

为细胞重新“编程” ——2012年诺贝尔生理学或医学奖解读

撰文·供图 奇云（淮南联合大学） 李大可（复旦大学）

两位生物学家，折桂诺贝尔生理学或医学奖

斯德哥尔摩时间2012年10月8日11时30分（北京时间10月8日17时30分），瑞典卡罗林斯卡医学院的诺贝尔大厅里座无虚席。世界在静静地等待一个重要的消息——2012年诺贝尔生理学或医学奖花落谁家？此刻，诺贝尔生理学或医学奖评委会秘书长约兰·汉松如往年一样西装革履地步入会场，他宣布：因为在细胞核重新编程

研究领域做出的革命性贡献，2012年诺贝尔生理学或医学奖授予英国科学家约翰·格登和日本科学家山中伸弥。

格登就职于英国剑桥大学以他的姓氏命名的研究所——格登研究所，山中伸弥则在日本京都大学和美国加州大学旧金山分校两地工作。两人可能获奖的预测早已广为传播，但也有人推断诺贝尔奖可能先授予格登，然后是从事克隆羊“多莉”研究的英国科学家伊恩·威尔

穆特和基思·坎贝尔，再后来才会轮到山中伸弥。

格登的获奖成果，是首次证实了已分化细胞可通过细胞核移植技术，重新转化为具有多能性的干细胞。山中伸弥的获奖成果，是利用基因技术，通过对小鼠的成熟细胞重编程，诱导成功具有分化能力的诱导多能干细胞（Induced Pluripotent Stem Cells，简称iPS细胞）。总的来说，两位获奖者开创的细胞核重编程技术，

是将成熟的体细胞重新诱导回早期干细胞状态,重新获得发育成各种类型细胞的能力。

诺贝尔奖评选委员会在当天的一份新闻稿中称,两位获奖者的成果具有里程碑意义。他们的发现,彻底改变了人类对生物发育和细胞特化的认识,改写了教科书,建立了新的研究领域。他们的研究成果不仅为再生医疗开创了新天地,也为整个医学研究的发展和疾病的诊断、治疗,带来了新的契机。

一个“经典实验”,开创细胞重编程先河

在受精卵发育成一个成熟个体的过程中,特定类型的细胞一般都是沿“单行道”形成。随着发育的不断进行,这些细胞就会逐渐失去可塑性,成为不可逆的某一特定类型细胞。例如,一个皮肤细胞不会自动地转变成为一个脑细胞,而小肠细胞也不会转变成心脏细胞。而所谓的“细胞核重编程”,就是将已经分化了的成年体细胞进行诱导,让其重新回到发育期多能性干细胞状态,重新获得发育成各种类型细胞的能力。通俗一点讲,就是在细胞层面实现“返老还童”。

1962年,格登做了一个划时代的实验:将非洲爪蟾(*Xenopus*,一种蛙)卵细胞内不成熟的细胞核移除,然后把非洲爪蟾的成熟肠细胞的细胞

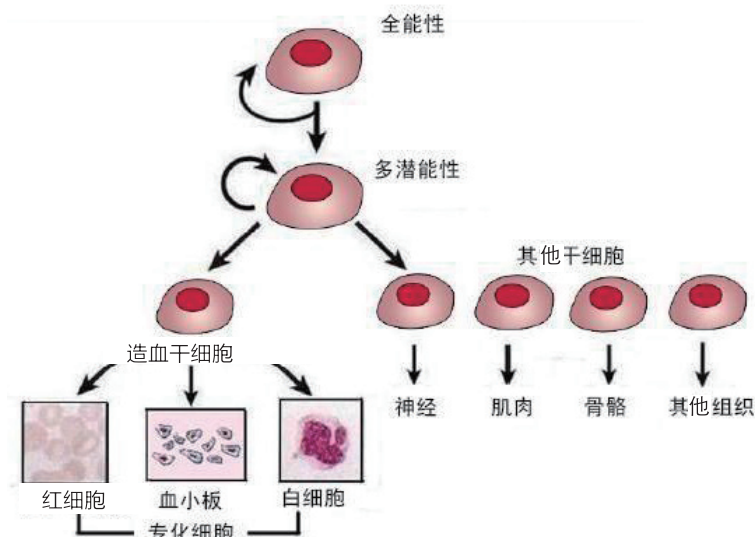
核注入其中。实验的目的很简单,就是想看看这个卵子最终会变成什么。结果发现,一部分卵依然可以发育成蝌蚪;其中的一部分蝌蚪,可以继续发育成为爪蟾。格登的实验说明:处于高度分化状态的体细胞,可以通过重编程手段发生逆向的转变,回到早期胚胎的未分化状态,且具有发育为整个成体动物个体的潜能。这一发现对当时科学界关于细胞命运不能逆转的传统认知产生了挑战,是细胞重编程领域的里程碑成果。

