

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.12.043

诱导型多能干细胞 iPSc 研究现状及其移植治疗帕金森综合症应用前景*

徐丽莎¹ 兰智辉¹ 邢振¹ 樊星¹ 郭保^{1,2} 廖亚平¹ 刘长青^{1,Δ}

(蚌埠医学院 1 生物科学系 安徽 蚌埠 233030; 2 医学检验系 安徽 蚌埠 233030)

摘要: 诱导多能干细胞(iPS 细胞)在小鼠和人上的成功获取,使干细胞领域的研究进入了一个崭新的时代。干细胞研究是再生医学的重要组成部分,研究干细胞的最终目的是应用于干细胞治疗疾病,其在疾病模型建立、药物筛选、细胞移植等方面具有极大的应用潜力。iPSCs 是由体细胞诱导分化而成的"多能细胞",具备和胚胎干细胞类似的功能,既解决了 ESCs 的伦理障碍,又为 ESCs 的获得提供了一条全新的途径,具有重要的理论和应用价值。iPS 细胞不仅打破了道德理论的束缚,而且在再生医学、组织工程和药物发现及评价等方面具有积极的价值。神经系统遗传性疾病发病率居各系统遗传病之首,但其发病的分子机制仍不完全清楚,运用体细胞重编程技术建立的疾病特异性诱导多能干细胞模型将有助于揭示神经系统遗传性疾病的发病机理。近几年 iPS 细胞最新研究成果表明,利用疾病患者 iPS 细胞模型已逐渐应用于帕金森氏病、老年性痴呆症、脊髓侧索硬化症、脊髓肌肉萎缩症及舞蹈症等 5 种常见神经性退行性疾病发病机理的研究。本文主要对 iPSc 的发展历程,避免病毒基因干扰诱导 iPS 细胞进行的优化,以及干细胞尤其是 iPS 细胞移植治疗帕金森病等神经系统疾病的现状及应用前景进行系统阐述与论证。

关键词: 诱导型多能干细胞;体细胞重编程;帕金森综合症

中图分类号: Q-1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2015)12-2370-05

Induced Pluripotent Stem Cell Type iPSc Research Status and Treatment of Parkinson's Disease Application Prospect*

XU Li-sha¹, LAN Zhi-hui¹, XING Zhen¹, FAN Xing¹, GUO Yu^{1,2}, LIAO Ya-ping¹, LIU Chang-qing^{1,Δ}

(1 Biological sciences at bengbu 233030 bengbu medical college; 2 Medical test department of bengbu, Bengbu, Anhui, 233030, China)

ABSTRACT: Induced pluripotent stem cells (iPS cells) got from mice and human were successful, which made the research of stem cell field into a new era. Stem cell research is an important part of regenerative medicine, and the ultimate goal of stem cell research is the application of stem cells for treatment of disease. Furthermore, the research of stem cells has great application potential on the disease models, drug screening, and cell transplantation. As embryonic stem cells, induced pluripotent stem cells are able to self-renew indefinitely and differentiate into all types of somatic cells, and also solve the ethical barriers of ESC. Induced pluripotent stem cells are not only valuable for cell replacement therapy and regenerative medicine, but also useful for disease modeling in vitro, facilitating studies of mechanisms underlying disease development, drug screening, and development of new therapeutic strategy. Although, the morbidity of neural hereditary diseases ranks first over all hereditary diseases, their pathogenesis remains unclear till now. Patient-specific iPSCs have been gradually applied as in vitro models for the study of the pathogenesis of neural hereditary diseases, drug screening as well as clinical applications. In recent years, the iPS cells models from patients with Parkinson's disease, Alzheimer's disease, amyotrophic lateral sclerosis, Huntington's disease and spinal muscular atrophy have been applied to explore the molecular mechanism of these diseases. Here, we review the developing course of iPSc, methods optimization of induced iPS cells to prevent virus gene interference, and the stem cells especially the iPS cell transplantation therapy of nervous system diseases such as Parkinson's disease, the present situation and application prospects of iPSCs.

