

传统组织工程技术再造器官的过程中,血管系统往往无法“复刻”出来,导致人造器官无法长大存活。新研究另辟蹊径,对脾脏进行改造,让其具有了肝脏的功能。

# 器官受损无需移植 特制“配方”让脾脏长成肝脏

本报记者 张 晖

包括人类在内的生命体就像一个复杂而又精密的“机器”,成千上万个“零部件”让我们拥有生命的精彩。但不幸的是,“零部件”一旦受损就很难更换或再生。

在全世界范围内,有近1000万终末期器官衰竭患者等待移植一个新的器官,这可能是他们生存的最后希望。

然而,捐赠者短缺、免疫排斥以及医疗、伦理和经济等因素使得器官移植变得无比艰难。

近日,南京大学张峻峰教授、董磊教授与澳门大学王春明教授联合研究团队在《科学进展》上发表了一项突破性研究成果:他们改变组织工程的传统定式思维,不再寻求体外生长人造器官,而是在小鼠体内,将脾脏改造成具有肝脏功能的器官,这一成果为世界各地等待器官移植的患者带来新的希望。



视觉中国供图

## 突破常规思维

### 攻克人造器官无法长大的难题

在过去几十年里,为了解决器官来源短缺的问题,科学家发展出组织工程和再生医学等技术概念。组织工程研究的兴起,使得许多器官受损的人看到了希望的曙光。

组织工程技术的基本策略是在体外建立一个3D框架,利用生物活性物质,培养并构建特定的组织,最后再将其移植回病人体内,以替代受损的组织。

但是,这种方法始终未能在临床上获得实质性推广应用,主要原因就是在培育复杂器官上显得“有心无力”,科学家很难将大型器官内部的血管系统“复刻”出来,在没有足够的血液供应的情况下,这种人造器官注定是无法长大甚至无法存活的。

而在此项最新研究中,科学家另辟蹊径,突破了组织工程体外构建器官的常规思维,采用一种与众不同的方法——在小鼠体内直接将脾脏改造成一个新的器官,并且实现了肝脏的功能。

“我们最早开始构思的时候就怎样让它长大,因为要实现肝脏的功能,必须有足够大的体积,所以为了获得具有生理意义的再生器官,我们一定要让它长大。”论文通讯作者、南京大学生命科学学院教授董磊说,“一个可以绕过血管再生技术不足的方法是利用现有的

## 特制生物制剂

### 让改造后的脾脏更适合肝细胞生长

研究思路确定后,摆在科学家面前的是艰巨的技术难题。

“脾脏是一个淋巴器官,想要让肝细胞长在里面,其实是不可行的。像肝细胞这类上皮细胞注射进去后,它就跑掉了,无法在脾脏内

定植。”董磊告诉记者,为了让脾脏能够支持肝细胞生长,他们在植入细胞之前做了非常深入的改造。

董磊介绍说,改造要解决两个关键问题:一是压制住移植体细胞后的免疫反应,二是

提升脾脏的细胞外基质含量。

“从临床实际出发,很多手术或细胞治疗都是异体移植,实验中还会涉及到异种移植,比如我们的研究中就有大鼠、小鼠甚至人类的肝细胞移植到小鼠的体内,这就必须对它的局部免疫系统进行干预,让它不排斥植入的细胞。”董磊说。

同时,脾脏是造血器官或者是淋巴器官,它的细胞外基质非常稀薄,这就是为什么它不能够支撑上皮细胞在里面生长的原因。把肝细胞移植进去后,必须抓住细胞外基质才能生长,所以就要让脾脏的细胞外基质比原来增长很多,达到肝脏的水平才行。

研究人员将一种肿瘤提取液注射到小鼠的脾脏中。“肿瘤是一个很独特的组织,其实你可以认为它是一个新生的器官,另外肿瘤能非常高效地压制免疫反应。”董磊告诉记者,为了提升安全性和可控性,他们不仅要

