

尼古丁对干细胞的影响

<https://doi.org/10.12307/2022.416>

曾睿, 海冰

投稿日期: 2020-11-20

采用日期: 2021-02-05

修回日期: 2021-08-26

在线日期: 2021-09-13

中图分类号:

R459.9; R318; R193.8

文章编号:

2095-4344(2022)25-04070-06

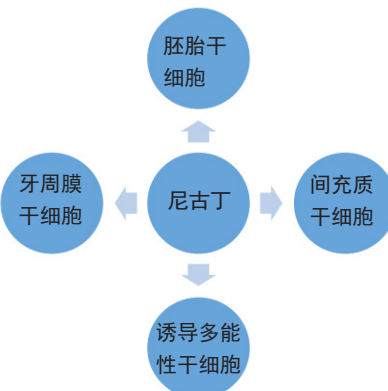
文献标识码: A

文章快速阅读:

文章描述—

△ 尼古丁激活胚胎干细胞、间充质干细胞、诱导多能干细胞和牙周膜干细胞上的神经元烟碱型乙酰胆碱受体, 通过多种机制对它们的增殖、分化、迁移和凋亡过程产生影响;

△ 尼古丁对干细胞疗效影响的研究仍不十分清晰, 未来需要继续研究体内尼古丁暴露以及长期暴露对干细胞的影响。



文题释义:

尼古丁: 俗名烟碱, 是传统的烟草和新兴起的电子烟的重要成分之一, 它主要通过激活神经元烟碱型乙酰胆碱受体发挥作用, 尼古丁及其代谢产物与全身的不良反应有关。随着尼古丁暴露越来越普遍, 人们越来越重视尼古丁对各类疾病、细胞的影响。

干细胞治疗: 将健康的干细胞移植到患者体内, 发挥修复、替换受损组织或细胞的作用, 从而达到治疗疾病的目的。干细胞治疗是生命科学领域最领先的治疗方式之一, 其前提是需要“健康的干细胞”, 因此开展对干细胞影响的研究是十分必要的。

摘要

背景: 干细胞治疗具有巨大的临床应用潜力。在干细胞植入患者前, 需要对干细胞来源进行传染病和遗传疾病的筛查, 但是一些与生活方式相关的重要因素往往容易被忽略, 尤其是吸烟。吸烟是许多疾病发生的危险因素, 且随着电子烟使用的增加, 尼古丁暴露越来越严重和普遍。

目的: 着重描述和分析体外尼古丁暴露对各类干细胞的影响。

方法: 检索PubMed和中国知网数据库1806–2021年间收录的相关文章, 英文检索词为“nicotine, tobacco smoking, stem cells therapy, embryonic stem cells, mesenchymal stem cells, induced pluripotent stem cells, periodontal ligament-derived stem cells”, 中文检索词为“尼古丁, 吸烟, 干细胞治疗, 胚胎干细胞, 间充质干细胞, 诱导性多能干细胞, 牙周膜干细胞”, 按纳入和排除标准共选择文献59篇进行归纳总结。

结果与结论: 尼古丁激活胚胎干细胞、间充质干细胞、诱导多能干细胞和牙周膜干细胞上的神经元烟碱型乙酰胆碱受体, 通过多种机制对它们的增殖、分化、迁移和凋亡过程产生影响。目前尼古丁对干细胞影响的研究虽然面临严峻的挑战, 但由于“健康干细胞”是干细胞治疗的必备前提, 所以有必要研究尼古丁对干细胞的影响。

关键词: 干细胞治疗; 尼古丁; 胚胎干细胞; 间充质干细胞; 诱导性多能干细胞; 牙周膜干细胞

Impact of nicotine on stem cells

Zeng Rui, Hai Bing

Second Ward, Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Zeng Rui, Master candidate, Second Ward, Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Corresponding author: Hai Bing, Master, Chief physician, Second Ward, Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Abstract

BACKGROUND: Stem cell therapy has great clinical application potential. Stem cell donor needs to be screened for infectious and genetic diseases before implantation, but some important factors related to lifestyle are often overlooked, especially smoking. For many diseases, smoking is a risk factor. With the increasing use of e-cigarettes, nicotine exposure is becoming serious and widespread.

OBJECTIVE: To describe and analyze the effects of nicotine exposure on various types of stem cells.

METHODS: Articles were searched on PubMed and CNKI databases published between 1806 and 2021. The search terms were “nicotine, tobacco smoking, stem cells therapy, embryonic stem cells, mesenchymal stem cells, induced pluripotent stem cells, periodontal ligament-derived stem cells” in Chinese and English. A total of 59 articles were selected according to the inclusion and exclusion criteria and summarized.

昆明医科大学第二附属医院呼吸与危重症医学科二病区, 云南省昆明市 650032

第一作者: 曾睿, 女, 1995年生, 云南省楚雄市人, 彝族, 昆明医科大学第二附属医院在读硕士, 主要从事常见呼吸系统疾病、戒烟门诊工作。

通讯作者: 海冰, 硕士, 主任医师, 昆明医科大学第二附属医院呼吸与危重症医学科二病区, 云南省昆明市 650032

<https://orcid.org/0000-0003-2659-564X> (曾睿)

基金资助: 昆明医科大学第二附属医院人才培养计划任务书 (RCPYXM 2017-2-03), 项目负责人: 海冰

引用本文: 曾睿, 海冰. 尼古丁对干细胞的影响 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(25):4070-4075.



RESULTS AND CONCLUSION: Nicotine activates nicotinic acetylcholine receptors in embryonic stem cells, mesenchymal stem cells, induced pluripotent stem cells and periodontal membrane stem cells through a variety of mechanisms to affect their proliferation, differentiation, migration and apoptosis. At present, although the research on the effect of nicotine on stem cells is facing severe challenges, it is very necessary to study the effect of nicotine on stem cells, because "healthy stem cells" are the prerequisite for stem cell therapy.

