

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.12.031

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.12.031>

· 综述 ·

山中伸弥四因子替代者行诱导多能干细胞重编程的研究进展

陈瑞平^{1,2}, 谢庆², 刘菁², 郭惠明² 综述 赵明一³ 审校

(1. 华南理工大学医学院, 广州 510006; 2. 广东省心血管病研究所, 广东省人民医院, 广东省医学科学院心外科, 广州 510080; 3. 中南大学湘雅三医院儿科, 长沙 410013)

[摘要] 2006年日本学者山中伸弥(Shinya Yamanaka)率先采用病毒载体向体细胞内导入4个转录因子(Oct4, Sox2, Klf4及c-Myc), 重编程后获得类似胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)和胚胎APSC多能细胞的一种类型——诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)。生成iPSC的技术相对简单和稳定, 不需使用卵细胞或者胚胎, 而是利用人体其他细胞, 从而避免了伦理争议与法律难题。此外, 生成iPSC的技术增加了干细胞在临床疾病治疗中的应用, 在细胞替代性治疗、发病机制的研究、新药筛选等方面具有巨大的潜在价值。然而, 随着生成iPSC的技术的发展, 其弊端和问题也逐渐凸显, 如原癌基因的致癌性、部分重编程的不完全性、诱导效率低下等。因此, 研究者们试图寻找山中伸弥四因子的替代者并尝试优化重编程系统, 如替换具有致癌性的转录因子、添加提高重编程效率的转录因子或化合物, 甚至完全摒弃转录因子而使用小分子化合物诱导重编程, 从而在一定程度上避免潜在缺陷。

[关键词] 诱导多能干细胞; 山中伸弥四因子; 重编程; 替代

Research progress in the substitutes of Yamanaka four factors in reprogramming induced-pluripotent stem cell

CHEN Ruiping^{1,2}, XIE Qing², LIU Jing², GUO Huiming², ZHAO Mingyi³

(1. School of Medicine, South China University of Technology, Guangzhou 510006; 2. Department of Cardiac Surgery, Guangdong Cardiovascular Institute, Guangdong General Hospital, Guangzhou 510080; 3. Department of Pediatrics, Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410013, China)

Abstract In 2006, the Japanese scholar Yamanaka firstly introduced the induced pluripotent stem cells (iPSC) by introducing four transcription factors (Oct4, Sox2, Klf4 and c-Myc) into the somatic cells with viral vectors. After reprogramming, the function of the iPSC is similar to embryonic stem cells (ESC) and embryonic pluripotent

收稿日期 (Date of reception): 2017-07-24

通信作者 (Corresponding author): 赵明一, Email: mingyi.zhao@childrens.harvard.edu

基金项目 (Foundation item): 国家自然科学基金 (81570279, 81370230); 2015 年广州市科技计划产学研协同创新重大专项 (201508020107); 2016 年广东省医学科研基金 (A209216); 中南大学湘雅三医院“新湘雅人才工程” (JY201524)。This work was supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81570279, 81370230), Guangzhou Science and Technology Major Project of Industry University Research Synergetic Innovation (201508020107), Medical Scientific Research Foundation of Guangdong Province (A209216), and The New Talents Project of the Third Xiangya Hospital of Central South University (JY201524), China.

APSC cells. iPSC technology is simpler and more stable, using other human body cells instead of ova and embryos, thereby avoiding ethical and legal challenges. In addition, iPSC technology has further enhanced the application of stem cells in clinical disease treatments, and has great potential value in cell replacement therapies, pathogenesis researches, drug screenings and so on. However, with the development of iPSC technology, its drawbacks and problems are highlighted, such as carcinogenicity of proto oncogenes, incomplete reprogramming and low efficiency of induction. Therefore, in order to avoid these disadvantages, researchers have been trying to seek the substitutes to replace the OKSM and to optimize the reprogramming system. This review mainly focuses on the latest progress of alternative methods to the OKSM guidance system, in order to gain the iPSC with more thorough reprogramming in a safer and more efficient way, and to promote stem cell therapy for clinical application and development.

