

# 基于人多潜能干细胞的人类疾病研究与治疗\*

张维绮 刘光慧\*\*

(中国科学院生物物理研究所, 生物大分子国家重点实验室, 北京 100101)

**摘要** 人多潜能干细胞(hPSC)包括人胚胎干细胞(hESC)和诱导性多潜能干细胞(iPSC), 理论上具有分化成为人类所有细胞类型的能力. 基于 hPSC 的基因打靶技术, 不但可以纠正人基因组中的遗传突变用于细胞治疗, 还可以通过反向遗传学的方式向 hPSC 引入疾病特异的突变. 将携带人类疾病遗传基因的 hPSC 分化为特定的细胞类型, 在理论上可以在体外模拟人类疾病的发生, 研究人类疾病发生的机理, 并建立体外筛选平台寻找治疗性药物. 基因编辑和干细胞技术的结合将为人类疾病的机制研究和再生医学治疗带来革命性的突破.

**关键词** 人多潜能干细胞, 基因打靶, 疾病模型

**学科分类号** Q813, Q75

**DOI:** 10.3724/SP.J.1206.2011.00466

人类胚胎干细胞(hESC)的体外建系极大地促进了人们对再生医学的向往. 如果我们可以掌握并合理利用胚胎干细胞体外分化的特性, 那么结合基因打靶技术, 它们不但可以提供强大的人类发育和疾病研究的模型, 还可以为细胞替代治疗提供无限的细胞来源. 然而, 分离 hESC 受到伦理等诸多因素的限制. 2007 年, Yamanaka 和 Thomsom 研究组分别将分化的人的体细胞重编程为具有多潜能干性的细胞, 这些细胞被称之为诱导性多潜能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC), 它与 ESC 有相似的属性<sup>[1-2]</sup>. 科学家意识到这种细胞可以用于疾病模型的建立.

## 1 基于多潜能干细胞的人类疾病模型

2005 年, Pickering 等<sup>[3]</sup>报道了利用早期诊断筛查程序中确认的有囊性纤维化突变的胚胎, 在体外建立疾病特异的 hESC, 从而模拟囊性纤维化. 2007 年, X 染色体易损综合征特异的 hESC 得到建立<sup>[4]</sup>. 虽然直接分离病人 ESC 可以允许在体外研究疾病的发生, 但是这种早期诊断筛查只能发现常见的单基因突变, 且因其胚胎来源之故, 其应用受到严格限制. iPSC 技术的建立似乎使得体外研究人类疾病变得简单. 2008 年, Daley 研究组第一次建立了 10 种病人特异的 iPSC<sup>[5]</sup>. 同年, Eggan 研究组报道了从 82 岁的家族性肌萎缩性脊髓侧索硬化

症患者分离的皮肤细胞成功建立 iPSC, 并分化为运动神经元和神经胶质细胞<sup>[6]</sup>. 目前, 科学家已经成功地多种明确遗传背景的疾病建立了相应的 iPSC 疾病模型, 包括神经退行性疾病、血液疾病、心血管疾病和代谢紊乱等<sup>[7]</sup>. 其中既包括了遵循孟德尔遗传规律的简单遗传疾病, 也包括诸如糖尿病<sup>[8]</sup>、精神分裂症<sup>[9]</sup>等复杂的人类疾病. 由于从 hPSC 向神经元分化的方法相对成熟, 且神经疾病的表征多为行为与认知障碍, 难以在动物模型中得到模拟, 故而目前大多数研究集中在用 iPSC 技术模拟神经系统疾病(表 1). 以帕金森氏病(Parkinson's disease, PD)为例, 它是老年人最常见的中枢神经系统退行性疾病之一, 以中脑黑质多巴胺神经元变性为主要特征, 其发病机理还不十分清楚. 由于人们无法从病脑中直接分离原代神经元进行体外研究, 而且目前已知的所有动物模型都不能完全模拟 PD 的病理表型<sup>[9-10]</sup>, 因此, 病人 iPSC 衍生而来的多巴胺神经元对研究 PD 的分子病理机制非常重要. 目前, 携带家族性 PD 相关点突变(包括 LRRK2、 $\alpha$ -synuclein 和 PINK1 的突变)的病人 iPSC 已经产

\* 中国科学院“百人计划”资助项目.

\*\* 通讯联系人.

