

## · 综述 ·

## 糖尿病细胞治疗供体细胞来源及其研究进展

张圣梅<sup>1</sup>, 黄飞榕<sup>1</sup>, 齐忠权<sup>2,3</sup>, 李良成<sup>1</sup> (1. 厦门大学药学院, 福建 厦门 361102; 2. 厦门大学医学院, 福建 厦门 361102; 3. 广西大学医学院, 广西壮族自治区 南宁 530004)

据 2015 年国际糖尿病联盟报道, 全球已确诊的糖尿病患者约有 4.15 亿, 而中国糖尿病患者已超过 1 亿<sup>[1]</sup>, 约占全球糖尿病患者的 1/4, 因而, 严重威胁着我国人民的健康<sup>[2]</sup>。根据发病机制不同, 糖尿病可分为 1 型、2 型糖尿病以及妊娠期糖尿病。1 型糖尿病是由于免疫系统攻击自身的胰岛  $\beta$ - 细胞, 导致其数量减少, 致使胰岛素合成减少而引起的糖代谢紊乱性疾病<sup>[3]</sup>; 而中、晚期 2 型糖尿病患者胰岛  $\beta$ - 细胞数量下降且功能不足<sup>[4-6]</sup>。妊娠期糖尿病因妊娠而诱发, 在分娩后部分患者可完全恢复, 少部分转为 2 型糖尿病。目前对 1 型糖尿病患者的治疗主要使用胰岛素及其类似物制剂, 而 2 型糖尿病患者的治疗则主要采用口服降糖药, 包括胰岛素促泌剂、胰岛素增敏剂、双胍类、 $\alpha$ - 葡萄糖苷酶抑制剂、餐时血糖调节剂以及醛糖还原酶抑制剂等。但无论是胰岛素及其类似物制剂, 还是口服降糖药, 由于其目标均在于控制血糖, 即对症治疗、而非对因治疗。因而, 随着病程的延长, 最终会导致胰腺  $\beta$ - 细胞功能受损或丧失。

为了达到对因治疗的目的, 临床上采用同种或异种胰岛移植的方式, 为治愈因胰岛  $\beta$ - 细胞功能受损或功能丧失所致糖尿病患者带来了希望。一项多中心研究显示, 同种胰岛移植可使 76% 的患者 1 年内, 31% 的患者 2 年内不需要胰岛素治疗即可达到血糖控制目标<sup>[7]</sup>。然而, 由于胰岛供体细胞来源不足以及免疫排斥等原因, 限制了其广泛应用,

这就要求在更广阔的视野内寻找供体来源。

在探索胰岛移植供体来源方面, 选择不同种类的干细胞诱导分化为胰岛素分泌细胞 (insulin producing cells, IPC) 成为当前的研究热点。自从 Fernandes 等<sup>[8]</sup> 1997 年报道, 糖尿病小鼠胰岛损伤可诱发胰岛前体细胞分化为 IPC。其后大量研究报道, 不同来源的干细胞, 包括胚胎干细胞 (embryonic stem cell, ESC)<sup>[9]</sup>、间充质干细胞 (mesenchymal stem/stromal cell, MSC) 以及胰岛前体细胞在体内或体外一定的诱导剂处理后可分化为 IPC。这为利用干细胞或胰腺前体细胞作为细胞治疗的供体细胞进行糖尿病治疗带来了新的希望。本文将从干细胞分化、发育机制、不同来源干细胞的诱导方式及治疗效果, 以及存在的主要问题等方面进行综述, 以推动糖尿病细胞治疗领域的发展。

### 1 利用干细胞进行糖尿病治疗的依据

利用干细胞进行糖尿病治疗, 存在的问题主要是干细胞是否具有分化为 IPC 的能力, 也即新生的胰岛细胞是由前体细胞或干细胞分化而来还是已有的胰岛细胞通过增殖产生的。目前, 关于新生  $\beta$ - 细胞来源主要包括以下几种假设: ① 外分泌细胞分化为内分泌  $\beta$ - 细胞; ② 胰腺导管上皮细胞分化为新的  $\beta$ - 细胞; ③ 已有  $\beta$ - 细胞的增殖; ④ 多种组织来源的干细胞的分化。在糖尿病患者<sup>[10]</sup> 以及糖尿病大鼠<sup>[11]</sup>、小鼠<sup>[12]</sup> 中均观察到有新生的胰岛细胞。Wang 等<sup>[11]</sup> 利用部分胰腺组织切除大鼠, 并利用细胞标记和免疫组化方法观察到, 大部分胰腺组织切除 1 周后, 胰岛细胞数量几乎增加了 1 倍, 这些新生的胰岛细胞主要由已有的胰腺导管细胞增殖和分化而来。Xu 等<sup>[12]</sup> 证明在成年小

