

S18 干细胞：融合与创新
Stem Cell : Integration and Innovation
烟台厅 Yantai Conf. Rm.

主席：韩忠朝
Chair: Zhongchao Han



2019年11月16日 星期六 8:30-16:25		
时间	演讲者姓名和单位	演讲题目
8:30-8:40	韩忠朝 细胞产品国家工程研究中心	分会主委致辞
8:40-9:10	韩忠朝 细胞产品国家工程研究中心	干细胞研究：新技术，新疗法和新产业
9:10-9:35	韩英 空军军医大学西京医院	干细胞与肝脏修复和再生
9:35-10:00	杨婷 福建医科大学附属协和医院	间充质干细胞在移植中的治疗应用
10:00-10:25	张斌 中国人民解放军总医院第五医学中心	造血干细胞的基因编辑
10:40-11:00	刘保池 上海市公共卫生临床中心	自体骨髓细胞治疗的疾病种类与疗效
11:00-11:20	张磊 中国医学科学院血液病医院	血友病基因治疗
11:20-11:40	李宗金 南开大学医学院	生物活性材料在干细胞治疗中的应用
11:40-12:00	胡士军 苏州大学心血管研究所	多能干细胞分化心肌细胞与心肌修复
13:30-13:50	赵强 南开大学生命科学院	心血管生物材料研究
13:50-14:10	韩之波 中国医学科学院血液学研究所	转基因间充质干细胞的临床前研究
14:10-14:30	亓建洪 山东第一医科大学(山东省医学科学院)	新型沃顿胶-硫酸软骨素复合支架负载人脐带来源间充质干细胞修复大鼠膝关节软骨缺损效果的实验研究
14:30-14:50	李涛 天津市第三中心医院	微囊小肝细胞移植治疗大鼠急性肝功能衰竭实验研究
14:50-15:10	邵玥 清华大学	合成胚胎学：基于干细胞的体外胚胎发育重建技术
15:25-15:40	任金华 福建医科大学附属协和医院血液科	转基因造血干细胞联合间充质干细胞移植治疗恶性血液病疗效及安全性研究
15:40-15:55	白华 天津工业大学	间充质干细胞的光诱导延迟发光特性研究
15:55-16:10	王凯 北京航空航天大学	基于无标记成像的造血干细胞向红系诱导分化的研究
16:10-16:25	张磊升 北京市围产期工程实验室	JNKi和DAC快速起始人胚胎干细胞分化为具有促进造血和治疗肢体缺血功能的间充质干细胞



主席 韩忠朝

Email: hanzhongchao@health-biotech.com

博士生导师，细胞产品国家工程研究中心主任、法国医学科学院外籍院士，法国国家技术科学院院士。从事血液学、血管细胞生物学以及干细胞工程技术的研究。在干细胞技术产业转化和临床应用方面成绩显著。在 SCI 杂志发表 250 余篇。论文被他人引用 3000 余次。主编参编英文专著 5 部、中文专著 8 部。申请发明专利 35 项，已授权专利 16 项，为此荣获国家科技进步一、二等奖等奖项 26 项。



特邀演讲者 李宗金

Email: zongjinli@nankai.edu.cn

博士，南开大学医学院教授，近年来在干细胞体内示踪、生物材料、细胞治疗等方面进行了系统、全面的工作。目前包括在 Circulation、JACC、JASN、Stem Cell, Biomaterials, Nature Methods, Stroke 等杂志共发表 SCI 论文 80 余篇，先后获得多项奖励，包括：2007 年美国血管生物学学会优秀青年科学家奖、2008 年美国心脏病学会优秀青年科学家奖、2009 年斯坦福大学心血管研究所优秀青年科学家奖，以及获得 2012 年度教育部“新世纪优秀人才支持计划”支持。



特邀演讲者 刘保池

Email: 15001916546@163.com

教授，主任医师，博士生导师。专长肝胆外科。原创应用自体骨髓经门静脉输注治疗艾滋病合并失代偿期肝硬化，明显促进了患者肝功能重建，提出了种子土壤移植治疗肝硬化学说。应用自体骨髓细胞治疗糖尿病，膝关节退行性变，恶性肿瘤患者的化疗前后自体骨髓保存回输促进骨髓重建等新疗法获得明显疗效。主编学术专著 7 部，获得 9 项国家专利，发表论文 160 余篇。2015 年被评为上海市先进工作者。2017 年获得上海市优秀发明奖。2018 年获得全国卫生产业企业管理协会颁发“健康产业科技进步奖”。



