

· 综 述 ·

诱导多能干细胞移植治疗脊髓损伤的研究进展

范佳俊¹, 王君杰², 陈烽¹, 陈哲¹

(1. 浙江中医药大学第二临床医学院, 浙江 杭州 310053;

2. 浙江中医药大学附属第二医院, 浙江 杭州 310005)

摘 要 脊髓损伤是脊柱损伤最严重的并发症, 一直被认为是一种难治性疾病。近些年, 随着再生医学的发展, 尤其是干细胞技术的发展和运用, 脊髓损伤的治疗也有了新的方向。从引起伦理争议的胚胎干细胞到目前被广泛接受的诱导多能干细胞, 大量研究证明, 诱导多能干细胞移植是治疗脊髓损伤最具前景的方法。本文简要概述了脊髓损伤, 介绍了诱导多能干细胞的产生和生物学特性, 重点综述了诱导多能干细胞移植治疗脊髓损伤的研究现状以及面临的问题和解决方法。

关键词 脊髓损伤; 干细胞移植; 诱导多能干细胞; 综述

脊髓损伤是脊柱损伤最严重的并发症, 往往导致损伤平面以下自主运动和感觉的丧失^[1]。流行病学调查显示, 全世界平均每年每百万人中有 40 ~ 80 人发生脊髓损伤^[2], 其中年轻人占比较大^[3]。Edwin Smith 早在公元前 2500 年就认为该病是“不可治愈且不值得治疗的”^[4]。目前尽管各种治疗手段较之前取得了一定进展, 但疗效仍不能令人满意, 至今仍没有一种普遍被接受且治疗效果显著的方法用来治疗该病^[5-6]。近年来, 随着再生医学的发展, 尤其是干细胞技术的发展和运用, 脊髓损伤的治疗也有了新的方向。诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)是由分化的体细胞经过重编程而产生的多能干细胞, 兼具干细胞的多种优点, 有着近似胚胎干细胞的自我更新能力和分化潜能。目前, iPSCs 已成为国内外干细胞研究领域的热点。本文就 iPSCs 治疗脊髓损伤的研究进展综述如下。

1 脊髓损伤的概述

脊髓损伤可分为原发性脊髓损伤和继发性脊髓损伤。原发性脊髓损伤是由外力直接引起的, 通常导致神经组织的变形、撕裂, 甚至神经轴被切断, 这些损伤往往是不可逆的。脊髓损伤后, 短时间内(几分钟)病变部位开始出血, 引发血管痉挛、血栓形成以及脊髓水肿^[7]。可见, 脊髓损伤主要是神经损伤和血管结构损伤。在原发性脊髓损伤后, 继发性脊髓损伤开始出现, 并将持续几分钟至几个月不等^[8]。脊髓损伤后脊髓组织出现水肿, 血脑屏障屏障会被破坏, 随后内

皮细胞和星形胶质细胞发生变性, 神经胶质瘢痕增生^[9]。胶质瘢痕增生在脊髓损伤后 3 d 开始, 并在约 28 d 后达到稳定^[10]。最终, 脊髓受损区域内轴突再生的过程会被提前增生的胶质瘢痕阻断。硫酸软骨素蛋白多糖是一种与胶质瘢痕增生相关的神经轴突生长抑制分子, 也参与了抑制病变区脊髓的再生^[11]。