DOI: 10.3969/j.issn.2095-5332.2018.02.014

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (2015J01541)

通讯作者: 李良成, Email: lchli2013@xmu.edu.cn

鼠胰腺组织内存在前体多能干细胞, 这些细胞在  $\beta$ -细胞功能受损的情况下可被激活增殖分化为 IPC, 而非原有的  $\beta$ -细胞增殖而来。这表明干细胞或胰腺前体细胞在一定条件下具有分化为 IPC 的能力。

## 2 干细胞诱导分化机制

**2.1 胰岛  $\beta$ -细胞体内发育成熟过程:** 胰腺组织的发育过程中涉及多种信号通路及转录因子的调控。同时, 周围组织分泌的因子以及细胞与细胞、细胞与细胞基质之间的相互作用在此过程中发挥着关键作用。在胚胎发育期间, 胰原基由定形内胚层 (definitive endoderm, DE) 发育而来, 随后形成原肠和后前肠。在这一阶段, 胰原基的形成由维 A 酸 (retinoid acid, RA) 信号通路调控, 并且依赖于 Hedgehog 信号通路的抑制作用<sup>[13]</sup>。此时, 胰岛上皮祖细胞表达胰腺十二指肠同源框蛋白 1 (pancreas and duodenum homeobox1, PDX1)、肝细胞核因子 6 (hepatocyte nuclear factor, HNF6)、HLXB9、胰腺特异转录因子 1 $\alpha$  (pancreas specific transcription factor 1 $\alpha$ , Ptf1 $\alpha$ ) 和 NKX6-1, 之后分化形成胰岛内分泌、外分泌和导管细胞<sup>[14-15]</sup>。胰腺上皮祖细胞的进一步分化也接受来自于邻近间充质信号, 如成纤维细胞生长因子 10 (fibroblast growth factor 10, FGF10) 的调控<sup>[16]</sup>。最终通过抑制 Notch 信号通路和促进胰腺上皮细胞中的神经元素 3 (neurogenin 3, Ngn3) 而产生内分泌细胞<sup>[15]</sup>。Ngn3 引起下游多种转录因子的表达, 例如 NKX2-2、神经分化因子 1 (neuronal differentiation 1, Neurod1)、NKX6-1、Pax-4、Pax-6 和胰岛因子 1 (islet 1, ISL1), 从而调控内分泌细胞的分化。新生的内分泌细胞从分支上皮迁移进入周围的间质形成朗格罕岛<sup>[16, 17]</sup>。Pokrywczynska 等<sup>[18]</sup>报道了在胰腺发育过程中涉及的主要转录因子及其功能。

**2.2 PDX1 在胰腺发育和 IPC 形成中的作用:** 据 D'Amour 等<sup>[9]</sup>和 Kroon 等<sup>[19]</sup>报道, 利用条件性培养基, 经过五步诱导, 经过 DE、原肠管、后肠后段, 随后形成能表达 PDX1 的胰腺内胚层细胞/内

分泌前体细胞 (pancreatic endoderm and endocrine precursor cells, PEC), 最终分化为 IPC。

*PDX1* 在胰腺发育和胰岛素分泌细胞形成中的作用: *PDX1*, 即胰腺十二指肠同源框 1 基因, 又称胰岛素启动基因。该基因被认为是胰腺/胰岛干细胞/前体细胞的分子标志, 也是  $\beta$ -细胞形成和成熟的标志分子。*PDX1* 是胰腺定向发育成熟过程中已知的第一个也是最重要的转录因子。在胰岛新生过程、胚胎干细胞、间充质干细胞等向 IPC 分化的体外诱导过程中, 都出现 *PDX1* 基因表达先于胰岛素表达的现象, 表明 *PDX1* 基因的表达对不同来源干细胞分化为 IPC 的诱导分化具有极为重要的作用。另外, *PDX1* 基因可促进胰腺导管上皮细胞分化为胰岛素分泌型细胞。研究显示, 大鼠切除大部分胰腺后, 在残存的细胞及其周围的胰腺导管上皮细胞中, 发现有新生的胰岛。新生的胰岛主要来源于胰腺导管上皮干细胞在 *PDX1* 的作用下定向分化而来。这个过程与胚胎发育时期胰腺的形成类似<sup>[20]</sup>。此外, *PDX1* 可以将肝脏干细胞诱导分化为 IPC<sup>[21]</sup>。在胚胎发育时期, 肝脏和胰腺来源于同一前体细胞, 两者在一定条件下可以转分化。肝脏内有类胰腺内分泌前体细胞, 可以表达与胰腺内分泌细胞发育相关的胰岛素转录因子, 如 *HNF*、*PDX1* 和 *Ngn3* 等<sup>[21]</sup>。Yang 等<sup>[22]</sup>研究证实在一定糖浓度下, 融合基因 *PDX1-VPI6* 可以将肝干细胞系 (WB-1 细胞) 完全转化为在糖刺激下能产生和分泌胰岛素的细胞。表明 *PDX-1* 基因的表达对不同来源干细胞分化为 IPC 具有极为重要的作用。

