



裴端卿, 教育部“长江学者”特聘教授, “新世纪百千万人才工程”国家级人选, 中国科学院“百人计划”入选者, 国家杰出青年科学基金获得者。现任中国科学院广州生物医药与健康研究院院长。

干细胞与再生医学发展前瞻

刘晶, 曹尚涛, 蔡景蕾, 裴端卿

中国科学院广州生物医药与健康研究院, 中国科学院再生生物学重点实验室, 广东省干细胞与再生医学重点实验室, 华南干细胞与再生医学研究所, 广州 510530

摘要 干细胞与再生医学是当今生命科学领域研究的前沿与热点。近年来, 涌现出一系列突破性的研究成果, 将干细胞研究推向新的历史阶段, 为再生医学的发展带来深刻变革。本文分析体内外不同来源的干细胞在再生医学的治疗应用、小分子化合物在细胞命运转变机理研究和功能性细胞获取方面的研究现状与前景, 讨论了干细胞与再生医学在临床应用应用的安全性及规范性。

关键词 干细胞; 再生医学; 细胞命运转变; 临床治疗

1 再生医学的产生与需求

古往今来, 无数神话故事和小说, 都幻想着人类可以长生不老, 益寿延年, 但当人的某些器官和组织经受伤, 无法及时修复时, 人的生命就岌岌可危。全世界每年约有上亿人遭受不同形式的组织器官创伤^[1], 因此, 对各种用于移植的组织器官需求巨大。但可供移植器官的来源有限且困难, 同时受机体免疫排斥、移植费用等因素制约, 使得器官移植的临床应用非常受限。因此利用可大量扩增并且有分化潜能的干细胞或者祖/前体细胞, 通过工程化手段, 结合新型生物材料, 得到

可以适应人体自身生化和生理条件的可代替组织的技术手段有着广阔的发展空间^[2]。

此外, 随着医疗水平的提高, 人类的期望寿命不断延长, 世界开始逐步步入老年化时代。而伴随而来的则是大量与组织器官衰老退化有关的退行性疾病的爆发, 如老年痴呆症等。这些疾病严重影响了病人的生命质量, 对社会造成了严重的负担。目前, 药物治疗和手术治疗对于退行性疾病并没有好的效果, 再生医学则有可能在根本上攻克退行性疾病。

再生医学是一门研究组织器官受

损后修复和再生的学科^[2]。尽管再生医学拥有美好的发展前景, 但目前依然处在起步阶段, 再生医学能够得到广泛应用很大程度上将取决于干细胞研究的进展。从当今发展趋势看, 再生医学已是现代临床医学的一种崭新的治疗模式, 对医学治疗理论、治疗和康复方针的发展有重大的影响。干细胞研究促进了再生医学的发展, 这是继药物治疗、手术治疗之后的又一场医疗革命。

再生医学在国际上已成为当今生物学和医学关注的焦点和研究热点。在国内, 再生医学的重要性已引起相关部门和科技人员的高度重视, 并已

收稿日期: 2016-10-14; 修回日期: 2016-10-19

作者简介: 刘晶, 副研究员, 研究方向为干细胞及诱导多能性干细胞, 电子信箱: liu_jing@gibh.ac.cn; 裴端卿(通信作者), 研究员, 研究方向为干细胞及诱导多能性干细胞, 电子信箱: pei_duanqing@gibh.ac.cn

引用格式: 刘晶, 曹尚涛, 蔡景蕾, 等. 干细胞与再生医学发展前瞻[J]. 科技导报, 2016, 34(20): 25-33; doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.2016.20.004

建立多个研究中心,取得了一批高水平的科研成果,如建立干细胞诱导分化技术,重建组织器官修复与再生基本技术,研制出组织人工皮、肌腱、韧带以及用大动物模型构建组织工程化组织。

2 干细胞的定义和来源

作为再生医学基础的干细胞是什么?根据干细胞所处的发育阶段,可将干细胞分为胚胎干细胞(embryonic stem cell, ES 细胞)和成体干细胞(somatic stem cell)。最早被定义的干细胞是造血干细胞(HSC),是一类分离于骨髓的可自我更新与复制,并具备产生造血系统不同谱系血细胞能力的细胞。由此引申出干细胞的基本定义,即可以自我更新、并具备多向分化潜能的细胞^[3]。科学家陆续发现在其他多种成体器官中也存在干细胞,如神经干细胞、脂肪干细胞、表皮干细胞、间充质干细胞等。这些干细胞统称为成体干细胞,利用这些成体干细胞可以治愈多种人类疾病^[4]。1981年,小鼠的胚胎干细胞被成功分离,该技术的建立奠定了现代干细胞和再生医学研究的基石^[5]。胚胎干细胞一方面可自我更新,另一方面被证实可以分化为机体内任何一种组织和器官,这种特性使胚胎干细胞成为再生医学的理想细胞来源。1998年人胚胎干细胞的成功分离,克服了干细胞领域的重大障碍,使再生医学迈入一个新的应用阶段^[6]。

胚胎干细胞理论上可以为人们受损或缺陷的组织器官提供源源不断的移植来源^[7],但由于个体的差异,胚胎干细胞分化后的成体细胞存在免疫排斥问题为异体移植带来了巨大的障碍,因此多年来科学家一直在寻找简便的方法能够建立任何个体的胚胎干细胞,2006年鼠诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSC)的出现,完美地解决了这一问题^[8]。通过 iPSC 的诱导方案,已经分化的体细胞可以在导入4个重编程因子之后,重新重编程回类似胚胎干细胞的多能性状态,从而获得个体特异的 iPSC。随后,人 iPSC 技

术的建立成功,预示着个体化细胞移植治疗能够成功^[9-10]。随后,针对人 iPSC 的供体细胞、诱导方法、培养条件等多方面进行了不断优化,现在已经可以建立一套无损伤、无整合、无饲养层、高效的人 iPSC 的产生方法^[11-14]。另外,很多实验室基于 iPSC 的概念,在体外可以实现不同类型体细胞之间的直接重编程,即转分化,进一步为功能细胞的产生方法增添了新的选择^[15]。这些技术正在极大地推动干细胞和再生医学领域的快速进展。

