

诱导多能干细胞瘤变的研究进展

秦勇¹, 孙君^{2*}, 谢模芬³

¹重庆医科大学附属儿童医院放射科, 重庆

²重庆大学附属中心医院(重庆市急救医疗中心, 重庆市第四人民医院)放射科, 重庆

³重庆市中医院骨科, 重庆

收稿日期: 2024年2月8日; 录用日期: 2024年3月2日; 发布日期: 2024年3月8日

摘要

诱导多能干细胞(IPSC)是体细胞重编程后得到的与胚胎干细胞相似的具有自我更新和多向分化潜能的细胞, 这一发现成功避开了胚胎干细胞的伦理问题。自IPSC问世, 这项技术就迅速应用于疾病建模、药物开发、再生医学和基因调控, 尤其是再生医学自体移植研究领域。但是, IPSC移植后瘤变成为IPSC用于再生医学的一大阻碍, 因此IPSC的瘤变成为当前IPSC研究的热点问题。本文就IPSC与肿瘤细胞的关系、IPSC移植后成瘤机制、降低IPSC移植后瘤变率以及IPSC移植后体内监测技术等几个方面进行简要综述。

关键词

诱导多能干细胞, 生物安全, 体内示踪, 磁共振成像

Research Progress in Induced Pluripotent Stem Cell Neoplasia

Yong Qin¹, Jun Sun^{2*}, Mofen Xie³

¹Department of Radiology, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

²Department of Radiology, Chongqing University Central Hospital (Chongqing Emergency Medical Center, The Fourth People's Hospital of Chongqing), Chongqing

³Department of Orthopedics, Chongqing Traditional Chinese Medicine Hospital, Chongqing

Received: Feb. 8th, 2024; accepted: Mar. 2nd, 2024; published: Mar. 8th, 2024

Abstract

IPSC is obtained through somatic cell reprogramming, which has similar self-renewal and mul-

*通讯作者。

文章引用: 秦勇, 孙君, 谢模芬. 诱导多能干细胞瘤变的研究进展[J]. 临床医学进展, 2024, 14(3): 105-110.

DOI: 10.12677/acm.2024.143672

ti-directional differentiation potential to embryonic stem cells (ESCs) and avoids the ethical issues of ESCs successfully. Since iPSC was invented, it has been rapidly applied in disease modeling, drug development, regenerative medicine, and gene regulation, especially in the field of regenerative medicine research. However, iPSC post-transplantation tumors have become a major obstacle to the use of iPSC for regenerative medicine, and thus tumors in iPSC have become a hot issue in current iPSC research. This article provides a brief review on the relationship between iPSC and tumor cells, the malignant transformation of iPSC after transplantation and how to reduce it, and *in vivo* monitoring techniques of iPSC.

Keywords

Inducing Pluripotent Stem Cells, Biosafety, *In Vivo* Tracing, Magnetic Resonance Imaging

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

2006年Takahashi和Yamanaka将Oct3/4、Sox2、c-Myc和Klf4四个基因转入小鼠成纤维细胞获得鼠源诱导多能干细胞(Induced Pluripotent Stem Cell, iPSC) [1] [2]。2007年Junying Yu等将Oct4、Sox2、Nanog和Lin28四个基因转入人的体细胞而得到了人源iPSC [3]。重编程使体细胞获得了自我更新和多向分化潜能两大特性,可分化得到三个胚层的组织[4]。Takahashi等将获得的iPSC进行体内畸胎瘤实验和体外拟胚体实验,这不仅验证了其多向分化潜能,也体现了iPSC的致瘤性[5]。Okita等在实验中发现iPSC的瘤变可以是畸胎瘤也可以是其他的恶性肿瘤如神经母细胞瘤和滤泡癌,其中恶性肿瘤占20% [6]。因此,iPSC移植后瘤变成为iPSC用于再生医学的一大阻碍,也成为iPSC研究的热点问题。本文就iPSC与肿瘤细胞的关系、iPSC移植后成瘤机制、降低iPSC移植后瘤变率以及iPSC移植后体内监测技术等几个方面进行简要综述。

