

胚胎干细胞及其在人类疾病治疗中的应用

邱妍, 谢冰, 芮荣

(南京农业大学动物医学院, 江苏南京 210095)

摘要: 胚胎干细胞是一类多能性干细胞, 近年来已成为生命科学研究领域的热点之一。尤其在人类疾病治疗方面有着诱人的应用前景。本文主要介绍了胚胎干细胞在几种疑难疾病治疗上的应用及其前景, 胚胎干细胞与异种器官移植, 以及目前存在的一些问题。

关键词: 胚胎干细胞; 分化; 疾病; 移植

胚胎干细胞 (Embryonic stem cells, ES) 来源于着床前的囊胚内细胞团 (ICM) 或早期胚胎的原始生殖细胞 (PGCs)。这种多能性细胞可在体外无限增殖并保持未分化状态, 适当条件下也可被诱导分化为各种组织细胞。因此, 其在良种家畜的繁育, 保护日趋减少的遗传资源, 动物克隆, 细胞分化和胚胎发育的研究, 基因调控机理等方面表现出重要的意义, 尤其在组织器官的修复与移植治疗上有着潜在的应用价值。近年来, ES 细胞在疾病治疗方面的独特作用引起了全世界学者的广泛关注。

1 ES 细胞的生物学性质

1.1 形态学特征

ES 细胞的形态结构与早期胚胎细胞相似, 胞体体积小, 核质比高, 细胞核显著, 有一个或两个核仁。细胞呈多层集落状生长, 紧密地聚集在一起, 细胞界限不清, 形似鸟巢。细胞染色体正常, 具有稳定的二倍体核型。

1.2 高度分化潜能

体外培养的 ES 细胞在饲养层细胞上、条件培养基或添加细胞分化抑制因子(如 LIF)的特定条件下, 均可以维持其未分化状态。一旦将抑制分化的因素去除, ES 细胞能自发地进行分化。若采用悬浮培养, ES 细胞则可以形成类胚体 (Embryoid body, EB), 再利用某些物质对其进行诱导分化。在体内, 若将 ES 细胞注射到基因型相同或免疫缺陷小鼠的皮下或肾囊中, 经一段时间后在注射部位可形成由三个胚层细胞组织构成的畸胎瘤。

1.3 遗传稳定性

ES 细胞可在体外培养条件下建立稳定的细胞系, 经长期培养增殖、操作、选择克隆、冷冻保存, 仍保持高度未分化状态和发育稳定性。ES 细胞含正常二倍染色体, 能稳定传代。可以在体外对其进行遗传操作, 如导入外源基因、标志基因, 基因敲除等, 通常不会改变其本身的遗传性能。

1.4 具有特异性标志分子的表达

ES 细胞表面含有丰富的碱性磷酸酶 (AKP) 和阶段特异性胚胎细胞表面抗原 (stage-specific embryonic antigens, SSEA), 胚胎特异性抗原 SSEA-1、SSEA-3、SSEA-4、TRA-1-60 和 TRA-1-81 等。ES 细胞还含有高度表达的 Oct-4 基因, 高活性的端粒酶。这些分子都是鉴定 ES 细胞多能性的标志分子。

2 ES 细胞的定向分化

从理论上讲, 多能性干细胞可分化为体内任何类型的细胞。因此在适宜条件下, 可以按照人们的意愿对 ES 细胞进行定向分化。现有的研究报道表明, ES 细胞在体外可以定向分化为神经元、神经胶质、胰岛细胞、心肌细胞、横纹肌细胞、平滑肌细胞、软骨细胞、内皮细胞、脂肪细胞及各类血细胞等。