Key words: Induced pluripotent stem cells (iPS cells); Somatic cell reprogramming; Parkinson's disease

Chinese Library Classification(CLC): Q-1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)12-2370-05

前言

干细胞研究是再生医学的重要组成部分,研究干细胞的最终目的是应用干细胞治疗疾病,其在疾病模型建立、药物筛选、

细胞移植等方面具有极大的应用潜力^[1]。自"十一五"以来,国家 973 计划重点支持了干细胞和组织工程的相关基础研究,863 计划则启动了组织器官工程的重大专项。

当前可以通过多种途径将体细胞重编程获取胚胎干细胞,

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81301333);安徽省自然科学基金重点项目(KJ2012A199);安徽省自然科学基金项目(10040606Q43);

国家级大学生创新创业训练计划项目(201210367021)

作者简介:徐丽莎(1985-),女,硕士研究生,主要研究方向:干细胞定向分化与神经再生,电话:18326919790, E-mail:410771193@qq.com

Δ 通讯作者:刘长青,男,副教授,博士, E-mail:lcq7813@126.com

(收稿日期:2014-09-06 接受日期:2014-09-28)

这些途径主要包括:a.体细胞核移植^[2];b.体细胞与多潜能细胞融合后的重编程^[3];c.将分化的体细胞在卵细胞或多潜能干细胞的抽提物中孵育以实现体细胞的重编程^[4,5];d.体细胞经特定因子诱导重编程为 iPS 细胞^[6]。然而由于受到道德伦理、免疫排斥、宗教、法律等原因的限制,前 3 种方法虽然可以获得多能干细胞,但在研究上一直不能突破。

2007 年诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)在小鼠和人上的成功获取,使干细胞领域的研究进入了一个崭新的时代,也为生命科学的未来发展带来了新的曙光。iPSCs 是由体细胞诱导分化而成的“多能细胞”,具备和胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)类似的功能,既解决了 ESCs 的伦理障碍,又为 ESCs 的获得提供了一条全新的途径,具有重要的理论和应用价值,iPS 细胞不仅打破了道德理论的束缚,而且在再生医学、组织工程和药物发现及评价等方面具有积极的价值。

1 国内外 iPS 细胞的研究现状

2006 年 7 月,日本京都大学 Yamanaka 研究小组将四种转录因子 OCT4、SOX2、c-MYC 和 KLF4 共同导入小鼠成纤维细胞,首次成功建立小鼠 iPS 细胞系^[7]。2007 年,日美科学家同时在《Science》和《Cell》杂志上报道成功诱导人类体细胞转化为 iPS 细胞^[8,9]。然而,早期建立的 iPS 细胞是利用病毒载体将重编程因子转入体细胞内,而病毒载体体会随机插入体细胞基因组造成突变,进而影响 iPS 细胞的应用。为了解决这一难题,科学家研究并总结出许多策略,各种方法优点和缺点的比较见表 1^[10]。

首先,降低重编程体细胞所需病毒数量。2009 年 1 月,美国麻省理工学院报道单个启动子启动多顺反子的表达诱导鼠胚胎成纤维细胞产生 iPS 细胞^[11]。加拿大学者应用 PB 转座子转移可诱导的脱氧土霉素转录因子,高效重编程鼠和人的胚胎成纤维细胞,获得稳定的 iPS 细胞^[12]。Zhou 等在《Cell Stem Cell》上报道了使用重组蛋白将鼠胚胎成纤维细胞成功诱导为 iPS 细胞,避免了将外源基因导入细胞后引起癌变^[13]。

