维普资讯 http://www.cqvip.com

· 综述 ·

干细胞可塑性与细胞融合

李海红(综述) 付小兵(审校)

【关键词】 干细胞; 细胞融合; 干细胞可塑性

成体干细胞可塑性指成体组织源性的干细胞除了能分化为居留组织细胞的表型外,还具有分化为其他组织细胞表型的潜能。虽然很多实验证实了干细胞可塑性的存在,但仍有许多学者对此提出质疑,认为干细胞可塑性实际上是移植的供体细胞和不同的组织细胞融合后细胞基因组重组的结果。将提供关于干细胞可塑性的争议综述如下。

1 可塑性和传统的干细胞分化观点

干细胞是指具有自我更新能力的未分化细胞,它们能产生大量的子代分化细胞,根据分化能力的不同分为全能干细胞、多能干细胞和单能干细胞。传统细胞分化模式基于干细胞亚群的严格分级,即干细胞经历了一系列不可逆转的产生全能干细胞、多能干细胞、单能干细胞和终末分化细胞的定向步骤。在这种观点下,只有胚胎干细胞能产生哺乳动物体内不同的细胞类型,而从成体组织干细胞分选的干细胞仅能产生居留组织的分化细胞表型[1]。然而很多研究发现,成体组织细胞除了能分化为居留组织细胞的表型外,还具有分化为其他组织细胞表型的潜能,表明组织源性的干细胞具有胚胎干细胞的全部或部分能力,由此提出了"干细胞可塑性"的观点[2,3]。"干细胞可塑性"观点的提出是对传统干细胞分化理论的挑战。

2 干细胞可塑性和细胞融合

很多组织都有成体干细胞,包括骨髓[4,5]、中枢神经系统[6]、脂肪[7]、皮肤[8]等。许多体内实验都证实,某些干细胞,特别是骨髓源性细胞,能够选择性地移植到相应部位,尤其是当受体器官损伤时,在强有力的阳性选择压力条件下,这些细胞能够分化为受损组织细胞表型[4,5,9-11]。大多数关于体内干细胞可塑性的研究是在移植的受体细胞中鉴定出供体特异性标志,如:绿色荧光蛋白(GFP)、β-半乳糖苷酶、主要组织相容性抗原、新霉素转录物或 Y 染色体,同时检测出移植前只在受体细胞表达,而不在供体细胞表达的受体细胞种系特异性分化抗原[9-11]。由于细胞可塑性和细胞融合过程中供体源性标记都会在新细胞中出现,因此有许多学者对干细胞可塑性提出质疑,认为干细胞可塑性实际上是移植的供体细胞和不同的组织细胞融合后细胞基因组重组的结果。2002 年 Terada 等[12]和 Ying 等[13]分别从大鼠分离出携带 GFP 和抗生素抗性基因(嘌罗霉素/G418)的神经和骨髓干细胞。从这些组织来源的干细胞,在标准的维持干细胞未分化状态的条件及嘌罗霉素/G418 存在时和胚胎干细胞(ES)共同培养。几周后产生少量的单个 GFP 阳性克隆,在相应的分化条件下,这些克隆显示了 ES 潜能,同时 GFP 阳性的类 ES 为多核并且保持了两种起始细胞的标志。另一支持细胞融合的报道是研究肝脏损伤的修复[14],研究者使用了延胡索酸乙酰乙酸水解酶缺陷(FAH−)的雄鼠,并给予放射治疗以耗尽内源性造血细胞,然后注射从 FAH+雌鼠来源的造血干细胞(HSCs),随后细胞遗传基因印迹,免疫细胞化学分析表明供体 FAH+骨髓源性细胞和 FAH−宿主肝细胞融合。以上两组报道均支持细胞融合在新的细胞产生中起重要作用,但就细胞融合本身,实验模式上就存在很多不定性。组织来源的干细胞/ES 共同培养实验主要问题是严格的选择条件只允许杂交细胞生存,显然,抗生素敏感的 ES 在有抗生素嘌罗霉素/G418 存在的条件下是不能生存的,因此,为了生存,必须从组织来源的干细胞中获得抗生素抗性基因。即便在这种严格的选择条件下,融合细胞仍然很少,骨髓中的细胞融合频率仅为 $(2\sim11)\times10^{-5}$[12]。肝脏内环境稳定有其特殊性,公认成人肝细胞可产生高比例的多倍体细胞,尤其在损伤和疾病条件下。FAH+鼠的肝脏显示了不同寻常的高比例异常核型,34%的肝细胞为非整倍体,而野生鼠为 2%。因此,FAH−鼠的肝细胞显示了异常特性,使他们更倾向于细胞融合[13]。