对 ES 细胞进行定向分化的基本方法是改变细胞的培养条件, 主要是向培养基中添加生长因子、化学诱导剂等, 或将 ES 细胞与其他细胞一起培养, 也可以将 ES 细胞接种在适当的底物上。目前常用于 ES 细胞定向分化的生长因子有: 表皮生长因子 (EGF)、血小板衍生生长因子 (PDGF)、碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF)、成纤维细胞生长因子 2 (FGF-2)、血管内皮生长因子 (VEGF)、转化生长因子 β 1 (TGF- β 1)、肝细胞生长因子 (HGF)、神经生长因子 (NGF) 等; 常用的化学诱导剂有二甲亚砜 (DMSO)、维甲酸 (RA)。

3 ES 细胞在人类疾病治疗中的应用

对于因疾病造成组织细胞损伤的患者而言, ES 细胞提供了一个器官、组织移植修复的来源。目前研究较多的是一些多发而又难以治愈的严重疾患, 如神经系统疾病、糖尿病、心脏病、肝脏疾病、癌症、重度烧伤或创伤、骨及骨关节病等等。

3.1 在神经系统疾病治疗中的应用

许多神经系统疾病实际上是由于神经细胞的缺失所致, 这些细胞如果得不到新生细胞的补充, 所形成的疾病就不可能治愈。帕金森病是由于多巴胺能神经元退化变性引起的, 阿尔茨海默氏病是由于产生神经递质的细胞死亡引起的。对于脊髓损伤、多发性硬化病, 轴突脱髓鞘是导致其功能丧失的一个主要因素。在脑损伤或脑卒中的患者脑内, 也存在多种不同类型细胞的死亡或损伤。而且人类社会正在步入老龄化, 一些伴随脑或脊髓相应部位的特定神经元死亡的老年性疾病显得越发重要。通过诱导 ES 细胞分化形成新的神经组织细胞并进行移植修复有望治愈这些疾病。

早在 1995 年, Bain 就采用先形成类胚体, 再用 RA 诱导的方法分化出神经细胞^[1]。1999 年又有学者用同样的方法将 ES 细胞在体外诱导分化为少突胶质细胞、星形胶质细胞和神经元^[2]。Brustle 等 (1997) 将 ES 细胞分化的少突神经胶质前体细胞移植到髓鞘缺失突变大鼠的脊柱中, 最终髓鞘化形成轴索^[3]。后来又有人试验证明了将 ES 细胞分化的少突胶质细胞移植到体内后, 它们可迁移到周围宿主组织中, 产生鞘磷脂, 使轴突髓鞘化^[4]。2002 年有报道首次用 ES 细胞分化产生的多巴胺神经元移植到纹状体治疗帕金森大鼠模型获得成功^[5]。次年又有实验室证明 ES 细胞分化的神经前体不仅可以在移植到脑或脊索后发育成形态上成熟的神经元和神经胶质, 而且可以产生具有能够整合到脑回的功能活性神经元^[6]。Calhoun 等 (2003) 采用先将恒河猴的 ES 细胞在补充了 50% MED II 的培养基里形成类胚体, 7 天后变为贴壁培养的方法, 将其分化为神经元或神经前体细胞, 为灵长类神经变性疾病的细胞修复治疗提供了一个模型^[7]。

3.2 在心脏疾病治疗中的应用

冠心病、心肌病等各种原因所致心肌损伤的共同特点是, 具有完整收缩功能的心肌细胞的数量相对或绝对减少。心肌缺乏再生修复能力, 这种不可逆转的病理过程是治疗心衰的最棘手问题。增加具有完整收缩功能的心肌细胞数目, 应该是有效治疗心肌损伤的关键。因此诱导 ES 细胞分化成心肌细胞进行修复也就成了当前研究的热点。

