

# 干细胞

STEM CELL

● 主编/章静波 宗书东 马文丽

中国协和医科大学出版社

# 干 细 胞

章静波 宗书东 马文丽 主 编  
徐存拴 奚永志 副主编

编 者 (以姓氏笔画为序)  
马文丽 (第一军医大学)  
仇文颖 (中国医学科学院基础医学研究所)  
王立生 (军事医学科学院放射医学研究所)  
许增禄 (中国医学科学院基础医学研究所)  
吴清法 (军事医学科学院生物工程研究所)  
张 艺 (第三军医大学)  
张世馥 (中国医学科学院基础医学研究所)  
张志欣 (中国北京红十字血液中心)  
张晓东 (中国医学科学院基础医学研究所)  
李志琴 (中国医学科学院基础医学研究所)  
李国荣 (中国医学科学院心血管研究所)  
杨 恬 (第三军医大学)  
陈松森 (中国医学科学院基础医学研究所)  
宗书东 (国家计生委科研所)  
奚永志 (军事医学科学院附属医院免疫研究室)  
徐存拴 (河南师范大学)  
章静波 (中国医学科学院基础医学研究所)

中国协和医科大学出版社

## 图书在版编目 (CIP) 数据

干细胞 / 章静波, 宗书东, 马文丽主编. —北京: 中国协和医科大学出版社, 2003.2  
ISBN 7-81072-358-8

I. 干… II. ①章…②宗…③马… III. 干细胞-研究 IV. Q24

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2002) 第 107830 号

## 干 细 胞

---

主 编: 章静波 宗书东 马文丽  
责任编辑: 张俊敏 吴桂梅

---

出版发行: 中国协和医科大学出版社  
(北京东单三条九号 邮编 100730 电话 65260378)

网 址: [www.pumcp.com](http://www.pumcp.com)  
经 销: 新华书店总店北京发行所  
印 刷: 北京竺航印刷厂

---

开 本: 787×1092 毫米 1/16 开  
印 张: 21.5  
字 数: 530 千字  
版 次: 2003 年 2 月第一版 2003 年 2 月北京第一次印刷  
印 数: 1—3000  
定 价: 38.00 元

---

ISBN 7-81072-358-8/R·353

---

(凡购本书, 如有缺页、倒页、脱页及其他质量问题, 由本社发行部调换)

## 内 容 简 介

干细胞研究是一门学问，一种技术，一个新兴的产业。目前的进展已预示着它巨大的医学生物学理论意义及实用前景，为此多次被科学家评为当代生物医学发展的最前沿，从事生物学、医学，尤其是生物工程学研究人员对干细胞应有深入的了解。

本书收集了国内外最新内容，从干细胞的概念、性质、鉴定等说起，逐一剖析每一种组织干细胞，包括神经干细胞、造血干细胞、皮肤干细胞，肝脏干细胞、胰脏干细胞、肌肉干细胞、生殖干细胞等的分离、鉴定、培养、扩增以及可能的应用。在本书的最后还附有目前鉴定各种干细胞的标记以及中英文专业名词对译与释义。这无疑对初始涉及干细胞学习与研究者有莫大的帮助。因此本书适用于大学师生，有关科研人员，尤其可供用干细胞进行生物工程研究，器官移植的临床工作者参考。

## 序

虽然人们对于干细胞早有认识，但是真正引起人们如此高度重视，并将它作为年度最重大发现的是在 1998 年。正是在这一年里，人们分离到人体多能干细胞，这些细胞一方面具有实际应用的光辉前景，另一方面又引发出相关伦理学的激烈争论。

什么是干细胞呢？简单地说来，是指一类可以自我更新、尚未特化的细胞。它们可以产生机体内所有类型的特化细胞，如外胚层的表皮细胞、神经细胞；中胚层的血液、肌肉细胞；内胚层的内脏腺体细胞等。迄今的工作表明，各种形式的干细胞均可从胚胎、胎儿以及成体中获得。

人们研究干细胞一方面可以探索人体发生、发育之谜，更期望它们可以用来替代患病组织、筛选药物与毒素，为人类造福。从理论上说这些都是可能做到的，然而，在此之前必须对它们的基本生物学特征、可操作性进行广泛而深入的了解，这也正是为什么干细胞研究成为生命科学的热点之一。鉴于对多数干细胞的研究还刚刚起步，大家都位于一条起跑线上，因此谁都有可能问鼎干细胞的研究成就，我国科学家岂可落后！

本书邀请了我国部分从事干细胞研究的学者撰写有关章节，他们参考了国内外有关资料，融入了自己的经验，旨在介绍国内外研究概况、动向，从而激起大家的热情，投入世界竞争性的学术研究中去。我国政府对干细胞研究也极为重视，不但在资金上予以很大支持，并在伦理规范上制定出或正在制订相应的措施。

本书内容涉及神经干细胞、造血干细胞、生殖干细胞、表皮干细胞、心肌干细胞、骨骼肌干细胞、肝脏与胰脏干细胞、干细胞因子以及干细胞研究方法等，对于从事干细胞基础研究与临床应用的同行不失为一部有价值的参考书。

需要指出的是，虽然干细胞有潜在的广泛应用前景，但目前仍有诸多的问题亟待解决。迄今除血液干细胞外，其他种类干细胞的分离、识别、体外扩增、定向分化、移植后的生物学医学问题等都还有许多难点有待攻克。从此角度来说本书也只是我国干细胞研究的一块“敲门砖”，希望读者能用此敲门砖，敲击出有关于干细胞的更多奥秘，为我国干细胞研究在世界学术上争得更重要的一席之地。

