

## 诱导多能干细胞的基础及临床研究进展

杜娟,王心怡,蒋敏,刘丹,胡向阳,陈涛  
(三峡大学医学院,湖北 宜昌 443002)

**【摘要】** 分化的体细胞经过重编程能够转化为具有多能性的干细胞,称为诱导多能干细胞(iPSCs),它与胚胎干细胞类似,具有自我更新能力和多潜能性。iPSCs的获取不需要使用卵细胞或者胚胎细胞,因此可避免伦理上的限制。近年来iPSCs在干细胞、表观遗传学以及生物医学领域引起了强烈的反响。本文综述了iPSCs以及其在各系统疾病中的研究进展,以治疗和疾病建模为重点,探讨目前研究存在的挑战和机遇,为相关的临床研究提供新的指导和方向。

**【关键词】** 诱导多能干细胞;重编程;治疗

**【中图分类号】** R329.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2018)11—1557—03

**Basic and clinical research progress of induced pluripotent stem cells.** DU Juan, WANG Xin-yi, JIANG Min, LIU Dan, HU Xiang-yang, CHEN Tao. Medical College of Three Gorges University, Yichang 443002, Hubei, CHINA

**【Abstract】** Differentiated somatic cells can be reprogrammed into pluripotent stem cells, known as induced pluripotent stem cells (iPSCs), which have the characters of self-renewal and pluripotency. It's similar to embryonic stem cells. Avoiding the ethical restriction, the obtaining of iPSCs dose not involove the use of egg cells or embryonic cells. Recently, iPSCs has caused strong responses in the stem cells, epigenetics and biomedical research. This review summarizes the progress of iPSCs and its pathogenesis in various diseases, to focuses on therapeutic and disease modeling, and discusses the challenges and chances existing in current research, to provide new guidance and direction for related clinical research.

**【Key words】** Induced pluripotent stem cells (iPSCs); Reprogramming; Therapy

每个人身体中都有数以万计的细胞,这些细胞均来源于受精卵。精卵相会是细胞分化的开始,细胞从分裂最后慢慢走向死亡是必然规律,人体衰老就是细胞退化的过程,其关键点在于干细胞,干细胞是具有自我复制能力的多潜能细胞,能够永远处于未分化状态<sup>[1]</sup>。干细胞根据其发育阶段可分为胚胎干细胞和成体干细胞。胚胎干细胞是受精卵囊胚内的细胞,提取胚囊细胞可以培育出人体组织和器官,随着机体发育,该细胞也会慢慢消失<sup>[2]</sup>。成体干细胞是指存在于成熟组织中的未分化细胞,它具有修复机体损伤的功能,随着时间的迁移,其功能也会慢慢丧失<sup>[3]</sup>。诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)最初是由日本科学家利用病毒载体将四个转录因子Oct4、Sox2、Klf4、c-Myc转入分化的体细胞中使其重编程,得到的与胚胎干细胞类似的一种细胞类型,它的发现证明了干细胞分化为体细胞是可逆的过程<sup>[4]</sup>。

### 1 基础研究

重编程是指在不改变基因序列的情况下,通过表观遗传修饰来改变细胞命运的过程。众多研究证实体细胞核移植、细胞融合、卵细胞提取物共培养以及利用多能性特异的转录因子可以完成这一过程<sup>[5]</sup>。

iPSCs通过4个转录因子的表达被重新编程到多能状态,细胞重编程是一个复杂的过程,除受细胞内因子调控外,还受细胞外信号通路的调控<sup>[6-7]</sup>。在此过程中,体细胞来源的iPSCs重编程是通过转录因子Oct4、Klf4、Sox2和c-Myc的强制表达来实现,这些因素与环境因素相结合,能够创造一个让iPSCs具有无限自我更新能力的稳定的内在潜能网络<sup>[8]</sup>。研究发现,miR-let-7家族具有抑制重编程的功能,抑制人体细胞中let-7的表达可以促进c-Myc与Oct4、Sox2、Klf4的结合<sup>[9]</sup>。此外,通过Klf4、Oct4、Sox2和连锁蛋白的相互作用,能够加强多能性基因的表达,从而促进体细胞的重编程<sup>[10]</sup>。自由集成也是生成iPSCs的方法,它通过Oct4、Sox2、Klf4和c-Myc的外源性表达,从小鼠或人类成纤维细胞中生成。除此之外,也有一些安全的自由转基因整合或自由集合方法,包括使用非整合载体、整合后的载体切除、无基因的因子递送和多能性的化学诱导<sup>[11]</sup>。