## 应用前景广阔

### 但转向临床面临安全性挑战

实际上,这并不是董磊团队的第一次尝试。之前,他们已经在小鼠的睾丸上进行过类似的实验。

“我们将大鼠的胰岛和β细胞移植到用类似技术方法改造后的睾丸中,这些胰岛和β细胞能够长期存活,并发挥控制血糖水平的作用。”董磊说,1型糖尿病影响了全世界数千万人,至今没有治愈的方法,而胰岛移植可能是一种很有前景的治疗方法,但是这个方法尚未解决的一个重要挑战就是异体移植带来的免疫排斥反应。我们利用小鼠睾丸“做窝”,就可以保护异体细胞或异种细胞免受攻击。

董磊告诉记者,这种把自身的一个器官改造成另一个器官的技术是一个全新的概念。这个方法为移植源不足、免疫排斥和不良血管生成等科学挑战提供了一个整体解决方案,而

把提取液中导致肿瘤的细胞因子去掉,还加入几种细胞因子制成的混合物。这些特殊的生物制剂,让脾脏变得更大更硬。至此,脾脏的内部组织结构已经重塑为免疫抑制和再生的微环境。

一旦这些结构在小鼠中“就位”,研究人员便将肝细胞移植到重塑后的脾脏中。不同小鼠接受了来自自体、异体或异种肝细胞:一些接受了自己的肝细胞,另一些接受了来自其他小鼠的肝细胞,还有一些小鼠接受了人或者大鼠的肝细胞。

在接下来的几个月时间里,研究小组观察到这些细胞不仅在免疫健全的改造后小鼠脾脏中存活,还在脾脏内发育成类似肝脏的结构,并且这一全新的器官在小鼠体内发挥着肝脏的功能。更令人兴奋的是,这一由脾脏转化而来的类肝脏器官,可以让小鼠在90%的原始肝脏被切除后保持存活。

他们为此研究了7年之久。

对于这项研究,再生医学专家、中国工程院院士李校堃教授给予高度评价,称其为“实现肝脏再生的独特策略、移植细胞功能的坚实发现以及转化医学的巨大潜力”。同时,李校堃院士还建议今后在大型动物身上开展工作,对其临床应用的有效性和安全性进行综合评价。

“所有这种实验室技术向临床上转化最大的挑战之一是安全性。”董磊坦言,虽然这项研究的前景非常广阔,但是用于临床之前,需要进行非常全面深入的安全性评价。

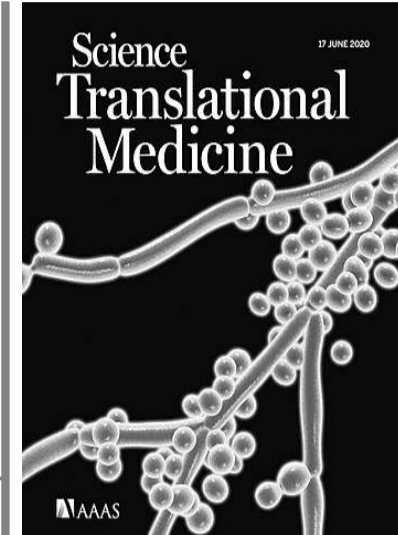
董磊告诉记者,传统的器官移植主要风险是传染病,而这种方法类似于细胞疗法,如果安全性不达标就会有各种各样的问题,比如严重的免疫反应,或是栓塞现象,“所以我们要执行最严格的技术规范,把能想到的风险都去检测一遍”。

