

胚胎干细胞自我更新相关信号转导途径及信号分子

刘娜 陆敏*

(中国医学科学院北京协和医科大学血液学研究所, 天津 300020. * 联系人, E-mail: minlu001@yahoo.com)

摘要 胚胎干细胞(embryonic stem cells, ES cells)是从囊胚期内细胞团(inner cell mass, ICM)分离得到的, 在体外具有无限或较长期的自我更新能力, 并能在特定的诱导条件下分化成各种组织特异性细胞。鉴于此种特性, ES细胞在临床上具有极其广阔的应用前景。但是要将ES细胞成功的应用于临床, 必须解决的首要问题是胚胎干细胞是如何实现自我更新及定向分化的。某些小鼠的ES(mES)细胞可以在LIF等外源性细胞因子的作用下在体外维持自我更新。研究表明, LIF维持自我更新的能力是通过LIF-LIFR-JAK-STAT3途径实现的, 其中STAT3在该途径中起关键作用。Oct-3/4也是维持ES细胞多能性的重要分子之一, 它与其辅助分子Sox2, Rox-1共同参与调节胚胎的正常发育。Nanog是最近发现的一个同源盒转录因子, 被认为在ES细胞的全能性维持中起关键作用。此外, BMP, Wnt, ERK途径也在这一过程中起重要作用。本文中我们对近年来发现的有助于胚胎干细胞自我更新的相关信号转导通路做了概括综述, 主要有LIF-STAT3途径、Oct-3/4和Nanog信号分子。虽然它们之间是通过怎样的模式相互影响和协调起作用还不是十分清楚, 但为我们以后的研究指明了方向。

关键词 胚胎干细胞 自我更新 信号转导 LIF STAT3 BMP Oct-3/4 Nanog

胚胎干细胞研究是当今生命科学的前沿, 其研究内容已经涉及当今众多生命科学领域的热点和难点, 它在部分疾病的机理研究、发育生物学研究以及某些疾病的临床治疗方面都取得了重大突破, 并呈现出诱人的发展前景。

胚胎干细胞(embryonic stem cells)来源于囊胚内细胞团(inner cell mass, ICM), 其最显著的特点是具有发育上的全能性, 即由单一的ES细胞在特定的诱导条件下能分化为功能、形态、定位不同的各种组织细胞, 这在临床各种器官组织的移植中具有广阔的应用前景, 如帕金森病和糖尿病的治疗等^[1]。ES细胞的另一个显著特征即为自我更新能力。尽管ES细胞在生物发育研究中具有重要作用, 在临床组织工程中也有巨大的应用价值, 然而ES细胞在什么情况下能完成自我更新, 而又需要什么样的条件才能向所需要的特定组织分化, 这些问题目前还尚未解决。胚胎干细胞自我更新机制和定向分化条件的研究是干细胞研究的热点, 也是胚胎干细胞得以临床广泛应用的前提。本文就近年来在胚胎干细胞的自我更新条件、信号转导过程以及这一过程中相关的信号分子的研究进展做一综述。

1 胚胎干细胞自我更新相关的信号转导途径

() LIF-LIFR/gp130-JAK-STAT3 途径是小鼠胚

胎干细胞自我更新的重要途径。JAK-STAT3途径是细胞增殖分化的重要信号转导途径, 在生物体发育过程中也起重要作用^[2]。JAK(just another kinase 或 janus kinase)是胞浆中一类可溶性的非受体酪氨酸蛋白激酶, 现在已经发现有4个成员(JAK1, JAK2, JAK3与TYK2), 分子量为120~140 kD, 结构中不含SH2和SH3结构域。在胚胎干细胞增殖分化过程中起作用的JAK成员主要有JAK1, JAK2与TYK2, 它们主要是通过激活转录因子STAT3来促进胚胎干细胞的自我更新^[3,4]。

JAK-STAT3途径可被多种因子, 如IL-6家族成员, G-CSF, EGF和leptin等激活, 在多种细胞反应中起作用^[5]。LIF(leukemia inhibitor factor)是IL-6家族成员之一, 对小鼠胚胎干细胞(mouse embryonic stem cells, mES cells)体外多潜能性的维持即保持未分化状态发挥着重要作用^[6,7]。LIF与其受体LIFR结合后, LIFR与gp130(glycoprotein 130)迅速聚合形成异二聚体共同介导信号转导^[8,9]。研究结果显示, LIFR与gp130的异二聚体和gp130与gp130的同二聚体都可以介导LIF信号转导, 从而维持ES细胞的未分化状态, 而LIFR和LIFR的同二聚体则不能介导LIF信号转导^[10], 说明gp130在LIF诱导ES细胞自我更新的信号转导过程中起重要作用。小鼠gp130胞内结构域的278个氨基酸残基中有7个为酪氨酸残基, 其中

