



细胞“返老还童”的化学快速通道

王卫云

新乡医学院健康中原研究院, 新乡 453000

E-mail: weiyun@xxmu.edu.cn

Chemical fast track to cellular rejuvenation

Weiyun Wang

Institutes of Health Central Plain, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453000, China

E-mail: weiyun@xxmu.edu.cn

doi: [10.1360/TB-2023-0903](https://doi.org/10.1360/TB-2023-0903)

人体所有细胞类型都由合子发育而来, 从合子到谱系定型, 再到特化细胞类群的发育过程曾被认为是不可逆的“单向道”。直到20世纪中叶, 细胞核移植技术的建立与发展使得体细胞命运的逆转成为可能, 并提示发育时钟可以被逆转^[1]。2006年, 日本生物学家Takahashi和Yamanaka^[2]通过转入4个外源转录因子Oct4、Sox2、Klf4和c-Myc(OSKM), 成功将小鼠胚胎/成体成纤维细胞重编程为多能干细胞, 称为诱导多能干细胞(induced-pluripotent stem cells, iPSCs)。iPSCs具有胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)的形态和生长特性, 可表达ESCs的标志基因, 并且在体内外都表现出三胚层分化潜能。体内实验显示, 短期间歇性地表达OSKM因子可使衰老小鼠恢复更年轻的表现遗传标记模式^[3]。进一步去掉肿瘤相关的风险因子c-Myc, 将OSK递送到视网膜神经节细胞中, 可成功逆转和恢复青光眼小鼠模型和老年小鼠的视力丧失^[4]。这些结果清楚地表明, 哺乳动物的组织可以通过体内表观重塑回到更年轻的状态。重编程技术开启了诱导干细胞研究热潮, 极大地推进了再生医学领域的发展, 点燃了人们“返老还童”的梦想。

相对于外源转录因子, 化学小分子具有操作性强、无基因插入、处理可逆等优点, 多种小分子化合物被发现可替代单一或多个转录因子实现体细胞重编程^[5-9]。在此基础上, 完全化学重编程策略被确立, 使用化合物组合处理, 可在40~60 d内诱导iPSCs产生^[10], 是干细胞生物学近年来的重要突破之一。随后多个研究团队对化学重编程进行了多重优化, 并揭示体细胞至iPSC转换过程中发生的分子事件^[11-14]。在此过程中体细胞标志基因下调, 经历间充质-上皮转化(mesenchymal-to-epithelial transition, MET), 随之早期多能性标志基因被激活, 之后表达真正的多能基因如Nanog和Oct4; 同

时, iPSCs中组蛋白修饰和DNA甲基化态势发生了重置, 而细胞能量代谢方式由线粒体氧化磷酸化向糖酵解转变。

尽管如此, 化学重编程与转录因子重编程的速度和效率存在差距, 对化学重编程的分子机制仍缺乏全面的了解。浙江大学生命科学研究院祝赛勇研究员长期从事干细胞化学生物学、再生医学研究, 近年来在细胞命运决定与转换研究中取得了多项重要进展。特别是2023年8月7日, 祝赛勇团队报道了细胞快速化学重编程(fast chemical reprogramming, FCR)。该方案大幅度缩短了干细胞诱导进程, 可在最快1周内实现细胞命运重塑(图1), 相关研究成果发表在Nature Cell Biology^[15]。

为提高细胞化学重编程效率, 研究人员独辟蹊径, 以生成iPSC效率为指标, 对超21000个条件进行筛选, 确定多个有效化合物, 并利用多种策略进行条件优化, 进一步精确为6阶段培养方案。该方案可在7~12 d内产生iPSCs, 且每10000个成纤维细胞产生多达80个iPSC克隆。产生的iPSCs表达干细胞标志基因, 通过体外拟胚体分化、畸胎瘤实验可产生所有三胚层细胞, 移植入小鼠胚胎可成功产生嵌合体小鼠及可育后代。

接下来, 作者利用多组学分析绘制了FCR的细胞轨迹图, 包括转录组、染色质可及性、组蛋白修饰及基因组甲基化等多维度分子表征。与转录因子重编程相比, FCR的细胞轨迹明显不同。转录组分析显示, FCR后期细胞与滞育中的胚胎内部细胞团特征相似, 提示FCR可能经历了滞育类似状态。在胚胎发育过程中, 滞育是一种休眠状态, 滞育期囊胚增殖缓慢甚至停滞, 蛋白合成速率降低, 并导致胚胎着床延后, 有助于后代的存活, 被认为是应对不利环境的生存机制。随后的研究显示, 对滞育相关基因的抑制显著降低了iPSCs的产生效