## 封面故事

主持人:本报记者 陆成宽

### 新方法可减轻肾病患者 感染真菌的风险

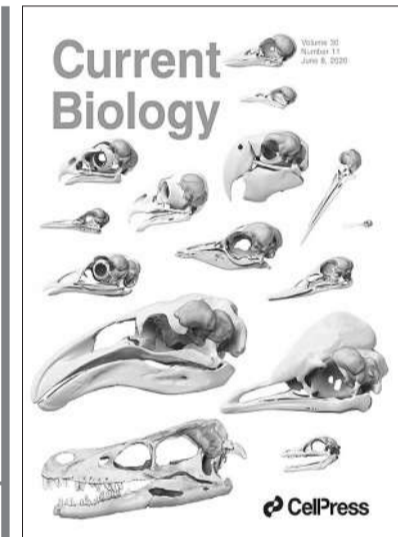
《科学·转化医学》  
2020.6.17



系统性真菌感染常常会让肾病患者病情加重难以治疗。美国匹兹堡大学的凯坦·贾瓦勒等研究人员在研究导致这种风险增加的机制过程中,确定了一种减轻肾病患者感染真菌的方法。研究人员诱导实验小鼠患上肾脏疾病后观察发现,尿毒症小鼠感染白色念珠菌的几率会特异性增加,而白色念珠菌通常是由中性粒细胞控制的。他们推测,尿毒症患者能够通过摄入葡萄糖来减弱中性粒细胞产生活性氧的能力,进而调控真菌的增殖和感染。而可恢复小鼠或人类中性粒细胞缺陷的GSK3β(一种蛋白激酶)抑制剂,可能是一种干预慢性肾病的潜在措施。

### 科学家提出鸟类 「最强大脑」进化新模式

《当代生物学》  
2020.6.8



鸟类大脑的相对大小可以与灵长类动物相匹敌,但鸟类大脑进化的大规模模式和驱动因素仍然难以捉摸。美国布鲁斯博物馆的丹尼尔·克赛普卡等研究人员研究了鸟类起源和进化过程中脑-体比例关系的演变。通过对超过2000种现代鸟类、鸟类化石和兽脚类恐龙的综合数据集采样,他们推断出脑-体比例变化的模式。研究证实,在兽脚亚目恐龙向鸟类过渡的过程中,相对脑容量并没有明显的增加,也没有因飞行而缩小,即兽脚类恐龙和基础鸟类显示出大脑大小和身体大小之间较弱的整合。研究人员推测,在白垩纪-古近纪物种大灭绝之后,新物种内部多个演化分支由于体型缩小而获得了更高的相对脑容量。在鸟类中,鸚鵡和鴉科动物通过明显不同的模式获得了最大的大脑。鸚鵡主要是缩小了它们的体型,而鴉科动物大脑尺寸的进化速度超过了身体尺寸的进化速度。总的来说,这些模式表明,大脑大小的早期适应性辐射为随后的选择和稳定奠定了基础。

### 这种信号分子 竟能帮细菌相互交流

《微生物学趋势》  
2020.6



群体感应(QS)是一种化学通讯方式,利用N-酰基高丝氨酸内酯(AHL)作为一种信号分子,细菌可以感应和协调自然群落的活动。为了实现基于AHL的交流,细菌必须产生和识别相同的信号,从而激活不同物种中的相似基因。英国爱丁堡大学的丽贝卡·普莱斯考特等研究人员在综述文章中表示,物种之间的信号传递不可能是随机发生的,AHL-QS信号是一个在一定范围内可变化适应的过程。AHL是高度保守的信号,但其相应的受体蛋白(LuxR)是高度可变的。研究人员认为,受体蛋白的这种特性,使得信号网络随着时间推移变得越来越复杂。

# 困扰科学界数十年

## “红色万能酶”全长结构终被破解

陈 曦

P450酶含有血红素且能催化羟化、环氧化、脱烷基化、碳-碳偶联、氧化裂解等各式各样不同反应,因而被称为“红色万能酶”,通过酶催化可解决药物和化学品生产过程造成的环境污染问题。但是自P450酶被发现数十年来,其晶体结构一直没能被解析出来,催化机理也困扰着科学界。