## 3 利用不同来源的干细胞进行糖尿病治疗

胚胎干细胞、间充质干细胞和诱导性多能干细胞等, 可诱导分化为 IPC 细胞, 其诱导方式及存在的主要问题见表 1。

**3.1 利用胚胎干细胞治疗糖尿病:** 胚胎干细胞具有多能性以及体外一定培养条件下具有无限增殖的潜能, 一定诱导剂处理可诱导其分化为 IPC, 是非常有前景的糖尿病细胞治疗的供体细胞来源。Jone 等<sup>[23]</sup>首次尝试将小鼠胚胎干细胞诱导分化为

表1 不同来源的干细胞, 诱导方式及治疗糖尿病中的应用

胰岛来源	诱导方式	存在的主要问题	参考文献
胚胎干细胞 (hESC)	五步诱导法, 详见 Kroon 等 <sup>[19]</sup> 报道	具有免疫原性, 潜在的致癌性	9, 18, 19, 24
间充质干细胞 (MSC)		炎症反应, 病毒及微生物感染, 有培养基中 FBS 引起的朊病毒感染	25, 26, 27
骨髓间充质干细胞 (BMMSC)	三步诱导分化法: ① 无血清高糖 DMEM+ $\beta$ -mercaptoethanol; ② B27+hFGF, EGF, L-glutamine; ③ B27, nicotinamide activin A, $\beta$ -cellulin		28
脂肪间充质干细胞 (AD-MSC)	Timper 一步法, Moshtagh 三步法		29, 30
脐血间充质干细胞 (UCB-MSC)	Gao 三步法: ① 葡萄糖, RA, 10%FBS; ② 10% FBS, 烟酰胺, EGF; ③ 10% FBS, exendin-4		31, 32
诱导性多能干细胞 (hiPS)	与 Kroon 等 <sup>[19]</sup> 报道类似的五步诱导法	具有免疫原性	33

IPC 进行了尝试。而 Kroon 等<sup>[19]</sup>首次证明了人胚胎干细胞分化而成的胰腺内胚层细胞具有进一步分化为 IPC 的能力。Kroon 等<sup>[19]</sup>利用 hES 体外诱导分化为胰腺内胚层细胞, 将其移植到 70 mg/kg 链佐菌素连续 5 天腹腔注射所诱导的糖尿病小鼠体内, 葡萄糖刺激后小鼠体内可检测到人源胰岛素及 C-肽, 并使小鼠血糖下降。2014 年美国 FDA 首次批准了利用人胚胎干细胞治疗 1 型糖尿病的临床试验。ViaCyte 公司开发了 VC-01, 它是利用人胚胎干细胞诱导分化的胰腺前体细胞, 将其包埋于防治免疫反应的装置中, 然后将其移植到 1 型糖尿病患者, 以观察安全性和有效性<sup>[24]</sup>。目前这一研究尚在进展中, 预期能取得较好疗效。

### 3.2 MSC 治疗糖尿病的研究及其机制

#### 3.2.1 诱导不同来源的间充质干细胞分化为 IPC:

骨髓间充质干细胞 (bone marrow derived MSC, hBM-MSC)、脂肪间充质干细胞 (adipose tissue derived MSC, AD-MSC) 以及脐血间充质干细胞 (umbilical cord blood derived MSC, UCB-MSC) 等均可作为糖尿病细胞治疗的供体细胞, 现分述如下:

BMMSC: Sun 等<sup>[25]</sup>利用由糖尿病患者分离的 BMMSC, 采用 3 步法, 即: ① 无血清、高糖 DMEM + 0.5 mmol/L  $\beta$ -巯基乙醇培养 2 天; ② B27 + 20  $\mu$ g/L FGF, 20  $\mu$ g/L 表皮细胞生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 以及 2 mmol/L L-谷氨酰胺诱导 8 天。此时, 可促使胰腺前体细

胞特有的 *NESTIN*、*PDX1*、*Ngn3*、*Pax-4* 等基因表达; ③ B27、10 mmol/L 烟酰胺、10  $\mu$ g/L activin A、10  $\mu$ g/L  $\beta$ -细胞素诱导 8 天, 可促使 PDX1 和胰岛素等蛋白表达。另外, 也有报道, 单纯在 hBM-MSC 细胞过表达大鼠 PDX1 并在分化培养基中即可诱导其产生 IPC, 将该细胞移植到 STZ-SCID 糖尿病小鼠, 可使其血糖显著下降<sup>[26]</sup>。表明由糖尿病患者分离的骨髓间充质干细胞, 在一定诱导剂作用下可分化为 IPC, 在这一过程中 Ngn3 以及 PDX1 可能发挥着非常重要的作用<sup>[27]</sup>。

