



## “蹩脚医生”变身“万能细胞”之父 ——2012年诺贝尔生理学或医学奖得主 山中伸弥的成长之路

撰文·供图 奇云（淮南联合大学） 李大可（复旦大学）

诺贝尔奖是国际学术界的最高奖项，历来以谨慎小心著称。但2012年的诺贝尔生理学或医学奖，居然颁发给了一位刚刚发表论文不到6年、尚未在应用领域获得任何实际成果的日本科学家山中伸弥，这在诺贝尔奖历史上是非常罕见的。形成鲜明对比的是，今年和山中伸弥一同获奖的英国科学家约翰·格登，从论文发表到获奖，就整整等了50年。不过这件事也从另一

个角度说明，山中伸弥所取得的成果有多么重要，诺贝尔奖委员会已经迫不及待了。

毋庸置疑，这样一位伟大的科学家，其成长之路一定有诸多亮点，让我们一起来看看吧。

### 喜爱运动：柔道，橄榄球，马拉松样样热衷

山中伸弥1962年9月4日出生于日本大阪市，任职于美国旧金山的格拉德斯通研究所和日

本奈良科技学会，目前还担任日本京都大学教授。其父亲是一位经营缝纫机零部件工厂的老板。大概受父亲的影响，山中伸弥很喜欢分解家里的各种各样的物件。有一次，他偷偷把家里祖传的闹钟拆开，但安装后却多出了3个零件。为此，母亲将他打了一顿。

山中伸弥于1975年在日本奈良市立青和小学毕业，1978年3月在日本大阪教育大学附属



天王寺中学初中毕业。读小学和初中时，山中伸弥学习比较认真，初中毕业后考入大阪重点高中——大阪教育大学附属天王寺中学高中部。在高中的3年期间，他学习并不专心，热衷练柔道。为了练柔道，他时常受伤，仅骨折就达10次之多。尽管山中伸弥后来获得柔道二段，但在中学时学习成绩一直很糟糕。

高中的三年时间很快就要过去，这个失败的学生将如何面对人生呢？在父亲的提议下，山中伸弥报考了国立神户大学医学院，并被当时热门的整形外科专业录取。大学期间，山中伸弥因富有创造性和行为古怪而出名。他喜欢穿休闲装，风趣幽默，热爱运动。在迷恋橄榄球的同时，还热衷马拉松长跑。

### 伉俪情深：妻子是事业成功的精神支柱

山中伸弥与妻子和两个女儿现居住在大阪市，妻子知佳女士曾经是一名皮肤科医生，两个女儿现在是医学院的学生。山中伸弥成功的背后，离不开悉心照料他身心健康的妻子知佳。

山中伸弥和知佳两人在大阪教育大学附属中学是同级同学，相识于初中时代，到高中毕业为止都在同一所学校。高三那年去北海道修学旅行时，两人单独骑车出游，没有赶上集合时间，结果促成一段美好姻缘。

记者会上，山中伸弥强调了

家庭对他的支持：“研究的过程中，失败是常有的事。有时沮丧到想哭。这种状态已经有超过20年。在这20年中，我一回家就有家人笑着迎接我，我感到非常高兴。我去美国的时候，家里人也陪我去了。她们明明什么都不懂，英语也不会说，但是还是陪着我去了美国。我的太太虽然自己也有工作，但是为了我，辞了工作陪着我。家人的笑脸是我精神上的支柱，如果没有她们的支持，我无法将研究坚持下去。”

### 技艺不精：被同行讥讽为“蹩脚医生”

1987年3月，山中伸弥在神户大学医学院毕业。同年4月，山中伸弥进入大阪市立大学医学院外科医院整形外科。1987年7月到1989年6月，山中伸弥在这家医院担任临床实习医师。然而，山中伸弥的从医之路却是曲折不平。

2012年10月9日上午，也就是获奖的第二天，山中伸弥偕妻子知佳女士出席了记者招待会



山中伸弥有一个著名的故事：成为实习医生后，等待他的第一台手术是良性肿瘤切除手术。而他在手术台上“苦战”了2个小时还没有完成，后来向手术台上的患者道歉。躺在手术台上的是山中初中时代以来的好友平田修一。当时，平田做了局部麻醉，脸上盖着纱布，不过声音还是听得到的。听到山中道歉，平田大惊：“对不起？什么意思？拜托你好好动手术！”看到这个情况，其他实习医生以及指导医生报以冷嘲热讽，给他取了个“蹩脚医生”的绰号。