E-mail: ghliu@ibp.ac.cn

收稿日期: 2011-10-19, 接受日期: 2011-10-23

Table 1 Reported iPSC lines derived from patients with various nervous system diseases

表 1 已报道的神经系统疾病特异的 iPSC 细胞系

疾病名称	致病基因	疾病表型模拟	药物筛选或功能测试	参考文献
萎缩性脊髓侧索硬化症	Superoxide dismutase	-	-	[6]
脊髓性肌萎缩症	VAPB	分化为运动神经元 VAPB 表达下降	-	[11]
	SMN1	分化为成熟的运动神经元细胞、星形胶质细胞、神经细胞神经元形状缩小, 数量减少与突触形成障碍	VPA	[12]
帕金森氏症	LRRK2	分化的多巴胺神经元神经元形状缩小, 氧化应激敏感	移植到帕金森症大鼠模型中	[4, 13-16]
	$\alpha$ -Synuclein	分化的多巴胺神经元高表达 $\alpha$ -Synuclein	-	[17]
	PINK1	分化的多巴胺神经元线粒体招募 Parkin 蛋白的能力损伤	-	[18]
亨廷顿病	Huntingtin	-	-	[4]
唐氏综合征	Trisomy 21	-	-	[4]
X 染色体易损综合征	FMR1	FMR1 沉默	-	[19]
家族性自主神经功能异常	IKBKAP	分化为中央神经元、外周神经元、造血细胞、内皮细胞等, 标志性蛋白表达下降引发神经退化	神经元迁移能力下降	[20]
瑞特综合征	MECP2	分化的神经元成熟的缺陷, 突触减少, 钙信号变化, 电生理缺陷	IGF1	[21-22]
精神分裂症	-	神经元突触减少, 神经元连接减弱	loxapine	[7]
共济失调	FXN	分化为外周神经元	-	[9, 23]

生, 通过体外定向分化为多巴胺神经元, 部分 PD 相关的表型已经得到模拟<sup>[4, 13-18]</sup>. 可见利用这些疾病模型, 生物学家可以在实验室中研究神经退行性疾病的发生机理, 寻找药物作用的新靶点, 筛选具有药理活性的先导化合物. 可喜的是, iPSC 衍生的神经前体细胞在动物脑内移植已经获得成功<sup>[14]</sup>. 因此, iPSC 技术与动物模型实验相结合将为最终治疗人类的疾病提供更多的线索.

## 2 基于人多潜能干细胞的基因打靶技术

过去, 基于小鼠 ESC 的基因打靶技术让科学家得以研究小鼠的发育和多种基因的功能. 但是, 当人们试图用同样的方法在 hESC 或 hiPSC 做基因打靶时, 却遇到了技术困难. 事实上, Thomson 实验室 2003 年首次利用同源重组技术在 hPSC 中基因打靶成功后<sup>[24]</sup>, 能够对 hPSC 进行成功基因修饰的文章却寥寥无几. 这种种属特异的打靶效率低下可能与 hESC 内特殊的同源重组机制以及单细胞扩增能力相关. 因此, 大多数当前应用的人类基因组修饰策略仍是随机整合转基因. 这种方法存在较多的缺点, 包括潜在的基因组随机插入造成的致癌突变. 针对基因打靶在 hESC 中的低效率问题, 科学家尝试了多种新方法改进这一技术. 首先使用锌

指核酸酶(zinc finger nucleases, ZFN), 这种经过基因工程改造的酶可以特异识别基因组特定序列并诱导 DNA 双链断裂, 进一步通过细胞内 DNA 修复机制与导入的外源 DNA 进行同源重组, 从而置换细胞内源基因片段<sup>[25]</sup>. 2009 年, Jaenisch 研究组用锌指核酸酶技术对人多潜能干细胞的 *OCT4* 与 *PITX3* 位点进行了成功的修饰<sup>[26]</sup>. 虽然 ZFN 技术使得 hESC 的基因打靶获得了较高的效率, 但这种方法并不完美. 它的主要缺陷是锌指核酸酶的脱靶效应(off target effect). 这种主要基于生物信息学预测的 ZFN 技术将会对基因组 DNA 产生非特异性的切割, 因而可能会在基因中引入一些不可预计的突变<sup>[27-28]</sup>. 我们最近发展了一种高效、安全、多功能的基因组编辑技术<sup>[29]</sup>. 该技术利用第三代非整合腺病毒(HDAdV)作为基因传递载体, 该载体已被证明兼具了目前大多数基因组编辑工具的优点. 首先, HDAdV 具有高效向 hPSC 导入 DNA 的能力(约 100%感染效率), 可在 hESC 与 hiPSC 中停留 1 周左右, 因此允许载体同源序列和待打靶基因组序列之间进行充分有效的同源重组. 经过正向和负向筛选, 非正确重组的感染细胞被选择掉, 存活的细胞中较高的比率(对人 *LMNA* 位点, 为 90%)为正确基因打靶的克隆. 第二, 不同于经典的腺病毒载

