

诱导型细胞的研究进展*

王 龙 华进联**

(西北农林科技大学动物医学院, 陕西省干细胞工程技术研究中心, 农业部动物生物技术重点开放性实验室, 杨凌 712100)

摘要 胚胎干细胞(ES 细胞)和诱导型多能干细胞(iPS 细胞)的研究进展为生物学基础研究注入了新的活力, 然而免疫排斥、致瘤性以及诱导效率低等缺陷制约其进一步快速发展和临床应用。最近, 科学家借鉴 iPS 细胞诱导技术和传统的诱导体系, 将终末分化细胞直接诱导为功能性细胞, 如心肌细胞、神经细胞和肝脏细胞, 称为诱导型细胞。这些研究进展极大地促进了细胞分化、重编程和表观遗传学的研究, 也为人类再生医学的研究提供了新的途径。

关键词 胚胎干细胞, 诱导型多能干细胞, 诱导型细胞, 功能细胞, 转分化

学科分类号 Q2

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00500

水螅、海星、涡虫、蚯蚓等低等动物都具有较强的再生能力, 但随着物种的进化, 大多数脊椎动物逐渐失去了组织和器官再生的能力。在哺乳动物中, 似乎只有鹿具有再生完整身体“零部件”的能力。人体的神经系统以及重要的脏器如心脏、肺脏、肾脏等都不具备有效的自我修复能力。因此, 人类重要的组织或器官丧失功能后, 只能依靠组织或器官移植, 但又面临着供体不足和免疫排斥等问题。人类胚胎干细胞(ES 细胞)成功建系后, 人们期待用这种具有无限增殖能力和多向分化潜能的细胞来制造机体所需要的细胞、组织甚至器官^[1]。然而, 由于伦理学和免疫排斥的制约, 人类胚胎干细胞在临床医学的应用受到很大的影响。近年来, 诱导型多能干细胞(iPS 细胞)^[2-4]和诱导型细胞^[5-7]的建系成功, 在再生医学、临床医学和细胞发育生物学、药理学以及毒物学等生物学基础研究领域展现出诱人的前景, 理论上具有分化成为人类所有细胞类型的能力^[8]。本文主要对诱导型细胞的研究现状作一简述。

1 诱导型多能干细胞的研究进展

2006 年, Yamanaka 小组^[2]从 24 种转录因子中筛选出 *Oct4*、*Sox2*、*c-Myc* 和 *Klf4* 四种转录因子组合导入小鼠成纤维细胞, 可将成纤维细胞重编程为

iPS 细胞。2007 年, Yamanaka 小组和 Thomson 小组又先后将人的体细胞重编程为 iPS 细胞^[3-4]。iPS 细胞是一类比较特殊的干细胞, 是体细胞转入特定基因、小分子化合物、miRNA、mRNA 或蛋白质等, 通过修饰或诱导重编程形成类似于 ES 细胞的多能性干细胞^[2,4,9-11]。最近, iPS 细胞研究取得了一些突破性进展, 如建立了人类疾病特异的 iPS 细胞、借助转座子和锌指核酸酶等介导的转基因技术高效制备了无病毒的 iPS 细胞^[12-14]。最新的研究发现, 与传统的四因子诱导体系相比, 结合特定的 miRNA 和小分子化合物, iPS 细胞的诱导效率可提高两个数量级^[11]。随着 miRNA 技术的进一步发展和应用, 这种方法可用于高效制备无基因修饰的 iPS 细胞。此外, iPS 细胞可定向诱导分化为重要的功能细胞如心肌细胞、神经细胞和胰岛素分泌细胞等, 在移植治疗动物疾病模型等方面也取得了很大进展。到目前为止, 大鼠、猪、绵羊等的 iPS 细胞系均已建立^[15-19]。

* 国家自然科学基金资助项目(30972097), 教育部重点科研项目(109148), 中国博士后科学基金特别资助项目(200801438), 教育部新世纪优秀人才支持计划(NCET-09-0654)资助。

** 通讯联系人。

Tel: 029-87080068, E-mail: jlhua2003@126.com

收稿日期: 2011-12-01, 接受日期: 2012-02-28

iPS 细胞技术的发展是干细胞研究领域的一个重大突破, 为多能干细胞的获取提供了全新的途径. iPS 细胞技术不但解决了传统胚胎干细胞研究中存在的伦理学问题, 同时还消除了免疫排斥等问题, 为在体外细胞和分子水平研究人类遗传病的发病机理及其相应药物的研发提供了可能. 因此, iPS 细胞技术的建立和发展, 是干细胞研究和应用的一次飞跃, 为未来个性化医疗和干细胞应用打开了希望之门. 然而, iPS 细胞诱导效率依然较低, 并且制作过程繁琐, 移植入体内有成瘤的高风险性, 而体外定向诱导分化的效率较低, 因此人们仍然在探索其他来源的供体细胞.