### 改行科研：意外与胚胎干细胞结缘

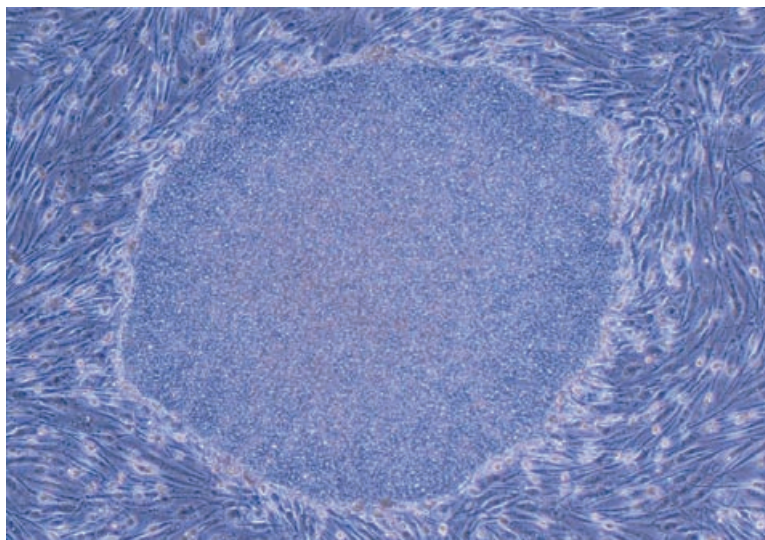
由于整形外科医师干得不爽，山中伸弥决定转向基础医学研究。1989年4月，山中伸弥进入大阪市立大学医学院攻读药理学博士。1993年3月，31岁的山中伸弥在日本大阪市立大学医学院获得医学博士学位。



之后，他放弃了做整容医生的机会，申请到美国读博士后。遗憾的是，尽管山中伸弥向美国50多所学校递交了申请，但等了很久也没有收到回信。后来，美国加州大学旧金山分校格拉德斯通研究所的汤姆·英纳拉里蒂教授回信，答应给山中伸弥一个博士后的位置。1993年4月，山中伸弥到格拉德斯通研究所，从事低密度脂蛋白的研究。

低密度脂蛋白是一种能够引起心脏病的“坏胆固醇”。之前的研究发现，坏胆固醇的主要成分是一种叫做apoB的蛋白。这种蛋白在人体内有长、短两种不同结构。长结构一般存在于肝脏中，并且参与了坏胆固醇的累积；而短结构一般存在于肠中，并且是相对无毒性的。山中伸弥的课题，就是寻找一种新的降低坏胆固醇的方法。在这之前，他得弄明白apoB蛋白的这两种结构是怎么形成的，只要找到了形成的机制，就可以控制长结构的形成进而阻止坏胆固醇的累积。

在最初的实验中，山中伸弥鉴定了一种叫做APOBEC-1的酶。在肠中，这种酶可以缩短apoB蛋白的结构，使其毒性变小；而在肝脏中，这种酶是失活的。山中伸弥与其他实验室成员开始寻找在肝脏中激活APOBEC-1的方法，只要APOBEC-1激活就可以减少长结构的apoB进而减少坏胆固醇



京都大学iPS细胞研究和应用中心公布的成年人类皮肤成纤维细胞的诱导多能干细胞照片

的形成。经过一连串实验之后，他们终于发现小鼠肝脏中坏胆固醇降低了。不过，实验却有另外一个意想不到的结果——小鼠得了肝癌。这对整个实验小组是个打击，本以为减低了坏胆固醇可以降低心脏病的发生，却产生了另外一个更加严重的副作用。当实验室其他人都对实验结果很沮丧时，山中伸弥却产生了好奇心：是不是因为开启了APOBEC-1在肝脏的表达，才导致小鼠得了肝癌呢？

