

DOI: 10.13376/j.cblls/2016109

文章编号: 1004-0374(2016)08-0833-06



周琪, 中国科学院动物研究所研究员, 干细胞与生殖生物学国家重点实验室主任, 中国科学院院士。中国科学院干细胞与再生医学战略性科技先导专项首席科学家。主要从事细胞重编程机制和命运调控、干细胞多能性获得与维持等研究工作, 并致力于推动再生医学的发展和干细胞的转化应用。国际首次获得体细胞克隆大鼠、诱导多能干细胞来源的小鼠; 建立了孤雌胚胎干细胞、单倍体胚胎干细胞等多种新型多能性干细胞系, 获得单倍体胚胎干细胞来源的转基因小鼠和大鼠; 首次创建了新型的异种杂合二倍体胚胎干细胞; 利用经过基因组印记修饰的孤雌单倍体干细胞建立了“同性生殖”的新方法; 发现可以判断干细胞多能性水平的分子标识并揭示其调控机制; 建立了包括灵长类动物在内的多种人类疾病动物模型; 合作在体外获得功能性精子等。推动建立了国际干细胞临床标准和临床级胚胎干细胞库; 建立了多株临床级干细胞, 开展了细胞治疗及药物筛选等临床前基础研究及安全性评估等工作。现已在 *Cell*、*Nature*、*Science*、*Nature Biotechnology*、*Cell Stem Cell* 等多家刊物发表 SCI 论文一百余篇。获得国家自然科学奖二等奖、中科院杰出科技成就奖、何梁何利基金科学与技术进步奖等多项奖励。

中国及中国科学院干细胞与再生医学研究概述

周 琪

(中国科学院动物研究所, 北京 100101)

摘 要: 干细胞与再生医学研究已成为当今生命科学研究领域的前沿和热点, 日益表现出巨大的临床应用前景和产业潜力, 有望解决人类面临的重大医学难题。近年来, 我国干细胞与再生医学研究获得了突飞猛进的发展, 取得了多项重大成果, 已成为世界干细胞研究领域中的重要力量。概述了我国干细胞与再生医学研究的发展现状, 介绍了中国科学院“干细胞与再生医学研究”战略性先导科技专项的实施进展情况, 并为我国干细胞研究领域的发展提出了建议。

关键词: 干细胞; 再生医学; 中国科学院战略性先导科技专项

中图分类号: Q813

文献标志码: A

An overview of stem cell and regenerative medicine in China and at Chinese Academy of Sciences

ZHOU Qi

(Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: Stem cell and regenerative medicine represents one of the most important areas that is advancing life sciences. Stem cell research and its clinical application have promised a successful cure of a variety of serious human diseases such as neural degenerative diseases and injuries. Over the past decades, a blossom is appearing in

收稿日期: 2016-07-01

基金项目: 中国科学院“干细胞与再生医学研究”战略性先导科技专项(XDA01020101)

通信作者: E-mail: zhouqi@ioz.ac.cn

China in the field of stem cell research, and consequently, China is becoming an indispensable player in the global community of stem cell research and regenerative medicine. Here, we outline the current status of stem cell research and its clinical translation in China, focusing on the implementation of the Stem Cell and Regenerative Medicine Strategic Priority Research Program of Chinese Academy of Sciences, and put forward several suggestions for a sustainable development and brilliant future of the stem cell research in China.

Key words: stem cells; regenerative medicine; CAS Strategic Priority Research Program

干细胞是一类具有自我更新、高度增殖和多向分化潜能的细胞群体,可以进一步分化成为各种不同的组织细胞,从而构成机体各种复杂的组织和器官。干细胞可以应用到几乎涉及人体所有的重要组织器官及人类面临的许多医学难题,在细胞替代、组织修复、疾病治疗等方面具有巨大潜力。基于干细胞的再生医学研究代表了当代生命科学发展的前沿,正在引领现有临床治疗模式发生深刻变革,并成为新医学革命核心,将有望帮助人类最终实现修复和制造组织器官的梦想。

