

# 人尿源性干细胞的分离培养及应用研究新进展\*

周 明 孙震晓\*\*

(北京中医药大学生命科学院, 北京 100029)

**摘要** 人尿源性干细胞(human urine-derived stem cells, hUSCs)是从人尿液中通过常温离心分离培养出来的具有良好增殖活性和多向分化能力的成体干细胞, 具有间充质干细胞的生物学特性, 其在组织器官修复、疾病治疗、药物活性及毒性替代筛选等领域均有重要的应用前景, 且已能实现多种途径向尿源性多潜能干细胞(urine-induced pluripotent stem cells, u-iPSCs)转化, 但在研究过程中发现仍然存在一些值得深入研究的问题, 如人尿液源性干细胞的来源尚不明确, 定向诱导多潜能干细胞分化的条件选择及如何提高重编程效率等。本文对 hUSCs 的来源、分离培养方法、生物学特性及其应用研究最新进展进行综述, 总结了由 hUSCs 向 u-iPSCs 诱导的方法及其应用前景, 为 hUSCs 的研究和应用提供参考。

**关键词** 人尿源性干细胞, 分离培养, 生物学特征, 应用, 尿源性多潜能干细胞

**学科分类号** R329.2

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2017.0213

干细胞(stem cell)是一类具有自我更新能力和多向分化潜能特性的细胞, 在再生医学、细胞替代治疗及药物筛选等领域有着广泛的研究及应用前景<sup>[1]</sup>。干细胞主要可分为胚胎干细胞(embryonic stem cell, ES 细胞)、成体干细胞(somatic stem cell)和诱导多潜能性干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSC)三大类<sup>[2]</sup>。胚胎干细胞是一种高度未分化细胞, 它具有发育的全能性, 具有分化出成体动物所有组织和器官的潜能。成体干细胞指存在于已分化组织中的多能干细胞, 主要包括间充质干细胞(marrow mesenchymal stem cells, MSCs)、造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSCs)、内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)等, 目前研究发现, 成体干细胞具有诱导分化为所在组织起源的全部细胞的潜能, 并可跨胚层分化<sup>[3]</sup>, 对于干细胞的研究与应用, 成体干细胞可避开使用人类生殖细胞及早期胚胎而受到青睐。诱导多潜能性干细胞是通过人工诱导非多能性细胞表达某种特定基因得到的, 分化潜能介于胚胎干细胞和成体干细胞之间的一类细胞, 近年来也得到广泛的关注和应用<sup>[4]</sup>。人尿源性干细胞(human urine-derived stem cells, hUSCs)是近年来从人尿液中分离培养出的具有良好增殖活性的人成体干细胞, 研究表明, 其具有间

充质干细胞的各种生物学特性<sup>[5-6]</sup>: 细胞贴壁生长; 高表达 CD44、CD73、CD90、CD105 和 CD146 等间充质干细胞表面标志物, 不表达或微量表达 CD34、CD133 等造血干细胞和 CD31 等内皮细胞标志物; 具有多向分化潜能; 取材方便、无创<sup>[7]</sup>, 是一种理想的成体干细胞。在不同诱导方法的作用下, hUSCs 可以分化成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、尿路上皮细胞、平滑肌细胞、神经细胞等多种类型组织细胞, 不但在组织器官修复重建及疾病治疗等领域有良好的应用前景, 在药物活性及毒性替代筛选方面也有一定潜力<sup>[8]</sup>。

## 1 人尿液作为干细胞的来源

2008 年, 美国维克森林大学再生医学研究所张元原等<sup>[9]</sup>从人的尿液中分离获得一种干细胞, 采用角质细胞无血清培养基(keratinocyte serum free medium, KSFM)和胚胎纤维母细胞培养基

\* 国家自然科学基金资助项目(81473418), 国家林业局野生动植物保护项目(2012-2016), 北京中医药大学东直门医院“111”协同创新院际合作项目(2016-DZM111-ZY008)。

\*\* 通讯联系人。

Tel: 010-84738646, E-mail: sunzxcn@hotmail.com

收稿日期: 2017-06-08, 接受日期: 2017-10-20

(embryonic fibroblast medium, EFM)等比例混合液成功培养, 命名为人尿源性干细胞 (human urine-derived stem cells, hUSCs)。研究表明, 尿液中的细胞主要来源于上皮, 可分为终末分化细胞、未完全成熟细胞和待分化前体细胞 - 即 hUSCs<sup>[9-11]</sup>。不贴壁的终末分化细胞在更新培养基时可被除去, 未完全成熟细胞具有一定的增殖能力, 和 hUSCs 均为贴壁细胞, 但在体外传代培养一定时间后因不再增殖而数量逐渐减少至消失, 而 hUSCs 经多次传代培养仍保持旺盛的增殖能力<sup>[12-13]</sup>。

