

诱导型多能干细胞在神经变性疾病中的作用

涂雪松

【摘要】 诱导型多能干细胞技术是一种通过新的体细胞重编程,将组织细胞转化为可多向分化的细胞即干细胞的技术。目前已将 4 种转录因子导入人体皮肤纤维母细胞,并首次成功诱导出诱导型多能干细胞。此项技术不但可以建立神经系统疾病动物模型,用于发病机制和致病基因的研究,而且可以开展移植研究,验证疗效及筛选药物。

【关键词】 多能干细胞; 细胞分化; 神经系统疾病; 综述

Effect of induced pluripotent stem cells in neurodegenerative diseases

TU Xue-song

Department of Neurology, Cerebrovascular Disease Hospital, Beijing 100039, China

(Email: tmm_888@163.com)

【Abstract】 Induced pluripotent stem cells (iPSCs) using a new technology of somatic cell reprogramming can convert tissue cells to multi-directional differentiated cells (the stem cells). By this way, in 2006, Dr. Yamanaka, et al converted four transcription factors into human skin fibroblasts, and derived iPSCs for the first time. The emergence of iPSCs model is significant. This technique not only can establish nervous system disease animal model to study the pathogenesis of human nervous system diseases and find the key pathogenic genes, but also can carry out cell transplantation test, verify the curative effect and perform drug screening.

【Key words】 Multipotent stem cells; Cell differentiation; Nervous system diseases; Review

动物模型是研究神经系统疾病病因和机制的重要平台。部分疾病之所以成为难治性疾病,究其原因无法建立这种研究平台,不能有效开展对病因和机制的研究。因此,建立动物模型一直是神经病学研究者的夙愿。诱导型多能干细胞(iPSCs)的诞生使这种愿望成为可能,借助此项技术建立的动物模型不仅能够开展对病因和机制的研究,而且还能够对治疗药物进行筛选和进行神经干细胞(NSCs)动物移植实验,为未来开展神经干细胞临床移植试验做准备。目前,关于神经系统疾病诱导型多能干细胞的动物实验已经取得初步成果,但距离临床应用尚存在较大差距,仍需继续完成更艰巨的基础研究任务。

一、诱导型多能干细胞的由来和意义

人体胚胎干细胞(ESCs)可以发育成组织细胞,

同样,人体组织细胞亦可逆转为干细胞。体细胞重编程就是一种将已分化的体细胞逆转为干细胞的技术,Yuan等^[1]提出的体细胞重编程机制是:改变细胞表观遗传学途径,使体细胞逆转为干细胞,其程序分为体细胞胞核移植、细胞融合和干细胞转录因子诱导。前两种方法分别于1952和1976年创立并开展研究,干细胞转录因子诱导则是近期才创立的重编程方法,是一项通过载体将转录因子导入人体细胞,诱导其逆转为干细胞的技术。采用此种方法诱导获得的干细胞,即为诱导型多能干细胞。目前,常用的转录因子有4种,Wu等^[2]仅用1种转录因子即将小鼠胚外组织细胞逆转为诱导型多能干细胞。诱导型多能干细胞技术的优点是简单性和可重复性^[3]、临床应用无伦理学争议、细胞保持正常核形、可分化成多种组织细胞、取材广泛等。Higgins等^[4]发现,人体大部分组织细胞均可逆转为诱导型多能干细胞。对神经科学而言,诱导型多能干细胞技术具有多重意义,目前主要用于建立疾病模型、研究发病机制、开展诱导型多能干细胞移植动物实

doi: 10.3969/j.issn.1672-6731.2014.04.017

作者单位: 100039 北京脑血管病医院神经内科,

Email: tmm_888@163.com

验等,为未来开展临床移植试验做准备。

动物模型系指将基因突变者的诱导型多能干细胞移植至动物脑组织而建立的疾病模型。凭借动物模型可以对神经系统疾病发病机制进行研究,既可重演单基因遗传性疾病表型,亦可再现迟发性多基因遗传性疾病表型。此外,还可以通过动物模型寻找关键的致病基因。诱导型多能干细胞移植研究包括神经系统疾病患者自身移植试验和动物模型移植实验。前者试验步骤和目的是:先对基因突变者的诱导型多能干细胞进行基因打靶,剔除突变基因,使基因恢复至野生状态(即正常状态),再将诱导型多能干细胞转化为神经细胞,移植至病灶区,以治疗神经系统疾病。后者实验步骤和方法是:先建立神经系统疾病动物模型,再将诱导型多能干细胞移植至动物模型,以观察其治疗效果。