2 iPSCs 的产生和生物学特性

治疗脊髓损伤的重点在于修复、重建损伤的脊髓, 以及恢复运动、感觉和自主神经功能^[12]。神经元是成人中枢神经系统再生的关键细胞, 它能启动新的轴突生长, 并最终建立新的突触连接^[13]。轴突的再生需要 5 个步骤: 第 1 步, 从损伤区进行逆行的信号转导; 第 2 步, 将信号输入细胞核; 第 3 步, 轴突生长必不可少的分子转录和翻译; 第 4 步, 轴突自身生长; 第 5 步, 轴突突触形成^[14]。干细胞移植可以为受损区域提供充足的外源性神经元, 建立脊髓再生的基础条件, 这为脊髓损伤的治疗开启了新的篇章。神经干/祖细胞(neural stem/progenitor cells, NS/PCs)已被证明是所有候选细胞中较为理想的供体细胞^[15]。获取 NS/PCs 的经典方法是使用胚胎干细胞。由胚胎干细胞衍生分化而来的 NS/PCs 具有修复受损脊髓, 促进脊髓损伤模型动物功能恢复的能力^[16]。然而, 源自人的胚胎组织或胚胎干细胞因涉及伦理问题而受到限制, 甚至在某些国家已经明确表示禁止使用^[17]。为了解决无法使用胚胎组织的问题, Yamanaka 将 Oct3/4、Sox2、Klf4 和 c-Myc 这 4 种转录因子转染到小鼠体细胞中, 结果发现小鼠的体细胞经过这 4 种因子的诱导后产生了逆分化现象, 形成了多能干细

胞,即为 iPSCs^[18]。这些诱导生成的多能干细胞显示出与胚胎干细胞相似的特性,同样具有多重分化能力。干细胞经历分化后,基因被选择性表达,形成具有特定功能的体细胞,但这些细胞本质上并没有改变自身遗传物质。iPSCs 的制备过程就是将分化的细胞在特定条件下逆转,使之拥有无限生长的能力,同时又保持多能性。iPSCs 在形态、蛋白表达、表观遗传修饰状态、细胞倍增能力、类胚体及畸形瘤生成、分化能力等方面均与胚胎干细胞相似。iPSCs 能分化为所有胚层细胞,分化出成体动物的所有组织和器官。这种源自体细胞的 iPSCs 不仅解决了伦理问题,而且若细胞来源于患者自身,在临床使用过程中还可以避免免疫排斥的问题。

3 iPSCs 移植治疗脊髓损伤的研究现状

目前,越来越多的研究团队将 iPSCs 应用于脊髓损伤的治疗,并证明了其有效性。Tsuji 等^[19]用小鼠 iPSCs 引导分化后形成神经球,并将神经球移植到脊髓被挫伤 9 d 后的小鼠脊髓损伤区,结果显示这些源自 iPSCs 的神经球成功地分化为 3 个细胞谱系,即神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞,从而促进了小鼠运动功能的恢复。Nori 等^[20]将成年人成纤维细胞作为供体细胞来建立人类诱导多能干细胞(human-induced pluripotent stem cells, hiPSCs),并将这些 hiPSCs 衍生的神经球移植到非肥胖型糖尿病联合严重免疫缺陷的小鼠脊髓中治疗脊髓损伤,结果显示 hiPSCs 衍生的神经元和受损区域中的小鼠神经元之间形成了突触连接,而且直至实验结束时(脊髓损伤后 112 d)仍可以观察到小鼠运动功能的恢复。Kobayashi 等^[21]通过使用 hiPSC-NS/PCs 来治疗猕猴脊髓损伤,结果证明了 iPSCs 在灵长类动物脊髓损伤模型中同样有效,这使得人们更加相信 iPSCs 未来可以用于治疗人类的脊髓损伤。Fujimoto 等^[22]的研究表明,实验小鼠运动功能的恢复是由被移植的神经元和存活的内源性神经元共同参与完成的,2 种类型的神经元均通过形成突触连接并整合神经元回路来重建皮质脊髓束。

由于脊髓损伤分为急性损伤和慢性损伤,所以并不是所有的研究在将 iPSCs 用于治疗脊髓损伤时都能取得令人满意的结果。我们查阅了近 10 年来所有关于 hiPSCs 移植治疗脊髓损伤的动物实验研究,其中近 90% 的实验研究是在脊髓损伤的急性或亚急性

