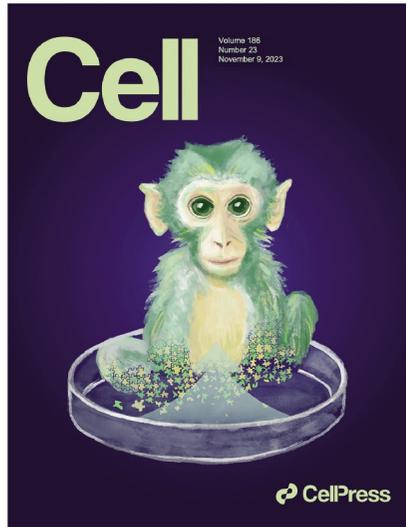


# 世界首只胚胎干细胞“嵌合猴”诞生

● 本报记者 冯丽妃 张双虎

经过5年科研攻关,中国科学家培育出世界上首只高比例胚胎干细胞“嵌合猴”。

这只“嵌合猴”由食蟹猴(长尾猕猴)的两个基因不同的胚胎的细胞培育而来。近日,这项由中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心(神经科学研究所)研究员刘真、孙强和中国科学院广州生物医药与健康研究院研究员 Miguel A. Esteban 研究组合作完成的研究,以封面论文形式在线发表于《细胞》。



当期《细胞》封面。神经科学研究所供图

## 闯过“两道关”

胚胎干细胞是生命发育早期的“种子”细胞,具有无限自我复制更新的能力和极强的诱导分化发育潜能。这使得它们在细胞治疗、器官再生、类器官模型构建等方面发挥着重要作用。

如何证明胚胎干细胞具有多向分化潜能呢?一个“金标准”是将取自一个囊胚的干细胞注射到发育中的另一个囊胚内,形成拥有不同基因型的嵌合体。

“理论上,注射的胚胎干细胞具有很强的体内发育潜能,可以为嵌合体不同器官的发育作出很大的贡献。”论文通讯作者刘真在接受记者采访时说。

制造嵌合体,要先把干细胞从囊胚内取出放在体外培养,再把体外扩增培养的胚胎干细胞重新放回囊胚生长发育。“一出一进”之间有两大难关。

第一大难关是如何获得具有高效发育潜能的胚胎干细胞。为突破难关,刘真与合作者选择发育到第7天的食

蟹猴囊胚分离干细胞,这个时期的囊胚已经分裂出约100个细胞,每个细胞都具有非常强的分化发育潜能,但尚未开始出现方向性的分化。研究人员将分离的干细胞放在体外培养,让其保留分裂复制特征,但不再向下分化。

他们最后建立了食蟹猴的9个干细胞系,并将其放置在6种不同的培养体系下对其“健康”进行把关。通过单细胞转录组、线粒体代谢、全基因组测序等多方面系统评估,研究人员确定了具有更高多能性、更好传代稳定性和基因组稳定性的多个干细胞系。

第二大难关是胚胎干细胞注射到受体胚胎后快速凋亡。为此,研究团队给选出的胚胎干细胞标记绿色荧光蛋白,以追踪干细胞存活情况。经过反复实验、试错,他们终于找到了既不影响胚胎正常发育,又能保证干细胞存活的最优嵌合胚胎培养条件。

2021年初,闯过上述难关的刘真与合作者把选好的干细胞注射到早期的猴子桑葚期胚胎(发育4~5天的胚胎)中,并将74个具有明显嵌合的囊胚移植到40只受体雌猴体内,最后获得了4只流产的胚胎和6只出生的猴子。

这些流产的胚胎或活产的猴子是否都是嵌合体呢?研究人员检测发现,只有1只流产的胚胎和1只活产的猴子产生了明显的嵌合。

“所以,做出嵌合体的成功率约40%,做出活产嵌合体的成功率约20%。”论文共同通讯作者孙强对记者说。

## 不可能成功的成功

由于非人灵长类嵌合体培养存在巨大挑战,2012年,美国科学家在发表于《细胞》的一项研究中曾认为,猴胚胎干细胞不能产生嵌合体,挑战了灵长类胚胎干细胞多能性理论基础。