目前, 已从鼠、兔、猪、灵长类的 ES 细胞系分化出了心肌细胞。Klug 等 (1996) 把小鼠 ES 细胞分化后又通过基因操作纯化得到的心肌细胞移植到成年小鼠的心脏, 7 周后证明移植的心肌细胞已成功地整合到宿主心肌细胞之间^[8]。Paquin 等 (2002) 通过小鼠试验证明催产素也可诱导 ES 细胞分化为心肌细胞, 并且比 DMSO 诱导的提前了 3~4 天^[9]。Min 等 (2002) 将带有绿色荧光蛋白标记的 ES 细胞注入由于心肌梗死造成的损伤心肌, 植入的 ES 细胞能够进行分化而且存活, 并且从损伤后细胞移植心脏分离得到的单个心肌细胞绿色荧光蛋白呈阳性^[10]。也有试验报道将小鼠 ES 细胞在体外分化为不同类型的心肌细胞, 如前房肌细胞、心室肌细胞、窦房结细胞、Purkinje 细胞等。心肌标志性蛋白、受体、离子通道均显阳性表达^[11]。同年又有报道通过 TGF- β /BMP2 信号通路的调节可以将鼠 ES 细胞直接分化为心肌细胞^[12]。

最近有学者提出ES细胞分化的心肌细胞发育受到心肌特殊转导因子如锌指GATA蛋白和NK_x-2.5的调节^[13]。并且已有人成功地从人类ES细胞系分化出了心肌细胞,为人类心肌修复打下基础^[14]。

3.3 在糖尿病治疗中的应用

糖尿病是一种严重危害人类健康的疾病,并且患病率不断上升,目前仍缺乏有效的根治方法。临床上通常采用皮下注射胰岛素来治疗I型及部分II型糖尿病,但效果不够理想,且难以阻止糖尿病并发症的发生及发展。对于已经丧失胰岛细胞功能的患者来说,植入胰岛β细胞或其替代物不失为一个好方法。因此近年来对ES细胞的研究为治愈糖尿病带来了希望。

Lumelsky等(2001)的研究表明尼克酰胺可促进小鼠ES细胞向胰岛分泌细胞分化。将源于小鼠ES细胞的未成熟胰岛细胞置于无血清的培养液中培养,筛选出nES细胞tin阳性的细胞,再进一步诱导分化,可得到纯度较高的胰岛分泌细胞^[15]。Soria等(2000)将含有人Ins/βgeo基因及PGK-hygro基因的DNA转入到小鼠ES细胞中,用潮霉素或新霉素筛选并在低糖浓度下将这种细胞诱导分化为胰岛分泌细胞。将其植入链脲佐菌STZ诱导的糖尿病小鼠脾内,可使小鼠血糖恢复正常^[16]。也有人采用四步法将小鼠ES细胞成功地诱导分化为胰岛样细胞簇(PICCs),并移植到由一种抗肿瘤抗生素诱导糖尿病的鼠体内,有效降低了高血糖水平^[17]。Schudiner等(2000)通过培养人ES细胞使其自发形成类胚体,类胚体又可以自发分化成胰岛β细胞^[18]。也有人应用bFGF将人ES细胞诱导分化为胰岛分泌细胞^[19]。

ES细胞可定向诱导分化为胰岛细胞,为研究人员及医生提供了治疗糖尿病的新思路。深入了解胰腺的个体发育机制及ES细胞定向分化为胰岛细胞的分子调控机制,将会加快糖尿病细胞治疗的研究。

3.4 在肝脏疾病治疗中的应用

近年来,肝脏疾病的发病率很高,如肝炎、肝硬化等,但临床治疗效果不佳。ES细胞的研究让医学家有了一种新疗法。

虽然对ES细胞诱导分化为肝细胞的研究开展较晚,但进展很快。Hamazaki等(2001)研究发现,ES细胞可在体外培养的条件下转化为肝细胞,并检测到了甲胎蛋白、白蛋白、转铁蛋白、代表肝细胞活性的酪氨酸转氨酶(TAT)和葡萄糖-6-磷酸脂酶,还观测到了SEK1的表达(一种肝脏发生早期肝细胞活性信号基因),并推测各种生长因子如GF、HGF、TGF在ES细胞分化为肝细胞的过程中起着重要作用^[20]。还有研究表明,ES细胞可在体外培养的条件下转化为肝细胞,并表达早期分化肝细胞特有的β-牛乳糖,同时检测到了甲胎蛋白、白蛋白、转铁蛋白,还证明了分化的肝细胞表现出和异体肝细胞很好的组织相容性^[21]。Miyashita等(2002)在体外将ES细胞分化为肝细胞,并通过RT-PCR和定量PCR分析显示这些细胞有大范围的肝脏基因表达,此研究为肝脏疾病的细胞修复治疗提供了一个理论依据^[22]。也有学者证明了ES细胞注射到免疫抑制小鼠的肝脏后,能够分化为不同成熟期的肝脏细胞^[23]。最近有人报道,将ES细胞分化得到的肝细胞移植到经四氯化碳致损的小鼠肝脏,发现带有绿色荧光标记的细胞能够融合到肝脏组织,并且缓解了小鼠的肝损伤^[24]。