### 2 临床研究

2.1 神经系统疾病 基于干细胞神经元分化的方法为疾病建模和再生医学领域提供了一个独特的平台<sup>[12]</sup>。神经组织再生是现代外科治疗神经系统损伤

基金项目:国家自然科学基金(编号:81573659)

通讯作者:陈涛。E-mail:chentao@ctgu.edu.cn

最大的挑战之一,如对一些神经性遗传性疾病的治疗研究,很大程度上是因为缺乏相关疾病模型,如散发性肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)的治疗<sup>[13]</sup>。最新研究表明,可采取重编程ALS患者的成纤维细胞到iPSCs,从而自发分化为神经元进行治疗,iPSCs衍生的运动神经元是分析运动神经元疾病发病机制的有效工具,而且iPSCs在药物的筛选上具有一定的潜能<sup>[14]</sup>。对于脊髓损伤,目前的治疗策略主要是试图通过营养和免疫调节因子去提高再生能力,为病变部位提供支架以及促进天然轴突再生,并通过脊髓内移植取代脊髓损伤患者丢失的神经元和神经胶质细胞<sup>[15]</sup>。利用iPSCs来源的神经干细胞或祖细胞进行治疗能够成为脊髓损伤研究有效可行的方法<sup>[16]</sup>。另有研究证实iPSCs已经成功的分化为多巴胺神经元<sup>[17]</sup>。因此,iPSCs在神经损伤治疗中的研究将会是未来生命科学重要的聚焦点。

**2.2 心血管疾病** Wang等<sup>[18]</sup>研究表明转染Yamanaka因子(即Oct4、Sox2、Klf4和c-Myc)到小鼠胚胎成纤维细胞中,体细胞可以被重编程为多能干细胞,从而自发分化为成熟的具有电生功能、表达心肌标志物的心肌细胞,而这些细胞在未来可以被用来修复心肌梗死。iPSCs可以定向分化为心肌细胞,对于有丝分裂后的成体心脏组织中心肌细胞增殖的诱导有显著意义,对心肌梗伤后再生治疗提供了新的策略<sup>[19]</sup>。

**2.3 作为细胞来源** 因供血者的血小板往往不足以满足输血需求,iPSCs的血小板衍生策略可以解决这个难题。首先需要建立来源于iPSCs的造血祖细胞永生化巨核祖细胞(imMKCLs)系,通过细胞内特定因子的表达,能够产生在一定功能范围内与正常血小板类似的CD42b<sup>+</sup>血小板。稳定的组合扩容能力和高效血小板生产量意味着选择合适的imMKCLs克隆可以成为临床衍生血小板取之不尽的源泉<sup>[20]</sup>。年龄相关性黄斑变性(age macular degeneration, AMD)是造成严重视力损害的原因之一,是由于损害了视网膜色素上皮细胞(RPE),人诱导多能干细胞(human induced pluripotent stem cells, HiPSCs)衍生的RPE (hiPSCs-RPE)细胞片,可以作为一个表达典型上皮细胞标记物的单层细胞,并表现出类似于天然RPE的吞噬能力和基因表达模型。而且hiPSCs-RPE细胞片无免疫排斥或肿瘤形成,所以自体细胞RPE细胞片可作为一个有效用于AMD组织替代疗法的移植模式<sup>[21]</sup>。

**2.4 疾病模型的建立** 丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染是导致肝癌的主要原因之一,目前它的感染机制还未完全研究清楚<sup>[22]</sup>。研究表明,来自人类iPSCs的肝细胞比较容易感染HCV,可能成为HCV感染的重要模型。另外,iPSCs可以诱导分化为肝细胞<sup>[23]</sup>,也可将人原代肝细胞重编程为肝细胞来源

的iPSCs,由此可定向诱导分化为内胚层细胞、肝祖细胞和成熟的肝细胞<sup>[24]</sup>。目前,肿瘤的治疗主要是通过刺激产生一些强烈的免疫反应,而iPSCs可以通过改进免疫产生新的细胞刺激来源<sup>[25]</sup>。对于散发性阿尔兹海默症(Alzheimer disease, AD)通过不同类型细胞的作用以及特定患者对药物的反应和预期反应,以及大量患者和正常人群的iPSCs作比较,可以发现一个更好研究疾病发病机制的视角<sup>[26]</sup>。对于具有白血病干细胞特点的原始造血细胞,可以重编程初期慢性粒细胞白血病的细胞来获得,该研究为靶向白血病细胞增加了可行性<sup>[27]</sup>。