2. iPSC与肿瘤细胞的关系

自我更新和多向分化潜能是干细胞与肿瘤细胞共有的两大特性,且可分化细胞就具有向肿瘤细胞演变的可能性,其分化潜能和瘤变正相关[7]。iPSC和癌细胞之间更是有显著的相似性,包括一定的自我更新能力,快速无限制增殖,分子特性、高端粒酶活性、表达谱和表观遗传密码。Riggs等[8]将iPSC与恶性肉瘤细胞进行了比较,发现它们属于相关联的细胞类型,两者不仅有相似的代谢活性,而且有很多相同的沉默基因。肿瘤干细胞与正常干细胞的一个重要区别是前者有更强的自我更新能力和抗凋亡能力[9]。这种更强的自我更新能力,缘于丧失了自身对细胞分裂控制的功能。基因突变导致干细胞获得了这种超强的自我更新能力和抗凋亡能力成为癌干细胞或癌细胞[7]。

3. iPSC 癌变机制

关于iPSC的瘤变,诱导因子是最早被认为致瘤的原因。诱导因子中的c-Myc是原癌基因,后期的研究表明Oct3/4、Sox2、c-Myc、Klf4、Nanog均是癌相关基因,这五个基因的过表达常与肿瘤的发生有关[10]。体细胞在被外源性导入Oct4、Sox2、C-Myc和Klf4(OSCK)之后可以被重编程为iPSC,但是有人同样利用该四种重编程因子得到肿瘤的表型。c-Myc作为原癌基因,本身可以引起p53介导的细胞凋亡和衰老;而Klf4抑制了p53的表达,从而中和了c-Myc的凋亡作用,Oct4和Sox2维持iPSC的全能

性[11] [12] [13]。Oct4 和 Sox2 能将口腔细胞重编程为肿瘤细胞且在裸鼠内成瘤, 进一步研究表明 Oct4 是起始肿瘤的关键因子而 Sox2 是影响肿瘤性质的关键因子[12]。

此外, 研究表明 IPSC 癌变的又一原因是在诱导过程中病毒的转染导致细胞的损伤和诱导后的长期培养会增加细胞的变异而增大 IPSC 癌变的几率[14] [15] [16]。其产生的变异主要源自于染色体异常、基因拷贝数变异、点突变等几个方面[17]。移植细胞中未分化细胞的存在也是 IPSC 致瘤的主要原因之一。干细胞直接移植到体内后不易控制其分化, 易形成畸胎瘤。所以目前常采用的是将 IPS 细胞在体外定向分化为某种祖细胞或终末分化细胞后再移植。体外定向分化分为两种, 一是在培养基中添加一系列生长因子作为诱导剂, 另一是利用细胞间的相互作用将干细胞与已分化细胞一起共培养。但是定向诱导分化率并不是 100%, 其细胞群内残存有未分化的干细胞, 这些未分化的细胞在移植后可以向不同方向分化而导致肿瘤的形成[18]。

4. 减少 IPSC 瘤变方法

关于干细胞成瘤的报道使干细胞移植的安全性备受关注[19] [20] [21], 而且移植部位常见于脊髓, 脑, 眼等较敏感的部位, 即使形成很小的肿瘤都会导致严重的功能障碍。减少甚至避免肿瘤形成是干细胞应用临床的前提。