其次,去除致癌基因并利用小分子重编程体细胞,减少对 iPS 细胞的遗传修饰。2008 年,Nakagawa 去除了致癌基因 c-Myc,将鼠和人成纤维细胞重编程为更安全的 iPS 细胞^[14]。2010 年,美国 Scripps 研究所丁胜研究员利用 OCT4 和小分子将人体细胞重编程为 iPS 细胞^[15]。2011 年,北京大学邓宏魁教授和中科院广州生物医药与健康研究院的裴端卿研究员分别建立了单因子 iPS 细胞(OCT4-iPS)^[16,17]。

第三,优化 iPS 细胞的培养条件。2008 年,美国哈佛大学 Danwei 通过加入“巴尔普罗酸”的蛋白质合成阻碍剂,使 iPS 细胞诱导效率升至 9.6%-14%^[18]。2010 年,裴端卿等发现,在培养过程中添加维生素 C 可使 iPS 细胞诱导效率提高 10 倍^[19]。中科院动物研究所周琪等利用基因敲除血清替代物(KOSR)代替胎牛血清,可显著提高重编程的效率^[20]。

最后,建立实验动物模型。2009 年,周琪^[21]研究组和 Baldwin^[22]研究组同时报道从 iPS 细胞获得有生育能力的小鼠。2011 年,Wu 等利用延胡索酰乙酰乙酸水解酶(fumarylacetoacetate hydrolase)基因缺陷型小鼠的成纤维细胞,诱导成 iPS 细胞并获得健康的小鼠^[23]。2012-2013 年,Ishikawa 与 Dianat 分别利用人类的 iPS 细胞诱导分化成肝脏细胞,为体外建立特异性疾

病模型,以及程序处理药物的疗效和毒性遗传变异提供了潜在的应用价值^[24,25]。高绍荣(2012)利用 iPS 技术获取了 β -地中海贫血症十几株诱导多能干细胞系,并将病人特异的 iPS 细胞系和基因修复的 iPS 细胞系分别进行体外定向造血分化,并建立了体内移植的小鼠模型,移植修复后 iPS 细胞来源的造血祖细胞的 SCID 小鼠在放射性照射后,其血红蛋白及红细胞水平能较快恢复到正常值,并产生出正常的人的 β -珠蛋白^[26]。

总之,iPS 细胞具备和 ES 细胞类似的功能,在临床应用上成功地避开了伦理争议和免疫排斥问题。它将为干细胞和再生医学的应用提供治疗用的种子细胞,同时,也是研究发育生物学、疾病发生发展机制、基因与蛋白质功能分析等的十分重要的实用模型。但是,iPS 细胞在临床上的应用也面临诸多的挑战,如:遗传安全性问题、iPSC 源性细胞移植后的疗效,iPSC 定向分化的具体机制、简化筛选、分离流程与优化细胞移植条件等有待进一步完善与技术突破。

2 干细胞移植治疗帕金森病

帕金森病(parkinson's disease,PD)是因黑质-纹状体通路的多巴胺神经元变性,导致多巴胺(dopamine,DA)分泌减少、乙酰胆碱功能亢进,引起一系列神经功能障碍,是神经系统疾病治疗的热点之一。药物和手术治疗能缓解症状,但不能阻止疾病进程。干细胞移植治疗通过替代损失的多巴胺神经元以恢复神经传递,不仅能补充其在脑内的含量,而且能保护残留的多巴胺(DA)能神经元。干细胞移植治疗帕金森病已有十年以上的研究历史,研究者采用的干细胞移植供体、选择的实验动物及帕金森病模型的制作方式不同。当前通过细胞移植进行帕金森病治疗的方法有三种:

(1) 胚胎干细胞(embryonic stem cells,ESCs)诱导分化为多巴胺神经元,移植治疗 PD

将 ESCs 移植入脑内不出现过度增殖,需确定最佳的细胞移植数量、定向分化的机制,明确分化中基因表达次序,并对 ESCs 进行基因修饰,确保临床应用的高效性、安全性。2001 年,Zhang 等将人 ESCs 在 bFGF 培养基中分化为神经前体细胞,移植到新生鼠脑,分化为星形细胞和神经元,并且没有形成畸胎瘤^[27]。2005 年,Takagi 等将猴 ESCs 诱导分化为神经祖细胞,再进一步诱导为 DA 能神经元植入 PD 猴的大脑中,PD 猴症状明显减轻,运动能力增强^[28]。