Keywords induced pluripotent stem cells; Yamanaka's four transcription factors; reprogramming; substitute

2006年日本学者山中伸弥(Shinya Yamanaka)^[1]首次利用4个转录因子——Oct4, Klf4, Sox2及c-Myc将体细胞经过培养后诱导成为具有类似胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)生物学特征的多能性的细胞,他将这些细胞命名为诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)。这个技术打破了一直以来对于干细胞能分化为体细胞这一过程不可逆的认识,为获取干细胞提供了一个新途径。这些细胞在实验室中表现出与胚胎干细胞相当的能力,又避开了胚胎干细胞的伦理问题,不受法律与伦理道德的束缚,在很大程度上减少了干细胞移植医学上的免疫排斥问题,使干细胞向临床应用又迈进了一大步,在疾病模拟、药物筛选和细胞治疗中有着巨大的应用前景,被人们视为细胞疗法的新希望,成为近年来干细胞研究领域的热点^[2]。

山中伸弥找到的四因子诱导系统无论是在十年前还是在当下都是主流的诱导方法,但其存在的两个安全隐患,决定iPSC无法在短时间内进入临床应用。首先, c-Myc除是编码转录因子,还是一个原癌基因,因而iPSC容易发生癌变。第二个安全隐患来自基因载体——反转录病毒(retroviruses)。利用这类载体向细胞插入基因,会使生成的干细胞携带病毒,而且反转录病毒还可能诱导细胞突变,导致癌症。此外, iPSC在重编程过程中还存在低效率和不完全性等问题^[3]。为使其在基础领域有所应用并推广至临床,获得更安全、更高效、重编程更彻底的iPSC及寻找更安全高效的诱导途径变得非常重要。因子替换为可行的优化方法之一。该去寻找怎样的替代者? 筛选新的转录因子,还是使用小分子化合物? 不同的科学家以不同的物质作为研究对象,展开了一系列筛选替换实验。

1 四因子替代方法

1.1 代替 Oct4

Oct4是哺乳动物POU家族的转录因子,亦称为Pou5f1,在早期胚胎细胞和生殖细胞中高表达。Oct4对于哺乳动物生命周期中细胞全能性建立非常重要,Oct4不足的胚胎可以发育到囊胚阶段,但是内细胞团没有多能性^[4]。由此推测该基因很有可能是多能性环路上游调控基因。使用Oct4同化合物相结合的方法足以将体细胞重编程。Oct4一度被认为是唯一四因子系统中不能被代替的因子。

经过不断的研究,现已找到一些在不同条件下可以替代Oct4的方法。TGF- β 通路是一条由LIF/STAT3, FGF/MEK/ERK及Wnt/ β -catenin严格精细调控的信号通路。该信号通路在众多细胞进程中有涉及,如细胞凋亡、细胞增殖与分化以及细胞成癌过程。TGF- β 的抑制剂对于重编程的进行是有帮助的,抑制剂SB431542可以替代Oct4并产生iPSC^[5]。一些核受体对于多能性因子的表达有调控并且有较强的维持多能性的作用,如Esrrb(Nr3B2), Dax1等。Nr5a2和Nr5a1这两个核受体可激活Oct4,在KSM三个因子存在的情况下起到代替Oct4的作用,将MEF进行重编程^[6]。不过这并不代表着将内源性Oct4激活就可以获得iPS细胞,寻找替代Oct4的因子不仅要考虑将内源Oct4激活,还要促进体细胞诱导重编程过程中体细胞从间充质样状态到上皮样状态的转变,细胞发生间充质-上皮转换(epithelial-mesenchymal transition, MET)是重编程中非常重要的一个阶段,这种转换被认为是体细胞诱导重编程起始的标志性事件, Klf4具有刺激上皮细胞标识基因E-cadherin表达的作用,从而驱动MET发生,促

进MET过程提高重编程效率^[7]。E-cadherin在维持ESCs多能性和iPSC形成中扮演了重要的角色, 将其与另外3个因子一起转到细胞中可以产生iPSC, 起到代替外源Oct4上调内源Oct4的作用^[8]。Nanog同Oct4一样, 对多能性网络构建有重要作用^[9], 有超过90% Oct4和Sox2结合的启动子区域同样可被Nanog结合, 将Nanog同Bmi1(B cell-specific Moloney murine leukemia virus integration site 1)或者Shh激动剂联合使用, 可以达到替代Oct4将MEFs重编的作用, 在体外试验和体内试验中, Nanog诱导的iPSC在形态学、全基因表达谱、表观遗传学状态和多能性方面都类似于mESC, 这些发现支持Nanog可以代替Oct4进行体细胞重编程^[10]。