二、动物模型制备

将基因突变者的体细胞逆转为诱导型多能干细胞,再移植至动物体内,即可获得含突变基因的神经系统疾病动物模型。Inoue^[5]利用诱导型多能干细胞技术,将肌萎缩侧索硬化症(ALS)患者的体细胞逆转为诱导型多能干细胞,经体外培养建立了特异性诱导型多能干细胞系,后者可移植至动物脑组织,制备动物模型,用于肌萎缩侧索硬化症的实验研究。Yahata等^[6]和Israel等^[7]采用同样技术,建立了阿尔茨海默病(AD)动物模型。Oshimura等^[8]亦采用此项技术建立了Duchenne型肌营养不良(DMD)的诱导型多能干细胞系,也可以根据研究需要,随时制备动物模型。

三、神经系统疾病发病机制

1. 帕金森病 (1) *LRRK2* 基因: Nguyen等^[9]将 *LRRK2*(*PARK8*) 基因突变的帕金森病(PD)患者的体细胞逆转为诱导型多能干细胞,继而转化为多巴胺能神经元,与来自正常人的诱导型多能干细胞转化的多巴胺能神经元相比较,其氧化应激基因和 *SNCA* 基因表达水平均明显升高,神经元对过氧化氢、MG-132、6-羟多巴胺(6-OHDA)敏感性和细胞脆性增加,抗氧化能力降低,促进细胞凋亡。该实验证实, *LRRK2* 基因突变导致多巴胺能神经元凋亡,是帕金森病致病基因。该基因定位于12q12,所编码的 *LRRK2* 蛋白主要存在于大脑皮质、尾状核、黑质、小脑浦肯野细胞,以及海马、下丘脑、杏仁核(边缘系统),是迟发性常染色体显性遗传性帕金森病的致病基因。(2) *PARK1* 基因: Devine等^[10]将来自

PARK1(*SNCA*) 基因三倍体突变的帕金森病患者的体细胞逆转为诱导型多能干细胞,继而转化为多巴胺能神经元,与正常人诱导获得的多巴胺能神经元相比,其诱导型多能干细胞高度表达 *PARK1* 基因,且是后者的2倍,表明 *PARK1* 基因是帕金森病致病基因。在 Byers等^[11]的研究中,通过诱导型多能干细胞技术,将 *SNCA* 基因三倍体突变患者的体细胞转化为多巴胺能神经元,结果显示其较正常神经元更易发生凋亡,提示 *SNCA* 基因三倍体突变是帕金森病之发病机制。Soldner等^[12]先将 *SNCA* 基因突变患者的体细胞逆转为诱导型多能干细胞,再以基因打靶方法剔除突变基因并转化为多巴胺能神经元,经检测证实这些多巴胺能神经元正常,表明 *SNCA* 基因突变是帕金森病的发病机制。日本庆应义塾大学 Yagi等^[13]对帕金森病患者诱导型多能干细胞分化获得的神经元,与生前身体健康百岁老年人死亡2天内经诱导型多能干细胞分化获得的神经元进行比较,发现前者 *SNCA* 基因水平是后者的2倍,提示 *PARK1* 基因是帕金森病的常见致病基因,该基因突变可通过 α -突触共核蛋白(α -Syn)聚集而产生时间毒性,导致帕金森病。 α -突触共核蛋白是路易小体(LB)的主要成分,而路易小体是帕金森病的特征性病理改变, *PARK1* 基因突变引起的主要病理改变是路易小体形成,其次是非特异性皮质海绵样变性,该基因突变包括 A53T 突变、三倍体重复突变、二倍体重复突变和 E46K 突变。(3) *PINK1* 基因: Seibler等^[14]将 *PINK1*(*PARK6*) 基因突变患者的诱导型多能干细胞转化为多巴胺能神经元,经检测发现,由 *PINK1* 基因介导的线粒体趋化能力下降、数目增加;上调野生型 *PINK1* 基因表达后,其线粒体趋化能力得到改善,表明该基因是帕金森病致病基因。该基因定位于1p35-36,所编码的 *PINK1* 蛋白位于线粒体膜,为神经元线粒体蛋白,是常染色体隐性遗传性帕金森病和慢性进展性早发性帕金森病的第二大致病基因。(4) *PARK2* 基因: 美国布法罗大学的 Jiang等^[15]分别将 *PARK2*(*Parkin*) 基因突变患者和正常对照者的皮肤细胞逆转为诱导型多能干细胞,并分化为多巴胺能神经元,前者多巴胺能神经元存活力下降。他认为,这是由于 *PARK2* 基因突变导致更多的氧自由基产生,攻击多巴胺能神经元使其发生凋亡。 *PARK2* 基因定位于6q25.2-27,是常染色体隐性遗传性帕金森病和慢性进展性早发性帕金森病的首位致病基因,其病理改变为黑质、

