

生命科学导论

——健康与疾病

第二章 生命的基本单位——细胞



Associate Prof. Chen Yongyan

Contact E mail: yychen08@ustc.edu.cn

*Institute of Immunology,
School of Life Sciences, USTC*

《生命科学导论—健康与疾病》教学计划

第二章生命的基本单位——细胞

02 细胞的结构与功能

03 细胞的生命活动

04 细胞工程

05 干细胞

干细胞

1. 干细胞的概念
2. 干细胞的分类
3. 干细胞的特性及应用
4. 干细胞与组织工程

干细胞

1. 干细胞的概念
2. 干细胞的分类
3. 干细胞的特性及应用
4. 干细胞与组织工程

什么是干细胞？

干细胞（Stem cell）即起源细胞，是一类具有自我更新和分化潜能的细胞。

• 干细胞是指存在于个体发育过程中，具有分裂增殖能力并能分化产生一种以上特化细胞的原始细胞，他们是个体生长发育、组织器官的结构和功能的动态平衡，以及其损伤后的再生修复等生命现象发生的细胞学基础。

干细胞的基本生物学特征

1. 干细胞的形态和生化特征：

- 体积较小、核质比相对较大；
- 各种细胞器不够发达；
- 生化特性与其所存在的组织类型、分化程度相关：
如蛋白标志分子、端粒酶活性等；
- 有的干细胞具有固定的组织位置。

干细胞的基本生物学特征

2. 独特的增殖特性是干细胞的根本特性

- 干细胞增殖的缓慢性：产生过渡放大细胞
- 干细胞增殖系统的自稳定性

干细胞增殖的缓慢性

当干细胞进入分化程序后，首先经过一个短暂的增殖期，产生过渡放大细胞。过渡放大细胞经若干次分裂后，生成分化细胞。

生物学意义：在于可以通过较少次数的干细胞分裂，而产生较多的分化细胞。

生理意义：有利于干细胞对特定的外界信号做出反应，以决定是进入增殖状态还是进入特定的分化程序；还可以减少基因发生突变的危险，使干细胞有更多的时间发现和校正复制错误。

干细胞增殖系统的自稳定性

自稳定性

干细胞可以在生物个体生命周期间内自我更新并维持其自身数目恒定的特性。

(A) 对称分裂

当干细胞发生分裂后，所产生的两个子代细胞都是干细胞或都是分化细胞

(B) 不对称分裂

当干细胞发生分裂后，产生一个干细胞和一个分化细胞

干细胞的基本生物学特征

3. 具有多向分化能力是干细胞的本质特点

- 干细胞的分化潜能：全能干、多能干、专能干
- 干细胞的分化可塑性

干细胞的分化可塑性

干细胞在适当的条件下，可以发生转分化和去分化的现象

干细胞的转分化：一种组织类型的干细胞，在适当条件下分化为另一种组织类型的细胞的现象。

干细胞的去分化：一种干细胞向其前体细胞的逆向转化。

干细胞的基本生物学特征

4. 干细胞增殖与分化受到微环境的精密调控

- 干细胞在组织器官中所存在的微环境——**干细胞巢**。
- **干细胞巢**是由干细胞及其外围细胞，以及其增殖分化调控相关因子所组成，并具有动态平衡特性的局部环境。

分泌因子：干细胞，外围细胞，或其它组织细胞，如TGF-beta, Wnt家族信号分子；
细胞间相互作用：整合膜蛋白（跨膜蛋白），如notch分子；
整联蛋白和胞外基质：细胞与细胞间的相互作用及细胞与细胞外基质间的相互作用

干细胞

1. 干细胞的概念
2. **干细胞的分类**
3. 干细胞的特性及应用
4. 干细胞与组织工程

按分化潜能大小分类:

- ▶ **全能性干细胞 (Totipotent stem cell)** : 它具有形成完整个体的分化潜能。如受精卵, 早期胚胎细胞。
- ▶ **多能性干细胞 (pluripotent stem cell)** , 具有分化出多种组织细胞的潜能, 但却失去了发育成完整个体的能力, 发育潜能受到一定的限制。如胚胎干细胞 (内细胞团)、骨髓多能造血干细胞。
- ▶ **专能性干细胞 (multipotent stem cell)** , 这类干细胞只能向一种类型或密切相关的两种类型的细胞分化, 如上皮组织基底层干细胞、肌肉中的成肌细胞、神经元干细胞等。

根据来源分类:

➤ 来源于胚胎--- 胚胎干细胞 ESC (Embryonic Stem Cell) :

来源于受精5~7天的胚泡, 内细胞团

胚胎生殖干细胞 EGC (Embryonic Germ Cell) :

受精后4-9周

➤ 来源于出生相关组织--- 围产期干细胞PSC (Perinatal Stem Cell)

➤ 来源于成体--- 成体干细胞 ASC (Adult-derived Stem Cell)

➤ 来源于肿瘤--- 肿瘤干细胞/癌干细胞 CSC (Cancer Stem Cell)

➤ 体外诱导--- 诱导多能干细胞 iPS (Induced Pluripotent Stem Cell)

根据干细胞组织发生的名称进行分类:

- 胚胎干细胞
- 骨髓造血干细胞
- 骨髓间充质干细胞
- 脐带血造血干细胞
- 脐带血间充质干细胞
- 肌肉干细胞
- 成骨干细胞
- 内胚层干细胞
- 视网膜干细胞
- 胰腺干细胞
-