AD-MSC: Timper 等<sup>[28]</sup>利用无血清 DMEM/F12 加 17.5 mmol/L 葡萄糖、10 mmol/L 烟碱、2 nmol/L activin-A、10 nmol/L exendin-4、100 pmol/L 干细胞生长因子, 10 nmol/L 五肽胃泌素, 无血清 B-27 和 N-2 诱导 3 天后, 即可检测到 NGN3、PAX-6、胰岛素等基因以及 C-肽表达。但利用该方法诱导的 hAD-MSC 对不同浓度的葡萄糖刺激无应答能力。而 2013 年 Moshtagh 等<sup>[29]</sup>报道利用以下三步法诱导, 可诱导出对葡萄糖有应答能力的 IPC。其主要步骤为: ① 25 mmol/L 葡萄糖 + DMEM、10% FBS、 $10^{-6}$  mol/L RA 培养 2 天; ② 无血清、低糖 DMEM、1%  $N_2$ 、1% B27、10 mmol/L 烟碱、10 ng/ml EGF、2 nmol/L activin A 培养 6 天; ③ 无血清、低糖 DMEM、1%  $N_2$ 、1% B27、10 mmol/L 烟碱、10  $\mu$ g/L EGF、2 nmol/L activin A 和 10 nmol/L exendin-4 培养 4 天。在诱导分化过程中也可检测到胰腺前体

细胞标志基因如 *NESTIN*、*PDX1*、*Ngn3* 等的表达,该方法诱导的 IPC 对不同浓度葡萄糖刺激均具有较好的应答能力。

UCB-*MSC*: Gao 等<sup>[30]</sup> 利用人脐带血分离的间充质干细胞,采用以下三步诱导方法将 hUCB-*MSC* 诱导分化为 IPC: ① 25 mmol/L 葡萄糖 + DMEM, 10<sup>-6</sup> mol/L RA, 10% FBS 培养 24 小时; ② 低糖 DMEM、10% FBS、10 mmol/L 烟酰胺, 10 ng/ml EGF 培养 6 天; ③ 10% FBS、25 mmol/L 葡萄糖 + DMEM、10 mmol/L exendin-4 培养 6 天。利用该方法诱导过程中同样也观察到 *PDX1* 和 *NGN3* 等胰岛前体细胞特异基因表达,该方法诱导分化出来的胰岛样细胞可表达胰岛素原和胰岛素,但是该细胞对不同浓度的葡萄糖刺激无应答能力。尽管上述间充质干细胞来源不同,诱导分化的方法不同,但在其诱导分化过程中胰岛前体细胞基因,如 *PDX1*、*Ngn3* 等的表达可能是其进一步分化为具有对不同浓度葡萄糖具有应答能力的 IPC 的前提条件。

**3.2.2 利用不同来源的间充质干细胞治疗糖尿病的临床研究:**间充质干细胞作为细胞治疗的供体细胞,过去几年来进行了 600 多例临床试验,从目前已经完成的临床试验来看,各类间充质干细胞治疗不同的自身免疫性疾病包括 1 型糖尿病方面,具有很高的生物安全性。在治疗糖尿病中常用的间充质干细胞,包括 B*MSC*、AD-*MSC* 和 UCB-*MSC*<sup>[31, 32]</sup> 等。这些细胞在一定条件下均可分化为 IPC,用于糖尿病的治疗。

利用间充质干细胞作为供体细胞进行糖尿病的治疗,目前有两种途径: ① 诱导分化为 IPC,然后移植给糖尿病患者。Dave 等<sup>[33]</sup> 利用 AD-*MSC*,体外诱导为 IPC 后,与骨髓干细胞一起进行静脉输注进行 1 型糖尿病患者治疗的观察,在平均 31 个月的观察期内,患者胰岛素的用量可由 63.9 U/d 降低到 38.6 U/d,血清中的 C-肽水平显著升高,糖化血红蛋白 (hemoglobin A1c, HbA1c) 由 10.99% 可降低到 6.72%。研究表明,利用 *MSC*,诱导分化为 IPC 后可用于 1 型糖尿病患者的治疗。② 直接静脉输注。Guan 等<sup>[34]</sup> 利用 UCB-*MSC* 通过静脉输注的

方式观察治疗 2 型糖尿病的临床安全性和有效性研究。结果显示,在观察期内 (24 ~ 44 个月) 不依赖于胰岛素治疗的情况下,可使部分患者 HbA1c 低于 6.0%。