Y757 与 SHP2/MAPK 介导的信号转导途径有关, 而 Y765, Y812, Y904 及 Y914 为 STAT3 的结合位点. gp130 介导的 LIF 信号传导通路最终通过激活下游转录因子 STAT3 来维持 mES 细胞的不分化状态. STAT3 的激活才是 mES 细胞自我更新的关键. 有人构建了 STAT3 完整编码区和雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 配体结合区融合基因的表达载体并转染 ES 细胞, 表达这一融合蛋白 STAT3ER (嵌合受体) 的 ES 细胞, 在人工合成的雌激素受体特异性配体 4-羟基三苯氧胺 (4-hydroxytamoxifen, 4-HT) 存在下, 可以激活 STAT3 并维持 ES 细胞的未分化状态, 这一过程不需要 LIF 的参与. 相反, STAT3 功能丧失则引起胚胎干细胞分化^[11,12]. 总之, 小鼠胚胎干细胞在体外依赖于 LIF 自我更新是通过 LIF-LIFR/gp130-JAK-STAT3 信号转导途径实现的, 而 STAT3 是这一途径的关键因子, 它的激活是 LIF 维持 mES 自我更新的充分必要条件. 而 gp130 在 LIF 这一细胞因子的信号转导过程中起重要作用.

SHP2 是 gp130 信号转导途径的另一个较为重要的效应分子. 它是一种酪氨酸磷酸酶, 能水解酪氨酸上的磷酸基团. SHP2 通过氨基末端的 SH2 结构域与受体结合. SHP2 为 ERK 的上游分子, 另外 SHP2 还可以通过 Grb2, Grb2 结合蛋白 (Grb2-associated binder protein 1, Gab1) 等分子激活 ERK 信号转导通路. SHP2 是胚胎干细胞自我更新的负调节因子. STAT3 可被 SHP2 脱磷酸化, SHP2 缺陷也可以维持胚胎干细胞的未分化状态, 但这一状态不能长久维持, 并且在这一过程中还有一些异常分化细胞产生^[3].

() MAPK 途径通过促分化而抑制 ES 细胞的自我更新. Ras/MAPK (mitogen-activated protein kinase) 信号转导途径对细胞生长、增殖、分化发育及癌细胞生长起重要作用^[4,13]. 研究发现, ERK-1/2 信号通路在胚胎早期发育过程中具有重要作用, ERK 突变的胚胎不能形成正常的外胚层和外囊胚, 这似乎表明 ERK-1/2 在滋养层干细胞 (trophoblast stem cells, TS) 增殖中起作用. 但是 ERK-1/2 的活化在 ES 细胞的增殖过程中是可有可无的, 相反它的活化能干扰 ES 细胞的自我更新并且能促进分化. ERK-1/2 在维持 ES 细胞自我更新与分化之间的平衡、在胚胎早期发育过程中似乎都发挥作用^[14].

近期研究发现 gp130 除了能激活 STAT3 以外, 还能使 MAP 激酶磷酸化进而激活 ERK-1/2 级联反应^[15].

但是引人注目的是, ERK-1/2 的激活并没有促进 ES 细胞的增殖, 相反它的激活却降低了 ES 细胞的自我更新能力^[15]. 在 LIFR-gp130 二聚体介导的信号转导过程中, SHP2 是一个很重要的中介分子. SHP2 的酪氨酸残基磷酸化后为 Grb2 提供结合位点, SHP2 还与 Gab1 联系, 通过 Gab1 间接与 Grb2 结合, 从而激活 MAPK. gp130 的 Y757 是 SHP2 与 gp130 结合进而被磷酸化的重要位点, 这一位点的突变会阻断 Ras-MAPK 途径的激活但不影响依赖于 LIF 的 ES 细胞增殖. 此外, SHP2 失活或者用 MEK-1/2 的抑制剂 PD98059 来抑制 ERK-1/2 的活性都能够促进 ES 细胞的自我更新; ERK 磷酸酶的高表达也具有类似的作用^[16], 然而对 ERK 途径的抑制不能替代 ES 细胞自我更新过程中 STAT3 的作用, 但是可以增强其作用. 目前这种促进作用是通过直接作用还是间接作用还不是很清楚. *Grb2* 或 *Shp2* 的基因缺失也会抑制胚胎干细胞分化, 在 *Grb2*^{-/-} 的 ES 细胞中重新转入 Grb2-Sos 复合体或 Ras 的活性形式, 能重塑 ES 的正常分化功能. 这都表明 ERK 的活化能够抑制 ES 细胞的自我更新并促进分化^[15].