特邀演讲者 赵强

Email: qiangzhao@nankai.edu.cn

博士，南开大学生命科学学院暨药物化学生物学国家重点实验室教授（博士生导师），天津市生物活性材料重点实验室主任。获得国家优秀青年科学基金(2015)和天津市杰出青年科学基金(2018)资助。以通讯/第一作者在国际权威学术期刊 Nat Chem Biol、Cir Res、Adv Mater、Adv Sci 等发表 SCI 收录论文 60 余篇，影响累计影响因子 >300，论文他人引用 >1900 次，学术影响 h- 指数 =28。在国际权威出版机构 RSC、Springer 等出版著作章节 3 部。申请并获得授权发明多项。主持国家重点研发计划等科研项目 10 余项。作为第一完成人获得天津市科技进步二等奖（2016）。



特邀演讲者 韩英

Email: hanying@fmmu.edu.cn

主任医师、教授、博士生导师，“长江学者”特聘教授，西京医院消化内科主任。从事肝脏疾病科研工作 20 余年，主要研究方向有：1. 自身免疫性肝病的发病机制及综合防治，2. 终末期肝病的干细胞治疗及其机制研究。近年以第一负责人承担国家“重大新药创制专项”、“863”计划等科研课题十多项。以第一完成人获军队医疗成果一等奖一项（2009）及陕西省科学技术奖一等奖一项（2014）。在国内外学术期刊共发表学术论文 150 余篇。



特邀演讲者 张斌

博士、教授。现任解放军总医院第五医学中心全军造血干细胞研究所副所长、细胞与基因治疗中心主任、造血干细胞研究与转化治疗北京市重点实验室常务副主任。长期从事肿瘤疫苗、肿瘤细胞免疫治疗、间充质干细胞生物学特性及临床转化应用研究。中国医师协会培训专家、多个 SCI 杂志审稿人及多种中外文期刊编委。承担“十二五”计划、863 计划等多项研究课题，以第一或通信作者身份发表论文 70 余篇（SCI 收录期刊论文 32 篇）。获国家科学技术进步一等奖 1 项，授权发明专利 2 项。



特邀演讲者 胡士军

Email: shijunhu@suda.edu.cn

教授，苏州大学心血管病研究所副所长，苏州大学特聘教授，放射医学与辐射防护国家重点实验室课题组长。获得国家青年人才、江苏省杰青、江苏特聘教授等。在关注干细胞自我更新与分化，心血管疾病发生和发展的调控机制同时，致力于研究开发有效地治疗心肌病的最新治疗手段，同时为相关药物的开发和评估提供理论基础和平台。研究成果发表于 Cell Stem Cell、Circulation、Circulation Research 等国际高水平杂志，他引 4000 余次。获得中华医学科技奖一等奖、江苏医学科技奖二等奖和中国干细胞青年研究员奖。

S18-01

干细胞研究：新技术，新疗法和新产业

韩忠朝

细胞产品国家工程研究中心

随着干细胞临床转化研究和干细胞药物研发的快速发展，干细胞相关的新技术、新疗法和新产业不断涌现。干细胞新技术进展主要包括干细胞批量化扩增技术、干细胞外泌体高效分离纯化技术、干细胞组织工程器官技术等，这些新技术大大推动了干细胞研究和转化的整体水平。继药物治疗和手术治疗之后，干细胞新疗法是又一个颠覆性医学治疗手段，对很多难治性疾病发挥了良好的治疗作用，包括老年痴呆、冠心病、自身免疫性疾病等。干细胞新产业主要是围绕干细胞药物研发为核心的生物医药产业。目前，世界范围内已有 14 款干细胞产品获批上市。2019 年，我国药监局批准 4 款干细胞产品进入临床试验阶段，干细胞药品在我国获批上市指日可待。值得一提的是，由北京汉氏联合研发的 2 款干细胞 1 类新药已分别通过了中国药监局和法国药监局的 IND 申请，正在开展新药临床试验，这预示着我国干细胞新产业已进入快速发展的轨道。

Stem Cell Research: New Technology, New Therapy and New Industry

Zhongchao Han

National Engineering Center of Cell Products

With the rapid development of stem cell clinical transformation research and stem cell drug development, stem cell related new technologies, new therapies and new industries are continuously emerging. The progress of new stem cell technologies mainly include batch quantitative expansion of stem cells, efficient separation and purification of stem cell exosomes, stem cell tissue engineering, etc. These new technologies greatly promote the overall level of stem cell research and clinical transformation. After drug therapy and surgical treatment, stem cell therapy is another subversive medical treatment, which has played a good role in many refractory diseases, including Alzheimer's disease, coronary heart disease, autoimmune diseases and so on. Stem cell industry is a kind of biomedical industry centered on stem cell drug research and development. At present, 14 kinds of stem cell products have been approved for market in the world. In 2019, China FDA approved four stem cell products to enter the clinical trial stage, and the approval of stem cell drugs in China is just around the corner. It is worth mentioning that two class 1 new stem cell drugs developed by Beijing H&B have passed the IND application in China FDA and France FDA respectively, and are carrying out new drug clinical trials, which indicates that China's stem cell industry has entered a rapid development track.