1.2 代替 Klf4

Klf4全名叫Kruppel-like factor 4, 是Klf家族成员, 是一个具有3个C2H2锌指结构域的转录因子^[11]。它在细胞增殖、分化、凋亡、维持细胞稳态和细胞重编程过程中均有作用。Klf4是双功能转录因子, 作为转录激活物或抑制剂取决于靶基因。最初研究^[12]认为, Klf4对于重编程早期MET事件的激活有重要作用。不过Klf4也是一个有争议的iPSC的转录因子, 因为其对于不同癌症类型有不同的作用, 可能抑制肿瘤形成, 也可能致使癌症发生^[13-14], 所以对Klf4进行代替具有重要意义。

Klf2和Klf5是Klf转录因子家族的另外两个成员, 对胚胎发育及ESC身份建立有重要调节作用。RNAi对Klf4, Klf2和Klf5进行干扰将导致小鼠ESC分化并阻止其自我更新。但是单一敲降表达并不会出现明显表型。这表明三者在对细胞多能性维持上存在功能性协同性^[15]。在OSM体系下, Klf2和Klf5可以代替Klf4进行重编程^[16]。Esrrb不仅可以上调Klf4的表达, 还可以在无c-Myc的条件下替代Klf4将MEFs重编程^[17]。研究^[7]证实, 重编程只需要在早期短时间表达Klf4以诱导上皮标志基因表达, 表明Klf4的主要功能是在早期激活MET。所以当骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)被认为是MET的潜在诱导剂后, BMP就被用于优化培养系统中替代Klf4^[18]。泛素化是翻译后蛋白质功能控制的重要机制。March5[Membrane-associated ring finger (C3HC4) 5]已被公认为位于线粒体中的E3泛素连接酶, 它涉及到促进ESC的多能性。Klf可以被March5替代诱导干细胞产生, 但仅可以部分替代Klf4, 产生的干细胞并不能通过畸胎瘤实验验证其多能性^[19]。miR 302-367可以替代原始OSKM组合中的两种致癌因子Klf4和c-Myc, 诱

导生成人类iPSC^[20]。在没有致癌基因c-Myc和Klf4的情况下, 用2因子(Oct4和Sox2)联合小分子物质组蛋白去乙酰化酶抑制剂丙戊酸(valproic acid, VPA)可以诱导新生儿包皮或真皮成纤维细胞重编程为iPSC, 这一发现大大简化诱导多能性的方法并使其向临床应用更接近一步^[21]。

1.3 代替 Sox2

Sox2是Sox转录因子家族中的一员, 该家族蛋白拥有高度保守的DNA结合域HMG(high-mobility group)域。Sox2在胚胎及神经干细胞状态的维持中扮演重要角色, 其在哺乳动物胚胎植入前的表达呈现出时空性。Sox2是一个十分重要的多能性标记基因, 对于ESCs多能性维持和自我更新有重要调控作用^[22]。Sox2在一些癌细胞中有大量表达, 包括胶质瘤、乳腺癌、结直肠癌及肺癌等^[23-25]。

