

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.20.042

不同物种诱导性多潜能干细胞研究进展及应用*

边艳超^{1,2} 牧仁^{1,3} 李云章⁴ 关伟军^{1△} 马月辉^{1△}

(1 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所 北京 100193; 2 内蒙古医科大学基础医学院 内蒙古 呼和浩特 010059;

3 内蒙古师范大学生命科学与技术学院 内蒙古 呼和浩特 010022; 4 内蒙古农业大学兽医学院 内蒙古 呼和浩特 010018)

摘要:将特定的转录因子转入细胞并使其重编程后,获得与胚胎干细胞极其相似的多潜能性干细胞,称为诱导性多潜能干细胞(induced Pluripotent Stem Cells, iPS),它是由日本 Yamanaka 研究小组首次构建并命名。iPS 细胞具有极强地自我更新和多项分化潜能,有发育和分化形成机体内几乎所有组织细胞类型的潜能,从而构成机体各种复杂的组织器官,且避免了在伦理、道德、宗教、法律和免疫排斥等诸多问题。随着 iPS 技术的不断发展,不同物种的 iPS 细胞相继产生,为细胞代替治疗、疾病模型的建立和药物筛选及再生医学等注入了新的活力。目前,iPS 细胞的研究尚处于初级阶段,在临床应用上还存在诸多问题,本文将对近年来不同物种 iPS 细胞的产生、应用,及我们未来面临的问题和挑战进行综述。

关键词:诱导性多潜能干细胞;不同物种;再生医学;临床应用

中图分类号:Q813.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)20-3960-04

Progress in Induced Pluripotent Stem Cells of Different Species*

BIAN Yan-chao^{1,2}, MU Ren^{1,3}, LI Yun-zhang⁴, GUAN Wei-jun^{1△}, MA Yue-hui^{1△}

(1 Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, 100193, China;

2 College of Basic Medical, Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, 010059, China;

3 College of Life Science and Technology, Inner Mongolia Normal University, Hohhot, Inner Mongolia, 010022, China;

4 College of Veterinary Medicine, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia, 010018, China)

ABSTRACT: The pluripotent stem cells which are very similar with embryonic stem cells and obtained by transcribing the specific transcription factors into the cells and reprogramming, were known as the induced pluripotent stem cells (iPS). It was built and named by Yamanaka team from Japan. The iPS cells have extremely self-renewal and multiple differentiation. Development and differentiation to form all types cell of the body, so as to constitute to complex tissues and organs. The iPS cells also avoid the ethical, moral, religious, legal, immune rejection and many other issues. With the iPS technology evolving, the iPS cells of different species have generated. The iPS cells for cell replacement therapy, establishment of disease models, drug screening and regenerative medicine has injected vitality. Currently, the technology of iPS is still in primary stage. There are still many problems in the preparation and clinical application. This article will review the generation and application of iPS cells of different species, and we will face problems and challenges.

Key words: Induced pluripotent stem cells; Different species; Regenerative medicine; Clinical application

Chinese Library Classification(CLC): Q813.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)20-3960-04

多潜能性干细胞(Pluripotent Stem Cells)是指具有多向分化潜能、可以自我更新的一类细胞。胚胎干细胞(Embryonic Stem Cells, ES)是典型的多潜能性干细胞之一,具有发育和分化形成机体内几乎所有组织细胞类型的潜能,从而构成机体各种复杂的组织器官。ES 细胞的自我更新特性和多向分化潜能使其在干细胞领域及临床应用中具有良好的优越性,但 EC 细胞的研究中一直存在伦理、道德、宗教、法律和免疫排斥等诸多问题,限制了多潜能性干细胞的研究及发展应用。因此,探索一种新的多潜能性干细胞是科学家们亟待解决的问题。

2006 年,日本科学家 Yamanaka 等将四个转录因子 Oct4、Sox2、c-Myc 和 Klf4 通过逆转录病毒介导转入鼠成纤维细胞,使细胞重编程,获得了与 ES 细胞及其相似的多能性干细胞,并命名为诱导性多能干细胞(induced Pluripotent Stem Cells, iPS)^[1]。2007 年,Yamanaka 和 Yu 分别用 Oct4、Sox2、c-Myc、Klf4 和 Oct4、Sox2、Nanog、Lin28 将人的体细胞重编程为 iPS 细胞^[12]。iPS 细胞避免了胚胎损毁等道德伦理问题,因此,其将成为干细胞学及再生医学研究领域的热点问题。

