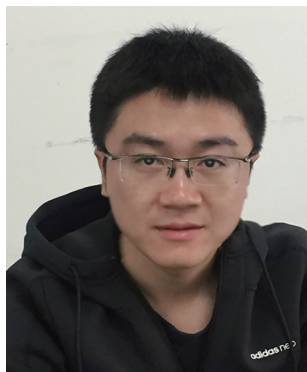


DOI: 10.13376/j.cbls/2017037

文章编号: 1004-0374(2017)03-0271-06



黄鹏羽, 上海科技大学生命科学与技术学院研究员、助理教授、博士生导师, 国家自然科学基金委优秀青年基金获得者。博士研究生期间于2011年建立了体外诱导小鼠成纤维细胞转分化为肝实质细胞的方法, 该成果获当年“中国十大科学进展”。2014年建立体外诱导人成纤维细胞转分化为肝实质细胞的方法。相关论文发表在 *Nature*、*Cell Stem Cell* 等刊物上。2014年加入上海科技大学建立实验室, 主要研究方向为肝脏疾病与肝脏再生的机制。研究组的主要研究工作包括: (1) 细胞命运决定和转化的机制; (2) 肝脏再生的机制; (3) 肝细胞体外规模化增殖和培养系统。

转分化技术的研究

杨昊楠, 黄鹏羽*

(上海科技大学生命科学与技术学院, 上海 201210)

摘要: 成体细胞在再生医学和药物研发过程中有广泛的应用。但由于供体的缺乏, 获得足够的成体细胞一直是再生医学领域的难点。利用转分化技术可以直接将易于获取的成体细胞类型转化为其他较难获取的成体细胞类型, 从而有望成为成体细胞的重要来源。现将介绍国内外近年来转分化技术的主要方法和重要研究成果。

关键词: 转分化; 重编程; 转录因子

中图分类号: Q254 **文献标志码:** A

Transdifferentiation

YANG Hao-Nan, HUANG Peng-Yu*

(School of Life Science and Technology, ShanghaiTech University, Shanghai 201210, China)

Abstract: Somatic cells have been widely used for regenerative medicine and drug development. However, lack of donors makes it difficult to get enough somatic cells for regenerative medicine. Recently generation of functional cells by transdifferentiation is becoming an important alternative method to produce somatic cells. Here we summarize recent progresses of transdifferentiation.

Key words: transdifferentiation; reprogramming; transcription factor

哺乳动物大部分成体细胞拥有完整的基因组, 并受到表观遗传、基因调控网络、微环境的严格限制, 从而稳定其细胞命运和功能, 维持组织器官的结构和正常运转。通过重塑成体细胞的表观遗传信息和基因调控网络, 可以将一种类型的成体细胞直接重编程为多能干细胞或转分化为其他类型的成体细胞。低等生物细胞可塑性较强, 因此在胚胎发育以及组织再生过程中经常发生细胞命运的转变。如

果蝇成虫盘细胞可自发地获得分化为其他类型细胞的能力^[1]。蝶螈的晶状体被摘除后, 色素上皮细胞可再生出晶状体, 该过程涉及到色素上皮细胞的退

收稿日期: 2017-01-14

基金项目: 国家自然科学基金优秀青年科学基金项目(31522038); 国家自然科学基金面上项目(31571509)

*通信作者: E-mail: huangpy@shanghaitech.edu.cn

分化和再分化^[2]。哺乳动物在特定的生理病理过程中也存在自然发生的细胞命运转化。小鼠小肠 $Lgr5^+$ 干细胞缺失的时候, 小肠上皮祖细胞可以退分化补偿丢失的 $Lgr5^+$ 干细胞, 并重建小肠组织^[3]。小鼠肝损伤后再生过程中, 已分化的肝实质细胞也可退分化为肝脏祖细胞, 并能再分化为肝实质细胞和胆管上皮细胞^[4]。两个已分化的细胞类型之间, 也可以直接发生转分化, 而不需要退分化到干细胞阶段。转分化可将易于获取或扩增的成体细胞类型(如成纤维细胞、血液细胞等)转化为难以获取的功能细胞(如肝脏细胞、胰腺细胞、心肌细胞等), 从而可为再生医学提供功能细胞来源。因此, 人工诱导定向转分化技术受到了广泛关注, 并得以迅速发展。