STAT3 与 ERKs 激活后作用相反, 它们之间的相互协调对于维持 ES 细胞的自我更新和分化之间的平衡具有重要作用.

() BMP-Id 途径. BMP4 在促进胚胎干细胞自我更新中作用不明显, 但是最近研究发现 BMP4 可以通过 Id (inhibitor of differentiation) 途径抑制胚胎干细胞向神经系统分化. BMP4 可以诱导 smad 进而激活 Id 蛋白表达, 而 Id 能够抑制诱导 ES 细胞向神经分化的因子的表达, 从而维持胚胎干细胞的自我更新. BMP4 在维持 ES 细胞自我更新中的这一作用需要在 LIF 的存在下才能实现, 这是因为 BMP4 单独存在时能诱导 ES 细胞向内胚层和中胚层分化, LIF 通过 LIF-STAT3 途径抑制了 BMP4 的这一促分化作用, 但是对 BMP4 诱导的 Id 表达没有作用, 从而共同维持 ES 细胞的自我更新. 以前认为 LIF 是小鼠胚胎干细胞不分化的充分条件, 可能是因为血清培养基掩盖了 BMP4 的作用^[17]. 没有 LIF 时, BMP4 促进 ES 细胞向除神经系统外的所有细胞分化, ES 细胞在有 BMP4 和 LIF 的培养基中则可以完成自我更新. 此外, BMP4 的激活还能够抑制 MAPK 和 P38 的活性, 用 MAPK 的抑制剂 PD98059 和 P38 抑制剂 SB203580 能够模拟 BMP4 激活时的促胚胎干细胞自我更新作用. MAPK 和 P38

可以抑制Id的表达, BMP4 可能是通过抑制MAPK和P38 活性来促进Id的表达^[18], 从而在ES细胞自我更新过程中发挥作用. 但是BMP4 到底通过怎样的途径激活Id的表达, 还需要进一步研究.

() Wnt途径. Wnt途径在动物发育过程中起关键作用, 它能够调节胚胎干细胞在皮肤、神经系统、血液系统的命运决定^[19]. 有报道称, 用GSK-3 (glycogen synthase kinase-3)的特异性抑制剂BIO (6-bromindirubin-3-oxime)抑制GSK-3 的活性从而激活Wnt途径. BIO是人工合成的化学制剂, 可以特异性的抑制GSK-3 的磷酸化活性, 从而模拟Wnt与受体结合后所导致的GSK-3 活性抑制, 激活Wnt的下游信号转导途径. 研究发现, BIO通过激活Wnt途径可以促进Oct-3/4, Rex-1, Nanog(Oct-3/4, Rex-1, Nanog是维持胚胎干细胞多潜能性的重要转录因子^[21,22])等转录因子的表达, 维持多种胚胎干细胞的自我更新^[20]. 还有研究表明, Wnt能够上调BMP2, BMP4, BMP7 的表达, Wnt还能够调节BMP4 的表达抑制胚胎干细胞向神经的分化^[23].

研究发现, 造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)表达Wnt的受体frizzled以及其协助分子LRP, 这表明wnt途径可能调节造血干细胞的自我更新. Wnt信号途径还可能是通过激活上调HoxB4, Notch-1 以及Hes-1 来抑制分化的^[22,24].