期,即脊髓损伤后 14 d 内移植了 hiPSCs。但是否在脊髓损伤的急性期移植 hiPSCs 就一定有效,目前尚存争议。Nutt 等^[23]从一位 86 岁的男性身上取体细胞建立了 hiPSCs,在实验大鼠脊髓损伤后第 14 天将其移植到免疫缺陷的脊髓损伤大鼠体内,并通过组织学观察,从受伤区域的白质及灰质中发现了新生的轴突。Lu 等^[24-27]报道,在脊髓损伤的慢性期(脊髓损伤 4 周后)使用 hiPSCs 进行细胞移植治疗,组织学结果均显示脊髓内有新的轴突形成。尽管组织学结果令人满意,但研究人员并未观察到受伤大鼠的神经功能有任何恢复。Lu 等^[24-25]报道,将 hiPSCs 移植到脊髓损伤大鼠体内后,并没有观察到大鼠下肢功能的显著改善。Okubo 等^[26-27]的研究结果显示,虽然 hiPSCs 移植治疗的时间间隔是最长的(脊髓损伤后 42 d),但均观察到大鼠下肢神经运动功能明显得到改善。Yousefifard 等^[28-29]荟萃分析结果显示,iPSCs 移植治疗可以改善脊髓损伤大鼠的运动功能,脊髓损伤后治疗间隔时间越短后期功能恢复越好。

此外,有学者考虑将手术中极易获得的椎间盘细胞作为 iPSCs 的供体细胞。Oh 等^[30]研究报道,在小鼠脊髓损伤后 9 d,将来自椎间盘组织的 iPSC-NS/PCs 移植到小鼠脊髓中,结果显示小鼠的后肢功能得到明显改善。这说明椎间盘这种以前一直被认为在手术中切除后只能被丢弃的组织,有望成为脊髓损伤替代疗法的自体细胞来源。

4 iPSCs 移植治疗脊髓损伤面临的问题及解决方法

4.1 免疫排斥问题及解决方法 免疫排斥问题是 iPSCs 移植治疗脊髓损伤的首要安全问题。自体细胞被诱导生成 iPSCs 并达到移植条件所需时间至少 6 个月^[17],这将错过脊髓损伤治疗的最佳时期。因此,使用已生成和测试过的临床特征良好的同种异体 iPSCs 则更可行。但是,使用同种异体 iPSCs 移植治疗脊髓损伤,必然会产生免疫排斥问题。

Pomeshchik 等^[31]报道,对脊髓损伤实验大鼠仅给予他克莫司作为免疫抑制药物,不仅远期生存率较差,而且大鼠下肢运动功能恢复也未得到任何改善。而 Romanyuk 等^[32]报道,将 hiPSC-NS/PCs 移植到脊髓损伤大鼠体内后,给予环孢素、甲基泼尼松龙和硫唑嘌呤等多种免疫抑制药物,最终有大鼠存活了下来,且移植的细胞最终分化为中间神经元、多巴胺

能神经元、5-羟色胺能神经元和运动神经元。综上,我们认为 iPSCs 可以在免疫抑制的病变区域内存活并发挥作用,但应当服用合适的免疫抑制药物。

4.2 长期安全性问题及解决方法 iPSCs 移植治疗脊髓损伤的长期安全性是另一个值得考虑的问题。Nori 等^[33]报道,在成人真皮成纤维细胞中转染 Oct4、Sox2 和 Klf4 因子,建立 iPSCs 细胞系并将之诱导形成神经球后植入脊髓损伤小鼠体内,这些神经球最终分化为 3 种谱系的神经细胞,在移植 47 d 后可见小鼠运动功能恢复;然而,到移植 103 d 时,由于移植区出现了肿瘤,最终导致小鼠运动功能恶化。iPSCs 移植治疗脊髓损伤面临的长期安全性问题是 iPSCs 有致癌性。因此,我们认为在采用 iPSCs 移植治疗各种疾病之前,需要建立高度安全可信的 iPSCs。iPSCs 导致的肿瘤大致可以分为 2 种类型:一种是畸胎瘤,成熟畸胎瘤通常是一种良性疾病,它由多种不同的组织如皮肤、毛发、牙齿、骨骼、油脂和神经组织等组成;另一种是实质性肿瘤,极有可能向恶性发展,向外周侵袭甚至转移^[34]。