在HGF、β-NGF的作用下,小鼠ES细胞被诱导分化为肝细胞,而RA无此作用^[25]。胡安斌等(2003)也选用Balb/c小鼠进行试验,结果显示ES细胞经过类胚体发育阶段,在特定培养条件和α-FGF、HGF等生长因子的作用下,可定向分化为肝细胞,并认为这种细胞分化系统有望成为肝细胞替代疗法中的新型肝细胞来源^[26]。

3.5 在癌症治疗中的应用

患恶性肿瘤病人的造血功能在化疗过程中受到严重损伤,而完全靠自身是难以恢复机体全部免疫功能的。如果将诱导分化后的ES细胞移植给接受大剂量放疗和化疗的病人,则有望恢复患者的造血和免疫功能。免疫功能对于癌症患者的治疗来说很重要,因为无论采用免疫治疗还是肿瘤疫苗治疗都必须依赖于机体自身免疫功能。从这种意义上讲,ES细胞为癌

症的治疗带来了新的突破。

ES细胞向造血系统分化方面的研究较早,自80年代初小鼠ES细胞系建立以后就开始了。最初的研究多是利用可溶性细胞因子诱导细胞的分化,如白细胞介素IL-1、IL-3、IL-6。但是利用可溶性细胞因子进行ES细胞的诱导分化,容易促进造血干细胞的分化,不利于获得造血干细胞;另一类诱导分化途径是与造血基质细胞相互作用,造血组织的贴壁层可有效诱导ES细胞向造血干细胞分化,并进一步成熟为红细胞、骨髓细胞和淋巴细胞。Kaufman等(2001)报道了人ES细胞分化为造血集落形成细胞的技术路线,及采用小鼠的贴壁层诱导人ES细胞向造血细胞的分化^[27]。何志旭等(2003)的试验证实,使用“骨髓基质细胞饲养层+胎肝基质细胞上清”培养体系及SCF、VEGF、IL-3、IL-6、促红细胞生成素(EPO)等细胞因子,通过两阶段的诱导分化,可从小鼠ES细胞获得较高比例的造血干细胞^[28]。国内还有人研究探讨了应用小鼠骨髓间充质干细胞和ES细胞共培养作为一种新的分化体系的可行性,结果证明这种共培养体系来源的类胚体产生造血集落的能力显著高于悬浮体系^[29]。周其锋等(2003)则证实体外诱导小鼠ES细胞分化为CD⁺₃₄造血干细胞,将这些细胞注射入致死量照射小鼠后,可提高小鼠存活率达86.67%,而未注射分化细胞的对照组小鼠在6~12天内全部死于造血衰竭。从存活小鼠的骨髓和脾脏中均可检测到供体来源的细胞^[30]。

研究者正在设计一种新方法,将来源于ES细胞的特殊细胞锚定到特定癌细胞上,从而直接将可破坏和修饰癌细胞的药物送至癌细胞。

3.6 在烧伤和创伤治疗中的应用

在日常生活中,由于各种原因造成的大面积烧伤和创伤屡有发生。目前临床上主要靠自体皮肤移植进行整形修复,但有些严重病人根本无法移植,形成的永久性疤痕给患者身心造成了极大的痛苦。自ES细胞建系成功以来,研究发现ES细胞可以诱导分化为表皮干细胞,进而移植到患者皮肤进行修复。