不过,科学家并未放弃尝试。昆明理工大学的科学家随后证明猴多能干细胞,包括始发态的多能干细胞,能够产生嵌合体,但嵌合率仅为0.1%~4.5%。“这表明当时所获得的多能干细胞与囊胚期的内细胞团或外胚层,仍存在较大差异。”昆明理工大学省部共建非人灵长类生物医学国家重点实验室教授李天晴说。

此次,研究人员使用绿色荧光蛋白标签、基因测序以及其他测试方法,确认了活产猴大脑、心脏、肾脏、肝脏和胃肠道中都含有干细胞来源组织的组织类型。在不同组织类型中的贡献从

21%到92%不等,在测试的26种不同组织类型中平均为67%。相比之下,那只流产嵌合体猴的平均贡献比例约为20%。

“这些数据有力地证明了猴子多能干细胞具有在体内分化成各种组织的能力。”论文共同通讯作者 Miguel A. Esteban 对记者说,“这项研究加深了对灵长类动物多能干细胞发育潜力的理解。”

研究人员将取自雌性猴子胚囊的干细胞放入雄性胚胎后,发现尽管最终形成的存活嵌合体是雄性,但其血液细胞、皮肤细胞中检测到部分雌性基因。

“这很有趣。”孙强说,“它证明了干细胞的分化潜力,也再次证明了胚胎干细胞确实贡献到了嵌合体猴。”

此外,研究团队在两只嵌合体的胎盘组织中都发现了高比例的胚胎干细胞贡献。考虑到此前小鼠胚胎干细胞几乎不会贡献到胎盘组织,说明灵长类胚胎干细胞可能具有独特的发育全能性。他们在两只嵌合体猴的生殖细胞中也发现了胚胎干细胞的高比例贡献,这为构建遗传修饰模型猴奠定了技术基础。

“利用灵长类多能干细胞生产嵌合体是这一领域长期追求的目标。原则上,这项研究将为相关基础研究和非人灵长类遗传修饰模型的产生开辟新途径。具体来说,利用胚胎干细胞实现基因修饰能力,将使完成目前在受精卵或胚胎阶段使用CRISPR技术难以实现的研究成为可能。”一位审稿人如是评价。

相关论文信息:<http://doi.org/10.1016/j.cell.2023.10.005>

暨南大学附属第一医院等

## 发现骨质疏松防治双向调节新靶点

**本报讯** 近日,暨南大学附属第一医院(广州华侨医院)骨关节科教授查振刚、副教授张还添团队和暨南大学药学院教授张荣华团队合作,在骨质疏松症防治双向调节新靶点的研究上取得新进展。近日,相关成果在线发表于《骨研究》。

骨质疏松症是一种全身性骨骼疾

病,是以骨量减少和骨组织微结构破坏为特征,由此导致脆性增加和易于骨折的代谢性骨病。近年来,成骨-破骨双向作用药物的研发越来越受关注,鉴定抑制破骨和促进成骨的双靶向疗法对于骨质疏松的防治具有重要的临床意义。

该研究从临床问题出发,发现三结

构域蛋白21(Trim21)的表达水平在骨质疏松症患者及小鼠的骨骼样本中显著升高。通过构建全/条件基因敲除鼠、采用原代细胞/成骨及单核细胞系共培养模型,研究人员证实Trim21在调节成骨及破骨分化中起关键作用。此外,研究发现,Trim21通过调控YAP1/ $\beta$ -catenin信号影响骨量,并参

与了脂多糖诱导的炎性骨丢失及卵巢去势诱发的骨质疏松症的进展。

该研究阐明Trim21是影响成骨/破骨分化的双向调节新靶点,为骨质疏松症和骨质疏松性骨折的治疗提供了新线索。

(朱汉斌)

相关论文信息:<https://doi.org/10.1038/s41413-023-00296-3>