注。

与其他干细胞相比，NSC 的研究起步较晚。由于其分离所需脑组织等的取材困难及其研究的极端繁杂，加之胚胎细胞的研究尚存争议等。因此，NSC 的研究仍处初级阶段。为了进一步推进和加速 NSC 在国内的深入研究和发 展，缩小与国外研究的距离，并力争与其同步共行。为此我们结合近年来国内外在 NSC 研究方面取得的新成果和新进展，并组织有关的专家、学者、临床工作者及部分回国人员等编写了《神经干细胞基础与培养》一书，谨以此献给中国人民解放军沈阳军区总医院全军神经医学研究所成立（2006~2016）10 周年。

此书共计 3 篇 28 章，分别对目前国内外在 NSC 基本理论及其培养研究方面的新成果和新进展进行阐述和介绍。全书力求做到重点反映 NSC 研究领域的前沿和进展。在编写的过程中，尽力做到不断地推敲、不断地修改及不断地完善。尽力发挥我们的水平并呈献给广大读者，以便为我国 NSC 的研究尽绵薄之力。

本书得益于众多志士同仁的参与，并在极其繁忙的临床和科研工作中对本书的辛勤耕耘。我们对为本书贡献出智慧和力量的各位专家学者和年轻的同志们，特别是科学出版社的领导、编辑们的辛勤付出致以诚挚地感谢！NSC 研究的发展十分迅速，有些概念、理论和技术等均在不断地发展和更新。由于我们的水平有限，加之时间关系，难免有不妥、遗漏及错误之处，祈望各位读者予以批评指正。

编者

2016 年 5 月

于中国人民解放军沈阳军区总医院
全军神经医学研究所

目 录

前言

上篇 绪 论

第一章 干细胞概论	3
第一节 干细胞的基本概念及分类	3
第二节 干细胞的来源与比较	9
第三节 干细胞的生物学特性	11
第四节 干细胞的分化与信号转导	13
第五节 干细胞的生物标志物与鉴定	19
第六节 干细胞研究的意义及热点	20
第七节 干细胞与再生医学	23
第八节 干细胞治疗与产业化	24
主要参考文献	29
第二章 多能干细胞的生物学	32
第一节 脊椎动物胚胎的多能干细胞	32
第二节 多能干细胞的分子基础	37
第三节 干 细 胞 巢	56
第四节 干细胞自我更新的机制	58
第五节 成体干细胞的细胞周期调控	63
第六节 干细胞的表观遗传、细胞融合、分化及转分化效应	66
主要参考文献	66
第三章 神经干细胞概论	69
第一节 神经干细胞的基本定义及特征	69
第二节 神经干细胞的分布与定位	70
第三节 神经干细胞的分类	71
第四节 神经干细胞的基本特性与鉴定	79
第五节 神经干细胞研究的主要内容	83
第六节 神经干细胞应用研究的展望与挑战	88
主要参考文献	94

中篇 神经干细胞的基础理论

第四章 神经的胚胎发生	99
第一节 神经发生	99
第二节 神经系统的结构及细胞类型	100
第三节 大脑和脊髓的胚胎发育	102
第四节 神经板的发育	104
第五节 神经嵴	108
第六节 神经元的连接	111
第七节 神经胶质细胞与神经发生	115
第八节 神经元在星形胶质细胞成熟过程中的作用	119
第九节 神经元和星形胶质细胞间的相互作用	124
主要参考文献	128
第五章 神经的生长与发育	130
第一节 Wnt 家族蛋白在多巴胺能神经元发育中的作用	130
第二节 成年内源性神经干细胞在纹状体神经变性中的增殖和分化	133
第三节 人脐带血神经干样细胞谱系的神经分化	136
第四节 Ih 的成熟在神经元发育中的作用	138
第五节 全/多能干细胞及其表观遗传学修饰	141
第六节 人脊髓发育中的神经前体细胞群	144
第七节 人中脑源性神经干细胞的分化	148
第八节 中枢神经系统神经元与星形胶质细胞间的相互作用	151
第九节 小胶质细胞的发生与大脑发育	155
主要参考文献	159
第六章 神经细胞的迁移与分化	162
第一节 神经细胞的迁移	162
第二节 神经细胞的分化	170
第三节 小鼠胚胎干细胞的神经诱导分化	177
第四节 人类和其他灵长类动物胚胎干细胞的神经诱导分化	183
第五节 丝裂原活化蛋白激酶家族、氧感受器分子与缺氧诱导的神经发生	184
第六节 巢蛋白及其相关基膜蛋白与神经的可塑性	187
第七节 大鼠脑和脊髓移植干细胞后的磁共振成像研究	191
主要参考文献	195

