

# 干细胞因子治疗——研究与展望

黄洁芳<sup>[1]</sup>, 徐浣白<sup>[1, 2]</sup>, 张雁云<sup>[1, 3]</sup>

(1. 中国科学院上海生命科学研究院健康科学研究所, 上海 200031; 2. 上海交通大学附属第一人民医院, 上海 200080; 3. 上海交通大学医学院基础医学院, 上海 200025)

**摘要:** 干细胞是一类具有自我更新能力的多潜能细胞, 在一定的条件下, 可分化为多种功能细胞。而干细胞因子是指可靶向调控干细胞的干性维持、定向分化等特性的重要因子, 以及在干细胞治疗中产生的、对其修复损伤具有关键作用的活性因子。近年来, 干细胞逐渐被应用到各种人类疾病的治疗中, 但其临床应用仍然受到多种因素的制约。干细胞因子治疗为解决及避免这些问题带来了曙光, 有望成为未来干细胞治疗的新方向。

**关键词:** 干细胞治疗、干细胞因子、靶向调控、疾病治疗

中图分类号: R392.12

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2016)05-0433-04

干细胞是一类具有自我更新能力的多潜能细胞。在一定的条件下, 干细胞可被诱导分化为多种功能细胞。而干细胞因子是指可靶向调控干细胞的干性维持、定向分化等特性的重要因子, 以及由不同的干细胞或基质细胞产生的在干细胞治疗中对其修复损伤具有关键作用的活性因子。干细胞因子可以是转录因子、生长因子, 也可以是某些分化抑制因子及趋化因子等因子。

近年来, 干细胞治疗逐渐成为再生医学的重要治疗手段, 一方面干细胞本身可分化成为功能细胞发挥作用, 另一方面干细胞可通过合成和释放多种活性分子, 调节机体免疫, 促进损伤修复与组织再生。然而, 由于干细胞来源不足、供受者干细胞的组织不相容导致的移植干细胞被排斥、移植后干细胞难以存活及干细胞在体内增殖、体外扩增的安全性等问题, 干细胞的临床应用受到了制约。因此, 可通过对干细胞因子的应用, 针对损伤组织内在的干细胞进行靶向干预, 以恢复和激活内在干细胞的功能, 促进组织修复再生, 从而实现无细胞的干细胞治疗。

## 1 干细胞治疗中干细胞因子对干细胞的靶向调控

**1.1 干细胞因子对干细胞特性的影响** Wnt、Notch、TGF- $\beta$ 、Hedgehog 等信号通路是干细胞更新、分化以及相关疾病发生的重要通路。研究发现, 许多干细胞因子可通过影响上述信号通路参与调控干细胞的特性。如 FOXO(forkhead box)通过靶向调控 *fringe* 的转录, 直接激活果蝇生殖干细胞(germline stem cell, GSC)中的 Notch 信号, 从而维持 GSC 干细胞池(niche)的平衡<sup>[1]</sup>; Rac1(RAS-related C3 botulinum substrate 1)可通过调控 Notch2 分子抑制神经干细胞的分化<sup>[2]</sup>; TGF- $\beta$  通过 Smad2(SMAD family member 2)信号调控人胚胎干细胞及小鼠外胚层干细胞的多能性分化潜能状态<sup>[3]</sup>。

干细胞因子对干细胞特性的作用可分为两种, 即促进细胞分化生长和抑制细胞分化。表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、血小板源生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)、胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)、骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)、脂肪细胞因子(瘦蛋白、脂联素)<sup>[4]</sup>等可促进细胞的分化与生长, 而 IL-1、IL-6、抑瘤素 M(oncostatin M, OSM)、心肌营养因子-1 等以及上皮生长因子、神经生长因子及碱性成纤维细胞生长因子等可使多种干细胞维持未分化状态<sup>[5-7]</sup>。同时, 干细胞因子的作用具有多样性, 对于不同的细

收稿日期: 2016-06-16

基金项目: 中国科学院战略性先导科技专项(XDA01040200); 国家自然科学基金重点项目(NSF81130057); 国家科技部 973 重大科学研究计划(2011CB966200); 国家自然科学基金面上项目(NSF81373164)