尿液中干细胞的数量较少, 其他存活的细胞经体外传代不再增殖, 而 hUSCs 经多次传代仍然能保持旺盛的增殖能力。关于尿液中的干细胞来源有不同的研究报道: 有研究表明是肾脏足细胞, 将男性肾脏提供给尿毒症患者的女性提取其尿液中的 USCs, 发现含有 Y 染色体, 且表达正常的肾细胞标志物 (CD224、CD13、NR3C2、CD146、pax2、pax8) 和肾小球足细胞的特异基因和蛋白标志物 (synaptopodin, podicin), 这证明 USCs 来源于肾

脏, 而不是输尿管, 其次 USCs 表达的 CD146 阳性细胞与肾脏足细胞一致, 与肾小管和膀胱的尿路上皮细胞明显不同, 因此有可能 USCs 是来源于肾脏的足细胞脱落<sup>[5]</sup>, 但也有报道称通过 RT-PCR 检测出尿源性干细胞表达尿路上皮基因和平滑肌基因<sup>[14]</sup>。尿源性干细胞的来源问题尚值得进一步研究。

## 2 人尿源性干细胞的分离培养

人尿源性干细胞主要是通过常规离心方法实现分离培养, 培养过程中逐渐除去杂质细胞<sup>[15]</sup>, hUSCs 的提取及扩增培养方法基本步骤包括: 尿液的无菌获取, 常温离心, 洗涤, 细胞计数、活性检测和培养, 细胞扩增<sup>[16]</sup>。人尿源性干细胞在体外长期培养获得足够数量的细胞是 hUSCs 功能应用的前提条件, 表 1 涵盖目前文献报道的 hUSCs 主要的原代培养方法, 包括培养体系(基础培养基、血清和培养添加物)和分离技术(常温离心参数和时间), 我们参考文献并适当修改有关条件成功实现了 hUSCs 的分离培养<sup>[17]</sup>。

Table 1 Primary isolation and cultivation of hUSCs

表 1 人尿源性干细胞 hUSCs 原代分离培养方法

| 培养基主成分                                                     | 离心分离参数        | 文献      |
|------------------------------------------------------------|---------------|---------|
| KSFM 培养基和 EFM 培养基 1:1 等比例混合, 含 5% FBS、EGF、牛垂体物、霍乱毒素、氢化可的松等 | 400 g, 10 min | [6, 8]  |
| 含 2% FBS 的 DMEM 培养基, 含 hEGF、PDGF、TGF- $\beta$ 、bFGF、ITS 等  | 400 g, 10 min | [18-19] |

## 3 人尿源性干细胞的生物学特征

### 3.1 人尿源性干细胞的形态学特征

1972 年, 科学家从新生儿尿液中的脱落细胞中成功培养出具有体外生存能力的细胞<sup>[20]</sup>, 2008 年美国维克森林大学再生医学研究所从人的尿液中分离获得尿源性干细胞, 这些细胞的普遍特征是具有贴壁性质, 成统一的“纺锤形”或“鹅卵石样”克隆状生长细胞, 细胞形态的多样性认为可能与人的身体状态和培养基的种类有关, 当然也存在体外分化的可能<sup>[8]</sup>。

### 3.2 人尿源性干细胞的表面标志物

研究表明, 早期 hUSCs 均高表达胚胎干细胞标志物, 如 SSEAs、TRA1-60、TRA1-81 和 Oct-4 等, 但随着传代次数增加, 这些多潜能基因的相对表达量下降<sup>[21-22]</sup>, hUSCs 高表达 CD44 和 CD90 等

MSCs 特异表面分子, 不表达或微量表达 CD34、CD133 等多数造血干细胞和 CD31 等内皮细胞标志物, 提示 hUSCs 并非造血干细胞或内皮前体细胞, 而为 MSCs, 即尿源性间充质干细胞(U-MSCs)<sup>[4, 8]</sup>。

