

DOI: 10.13376/j.cbls/2016112

文章编号: 1004-0374(2016)08-0849-07



胡苹, 中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所研究员, 中国科学院“百人计划”获得者。主要从事肌肉胚胎发育和成体肌肉再生、保持的机制研究, 揭示 Forkhead 等转录因子调控肌肉干细胞的干性和肌肉干细胞分化的表观遗传机制; 阐明 T 细胞介导的急性炎症反应是肌肉干细胞增殖的重要微环境, 并鉴定出微环境中的有效细胞因子, 建立肌肉干细胞长期高效传代的体外扩增系统。目前的主要研究工作包括: (1) 肌肉干细胞命运调控的表观遗传分子机制研究; (2) 人肌肉干细胞的扩增系统的建立及其在肌肉退行性疾病治疗中的应用; (3) 肌肉萎缩的分子机制。研究结果发表在 *Molecular Cell*、*Developmental Cell* 等刊物上。

## 中胚层细胞谱系研究

杨雯隽, 胡苹\*

(中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 细胞生物学国家重点实验室, 上海 200031)

**摘要:** 深入认识中胚层细胞谱系产生和发育分化过程有助于体外获得大量可用于移植的、有功能的中胚层来源成体干细胞, 为基础科学和再生医学治疗提供理论指导。中国科学院战略性科技先导专项“干细胞与再生医学研究”项目内的中胚层研究, 以肌肉和血液两个中胚层来源细胞谱系决定为切入点, 探讨中胚层细胞谱系在发育分化过程中的重要功能和调控机制, 建立成体干细胞体外扩增培养体系, 为中胚层来源干细胞的自我更新、迁移增殖和定向分化研究提供重要的理论基础, 并为中胚层系统疾病提供治疗靶点和细胞来源。现将对先导项目启动五年来开展的研究内容及其取得的研究成果进行介绍。

**关键词:** 中胚层; 干细胞; 造血; 肌肉生成; 脂肪生成; 疾病; 细胞谱系

**中图分类号:** Q341; Q813      **文献标志码:** A

## Study on mesodermal cell lineages

YANG Wen-Jun, HU Ping\*

(State Key Laboratory of Cell Biology, Institute of Biochemistry and Cell Biology,  
Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

**Abstract:** The study on the derivation of cell type patterns in mesoderm and dissecting their development and differentiation processes, are critical in generating functional and transplantable mesoderm derived stem cells, rendering the applications of regenerative medicine. The mesoderm study belongs to a part of a project “the research on the stem cells and regenerative medicine” in Strategic Priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences. This project focused on two mesoderm derived cell types, muscle and blood. We investigated the features and regulatory mechanisms in the development and differentiation of mesoderm cell types, and found novel factors that can maintain the stemness of progenitor cells. Based on these findings, we constructed the large-scale

收稿日期: 2016-04-01

基金项目: 中国科学院“干细胞与再生医学”战略性先导科技专项(XDA01010204)

\*通信作者: E-mail: hup@sibcb.ac.cn

cultivation and proliferation system, *in vitro*. This study will provide valuable information for profound understanding of the self-renew, proliferation and differentiation of mesoderm derived stem cells. This article will review the research progress of the five-year project.

**Key words:** mesoderm; stem cells; hematopoiesis; myogenesis; adipogenesis; disease; cell lineages

哺乳动物从受精卵发育成为各组织器官协调运转的个体需要经历一系列复杂的细胞分化和形态发生过程。受精卵经过卵裂形成囊胚,再经过原肠运动形成3个胚层:外胚层、中胚层和内胚层。中胚层是生物体进化到陆生的基本条件之一,它的出现是细胞命运决定过程中的一个里程碑,为动物体器官系统的结构发展、生理的复杂化和完备化提供了必要的基础。哺乳动物中有许多重要的器官来源于中胚层,包括心脏、血液、肾脏、肌肉、骨骼和脂肪。中胚层衍生细胞谱系发育异常或者病变会导致多种疾病,如血液性疾病、肌肉萎缩、肌营养不良、肥胖、高血脂和糖尿病等。中胚层系统疾病发病率高,后遗症多,难以治愈,损失了大量劳动力,给患者和社会带来了极大的负担。因此,迫切需要从新的角度探索中胚层的谱系决定,为寻找新的治疗策略奠定基础。