Key words: stem cell therapy; nicotine; embryonic stem cells; mesenchymal stem cells; induced pluripotent stem cells; periodontal ligament-derived stem cells

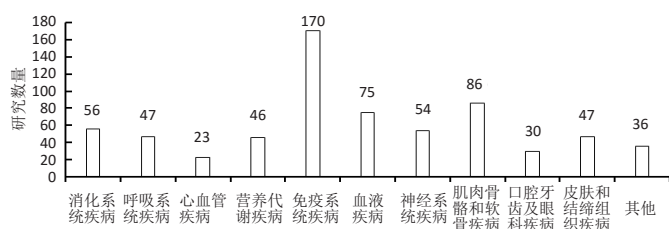
Funding: the Assignment of Talent Cultivation Plan of Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, No. RCPYXM 2017-2-03 (to HB)

How to cite this article: ZENG R, HAI B. Impact of nicotine on stem cells. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2022;26(25):4070-4075.

0 引言 Introduction

干细胞治疗是当前十分热门的一种新型疗法^[1-3],截至2020年12月全球登记的干细胞临床试验已超过8 000项,有3 282项已完成,其中中国登记了670项,约占全球总量的12%,已完成了107项。

在中国,免疫系统疾病的干细胞临床试验研究占比高达25.4%,其次为肌肉、骨骼和软骨疾病研究占比为12.8%,见图1,另外在组织移植和整形手术中也发挥重要作用^[4-5]。



图注:数据来源于: <https://Clinicaltrials.gov>

图1 | 中国干细胞临床研究登记项目的疾病领域分布情况

干细胞治疗虽然广受欢迎,但是也具有一定挑战性,首先干细胞本身的存活、成熟度、可扩展性和免疫反应是一大难题^[6],其次对干细胞来源要求严格,为了遵守良好的干细胞移植规范要求,需对其进行严格筛选,以排除可能改变干细胞生物学功能并破坏治疗疗效的遗传病和/或传染原^[7]。已有研究报道表明,年龄和性别等因素是干细胞治疗的影响因素^[8-10],但是吸烟这个危险因素往往容易被忽略。烟草及其相关产品会产生许多化学物质,而主要成瘾成分是尼古丁。截止到现在,关于吸烟对干细胞治疗疗效影响的研究仍很少。尼古丁暴露在干细胞治疗疗效方面的影响仍不是很清晰。该文章综述了尼古丁的临床知识及其暴露对各类干细胞的影响,着重对动物模型和多能干细胞进行阐述,这有助于更深入地了解吸烟如何影响干细胞治疗。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 文献检索和筛选要求 检索 PubMed 和中国知网数据库,英文检索词为“nicotine, tobacco smoking, stem cells therapy, embryonic stem cells, mesenchymal stem cells, induced pluripotent stem cells, periodontal ligament-derived stem cells”,中文检索词为“尼古丁,吸烟,干细胞治疗,胚胎干细胞,间充质干细胞,诱导多能干细胞,牙周膜干细胞”。检索时限为1806-2021年,重点看近5年的文献。

1.2 文献筛选标准 ①有关最新吸烟流行病学调查的报告;②尼古丁生物学相关的文献;③尼古丁对胚胎干细胞、间充质干细胞、诱导多能干细胞、牙周膜干细胞影响的相关实验以及临床研究;④尼古丁对干细胞治疗影响的相关文献;④构思严谨,

具有一定代表性和参考性的文献;④剔除与研究内容不相关、无新意重复研究的文献。

1.3 质量评估及数据的提取 计算机初检得到911篇文献,经资料收集者互相评估纳入文献的有效性和适用性,通过阅读全文和摘要进行初步筛选;排除中英文文献重复性研究,以及内容不相关的文献,最后纳入59篇文献进行综述。

2 结果 Results

2.1 尼古丁临床知识、生物学影响 尼古丁是烟草及相关产品的主要成瘾成分^[11-12]。2015年估计全世界每天有9.331亿吸烟者^[13]。2018年最新全球成人烟草调查(GATS)示:在中国15岁及以上人群现在吸烟率为26.6%(现在吸烟人数为3.08亿),其中男性50.5%,女性为2.1%,对比2010年GATS结果显示中国成人吸烟率一直保持稳定,意味着尼古丁暴露也保持稳定。近些年电子烟的使用日益广泛,尤其是在初中生中,2019年初中学生电子烟使用率为2.7%,与2014年相比,分别上升了24.9%和1.5%^[14]。使得电子烟成为尼古丁暴露的另一种途径。尼古丁具有导致生长迟缓、生殖功能下降、应激反应过度、新陈代谢异常等许多负面影响^[15-17]。在心血管疾病中,尼古丁通过损伤血管内皮细胞、增加内皮通透性、促进人脐静脉内皮细胞增殖、迁移和血液凝固,同时激活血管紧张素II受体1引起内皮功能紊乱^[18],增加了动脉粥样硬化的发病率^[19-20]。尼古丁本身并不致癌,但参与多种癌症的进展。在口腔鳞状细胞癌中,尼古丁通过激活核转录因子kB来促进口腔鳞状细胞癌SCC15细胞增殖并诱导少量正常细胞凋亡^[21];在膀胱癌中,尼古丁和β-肾上腺素受体结合后激活STAT3并下调ERK1/2来介导膀胱癌进展;还有研究表明,尼古丁主要通过旁分泌信号激活细胞与细胞的相互作用驱动癌细胞增殖来参与胰腺癌的进展^[22]。