格登的论文在《胚胎学与实验形态学杂志》发表后,立即在学术界引起了轰动。严格来说,格登并没有彻底改写发育生物学教科书,他的这个实验人为痕迹过重,自然界是不会发生这种事情的。这项实验真正的意义在于从理论上证明了为

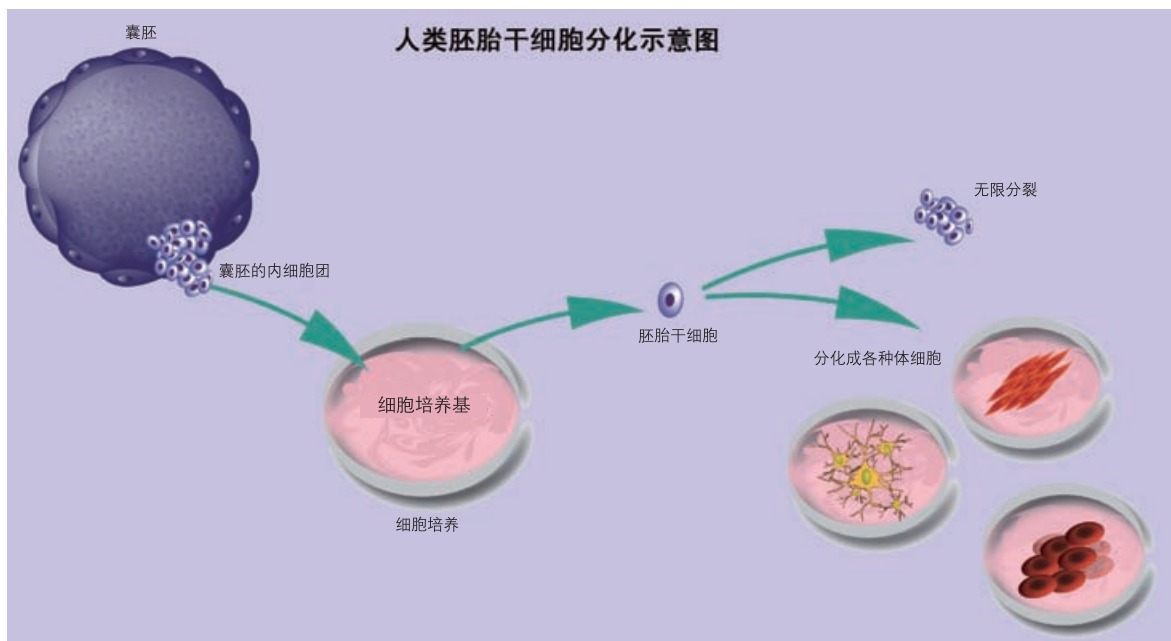
动物细胞重新编程是完全有可能的,并且为动物克隆实验奠定了基础。

格登的发现,也开创了一项重要克隆技术的先河——体细胞核转移技术(Somatic nuclear transfer, 简称SNT)。科学家可以用这一技术,将体细胞核转入卵细胞,使得该细胞具有重新转化为具有多能性细胞的潜能。细胞核重编程对任何医生来说都是一个巨大的诱惑。想象一下,他们只需要一个细胞经过一段时间的培养,就可获得大量各种身体组织。这些组织又可以任意用在损伤器官的修复上面。更妙的是,这些细胞都可以是患者本人的。医生再也不需要考虑来自其他人的细胞或者器官所带来的可能致命的免疫排斥反应了。

