

文章编号: 1004-0374(2009)01-0076-05

## 诱导多能干细胞研究进展

李贵妃, 任彩萍\*, 姚开泰

(中南大学肿瘤研究所, 长沙 410078)

**摘要** 人类诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPS细胞)的建立被公认为目前最重要的科技进展之一。iPS细胞在动物疾病模型上的成功治疗, 病患特异性iPS细胞的研究及iPS细胞的定向分化研究将有可能使人们避开治疗性克隆的伦理和技术障碍, 给人类疾病的干细胞治疗带来光明的前景。本文从iPS细胞的诱导策略和方法, 来源细胞及筛选、重编程机制的研究现状、应用前景以及研究中存在的问题等方面对其作一综述和讨论。

**关键词**: 诱导多能干细胞; 胚胎干细胞; 重编程

**中图分类号**: Q25; Q813 **文献标识码**: A

## Progresses in research on induced pluripotent stem cells

LI Gui-fei, REN Cai-ping\*, YAO Kai-tai

(Cancer Research Institute, Central South University, Changsha 410078, China)

**Abstract**: The establishment of iPS cells (induced pluripotent stem cells, iPS cells) is considered as one of the most important progresses in science and technology nowadays. The successful treatment of an animal disease model by iPS cells and the prospect of deriving patient-specific human iPS cells have underscored the potential use of stem cells for treatment of human diseases. This review discusses the advances in strategies and approaches of induction, original cells and screening, mechanisms of reprogramming, application prospect and obstacles of iPS cells.

**Key words**: induced pluripotent stem cells; embryonic stem cells; reprogramming

自从1998年Thomson等<sup>[1]</sup>建立第一个人类胚胎干细胞(embryonic stem cells, ES细胞)系以来, ES细胞由于其广阔的应用前景而成为继人类基因组计划后生命科学中最活跃的领域, 目前获得ES细胞和ES细胞样多能干细胞的途径主要有: (1)从早期胚胎获得<sup>[2]</sup>, 培养分离的植入前早期胚胎内细胞团(inner cell mass, ICM); (2)从胚胎原始生殖细胞(primordial germ cells, PGCs)分离获得<sup>[3]</sup>; (3)从核移植细胞获得<sup>[4]</sup>, 将患者的体细胞作为核供体, 移植入去核的卵母细胞或者受精卵中, 发育为囊胚后再分离培养内细胞团; (4)体外长期培养某些特殊类型的细胞获得, 如骨髓细胞、化学刺激未受精卵使之发育后获得的孤雌胚胎细胞<sup>[5]</sup>; (5)体细胞与ES细胞融合获得<sup>[6, 7]</sup>。除前两种途径直接获得ES细胞

外, 后三种都经过了由已分化细胞重编程回到胚胎干细胞状态的过程, 但是参与重编程的具体因子和机制一直尚未阐明, 需要破坏人类胚胎和利用卵细胞的局限性使其在应用于治疗性克隆方面遭遇障碍, 阐明体细胞重编程为多能干细胞的机制对于更简单高效地获得ES细胞的替代细胞显得尤为重要。

诱导多能干细胞技术就是一种为研究体细胞重编程的机制而建立的最新的获得多能干细胞的方

收稿日期: 2008-10-07; 修回日期: 2008-12-22

基金项目: 国家自然科学基金(30871246, 30200140); 湖南省自然科学基金(07JJ3038); 中南大学研究生创新课题(2340-74335000006)

\*通讯作者 Tel: 0731-2355066, E-mail: rencaiping@xysm.net

法,通过病毒载体系统向成体细胞内导入一组基因,或者同时添加一些起辅助作用的小分子化合物使之去分化重编程回到胚胎干细胞状态,所获得的细胞即为诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPS 细胞),具有与ES细胞相似的形态、核型、端粒酶活性、体外分化潜能、表达相同的表面标志分子。这项全新的技术给干细胞治疗带来了新的曙光,通过这种手段获得的多能干细胞有着与患者相同的基因型,可以解决治疗过程中异体移植引发的免疫排斥难题,对于实现临床个性化治疗意义重大。只要导入屈指可数的几个基因即可将体细胞逆转为胚胎干细胞状态,增加了一种获取多能干细胞的简单可行的方法,不用破坏人类胚胎,卸下了人ES细胞研究沉重的伦理包袱,因而iPS是伦理和技术上的双重突破,它将成为多莉羊克隆和人胚胎干细胞建系之后干细胞研究领域新的里程碑。