1 诱导转分化的方法

不同的成体细胞种类具有不同的转录组和表观遗传修饰, 从而决定了细胞的谱系。目前人们已通过多种方法在体外和体内通过改变成体细胞的关键基因表达或表观遗传修饰实现了转分化。

1.1 细胞因子诱导的转分化

细胞因子是一种具有信号作用的蛋白质或多肽, 如细胞白介素、干扰素、趋化因子等。细胞因子可通过信号转导调控细胞内基因的转录, 从而影响整个细胞的基因表达谱。在多能干细胞的诱导定向分化过程中, 人们采用不同的细胞因子组合, 实现了多能干细胞向不同类型细胞的定向分化。许多研究也认为通过细胞移植, 可以使某些成体干细胞在体内特定的微环境下改变其默认的分化方向, 而分化为其他类型的成体细胞, 如骨髓来源的间充质干细胞可在体内分化为神经细胞、肝脏细胞、皮肤细胞、肠道细胞等^[5]。虽然这种体内转分化很多都被归因于细胞融合^[6], 但人们通过调整培养基中的细胞因子, 也确实成功诱导了成体干细胞在体外的转分化。例如, 通过 VEGF 处理, 骨髓来源的间充质干细胞可分化为内皮细胞。利用与多能干细胞诱导分化类似的细胞因子组合, 间充质干细胞也在体外被诱导分化成神经细胞、肝实质细胞等其他成体细胞^[5]。类似的转分化也在骨髓干细胞、成纤维细胞中实现^[7]。上述研究结果表明, 成体细胞依然具有一定的可塑性。但上述方法获得的成体细胞无论基因表达还是功能均与原代细胞有较大差距, 且其体内转分化的结果中有些被证明是通过细胞融合实现的, 因此骨髓干细胞、间充质干细胞等成体干

细胞的可塑性依然有较大争议。

亲缘关系较近的细胞往往具有更为类似的转录组和表观遗传修饰, 因此更易于被转分化。比较典型的案例有肝实质细胞和胰腺细胞之间的转分化。胰腺细胞系以及原代胚胎胰腺细胞可通过肾上腺皮质激素类药物地塞米松处理转分化为肝实质细胞。这个过程被认为是地塞米松通过糖皮质激素受体, 激活 C/EBP β 的转录, 从而诱导肝实质细胞相关基因的表达, 使胰腺细胞转分化为肝脏细胞^[8]。

细胞因子诱导细胞转分化, 依赖特定信号通路的激活或抑制, 从而诱导下游组织特异基因的改变来实现。但细胞因子对下游基因的诱导往往没有很强的组织特异性。如上述 C/EBP β 就并非是肝脏特异表达的基因。细胞因子诱导转分化难度较大, 现一般做为辅助手段促进其他方法诱导的转分化。

1.2 转录因子诱导的转分化

通过转录因子诱导转分化是目前最常见的诱导转分化方法。通过不同的转录因子组合, 现在人们已经实现了远缘细胞之间的转分化, 如成纤维细胞向神经细胞^[9]、心肌细胞^[10]、肝实质细胞^[11]等细胞类型的转化。

1987年, 人们发现过表达一个基因就可将小鼠成纤维细胞转分化为成肌细胞, 并将该基因命名为 $MyoD$ ^[12]。MyoD 是一种在肌细胞分化过程中的关键转录因子。之后的研究又发现, 过表达 C/EBP α 和 C/EBP β 可将小鼠 B 细胞转分化为巨噬细胞。这是因为 C/EBP α 和 C/EBP β 可以抑制 B 细胞相关的转录因子 Pax5, 同时促进 PU.1 的表达, 从而将 B 细胞重编程为巨噬细胞^[13]。而上述胰腺细胞向肝实质细胞的转分化也可通过过表达 C/EBP β 实现^[14]。这些亲缘关系比较近的细胞类型之间虽然更容易被诱导转分化, 但由于起始细胞类型一般都是难以获得的细胞, 具有明显的局限性。而且之前的研究中这一类的案例较少, 获得的细胞均未进行完整的基因表达谱和功能验证。因此在过去的很长时间里, 转分化的研究都很少被人关注。