干细胞研究的进步为中胚层系统疾病的治疗带来了新的希望。大量研究表明干细胞治疗可促使身体自主再生已损伤组织,利用干细胞与组织工程技术相结合所得到的生物工程组织或器官能够直接移植到损伤部位实现再生,从而有可能提供新的疾病治疗方案和手段。中胚层来源的干细胞,如造血干细胞、肌肉干细胞等是目前再生医学和组织工程中重要的种子细胞,在基础研究和临床治疗中有着广阔的应用前景。然而,从体内分离纯化的中胚层来源干细胞在体外难以扩增传代,移植入体内的细胞的整合效率极低,无法发挥功能,因而限制了其临床应用。因此,建立在体外模拟体内干细胞自我更新和分化的体系,阐明中胚层衍生的特定组织干细胞在生理病理中的作用及其机制,建立有效干预手段,对于应用干细胞治疗中胚层相关疾病(如恶性白血病、肌肉退行性疾病、肥胖、糖尿病、心血管疾病等)具有十分重要的意义。2011年,中国科学院启动了战略性科技先导专项干细胞与再生医学研究。这个项目旨在解决干细胞领域中一些重大的前沿科学问题,其中“细胞谱系的建立与发育调控”作为干细胞与再生医学战略性先导专项的基础研究部分,针对外、中、内胚层细胞谱系的建立与发育调控的重大科学问题,集中攻关,解决关键技术难

题,为干细胞的临床提供理论指导。本文将以中胚层细胞谱系的发育分化为为主线,介绍干细胞与再生医学研究先导项目中胚层来源干细胞研究团队在过去五年里的主要原创性工作。

## 1 造血系统和造血干细胞

造血系统和造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)一直是研究组织形成和干细胞发育分子调控网络的重要模型。造血系统是一个庞大而复杂的多细胞系统,由HSC、各谱系祖细胞和成熟血细胞构成,其发育是一个受到严格调控的连续过程,持续个体终身。HSC是产生成体内所有血细胞的共同多能“母细胞”。脊椎动物中HSC产生于主动脉-性腺-中肾(aorta-gonad-mesonephros, AGM)区的主动脉腹侧,其中一部分内皮细胞具有生成血细胞的功能,被称为生血内皮。生血内皮细胞通过内皮-造血转化过程(endothelial-hematopoietic transition, EHT)直接产生HSC。HSC一方面通过不对称分裂自我更新以维持干细胞库的稳定;另一方面,在命运决定因子及造血微环境的共同作用下,经特定的谱系决定过程向共同淋巴系祖细胞(CLP)和共同髓系祖细胞(CMP)等方向进行分化。其中CLP可进一步分化为成熟的淋巴系细胞,包括T细胞、B细胞和NK细胞。CMP则向下游分化为成粒-巨噬系祖细胞(GMP)和巨核-红系祖细胞(MEP),进一步生成功能性的粒细胞、巨噬细胞及血小板等。血细胞耗损量巨大,血液系统在整个机体生命全程处于不断更新之中。生理情况下,正常成人每天每千克体重大约需要补充60亿个成熟血细胞,而造血发育,尤其是HSC的发育过程,包括自我更新、迁移增殖和定向分化等直接决定着血液系统的稳态维持和正常生理功能行使,其中任何环节的异常均可能导致血液和免疫疾病的发生。造血干细胞移植是目前治疗白血病、再生障碍性贫血、淋巴瘤、多发性骨髓瘤和免疫缺陷病等恶性血液病的重要方法,但是,供体的严重匮乏极大地限制了该技术的广泛应用。如何从体外获得大量可用于移植的、有功能的造血干细胞一直是基础科学和转化医学关注的焦点课题。人们对造血干细胞产生、维持和分化的机制了