### 3 展望

iPSCs类似于人类胚胎干细胞,能生成具有相同能力的人体所有细胞,但效率极其低下。另一方面,基因的不稳定性、表观遗传异常和致瘤性的可能都将是iPSCs技术面临的困难。当然,这些都是基于iPSCs细胞治疗的安全顾虑<sup>[28]</sup>。有研究已证明来源于自体iPSCs的分化细胞可用于细胞替代治疗且没有免疫排斥反应<sup>[29]</sup>,但经常会导致生成的遗传和表观遗传缺陷,这将会限制其临床的应用。

近几年,由于伦理、技术和政治上的问题,用体内核移植生产患者特异性胚胎干细胞的研究积极性有所减弱。但大量研究发现转录因子的转录多能性能够被很好的利用,人们对生产iPSCs的兴趣与日俱增<sup>[30]</sup>。值得注意的是,iPSCs已经可以通过特定的转录因子重编程,从多个哺乳动物的体细胞中获得<sup>[31]</sup>。小鼠的iPSCs已经凭借四倍体胚胎细胞通过了关于基因贡献和iPSCs小鼠生殖的关键测试<sup>[32]</sup>。这些研究表明,iPSCs能在基因操纵方面替代胚胎干细胞,分化的细胞可以通过特定的因子被重新编程而获得多能性或成为其他细胞<sup>[33]</sup>。iPSCs的发现打开了在制药行业、临床和实验室前所未有的平台。

iPSCs技术是推进疾病建模和细胞移植领域重要的研究工具,它可用于微量药物发现以及宏观临床试验,在疾病模型、细胞移植、临床试验上的应用对未来医学有重要意义。对于iPSCs的临床发展,正确的重编程技术应该被优化,减少iPSCs和胚胎干细胞在表观遗传上的差异将是重点,而在体内的免疫实验能够为优化重编程技术提供坚实的平台。

### 参考文献

- [1] Lapasset L, Milhavel O, Prieur A, et al. Rejuvenating senescent and centenarian human cells by reprogramming through the pluripotent state [J]. *Genes Dev*, 2011, 25(21): 2248-2253.
- [2] Tachibana M, Sparman M, Ramsey C, et al. Generation of chimeric rhesus monkeys [J]. *Cell*, 2012, 148(1-2): 285-295.
- [3] 施明,刘振文,张政,等. 干细胞治疗终末期肝病的进展与挑战[J]. *解放军医学杂志*, 2013, 38(8): 685-692.
- [4] Tapia N, Schöler HR. p53 connects tumorigenesis and reprogram-