尼古丁的生物学效应是通过神经元烟碱型乙酰胆碱受体(nAChRs)介导的。烟碱型乙酰胆碱受体是变构调节的配体门控离子通道,是由9个α亚基(α2-α10)和3个β亚基(β2-β4)组成的五聚体蛋白。在干细胞中,已经确认了有烟碱型乙酰胆碱受体亚基的表达^[23],烟碱型乙酰胆碱受体是一类能改变钠和钙通透性的配体门控离子通道^[24],一旦受体被激活,中心孔就会打开,以允许钠、钾和钙阳离子进入细胞,使细胞去极化。烟碱型乙酰胆碱受体激活后大量钙离子内流,触发许多细胞内信号转导途径,参与细胞增殖、凋亡、细胞分化、氧化应激和炎症、血管生成等细胞行为^[25]。

2.2 尼古丁对各类干细胞的影响 干细胞是一类具有自我更新和多向分化潜能的细胞,在一定条件下可以分化为多种功能细胞。根据干细胞发育潜能可分为全能干细胞、多能干细胞和单能干细胞^[26]。由于胚胎干细胞具有强大的多能性,所以大多数研究

都集中在胚胎干细胞上,其他类型干细胞研究随着政策支持力度的增加也逐渐得到关注,例如牙周膜干细胞、间充质干细胞和诱导多能性干细胞^[27]。下面将深入描述尼古丁暴露对干细胞的影响,着重对胚胎干细胞、间充质干细胞、诱导多能性干细胞和牙周膜干细胞进行描述。

2.2.1 胚胎干细胞 胚胎干细胞具有很强的分化能力,可以发育为内胚层、中胚层和外胚层3个胚层组织,并无限增殖并分化成为全身200多种细胞类型。胚胎干细胞来源于早期胚胎。由于胚胎干细胞具有强大的多能性,它已被用于许多疾病和临床前研究^[28-29]。2017年3月,中国启动了两项使用人类胚胎干细胞治疗帕金森病和年龄相关性黄斑变性引起的视力丧失的临床试验(《人民日报》2017-04-12),这两项临床试验研究是国家卫生和计划生育委员会和食品药品监督管理局在中国进行的首次临床试验,也是世界上首次将抗原匹配的人类胚胎干细胞用于临床试验。然而,出于对伦理规范和胚胎干细胞治疗安全性的考虑,人类胚胎干细胞用于再生医学具有很大的限制性。

既往有大量研究表明尼古丁暴露对胚胎干细胞有负面影响。早在2012年LISZEWSKI等^[30]对比吸烟母亲与不吸烟母亲的脐带组织发现,尼古丁对人类胚胎干细胞分化具有阶段特异性效应,即尼古丁对中胚层、外胚层和内胚层均有延迟其发育作用,但对中胚层晚期发育影响较大,而对外胚层和内胚层的早期发育影响较大,其主要机制是通过转化生长因子 β 超家族成员Nodal介导来实现的。LIN等^[31]对比未接触烟草烟雾的小鼠胚胎干细胞发现,暴露于主流烟或侧流烟(二手烟)24 h的小鼠胚胎干细胞中均产生更高水平的细胞毒性和黏附性损害。对于小鼠胚胎干细胞的增殖,尼古丁具有双向调节特性,0.01 mmol/L和0.1 mmol/L剂量的尼古丁可促进小鼠胚胎干细胞增殖,而1 mmol/L和10 mmol/L则可抑制小鼠胚胎干细胞增殖,这种剂量依赖性调节是通过Wnt/ β -catenin途径介导的,Wnt/ β -catenin途径调节小鼠胚胎干细胞增殖和细胞周期的进展,会加重或逆转尼古丁的影响^[32]。KIM等^[33]将小鼠胚胎干细胞长期暴露于烟草烟雾中,发现尼古丁影响小鼠胚胎干细胞表达HDAC1、HDAC2、GATA4、NKX2-5、TBX5、HAND1和肌钙蛋白I,也会延迟心肌细胞发育并抑制可收缩性,影响心脏的基本功能。HE等^[34]用单细胞RNA测序来研究尼古丁暴露对人胚胎干细胞H9系(H9人胚胎干细胞系是国际上最通用胚胎干细胞系之一,该细胞是从人类早期胚胎内细胞团分离出来,具有体外培养无限增殖、自我更新和多向分化的特性,可为细胞遗传发育以及疾病模型研究提供丰富的实验材料)心脏分化的影响,发现尼古丁剂量为0.1–10 μ mol/L时不影响H9系细胞增殖,1 μ mol/L尼古丁相对下调了心脏祖细胞、中胚层细胞、平滑肌细胞和神经嵴细胞的细胞活力,在分化的第6天,尼古丁使Gata4、Isl-1和Nkx2.5表达终止,最终使心内膜发育延迟。将人胚胎干细胞来源内皮细胞用尼古丁(10 mmol/L)处理24 h,注射到左前降支结扎小鼠的心脏中,然后对照组给予2%的糖精溶液,实验组饮用含有100 mg/L尼古丁的糖精溶液,以评估尼古丁对人胚胎干细胞来源内皮细胞再生潜能的影响。令人惊讶的是,在第6周时,实验组移植的

人胚胎干细胞来源内皮细胞存活率较对照组显著提高,这是首次研究表明短期低剂量的尼古丁可以改善移植人胚胎干细胞来源内皮细胞的生存,并增加体内血管的生成,其中机制可能与烟碱型乙酰胆碱受体被激活后通过MAPK和Akt信号通路使其具有抗凋亡、血管生成和增殖作用有关^[35]。

2.2.2 间充质干细胞 间充质干细胞是多能干细胞,具有高增殖速率特性,并能在体外分化为各种中胚层细胞谱系^[36]。许多研究表明,间充质干细胞的功能受大量信息系统的控制^[37]。已证实间充质干细胞表达烟碱乙酰胆碱受体亚基 $\alpha 3$ 、 $\alpha 5$ 和 $\beta 2$ 、 $\beta 4$ 、 $\beta 7$ 等^[38]。间充质干细胞具有易提取、分离、扩增、纯化和无伦理问题的优点,是临床干细胞治疗研究中应用最多的干细胞类型,尤其自2000年以来间充质干细胞临床试验迅速增加。