2006年, Yamanaka 课题组建立了诱导小鼠成纤维细胞转化为多能干细胞(iPS 细胞)的方法^[15]。这使人们开始重新思考, 是否能用类似的方法在亲缘关系较远的体细胞类型, 甚至在不同胚层的体细胞之间实现直接的转分化。通过表达巨噬细胞分化过程中的关键转录因子 C/EBP α 和 PU.1, 成纤维细胞获得许多巨噬细胞的基因表达和功能, 如吞噬细菌^[16]。这说明亲缘关系较远的体细胞之间也可通过

过表达转录因子实现转分化。

体细胞发育过程受到大量的基因调控。通过对这些基因进行筛选, 人们很快便通过体外诱导小鼠成纤维细胞转分化得到了神经细胞^[9]、心肌细胞^[10]、肝实质细胞^[11, 17]、少突胶质细胞祖细胞^[18]、造血祖细胞^[19]、黑色素细胞^[20]、胸腺上皮细胞^[21]等细胞。这些诱导转分化的基因通常为转录因子。如诱导小鼠胚胎成纤维细胞转分化为神经细胞时采用了3个转录因子: *Ascl1*、*Brn2* 和 *Myt1l*^[9]。其中 *ASCL1* 作为先锋因子首先结合到基因组 DNA 上, 再招募 *BRN2* 和 *MYT1L* 启动神经细胞相关基因的转录。而 *BRN2* 和 *MYT1L* 单独并不能直接结合到成纤维细胞的基因组 DNA 上^[22]。本实验室诱导小鼠成纤维细胞转分化为肝实质细胞, 采用了 *Foxa3*、*Gata4* 和 *Hnf1 α* 三个转录因子^[11]。在肝脏发育过程中, *FOXA3* 和 *GATA4* 是著名的先锋因子。*FOXA* 家族蛋白和 *GATA4* 可结合到致密的染色质上, 打开染色质, 使其他转录因子可以结合到各自的结合位点, 从而起始转录^[23]。*HNF1 α* 作为肝脏特异的转录因子, 可结合到大量肝实质细胞功能基因的启动子区域, 起始肝脏基因的转录, 并在肝实质细胞的成熟过程中发挥重要作用^[24]。虽然肝向转分化过程的机制还不清楚, 但上述转录因子很有可能发挥了类似的功能。进一步阐明转分化过程的机制也将有助于了解成体细胞命运维持的机制。

不同的基因组合也可实现类似的转分化过程。2011年本实验室和日本的 Suzuki 实验室均实现了将小鼠成纤维细胞转分化为肝实质细胞, 分别采用了 *Foxa3*、*Gata4*、*Hnf1 α* 和 *Foxa1/Foxa2/Foxa3*、*Hnf4 α* 两个不同的转录因子组合^[11, 17]。两种方法获得的肝实质细胞均具有与原代肝实质细胞类似的基因表达谱, 并获得了糖原积累、药物代谢、白蛋白分泌等功能, 且均可通过细胞移植整合到肝损伤的小鼠肝脏中发挥功能^[11, 17]。在肝脏发育过程发挥重要功能的转录因子, 如 *Foxa2*、*Foxa3*、*Hnf1 α* 、*Hnf4 α* 、*Hnf6* 等, 其启动子或增强子区域都有其自身和其他肝脏转录因子的结合位点, 并通过增强或抑制其他转录因子或自身, 从而稳定其转录因子网络, 维持肝实质细胞命运的稳态。不同肝向转分化方法的建立说明, 要重建肝实质细胞的转录网络, 只需要其中的部分转录因子组合即可实现, 且该组合并非唯一的。与此类似, 自 2010 年 Ieda 等^[10] 利用 3 个转录因子 (*Gata4*、*Mef2c* 和 *Tbx5*) 成功将小鼠心脏或表皮来源的成纤维细胞转分化为心肌细胞以来, 采用不同