S18-02

生物活性材料在干细胞治疗中的应用研究

李宗金

南开大学医学院

Email: zongjinli@nankai.edu.cn

干细胞治疗是再生医学和组织工程的一种有前途的方法，特别是在恢复、保护和促进损伤组织和器官的功能方面显示出较好的前景。然而，干细胞移植后在组织内的存活及驻留率较低，影响了干细胞的治疗效果。通过模拟体内组织修复和再生所需的细胞微环境，生物材料在调控移植细胞的命运方面已显示出较好的效果。我们将主要探讨应用合成的生物材料，特别是水凝胶，模拟体内细胞微环境，影响移植后干细胞体内的过程，提高治疗效果。此外，我们将报告我们的最近的一些进展：1) IGF-1C 结构域修饰的水凝胶增强干细胞治疗下肢缺血；2) 前列腺素 E2 水凝胶通过调控 M2 巨噬细胞极化改善皮肤伤口愈合；3) 应用注射水凝胶增强干细胞来源的外泌体治疗下肢缺血。

Translational Application of Biomaterials in Stem Cell Therapy

Zongjin Li

Nankai University School of Medicine

Stem cell therapy is a promising approach for regenerative medicine and tissue engineering, especially in recovery, protection and promotion of the function of injured/degeneration tissues and organs. However, the drawback of stem cell therapy such as low cell retention and survival after transplantation limits the therapeutic efficacy for its clinical translational application. Fascinatingly, the utilization of biomaterials have been progressively successful in controlling the transplanted cells fate by imitating the cellular environment needed for optimal tissue repair and regeneration. Here, we will mainly focuses on the engineered microenvironments with synthetic the biomaterials in modification of stem cell behaviors. Moreover, we will report our recent progresses on: 1) IGF-1C domain-modified hydrogel enhances therapeutic potential of mesenchymal stem cells for hindlimb ischemia; 2) Prostaglandin E2 hydrogel improves cutaneous wound healing via M2 macrophages polarization; 3) Enhanced therapeutic effects of mesenchymal stem cell-derived exosomes with an injectable hydrogel for hindlimb ischemia treatment.

S18-03**心血管生物材料研究**

赵 强

南开大学生命科学院

Email: qiangzhao@nankai.edu.cn

血管移植是心血管疾病治疗的有效手段之一，由合成材料制备的小口径人工血管由于再狭窄发生率高还没有成功的临床应用。针对这一问题，我们提出通过仿生天然细胞外基质 (ECM)，构建具有“诱导组织再生”功能的人工血管。通过结构优化，成功解决了目前人工血管孔径较小，细胞迁移困难的瓶颈问题，从而有效改善了组织再生。进一步，构建了具有递送血管活性物质 (DKK3, 血管活性多肽 7Ap 等) 的人工血管，其可以在体内缓释重要血管活性物质，诱导血管祖细胞 (VPCs) 迁移，并调控其分化，从而促进血管内皮形成和平滑肌再生。此外，我们还构建了负载间充质干细胞 (MSCs) 外泌体的人工血管，其可以通过调控植入后炎症反应，从而改善组织再生，并抑制血管钙化。

Development of Cardiovascular Biomaterials for Tissue Repair and Regeneration

Qiang Zhao

Nankai University College of Life Sciences

Vascular graft has proven to be an effective strategy for the treatment of cardiovascular diseases. However grafts made solely from synthetic polymers cannot satisfy the clinic requirements in terms of low long-term patency, because they only provide a simple structural or physical replacement without biological functions. In order to address the issue, we aim to fabricate vascular grafts which could mimic native extracellular matrix (ECM) in terms of both physiological structure and bio-functions. Different types of strategies and techniques have been explored to realize this purpose, including graft structure optimization, surface/interface functionalization, and controlled delivery of vasoactive molecules. Through structural optimization, the problem of limited cellularization in vascular grafts has been effectively resolved, and thus vascular regeneration as well as the homeostasis has been improved. Furthermore, incorporation of some specific cytokines (such as Dickkopf-3) into the micro/ nano- fibrous vascular grafts can enhance the migration vascular progenitor cells (VPCs) into the grafts and further induce the differentiation of them, contributing to endothelialisation and intima/media formation. In addition, vascular grafts loaded with exosomes derived from mesenchymal stem cells have been successfully prepared, and delivered exosomes exhibited immunomodulation function which is very important for the vascular regeneration and inhibition of calcification.