蓝斑神经元缺失,但无路易小体形成。

2. 亨廷顿病 一般认为, *HTT* 基因中出现多个胞嘧啶-腺嘌呤-鸟嘌呤(CAG)重复序列,形成异常的Huntington蛋白在细胞内聚集,产生细胞毒性,造成神经元凋亡,是亨廷顿病(HD)的分子生物学机制。Zhang等^[16]从含72个CAG重复序列的亨廷顿病患者的诱导型多能干细胞中分化获得神经细胞,发现这些神经细胞极易发生凋亡,且谷氨酰胺载体水平明显降低。表明CAG重复序列是亨廷顿病的分子生物学机制,而谷氨酰胺载体水平降低可能是神经细胞易凋亡的生化原因。复旦大学医学院的研究小组将来自人胚胎干细胞的大量 γ -氨基丁酸(GABA)能神经元移植至亨廷顿病模型小鼠脑组织后,小鼠运动功能明显改善^[17]。提示 γ -氨基丁酸能神经元缺失可以导致亨廷顿病,故 γ -氨基丁酸能神经元凋亡是亨廷顿病的发病机制。

3. 运动神经元病 根据受损部位,运动神经元病(MND)可以分为肌萎缩侧索硬化症和脊髓性肌萎缩(SMA)。其发病与大量运动神经元凋亡有关,但凋亡机制尚未阐明。一般认为,线粒体是决定细胞生死的关键细胞器,线粒体损伤可释放凋亡蛋白,通过一系列级联反应,激活Caspases家族蛋白,诱发细胞凋亡。约80%的家族性肌萎缩侧索硬化症患者是由超氧化物歧化酶(SOD)基因突变所致,该基因突变可引起超氧化物歧化酶减少、氧自由基增加,导致线粒体损伤,继而诱发运动神经元凋亡。(1) *TDP-43* 基因:英国爱丁堡大学Bilican等^[18]在将运动神经元病患者的诱导型多能干细胞分化为运动神经元的过程中,发现TDP-43蛋白变性与90%的运动神经元凋亡有关, *TDP-43* 基因突变引起线粒体损伤而致运动神经元凋亡,可能是运动神经元病的发病原因。日本京都大学Egawa等^[19]研究发现,肌萎缩侧索硬化症患者运动神经元负责信号转导的突触(树突)长度仅为正常运动神经元的50%,且胞质上存在TDP-43蛋白聚集。这一现象与*TDP-43* 基因突变导致的TDP-43蛋白聚集有关,是肌萎缩侧索硬化症的发病机制。(2) *VAPB* 基因:Mitne-Neto等^[20]采用诱导型多能干细胞技术将*VAPB* 基因突变的肌萎缩侧索硬化症患者的体细胞转化为运动神经元,但存活力明显降低。表明*VAPB* 基因突变导致运动神经元存活力降低,可能是肌萎缩侧索硬化症的发病原因。(3) *SMN1* 基因:Bradly等^[21]以慢病毒为载体获得*SMN1* 基因突变脊

髓性肌萎缩患者的诱导型多能干细胞,并分化为运动神经元,与正常人诱导型多能干细胞分化获得的运动神经元相比,前者存活力下降,细胞内有较多蛋白质聚集体。表明*SMN1* 基因突变是脊髓性肌萎缩的遗传因素, *SMN1* 基因突变产生异常蛋白质聚集体,其毒性反应造成运动神经元存活力下降。

4. 阿尔茨海默病 Yagi等^[22]将早老素1和2(*PS-1*和*PS-2*)基因突变患者的诱导型多能干细胞分化为神经元,发现这些神经元内有许多A β 蛋白聚集,此为阿尔茨海默病的病理改变之一,导致A β 蛋白形成的基因突变即为阿尔茨海默病的发病机制。