解将有助于解决这个难题。

### 1.1 造血干细胞产生的调控机制

造血系统发育过程受到一系列信号通路的严密调控。中国科学院动物研究所刘峰研究团队深入而系统地研究体内造血干细胞产生的调控机理, 探索体外诱导并获得大量造血干细胞的新方法, 以期为众多血液疾病患者提供新的治疗方案。Notch 信号通路一直被认为是造血干细胞产生所必需的, 刘峰团队的研究发现 Ncor2、Gpr183 和 TLR4-Myd88-NFκB 通路可以通过不同方式影响 Notch 信号, 进而调控造血干细胞的产生。Ncor2 在 AGM 区表达, 且其表达降低会影响造血干细胞的产生和 T 细胞发育。Ncor2 可以通过调控 Fos 表达, 促进 Vegfd-notch 信号抑制生血内皮的命运决定, 进而影响造血干细胞的产生<sup>[1]</sup>。他们进一步研究发现, Notch 信号对造血干细胞的调控是阶段性的, 在胚胎造血干细胞发育早期阶段 Notch 信号是必需的, 但在 EHT 发生阶段 Notch 信号需要被下调。对 Gpr183 负调控 Notch 的机理研究发现, 生血内皮里的 Gpr183 经配体 7α-25-OHC 激活招募 β-Arrestin1 和 E3 连接酶 Nedd4, 通过泛素化的蛋白酶体途径降解 Notch1。外源添加 7α-25-OHC 可以促进 EHT, 加速造血干细胞的产生。因此, 7α-25-OHC 有可能作为潜在的药物靶点, 在体外诱导产生大量有功能的造血干细胞<sup>[2]</sup>。炎症信号通路在造血干细胞产生过程中也发挥着必不可少的作用。对造血干细胞进行 RNA-seq 分析发现, 炎症信号 TLR4-Myd88-NFκB 信号通路在造血干细胞中高表达, 并可以通过 Notch 信号通路影响造血干细胞的产生<sup>[3]</sup>。除了 Notch 信号通路外, BMP-FGF 和 Fev 等信号通路在造血干细胞产生中也发挥重要作用。BMP-Smad1/5 招募共抑制因子 HDAC1 到 Erk1/2 的启动子区, 使其乙酰化水平下降, 从而在转录水平上抑制 Erk1/2 的表达。BMP-Smad1/5 对 Erk1/2 的抑制作用能够将 Erk 维持在低水平, 从而有利于造血干细胞的产生<sup>[4]</sup>。ETS 家族转录因子 Fev 在造血干细胞分化、自我维持和迁移至胸腺和肾脏中也有重要作用, Fev 直接结合在 Erk2 启动子序列并调控其表达, 然后, 通过 Erk 信号通路影响造血干细胞发育, 并且这种影响是细胞自主性的<sup>[5]</sup>。这项工作作为封面文章发表后被西奈山医学院 Anna Migliaccio 推荐为本领域特别重要的文章并在 Faculty of 1000 做了重点评述。在此专题上, 刘峰团队受邀为 *Blood Cells, Molecules and Diseases* 撰写了一篇关于 ETS 转录因

子在造血干细胞发育中作用的综述文章<sup>[6]</sup>。刘峰团队这些发现, 从分子水平建立了干细胞主控基因及信号通路之间调控的关系, 有助于丰富我们对造血干细胞发育和分化调控机制的认识, 并为体外产生和扩增可移植、有功能的造血干细胞提供了新的理论依据。

### 1.2 诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)重编程调控

iPSC 重编程技术为体外诱导造血干细胞的生成和制定个体化治疗方案提供了可靠的技术平台。中国科学院生物物理研究所范祖森研究团队在 iPSC 细胞重编程方向取得了一系列重要的研究进展。他们发现自噬过程对于 iPSC 的诱导形成至关重要, 自噬缺陷的 Atg5<sup>-/-</sup> 小鼠胚胎成纤维细胞无法启动干性基因的表达, 不能产生 iPSC 细胞, 也不能形成畸胎瘤。他们还发现, Sox2 作为重编程的重要转录因子, 通过招募 NuRD 复合物调控 mTOR 的转录水平, 从而推动自噬的发生和 iPSC 的产生<sup>[7]</sup>。Pcid2 参与 mRNA 的转运调控, Pcid2 基因敲除导致人和小鼠 ES 细胞失去干性, 在体内失去三胚层分化能力。进一步研究发现, Pcid2 与 E3 泛素连接酶 MDM2 竞争性结合 CBP/p300 乙酰转移酶抑制因子 EID1, 抑制 EID1 的降解过程, 阻断 CBP/p300 的乙酰转移酶活性和分化相关基因启动子区 H3 组蛋白 Lys9 及 Lys14 位乙酰化修饰, 从而抑制人和小鼠胚胎干细胞分化相关基因的表达, 在胚胎干细胞自我更新与分化的调控中发挥重要作用<sup>[8]</sup>。这些研究为理解细胞重编程机制提供了重要依据, 并为通过 iPSC 诱导造血干细胞进行细胞移植治疗奠定了基础。

### 1.3 造血谱系建立

造血干细胞是一群多能干细胞, 能够分化产生红系的红细胞和血小板、髓系的巨噬细胞和粒细胞以及淋系的 T、B 淋巴细胞等多种血细胞。在体内发挥重要生理功能的巨核细胞及免疫细胞的祖细胞等细胞类型在体内比例非常低, 分离不便, 且在体外扩增和分化困难, 成为临床使用体外诱导细胞进行输血, 治疗相关血液疾病的技术瓶颈。因此, 研究造血干细胞谱系发育分化机制和体外高效诱导功能性血液和免疫细胞, 有助于阐明多种血液疾病的发病机制, 设计更有效的血液疾病治疗策略。