干细胞相关研究目前在国际范围内取得了一系列重大突破与进展,并呈现蓬勃发展态势。从1990年骨髓移植,到2007年胚胎干细胞技术成功应用于基因组编辑,再到2012年动物克隆及诱导多能干细胞技术研究,干细胞及其相关研究近年内三次获得诺贝尔生理与医学奖。近年来,我国干细胞与再生医学研究领域快速发展,整体研究水平跻身国际先进行列,已经逐渐成为一支世界范围内的重要干细胞研究力量。

1 中国干细胞与再生医学研究发展现状

1.1 我国大力支持干细胞与再生医学研究发展

近年来,我国将干细胞与再生医学研究确立为重要战略部署领域,对干细胞与再生医学的基础研究、关键技术、资源平台建设以及产业化发展给予了大力支持。2011年,科学技术部发布的《“十二五”生物技术发展规划》中将干细胞领域技术研发列为“十二五”期间重点突破的核心关键技术之一,重点布局干细胞领域的基础研究及技术研发。2012年,国务院印发的《生物产业发展“十二五”规划》中也高度重视再生医学与生物技术的融合,新型医用生物材料及组织工程器官的开发和产业化发展。

“十二五”期间,通过国家重点基础研究发展计划(“973”计划)、高技术研究发展计划(“863”计划)、国家自然科学基金、中国科学院战略性先导科技专项等,我国不断强化对干细胞与再生医学领域的资助强度和布局,已经累计投入约40

亿元用于支持相关研究。其中,“973”计划共投入9.92亿元支持项目45项;“863”计划支持项目1项,经费1.1亿元;中国科学院先导专项支持项目4项,经费8.09亿元。同时,国家自然科学基金也对该领域进行持续资助,每年资助经费4亿元左右。2015年,科学技术部将“干细胞研究与转化研究”设立为科技改革后首批重点研发计划的试点专项,计划“十三五”期间(2015~2020年)在干细胞基础与转化方面持续加强投入与布局,整体提升我国在干细胞及其转化应用领域的核心竞争力,加快科研成果的应用。

此外,我国重视干细胞研究临床转化的政策规范制定工作。2015年3月,为加强对干细胞临床研究的有效监管,国家卫生计生委和食品药品监管总局共同制定并发布《干细胞临床研究管理办法(试行)》、《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则(试行)》等文件。上述相关文件的出台改变了我国干细胞临床研究无规可循的状况,将促进干细胞临床研究的健康发展,并对我国干细胞与再生医学的转化研究及产业市场的形成发挥巨大的推动作用。

1.2 我国干细胞与再生医学领域发展快速,部分领域国际领先

政府的大力支持促进我国干细胞领域实现快速发展,我国干细胞领域研究已经跻身国际先进行列。根据中国科学院上海生命科学信息中心提供数据,2011~2015年,SCI数据库共收录干细胞相关论文115 697篇,其中我国发表论文19 145篇,仅次于美国,排名世界第2位。我国发表论文的年均增长率为26.12%,显著高于国际平均8.55%。此外,我国干细胞技术相关专利申请数也呈现整体大幅上升的态势,2011~2015年,我国干细胞技术专利申请总量2 248件,国际排名第2位。同时,我国在国际整体专利申请量的占比也大幅增长,从2011年的14.35%增长至2015年的26.12%,增加了11.77个百分点。

我国在体细胞重编程、多能性建立及其调控等

研究领域取得了众多有国际影响力的重大成果，如首次证实非胚胎来源的诱导多能性干细胞具有发育的全能性^[1-2]；阐明多能性因子的作用机制、DNA和RNA甲基化等表观修饰调控与多能性建立相互作用的途径和机制；率先发展利用小分子实现体细胞重编程和转分化^[3-4]、利用转分化途径快速制备神经干细胞和肝脏细胞等功能细胞^[5-9]、利用单倍体干细胞进行遗传筛选和遗传修饰等多种关键技术。

疾病动物模型研究是我国的优势领域，在包括小鼠、大鼠、猪、猴等不同模式动物的平台建设，和重要基因修饰技术的开发和使用方面取得了多项领先性成果，包括首次利用单倍体干细胞技术制备小鼠和大鼠转基因模型^[10-12]；利用CRISPR技术快速制备多基因敲除大鼠、获得基因突变的猪血液病模型和获得世界首例基因突变猴模型等^[13-16]。此外，针对干细胞临床应用的安全性和有效性评估，建立了若干猪和灵长类研究基地，能够为干细胞转化应用提供重要支撑。