同样隶属于Sox家族的Sox1和Sox3与Sox2在序列、表达模式上都有相似之处, 三者在胚胎形成和决定早期神经细胞命运中扮演重要角色。有报道^[26]称Sox1和Sox3可以代替Sox2诱导小鼠的iPSC形成。在OKM过表达的条件下, 单独过表达SOX1或SOX3可以获得人的iPSC, 效率分别是0.01%和0.004%。RepSox又名E-616452或者ALK5(activin-like receptor kinase)二型抑制剂, 它是TGF- β I型受体激酶的抑制剂。RepSox可以提高重编程的效率和动力, 有效替代Sox2或c-Myc, 但不能同时对两者进行替代, 在Oct4和Klf4存在下通过抑制TGF- β 信号将小鼠成纤维细胞重编程成iPSC^[27]。先前提到的Esrrb, 是多能性网络构建中的重要调节因子, 对于多能性的维持有不可或缺的作用。Esrrb在完全重编程的细胞中表达, 但在非完全重编程的克隆中是不表达的^[28]。当加以Nanog进入重编程体系中时, 可以在没有Sox2存在的条件下进行重编程, 但仅有Esrrb及OKM的条件下产生iPSC克隆的效率是显著低于Sox2参与重编程的^[17]。在哺乳动物基因组中, RCOR家族由RCOR1, RCOR2和RCOR3组成, RCOR1在体细胞中普遍表达, 而RCOR2和RCOR3分别在ESC和睾丸中特异性高度表达。RCOR2是第一个可以替代Sox2将小鼠和人体细胞重编程为iPSC的非Sox家族蛋白因子^[29]。腺病毒蛋白E1A是哺乳动物细胞中一种重要的病毒基因, 能促进细胞增殖和分化的功能, 在Oct4和Klf4存在下, E1A以转录辅助活化因子的方式增强体细胞中Oct4的转录活性, 替代外源Sox2将小鼠成纤维细胞重编程成iPSC, 由此猜测Sox2在重编程中的作用主要是增强Oct4的转录活性, 但OKE组合

诱导的iPSC克隆效率是显著低于Sox2参与重编程的, 这可能是由于腺病毒蛋白E1A并非直接结合到DNA, 而是以转录辅助活化因子的方式增强体细胞中Oct4的转录活性, 也有可能是E1A只替代了Sox2的部分功能, 尚需进一步研究^[30]。

1.4 代替 c-Myc

c-Myc是一个非常强的原癌基因, 在许多类型的癌症中上调。其在细胞生长、细胞代谢、增殖、分化、细胞黏附、凋亡、衰老、胚胎发育、干细胞自我更新和体细胞中起关键作用^[31]。由于c-Myc具有潜在的致癌性, 在iPSC的诱导中是一个有争议的转录因子。因此, 寻找到可以替代c-Myc的其他物质, 对于为未来的临床应用及生产更安全的iPSC非常重要^[1]。

Myc原癌基因家族由3个成员组成: c-Myc, N-Myc和L-Myc。c-Myc作为“双刃剑”, 促进iPSC的产生和致癌性, N-Myc和L-Myc可以在iPSC生成过程中代替c-Myc^[21,32]。其中N-Myc和c-Myc具有相似的长度和结构, 在功能上与人类癌症的关联程度也同样密切, 也具有致癌性。与这两个成员相比, L-Myc蛋白的N-末端氨基酸序列较短, 这对转化活性有所贡献, 因此在培养细胞中具有

显著较低的转化活性。与这种性质一致的是, L-Myc在人类癌症中的异常表达较少报道。L-Myc可以有效地产生小鼠和人iPSC, 重要的是在用L-Myc诱导的iPSC产生的嵌合小鼠中几乎观察不到致癌性。L-Myc在3种旁系同源物中的致癌性最小^[33]。因此, 可以通过使用L-Myc替代c-Myc诱导出iPSC来解决致癌性问题。在没有c-Myc的存在下, iPSC克隆数可以增长20倍之多。作为GSK-3b抑制剂的CHIR99021分子可以增强多能性^[34], 并将“前iPSC”转变为完全重编程多能细胞^[35]。CHIR99021可以通过与Oct4和Klf4共同过表达, 将诱导MEF和人原代角质细胞重编程为iPSC, 从而消除c-Myc的使用^[36]。Glis1基因编码了1个Krüppel样, 具有锌指结构域的转录因子, 该基因于未受精的卵母细胞和一细胞期的胚胎中高表达, 是一个母源性基因。Glis1在胚胎发育过程中的表达具有时空性, 对于发育有重要调节作用。DNA微阵列分析显示: Glis1促进多种重编程途径, 包括Myc, Nanog, Lin28, Wnt, Essrb, N-Myc, L-Myc和MET。相反, 在重编程过程中c-Myc的表达是被Glis1抑制的。山中伸弥是第一个将Glis1用于诱导多能干细胞的, 并第一次将c-Myc用其他因子进行了替代, 极大地减小了iPSC的潜在致癌性^[37](表1)。