(2) 神经干细胞(neural stem cells,NSCs)移植治疗 PD

NSCs 移植治疗 PD 相对于 ESCs 具有免疫排斥反应小、致瘤性小和稳定性好等优点。2003 年,Parati 等报道从嗅球分离的 NSCs 移植后在 PD 小鼠模型上显示了良好的治疗前景^[29]。2007 年,NSCs 移植研究在灵长类 PD 动物模型上也取得了较大进展。Redinond 等将未分化的人 NSCs 移植到处理的非洲绿猴 PD 模型脑内,NSCs 在宿主脑内能够存活、迁移,小部分分化为多巴胺能神经元,大部分分化为星型胶质细胞,调节神经细胞的周围环境和应对损伤,非洲绿猴 PD 症状得到缓解^[30]。2008 年,Mukhida 等将人胚胎脑神经干细胞移植到 PD 大鼠黑质和纹状体,结果表明干细胞具有不同的存活和迁移能力,但仍存在多巴胺能神经元分化率较低的问题,不能从根本上改善帕金森病的症状^[31]。

(3) 骨髓间充质干细胞(Mesenchymal Stem Cells,

MSCs)移植治疗 PD

2003 年, Li 等将 Brdu 标记的 MSCs 移植到 PD 小鼠右侧纹状体(MPTP 制作双侧毁损模型), 术后可检测到移植细胞的存在^[32]。Munoz-Elias 等经研究证明了 MSCs 在体内具有神经元功能^[33]。

细胞移植研究已在生物医学领域中呈现出诱人的光辉前景, 为中枢神经系统损伤和相关疾病的细胞替代修复及基因转移治疗带来了新的途径, 但仍有许多问题亟待解决: 细胞移植后的准确定位和功能, 细胞增殖、迁移、分化的机制有待进一步研究; 细胞来源不足, 移植后易出现致瘤现象等。

3 iPS 细胞移植治疗帕金森病等神经系统疾病

3.1 iPS 细胞移植治疗老年性痴呆症 (AD) 与亨廷顿氏舞蹈病 (HD)

干细胞移植治疗神经系统疾病已有十年以上的研究历史, iPS 细胞的出现对于研究神经系统疾病发生的分子机制提供了条件, 近几年来取得了一些重要进展。2013 年, Kondo 成功使家族性和散发性阿尔茨海默症 (Alzheimer's disease, AD) 患者的 iPS 细胞转化为神经细胞, 并在此基础上对阿尔茨海默症的发病机理进行了模拟和研究。利用两个家族性 AD 患者和两个散发性 AD 患者的 iPSCs 生成了脑皮层神经元和星形胶质细胞, 而且家族性 AD 和散发性 AD 神经细胞内的 A β 寡聚体, 与内质网应激和氧化应激有关。而二十二碳六烯酸(DHA)治疗可以减弱这些应激效果, 这有助于解释为何 DHA 治疗产生的临床效果存在差异性^[34]。2012 年, Kaye 等利用人类 ESCs 与 iPSCs 移植后对于脑的发育与神经发生来研究亨廷顿氏舞蹈病 (Huntington's Disease, HD) 发生的分子机制^[35]。

3.2 iPS 细胞移植治疗帕金森病 (PD)

