

· 综述 ·

诱导性多能干细胞技术用于研究人类疾病^{*}

阮光萍, 刘菊芬, 姚翔, 何洁, 王金祥, 杨建勇, 庞荣清 综述, 潘兴华[△] 审校
(成都军区昆明总医院干细胞工程实验室, 云南昆明 650032)

关键词: 诱导性多能干细胞; 重编程; 体细胞; 人类疾病

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.12.049

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2015)12-1753-04

获得遗传学上与患者相配的大量细胞是再生医学的梦想。诱导性多能干细胞技术通过在培养皿中培养细胞来研究发病机理, 建立疾病模型, 观察疾病的分子机制, 并发现新细胞基础的药物。诱导多能干(iPS)细胞从非多能细胞诱导产生, 但拥有相似于胚胎干(ES)细胞的多能性, Takahashi 等^[1-4]首先实现了这个突破, 在体外成功表达 4 个转录因子, 即 Oct4、Sox2、Klf4 和 c-Myc, 这个步骤不需要卵母细胞。自从发现 iPS 细胞, 这个领域吸引了大量科学家的注意。使用患者特异的 iPS 细胞有临床应用的潜能, 可治疗大量退行性和遗传性疾病。产生 iPS 细胞是一个很长的过程, 导致了混合细胞有各种发育潜能, 在原代培养, iPS 细胞常常和原始体细胞、转化细胞和部分重编程细胞混合出现。实际上只有极少数的 iPS 细胞充分重编程。本文总结了最近的大部分 iPS 细胞研究进展, 包括 iPS 细胞的产生、治疗、面对的挑战及对 iPS 细胞多能性的应用等。

1 iPS 细胞的产生

由于动物克隆的成功, 体细胞核移植(SCNT)成为提供患者特异细胞系的可选方法之一。然而, 多利羊出生大约过去了 15 年, 人类成功获得鼠的 SCNT 胚胎干细胞距今大约 10 年, 人 SCNT ES 细胞(hESC)系的获得仍然是全世界有待解决的课题。获得人卵细胞时的伦理问题和实践困难是其主要障碍, 实现 SCNT 在研究人生物学中有更主要的作用。获得疾病特异细胞更现实的方法是从胚胎筛选分离 hESC 系, 用植入前遗传学诊断(PGD)进行遗传学疾病筛选。对一定范围的遗传学疾病, PGD-hESC 系已被建立^[5], 尽管很少, 但用这些细胞塑造疾病表型有成功的例子。产生 PGD-hESC 系依赖于接近早期的人类胚胎, 要求有相当专业的技术和分离 hESC 的专家, 因此目前关于通过 PGD 筛选疾病的研究比较有限。

对人类疾病模型的建立, 发展诱导的多能干细胞(iPSC)技术完全改变了方法。iPSC 方法, 由日本干细胞研究专家山中伸弥发明, 通过表达一套多能相关转录因子使重编程体细胞到多能状态。自从最初报告在鼠中产生 iPSC, 这个领域以惊人的速度前进, 解决了许多最初大家关注的问题, 如关于这些细胞的多能性。鼠的 iPSC 被证明作用于嵌合鼠的生殖系, 可以在四倍体胚胎互补中产生完全的 iPSC 来源鼠^[6-7]。关于产生人 iPSC 的挑战也很快克服了, 从特定疾病的不同个人获得多系细胞, 几年前还不可信, 现在不仅可能, 而且在许多实验室是常规技术。