中国科学院院士  
吴祖泽

# 目 录

<b>第一章 干细胞概述</b> .....	( 1 )
第一节 干细胞的基本性质及分类 .....	( 1 )
第二节 干细胞生物学的研究历史与研究内容 .....	( 4 )
第三节 干细胞研究的意义 .....	( 6 )
<b>第二章 胚胎性干细胞</b> .....	( 11 )
第一节 胚胎性干细胞的分类 .....	( 11 )
第二节 胚胎性干细胞的分离 .....	( 12 )
第三节 胚胎性干细胞的生物学特性 .....	( 13 )
第四节 胚胎性干细胞的自我更新 .....	( 15 )
第五节 胚胎性干细胞的定向分化 .....	( 17 )
第六节 胚胎性干细胞的应用 .....	( 19 )
第七节 胚胎性干细胞引起的伦理学争议 .....	( 20 )
<b>第三章 神经干细胞</b> .....	( 23 )
第一节 神经干细胞的概念及生物学特征 .....	( 23 )
第二节 神经干细胞的来源与分离 .....	( 24 )
第三节 神经干细胞的分化 .....	( 25 )
第四节 神经干细胞的应用 .....	( 27 )
<b>第四章 造血干/祖细胞的生成与调控</b> .....	( 29 )
第一节 造血细胞 .....	( 30 )
第二节 造血细胞的可塑性 .....	( 80 )
第三节 造血干/祖细胞的检测新技术 .....	( 88 )
第四节 造血干/祖细胞的富集 .....	( 92 )
第五节 造血细胞的体外扩增 .....	( 95 )
第六节 造血因子 .....	( 104 )
<b>第五章 间充质干细胞</b> .....	( 130 )
第一节 骨髓来源的间充质干细胞 .....	( 130 )
第二节 其他组织来源的间充质干细胞 .....	( 131 )
第三节 利用间充质干细胞进行的临床应用研究 .....	( 132 )
第四节 结论与展望 .....	( 134 )

<b>第六章 表皮干细胞</b> .....	(136)
第一节 前言.....	(136)
第二节 表皮干细胞的特征.....	(137)
第三节 表皮干细胞的蛋白质表达.....	(140)
第四节 表皮干细胞的分离鉴别.....	(142)
第五节 表皮干细胞分化的调控.....	(144)
第六节 表皮干细胞的应用前景.....	(146)
第七节 结语.....	(149)
<b>第七章 生殖干细胞</b> .....	(153)
第一节 概述.....	(153)
第二节 人胚胎生殖干细胞系的起源.....	(155)
第三节 人胚胎生殖干细胞的培养和建株.....	(158)
第四节 生殖干细胞分化的原理.....	(158)
第五节 生殖干细胞的培养和移植.....	(160)
<b>第八章 肝脏干细胞和胰脏干细胞</b> .....	(163)
第一节 肝脏干细胞.....	(163)
第二节 胰脏干细胞.....	(170)
第三节 肝脏干细胞、胰脏干细胞与其他细胞的联系和转变.....	(177)
<b>第九章 肌肉干细胞</b> .....	(182)
第一节 肌原细胞系.....	(182)
第二节 肌肉干细胞的来源及可塑性.....	(186)
第三节 肌原细胞系定向与分化的分子机制.....	(189)
第四节 肌卫星细胞.....	(196)
第五节 成肌细胞.....	(206)
<b>第十章 肠粘膜干细胞</b> .....	(218)
第一节 肠粘膜干细胞的概念.....	(219)
第二节 肠粘膜干细胞的来源和分离鉴定.....	(222)
第三节 肠粘膜干细胞的分化.....	(224)
第四节 肠粘膜干细胞的研究热点及其应用.....	(234)
<b>第十一章 干细胞在心肌再生中的作用及心功能衰竭的治疗</b> .....	(240)
第一节 心脏的组织结构及发生.....	(240)
第二节 机体组织的损伤和修复.....	(244)
第三节 心力衰竭 (CHF) 及治疗 .....	(244)

第四节	探索修复心肌的新方法·····	(247)
第五节	机械性心脏辅助和心肌细胞移植·····	(259)
<b>第十二章</b>	<b>干细胞因子</b> ·····	(272)
第一节	干细胞因子的结构及其性质·····	(272)
第二节	干细胞因子的生物学活性及其应用·····	(274)
<b>第十三章</b>	<b>干细胞研究的前景及面临的问题</b> ·····	(280)
第一节	干细胞研究现状·····	(280)
第二节	干细胞研究的前景·····	(283)
第三节	干细胞研究面临的问题·····	(286)
<b>第十四章</b>	<b>干细胞实验技术与方法</b> ·····	(293)
第一节	胚胎干细胞·····	(293)
第二节	成体干细胞·····	(302)
<b>第十五章</b>	<b>成年组织干细胞“横向分化”或“可塑性”特性遭受重大质疑——还成年组织干细胞生物学特性的本来面目</b> ·····	(316)
附录一:	干细胞研究中的常用名词·····	(320)
附表一:	鉴定干细胞及描述已分化细胞类型特征时的常用标志·····	(331)