近年来减少 IPS 细胞瘤变的方法还包括重编程技术的改善、培养方法的优化以及移植前细胞定向分化。IPSC 经典诱导方法中使用的转录因子均是肿瘤相关基因, 且 c-Myc 和 Klf4 是原癌基因, 为了提高 IPS 的安全性, 学者们尝试减少转录因子而用一些小分子化合物来进行重编程。研究发现在组蛋白去乙酰化 VPA 的共同作用下, 只使用 Oct4 和 Sox2 两个因子, 也可把人成纤维细胞的效率重编程 iPSCs, 避免使用 c-Myc 和 Klf4 两种原癌基因[22]。组蛋白甲基转移酶抑制剂 BIX-0129 可代替 Oct4, 并与其余 3 个经典因子一起重编程神经干细胞形成 IPSC [23]。CIPSC 技术只使用小分子化合物来完成重编程, 没有引入任何外源基因, 因此解决了转录因子诱导 IPSC 的安全问题, 是 IPSC 走向临床应用的重大突破[24]。小分子化合物代替四因子诱导 IPSC 能减少肿瘤细胞的生成, 但是不能杜绝其发生。即使没有使用致癌基因, 实验动物仍能产生肿瘤, 这说明致癌性不仅仅是由诱导因子引起的。

对于移植细胞, 不管是未分化的干细胞还是定向分化后的细胞都要保证其纯度, 否者会增加畸胎瘤的形成。由于干细胞的纯化复杂且难达到绝对纯化, 研究者将细胞定向分化为特定谱系祖细胞或终末细胞后再移植。但是定向分化细胞中剩余的未分化的 IPSC 和原谱系细胞诱导过程中的污染导致移植后的致瘤性的潜在风险仍然纯在。分选细胞一个常用的策略是应用荧光蛋白的荧光激活筛选, 如 Ping 等用胶质纤维酸性蛋白(GFAP)启动子启动增强绿色荧光蛋白筛选出 IPSC 分化的星形胶质细胞[25]。一个更简单的方法是利用谱系特异性的细胞表面标记物筛选特定谱系细胞, 不同分化阶段的细胞表面表达的抗原有所不同, 免疫细胞化学法可用以检测这些标记进而将各级细胞彼此分开。Ying Liu 等利用神经谱系表面标志物 A2B5 纯化 IPSC 分化的细胞得到 A2B5+祖细胞, 且 A2B5+祖细胞能够增殖至少 10 代, 并在体外分化为神经元和神经胶质细胞[26]。

肿瘤发生的主要原因之一是无法控制细胞周期进程。p27 的减少表达经常出现在各种癌症且与预后不良有关[27] [28]。从这些研究中, 可以看出 p27 是肿瘤治疗的新靶点。事实上, 据报道 p27 过度表达抑制肿瘤各种癌症的生长和减少人和鼠胚胎干细胞扩散, p27 是一种 CDK 抑制蛋白家族的重要成员, 抑制细胞周期素-CDK 复合体例如, Cyclin E-CDK2 和 cyclin、D-CDK4 和 CDK6 复合物的形成。p27 基因敲除的研究小鼠发生多器官增生表明 p27 具有抗增殖活性。

5. IPSC 移植后监测技术

对于移植到体内的 IPSC 进行监测, 发现 IPSC 瘤变并在发生瘤变的早期对其进行干预也是 IPSC 治

疗安全保障的重要环节[29]。目前体内干细胞监测技术较常用的包括：多采用磁共振成像(Magnetic Resonance Imaging, MRI)等技术实现的形态学成像，虽然 MRI 具有较高的软组织分辨率，但只有当肿瘤生长到一定体积时才能被发现，无法达到在细胞或分子水平早期检测的目的；利用 PET 检测出畸胎瘤细胞表面受体特异性靶向分子探针实现在干细胞移植后 4 周检出畸胎瘤[30]，这种方法的局限性在于分子探针经系统给药后对畸胎瘤的靶向效率不能保证且干细胞还有形成其他肿瘤的可能性；另外采用荧光物质或超顺磁性纳米微粒在移植前标记干细胞，移植后利用光学荧光成像、微计算机断层扫描或者 MRI 进行连续示踪的移植前显像介质标记成像[31] [32]。这种方法最大的局限性在于不能有效区分瘤变前后的细胞，而且随细胞增殖其内标记物逐渐降解也是其固有缺陷；此外还可以在移植前将肿瘤特异性报告基因转入干细胞，在细胞移植后利用多种成像技术监测干细胞是否形成肿瘤，但因成像分辨率及敏感度等限制，目前尚不能实现早期细胞或分子水平成像[33]。