表皮干细胞位于毛囊上部皮脂腺与立毛肌之间的毛囊隆突部位,向表面迁移形成角化细胞,向深部迁移分化为毛囊和皮脂腺^[31]。早在1996年,Bagutti等人利用小鼠ES细胞形成类胚体后,在2~15天及21天分别有细胞角蛋白CK8和CK19、CK10和CK14的表达,并证明为表皮样干细胞^[32]。曾有学者报道,人羊膜的基膜中含有IV型、V型胶原和层粘连蛋白,人羊膜的上皮细胞可分泌碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、表皮样生长因子(EGF)、β转移生长因子(TGF-β)、白细胞介素(IL)-1、4、6、8,内皮素(endothelin-1)等多种细胞因子。这些因子具有促进表皮生长,加速伤口愈合的作用^[33]。近年来,国内也有试验证明,与人羊膜共培养,能诱导ES细胞分化为表皮样干细胞,并推断人羊膜上皮分泌的可溶性物质可能对ES细胞向表皮样干细胞的分化有重要作用。至于哪种或哪些因素能诱导ES细胞分化为表皮样干细胞尚待进一步研究^[34]。

3.7 在骨和软骨疾病治疗中的应用

目前,由于骨和软骨细胞数量不足或功能缺陷引起的骨和软骨缺损在临床上很常见,如遗传性成骨不全、软骨发育不良、关节软骨区受损性关节炎、因骨折或手术引起的严重损伤等。一般情况下,骨细胞具有自我修复功能,但若是严重损伤或功能缺陷,就会形成永久性缺损。

在体外培养条件下ES细胞可被诱导分化为骨、软骨细胞,但这方面的研究不多。Zuk等人证实含有地塞米松、β-甘油磷酸、维生素C的培养液或与成骨细胞共培养均可促进ES细胞向成骨细胞的分化^[35]。

此外,ES细胞还可用于药理研究,促进新药开发。人ES细胞的建系意味着在体外可无限获得人类各种组织的正常细胞,大量而稳定的正常人类细胞供应为药物的筛选、鉴定和毒理研究提供了坚实的基础,而且这些细胞高度表达的端粒酶在自我复制更新过程中并不影响对其进行的基因打靶等遗传修饰,这有助于建立人类疾病的细胞模型以便开发出新型特效

药物。

4 猪ES细胞与异种移植

由于 ES 细胞在体外发育成一完整的器官，尤其是心、肝、肾、肺等精细复杂的器官，还需要长时间的研究和技术上的进一步突破。因为器官的形成是一个非常复杂的三维立体过程，每个细胞要获得营养并排泄代谢产物，在分化的组织中需要产生血管，组织血管化研究目前还处于起步阶段。退一步讲，即使是发育完整的来自健康个体的器官，要离体培养并维持其正常的生理功能目前还无法做到。异种移植不仅可解决器官的短缺，还可提前预订器官，让医生有时间做好充分准备，因此异种器官移植就成了众多学者关注的焦点。

在未解决种间移植的免疫排斥反应前，异种移植似乎是不可能的事情，但 ES 细胞能够使其在不远的将来成为可能。移植排斥主要是组织相容性问题。异种移植的一个最大优势是在整体水平上对异种移植供体动物进行基因操作，即根据需要繁殖经过转基因或基因敲除的供体动物。ES 细胞的特有生物学特性使得基因操作可以在细胞中进行，这比在整个动物身上做试验容易的多，克服免疫排斥的成功率也就大大提高。因为 ES 细胞即使经遗传操作后仍能稳定地在体外增殖传代，以其为载体在体外进行定向改造，敲除非必需或可被替代的特定基因，再通过核移植生产出所需的转基因动物，就可以解决人供体器官和组织的严重缺乏问题。