这一领域的突破来自于多



干细胞系统示意图



莉羊的实验，这个实验将从成体羊身上分离出来的、并且在体外培养的乳腺细胞的细胞核，移植到去除了细胞核的羊的卵细胞内，从而产生出正常成体羊。多莉羊以及后来的探索研究表明，可以利用成体哺乳动物的细胞核来完全逆转细胞分化过程；并且暗示，这一个机制可能也适用于人类。当然，多莉羊是哺乳动物，实验难度比非洲爪蟾大多了，但毕竟两者的思路是一样的，多莉羊从理论上讲并没有太大的突破。不过，如果没有威尔穆特，格登的实验结果将会一直被当成是一个特殊的现象，在生物学教科书上提一笔，只有个别人会去从事体细胞克隆实验。威尔穆特证明了分化可逆现象的普遍性，而且让体细胞克隆成为了一个热门领域。

四个“转录因子”，诱导出多能干细胞

格登和威尔穆特所做的体细胞核移植实验都证明，一个细胞核只要被放到合适的环境中，就能被诱导而退回到未分化前的初始状态。从理论上讲，只要搞清了胚胎细胞的细胞质中到底哪些因子参与了这一过程，就能人工模仿这种环境，让体细胞转变成干细胞。但是，细胞质中有无数种化学成分，到底是哪些成分有这么大的能耐呢？

山中伸弥经过仔细考量后，决定把注意力放到转录因子上。这是一类专门负责控制基因活性的蛋白质，编码它们的DNA就在基因组内，但因为各种原因其活性有大有小，细胞因此而呈现不同的状态。山中伸弥分析了小鼠胚胎细胞中的转录

因子，找到了24个活性较高的；然后利用逆转录病毒作为载体，将对应的24个转录因子一股脑地转进了小鼠皮肤细胞的细胞核内。奇迹发生了，这个皮肤细胞仿佛被施了魔法，退回到了最初的状态，变成了干细胞。只不过这个干细胞是通过人工诱导而不是核移植而来的，因此叫作“人工诱导多能干细胞”。

但是，一下子导入24个转录因子是很费事的，于是山中伸弥又开始一个一个地试，逐步递减，终于发现只需要同时转入4个转录因子就能够完成任务了，它们分别是Oct4、Sox2、c-Myc和Klf4。

在格登论文发表42年后的2006年6月，山中伸弥在京都出席国际生物化学与分子生物学大会时宣布，利用逆转录病毒

作为载体，将外源的4种转录因子导入小鼠成纤维细胞，诱导小鼠成纤维细胞“重编程”，逆转至多能干细胞状态。这就是第一批的诱导多能干细胞——iPS细胞。同年8月，他在美国科学杂志《细胞》上发表了论文，为医学及生物学带来革命的诱导多能干细胞至此登场。