MR、PET、微计算机断层扫描是目前对干细胞进行监测最常用的成像技术，其中 PET 及微计算机断层扫描由于其辐射素增加细胞损伤而不能长时间应用[34]。磁共振因其高分辨率及无辐射等优点被较多选择用于示踪 IPS 细胞移植后体内监测，磁共振成像可检测到 $> 17 \text{ mm}^3$ 的 IPS 体内分化畸胎瘤的敏感度 $> 87\%$ [35]，但是实际在脑组织等敏感区域肿瘤形成并出现功能障碍时磁共振也无法检测其存在；此外，磁共振的兼容性及时间分辨率有限等易是限制其应用的因素[36] [37]。

6. 展望

自 IPSC 问世以来，安全性问题一直是进行活体移植前需要攻克的难关，近年来研究也发现了很多减少肿瘤形成的方法，但仍不能杜绝 IPS 形成肿瘤的可能性。IPSC 是外源性细胞，可以在体外将所有的细胞进行恶性肿瘤特异性启动子的重编程，在移植细胞发生瘤变时特异性的启动自噬基因或是凋亡基因的表达达到肿瘤细胞自杀的效果。但重编程细胞的伦理及生物安全性目前仍具有争议。此外找到更敏感、安全且便捷的成像方法提高检出灵敏度实现监测瘤变并控制瘤变发生是提高干细胞移植生物安全性的重要手段。希望通过肿瘤的自噬、移植细胞瘤变的监测、肿瘤早期诊断和去除来提高 IPSC 的移植安全性，使 IPSC 移植成为一项安全可靠的临床治疗手段。

基金项目

重庆市自然科学基金面上项目，编号：cstc2020jcyj-msxmX0235。

重庆市自然科学基金面上项目，编号：cstc2021jcyj-msxmX0841。

参考文献

- [1] Shi, Y., Despons, C., Do, J.T., *et al.* (2008) Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic Fibroblasts by Oct4 and Klf4 with Small-Molecule Compounds. *Cell Stem Cell*, **3**, 568-574. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2008.10.004>
- [2] Papapetrou, E.P. (2016) Induced Pluripotent Stem Cells, Past and Future. *Science*, **353**, 991-992. <https://doi.org/10.1126/science.aai7626>
- [3] Yu, J., Vodyanik, M.A., Smuga-Otto, K., *et al.* (2007) Induced Pluripotent Stem Cell Lines Derived from Human Somatic Cells. *Science*, **318**, 1917-1920. <https://doi.org/10.1126/science.1151526>
- [4] Takahashi, F., Patel, P., Kitsuka, T., *et al.* (2023) The Exciting Realities and Possibilities of IPS-Derived Cardiomyocytes. *Bioengineering (Basel)*, **10**, Article No. 237. <https://doi.org/10.3390/bioengineering10020237>
- [5] Takahashi, J. (2023) Next Steps in Regenerative Medicine. *Cell Stem Cell*, **30**, 509-511. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2023.04.015>
- [6] Okita, K., Ichisaka, T. and Yamanaka, S. (2007) Generation of Germline-Competent Induced Pluripotent Stem Cells. *Nature*, **448**, 313-317. <https://doi.org/10.1038/nature05934>
- [7] Semi, K., Matsuda, Y., Ohnishi, K., *et al.* (2013) Cellular Reprogramming and Cancer Development. *International*