作者简介:

通讯作者: 张雁云(E-mail: yzhang@sibs.ac.cn)

胞可产生不同的作用。如白血病抑制因子(leukemia inhibiting factor, LIF)能诱导白血病细胞株M1细胞向正常细胞分化<sup>[8]</sup>,但却对胚胎干细胞起分化抑制作用。

在一定条件下,干细胞因子不仅影响干细胞的增殖、分化,对其迁移定位也具有靶向调控作用。如损伤或炎症处的免疫细胞所分泌的趋化因子/趋化因子受体(CXCL12/CXCR4、CCL2/CCR2、FLK/CX3CR1等)、细胞因子(TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-1 $\beta$ 、EPO、BMP4)和生长因子TGF- $\alpha$ 等,可以促进间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)向损伤处迁移定位<sup>[9]</sup>,从而促进MSC对损伤组织细胞的修复作用。

研究发现,采用不同细胞因子在不同时程的组合比单一因子更能有效地调控干细胞特性。Murry等<sup>[10]</sup>用BMP4和Activin A处理人胚胎干细胞,促进其向心肌细胞分化,将分离得到的大量心肌细胞移植到大鼠受损的心脏,使心脏功能得到了改善。Kellar实验室采用<sup>[11]</sup>复杂的细胞因子组合(BMP4、bFGF、Activin A、VEGF、Wnt信号抑制剂DKK1)分选出KDR<sup>low</sup>/c-kit<sup>neg</sup>的心肌前体细胞群,该前体细胞的心肌细胞分化率大于50%。此外,FGF2、EGF和OSM是诱导干细胞向肝脏细胞分化的常用细胞因子组合<sup>[12]</sup>。

**1.2 干细胞因子与干细胞的跨胚层分化** 近年来,研究指出一些组织特异性干细胞在特定条件下可被诱导分化为其他类型组织器官的细胞,而干细胞因子在这其中起着重要的调控作用。Wang等<sup>[13]</sup>报道精原干细胞可在LIF的诱导下体外分化为卵细胞;Xie等<sup>[14]</sup>首次发现,骨髓干细胞在粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony stimulating factor, G-CSF)的激动剂的刺激下,能够被诱导形成神经祖细胞,虽然其中的机制并未完全阐明,但干细胞因子G-CSF在这其中起不可或缺的作用。

MSC亦可在许多激素及细胞因子(如BMP、瘦蛋白、脂联素等)的作用下分化为成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、肌腱细胞、心肌细胞、肝细胞、胰腺细胞、神经细胞等<sup>[15-17]</sup>,修复替代受损的细胞和组织,实现跨胚层分化。

在干细胞治疗中,采用更为有效的细胞因子组合,选择适合的时程体外促进干细胞的分化、迁移,既可提高干细胞治疗的效果,同时也为将来直接利用干细胞因子体内输注,恢复和激活内在干细

胞的功能奠定基础。

**1.3 干细胞因子与肿瘤干细胞** 肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)是肿瘤细胞群体中具有部分干细胞特性的细胞亚群,其增殖能力明显强于同一肿瘤组织中的其它肿瘤细胞,且对放、化疗不敏感,是肿瘤复发与转移的重要原因之一。

研究表明,调控正常干细胞的干细胞因子,也能对肿瘤干细胞的增殖分化起调控作用,因此干细胞因子可成为针对肿瘤干细胞的肿瘤治疗策略的特异性靶点。在慢性髓系白血病中,一种新定义的干细胞因子SALL4(sal-like protein 4)能维持白血病干细胞(leukemia-initiating cells, LIC)的自我更新<sup>[18]</sup>,同时被认为是肝癌的一种干细胞生物标记物<sup>[19]</sup>。Levina研究小组<sup>[20]</sup>发现,人类肺癌干细胞表达c-kit受体并分泌干细胞因子,调控自我更新,在阻断SCF-c-kit信号通路的情况下,肺癌干细胞的增殖与存活受到明显抑制。因此,利用干细胞因子调控CSC的增殖与分化,可对肿瘤起预防、治疗作用。随着干细胞因子对肿瘤干细胞调控研究的不断深入,利用干细胞因子治疗靶向肿瘤干细胞治疗肿瘤将逐渐成为可能。