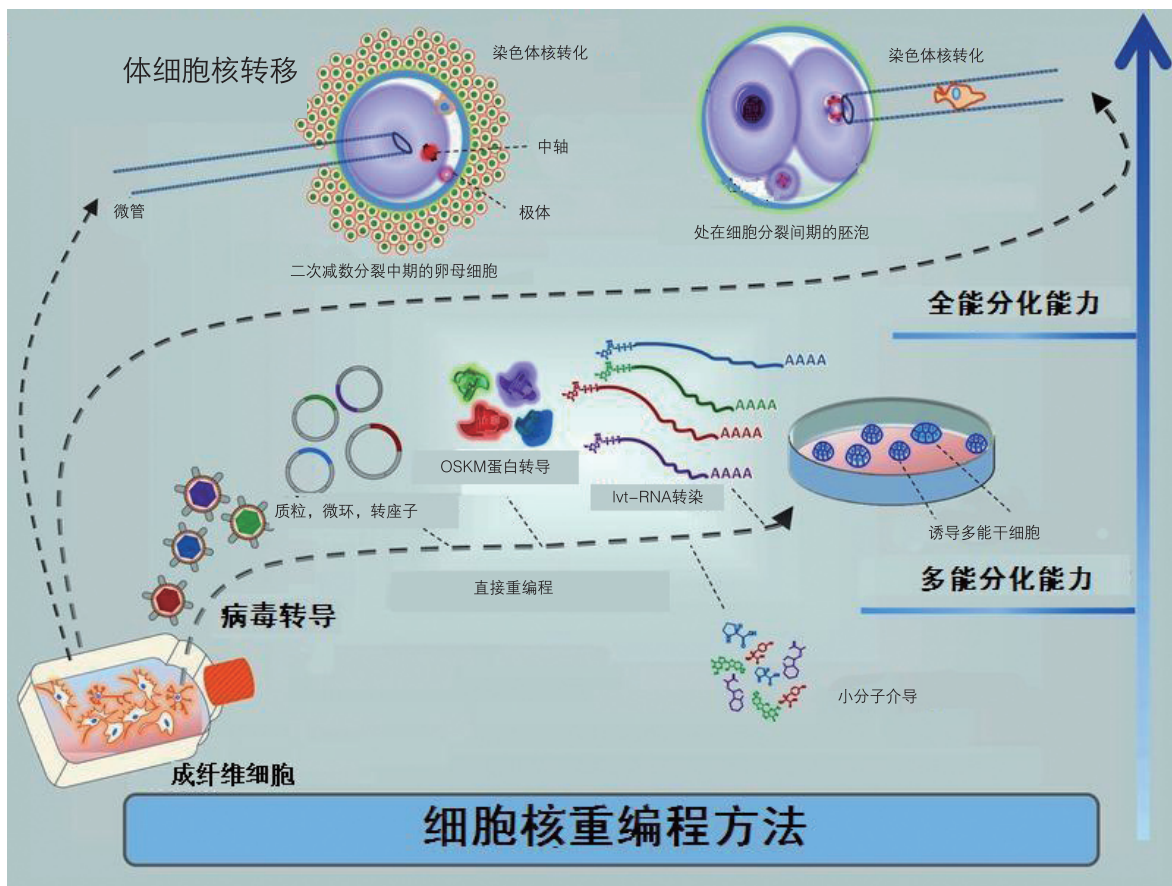
格登和山中伸弥的这两篇论文无异于两颗炸弹，在科学界引发了一场地震。尤其是诱导多能干细胞的出现，犹如一颗星辰划破夜空。山中伸弥终于彻底改写了动物发育学教科书，证明了为动物细胞重新编