1 不同物种 iPS 细胞的产生

* 基金项目:农业部转基因生物新品种培育科技重大专项(2011ZX08009-003-006;2011ZX08012-002-06)

作者简介:边艳超(1986-),女,讲师,主要研究方向:干细胞,E-mail: bianyanchao86@126.com

△通讯作者:关伟军,男,教授,主要研究方向:畜禽干细胞,E-mail: wjguan86@iascaas.net.cn

马月辉,男,研究员,主要研究方向:动物遗传育种,E-mail: yuehui.ma@263.net

(收稿日期:2013-10-15 接受日期:2013-11-12)

1.1 人 iPS 细胞

2007 年 11 月, Yamanaka 等用人的皮肤成纤维细胞作为供体细胞, 与构建小鼠 iPS 细胞相同的转录因子组合 Oct3/4、Sox2、c-Myc 和 Klf4, 构建了人的 iPS 细胞^[1]。同年 12 月, Yu 等筛选出新的转录因子组合 Oct4、Sox2、Nanog 和 Lin28, 使人类新生儿成纤维细胞重构为 iPS 细胞, 但产生 iPS 细胞的效率仅为 Yamanaka 小组的一半, 原因在于用转录因子 Nanog 和 Lin28 替代了 c-Myc 和 Klf4, 用慢病毒替代逆转录病毒引入四种基因, 使 iPS 细胞产生效率大大降低^[2]。

2009 年 3 月, Soldner 研究小组将移除外源基因的人 iPS 细胞成功诱导成多巴胺神经元, 且神经元细胞的基本功能不受影响^[3]。

2009 年 8 月, Zhang 研究小组成功地将人 iPS 细胞高效的分化为能分泌胰岛素的成熟胰岛细胞, 其表达成熟 β 细胞特异性标记 NKX6 和 PDX1, 该实验还证明了 EGF 能促进 PDX1 阳性祖细胞的扩大^[4]。同年, Song 又成功地将人 iPS 细胞分化成肝细胞, 在诱导第 7 天就有近 60% 的细胞表达肝细胞表面特异性标志甲胎蛋白和白蛋白, 诱导 21 天时出现相应的肝细胞功能活动, 如分泌白蛋白, 合成糖原和产生尿素^[5]。

2009 年 8 月, 中国科学院健康科学研究所 Li 发现, 实验所需的滋养层细胞来源于人成纤维细胞, 且不添加白血病抑制因子, 成功地将神经前体细胞重编程为 iPS 细胞。它们表现出典型的未分化形态, 并且表达多能性标志 Oct4 和 Sox2。同年, 该研究小组利用转录因子 Oct4、Sox2、Klf4 和 c-Myc, 成功地将人羊水来源的细胞重编程为人 iPS 细胞, 且在病毒感染后的第 6 天就可见典型的 iPS 细胞克隆集落, 建立了一种新的快速有效地构建 iPS 细胞系的新方法^[6]。

1.2 鼠 iPS 细胞

2006 年 8 月, Yamanaka^[1]等从与干细胞多能性维持相关的 24 个候选因子中筛选出 4 个转录因子组合 Oct3/4、Sox2、c-Myc 和 Klf4, 利用逆转录病毒转染小鼠胚胎成纤维细胞和鼠尾成纤维细胞, 获得了 iPS 细胞。

2008 年 4 月, Schenke-Layland 等将鼠皮肤细胞重编程为 iPS 细胞, 并成功地使其分化成心肌细胞、血管平滑肌细胞及造血细胞^[7]。

2008 年 12 月, 中国科学院研究人员成功运用病毒表达转录因子把大鼠成体细胞重编程到多能干细胞状态。建立了 22 个类似胚胎干细胞的细胞系。经过进一步筛选、鉴定, 最终获得两株符合多能干细胞标准的大鼠 iPS 细胞系。第一次原则性地证明了诱导多能干细胞技术可以为这些难以建立胚胎干细胞系的物种建立多能的干细胞系^[8]。

2009 年 3 月, Woltjen 研究小组和 Kaji 研究小组采用转座子介导的方法高效率制备了 virus-free 鼠 iPS 细胞, 获得 iPS 细胞后, 又成功将先导入的转录因子基因从 iPS 细胞中移除^[9,10]。

2009 年 7 月, 中国科学院动物研究所 Zhao、北京生命科学研究所 Kang 同时报道获得了完全由 iPS 来源的成体小鼠。这是世界上第一次获得完全由 iPS 细胞制备的活体小鼠, 有力地证明了 iPS 细胞具有真正的全能性^[11,12]。