### 3.3 人尿源性干细胞的多向分化潜能

hUSCs 在特定的含 BMP9 的骨诱导培养基、软骨诱导培养基和脂肪细胞诱导培养基中可以形成骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞<sup>[5]</sup>, 满足鉴定 hUSCs 多向分化潜能的基本条件。hUSCs 在不同的诱导条件下理论上能够向三胚层的各类细胞分化: 采用含有 EGF 的 KSFM/EFM 混合含血清培养基可将 USCs 定向诱导为尿路上皮细胞<sup>[5]</sup>; 采用含有 TGF- $\beta$ 、PDGF 等生长因子的 H-DMEM 和 EFM 混合培养基培养 hUSCs 诱导其向平滑肌细胞分化<sup>[4]</sup>; 采用成神经诱导培养基将 hUSCs 诱导分化为神经细胞并移植入大鼠模型的脑损伤区<sup>[18]</sup>。这些研究均

表明, 采用适当的方法可将 hUSCs 诱导分化为各种类型的功能性细胞. hUSCs 分离培养成本低、安全无创, 且具有多向分化能力, 显示 hUSCs 在组织器官修复重建等研究领域有广阔的前景. 目前我们也在尝试 hUSCs 向类肝细胞的诱导转化, 研究已取得一定进展(相关数据未发表).

## 4 人尿源性干细胞的应用研究

### 4.1 人尿源性干细胞应用于组织工程的研究

组织工程是一种修复重建缺损组织的技术, 目前已有研究报道 hUSCs 对尿路、骨、皮肤等多种器官或组织的损伤具有修复重建作用<sup>[23]</sup>. 尿源性干细胞经过体外定向诱导分化后, 种植到 3D 小肠脱细胞黏膜下层, 14 d 后移植入免疫缺陷小鼠, 1 个月后观察 hUSCs 可以分化为形成层状的尿路上皮细胞结构, 为尿道下裂组织工程重建修复提供一个简便、快捷的种子细胞的来源<sup>[5]</sup>; 将 hUSCs 接种磷酸三钙( $\beta$ -TCP)上并移植到大鼠股骨大段骨缺损部位, 术后 12 周抗人细胞核抗体证实 USCs 在骨缺损部位的存活, 表明 USCs 能明显地促进骨缺损的修复<sup>[24]</sup>; 构建 UDSCs 复合聚己内酯/明胶(PCL/GT)电纺纳米纤维膜的组织工程皮肤, 与对照组相比全皮损伤口处皮化程度和血管密度升高, 证明 UDSCs 具有促进皮肤伤口愈合的作用<sup>[25]</sup>等.

### 4.2 人尿源性干细胞应用于疾病治疗的研究

尿源性干细胞通过修复改善受损组织或器官的功能, 理论上能够实现疾病治疗的可能. 通过向肾脏注射尿源性干细胞使慢性肾病大鼠模型血清肌酐降低、肾小球滤过率升高, 表明 hUSCs 可能对慢性肾病患者的肾功能有改善作用<sup>[26]</sup>; 通过尾动脉注射尿源性干细胞促进脊髓受伤的大鼠神经源性膀胱功能的恢复, 使神经源性膀胱的治疗和恢复成为可能<sup>[27]</sup>; 尿源性干细胞能改善糖尿病大鼠尿微量白蛋白与尿肌酐比值, 减少肾小球系膜增生和组织细胞的凋亡, 改善肾脏功能, 对糖尿病肾病治疗有一定延缓作用<sup>[28]</sup>.

有研究表明, hUSCs 具有免疫刺激和免疫抑制双重作用, 有可能成为一种新型的免疫调节细胞, 但其对疾病调控的作用机制仍有待进一步研究验证<sup>[13]</sup>.

### 4.3 尿源性干细胞用于多潜能性干细胞诱导的研究

2006 年, 日本山中伸弥(Shinya Yamanaka)课题组通过在分化的胎鼠成纤维细胞中用逆转录病毒

导入表达筛选出的某些特定转录因子, 诱导体细胞的重编程而获得了与 ES 细胞功能相似的细胞, 这些细胞可不断自我更新并具有发育多潜能性, 被命名为诱导多潜能性干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)<sup>[4]</sup>. 自山中伸弥用逆转录病毒的方法成功诱导出 iPSCs 以后, 其他手段如慢病毒和腺病毒<sup>[29]</sup>、质粒和 miRNA<sup>[30]</sup>、小化合物组合等形式也成功应用于诱导 iPSCs<sup>[31]</sup>. 尽管这些诱导技术存在致癌性、重编程效率低等多种问题, 但 iPSCs 具有无创、无免疫排斥反应等优势, 同时具有更好的分化潜能, 因此得到越来越多研究者的关注和应用<sup>[32]</sup>. 现有研究已证明 hUSCs 是产生 iPSCs 的一种较为理想的细胞来源, 已可以实现 hUSCs 向 u-iPSCs 转变<sup>[33]</sup>.

