细胞谱系重编程研究进展

周军年, 岳文, 裴雪涛*

军事医学科学院野战输血研究所, 全军干细胞与再生医学重点实验室, 北京 100850

* 联系人, E-mail: peixt@nic.bmi.ac.cn

收稿日期: 2012-07-18; 接受日期: 2012-11-27

国家高技术研究发展计划(批准号: 2011AA020109)和国家重点基础研究发展计划(批准号: 2011CB964804)资助项目

摘要 重编程研究是近年来干细胞与再生医学领域中里程碑式的研究突破, 打破了人胚胎干细胞研究带来的伦理桎梏, 为再生医学临床应用带来了一片新天地. 但诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPS)制作过程繁琐, 重编程效率偏低, 且仍需如同胚胎干细胞一样, 经过步步诱导分化而获得目的细胞, 最关键的是, 目的细胞的安全性问题仍亟待解决. 谱系重编程, 在广义的角度上来说, 至少从 1987 年即已展开, 20 世纪末引发成体干细胞研究热潮的“可塑性”研究也可归为谱系重编程研究, 在 iPS 重编程研究的推动下, 谱系重编程技术正在蓬勃发展, 并被再生医学研究者给予了厚望, 尤其是在可预见的将来, 其在个体化治疗上具有的优势将不可比拟.

关键词

再生医学
谱系重编程
转分化
去分化
转决定

Programme 意指存储于机器或计算机中预先用程序性语言写好的用于控制机器和计算机行为的一系列指示, 这种语言在计算机中即为计算机语言, 而在细胞中这种语言即为(表观)遗传学语言的集合, programme 即指由(表观)遗传学控制的细胞的一系列正常发育分化. Reprogramme 即为重编程, 指已分化细胞的核基因组恢复其分化前的功能状态. 重编程分为多能性重编程(pluripotent reprogramming)和谱系重编程(lineage reprogramming)2 大类. 其中前者可采取包括核移植(nuclear transfer)、细胞融合(cell fusion)、iPS 重编程以及长期体外培养等手段而实现^[1]. 后者指不经过多能性干细胞阶段, 直接将已经分化的成熟细胞(或祖细胞)转换为另外一种成熟细胞或干/祖细胞的重编程策略, 包括转分化(transdifferentiation)、去分化(dedifferentiation)、转决定(transdetermination)、特定类型的化生(metaplasia)等^[2].

回顾重编程的发展之路, 谱系重编程的发展要早于 2006 年 iPS 细胞的产生^[3]. 早在 1987 年, Davis 等人^[4]即通过过表达转录因子 MyoD 实现了成纤维细胞到肌肉细胞的转换, 2004 年, Xie 等人^[5]通过过表达转录因子 C/EBP α 实现了造血系统中 B 细胞到巨噬细胞的转换. 而 Yamanaka 在获得 2012 年诺贝尔生理学或医学奖后接受采访时也表示, 自己当年是受到 1987 年 Davis 研究的启发而开始了重编程的相关研究, 可见谱系重编程研究在 iPS 细胞的产生过程中扮演了“先驱者”的角色. 本综述将系统回顾自 1999 年 Petersen 等人^[6]发现存在骨髓细胞来源的肝细胞以来的细胞谱系重编程研究进展.

1 转分化

转分化是指将一类特化的细胞重编程为另一类

引用格式: 周军年, 岳文, 裴雪涛. 细胞谱系重编程研究进展. 中国科学: 生命科学, 2013, 43: 46–53, doi: 10.1360/052012-255

英文版见: Zhou J N, Yue W, Pei X T. Advances in cell lineage reprogramming. Sci China Life Sci, 2013, 56, in press, doi: 10.1007/s11427-013-4447-7

细胞, 且不经过多能性细胞阶段, 也称为谱系转换 (lineage switching 或 lineage conversion)^[7].