尼古丁对间充质干细胞的体外作用已被广泛研究,尼古丁对间充质干细胞增殖、迁移、凋亡、分化均会产生影响。尼古丁影响间充质干细胞的增殖,并且具有双峰效应,国外学者研究发现暴露于浓度为1.0–2.0 mmol/L尼古丁时牙槽骨髓源性间充质干细胞增殖增加,而当浓度为5 mmol/L时细胞增殖显著下降,这可能与细胞周期蛋白D1或p53信号转导有关^[39]。人脐带间充质干细胞暴露于质量浓度为0.5–1.5 g/L尼古丁时细胞增殖以剂量依赖性方式被抑制,凋亡细胞比例以剂量依赖性方式显著增加,在尼古丁浓度达到6.2 mmol/L时细胞变为致死性,细胞形态发生变化,即细胞质凝结和细胞核内出现空泡,核边界模糊^[40]。KIM等^[41]研究发现即使尼古丁浓度低至0.1 mmol/L时,也可观察到间充质干细胞增殖显著降低。WAHL等^[42]对脂肪源性间充质干细胞研究发现,暴露在尼古丁浓度为5%和10%水平时,间充质干细胞均无活性,而在尼古丁浓度低于1%时间充质干细胞存活率无显著变化,这项研究强调尼古丁剂量超过特定阈值,间充质干细胞可能直接凋亡。研究发现,尼古丁可上调人脐带间充质干细胞中 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体的表达,并刺激间充质干细胞释放一氧化氮、升高细胞内 Ca^{2+} 从而致间充质干细胞凋亡^[43]。

间充质干细胞还具有迁移能力。间充质干细胞向损伤部位迁移并通过释放生长因子和细胞因子以及通过直接分化促进伤口愈合,这种间充质干细胞特有的定向迁移形式,称为“干细胞归巢”。尼古丁调控间充质干细胞的迁移存在剂量依赖性。当烟草烟雾浓度小于1%时脂肪源性间充质干细胞的迁移潜力在体外不受影响,但当烟草烟雾浓度大于5%时会直接影响脂肪源性间充质干细胞迁移^[44]。研究发现,当烟草烟雾浓度为100%时不仅诱导了乳腺上皮细胞的上皮向间质转化,也促进间充质干细胞的迁移和转移;在无趋化因子的培养物中,加入1 mmol/L尼古丁可显著促进骨髓源性间充质干细胞的自发迁移^[45]。曾慧兰等^[46]认为影响间充质干细胞黏附和迁移的机制可能与尼古丁通过增加一氧化氮、一氧化氮合酶、诱导型一氧化氮合酶和活性氧水平,降低线粒体膜电位,使基质细胞衍生因子1、转化生长因子 $\beta 1$ 、胰岛素样生长因子1及碱性成纤维细胞生长因子分泌下降,细胞间黏附分子1、基质金属蛋白酶9及基质金属蛋白酶抑制物1表达上升有关。

烟碱型乙酰胆碱受体能在软骨细胞中表达,尼古丁作为烟碱型乙酰胆碱受体的激动剂,在软骨分化过程中发挥重要作用,尼古丁对间充质干细胞的软骨分化有不利影响,这可能是通过 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体介导而受损的^[47]。YING等^[48]却有不同看法,他们认为尼古丁在浓度为1 mmol/L时对II型胶原有积极作用,II型胶原是关节软骨主要组成成分,同期研究发现单层培养14 d的骨髓间充质干细胞暴露在尼古丁中不影响聚集蛋白聚糖的表达,聚集蛋白聚糖是软骨形成分化最广泛认可的标志。ZHAO等^[49]对比3名吸烟者和3名非吸烟者的牙槽骨骨髓间充质干细胞,发现吸烟对人牙槽骨骨髓间充质干细胞的增殖和成骨具有有害的遗传作用,而人牙槽骨骨髓间充质干细胞的生物学功能下降与骨骼愈合呈正相关,吸烟减少了体内和体外人牙槽骨骨髓间充质干细胞的成骨和增殖能力。总之,目前尼古丁对间充质干细胞软骨形成分化的影响尚存在争议,是否与尼古丁剂量不同或者实验条件等因素有关,将来需要更多的研究来证实。

2.2.3 诱导多能干细胞 诱导多能干细胞是通过在已分化的体细胞中表达特定的基因或特定基因产物等方式,以诱导体细胞的重编程而获得可不断自我更新且具有多向分化潜能的细胞。2006年,日本科学家将分化的小鼠体细胞在特定诱导因子Oct4、Sox2、c-Myc和Klf4(即OSKM体系)过表达作用下,逆转去分化重回多能干细胞,并命名为诱导多能干细胞^[50]。目前诱导多能干细胞的临床应用可以分为3类:疾病模型(用于疾病机制的研究和罕见病药物筛选的研究)、干细胞疗法和组织器官再生。