S18-04**基因编辑的造血干细胞**

张 斌

全军造血干细胞研究所

造血干细胞是人体重要成体干细胞，可以分化成不同的免疫细胞，包括 T 细胞，B 细胞，单核细胞，红细胞血小板等，体内发挥重要的功能。造血干细胞移植技术，是治疗血液系统恶性肿瘤的成熟技术，临床上已经广泛使用了半个多世纪。一些遗传病的治疗，也采用造血干细胞移植做了探索性的研究，但是，异基因造血干细胞移植存在着较大的风险。利用自体造血干细胞结合基因修饰的办法治疗遗传性疾病，是目前细胞和基因治疗领域探索的热点。我们的研究，利用 CRISPR-Cas9 系统，编辑了人的造血干细胞，敲除了 CD34+ 细胞内的 CCR5 基因，移植给了一位白血病合并 HIV 感染的患者。经过近两年的观察，发现经基因改造的造血干细胞能够在体内实现造血系统重建。为今后利用 CRISPR-Cas9 基因编辑 HSC 移植治疗其他遗传病奠定了基础。

Gene Modified Hematopoietic Stem Cells

Bin Zhang

Hematopoietic Stem Cell Research Institute of PLA

Hematopoietic stem cells (HSCs) are important adult stem cells that can differentiate into different immune cells, including T cells, B cells, monocytes, erythrocyte platelets, etc., and play important functions in the body. Hematopoietic stem cell transplantation technology is a mature technology for the treatment of malignant tumors of the blood system, and has been widely used in clinical practice for more than half a century. Some genetic diseases have also been explored using hematopoietic stem cell transplantation, but allogeneic hematopoietic stem cell transplantation has a greater risk. The use of autologous hematopoietic stem cell binding gene modification to treat hereditary diseases is a hot spot in the field of cell and gene therapy. Our study, using the CRISPR-Cas9 system, edited human hematopoietic stem cells, knocked out the CCR5 gene in CD34+ cells, and transplanted it to a patient with leukemia and HIV infection. After nearly two years of observation, it has been found that genetically modified hematopoietic stem cells can achieve hematopoietic system reconstruction in vivo. It lays the foundation for the future use of CRISPR-Cas9 gene editing HSC transplantation to treat other genetic diseases.

S18-OR01

异基因造血干细胞联合间充质干细胞移植治疗恶性血液病疗效及安全性研究

任金华, 陈敏敏, 骆晓峰, 肖敏, 李芊, 林康呢, 郑志宏, 陈志哲, 胡建达, 杨婷

福建医科大学附属协和医院血液科

【目的】探究恶性血液病患者接受异基因造血干细胞移植 (Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, Allo-HSCT) 早期联合间充质干细胞 (Mesenchymal stem cells, MSCs) 输注的安全性及疗效。【方法】回顾性研究 2016.01-2019.06 月期间来自福建医科大学附属协和医院共 175 例接受 Allo-HSCT 的恶性血液病患者。采用以白消安联合环磷酰胺为基础的 FA5BUCY 预处理方案, 亲缘全相合 31 例, 非亲缘全相合 21 例, 单倍体移植 123 例。所有患者均接受环孢素 A 联合短疗程甲氨蝶呤 ± 霉酚酸酯的免疫抑制方案。造血干细胞移植 (HSC) 组 85 例, 联合间充质干细胞移植 (MSC) 组 90 例。MSC 输注剂量为 $1-2 \times 10^6/\text{kg}$, 输注时间为造血干细胞回输前后 1 天。分析组间在造血重建、移植并发症和生存预后方面的差异。【结果】175 例患者中, 男性 113 例, 女性 62 例, 中位年龄 22 (1-65) 岁, HSC 和 MSC 二组的年龄、性别、诊断至移植间隔时间和移植方式均无统计学差异。所有患者移植过程顺利, 均未发生严重脏器功能损害。中位随访时间 273 (29-1265) 天。HSC 组和 MSC 组的粒细胞植入中位时间均为 13 天 ($P=0.806$), 血小板植入中位时间均为 14 天 ($P=0.135$); HSC 组和 MSC 组的 aGVHD 发生率无统计学差异 (36.5% vs 26.7% $p=0.163$), MSC 组 2 年总生存率显著优于 HSC 组差异具有统计学意义 (77.6% Vs 48.4%, $P=0.005$), 2 年累计复发率无统计学差异 (25.1% Vs 16.2%, $P=0.4$)。【结论】恶性血液病患者造血干细胞移植早期联合间充质干细胞移植安全性好, 改善患者的生存预后并且不增加 aGVHD 和累计复发率, 有待于大样本的前瞻性、随机、对照研究进一步深入探讨。