自 20 世纪末以来的成体干细胞可塑性的研究, 尤其是骨髓来源的造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)和间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)的可塑性(plasticity)研究为整个生物学界、医学界带来了一股干细胞研究的热潮, HSC 作为研究最充分也是研究与应用历时最久的成体干细胞成为关注的焦点. 研究发现, HSC 和 MSC 除了分别具有重建受体的造血与免疫功能和向成骨、软骨、脂肪三系分化功能外, 在体外经诱导还可向包括肝脏细胞、骨骼肌细胞、心肌细胞、血管内皮细胞、神经细胞等多种重要的机体功能细胞分化^[8,9].

在这一时期, 大多数研究者一直深信不疑的一个机制就是“转分化”, 但需要指出的是, 成体干细胞可塑性研究中的“转分化”与现在定义的略有不同, 可塑性研究中种子细胞为成体干细胞而非特化的细胞, 故应归为本文定义的“转决定”一类中, 本文将会在后面对此进行详细讨论.

2006 年以后, 通过转染目的细胞发育所需的关键转录因子而使得分化的成熟细胞直接转换为目的细胞的转分化策略得到了很好的实验证实(表 1). 在包括血液、心肌、神经、肝脏等组织中均取得较好的研究进展, 基于潜在应用前景的考虑, 大多数研究所使用的种子细胞以成纤维细胞为主. 从表 1 中可以看出一些基本规律: (i)起始细胞与终末细胞发育关系越接近, 转分化相对越容易, 如从 B 细胞到巨噬细胞, 只需要 C/EBP α 或 C/EBP β 1 个转录因子^[5], 而从成纤维细胞到巨噬细胞则需要 PU.1 和 C/EBP α 2 个转录因子^[10]. (ii)不管从转换效率上还是所需的转录因子数量上, 小鼠细胞中进行转分化都比人类细胞相对容易, 如从成纤维细胞转分化到神经元细胞, 小鼠细胞只需要 Ascl1, Brn2 和 Myt1l 3 个转录因子^[13], 而人类细胞则需额外添加 NeuroD1^[14]或 Lmx1a 和 FoxA2^[15]才可实现.

表 1 中所列的转分化过程中涉及的种子细胞和终末细胞大部分为同一胚层来源, 但通过同样的研究策略, 也实现了从成纤维细胞到肝细胞^[18,19]以及

表 1 谱系重编程转分化相关研究^{a)}

起始细胞	终末细胞	策略	效率	种属	文献
B 细胞	巨噬细胞	逆转录病毒载体过表达 C/EBP α 或 C/EBP β	30%	小鼠	[5]
NIH-3T3、胚胎/成体皮肤来源的成纤维细胞	巨噬细胞	逆转录病毒载体过表达 PU.1 和 C/EBP α	36.30%	小鼠	[10]
非心肌胚层、羊膜胚外中胚层	心肌细胞	对培养的胚胎进行 Gata4, Tbx5, Baf60c 的瞬时转染	9/16	小鼠	[11]
新生心肌/皮肤来源的成纤维细胞	分化的心肌样细胞	逆转录或慢病毒载体过表达 Gata4, Mef2c, Tbx5	20.60%	小鼠	[12]
胚胎/新生成纤维细胞	神经元细胞	慢病毒载体过表达 Ascl1, Brn2, Myt1l	5.83%	小鼠	[13]
胚胎成纤维细胞	神经细胞	慢病毒载体过表达 Ascl1, Brn2, Myt1l, NeuroD1	2%~4%	人	[14]
成纤维细胞	多巴胺能神经元细胞	慢病毒载体过表达 Ascl1, Brn2, Myt1l, Lmx1a, FoxA2	16% $\pm$ 4.3%	人	[15]
胚胎成纤维细胞	可自我更新、具三系分化潜能的神经前体细胞	慢病毒载体过表达 Brn2, Sox2, FoxG1	11.50%	小鼠	[16]
胚肺成纤维细胞系 IMR90	多巴胺能神经元样细胞	慢病毒载体过表达 Mash1, Ngn2, Sox2, Nurr1, Pitx3	1%~2%	人	[17]
尾尖成纤维细胞	可增殖的肝细胞样细胞	慢病毒载体过表达 Gata4, Hnf1a, Foxa3, 同时敲除 p19 ^{Arf}	ND (从获得的 11 个上皮克隆中选取 1 个进行鉴定)	小鼠	[18]
胚胎/成体成纤维细胞	肝细胞样细胞	逆转录病毒载体, Hnf4 α 与 Foxa1, Foxa2, Foxa3 中的任 1 种组合共转染	ND	小鼠	[19]
终末分化肝细胞	神经元细胞	慢病毒表达载体, 转录因子 Ascl1, Brn2, Myt1l 的各种组合	12.50%	小鼠	[20]

a) ND: 未检测(Not detected)

