

拷问诱导多能性干细胞的应用前景

任 贺¹ 张 磊^{2*}

(1 天津医科大学附属肿瘤医院, 天津 300060; 2 细胞产品国家工程研究中心)

关键词: 诱导多能性干细胞; 应用技术; 安全性; 质量可控性

中图分类号: R329 文献标志码: A 文章编号: 1002-266X(2011)32-0001-02

诱导多能性干细胞(iPS 细胞)是指通过特定基因的表达将完全分化的成年细胞重新编程为类似胚胎状态的全能性或多能性的细胞。2006 年,日本的 Yamanaka 研究小组首次报道利用逆转录病毒将 4 种转录因子组合导入已分化的小鼠纤维母细胞中,获得 iPS 细胞^[1]。由于 iPS 细胞绕开了胚胎干细胞(ES)研究一直面临的伦理和法律等诸多障碍而受到科学家们的青睐,引发了研究热潮。2007 年 Science、Nature 和 Times 等杂志均以 iPS 细胞逆转“生命时钟”为名将其评选为年度十大科学突破。

iPS 技术被认为是干细胞研究领域的一个里程碑式的突破,同时被认为具有巨大的潜在应用价值^[2,3]。理由如下:① iPS 技术绕开了 ES 细胞研究面临的伦理和法律等障碍,被视为具有广阔的医疗应用前景;②利用 iPS 技术能够获得患者或疾病特异的多能性干细胞,可以避免移植过程中的免疫排斥问题;③利用 iPS 细胞向相应疾病中的功能细胞定向诱导的技术,可以建立病理模型用于研究疾病的发病机制,对现有药物进行个体化的评估,并发现新的治疗靶点以及筛选新的药物。以至于世界第一只体细胞克隆动物 Dolly 羊的培育者 Ian Wilmut 也宣布放弃人类 ES 细胞克隆研究,转向 iPS 细胞研究。

科学与技术的目标实现路径和价值取向有很大不同,当 iPS 细胞在科学界普遍受到追捧时,我们需要冷静思考其应用价值与前景。一般来说,一种新的医药手段在被应用于实践之前除了要解决有效性、法规、伦理问题外,还必须具备质量可控性、安全性和通过必要的技术可行性与经济可行性评估。随着 iPS 细胞研究的深入,其致瘤性和表观遗传缺陷带来的一些问题渐渐浮出水面。本文从以下几个方面对 iPS 细胞的应用前景提出质疑。

1 iPS 细胞真的可以替代 ES 细胞建立病理研究模型?

传统上临床医学和药学采用动物模型来研究多种疾病的病理改变、疾病机制、药物筛选、药物安全性和有效性评价

等,但由于物种之间的生物学差异使得很多疾病状态无法很好地用动物模型来模拟。利用 ES 细胞的定向诱导可模拟某些人类疾病更直接的病理表型,限于 ES 细胞的来源问题,iPS 技术提供了直接从患者获得所需的研究材料似乎较理想的手段,还可以提供个体化治疗方案选择。

虽然 iPS 建立体外病理模型有一定的方便性,但 iPS 细胞被证明带有自身的表观遗传印记和端粒异常,与 ES 细胞相比 iPS 细胞中数百个基因存在异常表达^[4-6]。因此,iPS 细胞是否能够替代 ES 细胞复制不同疾病种类和病理特征?同时,不同来源和质量参差不齐的 iPS 细胞是否已经带有不期望的疾病表型? iPS 技术的诱导去分化和定向诱导方案的外源性影响是否会改变细胞表型或影响疾病特征?

2 iPS 细胞临床应用是否能够通过系统的安全性评价?

“畸胎瘤实验”是检验细胞重编程的金标准,自从 iPS 细胞诞生就有人指出是“人造肿瘤”。然而,困扰 iPS 细胞安全性的问题还远不止这些,利用逆转录病毒整合基因操控具有潜在危险;iPS 技术将已进入死亡程序的成体细胞永生,是一种畸变的“非自然”细胞;处于“年轻”状态的 iPS 细胞其实并没有完全脱胎换骨,被证明在定向诱导分化过程中会发生“出轨”,分化方向赫然指向原初组织,保留起始细胞“记忆”^[7];自体细胞不发生免疫排斥曾是 iPS 个体化治疗的杀手锏,但近期研究表明自体 iPS 分化细胞也会引起免疫排斥^[8];另外,iPS 细胞个体化治疗方案的细胞供体和受体是同一患者,如果患者某些基因出现了问题,自体 iPS 细胞也可能携带同样疾病基因,拿带有病态基因的细胞能否给患者治病?

iPS 细胞安全性问题往往不是在有限时期内能够判断的,并不健康的 Dolly 羊和 iPS 小鼠似乎在诉说细胞重编程技术“将发育时钟拨回”不一定是真正意义上的“返老还童”,或许是从“小大人”直奔“老年”?

3 iPS 细胞应用技术或产品开发是否具有可操作性?