在资源储备、转化应用和产业化方面，我国在北京、上海、广州等地建立了干细胞库，对基础研究和临床转化所需的重要干细胞资源进行储备。我国正在积极开展一批干细胞临床试验，包括利用干细胞治疗重症肝病、脏器缺损、视网膜色素变性、尘肺、脊髓损伤等，已在干细胞结合智能生物材料修复子宫壁治疗不孕不育症、干细胞改善重症肝病的肝功能等方面取得良好进展。市场上已经涌现出一批特色干细胞存储及产业化开发企业，一批基于成体干细胞的产品已经开展了临床试验。

2 中国科学院干细胞与再生医学研究概况

2.1 “干细胞与再生医学研究”先导专项总体实施情况

面对国家重大需求，同时针对制约我国以及国际干细胞与再生医学研究和应用发展的主要瓶颈问题，中国科学院于2011年正式启动实施“干细胞与再生医学研究”战略先导科技专项（以下简称干细胞先导专项），从重大理论突破、关键核心技术及干细胞临床应用三个方面出发，通过聚焦“细胞谱系的建立与发育调控”、“功能性细胞获得的关键技术”、“人工组织器官构建”和“干细胞应用研究”四个项目的研究，力争达到“发现干细胞生物学的基本规律，揭示干细胞在组织器官发生和形成及再生中的本质作用，发展精准调控干细胞的新策略，实现干细胞修复病理损伤和推动干细胞临床应用”

的总体目标。

干细胞先导专项依托于中国科学院动物研究所，主要承担单位包括上海生命科学研究院、广州生物医药与健康研究院、遗传与发育生物学研究所、生物物理研究所、昆明动物研究所等17家中国科学院院内单位及中国食品药品检定研究院、南京大学医学院附属鼓楼医院、第三军医大学等多家院外优势单位。专项五年经费概算为9.2亿元，实施五年实际批复到位经费为8.09亿元。

干细胞先导专项实施五年以来，在干细胞前沿领域取得了一批国际瞩目的重大理论突破，建立了一系列有重要影响力的原创干细胞研究技术系统，纵向连接干细胞基础理论研究和临床转化应用，为干细胞和再生医学的研究与发展起到引领及示范作用。根据中国科学院上海生命科学信息中心提供数据，中国科学院在国际机构年度发文量的国际排名已经从2010年的42位跃升至2015年的第3位；年度专利申请数的国际排名2015年已上升至第2位，整体进入国际第一阵营。同时，以科学院相关研究所为基础、下探各大临床医院、形成辐射全国的干细胞研究与再生医学转化网络，取得一系列具有重大临床应用前景的突破。到目前为止，专项已开展了1000余例干细胞临床研究。

2.2 干细胞先导专项代表性成果简要介绍

干细胞先导专项紧紧围绕总体目标，经过五年的艰苦努力，取得了一系列对于解决干细胞领域重大科学问题具有重要意义、获得国际学术界广泛承认的重要成果。

2.2.1 中国科学十大进展

(1) 揭示Tet双加氧酶在哺乳动物表观遗传调控中的重要作用。专项研究人员通过合作研究揭示了Tet3介导的DNA羟甲基化调控了受精卵内父本DNA表观遗传的重新编程，而且也影响动物克隆过程中体细胞核的再编程。这一工作对于我们理解早期发育的表观遗传调控、受精卵全能性的成因具有重要的理论意义；对于鉴定iPS质量、提高动物克隆的效率和质量等也具有重要的指导价值。该成果入选2011年度“中国科学十大进展”。

(2) 证实单倍体孤雄干细胞具有可替代精子和快速传递基因修饰的能力。专项多个研究团队合作，在单倍体胚胎干细胞领域取得了理论概念上的重要突破——在国际上首次建立了孤雄囊胚的单倍体胚胎干细胞系；首次实现了利用基因修饰的单倍体胚胎干细胞获得健康成活的转基因哺乳动物。该成