在移植器官供体动物的选择上，起初认为灵长类应该是最佳供体，但考虑到各方面的因素，科学家们最终把目标锁定在猪上。其主要原因是，猪的器官大小和人的相似，解剖结构与人也相同，生理指标相近；猪的血型抗原和人类接近；猪生长周期短，投资少、经济，便于 SPF 化；猪是非灵长目动物，也是非保护动物，每年有数千万猪被屠宰，用它做器官供体，引起的伦理道德及和安全有关的问题显著减少。

正是由于猪具有作为器官供体的显著优势，近年来医学界对猪的研究日益增多。2001 年 4 月，曾经参与克隆出多莉羊的英国 PPL 公司宣布，该公司研究人员成功地培育出了 5 只“转基因克隆猪”。这 5 只克隆猪是使用经过基因改造的猪细胞克隆出来的，DNA 里含有一个外源标志基因。这是人类首次培育出转基因克隆猪，标志着异种器官移植研究迈出了重要的一步。2002 年 1 月，该公司研究人员又培育出 5 只新型转基因克隆猪，DNA 试验表明它们体内的两个 CT 基因 ($\alpha 1,3$ -CAL 半乳糖分子) 有一个被“关闭”了^[36]。

总的来说，猪 ES 细胞的建系，并对其进行基因操作进而生产转基因猪，是实现异种器官移植的极其重要的一步，必将为人类医学的发展作出重大贡献。

5 存在问题与展望

虽然在动物试验中 ES 细胞定向分化为各种类型的细胞并移植到受损部位已有很多成功的例子，但真正进入人体试验研究并成功地用于治疗疾病还需要时间。

提取人 ES 细胞的胚胎获得，涉及到伦理道德问题，受不同法律规范的制约，并且研究 ES 细胞的临床应用时，会触及体细胞克隆技术，会损坏人类早期胚胎。这些研究是不是对人类胚胎的亵渎，是不是对人权的侵犯等，国际科学界争论十分激烈。

另外，ES 细胞的研究目前还不成熟，存在一些技术难题。

ES 细胞极易分化，如何在体外扩增时维持其未分化状态？研究表明多种细胞生长因子配合使用效果好，但哪几种添加因子配合好，其最佳剂量为多大，还需进一步研究。

如何定向诱导 ES 细胞分化？细胞分化是多种细胞因子相互作用引起细胞一系列复杂的生理生化反应的过程，因而要诱导产生某种特异类型的组织，需要了解各种因子在何时何地开始作用，以及何时停止作用。并且如何诱导定向分化成单一类型的分化细胞，是个很难解决的问题。ES 细胞高度未分化，具有形成畸胎瘤的可能性，为保证细胞均质性，避免体内

畸胎瘤的产生，必须研究出一种更好的细胞筛选方法。

如何克服移植排斥反应？目前的方法有，建立 ES 细胞库，提供多个主要组织相容性抗原位点以供 MHC 配型的需要；或建立普遍适用的供体细胞系，对 MHC 进行遗传学修饰；或用同源重组方法，通过核移植将受体 MHC 基因导入 ES 细胞；也有人提出应用微囊化技术。但是究竟哪种方法好，还要通过大量试验进一步探索。

如何避免异种移植所引发的人畜共患病？怎样对供体猪更好的 SPF 化来避免这种危险性的发生，是研究人员必须解决的一个关键性问题。

此外，还有很多问题是需要进一步研究的。比如 ES 细胞维持未分化状态的内在控制机制，指导 ES 细胞向某一特定途径分化形成某一特定细胞的内在机制，引导 ES 细胞在组织中定位的因素等等。