### 4.4 尿源性干细胞在药物毒性替代筛选领域的潜在应用价值

毒性体外模型是研究预测外源物质发育毒性的良好工具, 成体干细胞因其特有的发育全能性和高度的增殖能力且无伦理问题因而得以广泛应用, 通过定向诱导干细胞培养成特定类型的细胞、组织、器官等体外模型来测定候选化合物的毒性探讨受试物可能作用的靶器官毒性和作用机制等<sup>[34-35]</sup>. 用于外源化学物神经发育毒性研究的神经干细胞体外模型<sup>[36]</sup>, 骨髓间充质干细胞在体外诱导获得心肌细胞系来检测心脏发育毒性测试<sup>[37]</sup>等等, 诸多成体干细胞是筛选药物毒性、研究药物代谢机制的理想模型. 近年来诱导多能干细胞的发现, 使药物毒性筛选和疾病建模的研究更为深入: Aikawa 等<sup>[38]</sup>用人类 iPSCs 检测沙利度胺细胞毒性和胚胎毒性; 非病毒电转法获得阿尔兹海默病患者来源的诱导多能干细胞, 为今后的发病机制和药物筛查打下基础<sup>[39]</sup>; 通过逆转录病毒方法诱导建立血友病 A 患者尿源性干细胞生成特异性多潜能干细胞, 为血友病 A 研究和后期治疗过程中的药物筛选提供细胞模型<sup>[40]</sup>.

肝脏是生理和病理状态下药物代谢的重要器官, 通过肝脏代谢后, 许多内源性和外源性的物质对生物体的毒性作用被改变, 部分药物的肝毒性是影响其进入临床试验的重要障碍, 研究者常采用动物实验(体内)和细胞实验(体外)研究药物的代谢情况及代谢机制, 然而由于种属问题的影响, 不能完全用动物代谢情况来预测人的情况, 而且动物实验周期长, 耗费大量人力财力, 还有可能涉及伦理问题; 在体外研究中原代肝细胞具有较好的体外实验重现性, 基本维持了肝脏的代谢功能, 保留了与体

内一致的细胞色素 P450 酶的水平<sup>[41]</sup>, 然而限于技术和伦理的问题, 人原代肝细胞较难获得; 人肝实质细胞 L02 和其他肝癌细胞株虽然体外容易扩增, 但是由于结构修饰改造使其生物学特性已发生显著变化, 不能充分代表正常人肝细胞的功能特性, 因此从人成体干细胞或 iPSCs 向肝细胞诱导分化的研究逐渐受到广泛关注<sup>[42]</sup>, 目前已有一些成体干细胞和 iPSCs 诱导分化为肝细胞的方法<sup>[43-44]</sup>. 裴端卿等通过分析论证肝脏发育过程涉及的关键转录因子帮助实现胚胎干细胞向类肝细胞的诱导分化, 证明了“EMT-MET”机制在干细胞向类肝细胞分化过程中的重要意义, 然而 hUSCs 或 u-iPSCs 是否可以诱导分化成类肝细胞, 及诱导的类肝细胞如何实现长效应用仍需进一步研究<sup>[45]</sup>.

总体而言, 成体干细胞和 iPSCs 的毒性筛选体系较传统动物筛选模型是一种更加安全、经济、高通量的药物筛选模型. hUSCs 具有间充质干细胞的特性, 取材方便快捷、无伦理问题、可以诱导转化为 u-iPSCs, 因此 hUSCs 及其诱导产生的 u-iPSCs 在药物活性及毒性替代筛选方面的应用前景乐观.