表1 山中伸弥四因子替代方法比较

Table 1 Comparison of substitutes of Yamanaka four factors

转录因子	特征	替代者	意义
Oct4	在早期胚胎细胞和生殖细胞中高表达, 对于哺乳动物生命周期中细胞全能性建立非常重要	SB431542 ^[5] ; Nr5a2和Nr5a1 ^[6] ; E-cadherin ^[8] ; Nanog+Bmi1/Shh ^[10]	揭示了TGF-β信号通路在重编程中的作用; 提高重编程效率; 重编程的必要条件, 但并不提高重编程效率; 提高重编程效率
Klf4	在细胞增殖、分化、凋亡、维持细胞稳态和细胞重编程过程中均有作用, 是双功能转录因子, 可能抑制肿瘤形成, 也可能致使癌症发生	Klf2和Klf5 ^[15] ; Esrrb ^[16] ; BMP ^[17] ; March5 ^[18] ; miR 302-367 ^[19] ; VPA ^[20]	重编程效率较低, 获取非iPSC细胞减少, 质量提高, 潜在成瘤性降低; 提高重编程效率至1%; 仅部分替代, 揭示了March5在促进干性中的重要性; 降低潜在成瘤性, 简化诱导多能性的方法
Sox2	一个十分重要的多能性标志基因, 对于ESCs多能性维持和自我更新有重要调控作用, 在一些癌细胞中有大量表达	SOX1或SOX3 ^[25] ; RepSox ^[26] ; Nanog ^[16] ; RCOR2 ^[28] ; E1A ^[29]	提高重编程效率; 降低潜在成瘤性, 提高重编程的效率和动力; 降低潜在成瘤性, 效率显著低于Sox2参与的重编程; 发现的第一个可以替代Sox2将小鼠和人体细胞重编程为iPSC的非Sox家族蛋白因子; 通过提高Oct4转录活性替代外源Sox2, 重编程效率降低, 但阐释了Sox2参与重编程的部分机制
c-Myc	一个非常强的原癌基因, 在细胞生长、代谢、增殖、分化等起关键作用	L-Myc ^[32] ; CHIR99021 ^[35] ; Glis1 ^[36]	极大降低潜在成瘤性

2 非山中伸弥重编程系统

山中伸弥提出的四因子诱导方法是获得iPSC的经典方法,这一方法的公布使人们不由自主地想到是否存在其他方法也可将体细胞重编程。上面所提及的方法只可以做到单个将四因子替换从而诱导出多能干细胞,不能称之为全新的诱导系统。

经过十余年发展,科学家们已找到一些全新的诱导方法。2013年,邓宏魁研究团队率先实现用小分子化合物进行体细胞的重编程。该团队仅使用CHIR99021, 616452, DZNep和FSK这4种小分子就可以将MEF及MAF诱导成多能干细胞。虽然效率不及VC6TFZ诱导系统,但已充分说明使用少量小分子足以将体细胞重编程,相比于插入外源基因,小分子的优势在于无遗传修饰,安全性更高^[38]。Rudolf Jaenisch研究组^[39]发现使用非山中伸弥因子Sall4, Nanog, Esrrb和Lin28可以获得iPSC,并且通过这种方法可以比OKSM(Oct4, Sox2, Klf4及c-Myc)方法更高效地获得高质量的iPSC。裴端卿研究组^[40]也发现一组非山中伸弥经典系统的诱导组合(Jdp2, Id1, Jhdm1b, Lrh1, Sall4和Glis1),通过这样的组合也可获得iPSC,并且发现c-Jun广泛抑制多能性基因,抑制细胞发生MET,其压制可以增强重编程。

3 结语

iPSC在细胞治疗、器官移植等方面都有巨大的应用前景,寻找安全高效、稳定的诱导系统是目前亟待解决的问题,如今在iPSC领域已有许多突破性的进展,与此同时,新的难题不断出现。深入剖析重编程的分子机制,建立完善的iPSC检测标准,以获得安全可靠的iPSC,对于未来iPSC的临床应用有非常重要的影响。