目前,畸胎瘤的形成机理尚未完全明确。近些年的研究表明,未分化的 iPSCs 仍是导致畸胎瘤形成的原因^[35-36]。未分化的 iPSCs 具有与肿瘤细胞一样的不受限制的分化能力,通过改变 MHC-1、Fas 或 Trail 突变来逃避免疫反应,使其可以在宿主中不受限制的分化,从而形成畸胎瘤^[37]。Okubo 等^[35]研究发现,使用 γ -分泌酶抑制剂(γ -secretase inhibitor, GSI)阻断 Notch 信号通路,可以诱导未分化的 hiPSC-NS/PCs 在体外分化为成熟的神经元细胞;通过基因表达谱发现,GSI 能促使神经元成熟的标记基因上调,而与细胞繁殖和自我更新相关的基因标记物下调;通过组织学观察发现,经 GSI 处理的脊髓损伤区域中有成熟的分化神经元,而未经 GSI 处理的脊髓损伤区域中细胞呈肿瘤样过度生长。因此,去除未分化细胞及降低细胞增殖能力可能是防止畸胎瘤形成有效手段。畸胎瘤的形成还与供体细胞的组织来源有关。Miura 等^[38]报道,用成人不同组织生成的 iPSCs 进行移植,发现畸胎瘤的形成倾向有很大差异;来源于胃上皮细胞的 iPSC-NPCs 没有肿瘤形成倾向,而来自成年小鼠尾尖成纤维细胞的 iPSCs 具有较高的肿瘤形成风险。这表明 iPSCs 的供体组织不同,其移植后畸胎瘤形成的风险也不同。

但是,有研究^[33-34]发现,即使清除了所有未分化的细胞,在移植区域仍能发现实质性肿瘤。因此,阐明这些肿瘤的发生机制就显得更加重要。与良性畸胎瘤相比,实质性肿瘤通常是恶性的,它们有随时侵袭或扩散到身体其他部位的可能。这些肿瘤发生的主要机制包括基因组不稳定性 and 表观遗传不稳定性^[39-40]。引起基因组不稳定的因素有 3 个方面原因:第一,iPSCs 形成时使用了逆转录病毒或慢病毒等整合载体。这些载体可以很容易将目的基因整合到细胞原有的基因组中,但这种整合是非定向的,这也就造成了在整合过程中可能会破坏细胞正常的抑癌基因并形成肿瘤^[41-44]。使用 GSI 预处理移植细胞并使用非整合型仙台病毒载体,可降低 hiPSCs 衍生细胞的肿瘤形成率,并提高 hiPSCs 衍生细胞移植治疗的安全性^[44-45]。因此,我们建议使用不干扰基因组的无整合方法转染重编程因子,以避免因基因整合引起的致癌性。第二,Oct3/4、Sox2、Klf4 和 c-Myc 这 4 个转录因子在各种自然形成的癌症细胞中也会高表达。有报道表明,在 40 种癌症类型中有 18 种癌症细胞至少过表达一个重编程基因^[46]。第三,成熟的体细胞经历多次分裂并存活很长一段时间才能获得遗传突变。在正常情况下,由于不再繁殖复制,这些突变对肿瘤形成的影响微乎其微。但是,如果细胞处在不断的分裂繁殖期,这种微小的突变就会因为多次复制而被放大,就可能会促使肿瘤形成^[47]。除了基因组的不稳定性外,表观遗传不稳定性在肿瘤发生中也起着重要作用,尤其是 DNA 甲基化。Iida 等^[34]报道,癌基因甲基化不足的 iPSC-NS/PCs 更容易形成肿瘤。

