

# 人羊膜上皮干细胞移植与再生医学的研究进展

邹刚<sup>1</sup> 刘特<sup>2</sup>

(1. 上海市第一妇婴保健院, 上海 201204; 2. 上海市中医老年医学研究所, 上海 200031)

【中图分类号】 Q28 【文献标识码】 A

干细胞(stem cells)具有自我复制和多向分化潜能,以及分泌多种细胞因子的功能,在再生医学研究领域备受关注。然而,干细胞的来源、体外维持干性的能力、免疫反应及其致瘤性等问题一直制约着干细胞在临床中的应用。人羊膜上皮细胞(human amniotic epithelial cells, hAECs)是一种不为人熟悉的干细胞,具有胚胎干细胞的特性;在特定环境中可诱导分化为多种类型的细胞,目前已广泛应用于多种疾病的治疗,取得了良好的临床疗效。本文就 hAECs 干细胞特性及其细胞移植在疾病中的应用做一综述。

## 1 人羊膜上皮细胞(hAEC)干细胞特性

羊膜来源于产后的胎盘组织,是一层包围着羊水的薄膜,具有保护胎儿并促进胚胎发育的功能<sup>[1,2]</sup>。它是由受精卵发育至第 8 天的囊胚内细胞团(inner cell mass)分化而来,早于原肠胚 2 周形成,因而可能保存了最早的胚胎干细胞特性。羊膜 hAECs 位于羊膜直接接触羊水的一侧,其细胞表面表达多种胚胎干细胞和间充质干细胞的分子标志物,如 SSEA-3、SSEA-4、TRA1-60 和 TRA1-81<sup>3,4</sup>,但不表达 SSEA-1;hAECs 还表达 Thy-1 和干细胞表面受体 c-kit。除表达干细胞表面标志 SSEA 和 TRA 之外,hAECs 表达的基因 Oct-4 和 Nanog 可以维持自身的细胞的更新和干细胞的多能性<sup>[5]</sup>。hAECs 具有向三胚层组织分化的潜能<sup>[6]</sup>。研究表明,在体外特定的诱导环境下,hAECs 可以定向分化为内胚层来源的胰岛细胞和肝细胞,中胚层来源的骨骼和肌肉,以及外胚层来源的神经和皮肤。

Miki 等<sup>[7]</sup>曾报道 hAECs 虽然表达多能干细胞

特异性关键转录因子 Oct-4 和 Nanog,但不表达端粒酶<sup>[3,8]</sup>。众所周知,端粒酶通过端粒 DNA 参与维持染色体的稳定性。与其他干细胞不同,缺乏端粒酶的 hAECs 移植后在宿主体内不能无限扩增,不具有致瘤性。研究发现未分化的 hAECs 移植到裸鼠的肝脏、肌肉等组织观察 7 个月以上并未见有肿瘤形成;而未分化的胚胎干细胞表达端粒酶,具有致瘤性。这也是 hAECs 优于其他干细胞用于细胞移植的重要因素之一。另一方面,相对于骨髓干细胞和胚胎干细胞而言,虽然 hAECs 体外不能大量扩增,但其来源丰富且细胞易于获取,不存在伦理道德的限制,是细胞移植的理想来源<sup>[9,10]</sup>。

hAECs 还具有移植免疫耐受、免疫调节和抗炎的特点<sup>[11-13]</sup>。研究表明,hAECs 表达低水平的 I 类人类白细胞抗原(human leukocyte antigens, HLA-I)如 HLA-G,可以抑制母体对胎儿的排斥<sup>[14]</sup>;不表达 HLA-II 如 HLA-A、HLA-B、C、DR 等,因而抗原呈递过程受阻,降低了细胞移植宿主后免疫排斥的风险<sup>[9,15,16]</sup>。hAECs 还能够分泌多种炎症抑制因子,如白细胞迁移抑制因子(MIF)、IL-10 及防御素等,具有良好的抗炎作用,有利于移植细胞的存活。

## 2 hAECs 与糖尿病

糖尿病一种是常见的代谢障碍性疾病,其中 2 型糖尿病即非胰岛素依赖性糖尿病发病率占 90% 以上,临床主要表现为血糖升高。糖尿病患者的并发症种类繁多,涉及呼吸、泌尿、神经等多个系统,积极治疗原发病对于提高糖尿病患者的生活质量具有重要的意义。目前,2 型糖尿病患者主要以药物治疗为主,1 型糖尿病需胰岛素维持。近年来,干细胞移植治疗糖尿病有逐年增高的趋势<sup>[17,18]</sup>。有研究