干细胞

1. 干细胞的概念
2. 干细胞的分类
3. **干细胞的特性及应用**
4. 干细胞与组织工程

3. 干细胞的特性和应用

根据来源

胚胎干细胞

诱导多能干细胞

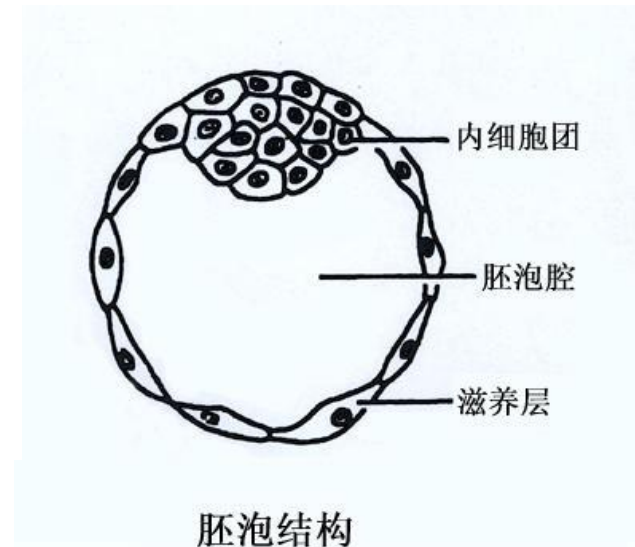
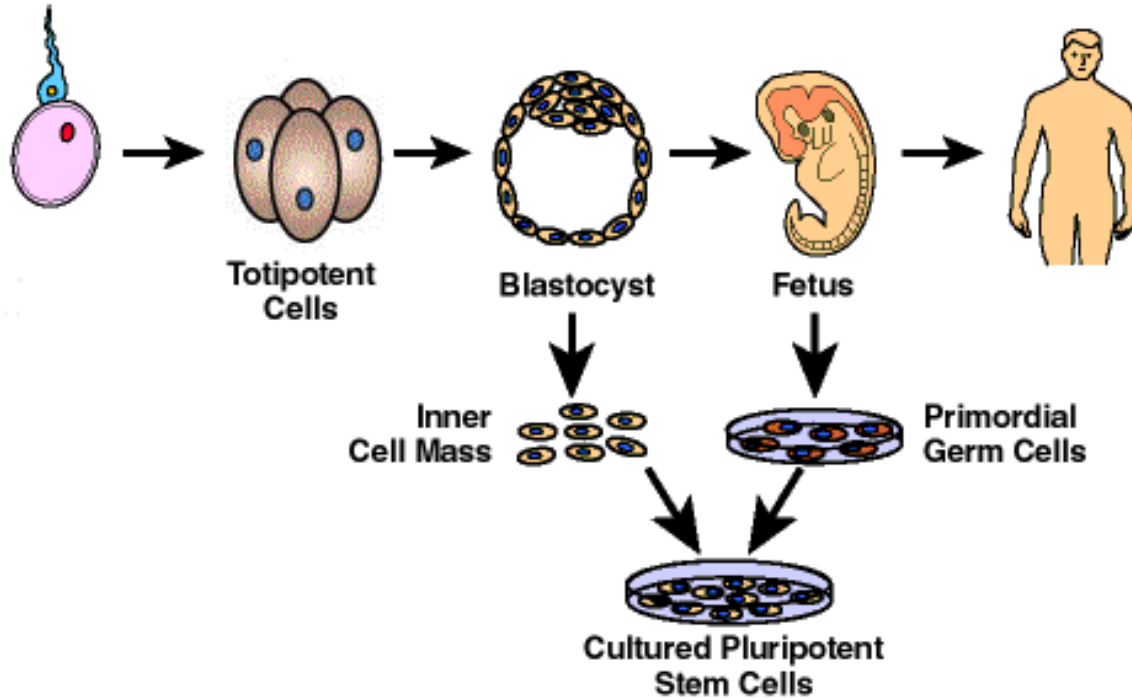
成体干细胞

围产期干细胞

肿瘤干细胞

3.1 胚胎干细胞

是胚胎或原始生殖细胞经体外抑制分化培养后筛选出的具有发育全能性的细胞。其可以定向诱导分化为几乎所有种类的细胞，甚至形成复杂的组织和器官。

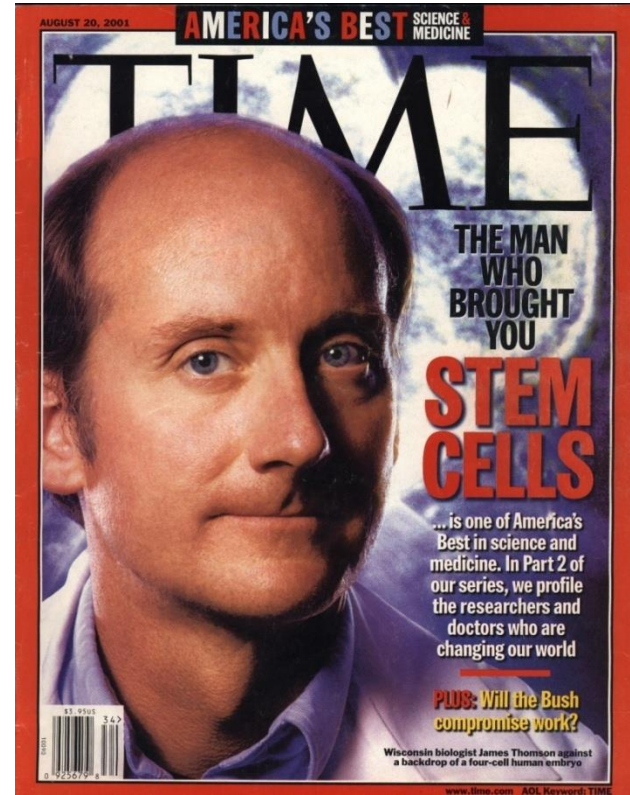


胚胎干细胞 ESC (Embryonic Stem Cell)