#### 4.5 尿源性干细胞永生化研究

尿源性干细胞的独特优势令其在各领域都得到广泛应用, 然而 hUSCs 也与其他正常机体细胞一

样, 在体外培养过程中由于端粒末端变短无法持续增殖, 最终出现衰老和死亡的现象, 一定程度上影响了其在组织器官修复、疾病治疗、药物活性及毒性替代筛选等领域的应用. 目前, 已有课题组运用细胞永生化技术解决这个问题, 运用 piggyBac system 成功筛选出适合于干细胞基因表达的启动子 hEFH, 并用该启动子通过脂质体转染技术成功构建 SV40Tag 永生化 hUSCs<sup>[23]</sup>; 采用含人端粒酶逆转录酶催化亚基 hTERT 的重组慢病毒或逆转录病毒感染 hUSCs, 建立过表达端粒酶的 hUSCs<sup>[14]</sup>; 构建靶向干扰 KCNQ1DN 的慢病毒载体 LV3-shKCNQ1DN 转染人尿源性干细胞, 能够促进其增殖并上调干性相关转录因子 c-Myc、Nanog 和 Rex1 mRNA 及蛋白的表达<sup>[46]</sup>. 这些构建方式所得的永生化 hUSCs 经鉴定均具有间充质干细胞的生物学特性.

#### 5 小结与展望

尿源性干细胞是一种具有良好增殖活性和多向分化能力的成体干细胞, 它具有间充质干细胞的各种生物学特性、取材方便无创、无伦理问题, 在组织工程、疾病治疗和药物活性及毒性替代筛选均得到了良好的应用(图 1)<sup>[47]</sup>.

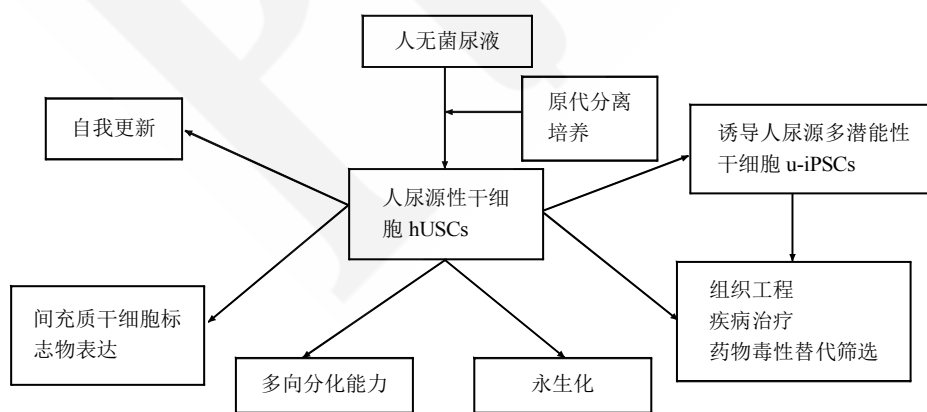


Fig. 1 Biological characteristics and application of hUSCs

图 1 人尿源性干细胞 hUSCs 的生物学特性及应用示意图

目前 hUSCs 相关研究还存在一些问题需要深入探讨和解决, 如 hUSCs 的来源、鉴定表面标志物表达选择、多向分化能力与尿液标本供者的身体状态、尿液获取方式及细胞分离培养方法的关系、如何提高重编程效率及定向诱导多潜能干细胞

分化的条件选择等, 这些问题都有待进一步研究. 但随着对人尿源性干细胞的深入研究, 必将使其在更多的领域发挥更大的作用, 人类也将更加受益其中<sup>[48]</sup>.