2 诱导型功能细胞的研究进展

转分化(transdifferentiation)是指将一类体细胞直接转化为另一类体细胞, 而不先重编程为多能性干细胞后再分化为有功能的体细胞(表 1)^[20]. 因此, 转分化也称作细胞谱系转换(lineage switch)或谱系转变(direct conversion)^[20]. 自然界中存在转分化现象, 当蝶螈的晶状体被移除后, 其虹膜背缘的色素上皮细胞(PECs)先去分化致使细胞色素消失并改变形态, 随后细胞开始增殖, 当细胞达到足够数量之后开始分化为成熟的晶状体细胞^[21].

早在 20 世纪 80 年代末, 科学家便尝试在体外诱导体细胞直接“转分化”为另一种分化状态的功能细胞. Weintraub 等^[22]通过 *MyoD* 的过表达, 将成纤维细胞转化为肌肉细胞, 然而肌肉细胞的内源 *MyoD* 基因没有被激活, 表明转化不完全, 且肌源性表型的维持依赖所转入的 *MyoD*. Tachibana 等^[23]通过异位表达 *MITF* 激活其下游直接靶标, 如酪氨酸酶合成黑色素, 将成纤维细胞(中胚层)转化为类黑素细胞(外胚层), 使不同胚层间的体外转分化得以实现. 但是, 所得到的细胞仍留有成纤维细胞的标记, 黑素细胞的标记基因表达也较低, 表明激活 *MITF* 直接靶标时, 仅发生了部分转分化. Xie 等^[24]证实转录因子 *C/EBP α* 的异位表达可将淋巴细胞转化为类巨噬细胞, 实现了造血系之间的转分化. 然而, 诱导的类巨噬细胞仍然表达 B 型祖细胞的特异性标记, 并且不能激活一些巨噬细胞特异的标记.

近年来, 科学家们在 iPS 细胞诱导技术的启发下发现, 通过特定转录因子的组合作用, 可将终末分化细胞直接诱导成特定的功能细胞, 即诱导型功

能细胞(简称诱导型细胞), 并在多种具有重要功能的细胞上取得成功(表 1)^[5-7].

2.1 诱导型神经细胞

2010 年, Vierbuchen 等^[5]从 19 个特异表达于神经组织或与表观重编程相关的基因中筛选出 *Ascl1*、*Brn2* 和 *Myt1l*, 通过病毒介导的异位表达, 可将小鼠成纤维细胞转化为诱导型神经细胞(iN 细胞). 诱导型神经细胞具有神经细胞的重要特征, 包括形态、皮质标记的表达、动作电位产生及突触的形成. 然而, iN 细胞并不均一, 除了大部分的谷氨酸能神经元外, 还有小部分的 GABA 能神经元, 并且这种诱导型神经细胞是否沉默了成纤维细胞的特异基因, 以及不依赖所转基因来维持其新状态, 都尚未明确. 使用同样的 3 个因子, 再加上 *NeuroD1*, Pang 等^[25]将人类胎儿和出生后机体的成纤维细胞转分化为 iN 细胞, 这种人类诱导型神经细胞能够产生动作电位, 其中一部分可成熟至接收突触信号.

另外 3 个转录因子组合——*Ascl1*、*Nurr1* 和 *Lmx1a*, 能够将鼠和人的成纤维细胞转分化为诱导型多巴胺能神经元细胞(iDA 细胞)^[26]. iDA 细胞释放的多巴胺, 与机体脑组织中多巴胺能神经元的功能有一致性, 可用于治疗帕金森病. 而 Qiang 等^[27]直接将阿尔茨海默病患者的成纤维细胞转分化为有功能的人类诱导型神经细胞(hiN 细胞), 但与来源于健康个体的 hiN 细胞相比, 这种诱导型神经细胞的淀粉样前体蛋白的加工和定位都有异常, 并且 β -淀粉样蛋白产量增加. Yoo 等^[28]发现, 病毒介导表达 miR-9/9* 和 miR-124, 再结合 *NEUROD2*、*ASCL1* 和 *MYTIL*, 可提高人成纤维细胞向神经细胞的转化效率. Son 等^[29]证实成年小鼠和人成纤维细胞在诱导下可直接转分化为功能性的脊髓运动神经元. 通过 9 个因子的组合表达, 小鼠支持细胞可转分化为诱导型神经祖细胞(iNSCs), 表达酪氨酸羟化酶、 γ -氨基丁酸和胆碱乙酰转移酶, 移植入体内可形成突触^[30].