3 干细胞与再生医学前沿发展

3.1 运用体内来源的干细胞进行再生治疗

干细胞最直接的来源是人体本身具有并可被提取的干细胞,如造血干细胞、间充质干细胞等,运用这些体内来源的干细胞进行再生治疗是再生医学领域长期以来的主要研究内容。

造血干细胞是支持造血细胞发育生成的一类成体干细胞。借助于转基因、基因敲除等小鼠模型,造血干细胞研究得到极大的推进。无论是造血干细胞的鉴定、功能调控、分化调控,还是造血干细胞的微环境对于其功能的影响等基础研究方面,都取得了大量的进展。最近,借助于先进的单细胞技术,科学家还成功解析了胚胎发育早期从造血干细胞前体向造血干细胞转变过程的表达谱变化。在临床方面,由于造血干细胞是最早被应用于临床治疗的干细胞类型,大量的移植案例发展及完善了配型、干细胞归巢等关键理论,也使得造血干细胞移植成为目前最为成熟的再生医学治疗手段,广泛应用在恶性血液病(白血病、淋巴瘤、骨髓瘤等)的治疗中。应用最广泛的造血干细胞来源是采用 G-CSF 动员造血干细胞后,外周血富集的 CD34+造血干细胞。此外脐带血造血干细胞随着脐血库的建立和逐步完善也进入了一些临床治疗中。由于骨髓库和脐血库提供人类白细胞抗原(HLA)完全配型的造血干细胞的概率仍然不能满足临床需求,近

年来半相合移植的案例逐步增多并取得不错的疗效,移植后的生存率近乎可以与全相合移植媲美。半相合只需要供受者一条 HLA 染色体相同,血缘亲子间 100%符合要求,因此几乎每一名患者都可以找到供者,大大提高了患者找到造血干细胞供者的可能性。不过,与全相合异基因来源的造血干细胞移植一样,半相合移植目前主要应用于恶性血液病的治疗。

3.2 运用体外培养的干细胞系或 iPSC 来源的干细胞进行再生治疗

虽然造血干细胞在再生医学应用上取得了瞩目的成就,然而其他体内来源的干细胞因为获得困难、数量稀少等原因,严重制约了再生医学的进一步发展。解决这一种子细胞来源困难的思路主要是通过体外培养技术建立干细胞系,或运用具有个体发育潜能的胚胎干细胞进行定向分化,从而获取大量可移植的功能细胞或干细胞。如采用统一的细胞系进行治疗,会有免疫排斥可能性,因此获得病人特异干细胞也是该领域的一个长期目标。2006年,日本科学家山中伸弥(Shinya Yamanaka)发现利用病毒载体将4个转录因子(Oct4, Sox2, Klf4 和 c-Myc)的组合转入分化的体细胞中,可以使其重编程而得到类似胚胎干细胞的一种细胞类型,称为 iPSC, iPSC 使得大量获得个体特异的高分化潜能干细胞成为可能,随后世界各地不同科学家陆续发现其他方法同样也可以制造这种细胞,这个划时代的发现也获得了2012年的诺贝尔生理学或医学奖。目前运用 ES 和 iPSC 进行定向分化并用于再生治疗产生了许多进展,以下介绍进展较大的视网膜上皮细胞及处于研究发展阶段的牙组织细胞。

1) 在老年黄斑变性再生治疗中的应用。

老年黄斑变性是一种和年龄增长有关的多因素复合作用的眼底病。年龄相关性黄斑变性(AMD)是世界老年人群致盲的主要原因,分为非新生血管性(干性)及新生血管性(湿性)AMD 两

类。疾病的主要病理改变为视网膜色素上皮(RPE)细胞的功能障碍及丢失。目前的治疗方法包括:抗氧化药物及微量元素治疗、抗衰老及活血化瘀中药治疗、镭射封闭黄斑中心凹200 μm以外的新生血管及玻璃体视网膜显微手术治疗等。

近年来随着再生医学的发展,RPE细胞替代疗法成为了AMD疾病治疗的新思路。干细胞(胚胎干细胞、多能干细胞等)诱导分化的RPE和成熟RPE(胎儿、自体等)替换了病程中坏死、缺失的RPE细胞,可挽救视力的进一步丧失。研究中,用于替代细胞的主要有人类胚胎干细胞分化的RPE(human embryonic stem cell derived RPE, hESC-RPE)和胎儿RPE(fetal RPE, fRPE)两类,在多种模型中均被证实有着与RPE非常相似的细胞学和功能学特征^[16-17]。但是,疗效的背后仍隐藏着许多亟待解决的问题与挑战。虽然,视网膜下腔位于RPE层与视网膜外界膜之间,一直被认为维持着免疫豁免的状态,但免疫豁免并不是缺乏免疫反应,而是一种免疫抑制的状态。当视网膜下腔受到微生物、自身免疫、衰老等因素的影响,“免疫豁免”的环境会触发一系列强烈的免疫反应^[18]。因此,其中亟待解决的问题与挑战之一是移植相关的免疫排斥。患者自体视网膜边缘健康的RPE细胞可谓是最理想的细胞来源,不仅取材方便,还可以避免免疫排斥,但手术过程复杂,取材数量局限。iPSC在其相关技术的不断成熟下,可被诱导分化出iPSC-RPE,成为一类新兴的理论上无免疫排斥的替代细胞来源^[19]。通过猕猴模型,分离出的猕猴PBMCs,与自体iPSC-RPE共培养,未发现T细胞活化的现象;进一步将自体iPSC-RPE层移植入猕猴的视网膜下腔,在未使用免疫抑制剂情况下,移植后未发生免疫排斥^[20]。虽然研究表明,iPSC分化过程中可能出现的翻译后修饰现象会导致iPSC-RPE微弱的抗原性,但这种免疫反应在临床上可以忽略不计^[21]。

令人振奋的是在2013年7月,日本

监管机构批准了理化研究所发育生物学中心高桥雅代(Masayo Takahashi)可以开展iPSC的临床预研究。第一位受试患者是一名70岁的妇女。高桥雅代研究小组取得了这名患者的皮肤细胞,然后将它们重编程为iPSC,再将这些非特化的细胞诱导变为了视网膜组织。高桥雅代提供证据证实,这些细胞在遗传上稳定且安全,具备了移植到眼中的先决条件。4天后试验操作完成,报告称患者没有出现严重的副作用,此为世界首例利用iPSC培育的细胞进行移植的手术^[22],此后的第2例手术由于患者的iPSC发生基因突变而中断。据日媒报道,日本理化研究所等4个机构于2016年6月6日在神户市发布消息称,将重启把由他人细胞制作的人工诱导多能干细胞培育的视网膜细胞移植到“渗出型老年性黄斑变性”患者身上的临床研究。据悉,研究人员将利用京都大学“iPS细胞库”储备的据称移植时排异反应较小的特殊人群细胞制成的iPSC。无论是利用自体获得的iPS衍生细胞还是用这种异体iPS衍生的细胞,iPSC在临床再生领域的探索实现了应用可能性飞跃的第一步。