进一步的实验完善了他的想法：APOBEC-1的开启，改变了NAT1蛋白，这个蛋白在被修饰后就会导致癌症的产生。山中伸弥觉得他自己找到了产生癌症的关键，那就是失去功能的NAT1。下一步，山中伸弥要研究NAT1缺失的小鼠，想看看他们是否也会得癌症。为了这个目

的，他需要做基因敲除的小鼠，这其中就涉及胚胎干细胞。胚胎干细胞是“万能细胞”，他们可以分化成皮肤细胞、肌肉细胞和血细胞等各种各样的细胞。

不过NAT1敲除的小鼠一直都没做出来，这让他感到很沮丧。不知什么原因，他发现NAT1缺失之后，胚胎干细胞就不能继续发育成熟，它们只是不断地复制但不会分化为其他细胞。不过这也正好表明，NAT1在胚胎干细胞分化过程中起着很重要的作用。这是他意外的发现，也就是从这里开始，山中伸弥开始了胚胎干细胞的研究之路。

### 重大突破：制造出诱导多能干细胞

1999年5月，山中伸弥向奈良科学与技术学院申请副教授职



位。在37岁这年，他前往奈良就职。当时的一名教授回忆，在众多应聘者中，山中伸弥是唯一一个愿接挑战的人。因为，其他应聘者都选择了能在数年内见成果的研究项目，而山中伸弥则选择了干细胞研究，这为他在12年后获得诺贝尔奖奠定了基础。

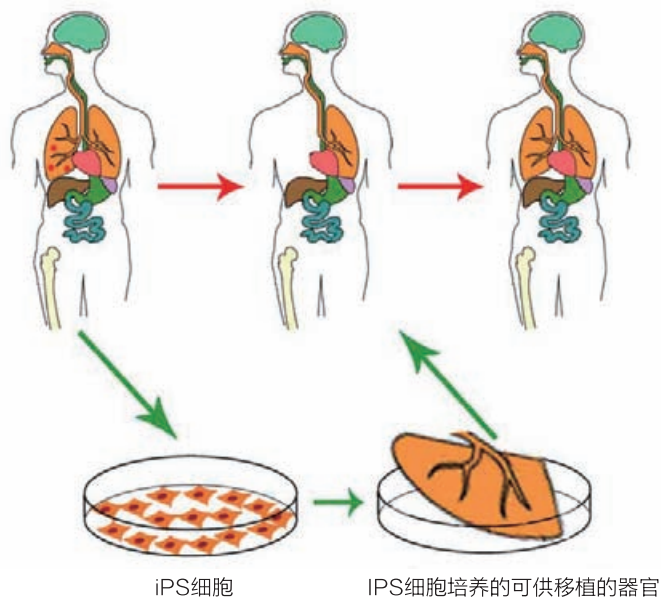
2006年8月，山中伸弥及其同事在美国著名的《细胞》杂志上发表论文，报告了他们借助基因实现对细胞的“重编程”的重大发现。文章声称，只需要“诱导”4个基因，就可以把小鼠成熟细胞转变为一种“万能细胞”。这种细胞与其他多功能干细胞的特点一样，都能发育成各种其他器官的细胞，因此具有重大的医学研究价值。山中伸弥把这些细胞命名为“诱导多能干细胞”，英文全名是 Induced pluripotent stem cells，英文缩写为“iPS”。山中伸弥曾透露，iPS细胞在2006年命名的时候，第一个字母小写就是因为苹果公司的音乐播放器 iPod 十分流行，所以希望诱导多能干细胞也能被人们熟知。

诱导多能干细胞技术是干细胞研究领域的一项重大突破。首先它具有重要的生物学意义，即对细胞实现人工主动调控和干预，实现细胞水平的生命再造，对研究发育本身提供了新的思路；其次它回避了由来已久的伦理争议，解决了干细胞移植医学上的免疫排斥问题，使

干细胞向临床应用又迈进了一大步。随着诱导多能干细胞技术的不断发展以及技术水平的不断更新，它在生命科学基础研究和医学领域的优势已日趋明显。通过这一技术，可在同一个体上将较容易获得的成体细胞（如皮肤细胞）类型，转变成另一种较难获得的细胞类型（如多功能干细胞、脑细胞）。来自患者自身的成体细胞经诱导多功能干细胞技术后，转变为多功能干细胞。多功能干细胞经刺激后可发展为特化的细胞，使替代细胞和组织来源的更新成为可能，并且不存在免疫排斥问题。从而可用于治疗无数的疾病，包括帕金森病、痴呆症、脊髓损伤、中风、