2 胚胎干细胞自我更新过程中其他重要的信号分子

LIF-STAT3 信号途径曾一度被认为是ES细胞自我更新的充分必要条件, 然而随着研究的进一步深入, 发现LIF的存在不能阻止人胚胎干细胞(hES cells)的分化. 虽然在人的ES细胞中存在能够被gp130 激活的STAT3, 但是却未见STAT3 的磷酸化, 由此可见STAT3 的激活与否与ES细胞的分化之间并无必然的联系. 另外STAT3 并不局限于全能性的胚胎干细胞中, 它在体内多种组织中广泛分布, 并且STAT3 的激活在一定条件下还能促进分化, 说明ES细胞存在其他的不依赖于LIF-STAT3 的自我更新机制^[25-27]. Oct-3/4 和Nanog是特异的表达于全能性胚胎干细胞的转录因子, 最近研究发现这 2 个因子才是维持ES细胞自我更新的关键因子. hES细胞和几种不依赖于LIF的mES细胞在小鼠胚胎成纤维细胞或者条件培养基中能够保持未分化状态, 并且观察到高表达Nanog

和Oct-3/4. 但是目前对这 2 个因子的上游激活信号和下游的靶基因还不是很了解^[20,21], 对其完整的信号转导过程还没有研究透彻, 在此我们仅对这 2 个因子在维持胚胎干细胞自我更新方面的研究现状做一阐述.

() Oct-3/4. Oct-3/4 为POU家族的转录因子, 由*Pou5f1* 基因编码, 是植入前胚胎发育的重要调节因子, 特异性的表达于多种全能性细胞: 卵母细胞、原始生殖细胞、早期植入前胚胎、原始外胚层、ICM和ES细胞. Oct-3/4 是细胞全能性的标志, 它能够促使ICM形成、维持胚胎干细胞未分化状态并促进其增殖^[21,28].

Oct-3/4 的基因敲除试验表明, Oct-3/4 在胚胎发育过程具有重要作用. 有研究报道, 在晶胚和ES细胞中Oct-3/4 的失活将会导致这些细胞全能性的丧失, 并使这些细胞自发分化为滋养层. Oct-3/4 缺失的胚胎不能正常发育, 这是因为ICM细胞未能获得全能性并直接分化形成滋养外胚层. 这些都表明Oct-3/4 对于植入前胚胎全能性的建立是至关重要的^[21,29]. Niwa等人^[21]用促进或抑制Oct-3/4 在ES细胞中表达的方法, 明确了Oct-3/4 在维持胚胎的正常发育中具有重要作用. 实验结果表明, 精确水平的Oct-3/4 表达对于维持ES细胞的正常自我更新是至关重要的, Oct-3/4 的表达上调不到两倍就会引起ES细胞向原始内胚层和中胚层分化, 与此相反Oct-3/4 的表达水平下降 50% 就能使ES细胞全能性丧失并且使其分化形成滋养外胚层. 在体内, 早期胚泡的ICM Oct-3/4 的表达丰富, 滋养外胚层的表达量下降, 而在胚泡后期阶段的原始内胚层Oct-3/4 的表达又明显增高, 这一表达状况与体外试验的结果正好相符. 这都表明Oct-3/4 表达量的高低能控制ES细胞的 3 种截然不同的命运, 它的上调或者下调都会使ES细胞趋向于分化^[30].

Oct-3/4 作为转录因子其下游有许多靶基因, 如*Fgf-4*, *Utf-1*, *Opn*, *Zfp42/Rex1*, *PDGFR α* , *ETn052*等. Oct-3/4 能够通过其DNA结合序列与这些靶基因结合, 但是高亲和力的结合需要Oct-3/4 的协同刺激分子的参与, Oct-3/4 与其协同刺激分子共同作用调节靶基因的表达^[21]. 不同的协同因子使Oct-3/4 对不同的靶基因起作用, Oct-3/4 通过与不同的共刺激分子相互作用, 作为转录激活因子或者转录抑制因子调节靶基因的表达. 现在已知Oct-3/4 的共刺激分子有ELA,

Sox-2 (Sry-related factor), Rox-1. ELA被认为是Oct-3/4与转录元件之间的桥梁分子. Sox-2能够增强*Fgf-4*和*Utf-1*的活化. 而Rox-1似乎在*Zfp42/Rex1*的激活过程中起作用. Oct-3/4的靶基因表达于胚胎的不同组织中, 调节这些基因的表达从而可以维持胚胎的正常发育^[21].