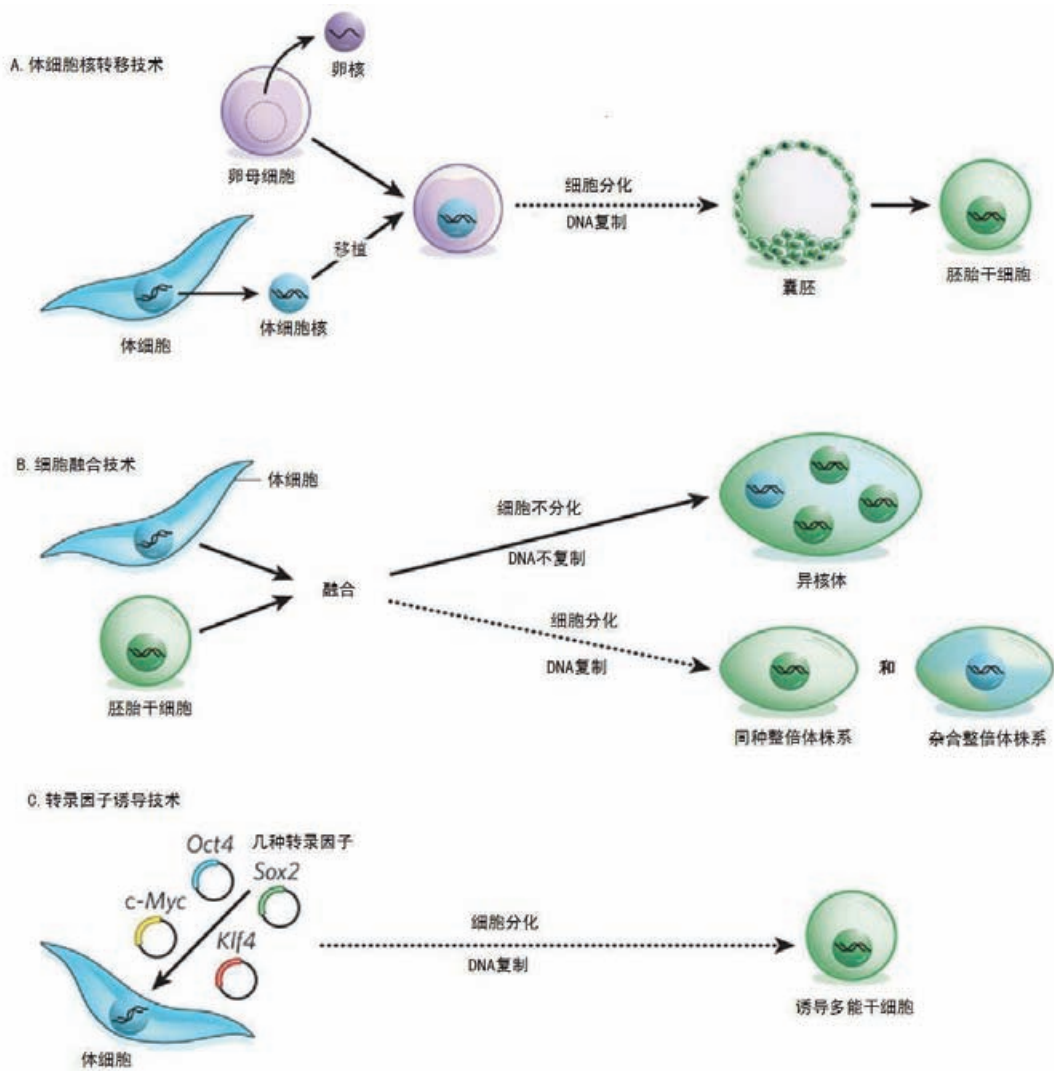
程是完全可能的：只需一个相对简单的小实验，就能把任何一种动物细胞转变成干细胞。但是这项实验最伟大的地方不在此，而是让干细胞研究者可以不必依赖胚胎，就能获得性能极为相似的替代品，这就避免了伦理问题，为干细胞研究扫清了最大的障碍。

2007年，山中伸弥又对人的成体细胞进行了研究，获得了同样的结果。他们采用的成体细胞分别来自一位36岁女性的表皮细胞和一位69岁男性的结缔组织细胞。在2007年同一年，美国威斯康星大学的詹姆

斯·汤姆森团队的研究，验证了山中伸弥等人的成体干细胞可以逆转的结果。汤姆森等人采用的是胎儿的皮肤细胞以及一个新生儿的包皮细胞，这些细胞也是成体细胞。不过，汤姆森等人采用的诱导基因并不完全等同于山中伸弥等人采用的基因。这两个团队都采用了*Oct4*和*Sox2*基因，而汤姆森等人采用的另两个基因是*Nanog*和*Lin28*，山中伸弥等人采用另两个基因是*Klf4*和*c-Myc*。

山中伸弥和汤姆森的创举，标志着我们可以将人的体细胞转变成类似胚胎干细胞的多





三种体细胞重编程的方法，可以使体细胞重新转化为具有多能性的干细胞

能性干细胞。这项研究预示着，我们将可能利用诱导多能干细胞技术进行人类疾病研究和再生医学研究。至此，人类在将体细胞转变为干细胞的道路上实现了第一次突破。

一场科学竞争，掀起诱导多能干细胞研究热潮

自2006年日本科学家山中伸弥等人建立诱导多能干细胞

技术以来，干细胞多能性研究一直是国际干细胞研究的热点和难点。6年来，全世界该领域的实验室就像在赛跑一样，一系列重大成果相继诞生。

哈佛大学乔治·戴利实验室利用诱导细胞核重编程技术，把采自10种不同遗传病患者的皮肤细胞转变为诱导多能干细胞，这些细胞将会在建立疾病模型、药物筛选等方面发挥

重要作用。哈佛大学另一家实验室则发现，利用病毒将3种在细胞发育过程中起重要作用的转录因子引入小鼠胰腺外分泌细胞，可以直接使其转变成与干细胞极为相似的细胞，并且可以分泌胰岛素，有效降低血糖。