肝细胞到神经细胞^[20]的转换,从而彻底实现了自 20 世纪末以来最明确的跨胚层转分化,翻开了再生医学崭新的一页。

2 去分化

去分化是指分化细胞失去原有的分化结构和功能成为具有未分化细胞特性的过程,随后可导致细胞再分化成另一种细胞。以成纤维细胞为种子细胞的 iPS 重编程可以认为是最彻底的一个去分化过程。目前,谱系重编程研究中的去分化策略主要是从成熟分化的细胞到单能或多潜能干/祖细胞,在血液系统、心肌、神经、黑色素细胞中都成功地实现了去分化的研究策略(表 2)。

在去分化研究中,主要使用的转录因子以 iPS 细胞重编程因子为主,在 iPS 重编程条件下去分化至一个“不稳定的中间态”^[25]后,加入各种特异性的因子进一步诱导为目的细胞。但具体因子的组合和使用略有不同,在成纤维细胞中单独使用 Oct-4 转录因子即可达到向造血分化的这种“不稳定的中间态”;而去分化至心肌和神经细胞则需要至少 3 种 iPS 细胞重编程因子,且 Oct-4 均不可或缺^[24,25],但 Thier 等人^[26]则指出 Sox2, Klf4, c-Myc 是神经干细胞(neural stem cell, NSC)本身所表达的转录因子,故在去分化过程中可以一直外源性表达,但外源性过表达 Oct-4 则严

格限制在谱系重编程的起始阶段,从而实现了神经干细胞球样克隆的持续扩增。而另外一项获得可增殖的神经干/祖细胞的研究采用的也是 iPS 细胞重编程因子的瞬时转染^[25],这说明为获得稳定的、可以扩增的目的细胞,外源性的 iPS 细胞重编程因子不能持续处于高表达状态。

有趣的是,在人成纤维细胞中过表达 Oct-4 主要启动的是成体造血程序(adult haematopoietic programs)^[22],在 EPO 因子的作用下,过表达 Oct-4 的 CD45⁺成纤维细胞高表达成体球蛋白(globin) β 而非胚胎期造血球蛋白 ζ ,而球蛋白 ζ 往往在多能干细胞体外向造血分化过程中出现,即启动的是胚胎造血程序(embryonic haematopoietic programs);而在小鼠成体骨髓 LSK⁺造血干/祖细胞中过表达 Lin28 则使其获得了类似于胎肝中造血干/祖细胞的多向重建特性,包括向 B-1a 细胞、边缘带(marginal zone)B 细胞、($\gamma\delta$) T 细胞、自然杀伤 T 细胞(natural killer T cells)等的发育分化增强,这一过程类似于胎儿淋巴细胞形成(fetal lymphopoiesis)^[23]。由于这 2 项研究的种属、起始细胞、转录因子均不同,因此直接比较并不能得出明确的结论,但却说明去分化的路径可能不止一条。

此外值得注意的是,无论转分化还是去分化策略,均实现了目的细胞的增殖和/或自我更新^[16,18,25,26],以 Thier 等人^[26]的研究最为有代表性,他们采用神经