胚胎生殖干细胞 EGC (Embryonic Germ Cell)

3.1.1 人ES细胞系的建立

1998年，Thomson 建立人胚胎干细胞系（hES 细胞）
开启了干细胞研究新的一页



1999年，《Science》将人类胚胎干细胞研究成果评为当年世界十大科技进展之首。

2000年，《Time》周刊将其列为20世纪末世界十大科技成就之首。

3.1.2 ES细胞生物学特性

✓ ES细胞的形态和生化特性

1. 胞体体积小，核大，有一个或几个核仁。
2. 细胞中多为常染色质，胞质结构简单，散布着大量核糖体和线粒体，核型正常，保留了整倍体性质。
3. ES细胞在体外分化抑制培养中，呈克隆状生长，细胞紧密地聚集在一起，形似鸟巢。
4. ES细胞增殖迅速，每18—24 h分裂增殖 1次。
5. 可以在体外进行选择、操作、冻存。

3.1.2 ES细胞生物学特性

✓ ES细胞的形态和生化特性

碱性磷酸酶 (AKP) 的表达

作为鉴定ES细胞分化与否的标志之一

胚胎阶段特异性细胞表面抗原 (SSEA-1) 的表达

作为ES细胞鉴定的一个标志

端粒酶; 转录因子 (如Oct4、Nanog、Sox2)

✓ ES细胞的高度分化潜能

1. ES细胞在体外需在饲养层细胞上培养才能维持其未分化状态，一旦脱离饲养层就自发地进行分化。
2. 发育全能性：在单层培养时细胞自发分化成多种细胞；悬浮培养中：“简单类胚体” → “囊状胚体” → 细胞分化物。
3. ES细胞可进行诱导分化

ES细胞的全能性表现

①形成畸胎瘤。将ES细胞注入同源动物皮下可形成畸胎瘤，包括三个胚层细胞；

②形成类胚体。培养ES细胞在非粘附底物中悬浮生长，或控制增殖细胞数目。能够使之生成类胚体，它是一个与畸胎瘤相似的多种系混杂的集合体、具有三个胚层组织；

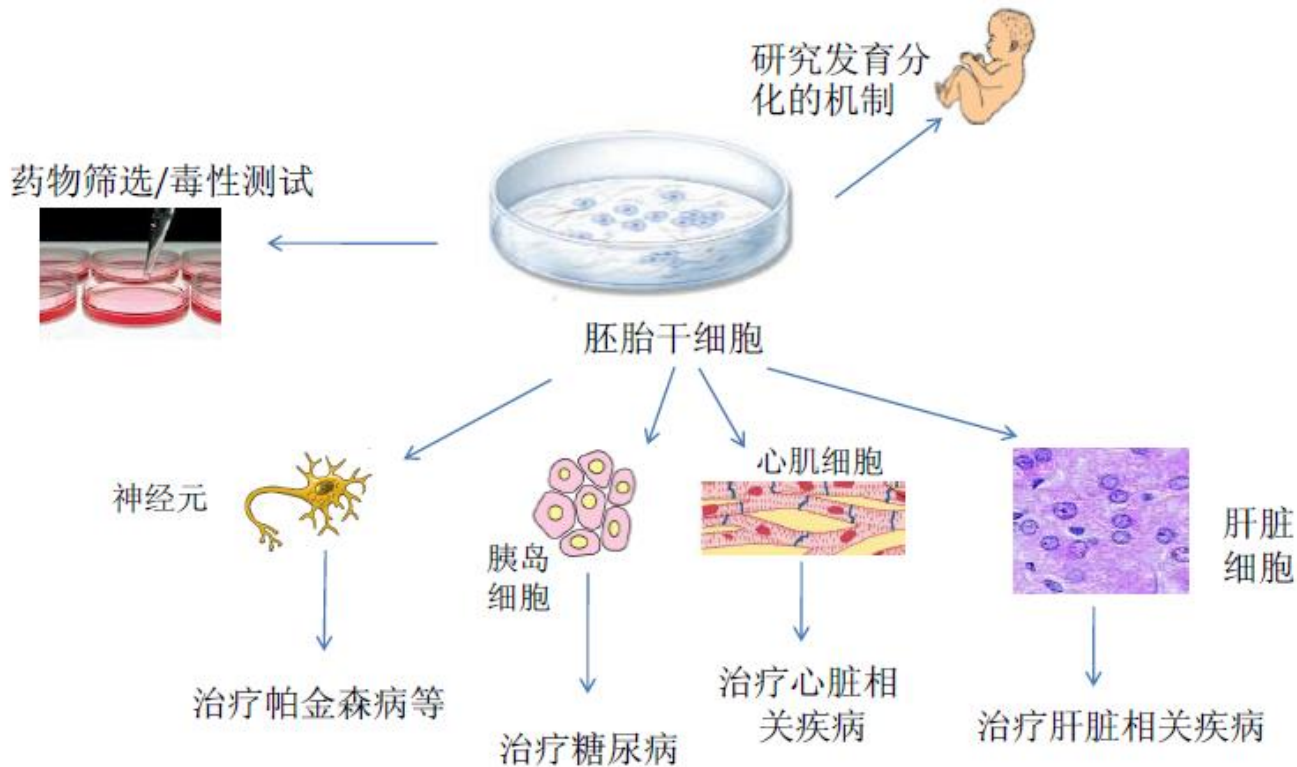
③直系分化。通过控制ES细胞生长环境，或遗传操纵特定基因表达，ES细胞可直接分化成某特定种系细胞，例如将神经决定基因NeuroD2和NeuroD3转入ES细胞，可使之分化为神经细胞；