在 iPS 细胞移植治疗帕金森病方面的研究更是取得了一些可喜的进展。2008 年, Wernig 等的研究结果进一步验证了 iPS 细胞的多能性, 大鼠 iPS 细胞在体外可以分化为有功能的神经细胞, 将其植入胚胎大脑或 PD 大鼠脑内, 均有十分显著的疗效^[36], 这是 iPS 细胞治疗帕金森病的重要尝试。2009 年, Soldner 等利用 PD 病人的体细胞诱导 iPS 细胞进行初步研究显示, 基因表达状态与人的 ESCs 更接近^[37]。Sanchez-Pernaute 与闫晓明等研究发现, 来源于灵长类 ES 细胞的多巴胺能神经元与来源于大鼠 ES 细胞经诱导分化成神经前体细胞移植后可明显增加纹状体内多巴胺 (DA)、二羟苯乙酸 (DOPAC) 的含量, 可用于帕金森病的修复治疗^[38,39]。2011 年, Rhee 等研究发现蛋白诱导的人 iPS 细胞能分化为有功能 DA 能神经元, 并能有效治疗 PD 大鼠模型^[40]。

Byers 等(2012)通过利用 iPS 技术获取了两株帕金森病人的 iPS 细胞系, 研究发现其能诱导分化为 DA 能神经元, 与野生型 DA 能神经元相比对 caspase-3 激活途径更加敏感^[41]。Cooper 等(2012)报道了利用帕金森症患者与携带 PINK1 基因和 LRRK2 基因突变症状发生前的人 iPS 细胞分别诱导产生了相应的神经细胞。通过测量 iPS 细胞来源的神经细胞线粒体反应活性氧簇, 发现辅酶 Q10、雷帕霉素、LRRK2 激酶抑制剂 GW5074 可使家族性帕金森病患者和高危个体 iPS 细胞的线粒体功能障碍获得补救^[42]。Pu(2012)通过对当前帕金森病治疗存在的问题以及利用 iPS 细胞研究帕金森病取得的进展进行

分析, 得出 PD 治疗已经进入一个新的阶段^[43]。

3.3 iPS 细胞体外神经性疾病模型

人体 iPS 细胞的产生为进行高通量药物筛选提供了特异的人体细胞模型。如 PD 病人的 iPS 细胞分化成多巴胺神经元后, 可以根据病人 iPS 细胞来源的多巴胺神经元表型及基因组分子水平的改变, 筛选能够改善或恢复多巴胺神经元表型和功能的药物库。目前, 多种遗传病患者特异性的 iPS 细胞系, 包括老年性痴呆症、帕金森氏病、亨廷顿病、唐氏综合症(down syndrome)等相继被建立(见表 2)。这些患者特异性 iPS 细胞令体外研究正常和病变的人体组织的形成变得可能, 从而有助于探索神经性疾病发生机制以及研发特异性新药。总之, iPS 细胞既能作为神经系统遗传性疾病研究和药物筛选的模型, 又能为疾病临床治疗提供自体来源的细胞, 因此无论对理论研究或临床实践都具有重要的价值。利用疾病 iPS 细胞模型, 各种神经系统遗传性疾病发病的分子机理将被不断阐明, 神经系统疾病将逐步进入个体化治疗时代^[44]。

4 当前 iPS 细胞治疗帕金森病存在的问题

当前 iPS 领域的研究方向包括: (1) 优化、高效、安全的 iPS 细胞制备技术, 最终得到可用于临床的 iPS 细胞; (2) 研究重编程的分子机制, 指导建立和完善定向诱导 iPS 细胞神经分化的方法; (3) 将病人的体细胞重编程为 iPS 细胞, 用来研究疾病的发生机制和筛选药物; (4) 探索疾病特异性 iPS 细胞衍生的神经细胞移植后在稳定生长和增殖的方法及临床评估体系。虽然 iPS 细胞用于临床疾病的治疗还有一系列的科学和技术问题有待深入系统地开展研究, 但由于其巨大的潜在应用价值, 它仍然是干细胞领域的研究热点。