近日,湖北大学生命科学学院、省部共建生物催化与酶工程国家重点实验室的陈纯琪教授团队,和马尔新教授、郭瑞庭教授合作,成功破解难题,在P450酶完整催化机理的研究方面取得重要突破:阐明了电子如何从还原酶区域进入底物结合区的反应机理。相关研究成果发表在最新一期《自然·通讯》上。

### 易断裂降解,难识P450 酶真面目

“自然界中存在非常多不同种类的P450酶,它们参与细胞的生理调控、药物代谢以及许多重要药物的合成。”陈纯琪介绍,比如人类

的染色体上就带有超过50个P450酶的基因,它们负责胆固醇、固醇类激素和维生素D等重要化合物的合成;许多具有药物活性的植物或微生物次级代谢物(如青蒿素、紫杉醇),也是由P450酶负责催化合成的;还有一些药物的化学结构非常复杂,单纯以人工合成方法大量生产极为困难,而P450酶能够对此类复杂过程进行精准调控。

科学家们发现,P450酶能够识别多种底物(参与生化反应的物质),由此利用基因工程改造P450酶来量身定制化学反应,成为一个热门研究方向。2018年诺贝尔化学奖得主阿诺德教授,就是利用改造P450酶实现各种特殊的化学反应而获奖。

一个完整的P450酶系统由3个部件组成:带有血红素的底物结合区;负责产生电子的还原酶;连接底物结合区和还原酶的通道。“这就好像一个电器需要插上电才能工作,带有血红素的底物结合区就像电器本身,供电的插座就像还原酶,而电线就是连接两端的电子通道。”陈纯琪解释称,在建立一个P450酶反应系统时需要把所有组件都找齐了,组装在一起后才能进

行催化反应。有一些三种组件都串联在一起的P450酶,称作“自给自足P450酶”,这样的系统不需要另外寻找相匹配的“供电”与“电线”,因此在应用的时候有巨大优势,也是方便科学家们研究的“明星”P450酶。

P450酶的血红素结合区识别底物机制的研究已经相当成熟,针对底物结合区的改造工程也有非常多的研究报道,但是对于电子如何从还原酶送入活性中心却仍有许多未知之处。而这需要获得P450酶的晶体结构,即完全看清酶的长相。由于全长P450酶在表达、纯化后,酶蛋白很容易断裂、降解掉,因此难以获得其完整的晶体,识别全长P450酶的结构也一直没有任何突破。

### “看”清全长结构,解开 P450酶催化路径

陈纯琪带领的结构生物学研究团队经过不懈的努力,找到了一个来源于耐热菌中“自给自足”的P450酶,这个P450酶在70°C的高温下也特别稳定,也不会断裂或是降解,因此特别易于结晶。陈纯琪团队利用先进的X光晶体学技术,成功解析了“自给自足P450酶”的高分辨率

全长结构。

“我们经过研究发现,整个P450酶的三个组成部分,从基因序列的排序依次为:血红素结合区-还原酶结构域-铁氧还蛋白结构域。这三个区域各带有一个辅因子,三个辅因子成为P450酶内部电子传递的中转站。电子传递就像送快递一样,需要经过几个中转站。”陈纯琪介绍,晶体结构显示,血红素结合区和还原酶分别位于整个蛋白质的两端,血红素结合区一端朝外,露出开口以方便底物进入,而电子传递经过几个中转站,最终成功传送到血红素进行酶催化反应。

科研人员观察到中间有许多的氨基酸,并证实了其中几个氨基酸对于P450酶的电子传递很重要。这是迄今为止国内外首次解析“自给自足P450酶”的全长三维结构,是一个非常重要的里程碑,对于其他各类P450酶的改造与应用具有重要指导意义。

陈纯琪表示,他们研究团队目前正利用所获得的结构学信息,加速对P450酶进行更深入的设计改造,以期培育出能催化更多重要反应的新酶,早日实现P450酶的绿色生物工艺制造,并应用于生物科技、制药工程与化工产业。