2) 在牙再生治疗中的探索。

牙齿健康是一个人健康的重要标志之一。牙齿的缺失直接影响咀嚼、消化、营养吸收等生理功能,同时还影响语言功能、面部形象,进而可能导致心理障碍。研究人员发现牙齿的健康和全身其他的疾病有着密切联系,咀嚼功能的受损甚至丧失,可以引起或加重心脏病、胃病、糖尿病、心血管疾病和关节疾病及并发症,严重危害全身健康。目前的牙齿缺失均采用人工材料赈复体修复,存在着生理功能恢复有限、使用寿命短、损伤正常组织、价格昂贵等缺点,缺乏真正生理意义的修复。随着人们生活水平的提高及以干细胞技术为基础的组织工程和再生医学研究相关领域的发展,在形态和结构上类似于天然牙的再生牙齿成为了改变牙齿相对传统的修复方式的最新理念和口腔再生医学中最为活跃的研究领域。从发育学角度,上皮-间充质之间的相互作

用是决定牙齿及机体很多器官发生发育的关键环节。因此,牙再生研究除了可以在将来解决牙齿缺失修复、治疗过程中的缺陷问题,还可作为机体组织器官发生发育的代表性实验模型,为其他组织器官的再生研究提供重要的科学依据。由此可见,牙齿再生对组织工程与再生医学等相关领域也具有重要的科学意义。

除了牙发生发育过程中上皮-间充质细胞相互作用的调控机制和微环境的影响外,牙齿再生的细胞来源也是瓶颈问题之一。一直以来,牙源的成体干细胞是牙齿再生研究细胞来源的首选。2000年,施松涛首次发现牙髓干细胞(dental pulp stem cells, DPSCs),并发现牙髓干细胞可以诱导出牙本质和牙髓复合物。2003年,研究人员从脱落的乳牙残留的牙髓中得到乳牙髓干细胞(stem cells from exfoliated deciduous teeth, SHED),发现SHED比DPSCs具有更多的分化潜能,将SHED植入裸鼠体内后可以产生牙本质结构。随后,牙周膜干细胞(periodontal ligament stem cells, PDLSCs)被报道,并通过DPSCs/SHED的相同方法来验证,发现其具有分化成牙骨质样细胞、脂肪细胞和成纤维细胞的能力,亦能形成牙骨质和牙周膜复合体样结构。这些实验初步展示了DPSCs重建牙齿的能力及其应用前景,这也说明牙齿再生在理论上是可能的。随后,国外研究人员对牙源成体干细胞的研究集中于向其他组织分化。牙源成体干细胞牙向分化及应用研究的成果主要来自于中国的2个团队。2006年,金岩团队制备了牙胚条件培养基,并利用该培养基成功诱导DPSCs分化成牙本质/牙髓复合体,同时该团队模拟微环境条件,成功地诱导PDLSCs向牙骨质/牙周膜的复合体再生。而王松灵研究团队则率先通过猪牙周炎模型发现PDLSCs移植到炎症部位可改善牙周炎症状,并提出PDLSCs可用于治疗牙周炎的新思路。2年后,该团队利用PDLSCs形成的细胞膜样结构在猪的牙周炎模型上取得了显著疗效。由此可见,牙源性成体干

细胞在牙齿发育和再生过程中的重要性。然而,上述的成体干细胞均起源于间充质细胞,而牙发生发育过程中另一类细胞——牙源性上皮细胞,由于成釉器在釉质形成后逐步消失,已经无法在成体中获得。所以,如何解决牙源性上皮细胞来源问题是目前牙齿再生的较大难题之一。关于取代牙源性上皮细胞来源的研究,具有代表性的进展是2011年研究人员发现取自男童包皮的人表皮干细胞可通过和小鼠胚胎阶段具有成牙潜能的牙源间充质组织重组,在FGF8外源蛋白的进一步作用下分化形成成釉细胞。2013年,英国研究人员则成功地利用小鼠胚胎阶段具有成牙潜能的牙源间充质组织诱导人的牙龈细胞分化形成牙齿的釉质。然而,这些成体的牙源性和非牙源性的干细胞有限的分化潜能导致其只能实现部分牙体组织的再生。

相比之下,来源于囊胚内细胞团的ES具有全能性,能够分化为体内所有类型的组织细胞。将胚胎干细胞团注射到小鼠体内,可以发现具有正常构架的很多组织都得以重现,包括牙齿、头发、肠道等组织器官。理论上ES细胞可以分化为任何特异组织细胞,但ES细胞较少被用于再生牙齿的研究,相关报道非常有限。2009年iPSC开始得到口腔医学领域的广泛关注。美、日、澳、韩等国先后将成体牙源细胞成功诱导成iPSC。由于牙胚间充质细胞起源于神经嵴细胞,日本科研人员于2012年报道小鼠神经嵴细胞衍生的iPSC可以分化为神经嵴样细胞,并可以进一步被诱导成表达部分牙源间充质标记分子的细胞群,由此开启了iPSC在牙齿再生研究方面的应用。随后,Arakaki等建立了一种大鼠牙源性上皮细胞系,并通过与鼠源iPSC共培养,将iPSC诱导为类成釉细胞。但是,这两个团队均未对他们研究中iPSC衍生的细胞是否能够参与成牙进行阐述。2013年,中国研究人员首次发现了人源iPSC诱导而来的上皮细胞与小鼠E14.5的牙胚间充质重组后可以形成完整的牙齿样结构。这一研究成果证实了iPSC可以参

与人类再生牙齿的构建(图1)。然而,上述所有获得牙齿样结构的牙再生研究方法仍然需要依赖蕾状期前的牙胚上皮或者蕾状期后的牙胚间充质所具备的成牙潜能。因此,研究人员进一步的研究工作集中于如何实现完全利用iPSC作为种子细胞的再生牙齿构建。

3.3 小分子化合物诱导细胞命运转变

小分子化合物在医学和药物研发过程中扮演着关键角色。进入21世纪,利用化学小分子探索细胞生命活动基本规律的化学生物学得到迅速发展,一系列具有划时代意义的发现为生命科学带来深刻的变革,推动着细胞生物学,尤其是干细胞与再生生物学的发展。本文重点探讨小分子化合物在体细胞重编程、多能性细胞分化及转分化、胚胎干细胞多能性3个方面的热点问题。