## 2 干细胞因子在疾病治疗中的作用

组织干细胞或基质细胞能够通过合成和释放多种干细胞因子,调节组织细胞的增殖、分化和组织再生。但是,干细胞因子的治疗机制与成药性研究尚未系统展开,这将是国际干细胞研究的最新领域。

**2.1 干细胞因子的组织修复作用** 目前直接利用干细胞因子对组织损伤引起的疾病进行治疗的研究尚未见报道,但是许多干细胞移植治疗已证明干细胞因子所起的关键性作用。在链脲霉素诱导的自身免疫性糖尿病小鼠模型的胰岛修复<sup>[21]</sup>、肝衰竭小鼠<sup>[22]</sup>以及心肌梗死<sup>[23]</sup>等疾病的治疗中,MSC不仅可以分化为相应组织细胞,还可合成多种生长因子、细胞因子,对受损组织局部微环境起旁分泌作用,包括抗炎症、刺激内源性细胞增殖和血管增生等。如在青光眼模型中,MSC产生的旁分泌因子可诱发睫状体中祖细胞池再活化,促进细胞增殖,使组织重构<sup>[24]</sup>;在骨髓MSC移植治疗糖尿病小鼠的过程中,MSC可通过其分泌的生长因子的旁分泌作用,对糖尿病周围神经病变起到治疗作用<sup>[25]</sup>。

Prockop等<sup>[26]</sup>发现,在静脉输注组织干细胞修

复心肌缺血损伤的过程中,发挥关键作用的并不是干细胞本身,而是其分泌的TSG-6(tumor necrosis factor-inducible gene 6),而进一步研究中通过输注重组人TSG-6,明显减轻了大鼠眼角膜非感染性炎症反应,炎症因子、趋化因子和基质金属蛋白酶的含量明显降低<sup>[27]</sup>,且对小鼠脑损伤模型<sup>[28]</sup>、NOD鼠自身免疫性糖尿病的发病<sup>[29]</sup>亦有治疗效果,从而充分说明MSC效应分子TSG-6具有治疗损伤的潜能。这两项研究再次表明,利用具有干细胞调控功能的干细胞因子替代干细胞来治疗疾病,实现无细胞的干细胞治疗,具有一定的可行性。

**2.2 干细胞因子与免疫调控** MSC具有的免疫调控功能使其无论作为干细胞进行组织修复,还是作为免疫抑制剂用于移植抗宿主病等免疫相关疾病的治疗,都展现出十分诱人的应用前景,而细胞接触及可溶性因子在MSC的免疫调控作用中发挥关键作用。

MSC可以通过旁分泌作用抑制B细胞和T细胞的增殖,激活T细胞的凋亡、影响树突状细胞的迁移与成熟、降低T细胞对抗原的识别能力、诱导NK细胞的免疫耐受,期间,MSC分泌的免疫抑制因子发挥了关键的作用,包括TGF- $\beta$ 、IL-10、PGE<sub>2</sub>、HGF、血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)、吲哚胺2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)、一氧化氮合成酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)等。更重要的是,MSC所分泌的这些免疫调控分子可对其他干细胞进行免疫调节,从而提高干细胞移植治疗的成功率。如MSC分泌的IL-6、IL-7、IL-8、IL-11、IL-12、IL-14、IL-15、M-CSF、Fit-3L和干细胞因子、CXCR4等,可调节造血干细胞的生长、扩增和分化,经SCF、IL-6、IL-3、HGF等细胞因子组合处理后,细胞内及表面CXCR4的表达量上调,并于体外实验中发现其可以增强MSC受SDF-1趋化以及归巢于非肥胖糖尿病/重症联合免疫缺陷(non-obese diabetic/severe combined immunodeficiency, NOD/SCID)小鼠骨髓的能力<sup>[30]</sup>。