【关键字】异基因造血干细胞移植; 间充质干细胞; 预后; 移植抗宿主病

S18-OR02

KIR 匹配程度与 KIR 基因对异基因造血干细胞移植预后的影响

张誉, 陈少楨, 任金华, 骆晓峰, 胡建达, 杨婷

福建医科大学附属协和医院

【目的】探讨异基因造血干细胞移植 (HSCT) 治疗急性髓系白血病 (AML) 时供者选择的最佳条件。【方法】回顾性分析我院移植病房 2015.05.01-2019.05.01 收治的 74 例次 AML 患者的病例资料。运用二元 Logistic 回归及 K-M 生存曲线的统计学方法分析供者的年龄、供患者的血型、供患者 HLA 匹配程度、供受者 KIR 匹配模型和供者的 KIR 基因位点与移植预后的关系, 从而探讨供者的最佳选择条件。

【结果】74 例次 AML 患者中男性 44 例 (59.5%), 女性 30 例 (40.5%), 中位年龄 24 岁 (1-59 岁), 移植前本病缓解 49 例 (66.2%), 未缓解 25 例 (33.8%), 移植后发生 aGVHD 16 例 (21.6%) 和复发 11 例 (14.9%)。多因素分析发现, 供患者的 KIR 基因型匹配程度, 与移植后发生 aGVHD 风险上升密切相关, 差异具有统计学意义 ($P=0.019$), 供患者 KIR 基因型不匹配组相较于匹配组 aGVHD 发生率明显降低 (12% vs 31%), 而对移植后 OS 及复发的差异不具有统计学意义; 供者的 KIR 3DS1 基因阴性者相较于阳性者, 移植后发生 aGVHD 风险上升 (28.2% vs 11.7%), 差异具有统计学意义 ($P=0.033$); 供者的 KIR 2DS3 基因阳性者相较于阴性者, 无论患者移植前疾病控制情况为 CR 还是 NR, 移植后复发率均上升 (9.1% vs 5.0%, 66.7% vs 10%), 差异具有统计学意义 ($P=0.045$)。而供者的年龄、供患者的血型、供患者 HLA 匹配程度、供者的其他 KIR 基因位点对移植后 OS、aGVHD 及 RR 的差异均不具有统计学意义。

【结论】为改善移植后疗效, AML 患者选择异基因造血干细胞移植的供者时, 推荐选择供受者 KIR 基因型错配, 以及 KIR 3DS1 基因阳性或 KIR 2DS3 基因阴性的供者。

【关键字】杀伤细胞免疫球蛋白样受体; 异基因造血干细胞移植; 急性髓系白血病; 移植预后

S18-OR03

间充质干细胞的光诱导延迟发光特性研究

白华 1,2, 朱涛 1,2, 韩之波 3,4

1. 天津工业大学
2. 天津市光电检测技术与系统重点实验室
3. 细胞产品国家工程研究中心 / 天津昂赛细胞基因工程有限公司
4. 中国医学科学院血液病医院 (中国医学科学院血液学研究所)

【目的】干细胞的自我更新与多向分化潜能, 使其极具医学价值和前景。随着干细胞研究和应用的日益广泛, 发展非侵入、快速、无损的细胞检测技术已成为重要课题。本文系统研究了人脐带间充质干细胞的光诱导延迟发光特性及其与细胞活力的关联, 为利用生物光子技术发展一种干细胞无损检测手段奠定基础。【方法】生物的光诱导延迟发光是指生物接受一定时间的照射, 在照射停止后出现的发光强度随时间衰减的过程。本文基于光子计数技术自制了测量系统。测量时, 将细胞悬于 PBS, 细胞密度为 $2 \times 10^7/\text{ml}$, 取 200 微升细胞悬液滴入微量样品池进行延迟发光测量。通过改变照射光的波长、功率和照射时间, 研究照射条件对细胞延迟发光的影响; 悬液滴入样品池后, 通过设置不同的测量时间点, 研究细胞沉积对细胞延迟发光的影响; 通过改变悬液中的细胞密度, 研究细胞数量对细胞延迟发光的影响; 采用“饥饿法”使细胞活力下降, 以台盼蓝测试结果为对照, 研究细胞延迟发光特性与细胞活力变化的关联。【结果】细胞的光诱导延迟发光主要来源于紫外光和紫外光的照射, 照射时间对延迟发光无明显影响。随照射光功率的增加, 延迟发光强度也随之增强, 且增强的幅度与照射光增强的幅度近似成正比, 但延迟发光的衰减特性无明显变化。细胞悬液静置在样品池中, 伴随细胞沉积过程, 其延迟发光

的强度逐渐增强,且发光衰减逐渐变慢。细胞数也是一个影响延迟发光的重要因素,随细胞数量的减少,延迟发光强度逐渐减弱,且发光衰减速率逐渐加快。细胞活力与延迟发光特性密切相关,随着细胞活力的下降,延迟发光光子数和延迟发光寿命均呈现出单调的下降趋势。