表 2 谱系重编程去分化相关研究^{a)}

起始细胞	终末细胞	策略	效率	种属	文献
成熟 B 细胞	T 细胞	采用条件敲除 Pax5 的转基因小鼠模型使 B 细胞去分化为祖细胞	ND	小鼠	[21]
成体/新生皮肤成纤维细胞	CD45 ⁺ 造血祖细胞	慢病毒过表达 Oct-4 后,在 iPS 重编程条件下培养 21 天后加入造血因子进行诱导	7.5%~56.1%	人	[22]
成体骨髓 LSK ⁺ 造血干/祖细胞	获得类似于胎儿淋巴形成的多潜能重建能力	逆转录病毒载体过表达 Lin28	ND	小鼠	[23]
胚胎成纤维细胞	心肌细胞	逆转录病毒过表达或瞬时转染 Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc(可去除),在 iPS 重编程条件下培养 4~9 天后加入 JAK 抑制剂和 BMP4 诱导分化	40%	小鼠	[24]
胚胎成纤维细胞、成体尾尖成纤维细胞	可增殖的神经干/祖细胞	瞬时转染 Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc 后,在 iPS 重编程条件下培养 4 天后加入神经干细胞相关因子(bFGF, EGF, FGF4)	胚胎成纤维细胞(0.5%~0.69%),成体尾尖成纤维细胞(0.07%)	小鼠	[25]
成纤维细胞	神经干细胞球样克隆,可传代至少 50 代	慢病毒表达载体过表达 Sox2, Klf4, c-Myc, Oct4, 但限制 Oct-4 表达活性于重编程起始阶段	ND	小鼠	[26]
成熟的黑色素细胞	多潜能神经嵴干细胞样细胞	过表达 Notch1 的胞内活性结构域	30%	人	[27]

a) ND: 未检测(not detected)

干细胞培养体系,使其目的细胞在体外扩增 50 代以上,对于其潜在的应用具有重要的意义.

3 转决定

转决定是指将一种定向的但尚未完全分化的细胞类型重编程为另一种细胞类型^[7]. 20 世纪末开始的成体 HSC, MSC 可塑性的研究均可归为此类.

Jang 等人^[28]从小鼠骨髓中分离出一群 Fr25Lin⁻干细胞(采用 25 mL/min 流式分选速率分选出的骨髓干细胞,并去除了成熟细胞),当将这群高度纯化的细胞在体外用 Transwell 膜与损伤的小鼠肝组织共培养 48 h 后, RT-PCR 检测发现有一系列肝细胞相关的基因开始表达,而单独培养或与正常的小鼠肝组织共培养的细胞不表达这些肝特异性基因. 本实验室^[29]通过磁珠分选的方法从脐带血中分选出一群 $\beta_2m^-c-Met^+$ 的细胞,体外与肝星状细胞进行共培养诱导 7 天后,不仅在形态上逐渐变大,在超微结构、mRNA 和蛋白水平表达肝细胞特异性标志,还具备肝细胞特异性的功能,充分证明共培养诱导的脐带血细胞可以转分化为有功能的肝细胞样细胞. 同时,本实验室的研究也表明,人脐带血来源的 MSC 体外可以向神经样细胞诱导分化^[30].

但在随后的研究中,研究者指出细胞融合可能是这种“可塑性”现象的原因所在. 细胞融合是指移植的细胞和宿主细胞的融合,从而产生 1 个包含 2 种细胞遗传元件和细胞器的异核杂交细胞. 细胞融合机制已经在一些正常或病理条件下的肝移植模型中得到了证明,其发生频率为 $1/10^4 \sim 1/10^6$. 来自同一小组的 Wang 等人^[31]和 Vassilopoulos 等人^[32]分别采用 2 种不同的检测方法首次在 *Fah*^{-/-} 小鼠中均检测到杂交细胞的存在,且发现单核-巨噬细胞是造血细胞中与肝细胞发生融合的主要对象. 但 Tanabe 等人^[33]将人的脐带血移植到 SCID 小鼠体内,既检测到含有人和小鼠染色体的肝细胞,也检测到只含有人染色体的肝细胞,表明细胞融合和转决定可能同时发生,也许这才是更接近真实的情况.