5. 脆性X染色体综合征 *FMR1* 基因胞嘧啶-鸟嘌呤-鸟嘌呤(CGG)三核苷酸重复序列异常复制,导致其所编码的FMRP蛋白缺失,引起神经元减少和突触前功能障碍,诱发脆性X染色体综合征(FXS)。Liu等^[23]将*FMR1* 基因突变患者的诱导型多能干细胞移植至动物模型,诱导后获得的神经元发育异常,其表型呈畸变且突触前功能异常,推测*FMR1* 基因突变导致FMRP蛋白缺失,可能是脆性X染色体综合征的发病机制。

6. Rett综合征 是一种神经系统遗传性疾病,甲基化CpG结合蛋白2(*MECP2*)基因突变和谷氨酸能神经元突触形成减少为其发病机制,临床表现为进行性智力退化和孤独症。Farra等^[24]将*MECP2* 基因突变患者的诱导型多能干细胞移植至动物模型,发现谷氨酸能神经元形态异常、突触形成减少。Cheung等^[25]通过Rett综合征诱导型多能干细胞动物模型进行尸体解剖和电生理学研究,发现Rett综合征动物和患者脑组织谷氨酸能神经元体积均明显缩小,突触数目减少。

四、诱导型多能干细胞技术在动物或人体移植研究中的应用

应用诱导型多能干细胞转化为各种神经细胞,有利于开展动物实验和自体移植试验。人体多种组织细胞均可逆转为诱导型多能干细胞,再转化为各种神经细胞。目前,应用诱导型多能干细胞技术已获得神经胶质细胞^[26],并将脐带血转化为神经干细胞或少突胶质细胞^[27-28]、皮肤细胞转化为神经干细胞^[29]。美国凯斯西储大学Najm等^[30]将小鼠皮肤细胞逆转为诱导型多能干细胞,继而分化为少突胶质前体细胞,移植于小鼠体内后,在其神经组织周围可见新的髓鞘细胞产生。诱导型多能干细胞尚可转化为神经前体细胞,后者在*LMX1A* 基因过表达

的环境中可进一步分化为多巴胺能神经元,经检测发现,无论是其细胞标志物表达水平、生理学特性,还是整合进入纹状体的能力,均与宿主脑组织中原有神经元无明显差异^[31]。此外,应用诱导型多能干细胞技术亦可获得运动神经元^[32],并可将红细胞逆转为诱导型多能干细胞^[33]。由于血液标本较皮肤标本更易获得,因此,此项技术对扩展诱导型多能干细胞来源细胞具有重要意义。但亦有学者认为其安全性尚待验证。中国科学院广州生物医药与健康研究院应用诱导型多能干细胞技术,将人体尿液细胞转化为具有神经功能的干细胞^[34]。这一技术的诞生,有两方面意义:一方面,为神经干细胞寻找到了更方便的细胞来源;另一方面,促进了自体神经干细胞移植试验的开展。Filareto 等^[35]率先将 *dystrophin* 和 *utrophin* 基因突变的 Duchenne 型肌营养不良小鼠皮肤细胞逆转为诱导型多能干细胞,再转化为肌肉干细胞,然后采用 *microutrophin* 基因对肌肉干细胞行基因修复,修复后的肌肉干细胞植入 Duchenne 型肌营养不良模型小鼠,经过一段时间后新的肌纤维形成,且刺激后可产生收缩反应。

五、结束语

自 2006 年 Takahashi 和 Yamanaka^[36]采用重编程技术将小鼠纤维母细胞成功逆转为诱导型多能干细胞以来,该项研究即成为生物医学的热点。2008 年,诱导型多能干细胞被 *Science* 评为世界十大科学进展之首;2009 年,相继建立了人脊髓性肌萎缩和帕金森病的诱导型多能干细胞细胞系和模型;此后,又陆续有其他神经变性疾病的诱导型多能干细胞细胞系和模型建立。这些细胞系和模型的建立,有力地推动了对神经变性疾病发病机制的研究。由于诱导型多能干细胞技术的诞生仅有 8 年时间,在诸多方面还存在不足,尚有许多需要改进和深入研究的方面,例如,在制备技术上,转化率不高、转化时间较长;在安全性上,存在成瘤性;在临床应用上,诱导型多能干细胞分化至何阶段适合移植?移植后能否长期存活?能否与宿主细胞形成突触联系?携带治疗基因移植后,基因过表达是否对宿主产生不良影响?关于诱导型多能干细胞移植后成瘤性的研究,Wernig 等^[37]采用荧光活化细胞分选系统(FACS)对诱导型多能干细胞分化获得的多巴胺能神经元进行筛查,并将其中的诱导型多能干细胞剔除,以保证移植后的安全性,对移植大鼠进行观察,未发现肿瘤生长;中国科学院上海生命