2 iPS 细胞用于疾病模型的治疗

尽管有许多技术需要改进, 但当前的关键在于优化诱导方法, 避免转基因插入, 人 iPSC 技术成熟到一个水平, 有可能探

索出它对塑造疾病的潜能。这个方向的第一个研究经证明是可行的, 可产生个体特异的 iPSC。分化疾病特异的 iPSC 到相关细胞类型。例如, 脊髓运动神经元来源于 iPSC 系, 而 iPSC 系来源于一个遭受慢性进展形式的肌萎缩性侧索硬化(ALS)患者, 并且多巴胺神经元来源的 iPS 细胞有 7 个是源于帕金森疾病的患者。这些最初的研究, 有的描述不详细, 有的没有观察疾病相关的表型^[4], 然而, 最近的研究证明了塑造疾病病理和体外候选药物检测是可行的。早期的研究报道了一种存在于运动神经元的疾病表型^[1], 1 例 3 岁脊髓性肌萎缩(SMA)患儿表现出一种运动神经元紊乱的早期症状, 研究发现其 iPSC 来源的运动神经元低表达 SMN 蛋白, 缺乏含 SMN 蛋白的核聚集结构, 给予丙戊酸或妥布霉素(以前发现在鼠的疾病模型能增加 SMN 蛋白的一种化合物)对增加 SMN 蛋白有效, 能增加 iPSC 来源的神经元中“含 SMN 蛋白的核聚集结构”的数量。另一种 iPSC 基础疾病模型是家族性自律性神经失调患者^[2], 家族性自律性神经失调是一种少见的遗传紊乱, 其影响外周神经系统从而导致严重的临床症状。它预后较差, 仅 40% 的患者存活超过 20 岁。在许多例子中, 疾病的发生是因为单点突变和随后部分 IKBKAP 基因的误拼接, 这个基因也被当作 ELP1, ELP1 是一种转录伸长复合物的组分。从 3 个有家族性自律神经失调(10、12、16 岁)的患者分离 iPSC 系(FD-iPSC), 模拟体外疾病的基本病因, FD-iPSC 来源的神经前体细胞低丰度表达正常的 IKBKAP 转录子。同时观察到神经缺陷和细胞运动的缺陷。当进行独立的 FD-iPSC 克隆, 采用植物激素激活治疗复合物后, 改善了 IKBKAP 的转录拼接, 部分解救了神经缺陷。

家族性自律神经失调和 SMA 的研究表明 iPSC 细胞用于疾病的治疗是可能的, 在培养皿中用 iPSC 来源细胞可模拟病变, 利用在 iPSC 来源细胞观察到的分子缺陷(误拼接 IKBKAP 和 SMN 转录子)影响细胞类型的产生, 指导分化的 hESC。深入地讨论早期症状的紊乱, 适合以 iPSC 为基础的研究。在模拟造血系统紊乱上也有一些初步的成功, 直接从有骨髓增生紊乱的患者分离的 iPSC 显示了过多的红细胞生成。

3 iPS 细胞面对的挑战

iPSC 技术对疾病模型的影响引起了广泛关注, 这个技术适用于许多疾病。一个需要解决的关键问题是, 是否人类 iPSC 真的等同于 hESCs。而这是干细胞生物学领域的基础, 对疾病模型的建立有直接的意义。不同多能状态的存在表明一个特定细胞系的分化潜能可能会有偏向, 导致疾病相关细胞类型的表现不同。在这个时期, 对 PSC 疾病模型、疾病相配的

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(31172170); 国家重点基础研究发展计划项目(973 计划)(2012CB518106); 云南省高新技术产业发展专项资金资助项目(201204); 国家支撑计划资助项目(2014BAI01B01)。
△ 通讯作者, E-mail: ynkmyr@163.com。
作者简介: 阮光萍, 女, 副主任医师, 主要从事干细胞基础与应用研究。

PGD-hESCs, 或通过遗传学建立的 hESCs 模型需要谨慎地进行对比。

通过分离制备的细胞有异质性, 这是人类胚胎干细胞生物学的一个问题, 进一步改善分离步骤是绝对必要的。建立广泛的标准描述分离的细胞是关键, 可通过研究对比, 用表面标志和遗传学方法纯化疾病相关的细胞类型, 从异质群中纯化^[8-9]。这将明显减少 iPSC 研究的多样性。