2010 年 1 月, 美国斯坦福大学医研究人员选择与细胞重

组和神经发育有关的 19 个基因, 再用慢病毒将这 19 个基因移植入鼠胚胎皮肤细胞中, 32 天后, 有神经细胞出现。随后, 研究人员从这 19 个基因中筛选出 3 个基因, 再次用相同的方法将基因移植入成年鼠尾部皮肤细胞, 仅一周的时间就有 20% 的神经细胞出现, 所得的神经细胞既可以表达神经蛋白, 还可以与其他神经细胞形成突触。

2011 年 8 月, 美国爱荷华大学医学院的研究人员应用转录因子 Oct4、Sox2、Klf4 和 c-Myc, 通过逆转录病毒将成年红色荧光蛋白小鼠皮肤成纤维细胞重编程为 iPS 细胞, 并表达多能性基因 SSEA1、Oct4、Sox2、Klf4、c-Myc 和 Nanog, 并将所得的 iPS 细胞移植入免疫功能低下的视网膜变性小鼠体内, 能形成畸胎瘤, 且具有分化为三个胚层细胞的多项分化潜能。分化培养 33 天后, 大部分细胞表达视网膜祖细胞标志物 Pax6, 随后表达感光体标志物 CRX、视觉恢复蛋白和视紫红质。用钙成像检测显示, 这些细胞表现出正常的视网膜生理特点^[13]。

1.3 猪 iPS 细胞

猪 iPS 细胞系是由中国科学院 Wu 等首次成功构建的, 研究人员分别选用原代的耳皮肤成纤维细胞和骨髓细胞为供体细胞, 用强力霉素诱导慢病毒表达系统, 并在 EGFP 下游插入四环素操纵子, 转入人源 c-Myc、Oct3/4、Nanog、Klf4、Lin28 和 Sox2, 诱导培养后有典型的克隆出现, 经鉴定后表明, 研究者们成功地建立了丹系长白猪 iPS 细胞^[14]。

2009 年 4 月, 中国科学院广州生物医药与健康研究院 Esteban 等成功的构建了小型藏香猪 iPS 细胞系, 生化分析表明, 这些细胞表达的关键蛋白质能够证明是干细胞, 而且具有分化为其他类型细胞的能力。与其他动物相比, 这种猪 iPS 细胞更容易与人干细胞整合, 这进一步证明了它们在临床前研究中的价值^[15]。

Ezashi 等使用人源化的 4 因子 (Oct3/4、Sox2、Klf4、c-Myc) 慢病毒转染系统建立了猪 iPS 细胞, 但是所建立的猪 iPS 细胞外源转基因持续表达^[16]。

West 等报道使用人源化的 6 种转录因子 Oct3/4、Klf4、Sox2、Nanog、c-Myc 和 Lin28 诱导, 成功地建立了猪 iPS 细胞, 能产生活嵌合体, 且嵌合体形成率高达 85.3%, 更加严格的鉴定了猪 iPS 细胞全能性^[17]。

目前, 猪 iPS 细胞研究进展突飞猛进, 在原有不同鉴定方法的基础上, 如果能够进一步做四倍体囊胚补偿实验, 从而获得猪克隆动物, 将最终证明所获得的猪 iPS 细胞为真正的多能性干细胞, 相信随着猪 iPSC 技术的不断创新和完善, 由 iPSC 产生克隆猪指日可待。

1.4 猴 iPS 细胞

2008 年 12 月, 北大 Liu 利用逆转录病毒介导四个转录因子 Oct4、Sox2、c-Myc 和 Klf4, 从成熟恒河猴成纤维细胞中获得 iPS 细胞。分离得到的恒河猴 iPS 细胞具有与 ES 细胞相似的性状, 表达 ES 细胞的特异性基因, 并在体内外均能分化成三个胚层的细胞, 表明恒河猴 iPS 细胞具有全能性^[18]。

1.5 牛 iPS 细胞

2011 年西北农林科技大学吕长荣等以牛胎儿原始生殖嵴组织为材料, 利用逆转录病毒载体携带牛 Oct4、Sox2、Nanog 和 Lin28 四个转录因子, 转染成年牛皮肤成纤维细胞, 获得了重编