④形成嵌合体。将ES细胞注射到同种动物囊胚腔中后，可以形成嵌合体（chimera），ES细胞可以参与嵌合体各个器官包括生殖腺的发育。这是检验一个细胞系是否为ES细胞的标准。

3.1.3 ES细胞的研究前景

干细胞工程

胚胎干细胞的用途



人体发育、
基因功能、
药物开发、
细胞治疗
组织器官替
代治疗

3.1.3 ES细胞的研究前景

- ◆ ES细胞在动物克隆及人类治疗性克隆中的应用
- ◆ 在转基因动物中的应用
- ◆ 制备嵌合体动物

ES研究面临的难题

- (1) 最大的障碍来自于伦理学问题。
- (2) 体外培养条件及建系成功率；
- (3) 如何诱导ES细胞定向分化成单一类型的分化细胞, 防止肿瘤的形成；
- (4) ES细胞真正用于器官克隆与移植仍需要技术上的突破, 器官的形成? 离体培养? 体外保存?
- (5) 分化的细胞仍有可能发生移植排斥。

3.2 诱导多能干细胞(iPS)

通过向皮肤成纤维细胞的培养基中添加几种胚胎干细胞表达的转录因子基因，诱导成纤维细胞转化成的类多能胚胎干细胞。

2006年日本京都大学山中伸弥领导的实验室在世界著名学术杂志《细胞》上率先报道了诱导多能干细胞

2007年末，Thompson实验室和山中伸弥实验室几乎同时报道，利用iPS技术同样可以诱导人皮肤纤维母细胞成为几乎与胚胎干细胞完全一样的多能干细胞

采用了以慢病毒载体引入OCT4、SOX2加NANOG和LIN28这种因子组合



Induced Pluripotent Stem Cell Lines Derived from Human Somatic Cells

Junying Yu, *et al.*

Science **318**, 1917 (2007);

DOI: 10.1126/science.1151526

iPS VS ES

iPS细胞多大程度上等同于ES细胞？

- 表达相同的多能性标志
- 全基因组比对：几乎相同
- 全能性：都可以培育出小鼠个体（中国首次报道）
- 少量不同：定向分化能力有强弱

iPS细胞与胚胎干细胞相似的严格证明

我国科学家首次证明iPS细胞全能性

nature

Vol 461 | 3 September 2009 | doi:10.1038/nature08267

LETTERS

iPS cells produce viable mice through tetraploid complementation

Xiao-yang Zhao^{1,2*}, Wei Li^{1,2*}, Zhuo Lv^{1,2*}, Lei Liu¹, Man Tong^{1,2}, Tang Hai¹, Jie Hao^{1,2}, Chang-long Guo^{1,2}, Qing-wen Ma³, Liu Wang¹, Fanyi Zeng^{3,4} & Qi Zhou¹

对鼠的iPS进行实验验证

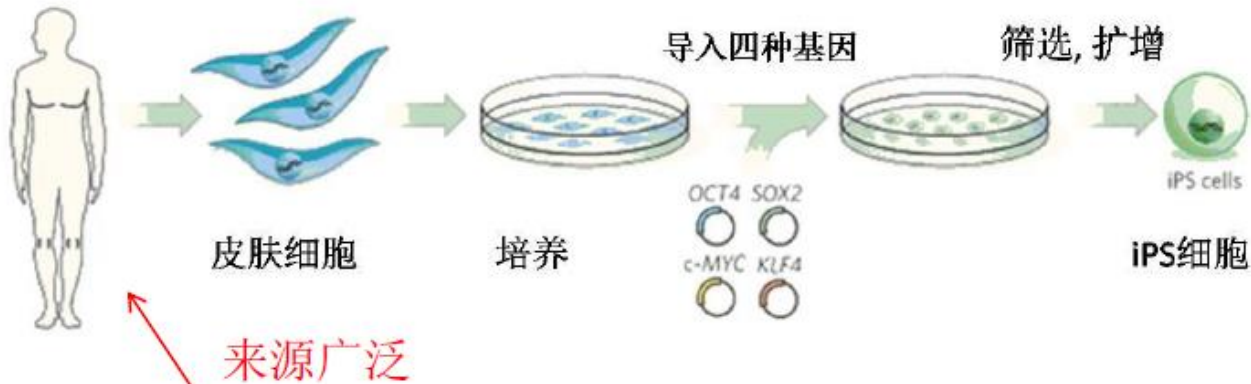
2009 中科院动物所周琪证明：iPS细胞和胚胎干细胞相似
iPS具有胚胎干细胞的功能