获得纯化细胞群对研究疾病发病机理很重要。一个有趣的实例是研究来自 ALS 患者的 iPSC, 发现有 SOD1 基因的突变。为了区别细胞同质与非细胞同质, 纯化个人特异运动神经元是非常重要的。

发展有力的遗传学工具更关键, 遗传学工具的发展需要修复疾病特异的突变。例如, 最新的研究证明, 在 iPSC 诱导前通过慢病毒基因转移到人体特异的成纤维细胞^[3], 改正范可尼贫血基因, 使用慢病毒转基因表达疾病改正基因, 对基因剂量的效果非常敏感, 要求细胞类型特异表达, 用转基因方法比较困难。在这种情况下最有用的方法是精确修复突变基因, 尽管修复点突变还没有被证明, 用锌指核酸酶策略和腺相关病毒介导的重组有可能成为现实, 实际上, 对许多未来研究, 修复基因缺陷和改正 iPSC 疾病表型, 将很好地证明疾病模型的特异性。

最后, iPSC 来源细胞和组织的另一个重要特征是它们的年龄。山中伸弥先前研究表明, 年龄在一定程度上与重编程到多能状态是相反的。今天面对 iPSC 研究的一个关键挑战是跳过年龄的转换。像阿尔茨海默病和帕金森病, 通常许多人类疾病是老年病, 但是, 当前 hESC 和 iPSC 分化步骤产生的细胞显示了胎儿期细胞的行为。例如, hESC 来源心肌前体细胞显示了生理行为, 在它们显示功能前(比如能恢复帕金森患者的缺陷), hESC 来源的多巴胺能神经元要求转变成熟, hESC 来源的胰岛样细胞像早期的胎儿细胞一样缺乏适当的糖反应。是否后期的疾病能用传统的方法治疗, 或是否有新的方法在体外改变年龄的影响是需要考虑的问题。当前努力让 iPSC 来源细胞产生年龄相关的疾病模型, 比如自由基暴露, 暴露给环境毒素, 过表达蛋白引起毒素聚集。是否 iPS 细胞拥有表观记忆, 这仍然是有趣的问题, 因此保留供者年龄的影响, 将更方便塑造晚期疾病模型。而且, 体内植入人 iPSC 来源的细胞, 建立人动物种间嵌合体, 将在成人组织中长期观察这些细胞。这有可能探索 iPS 细胞塑造疾病模型的能力。需要更好地理解细胞内在和环境因素决定的时间顺序和细胞年龄。

4 iPS 细胞用于个性化医学

许多人类疾病还没有很好地认识, 疾病的病因学包括多样化的遗传和环境因素。是否 iPSC 技术只能描述特定的遗传紊乱, 或是否它能用于理解疾病的散发形式, 对那些不知道遗传作用的疾病, 仍然是一个关键问题。一个探索 iPSC 技术潜在的方法指出了潜在疾病的相关表型, iPSC 来源患者有家族形式的相同疾病。遗传研究基于这些亚类, 最终绘出其他疾病的轨迹, 发现疾病亚型的特异药物。

只有时间能说明 iPSC 基础的模型, 比如疾病的基因鼠模型。尽管鼠模型是无价的, 在许多研究中鼠不能忠实地表现人类疾病。例如, 鼠的家族性自律神经失调模型还没有成功, 因为 IKBKAP 基因失去功能会突变, 导致早期胚胎死亡。因此家族性自律神经失调 iPSC 模型为疾病的研究提供了新的机会。然而, 缺乏适当的动物疾病模型, 对 iPSC 基础的研究也是不利的, 因为来自于 iPSC 工作的候选药物筛选是很困难的。