5 小 结

iPSCs 作为一种理想型的来源细胞,为未来应用于临床治疗脊髓损伤带来了希望,但是临床应用时仍需克服一些问题。首先,要考虑的是肿瘤的形成。通过 iPSCs 的终末分化,使用无基因整合方法以及建立可靠的移植细胞克隆来降低肿瘤发生的风险^[48]。还可以利用自杀基因,特异性地去除移植区内尚未分化的增殖细胞来降低肿瘤发生的风险;但是,自杀基因在去除这些细胞后还会影响已经具有运动功能的细胞,这会严重影响实验动物运动功能的恢复。其次,免疫抑制剂的使用仍是现阶段乃至未来建立短时间内获取安全可靠的自体 iPSCs 方法之前,解决免疫排

斥问题的优选方案。未来的研究应更加集中于慢性脊髓损伤的治疗,为 iPSCs 移植治疗脊髓损伤打通最后的难关。相信随着学者们对 iPSCs 认识及在移植调控方面研究的不断深入, iPSCs 在脊髓损伤修复中的应用前景将更加广阔。

参考文献

- [1] TRAN A P, SILVER J. Neuroscience. Systemically treating spinal cord injury [J]. *Science*, 2015, 348 (6232): 285 – 286.
- [2] NOONAN V K, FINGAS M, FARRY A, et al. Incidence and prevalence of spinal cord injury in Canada: a national perspective [J]. *Neuroepidemiology*, 2012, 38 (4): 219 – 226.
- [3] CHEN Y, HE Y, DEVIVO M J. Changing demographics and injury profile of new traumatic spinal cord injuries in the United States, 1972 – 2014 [J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 2016, 97 (10): 1610 – 1619.
- [4] FURLAN A D, PENNICK V, BOMBARDIER C, et al. 2009 updated method guidelines for systematic reviews in the cochrane back review group [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2009, 34 (18): 1929 – 1941.
- [5] HURLBERT R J. Methylprednisolone for the treatment of acute spinal cord injury: point [J]. *Neurosurgery*, 2014, 61 (Suppl 1): 32 – 35.
- [6] 国际神经修复学会暨中国神经修复学会. 脊髓损伤神经修复临床治疗指南 (IANR/CANR2019 年版) [J]. *西部医学*, 2020, 32 (6): 790 – 802.
- [7] SINESCU C, POPA F, GRIGOREAN V T, et al. Molecular basis of vascular events following spinal cord injury [J]. *J Med Life*, 2010, 3 (3): 254 – 261.
- [8] SCHWARTZ G, FEHLINGS M G. Secondary injury mechanisms of spinal cord trauma: a novel therapeutic approach for the management of secondary pathophysiology with the sodium channel blocker riluzole [J]. *Prog Brain Res*, 2002, 137: 177 – 190.
- [9] MARTIÑÓN S, IBARRA A. Pharmacological neuroprotective therapy for acute spinal cord injury: state of the art [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2008, 8 (3): 222 – 230.
- [10] MACAYA D J, HAYAKAWA K, ARAI K, et al. Astrocyte infiltration into injectable collagen – based hydrogels containing FGF – 2 to treat spinal cord injury [J]. *Biomaterials*, 2013, 34 (14): 3591 – 3602.
- [11] SCHWAB M E. Repairing the injured spinal cord [J]. *Science*, 2002, 295 (5557): 1029 – 1031.
- [12] LU P. Stem cell transplantation for spinal cord injury repair [J]. *Prog Brain Res*, 2017, 231: 1 – 32.