小小

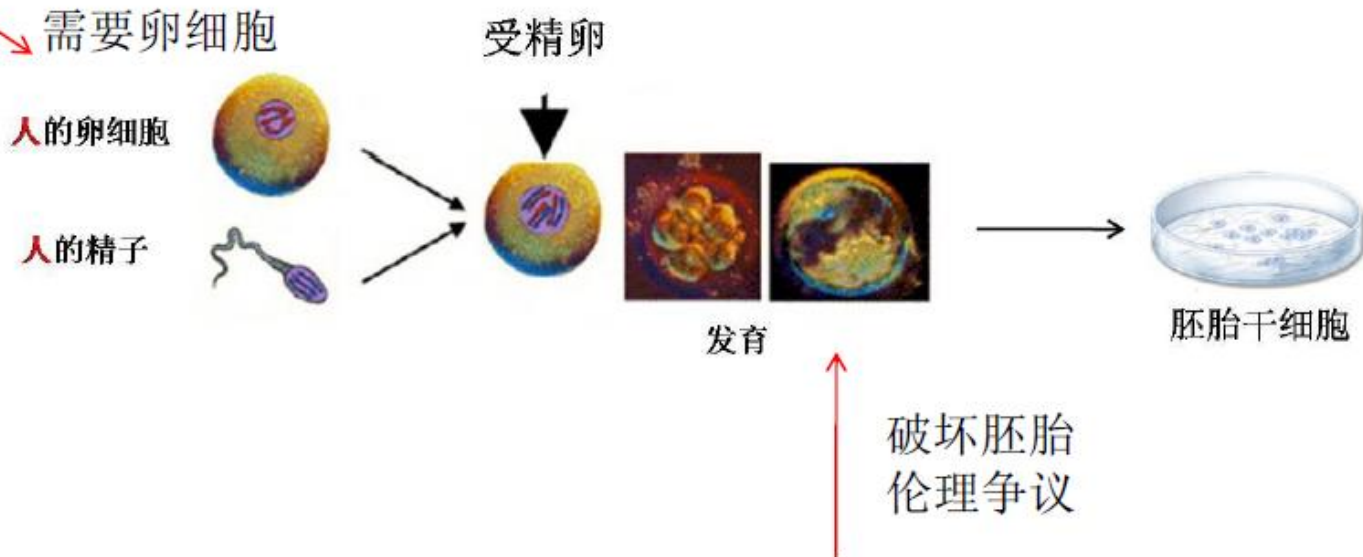
iPS vs ES

获取 iPS 细胞:



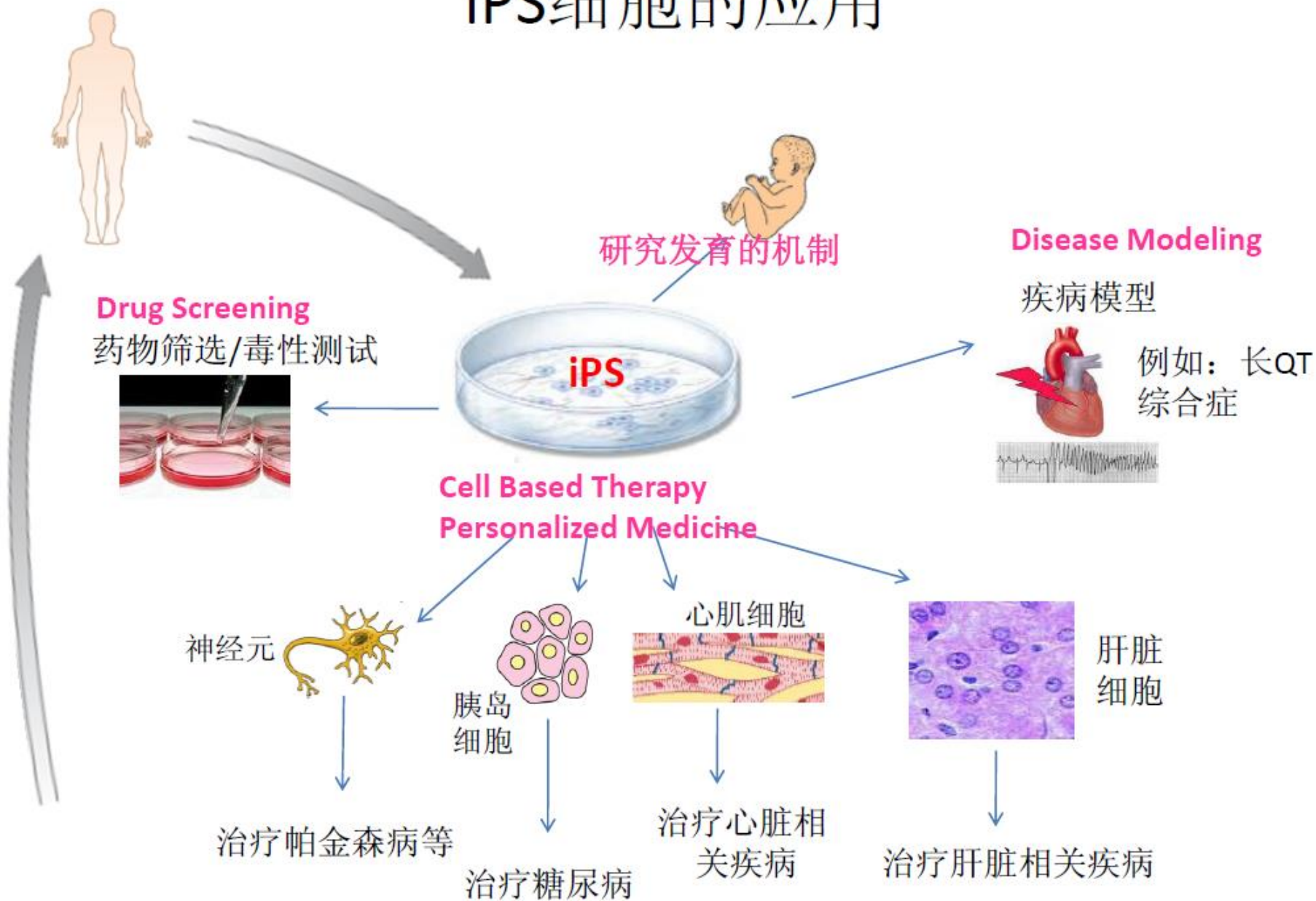
来源广泛

获取胚胎干细胞:

