

DOI: 10.13376/j.cblls/2023074

文章编号: 1004-0374(2023)05-0629-13

细胞融合在人类疾病病理与医学应用中的研究进展

王琳蓉¹, 董彩华², 程乐平^{1,2,3*}

(1 广西医科大学再生医学与医用生物资源开发应用省部共建协同创新中心, 广西再生医学重点实验室, 南宁 530021; 2 广西医科大学基础医学院, 神经科学研究所, 广西脑科学研究重点实验室, 广西壮族自治区卫生健康委员会脑功能与脑疾病基础研究重点实验室(广西医科大学), 南宁 530021; 3 长寿与老年相关疾病教育部重点实验室, 南宁 530021)

摘要: 细胞融合包括细胞识别和黏附、融合孔开放以及胞质混合等基本步骤, 它参与人类的许多生理病理过程。细胞融合为受精卵、胎盘、骨骼肌、破骨细胞等组织细胞正常发育所必需。同时, 细胞融合在癌细胞的产生、恶性转移以及病毒入侵等人类重大疾病的发生发展中发挥了重要作用, 这严重威胁人类的生命健康。本文围绕细胞融合参与的生理、病理过程, 借助相关研究的最新进展, 揭示细胞融合在人类疾病病理中的重要作用, 进而提出了阻断细胞融合以减缓病毒入侵人体细胞以及肿瘤细胞的产生与扩散的治疗新策略; 进一步探讨了细胞融合在干细胞介导的组织再生以及细胞重编程中的潜在作用。这将深化人们对细胞融合在相关疾病病理中作用的认识, 并大力推进细胞融合分子的临床应用进程。

关键词: 细胞融合; 受精; 胎盘滋养层细胞融合; 巨噬细胞融合; 成肌细胞融合; 病毒感染; 肿瘤杂交细胞; 组织再生

中图分类号: Q254; Q813.2; R339.3+7 文献标志码: A

Research advances on the role of cell fusion in human pathology and its medical application

WANG Lin-Rong¹, DONG Cai-Hua², CHENG Le-Ping^{1,2,3*}

(1 Collaborative Innovation Centre of Regenerative Medicine and Medical BioResource Development and Application Co-constructed by the Province and Ministry, Guangxi Key Laboratory of Regenerative Medicine, Nanning 530021, China; 2 Institute of Neuroscience and Guangxi Key Laboratory of Brain Science, Guangxi Health Commission Key Laboratory of Basic Research on Brain Function and Disease, School of Basic Medical Sciences, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 3 Key Laboratory of Longevity and Aging-related Diseases of Chinese Ministry of Education, Nanning 530021, China)

Abstract: Cell fusion comprises three basic steps of cell recognition and adhesion, the opening of fusion pore and cytoplasmic mixing, and it participates in a number of physiological and pathological processes. Cell fusion is indispensable for the development of fertilized eggs, the placenta, skeletal muscle, and osteoclast cells. At the meanwhile, cell fusion plays critical roles in the occurrence and metastasis of malignant tumor cells, and the viral infection, which are seriously threatening the lives and health of mankind. Focusing on the processes in which cell fusion is involved, the important functions of cell fusion underlying human pathology are summarized with the latest advances and novel therapeutic strategies for slowing down the viral invasion, and the generation and spread of cancer cells are proposed. Furthermore, the potential applications of cell fusion in stem cell-mediated tissue regeneration and cell reprogramming are discussed. This will deepen our understanding on the roles cell fusion plays in related human diseases, and ultimately will facilitate the clinical application of cell fusion.

收稿日期: 2023-03-13; 修回日期: 2023-04-25

基金项目: 广西科技基地和人才专项(AD21075052); 广西医科大学青年科学基金项目(GXMUYSF202102)

*通信作者: E-mail: lpcheng@gxmu.edu.cn; Tel: 0771-5787806

Key words: cell fusion; fertilization; cell fusion of placental trophoblast cells; cell fusion of macrophage; cell fusion of myoblasts; virus infection; tumor hybrid cell; tissue regeneration

细胞融合, 又称体细胞杂交, 是指两个或多个细胞通过质膜融合形成单个细胞的过程。细胞融合涉及生理、病理以及疾病治疗的许多方面, 如受精、胎盘形成、肌肉发育与再生、骨重塑、病毒感染、癌症转移、组织再生等^[1-2]。细胞间融合相对不常见, 体外可以使用灭活仙台病毒、聚乙二醇 (PEG) 或电融合等技术诱导发生。融合蛋白 (fusogen) 为细胞融合必需的蛋白质, 在融合过程中, 它们既可以存在于两种细胞质膜上 (双侧同型或异型融合), 也可仅存在于一种细胞质膜上 (单侧融合) 发挥作用^[3]。本文首先分析了哺乳动物生理过程中的细胞融合现象及其在人类相关疾病发生发展中的重要作用, 随后阐述了细胞融合在病毒感染与癌症转移中的致病机理及其医学应用, 最后探讨了细胞融合介导干细胞参与的组织再生现象。

1 生理与病理过程中的细胞融合

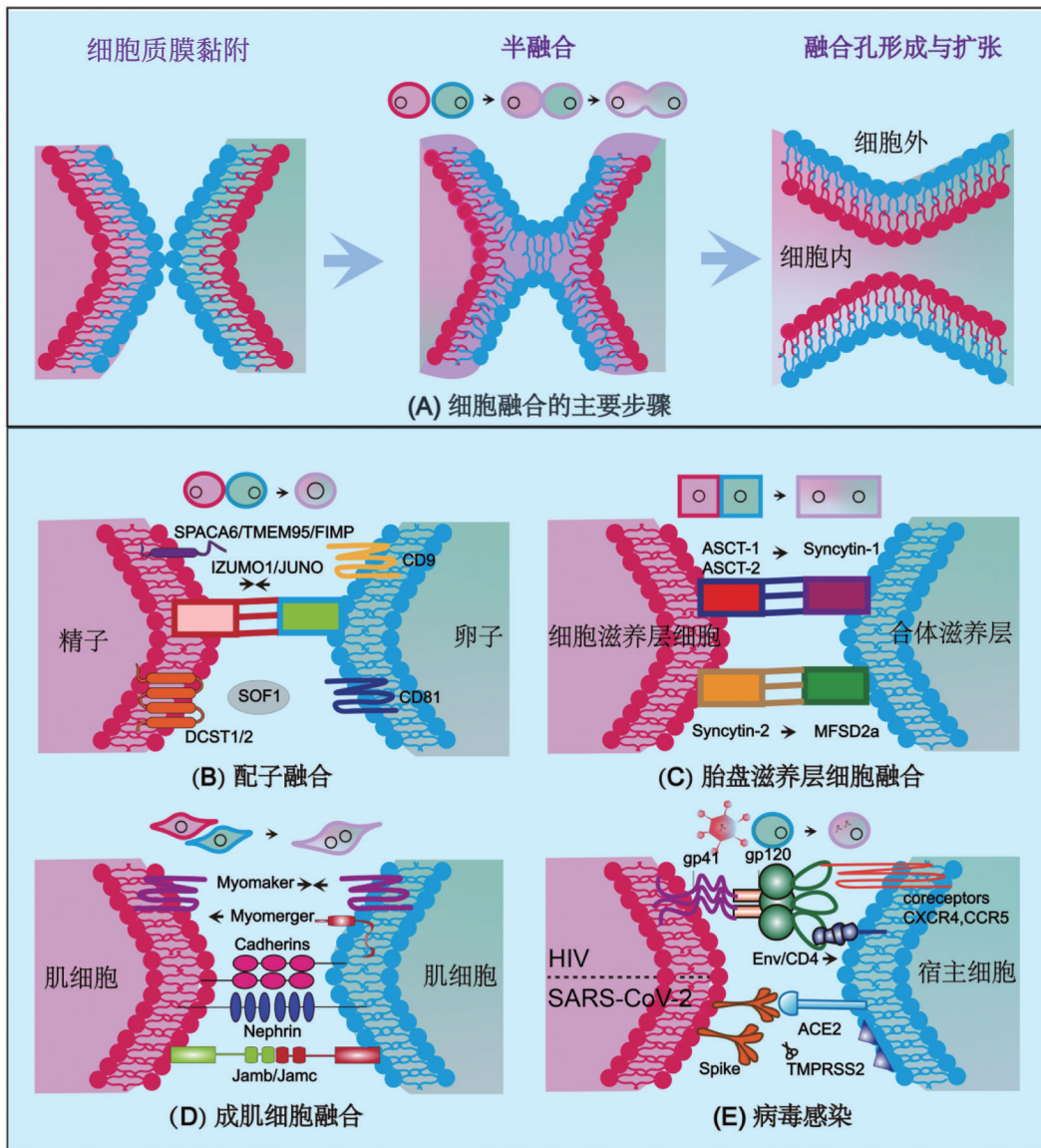
细胞融合伴随动物个体生长发育过程, 如受精卵的形成、单核细胞滋养层细胞融合为合体滋养层细胞形成胎盘、肌肉前体细胞分化为成熟的骨骼肌、巨噬细胞融合成破骨细胞等。融合通常包括三个主要步骤: (I) 质膜的弯曲、凸出, 在 1 nm 的距离内紧密贴合; (II) 贴合的质膜单磷脂层发生半融合, 此时细胞质尚未混合; (III) 两个细胞远端的质膜单磷脂层发生融合形成融合孔。此后融合孔扩张, 细胞质混合^[2, 4] (图 1A)。细胞融合会产生两种形式的杂交细胞——异核体 (heterokaryons) 与合核体 (synkaryon)。异核体指细胞质发生了融合, 但核没有发生融合, 此时亲本的遗传物质分别位于不同的细胞核中。合核体指两个细胞的细胞核发生了融合, 此时亲本的遗传物质共处于一个细胞核中^[5]。

