

间充质干细胞治疗糖尿病机制的研究进展

谢洪彬, 齐 晖, 李富荣*

(暨南大学 第二临床医学院 深圳市人民医院 临床医学研究中心, 广东 深圳 518020)

摘要: 间充质干细胞(MSCs)移植后能使糖尿病鼠快速降低血糖水平,有效逆转其高血糖症状。本文针对目前MSCs治疗糖尿病可能存在的如横向分化、细胞融合、DNA甲基化、旁分泌及内源性干细胞修复等几种机制研究进展作一简要综述。

关键词: 间充质干细胞; 胰岛样细胞; 分化机制

中图分类号: R 322.491 文献标志码: A

The mechanism of mesenchymal stem cell therapy for diabetes

XIE Hong-bin, QI Hui, LI Fu-rong*

(Clinical Research Center, the Second Clinical Medical College Shenzhen People's Hospital, Jinan University, Shenzhen 518020, China)

Abstract: Mesenchymal stem cells (MSCs) after being transplanted into diabetic rats reduced blood glucose levels quickly and effectively, reversed the symptoms of high blood sugar in diabetic rats. The mechanism that MSCs treat diabetes may be associated with transdifferentiation, cell fusion, DNA methylation, paracrine mechanism and endogenous pancreatic stem cells. In this paper, the mechanism of mesenchymal stem cell therapy for diabetes is reviewed.

Key words: mesenchymal stem cell; islet-like cell; differentiation mechanism

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是来源于中胚层具有多向分化潜能的干细胞,将同种异体甚至异种异体的MSCs移植入宿主体内,在一定诱导条件下,如微环境中的细胞因子、多维分化信号、细胞外基质成分及同种或异种细胞间接触等, MSCs可以分化成具有中胚层^[1]、外胚层^[2]或内胚层特点的细胞,并参与宿主组织的构成^[3]。已经证实来源于各组织中的MSCs均可以分化为有功能的胰岛样细胞^[4]。同基因或异基因MSCs移植给糖尿病鼠,可快速降低血糖水平,有效逆转其高血糖症状^[5]。但是其机制目前尚不确定。本文就目前可

能涉及的几种机制:横向分化机制、细胞融合机制、DNA甲基化机制、旁分泌机制、内源性干细胞修复机制的研究进展进行综述。

1 横向分化机制

一些研究认为,来自中胚层的MSCs治疗糖尿病是在微环境作用条件下跨胚层横向分化为胰岛样细胞的结果。提取CRE-LOXP转基因鼠骨髓MSCs后转染EGFP, CRE的表达可导致EGFP的持续表达。将骨髓MSCs移植给受体鼠后,其胰腺内有EGFP表达的 β 细胞。同时将INS2-CRE转基因鼠

收稿日期:2009-09-27 修回日期:2009-12-15

基金项目:广东省自然科学基金(6027540);深圳市科技计划项目(200601017)

*通信作者(corresponding author): 86-755-25533018; frli62@yahoo.com

的骨髓 MSCs 移植给 *ROSA-STOPLOX-EGFP* 转基因鼠,若移植的 MSCs 与受体鼠胰岛细胞融合,会由 *CRE* 表达激活 *EGFP* 持续表达,若移植的 MSCs 在胰腺内发生横向分化,受体鼠细胞由于无 *CRE* 表达,则 *EGFP* 表达不被激活。结果显示受体鼠体内无 *EGFP* 表达,排除了融合的可能,证实骨髓 MSCs 横向分化为胰腺 β 细胞^[6]。而给骨髓 MSCs 转染 β 细胞发育途径中的关键转录因子 *PDX1*,也可促进 MSCs 横向分化为有功能的胰岛样细胞^[7]。利用含有神经分化因子等的 4 步分化方案来评价人的 MSCs 分化成胰岛样细胞的潜能,结果也表明 MSCs 能够横向分化为胰岛样细胞^[8]。上述研究结果表明,横向分化机制是 MSCs 诱导分化成为胰岛样细胞的主要机制。但是 MSCs 在横向分化为胰岛样细胞的过程中, β 细胞发育途径中的关键转录因子 *PDX-1*、*PDX-4*、*NGN-3* 等是否也像正常胰腺发育过程中一样的表达还有待于进一步的研究。