- Journal of Cancer*, **132**, 1240-1248. <https://doi.org/10.1002/ijc.27963>
- [8] Riggs, J.W., Barrilleaux, B.L., Varlakhanova, N., *et al.* (2013) Induced Pluripotency and Oncogenic Transformation Are Related Processes. *Stem Cells and Development*, **22**, 37-50. <https://doi.org/10.1089/scd.2012.0375>
- [9] Sarker, D.B., Xue, Y., Mahmud, F., *et al.* (2024) Interconversion of Cancer Cells and Induced Pluripotent Stem Cells. *Cells*, **13**, Article No. 125. <https://doi.org/10.3390/cells13020125>
- [10] Ben-Porath, I., Thomson, M.W., Carey, V.J., *et al.* (2008) An Embryonic Stem Cell-Like Gene Expression Signature in Poorly Differentiated Aggressive Human Tumors. *Nature Genetics*, **40**, 499-507. <https://doi.org/10.1038/ng.127>
- [11] Orlando, L., Benoit, Y.D., Reid, J.C., *et al.* (2023) Chemical Genomics Reveals Targetable Programs of Human Cancers Rooted in Pluripotency. *Cell Chemical Biology*, **30**, 780-794. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2023.06.004>
- [12] 蔡菁华. 多能干细胞因子 Oct4 和 Sox2 对口腔癌发生发展作用的实验研究[D]: [博士学位论文]. 郑州: 郑州大学, 2016.
- [13] Tatavosian, R., Donovan, M.G., Galbraith, M.D., *et al.* (2023) Cell Differentiation Modifies the P53 Transcriptional Program through a Combination of Gene Silencing and Constitutive Transactivation. *Cell Death & Differentiation*, **30**, 952-965. <https://doi.org/10.1038/s41418-023-01113-4>
- [14] 赖永榕. 造血干细胞移植治疗 β -地中海贫血的经验[J]. 内科急危重症杂志, 2014, 20(1): 6-8.
- [15] 李续娥, 李峰. 地中海贫血骨髓移植中造血干细胞状态及功能的研究[J]. 华南师范大学学报(自然科学版), 2013, 45(1): 10-13.
- [16] Isoda, M., Sanosaka, T., Tomooka, R., *et al.* (2023) Mesenchymal Properties of iPSC-Derived Neural Progenitors That Generate Undesired Grafts after Transplantation. *Communications Biology*, **6**, Article No. 611. <https://doi.org/10.1038/s42003-023-04995-9>
- [17] 张曦, 张诚. 造血干细胞移植中的输血相关问题[J]. 中国输血杂志, 2013, 26(3): 103-105.
- [18] Yamashita, H. and Hattori, F. (2023) Application of Live Mitochondria Staining in Cell-Sorting to Purify Hepatocytes Derived from Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Journal of Visualized Experiments*, No. 202. <https://doi.org/10.3791/65777>
- [19] Amariglio, N., Hirshberg, A., Scheithauer, B.W., *et al.* (2009) Donor-Derived Brain Tumor Following Neural Stem Cell Transplantation in an Ataxia Telangiectasia Patient. *PLOS Medicine*, **6**, e1000029. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000029>
- [20] Kuriyan, A.E., Albin, T.A., Townsend, J.H., *et al.* (2017) Vision Loss after Intravitreal Injection of Autologous “Stem Cells” for AMD. *The New England Journal of Medicine*, **376**, 1047-1053. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1609583>
- [21] Berkowitz, A.L., Miller, M.B., Mir, S.A., *et al.* (2016) Glioproliferative Lesion of the Spinal Cord as a Complication of “Stem-Cell Tourism”. *The New England Journal of Medicine*, **375**, 196-198. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1600188>
- [22] Zhu, S., Li, W., Zhou, H., *et al.* (2010) Reprogramming of Human Primary Somatic Cells by OCT4 and Chemical Compounds. *Cell Stem Cell*, **7**, 651-655. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2010.11.015>
- [23] 龙媛, 张立红, 谢欣. 改变细胞命运的重编程[J]. 生命科学, 2015, 27(3): 327-335.
- [24] 刘治威, 马可为, 云志中, 等. 小分子化合物诱导体细胞重编程为多能干细胞的最新进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(8): 47-48.
- [25] Zhang, P.W., Haidet-Phillips, A.M., Pham, J.T., *et al.* (2016) Generation of GFAP::GFP Astrocyte Reporter Lines from Human Adult Fibroblast-Derived IPS Cells Using Zinc-Finger Nuclease Technology. *Glia*, **64**, 63-75. <https://doi.org/10.1002/glia.22903>
- [26] Liu, Y., Zheng, Y., Li, S., *et al.* (2017) Human Neural Progenitors Derived from Integration-Free iPSCs for SCI Therapy. *Stem Cell Research*, **19**, 55-64. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2017.01.004>
- [27] Ha, J.L., Kaser, E., Guan, T., *et al.* (2024) Up and Away with Cervical Cancer: IL-29 Is a Promising Cytokine for Immunotherapy of Cervical Cancer Due to Its Powerful Upregulation of P18, P27, and TRAILR1. *Medical Oncology*, **41**, Article No. 65. <https://doi.org/10.1007/s12032-023-02276-3>
- [28] Contreras-Jurado, C., Montero-Pedrazuela, A., Perez, R.F., *et al.* (2023) The Thyroid Hormone Enhances Mouse Embryonic Fibroblasts Reprogramming to Pluripotent Stem Cells: Role of the Nuclear Receptor Corepressor 1. *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)*, **14**, Article ID: 1235614. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1235614>
- [29] Nguyen, V.P., Fan, W., Zhu, T., *et al.* (2021) Long-Term, Noninvasive *in Vivo* Tracking of Progenitor Cells Using Multimodality Photoacoustic, Optical Coherence Tomography, and Fluorescence Imaging. *ACS Nano*, **15**, 13289-13306. <https://doi.org/10.1021/acs.nano.1c03035>
- [30] Yang, J., Yan, M., Wang, Z., *et al.* (2023) Optical and MRI Multimodal Tracing of Stem Cells *in Vivo*. *Molecular Imaging*, **2023**, Article ID: 4223485. <https://doi.org/10.1155/2023/4223485>