证实,hAECs在尼克酰胺诱导下可以定向分化为胰岛素分泌细胞<sup>[19,20]</sup>。Wei<sup>[20]</sup>及其同事发现,将hAECs注入糖尿病模型鼠内,小鼠1个月内血糖可以维持在正常水平,并进一步证实了hAECs在体内分化成分泌胰岛素的 $\beta$ -细胞。另有研究表明,hAECs体外诱导的 $\beta$ -细胞具有与正常鼠相同的血糖反应能力,为进一步将hAECs移植治疗人糖尿病奠定了理论基础<sup>[21]</sup>。此外,羊膜干细胞移植治疗糖尿病的病例报告结果表明,hAECs移植不同程度的改善了患者胰岛素抵抗的状态,为hAECs在临床的广泛应用提供依据<sup>[22,23]</sup>。

### 3 hAECs与帕金森病

帕金森病(parkinson's disease, PD)是以中脑黑质多巴胺能神经元变性丢失为主要病理特征的中枢神经系统退行性疾病。黑质纹状体内多巴胺合成分泌减少最终导致患者出现静止性震颤、肌强直等临床症状。目前PD的治疗仍以多巴胺替代疗法为主,达到缓解临床症状的目的。细胞疗法中,无论是细胞株还是原代细胞都未能达到理想的治疗效果,后逐渐被干细胞移植代替<sup>[24]</sup>。hAECs可以合成和分泌多巴胺,表达多巴胺受体D1和D2,以及DAT。除此之外,该细胞还能够分泌神经营养因子和神经递质,具有分化为多巴胺能神经元治疗PD的潜能<sup>[25]</sup>。有研究表明,hAECs直接注入PD模型鼠的纹状体后,老鼠的打转数明显下降,并且进一步证实侧脑室注入可以达到同样的治疗效果,hAECs移植治疗后,模型鼠纹状体和脑脊液的多巴胺含量较前有明显升高<sup>[24]</sup>。Liu等<sup>[26,27]</sup>研究发现,CD44(+)hAECs体外可被诱导为多巴胺能神经元样细胞,表达多种多巴胺能神经元细胞标志。将CD44(+)hAECs移植到6-羟基多巴胺处理的模型鼠,结果发现模型鼠的行为障碍得到改善,提示CD44(+)hAECs可以作为PD细胞治疗的干细胞来源。

### 4 hAECs与卵巢早衰

卵巢功能障碍通常发生在女性肿瘤患者化疗后。已有报道显示干细胞移植可以保护化疗诱导卵巢早衰模型鼠的卵巢功能<sup>[28-30]</sup>。hAECs表达干细

胞的分子标志物,可以分化为3个胚层的组织,因而被认为是人类疾病强大的分子治疗工具。Lai等<sup>[31]</sup>将hAECs尾静脉注射化疗后模型鼠体内,结果发现大鼠的卵泡生成能力得以保留,提示hAECs可以用于提高肿瘤患者化疗后的生殖能力<sup>[32]</sup>,具有良好的应用前景。

综上所述,hAECs具有胚胎干细胞的特性,在特定的诱导环境下可以分化为3个胚层的各种组织,但又优于一般干细胞,不具有致瘤性,免疫源性较低,是细胞治疗多种临床疾病的理想来源,奠定了再生医学在疾病治疗中的重要地位,推动了再生医学的发展。

### 参 考 文 献

- [1] 邵琼,侯玲玲,任家琰,等. 干细胞的新来源—羊膜[J]. 中国兽医科学, 2011,41(6):655-660.
- [2] Kang NH, Hwang KA, Kim SU, et al. Potential antitumor therapeutic strategies of human amniotic membrane and amniotic fluid-derived stem cells[J]. Cancer gene therapy, 2012, 19(8):517-522.
- [3] Miki T, Lehmann T, Cai H, et al. Stem cell characteristics of amniotic epithelial cells[J]. Stem cells, 2005, 23(10): 1549-1559.
- [4] Saito S, Lin YC, Murayama Y, et al. Human amnion-derived cells as a reliable source of stem cells[J]. Current molecular medicine, 2012, 12(10):1340-1349.
- [5] Brivanlou AH, Gage FH, Jaenisch R, et al. Stem cells. Setting standards for human embryonic stem cells[J]. Science, 2003, 300(5621):913-916.
- [6] Tamagawa T, Ishiwata I, Saito S. Establishment and characterization of a pluripotent stem cell line derived from human amniotic membranes and initiation of germ layers in vitro[J]. Human cell, 2004, 17(3):125-130.
- [7] Lai D, Cheng W, Liu T, et al. Use of human amnion epithelial cells as a feeder layer to support undifferentiated growth of mouse embryonic stem cells[J]. Cloning and stem cells, 2009, 11(2):331-340.
- [8] Miki T, Strom SC. Amnion-derived pluripotent/multipotent stem cells[J]. Stem cell reviews, 2006, 2(2):133-141.
- [9] Ilancheran S, Michalska A, Peh G, et al. Stem cells derived from human fetal membranes display multilineage differentiation potential[J]. Biology of reproduction, 2007, 77(3): 577-588.