## 参 考 文 献

- [1] 谭豪丽. 干细胞研究与应用的伦理思考[D]. 天津: 天津医科大学, 2013  
Tan Z L. Ethical Thinking of Stem Cell Research and Application [D]. Tianjin: Tianjin Medical University, 2013
- [2] 林 戈, 卢光琇. 干细胞概述. 生命科学, 2006, **18**(4): 313-317  
Lin G, Lu G X. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2006, **18**(4): 313-317
- [3] 刘平平. 成体干细胞横向分化的研究现状. 国外医学(生理、病理科学与临床分册), 2003, **23**(1): 34-36  
Liu P P. Foreign Medical Sciences-Section of Pathophysiology and Clinical Medicine, 2003, **23**(1): 34-36
- [4] 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
- [5] Bharadwaj S, Liu G H, Shi Y A, *et al.* Multipotential differentiation of human urine-derived stem cells: potential for therapeutic applications in urology. *Stem Cells*, 2013, **31**(9): 1840-1856
- [6] Qin D N, Long T, Deng J H, *et al.* Urine-derived stem cells for potential use in bladder repair. *Stem Cell Research & Therapy*, 2014, **5**(3): 69
- [7] Lang R, Liu G H, Shi Y A, *et al.* Self-renewal and differentiation capacity of urine-derived stem cells after urine preservation for 24 hours. *Plos One*, 2013, **8**(1): e53980
- [8] Zhang Y Y, Elena M, Tian H, *et al.* Urine derived cells are a potential source for urological tissue reconstruction. *The Journal of Urology*, 2008, **180**(5): 2226-2233
- [9] Benda C, Zhou T, Wang X M, *et al.* Urine as a source of stem cells. *Advances in Biochemical Engineering*, 2013, **129**: 19-32
- [10] 陈春媛, 牛 鑫, 汪 泱. 尿液源性干细胞的研究进展. 中国修复重建外科杂志, 2015, **29**(3): 372-376  
Chen C Y, Niu X, Wang Y. Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery, 2015, **29**(3): 372-376
- [11] 朱文根, 贺文凤, 洪 葵. 干细胞的一种新来源 - 尿液. 中华心血管病杂志, 2014, **42**(7): 616-618  
Zhu W G, He W F, Hong K. Chinese Journal of Cardiology, 2014, **42**(7): 616-618
- [12] Chun S Y, Kim H T, Lee J S, *et al.* Characterization of urine-derived cells from upper urinary tract in patients with bladder cancer. *Urology*, 2012, **79**(5): 1186
- [13] Zhang D Y, Wei G H, Li Peng, *et al.* Urine-derived stem cells: a novel and versatile progenitor source for cell-based therapy and regenerative medicine. *Genes & Diseases*, 2014, **1**(1): 1-25
- [14] 耿睿之, 何云锋, 张 尧, 等. 尿源性干细胞的分离、培养、鉴定及永生. 重庆医科大学学报, 2017: 195-200  
Geng R Z, He Y F, Zhang Y, *et al.* Journal of Chongqing Medical University, 2017: 195-200
- [15] 张剑平, 孟 昕, 林灵婧, 等. 人尿源干细胞的提取和鉴定. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2016, **6**(4): 199-203  
Zhang J P, Meng X, Lin L J, *et al.* Chin J Cell Stem Cell (Electronic Edition), 2016, **6**(4): 199-203
- [16] 汪 泱, 关俊杰, 邓志锋, 等. 尿液间充质干细胞的提取及扩增培养方法和应用[P]. 中国: CN102925409A, 2013-02-13  
Wang Y, Guan J J, Deng Z F, *et al.* Isolation and cultivation of human urine-derived stem cells and application [P]. CHINA: CN102925409A, 2013-02-13
- [17] 周 明, 孙震晓. 人尿源性干细胞的原代培养. 癌变·畸变·突变, 2017, **29**(5): 390-393  
Zhou M, Sun Z X. Carcinogenesis, Teratogenesis & Mutagenesis, 2017, **29**(5): 390-393
- [18] 龚飞翔. 人尿源性干细胞的分离培养及向神经细胞定向分化的体内外实验研究[D]. 江西: 南昌大学医学院, 2013  
Gong F X. Isolation and Cultivation of Human Urine-derived Stem Cells and Neural Differentiation *In vitro* and *In vivo* [D]. Jiangxi: Nanchang University of Medicine, 2013
- [19] Guan J J, Niu X, Gong F X, *et al.* Biological characteristics of human-urine-derived stem cells: potential for cell-based therapy in neurology. *Tissue Engineering: Part A*, 2014, **20** (13-14): 1794-1806
- [20] Sutherland G R, Bain A D. Culture of cells from the urine of newborn children. *Nature*, 1972, **239**(5369): 231
- [21] 包杰文. 人尿源干细胞用于组织工程构建的可行性研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2014  
Bao J W. The Feasibility Study of Tissue Engineering With Human Urine-derived Stem Cells [D]. Shanghai: Shanghai Jiaotong University, 2014
- [22] 温 晟. 人尿源性干细胞的永生化及其诱导分化研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2014  
Wen C. The Immortalization and Differentiation of Human Urine-derived Stem Cells [D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2014
- [23] 温 晟. 人尿源性干细胞在再生医学中的研究进展. 中华小儿外科杂志, 2014, **35**(5): 383-385  
Wen C. Chinese Journal of Pediatric Surgery, 2014, **35**(5): 383-385
- [24] 关俊杰. 基于人尿源干细胞的骨组织工程研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2015  
Guan J J. Research of Bone Tissue Engineering Based on Human Urine-derived Stem Cells [D]. Shanghai: Shanghai Jiaotong University, 2015
- [25] 付银鑫. 尿源性干细胞复合聚己内酯/明胶电纺纳米支架修复皮肤组织损伤的实验研究[D]. 江西: 南昌大学, 2014  
Fu Y X. The Research of Urine-derived Stem Cells Combined With Polycaprolactone/Gelatin Nanofibrous Scaffold on Skin Tissue Injury [D]. Jiangxi: Nanchang University, 2014
- [26] 赵雅培, 刘翠景, 杨翠英, 等. 人尿源干细胞移植治疗慢性肾病大鼠. 中国组织工程研究, 2016, **20**(32): 4838-4844  
Zhao Y P, Liu C J, Yang C Y, *et al.* Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2016, **20**(32): 4838-4844
- [27] 张 腾, 董兴有, 刘 骞, 等. 尿源干细胞促进脊髓损伤后神经源性膀胱恢复. 第三军医大学学报, 2016, **38**(10): 1073-1077  
Zhang T, Dong X Y, Liu S, *et al.* Bulletin of the Third Military Medical College, 2016, **38**(10): 1073-1077
- [28] 姜珍珍. 人尿源干细胞来源的外泌体对 I 型糖尿病大鼠的肾脏