ES 细胞的应用将在生命科学领域引起一场新的变革。虽然在此技术真正进入到实际应用之前还有一段曲折的路要走，但毋庸置疑的是 ES 细胞研究和应用前景是相当广阔的！

参考文献：

- [1] Bain G, Kitchens D, Yao M, *et al.* Embryonic stem cells express neuronal properties in vitro [J]. *Dev Biol*, 1995, 168: 342-357.
- [2] McDonald JW, Liu XZ, Qu Y, Liu S, Mickey SK, *et al.* Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord. [J]. *Nat Med*, 1999, 5(12): 1410-1412.
- [3] Liu S, Qu Y, Stewart TJ, *et al.* Embryonic stem cells differentiate into oligodendrocytes and myelinate in culture and after spinal cord transplantation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(11): 6126-6131.
- [4] Brustle O, Spiro AC, Karam K, *et al.* In vitro generated neural precursors participate in mammalian brain development [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(26): 14809-14814.
- [5] Kim JH, Auerbach JM, Rodriguez Gomez JA, *et al.* Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease [J]. *Nature*, 2002, 418: 50-56.
- [6] Benninger F, Beck H, Wernig M, Tucker KL, Brustle O, *et al.* Functional integration of embryonic stem cell-derived neurons in hippocampal slice cultures [J]. *J Neurosci*, 2003, 23(18): 7075-7083.
- [7] Calhoun JD, Lambert NA, Mitalipova MM, *et al.* Differentiation of rhesus embryonic stem cells to neural progenitors and neurons [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 306(1): 191-197.
- [8] Klug MG, Soonpaa MH, Koh GY, *et al.* Genetically selected cardiomyocytes from differentiating embryonic stem cells from stable intracardiac grafts [J]. *Clin Invest*, 1996, 98(1): 216-224.
- [9] Paquin J, Danalache BA, Jankowski M, *et al.* Oxytocin induce differentiation of P19 embryonic stem cells to cardiomyocytes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(14): 9550-9555.
- [10] Min JY, Yang YK, Converse KL, *et al.* Transplantation of embryonic stem cells improves cardiac function in postinfarcted rats [J]. *J Appl Physiol*, 2002, 92(1): 28-296.
- [11] Boheler KR, Czyz J, Tweedie D, Yang HT, Anisimov SV, *et al.* Differentiation of pluripotent embryonic stem cells into cardiomyocytes [J]. *Circ Res*, 2002, 91(3): 189-201.
- [12] Behfar A, Zingman LV, Hodgson DM, Rautzier JM, *et al.* Stem cell differentiation requires a paracrine pathway in the heart [J]. *Faseb J*, 2002, 16(12): 1558-1566.
- [13] Odorico JS, Kaufman DS, Thomson JA, *et al.* Multilineage differentiation from human embryonic stem cell lines [J]. *Stem cells*, 2001, 19(3): 193-204.
- [14] Sachinidis A, Fleischmann BK, Kolossov E, *et al.* Cardiac specific differentiation of mouse embryonic stem cells [J]. *Cardiovasc Res*, 2003, 58(2): 278-291.
- [15] Lumelsky N, Blondel O, Laeng P, *et al.* Differentiation of embryonic stem cells to insulin-secreting structures similar to pancreatic islets [J]. *Science*, 2001, 292: 1389-1394.