# 第一章 干细胞概述

1998年11月,美国生物学家 Thomson 与 Gearhart 等分别从流产胎儿和经体外受精技术得到的多余胚胎中分离得到多能性干细胞,并成功地在体外进行了培养。这些干细胞在体外具有无限或较长期地进行自我更新和多向分化的潜能,这使得它们不仅成为很多生物医学基础领域的重要研究工具,并用于干细胞移植来治疗各种难治性疾病,以在实验室内生产各种组织器官成为可能。正因为如此,这一研究报告不仅给生物学界带来了极大振奋,而且也引起了各国政府、企业、乃至平民的极大关注。1999年12月,美国权威杂志《Science》将“人类干细胞研究”列入人类十大科学成就的榜首。本章将就目前干细胞的研究现状作一简要介绍。

## 第一节 干细胞的基本性质及分类

### 一、干细胞的定义及其分类

干细胞 (stem cell) 是指具有无限或较长期的自我更新能力,并能产生至少一种高度分化子代细胞的细胞。根据这一定义,在个体发育的不同阶段以及成体的不同组织中均存在着干细胞,只是随着年龄的增长,干细胞的数量逐渐减少,其分化潜能也逐渐变窄。在干细胞的发育过程中,还有一种中间类型的细胞称为祖细胞 (progenitor cells),祖细胞也具有有限的增殖和分化能力,与干细胞不同的是,祖细胞没有自我更新能力,它在经过几轮细胞分裂周期后产生的两个子代细胞均为终末分化细胞 (terminal differentiated cells)。

目前常用的干细胞分类方法有两种:一种是根据其分化潜能的宽窄将干细胞分为全能干细胞 (totipotent stem cells)、三胚层多能干细胞 (pluripotent stem cells)、单胚层多能干细胞 (multipotent stem cells) 和单能干细胞 (monopotent stem cells)。众所周知,哺乳动物的生命始于受精卵,受精卵具有分化成体内 200 多种不同细胞类型的潜能,并能发育成为一个完整个体,细胞的这种潜能称为全能性,相应地,具有这种潜能的细胞则称为全能干细胞。受精卵在从输卵管向子宫运行的过程中不断地进行卵裂,当分裂到 8~16 个细胞时为一实心球体,称为桑椹胚 (morula),此时每个卵裂球仍保持这种全能性,将任意一个卵裂球放置到子宫中,都可以发育成一个完整个体。桑椹胚进入子宫后不久,分裂成为由 32~64 个细胞组成的早期囊胚 (blastula) 或称胚泡 (blastocyst),开始出现腔隙,称为囊胚腔。囊胚腔由一层细胞围成,这层细胞称为滋养外胚层 (trophectoderm),一端为内细胞团 (inner cell mass, ICM),这是在整个胚胎发育过程中最早发生的细胞分化。内细胞团细胞虽然失去了发育成完整个体的能力,但仍具有分化成个体中包括生殖细胞在内的各种细胞的潜能,具有这种潜能的细胞称为多胚层多能干细胞。单胚层多能干细胞的分化潜能较前两者要窄许多,它只能分化成几种特定类型的细胞,如间充质干细胞通常只能分化形成骨、肌肉、软骨、脂肪及其它结缔组

织，却不能分化为除此以外的其它组织。有的干细胞则只能分化成一种细胞，如神经元干细胞，只能分化成神经元，而不能分化为显形胶质或少突胶质，这种细胞称为单能干细胞。

另外，还可根据细胞来源将干细胞分成胚胎性干细胞和成体干细胞。胚胎性干细胞通常是指源自囊胚内细胞团的 ES 细胞 (embryonic stem cells)，但通常人们将从畸胎瘤 (terato carcinoma) 中分离、筛选到的多能性 EC 细胞 (embryonal carcinoma cells) 和从早期胎儿原始生殖细胞 (primordial germ cells, PGCs) 中分离出来的 EG 细胞 (embryonic germ cells) 也归为胚胎性干细胞。畸胎瘤是由哺乳动物和人类生殖细胞癌变产生的，它由无序排列的多种组织组成，其中含有一些未分化的 EC 细胞，这些未分化细胞具有分化成各种组织细胞的潜能。但是 EC 细胞常常表现出某些恶性肿瘤的特性，其染色体核型异常，分化潜能亦有限。原始生殖细胞来源于卵黄囊壁的内胚层细胞，它经原始消化道系膜迁入生殖嵴内，从这些原始生殖细胞中分离到的 EG 细胞也具有多能性，但其体外增殖能力、分化潜能均比 ES 细胞要弱。成体干细胞是指那些组织或器官特异性干细胞，它们主要用于维持细胞功能的稳态，早先人们认为在一些经常更新的组织，如血液、小肠粘膜、表皮等中才存在着干细胞，这些干细胞负责机体的更新与创伤的愈合，但近年来的研究结果表明一些曾认为成熟后不再进行分裂的组织，如脑、肝中也存在着干细胞。随着研究的逐步深入，有关成体干细胞的研究报道越来越多，发现有干细胞存在的组织类型也越来越广泛，这些组织包括：骨髓、外周血、脑、脊髓、血管、骨骼肌、肝、胰、角膜、视网膜、牙髓、皮肤和胃肠道的上皮及脂肪等。成体干细胞究竟源于何处尚未有定论。目前较流行的说法有两种：一种说法是成体干细胞是在个体发育过程中残留下来的胚胎干细胞，另外还有科学家认为成体干细胞是成体细胞在某些情况下 (如外伤等) 经过重新编程 (reprogramming) 后形成的，甚至是细胞间自发融合的结果，究竟哪种说法是正确的，还有待于进一步的研究证明。