1.1 配子融合

亲本遗传物质的融合繁育出新生命。在人类受精卵的形成过程中, 精子首先穿过卵母细胞外的颗粒细胞层 (也称卵丘细胞) 获能, 获能精子再与卵母细胞透明带识别并结合, 诱导发生顶体反应。随后, 精子细胞质膜与卵母细胞质膜融合, 激活精子与卵子的原核融合成为合子, 完成受精^[4]。受精卵的形成依赖精子与卵子上融合蛋白的诱导。人类基

因与哺乳动物的同源基因具有高度保守性, 利用基因敲除小鼠模型在精卵结合中已逐渐鉴定出一系列融合相关蛋白, 但真正的融合蛋白及细胞融合机制尚不清楚。卵子上的四次跨膜蛋白超家族 (transmembrane 4 superfamily, TM4SF) 成员 CD9 (cluster of differentiation 9) 直接或间接促进精子表面糖蛋白受精素 β (a disintegrin and metalloprotease 2, ADAM2) 与卵子整合素 $\alpha 6 \beta 1$ 识别, 完成精卵结合^[6]。此后, 进一步研究发现, CD9 与其家族成员 CD81 在精卵结合中具有冗余作用^[7]。除了在卵母细胞上发现精卵融合相关蛋白, Inoue 等^[8] 在精子顶体膜上发现膜蛋白 IZUMO 触发精卵融合。Bianchi 等^[9] 鉴定出卵母细胞膜上存在 IZUMO1 受体——糖基磷脂酰肌醇 (glycosylphosphatidylinositol, GPI) 锚定蛋白 JUNO。IZUMO1 和 JUNO 为精子和卵子质膜上第一种配体与受体组合, 它们在配子融合过程中发挥关键作用。但 IZUMO1 蛋白的主要功能区为免疫球蛋白结构域, 它缺乏与融合功能相关——类似病毒进入或胞内囊泡转运——功能结构域。因此 IZUMO1 自身可能并不是融合蛋白, 它主要是通过协助目前尚未发现的融合蛋白触发精卵融合^[10]。近年来, 使用 CRISPR-Cas9 介导的基因敲除小鼠模型, 筛选出六种新的男性关键生育基因, 即 SPACA6、TMEM95、FIMP、DCST1/2 以及 SOF1^[11-15]。在这些配子融合相关蛋白中, IZUMO1、SPACA6、SOF1 以及 CD9 参与精子与卵母细胞质膜黏附, 而 TMEM95 介导精子与卵母细胞质融合 (图 1B)。最近研究发现, 单侧 IZUMO1 足以介导膜融合, 颠覆了 IZUMO1-JUNO 相互作用下完成融合的共识^[16-17]。借助近年来开发的 X 射线结晶学、低温电子显微镜技术以及同源建模软件^[18], 解析融合相关蛋白的功能域结构特征将有助于深刻理解精卵融合的分子机制。

深入研究哺乳动物精卵结合的受精机制将为治疗不孕不育症以及开发新型节育方法提供理论依据。尽管目前辅助生殖技术 (assisted reproductive technology, ART), 如体外受精 (*in vitro* fertilization, IVF) 以及试管婴儿, 已取得重大进展, 但精卵融合不成功仍为受孕失败的主要原因, 其中包括介导精卵相互作用的膜蛋白存在缺陷、精子结合及穿过透明带的能力不足、精卵基因型兼容度低、遗传基础



(A)细胞融合的主要步骤。发生融合的质膜弯曲、凸出,在1 nm 的距离内紧密贴合。贴合的质膜单磷脂层发生半融合,此时细胞质尚未混合。随后两个细胞远端的质膜单磷脂层发生融合形成融合孔,融合孔扩张引起细胞质混合。(B)完成受精需要两种融合相关蛋白IZUMO1与JUNO间发生相互作用。受精还需另外六种精子蛋白,其中五种为跨膜蛋白,如SPACA6、TMEM95、FIMP以及DCST1/2,另一种为分泌蛋白SOF1。除了JUNO,配子融合的卵细胞膜表面还表达融合相关蛋白CD9与CD81。(C)在胎盘STB形成过程中,合胞素为必不可少的融合蛋白。其中,syncytin-1在STB中表达,与vCTBs中表达的ASCT1和ASCT2结合。而syncytin-2在vCTBs中表达,并与STB中表达的MFSD2a结合。(D) Myomaker与Myomerger分子参与成肌细胞融合和肌肉形成。其中Myomaker触发半融合,Myomerger引起融合孔形成。此外,成肌细胞融合还需要几种黏附因子,包括Nephrin、Jamb/Jamc以及cadherin。(E) HIV-1通过由表面亚基gp120和跨膜亚基gp41组成的包膜糖蛋白(Env)启动感染。病毒的包膜蛋白gp120与宿主细胞的受体CD4及辅助受体CXCR4与CCR5结合,引起病毒感染。新冠病毒入侵宿主细胞依赖于病毒S蛋白与细胞表面受体ACE2的结合及蛋白酶TMPRSS2对S蛋白的切割。

图1 不同类型的细胞融合机制

不兼容的配子融合缺陷^[19-20]。干细胞可以分化为身体的各种细胞,其中包括原始生殖细胞。同时,干细胞通过分泌细胞因子与外泌体发挥抗氧化、抗凋亡、促血管生成、维持免疫平衡、改善微环境等作用以修复有缺陷的生殖器官的功能。它们为不孕不

育症的治疗提供了许多新颖的选择^[21-22]。脐带血干细胞已成功用于治疗子宫内黏连引起的不孕不育症^[23]。此外,现有的激素避孕药仍存在明显的副作用^[24]。为加快推进ART以及避孕技术的革新,需进一步探究调控配子融合的作用机理。

1.2 胎盘滋养层细胞融合

人类受精卵形成后约 4~5 d, 受精卵不断分裂形成胚泡, 胚泡由外部的滋养外胚层以及内部的内细胞团组成。滋养外胚层此后发育为胎盘, 而内细胞团将发育为胚胎。在胎盘绒毛形成过程中, 绒毛滋养层细胞 (villous cytotrophoblast cells, vCTBs) 可分化为两种不同的亚群——多核合体滋养层 (syncytiotrophoblast, STB) 及浸润母体子宫的绒毛外滋养层 (extravillous trophoblasts, EVT)。随着 vCTBs 持续不断融入绒毛外层的 STB, STB 将发育成一个含有巨量细胞核的多核合体, 至胎儿足月时 STB 的表面积将超过 12 m^2 ^[25]。vCTBs 融合形成的具有共同胞质的巨型 STB 将使母胎间通过均质的界面进行物质传递, 从而避免母胎间交换的物质进入 vCTBs 细胞间连接部位。伴随 vCTBs 的不断融入, STB 中老化和凋亡的物质将排放到母体血液中以维持 STB 的动态平衡。目前领域内形成广泛共识, vCTBs 融合失调以及 STB 中凋亡坏死物质过多排入母体血液循环系统与妊娠相关疾病——先兆子痫及胎儿宫内生长受限密切相关^[26-27]。在 vCTB 中, 经典的丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPK) 信号通路及蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 通过激活转录因子胶质细胞缺失因子 1 (glial cell missing 1, GCM1) 诱导人内源性逆转录病毒 (human endogenous retroviruses, HERVs) 的包膜基因 HERV-W 与 HERV-FRD 表达合胞素 syncytin-1 与 syncytin-2。syncytin-1 的受体为钠依赖性中性氨基酸转运蛋白 ASCT1 和 ASCT2 (也称为 SLC1A4 和 SLC1A5), 而 syncytin-2 的受体为主要促进因子超家族成员 MFSD2a (major facilitator superfamily domain containing 2a), 它们共同介导 vCTB 与 STB 的融合^[28-30] (图 1C)。