- [13] HAO Y, COLLINS C. Intrinsic mechanisms for axon regeneration: insights from injured axons in *Drosophila* [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2017, 44: 84 – 91.
- [14] SAKAMOTO K, KADOMATSU K. Mechanisms of axon regeneration: the significance of proteoglycans [J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2017, 1861 (10): 2435 – 2441.
- [15] MOTHE A J, TATOR C H. Review of transplantation of neural stem/progenitor cells for spinal cord injury [J]. *Int J Dev Neurosci*, 2013, 31 (7): 701 – 713.
- [16] ZHU Y, UEZONO N, YASUI T, et al. Neural stem cell therapy aiming at better functional recovery after spinal cord injury [J]. *Dev Dyn*, 2018, 247 (1): 75 – 84.
- [17] OKANO H, YAMANAKA S. IPS cell technologies: significance and applications to CNS regeneration and disease [J]. *Mol Brain*, 2014, 7: 22.
- [18] 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.
- [19] TSUJI O, MIURA K, OKADA Y, et al. Therapeutic potential of appropriately evaluated safe – induced pluripotent stem cells for spinal cord injury [J]. *Proc Nati Acad Sci USA*, 2010, 107 (28): 12704 – 12709.
- [20] NORI S, OKADA Y, YASUDA A, et al. Grafted human-induced pluripotent stem-cell-derived neurospheres promote motor functional recovery after spinal cord injury in mice [J]. *Proc Nati Acad Sci USA*, 2011, 108 (40): 16825 – 16830.
- [21] KOBAYASHI Y, OKADA Y, ITAKURA G, et al. Pre – evaluated safe human iPSC – derived neural stem cells promote functional recovery after spinal cord injury in common marmoset without tumorigenicity [J]. *PloS one*, 2012, 7 (12): e52787.
- [22] FUJIMOTO Y, ABEMATSU M, FALK A, et al. Treatment of a mouse model of spinal cord injury by transplantation of human induced pluripotent stem cell – derived long – term self – renewing neuroepithelial – like stem cells [J]. *Stem Cells*, 2012, 30 (6): 1163 – 1173.
- [23] NUTT S E, CHANG E A, SUHR S T, et al. Caudalized human iPSC – derived neural progenitor cells produce neurons and glia but fail to restore function in an early chronic spinal cord injury model [J]. *Exp Neurol*, 2013, 248: 491 – 503.
- [24] LU P, WOODRUFF G, WANG Y, et al. Long – distance axonal growth from human induced pluripotent stem cells after spinal cord injury [J]. *Neuron*, 2014, 83 (4): 789 – 796.
- [25] RUZICKA J, ROMANYUK N, JIRAKOVA K, et al. The