5 iPS 细胞的多能性

5.1 干细胞分化潜能 在适当条件下分化为其他类型细胞的

能力是早期胚胎细胞和干细胞最重要的性质。基于不同的分化能力, 干细胞分为全能、多能和单能干细胞。只有早期胚胎的受精卵和卵裂球(鼠的 8 细胞期前)在发育中拥有全能性, 全能胚胎分化为超过 200 个细胞类型属于 3 个生殖胚层的发育和体内的胚外组织, 因此产生了新生命。过了这个期, 卵裂球失去全能性进行了第一次细胞命运的决定。在囊胚期, 少数卵裂球发育为多能内细胞团(ICM), 剩下的分化为滋养外胚层形成胚外组织支持胚胎发育。ICM 进一步分化为 3 个生殖层(外、中、内胚层), 然后成为完整个体。这个类型的发育能力叫作多能性。更重要的是 ICM 能在体外分离和维持产生 ES 细胞, 能和 ICM 一样维持同样的多能状态。大量组织特异干细胞, 包括造血干细胞是多能的, 能分化为各种细胞类型。精原干细胞(SSC)是单能组织特异干细胞的例子, 因为 SSC 只能分化为精子。干细胞的分化能力被证实, 移植后, 在适当的体内条件下, 或有适当刺激的体外培养条件下, 多能和单能干细胞有能力分化为特异细胞类型。然而, 分化多能干细胞为所有可能的细胞类型是不现实的。尽管胚体(EB)形成 3 个生殖胚层能被诱导。皮下移植多能干细胞给免疫缺陷鼠产生畸胎瘤, 形成畸胎瘤被用做最初步的方法在体内检测鼠多能干细胞的多能性。一个更严格的方法检测多能性, 是产生有生殖系传递能力的嵌合鼠。然而, 嵌合体不能明确地代表多能干细胞全部的多能性。检测多能干细胞的多能性, 四倍体囊胚互补仍然是最严格的测定。四倍体囊胚产生通过融合 2 细胞期胚胎发育缺陷在体内仅形成胚外组织。有趣的是, 四倍体胚胎的这个发育特征确实与多能干细胞相反。正如期望的, 有全部多能性的 ES 细胞弥补了四倍体胚胎的发育缺陷。全部组织能从多能干细胞和来源于四倍体胚胎的胚外组织产生。以这种方式, ES 细胞可分化为所有类型的胎儿细胞, 组织、器官, 组成有机体, 证明 ES 细胞的多能性。四倍体互补测定也被当作相似于造血干细胞的多能性检测, 但是要测定整个胎儿的重构而不仅是造血系统。这个信息比体外分化干细胞更有用, 因为它能清楚地证明, 对比其他干细胞类型, 干细胞拥有更大的分化潜能。

5.2 功能评价鼠 iPS 细胞的多能性 Takahashi 和 Yamanaka 揭示了在分化的 MEFs 体外表达四个转录因子, 能诱导核重编程, 形成的 iPS 细胞具有典型的 ES 细胞形态, 此发现是具有里程碑意义的进展。当皮下移植给免疫缺陷裸鼠时这些 iPS 细胞表达多能基因产生畸胎瘤。然而, 通过植入最初的 iPS 细胞到正常的受精胚胎不能产生活的嵌合鼠。因此, 最初的 iPS 细胞不是充分全能的 iPS 细胞。然而, 仍然不确定是否充分全能的 iPS 细胞能被诱导, 因为不能通过四倍体互补从 iPS 细胞产生成熟动物。为了证实充分全能的 iPS 细胞, 大量 iPS 细胞系进行了四倍体互补测定, 最终在三个独立的实验室产生活的胎儿^[6,7,10]。在这些研究进行时, 所有的数据证明 iPS 细胞功能相当于 ES 细胞。后继实验提供了进一步的证据, 来源于胎儿体细胞的 iPS 细胞不是诱导多能细胞的唯一类型。实际上, 来源于成人体细胞的 iPS 细胞也能充分全能^[11], 而且, 最近的研究表明 iPS 细胞重编程仅用 3 个因子(不用 c-Myc), 因为活的鼠能完全从 iPS 细胞产生^[12]。然而, 应该注意仅用 iPS 细胞产生鼠的成功例子较少, 经检测大部分 iPS 细胞系不能产生活的鼠。