程的 iPS 细胞,利用人羊膜支架培养牛 iPS 细胞,建立了牛 iPS 细胞无饲养层细胞的培养体系^[19]。

1.6 羊 iPS 细胞

2011 年,Bao 等研究报告了用特定的转录因子 Oct4、Sox2、c-Myc、Klf4、Nanog、Lin28、SV40 LT 和 hTERT 将绵羊的体细胞直接重编程为 iPS 细胞。研究发现将绵羊的体细胞重编程为 iPS 细胞较其他物种更为困难。该研究小组构建的 iPS 细胞表达 ES 细胞标志碱性磷酸酶、Oct4、Sox2、Nanog、Rex1、阶段特异性胚胎抗原 -1、TRA-1-60、TRA-1-81 和 E-钙黏连蛋白,且具有正常的核型,能分化为三个胚层的细胞,在体外能形成畸胎瘤。羊 iPS 细胞的产生有助于揭示羊体细胞重编程的机制,也为绵羊 ES 细胞的培养提供一个平台,此外,为培育基因改良羊提供一个新方法^[20]。

1.7 病人或疾病特异性 iPS 细胞

2008 年,Dimos 研究人员首次以家族型肌萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS)患者的皮肤细胞为供体细胞,应用 iPS 技术,将患者的体细胞重编程为 iPS 细胞,即“疾病特异的”人 iPS 细胞,且该试验所得的“疾病特异的”人 iPS 细胞具有与人 ES 细胞相似的克隆形态、细胞周期、特异性表面抗原表达、干细胞标志性基因表达。该 iPS 细胞在体外还进一步诱导分化出运动神经元^[21]。

2008 年,Park 小组从一系列遗传性疾病的病人身上获取皮肤成纤维细胞或骨肉瘤起源的间充质细胞,通过逆转录病毒介导的方式将 Oct4、Sox2、Klf4、c-Myc 或 Oct4、Sox2、Klf4 或 Oct4、Sox2、Klf4、c-Myc、Nanog 转录因子导入上述细胞,成功获得了一系列“疾病特异的”人 iPS 细胞^[22]。

2012 年,美国加州大学的 Israel 研究人员首次将老年痴呆症患者(Alzheimer's Disease, AD)皮肤成纤维细胞重编程为 iPS 细胞,且能分化为具有完全功能的神经元;这些衍生的神经元细胞能表现出正常的电生理活性,精确地显示出 AD 信号灯作用,拥有与疾病相关的高于正常水平的蛋白质^[23]。

iPS 技术的出现,给患特殊疾病患者的康复治疗带来了希望,并随着 iPS 技术的不断发展,将建立“病人特异的”或“疾病特异的”人 iPS 细胞。同时,“病人特异的”或“疾病特异的”人 iPS 细胞也为研究特异性疾病的发病机制奠定基础。

2 iPS 细胞的应用

目前,很多研究小组利用 iPS 细胞在疾病模型中进行细胞代替治疗。Hanna 等利用人源化的镰刀形细胞贫血症模型小鼠尾尖部皮肤的成纤维细胞重编程为 iPS 细胞。在把修饰后的 iPS 细胞定向分化为造血祖细胞,并将纯化后的造血祖细胞移植入致死量照射处理后的小鼠,结果发现有效地抑制了镰刀形红细胞贫血症状^[24]。该研究验证了 iPS 细胞在结合基因治疗和细胞替代治疗中的可行性,为将来在人体上进行类似治疗提供了实验依据。

Nishimura 等将小鼠 iPSCs 定向培育出听神经祖细胞,随后将其移植入新生幼鼠的内耳耳蜗,1 个月后移植入的多数细胞不断发育成熟构成了螺旋神经节。螺旋神经节的减少或消失会导致听力障碍,因此该成果为用 iPSCs 治疗因听神经数量减少导致的听力障碍奠定了基础^[25]。

Vierbuchen 等从 iPS 细胞的重编程方法中受到启发,筛选

出 3 个神经系统特异的转录因子,绕过了 iPS 细胞,直接将小鼠成纤维细胞重编程为功能性神经元^[26]。尽管这种绕过 iPS 细胞的方法受限于需要从人体上大量获取重编程所需的供体细胞,但这一有趣的研究成果仍旧为从体细胞直接培育各种组织细胞提供了新的思路。

iPS 细胞除了在血液疾病中的应用外,在神经系统疾病中也有广泛的应用前景。Wernig 等借鉴诱导 ES 细胞方法将细胞诱导分化为神经前体细胞,并能进一步分化为多巴胺能神经元。体外移植试验中,这些细胞也能分化为各亚型神经元细胞。iPS 细胞来源的多巴胺能神经元也能使帕金森模型小鼠运动功能得到显著改善^[27]。该试验证明了 iPS 细胞进行细胞代替治疗神经系统疾病的可行性。