Niwa在实验中发现, 某些正常表达Oct-3/4的细胞在撤除LIF的情况下并不能维持ES细胞的未分化状态, 并且Oct-3/4的过表达引起的分化与LIF的撤除所引起的分化类似. 那么oct-3/4是否是LIF-LIFR-JAK-STAT3途径中STAT3的靶基因呢? 在实验中观察到, 在LIF刺激并激活LIF-STAT3信号转导通路的ES细胞中, 未见Oct-3/4表达升高, 表明Oct-3/4并不是STAT3的直接靶点^[2]. 那么, 为什么Oct-3/4会依赖LIF, 它们之间又是通过什么相互联系呢? 进一步研究发现, LIF-STAT3能调节Oct-3/4的协同刺激分子ELA的表达, 从而影响Oct-3/4对靶基因的调节作用. Oct-3/4转录因子与ELA一起控制靶基因*Zfp42/Rex1*的表达. 在没有LIF时ELA不表达, Oct-3/4单独存在不能激活*Zfp42/Rex1*的表达. 因此Oct-3/4在对ES细胞不分化状态的维持方面在一定程度上依赖于LIF的存在. 此外, Oct-3/4对*Zfp42/Rex1*的表达调节存在过量压制现象, 即Oct-3/4表达升高时不仅不会促进*Zfp42/Rex1*的表达, 反而通过压制机制抑制其表达. 这与LIF撤除后ELA表达下降引起*Zfp42/Rex1*表达下降表现相同. 也就是说Oct-3/4与LIF之间功能上的相互联系是通过Oct-3/4的共刺激分子实现的. Oct-3/4必须保持在一个精确的水平才能维持胚胎的正常发育, 说明体内可能存在负反馈机制来调节Oct-3/4的表达水平, 但是现在还没有实验证明这类负反馈机制的存在^[22,31].

() Nanog. Nanog是最近发现的一个有助于ES细胞自我更新的关键因子^[22]. Mitsui等人^[32]调用比较了小鼠的ES细胞和成体细胞中EST(expressed sequence tag)的区别, 发现有9个基因在ES细胞中特异表达, 称之为*ecat*(ES cell associated transcripts)基因. 观察其作用发现只有*ecat4*持续表达时可以在无LIF存在下维持ES细胞的不分化状态并且促进增殖. 其他8个*ecat*基因以及*oct-3/4*, *sox-2*持续表达时, 在无LIF存在的条件下使ES细胞呈现多向分化或者是导致ES细胞大量死亡. 他们将这一能够在无LIF存在下维持ES细胞自我更新的*ecat*基因称之为*nanog*^[32].

*nanog*是一个同源盒基因, 同源性同NK同源盒家族类似. *nanog*的cDNA全长2184 bp, 但是只有一个可读框, 编码一个305个氨基酸的蛋白. 其cDNA包含一个长的3'端非转录区(UTR), 其中包含B2重复单位, 这可能有助于*nanog*在ES细胞中的表达. *nanog*特异性表达于ES细胞、ICM及EC细胞, 而在造血、神经等成体干细胞和已经分化的细胞均不表达. Mitsui等人^[32]研究发现, *nanog*基因的敲除将会导致ICM和ES细胞全能性的丧失, 使ES细胞向体壁和内脏内胚层分化, 并且*gata4*和*gata6*有明显的升高. 这与STAT3途径不同, STAT3途径被阻断后, ES细胞向原始内胚层和中胚层分化, 几乎未见*gata4*和*gata6*水平升高. *nanog*持续表达的ES细胞在给予LIF和撤除LIF的情况下均保持正常的未分化状态, 在Nanog正常表达和高表达的ES细胞中, STAT3的磷酸化水平并无区别. 用Phe代替gp 130上四个对于招募STAT3的至关重要的Tyr后, 并不影响Nanog的表达. 此外, JAK的抑制剂也不影响Nanog的促ES细胞增殖和更新作用. 这些现象都说明只要Nanog维持在一定的表达水平就可以维持ES细胞的不分化状态, 并且Nanog的这一作用不受LIF-STAT3途径影响. Nanog与STAT3似乎是通过两条互不干涉的信号通路来维持ES细胞的自我更新. 所不同的是Nanog能够促进所有胚胎干细胞的自我更新, 而LIF仅仅在几种小鼠的胚胎干细胞上显示出其维持ES细胞不分化状态的作用^[32-35].