5.3 充分全能的 iPS 细胞与非充分全能的 iPS 细胞之间的不同 为了进一步描述充分全能的 iPS 细胞与非充分全能的 iPS 细胞之间的不同, 相关研究对 ES 细胞和 iPS 细胞系进行了基因表达对比。在染色体 12qF1, 特别 Glt2 和 Rian, 小量转录编码在印记 Dlk1-Dio3 基因簇是异常沉默的, 大部分 iPS 细胞系

不能产生嵌合体,不能用四倍体胚胎互补法证明 iPS 细胞来源组织的发育^[13]。相对的,充分多能的 iPS 细胞系在这个区这些基因正常表达,因此,这个区的基因表达状态被当作评价 iPS 细胞系质量的候选标志。然而,Dlk1-Dio3 基因簇的沉默无法作为不完全多能性的基本原因,尽管大部分 iPS 细胞系多能性与这些基因的表达状态相关很好,但也有一些例外存在,特别是被用来产生 iPS 细胞系的 Oct4、Sox2 和 Klf4。而且,事实上 Glt2 敲除鼠是挑战 Glt2 的关键,决定 iPS 细胞的多能性。据报道在部分重编程的 iPS 细胞,用组蛋白脱乙酰基酶抑制剂处理再活化沉默的 Dlk1-Dio3 基因簇,可以拯救 iPS 细胞的能力,支持 iPS 细胞来源鼠的全部发育。然而因为抑制剂的效果非常复杂,这个研究仍然是有争论的。因此,仅凭一个基因簇,iPS 细胞的质量不能被决定,发现协同决定于 iPS 细胞质量的额外候选基因,进一步的广泛研究是必需的。建议广泛对比 DNA 甲基化、基因表达和非编码 RNAs,鼠 iPS 细胞系来源于相同体细胞,有不同发育潜能,将对多能性的调节提供更多的研究证据。

5.4 人 iPS 细胞与 ES 细胞的分子对比 不像鼠 iPS 细胞,多能性是通过四倍体互补测定,评价人 iPS 细胞和 ES 细胞的多能性更加初级。当前,最严格的检测人多能干细胞的多能性方法是畸胎瘤形成,它仅能评价分化潜能形成 3 个胚层或小量特异细胞类型,并不能指明充分多能性。最近,分子分析人 ES 细胞和 iPS 细胞,用基因组广泛高通量测定,允许进行更定量的对比。通过对基因表达特征,几个独立组的研究表明人 iPS 细胞与人 ES 细胞相似,但一些再发生的分化基因表达未被观察到^[14-15]。而且,晚期代数的 iPS 细胞拥有的基因表达表征与人 ES 细胞更相似。然而,这些分化基因表达表征被认为是随机的,或是被体外微环境影响而产生的,以致样品库被扩增,两个多能细胞类型没有被区别^[16-17]。除了转录表征,在人 iPS 细胞和 ES 细胞之间,特异 CpG 岛分化甲基化有区别。CpG 甲基化的变化,组蛋白修饰和非 CpG 甲基区的不完全重编程在人 iPS 细胞接近着丝粒与端粒处被观察到^[18]。然而,相关研究证实 ES 细胞和 iPS 细胞之间几乎相同,基因组广泛图谱显示核酸组蛋白 H3K4 和 H3K27 三甲基化^[19]。(1) 相关研究表明 iPS 细胞传代,在决定 iPS 细胞性质中起重要作用^[20]。这是因为早期代数的 iPS 细胞系不能完成重编程过程。如果所有 iPS 细胞系都是这样,那么评价重编程过程应该延伸到晚期代数,iPS 细胞的特征和应用在这个方面也应该标准化。(2) 分析方法和数据解释对研究结论有极大的影响。例如,用来计算统计意义的阈值会导致偏差。因此,基于相似数据的争论表明 iPS 细胞和 ES 细胞任何潜在不同都很少。这样,没有特异有意义的群被发现。(3) 各种 iPS 细胞和 ES 细胞系的性质是随机的。因为不同细胞系会得出不同的结论,所用的培养条件和操作,在相同环境里会发生波动。因此,建议以后的研究增加检测 iPS 细胞系的数量,减少由不充分对比引起的差异。