在造血干细胞分化成 T 细胞的过程中, T 淋巴前体细胞迁移进入胸腺非常关键, 但调控这一过程的分子机制并不清楚。刘峰团队发现转录因子 Irf4

对 T 淋巴前体细胞向胸腺的迁移是必需的。在单细胞水平追踪发现, 因缺失 *Irf4* 而不能向胸腺迁移的 T 淋巴前体细胞, 逐渐转变成了中性粒细胞等髓系血细胞。这些结果表明, *Irf4* 参与维持 T 淋巴前体细胞的特性, 并防止其向其他类型血细胞转变<sup>[9]</sup>。刘峰团队的工作有助于探讨 T 细胞免疫缺陷、白血病等血液疾病的发病机制, 为临床治疗提供理论依据。中国科学院上海生命科学研究院健康研究所周勇研究团队致力于研究造血干细胞向粒细胞发育分化的信号调控。他们发现造血特异的 miR-142-3p 调控 IFN $\gamma$  信号通路, 在维持中性粒细胞的发育和成熟中有重要作用<sup>[10]</sup>。IFN $\gamma$  上游基因 *c-cbl E3* 泛素化酶通过 *Flt3* 信号通路调控早期干细胞发育, 该基因突变可导致骨髓增殖性肿瘤或急性白血病<sup>[11]</sup>。他们还发现 *Pten* 通过 PI3K/mTOR 调控造血干细胞向粒细胞的分化<sup>[12]</sup>。此外, 酪氨酸激酶信号通路下游关键效应分子磷脂酶 *Cy1* 也参与调控造血干细胞向粒细胞分化<sup>[13]</sup>。他们团队这些年成功建立了粒细胞体外成熟方法, 为免疫缺陷性血液病的机制阐明和用于药物高通量筛选的模型提供了依据。

范祖森团队在造血干细胞向免疫细胞谱系建立的方向也取得了重要的研究进展。WASP (Wiskott-Aldrich 综合征蛋白) 是第一个被发现的肌动蛋白调节分子家族, WASP 家族分子或其相互作用蛋白的突变能引起多种免疫缺陷。对 WASP 家族成员 WASH 的研究发现, 骨髓系统 WASH 基因条件性敲除的小鼠出现严重贫血, 呈现明显的外周血液细胞数目降低和骨髓系统造血前体细胞数目减少的现象。进一步研究发现, WASH 蛋白通过招募 NURF 复合物, 结合在 *c-Myc* 基因的启动子区域, 调控其表达, 从而调控造血干细胞分化<sup>[14]</sup>。重编程重要的转录因子 *Sox2* 在造血干细胞发育中也发挥重要作用, 他们发现 *Sox2* 蛋白在嗜中性粒细胞的胞质中高表达, 在细菌感染的情况下, *Sox2* 与入侵的细菌共定位, 且呈现明显的斑点状分布。进一步研究发现, 嗜中性粒细胞胞浆内的 *Sox2* 蛋白通过其 HMG 结构域与入侵细菌特异性 DNA 结合, 发生二聚化并招募 TAB2 蛋白, 继而活化 TAK1 蛋白激酶, 从而引起 NF $\kappa$ B 信号通路的活化, 导致嗜中性粒细胞促炎症因子的分泌<sup>[15]</sup>。这一工作提出了 *Sox2* 蛋白作为胞内细菌 DNA 传感器, 活化嗜中性粒细胞促炎症反应的新功能。在病毒感染过程中, 核酸转移酶 cGAS (cyclic GMP-AMP synthase) 作为另一种 DNA 传感器, 能识别胞质病毒 DNA 并催化合成一

种内源性的环化二核苷酸 cGAMP, 激活干扰素刺激基因 (STING) 而启动免疫反应抵抗病毒。范祖森团队与中国科学院生物物理研究所田勇团队合作还发现, TTLL6 酶介导 cGAS 多聚谷氨酸化会阻碍它的 DNA 结合能力, 而 TTLL4 介导的单谷氨酸化则会阻断它的合成酶活性。与之相反, 羧肽酶 CCP6 可以解除 cGAS 多聚谷氨酸化, 它们共同作用可激活 cGAS<sup>[16]</sup>。这项研究揭示了谷氨酸化修饰调控 DNA 传感器 cGAS 的抵御病原微生物感染的分子机制, 为操控白细胞治疗感染性疾病指出了潜在的治疗策略。