- 保护作用及其机制研究[D]. 江苏: 苏州大学, 2015
- Jiang Z Z. The Research on The Mechanism and Protective Effects of Exosomes Secreted by Human Urine-derived Stem Cells on Kidney Complications From Type I Diabetes in Rats[D]. Jiangsu: Suzhou University, 2015
- [29] Zhou J M, Wang X, Chen F, *et al.* Generation and characterization of human cryptorchid-specific induced pluripotent stem cells from urine. *Stem Cells*, 2013, **22**(5): 717-725
- [30] 薛燕婷. 尿液分离细胞来源非整合人诱导多能干细胞库的建立[D]. 安徽: 中国科学技术大学, 2013
- Xue Y T. Generating a Non-integrating Human Induced Pluripotent Stem Cell Bank From Urine-derived Cells[D]. Anhui: University of Science and Technology of China, 2013
- [31] 曾 强, 陈海旭, 杨 超. 一种通过体外小分子诱导培养尿源性多潜能干细胞的方法[P]. 中国: CN104212762A, 2014-12-17
- Zeng Q, Chen H X, Yang C. A way of using small molecule compounds to produce urine-induced pluripotent stem cells [P]. China: CN104212762A, 2014-12-17
- [32] 刘菲菲, 侯宗柳. 诱导性多潜能干细胞的研究进展及应用前景. *中国组织工程研究*, 2014, **18**(1): 149-154
- Liu F F, Hou Z L. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2014, **18**(1): 149-154
- [33] Liu X P, Sun H, Qi J, *et al.* Sequential individual introduction of reprogramming factors reveals a time-sensitive requirement for and a sequential EMT-MET mechanism for optimal reprogramming. *Nature Cell Biology*, 2013, **15**(7): 829-838
- [34] 贾源君, 裴轶劲. 干细胞在发育毒性体外模型建立中的应用研究进展. *中国医药报*, 2015, **12**(2): 152-155
- Jia Y J, Pei Z J. *China Medical Herald*, 2015, **12**(2): 152-155
- [35] 贾 栗, 彭 辉, 赵增明, 等. 基于人胚胎干细胞的药物毒性测试替代法研究进展. *中国药理学与毒理学杂志*, 2016, **30**(2): 173-177
- Jia L, Peng H, Zhao Z M, *et al.* *Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2016, **30**(2): 173-177
- [36] Betts K S. Growing knowledge: using stem cells to study developmental neurotoxicity. *Environ Health Perspect*, 2010, **118**(10): A432-437
- [37] 徐亦辰, 刘玲珑, 赵文婧, 等. 骨髓间充质干细胞分化为心肌样细胞相关基因表达与形态结构发生的关联. *中国组织工程研究*, 2017, **21**(13): 1974-1979
- Xu Y C, Liu L L, Zhao W J, *et al.* *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2017, **21**(13): 1974-1979
- [38] Aikawa N, Unisato A, Nagao K, *et al.* Detection of thalidomide embryotoxicity by *in vitro* embryotoxicity testing based on human iPS cells. *Journal of Pharmacological Sciences*, 2014, **124** (2): 201-207
- [39] 韦 睿, 李 中, 蔡秀娟, 等. 阿尔茨海默病患者尿液细胞向诱导多能干细胞及神经细胞的诱导转化. *中国病理生理杂志*, 2015, **31**(3): 421-427
- Wei R, Li Z, Cai X J, *et al.* *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2015, **31**(3): 421-427
- [40] 胡旭昀. 利用尿液细胞诱导血友病 A 患者特异性 iPS 细胞的研究[D]. 湖南: 中南大学, 2014
- Hu X Y. Establishment of Hemophilia A Patient-specific Inducible Pluripotent Stem Cells With Urine Cell[D]. Hunan: Central South University, 2014
- [41] 邓 颖, 陈 杰, 毕惠嫦, 等. 原代肝细胞培养及其在药物代谢和毒理学研究中的应用进展. *中国药理学通报*, 2006, **22**(8): 900-903
- Deng Y, Chen J, Bi H E, *et al.* *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2006, **22**(8): 900-903
- [42] 裴端卿. 功能性细胞获得的研究进展及应用前景. *生命科学*, 2016, **28**(8): 877-882
- Pei D Q. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2016, **28**(8): 877-882
- [43] 陈 洁, 汤纳平, 马 璟. 人诱导多能干细胞在药物肝损伤研究中的应用. *中国药理学与毒理学杂志*, 2016, **11**(30): 1219-1224
- Chen J, Tang N P, Ma J. *Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2016, **11**(30): 1219-1224
- [44] 陈 军, 刘玉侠, 姜文华. 间充质干细胞向肝样细胞的诱导分化. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, **14**(45): 8507-8511
- Chen J, Liu Y X, Jiang W H. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2010, **14**(45): 8507-8511
- [45] Li Q H, Andrew P H, Chen Y, *et al.* A sequential EMT-MET mechanism drives the differentiation of human embryonic stem cells towards hepatocytes. *Nature Communications*, 2017, **8**: 15166 (DOI: 10.1038/ncomms15166)
- [46] 吴清剑, 陈 伟, 杨 帆, 等. 长链非编码 RNA KCNQ1DN 对尿源性干细胞的干性调控研究. *临床泌尿外科杂志*, 2017, **32**(4): 290-293
- Wu Q J, Chen W, Yang F, *et al.* *Journal of Clinical Urology*, 2017, **32**(4): 290-293
- [47] 张剑平, 路 君, 佟智超, 等. 尿源性干细胞的研究进展. *中华医学杂志*, 2015, **95**(48): 3956-3958
- Zhang J P, Lu J, Tong Z C, *et al.* *National Medical Journal of China*, 2015, **95**(48): 3956-3958
- [48] Okano T, Dezawa M. A new age of regenerative medicine: fusion of tissue engineering and stem cell research. *The Anatomical Record*, 2014, **297**(1): 4-5