有研究报道诱导多能干细胞表达烟碱型乙酰胆碱受体亚基 $\alpha 4$ 、 $\alpha 7$ 和 $\alpha 6$,而这些亚基都是激活乙酰胆碱途径所必需的^[51]。与其他类型干细胞一样,尼古丁对诱导多能干细胞的增殖和分化有影响。LEE等^[52]利用诱导多能干细胞作为筛选模型来评估市场上流行的电子烟的毒性,发现人诱导多能干细胞暴露在尼古丁浓度为0.1%或更高时,细胞增殖能力显著降低,将人诱导多能干细胞来源内皮细胞暴露于电子烟使用者的血清后,观察到与内皮功能障碍有关的活性氧水平升高,使促血管生成特性受损,且往往尼古丁浓度越高会产生越高水平的活性氧和越多的细胞凋亡。ISHIZUKA等^[53]发现用300 nmol/L烟碱处理小鼠诱导多能干细胞会显著增加细胞DNA合成,导致细胞增殖速率显著增加,用 $\alpha 4$ 烟碱型乙酰胆碱受体和 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体拮抗剂或CaMK II抑制剂进行预处理可以显著抑制这种情况,此外,在小鼠诱导多能干细胞中 Ca^{2+} 水平会随着尼古丁剂量的增加而升高,他们认为这可能是尼古丁促进小鼠诱导多能干细胞增殖的主要原因。通过比较诱导多能干细胞源性间充质干细胞与骨髓源性间充质干细胞治疗烟草烟雾接触引起的心脏损伤的疗效,发现诱导多能干细胞源性间充质干细胞在心脏功能结局方面比骨髓源性间充质干细胞更好,诱导多能干细胞源性间充质干细胞表现出左心室射血分数增加,还减轻了氧化应激、炎症细胞因子分泌和纤维化反应。尽管尚不清楚这些作用的潜在机制,但结果表明,诱导多能干细胞源性间充质干细胞对烟草烟雾暴露和相关生理环境有更强的抵抗力^[54]。

2.2.4 牙周膜干细胞 牙周膜干细胞是一类牙周膜组织来源的间充质干细胞,文章涉及尼古丁暴露对间充质干细胞的影响主要描述了人脐带、牙槽、脂肪来源的间充质干细胞,此处单独对牙周膜干细胞进行描述的原因有以下几点:第一,香烟烟雾中含有7 000多种化学物质和250种已知毒素,吸入烟雾是吸烟者的主要尼古丁暴露方式。实际上,唾液尼古丁的含量几乎是血浆中的87倍^[55]。暴露于这种剂量的尼古丁对口腔中的间充质干细胞亚群(牙周膜干细胞)是十分危险的,所以单独对牙周膜组织来源间充质干细胞进行研究是很有必要的;第二,牙周膜干细胞易从牙周组织中分离出来,并且最能在体内再生典型的牙周膜样结构,这使其在牙周组织工程和细胞治疗中成为了极好的细胞来源;第三,不同于其他类型干细胞,牙周膜干细胞具有独特的衍生自神经细胞的免疫调节和神经源性分化特性,使其在组织再生和疾病治疗中都有更广泛的应用。

牙周膜干细胞存在牙周膜中,并产生牙齿支撑结构,例如牙槽骨、牙周膜和牙骨质。尼古丁抑制牙周膜干细胞的增殖、迁移和成骨分化。周志斐^[56]发现牙周膜干细胞中存在 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体基因和蛋白的表达,不同浓度尼古丁均可抑制牙周膜干细胞早期和终末期成骨分化且具有浓度依赖性,这可能与尼古丁抑制成骨相关因子碱性磷酸酶、骨涎蛋白、骨钙素、Runt相关转录因子2基因及蛋白的表达和尼古丁激活 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体后下游存在Wnt信号通路相关转录因子蛋白的表达有关。为评估体内牙周膜干细胞的增殖变化,从慢性吸烟者中分离出牙周膜干细胞,在分离后没有体外暴露于任何额外的烟草或尼古丁的情况下,与非吸烟者的牙周膜干细胞对比,观察到了牙周膜干细胞增殖速率降低,这些细胞的增殖速率降低了2.53倍,甚至在传代培养3-5次后,仍然观察到增殖减少,这表明尼古丁暴露对牙周膜干细胞增殖的影响可能是永久性的^[57]。牙周膜干细胞已被证实表达CD90和CD105,与空白对照组相比,尼古丁实验组牙周膜干细胞培养3 d后,尼古丁浓度为 10^{-4} mol/L时牙周膜干细胞的增殖能力受到明显抑制。尼古丁使牙周膜干细胞的碱性磷酸酶、骨钙素、Runt相关转录因子2的基因及蛋白表达量均降低,加入Toll样受体4抑制剂TAK-242后,尼古丁的抑制效应减弱^[58]。吴贾涵等^[59]对120例患者牙周膜干细胞进行体外培养,用不同浓度(10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} mol/L)尼古丁培养液刺激牙周膜干细胞,对照组为不含尼古丁的培养液,发现尼古丁可导致牙周膜干细胞形态改变,并降低细胞增殖、成骨分化能力,随着浓度增高、作用时间延长,产生的影响越大,这可能与其自身的毒性作用及其影响线粒体、Toll样受体4表达有关。

3 总结与展望 Summary and prospects

干细胞治疗是目前生命科学领域里一种前沿的治疗方式。干细胞疗法将为目前尚无法解决或难以治愈疾病的治疗提供新的可能性,为患有难治性疾病的患者带去更多希望,并可能在将来引发新的医学革命。2015年,中国科技部发布了“国家干细胞转化医学重点研究开发计划”,从此干细胞治疗特别是干细胞临床试验开始高速、规范化发展。随着干细胞治疗研究不断深入,生活方式对干细胞治疗效果的影响越来越受到关注。