胎盘发育异常相关妊娠疾病主要发生在孕期前 3 个月, 此时由于伦理原因, 胎盘取材有很大限制。现阶段, 人类滋养层干细胞及人体胎盘三维“类器官”体外模型系统才刚刚建立^[31-34]。因此, 胎盘发育的研究仍主要依赖于小鼠模型^[35]。依据基因敲除小鼠模型, 明确了胎盘发育中的关键调控基因。尽管人类与小鼠的关键基因具有高度保守性, 但人类与小鼠在胎盘解剖结构、滋养层细胞亚型、胚泡植入方式以及关键调节因子等方面还存在很大的差异^[36]。利用动物模型来研究胎盘生物学功能仍面临较多挑战, 需完善实验模型系统并深入了解在动物与细胞模型中观察到的胎盘发育机制在人体内是否

真实存在, 这将增进人们对正常与病理性胎盘发育机制的认识。

1.3 成肌细胞融合

从果蝇到人类, 许多生命活动都离不开肌肉收缩。在肌生成 (myogenesis) 过程中, Wnt 与 Notch 信号通路及转录因子 MYF5、MYOD、MYOG、MRF4 等成肌调控因子 (myogenic regulatory factors, MRFs) 发挥了重要作用。成肌细胞 (myoblast) 开始表达 MYF5 与 MYOD1, 它们标志着定向肌源性分化的开始。第二波转录因子 MYOG 与 MPRF4 的激活诱导成肌细胞分化为终末单核肌细胞 (myocyte)。随后单核肌细胞间经细胞融合生成多核肌管 (myotube)。肌管成熟后形成肌原纤维 (myofiber), 肌原纤维再组装成肌肉并参与形成神经肌肉接头^[37-38]。在此过程中, Wnt 信号通路靶向激活两种肌肉特异性融合蛋白 Myomaker 和 Myomerger (Myomixer/Minion), Myomaker 参与质膜的半融合, 而 Myomerger 则主要促进融合孔的形成, 两者协同作用完成肌细胞的融合^[37, 39]。Myomaker 与 Myomerger 赋予肌细胞融合活性的作用在小鼠^[40]、鸡^[41]以及斑马鱼^[42-43]等动物模型中已得到验证^[37], 而且两者也可共同促进非肌细胞间如成纤维细胞发生融合^[39-40, 44-45]。除融合蛋白外, 还有一些其他重要分子参与成肌细胞间融合。TM4SF 家族成员 CD9 与 CD81 促进成肌细胞融合^[46]。免疫球蛋白 (immunoglobulin, Ig) 超家族中的细胞黏附分子 Kirrel、Jamb、Jamc 及 Nephin 与肌细胞发生融合时的识别及黏附相关。在斑马鱼中, Kirrel、Jamb、Jamc 等基因的突变抑制成肌细胞间融合, 从而形成单核的肌纤维。而 Nephin 基因敲除小鼠的成肌细胞间融合也显著减少^[47]。此外, 黏附分子 cadherin (cad) 家族成员 Ncad 与 Mcad 同时敲除时, 成肌细胞融合几乎无法发生^[48] (图 1D)。值得注意的是, 在胚胎后期存在一类肌肉前体细胞亚群, 它们不表达 MRFs 但仍维持 Pax7 的表达。在成年期, 这群细胞在肌纤维膜和基膜之间形成肌肉干细胞, 即肌卫星细胞 (satellite cells, SCs)。在肌损伤情况下, 肌卫星细胞被激活, 表达转录因子 PAX7、MYOD、MYOG、MYF5, 发生不对称分裂, 在维持卫星细胞库的同时生成成肌细胞。成肌细胞形成单核肌细胞, 融合到已有的肌纤维中参与损伤修复^[49]。

鉴于成肌细胞融合在肌肉发育成熟中发挥关键作用, 其缺陷与多种骨骼肌遗传疾病的发生密切相关。杜氏肌营养不良症 (Duchenne muscular dystrophy,

DMD) 是最常见和最严重的遗传性肌肉疾病, 该病是由于肌细胞膜上抗肌萎缩蛋白 (dystrophin) 基因突变造成其蛋白合成提前终止而引起。抗肌萎缩蛋白及相关糖蛋白介导肌细胞内肌动蛋白与细胞外基质的连接。抗肌萎缩蛋白的缺失降低了肌细胞膜可承受的机械应力, 同时肌细胞膜的通透性及细胞内 Ca^{2+} 浓度增加, 诱发肌肉的退化与坏死^[50]。在 DMD 患者中, 肌纤维变性坏死激活卫星细胞产生新的肌纤维, 其中许多肌纤维为有缺陷的分支纤维^[51-52]。随着卫星细胞再生池的耗竭, DMD 患者肌力进行性下降, 常在 20~30 岁因心力衰竭或呼吸衰竭而死亡^[53]。实验证据表明, 抗肌萎缩蛋白的缺失导致肌细胞融合及纤维分支增加, 同时类固醇激素泼尼松龙的处理可抑制这种现象^[54]。针对 DMD 中 dystrophin 基因异常剪接的核酸药物已可从源头上纠正 DMD 的临床表现^[50]。Carey-Fineman-Ziter 综合征 (Carey-Fineman-Ziter Syndrome, CFZS) 是一种罕见的先天性肌病, 其特征为腭裂、面部无力、双眼外展受限、脊柱侧凸以及肌张力减退^[55-56]。研究发现, Myomaker 与 Myomerger 基因的突变与 CFZS 的发生密切相关, 两者的突变均表现出 CFZS 融合缺陷相关的病理特征^[57]。体内外研究发现, Myomaker 错义突变造成蛋白不稳定以及肌肉融合受损, 野生型 Myomaker mRNA 可纠正缺陷表型^[56, 58]; Myomerger 中编码氨基酸 R46* 的单碱基突变 (C-T) 使 Myomerger 蛋白合成提前终止, 造成 C-末端疏水胞外结构域的缺失, 利用 CRISPR-Cas9 碱基编辑将编码 R46* 突变的 T 纠正为 C 可恢复 Myomerger 融合活性并生成多核肌管^[59]。此外, 肢带型肌营养不良症的患者普遍存在细胞融合缺陷, 原因在于介导质膜封接和囊泡内陷的相关基因 dysferlin (Dysf) 及 caveolin-3 (Cav-3) 发生突变^[60-62]。这提示成肌细胞融合缺陷相关的其他基因也可能诱发遗传性肌肉疾病。

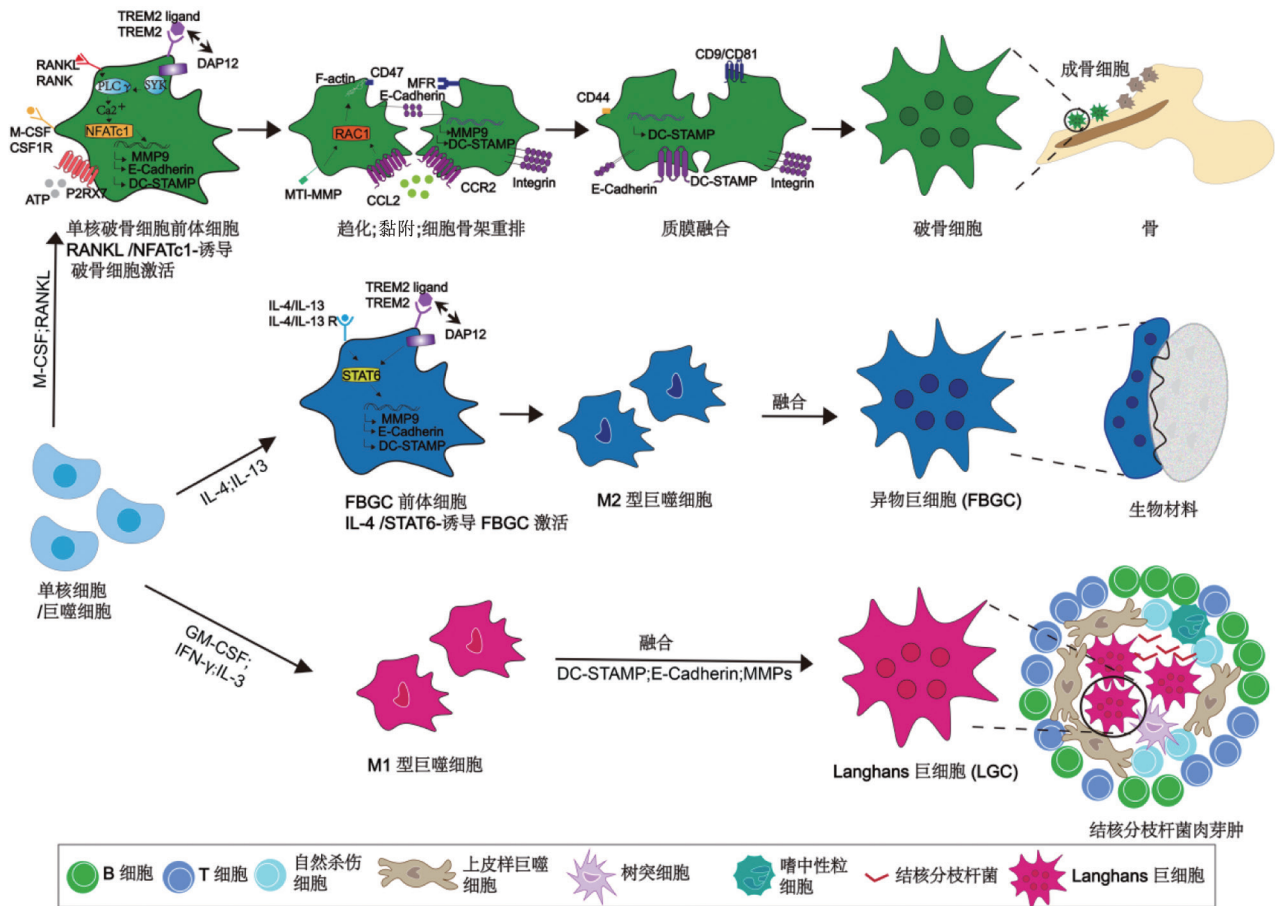
1.4 巨噬细胞融合

单核细胞和巨噬细胞是天然免疫细胞, 参与吞噬微生物以及启动适应性免疫应答。巨噬细胞间的融合产生多核巨细胞 (multinucleated giant cells, MGCs), 包括多核破骨细胞、异物巨细胞 (foreign body giant cells, FBGCs) 以及 Langhans 巨细胞 (Langhans giant cells, LGCs)^[63-64]。