- [16] Soria B, Roche E, Berna G, *et al.* Insulin-secreting cells derived from embryonic stem cells normalize glycemia in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. *Diabetes*, 2000, 49: 157-162.
- [17] Kim D, Gu Y, Inshii M, *et al.* In vivo functioning and transplantable mature pancreatic islet-like cell clusters differentiated from embryonic stem cell [J]. *Pancreas*, 2003, 27(2): 34-41.
- [18] Schudiner M, Yanuka O, *et al.* Effects of eight growth factors on the differentiation of cells derived from human embryonic stem cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 11307-11312.
- [19] Assady S, Maor G, Amit M, *et al.* Insulin production by human embryonic stem cells [J]. *Diabetes*, 2001, 50:1691-1697.
- [20] Hamazaki T, Jiboshi Y, Oka M, *et al.* Hepatic maturation in differentiating embryonic stem cells in vitro [J]. *FEBS Let*, 2001, 497(1): 15-19.
- [21] Jones EA, Tosh D, Wilson DL, *et al.* Hepatic differentiation of murine embryonic stem cells [J]. *Exp Cell Res*, 2002, 272(1): 15-22.
- [22] Migashita H, Suzuki A, Fukao K, Nakauchi H, *et al.* Evidence for hepatocyte differentiation from embryonic stem cells in vitro [J]. *Cell Trans*, 2002, 11(5): 429-434.
- [23] Chol D, Oh HJ, Chang UJ, Koo SK, *et al.* In vivo differentiation of mouse embryonic stem cells into hepatocytes [J]. *Cell Trans*, 2002, 11(4): 359-368.
- [24] Yamamoto H, Quinn G, Asari A, Yamanokuchi H, *et al.* Differentiation of embryonic stem cells into hepatocytes: biological function and therapeutic application [J]. *Hepatology*, 2003, 37(5): 983-993.
- [25] 蒯小玲, 丛笑倩, 李秀兰, 等. 小鼠胚胎干细胞诱导为肝细胞的研究. *胃肠病学*, 2003, 8(1): 6-10.
- [26] 胡安斌, 蔡继业, 郑启昌, 等. 胚胎干细胞向肝细胞定向诱导分化的体外实验研究. *中华医学杂志*, 2003, 83(18): 1592-1597.
- [27] Kaufman DS, Hanson Eric T, Lewis RL, *et al.* Hematopoietic colony forming cells derived from human embryonic cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 10716-10721.
- [28] 何志旭, 黄绍良, 周其峰, 等. 体外定向诱导小鼠胚胎干细胞发育为造血干/祖细胞方法的初步研究. *中国病理生理杂志*, 2003, 19(4): 443-447.
- [29] 王晓燕, 刘兵, 苑春慧, 等. 小鼠骨髓间充质干细胞对胚胎干细胞造血分化的影响. *中国试验血液学杂志*, 2003, 11(4): 329-334.
- [30] 周其峰, 何志旭, 冯炼强, 等. 用胚胎干细胞诱导的造血干/祖细胞重建小鼠造血功能研究. *热带医学杂志*, 2003, 3(1): 9-11.
- [31] Taylor G, Lehrer MS, Jensen PJ, *et al.* Involvement of follicular stem cells in forming not only the follicle but also the epidermis [J]. *Cell*, 2000, 102(4): 451-465.
- [32] Bagutti C, Wobus AM, Fassler R, *et al.* Differentiation of embryonic stem cells into keratinocytes: comparison of wild-type and beta 1 integrin-deficient cells [J]. *Dev Biol*, 1996, 179(1): 184-196.
- [32] Mckenna DS, Samuels P, Zimmerman PD, *et al.* Interleukin-1 alpha, epidermal growth factor, and transforming growth factor-beta exhibit differential kinetics on endothelin-1 synthesis in amnion cells [J]. *J Soc Gynecol Investing*, 1998, 5(1): 25-37.
- [33] 撒亚莲, 李海标, 黄绍良, 等. 体外定向诱导人胚胎干细胞分化为表皮样干细胞的研究. *中山大学学报*, 2003, 24(2): 95-99.
- [34] 张仁礼, 李海标, 黄水, 等. 人羊膜诱导胚胎干细胞向表皮样干细胞的定向分化. *中山医科大学学报*, 2001, 22(5): 325-328.
- [35] Zuk PA, Zhu M, Mizuro H, *et al.* Multilineage from human adipose tissue: implications for cell-based therapies [J]. *Tissue Eng*, 2001, 7: 211-228.
- [36] 方国玲, 奇云. 向异种器官移植迈出的重要一步. *发明与革新*, 2002, 3: 36-37.

Embryonic Stem Cells and Application in Human Disease

Treatment

QIU Yan, XIE Bing, RUI Rong

(College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract

Embryonic stem cells is a kind of pluripotent stem cell, which have already become one of the focuses of the research field of life sciences in recent years. There is a captivating application prospect in human disease treatment especially. The application prospect on several kinds of difficult diseases of main introduction of this text, embryonic stem cell and xenotransplantation, and some questions existing.

Keywords: Embryonic stem cells ; Differentiation; Disease; Transplant