-
- [31] Chen, G., Lin, S., Huang, D., *et al.* (2018) Revealing the Fate of Transplanted Stem Cells *in Vivo* with a Novel Optical Imaging Strategy. *Small*, **14**, Article ID: 1702679. <https://doi.org/10.1002/smll.201702679>
- [32] Kraunsoe, S., Azami, T., Pei, Y., *et al.* (2023) Requirement for STAT3 and Its Target, TFCEP2L1, in Self-Renewal of Naive Pluripotent Stem Cells *in Vivo* and *in Vitro*. *Biology Open*, **12**, bio059650. <https://doi.org/10.1242/bio.059650>
- [33] 黄思渝, 成昱, 秦瑶. 纳米示踪剂在移植干细胞活体示踪中的研究进展[J]. 同济大学学报(医学版), 2021, 42(2): 158-166.
- [34] Li, K., Chan, C.T., Nejadnik, H., *et al.* (2018) Ferumoxylol-Based Dual-Modality Imaging Probe for Detection of Stem Cell Transplant Rejection. *Nanotheranostics*, **2**, 306-319. <https://doi.org/10.7150/ntno.26389>
- [35] Riegler, J., Ebert, A., Qin, X., *et al.* (2016) Comparison of Magnetic Resonance Imaging and Serum Biomarkers for Detection of Human Pluripotent Stem Cell-Derived Teratomas. *Stem Cell Reports*, **6**, 176-187. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2015.12.008>
- [36] Namestnikova, D.D., Gubskiy, I.L., Revkova, V.A., *et al.* (2021) Intra-Arterial Stem Cell Transplantation in Experimental Stroke in Rats: Real-Time MR Visualization of Transplanted Cells Starting with Their First Pass through the Brain with Regard to the Therapeutic Action. *Frontiers in Neuroscience*, **15**, Article ID: 641970. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.641970>
- [37] Cherkashova, E.A., Namestnikova, D.D., Gubskiy, I.L., *et al.* (2023) Dynamic MRI of the Mesenchymal Stem Cells Distribution during Intravenous Transplantation in a Rat Model of Ischemic Stroke. *Life (Basel)*, **13**, Article No. 288. <https://doi.org/10.3390/life13020288>