破骨细胞负责骨吸收, 它们与生成骨质的成骨细胞一起维持骨质的持续更替^[65-67]。在破骨细胞形成过程中, 造血干细胞分化为淋巴或髓系前体细胞, 髓系前体细胞进一步生成树突状细胞与巨噬细胞前

体细胞, 后者继续分化为单核细胞。在巨噬细胞集落刺激因子 (macrophage colony-stimulating factor, M-CSF) 的刺激下, 单核细胞分化为组织特异性巨噬细胞。组织特异性巨噬细胞融合为破骨细胞, 或先融合成 MGCs 再分化为破骨细胞^[68]。与多核破骨细胞相比, 单核巨噬细胞的骨吸收能力很低^[65]。诱导破骨细胞形成的关键分化因子包括核因子 κB 受体活化因子配体 (receptor activator of nuclear factor- κB ligand, RANKL) 与 M-CSF, 它们均在成骨细胞及其前体细胞中产生。RANKL 及 M-CSF 分别与它们的受体 RANK 及 CSF1R 结合, 驱动破骨细胞中特异性转录模式的建立。在破骨细胞前体细胞中, 被配体识别后, 髓样细胞触发受体 2 (triggering receptors expressed on myeloid cells 2, TREM2) 与 DNAX 活化蛋白 12 (DNAX-activating protein of 12 kDa, DAP12) 结合, 引起 DAP12 细胞质结构域中的免疫受体酪氨酸激活基序 (immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM) 中的酪氨酸残基磷酸化, 并招募脾酪氨酸激酶 (spleen tyrosine kinase, SYK)。随后磷脂酶 $\text{C}\gamma$ (phospholipase $\text{C}\gamma$, $\text{PLC}\gamma$) 蛋白活化, 启动下游 Ca^{2+} 信号通路, 诱导转录因子活化 T 细胞核因子 c1 (nuclear factor of activated T cells c1, NFATc1) 入核, 进一步触发膜融合相关蛋白基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinases 9, MMP9)、Ecad 以及树突状细胞刺激性跨膜蛋白 (dendritic cells stimulatory transmembrane protein, DC-STAMP) 基因表达^[63](图 2)。此外, 许多基因同时参与巨噬细胞的质膜融合, 它们包括 CD44、CD47、CD81、CD9、syncytin-1、破骨细胞刺激性跨膜蛋白 (osteoclast stimulatory transmembrane protein, OC-STAMP)、液泡质子 ATP 酶 V0 结构域 d2 亚单位及肽基脯氨酰顺反异构酶 NIMA 相互作用蛋白 1^[67-69]。破骨细胞功能异常会导致骨吸收异常: 若巨噬细胞融合不足, 将造成骨硬化症; 若巨噬细胞融合过多, 将引起骨退行性病变如骨质疏松症、类风湿性关节炎、多发性骨髓瘤、畸形性骨炎及假体周围骨溶解^[70-71]。在巨噬细胞融合过多导致的骨退行性病变中, 淋巴细胞、巨噬细胞以及成骨细胞中 RANKL 过量表达, 它们通过与破骨细胞前体细胞表面的 RANK 结合, 引起破骨细胞的过度增殖与异常活化。靶向调控 RANKL 的单抗 denosumab 已成为定向抑制破骨细胞形成的一类新药^[71]。因此, 调控破骨细胞生成及骨吸收的靶分子将为骨退行性疾病的治疗提供新的选择。

FBGCs 是巨噬细胞针对非传染性异物 (如植入



在破骨细胞分化过程中, RANKL与M-CSF为关键的诱导因子。在单核破骨细胞前体阶段, DAP12与TREM2结合后通过蛋白激酶 SYK激活PLC γ , 触发下游Ca $^{2+}$ 信号通路。钙离子浓度的增加诱导转录因子NFATc1入核, 进一步触发膜融合相关蛋白MMP9、Ecad 以及DC-STAMP基因表达。ATP通过结合其受体P2RX7对巨噬细胞融合发挥调控作用。随后在趋化因子配体2 (C-C motif chemokine ligand 2, CCL2)及其受体CCR2的相互作用下, 巨噬细胞相向迁移。在膜1型基质金属蛋白酶(membrane type 1 MMP, MT1-MMP)及CCL2信号通路的激活下, RAC1驱动细胞骨架重排。黏附因子Ecad和整合素介导细胞间黏附。同时, Ig家族成员巨噬细胞融合受体(macrophage fusion receptor, MFR)及CD47参与细胞识别及融合。巨噬细胞紧密靠近后, 细胞融合就开始进行, 其中DC-STAMP发挥了关键作用。FBGC前体细胞在IL-4、IL-13以及DAP12 信号通路的作用下, 激活STAT6的表达, 并极化为M2型巨噬细胞, 最终融合形成 FBGCs。在结核分枝杆菌中, 巨噬细胞在GM-CSF、IFN- γ 以及 IL-3等细胞因子刺激下极化为促炎性M1型巨噬细胞, 此后融合形成 Langhans巨细胞。肉芽肿中包含多种白细胞类型, 如B细胞、T细胞、NK细胞、上皮样巨噬细胞、树突细胞、嗜中性粒细胞、LGCs等。

图2 不同类型的巨噬细胞融合机制

物、假体、医疗器械) 植入, 在材料表面融合形成的多核巨细胞。巨噬细胞与 FBGCs 在生物材料表面发生慢性炎症反应以促进伤口愈合, 此即为异物反应 (foreign body reactions, FBRs)^[72]。植入生物材料后, 宿主组织受损, 血液 - 材料之间相互作用, 蛋白质吸附到生物材料表面形成临时基质。临时基质中富含细胞因子、生长因子以及趋化因子等物质。同时, 肥大细胞脱颗粒释放组胺。它们共同招募血液循环中的单核细胞定植到生物材料表面并转化生成巨噬细胞。此时, 在 I 型辅助 T 淋巴细胞 (Th1) 分泌的干扰素 - γ (interferon- γ , IFN- γ)、肿瘤坏死因

子 - α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 及微生物中产生的脂多糖的作用下发生急性炎症反应, 巨噬细胞极化为 M1 型, 分泌促炎的细胞因子来清除坏死组织。植入约 1 周后, 其他类型的炎性细胞向植入部位聚集, 发生慢性炎症反应。在 II 型辅助 T 淋巴细胞 (Th2) 产生的白细胞介素 4 (interleukin-4, IL-4) 和白细胞介素 13 (interleukin-13, IL-13) 的作用下, 巨噬细胞极化为 M2 型并融合形成 FBGCs。在 FBGCs 前体细胞中, IL-4 和 DAP12 信号通路的相互作用激活信号转导及转录激活蛋白 6 (signal transducer and activator of transcription 6, STAT6) 表达, 进一步

触发膜融合相关蛋白 MMP9、Ecad 以及 DC-STAMP 基因表达^[63](图 2)。在 IL-4 诱导的细胞融合过程中, $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 整合素受体介导单核细胞的黏附过程。细胞融合开始发生时, 巨噬细胞中 CD44 与 CD47 高表达并促进融合。同时, DC-STAMP 诱导巨噬细胞融合形成 FBGCs^[73]。急性、慢性炎症反应消退后, 巨噬细胞、成纤维细胞浸润植入部位并发生新生血管化, 形成肉芽组织, 随后发生异物反应。成纤维细胞在材料周围形成纤维囊参与损伤修复^[74]。生物材料植入体内后, 其表面会引起巨噬细胞的黏附和融合, 形成的异物巨细胞伴随材料的使用周期。巨噬细胞对外来物的异物反应可能会导致医疗植入失败, 因此深入研究巨噬细胞介导的生物材料降解机制将有助于设计相容性更强的医用材料。