- ming to pluripotency [J]. *J Exp Med*, 2010, 207(10): 2045-2048.
- [5] 李兰玉, 朱露露, 朱秀生, 等. 小分子化合物促进体细胞重编程为多能干细胞的研究进展[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2017, 6(1): 61-64.
- [6] Amabile G, Welner RS, Nombela-Arrieta C, et al. *In vivo* generation of transplantable human hematopoietic cells from induced pluripotent stem cells [J]. *Blood*, 2013, 121(8): 1255-1264.
- [7] Di Stefano B, Sardina JL, van Oevelen C, et al. C/EBP[agr] poises B cells for rapid reprogramming into induced pluripotent stem cells [J]. *Nature*, 2014, 506(7487): 235-239.
- [8] Schwarz BA, Bar-Nur O, Silva JC, et al. Nanog is dispensable for the generation of induced pluripotent stem cells [J]. *Curr Biol*, 2014, 24(3): 347-350.
- [9] Worringer KA, Rand TA, Hayashi Y, et al. The let-7/LIN-41 pathway regulates reprogramming to human induced pluripotent stem cells by controlling expression of prodifferentiation genes [J]. *Cell Stem Cell*, 2014, 14(1): 40-52.
- [10] Zhang P, Chang WH, Fong B, et al. Regulation of induced pluripotent stem (iPS) cell induction by Wnt/ $\beta$ -Catenin signaling [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(13): 9221-9232.
- [11] Zhou YY, Zeng F. Integration-free methods for generating induced pluripotent stem cells [J]. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2013, 11(5): 284-287.
- [12] Begum AN, Guynes C, Cho J, et al. Rapid generation of sub-type, region-specific neurons and neural networks from human pluripotent stem cell-derived neurospheres [J]. *Stem Cell Res*, 2015, 15(3): 731-741.
- [13] Ichihayashi N, Fujimori K, Yano M, et al. Establishment of *in vitro* FUS-associated familial amyotrophic lateral sclerosis model using human induced pluripotent stem cells [J]. *Stem Cell Reports*, 2016, 6(4): 496-510.
- [14] Burkhardt MF, Martinez FJ, Wright S, et al. A cellular model for sporadic ALS using patient-derived induced pluripotent stem cells [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2013, 56: 355-364.
- [15] Doulames VM, Plant GW. Induced pluripotent stem cell therapies for cervical spinal cord injury [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(4): 530.
- [16] Nakamura M, Okano H. Cell transplantation therapies for spinal cord injury focusing on induced pluripotent stem cells [J]. *Cell Res*, 2013, 23(1): 70-80.
- [17] Konagaya S, Iwata H. Microencapsulation of dopamine neurons derived from human induced pluripotent stem cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1850(1): 22-32.
- [18] Wang H, Xi Y, Zheng Y, et al. Generation of electrophysiologically functional cardiomyocytes from mouse induced pluripotent stem cells [J]. *Stem Cell Res*, 2016, 16(2): 522-530.
- [19] Titmarsh DM, Glass NR, Mills RJ, et al. Induction of human iPSC-Derived cardiomyocyte proliferation revealed by combinatorial screening in high density microbio-reactor arrays [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 24637.
- [20] Nakamura S, Takayama N, Hirata S, et al. Expandable megakaryocyte cell lines enable clinically applicable generation of platelets from human induced pluripotent stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2014, 14(4): 535-548.
- [21] Kamao H, Mandai M, Okamoto S, et al. Characterization of human induced pluripotent stem cell-derived retinal pigment epithelium cell sheets aiming for clinical application [J]. *Stem Cell Reports*, 2014, 2(2): 205-218.
- [22] Cheng L, Zhang Y, Nan Y, et al. Induced pluripotent stem cells (iPSCs) in the modeling of hepatitis C virus infection [J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2015, 10(3): 216-219.
- [23] Sullivan GJ, Hay DC, Park IH, et al. Generation of functional human hepatic endoderm from human induced pluripotent stem cells [J]. *Hepatology*, 2010, 51(1): 329-335.
- [24] Liu H, Ye Z, Kim Y, et al. Generation of endoderm-derived human induced pluripotent stem cells from primary hepatocytes [J]. *Hepatology*, 2010, 51(5): 1810-1819.
- [25] Rami F, Mollainezhad H, Salehi M. Induced pluripotent stem cell as a new source for cancer immunotherapy [J]. *Genet Res Int*, 2016, 2016: 3451807.
- [26] Israel MA, Yuan SH, Bardy C, et al. Probing sporadic and familial Alzheimer's disease using induced pluripotent stem cells [J]. *Nature*, 2012, 482(7384): 216-220.
- [27] Kran S, Yuki I, Tao L, et al. Discovery of survival factor for primitive chronic myeloid leukemia cells using induced pluripotent stem cells [J]. *Stem Cell Res*, 2015, 15(3): 678-693.
- [28] Takahashi K, Yamanaka S. Induced pluripotent stem cells in medicine and biology [J]. *Development*, 2013, 140(12): 2457-2461.
- [29] Guha P, Morgan JW, Mostoslavsky G, et al. Lack of immune response to differentiated cells derived from syngeneic induced pluripotent stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 12(4): 407-412.
- [30] Suzuki T, Mayhew C, Sallase A, et al. Use of induced pluripotent stem cells to recapitulate pulmonary alveolar proteinosis pathogenesis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 189(2): 183-193.
- [31] Okano H, Nakamura M, Yoshida K, et al. Steps toward safe cell therapy using induced pluripotent stem cells [J]. *Circ Res*, 2013, 112(3): 523-533.
- [32] Okita K, Yamanaka S. Induced pluripotent stem cells: opportunities and challenges [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2011, 366(1575): 2198-2207.
- [33] Kang L, Wang J, Zhang Y, et al. iPSCs can support full-term development of tetraploid blastocyst-complemented embryos [J]. *Cell Stem Cell*, 2009, 5(2): 135-138.

(收稿日期:2017-10-16)