2 细胞融合机制

MSCs 具有选择性地迁移到受体器官损伤部位的特性,迁移至损伤组织的 MSCs 是否与体细胞在特定情况下发生细胞融合而具有体细胞的功能?这可能是 MSCs 治疗糖尿病的另一种机制。为验证这一假设,给雌性小鼠骨髓 MSCs 标记 *EGFP* 和嘌呤霉素抗性基因,与雄性小鼠胚胎干细胞共同培养,培养基中加入嘌呤霉素,培养后表达 *EGFP* 和嘌呤霉素抗性的 MSCs 细胞群形态和表型与胚胎干细胞相似,且其具有 MSCs 和胚胎干细胞的基因表型。MSCs 来源的不同细胞群 DNA 倍性分析均为 2 倍体以上,还有 4 倍体和 6 倍体细胞群。4 倍体的细胞群都有 XXXY 的核型出现,染色体数目多为 78 和 79。该实验支持骨髓 MSCs 通过与不同组织细胞发生融合而实现向该组织分化^[9]。其他学者的研究也证实了成体干细胞可以通过与组织细胞发生融合实现向该组织分化,从而获得相应表型^[10]。以上研究说明,细胞融合是细胞与细胞联合培养中存在的现象。但是,是否 MSCs 注入糖尿病小鼠后引起血糖下降,糖尿病症状改善是由于 MSCs 与宿主胰岛 β 细胞融合后具有 β 细胞的功能?还有待于进一步的研究。

3 DNA 甲基化机制

细胞分化过程中,DNA 甲基化谱会发生重编排,对特定 CpG 岛胞嘧啶甲基化或者去甲基化,致使一些控制细胞分化的关键基因依次地活化或者沉默,从而指导细胞的分化。1982 年 Sager^[11]等提出 DNA 甲基化的改变能促进细胞分化的这一理论,给人们提供了一种新的研究思路。研究 MSCs、机体肿瘤细胞、胚胎干细胞在分化过程中关键基因的表达及其甲基化程度,结果显示,启动子甲基化的高低和关键基因的表达都与 MSCs、ECC、机体肿瘤细胞的分化状态相关。用 DNA 甲基转移酶抑制剂处理的细胞系可重新表达原本沉默的关键基因,表明 DNA 甲基化与细胞分化有关^[12]。对人胚胎干细胞分化过程中的 *OCT4*、*NANOG* 启动子区域的甲基化水平进行检测,结果也表明在分化过程中存在基因甲基化的改变^[13]。将起源于滑膜的 MSCs 诱导成软骨,测定诱导前后 MSCs 相关基因的甲基化程度,结果显示,控制分化的关键基因的低甲基化能够促进 MSCs 向软骨分化^[14]。这表明 MSCs 的分化过程确实存在 DNA 甲基化的改变。而控制 MSCs 向胰岛样细胞横向分化的关键转录因子如 *PDX-1*、*PDX-4*、*NGN-3* 等的 DNA 甲基化改变是否调控着其向胰岛样细胞分化,还有待于深入研究。

4 旁分泌机制

如果仅通过细胞融合或横向分化来解释 MSCs 治疗糖尿病的机制,尚有些问题难以解释。对 MSCs 移植入心肌梗死的大鼠研究发现,植入的 MSCs 通过旁分泌机制增加了血管的生成和细胞保护。这就给人们提供了 MSCs 可能通过旁分泌机制在组织修复过程中起作用的思路。MSCs 在体外缺氧时能够产生一些细胞因子如 IGF-1、bFGF、VEGF 和 HGF^[15],具有防止细胞凋亡、促进血管生成、增加循环中间充质干细胞聚集到受伤组织的作用^[16]。用无血清培养基培养人胚胎干细胞衍生的 MSCs,利用蛋白质组学技术鉴定,结果显示,大部分 MSCs 的分泌产物具有调节某些疾病的潜能^[17]。因此推测,移植的 MSCs 能够迁移到受伤的胰腺区域,与局部微环境相互作用,分泌一系列营养因子来帮助恢复受损胰腺的功能。同时,移植的 MSCs 可增加胰腺 β