果入选 2012 年度“中国科学十大进展”。

(3) 成功将小鼠成纤维细胞转化为功能性肝细胞样细胞。首次证实了在抑制细胞衰老机制的前提下, 转入 3 个在小鼠肝脏发育及功能中起重要作用的转录因子, 即可将小鼠尾巴上的成纤维细胞转化成肝脏细胞。该成果入选 2011 年度“中国科学十大进展”。

2.2.2 国家自然科学奖二等奖

(1) 体细胞重编程机制研究取得重大突破。在维生素 C 提高重编程的效率和获得细胞的质量、细胞在间充质和上皮状态之间的转换对重编程的调控机制等方面取得了重大突破。该系列成果获得 2013 年度国家自然科学奖二等奖。

(2) 哺乳动物多能性干细胞的建立与调控机制研究取得重大突破。在诱导性多能干细胞和人类胚胎干细胞的获得与细胞重编程机理研究方面取得了多项突破性成果, 利用诱导性多能干细胞技术首次获得非胚胎来源的健康动物, 推动了该技术的建立、普及与应用, 完善了发育生物学理论。该系列成果获得 2014 年度国家自然科学奖二等奖。

2.2.3 前沿基础研究取得系列重大突破

(1) 构建早期胚胎三维细胞谱系。结合激光显微切割以及单细胞测序等先进技术, 绘制了小鼠早期发育原肠运动中期精细的胚胎三维分子图谱, 并揭示了小鼠细胞谱系蓝图建立过程中的空间转录组特征、转录因子和信号通路调控网络, 为认识干细胞的全能性与分化潜能以及干细胞转化医学应用提供了全新的视角和理论指导。

(2) 发现乳腺干细胞的细胞表面标记基因。首次发现成体乳腺器官中存在着未分化的干细胞, 这些干细胞特异性地表达蛋白 C 受体基因, 并揭示了该分子在三阴性乳腺癌中的高表达特性以及和患者愈后明显相关的现象。该研究成果为靶向治疗乳腺癌提供新思路、奠定了应用的基础。

(3) 创造出新型干细胞, 颠覆传统生殖理论。创造出一种新型的干细胞——异种杂合二倍体胚胎干细胞, 这是首例人工创建的、以稳定二倍体形式存在的异种杂合胚胎干细胞, 为研究进化上不同物种间性状差异的分子机制和 X 染色体失活提供了新型的有利工具。

2.2.4 核心关键技术建立多项原创系统

(1) 新型基因编辑技术与疾病治疗。成功建立了单倍体孤雄胚胎干细胞系和单倍体孤雌胚胎干细胞系, 并开展猴帕金森病治疗。成功利用 CRISPR-

Cas9 技术治疗小鼠白内障遗传疾病, 并继续开发可用于其他疾病的 CRISPR-Cas9 治疗体系。通过对上述新型基因组编辑技术的联合研究, 为相关疾病的干细胞治疗和基因矫正提供了技术可能。

(2) 建立肌肉干细胞体外长期培养系统, 实现肌肉干细胞在体外扩增。建立了肌肉干细胞体外长期扩增和传代的体系, 在此系统中肌肉干细胞由原来的无法传代变为可以在体外连续传代 40 次, 细胞数增长了 1×10^{35} 倍。同时还鉴定出了能够帮助肌肉干细胞在体外传代并保持干性的四种细胞因子。在不久的将来很可能为肌肉退行性疾病的治疗提供解决方案。

(3) 完成国内首套近红外二区小动物荧光成像系统研制, 并实现了国产生物医学影像设备的美国出口。将近红外二区活体影像系统的光谱响应范围扩展到 400~1 700 nm, 涵盖了目前主流的可见光区和近红外一区荧光成像, 以及近红外二区荧光成像。已为多家研究机构提供影像服务, 并已与国际顶级生物医学工程研究机构美国 EMORY 大学生物医学工程系签订了销售合同, 实现了国产生物医学影像设备的美国出口。

2.2.5 临床转化研究取得一批瞩目进展

(1) 建立全国首家临床级干细胞库。专项团队建立了我国首家临床级干细胞库——北京干细胞库, 获得我国首批经中国食品药品检定研究院检测的临床级胚胎干细胞系, 并开展了基于临床级干细胞系的规范化临床试验。为我国临床级干细胞检测提供了标准参照系, 对基础研究和临床转化所需的重要干细胞资源进行储备, 大力推进了我国干细胞临床应用的发展。