由于多能性的 iPS 细胞和 ES 细胞具有潜在的致癌性, 科学家们往往不希望转分化的过程中出现多能性细胞或其表达多能性基因, 然而, Ding Sheng 小组却采用另一种策略来诱导体细胞转分化^[31, 33]. Kim 等^[31]将成纤维细胞用 *Oct4*、*Sox2*、*Klf4* 和 *c-Myc* 四因子诱导 3~6 天后, 换成含有 FGF2、EGF 和 FGF4 的神经培养液继续培养, 在 9~13 天

便得到具有增殖能力的神经祖细胞(NPCs). 与 iN 细胞相比, NPCs 诱导效率更高, 并且能进一步分化为各类型的神经细胞.

进一步的研究表明, 将终末分化的肝脏细胞用病毒介导过表达 *Ascl1*、*Brn2* 和 *Myt1l*, 可诱导其转分化为功能性神经细胞, 在 13 天可见神经样形态^[32]. 单细胞和全基因组表达分析证明, 来源于成纤维细胞和肝细胞的诱导型神经细胞, 不仅启动了神经细胞的基因转录组, 同时沉默了成纤维细胞和肝细胞的基因转录组^[32]. 该研究基本排除了来源细胞存在祖细胞或干细胞, 证实了这种转分化是发生在两种终末分化的功能性体细胞之间, 验证了转分化的可行性.

2.2 诱导型心肌细胞

Ieda 等^[6]从 14 个转录因子和表观重塑因子中筛选出 *Gata4*、*Mef2c* 和 *Tbx5*, 通过异位表达这 3 个重编程因子, 先后将心肌成纤维细胞和小鼠尾尖皮肤成纤维细胞转分化成诱导型心肌细胞(iCMs). 这种转分化得到的心肌细胞不经历多能性状态, 在诱导 1 周内可获得心肌肌钙蛋白 T(cTnT)阳性细胞, 2 周后可形成肌小节结构, 4~5 周后具有自动收缩活性, 基因表达谱和电生理现象均与小鼠心肌细胞类似^[6]. 人类心脏中超过一半的细胞是没有收缩活性的心肌成纤维细胞, 如果这种诱导体系能够成功地运用于体内, 对治疗心脏疾病具有较高的理论和临床应用价值.

通过另一种策略, Efe 等^[33]将小鼠胚胎成纤维细胞用 *Oct4*、*Sox2* 及 *Klf4* 三因子和 JAK 抑制剂诱导去分化, 在 9 天后用含有 BMP4 的心肌培养液诱导培养, 最早在 11 天可观察到自动收缩细胞团. 为了排除诱导的细胞来源于胚胎, 小鼠尾尖成纤维细胞也被诱导为心肌细胞, 并在 12 天可获得能够收缩的克隆^[33]. 与 iCMs 诱导体系相比, 这种转分化的效率更高, 获得的 cTnT 阳性心肌细胞更多, 并且最早在 11~12 天便出现自动收缩的细胞团^[33]. 在转分化的过程中多能性因子的诱导时间不能超过 9 天, 如果去分化的时间太长, 便不能得到自动收缩的细胞团, 较短的诱导时间也基本排除了转分化过程中多能性细胞的存在^[33].

2.3 诱导型肝脏细胞

Huang 等^[7]将 14 种对肝脏发育和功能起重要作用

的转录因子导入小鼠尾尖成纤维细胞中, 通过组合筛选后发现: 在抑制细胞衰老的条件下(敲除 *p19^{md}*), 转入 3 个转录因子(*Gata4*、*Hnf1 α* 和 *Foxa3*), 可将小鼠尾尖成纤维细胞转分化成诱导型类肝脏(iHep)细胞. 和体内成熟肝脏细胞相比, 体外诱导的 iHep 细胞具有类似的上皮细胞形态和基因表达谱, 并且也具备一定的肝脏细胞功能, 如肝糖原的积累、乙酰化低密度脂蛋白的转运、药物代谢和吲哚绿的吸收等^[7]. 将诱导型类肝脏细胞移植入模拟人类酪氨酸代谢缺陷疾病的小鼠后, iHep 细胞能够与正常肝细胞一样在受体小鼠的肝脏中增殖, 并重建受损的肝脏^[7]. 移植后, 小鼠的总胆红素、转氨酶、酪氨酸等肝功能指标均出现明显好转, 濒临死亡的小鼠得以存活^[7]. 诱导型类肝脏细胞在细胞移植、药物代谢和毒理以及肝脏疾病的机理研究领域均具有广阔的应用前景, 为基础医学和临床医学研究提供了新的路径. 几乎同时, Sekiya 等^[34]从 12 个因子中筛选发现, *Hnf4 α* 结合 *Foxa1* 或 *Foxa2* 或 *Foxa3* 的 2 个因子组合能诱导多种非肝脏细胞转分化为诱导型类肝脏(iHep)细胞. 这种体外诱导的 iHep 细胞具有肝细胞的多种特性, 通过移植能够修复受损的肝组织, 可用于肝细胞发育分化的机理研究和相关疾病的治疗.