目前认为, Nanog可能是通过与某些ES细胞特异基因结合并调节它们的表达来维持ES细胞的不分化状态, 研究发现Nanog能调节*gata6*基因的转录^[22,32]. Nanog抑制*gata6*的表达, 从而也抑制*gata6*的下游基因*gata4*的表达, Nanog缺失或者突变时会引起*gata6*和*gata4*表达明显升高. 并且使ES细胞向血管和体壁外胚层分化, 这与*gata6*和*gata4*高表达所产生的结果相同. 这进一步证实*gata6*和*gata4*是Nanog的下游靶基因, Nanog通过调节*gata6*和*gata4*的表达来维持胚胎干细胞的自我更新^[22,32,35]. 现在对Nanog其他的下游靶基因和上游信号分子还知之甚少, 但是已有研究表明, Wnt信号途径的激活能够促进Nanog的表达^[20], 而Ras则下调Nanog的表达^[36].

Nanog维持ES细胞自我更新的作用与LIF的存在与否无关, 但是Nanog与Oct-3/4之间是存在着功能上的相互联系. 前文已述, Nanog缺失使ES细胞向体壁和内脏内胚层分化, 若其表达正常或增加则能维持

ES的多能性; Oct-3/4 表达下降诱导ES细胞分化形成滋养外胚层, 而Oct-3/4 表达增加引起ES细胞向原始内胚层和中胚层的分化. Mitsui 等人^[32]针对这一 Oct-3/4 与 Nanog 在ES中的作用特点提出了它们可能在胚胎发育的不同阶段起作用. 胚胎发育早期有2个阶段: 比较早期的桑椹胚阶段和植入前的胚泡阶段. Oct-3/4 在这2个阶段中都起作用, 而Nanog在第2个阶段中起关键作用. Nanog在早期的桑椹胚阶段表达量低, 这时Oct-3/4 是决定细胞命运的主要决定因素, Oct-3/4 的缺失会诱导向滋养外胚层分化. 在胚泡阶段ICM细胞是保持其多能性还是向原始内胚层分化取决于Nanog的表达. 表达Nanog的细胞保持其多能性, 而Nanog表达低的细胞则向原始内胚层分化^[32,33]. 但还有实验表明, Nanog维持ES细胞自我更新作用的发挥需要Oct-3/4 的存在. Oct-3/4 缺失的ES细胞正常表达Nanog, 但是Nanog的表达却不能逆转由于Oct-3/4 缺失所引起的分化^[33], 说明Nanog维持ES细胞自我更新不依赖于LIF-STAT途径, 但是与Oct-3/4 之间似乎有一定的联系: Oct-3/4 不影响Nanog 的表达, 但是Nanog起作用需要Oct-3/4 的参与, 而Oct-3/4 的作用是独立于Nanog的. Nanog 与Oct-3/4 存在着功能上的联系, 但是他们通过怎样的方式进行crosstalk 目前还不清楚仍需进一步深入研究.

3 结语

综上所述, LIF-LIFR/gp130-JAK-STAT3, BMP, MAPK, Wnt, Oct-3/4, Nanog 多条信号转导通路都参与胚胎干细胞体内体外不分化状态的维持. LIF-LIFR/gp130-JAK-STAT3, Oct-3/4 和 Nanog 是目前已知的维持胚胎干细胞全能性的3条主要途径. LIF-LIFR/gp130-JAK-STAT3 信号转导通路的激活足以维持某些小鼠的ES细胞在体外保持不分化状态, SHP2-ERK 途径为LIF的另外一条下游信号转导通路, 虽然不是ES细胞自我更新的必需途径, 但在一定程度上可对ES细胞依赖于LIF的自我更新过程起调节作用. LIF虽然在体外可以维持部分小鼠ES细胞不分化, 但是人的ES细胞在LIF的存在下不能保持其发育上的全能性, 并且在体内LIF对于胚胎的生长发育也不是必需的, 这些都说明LIF-STAT3途径并不是ES细胞自我更新的本质机制. 与此不同, 转录因子Oct-3/4 和 Nanog 特异地表达于全能性的细胞中, 近几年的研究表明它们才是维持胚胎干细胞自我更新最关键的因子. 如前文所述, 只要Oct-3/4 和 Nanog

的表达维持在一定水平就可以促进所有ES细胞的自我更新, 而不是仅限于几种胚胎干细胞, 并且Nanog在维持胚胎干细胞不分化状态方面的作用不依赖于LIF的存在, 但是Nanog和Oct-3/4之间存在功能上的相互联系. 可以说Oct-3/4和Nanog途径为控制胚胎干细胞不分化的必需途径, 即只要维持Oct-3/4和Nanog于一定的水平就可以维持胚胎干细胞的全能性, 而LIF-STAT3途径是胚胎干细胞自我更新的特许途径(也称为可选择性途径). 在某些ES细胞, LIF-STAT3的激活可以维持其自我更新; 也可以认为机体内的某些信号转导途径(如LIF-STAT3途径)具有功能上的冗余性, 在某些特异条件(如LIF)刺激下该途径被激活有助于部分胚胎干细胞自我更新的维持.