(2) 开展世界首例临床级干细胞治疗出血性老年黄斑变性的临床移植研究。进行了世界首例临床级干细胞分化的视网膜色素上皮的出血性老年黄斑变性和中国首例青少年性黄斑变性的临床移植研究。截至 2015 年 12 月, 已顺利完成了 3 例出血性双眼老年性黄斑变性和 5 例青少年性黄斑变性的手术, 所有患者视物遮挡感消失, 3 位接受 hESC-RPE 移植的患者视力均有提高, 将对临床移植研究的安全性和有效性进行进一步评估。

(3) 获得我国首例子宫内膜再生再造产生的健康临床研究婴儿。研发出了能够引导子宫内层再生的胶原生物材料, 并与南京鼓楼医院合作, 自 2013 年开始开展了自体骨髓干细胞结合胶原生物材料修复子宫内层的小病例临床研究。2014 年 7 月 17 日,

全国第一例子宫内膜再生婴儿诞生。首批 11 例入组的有效病例中已有 8 人怀孕，已诞生 8 名健康宝宝。该成果引起了社会的巨大反响，中央电视台的《新闻联播》等栏目已对该项目的研究成果进行深入报道。

(4) 完成我国首例基于人源性细胞来源的新型生物人工肝临床试验。在将人成纤维细胞转分化为功能肝细胞 (hiHep 细胞) 的基础上，成功将其扩增至临床治疗数量级的数目，并填充入生物人工肝。采用 hiHep 细胞的生物人工肝救治的急性肝衰竭猪存活率在 80%，存活后猪各项生理指标都逐步恢复到正常水平。2016 年初，完成了第一例基于 hiHep 细胞的生物人工肝系统的临床治疗试验，救治了一位有 40 多年乙肝病史，近期出现肝功能衰竭患者。患者各项肝功能指标恢复良好，渡过了危险期。

(5) 打开了利用生物材料方法修复脊髓损伤临床研究的大门。研发出了能引导脊髓再生的功能生物材料，完成了神经再生胶原支架的型式检测，开展了多批次的功能生物材料移植治疗大鼠和犬全横断脊髓损伤的动物实验。在此基础上，于 2015 年 1 月开始，开展了神经再生胶原支架移植治疗急性和陈旧性全横断脊髓损伤的临床研究。结果显示生物材料与手术安全性良好，急性脊髓损伤受试者出现明显的运动功能恢复，陈旧性损伤部分受试者出现感觉、运动神经功能获得改善，初步结果令人鼓舞。

3 对我国干细胞与再生医学研究发展的建议

经过多年发展，我国干细胞研究近年来取得了长远的进步，但是，与美欧日等国家相比，我国在干细胞及转化研究领域仍存在一些差距。比如：我国专利整体申请量位居国际前列，但 PCT 专利的申请量较低，仅占我国专利申请总量的 2.5%，而美国这一比例高达 57%；在全球已经注册的干细胞相关临床试验的 5 300 余项研究中，我国只有 300 余项，与美国的 2 800 余项差距显著；我国已经注册的临床试验多以成体干细胞为主，在代表干细胞与再生医学发展趋势的多能干细胞转化应用方面较为欠缺；在国际 500 余种干细胞药物研发中我国仅有不到 10 项，并且目前尚无规范化的干细胞转化应用和干细胞产品上市。此外，我国干细胞治疗相关的技术规范、标准、伦理等研究相对滞后，特别是缺乏专门从事干细胞质控和标准研究的队伍和学术机构。这些都影响了我国干细胞与再生医学研究和转化应用的健康发展。

稳步支持并进一步加大资金投入。与世界干细胞研究强国相比，我国的资金投入仍然相对不足。建议稳步实施干细胞研究重大研发计划，继续扩大干细胞基础与应用研究的国家投入，并积极推进社会资本对干细胞基础与应用研究的投入，为我国人口健康和生物产业的发展提供保障。

加强研究机构和基础设施的建设。结合我国干细胞研究的现有基础，在全国范围内建立若干国家级干细胞与再生医学研究机构或支撑平台、国家级干细胞库，集中优势力量，围绕干细胞研究的基础与应用领域的重大科学问题与重要科学技术分类集中攻关，为干细胞产业发展提供服务和支撑。