第七章 细胞信号的转导与神经干细胞的发育及分化	198
第一节 概述	198
第二节 神经递质在神经分化中的主要作用	200
第三节 Wnt 基因的信号通路与 NSC 的分化	204
第四节 调控神经干细胞分裂与分化的信号转导途径	209
第五节 神经定向干细胞 Notch 信号转导的节律表达	213
第六节 促红细胞生成素与正常大脑的发育	215
第七节 EPO 对低氧脑细胞的保护及神经再生的作用	221
主要参考文献	224
第八章 神经干细胞的诱导分化	227
第一节 概述	227
第二节 神经的诱导作用	227
第三节 神经干细胞诱导分化的有关因素	228
第四节 纳米技术对神经干细胞诱导分化的调控作用	232
主要参考文献	234
第九章 胚胎干细胞	236
第一节 概述	236
第二节 胚胎神经系统中的多能干细胞	240
第三节 胚胎干细胞的生物学特性	244
第四节 胚胎干细胞的研究意义	247
第五节 人类胚胎干细胞的实验研究	250
第六节 胚胎干细胞的展望及有关问题	251
主要参考文献	253
第十章 脑内成体神经祖细胞的发育和调控	256
第一节 概述	256
第二节 成年中枢神经系统的多能干细胞	260
第三节 成年脑内的神经定向干细胞	263
第四节 逆转录转座子的调控作用	265
主要参考文献	272
第十一章 神经干细胞在体内的转归与整合	275
第一节 概述	275
第二节 神经干细胞在体内的转归和整合过程	280
第三节 影响神经干细胞在体内的转归和整合的因素	287
主要参考文献	290

第十二章 神经干细胞的生物学特性	293
第一节 神经干细胞的自我更新能力	293
第二节 神经干细胞的多向分化潜能	294
第三节 神经干细胞的分裂增殖	299
第四节 神经干细胞的表面标志物	301
第五节 神经干细胞的低免疫原性	302
第六节 神经干细胞的迁移功能和良好的组织融合性	304
第七节 神经干细胞的可塑性	306
第八节 神经干细胞对损伤和疾病的反应能力	311
主要参考文献	317
第十三章 不同部位来源的神经干细胞	320
第一节 胚胎神经干细胞	320
第二节 脑内成体神经干细胞	322
第三节 成体神经干细胞	325
第四节 神经嵴干细胞	327
第五节 脊髓神经干细胞	330
第六节 骨髓基质细胞源性神经干细胞	332
第七节 脂肪源性神经干细胞	335
第八节 羊水源性神经干细胞	337
第九节 脐带血细胞源性神经干细胞	339
第十节 脐带细胞源性神经干细胞	344
第十一节 胎盘细胞源性神经干细胞	347
第十二节 克隆源性神经干细胞	351
主要参考文献	358
第十四章 神经干细胞工程	361
第一节 概述	361
第二节 神经干细胞的修复与再生作用	366
第三节 神经干细胞的重建功能	372
第四节 神经干细胞的药理学研究	373
第五节 神经干细胞的基因治疗	374
主要参考文献	376

下篇 神经干细胞的培养

第十五章 胚胎神经干细胞的培养	379
第一节 概述	379

第二节 小鼠胚胎神经干细胞的培养	380
第三节 大鼠胚胎神经干细胞的分离培养	383
第四节 人胚胎神经干细胞的培养	385
第五节 人胚胎干细胞和诱导多能干细胞的分化培养	389
第六节 人胚胎干细胞和诱导多能干细胞的神经分化潜能比较	394
第七节 胚胎神经干细胞的诱导分化方法	399
主要参考文献	402
第十六章 成体神经干细胞的培养	404
第一节 概述	404
第二节 成体干细胞的分离培养和分化鉴定	405
主要参考文献	411
第十七章 少突胶质干细胞的培养	412
第一节 概述	412
第二节 少突胶质干细胞的分离培养和鉴定	413
主要参考文献	419
第十八章 嗅球神经干细胞的培养	421
第一节 概述	421
第二节 嗅上皮细胞的神经发生	423
第三节 小鼠嗅觉上皮神经干细胞的分离培养	427
第四节 大鼠嗅球细胞的分离培养	430
第五节 嗅觉上皮神经干细胞的应用研究	436
主要参考文献	437
第十九章 海马神经干细胞的培养	438
第一节 概述	438
第二节 海马神经发生的环境调控及定量分析	439
第三节 海马神经干细胞的体外培养	441
第四节 移植神经干细胞的命运及新海马神经元的功能	443
主要参考文献	444
第二十章 纹状体神经干细胞的培养	447
第一节 概述	447
第二节 纹状体细胞的制备	448
第三节 胎大鼠纹状体干细胞的分离、培养和鉴定	450
第四节 纹状体干细胞的应用	452