## 1 iPS细胞研究概况

自从有关iPS细胞的首篇文章公开发表以来,iPS研究经历了从鼠到人,从实验室研究到临床治疗的深入。细胞的重编程越完全,所获得的iPS细胞在生物学特征上与ES细胞越相似,代替ES细胞应用于临床的希望更大,安全性更高,因而iPS技术在不断地优化,科学家们尝试着不同的更安全的基因组合,更简单有效筛选iPS细胞的方法,从而获得了与ES细胞生物学特征更相似,质量更高的iPS细胞,为干细胞治疗的进一步发展奠定了基础。

**1.1 诱导策略及方法** 2006年Takahashi和Yamanaka<sup>[8]</sup>为进一步阐明细胞重编程的机制选择了24个在胚胎干细胞中发挥重要作用的基因作为候选基因,用*Fbx15*作为筛选标记,通过基因转染等方法层层筛选发现其中的四个基因(*Oct4*、*Sox2*、*c-Myc*、*Klf4*)足以使小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryonic fibroblasts,MEFs)逆转成为多能干细胞,将这四个基因转入7周龄雄性小鼠和12周龄雌性小鼠尾尖成纤维细胞(tail-tip fibroblasts,TTFs)也成功地获得了iPS细胞,这种细胞具有ES细胞的许多重要特征,如相似的形态,相同的核型和端粒酶活性,表达相同的表面标志分子,在体外悬浮培养可形成拟胚体,体内接种可形成具有三个胚层的畸胎瘤,具有全能性,但是其注入囊胚后不能形成胎生嵌合体幼体,即不具有种系形成能力。此后,多个独立的研究小组通过改变筛选标记,不但证实了这一实验成果<sup>[9,10]</sup>,而且获得了有种系形成能力的iPS细胞。

由于研究发现人ES细胞能够通过细胞融合使骨髓前体细胞重编程<sup>[11]</sup>,2007年Yu等<sup>[12]</sup>将在人ES细胞中高表达且与骨髓前体细胞相关的基因按其多能性相关的密切程度进行排序,通过实验发现了第一个14个基因的组合可使造血细胞重编程为ES样细胞,并进一步发现,从中挑选的4个核心基因的组合(*Oct4*、*Sox2*、*Lin28*、*Nanog*)能够使由ES细胞诱导来的骨髓间充质干细胞重编程,将这一组合导入胎儿成纤维细胞与新生儿成纤维细胞也成功获得了人类iPS细胞。这一研究成果完成了iPS技术从鼠到人的飞跃,动摇了影响iPS细胞安全性的*c-Myc*因子不可或缺的地位,让人们看到了iPS细胞应用于临床的希望。

针对癌基因*c-Myc*的重新激活导致的小鼠iPS细胞高致瘤性,Nakagawa等<sup>[13]</sup>也进行了无*c-Myc*基因的iPS技术的研究,由于首次研究时这3个因子(*Oct4*、*Sox2*、*Klf4*)的组合没有成功获得iPS细胞,此次研究将药物筛选的时间由转导后1周推迟到2周,用*Nanog*替代*Fbx15*作为筛选标记,尽管获得的阳性克隆比转导4个因子时要少,但是特异性更高,质量更好,阴性克隆和背景细胞较少,所获得的细胞多能性标记基因的表达水平与ES细胞更相似,注入囊胚也获得了成熟的胎生嵌合体小鼠,且出生后100d内无死亡,大大降低了致瘤性。后来发现,即使用*Fbx15*作为筛选标记导入这3个因子获得的iPS细胞依然可以形成成熟的嵌合体幼体。更让人兴奋的是:将这3个因子导入人皮肤成纤维细胞也成功地获得了人iPS细胞,为跨越iPS细胞应用于临床的安全性障碍迈进了重要的一步。

由于小鼠神经干细胞内源性的*Sox2*和*c-Myc*表达水平比ES细胞高,Kim等<sup>[14]</sup>成功地用2个因子的组合(*Oct4*和*Klf4*、*Oct4*和*c-Myc*)将小鼠神经干细胞诱导成为iPS细胞,提示:如果重编程的体细胞某一个或几个因子内源性表达水平合适时,转导时去掉相应的因子也可以使之完全重编程。研究发现一些小分子化合物不但可以促进重编程,甚至可以在功能上替代某些转录因子,如维甲酸(valproic acid,VA)可以明显提高转入4个因子(*Oct4*、*Sox2*、*c-Myc*、*Klf4*)时鼠成纤维细胞重编程的效率,保持导入3个因子(*Oct4*、*Sox2*、*Klf4*)而不导入*c-Myc*时的效率不下降<sup>[15]</sup>,甚至在仅仅导入*Oct4*和*Sox2*时也成功地使人成纤维细胞重编程为iPS细胞<sup>[16]</sup>。具有这种功能的小分子化合物还包括组蛋白甲基化酶抑制