3.3.1 小分子化合物与体细胞重编程

诱导多能干细胞技术的发明为人类最终实现自体细胞或器官移植提供了可能,是再生医学发展史上具有里程碑式的事件^[8-9]。然而基于特定因子介导的诱导多能干细胞技术存在诱导效率低、外源基因插入及成瘤性等安全隐患,严重制约其临床应用。因此,科学家不断寻找更为安全和高效的重编程技术,相继开发出附着体、microRNA和蛋白等多种非整合型体细胞重编程

技术体系^[23-26]。

与基因策略相比,化学小分子诱导方案具有无基因组整合、操作简单、剂量易控与可逆性等优点,因此受到更为广泛的关注。研究表明,化学小分子可以通过调控表观遗传修饰、信号通路与代谢激酶等多种途径来影响细胞命运转变过程,进而实现重编程效率的提升并替代相关转录因子^[27-29]。通过采用化学小分子对关键的表观遗传修饰靶点进行调控,科学家发现,组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylases, HDACs),如VPA、丁酸钠、TSA等能够明显提升小鼠和人成纤维细胞重编程为iPSCs的效率,其中VPA被报道能实现Oct4/Sox2两因子将人成纤维细胞重编程为多能干细胞,进而实现对重编程因子Klf4和c-Myc的部分替代^[30-31];DNA甲基化酶抑制剂,如5-Azacytidine和RG108也被发现可以促进OKSM介导的体细胞重编程^[32-33]。此外,天然小分子化合物VC被证明可以通过多种机制显著提升小鼠和人的体细胞的重编程效率^[14,34],其中重要的表观遗传机制包括:可通过调控组蛋白去甲基化酶Jhdm1b的活性降低H3K36甲基化水平从而促进体细胞重编程^[35];可通过调控DNA胞嘧啶羟甲基化酶Tet1的活性调控基因组甲基化水平,从而剂量依赖性地影响体细胞重编程效率^[36];可通过调

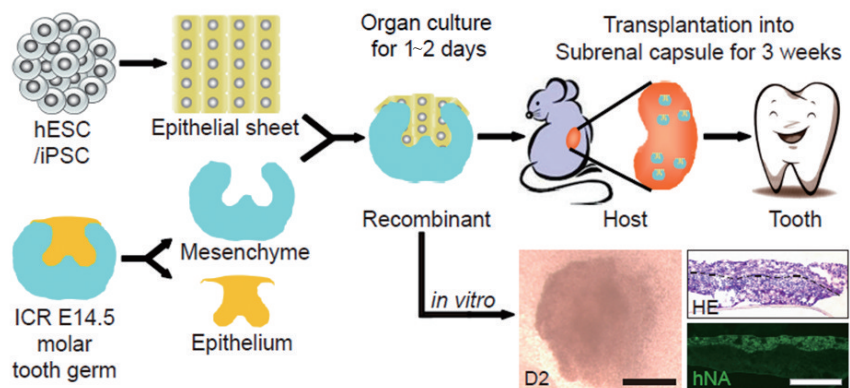


图1 人源iPSC诱导而来的上皮细胞与小鼠E14.5的牙胚间充质重组形成完整的牙齿样结构

Fig. 1 A complete tooth like structure is formed by the epithelial cells induced by human lpsc and the mouse tooth germ of E14.5

控组蛋白去甲基化酶 KDM3/KDM4 的活性降低 H3K9 的甲基化水平促进体细胞重编程^[37]等。通过采用化学小分子对信号通路进行调控也可以显著影响体细胞重编程进程^[38], 间质上皮转化 (mesenchymal to epithelial transition, MET) 是体细胞重编程早期的重要事件^[39-40], 科学家通过采用化学小分子抑制剂发现, TGF- β 信号通路抑制剂 SB431542、Repsox 和 A8301 等可显著促进重编程早期的 MET 过程, 进而促进体细胞重编程效率, 其中 SB431542 和 Repsox 甚至在功能上能够替代重编程因子 Sox2^[41-43]。

更加具有突破性的进展出现在 2013 年, 北京大学邓宏魁课题组采用多轮筛选与优化, 最终仅使用 7 个小分子化合物成功将小鼠成纤维细胞重编程为多能干细胞。该课题组还于 2015 年进一步优化诱导方案, 并提高了化合物诱导重编程效率, 在多种不同细胞类型中实现了全化合物诱导小鼠多能性干细胞^[44-45]。上述实验结果最终表明化学小分子也可以与转录因子一样在细胞命运转变过程中发挥关键作用, 进而介导细胞命运转化, 也为干细胞与再生医学提供了新的手段与思路。

3.3.2 小分子化合物与分化及转分化

多能性细胞定向分化至特定谱系细胞与不同谱系细胞间的转分化是体外获取功能细胞的重要途径^[46-50]。采用化学小分子手段实现功能性细胞的获得被认为更加符合临床应用要求, 而逐渐成为领域研究热点, 也诞生了一批重要的研究成果。如在定向诱导分化方面, 科学家通过高通量筛选, 发现化学小分子 IDE1 和 IDE2 可提高人的胚胎干细胞定向分化至定型内胚层细胞 (DEs) 的效率, 甚至部分替代生长因子 ACTIVINA 作用^[51]。更加令人振奋的突破来自化合物诱导细胞转分化领域。2015 年, 北京大学和上海生命科学研究院的 2 个独立的课题组完全使用小分子化合物 cocktail 分别将小鼠成纤维细胞和人成纤维细胞向神经元转分化^[52-53]。2016 年, 军事医学科学院裴雪涛课题组利用 8 个小分子化合物将胃

上皮细胞诱导至内胚层祖细胞^[54]; 同期, 清华大学丁胜课题组利用 9 个小分子化合物将人成纤维细胞转分化为具有体内功能的心肌细胞^[55]; 中国科学院潘光锦课题组发现在尿细胞重编程过程不同时间点添加 TGF- β 信号通路抑制剂 A8301 可分别将尿细胞重编程为 iPSCs 或者转分化为神经前体细胞^[55,56]等。上述一系列重要的研究成果表明, 小分子化合物不仅可以完全替代谱系相关转录因子, 也可以单独将细胞命运转变到特定状态, 从而为提供临床级别的功能性细胞创造了条件。