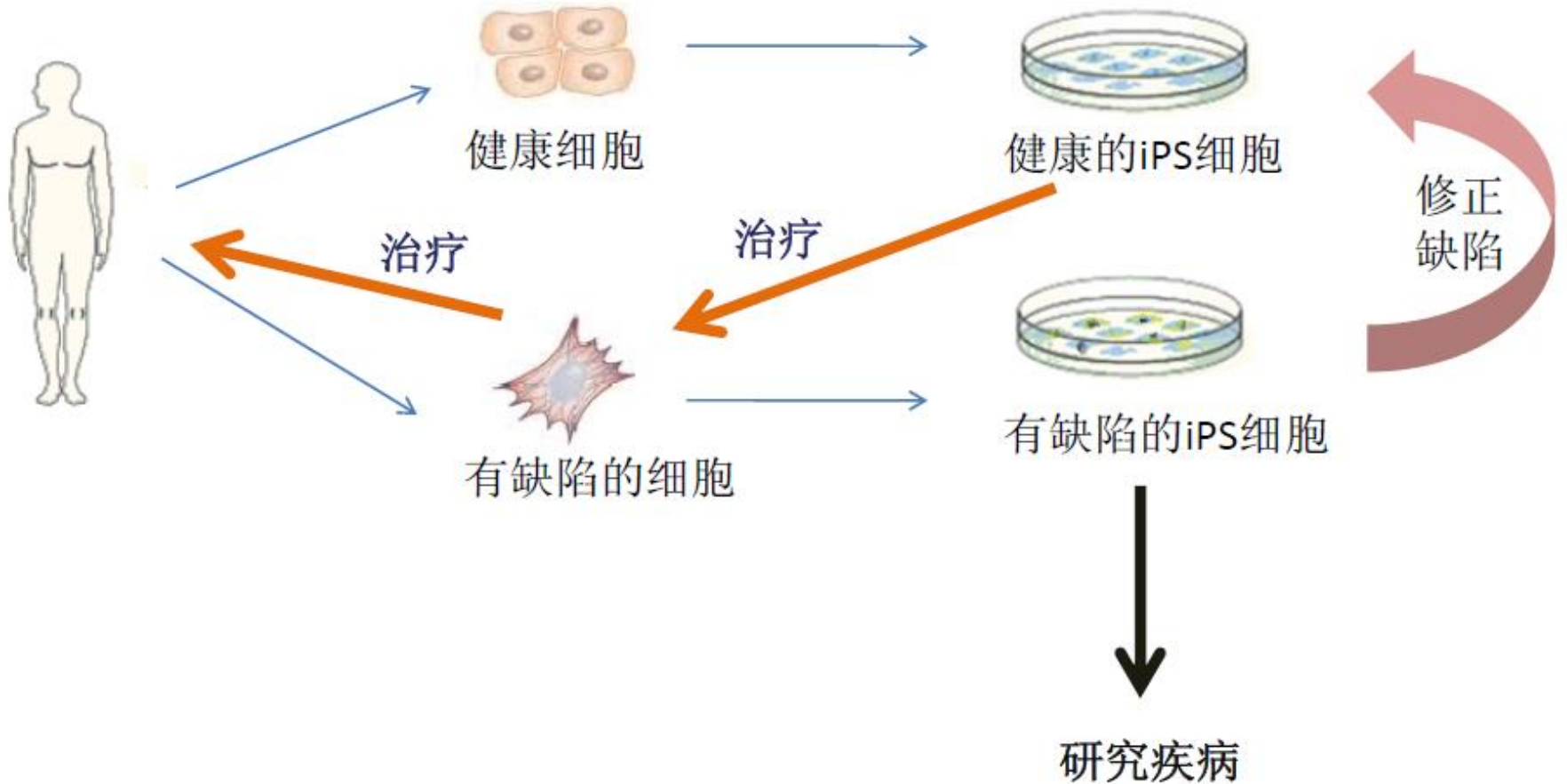


特性、功能一样

iPS细胞的应用



iPS细胞的应用



免疫排斥：Personalized Medicine

- 美国FDA批准Geron:



胚胎干细胞



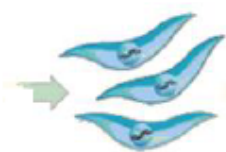
运动神经元



治疗瘫痪病人

免疫排斥：受者对供者组织器官产生的排斥反应

- 使用iPS技术



iPS细胞

个性化治疗方案
无免疫排斥



运动神经元

3.3 成体干细胞

(Adult-derived Stem Cell)

分布在成体组织中具有自我更新能力、并能分化产生一种或一种以上子代组织细胞的未成熟细胞，是构建和补充相应组织的各种类型细胞潜能的干细胞，在组织或系统的修复和再生中起着关键作用。

造血干细胞
骨髓间充质干细胞
表皮干细胞
神经干细胞
皮肤干细胞
肠干细胞
角膜干细胞
肝干细胞

造血干细胞 Hematopoietic Stem Cells, HSC

造血系统中的未分化细胞，能够自我更新并分化生成各种血细胞。

中胚层(2周)