科学研究院通过诱导自杀基因 *caspase-1* 表达,特异性杀死未分化的胚胎干细胞,再将经 *caspase-1* 处理的胚胎干细胞移植至鼠脑,亦未发现肿瘤生长^[38]。上述研究对解决干细胞移植的成瘤性具有参考意义,但是否适用于诱导型多能干细胞,尚待在今后的工作中进一步验证和研究。

参 考 文 献

- [1] Yuan X, Wan H, Zhao X, Zhu S, Zhou Q, Ding S. Brief report: combined chemical treatment enables OCT4 - induced reprogramming from mouse embryonic fibroblasts. *Stem Cells*, 2011, 29:549-553.
- [2] Wu T, Wang H, He J, Kang L, Jiang Y, Liu J, Zhang Y, Kou Z, Liu L, Zhang X, Gao S. Reprogramming of trophoblast stem cells into pluripotent stem cells by OCT4. *Stem Cells*, 2011, 29: 755-763.
- [3] Yamanaka S. Induced pluripotent stem cells: past, present, and future. *Cells Stem Cell*, 2012, 10:678-684.
- [4] Higgins CA, Itoh M, Itou K, Richardson GD, Jahoda CA, Christiano AM. Reprogramming of human hair follicle dermal papilla cell into induced pluripotent stem cells. *J Invest Dermatol*, 2012, 132:1725-1727.
- [5] Inoue H. ALS patient-specific iPSC cells. *Rinsho Shinkeigaku*, 2012, 52:1137-1138.
- [6] Yahata N, Asai M, Kitaoka S, Takahashi K, Asaka I, Hioki H, Kaneko T, Maruyama K, Saido TC, Nakahata T, Asada T, Yamanaka S, Iwata N, Inoue H. Anti - A β drug screening platform using human iPSC cell-derived neurons for the treatment of Alzheimer's disease. *PLoS One*, 2011, 6:E25788.
- [7] Israel MA, Yuan SH, Bardy C, Reyna SM, Mu Y, Herrera C, Hefferan MP, Van Gorp S, Nazor KL, Boscolo FS, Carson CT, Laurent LC, Marsala M, Gage FH, Remes AM, Koo EH, Goldstein LS. Probing sporadic and familial Alzheimer's disease using induced pluripotent stem cells. *Nature*, 2012, 482:216-220.
- [8] Oshimura M, Kazuki Y, Uno N. Challenge toward gene-therapy using iPSC cells for Duchenne muscular dystrophy. *Rinsho Shinkeigaku*, 2012, 52:1139-1142.
- [9] Nguyen HN, Byers B, Cord B, Shcoglovitov A, Bytne A, Byme J, Gujar P, Kee K, Schüle B, Dolmetsch RE, Langston W, Palmer TD, Pera RR. LRRK2 mutant iPSC-derived DA neurons demonstrate increased susceptibility to oxidative stress. *Cell Stem Cell*, 2011, 8:267-280.
- [10] Devine MJ, Ryten M, Vodicka P, Thomson AJ, Burdon T, Houlden H, Cavaleri F, Nagano M, Drummond NJ, Taanman JW, Schapira AH, Gwinn K, Hardy J, Lewis PA, Kunath T. Parkinson's disease induced pluripotent stem cells with triplication of the α -synuclein locus. *Nat Commun*, 2011, 2:440.
- [11] Byers B, Lee H, Reijo Pera R. Modeling Parkinson's disease using induced pluripotent stem cells. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2012, 12:237-242.
- [12] Soldner F, Laganière J, Cheng AW, Hochemyer D, Gao Q, Alagappan R, Khurana V, Golbe LI, Myers RH, Lindquist S, Zhang L, Guschin D, Fong LK, Vu BJ, Meng X, Urnov FD, Rebar EJ, Gregory PD, Zhang HS, Jaenisch R. Generation of isogenic pluripotent stem cells differing exclusively at two early onset Parkinson point mutations. *Cell*, 2011, 146:318-331.
- [13] Yagi T, Kosakai A, Ito D, Akamatsu W, Nihei Y, Nabetani A, Ishikawa F, Arai Y, Hirose N, Okano H, Suzuki N.