近年来, 国际上小鼠、大鼠、猕猴等物种都已成功建立了 iPS 细胞系, 但其与人类的亲缘关系及生理生化特征均有较大的差距。中国科学技术大学史庆华教授通过对来自不同实验室的 9 个小鼠 iPS 细胞系进行研究, 发现不同重新程序化过程会导致产生的 iPS 细胞系中 14 号染色体三倍体化及出现罗伯逊易位比例大幅度升高^[6], 表明小鼠 iPS 细胞易于出现染色体异常。同时人 iPS 细胞还存在很多不确定的安全隐患, 有效性无法在人自身进行验证。iPS 细胞替代治疗是否能实现功能再生, iPS 细胞在临床治疗上是否和 ES 细胞有很大差异, 还需要动物实验来证实。

参考文献 (References)

- [1] Schwartz S D, Hubschman J P, Heilwell G, et al. Embryonic stem cell trials for macular degeneration: a preliminary report[J]. Lancet, 2012, 379: 713-720
- [2] Campbell KH, Alberio R. Reprogramming the genome: role of the cell cycle[J]. Reprod Suppl, 2003, 61: 477-494
- [3] Cowan CA, Atienza J, Melton DA, et al. Nuclear reprogramming of somatic cells after fusion with human embryonic stem cells [J]. Science, 2005, 309(5739): 1369-1373
- [4] Alberio R, Johnson AD, Stick R, et al. Differential nuclear remodeling of mammalian somatic cells by *Xenopus laevis* oocyte and egg cytoplasm[J]. Exp Cell Res, 2005, 307(1): 131-141
- [5] Taranger CK, Noer A, Sørensen AL, et al. Induction of dedifferentiation, genomewide transcriptional programming, and epigenetic reprogramming by extracts of carcinoma and embryonic stem cells[J]. Mol Biol Cell, 2005, 16(12): 5719-5735

表 1 诱导多能干细胞产生方法及其优缺点比较

Table 1 Comparison of the advantages and faults of the approaches to generate induced pluripotent stem cells

产生方法 Generation approaches	优点 Advantages	缺点 Faults
Retrovirus plasmids	High efficiency of iPS cell generation	Genome integration to induce mutation, only infecting dividing cells, risk of tumorigenesis by the reactivation of virus genes.
Lentivirus plasmids	High efficiency iPS cell generation, capability of infect dividing and non-dividing cells	Genome integration to induce mutation, incomplete silencing of the transgenes
Excisable lenti-viral vectors	Efficient excision of the transgenes	Residue of 200~300bp lentiviral vectors in the genome
PiggyBac transposons	Precise excision of the transgenes, no residue of the vector	Need longer time to generate iPS cells, low efficiency of transgene excision
Episomal plasmids	No integration of the viral vectors and transgenes in the genome	Low efficiency of iPS cell generation
Recombinant proteins	No integration of the viral vectors and transgenes in the genome	Low efficiency of iPS cell generation, complicated procedures
Small molecules (VPA, BIX02194, VitC, etc)	No integration of the viral vectors and transgenes in the genome	Low efficiency of iPS cell generation
mRNA	Most highest efficiency iPS cell generation(>1%)	Need longer time to generate iPS cells, 5 mRNA transfection

表 2 神经退行性疾病及神经系统遗传性疾病特异的 iPS 细胞系

Table 2 iPS cell lines from patients with neurodegenerative diseases and neural hereditary diseases

疾病名称 Disease types	主要病变细胞 Primarily affected cells	基因突变 Gene mutations
Alzheimer's disease(AD)	Cortical neurons; Hippocampal neurons	<i>PS1, PS2</i>
Parkinson's disease(PD)	DA neurons	<i>LRRK2, PINK1, unknown gene</i>
Huntington's disease(HD)	Cortical-striatal neurons	<i>HTT</i>
Amyotrophic lateral sclerosis(ALS)	Motor neurons	<i>SOD1, VAPB</i>
Downs' syndrome	Global	<i>Trisomy 21</i>
Spinal muscular atrophy(SMA)	Motor neurons	<i>SMN1</i>
Fragile X syndrome	Global	<i>FMR1</i>
Schizophrenia		<i>DISC1</i>
Rett syndrome	Differentiated neurons	<i>MeCP2</i>
Duchenne muscular dystrophy(DMD)		<i>DMD</i>
Friedreich ataxia		<i>FXN</i>
Familial dysautonomia(FD)	Sensory and autonomic neurons	<i>IKB KAP</i>
Gaucher disease		<i>GBA</i>