2.4 其他诱导型功能细胞

Zhou 等^[35]从 9 种因子中筛选出 *Ngn3*、*Pdx1* 和 *Mafk*, 并用病毒介导转入小鼠胰腺, 可在体内诱导外分泌细胞转分化为胰岛 β 细胞. 诱导型 β 细胞的形态和分子标记均与胰岛 β 细胞类似, 并能够分泌胰岛素. Szabo 等^[36]使用病毒介导人成纤维细胞异位表达 *Oct4*, 可获得白细胞共同抗原 CD45 阳性的造血祖细胞, 通过添加相关的细胞因子, 能够诱导出红细胞、巨核细胞、粒细胞、单核细胞等血细胞.

除了过表达特定的基因, 敲除某些基因也能促进转分化的发生. 删除 *Pax5* 转录因子可诱导 B 细胞去分化为淋巴祖细胞, 这些细胞能够重新构建小鼠的整个 T 淋巴细胞系^[37]. 成体小鼠卵泡的 *Foxl2* 被诱导删除后, 睾丸特异性基因上调, 粒层细胞和膜细胞分别重编程为有功能的类支持细胞和类莱氏细胞, 并能够分泌正常水平的睾酮^[38].

Table 1 Recent progress in transdifferentiation

表 1 转分化的主要研究进展

序号	体细胞转化类型(胚层)	主要诱导因子	是否完全转分化及特征	是否表达多能性基因	诱导效率	参考文献
1	成纤维细胞(中胚层)转化为类肌细胞(中胚层)	MyoD, 5-AzaC	不是: 不能重新激活内源 MyoD 及其他肌源细胞标记	ND	3 天后形态改变, 约 50% 细胞表达肌肉细胞标记	[22]
2	成纤维细胞(中胚层)转化为类黑色素细胞(外胚层)	MITF	不是: 不能激活一些黑色素细胞表达的基因; 不能抑制来源细胞的标记	ND	ND	[23]
3	成纤维细胞(中胚层)转化为诱导型神经元细胞(外胚层)	Ascl1, Brn2 和 Myt1l	ND	ND	最高可达 19.5%, 能够产生动作电位并形成突触结构	[5]
4	心肌成纤维细胞(中胚层)转化为诱导类心肌细胞(中胚层)	Gata4, Mef2c 和 Tbx5	不是: 基因表达特征与新生心肌细胞不同; 皮肤成纤维细胞来源的诱导型心肌细胞在功能上显著受限	ND	1 周后 30% α MHC 阳性细胞表达 cTnT, 2 周后形成肌小节结构, 4~5 周后出现有自动收缩活性的细胞团	[6]
5	成纤维细胞(中胚层)转化为造血祖细胞(中胚层)	Oct4 和细胞因子	不是: 只表达造血祖细胞标记, 特化的血细胞标记表达量低	转分化过程中 Sox2 和 Nanog 表达量极低	3 周形成的 CD45 阳性细胞, 可在体外和体内诱导为造血祖细胞	[36]
6	成纤维细胞(中胚层)转化为功能心肌细胞(中胚层)	Yamanaka 四因子, BMP4, JAKi	是: 心肌特异基因被激活, 得到自动收缩的细胞团	转分化过程中少量表达 Oct4 和 Sox2, 但不经历多能性状态	每个成纤维细胞产生约 1.2 个 cTnT 阳性细胞, 11 天后观察到有自动收缩活性的细胞团	[33]
7	成纤维细胞(中胚层)转化为功能神经细胞(外胚层)	Yamanaka 四因子, 细胞因子	不是: 得到神经祖细胞	转分化过程不经历多能性状态	9~13 天得到神经祖细胞, 可继续成熟至多种类型神经细胞	[31]
8	成纤维细胞(中胚层)转化为神经元(外胚层)	Brn2, Myt1l, Zic1, Olig2 和 Ascl1	不是: 阿尔茨海默病人的成纤维细胞转化为功能性神经细胞	ND	转化效率为 7.1%~8.9%, 3 周后, 28.4%~36.1% 诱导细胞呈 MAP-2 阳性神经细胞	[27]