细胞融合在卵子与精子受精过程中有重要作用[15],在破骨细胞[16]、肌肉的肌管[17]、胎盘的滋养细胞[18]中也发现细胞融合现象,因此,细胞融合有助于人体产生不同的组织。而且许多证据表明,多倍体细胞能够在体内增殖。首先,在两栖动物中经常观察到多倍体,并且推测它在物种起源中有重要的作用[19]。第二,已报道有活着的四倍体人[20]。人婴儿生存时间从 2 d～1 年,虽然他们发育异常,但仍能形成身体需要的细胞并产生功能器官。第三,体外鼠脑和 ES 自然融合的子细胞注射到胚囊后能在许多组织找到[13]。细胞融合认为是正常发生的前进过程,原则上,通过细胞融合过程可能比通过可塑性来改变细胞命运更有效,在利用细胞可塑性的过程,细胞外信号必须重组基因组,而细胞融合,相应的组织特异性转录因子已经存在于细胞内[21]。但正常发育中融合的细胞通常不能进一步增殖,在非转化细胞,四倍体诱导细胞周期停滞在 G1 期[22],因此,大多数融合事件产生的细胞发育潜能有限。

由于细胞可塑性和细胞融合的结果和过程相一致,而且实验方法、治疗用细胞的类型和鉴定,组织制备和免疫细胞化学分析的技术差异、可塑性水平的观察有很大波动等,因此使这些实验的解释很困难。最近许多学者改进了实验方法,进一步鉴定是细胞融合抑或细胞可塑性有助于某些脏器新细胞的产生。

基金项目:国家重点基础研究发展规划资助项目(G1999054204);国家自然科学基金资助项目(30170966,30230370);国家杰出青年基金(39525024)

作者单位:100037 北京,解放军总医院第一附属医院(原解放军第三〇四医院)全军创伤修复重点实验室(李海红,付小兵);442000 湖北十堰,湖北省郧阳医学院附属太和医院(李海红)

作者简介:李海红(1972-),女(汉族),湖北十堰人,医学博士,主治医师,现主要从事创伤修复基础与临床方面的研究。

维普资讯 http://www.cqvip.com

Kajstura 等[23]从表达增强型绿色荧光蛋白(EGFP)的雄性鼠获取 c-kit 阳性的骨髓细胞(BMCs),并注射到部分心肌梗死的雌鼠,10 d 后,以 EGFP 和 Y 染色体作为供体鼠标志,发现供体BMCs有效地分化为心肌和冠状血管并且改善了心脏功能,而且新形成的心肌和血管细胞仅有一套 X 和 Y 染色体,幸存的心肌有 2 个 X 染色体,表明再生的心肌细胞为雄性来源,幸存的心肌保持雌性表型,强烈支持注射的 BMCs 分化为心肌和血管是心脏修复的机制,反对细胞融合是新的心脏表型的原因。其他支持 BMCs 转分化为心肌的因素有:①永久性冠状动脉阻塞,冠状动脉供血区的心肌细胞在动脉阻塞 5 h 内死亡,实际上根本没有心肌可供融合。②供体源性细胞分裂很快,而四倍体分裂较慢,如果融合的细胞中有一个细胞为终末分化细胞,四倍体可能根本就不能分裂。③理论上,Y-染色体-EGFP-阳性心肌细胞可能来源于经过减数分裂的杂交细胞,减数分裂可把多倍体的细胞转化为二倍体核型,这隐藏了细胞融合的经历,但体内杂交细胞的减数分裂仅在严格的选择压力下,而且这些"假想的二倍体"细胞累积很慢,并且应该和很多融合细胞同时存在。本实验从注射细胞到二倍体雄性细胞产生的间隔很短(4 d),使减数有丝分裂不可能发生。④在正常的生理周期,BMCs 和实质细胞融合是极罕见的。

为了阐述细胞表型的改变是细胞融合抑或是转分化的结果,必须同时追踪宿主特异性标记,以观察它是否如供体标记一样同时表达在一个细胞。有人用 FISH检测 X 和 Y 染色体及免疫组织化学法检测 GFP 和 lacZ 的方法,对移植雄性 GFP+造血干细胞的ROSA-26(lacZ+)雌鼠的初步研究显示,造血干细胞来源的细胞掺入到被移植动物的门静脉,这些掺入的细胞为二倍体且没有明显的融合迹象。强力支持细胞融合在此过程中不可能起到重要作用[24]。

3 结　论

理论上,每种分化的细胞都能重组再回到多能干细胞,并且有很多分化细胞重组的例子,干细胞可塑性理论的建立和发展消除了既往必须用 ES 治疗的政治和道德阻碍,人们不再需要收集胚胎细胞在临床应用。一种新观点的提出总会受到很多质疑,然而,细胞融合和转分化并非矛盾现象,毕竟,在人体器官发育过程中同时涉及细胞分化和融合。

参考文献:

1 Anderson D J. Stem cells and pattern formation in the nervous system: the possible vs. the actual[J]. Neuron, 2001, 30:19-35.