- [10] Ilancheran S, Moodley Y, Manuelpillai U. Human fetal membranes: a source of stem cells for tissue regeneration and repair? [J]. *Placenta*, 2009, 30(1): 2-10.
- [11] Ataya KM, Pydyn EF, Ramahi-Ataya AJ. The effect of "activated" cyclophosphamide on human and rat ovarian granulosa cells in vitro [J]. *Reproductive Toxicology*, 1990, 4(2): 121-125.
- [12] Banas RA, Trumpower C, Bentlejewski C, et al. Immunogenicity and immunomodulatory effects of amnion-derived multipotent progenitor cells [J]. *Human immunology*, 2008, 69(6): 321-328.
- [13] Liu YH, Vaghjiani V, Tee JY, et al. Amniotic epithelial cells from the human placenta potently suppress a mouse model of multiple sclerosis [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e35758.
- [14] Kovats S, Main EK, Librach C, et al. A class I antigen, HLA-G, expressed in human trophoblasts [J]. *Science*, 1990, 248(4952): 220-223.
- [15] Parolini O, Alviano F, Bagnara GP, et al. Concise review: isolation and characterization of cells from human term placenta; outcome of the first international Workshop on Placenta Derived Stem Cells [J]. *Stem cells*, 2008, 26(2): 300-311.
- [16] Sakuragawa N, Tohyama J, Yamamoto H. Immunostaining of human amniotic epithelial cells: possible use as a transgene carrier in gene therapy for inborn errors of metabolism [J]. *Cell transplantation*, 1995, 4(3): 343-346.
- [17] Saki N, Jalalifar MA, Soleimani M, et al. Adverse effect of high glucose concentration on stem cell therapy [J]. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*, 2013; 7(3): 34-40.
- [18] Creusot RJ, Giannoukakis N, Trucco M, et al. It's time to bring dendritic cell therapy to type 1 diabetes [J]. *Diabetes*, 2014, 63(1): 20-30.
- [19] Hou Y, Huang Q, Liu T, et al. Human amnion epithelial cells can be induced to differentiate into functional insulin-producing cells [J]. *Acta biochimica et biophysica Sinica*, 2008, 40(9): 830-839.
- [20] Wei JP, Zhang TS, Kawa S, et al. Human amnion-isolated cells normalize blood glucose in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. *Cell transplantation*, 2003, 12(5): 545-552.
- [21] 郭礼和. 人羊膜细胞临床前研究: 治疗非神经系统的损伤性疾病研究进展 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2011, 7: 21.
- [22] 刘英, 徐金凯, 郭胜男, 等. 羊膜干细胞移植治疗糖尿病 6 例报告 [J]. *实用糖尿病杂志*, 2011, 7(1): 49-50.
- [23] 王建, 彭琳, 卢光琇. 人羊膜上皮细胞干细胞特性及向胰岛素分泌细胞分化的研究 [J]. *南方医科大学学报*, 2011, 31(9): 1484.
- [24] 郭礼和, 赵刚, 刘天津. 人羊膜细胞临床前研究: 治疗神经退行性疾病方面的研究进展 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2011, 6: 21.
- [25] 郭礼和. 人羊膜细胞临床前研究: 在治疗神经损伤研究方面的进展 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2011, 5: 23.
- [26] Liu T, Guo L, Liu Z, et al. Induction of dopaminergic neuronal-like cells from CD44+ human amniotic fluids that are ameliorative to behavioral recovery in a Parkinson's disease rat model [J]. *International journal of molecular medicine*, 2011, 28(5): 745.
- [27] 汤宇, 谢佳芯, 许家军. 羊膜上皮细胞的干细胞样特性 [J]. *解剖科学进展*, 2010, 16(5): 478.
- [28] Johnson J, Bagley J, Skaznik-Wikiel M, et al. Oocyte generation in adult mammalian ovaries by putative germ cells in bone marrow and peripheral blood [J]. *Cell*, 2005, 122(2): 303-315.
- [29] Lee HJ, Selesniemi K, Niikura Y, et al. Bone marrow transplantation generates immature oocytes and rescues long-term fertility in a preclinical mouse model of chemotherapy-induced premature ovarian failure [J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2007, 25(22): 3198-3204.
- [30] Santiquet N, Vallières L, Pothier F, et al. Transplanted bone marrow cells do not provide new oocytes but rescue fertility in female mice following treatment with chemotherapeutic agents [J]. *Cellular Reprogramming*, 2012, 14(2): 123-129.
- [31] Lai D, Wang F, Chen Y, et al. Human amniotic fluid stem cells have a potential to recover ovarian function in mice with chemotherapy-induced sterility [J]. *BMC developmental biology*, 2013, 13: 34.
- [32] Wang F, Wang L, Yao X, et al. Human amniotic epithelial cells can differentiate into granulosa cells and restore folliculogenesis in a mouse model of chemotherapy-induced premature ovarian failure [J]. *Stem cell research & therapy*. 2013, 4(5): 124.

(收稿日期: 2015-01-12)

编辑: 宋文颖