参考文献

1. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors[J]. Cell, 2006, 126(4): 663-676.
2. Teoh HK, Cheong SK. Induced pluripotent stem cells in research and therapy[J]. Malays J Pathol, 2012, 34(1): 1-13.
3. Yamanaka S. Elite and stochastic models for induced pluripotent stem cell generation[J]. Nature, 2009, 460(7251): 49-52.
4. Nichols J, Zevnik B, Anastassiadis K, et al. Formation of pluripotent stem cells in the mammalian embryo depends on the POU transcription factor Oct4[J]. Cell, 1998, 95(3): 379-391.
5. Tan F, Qian C, Tang K, et al. Inhibition of transforming growth factor β (TGF- β) signaling can substitute for Oct4 protein in reprogramming and maintain pluripotency[J]. J Biol Chem, 2015, 290(7): 4500-4511.
6. Heng JC, Feng B, Han J, et al. The nuclear receptor Nr5a2 can replace Oct4 in the reprogramming of murine somatic cells to pluripotent cells[J]. Cell stem cell, 2010, 6(2): 167-174.
7. Chen J, Han Q, Pei D. EMT and MET as paradigms for cell fate switching[J]. J Mol Cell Biol, 2012, 4(2): 66-69.
8. Redmer T, Diecke S, Grigoryan T, et al. E-cadherin is crucial for embryonic stem cell pluripotency and can replace OCT4 during somatic cell reprogramming[J]. EMBO Rep, 2011, 12(7): 720-726.
9. Loh YH, Wu Q, Chew JL, et al. The Oct4 and Nanog transcription network regulates pluripotency in mouse embryonic stem cells[J]. Nat Genet, 2006, 38(4): 431-440.
10. Moon JH, Yun W, Kim J, et al. Reprogramming of mouse fibroblasts into induced pluripotent stem cells with Nanog[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 431(3): 444-449.
11. Shields JM, Christy RJ, Yang VW. Identification and characterization of a gene encoding a gut-enriched[J]. J Biol Chem, 1996, 271(33): 20009-20017.
12. Li R, Liang J, Ni S, et al. A mesenchymal-to-epithelial transition initiates and is required for the nuclear reprogramming of mouse fibroblasts[J]. Cell Stem Cell, 2010, 7(1): 51-63.
13. Lee HY, Ahn JB, Rha SY, et al. High KLF4 level in normal tissue predicts poor survival in colorectal cancer patients[J]. World J Surg Oncol, 2014, 12: 232.
14. Mao L, Zhang Y, Deng X, et al. Transcription factor KLF4 regulates microRNA-544 that targets YWHAZ in cervical cancer[J]. Am J Cancer Res, 2015, 5(6): 1939-1953.
15. Jiang J, Chan YS, Loh YH, et al. A core Klf circuitry regulates self-renewal of embryonic stem cells[J]. Nat Cell Biol, 2008, 10(3): 353-360.
16. Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, et al. Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts[J]. Nat Biotechnol, 2008, 26(1): 101-106.
17. Feng B, Jiang J, Kraus P, et al. Reprogramming of fibroblasts into induced pluripotent stem cells with orphan nuclear receptor Esrrb[J]. Nat Cell Biol, 2009, 11(2): 197-203.
18. Chen J, Liu J, Yang J, et al. BMPs functionally replace Klf4 and support efficient reprogramming of mouse fibroblasts by Oct4 alone[J]. Cell Res, 2011, 21(1): 205-212.
19. Gu H, Li Q, Huang S, et al. Mitochondrial E3 ligase March5 maintains stemness of mouse ES cells via suppression of ERK signalling[J]. Nat Commun, 2015, 6: 7112.
20. Deng W, Cao X, Chen J, et al. MicroRNA replacing oncogenic Klf4