9	成纤维细胞(中胚层)转化为功能类肝细胞(内胚层)	Gata4, Hnf1 α 和 Foxa3	不是: 有些肝特异性基因未被有效激活; 具有一定功能的肝细胞	ND	14 天, 23% 的细胞转变为类肝细胞, 具有肝细胞特性和修复肝损伤的能力	[7]
10	成纤维细胞(中胚层)转化为功能类肝细胞(内胚层)	Hnf4 α 和 Foxa1 或 Foxa2 或 Foxa3	是: 很类似肝细胞	ND	成纤维细胞转化为类肝脏样细胞, 具有肝细胞特性和修复肝损伤的能力	[34]
11	B 细胞, T 细胞和成纤维细胞(中胚层)转化为类巨噬细胞(中胚层)	C/EBP α ±PU.1	不是: 不能激活一些巨噬细胞表达的基因; 不能抑制一些来源细胞的标记	ND	转染 6 天后, 57%~92% 的细胞表达巨噬细胞标记, 并出现含有颗粒的形态	[24]
12	B 细胞(中胚层)转化为淋巴祖细胞和 T 淋巴细胞(中胚层)	删除 Pax5	ND: 有功能的体内造血重建	ND, 但经历去分化过程	移植 8 周后检测, 表达 T 淋巴细胞标记	[37]
13	胰腺外分泌细胞(内胚层)转化为类胰岛 β 细胞(内胚层)	Ngn3, Pdx1 和 MafA	ND: 能够产生胰岛素, 并降低血糖	ND	第 3 天出现表达胰岛素基因的细胞, 最高有 20% 的细胞成功转分化	[35]
14	粒层细胞和膜细胞(中胚层)转化为支持细胞和莱氏细胞(中胚层)	诱导删除 Foxl2	ND: 产生有功能的男性荷尔蒙	ND	诱导删除 5 天, 第 3 周卵泡结构转变为曲细精管结构	[38]
15	分化的肝细胞(内胚层)转化为功能神经细胞(外胚层)	Ascl1, Brn2 和 Myt1l	是: 沉默了供体细胞的基因网络	ND	假定转染效率为 30%, 转分化效率为 (2.7±1.4)%, 诱导 13 天出现神经样细胞	[32]

ND: 未明确(Not Determined).

3 评论和展望

越来越多的研究表明, 诱导型细胞与 ES 细胞及 iPS 细胞相比, 诱导周期更短、效率更高, 另外, 诱导型细胞可能更稳定, 癌变几率低. 如果供体细胞来源于病人的体细胞, 便能够解决免疫排斥问题, 将这些体细胞转分化为有功能的目的细胞, 理论上可以用于临床医学和再生医学, 并有望实现个性化治疗. 然而, 目前诱导型功能细胞的种类有限, 诱导效率有待提高, 并且细胞的功能仍然需要大量的动物模型实验验证. 此外, 诱导型细胞是否来源于终末分化的体细胞, 以及其可靠性和有效性也需要大量的实验验证^[39]. 一些体外直接转分化的实验表明诱导型细胞的基因表达谱存在异常, 并且重编程到新谱系细胞的过程并不完全. 尽管这种体

外转分化诱导的功能性体细胞在将来可能具有较高的应用价值, 但是体细胞基因表达程序首先不通过多能性的基态, 而直接被转变为其他谱系的另一种体细胞程序, 其中的详细机理仍需要探索明确.

研究发现, 蝾螈在晶体再生的转分化过程中, *Sox2*、*Klf4* 和 *cMyc* 等多能性因子均有上调^[40]. 这种自然现象反映了体外转分化的发生很有可能先经历一定程度的去分化, 达到一种不稳定的状态后, 在环境因子的作用下, 向目的细胞转化. 根据这种策略, 人们可以借鉴 iPS 细胞的诱导原理, 利用高通量分析筛选得到关键的转录因子和基因, 再结合传统的细胞诱导技术, 生产出大量的功能型细胞 (图 1), 真正实现“人为转化”和“改造细胞”的目的, 为再生医学和基础研究提供更好的研究模型和细胞来源.