剂BIX01294、L-型钙通道拮抗剂BayK8644<sup>[17]</sup>、细胞内信号分子Wnt3a等。除这些核转录因子之外，Mir-302可以使人皮肤癌细胞重编程为iPS细胞<sup>[18]</sup>，为iPS细胞的研究带来了全新的视角。

**1.2 来源细胞及iPS细胞的筛选** 在iPS细胞的来源问题上诱导的低效率使研究者们一度倾向于未分化的前体细胞和成体干细胞来源，但实验发现iPS细胞不但不受细胞类型限制，也不受分化阶段的限制。从细胞类型看，iPS细胞不但已从人和小鼠成纤维细胞获得，还从上皮细胞来源的小鼠肝细胞和胃上皮细胞<sup>[19]</sup>、小鼠B淋巴细胞<sup>[20]</sup>，以及小鼠胰岛β细胞<sup>[21]</sup>、人角质细胞<sup>[22]</sup>，甚至肿瘤细胞等成功获得，就成纤维细胞而言，现在已成功地使人ES细胞诱导来的已分化的成纤维细胞、胚胎成纤维细胞、新生儿成纤维细胞、成人成纤维细胞等不同生长发育阶段的细胞重编程。从分化阶段看，既可以来自不完全分化的神经干细胞、前体B淋巴细胞，也可以来自已分化的成熟的B淋巴细胞、胰岛β细胞等。但是不同类型和不同分化阶段的细胞完全重编程的难易程度是不一样的，人角质细胞重编程的效率是人成纤维细胞的至少一百倍；小鼠神经干细胞仅需导入两个因子即可重编程，成熟的B淋巴细胞比前体B淋巴细胞较难重编程，除必需导入的4个因子外，还需要过表达*C/EBPα*或特异性敲除*Pax5*。除此之外，影响重编程效率的因素还有很多，如选用的筛选标记和筛选的方法，Takahashi和Yamanaka等<sup>[8]</sup>在2006年的首次研究中用*Fbx15*筛选的iPS细胞与ES细胞相比在基因表达和DNA甲基化模式方面区别显著，而且只能形成嵌合体胚胎，不能继续发育形成成熟的嵌合体小鼠，表明重编程的不完全性。由于*Nanog*与多能性关系更为密切，Okita等<sup>[23]</sup>用*Nanog*作为筛选标记，所得到的iPS细胞与ES细胞相比在基因表达、DNA甲基化模式和组蛋白修饰方面更加接近。Wernig等<sup>[24]</sup>引入了以*Oct4*为标记的筛选方式，发现所获得的阳性克隆中能形成稳定的iPS细胞系的比例是用*Nanog*筛选的4倍以上，提示*Oct4*作为筛选标记特异性更高，效果更好。Meissner等<sup>[25]</sup>用形态学标准筛选iPS细胞，诱导效率约为0.5%，是用抗生素筛选的5—10倍，其原因可能是抗生素筛选时细胞经过遗传修饰，细胞内可能发生了基因调节上的细微变化，因而不容易被重编程。