【结论】细胞的光诱导延迟发光可能来源于细胞群组成的相干光子场,其发光特性与细胞生命活动和生理状态密切相关,有望发展成为一种新的非侵入、快速、无损的干细胞检测手段。

【关键字】间充质干细胞;光诱导延迟发光;细胞活力

S18-OR04

微囊小肝细胞移植治疗大鼠急性肝功能衰竭实验研究

张金卷 1,李 涛 1,2,3,李成龙 1,2,3,刘 辉 1,2,3

1. 天津市第三中心医院
2. 天津市肝胆疾病研究所
3. 天津市人工细胞重点实验室

【目的】分离大鼠小肝细胞,海藻酸钠-聚赖氨酸-海藻酸钠(APA)微囊包埋,腹腔移植治疗急性肝衰竭(AHF)大鼠模型,以探索微囊小肝细胞移植治疗AHF的可行性和有效性。【方法】Retrosine腹腔内注射联合2/3肝切除诱导雄性Wistar大鼠小肝细胞增殖模型,改进Seglen胶原酶灌注联合Percoll密度梯度离心分离小肝细胞;静电液滴法APA微囊包埋;10%D-氨基半乳糖腹腔注射制备大鼠AHF模型,随机分为A组(微囊化小肝细胞腹腔内移植组),B组(空囊对照组);观察模型一般状况及生存时间,术后不同时间点检测ALB、ALT、TBil及血氨水平,光镜检测肝脏病理改变。【结果】Retrosine腹腔内注射联合2/3肝切除成功建立小肝细胞增殖模型,分离获得细胞符合小肝细胞特点;APA微囊呈光滑规则圆形,直径为 300 ± 40 微米,强度、韧性良好。囊内细胞部分贴壁,大部分聚集在中央,形态完整,存活率为 $90 \pm 1.3\%$;存活48h大鼠腹腔内微囊保持完整光滑圆形,囊内小肝细胞形态完整,细胞存活率90%以上;1w微囊有散在破损皱缩,囊内细胞有增多聚集趋势,细胞存活率85%以上;A组较B组中位生存时间延长(119.0h vs 70.33h),差异有统计学意义($p < 0.05$),随时间延长A组大鼠血清ALT、AST、TBil及血氨水平明显下降,均低于移植前水平,各时间点A组明显低于B组,统计学比较差异有显著性($p < 0.05$);A组肝细胞损伤较B组明显改善,1W肝小叶结构可辨认,点、片状坏死伴大量再生肝细胞。

【结论】APA微囊化大鼠小肝细胞腹腔内移植能改善大鼠AHF模型生存时间、生化指标(ALT、TBil等)及病理损伤,可能机制:小肝细胞具有较强的增殖及向成熟肝细胞分化能力,补充支持肝脏功能,并刺激启动肝再生;肝细胞损伤为小肝细胞增殖分化提供体内微环境;微囊内细胞释放细胞再生因子,部分不能透过囊壁而在囊内积聚,促进小肝细胞增殖分化。

【关键字】APA微囊;小肝细胞;肝干细胞;细胞移植;急性肝衰竭

S18-OR05

间充质干细胞来源外泌体治疗葡萄膜炎的作用和机制研究

张晓敏

天津医科大学眼科医院

【目的】相比间充质干细胞而言,间充质干细胞来源的外泌体(mesenchymal stem cell derived exosomes, MSC-Exos)用于眼科临床具有更好的生物安全性和适用性。本研究观察MSC-Exos对实验性自身免疫性葡萄膜炎(experimental autoimmune uveitis, EAU)的治疗作用,并研究其机制。【方法】采用骨髓来源的MSCs,体外培养收集上清液,超速离心分离MSC-Exos。采用光感受器结合蛋白(interphotoreceptor retinol-binding protein IRBP) 1177-1191多肽片段免疫Lewis大鼠,制备EAU动物模型。在发病后连续7天球旁注射不同浓度的MSC-Exos悬液,观察眼部葡萄膜炎发病临床表现和病理变化,OCT观察视网膜结构改变,流式细胞技术分析眼部炎症细胞浸润。体外采用T细胞增殖实验观察MSC-Exos对抗原特异性T细胞增殖的影响,采用细胞迁移实验观察MSC-Exos对炎症细胞迁移的影响。采用成纤维细胞来源的exosomes作为对照。【结果】结果显示50ug/ml MSC-Exos可以有效改善葡萄膜炎,减轻视网膜损伤和炎症细胞浸润。体外实验显示同种大鼠来源的MSC-Exos对T细胞增殖无显著影响,但可以抑制炎症细胞迁移。成纤维细胞来源的exosomes不具有治疗作用。【结论】上述研究结果表明MSC-Exos可以用于自身免疫性葡萄膜炎的局部治疗。鉴于MSC-exosomes本身的生物学功能及其结构特点,有望作为治疗药物或药物载体用于眼科临床研究。