早在 150 多年前, Theodor Langhans 在结核病研究中首次描述了多核巨细胞的存在, 这些细胞后来被命名为 Langhans 巨细胞^[63]。在结核病灶、结节病、血吸虫病等感染性疾病中, 单核巨噬细胞不能有效清除持续的感染病灶, 进而形成 Langhans 巨细胞^[63, 75]。已被广泛接受的是, Langhans 巨细胞起源于被招募到肉芽肿炎症性病灶的巨噬细胞间融合^[76]。Langhans 巨细胞的细胞核通常少于 20 个, 这也为感染性肉芽肿的主要形态学特征^[63, 77]。在结核分枝杆菌中, 单核细胞在粒-巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)、IL-3、IFN- γ 以及 TNF- α 等细胞因子刺激下生成促炎性 M1 型巨噬细胞, E-cadherin、甘露糖受体等分子进一步诱导巨噬细胞融合形成 Langhans 巨细胞^[77](图 2)。相比单核的巨噬细胞, Langhans 巨细胞具有更强的吞噬作用, 并且可有效防止结核分枝杆菌感染病灶进一步蔓延。然而, Langhans 巨细胞也会引起肉芽肿产生更强的免疫反应进而导致组织损伤^[63]。接下来如何增强 Langhans 巨细胞的保护作用的同时抑制它的致病效应还需深入研究。

虽然都是从巨噬细胞融合产生, 但不同的 MGCs 亚型被不同的刺激因子诱导^[77-78]。M-CSF 与 RANKL 诱导巨噬细胞融合为破骨细胞, Th2 分泌的细胞因子 IL-4 与 IL-13 可诱导 FBGCs 形成。与此同时, 生物材料的植入也会诱导体内产生 FBGCs。巨噬细胞融合成 LGCs 的诱导条件为细胞因子 IFN- γ 与 IL-3 或 GM-CSF 以及病原菌及其衍生物, 包括结核分枝杆菌 (*M. tuberculosis*)、胞壁酰二肽 (muramyl dipeptide)、伴刀豆球蛋白 A (concanavalin

A)^[63]。虽然外在诱导因子不同, 三种 MGCs 生成共享的巨噬细胞融合程序均需要 MMP9、Ecad 及 DC-STAMP 及等标志基因的诱导表达^[79](图 2)。

2 细胞融合的医学应用

除了以上生理过程中的细胞融合外, 在炎症、酸性 pH、缺氧、辐射、凋亡、胞外蛋白酶或细胞所处环境中的离子含量等触发因素下, 体细胞可启动快速的核重编程和表观遗传修饰, 产生新的杂交细胞获得新的遗传特性, 进而介导病毒感染以及肿瘤转移^[80-81]。

2.1 细胞融合与病毒感染

病毒的包膜赋予了病毒更强的感染能力, 如人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus 1, HIV-1) 与冠状病毒均为包膜病毒 (enveloped virus, Env)^[82]。包膜病毒的致病机制类似于生理状况下的融合过程, 包括细胞质膜黏附、半融合以及融合孔形成与扩张^[30, 81]。HIV-1 感染人类宿主细胞时, 由 gp120 和 gp41 亚基组成的 HIV-1 包膜附着在宿主细胞上, 与宿主细胞上的初级受体 CD4 及辅助受体 (CXCR4 或 CCR5) 结合, 随后 gp41 的融合肽 (fusion peptide, FP) 暴露并插入宿主细胞膜中, 完成膜融合^[83](图 1E)。新型冠状病毒感染由严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) 引起, 它通常会累及呼吸道、肠道以及神经系统^[84]。SARS-CoV-2 包膜中的刺突蛋白 (spike, S) 介导病毒感染宿主细胞。S 包括两个亚基, S1 亚基识别受体血管紧张素转换酶 2 (angiotensin-converting enzyme 2, ACE2), 而 S2 亚基为病毒与宿主细胞融合必需。S1/S2 间肽键 (PRRAR↓SV) 被 furin 蛋白酶切割后, 这两个亚基保持非共价结合状态。S1 与宿主细胞上的受体 ACE2 结合以及 S2 亚基上的 S2' 位点 (KPSKR↓SF) 被跨膜丝氨酸蛋白酶 2 (transmembrane serine protease 2, TMPRSS2) 水解诱导 S1 亚基脱离 S2。S2 亚基上的 FP 暴露触发病毒包膜与宿主细胞膜发生融合, 最后引起宿主细胞间形成合胞体^[81-82](图 1E)。SARS-CoV-2 的传播性和致病性与关键分子的融合活性及多核合胞体的形成密切相关^[85]。与其他冠状病毒家族成员 (SARS-related coronaviruses, SARSr-CoVs) 不同的是, SARS-CoV-2 的 S1/S2 间插入了包含 RRRAR 的 furin 蛋白酶样切割位点 (furin-like cleavage site, FCS), furin 在此位点的高切割效率为 SARS-CoV-2 具有高传染性的主要原因^[86]。此外, SARS-

CoV-2 突变株 (Delta、Omicron) 的出现与 SARS-CoV-2-S 的受体结合域以及 FCS 的突变密切相关^[87-88]。

越来越多的流行病学数据表明, 病毒感染通常会引发一系列后遗症, 比如慢性疲劳综合征、SARS-CoV-2 感染急性后遗症以及各种神经退行性疾病, 其原因可能与合胞体形成有关^[89-90]。病毒致病机制的研究为药物、抗体和疫苗的开发提供了理论基础。针对 HIV-1 感染, 由于其变异极其迅速, 难以通过特异性疫苗来预防, 目前主要还是采用行为干预措施或服用抑制病毒融合活性的药物, 如 FDA 批准的抗 HIV-1 药物 Ibalizumab、Trogarzo、Enfuvirtide 以及 Maraviroc 等^[91]。近年来, 体内外开展的多项研究表明, 阻断冠状病毒与宿主细胞膜融合的抑制剂如 ACE2 受体抑制剂、TMPRSS2 抑制剂或 furin 抑制剂可有效抑制病毒感染^[92-94]。鉴于介导病毒黏附及侵入的 S 蛋白致病性强, 针对 S 蛋白制备抗体与疫苗可有效抑制病毒感染^[95]。因此, 明确包膜病毒的致病机理可为开发靶向感染性病毒的特异性抑制剂提供理论依据。

2.2 细胞融合与肿瘤转移

癌症转移是导致患者死亡的主要原因 (约占癌症死亡的 90%)^[96]。早在 1889 年, 英国外科医生斯蒂芬·佩吉特 (Stephen Paget) 提出著名的“种子与土壤”理论: “种子” (癌细胞) 与 “土壤” (转移的靶器官) 共同决定癌症转移。癌症转移包括四个基本步骤: 脱落、迁移、侵袭和黏附^[97]。癌细胞转移前首先从原发灶中脱落, 发生上皮间充质转化 (epithelial to mesenchymal transition, EMT)。随后癌细胞穿过基膜和细胞外基质发生迁移。在血管生成素以及生长因子的诱导下, 癌细胞侵袭血管及淋巴管并通过脉管系统发生转移。远端癌细胞外渗脉管系统进入淋巴结, 形成转移癌灶^[5, 97-98]。癌症与细胞融合之间的关系最早可追溯到 20 世纪 90 年代。Otto Aichel 认为体细胞的自发融合可导致染色体异常, 产生癌细胞^[99]。癌细胞与相邻组织细胞、间充质干细胞或巨噬细胞之间的融合为癌症转移过程中的普遍现象^[97]。细胞融合还参与 EMT、癌症干细胞 (cancer stem cells, CSCs)、多倍体肿瘤巨细胞 (polyploid giant cancer cells, PGCCs) 以及癌细胞中血管的形成^[5]。肿瘤杂交细胞具有增殖快、迁移能力强、耐药性强、凋亡率低以及具有免疫逃逸的特性, 这些特性赋予了癌细胞转移的能力^[80, 100]。目前癌细胞融合的机制尚不清楚, 但它可能与融合蛋白 syncytin-1 以及炎症细胞因子相关。多种癌细胞如

非小细胞肺癌、结肠癌和子宫内膜癌的转移与 syncytin-1 的表达水平升高密切相关^[100-102]。肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 包括细胞外基质、生长因子、趋化因子、MMPs 等, 在癌细胞持续生长、侵袭和转移的过程中发挥着关键作用^[103-106]。

近年来, 癌症患者生存率已有显著提高, 这主要得益于早发现与早治疗。现阶段, 靶向癌症转移的治疗依然面临很多挑战。针对癌症转移的化疗、放疗以及一些生物靶向抗癌药, 如生长因子抗体、小分子激酶抑制剂等, 均难以杀死耐受性强的 CSCs、PGCCs^[107-108]。因此, 靶向抑制癌细胞融合过程、融合中的基因重组以及融合后的癌细胞转移将大大丰富癌症的治疗手段。