#### 1.4 造血细胞谱系基因改造治疗人类血液病

巨核细胞是由造血干细胞分化而来的血细胞, 其主要功能是产生血小板。目前临床上对血小板输注的需求量很大, 但血小板的捐赠者有限且储存期短。造成体外产生血小板困难的重要原因, 包括体外诱导体系中巨核细胞生成效率低, 以及巨核细胞多倍体化程度不够等。范祖森团队与田勇团队合作发现机体内 CCP6 和 TTLL6 通过调节 Mad2 的多聚谷氨酸化修饰, 调控了巨核细胞的成熟以及血小板的产生<sup>[17]</sup>。中国科学院北京基因组研究所王前飞团队利用人类疾病干细胞模型和转基因小鼠模型寻找巨核细胞生成和多倍体化的关键基因或通路, 以优化体外血小板生成体系。FPD/AML (familial platelet disorder/acute myelocytic leukemia) 是一种家族性血小板减少症, 具有明显的巨核分化缺陷。他们对 FPD 患者皮肤成纤维细胞重编程建立了疾病干细胞模型, 并通过基因编辑技术纠正 RUNX1 基因突变, 改善了疾病模型中的巨核细胞分化缺陷 (待发表)。这些研究为巨核谱系发育分化的研究和血小板再生医学研究提供了重要的理论基础。

急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 是一种常见的血液系统恶性肿瘤, 发病率约为 2.76/10 万人, 五年预后率 30%~40%, 并且随着年龄增长预后愈加变差。缺乏有效的靶向药物和较高的复发耐药比例都是造成 AML 预后差的原因。王前飞团队研究发现, 表观遗传调控子 SETD2 是白血病的新抑癌基因。他们通过对急性白血病患者进行全基因组测序, 发现 6% 的急性髓系白血病患者携带组蛋白甲基转移酶 SETD2 的突变, 进一步的研究显示, SETD2 突变引起的组蛋白修饰紊乱是白血病发生中的关键通路。mTOR 通路阻断剂能抑制带有 SETD2 突变的多种白血病亚型肿瘤细胞的生长。此外, SETD2 突变细胞对常用化疗药物耐药。

通过转录组分析发现, SETD2 功能缺失引起 DNA 修复和细胞周期检查点 (check point) 异常, 而使用细胞周期抑制剂可以令耐药细胞对化疗药物重新敏感。这些研究揭示了组蛋白修饰表观遗传变异和基因组突变的协同作用, 加深了对白血病乃至其他癌症发病机制的认识, 为白血病和其他 SETD2 突变的肿瘤提供了新的治疗途径<sup>[18]</sup>。

## 2 肌肉再生和肌肉萎缩

肌肉不仅是运动系统的主要组成部分, 而且与哺乳动物的代谢密切相关。骨骼肌消耗体内近 80% 的葡萄糖, 其静止代谢率占整个人体静止代谢率的 30%, 维持一定的肌肉质量对于维持正常的糖、脂、蛋白质代谢是必不可少的。肌肉质量的保持依赖于肌肉再生和肌肉萎缩之间的稳态平衡。稳态平衡的破坏不仅会诱发肌肉萎缩等肌肉退行性疾病, 而且会破坏体内代谢平衡, 导致包括糖尿病、心血管疾病在内的很多代谢疾病的发生。目前还没有能够有效预防和治疗肌肉萎缩的方法, 如何打破病理条件下代谢异常与肌肉萎缩之间的恶性循环是当前国际上研究的热点。通过促进肌肉再生, 维持有正常功能的骨骼肌系统是人体保持代谢平衡和治疗肌肉退行性疾病的最有效的方法。中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所胡莘研究团队近年来从肌肉再生和肌肉萎缩两个角度入手, 解析肌肉质量和功能保持的关键调控模式, 为进一步开发促进肌肉再生, 抑制肌肉萎缩, 高效修复肌肉损伤的药物奠定基础。

### 2.1 肌肉再生系统细胞谱系的建立

体内肌肉的形成有两种途径, 其一是由全能性胚胎干细胞分化为肌肉细胞; 其二是由多能性成体肌肉干细胞分化为肌肉细胞。在体外由胚胎干细胞向骨骼肌的分化效率很低 (<5%), 由胚胎干细胞分化为肌肉干细胞的方法目前还很不成熟。为了解决这些问题, 胡莘团队建立了由胚胎干细胞分化为轴旁中胚层细胞, 再由轴旁中胚层细胞分化为肌肉细胞的两步体外分化系统。两步诱导法在胚胎干细胞体外分化系统中重现了体内轴旁中胚层形成的过程。胚胎干细胞在无滋养层细胞、不形成拟胚体的情况下, 加入小分子诱导后依次经过上胚层和中内胚层阶段, 分化为轴旁中胚层。在已建立的体外分化系统中, 经诱导后, 胚胎干细胞分化为轴旁中胚层细胞的诱导效率在 40%~60% 之间。在此基础上, 他们还建立了轴旁中胚层细胞向肌肉细胞高效分化