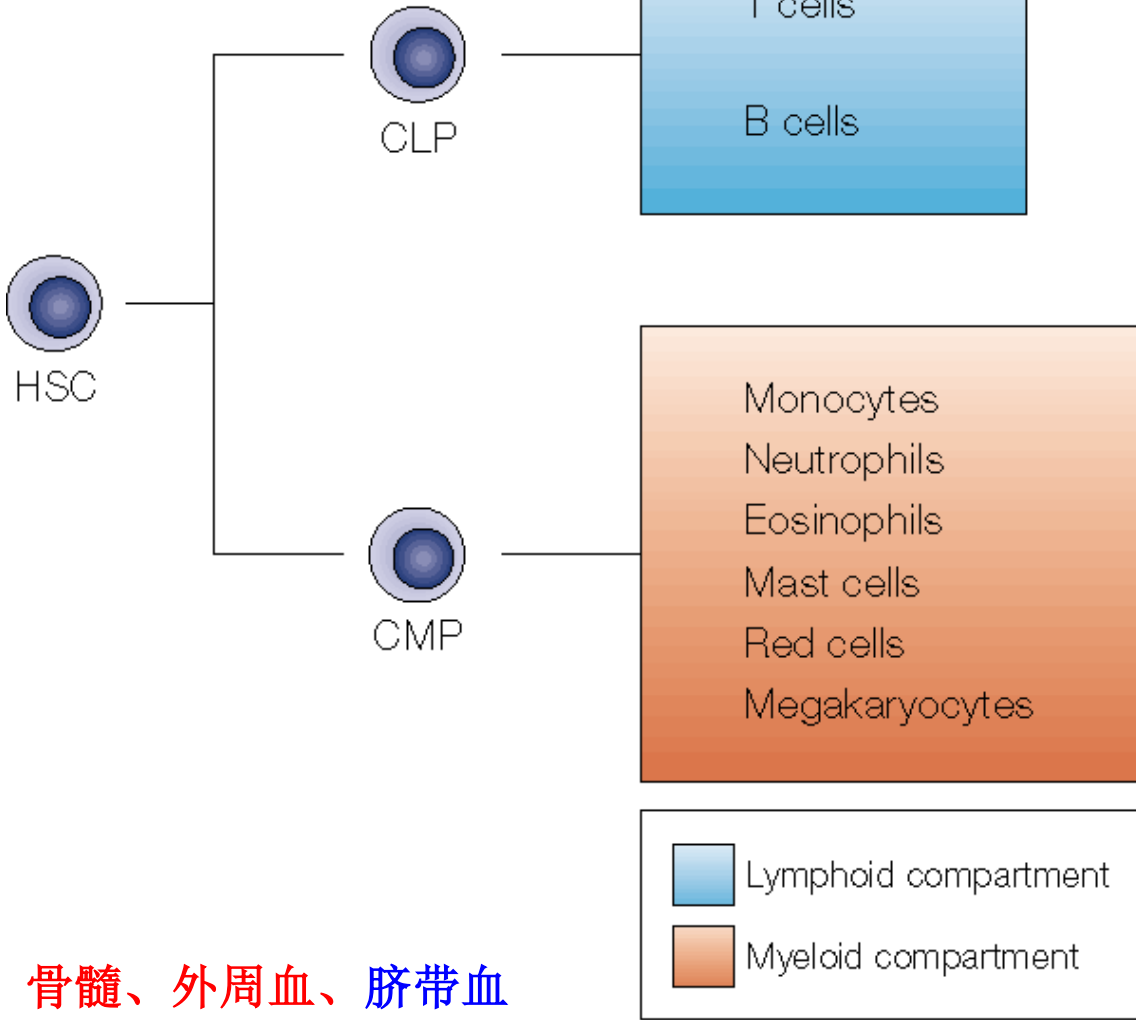
胚肝(4周)



造血器官(5个月)