3 细胞融合与组织再生

3.1 干细胞与细胞融合

干细胞 (stem cells, SCs) 具有自我更新和分化的能力, 它包括全能干细胞——胚胎干细胞 (embryonic stem cells, ESCs) 和组织特异性成体干细胞^[109]。全能干细胞可分化成三种胚层来源的各种细胞类型, 而组织特异性成体干细胞通常仅可定向分化为它所属组织中的细胞, 如胎盘形成中的滋养外胚层细胞、骨骼肌发育中的成肌细胞与卫星细胞。但有些成体干细胞具有更大的可塑性, 比如骨髓间充质干细胞 (bone marrow stromal cells, BMSCs)^[110]。将骨髓来源细胞 (bone marrow-derived cells, BMDCs) 移植到经伽马射线照射的受体小鼠中, 观察到 BMDCs 可分化出新的肝细胞、心肌细胞及神经元等。进一步研究发现, BMDCs 向肝、心肌及神经元方向的分化其实为 BMDCs 与这些细胞间的融合所致^[111]。BMDCs 与体细胞间自发融合效率很低 ($\sim 1/5 \times 10^5$ 个细胞), 但在慢性炎症、衰老以及损伤情况下, 融合效率将显著提升^[112-113]。BMDCs 与体细胞间的融合可采用 Cre-LoxP 技术检测——两种独立表达的报告基因同时出现在一种细胞里可判定为发生了细胞融合。当表达 Cre 的供体细胞与 Cre 依赖性的携带 LacZ 报告基因的宿主细胞融合时, Cre 重组酶切除 LacZ 基因前面的转录终止信号启动其表达^[114]。因此, 深入研究干细胞融合机制, 大幅提高融合效率有望加速干细胞融合的临床应用。

3.2 转分化与细胞融合

动物体细胞的分化完成后, 其分化状态一般可稳定地维持, 所以通常认为生物体的发育和分化是不可逆的过程。Yamanaka 团队利用 Oct4、Sox2、Klf4、

c-Myc 四个转录因子的组合把成纤维细胞重编程为诱导性多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs), 颠覆了人们对细胞命运决定的理解^[115]。同时直接重编程的相关研究发现, 转录因子与化学小分子可将一种终末分化细胞转变成另外一种终末分化细胞^[116]。进一步利用谱系示踪的方法研究发现, 有些在体星形胶质细胞转分化为神经元可能为病毒非特异性感染的结果^[117-118]。接下来在谱系示踪技术的基础上, 增强转录因子的表达水平, 结合转分化过程中基因表达调控研究, 有望厘清不同的转录因子是否可以在体转分化获得神经元。同时, 结合 Cre-LoxP 系统分析转分化过程中是否存在细胞融合现象, 这将助力细胞重编程方面的研究成果向临床转化。

4 总结与展望

本文总结了细胞融合在受精、胎盘发育、骨骼肌发育、骨重塑、病毒感染、癌症转移以及组织再生中的重要作用。深入了解细胞融合的生理病理作用及其分子机制, 进而开创细胞融合相关疾病的治疗新策略还有很长的路要走。目前, 研究者们已逐步阐明细胞融合过程中的一些重要环节, 但还有许多关键的问题有待解决。

首先, 细胞融合是一种普遍的生物学现象, 许多蛋白参与调控细胞融合, 目前相关领域达成广泛共识: 只有融合蛋白为触发细胞融合的充分必要条件。值得重点阐明细胞融合过程中是否存在真正的融合蛋白。目前真核生物中已鉴定出的融合蛋白包括: EFF-1/AFF-1、HAP2、syncytin、Myomaker/Myomerger 等, 其中 EFF-1/AFF-1 存在于无脊椎动物中, 而 HAP2 在无脊椎动物、植物、原生生物及寄生虫中发挥作用。因此, 需要深入探讨脊椎动物中还存在哪些未知的融合蛋白。第二, 急需研究融合蛋白的作用机理以及重要融合蛋白的活性如何被精确调控, 包括深入研究细胞融合如何从头开始, 比如 vCTBs 从头融合生成 STB。第三, 现阶段, 生理过程中的细胞融合触发因素以及肿瘤杂交细胞的融合机制尚不清楚, 需要深入研究调控融合的分子机制与信号通路。第四, 融合蛋白 syncytin 在胎盘形成、破骨细胞生成以及病毒感染中都会诱导细胞融合, 需要阐明它在不同的融合过程中是否发挥同样的作用以及其他融合蛋白在不同细胞融合系统中是否可以交换使用, 由此探讨融合异常引起的疾病是否具有共同的治疗靶标。第五, 随着年龄的增

长, 成人的骨骼肌会不断衰老丢失, 值得深入研究细胞融合机制是否在功能性肌细胞及肌纤维再生中发挥重要作用。第六, 巨噬细胞多核化调控骨稳态以及医用生物材料的异物反应, 明确巨噬细胞融合的分子机制, 阐明破骨细胞各阶段分化的调控通路, 有望实现靶向治疗破骨细胞失调相关疾病以及推进研发出异物反应诱导能力弱且可调节组织活性的新型医用材料。第七, 干细胞移植介导的细胞融合参与肝脏、心肌与神经元再生, 需要深入研究这些细胞融合的分子细胞机制, 这将大力推进干细胞在再生医学中的应用。

随着遗传、生物化学、生物物理等不同学科的交叉研究, 明确在受精、器官形成、病理状况中的细胞融合机制将为相关疾病的治疗打下坚实的理论基础。

[参 考 文 献]

- [1] Brukman NG, Uygur B, Podbilewicz B, et al. How cells fuse. *J Cell Biol*, 2019, 218: 1436-51
- [2] Willkomm L, Bloch W. State of the art in cell-cell fusion. *Methods Mol Biol*, 2015, 1313: 1-19
- [3] Hernandez JM, Podbilewicz B. The hallmarks of cell-cell fusion. *Development*, 2017, 144: 4481-95
- [4] Deneke VE, Pauli A. The fertilization enigma: how sperm and egg fuse. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2021, 37: 391-414
- [5] Shabo I, Svanvik J, Lindstrom A, et al. Roles of cell fusion, hybridization and polyploid cell formation in cancer metastasis. *World J Clin Oncol*, 2020, 11: 121-35
- [6] Chen MS, Tung KS, Coonrod SA, et al. Role of the integrin-associated protein CD9 in binding between sperm ADAM 2 and the egg integrin $\alpha 6 \beta 1$: implications for murine fertilization. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96: 11830-5
- [7] Rubinstein E, Ziyat A, Prenant M, et al. Reduced fertility of female mice lacking CD81. *Dev Biol*, 2006, 290: 351-8
- [8] Inoue N, Ikawa M, Isotani A, et al. The immunoglobulin superfamily protein Izumo is required for sperm to fuse with eggs. *Nature*, 2005, 434: 234-8
- [9] Bianchi E, Doe B, Goulding D, et al. Juno is the egg Izumo receptor and is essential for mammalian fertilization. *Nature*, 2014, 508: 483-7
- [10] Klinovska K, Sebkova N, Dvorakova-Hortova K. Sperm-egg fusion: a molecular enigma of mammalian reproduction. *Int J Mol Sci*, 2014, 15: 10652-68
- [11] Barboux S, Ialy-Radio C, Chalbi M, et al. Sperm SPACA6 protein is required for mammalian sperm-egg adhesion/fusion. *Sci Rep*, 2020, 10: 5335
- [12] Fujihara Y, Lu Y, Noda T, et al. Spermatozoa lacking fertilization influencing membrane protein (FIMP) fail to fuse with oocytes in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*,