的转录因子组合, 如 *Mef2c*、*Myocd*、*Tbx5*, 也可以实现类似的心肌转分化^[25]。

在将小鼠的转分化技术推广到人的细胞时, 人们碰到了大量的困难。这可能是因为人和动物发育过程的调控机制并不完全一致, 而目前人们对各个组织器官发育过程调控机制的了解主要来源于动物的研究。2011年, Wernig 实验室在人成纤维细胞中过表达了诱导小鼠神经细胞转分化时采用的三个转录因子 *ACSL1*、*BRN2* 和 *MYT1L*, 但诱导获得的神经细胞并不成熟, 在三因子基础上增加 *NEUROD1* 才获得了有功能的神经细胞^[26]。同样的问题在其他类型细胞的转分化过程中也普遍存在。本实验室诱导小鼠成纤维细胞向肝实质细胞转分化所采用的 *Foxa3*、*Gata4*、*Hnf1 α* 也未能成功将人成纤维细胞转分化为肝实质细胞, 而需要通过 *FOXA3*、*HNF1A* 和 *HNF4A* 才能成功实现转化^[27]。诱导小鼠成纤维细胞向心肌细胞转分化采用的 *Gata4*、*Mef2c* 和 *Tbx5* 也未能成功将人成纤维细胞转分化为心肌细胞, 而需要额外增加 *MESP1* 和 *MYOCD*^[28]。这说明人和小鼠体细胞转分化存在明显差异。但人和小鼠体细胞转分化的区别, 也有可能是由于人和小鼠细胞对培养基、转分化方法、诱导时间等有不同要求导致。Wernig 实验室通过进一步优化转分化技术, 实现了只利用 *ASCL1* 一个转录因子将小鼠和人成纤维细胞转分化为神经细胞^[29]。

除了体外的实验, 体内成体细胞的转分化也可通过过表达转录因子来实现。通过腺病毒在成年小鼠胰腺中过表达 *Ngn3*、*Pdx1* 和 *Mafa*, 可将胰外分泌细胞重编程为 β 细胞。体内转分化获得的 β 细胞可通过分泌 VEGF 来重塑血管微环境, 并能影响高血糖分泌胰岛素, 也能缓解 streptozotocin (STZ) 诱导的糖尿病^[30]。在肝脏中过表达 *Ngn3* 则可将肝脏干细胞转分化为 β 细胞^[31]。在心脏成纤维细胞中过表达 *Gata4*、*Mef2c* 和 *Tbx5* 可将其转分化为心肌细胞^[32]。体内诱导转分化可能对许多慢性疾病的治疗有帮助。肝纤维化是由于慢性肝病发展过程中, 肝实质细胞再生速度不足以补偿肝实质细胞的损失时, 肝内结缔组织异常增生, 并进一步抑制肝实质细胞增殖所引起的。通过在纤维化的小鼠肝脏中过表达肝脏特异的转录因子, 可将肝脏中的成肌纤维细胞转分化为肝实质细胞, 从而显著缓解肝纤维化症状。