【关键词】间充质干细胞;外泌体;葡萄膜炎

S18-OR06

基于无标记成像的造血干细胞向红系诱导分化的研究

贾浩, 王凯

北京航空航天大学

【目的】目前, 全球输血用红细胞供需失衡, 临床应用中人源性血源存在数量少、有传播疾病的风险。为了应对这一难题, 利用造血干细胞分化技术在体外大规模产生红细胞成为一种潜在可行的办法。但由于造血干细胞体外红系分化存在非同步性和异质性问题, 因此在临床使用前, 要对其分化种类、阶段和功能等进行鉴定。【方法】造血干细胞红系分化过程中伴随血红蛋白表达积累, 血红蛋白表达量可以指示造血干细胞红系分化程度。基于瞬态吸收的泵浦探针成像是一种新型的生物学成像技术, 具有对生物色素类高敏感, 无需标记, 活细胞成像的优势。【结果】利用瞬态吸收成像技术对脐带血来源的 CD34⁺ 造血干细胞和单个核细胞在体外红系分化的研究中分别发现, 随着分化阶段的推移, 血红蛋白的表达存在显著性差异。两个红系分化体系中, 在第 7 天均观察到血红蛋白含量上升, 相比 CD34⁺ 造血干细胞起始的红系分化, 相同时期单个核细胞红系诱导程度更高, 说明瞬态吸收成像技术在不同红系分化体系鉴定中的可行性。与 CD235a 标记不同阶段细胞的荧光定量分析结果相比, 血红蛋白无标记成像在 CD34⁺ 造血干细胞红系分化中晚期鉴定上有更高的灵敏度。该技术可以在单细胞水平对血红蛋白进行定量检测, 有潜力对分化后的红细胞各项生理过程进行动态监测, 结合微流控技术的流式分选, 基于瞬态吸收的泵浦探针无标记成像为造血干细胞体外大量诱导扩增红细胞提供了一种新的可能性, 在临床应用中有着非常好的前景。

【关键词】造血干细胞; 红系诱导分化; 无标记成像; 瞬态吸收

S18-OR07

新型沃顿胶-硫酸软骨素复合支架负载人脐带来源间充质干细胞修复大鼠膝关节软骨缺损效果的实验研究

亓建洪

山东第一医科大学(山东省医学科学院)

【目的】由于自愈能力差, 关节软骨损伤的修复对于临床治疗一直是巨大的挑战。人脐带来源的间充质干细胞(human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells, HUCMSCs)是近年来新发现的间充质干细胞, 在软骨再生方面具有巨大的潜力, 成为良好的种子细胞, 而软骨组织工程的发展也一直推进着支架材料的推陈出新, 精益求精。【方法】从人脐带中分离 HUCMSCs 并用免疫荧光双染进行鉴定。用脐带沃顿胶和硫酸软骨素为原料, 通过物理和化学交联制备出一种新型仿生复合支架, 检测新型支架性能, 并负载 HUCMSCs 修复大鼠膝关节软骨缺损, 通过大体观察及组织学评分评价修复效果。【结果】从脐带中分离 HUCMSCs 同时表达 CD44 和 CD90。各项检测显示沃顿胶-硫酸软骨素复合支架符合软骨组织工程支架要求。杨氏模量显示复合支架具有更好的弹性模量($p < 0.05$)。体内实验中, 从大体观察评分、组织学评分显示软骨缺损修复效果: 实验组(复合支架+干细胞组, Compound) > (单纯支架组+干细胞组, Scaffold) > 空白组(Blank) ($p < 0.05$)。此外, 体外实验表明复合支架和 HUCMSCs 都表现出良好的免疫原性。【结论】HUCMSCs 可作为软骨修复的种子细胞。新型沃顿胶硫酸软骨素复合支架可作为良好的组织工程支架, 其负载 HUCMSCs 修复 SD 大鼠膝关节软骨缺损效果良好。

【关键词】软骨组织工程; 支架材料; 沃顿胶; 硫酸软骨素; 人脐带间充质干细胞

S18-OR08

合成胚胎学: 基于干细胞的体外胚胎发育重建技术

邵玥

清华大学

【目的】人类胚胎的早期发育对人类繁衍有决定性的意义, 但其研究一直困难重重。一方面传统动物模型, 如鼠、鸡、猪等, 与人类在早期胚胎发育上有显著差异, 限制了模式动物在该问题上的有效性; 另一方面, 人类早期胚胎样本获取难度大、且面临伦理学争议。人类多能干细胞的出现为在体外研究胚胎发育提供了基础、且无需使用活胚胎从而避免了伦理学困境。本研究旨在利用人类多能干细胞、结合工程学技术、建立模拟早期胚胎发育过程的体外“合成胚胎学”方法、揭示早期胚胎发育机理、并为临床药物的胚胎安全性研究提供新技术。