但这种只依赖于体外因子诱导或动物损伤模型的转决定策略所产生的目的细胞的频率过低,其潜在的再生医学应用严重受限. 为此,本实验室采用转录因子介导的转决定策略对成体干细胞进行了遗传操作,如在人骨髓 MSC 中过表达脑源性神经营养因

子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)^[34]或敲低(knockdown)神经限制性沉默因子(neuron-restrictive silencer factor, NRSF)^[35],从而增加其向神经样细胞的分化效率. 与此同时,本实验也在 MSC 中过表达胰岛素促进因子-1(pancreatic and duodenal homeobox 1, PDX-1)^[36]或在人羊水来源干细胞中敲低 NRSF^[37]从而增加其向胰腺样细胞的分化效率. 有趣的是,同样是进行 NRSF 敲低的遗传操作,但在人骨髓 MSC 和人羊水干细胞中所导致的功能性分化效果是不同的,这充分说明进行转决定操作的种子细胞所处的发育阶段对于最终分化结果至关重要.

4 生理或病理条件下的细胞类型转换 (physiological or pathogenic cell conversions)

化生是指组织中一种分化细胞为另一种分化细胞替代的过程,通常由异常的慢性炎症刺激导致^[7,38],这种转变是由具有分裂能力的未分化细胞向另一方向分化而成,一般只能转变为性质相似的细胞,常见的有鳞状上皮化生(squamous metaplasia)、肠上皮化生(intestinal metaplasia)、间叶组织化生(mesenchymal tissue metaplasia)等.

另外一种比较常见的细胞类型转换过程称为上皮-间质转换(epithelial-mesenchymal transition, EMT),即上皮细胞中调控 EMT 的关键转录因子 Snail, Slug, Twist 被激活,从而导致细胞黏附能力下降,迁移能力增加,上皮标志蛋白如 E-cadherin 下调,间质标志蛋白如 N-cadherin, Vimentin, α -SMA 表达增加,细胞形态由上皮样转变为成纤维样,该过程在一定条件下是可逆的,即间质-上皮转换(mesenchymalepithelial transition, MET), EMT 和 MET 在胚胎发育、iPS 细胞重编程、肿瘤发生发展等过程中发挥重要作用^[39-41]. 随着谱系追踪技术的不断发展,相信还会继续发现更多的生理性或病理性细胞转换类型. 关于上述几种细胞类型转换的比较和差别如图 1 所示.

5 谱系重编程应用前景展望

在谱系重编程的研究策略上,目前仍以转录因子介导的为主,也有文献报道借助于过表达微小分子 RNA(microRNA, miRNA) miR-9/9* 和 miR-124 实现成纤维细胞向神经细胞的转换^[42],但效率较低,需要

图1 转分化、去分化、转决定、化生比较示意图

1: 转分化; 2: 去分化; 3: 转决定; 4: 化生. 转分化可以在同一胚层来源的2类分化细胞之间转换, 也可发生在不同胚层之间; 去分化的目的细胞可以是不同阶段的干细胞, 种子细胞也可以是具备进一步分化能力的干细胞; 转决定亦可在相同胚层或不同胚层来源的细胞之间进行; 化生只能在病理状态下的2种组织干细胞之间进行. 修改自文献[2]和[38]

外源性同时过表达 NeuroD2 才能得到较高的转换效率, 且是否能够精确控制和预见 miRNA 众多靶分子之间的相互作用网络在谱系重编程中的影响仍是个未知数.

从应用的角度考虑, 添加小分子化合物可能是一个较好的选择, 对于今后谱系重编程因子的成药化或潜在的临床应用都至关重要. 如在去分化策略中, JAK 抑制剂的使用可以抑制外源性导入的 Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc 的持续表达, 从而可以抑制去分化细胞从“不稳定中间态”向 iPS 细胞继续去分化^[24], 在谱系重编程的有效性、安全性上起到很重要的作用, 目前在 iPS 细胞重编程过程中已经发现了众多的小分子化合物^[43], 相信很快就会有大量的适合不同目的细胞的谱系重编程小分子化合物得到发现和应用.