## 二、胚胎性干细胞与成体干细胞的异同

成体干细胞与胚胎性干细胞一样，都可在体外进行自我更新，并且在适宜的条件下，均可分化成为具有特殊形态和特定功能的子代细胞，但二者之间又有着许多不同之处。

胚胎性干细胞和成体干细胞最根本的区别在于两者的来源不同，目前胚胎性干细胞多取自胚胎或流产胎儿，胚胎尤其是极早期的胚胎，如桑椹胚，甚至受精卵究竟是不是生命，这还是伦理学上颇有争议的一个问题，因此胚胎性干细胞的研究也就面临着同样的困扰，而成体干细胞多来自于成体的各种组织，因此成体干细胞研究不存在伦理道德上的压力。但另一方面，胚胎性干细胞的起源非常清楚，它多来自囊胚的内细胞团或胎儿的生殖嵴，因此胚胎性干细胞的分离、纯化都比较容易进行，而成体组织中干细胞的数量很少，就骨髓细胞来讲，每 10 000 ~ 15 000 个细胞中仅有 1 个是造血干细胞，再加上对很多成体干细胞而言，人们尚未找到其特有的细胞表面标志，因此这些成体干细胞的分离、纯化相对困难得多。

虽然胚胎性干细胞和成体干细胞都可在体外进行增殖，但其增殖能力有所不同。胚胎性干细胞可无限增殖，而成体干细胞的增殖能力则较有限。此外，就分化潜能而言，胚胎性干细胞要较成体干细胞宽，胚胎性干细胞具有多能性，单个的胚胎性干细胞经过体外增殖，分化后可形成体内 200 多种细胞；而成体干细胞多为单胚层多能干细胞，长期以来人们一直认为它通常只能分化形成某一特定组织的细胞类型，尽管近年来科学家们发现成体干细胞具有可塑性，来自某一组织的干细胞可分化形成其它类型的组织细胞，它的分化潜能较前有

所加宽，但目前尚未有实验结果表明，成体干细胞可产生体内所有的细胞类型。

胚胎性干细胞研究之所以倍受世人瞩目，最重要的原因在于从理论上讲，它在体外可无限增殖，并且可分化为体内任何一种细胞类型，若将胚胎性干细胞移植到患者体内，将有可能替代各种受损细胞，恢复其功能，这就为数以百万计的各类患者带来了希望，但将胚胎性干细胞用于临床实践还需解决许多问题。首先胚胎性干细胞可自动发生分化，将其植入免疫缺陷小鼠的皮下或肾囊中，可形成畸胎瘤，因此处于何种分化阶段的胚胎性干细胞适于移植还有待于进一步的研究；再者胚胎性干细胞移植还有可能引起免疫排斥反应，仅就这些问题来讲，成体干细胞则具有其优越之处，成体干细胞的分化通常需要外界物质的刺激，一般不会自动发生，而且由于成体干细胞可取自供体的某一组织，这样移植细胞的基因型与供体完全相同，避免了免疫排斥反应的发生。

由此可见，胚胎性干细胞和成体干细胞各有其利弊之处，二者均需进行进一步的研究，或许随着研究的逐步深入，成体干细胞的分化潜能将大大超出人们的想象，这样成体干细胞就会较胚胎性干细胞更适于进行移植治疗，同时又不致引起伦理上的争议，而胚胎性干细胞的研究成果同样也有可能适用于成体干细胞。

### 三、成体干细胞的可塑性

经典发育生物学认为，细胞分化是稳定的，而且一般是不可逆的，一旦细胞沿一定方向发生分化，便不会再返回到原先的状态，如造血干细胞只能分化为红细胞、白细胞、血小板、淋巴细胞等，一般不能分化为其它细胞类型。但在1997年，Eglitis等却发现用亚致死剂量放射性核素照射小鼠，破坏其骨髓系统，随后将骨髓干细胞移植到该小鼠体内，结果这些细胞重新分化为神经胶质，这表明骨髓干细胞在体内并不是一成不变的，在一定的条件下，它可以像胚胎性干细胞一样，重新发生分化，生成其它类型细胞。这种现象引起了很多研究人员的注意，他们为此开展了大量的研究工作。目前有越来越多的实验结果都证实成体干细胞确实具有分化为别种细胞类型的潜能，如源自小鼠外周血或骨髓的干细胞可分化为神经元、神经胶质细胞、少突胶质细胞以及心肌、骨骼肌、肝、肺、胃肠道、皮肤等；骨髓基质细胞可分化为骨、软骨、脂肪、甚至形成心肌、骨骼肌；神经干细胞则可分化为血细胞、骨骼肌细胞等。除骨髓和神经干细胞之外，其它组织来源的干细胞也存在类似现象，如小鼠肌肉干细胞可分化为血细胞；小鼠皮肤干细胞可分化为脂肪、肌肉、神经细胞等；源自脂肪的干细胞则可分化为骨、软骨、肌肉和脂肪等。1999年，Malcolm Alison等发现接受了骨髓移植的患者体内有部分骨髓干细胞生成了肝细胞，这提示人体内的成体干细胞也存在着类似的现象。

由此可见，来源于各种组织的成体干细胞事实上并未定型，它们的分化潜能远较先前所认为的要宽，一旦处于一个崭新的微环境中，它们将有可能分化为其它类型的细胞，干细胞生物学家们将这种现象称为成体干细胞的可塑性(plasticity)，也有人称为干细胞的横向分化(transdifferentiation)。