细胞 *PDX1* 的表达,增强胰岛素分泌^[18]。以上研究表明,MSCs 治疗糖尿病可能是通过旁分泌机制上调细胞因子的分泌,抑制胰腺内分泌细胞的凋亡,促进内源性干细胞增殖,帮助受损胰腺细胞的恢复,从而降低血糖,缓解糖尿病症状。

5 内源性干细胞修复机制

胰岛 β 细胞在受损情况下,MSCs 还可能在内源性干细胞修复机制。以前研究仅揭示胚胎胰腺发育过程中控制胰腺内源性干细胞分化的多种机制。对于成年胰腺 β 细胞的产生和内源性干细胞的存在却只有一些描述性的数据和间接证据。最近发现,在成年小鼠胰腺内存在内源性干细胞,且在受损条件下,通过转录因子 *NGN3* 的激活,胰腺组织内源性干细胞能够发育为有功能的 β 细胞^[19]。因此推测,MSCs 治疗糖尿病可能是在胰腺损伤后发生微环境改变的情况下,胰腺内源性的干细胞迁移和分

化产生有功能的胰岛 β 细胞,从而降低血糖,逆转糖尿病症状。所以内源性干细胞的修复机制也可能是 MSCs 治疗糖尿病的机制之一。

6 结语

综上所述,MSCs 移植到糖尿病鼠模型中能够快速降低血糖,逆转糖尿病鼠的高血糖症状,其机制归纳有 2 种:(1)在相关的微环境或者 MSCs 旁分泌刺激下,由 DNA 甲基化来调控 MSCs 分化相关基因的激活或者沉默,从而使 MSCs 跨胚层向胰岛样细胞横向分化。(2)在相关的微环境刺激或者 MSCs 旁分泌刺激下,内源性干细胞激活发育为胰腺 β 细胞。至于哪种机制起作用,关键在于不同的微环境刺激。相信在不同胰腺微环境下与 MSCs 共培养,分析 MSCs 分化中关键转录因子的甲基化水平、关键基因的表达将有助于阐明 MSCs 治疗糖尿病的具体机制。

参考文献:

- [1] Chang Caihong, Zhou Hanxin, Li Furong, *et al.* Mesenchymal stem cells contribute to insulin-producing cells upon microenvironmental manipulation *in vitro* [J]. *Transplant Proc*, 2007, 39(10): 3363–3368.
- [2] Sasaki M, Inokuma D, Shimizu H, *et al.* Mesenchymal stem cells are recruited into wounded skin and contribute to wound repair by transdifferentiation into multiple skin cell type [J]. *J Immunol*, 2008, 180(4): 2581–2587.
- [3] Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. Mesenchymal stem cells: revisiting history, concepts, and assays [J]. *Cell Stem Cell*, 2008, 2(4): 313–319.
- [4] Liu Meng, Han Zhongchao. Mesenchymal stem cells: biology and clinical potential in type 1 diabetes therapy [J]. *J Cell Mol Med*, 2008, 12(4): 1155–1168.
- [5] Wu Xiaohong, Liu Cuiping, Xu Kuanfeng, *et al.* Reversal of hyperglycemia in diabetic rats by portal vein transplantation of islet-like cells generated from bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(24): 3342–3349.
- [6] Ianus A, Holz GG, Theise ND, *et al.* *In vivo* derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion [J]. *J Clin Invest*, 2003, 111(6): 843–850.
- [7] Li Lisa, Li Furong, Qi Hui, *et al.* Coexpression of Pdx1 and betacellulin in mesenchymal stem cells could promote the differentiation of nestin-positive epithelium-like progenitors and pancreatic islet-like spheroids [J]. *Stem Cells Dev*, 2008, 17(4): 815–823.
- [8] Chang Chingfang, Hsu Kehsun, Chiou Shihhwa, *et al.* Fibronectin and pellet suspension culture promote differentiation of human mesenchymal stem cells into insulin producing cells [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2008, 86(4): 1097–1105.
- [9] Terada N, Hamazaki T, Oka M, *et al.* Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion [J]. *Nature*, 2002, 416(6880): 542–545.
- [10] Wang Xiaojun, Li Qingping. The roles of mesenchymal stem cells (MSCs) therapy in ischemic heart diseases [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 359(2): 189–193.
- [11] Sager R, Kovac P. Pre-adipocyte determination either by insulin or by 5-azacytidine [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1982, 79(2): 480–484.
- [12] Dansranjav T, Krehl S, Mueller T, *et al.* The role of pro-