对于转录因子的操作, 可以为过表达(目前大部分情况为过表达)或敲低^[18]或敲除^[21]. 在转录因子转染过程中, 目前大部分研究仍然使用的是病毒表达载体, 在安全性上与此前 iPS 细胞遇到的问题类似, 但目前已经通过瞬转 Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc 实现了成纤维细胞到神经干细胞的转换^[25], 通过瞬时转染

Gata4, Tbx5, Baf60c 实现了非心肌中胚层到心肌细胞的转换^[11], 这是非常重要的研究进展, 因为这种只通过瞬时转染外源性因子介导的、完全的细胞类型转换在未来的干细胞与再生医学转化研究中是最有应用前景的策略之一.

综合各个不同方面的特点, 谱系重编程与 iPS 细胞重编程的比较见表 3.

表 3 中, 谱系重编程细胞规模受限是一个相对性的提法, 是指与 iPS 和胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)近乎无限制的扩增能力相比, 实际上目前已经很好地实现了谱系重编程来源的神经干细胞的扩增和肝细胞的增殖^[18,25,26]. 此外, 体内再生主要是基于 Zhou 等人^[45]的研究结果, 即将表达 Ngn3, Pdx1 和 Mafa 的 3 种转录因子的腺病毒注射入小鼠胰腺外分泌细胞, 1 个月后, 有 2/3 的小鼠转染成功, 有 20% 的转染细胞转分化为分泌胰岛素的 β 细胞, 可将这种体内谱系重编程看作为一种新型的基因治疗策略. 在潜在的致癌风险方面, 由于不经过多能性阶段, 所以风险大大降低, 但需要注意的是, 在去分化策略中要控制好“不稳定中间态”所出现的时间点. 在基础

表 3 谱系重编程的特色与优势^{a)}

	完全重编程(核移植, iPS)	谱系重编程(转分化、去分化等)
重编程因子	已知	少数案例已清楚
重编程动力学	慢	快
重编程效率	低	高
表观遗传学改变情况	去除几乎所有表观标记	去除部分表观标记
细胞分裂	需要	(检测时)不需要
起始细胞种类	所有细胞类型	可能受限于与目的细胞密切相关的细胞类型
目的细胞产品	多能干细胞, 不能直接用于治疗	成熟或祖细胞, 可直接用于治疗
细胞规模	易扩增	受限
体内再生	不能	可能
潜在致癌风险	高	低
个体化制备	实验室阶段	易行

a) 引用和修改自文献[2]和[44]

研究方面, 还需要加快谱系重编程相关的新的转录因子、转换策略及其调控机制的研究。

总之, 相较于 20 世纪末的成体干细胞可塑性研究, 目前谱系重编程研究在 2 个方面取得了长足的进步: (i) 细胞类型转换效率大大提高; (ii) 目的细胞实现了可增殖和扩增。这 2 点奠定了谱系重编程技术今后在再生医学上的应用基础。也许, 在可预见的将来,

对一个卧床多年的病人来说, 采取常规流程培养其皮肤成纤维细胞, 再通过常规试剂盒对细胞进行遗传操作, 进而获得可扩增的特定目的干/祖细胞, 待其大量扩增后注射至其损伤部位从而实现受损组织的再生, 将成为再生医学部门的日常工作内容。这种个体化、量身打造的人工干/祖细胞的应用正是再生医学的最大魅力和应用价值所在。