成体干细胞具有可塑性，这一研究成果如同人胚干细胞的成功建系一样，成为干细胞研究历程中的又一里程碑，特别是在当前，多国政府迫于伦理道德上的压力禁止科学家进行胚胎研究，因而这一研究成果就越发显得有意义。尽管多数有关成体干细胞可塑性的研究是用骨髓和神经干细胞来进行的，但也有一些研究结果显示源于皮肤、脂肪等组织的干细胞也可

分化成别种细胞，这些组织，尤其是脂肪，非常容易获得，因此如果它们能具有与胚胎性干细胞类似的分化潜能，那么人们就可以用它们来生产所需的细胞，同时又能绕开伦理上面临的一些难题。但是需要注意的是，尽管成体干细胞的可塑性给干细胞生物学的研究注入了新的活力，与胚胎性干细胞相比，它吸引了更多的人力和财力，有关它的研究报告也日益增多，但有关成体干细胞可塑性的研究才刚刚起步，其中很多细节都有待于进一步的研究。

首先，目前有关干细胞可塑性的报道多来自于对小鼠的实验研究，多数研究人员事先制备某一疾病的小鼠模型，再将某种成体干细胞移植到该小鼠模型中，然后观察它在小鼠病变部位的分化情况。但这些成体干细胞是如何到达病变部位的，是何种信号刺激它发生了质的变化，目前尚未可知。

其次，当前有关成体干细胞可塑性的研究多是采用未经纯化的干细胞群进行的，单个的成体干细胞或基因型相同的成体干细胞群体是否也具有分化为别种细胞的能力，迄今尚未见报道。由于有的成体组织中含有一种以上的干细胞，如骨髓中至少含有两种类型的干细胞(造血干细胞及间充质干细胞)，这样就无法确认究竟是该成体干细胞改变了自己的分化方向呢，还是组织中原本就存在着沿这一方向分化的干细胞。

此外，目前人们多是根据细胞形态和细胞特异性表面标志来判断成体干细胞是否分化成了别种细胞，但是还没有充分的证据表明这些别种细胞也具有相应的特定功能。

## 第二节 干细胞生物学的研究历史与研究内容

### 一、干细胞生物学的研究历史

胚胎性干细胞的概念最初源于对小鼠畸胎瘤的研究。早在1964年，Pierce等就发现取自小鼠睾丸畸胎瘤的细胞具有多能性，它可分化为多种细胞类型，这种具有多能性的细胞称为EC细胞。后来有人将EC细胞注入小鼠囊胚中，最终形成了嵌合体小鼠，这表明EC细胞确实是一种干细胞。这之后EC细胞成为研究小鼠胚胎发育的良好模型，但是它具有某些恶性肿瘤的特性，其染色体多有异常。

1981年，Evans和Martin等首次从小鼠囊胚的内细胞团中分离出ES细胞，并成功地用于体外培养。这种ES细胞具有正常的二倍体核型，能分化为体内包括生殖细胞在内的多种细胞类型，将它植入小鼠的皮下可形成畸胎瘤，这种多能性ES细胞后多用于转基因小鼠的建立。

随后，人们陆续从其它物种中建立了很多ES细胞系。1998年Thomson等首次从人囊胚内细胞团中建立了人ES细胞系，迄今为止，该细胞系已在体外培养了200多代，并且保持着正常的核型，当将这些细胞植入免疫缺陷小鼠体内后可形成畸胎瘤；与此同时，Gearhart等从5~9周流产胎儿的生殖嵴中分离并建立了人EG细胞系，这些细胞与ES细胞相似，可在体外进行自我更新，并可自动分化为多种细胞类型。这些人多能干细胞系的建立成为干细胞研究史上的重要转折点，在这之前，胚胎干细胞系主要用于转基因小鼠的建立，这之后，人们将研究的重点放到如何使这些细胞发生定向分化上来，这使得用细胞移植来治疗各种疾病，甚至在实验室内制造人体器官成为可能。迄今为止，人们已成功地将小鼠胚胎干细胞分化为神经细胞、血细胞、心肌细胞、平滑肌细胞、横纹肌细胞、骨细胞、软骨细胞、肥大细胞、脂肪细胞、甚至胰岛细胞等。尽管如此，由于胚胎性干细胞多取自胚胎或流产胎儿，

很多国家迫于伦理及宗教上的压力，禁止用人来开展这一类研究。相比之下，成体干细胞的研究就显得更为广泛和深入。

早在 1961 年，Till 和 McCulloch 通过小鼠脾集落形成实验表明在脾中存在着造血干细胞，这些细胞易形成集落，并能产生多种血细胞。后来的研究证实在成体脊椎动物的一些更新较快的组织，如血液、皮肤及小肠上皮细胞中都存在着干细胞，它们可不断增殖，用于补充机体中衰老死亡的细胞或创伤的愈合等。而另外一些组织，如脑、肝脏、肌肉等细胞将永久性地退出细胞增殖周期，不再发生分裂。但在 1995 年，Gage 等却发现在成年小鼠脑中仍然存在着干细胞，这些细胞可以分化为神经元、星形胶质及少突胶质。随后人们发现除了脑之外，很多成体组织中都存在着干细胞，目前已有报道的有骨髓、外周血、脑、脊髓、血管、骨骼肌、肝、胰、角膜、视网膜、牙髓、皮肤和胃肠道的上皮及脂肪等。