1.3 表观遗传调控基因参与诱导的转分化

在体细胞转分化过程中, 外源转录因子主要通

过染色质重塑、表观遗传修饰重塑等方式实现细胞谱系基因的 stable 表达。一些促进染色质重塑和调控表观遗传修饰的蛋白往往可以促进或直接诱导转分化的发生。

基因的转录调控与染色体结构密切相关。成体细胞维持自身的基因表达网络也依赖于其特定的染色体结构。染色体易位导致的基因异常表达或失活是许多肿瘤发生的关键原因。在细胞重编程过程中，染色质重塑复合物，如 SWI/SNF、NURD/Mi2/CHD 等，都参与了细胞谱系基因的调控^[33]。SWI/SNF 染色质重塑复合物最早在酿酒酵母中发现。在哺乳动物细胞中，也存在具有类似功能的同源复合物：BAF (又称为 SWI/SNF-A) 和 PBAF (又称为 SWI/SNF-B)。SWI/SNF 复合物由多个亚基组成，利用 ATP 水解供能，并通过动员核小体来重塑染色体结构，从而进行转录调控。哺乳动物不同细胞类型中 SWI/SNF 复合物的亚基组成并不完全相同，目前已发现数百种不同的组合形式。许多 SWI/SNF 亚基的表达具有组织特异性。不同组成的 SWI/SNF 复合物可以结合不同的谱系因子，调节染色体特定区域 SWI/SNF 复合物的活性，从而调控谱系基因的表达^[34]。因此，SWI/SNF 复合物在细胞谱系分化过程中发挥着关键作用。在转分化过程中建立新的细胞谱系也必然需要重塑该细胞谱系特异的染色体结构。利用组织特异表达的 SWI/SNF 亚基可促进或直接参与诱导转分化的发生。如 BAF 复合物成员 Baf60c 在小鼠胚胎中主要在心脏中表达，并能同时招募心脏特异转录因子和 BAF 复合物，从而诱导心脏相关基因的表达。因此，Baf60c 对心脏谱系的建立十分关键，并可用于诱导小鼠胚胎中胚层细胞转分化为心肌细胞^[35]。目前染色质重塑的机制及其在细胞谱系建立和转化过程中的功能尚不清楚。对染色质重塑机制的研究将进一步推动转分化技术的优化和应用，并将有助于了解细胞命运维持和转化的机制。

细胞谱系特异转录网络的建立和维持也受到表观遗传修饰的调控。在体细胞重编程为多能干细胞的过程中，多能干细胞的表达受到组蛋白甲基化、组蛋白乙酰化、DNA 甲基化等表观遗传修饰的影响。与表观遗传修饰相关的基因，如 Wdr5、Dnmt1、HDAC 等，它们对体细胞重编程都发挥着重要作用。通过小分子抑制剂抑制组蛋白乙酰化和 DNA 甲基化可以促进 iPS 细胞的诱导，甚至可以诱导部分重编程的细胞形成 iPS 细胞^[36-37]。影响 iPS 细胞诱导

的表观遗传屏障和表观遗传记忆问题在转分化过程中也同样存在，并严重影响转分化的效率。目前转分化过程的表观遗传调控机制研究才刚刚开始。表观遗传修饰相关基因的表达不具有组织特异性，因此一般转分化过程中，转分化的方向由转录因子等谱系特异因子决定，而表观遗传修饰基因主要能用来促进或抑制转分化过程。

1.4 microRNA 诱导的转分化

microRNA 是对大量基因进行转录后调控，并在发育过程中发挥重要作用的非编码单链 RNA 分子。不同的细胞类型往往有其特异性表达的 microRNA。像小鼠胚胎干细胞表达的 microRNA 大量来自于 miR-302/367 基因簇和 miR-290-295 基因簇。这些 microRNA 基因簇对胚胎干细胞的自我更新十分关键^[38]。通过过表达 miR-302/367 基因簇，小鼠和人成纤维细胞均可被重编程为多能干细胞^[39]。说明 microRNA 既可以调控细胞命运，也可用于体细胞转分化。

在神经发育过程中，miR-9* 和 miR-124 可通过抑制神经祖细胞 BAF 重塑复合物 BAF53a 的表达，改变 BAF 重塑复合物的组成，从而诱导神经细胞的成熟。通过过表达 miR-9/9* 和 miR-124 也可将人成纤维细胞转分化为神经细胞。但单纯依靠 microRNA 诱导神经细胞转分化的效率较低，结合其他神经特异转录因子如 NEUROD2、ASCL1 和 MYT1L 可进一步促进神经细胞转分化的效率^[40]。与此类似，转染 miR-1、miR-133、miR-208、miR-499 组合可将小鼠成纤维细胞转分化为心肌细胞^[41]。由于 microRNA 容易转染，且不存在基因组整合，有助于提高诱导转分化的安全性。但 microRNA 诱导的转分化效率还有待提高，且目前单纯采用 microRNA 诱导的转分化案例较少，利用 microRNA 实现更多细胞类型的转分化还有待进一步研究。