Tateishi 等^[28]成功的将成纤维细胞诱导为 iPS 细胞,并有分化为能分泌胰岛素的胰岛细胞的能力,且该细胞不仅 C 肽阳性而且胰岛素阳性。也可以在葡萄糖刺激后释放 C 肽,同时这也为利用病人自体细胞“量身定做”的胰岛细胞进行特异性治疗提供了基础。多个研究小组建立了多种患者特异性的 iPS 细胞系,并应用于临床研究,如肌肉萎缩症、亨廷顿病、唐氏综合症、糖尿病、帕金森氏病等等^[29-32]。

3 问题与展望

在未来几年中,iPS 细胞研究将主要聚焦在如何实际利用这些细胞,包括发展不同的方法,将 iPS 细胞有效的分化成临床需要的细胞类型,用于药物筛选,毒性检测,疾病研究模型等。另外利用 iPS 细胞进行移植治疗,也比通过其它方法可能要容易一些,当然人类 iPS 细胞来源方面依然存在一些问题,在 iPS 细胞产生初期,由于研究人员使用致癌因子 c-Myc、Klf4 和使用逆病毒或慢病毒作为载体,整合到受体的基因组内,引起其它基因发生基因突变,因而导致产生的 iPS 细胞具有高度的致癌性。目前,iPS 细胞产生的效率还比较低,分析其原因,可能是 Oct3/4 在胃或肠内的表达可能阻止了原始细胞的分化;除了上述 4 个因子外,可能还有其他因子被插入的逆转录病毒激活。Huangfu 等报道,不论是人类细胞还是小鼠细胞,不论使用 2 个、3 个或 4 个因子进行诱导,VPA 都可以有效地提高重编程的效率。VPA 与腺病毒和质粒转染的方法相结合,能否提高重编程的效率仍值得进一步探索。除了 iPS 细胞产生的效率还比较低外,其移植后的存活效率也很低。利用 iPS 细胞进行治疗还存在着病毒作为载体的危险以及基因治疗中载体随机整合的风险。

随着 iPS 领域的研究热潮,相关的技术在不断发展,存在的问题也会逐渐解决,会制备出高效率、高存活率、低风险和更安全可靠 iPS 细胞,患者特异性 iPSC 细胞也可被人工诱导分化成多种体细胞类型,在细胞代替治疗、疾病模型的建立和药物筛选等更多的再生医学领域具有良好的应用前景,给人类的健康带来新希望。

参考文献(References)

- [1] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast culture by defined factors[J]. Cell, 2006, 126(4): 663-676
- [2] Yu J, Vodyanik M A, Smuga-Otto K, et al. Induced pluripotent stem