随后 1999 年的一项研究报道再一次引起了人们的极大关注，Bjornson 等用 X 线照射小鼠，破坏其骨髓系统，随后将神经干细胞移植到该小鼠体内，经过一段时间后，这些神经干细胞显示出造血干细胞的某些特征，并重建了小鼠骨髓系统。这项研究成果提示成体干细胞也具有较强的可塑性，其分化潜能远较人们先前认为的要宽。由于成体干细胞具有容易操作，可避免免疫排斥反应等优点，而且不致引起伦理和宗教上的争端，因此这之后，很多研究人员开始涉足这一领域，几乎每周都会有一篇有关成体干细胞的研究报道，越来越多的实验证据显示成体干细胞的潜能远远超出了人们的想象。

总的说来，干细胞研究还处在早期阶段，很多问题亟待解决，再加上其潜在的应用前景，它吸引了越来越多的人力和资金，目前，在美国几乎所有生物医学院校都设有专门的干细胞实验室。毫无疑问，干细胞研究的逐步深入将会带来生物学上的一次重大革命。

## 二、干细胞生物学的研究内容

有关干细胞的研究虽然刚刚兴起，但鉴于其潜在的巨大应用前景，这一领域发展得很快，仅就成体干细胞而言，几乎每周都会有一篇相关的研究报道出现。目前有关干细胞的研究多集中在以下几方面：

(一) 干细胞的分离与鉴定 胚胎性干细胞多取自囊胚的内细胞团、胚胎或胎儿的生殖嵴等处，从这些地方分离得到的细胞基本上都具有多能性，因此胚胎性干细胞很容易得到分离。胚胎性干细胞的鉴定方法也较为完善，一般多从细胞形态、细胞表面标志、分化潜能等方面对其进行鉴定。胚胎性干细胞具有独特的细胞形态，细胞呈多层集落状生长，细胞核显著，核质比高；常用的胚胎性干细胞的标志分子有 Oct-4、碱性磷酸酶、阶段特异性胚胎抗原 (SSEA)、Genesis 等，它们在胚胎性干细胞中多呈强阳性；将胚胎性干细胞移植到小鼠皮下可形成畸胎瘤，若将它转移到假孕母鼠子宫中，会进一步发育成嵌合体动物等。与胚胎性干细胞相比，成体干细胞的分离、纯化要困难得多，首先，成体干细胞在组织中比较分散，像在神经系统，迄今在脑室区、脑室下区、海马回等处都发现存在着神经干细胞，而且干细胞的数量很少，再加上目前除了造血干细胞等少数几种干细胞外，很多成体干细胞尚缺乏特异性的表面标志分子，因此它们的分离、纯化较为困难，当前人们尚需寻找适宜的分离、纯化方法，以期能得到较纯的成体干细胞。

(二) 干细胞的自我更新 干细胞有着巨大的医学应用前景，它有可能作为“种子细胞”用于细胞替代疗法，以治疗各种难治性疾病。但要将其成功地用于临床实践，必须解决的首

要课题是干细胞是如何在体外不断增殖的同时又维持着不分化状态，即干细胞是如何进行自我更新的。目前的研究表明胚胎性干细胞是靠白血病抑制因子 (leukemia inhibitory factor, LIF) 等外源性细胞因子来维持其体外自我更新能力的，这些细胞因子通过信号复合物 gp130 激活非受体酪氨酸激酶 Janus Kinase (JAK)，JAK 可使受体复合物及一些下游效应分子（如含 SH2 结构域的 STAT、SHP2 等）的酪氨酸残基磷酸化，从而将信息传至细胞核内相应的靶基因上，使胚胎性干细胞维持着其体外不分化的高度增殖状态。此外，含 POU 结构域的转录因子 Oct-3/4，也是维持胚胎性干细胞多能性的关键分子之一。尽管如此，有关胚胎性干细胞维持其不分化的增殖状态的分子机制目前还不是很明了，还需进行深入的研究。成体干细胞目前研究得比较多，但它有一个致命的缺陷，即在体外增殖一段时间后，就会走向分化，因此如何改善其体外增殖条件，延长其增殖代数，也是一个很重要的课题。

(三) 干细胞的定向分化 干细胞具有两个显著的特征：一是它具有在体外高度增殖的潜能；二是它可被定向诱导分化为体内各种细胞类型。目前人们已成功地将小鼠胚胎性干细胞分化为神经细胞、血细胞、心肌细胞、平滑肌细胞、横纹肌细胞、骨细胞、软骨细胞、肥大细胞、脂肪细胞、甚至胰岛细胞等。成体干细胞也具有较强的可塑性，不同组织来源的成体干细胞之间可相互转化。但是控制干细胞向不同方向分化的分子机制是什么，究竟哪些基因是它们的开关分子？这些问题人们都还知之甚少。

(四) 干细胞的临床应用 干细胞最引人注目之处在于，由于它具有高度增殖和分化为体内各种细胞的潜能，因此它有可能作为移植疗法中的细胞来源，治疗很多疑难疾病。但是将干细胞成功地用于临床实践，还需解决很多问题。首先，干细胞一般先经过祖细胞阶段，然后才形成终末分化细胞，那么干细胞在整个发育过程中，究竟处于哪个阶段时最适于移植？干细胞移植还有可能引起免疫排斥，如何减少甚至避免这种反应？此外，用于临床移植的干细胞是否安全？由于干细胞可能来源于其他人，那么应建立怎样的检验程序，以避免细菌、病毒等尤其是 HIV 的感染？