1.5 小分子化合物诱导的转分化

通过基因过表达的方法诱导转分化往往需要采用慢病毒或逆转录病毒，从而有可能因基因组整合引起突变，存在致癌风险。一些不依赖基因组整合的基因过表达方法，如仙台病毒感染、质粒转染、mRNA 转染技术，已被开发应用于诱导 iPS 细胞。理论上这些技术也完全可以应用于诱导成体细胞转分化。而完全不依赖基因操作，仅依靠小分子化合物诱导的转分化一般被认为更加安全。

早期的研究发现，利用 DNA 甲基转移酶抑制剂氮胞苷 (5-azacytidine) 处理小鼠胚胎成纤维细胞

系 C3H10T1/2, 可将 0.01% 的细胞转分化为成肌细胞^[42]。但依靠个别广谱改变整个基因组表观遗传修饰的小分子化合物, 难以诱导成体细胞高效地定向特定谱系的细胞类型转分化。2013 年, 邓宏魁实验室利用 7 个小分子化合物组合成功将小鼠胚胎成纤维细胞诱导成为多能干细胞, 证明了利用小分子化合物诱导定向重编程的可行性^[43]。随后利用小分子化合物也成功将小鼠成纤维细胞转分化为神经细胞。诱导过程中采用的小分子化合物包括 GSK3 抑制剂 CHIR99021、可提高 cAMP 水平的 Forskolin 等, 都是可以促进神经发育、突触再生等功能的小分子化合物^[44]。类似的方法也可将人成纤维细胞转分化为神经祖细胞和心肌细胞^[44-45]。

虽然一般认为细胞谱系主要是由转录因子决定的, 但小分子化合物诱导的转分化说明, 通过调控特定的信号通路就足以改变转录因子的表达谱。目前诱导转分化采用的小分子化合物主要包括调控 DNA 甲基化、组蛋白甲基化、组蛋白乙酰化等表观遗传修饰的小分子化合物, 以及调控目标细胞谱系功能相关信号通路的小分子化合物。采用小分子化合物诱导转分化, 可避免基因操作带来的安全性问题。但由于小分子化合物的剂量、诱导时间、不同小分子化合物的处理顺序等因素都有可能影响诱导效果, 目前的小分子化合物诱导转分化的方法在不同实验室重复难度较大。

2 转分化研究展望

转分化技术的发展使得利用易于获取的患者自体细胞来获得功能细胞成为可能。转分化操作简单, 效率较高, 因而有助于其应用的推广。但目前也存在大量阻碍转分化技术进一步推广的障碍。

首先是转分化通常需要基因操作。目前最常用的诱导转分化的方法, 需通过慢病毒或逆转录病毒来实现基因的过表达, 从而有可能由于基因组整合产生基因突变。在诱导 iPS 细胞的研究中, 人们已经建立了利用仙台病毒、腺病毒、蛋白转染、质粒转染、RNA 转染等方法来避免基因组整合。将这些方法在诱导转分化中推广, 将有助于解决相关问题。利用小分子化合物诱导转分化则可完全避免基因操作, 但目前仅在少数细胞类型中实现。未来如果能用小分子化合物诱导更多的细胞类型, 尤其是在再生医学中需求较多的功能细胞, 如肝实质细胞、 β 细胞等, 将进一步推动转分化技术的发展。

转分化获得的功能细胞数量有限。成体细胞一

般不能增殖或增殖能力有限。由于转分化过程不需要经历干细胞阶段, 因此难以获得足够数量的功能细胞用于疾病的治疗。在研究中, 本实验室采用了抑制 p19 基因或过表达 SV40 Large T 基因的方法来扩增转分化获得的肝实质细胞。开发不依赖基因操作的方法实现功能细胞的扩增, 是未来转分化技术向临床应用推广的关键。

在小鼠实验中, 转分化获得的功能细胞对疾病的治疗已有显著的效果。利用转分化获得的肝脏细胞建立的生物人工肝装置也对肝衰竭猪有明显的缓解, 并显著提高了存活率^[46]。随着转分化技术的成熟, 如何将转分化技术标准化并应用到临床, 是未来研究的核心任务。