直接静脉输注间充质干细胞进行糖尿病治疗可能通过以下 3 个方面机制: ① 在体内分化为 IPC。Dong 等<sup>[35]</sup> 将荧光素标记的同种异体 B*MSC* 移植到链佐菌素 (STZ) 诱导的糖尿病受体鼠,45 天后受体鼠血糖降低,受体鼠胰腺组织中标记的 B*MSC* 细胞分化为 IPC; ② 通过调控免疫应答保护胰腺  $\beta$ -细胞而发挥作用。1 型糖尿病的发生、发展过程中抗原递呈细胞 (antigen present cells, APC), B 细胞, T 细胞,包括辅助性 T 细胞 (Th1、Th2 以及 Th17)、细胞毒性 T 细胞 (CTL) 和调节性 T 细胞 (Treg) 等参与,从而造成胰腺  $\beta$ -细胞功能损伤及破坏。由于 *MSC* 缺乏 II 类组织相容性抗原 (major histocompatibility complex- II, MHC- II)<sup>[36]</sup>, CD80 (B7-1)、CD86 (B7-2)、CD40 以及 CD40L 等共刺激分子<sup>[37]</sup>, 而只表达 MHC-I, 所以免疫原性低,不能激活辅助性 T 细胞活化和增殖。另外, *MSC* 也具有很强的免疫调节功能,可通过细胞-细胞接触或分泌细胞因子等方式进而调控上述 3 类 T 细胞的功能,从而保护胰腺  $\beta$ -细胞以延缓 1 型糖尿病的发作<sup>[38]</sup>。Rahavi 等<sup>[39]</sup> 也证明,脂肪来源的 *MSC* 可通过直接接触或通过细胞因子调控免疫应答的方式,对胰腺  $\beta$ -细胞发挥保护作用,从而对 1 型糖尿病发挥治疗作用。对 2 型糖尿病治疗的机制可能包括诱导分化为 IPC,通过分泌细胞因子增加  $\beta$ -细胞数量,保护  $\beta$ -细胞不受免疫或氧化损伤,以及减弱胰岛素抵抗等<sup>[40]</sup>; ③ 通过旁分泌的形式。Aali 等<sup>[41]</sup> 观察到,将荧光素标记的 B*MSC* 通过尾静脉注射到 STZ 诱导的糖尿病受体鼠,24 小时后就可观测到受体鼠胰腺组织中标记的 *MSC*。4 周后再次静脉注射 B*MSC* 或 B*MSC* 细胞培养上清均可使受体鼠血糖降低,并促使受体鼠胰腺组织中胰岛再生。

上述研究显示,利用不同组织来源的 *MSC* 进行糖尿病治疗,可通过分化为胰岛素分泌细胞,免疫

调节的机制,在一定时期内可有效的治疗1型或2型糖尿病,为治疗糖尿病提供了多渠道来源的供体细胞。

**3.3 利用人源诱导性多能干细胞 (human induced pluripotent stem cell, hiPSC):** Jeon 等<sup>[42]</sup>利用 NOD 小鼠分离的 iPS 细胞诱导分化为对葡萄糖有应答能力的 IPC, 将其移植到 STZ 诱导的 NOD/SCID 小鼠 1 型糖尿病模型, 可使小鼠血糖基本恢复正常。Rajaei 等<sup>[43]</sup>建立了将 hiPSC 分化为 IPC, 该方法与 Kroon 等<sup>[19]</sup>所示诱导基本培养基类似, 只是在第二步中加入选择性 TGF- $\beta$  / Activin 信号通路抑制剂, 以增强分化效果; 第四步中由 NOG+KGF+EGF 替换了 DAPT+Ex4; 第五步中由 NOG+KGF+EGF+IBMX (异丁甲黄嘌呤) 替换了 +/- Ex4; IGF1; HGF。第五步中磷酸二酯酶和 IBMX 的加入, 可增加单个分泌胰岛素细胞的产生, 以及 C-肽合成和分泌<sup>[44]</sup>。该诱导方法使具有胰岛素分泌能力的阳性细胞率达到 79.18%, 而且其所诱导的 IPC 具有接受葡萄糖刺激后分泌胰岛素的能力, 为治疗 1 型糖尿病胰岛移植提供了新的供体来源。

#### 4 展望

由于不同来源的干细胞具有较强的免疫调节效应以及可诱导分化为 IPC, 在治疗 1 型及 2 型糖尿病患者中取得了令人振奋的结果。但也存在一些问题, 如胚胎干细胞直接输注可引起产生肿瘤的风险<sup>[26]</sup>。以干细胞诱导分化为 IPC, 进行移植后, 可在移植部位引起炎性细胞浸润<sup>[24]</sup>。此外, 供体 MSC 可能会携带有逆转病毒, 其他病毒以及微生物感染。另外, 在 MSC 在体外培养过程由于胎牛血清的使用会引起朊病毒相关的疾病<sup>[25]</sup>。