### 第三节 干细胞研究的意义

#### 一、干细胞研究对基础研究的推动作用

(一) 干细胞是研究早期胚胎发育的良好模型 一个单细胞（受精卵）是如何形成一个完整个体的，这是发育生物学上一个饶有兴趣的问题。但是由于伦理宗教等的限制，这种研究很难开展。随着胚胎干细胞系的建立，人们对它进行了大量研究，这些研究结果表明胚胎性干细胞在体外悬浮培养时可自动形成胚胎小体 (embryonal body)，胚胎小体的结构与体内发育早期的正常胚胎类似，因此可采用胚胎性干细胞来研究早期的胚胎发育机制，分离鉴定出在这一过程中起作用的关键基因和蛋白分子，这些理论将有助于当今医学很多领域的发展，例如它将有损于某些与早期胚胎发育紊乱有关的儿童肿瘤的发生、预防与治疗，此外它还有可能解决出生缺陷等问题。

(二) 干细胞是研究人类疾病的良好模型 目前对很多人类疾病而言，人们尚未建立其相应的动物模型，而已建立的某些疾病的动物模型，如帕金森病等，只能部分模拟疾病的进程，还有一些疾病，像艾滋病、丙型肝炎等，其致病病毒只能在人类和黑猩猩的细胞中才能

生长，这大大限制了对该疾病的研究。而干细胞的出现则有可能解决这些问题，因为从理论上讲，干细胞具有分化为体内各种细胞的潜能，因此人们可根据不同疾病的发生机制用干细胞来建立相应的疾病模型，从而将有助于人们更好的研究疾病的发生、发展，并最终找到适宜的治疗方案。

(三) 干细胞与转基因动物模型的建立 胚胎性干细胞可用于转基因小鼠模型的建立，利用这项技术人们不仅可以将一些在发育过程中非必需的基因敲除 (knock out)，在体内进行功能缺失研究，另外还可以通过基因功能获得性突变使特定基因在发育的某一时期表达，从而研究该基因在胚胎不同发育时期中的作用。

(四) 干细胞的其它用途 由于干细胞具有体外高度增殖和多向分化的潜能，因此它就成为生物医学领域中一个很好的研究手段。由于干细胞在理论上可以分化为体内任何一种细胞类型，因此它可以作为药物、毒物等的检测系统，这不仅有可能避免现今动物模型检测系统引起的物种差异问题，而且也比较经济。此外，由于干细胞具有很强的增殖能力，而且植入体内后可迁移到相应的病变部位，因此它可作为某种药物或基因的靶向转运系统，用于肿瘤或某些基因疗法。

## 二、干细胞研究在临床医学上的应用前景

对许多难治性疾病而言，细胞移植无疑是一种行之有效的方法。将具有某种特定功能的细胞移植到体内相应的受损部位，这不仅可以恢复该部分的功能，而且避免了传统的药物治疗所引起的毒副作用。早先人们在动物模型和人体实验中用胚胎细胞或成体细胞进行移植，这虽然有一定的疗效，但移植细胞的来源很有限，而且存活和生长能力都不高，这就限制了该方法的大面积推广。1998年，人胚干细胞在体外成功建系，这就有可能解决细胞移植中一直困扰人们的细胞来源问题。从理论上讲，干细胞尤其是胚胎性干细胞可以在体外无限增殖，在适当的诱导条件下可以分化为体内任何类型的细胞，这两大特征使得干细胞可能成为最佳的“种子”细胞，并且使得在实验室内培育各种组织器官成为可能。来自美国紧迫研究患者联盟 (Patient'Coalition for Urgent Research) 的资料表明，仅在美国就有超过 1 亿的患者可能从干细胞移植中受益 (表 1-1)，这些患者分别患有恶性肿瘤、神经系统疾患、糖尿病与自身免疫性疾病等。

干细胞移植用于临床实践最早始于 1945 年。当时，美国向日本投放了两颗原子弹，这虽然促使了第二次世界大战的结束，但同时也使数以万计的平民遭受了大剂量的辐射，为此，医学专家们开始尝试用骨髓移植的办法来替代患者受到严重抑制的骨髓系统。在随后的几十年里，人们对骨髓移植进行了大量深入的研究。到现在从骨髓系统中分离纯化造血干细胞，已不再是什么难事，而且用纯化的造血干细胞进行移植已成功地用于临床，可以这样说，造血干细胞移植是干细胞移植的一个典范。

表 1-1 干细胞移植的可能受益人群\*

疾病类型	患病人数 (百万)
心血管疾病	58
自身免疫性疾病	30
糖尿病	16
骨质疏松症	10
癌症	8.2
老年痴呆症	4
帕金森病	1.5
重度烧伤	0.3
脊髓损伤	0.25
出生缺陷	0.015 (每年)
合计	128.4

\* 该资料来自于美国 Patient'Coalition for Urgent Research

神经干细胞研究虽然起步较晚，但却是当前研究的热点。这与人类社会正在逐渐步入老龄化有关，一些老年性疾病，如老年痴呆症、帕金森病、卒中等在人类疾病构成中显得越来越重要，这些疾病一般都伴有脑或脊髓相应部位的特定神经元的死亡。目前用胚胎性干细胞或神经祖细胞治疗这些疾病，在动物实验中已取得初步成效，将这些细胞植入到动物模型的相应部位，可观察到它们分化为有功能的神经元，还可改善因缺血引起的学习、记忆功能障碍，并且部分恢复动物的肢体功能。此外，神经干细胞移植还可能用于脊髓损伤、脑外伤等的治疗。