- and c-Myc for Generating iPS cells via cationized Pleurotus eryngii polysaccharide-based Nanotransfection[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2015, 7(34): 18957-18966.
21. Huangfu D, Osafune K, Maehr R, et al. Induction of pluripotent stem cells from primary human fibroblasts with only Oct4 and Sox2[J]. Nat Biotechnol, 2008, 26(11): 1269-1275.
 22. Liu S, Bou G, Sun R, et al. Sox2 is the faithful marker for pluripotency in pig: evidence from embryonic studies[J]. Dev Dyn, 2015, 244(4): 619-627.
 23. Annovazzi L, Mellai M, Caldera V, et al. SOX2 expression and amplification in gliomas and glioma cell lines[J]. Cancer Genomics Proteomics, 2011, 8(3): 139-147.
 24. Leis O, Eguiara A, Lopez-Arribillaga E, et al. Sox2 expression in breast tumours and activation in breast cancer stem cells[J]. Oncogene, 2012, 31(11): 1354-1365.
 25. Karachaliou N, Rosell R, Viteri S. The role of SOX2 in small cell lung cancer, lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung[J]. Transl Lung Cancer Res, 2013, 2(3): 172-179.
 26. Montserrat N, Nivet E, Sancho-Martinez I, et al. Reprogramming of human fibroblasts to pluripotency with lineage specifiers[J]. Cell Stem Cell, 2013, 13(3): 341-350.
 27. Ichida JK, Blanchard J, Lam K, et al. A Small-molecule inhibitor of Tgf- β signaling replaces Sox2 in reprogramming by inducing Nanog[J]. Cell Stem Cell, 2009, 5(5): 491-503.
 28. Buganim Y, Faddah DA, Cheng AW, et al. Single-cell expression analyses during cellular reprogramming reveal an early stochastic and a late hierarchic phase[J]. Cell, 2012, 150(6): 1209-1222.
 29. Yang P, Wang Y, Chen J, et al. RCOR2 is a subunit of the LSD1 complex that regulates ESC property and substitutes for SOX2 in reprogramming somatic cells to pluripotency[J]. Stem Cells, 2011, 29(5): 791-801.
 30. Marthaler AG, Adachi K, Tiemann U, et al. Enhanced OCT4 transcriptional activity substitutes for exogenous SOX2 in cellular reprogramming[J]. Sci Rep, 2016, 6:19415.
 31. Boxer LM, Dang CV. Translocations involving c-myc and c-myc function[J]. Oncogene, 2001, 20(40): 5595-5610.
 32. Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, et al. Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts[J]. Nat Biotechnol, 2008, 26(1): 101-106.
 33. Nakagawa M, Yamanaka S. Function of Myc for generation of induced pluripotent stem cells[M]//Hayat MA. Stem Cells and Cancer Stem Cells, Volume 6: Therapeutic Applications in Disease and Injury. Berlin: Springer Netherlands, 2012: 79-85.
 34. Bar-Nur O, Brumbaugh J, Verheul C, et al. Small molecules facilitate rapid and synchronous iPSC generation[J]. Nat Methods, 2014, 11(11): 1170-1176.
 35. Silva J, Barrandon O, Nichols J, et al. Promotion of reprogramming to ground state pluripotency by signal inhibition[J]. PLoS Biol, 2008, 6(10): e253.
 36. Li W, Zhou H, Abujarour R, et al. Generation of human induced pluripotent stem cells in the absence of exogenous Sox2[J]. Stem Cells, 2009, 27(12): 2992-3000.
 37. Maekawa M, Yamaguchi K, Nakamura T, et al. Direct reprogramming of somatic cells is promoted by maternal transcription factor Glis1[J]. Nature, 2011, 474(7350): 225-229.
 38. Hou P, Li Y, Zhang X, et al. Pluripotent stem cells induced from mouse somatic cells by small-molecule compounds[J]. Science, 2013, 341(6146): 651-654.
 39. Buganim Y, Markoulaki S, Wietmarschen N, et al. The developmental potential of iPSC is greatly influenced by reprogramming factor selection[J]. Cell Stem Cell, 2014, 15(3): 295-309.
 40. Liu J, Han Q, Peng T, et al. The oncogene c-Jun impedes somatic cell reprogramming[J]. Nat Cell Biol, 2015, 17(7): 856-867.

本文引用: 陈瑞平, 谢庆, 刘菁, 郭惠明, 赵明一. 山中伸弥四因子替代者行诱导多能干细胞重编程的研究进展[J]. 临床与病理杂志, 2017, 37(12): 2699-2704. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.12.031

Cite this article as: CHEN Ruiping, XIE Qing, LIU Jing, GUO Huiming, ZHAO Mingyi. Research progress in the substitutes of Yamanaka four factors in reprogramming induced-pluripotent stem cell[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2017, 37(12): 2699-2704. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.12.031