5.5 iPS 细胞作为 ES 细胞应用 尽管培养 iPS 细胞和 ES 细胞完全不同,它们之间也有相似性。然而,应用 iPS 细胞却非常复杂,异质混合的细胞有各种发育潜能。尽管充分重编程的 iPS 细胞和 ES 细胞有相似性,不完全重编程的 iPS 细胞仍然存在。因此,临床应用 iPS 细胞,将来主要考虑设定最低准则排除低质量的 iPS 细胞系。笔者看来不需要证明 iPS 细胞和 ES 细胞的相似性。人 ES 细胞也是人造产物,没有金标准可用来评价 ES 细胞质量。临幊上,正常细胞能有效分化为特定细胞类型,需要用于再生医学,使用转分化直接转化体细胞为

其他类型体细胞被建议为替代策略获得功能细胞用于治疗^[21-24],然而,所得细胞效果需要被证实老龄细胞缩短的端粒在转化细胞时拉长了,否则使用这些细胞进行细胞基础的治疗将是不清楚的,这样,iPS 细胞仍然是最有吸引力的细胞来源。笔者建议临床应用人 iPS 细胞需有以下最低要求:(1) 正常核型,因为一些子核型的改变在重编程被观察到,一个正常核型是 ES 细胞特征的重要因素。(2) 正常基因型,人 iPS 细胞的培养策略应该被保留供者细胞的完整性,使用的方法不用转基因,包括 mRNA 和蛋白介导的诱导,通过小分子辅助^[25]。(3) 活化多能网络,这将确保 iPS 细胞拥有必需的自我更新能力和分化潜能。(4) 特别的分化能力,这是最重要的准则,代表 iPS 细胞的有用性,用于特定细胞基础的治疗。不完全重编程的 iPS 细胞来自原供者细胞的表观记忆,将影响早期几代 iPS 细胞的分化趋势。正如以前讨论的,iPS 细胞系稳定维持到晚期代数的应该被使用。小量 iPS 细胞系显示了减少分化效率^[26],细胞系在 DNA 甲基化和基因表达表征的不同导致不同的体外分化倾向^[27]。为了增加分化效率,应该建立更方便的检查标准。

6 结 论

iPSC 技术仍然在发展,要成为一个有用的方法需要克服许多问题,但这个技术能改进对人类疾病模型的研究,可以发现新水平的个性化药物。可以想象,长期下去,接近患者完整的遗传信息,直接检测出患者自己的 iPSC 来源组织,用于广泛的医学问题,将变成常规。人们可以在治疗患者前检测药物反应,测量疾病易感性或癌症危险,从而改变生活方式。这些思想在今天听起来像科幻小说,突破的技术比如诱导多能性是好的例子,它使科学进展的现实超越了想象。

直接重编程分化的体细胞为 iPS 细胞,以及临床运用 iPS 细胞治疗各种疾病的潜在能力使细胞的命运可以被选择。用四倍体互补实验证明鼠 iPS 细胞的完全多能性。然而,区别 iPS 细胞多能性的分子标准仍然需要建立。这样,需要深入详细的研究,改进认识鼠 iPS 细胞的多能性调节。更重要的是,通过对人 iPS 细胞的不同,可提供未来评价人 iPS 细胞质量的最小分子准则。