### 3 结语与展望

近年来,随着干细胞因子体外诱导人干细胞分化为成骨细胞、软骨细胞、心肌细胞、肝细胞、脂肪细胞、神经细胞等功能性终末分化细胞的成功,干细胞被逐渐应用到骨质疏松、缺血性心脏病、失代偿期

肝硬化、糖尿病足等疾病的治疗中,并取得了一定的成效。

然而,干细胞因子治疗的相关研究还未得到足够的重视。由于“细胞替换疗法”在干细胞临床治疗中初显成效,人们大多热衷于干细胞自身的细胞性治疗研究,而忽略了干细胞整体环境中干细胞因子的重要作用及其治疗效应。干细胞因子对疾病作用的研究显示,干细胞因子有用于治疗血液、心血管、糖尿病和神经退行性病变等多种疾病的潜能。然而,目前针对治疗应用的干细胞因子的研发才刚刚起步,与干细胞因子成药性相关的细胞因子的长效性研究的相对滞后。

在未来干细胞因子治疗的研究中,我们须将干细胞治疗的核心机制、干细胞基础理论与临床研究转化研究紧密联系,全方位进行探索。一方面可通过建立干细胞因子功能鉴定的稳定技术平台,研发干细胞因子或其受体的抗体,体内调控干细胞功能;另一方面可直接应用干细胞分泌的具有干细胞调控功能的干细胞因子,并修饰获得长效干细胞因子,实现治疗效应。将这两类因子成药达到治疗目标,较“干细胞治疗”应用简单、容易质控、更安全、成本更低。这样一种无细胞的干细胞治疗,可能为解决再生医学问题的新途径,或是未来干细胞治疗的新方向。

### 参考文献

- [1] Yang SA, Wang WD, Chen CT, *et al.* FOXO/Fringe is necessary for maintenance of the germline stem cell niche in response to insulin insufficiency[J]. *Dev Biol*, 2013, 382:124-135.
- [2] Meng S, Su Z, Liu Z, *et al.* Rac1 contributes to cerebral ischemia reperfusion-induced injury in mice by regulation of Notch2[J]. *Neuroscience*, 2015, 306:100-114.
- [3] Lamarche E, Lala-Tabbert N, Gunanayagam A, *et al.* Retinoic acid promotes myogenesis in myoblasts by antagonizing transforming growth factor-beta signaling via C/EBPbeta[J]. *Skelet Muscle*, 2015, 5:8.
- [4] Chen H, Shi B, Feng X, *et al.* Leptin and NAP2 promote mesenchymal stem cell senescence through activation of PI3K/Akt pathway in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Arth Rheum*, 2015, 67:2383-2393.
- [5] Ivanova N, Dobrin R, Lu R, *et al.* Dissecting self-renewal in stem cells with RNA interference[J]. *Nature*, 2006, 442: 533-538.
- [6] Nguyen H, Rendl M, Fuchs E. Tcf3 governs stem cell features and represses cell fate determination in skin[J]. *Cell*, 2006, 127:171-183.