该文章阐述尼古丁对各类干细胞的影响，着重对胚胎干细胞、间充质干细胞、诱导多能性干细胞、牙周膜干细胞进行描述，见表1。

表1 | 尼古丁对各类干细胞的影响

细胞类型	尼古丁剂量或浓度	暴露时间	结果	可能的机制
小鼠胚胎干细胞	0.01, 0.1 mmol/L	48 h	促进细胞增殖	通过 Wnt / β -catenin 途径介导的
小鼠胚胎干细胞	1, 10 mmol/L	48 h	抑制细胞增殖	影响 GATA4、NKX2-5 和 HAND1 等表达
小鼠胚胎干细胞	0, 0.6, 3.0, 5.4, 7.8 μ mol/L	17 d	延迟心肌细胞发育并抑制可收缩性	抑制心脏转录因子
人胚胎干细胞 H9	0, 0.1, 1, 10 μ mol/L	10 d	使心内膜发育延迟	抑制心脏转录因子
体内胚胎干细胞以及小鼠左前降支结扎模型	10 nmol/L 体外处理 100 mg/L 溶解后体内干预 3 周	24 h	提高了细胞的存活率并增加血管数量	激活 MAPK 和 Akt 信号通路
牙槽骨髓来源间充质干细胞	1 μ mol/L-5 mmol/L	5 d	1.0-2.0 mmol/L 时细胞增殖增加, 5 mmol/L 时细胞增殖显著下降	细胞周期蛋白 D1 或 p53 信号转导
人脐带来源间充质干细胞	0.1, 0.5, 1, 1.5 g/L	24 h	尼古丁浓度高时细胞凋亡明显增加	细胞结构发生改变
人脂肪来源间充质干细胞	0, 0.5%, 1%, 5%, 10%	24 h	5% 和 10% 水平下, 间充质干细胞均无活性	细胞因子和趋化因子的表达降低
人脐带来源间充质干细胞	0.6, 0.8, 1.0 g/L	24, 36, 48 h	破坏间充质干细胞的黏附和迁移特性, 抑制间充质干细胞增殖	增加一氧化氮、一氧化氮合酶、诱导型一氧化氮合酶和活性氧水平, 降低线粒体膜电位
小鼠诱导多能性干细胞	300 nmol/L	4 d	增殖速率显著增加	Ca^{2+} 水平会随着尼古丁剂量的增加而升高
诱导多能性干细胞来源内皮细胞	18 g/L 尼古丁在液体中稀释成 0.1%	48 h	细胞活力、活性氧生成和细胞凋亡都受到负面影响	内皮功能障碍有关的活性氧水平升高
牙周膜干细胞	10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} mol/L	21 d	抑制增殖及成骨分化能力	通过 Toll 样受体 4 信号通路
牙周膜干细胞	10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} mol/L	24, 48, 72 h	形态改变, 并降低细胞增殖、成骨分化能力	影响线粒体、Toll 样受体 4 表达

尼古丁对胚胎干细胞的增殖具有双向调节特性。尼古丁会延缓胚胎干细胞分化，在最重要的心脏发育过程中，尼古丁通过抑制心脏特异性转录因子表达来抑制整个分化过程。有趣的是，低剂量尼古丁短期全身给药可以增加移植的人胚胎干细胞来源内皮细胞的存活率。间充质干细胞增殖、迁移、凋亡都呈现尼古丁剂量或浓度依赖性，但对分化影响的结局尚存在争议，尤其是对间充质干细胞的软骨分化，具体影响机制不清楚，在未来需要进行更多研究以明确两者关系。目前尼古丁对诱导多能性干细胞的影响研究少，而对牙周膜干细胞的影响研究是相对较全面的。当前许多研究表明尼古丁对干细胞增殖等具有负面影响，目前无论是基于哪种类型的干细胞研究，都面临一些问题：首先，尼古丁对干细胞影响的研究几乎都是在体外进行，以后如何将这些研究转移至体内并进行良好试验研究是很大的一个挑战；其次，对于不同吸烟状态（当前吸烟者、前吸烟者、已戒烟者）的干细胞来源，是否会有不同的治疗效果？目前是缺乏研究的；最后，对于尼古丁暴露方式不同，即直接吸烟和间接吸烟（二手烟）是否对干细胞的影响不同？目前还需要更深入的研究。此外，目前大部分研究都是针对急性尼古丁暴露（1个月以内），关于慢性尼古丁暴露对干细胞影响的研究几乎没有；市面上已有许多不同的烟草及其相关产品（比如雪茄、水烟、

电子烟、嗅烟、嚼烟），这些衍生产品对干细胞治疗的影响是否有差异，在将来有必要进行更多的研究来评估。尽管存在问题，但随着理论和技术的逐步突破，例如有模仿疾病的体外系统进行实验研究或者出现更新的筛选技术、更精准的筛选平台加速试验研究等，相信以上的问题终将被一一克服。

总之，尼古丁对干细胞影响的研究仍不十分清晰，未来需要继续研究体内尼古丁暴露以及长期暴露对干细胞的影响，更加充分了解尼古丁如何影响干细胞对评估接受干细胞治疗患者的安全性及疗效至关重要。

作者贡献：曾睿负责综述构思设计和参与文献收集、分析总结，海冰负责文章写作校对和项目指导。全体作者都阅读并同意最终的文本。

经费支持：该文章接受了“昆明医科大学第二附属医院人才培养计划任务书(RCPYXM 2017-2-03)”的资助。所有作者声明，经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突：文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

写作指南：该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南)。

文章查重：文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审：文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发表宗旨。