2012年4月，来自宾夕凡尼亚大学医学院的科学家们，开发了一种创新的细胞核重编程技术——微RNA介导

(microRNA)。利用这一新技术，研究人员首次绕开4个转录因子生成了诱导多能干细胞，并将重编程效率提高了100倍。已证实，利用这一新技术生成的诱导多能干细胞，能够分化出小鼠的大部分组织，包括生殖细胞、卵子和精子。在采用微RNA替代4个关键的转录因子基因之前，研究人员每重组10万个成体细胞只能获得不到20个诱导多能干细胞。而最新研究中，研究人员利用微RNA介导新技术诱导10万个人类成体细胞，生成了大约1万个诱导多能干细胞。

最近，美国杜克大学医学院利用诱导多能干细胞成功地在小鼠实验中培育出软骨，可用于修复组织、研究软骨损伤和骨关节炎病症等。研究人员认为，诱导多能干细胞有望成为病人专用人造软骨组织的来源。相关论文在线发表于2012年10月29日的美国《国家科学院学报》上。

临床上较为迫切的需求是，能够从罹患遗传性疾病或其他疾病患者体内提取诱导多能干细胞，并将其在体外重新分化，以了解疾病发展进程，或建立以细胞为基础的研究平台，进行毒性检测或药品研发。目前，已取得包括肌萎缩侧索硬化、脊髓性肌萎缩、 α 1-抗胰蛋白酶缺乏症等疾病在内的相应人体诱导多能干细胞，并已建立长QT间期延长综合征等心血管疾病的诱导多能干细胞获

取模型。此外，体外分化诱导多能干细胞模型，还可模拟一些晚发性疾病进程，如阿尔茨海默病、脊髓小脑共济失调及亨廷顿病等。然而，对于某些疾病，尤其是造血系统疾病，目前仍

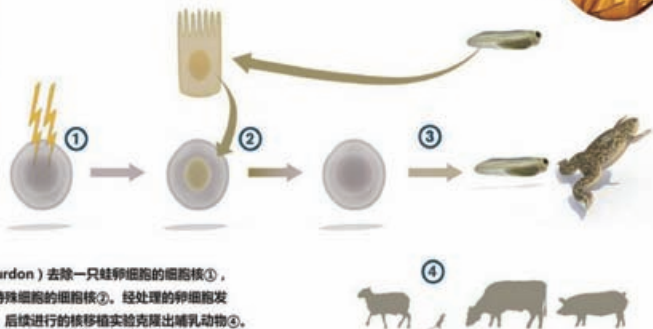
缺乏明确的体外诱导多能干细胞分化方案，从而限制了诱导多能干细胞在这些领域的研究。

在干细胞研究领域已占据权威地位的山中伸弥教授并没有驻足观赏，多年来他一直搏击

2012年诺贝尔生理学或医学奖获奖者之研究贡献图示



John B. Gurdon



约翰·格登 (John B. Gurdon) 去除一只蛙卵细胞的细胞核①，代之以取自蝌蚪的一个特殊细胞的细胞核②。经处理的卵细胞发育成一只正常的蝌蚪③。后续进行的核移植实验克隆出哺乳动物④。



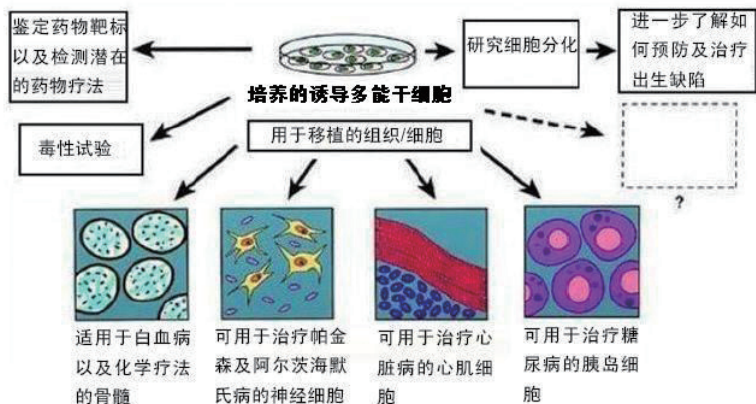
Shinya Yamanaka



山中伸弥 (Shinya Yamanaka) 研究了对干细胞功能至关重要的基因。当他把4种上述基因①移植入取自小鼠的皮肤细胞时②，这些细胞被重新编程为多能干细胞③，它们可发育为成年小鼠的所有类型的细胞。他把这些多能干细胞命名为诱导性多能干 (iPS) 细胞。