推动创新工作向应用领域的发展。针对我国干细胞基础与临床研究创新性不足等特点，我们应该支持科研人员开展源头探索，创建原创性、具有自主知识产权的理论与技术，逐步建立与完善以开展干细胞领域原创性工作为导向的考评体制。同时，加速推动创新工作在重大疾病研究和治疗中的应用，实施积极的符合我国干细胞与再生医学转化研究发展的产学研政策，指导我国干细胞研究的稳步快速发展。

进一步完善干细胞临床监管体系。我国政府部门已相继制定出台了一系列干细胞临床研究的相关管理制度和规范，初步建立起干细胞临床研究的监管体系。为了使我国干细胞临床应用更具规范性和合理性，建议在发展干细胞临床转化、产业化的过程中，进一步完善政府与市场，科研机构、医疗机构与生物技术企业关系，政府职能定位等关键问题，在相应的宗教伦理问题、应用风险、医疗保险与费用设定、保障机制、市场和公众监督做好公众讨论与管理预案，有步骤地推进干细胞临床应用和相应产业的发展。

[参 考 文 献]

- [1] Zhao XY, Li W, Lü Z, et al. iPS cells produce viable mice through tetraploid complementation. *Nature*, 2009, 461: 86-90
- [2] Kang L, Wang JL, Zhang Y, et al. iPS cells can support full-term development of tetraploid blastocyst-complemented embryos. *Cell Stem Cell*, 2009, 5: 135-8
- [3] Hou PP, Li YQ, Zhang X, et al. Pluripotent stem cells induced from mouse somatic cells by small-molecule compounds. *Science*, 2013, 341: 651-4
- [4] Cheng L, Hu WX, Qiu BL, et al. Generation of neural progenitor cells by chemical cocktails and hypoxia. *Cell Res*, 2014, 24: 665-79

- [5] Sheng C, Zheng QY, Wu JY, et al. Direct reprogramming of sertoli cells into multipotent neural stem cells by defined factors. *Cell Res*, 2012, 22: 208-18
- [6] Huang PY, He ZY, Ji SY, et al. Induction of functional hepatocyte-like cells from mouse fibroblasts by defined factors. *Nature*, 2011, 475: 386-9
- [7] Yu B, He ZY, You P, et al. Reprogramming fibroblasts into bipotential hepatic stem cells by defined factors. *Cell Stem Cell*, 2013, 13: 328-40
- [8] Huang PY, Zhang LD, Gao YM, et al. Direct reprogramming of human fibroblasts to functional and expandable hepatocytes. *Cell Stem Cell*, 2014, 14: 370-84
- [9] Du YY, Wang JL, Jia J, et al. Human hepatocytes with drug metabolic function induced from fibroblasts by lineage reprogramming. *Cell Stem Cell*, 2014, 14: 394-403
- [10] Yang H, Shi LY, Wang BA, et al. Generation of genetically modified mice by oocyte injection of androgenetic haploid embryonic stem cells. *Cell*, 2012, 149: 605-17
- [11] Li W, Shuai L, Wan HF, et al. Androgenetic haploid embryonic stem cells produce live transgenic mice. *Nature*, 2012, 490: 407-11
- [12] Li W, Li X, Li TD, et al. Genetic modification and screening in rat using haploid embryonic stem cells. *Cell Stem Cell*, 2014, 14: 404-14
- [13] Li W, Teng F, Li TD, et al. Simultaneous generation and germline transmission of multiple gene mutations in rat using CRISPR-Cas systems. *Nat Biotechnol*, 2013, 31: 684-6
- [14] Wu YX, Liang D, Wang YH, et al. Correction of a genetic disease in mouse via use of CRISPR-Cas9. *Cell Stem Cell*, 2013, 13: 659-62
- [15] Hai T, Teng F, Guo RF, et al. One-step generation of knockout pigs by zygote injection of CRISPR/Cas system. *Cell Res*, 2014, 24: 372-5
- [16] Niu YY, Shen B, Cui YQ, et al. Generation of gene-modified cynomolgus monkey via Cas9/RNA-mediated gene targeting in one-cell embryos. *Cell*, 2014, 156: 836-43