- [7] Rhee H, Polak L, Fuchs E. Lhx2 maintains stem cell character in hair follicles. *Science*, 2006, 312:1946-1949.
- [8] Hilton DJ, Nicola NA, Metcalf D. Specific binding of murine leukemia inhibitory factor to normal and leukemic monocytic cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, 85:5971-5975.
- [9] Cornelissen AS, Maijenburg MW, Nolte MA, *et al.* Organ-specific migration of mesenchymal stromal cells; Who, when, where and why[J]? *Immunol Lett*, 2015, 168:159-169.
- [10] Laflamme MA, Chen KY, Naumova AV, *et al.* Cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells in pro-survival factors enhance function of infarcted rat hearts[J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25:1015-1024.
- [11] Yang L, Soonpaa MH, Adler ED, *et al.* Human cardiovascular progenitor cells develop from a KDR+ embryonic-stem-cell-derived population[J]. *Nature*, 2008, 453:524-528.
- [12] Ye JS, Su XS, Stoltz JF, *et al.* Signalling pathways involved in the process of mesenchymal stem cells differentiating into hepatocytes[J]. *Cell Prolif*, 2015, 48:157-165.
- [13] Wang L, Cao J, Ji P, *et al.* Oocyte-like cells induced from mouse spermatogonial stem cells[J]. *Cell Biosci*, 2012, 2:27.
- [14] Xie J, Zhang H, Yea K, *et al.* Autocrine signaling based selection of combinatorial antibodies that transdifferentiate human stem cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110:8099-8104.
- [15] Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, *et al.* Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow[J]. *Nature*, 2002, 418:41-49.
- [16] Pezhman H, Jose S, Chowdhury SR, *et al.* Cardiomyogenic differentiation of human sternal bone marrow mesenchymal stem cells using a combination of basic fibroblast growth factor and hydrocortisone[J]. *Cell Biol Int*, 2015, 40:55-64.
- [17] Hwang JH, Byun MR, Kim AR, *et al.* Extracellular Matrix Stiffness Regulates Osteogenic Differentiation through MAPK Activation[J]. *PLoS One*, 2015, 10:e0135519.
- [18] Wang F, Zhao W, Kong N, *et al.* The next new target in leukemia; The embryonic stem cell gene[J]. *Mol Cell Oncol*, 2014, 1:e969169.
- [19] Oikawa T, Kamiya A, Zeniya M, *et al.* Sa1-like protein 4 (SALL4), a stem cell biomarker in liver cancers[J]. *Hepatology*, 2013, 57:1469-1483.
- [20] Levina V, Marrangoni A, Wang T, *et al.* Elimination of human lung cancer stem cells through targeting of the stem cell factor-c-kit autocrine signaling loop. *Cancer Res*, 2010, 70:338-346.
- [21] Gao X, Song L, Shen K, *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cells promote the repair of islets from diabetic mice through paracrine actions[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, 388:41-50.
- [22] Zhang Y, Cai W, Huang Q, *et al.* Mesenchymal stem cells alleviate bacteria-induced liver injury in mice by inducing regulatory dendritic cells[J]. *Hepatology*, 2014, 59:671-682.
- [23] Morais SD, Silva LE, Lатарo RM, *et al.* Mesenchymal Stem Cells Improve Heart Rate Variability and Baroreflex Sensitivity in Rats with Chronic Heart Failure[J]. *Stem Cells Dev*, 2015, 24:2181-2192.
- [24] Manuguerra-Gagne R, Boulos PR, Ammar A, *et al.* Transplantation of mesenchymal stem cells promotes tissue regeneration in a glaucoma model through laser-induced paracrine factor secretion and progenitor cell recruitment [J]. *Stem Cells*, 2013, 31:1136-1148.
- [25] Shibata T, Naruse K, Kamiya H, *et al.* Transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves diabetic polyneuropathy in rats[J]. *Diabetes*, 2008, 57:3099-3107.
- [26] Lee RH, Pulin AA, Seo MJ, *et al.* Intravenous hMSCs improve myocardial infarction in mice because cells embolized in lung are activated to secrete the anti-inflammatory protein TSG-6[J]. *Cell Stem Cell*, 2009, 5:54-63.
- [27] Oh JY, Roddy GW, Choi H, *et al.* Anti-inflammatory protein TSG-6 reduces inflammatory damage to the cornea following chemical and mechanical injury[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107:16875-16880.
- [28] Watanabe J, Shetty AK, Hattiangady B, *et al.* Administration of TSG-6 improves memory after traumatic brain injury in mice[J]. *Neurobiol Dis*, 2013, 59:86-99.
- [29] Kota DJ, Wiggins LL, Yoon N, *et al.* TSG-6 produced by hMSCs delays the onset of autoimmune diabetes by suppressing Th1 development and enhancing tolerogenicity[J]. *Diabetes*, 2013, 62:2048-2058.
- [30] Shi M, Li J, Liao L, *et al.* Regulation of CXCR4 expression in human mesenchymal stem cells by cytokine treatment; role in homing efficiency in NOD/SCID mice[J]. *Haematologica*, 2007, 92:897-904.