iPS细胞目前可由人类(包括病人)生成，包括神经、心脏和肝细胞在内的成熟细胞可由iPS细胞生成，这为科学家研究疾病机制提供了新方法。



诱导多能干细胞的应用前景

在诱导多能干细胞研究的前沿领域，并不断尝试开发新的技术，致力于解决诱导多能干细胞细胞癌变和效率等问题。

山中伸弥和其他研究小组已把多种组织（包括肝、胃和大脑）的细胞，转变成了诱导多能干细胞，并让诱导多能干细胞分化成了皮肤、肌肉、软骨、神经细胞以及可以同步搏动的心脏细胞。这一伟大发现让全球科学家感到无比兴奋，也给生物学领域带来了无数可能。近日，山中伸弥领导的研究小组在最新的研究中对人类转录因子库进行了高通量筛选，从中鉴别出了一种新型转录因子Glis1。用Glis1取代c-Myc，与Oct4、Sox2、Klf4一起高效诱导小鼠和人类成纤维细胞重编程为诱导多能干细胞。并证实，相比于c-Myc，Glis1诱导生成的诱导多能干细胞具有较低的致癌

性。山中伸弥还打算建立治疗用诱导多能干细胞系银行，努力引介这一开拓性生物医疗技术早日进入临床。山中伸弥的计划是，到2020年建立一个包含75种诱导多能干细胞系的标准库，以匹配日本80%的人口。

一个美好期待，细胞核重编程技术早日用于临床

细胞核重编程研究，已经实现了把体细胞变成诱导多能干细胞的梦想；接下来的细胞核重编程研究，又将走向何方呢？

科学家认为，这种利用基因技术将完全分化的细胞核重编程，不经胚胎阶段而直接逆转至多功能干细胞状态的诱导多能干细胞，在再生医学领域拥有重要的应用潜力，在建立疾病模型、药物筛选方面也将“大展拳脚”。

在医疗方面，诱导多能干细胞如今可以取自人体，包括患

有疾病的人。研究人员可以提取各种疾病患者的皮肤细胞，做“再编程”处理，在实验室内检测病人皮肤细胞与健康人皮肤细胞的差异。这样可以帮助研究人员发现病因，对疾病进行合理的诊断和治疗。

虽然器官移植技术已经非常发达，肾、心、肝、胰腺等多种器官、组织都可以移植，但是很容易产生异体排斥。如果能够利用自身细胞培育出相应的器官，则能消除排斥反应。现在，已经在实验室中利用皮肤细胞培育成诱导多能干细胞，进而培育成心脏组织细胞和大脑组织细胞。如果发展得顺利，也许未来的某一天，当人体的器官衰竭时，便可以用自己的细胞培养成一个健康的新生器官组织，并移植到体内替换衰老的器官。想象一下，用普通的上皮细胞通过某些方式让其发育成人体的某个组织，那么这些组织可以任意用在人类受损的器官修复上，且不用考虑免疫排斥，这对病人来说将是多么大的福音啊！更重要的是，不需要承担克隆人带来的伦理道德争议。

不过，现阶段诱导多能干细胞离医疗临床应用还有一定距离，更不能让人“返老还童”、“长生不老”。不断有科学家发表论文指出，诱导多能干细胞的的发展遇到了几只“拦路虎”。首先是细胞重组的效率低，其次是基因的致癌性以及介导这些

基因的病毒载体的应用。已经发现,山中伸弥和其他研究小组利用生成诱导多能干细胞的一个叫*c-Myc*的基因,本身就是一种致癌基因。部分原因可能就是,*c-Myc*不仅能促使生成干细胞,也能促成癌生长。最早的诱导多能干细胞诱导过程中使用了病毒,而病毒插入可导致诱导多能干细胞的基因组不稳定,因此带来致癌等风险。