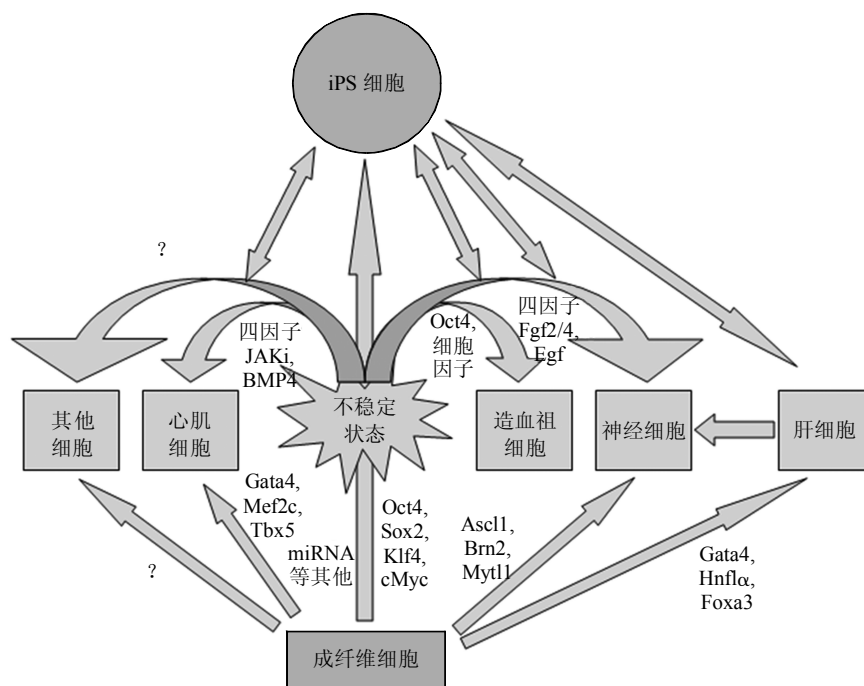


Fig. 1 Approaches of induced cells

图 1 诱导型细胞模式图

在体内, 过表达特定的转录因子, 也能够诱导体细胞发生转分化. 通过导入 3 种转录因子, 外分泌细胞能够转分化为胰岛 β 细胞, 并且这种转化不经过去分化或增殖过程^[35]. 转分化的过程不需要 DNA 复制, 表明是特异转录因子的表达变化促使着体细胞之间发生转化, 因而细胞类型间的转化可

能只需要有限量的 DNA 重置和染色质修饰. 这似乎与体细胞直接重编程为多能性细胞不同, 后者需要大量的表观重置, 以及多次 DNA 复制.

Ding Sheng 小组在诱导 iPS 细胞的过程中观察到有其他类型的细胞出现, 因此他们提出了一种假说, 即用 Yamanaka 四因子诱导成纤维细胞时,

iPS 细胞的形成只是一个随机的过程^[41], 因而其效率很低. 但在重编程过程中, 如果在合适的时间添加作用于相关信号通路的合适因子, 便可将终末分化细胞直接转分化为各类型细胞^[42]. 这种假说在最近的研究报道中得到验证, 使用多能性转录因子最少诱导 4 天后, 小鼠成纤维细胞在添加 BMP4 等生长因子和细胞因子的培养液中继续诱导培养, 最早在 11~12 天便可观察到具有自动收缩功能的细胞团^[33]. 同样, 采用 Yamanaka 四因子诱导后添加神经细胞培养液, 可得到具有分化为多种神经细胞能力的神经祖细胞^[31]. 通过异位表达 *Oct4* 并添加特殊的细胞因子, 人皮肤成纤维细胞可被诱导为造血祖细胞^[36]. 这种转分化与直接用特异的转录因子不同, 它先将终末分化的细胞用多能性因子进行去分化, 在细胞还未被诱导成多能性状态时, 选择恰当的时间通过信号通路作用诱导细胞向目的细胞转化. 转分化过程中出现的不稳定状态细胞群, 如果能够被成功分离并稳定培养, 可能具有向不同类型细胞转化的潜能. 这种方法尽管需要多能性因子, 但是诱导时间较短, 可能不需要病毒载体介导基因整合到基因组, 一定程度上或许可以避开使用病毒以及多能性细胞致癌的潜在风险, 在诱导过程中使用生长因子和细胞因子等小分子化合物也便于临床应用, 因而具有较高的研究价值和广阔的应用前景.

相信 ES 细胞和 iPS 细胞研究以及现代基因组学、蛋白质组学和 RNA 组学的发展和带动下, 越来越多的诱导型功能细胞势必很快在临床医学和生物学基础研究上发挥重要作用, 使人们能够深刻地领会神话般的“长生不老”, 加快再生医学、组织工程的发展, 同时, 也会促进发育生物学、生殖生物学和细胞生物学等基础研究的发展.