3.3.3 小分子化合物与胚胎干细胞多能性

小分子化合物在多能性细胞的维持和培养过程中扮演重要角色。研究表明小鼠的多能干细胞状态可分为 Naïve 态 (ESCs) 与 Primed 态 (EpiSCs)。其中小鼠 ESCs 可以在 2i (GSK3 β 抑制剂 CHIR99021 和 ERK 抑制剂 PD0325901)/LIF 培养环境中较好地维持 Naïve 状态^[57]。但科学家发现, 经典的人的胚胎干细胞在克隆形态及多能性维持的信号依赖等方面与经典的小鼠胚胎干细胞 (ESCs) 不同, 但与小鼠 EpiSCs 非常接近^[58]。为此, 科学家推测存在与小鼠 Naïve 态对应的人的 Naïve 状态的胚胎干细胞, 由此掀起了一轮联合多种小分子化合物促进人 ESCs 由 Primed 状态向 Naïve 状态转变的研究热潮^[59-63]。最终, 国际上多个实验室采用不同的方案成功获得具备与小鼠 Naïve 态干细胞类似的人的胚胎干细胞, 其中包括 Rudolf Jaenisch 实验室使用 5 个小分子化合物 (SB590885, PD0325901, CHIR99021, Y27632, WH-4-023) 诱导人 ESCs 由 Primed 状态向 Naïve 状态转变的方案^[63]。尽管小分子化合物在促进人 ESCs 由 Primed 状态向 Naïve 状态转变扮演重要角色, 但这些获得的人的 Naïve 状态的胚胎干细胞在细胞增殖、表观遗传特征上与经典的小鼠胚胎干细胞还存在较大差异。目前, 科学家仍在继续筛选新的小分子化合物优化并长期稳定培养人的 Naïve 状态的胚胎干细胞。

小分子化合物在体细胞重编程、定向分化或转分化、干细胞不同多能性状态的维持方面起着重要的作用, 为细胞治疗提供了理想的细胞来源, 极大地推动着干细胞与再生医学的发展。但是, 由于种属间遗传背景与细胞类型特征差异, 利用小分子化合物在小鼠或者其他物种所得到的实验研究成果较难在人的体系中重现, 如小鼠 CiPSCs 诱导方案在人的体系中没有明显作用, 因此寻找克服种属间差异的小分子化合物尤为重要, 同时通过细胞表观遗传学等研究阐明种属间差异的分子机理将有助于改进与完善未来小分子化合物在细胞命运转变的筛选策略, 两者相辅相成, 共同推动医学与生物学研究领域的发展。

3.4 体内诱导干细胞进行再生治疗

人们曾经认为动物的终末分化细胞不具有回到上一个发育阶段类型的能力, 但近年来的研究发现在哺乳动物体内也有受损组织去分化形成多能干细胞的现象, 这些现象挑战了原有的观念, 也给再生医学指出了一条新的道路, 就是通过人工诱导原位细胞去分化和转分化, 修复受损的组织 and 器官, 治疗疾病。

早在 2002 年 Keating 等就发现斑马鱼在心脏被切除 20% 以后, 可以在 2 个月内再生成完整的心脏, 并在此过程中观察到有原有心肌的脱落、分离、去分化、大量增殖和重新分化, 并且没有观察到其他来源的干细胞参与了这个过程。之后在果蝇的生殖细胞、两栖动物的肢体再生、哺乳动物的施旺细胞以及小鼠的小肠上皮 Dll1+ 细胞中也发现了类似的现象, 这就使原有的终末细胞不能再分化的观念受到了挑战, 以至于有了 2006 年 Shinya Yamanaka 的诱导多能性干细胞的出现。

人们不禁会想, 既然去分化可以自发的发生在动物体内, 而在动物体外我们又可以用人工诱导的方法把各种终末分化的细胞重编程成为类似胚胎干细胞的细胞, 那么我们能否在动物体内诱导出我们想要的细胞呢? 答案是肯定的。

2008年, Melton等用腺病毒感染小鼠, 将3个特定的转录因子转入小鼠的胰腺分泌细胞中, 使得胰腺分泌细胞分化成了可以制造胰岛素的胰岛β细胞。2012年, 日本的Inagawa等用搭载了另外3个与心肌发育有关的转录因子Gata4、Mef2c、Tbx5及绿色荧光蛋白的逆转录病毒感染在小鼠心肌梗死的区域的心肌样细胞, 被感染细胞在2~3周后明显表现出心肌的功能, 而小鼠曾经心肌梗死的心脏也部分恢复了功能。最早的关于脑神经是否也可以经由某些外源性转录因子的表达从一种细胞转化成另一种细胞的研究是在小鼠胚胎和新生小鼠中进行的, De la Rossa等发现, 有一种L5特异性的转录因子Fezf2, 可以把分裂后皮层神经元转变成L5B的神经元, 这一脑区神经元主要负责传出信号, 包含了最大的椎体细胞, 可以将轴突投射到其他不同的脑区。而De la Rossa等用Fezf2处理过的分裂后皮层神经元在形态和电生理性质上都类似于L5B的神经元。之后又有一些类似的研究, 说明分裂后皮层神经元有着穿越种系壁垒的能力。此外, 还有比如肺上皮、胃小弯以及运动神经细胞的种种研究, 都说明体内终末分化的细胞在一定条件(人工干预)下, 可以恢复干性, 重新获得分化能力, 再分化成另一种细胞^[64]。

对体内形成多能干细胞的研究, 可以激活动物的自我再生程序, 不用依靠外源性细胞的移植来治疗疾病, 或者通过寻找靶向重编程的药物, 用自我再生的方法治疗疾病。而对体内形成多能性干细胞的机理的研究, 则有可能阐明这种再生程序的机理, 对了解胚胎分化发育的节点和走向也有着重要的意义。

目前, 体内原位诱导干细胞还只停留在小动物的研究阶段, 而且诱导的效率和专一性都尚未尽如人意, 因此体内原位诱导干细胞要成为一种治疗手段, 还需经过大动物的实验, 保证安全才能造福于人类。今后随着高分辨的图形成像技术和单细胞分析等技术的发展, 研究体内诱导的手段和工具会越来越

多, 技术和手段也会越来越成熟、越来越安全, 必将造福人类。

4 干细胞与再生医学的挑战、机遇及未来

随着干细胞研究技术的更新发展, 干细胞在细胞治疗、组织器官修复、疾病模型、药物筛选、精准医疗等领域都有广阔的应用前景, 这将成为人类医学史上的一场革命。对于临床上很多难以治愈的疾病, 一些组织器官的损伤疾病, 尤其再生修复能力较差的组织器官, 可以尝试通过干细胞分化成相应细胞或组织移植至受损部位, 改善甚至治愈这些疾病^[65]。在过去的10年间, 国内外的干细胞治疗临床试验数量都在逐年递增, 要完美合理利用干细胞治疗, 需要面对更多的挑战, 如干细胞治疗和应用的标准、规范, 安全性和风险评估等^[66]。随着生活水平的提高, 人们对健康的追求、对最优的个性化的医疗方案诉求也达到新的高度, 这也是精准医疗的要求^[67]。利用诱导多能干细胞治疗疾病将是最符合精准医疗理念的范例, 这也是干细胞和再生医学面临的机遇。