参考文献

- [1] Ebert AD, Yu J, Rose FF, et al. Induced pluripotent stem cells from a spinal muscular atrophy patient [J]. Nature, 2009, 457(7227):277-280.
- [2] Lee G, Papapetrou EP, Kim H, et al. Modelling pathogenesis and treatment of familial dysautonomia using patient-specific iPSCs [J]. Nature, 2009, 461(7250):402-406.
- [3] Raya A, Rodriguez-Piza I, Guenechea G, et al. Disease-corrected hematopoietic progenitors from Fanconi anaemia induced pluripotent stem cells[J]. Nature, 2009, 460(7249):53-59.
- [4] Soldner F, Hockemeyer D, Beard C, et al. Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors[J]. Cell, 2009, 136(5):964-977.
- [5] Eiges R, Urbach A, Malcov M, et al. Developmental study of fragile X syndrome using human embryonic stem cells derived from preimplantation genetically diagnosed embryos[J]. Cell Stem Cell, 2007, 1(5):568-577.
- [6] Zhao XY, Li W, Lv Z, et al. iPS cells produce viable mice through tetraploid complementation[J]. Nature, 2009, 461(7250):86-90.
- [7] Kang L, Wang J, Zhang Y, et al. iPS cells can support full-term development of tetraploid blastocyst-complemented embryos[J].

- Cell Stem Cell, 2009, 5(2):135-138.
- [8] Placantonakis DG, Tomishima MJ, Lafaille F, et al. BAC transgenesis in human embryonic stem cells as a novel tool to define the human neural lineage[J]. Stem Cells, 2009, 27(3):521-532.
- [9] Hockemeyer D, Soldner F, Beard C, et al. Efficient targeting of expressed and silent genes in human ESCs and iPSCs using zinc-finger nucleases[J]. Nat Biotechnol, 2009, 27(9):851-857.
- [10] Boland MJ, Hazen JL, Nazor KL, et al. Adult mice generated from induced pluripotent stem cells[J]. Nature, 2009, 461(7250):91-94.
- [11] Stadtfeld M, Apostolou E, Akutsu H, et al. Aberrant silencing of imprinted genes on chromosome 12qF1 in mouse induced pluripotent stem cells[J]. Nature, 2010, 465(7254):175-81.
- [12] Kang L, Wu T, Tao Y, et al. Viable mice produced from three-factor induced pluripotent stem (iPS) cells through tetraploid complementation[J]. Cell Res, 2011, 21(3):546-549.
- [13] Liu L, Luo GZ, Yang W, et al. Activation of the imprinted Dlk1-Dio3 region correlates with pluripotency levels of mouse stem cells[J]. J Biol Chem, 2010, 285(25):19483-19490.
- [14] Chin MH, Pellegrini M, Plath K, et al. Molecular analyses of human induced pluripotent stem cells and embryonic stem cells[J]. Cell Stem Cell, 2010, 7(3):263-269.
- [15] Ghosh Z, Wilson KD, Wu Y, et al. Persistent donor cell gene expression among human induced pluripotent stem cells contributes to differences with human embryonic stem cells[J]. PLoS One, 2010, 5(2):8975.
- [16] Guenther MG, Frampton GM, Soldner F, et al. Chromatin structure and gene expression programs of human embryonic and induced pluripotent stem cells[J]. Cell Stem Cell, 2010, 7(2):249-257.
- [17] Newman AM, Cooper JB. Lab-specific gene expression signatures in pluripotent stem cells[J]. Cell Stem Cell, 2010, 7(2):258-262.
- [18] Lister R, Pelizzola M, Kida YS, et al. Hotspots of aberrant epig-