- 2020, 117: 9393-400
- [13] Inoue N, Hagihara Y, Wada I. Evolutionarily conserved sperm factors, DCST1 and DCST2, are required for gamete fusion. *Elife*, 2021, 10: e66313
- [14] Lamas-Toranzo I, Hamze JG, Bianchi E, et al. TMEM95 is a sperm membrane protein essential for mammalian fertilization. *Elife*, 2020, 9: e53913
- [15] Noda T, Lu YG, Fujihara Y, et al. Sperm proteins SOF1, TMEM95, and SPACA6 are required for sperm-oocyte fusion in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117: 11493-502
- [16] Brukman NG, Nakajima KP, Valansi C, et al. A novel function for the sperm adhesion protein IZUMO1 in cell-cell fusion. *J Cell Biol*, 2023, 222: e202207147
- [17] Vondrakova J, Frolikova M, Ded L, et al. MAIA, Fc receptor-like 3, supersedes JUNO as IZUMO1 receptor during human fertilization. *Sci Adv*, 2022, 8: eabn0047
- [18] Jumper J, Evans R, Pritzel A, et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, 2021, 596: 583-9
- [19] Kekalainen J. Genetic incompatibility of the reproductive partners: an evolutionary perspective on infertility. *Hum Reprod*, 2021, 36: 3028-35
- [20] Mani S, Ghosh J, Coutifaris C, et al. Epigenetic changes and assisted reproductive technologies. *Epigenetics*, 2020, 15: 12-25
- [21] Naeem A, Gupta N, Naeem U, et al. Amniotic stem cells as a source of regenerative medicine to treat female infertility. *Hum Cell*, 2023, 36: 15-25
- [22] Wu JX, Xia T, She LP, et al. Stem cell therapies for human infertility: advantages and challenges. *Cell Transplant*, 2022, 31: 9636897221083252
- [23] Cao Y, Sun H, Zhu H, et al. Allogeneic cell therapy using umbilical cord MSCs on collagen scaffolds for patients with recurrent uterine adhesion: a phase I clinical trial. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9: 192
- [24] Callahan RL, Mehta NJ, Nanda K, et al. The new contraceptive revolution: developing innovative products outside of industry. *Biol Reprod*, 2020, 103: 157-66
- [25] Miranda AL, Racca AC, Kourdova LT, et al. Kruppel-like factor 6 (KLF6) requires its amino terminal domain to promote villous trophoblast cell fusion. *Placenta*, 2022, 117: 139-49
- [26] Aplin JD, Myers JE, Timms K, et al. Tracking placental development in health and disease. *Nat Rev Endocrinol*, 2020, 16: 479-94
- [27] Gauster M, Moser G, Orendi K, et al. Factors involved in regulating trophoblast fusion: potential role in the development of preeclampsia. *Placenta*, 2009, 30 Suppl A: S49-54
- [28] Renaud SJ, Jeyarajah MJ. How trophoblasts fuse: an in-depth look into placental syncytiotrophoblast formation. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79: 433
- [29] Roberts RM, Ezashi T, Schulz LC, et al. Syncytins expressed in human placental trophoblast. *Placenta*, 2021, 113: 8-14
- [30] Vance TDR, Lee JE. Virus and eukaryote fusogen superfamilies. *Curr Biol*, 2020, 30: R750-4
- [31] Dong C, Beltcheva M, Gontarz P, et al. Derivation of trophoblast stem cells from naive human pluripotent stem cells. *Elife*, 2020, 9: e52504
- [32] Kagawa H, Javali A, Khoei HH, et al. Human blastoids model blastocyst development and implantation. *Nature*, 2022, 601: 600-5
- [33] Karvas RM, Khan SA, Verma S, et al. Stem-cell-derived trophoblast organoids model human placental development and susceptibility to emerging pathogens. *Cell Stem Cell*, 2022, 29: 810-25
- [34] Sheridan MA, Fernando RC, Gardner L, et al. Establishment and differentiation of long-term trophoblast organoid cultures from the human placenta. *Nat Protoc*, 2020, 15: 3441-63
- [35] Elmore SA, Cochran RZ, Bolon B, et al. Histology atlas of the developing mouse placenta. *Toxicol Pathol*, 2022, 50: 60-117
- [36] Senft AD, Macfarlan TS. Transposable elements shape the evolution of mammalian development. *Nat Rev Genet*, 2021, 22: 691-711
- [37] Chen B, You W, Wang Y, et al. The regulatory role of Myomaker and Myomixer-Myomerger-Minion in muscle development and regeneration. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77: 1551-69
- [38] Lehka L, Redowicz MJ. Mechanisms regulating myoblast fusion: a multilevel interplay. *Semin Cell Dev Biol*, 2020, 104: 81-92
- [39] Bi P, Ramirez-Martinez A, Li H, et al. Control of muscle formation by the fusogenic micropeptide myomixer. *Science*, 2017, 356: 323-7
- [40] Millay DP, O'Rourke JR, Sutherland LB, et al. Myomaker is a membrane activator of myoblast fusion and muscle formation. *Nature*, 2013, 499: 301-5
- [41] Luo W, Li E, Nie Q, et al. Myomaker, regulated by MYOD, MYOG and miR-140-3p, promotes chicken myoblast fusion. *Int J Mol Sci*, 2015, 16: 26186-201
- [42] Landemaine A, Rescan PY, Gabillard JC. Myomaker mediates fusion of fast myocytes in zebrafish embryos. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 451: 480-4
- [43] Zhang W, Roy S. Myomaker is required for the fusion of fast-twitch myocytes in the zebrafish embryo. *Dev Biol*, 2017, 423: 24-33
- [44] Quinn ME, Goh Q, Kurosaka M, et al. Myomerger induces fusion of non-fusogenic cells and is required for skeletal muscle development. *Nat Commun*, 2017, 8: 15665
- [45] Zhang Q, Vashisht AA, O'Rourke J, et al. The microprotein Minion controls cell fusion and muscle formation. *Nat*

- Commun, 2017, 8: 15664
- [46] Mazzocca A, Carloni V, Sciammetta S, et al. Expression of transmembrane 4 superfamily (TM4SF) proteins and their role in hepatic stellate cell motility and wound healing migration. *J Hepatol*, 2002, 37: 322-30
- [47] Krauss RS, Joseph GA, Goel AJ. Keep your friends close: cell-cell contact and skeletal myogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2017, 9: a029298
- [48] Goel AJ, Rieder MK, Arnold HH, et al. Niche cadherins control the quiescence-to-activation transition in muscle stem cells. *Cell Rep*, 2017, 21: 2236-50
- [49] Sinha S, Elbaz-Alon Y, Avinoam O. Ca(2+) as a coordinator of skeletal muscle differentiation, fusion and contraction. *FEBS J*, 2022, 289: 6531-42
- [50] Loboda A, Dulak J. Muscle and cardiac therapeutic strategies for Duchenne muscular dystrophy: past, present, and future. *Pharmacol Rep*, 2020, 72: 1227-63
- [51] Schmalbruch H. Regenerated muscle fibers in Duchenne muscular dystrophy: a serial section study. *Neurology*, 1984, 34: 60-5
- [52] Chan S, Head SI. The role of branched fibres in the pathogenesis of Duchenne muscular dystrophy. *Exp Physiol*, 2011, 96: 564-71
- [53] Meyers TA, Townsend D. Cardiac pathophysiology and the future of cardiac therapies in Duchenne muscular dystrophy. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 4098
- [54] Al Tanoury Z, Zimmerman JF, Rao J, et al. Prednisolone rescues Duchenne muscular dystrophy phenotypes in human pluripotent stem cell-derived skeletal muscle *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118: e2022960118
- [55] Carey JC. The Carey-Fineman-Ziter syndrome: follow-up of the original siblings and comments on pathogenesis. *Am J Med Genet A*, 2004, 127A: 294-7
- [56] Di Gioia SA, Connors S, Matsunami N, et al. A defect in myoblast fusion underlies Carey-Fineman-Ziter syndrome. *Nat Commun*, 2017, 8: 16077
- [57] Wu P, Yong P, Zhang Z, et al. Loss of Myomixer results in defective myoblast fusion, impaired muscle growth, and severe myopathy in zebrafish. *Mar Biotechnol (NY)*, 2022, 24: 1023-38
- [58] Hedberg-Oldfors C, Lindberg C, Oldfors A. Carey-Fineman-Ziter syndrome with mutations in the myomaker gene and muscle fiber hypertrophy. *Neurol Genet*, 2018, 4: e254
- [59] Ramirez-Martinez A, Zhang Y, van den Boogaard MJ, et al. Impaired activity of the fusogenic micropeptide Myomixer causes myopathy resembling Carey-Fineman-Ziter syndrome. *J Clin Invest*, 2022, 132: e159002
- [60] Cohen TV, Cohen JE, Partridge TA. Myogenesis in dysferlin-deficient myoblasts is inhibited by an intrinsic inflammatory response. *Neuromuscul Disord*, 2012, 22: 648-58
- [61] Dugdale HF, Ochala J. Can we talk about myoblast fusion? *Am J Physiol Cell Physiol*, 2021, 321: C504-6
- [62] Volonte D, Peoples AJ, Galbiati F. Modulation of myoblast fusion by caveolin-3 in dystrophic skeletal muscle cells: implications for Duchenne muscular dystrophy and limb-girdle muscular dystrophy-1C. *Mol Biol Cell*, 2003, 14: 4075-88
- [63] Ahmadzadeh K, Vanoppen M, Rose CD, et al. Multinucleated giant cells: current insights in phenotype, biological activities, and mechanism of formation. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 873226
- [64] Anderson JM. Multinucleated giant cells. *Curr Opin Hematol*, 2000, 7: 40-7
- [65] Cho E, Cheon S, Ding M, et al. Identification of novel genes for cell fusion during osteoclast formation. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 6421
- [66] Gambari L, Grassi F, Roseti L, et al. Learning from monocyte-macrophage fusion and multinucleation: potential therapeutic targets for osteoporosis and rheumatoid arthritis. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 6001
- [67] Yahara Y, Nguyen T, Ishikawa K, et al. The origins and roles of osteoclasts in bone development, homeostasis and repair. *Development*, 2022, 149: dev199908
- [68] Yao Y, Cai X, Ren F, et al. The macrophage-osteoclast axis in osteoimmunity and osteo-related diseases. *Front Immunol*, 2021, 12: 664871
- [69] Elson A, Anuj A, Barnea-Zohar M, et al. The origins and formation of bone-resorbing osteoclasts. *Bone*, 2022, 164: 116538
- [70] Whitlock JM, Leikina E, Melikov K, et al. Cell surface-bound La protein regulates the cell fusion stage of osteoclastogenesis. *Nat Commun*, 2023, 14: 616
- [71] Bi H, Chen X, Gao S, et al. Key triggers of osteoclast-related diseases and available strategies for targeted therapies: a review. *Front Med (Lausanne)*, 2017, 4: 234
- [72] vanovski S, Bartold PM, Huang YS. The role of foreign body response in peri-implantitis: what is the evidence? *Periodontol 2000*, 2022, 90: 176-85
- [73] Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials. *Semin Immunol*, 2008, 20: 86-100
- [74] Sheikh Z, Brooks PJ, Barzilay O, et al. Macrophages, foreign body giant cells and their response to implantable biomaterials. *Materials (Basel)*, 2015, 8: 5671-701
- [75] Gao XM, Li J, Cao XX. Signaling pathways, microenvironment, and targeted treatments in Langerhans cell histiocytosis. *Cell Commun Signal*, 2022, 20: 195
- [76] Trout KL, Holian A. Multinucleated giant cell phenotype in response to stimulation. *Immunobiology*, 2020, 225: 151952
- [77] Brooks PJ, Glogauer M, McCulloch CA. An overview of the derivation and function of multinucleated giant cells and their role in pathologic processes. *Am J Pathol*, 2019, 189: 1145-58