除造血干细胞、神经干细胞之外，用胚胎性干细胞和其它类型成体干细胞来治疗疾病的实验也正在进行中。应当值得注意的是，除造血干细胞外，其它干细胞的研究尚处于起步阶段，很多实验结果来自于动物模型（表 1-2），将这些来自动物模型的结果用于临床实践，还需要进一步的实验证据。

表 1-2 成体干细胞潜在的临床应用

干细胞的组织来源	治疗的疾病种类	研究现况
骨髓	癌症病人化疗、放疗后的血液系统重建； 牙修复术；骨形成不全（脆骨症）	人体实验
骨髓	骨关节炎、心脏病发作	动物实验
脑	神经退化性疾病	动物实验
皮肤	糖尿病、神经系统疾病、心血管疾病	研究阶段
肝	丙型肝炎及其它肝脏疾病	研究阶段
胰腺	糖尿病	研究阶段

干细胞移植还有很多问题亟待解决，首先，在干细胞的发育途径上，究竟哪种类型的细胞最适于移植？研究表明，如果将胚胎性干细胞植入免疫缺陷小鼠的皮下，将会形成畸胎瘤，因此很显然，未分化的胚胎性干细胞并不适于移植，但究竟哪一阶段的祖细胞，或是成体干细胞适于移植还有待研究。

另外，如何避免干细胞移植中的免疫排斥问题？目前可能的方法有三种：第一种是将体细胞核转移到未受精的去核卵母细胞中，这种卵母细胞发生卵裂后形成胚泡，然后从中分离筛选得到胚胎性干细胞，这就是所谓的“治疗性克隆”。利用这种技术获得的 ES 细胞，由于其基因型与受体细胞完全一致，相当于自体移植，从而避免了免疫排斥反应；此外，还可利用基因工程技术，将干细胞表面的 MHC 基因敲除或替换为受体自身的 MHC 基因，这样也可避开免疫排斥问题；第三种方法是将同一供体的造血干细胞与待移植细胞一起植入受体体内，在这种情况下，受体通常会对同一供体来源的其它器官、组织移植长期耐受，从而避免发生免疫排斥反应。

### 三、干细胞产业的兴起

近几十年来，脑血管疾病、恶性肿瘤、心血管疾病的患病率一直居高不下，此外，人类正在逐渐步入老龄化社会，预计在未来的 20 年内，仅在美国 65 岁以上的人数就将比现在翻一番，而 85 岁以上的人则有可能增加 4 倍，因此一些老年性疾病，如老年痴呆症等必将给



数以万计的人们造成巨大的身体和经济上的负担，其它一些疾病像糖尿病的患病率也在逐年上升，由于这些疾病都伴有不同程度的细胞损伤或死亡，因此它们都有可能用细胞替代疗法进行治疗，而干细胞是细胞移植中最具有潜力的细胞来源，因此干细胞研究潜藏着巨大的经济效益。今年年初，美国纳斯达克的干细胞概念股在股民们的力捧之下一路飙升，其市值一度达到 300 亿美元，而国内的一支干细胞概念股望春花也曾经累计升幅超过了 100%。鉴于此，近年来干细胞公司如雨后春笋般纷纷成立（表 1-3），仅在美国目前就有 40 余家风险企业在从事这一新技术的研究开发，其中较为著名的是美国的 Geron 公司，该公司曾资助 Thomson 和 Gearhart 建立人胚胎干细胞系，同时还享有对 Gearhart 的细胞进行商业开发的专有权。目前该公司正致力于将这些细胞用于临床治疗实践当中。

表 1-3 较为著名的干细胞公司

公司名称	专 项
Aastroma Bioscience	造血干细胞
Geron Corp.	胚胎、胎儿干细胞
Layton Bioscience	胎儿神经干细胞
Neural STEM Biopharmaceuticals	胎儿神经干细胞
Neuronix Inc.	神经干细胞
Nexell Therapeutics Inc	造血干细胞
Osiris Therapeutics	间充质干细胞
ReNeuron	神经干细胞
Stem Cell Science	胚胎干细胞
Stem Cell Inc.	成体神经干细胞

(章静波 张志欣)

### 参 考 文 献

1. Alison MR, Poulos R, Jeffery R, et al. Hepatocytes from non - hepatic adult stem cells. *Nature*, 2000, 406 (6793) :257.
2. Anderson DJ, Gage FH, Weissman IL. Can stem cells cross lineage boundaries? *Nat Med*, 2001, 7:393 ~ 395.
3. Asahara T, Kalka C, Isner JM. Stem cell therapy and gene transfer for regeneration. *Gene Ther*, 2000, 7 (6) : 451 ~ 457.
4. Bjornson SR, Rietze RL, Reynolds BA, et al. Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cell in vivo. *Science*, 1999, 283:534 ~ 537.
5. Brazelton TR, Rossi FM, Keshet CI, et al. From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science*, 2000, 290:1775 ~ 1779.
6. Burdon T, Chambers I, Stracey C, et al. Signaling mechanisms regulating self - renewal and differentiation of pluripotent embryonic stem cells. *Cells Tissues Organs*, 1999, 165 (3 ~ 4) :131 ~ 143.
7. Eglitis MA, Mezey E. Hematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brains of adult mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94 (8) :4080 ~ 4085.