参 考 文 献

- [1] Thomson J A, Itskovitz-Eldor J, Shapiro S S, *et al.* Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 1998, **282**(5391): 1145-1147
- [2] 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
- [3] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, *et al.* Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 2007, **131**(5): 861-872
- [4] Yu J, Vodyanik M A, Smuga-Otto K, *et al.* Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science*, 2007, **318**(5858): 1917-1920
- [5] Vierbuchen T, Ostermeier A, Pang Z P, *et al.* Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. *Nature*, 2010, **463**(7284): 1035-1041
- [6] Ieda M, Fu J D, Delgado-Olguin P, *et al.* Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors. *Cell*, 2010, **142**(3): 375-386
- [7] Huang P, He Z, Ji S, *et al.* Induction of functional hepatocyte-like cells from mouse fibroblasts by defined factors. *Nature*, 2011, **475**(7356): 386-389
- [8] 张维琦, 刘光慧. 基于人多潜能干细胞的人类疾病研究与治疗. *生物化学与生物物理进展*, 2011, **38**(11): 982-987
Zhang W Q, Liu G H. *Prog Biochem Biophys*, 2011, **38**(11): 982-987
- [9] Zhao Y, Yin X, Qin H, *et al.* Two supporting factors greatly improve the efficiency of human iPSC generation. *Cell Stem Cell*, 2008, **3**(5): 475-479
- [10] Li W, Wei W, Zhu S, *et al.* Generation of rat and human induced pluripotent stem cells by combining genetic reprogramming and chemical inhibitors. *Cell Stem Cell*, 2009, **4**(1): 16-19
- [11] Anokye-Danso F, Trivedi C M, Juhr D, *et al.* Highly efficient miRNA-mediated reprogramming of mouse and human somatic cells to pluripotency. *Cell Stem Cell*, 2011, **8**(4): 376-388
- [12] Okita K, Nakagawa M, Hyenjong H, *et al.* Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. *Science*, 2008, **322**(5903): 949-953
- [13] Hockemeyer D, Soldner F, Beard C, *et al.* Efficient targeting of expressed and silent genes in human ESCs and iPSCs using zinc-finger nucleases. *Nat Biotechnol*, 2009, **27**(9): 851-857
- [14] Soldner F, Hockemeyer D, Beard C, *et al.* Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors. *Cell*, 2009, **136**(5): 964-977
- [15] Liao J, Cui C, Chen S, *et al.* Generation of induced pluripotent stem cell lines from adult rat cells. *Cell Stem Cell*, 2009, **4**(1): 11-15
- [16] Ezashi T, Telugu B P, Alexenko A P, *et al.* Derivation of induced pluripotent stem cells from pig somatic cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(27): 10993-10998
- [17] Wu Z, Chen J, Ren J, *et al.* Generation of pig induced pluripotent stem cells with a drug-inducible system. *J Mol Cell Biol*, 2009, **1**(1): 46-54
- [18] Esteban M A, Xu J, Yang J, *et al.* Generation of induced pluripotent stem cell lines from Tibetan miniature pig. *J Biol Chem*, 2009, **284**(26): 17634-17640
- [19] Bao L, He L, Chen J, *et al.* Reprogramming of ovine adult fibroblasts to pluripotency via drug-inducible expression of defined factors. *Cell Res*, 2011, **21**(4): 600-608
- [20] Graf T, Enver T. Forcing cells to change lineages. *Nature*, 2009, **462**(7273): 587-594
- [21] Tsonis P A, Madhavan M, Tancous E E, *et al.* A newt's eye view of lens regeneration. *Int J Dev Biol*, 2004, **48**(8-9): 975-980
- [22] Weintraub H, Tapscott S J, Davis R L, *et al.* Activation of