文章版权：文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明：这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] 张俊, 邵长周. 间充质干细胞在特发性肺纤维化治疗中的应用 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2020, 43(7): 595-598.
- [2] CALONGE M, PÉREZ I, GALINDO S, et al. A proof-of-concept clinical trial using mesenchymal stem cells for the treatment of corneal epithelial stem cell deficiency. Transl Res. 2019;206:18-40.
- [3] WU X, XIA Y, ZHOU O, et al. Allogeneic human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells for severe bronchopulmonary dysplasia in children: study protocol for a randomized controlled trial (MSC-BPD trial). Trials. 2020;21(1):125.
- [4] LORENZ HP, HEDRICK MH, CHANG J, et al. The impact of biomolecular medicine and tissue engineering on plastic surgery in the 21st century. Plast Reconstr Surg. 2000;105(7):2467-2481.
- [5] 欧令东, 张爱君, 李昂, 等. 人脂肪来源干细胞治疗皮肤凹陷性瘢痕患者的作用及其机制 [J]. 中华烧伤杂志, 2019, 35(12): 859-865.
- [6] HUANG NF, SERPOOSHAN V, MORRIS VB, et al. Big bottlenecks in cardiovascular tissue engineering. Commun Biol. 2018;1:199.
- [7] SENSEBÉ L, GADELORGE M, FLEURY-CAPPELLESSO S. Production of mesenchymal stromal/stem cells according to good manufacturing practices: a review. Stem Cell Res Ther. 2013;4(3):66.
- [8] KIM YS, CHOI YJ, KOH YG. Mesenchymal stem cell implantation in knee osteoarthritis: an assessment of the factors influencing clinical outcomes. Am J Sports Med. 2015;43(9):2293-2301.
- [9] YHIM HY, KIM JS, MUN YC, et al. Clinical Outcomes and Prognostic Factors of Up-Front Autologous Stem Cell Transplantation in Patients with Extranodal Natural Killer/T Cell Lymphoma. Biol Blood Marrow Transplant. 2015;21(9):1597-1604.
- [10] LIMBACH M, KUEHL R, DREGER P, et al. Influencing factors of cardiorespiratory fitness in allogeneic stem cell transplant candidates prior to transplantation. Support Care Cancer. 2021;29(1):359-367.
- [11] BENOWITZ NL. Nicotine addiction. Prim Care. 1999;26(3):611-631.
- [12] 王贵荣, 许扬, 龚美琪, 等. 尼古丁贴片短期戒烟效果的 Meta 分析 [J]. 中国药物与临床, 2016, 16(7): 1020-1021.