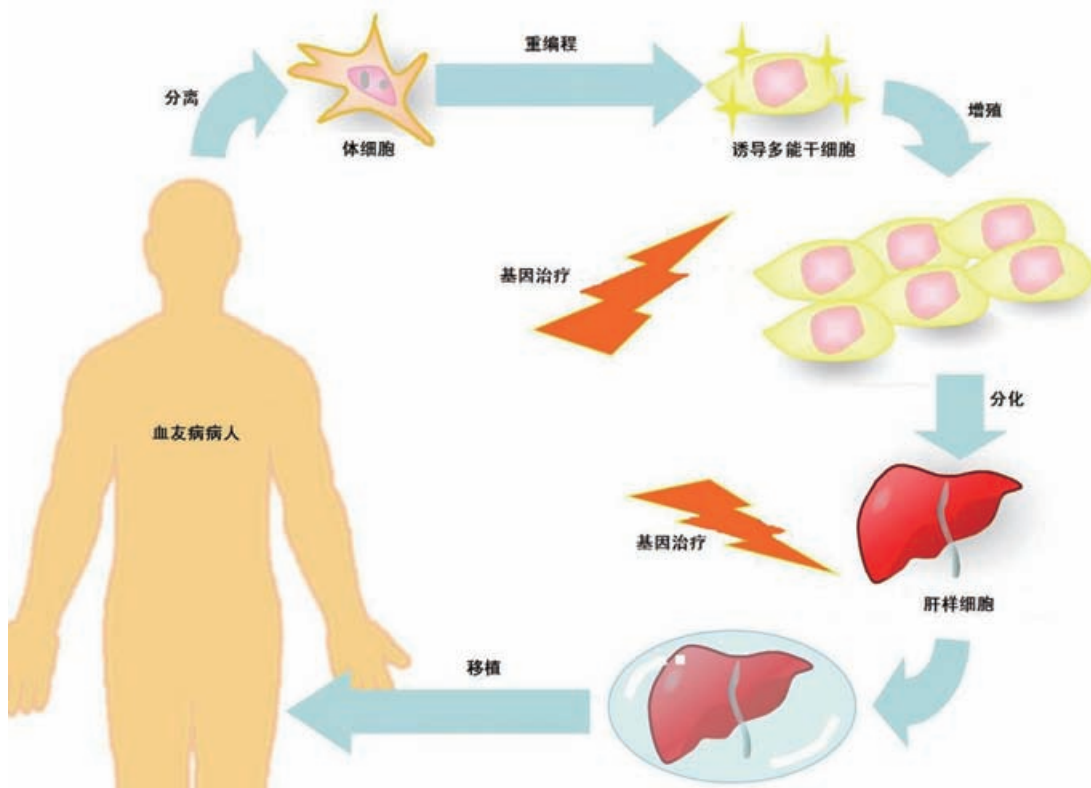
目前,人们正对诱导多能干细胞的各种缺陷可能带来的安全性问题进行评估,并试图通过改进诱导技术,获得高质量的诱导多能干细胞。同时,建立检测系统,对诱导多能干细胞

进行分子与细胞水平的检测;选择没有突变的诱导多能干细胞,将诱导多能干细胞的致瘤风险降到最低。尽管2009年中国科学家首次证明诱导多能干细胞能够发育为成体动物,具有与胚胎干细胞相同的体内发育能力,但在未来的临床应用中,我们需要在体外将诱导多能干细胞进行分化,获得我们所需的组织和器官。因此,这些体外分化获得的组织和器官能否发挥正常的作用,能否替换我们身体内的受损组织还都需要系统检测。目前,正通过动物实验以及临床实验来检测细胞再生治疗的有效性,在美国、欧洲与日本

等国家已经开展数项再生医学治疗的临床实验。

虽然诱导多能干细胞离实际应用还有很长一段路要走,但山中伸弥宣称,这类细胞对于治疗糖尿病、脊髓损伤、帕金森病甚至失明具有巨大潜力。50岁的日本科学家山中伸弥向采访他的记者说道:“我毕生的目标便是将这种干细胞技术带到病床边,带到病患前,带到诊所中……”他这番话,也说出了所有研究细胞重编程技术的科研人员的心声,让这项技术能够早日为人类的健康服务。■

(责编 桑新华)



诱导多能干细胞治疗血友病的机理