[参 考 文 献]

- [1] Worley MI, Setiawan L, Hariharan IK. Regeneration and transdetermination in *Drosophila* imaginal discs. *Annu Rev Genet*, 2012, 46: 289-310
- [2] Jopling C, Boue S, Izpisua Belmonte JC. Dedifferentiation, transdifferentiation and reprogramming: three routes to regeneration. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2011, 12: 79-89
- [3] Tetteh PW, Basak O, Farin HF, et al. Replacement of lost Lgr5-positive stem cells through plasticity of their enterocyte-lineage daughters. *Cell Stem Cell*, 2016, 18: 203-13
- [4] Tarlow BD, Pelz C, Naugler WE, et al. Bipotential adult liver progenitors are derived from chronically injured mature hepatocytes. *Cell Stem Cell*, 2014, 15: 605-18
- [5] Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*, 2002, 418: 41-9
- [6] Terada N, Hamazaki T, Oka M, et al. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature*, 2002, 416: 542-5
- [7] Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes *in vivo*. *Nat Med*, 2000, 6: 1229-34
- [8] Shen CN, Slack JM, Tosh D. Molecular basis of transdifferentiation of pancreas to liver. *Nat Cell Biol*, 2000, 2: 879-87
- [9] Vierbuchen T, Ostermeier A, Pang ZP, et al. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. *Nature*, 2010, 463: 1035-41
- [10] Ieda M, Fu JD, Delgado-Olguin P, et al. Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors. *Cell*, 2010, 142: 375-86
- [11] Huang P, He Z, Ji S, et al. Induction of functional hepatocyte-like cells from mouse fibroblasts by defined factors. *Nature*, 2011, 475: 386-9
- [12] Davis RL, Weintraub H, Lassar AB. Expression of a single transcribed cDNA converts fibroblasts to myoblasts. *Cell*,