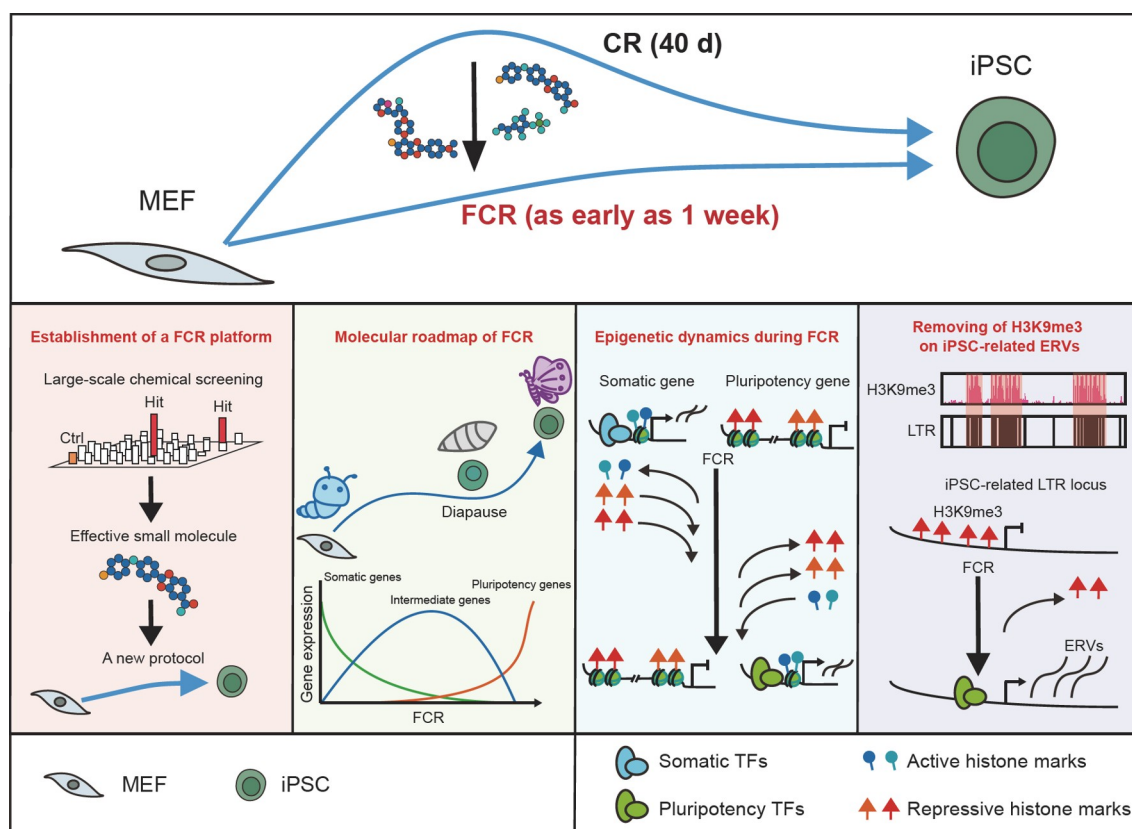


图1 (网络版彩色) FCR系统的建立及FCR过程中的重编程轨迹、分子事件和表观遗传学动力学^[15]

Figure 1 (Color online) Establishment of the FCR system and reprogramming trajectory, molecular events, and epigenetic dynamics during FCR^[15]

率,表明滞育类似状态是FCR过程重要的中间态,对于细胞内多能性网络的建立起关键作用。

染色质可及性及表观遗传修饰分析表明,在FCR过程中,组蛋白修饰经历了动态变化。有趣的是,作者发现,异染色质相关的H3K9me3修饰在FCR过程中倾向位于长末端重复序列富集且相对稀疏的染色质区域,而这些区域包含大量的内源性逆转录病毒(endogenous retroviruses, ERVs)。分析发现,ERVs的表达模式也经历了一个逐步地从体细胞向iPSCs的动态变化,说明ERVs可能参与并影响重编程过程。经过详细的RNA表达分析,作者筛选出与iPSCs形成相关的ERVs亚群,并观察到H3K9me3丰度与ERVs表达之间呈高度负相关性。H3K9me3甲基转移酶的抑制导致FCR效率增加,而敲低iPSC相关的ERVs减少了iPSCs的形成。上述研究解析了FCR调控细胞命运转变的深层机制。