4.1 安全性和研究规范

在憧憬干细胞治疗疾病的巨大前景时, 干细胞应用的安全性问题和研究规范问题也提上日程。比如干细胞是否能够正常增殖和分布, 是否会成瘤, 是否会发生免疫排斥, 是否具有遗传稳定性等。因此对干细胞进行严格的安全性评价是干细胞走向临床治疗的前提。高桥雅代团队从老年性黄斑病变的病人身上提取细胞转变成临床级别的视网膜色素上皮细胞(RPE), 移植回患者眼部, 令其重见光明, 这是干细胞最好应用的结果, 但第二例手术因供体细胞出现微小的基因突变而终止。由此可以看出干细胞的临床应用应谨慎对待, 对干细胞进行全面的安全性评估是很有必要的, 包括核型、均质性、细菌/病毒/支原体检测、生长活性、免疫学测试、分化潜能/成瘤性、培养基以及其他添加成分检测等^[68]。

小鼠不能作为人类疾病的理想模型, 因为存在寿命短、器官小和生理特性不同等缺陷, 因此和人类生理状况相似、器官相似的大动物模型是必须的, 比如猴和猪等。只要对大动物的免疫相关基因进行修饰, 使之适应人类免疫系统, 它们将是病人器官移植的潜在供体。同时也可对大动物模型进行基因修饰, 作为疾病模型为科研工作者提供试验平台, 研究新型的疾病治疗方法。

当前国内外干细胞研究正在从基础研究转向临床应用, 国内外科工作者面临机遇, 同时也面临挑战, 因此应加快研究进度, 同时也需推进干细胞进入临床治疗。因此为积极应对干细胞研究存在的问题、风险和挑战, 推动干细胞研究科学、健康、有序、快速地发展, 中国政府部门相继制定了干细胞研究应用管理制度《干细胞临床试验研究管理办法(试行)》《干细胞临床试验研究基地管理办法(试行)》《干细胞制剂质量控制和临床前研究指导原则(试行)》征求意见稿。同时也成立了国家干细胞与再生医学产业技术创新战略联盟、南方干细胞库和北方干细胞库等战略合作联盟。在国家大力支持和推动下, 干细胞研究将更加合理规范, 更有益于人民健康。

4.2 基于干细胞的个性化精准治疗

再生医学的最终目标是通过再生组织器官来达到治愈疾病的目标, 再生出来的组织器官需要与个体长期共存, 因此, 尽管异体来源的细胞也可以用于再生治疗, 但自体来源的细胞仍是最佳的选择。2011年美国医学界提出“精准医疗”概念^[69], 2015年美国总统奥巴马提出“精准医疗计划”^[70], 支持该计划研究。而中国也在2015年大力推动“精准医疗”。精准医疗是以个性化医疗为基础, 强调了针对不同患者提出不同治疗方案的特性^[71]。干细胞具有分化成多种细胞的潜能, 其特性可以使干细胞是精准医疗的绝佳载体, 通过大量扩增或组织器官再生达到治疗疾病的目的。因此, 如可以通过自体来源的干细胞实现个性化精准治疗, 无疑会极大地造福患者。

iPSC技术与相关的干细胞诱导技术使得获得大量个体来源的干细胞成为可能,因此未来的再生医学技术发展应该主要基于病人自身来源的干细胞。可以预见,这—个性化精准治疗方法将有利于极大地降低再生组织器官在与人体长期并存过程中出现并发症的可能性。而这一技术面临的主要困难则在于如何在工程学上保持细胞获取过程的稳定性,这也是本领域未来重要的研发方向之一。

4.3 对细胞命运的更深入理解与理性掌控

人类和动物机体是由多种类型的

分化细胞组成,这些分化细胞形态多样,且功能各不相同。由同一个干细胞分化得到多种类型的分化细胞,其基因组信息完全相同,最终命运各异,这是受到内外多种因素共同调控的结果。外部因素如发育过程中各种信号通路,内部因素如细胞受到外界刺激引起表观遗传学的改变,这些因素共同影响基因表达模式,进而导致了细胞命运发生改变^[72-75]。细胞命运是由多种信息、多种因素综合作用的结果,而干细胞具有分化成多种类型细胞的能力,因此干细胞是研究细胞命运决定的工具,可用于研究外界因素和内部因素对于细胞命

运的影响。反过来,人类需要对细胞命运决定过程有更为深入的了解,才能理性地掌控细胞命运。因此,通过已有的干细胞命运决定、个体发育模型深入研究影响细胞命运的信号转导、表观遗传调控机制,将极大地推进再生医学和干细胞领域的进展,是再生医学与干细胞领域不断发展的源动力。

感谢陈捷凯博士对本文的汇总与校对,感谢杜鹤博士、朱洁滢博士、秦宝明博士、廖宝剑博士、黄可博士及单永礼同学在撰写过程中提供的协助。

参考文献 (References)