- Establishment of induced pluripotent stem cells from centenarians for neurodegenerative disease research. *PLoS One*, 2012, 7:E41572.
- [14] Seibler P, Jeong H, Simunovic F, Klein C, Krainc D. Mitochondrial Parkin recruitment is impaired in neurons derived from mutant PINK1 induced pluripotent stem cells. *J Neurosci*, 2011, 31:5970-5976.
- [15] Jiang H, Ren Y, Yuen EY, Zhong P, Ghaedi M, Hu Z, Azabdaftari G, Nakaso K, Yan Z, Feng J. Parkin controls dopamine utilization in human midbrain dopaminergic neurons derived from induced pluripotent stem cells. *Nat Commun*, 2012, 3:668.
- [16] Zhang N, An MC, Montoro D, Ellerby LM. Characterization of human Huntington's disease cell model from induced pluripotent stem cells. *PLoS Curr*, 2010, 2:RRN1193.
- [17] Ma L, Hu B, Liu Y, Vermilyea SC, Liu H, Gao L, Sun Y, Zhang X, Zhang SC. Human embryonic stem cell - derived GABA neurons correct locomotion deficits in quinolinic acid-lesioned mice. *Cell Stem Cell*, 2012, 10:455-464.
- [18] Bilican B, Serio A, Barmada SJ, Nishimura AL, Sullivan GJ, Carraco M, Phatnani HP, Puddifoot CA, Story D, Fletcher J, Park IH, Friedman BA, Daley GQ, Wyllie DJ, Hardingham GE, Wilmot I, Finkbeiner S, Maniatis T, Shaw CE, Chandran S. Mutant induced pluripotent stem cell lines recapitulate aspects of TDP-43 proteinopathies and reveal cell-specific vulnerability. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109:5803-5808.
- [19] Egawa N, Kitaoka S, Tsukita K, Naitoh M, Takahashi K, Yamamoto T, Adachi F, Kondo T, Okita K, Asaka I, Aoi T, Watanabe A, Yamada Y, Morizane A, Takahashi J, Ayaki T, Ito H, Yoshikawa K, Yamawaki S, Suzuki S, Watanabe D, Hioki H, Kaneko T, Makioka K, Okamoto K, Takuma H, Tamaoka A, Hasegawa K, Nonaka T, Hasegawa M, Kawata A, Yoshida M, Nakahata T, Takahashi R, Marchetto MC, Gage FH, Yamanaka S, Inoue H. Drug screening for ALS using patient - specific induced pluripotent stem cells. *Sci Transl Med*, 2012, 4:145ra104.
- [20] Mitne-Neto M, Machado-Cosa M, Marchetto MC, Bengtson MH, Joazeiro CA, Tsuda H, Bellen HJ, Silva HC, Oliveira AS, Lazar M, Muotri AR, Zatz M. Downregulation of VAPB expression in motor neurons derived from induced pluripotent stem cells of ALS8 patients. *Hum Mol Genet*, 2011, 20:3642-3652.
- [21] Bradley CK, Scott HA, Chami O, Peura TT, Dumevska B, Schmidt U, Stojanov T. Derivation of Huntington's disease - affected human embryonic stem cell lines. *Stem Cells Dev*, 2010, 20:495-502.
- [22] Yagi T, Ito D, Okada Y, Akamatsu W, Nihei Y, Yoshizaki T, Yamanaka S, Okano H, Suzuki N. Modeling familial Alzheimer's disease with induced pluripotent stem cells. *Hum Mol Genet*, 2011, 20:4530-4539.
- [23] Liu J, Kiscielska KA, Cao Z, Hulsizer S, Grace N, Mitchell G, Nacey C, Githinji J, McGee J, Garcia - Arocena D, Hagerman RJ, Nolte J, Pessah IN, Hagerman PJ. Signaling defects in iPSC-derived fragile X premutation neurons. *Hum Mol Genet*, 2012, 21:3795-3805.
- [24] Farra N, Zhang WB, Pasceri P, Eubanks JH, Salter MW, Ellis J. Rett syndrome induced pluripotent stem cell-derived neurons reveal novel neurophysiological alterations. *Mol Psychiatry*, 2012, 17:1261-1271.