体系, 为进一步获得再生医学治疗所需的各种功能细胞奠定基础 (待发表)。

哺乳动物出生后在成长过程中骨骼肌质量的增加, 肌肉损伤后的再生都依靠肌肉干细胞来完成。肌肉干细胞位于肌纤维的质膜和周围基层之间独特的“巢穴”(niche) 内。在生长、运动、损伤等刺激下, 肌肉干细胞能够被激活, 由 niche 中迁移出来进行增殖, 增殖后的细胞多数发育分化为肌纤维, 后者可互相融合成为多核的肌纤维, 取代受损的肌肉纤维愈合损伤。一部分细胞不参与分化, 重新回归 niche, 进入静息状态, 补充消耗的肌肉干细胞。由于肌肉干细胞在体内有较强的增殖和再生能力, 没有致瘤性, 其使用不涉及伦理问题, 被认为是治疗肌肉退行性疾病和修复肌肉损伤的优秀种子细胞。与多数成体干细胞相似, 肌肉干细胞的体外培养十分困难, 因而难以得到足够用于细胞移植的干细胞。同时, 肌肉干细胞在体外培养后很快分化为肌肉祖细胞, 几乎完全丧失了体内修复肌肉损伤缺陷的能力, 这些问题阻碍了肌肉干细胞用于肌肉退行性疾病和肌肉损伤的治疗。成体干细胞激活、扩增和干性的保持都受到体内微环境的调控。胡莘团队通过与中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所王红艳团队合作, 发现 T 细胞诱导的急性炎症是肌肉干细胞增殖的重要体内微环境, 并成功地找到了 T 细胞所分泌的 4 种促炎因子 IL-1 $\alpha$ 、IL-13、TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$ , 作为最小细胞因子组合, 有效地促进肌肉干细胞在体外的增殖和长期传代。长期培养后的肌肉干细胞不仅保持了高效的体外分化能力, 而且能在体内高效修复肌肉损伤, 效率非常接近体内的肌肉干细胞。在损伤修复后, 移植的肌肉干细胞像体内肌肉干细胞一样, 能够回归正确的“巢穴”, 并能够被再次激活、扩增, 修复后续肌肉损伤, 重构体内干细胞库。在体外长期传代的肌肉干细胞在全基因组水平上具有与新鲜分离的肌肉干细胞相似的表达谱。进一步的研究发现, 4 种细胞因子组合直接注射到小鼠体内也可以促进内源肌肉干细胞增殖和肌肉损伤修复。这一系统的建立有效地解决了肌肉干细胞在体外培养后迅速丧失干性、无法在体内修复肌肉损伤的问题, 4 种细胞因子组合也可能发展为不依赖于细胞移植的促肌肉再生药物, 为肌肉相关疾病的再生医学治疗奠定了基础<sup>[19]</sup>。同时, 这一工作揭示了免疫细胞、急性炎症与成体干细胞之间的有机联系, 为进一步深入研究免疫反应与机体再生的关系奠定了基础。

此外,保持完整干性的肌肉干细胞体外长期扩增系统的建立还为干细胞干性保持、增殖、分化调控分子机制的深入研究提供了优良的研究系统。这项工作作为封面文章发表后还被肌肉干细胞研究领域权威科学家、美国斯坦福大学医学中心主任 Thomas A Rando 做了专题评述。