- motor CpG methylation in the epigenetic control of stem cell related genes during differentiation[J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(6): 916–924.
- [13] Yeo S, Jeong S, Kim J, *et al.* Characterization of DNA methylation change in stem cell marker genes during differentiation of human embryonic stem cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 359(3): 536–542.
- [14] Ezura Y, Sekiya I, Koga H, *et al.* Methylation status of CpG islands in the promoter regions of signature genes during chondrogenesis of human synovium-derived mesenchymal stem cells[J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(5): 1416–1426.
- [15] Ohnishi S, Yasuda T, Kitamura S, *et al.* Effect of hypoxia on gene expression of bone marrow-derived mesenchymal stem cells and mononuclear cells[J]. *Stem Cells*, 2007, 25(5): 1166–1177.
- [16] Sadat S, Gehmert S, Song YH, *et al.* The cardioprotective effect of mesenchymal stem cells is mediated by IGF-I and VEGF[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 363(3): 674–679.
- [17] Zhao Hui, Yeo KS, Low TY, *et al.* Elucidating the secretion proteome of human embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2007, 6(10): 1680–1689.
- [18] Boumaza I, Srinivasan S, Witt WT, *et al.* Autologous bone marrow-derived rat mesenchymal stem cells promote PDX-1 and insulin expression in the islets, alter T cell cytokine pattern and preserve regulatory T cells in the periphery and induce sustained normoglycemia[J]. *J Autoimmun*, 2009, 32(1): 33–42.
- [19] Xu Xiaobo, D'Hoker J, Stange G, *et al.* Beta cells can be generated from endogenous progenitors in injured adult mouse pancreas[J]. *Cell*, 2008, 132(2): 197–207.

化学工业出版社图书编写征稿启事

各位专家学者:

化学工业出版社是一家拥有 50 多年历史的中央级出版社。生命科学及技术是化工出版社重要的出版领域,化工版生物图书涉及生物技术和生物学基础理论图书以及工具书。《生物实验室系列》图书是化工版生物类图书的代表性书系,涵盖生命科学各分支学科及平台实验技术,至今已出版 50 多个分册,包括《分子克隆实验指南精编版》、《PCR 技术实验指南》等重要图书品种。策划编辑基于当前的生命科学发展态势、我国的科技政策,拟定了今后计划出版的图书分册,现将相关要求说明如下。

1. 分册书名

结构生物学实验技术、细胞代谢实验技术、干细胞定向分化实验技术、单分子实验技术、核酸纯化实验指南、基因表达系统实验手册、实验动物及模型手册、Western Blot、转染实验技术、基因测序实验技术。

2. 读者对象

生命科学相关学科、医学基础、药学、农学等领域的研究生和其他研究人员。

3. 内容结构与特色

概述各领域研究概况、最新进展后,收入典型的、技术较新的实验方案,实验方案中以 Step-by-Step 的方式介绍实验过程,并阐述关键步骤的注意事项。结构类似于冷泉港实验指南,强调实用性和可操作性。

4. 篇幅

视不同领域及进展情况,可在 30~60 万字之间(版面字数)适当调整。

5. 作者资历要求

在分册图书相应领域从事研究工作多年并取得一定的成果,取得副教授(副研究员)以上的职称。

6. 合作形式

作者提供相关材料,经出版社审批立项后,作者、出版社双方签署出版合同,约定交稿时间、具体篇幅、稿酬标准等细节。诚邀感兴趣的专家学者踊跃投稿!

来稿请与策划编辑联系:傅四周 化学工业出版社

地址:北京市东城区青年湖南街 13 号

邮编:100011

电话:010-64519350

E-mail:fszh2008@163.com