**1.3 重编程的机制** 在重编程的过程中，所导入的

转录因子内源性及其异位表达的水平必须在一个狭窄的合适的范围才可以使细胞开始重编程，整个过程也不是一蹴而就的，而是一个多步骤多因素的过程，在促发阶段转录因子可能与内源性的多能性相关基因相互作用，逐渐诱导表观遗传上的一些变化，最后维持一个稳定的与ES细胞无明显差别的表观遗传学状态。Brambrink等<sup>[26]</sup>发现在MEFs诱导为iPS细胞的过程中有一个多能性标记分子的顺序表达过程，首先是碱性磷酸酶(AP)的激活，阶段特异性胚胎抗原1(SSEA-1)尾随其后，最后才是标志完全重编程的*Nanog*和*Oct4*表达。Mikkelsen等<sup>[27]</sup>对MEFs和B淋巴细胞来源的iPS细胞系、不完全重编程的细胞系及野生型的ES细胞系进行了基因表达谱、主要标记基因的染色体状态图和甲基化状态的综合分析，实验发现：无论是用逆转录病毒还是慢病毒载体，成纤维细胞和非成纤维细胞的重编程都有相似的早期速发型应答反应，表现为以MEF中表达的间充质细胞特征基因*Snai1*、*Snai2*显著下调为依据的去分化，以及在DNA复制和细胞周期中发挥作用的增殖相关基因上调为依据的增殖反应。细胞经过一个不完全重编程的中间过程，后期才完成多能性状态的转变；不完全重编程的细胞系多能性相关基因表现为高甲基化，用DNA甲基转移酶抑制剂5-氮杂胞苷(5-aza-cytidine, AZA)处理后，向多能性状态的转变更加迅速稳定，重编程的总效率得到了很大的提高，用RNA干扰DNA甲基转移酶1(*Dnmt1*)的方法也得到了同样的效果，提示DNA去甲基化是重编程后期由不完全重编程到获得多能性的关键步骤。此外用于提高重编程效率的小分子化合物，如组蛋白乙酰化酶抑制剂维甲酸、DNA甲基转移酶抑制剂5-AZA、组蛋白甲基转移酶抑制剂BIX01294等都是表观遗传修饰分子，说明染色体修饰是细胞重编程过程中的关键步骤。重编程机制的逐步阐明，为提高获得iPS细胞的效率，并将其应用于临床奠定了基础。

## 2 iPS细胞的应用前景

由于iPS细胞的非胚胎来源及多能性，将其诱导分化为某一特殊类型的细胞和组织，可以应用于临床上许多由于细胞受到病损而引发，严重威胁人类生命和健康的疾病，如帕金森病、老年痴呆症、糖尿病、肝硬化、心肾衰竭、各种血液病、皮肤烧伤等。目前，治疗这些疾病主要采用同种异体细胞、器官和组织移植，胚胎干细胞移植治疗。同

种异体移植由于移植后的免疫排斥反应及供体细胞、器官和组织来源有限,制约了临床应用。胚胎干细胞移植也存在免疫排斥反应,同时还要面对胚胎来源的伦理争议。iPS细胞理论上可以来自任何类型的成体细胞,不需要胚胎,来源与伦理学上的争议再也不是问题。由患者的体细胞诱导而来的iPS细胞携带了患者自身的遗传物质,对获得的iPS细胞进行诱导,使其分化为特定类型的细胞,用于治疗,能使患者恢复生理功能,从而达到治疗疾病的目的<sup>[28,29]</sup>。Narazaki等<sup>[30]</sup>将ES细胞定向分化为心血管细胞的诱导系统应用于iPS细胞,成功地获得了包括心肌细胞,动、静脉内皮细胞,淋巴管内皮细胞等在内的多种心血管细胞,且其与ES细胞诱导来的细胞在分子水平和生理功能上无明显区别。最近又有成功地用全反维甲酸(RA)将小鼠iPS细胞诱导分化为平滑肌细胞的报道<sup>[31]</sup>,这些研究提示iPS细胞具有与ES细胞相似的分化潜能。iPS细胞可在体外定向诱导分化为多种不同类型的组织细胞,为其临床应用带来了希望。

2008年Dimos等<sup>[32]</sup>用来自2位罹患肌萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS)这种神经退行性病变的老年患者的皮肤细胞制造出了iPS细胞,而且成功地将其定向诱导分化成了运动神经元细胞。Park等<sup>[33]</sup>也已建立帕金森患者和亨廷顿患者的iPS细胞系,为病患特异性的iPS细胞应用于临床提供了有利的实验依据。

Hanna等<sup>[34]</sup>通过向基因型为 $h\beta^{\delta}/h\beta^{\delta}$ 的12周龄的患有镰状细胞贫血的雄性小鼠的尾尖成纤维细胞中导入3个因子(*Oct4*、*Sox2*、*Klf4*),获得了iPS细胞,经过体外同源重组,使iPS细胞基因型变为 $h\beta^{\delta}/h\beta^{\delta}$ ,并诱导分化成骨髓造血前体细胞,回输到照射后的患病小鼠体内,8—12周后其外周血各项实验室指标均逐渐恢复正常,临床症状也得到了极大的改善,造血系统基本恢复正常,真正显示出iPS细胞的治疗作用。

将某些有遗传缺陷的细胞或病变细胞诱导为iPS细胞,扩大培养为稳定的iPS细胞系,注入正常小鼠的囊胚获得成熟的嵌合体小鼠,与正常小鼠交配所得到的携带iPS细胞遗传物质的后代,可用做研究疾病的动物模型,还可用于新药开发与试验的研究。此外,iPS细胞可以分化为包括生殖细胞系在内的所有细胞,将其诱导分化为成熟的配子,还可以用于不孕症的治疗<sup>[35]</sup>。