烧伤、心脏病、糖尿病、骨关节炎和类风湿性关节炎等疾病。目前，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、胃肠道、软骨、能分泌神经递质多巴胺的神经细胞以及可以同步搏动的心脏细胞。

尽管在利益的驱动下，诱导多能干细胞技术发展非常迅速，各大实验室也在争相完善这门技术。山中伸弥在坚持认为诱导多能干细胞距离实际应用还有相当距离的同时，也高调宣称诱导多能干细胞对于治疗糖尿病、脊髓损伤、帕金森病甚至失明等疾病具有巨大潜力。



科学家对诱导多能干细胞报以厚望，希望利用它为患者和伤者提供替代组织

## 资金不足：靠跑马拉松募集科研经费

虽然从4年前，山中伸弥教授就获得美国医学界的推荐成为诺贝尔奖的候选人，但是在日本一直受到科研资金不足的困扰。受经济不景气等因素影响，政府和民间联合提供的科研经费已连续三年呈下降趋势。日本是世界上独特且少有的“民间经费科研大国”，全部研究经费约70%来自企业。正因如此，研究经费受经济的影响更为明显。据悉，山中伸弥在京都大学的研究所上一年度的预算为43亿日元（约合人民币3.44亿元）。其中以“正式员工”的形式雇佣教职员的基础运营资金为3亿5千万日元，仅占总额的8%。而在该研究所约200名成员中“正式员工”极少，约有180人都是短期雇佣形式的“非正式员工”。由于政府拨款不足、时有时无，九成员工都只是非正式雇用。他每年也要参加很多次马拉松比赛，以此募集资金给员工发工资。

2011年3月，山中伸弥以参加“京都马拉松”，并跑完全程为条件为科学研究募捐。当初预计募捐400万日元，最终山中伸弥成功完赛，且以4小时3分19秒刷新了个人最好成绩（作为非专业运动员跑出这个成绩相当不易），募捐总额也达到了1000万日元。而在马拉松结束后，还有100多万的追加捐助。值得一提的是，山中教授参加

山中伸弥在2006年8月出版的《细胞》杂志上发表的文章，堪称干细胞研究领域的一大突破

### Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors

Kazutoshi Takahashi<sup>1</sup> and Shinya Yamanaka<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Stem Cell Biology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University, Kyoto 606-8507, Japan

<sup>2</sup>CREST, Japan Science and Technology Agency, Kawaguchi 302-0012, Japan

\*Contact: yamanaka@stem.cyt.kyoto-u.ac.jp

DOI: 10.1016/j.cell.2006.07.024

#### SUMMARY

Differentiated cells can be reprogrammed to an embryonic-like state by transfer of nuclear contents into oocytes or by fusion with embryonic stem (ES) cells. Little is known about factors that induce this reprogramming. Here, we demonstrate induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic or adult fibroblasts by introducing four factors, Oct3/4, Sox2, c-Myc, and Klf4, under ES cell culture conditions. Unexpectedly, Nanog was dispensable. These cells, which we designated iPS (induced pluripotent stem) cells, exhibit the morphology and growth properties of ES cells and express ES cell marker genes. Subcutaneous transplantation of iPS cells into nude mice resulted in tumors containing a variety of tissues from all three germ layers. Following injection into blastocysts, iPS cells contributed to mouse embryonic development. These data demonstrate that pluripotent stem cells can be directly generated from fibroblast cultures by the addition of only a few defined factors.

#### INTRODUCTION

Embryonic stem (ES) cells, which are derived from the inner cell mass of mammalian blastocysts, have the ability to grow indefinitely while maintaining pluripotency and the ability to differentiate into cells of all three germ layers (Evans and Kaufman, 1981; Martin, 1981). Human ES cells might be used to treat a host of diseases, such as Parkinson's disease, spinal cord injury, and diabetes (Thomson et al., 1998). However, there are ethical difficulties regarding the use of human embryos, as well as the problem of tissue rejection following transplantation in patients. One way to circumvent these issues is the generation of pluripotent cells directly from the patient's own cells.