- muscle-specific genes in pigment, nerve, fat, liver, and fibroblast cell lines by forced expression of MyoD. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, **86**(14): 5434–5438
- [23] Tachibana M, Takeda K, Nobukuni Y, *et al.* Ectopic expression of MITF, a gene for Waardenburg syndrome type 2, converts fibroblasts to cells with melanocyte characteristics. *Nat Genet*, 1996, **14**(1): 50–54
- [24] Xie H, Ye M, Feng R, *et al.* Stepwise reprogramming of B cells into macrophages. *Cell*, 2004, **117**(5): 663–676
- [25] Pang Z P, Yang N, Vierbuchen T, *et al.* Induction of human neuronal cells by defined transcription factors. *Nature*, 2011, **476**(7359): 220–223
- [26] Caiazzo M, Dell'Anno M T, Dvoretzkova E, *et al.* Direct generation of functional dopaminergic neurons from mouse and human fibroblasts. *Nature*, 2011, **476**(7359): 224–227
- [27] Qiang L, Fujita R, Yamashita T, *et al.* Directed conversion of Alzheimer's disease patient skin fibroblasts into functional neurons. *Cell*, 2011, **146**(3): 359–371
- [28] Yoo A S, Sun A X, Li L, *et al.* MicroRNA-mediated conversion of human fibroblasts to neurons. *Nature*, 2011, **476**(7359): 228–231
- [29] Son E Y, Ichida J K, Wainger B J, *et al.* Conversion of mouse and human fibroblasts into functional spinal motor neurons. *Cell Stem Cell*, 2011, **9**(3): 205–218
- [30] Sheng C, Zheng Q, Wu J, *et al.* Direct reprogramming of Sertoli cells into multipotent neural stem cells by defined factors. *Cell Res*, 2012, **22**(1): 208–218
- [31] Kim J, Efe J A, Zhu S, *et al.* Direct reprogramming of mouse fibroblasts to neural progenitors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(19): 7838–7843
- [32] Marro S, Pang Z P, Yang N, *et al.* Direct lineage conversion of terminally differentiated hepatocytes to functional neurons. *Cell Stem Cell*, 2011, **9**(4): 374–382
- [33] Efe J A, Hilcove S, Kim J, *et al.* Conversion of mouse fibroblasts into cardiomyocytes using a direct reprogramming strategy. *Nat Cell Biol*, 2011, **13**(3): 215–222
- [34] Sekiya S, Suzuki A. Direct conversion of mouse fibroblasts to hepatocyte-like cells by defined factors. *Nature*, 2011, **475**(7356): 390–393
- [35] Zhou Q, Brown J, Kanarek A, *et al.* *In vivo* reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to beta-cells. *Nature*, 2008, **455**(7213): 627–632
- [36] Szabo E, Rampalli S, Risueño R M, *et al.* Direct conversion of human fibroblasts to multilineage blood progenitors. *Nature*, 2010, **468**(7323): 521–526
- [37] Cobaleda C, Jochum W, Busslinger M. Conversion of mature B cells into T cells by dedifferentiation to uncommitted progenitors. *Nature*, 2007, **449**(7161): 473–477
- [38] Uhlenhaut N H, Jakob S, Anlag K, *et al.* Somatic sex reprogramming of adult ovaries to testes by FOXL2 ablation. *Cell*, 2009, **139**(6): 1130–1142
- [39] Wagers A J, Weissman I L. Plasticity of adult stem cells. *Cell*, 2004, **116**(5): 639–648
- [40] Maki N, Suetsugu-Maki R, Tarui H, *et al.* Expression of stem cell pluripotency factors during regeneration in newts. *Dev Dyn*, 2009, **238**(6): 1613–1616
- [41] Hanna J, Saha K, Pando B, *et al.* Direct cell reprogramming is a stochastic process amenable to acceleration. *Nature*, 2009, **462**(7273): 595–601
- [42] Efe J A, Ding S. The evolving biology of small molecules: controlling cell fate and identity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2011, **366**(1575): 2208–2221

Recent Progress in Induced Cells*

WANG Long, HUA Jin-Lian**

(College of Veterinary Medicine, Shaanxi Centre of Stem Cells Engineering & Technology, Key Laboratory for Animal Biotechnology of Agriculture Ministry, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

Abstract The achievements of embryonic stem (ES) cells and induced pluripotent stem (iPS) cells provide new routes for biological research. However, the problems of immunological rejection, teratoma formation and low efficiency limit the further application. Recently, taking advantage of the systems for iPS cell derivation and traditional induction technologies, scientists induced terminally differentiated cells into functional cells such as cardiomyocytes, neurons and hepatocyte-like cells. These inspiring progresses boost the research on cell differentiation, reprogramming and epigenetics, providing new direction for regenerative medicine studies.

Key words embryonic stem cells, induced pluripotent stem cells, induced cells, functional cells, transdifferentiation

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00500

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30972097), Key Program of State Education Ministry (109148), China Postdoctoral Science Foundation (200801438) and Program for New Century Excellent Talents in University(NCET-09-0654).

**Corresponding author.

Tel: 86-29-87080068, E-mail: jlhua2003@126.com

Received: December 1, 2011 Accepted: February 28, 2012