LIF-STAT3途径是胚胎干细胞自我更新的非必需途径, 仅能维持部分小鼠胚胎干细胞在体外的不分化状态, 但它为细胞因子信号途径可改变细胞命运提供了一个很好的例证, 对这一类信号途径的研究和探讨可大大促进细胞替代治疗的发展. Oct-3/4, Nanog是控制ES不分化的关键因子, 这些因子的上游激活途径和下游的靶基因, 以及其具体的作用机制, 现在都还不清楚, 也需要进一步深入研究. 胚胎干细胞的临床应用, 目前主要存在两方面的问题: () 来源有限, 没有足够数量的移植用胚胎干细胞; () 由于胚胎干细胞具有不断自我更新的潜能, 移植后有形成畸胎瘤的风险. 因此, 胚胎干细胞的发育分化、自我增殖更新机制的研究对胚胎干细胞的体外建系和体外扩增、胚胎干细胞的定向分化调控等方面的研究都有极其重要的意义, 同时为胚胎干细胞在临床上的广泛应用提供理论依据和实践基础.

参 考 文 献

- 1 Smith A. Cell therapy: In search of pluripotency. *Curr Biol*, 1998, 8(22): R802~R804[DOI]
- 2 Hombria J C, Brown S. The fertile field of *Drosophila* Jak/STAT signalling. *Curr Biol*, 2002, 12(16): R569~575[DOI]
- 3 Matsuda T, Nakamura T, Nakao K, et al. STAT3 activation is sufficient to maintain an undifferentiated state of mouse embryonic stem cells. *EMBO J*, 1999, 18(15): 4261~4269 [DOI]
- 4 孙大业, 郭艳林. 细胞信号转导. 北京: 科学出版社, 2001
- 5 Akira S. IL-6-regulated transcription factors. *Int J Biochem Cell Biol*, 1997, 29(12): 1401~1418[DOI]
- 6 Smith A G, Heath J K, Donaldson D D, et al. Inhibition of pluripotential embryonic stem cell differentiation by purified polypeptides. *Nature*, 1988, 336(6200): 688~690[DOI]
- 7 Williams R L, Hilton D J, Pease S, et al. Myeloid leukaemia in-