- cell lines derived from human somatic cells [J]. Science, 2007, 318 (5858): 1917-1920
- [3] Soldner F, Hockemeyer D, Beard C, et al. Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors[J]. Cell, 2009, 136(5): 964-977
- [4] Zhang Dong-hui, Jiang Wei, Liu Meng, et al. Highly efficient differentiation of human ES cells and iPS cells into mature pancreatic insulin-producing cells[J]. Cell Research, 2009, 19(4): 429-438
- [5] Zhihua Song, Jun Cai, Yanxia Liu, et al. Efficient generation of hepatocyte-like cells from human induced pluripotent stem cells [J]. Cell Research, 2009, 19(11): 1233-1242
- [6] Li Chun-liang, Zhou Jun-mei, Shi Gui-lai, et al. Pluripotency can be rapidly and efficiently induced in human amniotic fluid-derived cells [J]. Hum. Mol. Genet., 2009, 18(22): 4340-4349
- [7] Katja Schenke-Layland, Katrin E Rhodes, Ekaterini Angelis. Reprogrammed Mouse Fibroblasts Differentiate into Cells of the Cardiovascular and Hematopoietic Lineages[J]. Stem Cells, 2008, 26(6): 1537-1546
- [8] Liao Jing, Wu Zhao, Wang Ying, et al. Enhanced efficiency of generating induced pluripotent stem (iPS) cells from human somatic cells by a combination of six transcription factors [J]. Cell Research, 2008, 18(5): 600-603
- [9] Woltjen K, Michael IP, Mohseni P, et al. PiggyBac transposition reprograms fibroblasts to induced pluripotent stem cells[J]. Nature, 2009, 458(7239): 766-770
- [10] Kaji K, Norrby K, Paca A, et al. Virus-free induction of pluripotency and subsequent excision of reprogramming factors [J]. Nature, 2009, 458(7239): 771-775
- [11] Zhao Xiao-yang, Li Wei, Lv Zhuo, et al. iPS cells produce viable mice through tetraploid complementation[J]. Nature, 2009, 461(7260): 86-90
- [12] Kang Lan, Wang Jian-le, Zhang Yu, et al. iPS Cells Can Support Full-Term Development of Tetraploid Blastocyst-Complemented Embryos[J]. Cell stem cell, 2009, 5(2): 135-138
- [13] Tucker B A, Park I H, Qi S D. Transplantation of adult mouse iPS cell-derived photoreceptor precursors restores retinal structure and function in degenerative mice[J]. PLoS ONE, 2011, 6(4): e18992
- [14] Wu Z, Chen J, Ren J, et al. Generation of pig induced pluripotent stem cells with a drug-inducible system [J]. J Mol Cell Biol, 2009, 1(1): 46-54
- [15] Esteban MA, Xu J, Yang J, et al. Generation of induced pluripotent stem cell lines from Tibetan miniature pig[J]. J Biol Chem, 2009, 284(26): 17634-17640
- [16] Ezashi T, Telugu BP, Alexenko AP, et al. Derivation of induced pluripotent stem cells from pig somatic cells [J]. Proc Natl Acad Sci, 2009, 106(27): 10993-10998
- [17] Franklin D West, Steve L Terlouw, Dae Jin Kwon, et al. Porcine Induced Pluripotent Stem Cells Produce Chimeric Offspring[J]. Stem Cell, 2010, 19: 1211-1220
- [18] Liu HS, Zhu FF, Yong J, et al. Generation of induced pluripotent stem cells from adult rhesus monkey fibroblasts [J]. Cell Stem Cell, 2008, 3(6): 587-590
- [19] Lv. Generation of induced pluripotent stem cells from adult bovine dermal fibroblasts[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2011
- [20] Bao Lei, He Lixiazi, Chen Ji-jun, et al. Reprogramming of ovine adult fibroblasts to pluripotency via drug-inducible expression of defined factors[J]. Cell Research, 2011, 21: 600-608
- [21] Dimos JT, Rodolfa KT, Niakan KK, et al. Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons[J]. Science, 2008, 321(5893): 1218-1221
- [22] In-Hyun Park, Natasha Arora, Hongguang Huo, et al. Disease-Specific Induced Pluripotent Stem Cells[J]. Cell, 2008, 134(5): 877-886
- [23] Mason A. Israel, Shauna H. Yuan, Cedric Bardy, et al. Probing sporadic and familial Alzheimers's disease using induced pluripotent stem cells[J]. Nature, 2012, 482(7384): 216-221
- [24] Hanna J, Wernig M, Markoulaki S, et al. Treatment of sickle cell anemia mouse model with iPS cells generated from autologous skin [J]. Science, 2007, 318(5858): 1920-1923
- [25] Nishimura K, Nakagawa T, Ono K, et al. Transplantation of mouse induced pluripotent stem cells into the cochlea[J]. Neuroreport, 2009, 20(14): 1250-1254
- [26] Vierbuchen T, Ostermeier A, Pang ZP, et al. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors[J]. Nature, 2010, 463(7284): 1035-1041
- [27] Wernig M, Zhao JP, Pruszak J, et al. Neurons derived from reprogrammed fibroblasts functionally integrate into the fetal brain and improve symptoms of rats with Parkinson's disease [J]. Proc Natl Acad Sci, 2008, 105(15): 5856-5861
- [28] Tateishi K, He J, Taranova O, et al. Generation of insulin-secreting islet-like clusters from human skin fibroblasts[J]. J Biol Chem, 2008, 283(46): 31601-31607
- [29] Dimos JT, Rodolfa KT, Niakan KK, et al. Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons[J]. Science, 2008, 321(5893): 1218-1221
- [30] Ebert AD, Yu J, Rose FF Jr, et al. Induced pluripotent stem cells from a spinal muscular atrophy patient[J]. Nature, 2009, 457(7227): 277-280
- [31] Park IH, Arora N, Huo H, et al. Disease-specific induced pluripotent stem cells[J]. Cell, 2008, 134(5): 877-886
- [32] Soldner F, Hockemeyer D, Beard C, et al. Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors[J]. Cell, 2009, 136(5): 964-977