## Latest Development of Research on Cultivation and Application of Human Urine-derived Stem Cells\*

ZHOU Ming, SUN Zhen-Xiao\*\*

(Life Science College, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

**Abstract** Human urine-derived stem cells (hUSCs) are somatic stem cells isolated from fresh urine by the way of centrifugation combined with adherence screening, which are with strong proliferation and multi-differentiation capacity, and have all kinds of similar biological characters as mesenchymal stem cells. HUSCs have the potential of playing an important role in reconstitution of damaged organs and tissues, treatment of the diseases and drug activity and toxicity screening, and urine-induced pluripotent stem cells (u-iPSCs) have been induced by many ways from hUSCs. However, several questions need to be answered prior to developing a technology for drug screen with hUSCs and u-iPSCs, such as the cell source of hUSCs, directional differentiation and efficiency of iPSCs reprogramming. In this review, recent progress in cell source, cell isolation and cultivation, cell biological characteristics, and the application of hUSCs were studied, especially various ways of inducing hUSCs to u-iPSCs and the possible application prospect were summarize, providing a reference for further study and application of hUSCs in drug development and toxicity testing.

**Key words** human urine-derived stem cells, cell culture, biological characteristics, application, urine-induced pluripotent stem cells

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2017.0213

---

\*This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (81473418), The Wildlife Conservation Project of the State Forestry Administration(2012-2016) and Beijing University of Chinese Medicine Dongzhimen Hospital Collaborative Innovation Cooperation Project(2016-DZM111-ZY008).

\*\*Corresponding author.

Tel: 86-10-84738646, E-mail: sunzxcn@hotmail.com

Received: June 8, 2017 Accepted: October 20, 2017