- [6] Jaenisch R, Young R. Stem cells, the molecular circuitry of pluripotency and nuclear reprogramming [J]. Cell, 2008, 132 (4): 567-582
- [7] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors[J]. Cell, 2006, 126(4): 663-676
- [8] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors [J]. Cell, 2007, 131(5): 861-872
- [9] Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from Human somatic cells [J]. Science, 2007, 318 (5858): 1917-1920
- [10] Mochizuki Y, Okita K. Methods for iPS cell generation for basic research and clinical applications[J]. Biotechnol J, 2012, 7(6): 789-797
- [11] Bryce WC, Markoulaki S, Hanna J, et al. Reprogramming of murine and human somatic cells using a single polycistronic vector [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(1): 157-162
- [12] Wolftjen K, Michael IP, Mohseni P, et al. piggyBac transposition reprograms fibroblasts to induced pluripotent stem cells [J]. Nature,

- 2009, 458(6): 766-770
- [13] Zhou H, Wu S, Joo JY, et al. Generation of induced pluripotent stem cells using recombinant proteins[J]. *Cell stem cell*, 2009, 4(2): 381-384
- [14] Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, et al. Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts[J]. *Nature Biotechnology*, 2008, 26(1): 101-106
- [15] Zhu S, Li W, Zhou H, et al. Reprogramming of human primary somatic cells by OCT4 and chemical compounds [J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 7(6): 651-655
- [16] Li Y, Zhang Q, Yin X, et al. Generation of iPSCs from mouse fibroblasts with a single gene, Oct4, and small molecules[J]. *Cell Res*, 2011, 21(1): 196-204
- [17] Chen J, Liu J, Yang J, et al. BMPs functionally replace Klf4 and support efficient reprogramming of mouse fibroblasts by Oct4 alone [J]. *Cell Res*, 2011, 21(1): 205-212
- [18] Huangfu D, Maehr R, Guo WJ. Induction of pluripotent stem cells by defined factors is greatly improved by small-molecule compounds[J]. *Nature Biotechnology*, 2008, 26(2): 795-797
- [19] Esteban MA, Wang T, Qin B, et al. Vitamin C enhances the generation of mouse and human induced pluripotent stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 6(1): 71-79
- [20] Zhao XY, Li W, Lv Z, et al. Efficient and rapid generation of induced pluripotent stem cells using an alternative culture medium [J]. *Cell Res*, 2010, 20(3): 383-386
- [21] Zhao XY, Li W, Lv Z, et al. IPS cells produce viable mice through tetraploid Complementation[J]. *Nature*, 2009, 461(7260): 86-90
- [22] Boland MJ, Hazen JL, Nazor KL, et al. Adult mice generated from induced pluripotent stem Cells[J]. *Nature*, 2009, 461(7260): 90-96
- [23] Wu GM, Liu N, Rittelmeyer I, et al. Generation of Healthy Mice from Gene-Corrected Disease-Specific Induced Pluripotent Stem Cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2011, 9(7): 1-14
- [24] Ishikawa T, Hagiwara K, Ochiya T. Generation and hepatic differentiation of human iPS cells [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 826(5): 103-114
- [25] Dianat N, Steichen C, Vallier L, et al. Human pluripotent stem cells for modelling human liver diseases and cell therapy[J]. *Curr Gene Ther*, 2013, 13(2): 120-132
- [26] Wang Y, Zheng CG, Jiang Y, et al. Genetic correction of β -thalassemia patient-specific iPS cells and its use in improving hemoglobin production in irradiated SCID mice [J]. *Cell Res*, 2012, 22(4): 637-648
- [27] Zhang SC, Wernig M, Duncan ID, et al. In vitro differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells[J]. *Nat Biotechnol*, 2001, 19(12): 1129-1133