主要参考文献	453
第二十一章 视网膜神经干细胞的培养	456
第一节 概述	456
第二节 视网膜细胞的制备	458
第三节 视网膜干细胞的培养	460
第四节 视网膜干细胞的研究和应用	462
主要参考文献	464
第二十二章 室管膜神经干细胞的培养	467
第一节 概述	467
第二节 室管膜神经干细胞的培养	468
第三节 室管膜干细胞的研究及应用	471
主要参考文献	472
第二十三章 脊髓神经干细胞的培养	474
第一节 概述	474
第二节 脊髓神经干细胞	475
第三节 脊髓神经干细胞的分离培养及特性	479
主要参考文献	485
第二十四章 骨髓源性神经干细胞的培养	488
第一节 概述	488
第二节 骨髓的采集	489
第三节 骨髓基质细胞的制备	494
第四节 骨髓基质细胞向神经干细胞的诱导培养	499
第五节 骨髓源性神经干细胞的应用研究	505
主要参考文献	507
第二十五章 脂肪源性神经干细胞的培养	510
第一节 概述	510
第二节 脂肪细胞的采集	517
第三节 脂肪源性干细胞的制备	519
第四节 脂肪源性神经干细胞的诱导分化	521
第五节 脂肪源性神经干细胞的鉴定	524
第六节 脂肪源性神经干细胞的应用研究	529
主要参考文献	535

第二十六章 脐带血细胞源性神经干细胞的培养	539
第一节 概述	539
第二节 脐带血干细胞的生物学特性	540
第三节 脐带血的采集、分离、体外扩增培养及保存	541
第四节 脐带血细胞源性 NSC 的诱导分化	553
第五节 脐带血细胞源性神经干细胞的鉴定	556
第六节 脐带血细胞源性神经干细胞的应用研究	558
主要参考文献	561
第二十七章 脐带细胞源性神经干细胞的培养	565
第一节 概述	565
第二节 脐带细胞的制备	566
第三节 脐带细胞源性神经干细胞的培养	567
第四节 脐带细胞源性神经干细胞的诱导分化	572
第五节 脐带细胞源性神经干细胞的鉴定	578
第六节 脐带细胞源性神经干细胞的应用研究	581
主要参考文献	586
第二十八章 羊水及胎盘源性神经干细胞的培养	589
第一节 概述	589
第二节 羊水及胎盘干细胞的制备	590
第三节 羊水及胎盘源性神经干细胞的诱导与培养	591
第四节 羊水及胎盘源性神经干细胞的应用研究	593
主要参考文献	594

附录 英汉名词对照

彩图

上 篇

绪 论

第一章 干细胞概论

第一节 干细胞的基本概念及分类

一、基本概念

迄今为止，有关干细胞的含义或者概念不仅复杂，而且仍有许多值得探讨的问题。目前，干细胞（stem cell）是指那些具有长期自我更新和分化为其他类型细胞的能力的细胞，在特定条件下能分化发育成血液、神经、肌肉、血管等不同组织和器官，有“万用细胞”的美称。通俗地讲，“干细胞就是干什么都行的细胞”。

干细胞能产生表型和基因型与自身完全一致的子细胞。细胞是生命活动的基本单位。人是多细胞生物，在人体内总共有 200 多种细胞。这些细胞通过有机整合形成复杂的组织和器官，并进一步形成人体这一结构十分精密的有机体。这 200 多种细胞是完全分化的成熟细胞，并各有其特殊的结构和执行特定的功能。虽然其中的部分细胞还具有有限的增殖能力，但都已经是终末分化细胞，就像一棵参天大树最末端的树叶，在生命周期中完成其使命后则死亡。干细胞是一类特殊的细胞，“干”译自英文“stem”，意为“（树）干”和“起源”。所谓“干细胞”，就是指那些在生命成长发育中起“主干”作用的细胞。可以说，干细胞就是起源细胞。干细胞就如同树的枝干，是一群结构和功能尚未分化的原始细胞。

多年来，根据干细胞研究的不断发展，有关干细胞的定义也在不断地完善和修正。Wilson 在论述细胞生物学研究中，首次应用了干细胞这一概念。到 20 世纪 80 年代，人们对干细胞已经有了较为全面的认识和理解。1998 年，Thomson 等在 *Science* 杂志发表的有关人类胚胎干细胞的研究结果带动了世界范围内的干细胞研究热潮。到目前为止，学术界公认的干细胞概念是，干细胞是一类具有自我更新与增殖分化能力的细胞。

二、根据干细胞分化潜能的分类法

按细胞分化的潜能，干细胞可分为全能干细胞、多能干细胞和单能干细胞三种类型（图 1-1）。