### 3 存在的问题

**3.1 安全性** iPS细胞毕竟不能等同于ES细胞,如在表观遗传学上与ES细胞就存在差别。所用的6个核心基因(*Oct4*、*Sox2*、*c-Myc*、*Klf4*、*Lin28*、*Nanog*)除了*Lin28*暂未发现与肿瘤发生有关外,其余5个都是癌基因,其过表达都与某些肿瘤有关,特别是那些分化较差的肿瘤<sup>[36]</sup>。不导入*c-Myc*基因的iPS细胞只是致瘤性降低,并不能说绝对安全。逆转录病毒载体系统非定点整合至染色体基因组导致的插入突变也不可避免,而且一旦发生如癌基因激活、抑癌基因失活等有害的突变,不但会影响接受治疗的患者,还会通过遗传影响到子孙后代。现在的关键是找到一种安全高效的方法,如通过其他非整合的载体系统、细胞穿透性蛋白或药物激活这些转录因子,或者瞬时转染等方法来获得iPS细胞。

**3.2 技术性** 诱导效率太低是目前iPS细胞应用于临床必须跨越的一大障碍。临床应用首先要经过几个月的建系,扩大培养,体外诱导分化为所需要的细胞类型,然后再扩大培养,最后要确认不会导致肿瘤才可以真正应用,前后加起来需要两年的时间,即使不考虑昂贵的花费,对于脊髓损伤和心肌梗死等急需治疗的疾病来说也太慢了<sup>[37]</sup>。尽管通过改变筛选方法使其效率提高了5—10倍,但也不够理想,只有进一步阐明重编程的具体分子机制,找到影响效率的关键分子生物学事件及因素,才能找到有效提高效率的方法。

**3.3 其他问题** 不同的iPS细胞系之间,在致瘤性、分化能力和宿主的反应等方面都是有区别的<sup>[38]</sup>,哪一种更安全更适合临床应用;iPS细胞在体外诱导分化是否能像ES细胞一样稳定而多样;产生不同类型的组织细胞的诱导条件与ES细胞是否相同;那些喜欢冒险的科学家会不会制造iPS细胞来源的克隆人,这些都需要研究者们和政府有关部门的共同努力。

### 4 结束语

一种新技术在发展之初都存在许多理论和技术上的问题,需要不断的实验证实与解决。生物治疗是未来疾病治疗的主要策略之一,相信随着研究的逐步深入,重编程机理的阐明,iPS技术的不断进步,在不远的将来,iPS细胞将最终代替ES细胞和治疗性克隆应用于临床疾病的治疗,造福人类。