Somatic cells can be reprogrammed by transferring their nuclear contents into oocytes (Wilmut et al., 1997

or by fusion with ES cells (Cowan et al., 2006; Tada et al., 2001), indicating that unfertilized eggs and ES cells contain factors that can confer totipotency or pluripotency to somatic cells. We hypothesized that the factors that play important roles in the maintenance of ES cell identity also play pivotal roles in the induction of pluripotency in somatic cells.

Several transcription factors, including Oct3/4 (Nichols et al., 1996; Niva et al., 2003; Souz (Avilion et al., 2003), and Nanog (Chambers et al., 2003; Mizui et al., 2003), function in the maintenance of pluripotency in both early embryonic and ES cells. Several genes that are frequently upregulated in tumors, such as Sox2 (Matsuda et al., 1999; Niva et al., 1998), E-Ras (Takahashi et al., 2002), c-myc (Cartwright et al., 2005), Klf4 (Li et al., 2006), and β-catenin (Kielman et al., 2002; Sato et al., 2005), have been shown to contribute to the long-term maintenance of the ES cell phenotype and the rapid proliferation of ES cells in culture. In addition, we have identified several other genes that are specifically expressed in ES cells (Miyama et al., 2005; Mizui et al., 2003).

In this study, we examined whether these factors could induce pluripotency in somatic cells. By combining four selected factors, we were able to generate pluripotent cells, which we call induced pluripotent stem (iPS) cells, directly from mouse embryonic or adult fibroblast cultures.

#### RESULTS

We selected 24 genes as candidates for factors that induce pluripotency in somatic cells, based on our hypothesis that such factors also play pivotal roles in the maintenance of ES cell identity (see Table S1 in the Supplemental Data available with this article online). For β-catenin, c-Myc, and Klf4, we used active forms, S33Y-β-catenin (Sadoi et al., 2002), TSA-c-Myc (Chang et al., 2006), and Sox2-C (Bromberg et al., 1999), respectively. Because of the reported negative effect of Gln2 on pluripotency (Burdon et al., 1999; Cheng et al., 1998), we included its dominant-negative mutant Gln2ΔSH2 (Miyamoto et al., 2004) as 1 of the 24 candidates.

Cell 126, 603–616, August 25, 2006 ©2006 Elsevier Inc. 603

马拉松的当天下午就要坐飞机去美国与奥巴马会面，商讨胚胎干细胞相关的协助工作。

到目前为止，山中伸弥所获的知名奖项就有20多个，所得奖金也都存着。本次诺贝尔生理学或医学奖的奖金为800万瑞典克朗（约合人民币750万元），由两位获奖者均分。加上之前的各种奖项，山中教授获得的奖金总额已达到数亿日元。山中伸弥10月11日接受《朝日新闻》报记者采访时表示：“想把奖金作为研究储备金存起来，以弥补将来可能发生的科研经费不足。”