- [1] McMahon D S, Thorsteinsdottir H, Singer P A, et al. Cultivating regenerative medicine innovation in China[J]. *Regenerative Medicine*, 2010, 5(1): 35-44.
- [2] Mason C, Dunmill P. A brief definition of regenerative medicine[J]. *Regenerative Medicine*, 2008, 3(1): 1-5.
- [3] Gunsilius E, Gastl G, Petzer A L. Hematopoietic stem cells[J]. *Biomed Pharmacother*, 2001, 55: 186-194.
- [4] Alison M R, Islam S. Attributes of adult stem cells[J]. *Journal of Pathology*, 2009, 217(2): 144-160.
- [5] Evans M J, Kaufman M H. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos[J]. *Nature*, 1981, 292: 154-156.
- [6] Thomson J A, Itskovitz-Eldor J, Shapiro S S, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts[J]. *Science*, 1998, 282(5391): 1145-1147.
- [7] Czyz J, Wiese C, Rolletschek A, et al. Potential of embryonic and adult stem cells *in vitro*[J]. *Biological Chemistry*, 2003, 384(10/11): 1391-1409.
- [8] 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.
- [9] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors[J]. *Cell*, 2007, 131(5): 861-872.
- [10] Yu J Y, Vodyanik M A, Smuga-Otto K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells[J]. *Science*, 2007, 318(5858): 1917-1920.
- [11] Zhou T, Benda C, Duzinger S, et al. Generation of induced pluripotent stem cells from urine[J]. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2011, 22: 1221-1228.
- [12] Yu J, Hu K, Smuga-Otto K, et al. Human induced pluripotent stem cells free of vector and transgene sequences[J]. *Science*, 2009, 324: 797-801.
- [13] Chen G, Gulbranson D R, Hou Z, et al. Chemically defined conditions for human iPSC derivation and culture[J]. *Nature Methods*, 2011, 8(5): 424-429.
- [14] Esteban M A, Wang T, Qin B M, et al. Vitamin C enhances the generation of mouse and human induced pluripotent stem cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 6: 71-79.
- [15] Wang L H, Wang L L, Huang W H, et al. Generation of integration-free neural progenitor cells from cells in human urine[J]. *Nature Methods*, 2013, 10: 84-89.
- [16] Lund R D, Wang S, Klimanskaya I, et al. Human embryonic stem cell-derived cells rescue visual function in dystrophic RCS rats[J]. *Cloning Stem Cells*, 2006, 8(3): 189-199.
- [17] Adijanto J, Philp N J. Cultured primary human fetal retinal pigment epithelium (hfRPE) as a model for evaluating RPE metabolism[J]. *Experimental Eye Research*, 2014, 126: 77-84.
- [18] Forrester J V, Xu H, Kuffová L, et al. Dendritic cell physiology and function in the eye[J]. *Immunological Reviews*, 2010, 234(1): 282-304.
- [19] Kamao H, Mandai M, Okamoto S, et al. Characterization of human induced pluripotent stem cell-derived retinal pigment epithelium cell sheets aiming for clinical application[J]. *Stem Cell Reports*, 2014, 2(2): 205-218.
- [20] Okamoto S, Takahashi M. Induction of retinal pigment epithelial cells from monkey iPS cells[J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2011, 52(12): 8785-8790.
- [21] Zhao T, Zhang Z N, Rong Z, et al. Immunogenicity of induced pluripotent stem cells[J]. *Nature*, 2011, 474(7350): 212-215.
- [22] Scudellari M. A decade of iPS cells[J]. *Nature*, 2016, 534: 310-312.
- [23] Hochedlinger K, Jaenisch R. Nuclear reprogramming and pluripotency[J]. *Nature*, 2006, 441: 1061-1067.
- [24] Anokye-Danso F, Trivedi C M, Juhr D, et al. Highly efficient miRNA-mediated reprogramming of mouse and human somatic cells to pluripotency[J].

- Cell Stem Cell, 2011, 8(4): 376–388.
- [25] Zhou H, Wu S, Joo J Y, et al. Generation of induced pluripotent stem cells using recombinant proteins[J]. Cell Stem Cell, 2009, 8(4): 381–384.
- [26] Cheng L, Hansen N F, Zhao L, et al. Low incidence of DNA sequence variation in human induced pluripotent stem cells generated by nonintegrating plasmid expression[J]. Cell Stem Cell, 2012, 10: 337–344.
- [27] Li W, Li K, Wei W, et al. Chemical approaches to stem cell biology and therapeutics[J]. Cell Stem Cell, 2013, 13: 270–283.
- [28] Lin T, Ambasadhan R, Yuan X, et al. A chemical platform for improved induction of human iPSCs[J]. Nature Methods, 2009, 6: 805–808.
- [29] Xu Y, Shi Y, Ding S. A chemical approach to stem-cell biology and regenerative medicine[J]. Nature, 2008, 453: 338–344.
- [30] Huangfu D, Maehr R, Guo W, et al. Induction of pluripotent stem cells by defined factors is greatly improved by small-molecule compounds[J]. Nature Biotechnology, 2008, 26: 795–797.
- [31] Huangfu D, Osafune K, Maehr R, et al. Induction of pluripotent stem cells from primary human fibroblasts with only Oct4 and Sox2[J]. Nature Biotechnology, 2008, 26: 1269–1275.
- [32] Christman J K. 5-Azacytidine and 5-aza-2'-deoxycytidine as inhibitors of DNA methylation: Mechanistic studies and their implications for cancer therapy[J]. Oncogene, 2002, 21: 5483–5495.
- [33] 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: 2992–3000.
- [34] Esteban M A, Pei D. Vitamin C improves the quality of somatic cell reprogramming[J]. Nature Genetics, 2012, 44: 366–367.
- [35] Wang T, Chen K, Zeng X, et al. The histone demethylases Jhdmla/1b enhance somatic cell reprogramming in a vitamin-C-dependent manner[J]. Cell Stem Cell, 2011, 9: 575–587.
- [36] Chen J, Guo L, Zhang L, et al. Vitamin C modulates TET1 function during somatic cell reprogramming[J]. Nature Genetics, 2013, 45(12): 1504–1509.
- [37] Chen J, Liu H, Liu J, et al. H3K9 methylation is a barrier during somatic cell reprogramming into iPSCs[J]. Nature Genetics, 2013, 45(1): 34–42.
- [38] Marson A, Foreman R, Chevalier B, et al. Wnt signaling promotes reprogramming of somatic cells to pluripotency[J]. Cell Stem Cell, 2008, 3: 132–135.
- [39] Chen J, Han Q, Pei D. EMT and MET as paradigms for cell fate switching[J]. Journal of Molecular Cell Biology, 2012, 4(2): 66–69.
- [40] 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: 51–63.
- [41] Shi Y, Despons C, Do J T, et al. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic fibroblasts by Oct4 and Klf4 with small-molecule compounds [J]. Cell Stem Cell, 2008, 3: 568–574.
- [42] Zhu S, Li W, Zhou H, et al. Reprogramming of human primary somatic cells by OCT4 and chemical compounds[J]. Cell Stem Cell, 2010, 7: 651–655.
- [43] Ichida J K, Blanchard J, Lam K, et al. A small-molecule inhibitor of tgf-Beta signaling replaces sox2 in reprogramming by inducing nanog[J]. Cell Stem Cell, 2009, 5: 491–503.
- [44] Hou P, Li Y, Zhang X, et al. Pluripotent stem cells induced from mouse somatic cells by small-molecule compounds[J]. Science, 2013, 341: 651–654.
- [45] Zhao Y, Zhao T, Guan J, et al. A XEN-like state bridges somatic cells to pluripotency during chemical reprogramming[J]. Cell, 2015, 163: 1678–1691.
- [46] D'Amour K A, Agulnick A D, Eliazar S, et al. Efficient differentiation of human embryonic stem cells to definitive endoderm[J]. Nature Biotechnology, 2005, 23: 1534–1541.
- [47] Efe J A, Hilcove S, Kim J, et al. Conversion of mouse fibroblasts into cardiomyocytes using a direct reprogramming strategy[J]. Nature Cell Biology, 2011, 13: 215–222.
- [48] Graf T. Historical origins of transdifferentiation and reprogramming[J]. Cell Stem Cell, 2011, 9: 504–516.
- [49] Sekiya S, Suzuki A. Direct conversion of mouse fibroblasts to hepatocyte-like cells by defined factors[J]. Nature, 2011, 475: 390–393.
- [50] Huang P, He Z, Ji S, et al. Induction of functional hepatocyte-like cells from mouse fibroblasts by defined factors[J]. Nature, 2011, 475: 386–389.
- [51] Borowiak M, Maehr R, Chen S, et al. Small molecules efficiently direct endodermal differentiation of mouse and human embryonic stem cells[J]. Cell Stem Cell, 2009, 4: 348–358.
- [52] Hu W, Qiu B, Guan W, et al. Direct conversion of normal and Alzheimer's disease human fibroblasts into neuronal cells by small molecules[J]. Cell Stem Cell, 2015, 17: 204–212.
- [53] Li X, Zuo X, Jing J, et al. Small-molecule-driven direct reprogramming of mouse fibroblasts into functional neurons[J]. Cell Stem Cell, 2015, 17: 195–203.
- [54] Wang Y, Qin J, Wang S, et al. Conversion of human gastric epithelial cells to multipotent endodermal progenitors using defined small molecules[J]. Cell Stem Cell, 2016, 19: 1–13.
- [55] Cao N, Huang Y, Zheng J, et al. Conversion of human fibroblasts into functional cardiomyocytes by small molecules[J]. Science, 2016, 352: 1216–1220.
- [56] Wang L, Li X, Huang W, et al. TGFβ signaling regulates the choice between pluripotent and neural fates during reprogramming of human urine derived cells[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 22484.
- [57] Ying Q L, Wray J, Nichols J, et al. The ground state of embryonic stem cell self-renewal[J]. Nature, 2008, 453: 519–523.
- [58] Nichols J, Smith A. Naive and primed pluripotent states[J]. Cell Stem Cell, 2009, 4: 487–492.
- [59] Takashima Y, Guo G, Loos R, et al. Resetting transcription factor control circuitry toward ground-state pluripotency in human[J]. Cell, 2014, 158: 1254–1269.
- [60] Chan Y S, Goke J, Ng J H, et al. Induction of a human pluripotent state with distinct regulatory circuitry that resembles preimplantation epiblast[J]. Cell Stem Cell, 2013, 13: 663–675.
- [61] Gafni O, Weinberger L, Mansour A A, et al. Derivation of novel human ground state naive pluripotent stem cells[J]. Nature, 2013, 504: 282–286.