## 2.2 肌肉萎缩

肌肉是一个复杂的系统,肌肉质量的保持依赖于肌肉再生和肌肉萎缩之间的精确平衡,再生出的肌肉必须能够维持稳态才能发挥功能。衰老、营养不良或者各种疾病会破坏平衡,肌肉开始萎缩和死亡。多数肌肉萎缩发病的分子机制尚不清楚,缺乏易于检测的标记用于临床分子诊断,缺少有效的治疗方法。随着我国进入老龄化社会,70岁以上人口达到1.6亿,老年性肌肉萎缩在这一人群中的发病率大于70%,成为日益严重的人口健康问题。胡莘团队应用 RNA-sequencing 技术,发现分泌蛋白 Dkk3 在老年性肌肉萎缩患者的肌肉和外周血中特异性高表达。由于外周血简便易得,提示 Dkk3 可以作为老年性肌肉萎缩的潜在易用的分子诊断标记。他们发现在年轻小鼠体内过表达或药物刺激诱导 Dkk3 表达能模拟老年性肌肉萎缩,而相反,在衰老小鼠肌肉中阻断 Dkk3 表达明显下调肌肉萎缩的 E3 泛素连接酶 Atrogin-1 的表达水平,从而改善老年性肌肉萎缩现象并帮助肌肉功能恢复到年轻肌肉的水平。进一步机制研究发现, Dkk3 通过促进 Foxo3 和  $\beta$ -catenin 形成复合物激活 E3 泛素连接酶 Atrogin-1,进而诱发老年性肌肉萎缩,阻断复合物的形成同样也能帮助老年性小鼠体内已发生萎缩肌肉功能的恢复。这一研究为开发老年性肌肉萎缩治疗药物提供了治疗靶点(待发表),相关技术也已经申请国家发明专利<sup>[20-21]</sup>。

## 3 中介体复合物(mediator complex)和脂肪细胞分化

哺乳动物的转录中介体复合物是由进化上保守的30多个蛋白质组成的多亚基蛋白质复合物。传统的研究认为, Mediator 是介于转录因子与 RNA 聚合酶转录机器之间的连接桥梁。最新的研究发现,中介体复合物在表观遗传学调控、转录延伸、终止、RNA 加工、非编码 RNA 激活,以及超级增强子形成等过程中都起重要作用。不同的 Mediator 亚基在不同细胞谱系发育中有不同的功能,是发育以及细胞命运决定的重要协调者。

脂肪组织起源于中胚层特化的多能干细胞群,是体内巨大的能量贮备系统,它对于维持机体的能量代谢平衡发挥着重要作用。脂肪细胞增殖、分化失常可引起脂肪组织的过多堆积,继而导致肥胖和胰岛素抵抗的发生。目前,这已成为一类世界性的健康问题,并且是冠心病、高血压、2型糖尿病、高脂血症等许多严重疾病的共同危险因子。因此,脂肪细胞分化发育的分子调控及其与肥胖、胰岛素抵抗发病机制的关系一直是国际上的研究热点。脂肪细胞分化过程受到众多的信号通路和转录因子调节,其中一条十分重要的通路是 Insulin 信号通路。在 Insulin 信号转导途径中,核内蛋白 Krox20 是已被发现的控制脂肪细胞分化过程的最早的转录因子。中国科学院上海生命科学院生物化学与细胞生物学研究所王纲团队的研究发现, Med23 与 Elk1 的相互作用在 Insulin 诱导脂肪细胞分化过程中的重要作用,它们通过控制 Krox20 的基因转录水平来调节脂肪细胞分化<sup>[22]</sup>。继发现 Mediator 亚基 Med23 在脂肪细胞分化中的关键作用后,他们还发现, Med23 亚基的缺失将会导致 Ras/ELK1 靶基因的表达减弱,而 RhoA/MAL 靶基因表达增强。这两条信号通路分别对于脂肪分化和平滑肌分化是必需的<sup>[23]</sup>。因此, Med23 的表达水平对于调控脂肪和平滑肌的平衡起了至关重要的作用。这一关于中介体复合物亚基 Med23 能够正反调控两种细胞命运的工作,揭示了细胞命运调控的新机制,为治疗一系列脂肪和平滑肌相关疾病(如肥胖、糖尿病、动脉粥样硬化、高血压等)提供了可能的干预靶点。

## 4 结语

血液、肌肉和脂肪等中胚层细胞谱系之间在发育来源、分子调控、生理功能、临床应用和疾病治疗等方面都存在紧密的联系。研究这三者在体内外发育分化过程对于我们全面阐明中胚层发育重要调控机制,揭示关键因子在分化过程中的作用,构建中胚层来源细胞的高效分离纯化和体外培养体系,实现功能器官的重建等都具有重要意义。目前的研究初步找了中胚层来源干细胞产生和发育分化的分子机制,建立和优化了中胚层来源干细胞体外培养扩增和高效分化体系,为干细胞基础研究及再生医学应用奠定了基础。现阶段,在对中胚层来源干细胞深入研究的同时,以转化医学为出发点和落脚点,利用已取得的研究成果,实现对中胚层系统疾病早期诊断和有效干预,这是最终战胜中胚层疾病的关键问题。