## 获奖感言：感谢学生，感谢同行，感谢家人，感谢国家

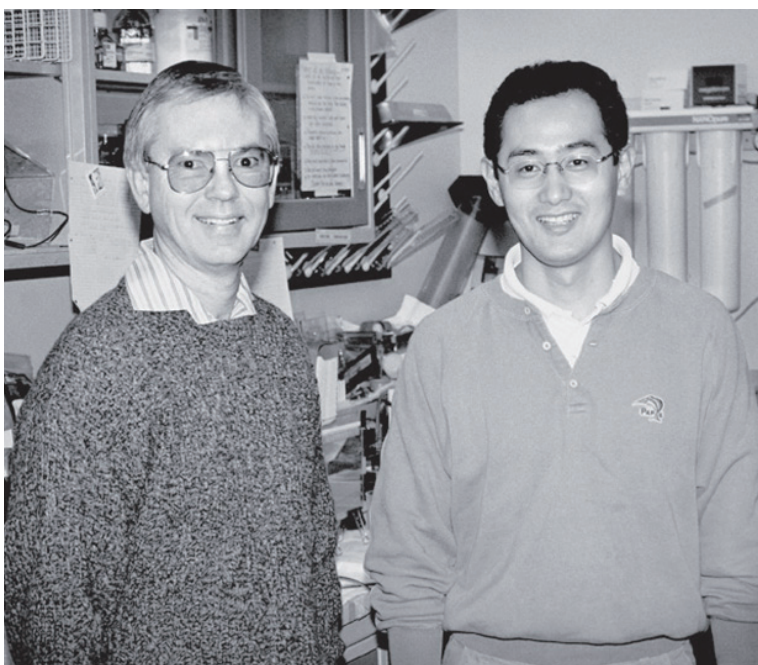
山中伸弥在获奖感言中谈到：“荣获诺贝尔奖，想说的只有‘感谢’一词。第一感谢我的学生，自己受惠有这么好的师生关系；第二感谢我的同行，同行对研究成果的正确理解和认同，是我的奋斗动力；第三感谢我的家人，他们的关心和爱护是我的精神支柱。最主要的是感谢我的国家。如果没有国家的支持和栽培，就无法获得这个美好的奖项。”

应该说，山中伸弥“感谢国家”不是违心说的奉承话。

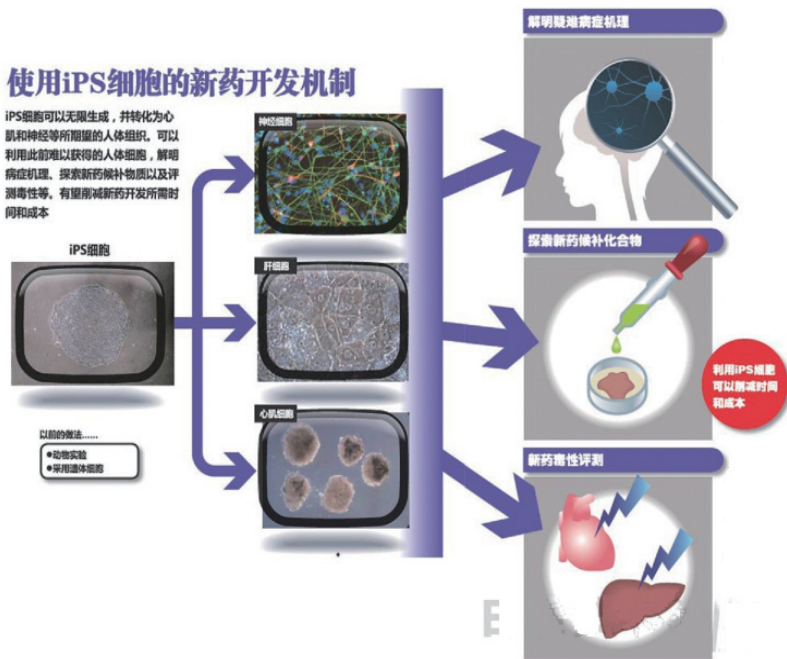
自20世纪90年代起,日本政府始终坚持增加科学技术方面的预算,使得占国家研究开发中枢的“科学技术振兴费用”在20年里大约提升到原来的3倍。山中教授是这项政策的受益者之一,自2003年起的5年间,他的科研项目每年都得到了政府5千万日元(现约合人民币400万元)的研究经费补助。在山中伸弥成功地制造出了诱导多能干细胞之后,日本政府又使他能够从奈良先端科学技术大学转到研究条件更好、而且诺贝尔奖得主辈出的京都大学,还在2007年决定在5年内给予70亿日元的财政支援。

在摘取2012年诺贝尔生理学或医学奖桂冠之后,日本文部省又决定给予山中伸弥团队300亿日元(大约3.8亿美元)的财政援助。日本政府在资助科研方面素以小气而著称,这次的手笔是不多见的。不仅如此,文部省还主动向京都大学以及山中伸弥的研究团队提供法律顾问,指导并帮助他们将与诱导多能干细胞开发有关的技术,在美国、德国这些制药大国全部注册了专利。正由于有了日本政府的这些支援,才使得日本在诱导多能干细胞开发方面进行得异常迅速。■

(责编 桑新华)



年轻时的山中伸弥(右)



使用iPS细胞的新药开发机制