Multipotential
progenitors

Committed
precursors



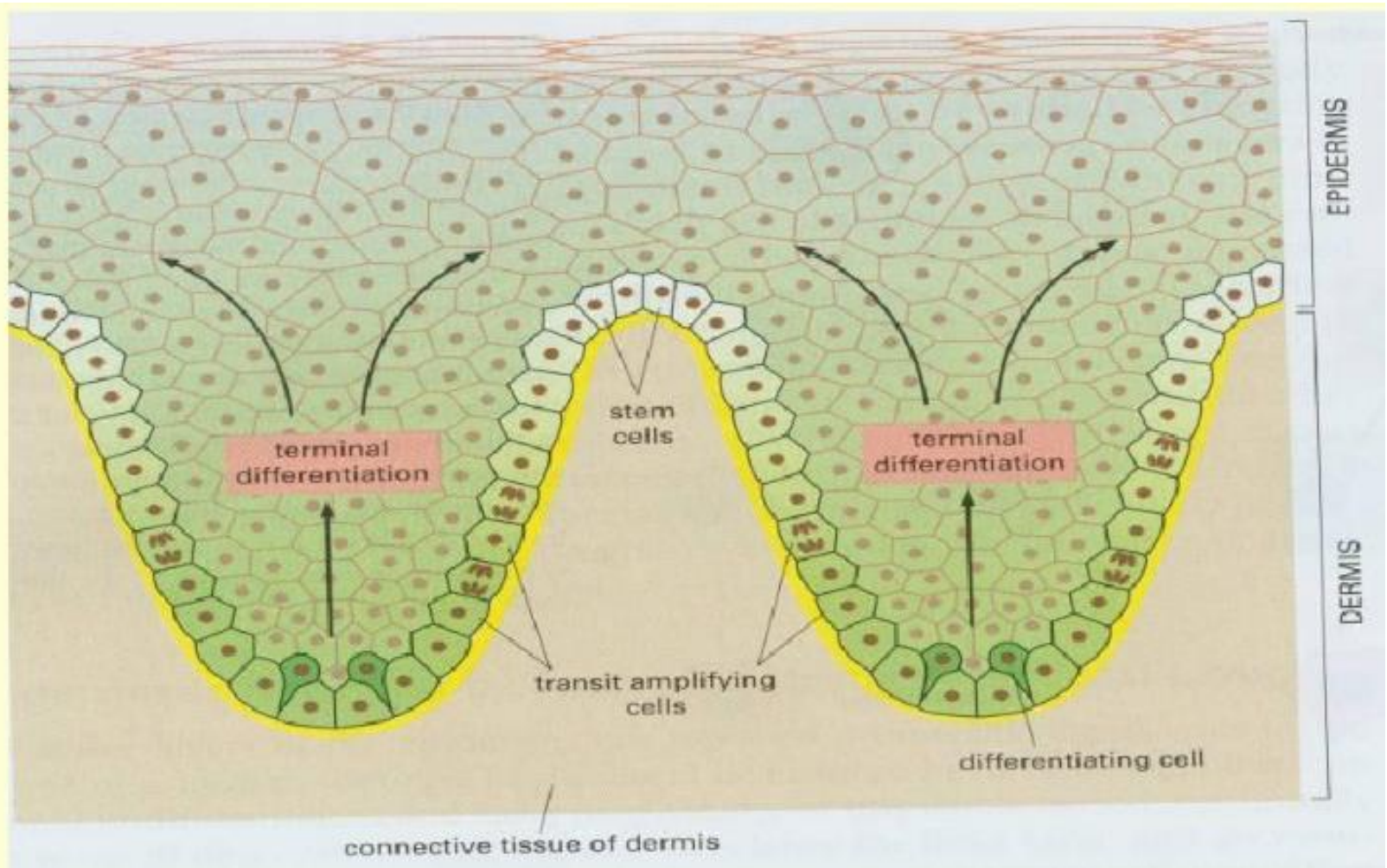
骨髓、外周血、脐带血

造血干细胞作为干细胞研究与应用的突破口

1. 造血细胞是细胞增殖分化的最佳模型。
2. 造血干 / 祖细胞及各系血细胞的表面标志较为清楚，细胞表型特征可进行定量分析，且可分选。
3. 造血干细胞增殖及向各系分化的重要诱导因子、受体、信号转导、微环境等因素较为清楚。
4. 造血细胞发挥功能可相对游离，不需“生物支架”、神经、血管、外科移植等复杂的“下游”工艺，因此便于直接应用于临床。

表皮干细胞

Epidermal Stem Cell



神经干细胞

Neural Stem Cells

是一类具有分裂潜能和自更新能力的母细胞，它可以通过不对称分裂的方式产生神经组织的各类细胞。

- 修复和代替受损脑组织
- 作为基因治疗载体
- 分化可塑性

3.4 围产期干细胞 (Perinatal Stem Cell)

出生相关组织来源的干细胞，是指人和动物怀孕后伴随胎儿发育产生的胎盘、脐带、脐血和羊水等围产期组织中含有的干细胞。

来源丰富、采集方便、无伦理障碍、干细胞数量多、免疫原性低、增殖分化能力强、易于规模化制备等优点。

- 脐带间充质干细胞
- 胎盘间充质干细胞
- 羊水干细胞
- 羊膜间充质干细胞
- 脐带血造血干细胞
- 脐带血来源的内皮祖细胞
- 造血干细胞移植
- 治疗自身免疫性疾病
- 治疗组织损伤

3.5 肿瘤干细胞/癌干细胞 (Cancer Stem Cell, CSC)

肿瘤中具有自我更新能力并能产生异质性肿瘤细胞的细胞
具有肿瘤形成能力的细胞
是形成癌症组织的原始细胞

乳腺癌干细胞
脑瘤干细胞
白血病癌细胞

干细胞的研究推动了肿瘤学的发展，
为肿瘤的研究开辟了新方向。

肿瘤干细胞的特点

- 数量极少（1%），特有表面标记，可分选；
- 自我更新和无限增殖，维持肿瘤细胞群的生命力；
- 高致瘤性，其运动和迁徙能力使肿瘤细胞的转移成为可能，只有肿瘤干细胞才能启动及维持转移瘤的生长；
- 多潜能及可塑性，使其更适于在陌生环境中的生存，可分化形成原肿瘤中的所有亚群；
- 高度耐药，可长时间处于休眠状态。

癌干细胞带来的启示

- 对癌干细胞的认识可能改变肿瘤治疗的传统思路
寻找对癌干细胞有特异性杀伤作用的分子
- 癌干细胞的提出会影响人们对肿瘤耐药性的认识
干细胞表面存在许多与耐药性相关的转运通道，癌干细胞正是导致肿瘤耐药的细胞

干细胞

1. 干细胞的概念
2. 干细胞的分类
3. 干细胞的特性及应用
4. **干细胞与组织工程**

组织工程是指应用工程学和生命科学的原理和方法来研究正常或病理状况下哺乳动物组织的结构、功能和生长的机制，研究开发能够修复、维持或改善损伤组织的人工生物替代物的一门学科。

在干细胞基础上发展起来的，将干细胞与材料科学相结合，将自体或异体组织的干细胞经体外扩增后种植在预先构建好的聚合物骨架上，在适宜的生长条件下干细胞沿聚合物骨架迁移、铺展、生长和分化，最终发育形成具有特定形态和功能的工程组织。

- ✓ 种子细胞：胚胎干细胞、成体干细胞、组织细胞同源的自体细胞
- ✓ 支架材料：可降解高分子材料、陶瓷类材料、复合材料、生物衍生材料（生物活性材料构成三维空间复合体）
- ✓ 种植细胞，诱导细胞进行分化
- ✓ 采用灌注培养系统，维持稳定的环境条件，使工程组织维持长期的分化状态。

组织工程化皮肤

组织工程化骨骼

组织工程化血管

组织工程化管状器官

组织工程化腺体器官