【方法】着床是早期胚胎发育的关键过程。羊膜细胞分化与羊膜腔形成是着床发育的第一步。本研究首先基于天然生物凝胶和微加工技术建立了两套独立的、力学性能可调控的多能干细胞培养系统, 并寻求模拟与着床期胚外力学条件相似的干细胞培养环境来调控细胞的分化与自组装。【结果】研究发现, 当处于类似体内环境的三维基质内、且环境力学刚度低于一定阈值时, 多能干细胞可自发分化并成腔、产生类似羊膜的鳞状上皮并形成类似羊膜腔的囊状结构。分子生物学与转录组学分析证明了上述囊状结构与早期人类羊膜组织的生物相似性。研究还发现, 上述模拟着床期胚外条件的培养环境会在一部分干细胞团中诱导产生具有非对称形貌的囊泡、并在其一侧产生羊膜上皮细胞而在另一侧保留未分化的柱状上胚层细胞, 从而呈现与着床期胚胎羊膜囊高度相似的类型结构。研究进一步发现了细胞力学环境与 BMP-SMAD 信号通路之间的耦合机制, 并首次揭示了启动羊膜分化的“力学点火”机制。运用微尺度技术, 本研究还揭示了诱导多能干细胞向羊膜分化的多重力信号转导机制, 并通过调控细胞铺展、细胞团大小等多个物理因素实现了在高刚度环境下的体外羊膜分化。进一步, 本研究通过结合微阵列技术与高通量图像分析建立了临床药物的羊膜发育毒性筛查平台。【结论】综上, 本研究的结果展示了结合干细胞与工程学方法建立的新型体外“合成胚胎学”技术在胚胎发育、繁殖与再生医学等方面的应用与前景。

【关键词】干细胞; 胚胎发育; 细胞外环境; 生物材料

S18-OR09**JNKi 和 DAC 快速起始人胚胎干细胞分化为具有促进造血和治疗肢体缺血功能的间充质干细胞**

张磊升 2,3,4, 魏艺萌 2, 侯慧星 3, 宋宝全 2, 李宗金 3, 池颖 2, 韩之波 2, 韩忠朝 2,3,4

1. 北京市围产期工程实验室
2. 中国医学科学院血液病医院（中国医学科学院血液学研究所）
3. 南开大学医学院
4. 汉氏联合（天津）干细胞研究院有限公司

【目的】人多能干细胞来源的间充质干细胞具有造血支持和临床应用前景，然而当前已有的分化体系存在操作繁杂、效率低等缺陷，这缺乏严重阻碍了上述细胞的制备以及发育学过程的研究。因此，如何实现间充质干细胞的体外高效分化是解决领域内上述难题的关键。

【方法】在本文中，我们首先通过小规模化学小分子库筛选和优化组合的方法，结合流式细胞分析对于产生的中间态祖细胞进行分析。随后，利用上述祖细胞的贴壁生长特性，通过连续传代两次快速实现了间充质干细胞的富集和纯化，并通过三系分化实验和染色体核型分析进行细胞功能和染色体稳定性的验证。为了在体外评估其体外造血支持的功能，我们一方面将其与外周血单核细胞共培养并结合鹅卵石形成实验来评价其支持造血干细胞体外扩增的能力，另一方面在巨核分化体系中将其与脐带血造血干细胞共培养，以评估其支持功能性巨核细胞和血小板产生的能力。在体内，我们利用荧光示踪系统追踪间充质干细胞输注下肢缺血模型小鼠的体内分布以及促进侧枝循环和改善肢体缺血的功能。**【结果】**通过小规模化学小分子筛选，我们发现 JAK/STAT 抑制剂和 DNA 甲基化抑制剂 DAC 联用，可在一周内将人胚胎干细胞分化产生约 60% 的 CD73⁺ 中间态祖细胞，并进一步成熟为间充质干细胞。上述功能成熟的间充质干细胞满足成体间充质干细胞的标准，在体外具有三系分化和支持造血发生的功能，在体内可有效缓解肢体缺血模型小鼠的症状和修复受损的下肢功能。**【结论】**在本研究中，我们成功建立了一种高效诱导人胚胎干细胞产生功能性间充质干细胞的分化体系，这对于未来包括肢体缺血在内的疾病治疗和探究间充质干细胞的发育过程以及分子机理提供了新的策略。

【关键词】人胚胎干细胞；间充质干细胞；细胞编程；造血支持；肢体缺血模型