- [28] Takagi Y, Takahashi J, Saiki H, et al. DoPmainegric neurons generated from monkey embryonic stem cells function in a Parkinson primate model[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(1): 102-109
- [29] Parati EA, Bez A, Ponti D, et al. Neural stem cells biological features and therapeutic Potential Parkinson's disease [J]. *J Neurosurg Sci*, 2003, 47(1): 8-17
- [30] RedInond DE, Bjugstad KB, Teng YD, et al. Behavioral improvement in a Primate parkinson's model is associated with multiple homeostatic effects of human neural stem cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(29): 12175-12180
- [31] Multhida K, Baghbaderani BA, Hong M, et al. Survival, differentiation, and migration of bioreactor-expanded human neural Precursor cells in a model of Parkinson disease in rats [J]. *Neurosurg Focus*, 2008, 24(3-4): E8
- [32] Li XK, Guo AC, Zuo PP. Survival and differentiation of transplanted neural stem cells in mice brain with MPTP-induced Parkinson disease [J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2003, 24(12): 1172-1179
- [33] Munoz-Elias G, Marcus AJ, Coyne TM, et al. Adult bone marrow stromal cell in the embryonic brain: engraftment, migration, differentiation, and long-term survival [J]. *Neurosci*, 2004, 24 (19): 4585-4595
- [34] Kondo T, Asai M, Tsukita K, et al. Modeling Alzheimer's Disease with iPSCs Reveals Stress Phenotypes Associated with Intracellular A β and Differential Drug Responsiveness [J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 12(4):487-496
- [35] Kaye JA, Finkbeiner S. Modeling Huntington's Disease with Induced Pluripotent Stem Cells[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2013, 56: 50-64
- [36] 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 USA*, 2008, 105(15): 5856-5861
- [37] 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
- [38] Sanchez-Pernaute R, Lee H, Patterson M. Parthenogenetic dopamine neurons from primate embryonic stem cells restore function in experimental Parkinson's disease[J]. *Brain*, 2008, 131(2): 2127-2139
- [39] 闫晓明, 李勇杰, 关云谦. 胚胎干细胞分化的神经前体细胞移植治疗帕金森病的实验研究[J]. *神经疾病与精神卫生*, 2009, 9(6): 490-492
- Yan Xiao-ming, Li Yong-jie, Guan Yun-qian. Embryonic stem cell differentiation of neural precursor cells transplantation in the treatment of Parkinson's disease study [J]. *Journal of neurological diseases and mental health*, 2009, 9(6): 490-492
- [40] Rhee YH, Ko JY, Chang MY, et al. Protein-based human iPS cells efficiently generate functional dopamine neurons and can treat a rat model of Parkinson disease[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(6): 2326-2335
- [41] Byers B, Lee HL, Reijo Pera R. Modeling Parkinson's disease using induced pluripotent stem cells[J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2012, 12 (3): 237-242
- [42] Cooper O, Seo H, Andrabi S, et al. Pharmacological rescue of mitochondrial deficits in iPSC-derived neural cells from patients with familial Parkinson's disease[J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4(141): 141ra90
- [43] Pu J, Jiang H, Zhang B, et al. Redefining Parkinson's disease research using induced pluripotent stem cells [J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2012, 12(4): 392-398
- [44] 李春, 金颖. 诱导多能干细胞在神经系统遗传性疾病研究中的应用 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2013, 35(6): 751-759
- Li Chun, Jin Ying. Induced pluripotent stem cells in the nervous system applied in the study of genetic diseases [J]. *Chinese journal of cell biology*, 2013, 35(6): 751-759