- [78] Brooks PJ, Wang Y, Magalhaes MA, et al. CD301 mediates fusion in IL-4-driven multinucleated giant cell formation. *J Cell Sci*, 2020, 133: jcs248864
- [79] Helming L, Gordon S. Molecular mediators of macrophage fusion. *Trends Cell Biol*, 2009, 19: 514-22
- [80] Lartigue L, Merle C, Lagarde P, et al. Genome remodeling upon mesenchymal tumor cell fusion contributes to tumor progression and metastatic spread. *Oncogene*, 2020, 39: 4198-211
- [81] Tang T, Bidon M, Jaimes JA, et al. Coronavirus membrane fusion mechanism offers a potential target for antiviral development. *Antiviral Res*, 2020, 178: 104792
- [82] Seidah NG, Pasquato A, Andreo U. How do enveloped viruses exploit the secretory proprotein convertases to regulate infectivity and spread? *Viruses*, 2021, 13: 1229
- [83] Yan H, Wu T, Chen Y, et al. Design of a bispecific HIV entry inhibitor targeting the cell receptor CD4 and viral fusion protein Gp41. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 916487
- [84] Zhang Y, Geng X, Tan Y, et al. New understanding of the damage of SARS-CoV-2 infection outside the respiratory system. *Biomed Pharmacother*, 2020, 127: 110195
- [85] Hoffmann M, Pohlmann S. How SARS-CoV-2 makes the cut. *Nat Microbiol*, 2021, 6: 828-9
- [86] Xia S, Lan Q, Su S, et al. The role of furin cleavage site in SARS-CoV-2 spike protein-mediated membrane fusion in the presence or absence of trypsin. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5: 92
- [87] Li X, Yuan H, Li X, et al. Spike protein mediated membrane fusion during SARS-CoV-2 infection. *J Med Virol*, 2023, 95: e28212
- [88] Mohseni Afshar Z, Tavakoli Pirzaman A, Karim B, et al. SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) variant: a challenge with COVID-19. *Diagnostics (Basel)*, 2023, 13: 559
- [89] Osorio C, Sfera A, Anton JJ, et al. Virus-induced membrane fusion in neurodegenerative disorders. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 845580
- [90] Proal AD, VanElzakker MB. Long COVID or post-acute sequelae of COVID-19 (PASC): an overview of biological factors that may contribute to persistent symptoms. *Front Microbiol*, 2021, 12: 698169
- [91] Blair HA. Ibalizumab: a review in multidrug-resistant HIV-1 infection. *Drugs*, 2020, 80: 189-96
- [92] Bestle D, Heindl MR, Limburg H, et al. TMPRSS2 and furin are both essential for proteolytic activation of SARS-CoV-2 in human airway cells. *Life Sci Alliance*, 2020, 3: e202000786
- [93] Lin H, Cherukupalli S, Feng D, et al. SARS-CoV-2 entry inhibitors targeting virus-ACE2 or virus-TMPRSS2 interactions. *Curr Med Chem*, 2022, 29: 682-99
- [94] Padmanabhan P, Desikan R, Dixit NM. Targeting TMPRSS2 and Cathepsin B/L together may be synergistic against SARS-CoV-2 infection. *PLoS Comput Biol*, 2020, 16: e1008461
- [95] Zhou YW, Xie Y, Tang LS, et al. Therapeutic targets and interventional strategies in COVID-19: mechanisms and clinical studies. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6: 317
- [96] Taghizadeh S, Soheili ZS, Sadeghi M, et al. sFLT01 modulates invasion and metastasis in prostate cancer DU145 cells by inhibition of VEGF/GRP78/MMP2&9 axis. *BMC Mol Cell Biol*, 2021, 22: 30
- [97] Tretyakova MS, Subbalakshmi AR, Menyailo ME, et al. Tumor hybrid cells: nature and biological significance. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 814714
- [98] Hass R, von der Ohe J, Dittmar T. Hybrid formation and fusion of cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Cancers (Basel)*, 2021, 13: 4496
- [99] Afify SM, Hassan G, Ishii H, et al. Functional and molecular characters of cancer stem cells through development to establishment. *Adv Exp Med Biol*, 2022, 1393: 83-101
- [100] Fu Y, Zhuang X, Xia X, et al. Correlation between promoter hypomethylation and increased expression of syncytin-1 in non-small cell lung cancer. *Int J Gen Med*, 2021, 14: 957-65
- [101] Li Z, Zheng M, Zhang H, et al. Arsenic trioxide promotes tumor progression by inducing the formation of PGCCs and embryonic hemoglobin in colon cancer cells. *Front Oncol*, 2021, 11: 720814
- [102] Zhang H, Ma H, Yang X, et al. Cell fusion-related proteins and signaling pathways, and their roles in the development and progression of cancer. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 809668
- [103] Jiang E, Yan T, Xu Z, et al. Tumor microenvironment and cell fusion. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 5013592
- [104] Sieler M, Weiler J, Dittmar T. Cell-cell fusion and the roads to novel properties of tumor hybrid cells. *Cells*, 2021, 10: 1465
- [105] Wang HF, Xiang W, Xue BZ, et al. Cell fusion in cancer hallmarks: current research status and future indications. *Oncol Lett*, 2021, 22: 530
- [106] Zhang LN, Zhang DD, Yang L, et al. Roles of cell fusion between mesenchymal stromal/stem cells and malignant cells in tumor growth and metastasis. *FEBS J*, 2021, 288: 1447-56
- [107] Ayala-Aguilera CC, Valero T, Lorente-Macias A, et al. Small molecule kinase inhibitor drugs (1995-2021): medical indication, pharmacology, and synthesis. *J Med Chem*, 2022, 65: 1047-131
- [108] Shiokawa D, Sakai H, Ohata H, et al. Slow-cycling cancer stem cells regulate progression and chemoresistance in colon cancer. *Cancer Res*, 2020, 80: 4451-64
- [109] Hoang DM, Pham PT, Bach TQ, et al. Stem cell-based therapy for human diseases. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7: 272

- [110] Dornen J, Sieler M, Weiler J, et al. Cell fusion-mediated tissue regeneration as an inducer of polyploidy and aneuploidy. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 1811
- [111] Alvarez-Dolado M, Pardal R, Garcia-Vardugo JM, et al. Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. *Nature*, 2003, 425: 968-73
- [112] Pesaresi M, Sebastian-Perez R, Cosma MP. Dedifferentiation, transdifferentiation and cell fusion: *in vivo* reprogramming strategies for regenerative medicine. *FEBS J*, 2019, 286: 1074-93
- [113] Terada N, Hamazaki T, Oka M, et al. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature*, 2002, 416: 542-45
- [114] Sutton TL, Walker BS, Wong MH. Digesting the importance of cell fusion in the intestine. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2021, 11: 299-302
- [115] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, 126: 663-76
- [116] Wang H, Yang Y, Liu J, et al. Direct cell reprogramming: approaches, mechanisms and progress. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22: 410-24
- [117] Chen YC, Ma NX, Pei ZF, et al. A NeuroD1 AAV-based gene therapy for functional brain repair after ischemic injury through *in vivo* astrocyte-to-neuron conversion. *Mol Ther*, 2020, 28: 217-34
- [118] Wang LL, Serrano C, Zhong X, et al. Revisiting astrocyte to neuron conversion with lineage tracing *in vivo*. *Cell*, 2021, 184: 5465-81