- [13] GBD 2015 TOBACCO COLLABORATORS. Smoking prevalence and attributable disease burden in 195 countries and territories, 1990-2015: a systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*. 2017;389(10082):1885-1906.
- [14] 中国疾病预防控制中心. 2019 年中国中学生烟草调查结果发布 [Z]. 2020-05-31. http://www.chinacdc.cn/jkzt/sthd_3844/slhd_4156/202005/t20200531_216942.html
- [15] FROGGATT S, REISSLAND N, COVEY J. The effects of prenatal cigarette and e-cigarette exposure on infant neurobehaviour: A comparison to a control group. *EClinicalMedicine*. 2020;28:100602.
- [16] LAVIOLETTE SR. Molecular and neuronal mechanisms underlying the effects of adolescent nicotine exposure on anxiety and mood disorders. *Neuropharmacology*. 2021;184:108411.
- [17] JIANG XY, FENG YL, YE LT, et al. Inhibition of Gata4 and Tbx5 by Nicotine-Mediated DNA Methylation in Myocardial Differentiation. *Stem Cell Reports*. 2017;8(2):290-304.
- [18] CSORDAS A, BERNHARD D. The biology behind the atherothrombotic effects of cigarette smoke. *Nat Rev Cardiol*. 2013;10(4):219-230.
- [19] 李静媛. HuR 在动脉粥样硬化和肥胖中的作用及机制研究 [D]. 济南: 山东大学, 2019.
- [20] LEE J, COOKE JP. Nicotine and pathological angiogenesis. *Life Sci*. 2012;91(21-22):1058-1064.
- [21] 张敏, 赵艳华, 侯敏, 等. 尼古丁对口腔鳞状细胞癌细胞增殖及凋亡的影响 [J]. *中华口腔医学杂志*, 2012,47(4):233-237.
- [22] DELITTO D, HAN S, HUGHES SJ, et al. Nicotine drives pancreatic cancer metastasis through paracrine signaling in the tumor microenvironment. *J Am Coll Surg*. 2014; 219(4):e175.
- [23] OUYANG H, GOLDBERG JL, CHEN S, et al. Ocular Stem Cell Research from Basic Science to Clinical Application: A Report from Zhongshan Ophthalmic Center Ocular Stem Cell Symposium. *Int J Mol Sci*. 2016;17(3):415.
- [24] GOTTI C, CLEMENTI F. Neuronal nicotinic receptors: from structure to pathology. *Prog Neurobiol*. 2004;74(6):363-396.
- [25] DASGUPTA P, CHELLAPPAN SP. Nicotine-mediated cell proliferation and angiogenesis: new twists to an old story. *Cell Cycle*. 2006;5(20):2324-2328.
- [26] 冯汉茹. 再谈干细胞的分类和分化潜能 [J]. *中学生物教学*, 2018(21):82-84.
- [27] HUANG S, FU X. Stem cell therapies and regenerative medicine in China. *Sci China Life Sci*. 2014;57(2):157-161.
- [28] KURT FO, VATANSEVER HS. Potential Clinical Use of Differentiated Cells From Embryonic or Mesenchymal Stem Cells in Orthopaedic Problems. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2016;11(6):522-529.
- [29] DIXIT P, KATARE R. Challenges in identifying the best source of stem cells for cardiac regeneration therapy. *Stem Cell Res Ther*. 2015;6(1):26.
- [30] LISZEWSKI W, RITNER C, AURIGUI J, et al. Developmental effects of tobacco smoke exposure during human embryonic stem cell differentiation are mediated through the transforming growth factor- β superfamily member, Nodal. *Differentiation*. 2012;83(4):169-178.
- [31] LIN S, TRAN V, TALBOT P. Comparison of toxicity of smoke from traditional and harm-reduction cigarettes using mouse embryonic stem cells as a novel model for preimplantation development. *Hum Reprod*. 2009;24(2):386-397.
- [32] QU Q, ZHANG F, ZHANG X, et al. Bidirectional Regulation of Mouse Embryonic Stem Cell Proliferation by Nicotine Is Mediated Through Wnt Signaling Pathway. *Dose Response*. 2017;15(4):1559325817739760.
- [33] KIM CW, GO RE, KO EB, et al. Effects of cigarette smoke components on myocardial differentiation of mouse embryonic stem cells. *Environ Toxicol*. 2020;35(1):66-77.
- [34] HE B, CHEN J, TIAN M, et al. Adverse effects of nicotine on cardiogenic differentiation from human embryonic stem cells detected by single-cell RNA sequencing. *Biochem Biophys Res Commun*. 2020;526(3):848-855.
- [35] YU J, HUANG NF, WILSON KD, et al. nAChRs mediate human embryonic stem cell-derived endothelial cells: proliferation, apoptosis, and angiogenesis. *PLoS One*. 2009;4(9):e7040.
- [36] MA S, XIE N, LI W, et al. Immunobiology of mesenchymal stem cells. *Cell Death Differ*. 2014;21(2):216-225.
- [37] ESMAILI GOUVARCHIN GALEH H, DELIREZH N, ABTAHI FROUSHANI SM, et al. Calcitriol modulates the effects of the supernatants of bone-marrow-derived mesenchymal stem cells on neutrophil functions. *Turk J Biol*. 2014;38(3):365-370.
- [38] SCHRAUFSTATTER IU, DISCIPIO RG, KHALDOYANIDI SK. Alpha 7 subunit of nAChR regulates migration of human mesenchymal stem cells. *J Stem Cells*. 2009;4(4):203-215.
- [39] KIM BS, KIM SJ, KIM HJ, et al. Effects of nicotine on proliferation and osteoblast differentiation in human alveolar bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Life Sci*. 2012;90(3-4):109-115.
- [40] ZENG HL, QIN YL, CHEN HZ, et al. Effects of nicotine on proliferation and survival in human umbilical cord mesenchymal stem cells. *J Biochem Mol Toxicol*. 2014; 28(4):181-189.
- [41] KIM DH, LIU J, BHAT S, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor delta agonist attenuates nicotine suppression effect on human mesenchymal stem cell-derived osteogenesis and involves increased expression of heme oxygenase-1. *J Bone Miner Metab*. 2013;31(1):44-52.
- [42] WAHL EA, SCHENCK TL, MACHENS HG, et al. Acute stimulation of mesenchymal stem cells with cigarette smoke extract affects their migration, differentiation, and paracrine potential. *Sci Rep*. 2016;6:22957.
- [43] 覃永亮, 曾慧兰, 卜欠欠, 等. 尼古丁诱导人脐带间充质干细胞凋亡的机制 [J]. *暨南大学学报 (自然科学与医学版)*, 2011,32(6):598-601.
- [44] DI CELLO F, FLOWERS VL, LI H, et al. Cigarette smoke induces epithelial to mesenchymal transition and increases the metastatic ability of breast cancer cells. *Mol Cancer*. 2013;12:90.
- [45] ROBSON N, BOND AJ, WOLFF K. Salivary nicotine and cotinine concentrations in unstimulated and stimulated saliva. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2010;4(2):61-65.
- [46] 曾慧兰, 卜欠欠, 苏泽轩, 等. 尼古丁对人脐带间充质干细胞增殖和迁移的影响 [J]. *中国病理生理杂志*, 2013,29(5):778-783.
- [47] YANG X, QI Y, AVERCENC-LEGER L, et al. Effect of nicotine on the proliferation and chondrogenic differentiation of the human Wharton's jelly mesenchymal stem cells. *Biomed Mater Eng*. 2017;28(s1):S217-S228.
- [48] YING X, ZHANG W, CHENG S, et al. Nicotine-induced chondrogenic differentiation of human bone marrow stromal cells in vitro. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2012;20(11):2329-2336.
- [49] ZHAO X, ZHU B, DUAN Y, et al. The Effect of Smoking Behavior on Alveolar Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells of Clinical Implant Patient. *Biomed Res Int*. 2018;2018:7672695.
- [50] TAKAHASHI K, YAMANAKA S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006;126(4):663-676.
- [51] COLLO G, CAVALLERI L, ZOLI M, et al. Alpha6-Containing Nicotinic Acetylcholine Receptors Mediate Nicotine-Induced Structural Plasticity in Mouse and Human iPSC-Derived Dopaminergic Neurons. *Front Pharmacol*. 2018;9:572.
- [52] LEE WH, ONG SG, ZHOU Y, et al. Modeling Cardiovascular Risks of E-Cigarettes With Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Endothelial Cells. *J Am Coll Cardiol*. 2019;73(21):2722-2737.
- [53] ISHIZUKA T, OZAWA A, GOSHIMA H, et al. Involvement of nicotinic acetylcholine receptor in the proliferation of mouse induced pluripotent stem cells. *Life Sci*. 2012;90(17-18):637-648.
- [54] LIANG Y, LI X, ZHANG Y, et al. Induced Pluripotent Stem Cells-Derived Mesenchymal Stem Cells Attenuate Cigarette Smoke-Induced Cardiac Remodeling and Dysfunction. *Front Pharmacol*. 2017;8:501.
- [55] LINDELL G, LUNELL E, GRAFFNER H. Transdermally administered nicotine accumulates in gastric juice. *Eur J Clin Pharmacol*. 1996;51(3-4):315-318.
- [56] 周志斐. $\alpha 7$ nAChR 在尼古丁对人牙周膜干细胞成骨分化负性调控中的作用及其机制研究 [D]. 西安: 第四军医大学, 2013.
- [57] NG TK, HUANG L, CAO D, et al. Cigarette smoking hinders human periodontal ligament-derived stem cell proliferation, migration and differentiation potentials. *Sci Rep*. 2015;5:7828.
- [58] 闫雯, 杨德琴. 尼古丁通过调控 Toll 样受体 4 抑制牙周膜干细胞的成骨分化能力 [J]. *华西口腔医学杂志*, 2017,35(4):368-372.
- [59] 吴贾涵, 张家榕. 尼古丁对人牙周膜干细胞形态、增殖能力及成骨分化能力的影响及机制探讨 [J]. *国际医药卫生导报*, 2018,24(12):1793-1797.

(责任编辑: MZH, ZN, ZH)