2 Samson R D, Pare D. Activity-dependent synaptic plasticity in the central nucleus of the amygdala[J]. J Neurosci, 2005, 25: 1847-1855.

3 Eisenberg L M, Eisenberg C A. An in vitro analysis of myocardial potential indicates that phenotypic plasticity is an innate property of early embryonic tissue [J]. Stem Cells Dev, 2004, 13:614-624.

4 Bosnakovski D, Mizuno M, Kim G, et al. Isolation and multilineage differentiation of bovine bone marrow mesenchymal stem cells[J]. Cell Tissue Res, 2005, 319: 243-253.

5 方利君,付小兵,孙同柱,等. 猪骨髓间质干细胞的分离培养及分化潜能的鉴定[J]. 中国危重病急救医学, 2003, 15:606-608.

6 Kulbatski I, Mothe A J, Nomura H, et al. Endogenous and exogenous CNS derived stem/progenitor cell approaches for neurotrauma[J]. Curr Drug Targets, 2005, 6:111-126.

7 Safford K M, Rice H E. Stem cell therapy for neurologic disorders: therapeutic potential of adipose-derived stem cells [J]. Curr Drug Targets, 2005, 6:57-62.

8 Janes S M, Lowell S, Hutter C. Epidermal stem cells[J]. J Pathol, 2002, 197: 479-491.

9 Oshima Y, Watanabe N, Matsuda K, et al. Behavior of transplanted bone marrow-derived GFP mesenchymal cells in osteochondral defect as a simulation of autologous transplantation [J]. J Histochem Cytochem, 2005, 53:207-216.

10 Deng W, Han Q, Liao L, et al. Engrafted bone marrow-derived Flk-1(+) mesenchymal stem cells regenerate skin tissue[J]. Tissue Eng, 2005, 11: 110-119.

11 Silva G V, Litovsky S, Assad J A, et al. Mesenchymal stem cells differentiate into an endothelial phenotype, enhance vascular density, and improve heart function in a canine chronic ischemia model [J]. Circulation, 2005, 111:150-156.

12 Terada N, Hamazaki T, Oka M, et al. Bone marrowcells adopt the phenotype of other cells by spontaneous fusion[J]. Nature, 2002, 416:542-545.

13 Ying Q L, Nichols J, Evans E P, et al. Changing potency by spontaneous fusion [J]. Nature, 2002, 416:545-548.

14 Wang X, Willenbring H, Akkari Y, et al. Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes [J]. Nature, 2003, 422:897-901.

15 Talbot P, Shur B D, Myles D G. Cell adhesion and fertilization: steps in oocyte transport, sperm-zona pellucida interactions, and sperm-egg fusion [J]. Biol Reprod, 2003, 68:1-9.

16 Kondo T, Ikeda K, Matsuo K. Detection of osteoclastic cell-cell fusion through retroviral vector packaging [J]. Bone, 2004, 5:1120-1126.

17 Iezzi S, Di Padova M, Serra C, et al. Deacetylase inhibitors increase muscle cell size by promoting myoblast recruitment and fusion through induction of follistatin[J]. Dev Cell, 2004, 6:673-684.

18 Borges M, Bose P, Frank H G, et al. A two-colour fluorescence assay for the measurement of syncytial fusion between trophoblast-derived cell lines[J]. Placenta, 2003, 24:959-964.

19 Sammut B, Marcuz A, Pasquier L D. The fate of duplicated major histocompatibility complex class Ia genes in a dodecaploid amphibian, Xenopus ruwenzoriensis [J]. Eur J Immunol, 2002, 32: 2698-2709.

20 Scarbrough P R, Hersh J, Kukolich M K, et al. Tetraploidy: a report of three live born infants[J]. Am J Med Genet, 1984, 19:29-37.

21 Vassilopoulos G, Russelly D W. Cell fusion: an alternative to stem cell plasticity and its therapeutic implications [J]. Curr Opin in Gen & Dev, 2003, 13: 480-485.

22 Andreassen P R, Lohez O D, Lacroix F B, et al. Tetraploid state induces p53-dependent arrest of nontransformed mammalian cells in G1[J]. Mol Biol Cell, 2001, 12:1315-1328.

23 Kajstura J, Rota M, Whang B, et al. Bone marrow cells differentiate in cardiac cell lineages after infarction independently of cell fusion[J]. Circ Res, 2005, 96: 127-137.

24 Eisenberg L M, Eisenberg C A. Stem cell plasticity, cell fusion, and transdifferentiation[J]. Birth Defects Res, 2003, 69: 209-218.

(收稿日期:2005-09-31)
(本文编辑:李银平)