- [62] Ware C B, Nelson A M, Mechem B, et al. Derivation of naive human embryonic stem cells[J]. PNAS, 2014, 111(12): 4484–4489.
- [63] Theunissen T W, Powell B E, Wang H, et al. Systematic identification of culture conditions for induction and maintenance of naïve human pluripotency [J]. Cell Stem Cell, 2014, 15: 471–487.
- [64] Srivastava D, DeWitt N. *In vivo* cellular reprogramming: The next generation[J]. Cell, 2016, 166(6): 1386–1396.
- [65] Lengner C J. iPS cell technology in regenerative medicine[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2010, 1192: 38–44.
- [66] Tabar V, Studer L. Pluripotent stem cells in regenerative medicine: Challenges and recent progress[J]. Nature Reviews Genetics, 2014, 15(2): 82–92.
- [67] Ashley E A. Towards precision medicine[J]. Nature Reviews Genetics, 2016, 17: 507–522.
- [68] Schwartz S D, Hubschman J P, Heilwell G, et al. Embryonic stem cell trials for macular degeneration: A preliminary report[J]. The Lancet, 2012, 379 (9817): 713–720.
- [69] Tonellato P J, Crawford J M, Boguski M S, et al. A national agenda for the future of pathology in personalized medicine: Report of the proceedings of a meeting at the Banbury Conference Center on genome-era pathology, precision diagnostics, and preemptive care: A stakeholder summit[J]. American Journal of Clinical Pathology, 2011, 135(5): 668–672.
- [70] Obama, B. United States health care reform: Progress to date and next steps[J]. Journal of the American Medical Association, 2016, 316(5): 525–532.
- [71] Twilt M. Precision medicine: The new era in medicine[J]. EbioMedicine, 2016, 4: 24–25.
- [72] Pelaez N, Gavaldà-Miralles A, Wang B, et al. Dynamics and heterogeneity of a fate determinant during transition towards cell differentiation[J]. eLife, 2015, 4. doi: 10.7554/eLife.08924.
- [73] Maheswaran S, Haber D A. Cell fate: Transition loses its invasive edge[J]. Nature, 2015, 527: 452–453.
- [74] Moris N, Pina C, Arias A M. Transition states and cell fate decisions in epigenetic landscapes[J]. Nature Reviews Genetics, 2016. doi: 10.1038/nrg.2016.98.
- [75] Wu Q, Ng H H. Mark the transition: chromatin modifications and cell fate decision[J]. Cell Research, 2011, 21: 1388–1390.

Perspective of stem cell and regenerative medicine

LIU Jing, CAO Shangtao, CAI Jinglei, PEI Duanqing

Key Laboratory of Regenerative Biology; Guangdong Provincial Key Laboratory of Stem Cell and Regenerative Medicine; South China Institute for Stem Cell Biology and Regenerative Medicine, Guangzhou Institutes of Biomedicine and Health, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510530, China

Abstract Recently, a series of breakthroughs in stem cell and regenerative medicine, as the frontier and the hotspot of life sciences, brings numbers of revolutionary changes into the medical development. In this paper, we mainly summarize and analyze the current progresses and perspectives of the applications of stem cells from distinct resources *in vitro* and *in vivo* for the regenerative treatment and the roles of small molecules in the mechanisms involved in the cell fate transition and the functional cells obtained *in vitro*. Meanwhile, the safety and the regulation of the applications of the stem cell and regenerative medicine in the clinical therapy are discussed, to provide some food for thought for reasonable arrangements and plots in this field.

Keywords stem cell; regenerative medicine; cell fate transition; clinical therapy

(责任编辑 王媛媛)