## [参 考 文 献]

- [1] Wei YL, Ma DY, Gao Y, et al. Ncor2 is required for hematopoietic stem cell emergence by inhibiting Fos signaling in zebrafish. *Blood*, 2014, 124: 1578-85
- [2] Zhang PP, He QP, Chen DB, et al. G protein-coupled receptor 183 facilitates endothelial-to-hematopoietic transition via Notch1 inhibition. *Cell Res*, 2015, 25: 1093-107
- [3] He QP, Zhang CX, Wang L, et al. Inflammatory signaling regulates hematopoietic stem and progenitor cell emergence in vertebrates. *Blood*, 2015, 125: 1098-106
- [4] Zhang CX, Lv JH, He QP, et al. Inhibition of endothelial ERK signalling by Smad1/5 is essential for haematopoietic stem cell emergence. *Nat Commun*, 2014, 5: 3431
- [5] Wang L, Liu TH, Xu LJ, et al. Fev regulates hematopoietic stem cell development via ERK signaling. *Blood*, 2013, 122: 367-75
- [6] Ciau-Uitz A, Wang L, Patient R, et al. ETS transcription factors in hematopoietic stem cell development. *Blood Cell Mol Dis*, 2013, 51: 248-55
- [7] Wang S, Xia PY, Ye BQ, et al. Transient activation of autophagy via sox2-mediated suppression of mtor is an important early step in reprogramming to pluripotency. *Cell Stem Cell*, 2013, 13: 617-25
- [8] Ye BQ, Dai ZH, Liu BY, et al. Pcid2 inactivates developmental genes in human and mouse embryonic stem cells to sustain their pluripotency by modulation of EID1 stability. *Stem Cells*, 2014, 32: 623-35
- [9] Wang SF, He QP, Ma DY, et al. Irf4 regulates the choice between T lymphoid-primed progenitor and myeloid lineage fates during embryogenesis. *Dev Cell*, 2015, 34: 621-31
- [10] Fan HB, Liu YJ, Wang L, et al. miR-142-3p acts as an essential modulator of neutrophil development in zebrafish. *Blood*, 2014, 124: 1320-30
- [11] Peng X, Dong M, Ma L, et al. A point mutation of zebrafish *c-cbl* gene in the ring finger domain produces a phenotype mimicking human myeloproliferative disease. *Leukemia*, 2015, 29: 2355-65
- [12] Dong ZW, Ren CG, Xia Y, et al. Pten regulates homeostasis and inflammation-induced migration of myelocytes in zebrafish. *J Hematol Oncol*, 2014, 7: 17
- [13] Jing CB, Chen Y, Dong M, et al. Phospholipase C  $\gamma$ -1 is required for granulocyte maturation in zebrafish. *Dev Biol*, 2013, 374: 24-31
- [14] Xia PY, Wang S, Huang GL, et al. WASH is required for the differentiation commitment of hematopoietic stem cells in a c-Myc-dependent manner. *J Exp Med*, 2014, 211: 2119-34
- [15] Xia PY, Wang S, Ye BQ, et al. Sox2 functions as a sequence-specific DNA sensor in neutrophils to initiate innate immunity against microbial infection. *Nat Immunol*, 2015, 16: 366-75
- [16] Xia P, Ye B, Wang S, et al. Glutamylation of the DNA sensor cGAS regulates its binding and synthase activity in antiviral immunity. *Nat Immunol*, 2016, 17: 369-78
- [17] Ye BQ, Li C, Yang Z, et al. Cytosolic carboxypeptidase CCP6 is required for megakaryopoiesis by modulating Mad2 polyglutamylation. *J Exp Med*, 2014, 211: 2439-54
- [18] Zhu XF, He FH, Zeng HM, et al. Identification of functional cooperative mutations of SETD2 in human acute leukemia. *Nat Genet*, 2014, 46: 287-93
- [19] Fu X, Xiao J, Wei YN, et al. Combination of inflammation-related cytokines promotes long-term muscle stem cell expansion. *Cell Res*, 2015, 25: 655-73
- [20] 胡莘, 尹杰. Dkk3基因的用途及其相关药物[P]. 中国: 201510539931.3
- [21] 胡莘, 尹杰. 肌肉萎缩相关的蛋白质分子标记Dkk3的筛选及其应用[P]. 中国: 201510539931.3
- [22] Wang W, Huang L, Huang Y, et al. Mediator MED23 links insulin signaling to the adipogenesis transcription cascade. *Dev Cell*, 2009, 16: 764-71
- [23] Yin JW, Liang Y, Park JY, et al. Mediator MED23 plays opposing roles in directing smooth muscle cell and adipocyte differentiation. *Genes Dev*, 2012, 26: 2192-205