### [参 考 文 献]

[1] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embry-

- onic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 1998, 282(5391): 1145-7
- [2] Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1981, 78(12): 7634-8
- [3] Matsui Y, Zsebo K, Hogan BL. Derivation of pluripotential embryonic stem cells from murine primordial germ cells in culture. *Cell*, 1992, 70(5): 841-7
- [4] Gurdon JB, Byrne JA. The first half-century of nuclear transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(14): 8048-52
- [5] Allen ND, Barton SC, Hilton K, et al. A functional analysis of imprinting in parthenogenetic embryonic stem cells. *Development*, 1994, 120(6): 1473-82
- [6] Ying QL, Nichols J, Evans EP, et al. Changing potency by spontaneous fusion. *Nature*, 2002, 416(6880): 545-8
- [7] Terada N, Hamazaki T, Oka M, et al. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature*, 2002, 416(6880): 542-5
- [8] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, 126(4): 663-76
- [9] Park IH, Zhao R, West JA, et al. Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors. *Nature*, 2007, 451(7175): 141-6
- [10] Maherali N, Sridharan R, Xie W, et al. Directly reprogrammed fibroblasts show global epigenetic remodeling and widespread tissue contribution. *Cell Stem Cell*, 2007, 1(1): 55-70
- [11] Yu J, Vodyanik MA, He P, et al. Human embryonic stem cells reprogram myeloid precursors following cell-cell fusion. *Stem Cells*, 2006, 24(1): 168-76
- [12] Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science*, 2007, 318(5858): 1917-20
- [13] Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, et al. Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. *Nat Biotechnol*, 2008, 26(1): 101-6
- [14] Kim JB, Zaehres H, Wu G, et al. Pluripotent stem cells induced from adult neural stem cells by reprogramming with two factors. *Nature*, 2008, 454(7204): 646-50
- [15] Huangfu D, Maehr R, Guo W, et al. Induction of pluripotent stem cells by defined factors is greatly improved by small-molecule compounds. *Nat Biotechnol*, 2008, 26(7): 795-7
- [16] Huangfu D, Osafune K, Maehr R, et al. Induction of pluripotent stem cells from primary human fibroblasts with only Oct4 and Sox2. *Nat Biotechnol*, 2008, 26(11): 1269-75
- [17] Shi Y, Desponts C, Do JT, et al. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic fibroblasts by Oct4 and Klf4 with small-molecule compounds. *Cell Stem Cell*, 2008, 3(5): 568-74
- [18] Lin SL, Chang DC, Chang-Lin S, et al. Mir-302 reprograms human skin cancer cells into a pluripotent ES-cell-like state. *RNA*, 2008, 14(10): 2115-24
- [19] Aoi T, Yae K, Nakagawa M, et al. Generation of pluripotent stem cells from adult mouse liver and stomach cells. *Science*, 2008, 321(5889): 699-702
- [20] Hanna J, Markoulaki S, Schorderet P, et al. Direct reprogramming of terminally differentiated mature B lymphocytes to pluripotency. *Cell*, 2008, 133(2): 250-64
- [21] Stadtfeld M, Brennand K, Hochedlinger K. Reprogramming of pancreatic  $\beta$  cells into induced pluripotent stem cells. *Curr Biol*, 2008, 18(12): 890-4
- [22] Aasen T, Raya A, Barrero MJ, et al. Efficient and rapid generation of induced pluripotent stem cells from human keratinocytes. *Nat Biotechnol*, 2008, 26(11): 1276-84
- [23] Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature*, 2007, 448(7151): 313-7
- [24] Wernig M, Meissner A, Foreman R, et al. *In vitro* reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. *Nature*, 2007, 448(7151): 318-24
- [25] Meissner A, Wernig M, Jaenisch R. Direct reprogramming of genetically unmodified fibroblasts into pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(10): 1177-81
- [26] Brambrink T, Foreman R, Welstead GG, et al. Sequential expression of pluripotency markers during direct reprogramming of mouse somatic cells. *Cell Stem Cell*, 2008, 2(2): 151-9
- [27] Mikkelsen TS, Hanna J, Zhang X, et al. Dissecting direct reprogramming through integrative genomic analysis. *Nature*, 2008, 454(7200): 49-55
- [28] Yamanaka S. Strategies and new developments in the generation of patient-specific pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell*, 2007, 1(1): 39-49
- [29] Drukker M. Recent advancements towards the derivation of immune-compatible patient-specific human embryonic stem cell lines. *Semin Immunol*, 2008, 20(2): 123-9
- [30] Narazaki G, Uosaki H, Teranishi M, et al. Directed and systematic differentiation of cardiovascular cells from mouse induced pluripotent stem cells. *Circulation*, 2008, 118(5): 498-506
- [31] Xie CQ, Huang HT, Wei S, et al. A comparison of murine smooth muscle cells generated from embryonic versus induced pluripotent stem cells. *Stem Cells Dev*, 2008 Sep 16. [Epub ahead of print]
- [32] Dimos JT, Rodolfa KT, Niakan KK, et al. Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. *Science*, 2008, 321(5893): 1218-21
- [33] Park IH, Arora N, Huo H, et al. Disease-specific induced pluripotent stem cells. *Cell*, 2008, 134(5): 877-86
- [34] Hanna J, Wernig M, Markoulaki S, et al. Treatment of sickle cell anemia mouse model with iPS cells generated from autologous skin. *Science*, 2007, 318(5858): 1920-3
- [35] Anonymous. New sources of sex cells. *Nature*, 2008, 452(7190): 913
- [36] Ben-Porath I, Thomson MW, Carey VJ, et al. An embryonic stem cell-like gene expression signature in poorly differentiated aggressive human tumors. *Nat Gene*, 2008, 40(5): 499-507
- [37] Holden C, Vogel G. Cell biology. A seismic shift for stem cell research. *Science*, 2008, 319(5863): 560-3
- [38] Masaki H, Ishikawa T, Takahashi S, et al. Heterogeneity of pluripotent marker gene expression in colonies generated in human iPS cell induction culture. *Stem Cell Res*, 2008, 2: 105-15