胰岛干细胞体内诱导分化为 IPC: 为了克服上述存在的问题, 目前也在尝试体内诱导胰腺前体细胞、胰腺间充质干细胞或胰腺导管细胞分化为 IPC。这方面有两个关键问题需要克服: ① 胰腺前体细胞或胰腺间充质干细胞是否存在? ② 如果存在, 这些细胞是否可分化为 IPC。有许多研究显示, 胰腺组织中存在胰岛前体细胞<sup>[33, 45, 48]</sup>,

Bhartiya 等<sup>[46]</sup>利用部分胰腺切除的小鼠模型证明, 胰腺组织中存在新的极小胚胎样干细胞 (very small embryonic-like stem cell, VSEL) 亚群, 这些亚群细胞属于成体多能干细胞, 它们在部分胰腺切除条件下可分化为成体胰腺组织。Skurikhin 等<sup>[47]</sup>观察到胰岛前体细胞或胰腺导管细胞也可分化为 IPC 的现象。他们发现, 由 STZ 诱导的 C57BL/6 小鼠胰腺组织分离的胰腺多能前体细胞以及寡能胰腺  $\beta$ -细胞的前体细胞在含有 GLP-1 的培养基中培养, 可将其诱导分化为 IPC。胰腺间充质干细胞在体外诱导剂作用下也可诱导分化为 IPC, Gopurappilly 等<sup>[48]</sup>从小鼠胰腺组织分离到携带有 Sca-1、CD90.2、CD73 和 CD44 等标志物的胰腺间充质干细胞 (pancreatic mesenchymal stem cell, pMSC), 利用无血清的胰岛分化培养基可将其诱导分化为对葡萄糖具有应答能力的 IPC。此外, 也有研究显示胰腺导管细胞可分化为 IPC, 在糖尿病模型大鼠, 其胰腺导管细胞以及糖尿病或肥胖受损的胰腺导管细胞具有增殖及分化为 IPC 的潜能<sup>[49]</sup>。Cheng 等<sup>[10]</sup>报道显示, 控制 1 型或 2 型糖尿病患者饮食, 可通过上调 SOX2 和 Ngn3 并下调 PKA 和 mTOR 信号进而促进 IPC 再生, 并使患者血糖下降。同样在小鼠模型也观察到饮食控制通过上调 Sox17 和 Ngn3 诱导 Ngn3 阳性的胰腺前体细胞分化为 IPC, 并使 1 型和 2 型糖尿病小鼠血糖下降。表明胰腺前体细胞、胰腺间充质干细胞或胰腺导管细胞在一定条件下可在患者体内分化为 IPC 的能力, 这为克服细胞治疗中存在的问题, 为治愈糖尿病开创了全新的领域。

#### 参考文献

- [1] IDF Diabetes Atlas Group. Update of mortality attributable to diabetes for the IDF Diabetes Atlas: Estimates for the year 2013 [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2015, 109 (3): 461-465.
- [2] 马孝义, 张津平. 中西医结合治疗 2 型糖尿病 45 例疗效观察 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2007, 14 (5): 319-319.
- [3] 刘尧娟, 王贯乔, 王树森. T 细胞免疫干预治疗 1 型糖尿病 [J/CD]. *实用器官移植电子杂志*, 2016, 4 (6): 383-387.
- [4] Rahier J, Guiot Y, Goebbels RM, et al. Pancreatic beta-cell mass in European subjects with type 2 diabetes [J]. *Diabetes Obes*