- enomic reprogramming in human induced pluripotent stem cells [J]. Nature, 2011, 471(7260):68-73.
- [19] Kim K, Doi A, Wen B, et al. Epigenetic memory in induced pluripotent stem cells[J]. Nature, 2010, 467(7266):285-290.
- [20] Polo JM, Liu S, Figueroa ME, et al. Cell type of origin influences the molecular and functional properties of mouse induced pluripotent stem cells[J]. Nat Biotechnol, 2010, 28(8):848-855.
- [21] Hanna JH, Saha K, Jaenisch R. Pluripotency and cellular reprogramming: facts, hypotheses, unresolved issues[J]. Cell, 2010, 143(3):508-525.
- [22] Ieda M, Fu JD, Delgado-Olguin P, et al. Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors[J]. Cell, 2010, 142(5):375-386.
- [23] Szabo E, Rampalli S, Risueno RM, et al. Direct conversion of human fibroblasts to multilineage blood progenitors[J]. Nature, 2010, 468(7323):521-526.
- [24] Vierbuchen T, Ostermeier A, Pang ZP, et al. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors[J]. Nature, 2010, 463(7318):1035-1041.
- [25] Warren L, Manos PD, Ahfeldt T, et al. Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA[J]. Cell Stem Cell, 2010, 7(5):618-630.
- [26] Hu BY, Weick JP, Yu J, et al. Neural differentiation of human induced pluripotent stem cells follows developmental principles but with variable potency[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(9):4335-4040.
- [27] Bock C, Kiskinis E, Verstappen G, et al. Reference Maps of human ES and iPS cell variation enable high-throughput characterization of pluripotent cell lines[J]. Cell, 2011, 144(3):439-452.

(收稿日期:2015-02-25)

• 综述 •

妊娠相关血浆蛋白 A 的临床价值应用

王杨综述,胡志东审校

(天津医科大学总医院检验科,天津 300052)

关键词:妊娠相关血浆蛋白 A; 妊娠早期; 唐氏综合征; 妊高征; 心血管疾病**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2015.12.050**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2015)12-1756-03

妊娠相关血浆蛋白 A(PAPP-A)是一种大分子糖蛋白,是由 Lin 等^[1]在 1974 年首次从孕妇血清中分离纯化,妊娠期由胎盘合体滋养层细胞及蜕膜细胞分泌。该蛋白质也有其他名称:妊娠特异性 α 2 迁移蛋白、人精浆免疫抑制物、男性抑制物等,但以 PAPP-A 最常用。PAPP-A 在妇产科的广泛研究和应用已被广泛公认,近些年来有大量研究显示,血清 PAPP-A 水平的升高与心脑血管等其他疾病也有着非常密切的联系。

1 PAPP-A 的生物学特性

PAPP-A 是妊娠期由胎盘合体滋养层细胞及蜕膜细胞分泌的一种大分子糖蛋白,正常月经周期子宫内膜间质细胞也能合成并分泌到血清中,其相对分子质量为 750 000~820 000,PAPP-A 基因定位于人类染色体 9q33.1。正常妊娠妇女在末

次月经后 5 周时,血清中即可检测出 PAPP-A,从第 7 周开始其浓度随着妊娠周数的增加而呈上升趋势直至足月,正常分娩后很快消失。然而 PAPP-A 并不仅仅只是妊娠的特异性蛋白,在非妊娠妇女或男性也可以检测到 PAPP-A。PAPP-A 的等电点为 4.4;0 °C 时性质稳定。60 °C 条件下,在 30 min 以内可不被破坏,70 °C 时部分被破坏;pH 值为 4~10 时性质稳定,pH<2 或 pH>10 时完全被破坏;胰蛋白酶能部分破坏纯化的 PAPP-A 活性,蛋白酶也可破坏其免疫反应性,但核酸酶、脱氧核糖核酸酶不能使其失活。PAPP-A 在 4 °C 及 pH 为 7.1 的条件下可在 1/3 饱和度的硫酸胺溶液中溶解。妊娠妇女血清中 PAPP-A 为异源四聚体,以 2:2 复合体形式存在,它由 2 个 PAPP-A 分子和 2 个嗜伊红主要碱性蛋白前体(proMBP)组