- 1987, 51: 987-1000
- [13] Xie HF, Ye M, Feng R, et al. Stepwise reprogramming of B cells into macrophages. *Cell*, 2004, 117: 663-76
- [14] Shen CN, Slack JM, Tosh D. Molecular basis of transdifferentiation of pancreas to liver. *Nat Cell Biol*, 2000, 2: 879-87
- [15] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, 126: 663-76
- [16] Feng R, Desbordes SC, Xie HF, et al. PUA and C/EBP alpha/beta convert fibroblasts into macrophage-like cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 6057-62
- [17] Sekiya S, Suzuki A. Direct conversion of mouse fibroblasts to hepatocyte-like cells by defined factors. *Nature*, 2011, 475: 390-3
- [18] Najm FJ, Lager AM, Zaremba A, et al. Transcription factor-mediated reprogramming of fibroblasts to expandable, myelinogenic oligodendrocyte progenitor cells. *Nat Biotechnol*, 2013, 31: 426-33
- [19] Batta K, Florkowska M, Kouskoff V, et al. Direct reprogramming of murine fibroblasts to hematopoietic progenitor cells. *Cell Rep*, 2014, 9: 1871-84
- [20] Yang R, Zheng Y, Li L, et al. Direct conversion of mouse and human fibroblasts to functional melanocytes by defined factors. *Nat Commun*, 2014, 5: 5807
- [21] Bredenkamp N, Ulyanchenko S, O'Neill KE, et al. An organized and functional thymus generated from FOXP1-reprogrammed fibroblasts. *Nat Cell Biol*, 2014, 16: 902-8
- [22] Wapinski OL, Vierbuchen T, Qu K, et al. Hierarchical mechanisms for direct reprogramming of fibroblasts to neurons. *Cell*, 2013, 155: 621-35
- [23] Cirillo LA, Lin FR, Cuesta I, et al. Opening of compacted chromatin by early developmental transcription factors HNF3 (FoxA) and GATA-4. *Mol Cell*, 2002, 9: 279-89
- [24] Zaret KS. Genetic programming of liver and pancreas progenitors: lessons for stem-cell differentiation. *Nat Rev Genet*, 2008, 9: 329-40
- [25] Protze S, Khattak S, Poulet C, et al. A new approach to transcription factor screening for reprogramming of fibroblasts to cardiomyocyte-like cells. *J Mol Cell Cardiol*, 2012, 53: 323-32
- [26] Pang ZP, Yang N, Vierbuchen T, et al. Induction of human neuronal cells by defined transcription factors. *Nature*, 2011, 476: 220-3
- [27] Huang P, Zhang L, Gao Y, et al. Direct reprogramming of human fibroblasts to functional and expandable hepatocytes. *Cell Stem Cell*, 2014, 14: 370-84
- [28] Wada R, Muraoka N, Inagawa K, et al. Induction of human cardiomyocyte-like cells from fibroblasts by defined factors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 12667-72
- [29] Chanda S, Ang CE, Davila J, et al. Generation of induced neuronal cells by the single reprogramming factor ASCL1. *Stem Cell Rep*, 2014, 3: 282-96
- [30] Zhou Q, Brown J, Kanarek A, et al. *In vivo* reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to β -cells. *Nature*, 2008, 455: 627-U30
- [31] Yehoor V, Liu V, Espiritu C, et al. Neurogenin3 is sufficient for transdetermination of hepatic progenitor cells into neo-islets, *in vivo* but not transdifferentiation of hepatocytes. *Dev Cell*, 2009, 16: 358-73
- [32] Qian L, Huang Y, Spencer CI, et al. *In vivo* reprogramming of murine cardiac fibroblasts into induced cardiomyocytes. *Nature*, 2012, 485: 593-8
- [33] Apostolou E, Hochedlinger K. Chromatin dynamics during cellular reprogramming. *Nature*, 2013, 502: 462-71
- [34] Wilson BG, Roberts CW. SWI/SNF nucleosome remodellers and cancer. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11: 481-92
- [35] Takeuchi JK, Bruneau BG. Directed transdifferentiation of mouse mesoderm to heart tissue by defined factors. *Nature*, 2009, 459: 708-11
- [36] De Carvalho DD, You JS, Jones PA. DNA methylation and cellular reprogramming. *Trends Cell Biol*, 2010, 20: 609-17
- [37] Papp B, Plath K. Epigenetics of reprogramming to induced pluripotency. *Cell*, 2013, 152: 1324-43
- [38] Martinez NJ, Gregory RI. MicroRNA gene regulatory pathways in the establishment and maintenance of ESC identity. *Cell Stem Cell*, 2010, 7: 31-5
- [39] Anokye-Danso F, Trivedi CM, Jühr D, et al. Highly efficient miRNA-mediated reprogramming of mouse and human somatic cells to pluripotency. *Cell Stem Cell*, 2011, 8: 376-88
- [40] Yoo AS, Sun AX, Li L, et al. MicroRNA-mediated conversion of human fibroblasts to neurons. *Nature*, 2011, 476: 228-31
- [41] Jayawardena TM, Egemnazarov B, Finch EA, et al. MicroRNA-mediated *in vitro* and *in vitro* direct reprogramming of cardiac fibroblasts to cardiomyocytes. *Circ Res*, 2012, 110: 1465-73
- [42] Taylor SM, Jones PA. Multiple new phenotypes induced in 10T1/2 and 3T3 cells treated with 5-azacytidine. *Cell*, 1979, 17: 771-9
- [43] Hou P, Li Y, Zhang X, et al. Pluripotent stem cells induced from mouse somatic cells by small-molecule compounds. *Science*, 2013, 341: 651-4
- [44] Li X, Zuo XH, Jing JZ, et al. Small-molecule-driven direct reprogramming of mouse fibroblasts into functional neurons. *Cell Stem Cell*, 2015, 17: 195-203
- [45] Cheng L, Hu W, Qiu B, et al. Generation of neural progenitor cells by chemical cocktails and hypoxia. *Cell Res*, 2015, 25: 645-6
- [46] Shi XL, Gao Y, Yan Y, et al. Improved survival of porcine acute liver failure by a bioartificial liver device implanted with induced human functional hepatocytes. *Cell Res*, 2016, 26: 206-16