供临床用的细胞要求尽可能避免过多的体外操作,iPS 要经历“分离、纯化、扩增、诱导去分化、筛选、建库、扩增、诱导定向分化、筛选、扩增、细胞制备、传输、复苏、配制”等体外过程复杂而又漫长;细胞代数过高会对细胞的遗传稳定

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)(2006AA02A110);天津市科技创新专项资金(08FDZDSH02900)。

* 通讯作者,张磊,细胞产品国家工程研究中心副主任。主要研究方向:干细胞研究及技术转化。E-mail: biotech@china.com

性、表观遗传特性和生物学特性都构成了极大的不确定,细胞衰退或恶变的机会大大增加;去分化、诱导分化及筛选操作效率低下,周期漫长,过程难以控制;如果误将未分化、不完全分化、不正常分化细胞植入患者体内就意味着威胁;iPS的体外操作过程中需要使用病毒、生长因子、抗体、酶、动物血清、抗生素等多种外源因子,给过程及制品质量控制带来空前的难度;iPS仅仅解决了ES采集时的伦理问题,而iPS细胞本身的伦理问题并不止这些;iPS细胞应用技术或产品开发是否具有可操作性呢?

4 iPS 技术是否可以挣脱被替代的命运?

技术日渐成熟的间充质干细胞(MSC)被证明具有向三胚层组织分化的潜能,有望实现当初对iPS细胞的诸多愿望,在美国MSC产品在糖尿病、移植物抗宿主病、克隆氏病等疾病的治疗已进入I、II、III期临床研究;ES细胞的临床研究也已在多个国家被批准进入临床观察;而近期兴起的细胞直接转分化技术的实现更使iPS技术的应用陷入多此一举的尴尬境地;然而,除此之外,干细胞治疗的其他明星们尚未悉数登场。

其实,我国学者赵春华等^[9]早在2004年就从多种组织中分离和培育出了亚全能干细胞,并证实它们都具有相同的细胞表型特征以及能够向三个胚层多系统分化为各种成熟组织细胞;2006年,美国的Ratajczak研究小组^[10]也证实成体组织中存在一种微小类胚胎干细胞(VSEL cells),VSEL干细胞可以被看作是原始胚芽细胞中的一个休眠群体,这类干细胞具有多能干细胞的多种细胞标志因子,可分化为骨骼、肌肉、心脏、神经细胞、肝脏、肠上皮、皮肤上皮细胞和胰腺等组织;2010年日本科学家^[11]在人的皮肤和骨髓中发现了能够发育成人体的各种组织和脏器的多系分化持续应激细胞,且不管这些干细胞名头如何变,既然具有三胚层分化能力的“万能干细胞”在成体组织内广泛存在,其安全性方面无疑优于“人工诱导”的细胞,那么,还有没有必要继续开发以临床应用为目的的人工重编程iPS细胞?

此外,一些证据表明干细胞移植主要是通过“旁观者效应”发挥作用,对于多种疾病来讲,并不一定或者根本不要将干细胞在体外诱导分化出特化细胞进行移植,体内微环境的改变可激活内源性干细胞进入细胞周期和定向归巢。人工胞外基质(aECM)或人工干细胞壁龛(Artificial niches)等有望实现未来干细胞治疗不植入外源干细胞(cell-free)。

5 iPS 应用技术过度投资是不是一种资源浪费?

开展iPS研究的初衷是“寻找合乎伦理道德的胚胎干细

胞替代品”。iPS细胞研究的贡献在于改变了细胞发育的时空顺序,可以解释一些重要的科学规律,对丰富人类对生命的认识和理解癌症发生的机理具有科学贡献,但事实上,iPS技术既不能完全替代ES细胞作为病理研究模型,更不能为临床应用提供足够安全的、质量可控的和技术经济可行的干细胞解决方案;科学探索无禁区,在社会经济条件能够承受情况下做适当的投入是无可非议的,但在iPS尚不具备转化成临床应用技术或产品的条件下,目前阶段在iPS产业转化领域过多的投入或许是一种资源浪费。

参考文献:

- [1] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors [J]. *Cell*, 2006, 126(4): 663-676.
- [2] Nishikawa S, Goldstein RA, Nierras CR. The promise of human induced pluripotent stem cells for research and therapy [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(9): 725-729.
- [3] Gekas C, Graf T. Induced pluripotent stem cell-derived human platelets: one step closer to the clinic [J]. *J Exp Med*, 2010, 207(13): 2781-2784.
- [4] Gore A, Li Z, Fung HL, et al. Somatic coding mutations in human induced pluripotent stem cells [J]. *Nature*, 2011, 471(7336): 63-67.
- [5] Hussein SM, Batada NN, Vuoristo S, et al. Copy number variation and selection during reprogramming to pluripotency [J]. *Nature*, 2011, 471(7336): 58-62.
- [6] Lister R, Pelizzola M, Kida YS, et al. Hotspots of aberrant epigenomic reprogramming in human induced pluripotent stem cells [J]. *Nature*, 2011, 471(7336): 68-73.
- [7] Kim K, Doi A, Wen B, et al. Epigenetic memory in induced pluripotent stem cells [J]. *Nature*, 2010, 467(7313): 285-290.
- [8] Zhao T, Zhang ZN, Rong Z, et al. Immunogenicity of induced pluripotent stem cells [J]. *Nature*, 2011, 474(7350): 212-215.
- [9] 赵春华, 房伯俊, 韩钦, 等. 亚全能干细胞群生物学特性及移植应用研究[J]. *微循环技术杂志: 临床与实验*, 2004, 8(5): 345.
- [10] Kucia M, Reza R, Campbell FR, et al. A population of very small embryonic-like (VSEL) CXCR4⁺ SSEA-1⁺ OCT-4⁺ stem cells identified in adult bone marrow [J]. *Leukemia*, 2006, 20(5): 857-869.
- [11] Kuroda Y, Kitada M, Wakao S, et al. Unique multipotent cells in adult human mesenchymal cell populations [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(19): 8639-8643.

(收稿日期: 2011-05-21)