参考文献

- 1 Yamanaka S. Strategies and new developments in the generation of patient-specific pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell*, 2007, 1: 39–49
- 2 Zhou Q, Melton D A. Extreme makeover: converting one cell into another. *Cell Stem Cell*, 2008, 3: 382–388
- 3 Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, 126: 663–676
- 4 Davis R L, Weintraub H, Lassar A B. Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts. *Cell*, 1987, 51: 987–1000
- 5 Xie H, Ye M, Feng R, et al. Stepwise reprogramming of B cells into macrophages. *Cell*, 2004, 117: 663–676
- 6 Petersen B E, Bowen W C, Patrene K D, et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science*, 1999, 284: 1168–1170
- 7 Graf T, Enver T. Forcing cells to change lineages. *Nature*, 2009, 462: 587–594
- 8 Jiang Y, Jahagirdar B N, Reinhardt R L, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*, 2002, 418: 41–49
- 9 Krause D S, Theise N D, Collector M I, et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell*, 2001, 105: 369–377
- 10 Feng R, Desbordes S C, Xie H, et al. PU.1 and C/EBP α/β convert fibroblasts into macrophage-like cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 6057–6062
- 11 Takeuchi J K, Bruneau B G. Directed transdifferentiation of mouse mesoderm to heart tissue by defined factors. *Nature*, 2009, 459: 708–711
- 12 Ieda M, Fu J D, Delgado-Olguin P, et al. Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors. *Cell*, 2010, 142: 375–386
- 13 Vierbuchen T, Ostermeier A, Pang Z P, et al. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. *Nature*, 2010, 463: 1035–1041
- 14 Pang Z P, Yang N, Vierbuchen T, et al. Induction of human neuronal cells by defined transcription factors. *Nature*, 2011, 476: 220–223
- 15 Pfisterer U, Kirkeby A, Torper O, et al. Direct conversion of human fibroblasts to dopaminergic neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 10343–10348
- 16 Lujan E, Chanda S, Ahlenius H, et al. Direct conversion of mouse fibroblasts to self-renewing, tripotent neural precursor cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 2527–2532

- 17 Liu X, Li F, Stubblefield E A, et al. Direct reprogramming of human fibroblasts into dopaminergic neuron-like cells. *Cell Res*, 2012, 22: 321–332
- 18 Huang P, He Z, Ji S, et al. Induction of functional hepatocyte-like cells from mouse fibroblasts by defined factors. *Nature*, 2011, 475: 386–389
- 19 Sekiya S, Suzuki A. Direct conversion of mouse fibroblasts to hepatocyte-like cells by defined factors. *Nature*, 2011, 475: 390–393
- 20 Marro S, Pang Z P, Yang N, et al. Direct lineage conversion of terminally differentiated hepatocytes to functional neurons. *Cell Stem Cell*, 2011, 9: 374–382
- 21 Cobaleda C, Jochum W, Busslinger M. Conversion of mature B cells into T cells by dedifferentiation to uncommitted progenitors. *Nature*, 2007, 449: 473–477
- 22 Szabo E, Rampalli S, Risueño R M, et al. Direct conversion of human fibroblasts to multilineage blood progenitors. *Nature*, 2010, 468: 521–526
- 23 Yuan J, Nguyen C K, Liu X, et al. Lin28b reprograms adult bone marrow hematopoietic progenitors to mediate fetal-like lymphopoiesis. *Science*, 2012, 335: 1195–1200
- 24 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: 215–222
- 25 Kim J, Efe J A, Zhu S, et al. Direct reprogramming of mouse fibroblasts to neural progenitors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 7838–7843
- 26 Thier M, Wörsdörfer P, Lakes Y B, et al. Direct conversion of fibroblasts into stably expandable neural stem cells. *Cell Stem Cell*, 2012, 10: 473–479
- 27 Zabierowski S E, Baubet V, Himes B, et al. Direct reprogramming of melanocytes to neural crest stem-like cells by one defined factor. *Stem Cells*, 2011, 29: 1752–1762
- 28 Jang Y, Collector M I, Baylin S B, et al. Hematopoietic stem cells convert into liver cells within days without fusion. *Nat Cell Biol*, 2004, 6: 532–539
- 29 Wang Y, Nan X, Li Y, et al. Induction of umbilical cord blood-derived $\beta_2m^+c\text{-Met}^+$ cells into hepatocyte-like cells by coculture with CFSC/HGF cells. *Liver Transpl*, 2005, 11: 635–643
- 30 Hou L, Cao H, Wang D, et al. Induction of umbilical cord blood mesenchymal stem cells into neuron-like cells in vitro. *Int J Hematol*, 2003, 78: 256–261
- 31 Wang X, Willenberg H, Akkari Y, et al. Cell fusion is the principal source of bone marrow derived hepatocytes. *Nature*, 2003, 422: 897–901
- 32 Vassilopoulos G, Wang P, Russell D W. Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion. *Nature*, 2003, 422: 901–904
- 33 Tanabe Y, Tajima F, Nakamura Y, et al. Analyses to clarify rich fractions in hepatic progenitor cells from human umbilical cord blood and cell fusion. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 324: 711–718
- 34 Zhao L X, Zhang J, Cao F, et al. Modification of the brain-derived neurotrophic factor gene: a portal to transform mesenchymal stem cells into advantageous engineering cells for neuroregeneration and neuroprotection. *Exp Neurol*, 2004, 190: 396–406
- 35 Yang Y, Li Y, Lv Y, et al. NRSF silencing induces neuronal differentiation of human mesenchymal stem cells. *Exp Cell Res*, 2008, 314: 2257–2265
- 36 Li Y, Zhang R, Qiao H, et al. Generation of insulin-producing cells from PDX-1 gene-modified human mesenchymal stem cells. *J Cell Physiol*, 2007, 211: 36–44
- 37 Li B, Wang S, Liu H, et al. Neuronal restrictive silencing factor silencing induces human amniotic fluid-derived stem cells differentiation into insulin-producing cells. *Stem Cells Dev*, 2011, 20: 1223–1231
- 38 Slack J M. Metaplasia and transdifferentiation: from pure biology to the clinic. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8: 369–378
- 39 Ouyang G, Wang Z, Fang X, et al. Molecular signaling of the epithelial to mesenchymal transition in generating and maintaining cancer stem cells. *Cell Mol Life Sci*, 2010, 67: 2605–2618
- 40 Thiery J P, Acloque H, Huang R Y, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*, 2009, 139: 871–890
- 41 Abollo-Jiménez F, Jiménez R, Cobaleda C. Physiological cellular reprogramming and cancer. *Semin Cancer Biol*, 2010, 20: 98–106
- 42 Yoo A S, Sun A X, Li L, et al. MicroRNA-mediated conversion of human fibroblasts to neurons. *Nature*, 2011, 476: 228–231
- 43 Li W, Jiang K, Ding S. Concise review: a chemical approach to control cell fate and function. *Stem Cells*, 2012, 30: 61–68
- 44 Vierbuchen T, Wernig M. Direct lineage conversions: unnatural but useful? *Nat Biotechnol*, 2011, 29: 892–907
- 45 Zhou Q, Brown J, Kanarek A, et al. *In vivo* reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to beta-cells. *Nature*, 2008, 455: 627–632