- Metab, 2008, 10(Suppl 4): 32-42.
- [ 5 ] Costes S, Langen R, Gurlo T, et al. beta-Cell failure in type 2 diabetes: a case of asking too much of too few? [ J ]. Diabetes, 2013, 62 ( 2 ): 327-335.
- [ 6 ] 胡娟玉, 李礼. 2 型糖尿病患者血清维生素 D 与糖化血红蛋白水平及胰岛素抵抗的相关性 [ J ]. 实用检验医师杂志, 2015, 7 ( 1 ): 36-38.
- [ 7 ] Seeberger KL, Dufour JM, Shapiro AM, et al. Expansion of mesenchymal stem cells from human pancreatic ductal epithelium [ J ]. Lab Invest, 2006, 86 ( 2 ): 141-153.
- [ 8 ] Fernandes A, King LC, Guz Y, et al. Differentiation of new insulin-producing cells is induced by injury in adult pancreatic islets [ J ]. Endocrinology, 1997, 138 ( 4 ): 1750-1762.
- [ 9 ] D'Amour KA, Bang AG, Eliazer S, et al. Production of pancreatic hormone-expressing endocrine cells from human embryonic stem cells [ J ]. Nat Biotechnol, 2006, 24 ( 11 ): 1392-1401.
- [ 10 ] Cheng CW, Villani V, Buono R, et al. Fasting-mimicking diet promotes ngn3-driven beta-cell regeneration to reverse diabetes [ J ]. Cell, 2017, 168 ( 5 ): 775-788.e12.
- [ 11 ] Wang RN, Klöppel G, Bouwens L. Duct- to islet-cell differentiation and islet growth in the pancreas of duct-ligated adult rats [ J ]. Diabetologia, 1995, 38 ( 12 ): 1405-1411.
- [ 12 ] Xu X, D'Hoker J, Stangé G, et al. Beta cells can be generated from endogenous progenitors in injured adult mouse pancreas [ J ]. Cell, 2008, 132 ( 2 ): 197-207.
- [ 13 ] Lau J, Kawahira H, Hebrok M. Hedgehog signaling in pancreas development and disease [ J ]. Cell Mol Life Sci, 2006, 63 ( 6 ): 642-652.
- [ 14 ] Gu G, Dubauskaite J, Melton DA. Direct evidence for the pancreatic lineage: NGN3<sup>+</sup> cells are islet progenitors and are distinct from duct progenitors [ J ]. Development, 2002, 129 ( 10 ): 2447-2457.
- [ 15 ] Wilson ME, Scheel D, German MS. Gene expression cascades in pancreatic development [ J ]. Mech Dev, 2003, 120 ( 1 ): 65-80.
- [ 16 ] Gittes GK. Developmental biology of the pancreas: a comprehensive review [ J ]. Dev Biol, 2009, 326 ( 1 ): 4-35.
- [ 17 ] Guo T, Hebrok M. Stem cells to pancreatic beta-cells: new sources for diabetes cell therapy [ J ]. Endocr Rev, 2009, 30 ( 3 ): 214-227.
- [ 18 ] Pokrywczynska M, Krzyzanowska S, Jundzill A, et al. Differentiation of stem cells into insulin-producing cells: current status and challenges [ J ]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2013, 61 ( 2 ): 149-158.
- [ 19 ] Kroon E, Martinson LA, Kadoya K, et al. Pancreatic endoderm derived from human embryonic stem cells generates glucose-responsive insulin-secreting cells in vivo [ J ]. Nat Biotechnol, 2008, 26 ( 4 ): 443-452.
- [ 20 ] Sharma A, Zangen DH, Reitz P, et al. The homeodomain protein IDX-1 increases after an early burst of proliferation during pancreatic regeneration [ J ]. Diabetes, 1999, 48 ( 3 ): 507-513.
- [ 21 ] 徐彩棉, 赵瑞景, 朱铁年. PDX-1 及其对胰岛  $\beta$  细胞的调控作用 [ J ]. 临床与病理杂志, 2006, 26 ( 1 ): 55-58.
- [ 22 ] Yang LJ. Liver stem cell-derived beta-cell surrogates for treatment of type 1 diabetes [ J ]. Autoimmun Rev, 2006, 5 ( 6 ): 409-413.
- [ 23 ] Jones PM, Courtney ML, Burns CJ, et al. Cell-based treatments for diabetes [ J ]. Drug Discov Today, 2008, 13 ( 19-20 ): 888-893.
- [ 24 ] ViaCyte. A safety, tolerability, and efficacy study of VC-01<sup>TM</sup> combination product in subjects with type I diabetes mellitus [ OL ]. U.S. National Institute of Health 2015. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02239354>
- [ 25 ] Sun Y, Chen L, Hou XG, et al. Differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells from diabetic patients into insulin-producing cells in vitro [ J ]. Chin Med J (Engl), 2007, 120 ( 9 ): 771-776.
- [ 26 ] Karnieli O, Izhar-Prato Y, Bulvik S, et al. Generation of insulin-producing cells from human bone marrow mesenchymal stem cells by genetic manipulation [ J ]. Stem Cells, 2007, 25 ( 11 ): 2837-2844.
- [ 27 ] Limbert C1, Páth G, Ebert R, et al. PDX1-and NGN3-mediated in vitro reprogramming of human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells into pancreatic endocrine lineages [ J ]. Cytotherapy, 2011, 13 ( 7 ): 802-813.
- [ 28 ] Timper K, Seboek D, Eberhardt M, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells differentiate into insulin, somatostatin, and glucagon expressing cells [ J ]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 341 ( 4 ): 1135-1140.
- [ 29 ] Moshtagh PR, Emami SH, Sharifi AM. Differentiation of human adipose-derived mesenchymal stem cell into insulin-producing cells: an in vitro study [ J ]. J Physiol Biochem, 2013, 69 ( 3 ): 451-458.
- [ 30 ] Gao F, Wu DQ, Hu YH, et al. Extracellular matrix gel is necessary for in vitro cultivation of insulin producing cells from human umbilical cord blood derived mesenchymal stem cells [ J ]. Chin Med J (Engl), 2008, 121 ( 9 ): 811-818.
- [ 31 ] Abumaree MH, Abomaray FM, Alshabibi MA, et al. Immunomodulatory properties of human placental mesenchymal stem/stromal cells [ J ]. Placenta, 2017, 59 : 87-95.
- [ 32 ] Jiang R, Han Z, Zhuo G, et al. Transplantation of placenta-derived mesenchymal stem cells in type 2 diabetes: a pilot