- hibitory factor maintains the developmental potential of embryonic stem cells. *Nature*, 1988, 336(6200): 684~687[DOI]
- 8 Chojnacki A, Shimazaki T, Gregg C, et al. Glycoprotein 130 signaling regulates Notch1 expression and activation in the self-renewal of mammalian forebrain neural stem cells. *J Neurosci*, 2003, 23(5): 1730~1741
- 9 Gearing D P, Thut C J, VandeBos T, et al. Leukemia inhibitory factor receptor is structurally related to the IL-6 signal transducer, gp130. *EMBO J*, 1991, 10(10): 2839~2848
- 10 Nakamura T, Arai T, Takagi M, et al. A selective switch-on system for self-renewal of embryonic stem cells using chimeric cytokine receptors. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 248(1): 22~27[DOI]
- 11 Boeuf H, Hauss C, Graeve F D, et al. Leukemia inhibitory factor-dependent transcriptional activation in embryonic stem cells. *J Cell Biol*, 1997, 138(6): 1207~1217[DOI]
- 12 Niwa H, Burdon T, Chambers I, et al. Self-renewal of pluripotent embryonic stem cells is mediated via activation of STAT3. *Genes Dev*, 1998, 12(13): 2048~2060
- 13 Pearson G, Robinson F, Beers Gibson T, et al. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathway: regulation and physiological functions. *Endocr Rev*, 2001, 22: 153~183[DOI]
- 14 Meloche S, Vella F D, Voisin L, et al. Erk2 Signaling and early embryo stem cell self-renewal. *Cell Cycle*, 2004, 3(3): 241~243
- 15 Burdon T, Smith A, Savatier P. Signalling, cell cycle and pluripotency in embryonic stem cells. *Trends Cell Biol*, 2002, 12(9): 432~438
- 16 Burdon T, Stracey C, Chambers I, et al. Suppression of SHP-2 and ERK signalling promotes self-renewal of mouse embryonic stem cells. *Dev Biol*, 1999, 210(1): 30~43[DOI]
- 17 Ying Q L, Nichols J, Chambers I, et al. BMP induction of Id proteins suppresses differentiation and sustains embryonic stem cell self-renewal in collaboration with STAT3. *Cell*, 2003, 115(3): 281~292[DOI]
- 18 Qi X, Li T G, Hao J, et al. BMP4 supports self-renewal of embryonic stem cells by inhibiting mitogen-activated protein kinase pathways. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(16): 6027~6032[DOI]
- 19 Cadigan K M, Nusse R. Wnt signaling: a common theme in animal development. *Genes Dev*, 1997, 11(24): 3286~3305
- 20 Sato N, Meijer L, Skaltsounis L, et al. Maintenance of pluripotency in human and mouse embryonic stem cells through activation of Wnt signaling by a pharmacological GSK-3-specific inhibitor. *Nat Med*, 2004, 10(1): 55~63[DOI]
- 21 Niwa H. Molecular mechanism to maintain stem cell renewal of ES cells. *Cell Struct Funct*, 2001, 26(3): 137~148[DOI]
- 22 Constantinescu S. Stemness, fusion and renewal of hematopoietic and embryonic stem cells. *J Cell Mol Med*, 2003, 7(2): 103~112
- 23 Haegel L, Ingold B, Naumann H, et al. Wnt signalling inhibits neural differentiation of embryonic stem cells by controlling bone morphogenetic protein expression. *Mol Cell Neurosci*, 2003, 24(3): 696~708[DOI]
- 24 Rattis F M, Voermans C, Reya T. Wnt signaling in the stem cell niche. *Curr Opin Hematol*, 2004, 11(2): 88~94[DOI]
- 25 Humphrey R K, Beattie G M, Lopez A D, et al. Maintenance of pluripotency in human embryonic stem cells is STAT3 independent. *Stem Cells*, 2004, 22(4): 522~530[DOI]
- 26 Smith A G. Embryo-derived stem cells: Of mice and men. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2001, 17: 435~462[DOI]
- 27 Nakajima K, Yamanaka Y, Nakae K, et al. A central role for Stat3 in IL-6-induced regulation of growth and differentiation in M1 leukemia cells. *EMBO J*, 1996, 15(14): 3651~3658
- 28 Palmieri S L, Peter W, Hess H, et al. Oct-4 transcription factor is differentially expressed in the mouse embryo during establishment of the first two extraembryonic cell lineages involved in implantation. *Dev Biol*, 1994, 166(1): 259~267[DOI]
- 29 Nichols J, Zevnik B, Anastasiadis K, et al. Formation of pluripotent stem cells in the mammalian embryo depends on the POU transcription factor Oct4. *Cell*, 1998, 95(3): 379~391[DOI]
- 30 Niwa H, Miyazaki J, Smith A G. Quantitative expression of Oct-3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES cells. *Nat Genet*, 2000, 24(4): 372~376[DOI]
- 31 Becskei A, Serrano L. Engineering stability in gene networks by autoregulation. *Nature*, 2000, 405(6786): 590~593[DOI]
- 32 Mitsui K, Tokuzawa Y, Itoh H, et al. The homeoprotein Nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells. *Cell*, 2003, 113(5): 631~642[DOI]
- 33 Chambers I, Colby D, Robertson M, et al. Functional expression cloning of Nanog, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells. *Cell*, 2003, 113(5): 643~655[DOI]
- 34 Cavaleri F, Scholer H R. Nanog: a new recruit to the embryonic stem cell orchestra. *Cell*, 2003, 113(5): 551~552[DOI]
- 35 Fujikura J, Yamato E, Yonemura S, et al. Differentiation of embryonic stem cells is induced by GATA factors. *Genes Dev*, 2002, 16(7): 784~789[DOI]
- 36 Yoshida-Koide U, Matsuda T, Saikawa K, et al. Involvement of Ras in extraembryonic endoderm differentiation of embryonic stem cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 313(3): 475~481[DOI]

(2004-10-10 收稿, 2005-03-09 收修改稿)