2022年,邓宏魁课题组建立了人化学小分子诱导重编程体系,该体系经4个阶段、40~50 d的诱导产生iPSCs^[16]。小鼠FCR体系的建立或可为提高人化学小分子诱导重编程效率提

供新思路,促进人FCR体系发展。化学小分子组合无基因整合,剂量高度可控,并易于优化和标准化,有望开发出适用于临床的患者特异性iPSCs。进一步实现临床转化及体内FCR之前,需要确立精确高效的FCR体系,详细解析FCR过程的分子机制,并探究每一种化合物的脱靶效应、内脏毒性及其他副作用的可能性。人体的衰老是一个自然发生的过程,体内逆转发育时钟看似遥远,但重编程技术的不断发展使得健康的老龄化成为了可预见的将来。

综上,该研究团队自主研发了细胞快速化学重编程FCR体系,并全面解析了FCR期间的重编程轨迹、分子事件和表观遗传学动力学,提供了关于细胞命运转变的丰富知识;该研究揭示了FCR独特的细胞命运重塑机制,FCR后期经历滞育类似状态,为研究滞育过程提供了一个可行平台;通过多组学整合分析,揭示了H3K9me3调节iPSC相关的ERVs从而阻碍FCR的关键机制(图1)。总之,这一最新研究成果具有重要的科学价值和转化潜力,可促进化学重编程在再生医学的临床应用,也为细胞“返老还童”创建了快速通道。

参考文献

- 1 Gurdon J B. Adult frogs derived from the nuclei of single somatic cells. *Dev Biol*, 1962, 4: 256–273

- 2 Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. [Cell](#), 2006, 126: 663–676
- 3 Ocampo A, Reddy P, Martinez-Redondo P, et al. *In vivo* amelioration of age-associated hallmarks by partial reprogramming. [Cell](#), 2016, 167: 1719–1733.e12
- 4 Lu Y, Brommer B, Tian X, et al. Reprogramming to recover youthful epigenetic information and restore vision. [Nature](#), 2020, 588: 124–129
- 5 Xu Y, Shi Y, Ding S. A chemical approach to stem-cell biology and regenerative medicine. [Nature](#), 2008, 453: 338–344
- 6 Shi Y, Desponts C, Do J T, et al. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic fibroblasts by Oct4 and Klf4 with small-molecule compounds. [Cell Stem Cell](#), 2008, 3: 568–574
- 7 Huangfu D, Osafune K, Maehr R, et al. Induction of pluripotent stem cells from primary human fibroblasts with only Oct4 and Sox2. [Nat Biotechnol](#), 2008, 26: 1269–1275
- 8 Ichida J K, Blanchard J, Lam K, et al. A small-molecule inhibitor of Tgf- β signaling replaces Sox2 in reprogramming by inducing nanog. [Cell Stem Cell](#), 2009, 5: 491–503
- 9 Zhu S, Li W, Zhou H, et al. Reprogramming of human primary somatic cells by OCT4 and chemical compounds. [Cell Stem Cell](#), 2010, 7: 651–655
- 10 Hou P, Li Y, Zhang X, et al. Pluripotent stem cells induced from mouse somatic cells by small-molecule compounds. [Science](#), 2013, 341: 651–654
- 11 Long Y, Wang M, Gu H, et al. Bromodeoxyuridine promotes full-chemical induction of mouse pluripotent stem cells. [Cell Res](#), 2015, 25: 1171–1174
- 12 Zhao Y, Zhao T, Guan J, et al. A XEN-like state bridges somatic cells to pluripotency during chemical reprogramming. [Cell](#), 2015, 163: 1678–1691
- 13 Cao S, Yu S, Li D, et al. Chromatin accessibility dynamics during chemical induction of pluripotency. [Cell Stem Cell](#), 2018, 22: 529–542.e5
- 14 Wang W, Ren S, Lu Y, et al. Inhibition of Syk promotes chemical reprogramming of fibroblasts via metabolic rewiring and H₂S production. [EMBO J](#), 2021, 40: e106771
- 15 Chen X, Lu Y, Wang L, et al. A fast chemical reprogramming system promotes cell identity transition through a diapause-like state. [Nat Cell Biol](#), 2023, 25: 1146–1156
- 16 Guan J, Wang G, Wang J, et al. Chemical reprogramming of human somatic cells to pluripotent stem cells. [Nature](#), 2022, 605: 325–331