- effect of ips-derived neural progenitors seeded on laminin-coated phema – moetacl hydrogel with dual porosity in a rat model of chronic spinal cord injury [J]. *Cell Transplant*, 2019, 28(4):400 – 412.
- [26] OKUBO T, NAGOSHI N, KOHYAMA J, et al. Treatment with a gamma – secretase inhibitor promotes functional recovery in human ipsc – derived transplants for chronic spinal cord injury [J]. *Stem Cell Reports*, 2018, 11 (6): 1416 – 1432.
- [27] NORI S, KHAZAEI M, AHUJA C S, et al. Human oligodendrogenic neural progenitor cells delivered with chondroitinase ABC facilitate functional repair of chronic spinal cord injury [J]. *Stem Cell Reports*, 2018, 11(6):1433 – 1448.
- [28] YOUSEFIFARD M, RAHIMI – MOVAGHAR V, NASIRIN-EZHAD F, et al. Neural stem/progenitor cell transplantation for spinal cord injury treatment; a systematic review and meta – analysis [J]. *Neuroscience*, 2016, 322:377 – 397.
- [29] QIN C, GUO Y, YANG D G, et al. Induced pluripotent stem cell transplantation improves locomotor recovery in rat models of spinal cord injury: a systematic review and meta – analysis of randomized controlled trials [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(5):1835 – 1852.
- [30] OH J, LEE K I, KIM H T, et al. Human – induced pluripotent stem cells generated from intervertebral disc cells improve neurologic functions in spinal cord injury [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2015, 6(1):125.
- [31] POMESHCHIK Y, PUTTONEN K A, KIDIN I, et al. Transplanted human induced pluripotent stem cell – derived neural progenitor cells do not promote functional recovery of pharmacologically immunosuppressed mice with spinal cord injury [J]. *Cell Transplant*, 2015, 24(9):1799 – 1812.
- [32] ROMANYUK N, AMEMORI T, TURNOVCOVA K, et al. Beneficial effect of human induced pluripotent stem cell – derived neural precursors in spinal cord injury repair [J]. *Cell Transplant*, 2015, 24(9):1799 – 1812.
- [33] NORI S, OKADA Y, NISHIMURA S, et al. Long – term safety issues of iPSC – based cell therapy in a spinal cord injury model: oncogenic transformation with epithelial – mesenchymal transition [J]. *Stem Cell Reports*, 2015, 4(3):360 – 373.
- [34] IIDA T, IWANAMI A, SANOSAKA T, et al. Whole – genome dna methylation analyses revealed epigenetic instability in tumorigenic human iPS cell – derived neural stem/progenitor cells [J]. *Stem Cells*, 2017, 35(5):1316 – 1327.
- [35] OKUBO T, IWANAMI A, KOHYAMA J, et al. Pretreatment with a gamma – secretase inhibitor prevents tumor – like overgrowth in human iPSC – derived transplants for spinal cord injury [J]. *Stem Cell Reports*, 2016, 7(4):649 – 663.
- [36] PARR C J, KATAYAMA S, MIKI K, et al. MicroRNA – 302 switch to identify and eliminate undifferentiated human pluripotent stem cells [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:32.
- [37] SIMPSON – ABELSON M R, LOYALL J L, LEHMAN H K, et al. Human ovarian tumor ascites fluids rapidly and reversibly inhibit T cell receptor – induced NF – κ B and NFAT signaling in tumor – associated T cells [J]. *Cancer Immun*, 2013, 13:14.
- [38] MIURA K, OKADA Y, AOI T, et al. Variation in the safety of induced pluripotent stem cell lines [J]. *Nat Biotechnol*, 2009, 27(8):743 – 745.
- [39] GOLDRING C E, DUFFY P A, BENVENISTY N, et al. Assessing the safety of stem cell therapeutics [J]. *Cell Stem Cell*, 2011, 8(6):618 – 628.
- [40] BEN – DAVID U, BENVENISTY N. The tumorigenicity of human embryonic and induced pluripotent stem cells [J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(4):268 – 277.
- [41] MARION R M, STRATI K, LI H, et al. A p53 – mediated DNA damage response limits reprogramming to ensure iPS cell genomic integrity [J]. *Nature*, 2009, 460 (7259): 1149 – 1153.
- [42] UTIKAL J, POLO J M, STADTFELD M, et al. Immortalization eliminates a roadblock during cellular reprogramming into iPSCs [J]. *Nature*, 2009, 460(7259):1145 – 1148.
- [43] HONG H, TAKAHASHI K, ICHISAKA T, et al. Suppression of induced pluripotent stem cell generation by the p53 – p21 pathway [J]. *Nature*, 2009, 460(7259):1132 – 1135.
- [44] KAWAMURA T, SUZUKI J, WANG Y V, et al. Linking the p53 tumour suppressor pathway to somatic cell reprogramming [J]. *Nature*, 2009, 460(7259):1140 – 1144.
- [45] LIU Y, ZHENG Y, LI S, et al. Human neural progenitors derived from integration – free iPSCs for SCI therapy [J]. *Stem Cell Res*, 2017, 19:55 – 64.
- [46] SCHOENHALS M, KASSAMBARA A, DE VOS J, et al. Embryonic stem cell markers expression in cancers [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 383(2):157 – 162.
- [47] MAYSHAR Y, BEN – DAVID U, LAVON N, et al. Identification and classification of chromosomal aberrations in human induced pluripotent stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 7(4):521 – 531.
- [48] LIU Z, TANG Y, LÜ S, et al. The tumorigenicity of iPS cells and their differentiated derivatives [J]. *J Cell Mol Med*, 2013, 17(6):782 – 791.

(收稿日期:2020-08-23 本文编辑:时红磊)