- study [J]. *Front Med*, 2011, 5 (1): 94–100.
- [33] Dave SD, Vanikar AV, Trivedi HL, et al. Novel therapy for insulin-dependent diabetes mellitus: infusion of in vitro-generated insulin-secreting cells [J]. *Clin Exp Med*, 2015, 15 (1): 41–45.
- [34] Guan LX, Guan H, Li HB, et al. Therapeutic efficacy of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in patients with type 2 diabetes [J]. *Exp Ther Med*, 2015, 9 (5): 1623–1630.
- [35] Dong QY, Chen L, Gao GQ, et al. Allogeneic diabetic mesenchymal stem cells transplantation in streptozotocin-induced diabetic rat [J]. *Clin Invest Med*, 2008, 31 (6): E328–E337.
- [36] Le Blanc K, Tammik C, Rosendahl K, et al. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells [J]. *Exp Hematol*, 2003, 31 (10): 890–896.
- [37] Hematti P, Kim J, Stein AP, et al. Potential role of mesenchymal stromal cells in pancreatic islet transplantation [J]. *Transplant Rev (Orlando)*, 2013, 27 (1): 21–29.
- [38] Xv J, Ming Q, Wang X, et al. Mesenchymal stem cells moderate immune response of type 1 diabetes [J]. *Cell Tissue Res*, 2017, 368 (2): 239–248.
- [39] Rahavi H, Hashemi SM, Soleimani M, et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells exert in vitro immunomodulatory and beta cell protective functions in streptozotocin-induced diabetic mice model [J]. *J Diabetes Res*, 2015, 2015: 878535.
- [40] Zang L, Hao H, Liu J, et al. Mesenchymal stem cell therapy in type 2 diabetes mellitus [J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2017, 9: 36.
- [41] Aali E, Mirzamohammadi S, Ghaznavi H, et al. A comparative study of mesenchymal stem cell transplantation with its paracrine effect on control of hyperglycemia in type 1 diabetic rats [J]. *J Diabetes Metab Disord*, 2014, 13 (1): 76.
- [42] Jeon K, Lim H, Kim JH, et al. Differentiation and transplantation of functional pancreatic beta cells generated from induced pluripotent stem cells derived from a type 1 diabetes mouse model [J]. *Stem Cells Dev*, 2012, 21 (14): 2642–2655.
- [43] Rajaei B, Shamsara M, Amirabad LM, et al. Pancreatic endoderm-derived from diabetic patient-specific induced pluripotent stem cell generates glucose-responsive insulin-secreting cells [J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232 (10): 2616–2625.
- [44] Shahjalal HM, Shiraki N, Sakano D, et al. Generation of insulin-producing beta-like cells from human iPS cells in a defined and completely xeno-free culture system [J]. *J Mol Cell Biol*, 2014, 6 (5): 394–408.
- [45] Domínguez-Bendala J, Lanzoni G, Klein D, et al. The human endocrine pancreas: new insights on replacement and regeneration [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2016, 27 (3): 153–162.
- [46] Bhartiya D. Stem cells to replace or regenerate the diabetic pancreas: huge potential & existing hurdles [J]. *Indian J Med Res*, 2016, 143 (3): 267–274.
- [47] Skurikhin EG, Ermakova NN, Khmelevskaya ES, et al. Differentiation of pancreatic stem and progenitor beta-cells into insulin secreting cells in mice with diabetes mellitus [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2014, 156 (6): 726–730.
- [48] Gopurappilly R, Bhat V, Bhone R. Pancreatic tissue resident mesenchymal stromal cell (MSC)-like cells as a source of in vitro islet neogenesis [J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114 (10): 2240–2247.
- [49] Zare M, Rastegar S, Ebrahimi E, et al. Role of pancreatic duct cell in beta cell neogenesis: a mini review study [J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2017, Suppl 1: S1–S4.

(收稿日期: 2017-11-21)

张圣梅, 黄飞榕, 齐忠权, 李良成. 糖尿病细胞治疗供体细胞来源及其研究进展[J/CD]. *实用器官移植电子杂志*, 2018, 6 (2): 139–145.