周军年, 理学博士, 1981 年出生, 军事医学科学院助理研究员, 主要从事干细胞与再生医学的应用基础研究.

裴雪涛, 医学博士, 军事医学科学院教授, 博士生导师, 全军干细胞与再生医学重点实验室主任. 主要从事干细胞生物学与再生医学的基础和应用研究. 先后担任国家高技术研究发展计划“干细胞与组织工程”重大专项总体专家组组长, 国家高技术研究发展计划“干细胞治疗临床应用及转化研究”主题项目首席科学家, 国家干细胞研究指导协调委员会委员, 国家“干细胞研究”重大科学研究计划专家组成员, 兼任中国输血协会副理事长、中国细胞生物学会干细胞专业委员会副主任委员、中国生物医药技术协会再生医学专业委员会副主任委员、中国生物医学工程学会干细胞工程专业委员会副主任委员、国家干细胞与再生医学产学研新技术联盟常务副理事长、国际干细胞学会(ISSCR)临床应用委员会委员、《中华细胞与干细胞移植杂志》和《中国输血杂志》

副主编等学术职务. 在 *Hepatology*, *The Journal of Biological Chemistry*, *Stem Cells*, *PLoS ONE* 等国内外学术杂志发表论著 240 余篇, 主编及合作主编专著 9 部, 获得国家和省部级科技进步二等奖以上奖励共 6 项, 获得国家专利授权 24 项, 获得国家药监局(SFDA)干细胞产品临床试验批文 3 项, 总后勤部临床治疗新技术批文 2 项.