- [25] Cheung AY, Horvath LM, Grafodatskaya D, Pasceri P, Weksberg R, Hotta A, Carrel L, Ellis J. Isolation of MECP2-null Rett Syndrome patient hiPS cells and isogenic controls through X-chromosome inactivation. *Hum Mol Genet*, 2011, 20:2103-2115.
- [26] Emdad L, D'Souza SL, Kothari HP, Qadeer ZA, Germano IM. Efficient differentiation of human embryonic and induced pluripotent stem cells into functional astrocytes. *Stem Cells Dev*, 2012, 21:404-410.
- [27] Giorgetti A, Marchetto MC, Li M, Yu D, Fazzina R, Mu Y, Adamo A, Paramonov I, Cardoso JC, Monasterio MB, Bardy C, Cassiani - Ingoni R, Liu GH, Gage FH, Izpisua Belmonte JC. Cord blood-derived neuronal cells by ectopic expression of Sox2 and c-Myc. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109:12556-12561.
- [28] Davis H, Guo X, Lambert S, Stancescu M, Hickman JJ. Small molecule induction of human umbilical stem cells into MBP-positive oligodendrocytes in a defined three - dimensional environment. *ACS Chem Neurosci*, 2012, 3:31-39.
- [29] Shi Y, Kirwan P, Smith J, Robinson HP, Livesey FJ. Human cerebral cortex development from pluripotent stem cells to functional excitatory synapses. *Nat Neurosci*, 2012, 15:477-486.
- [30] Najm FJ, Lager AM, Zaremba A, Wyatt K, Capriello AV, Factor DC, Karl RT, Maeda T, Miller RH, Tesar PJ. Transcription factor - mediated reprogramming of fibroblasts to expandable, myelinating oligodendrocyte progenitor cells. *Nat Biotechnol*, 2013, 31:426-433.
- [31] Sánchez-Danés A, Consiglis A, Richaud Y, Rodríguez-Pizà I, Dehay B, Edel M, Bové J, Memo M, Vila M, Raya A, Izpisua Belmonte JC. Efficient generation of A9 midbrain dopaminergic neurons by lentiviral delivery of LMX1A in human embryonic stem cells. *Hum Gene Ther*, 2012, 23:56-69.
- [32] Martin LJ, Chang Q. Inhibitory synaptic of motoneurons: a new target of disease mechanisms in amyotrophic lateral sclerosis. *Mol Neurobiol*, 2012, 45:30-42.
- [33] Geti I, Ormiston ML, Rouhani F, Toshner M, Movassagh M, Nichols J, Mansfield W, Southwood M, Bradley A, Rana AA, Vallier L, Morrell NW. A practical and efficient cellular substrate for a generation of induced pluripotent stem cells from adults: blood - derived endothelial progenitor cells. *Stem Cells Trans Med*, 2012, 1:855-865.
- [34] Wang L, Wang L, Huang W, Su H, Xue Y, Su Z, Liao B, Wang H, Bao X, Qin D, He J, Wu W, So KF, Pan G, Pei D. Generation of integration-free neural progenitor cells from cells in human urine. *Nat Methods*, 2013, 10:84-89.
- [35] Filaretto A, Parker S, Darabi R, Borges L, Iacoino M, Schaaf T, Mayerhofer T, Chamberlain JS, Ervasti JM, McIvor RS, Kyba M, Perlingeiro RC. An ex vivo gene therapy using inducible pluripotent stem cells. *Nat Commun*, 2013, 4:1549.
- [36] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, 126:663-676.
- [37] Wernig M, Zhao JP, Pruszak J, Hedlund E, Fu D, Solner F, Broccoli V, Constantine - Paton M, Isacson O, Jaenisch R. Neurons derived from reprogrammed fibroblasts functionally integrate into the fetal brain and improve symptoms of rats with Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105:5856-5861.
- [38] Wang Y, Yang D, Song L, Li T, Yang J, Zhang X, Le W. Mifepristone - inducible caspase - 1 expression in mouse embryonic stem cells eliminates tumor formation but spares differentiated cells in vitro and in vivo. *Stem Cells*, 2012, 30:169-179.

(收稿日期:2014-01-05)