体, 该载体几乎移除了所有病毒蛋白的编码和调控序列, 仅保留基本的用于承载打靶同源序列的载体骨架. 由于摒弃了病毒原件, 该载体具有极高的安全性. 第三, 由于该载体移除了腺病毒相关的序列, 它原则上可容纳长至 37 kb 的基因组同源序列, 因此极大地提高了打靶的精确度和效率. 该载体已被证明可以编辑转录激活和转录抑制的基因组位点. 不仅如此, 该载体包含的约 30 kb 同源重组 DNA 序列使其能编辑较大的基因组片段(如大的插入或缺失突变). 起源于  $10^6$  个 hPSC(相当于 6 孔板的 1 孔细胞)即可在 30 天之内产生约数十或数百个得到基因打靶的克隆. 全基因组 SNP 测序结果表明, 该方法不产生非特异性的基因突变和染色体变异. 该项技术是目前国际上最强大和安全的基因编辑方法之一, 该方法不仅可以用于纠正 iPSC 中的疾病突变<sup>[29]</sup>, 还可用于在 hESC 中引入新的突变、基因敲减(或敲除)、产生内源性报告基因等重要应用<sup>[30-31]</sup>.

这些成果展示了在 hPSC 中定点修复或主动突变一个基因的可行性, 解决了未来将人类诱导多能干细胞用于干细胞治疗的一个重要技术环节. 此外, 这些安全、高效的基因编辑技术与携带特定遗传突变的病人 iPSC 相结合, 为我们提供了发展可靠的人类疾病模型的重要手段.

### 3 基于病人多潜能干细胞的基因矫正技术

2007 年, Jaenisch 的研究团队第一次证实了基于 iPSC 的基因矫正可以修复遗传突变的表型<sup>[32]</sup>.

利用小鼠镰状型贫血的模型, 他们首先产生了疾病小鼠 iPSC, 然后通过同源重组的方法矫正了具有缺陷的血红蛋白基因. 这种经过遗传矫正的小鼠 iPSC 具有体外分化为造血细胞的能力, 这些“表型正常”的造血细胞经过移植, 可以使得疾病小鼠的红细胞功能恢复正常. 最近, 我们和其他几个研究团队成功地建立了人类疾病特异的 iPSC, 并且对它们的突变基因成功地进行了矫正, 这些疾病模型包括儿童早衰症<sup>[29, 33]</sup>、帕金森氏症<sup>[34]</sup>、回旋形萎缩症<sup>[35]</sup>以及血液疾病, 如镰刀形细胞贫血症<sup>[36-37]</sup>、地中海贫血症<sup>[38]</sup>、范科尼贫血<sup>[39]</sup>和阵发性夜间血红蛋白尿<sup>[40]</sup>. 这些研究大多是通过选择体外 iPSC 的分化条件和优化培养环境, 加快病症发展的进程, 故而成为研究基因矫正的平台. 需要指出的是, 在目前发展的基因编辑工具中, 仅有 HDAdV 可以高效地对大片的基因组区域进行编辑, 进而允许一次性矫正含有多个点突变甚至有序列缺失和重复的遗传突变<sup>[29]</sup>. 例如, 位于 *LMNA* 基因的不同点突变可以导致不同的退行性人类疾病(统称为核纤层病理), 我们发展的基因编辑载体 *LMNA*-c-HDAdV 可以纠正超过 200 个不同的 *LMNA* 疾病点突变<sup>[29]</sup>. 这些经过遗传矫正的 iPSC 可能在未来应用于治疗多种核纤层异常相关的人类疾病. 此外, 除了可能应用于再生医学和个体化治疗, 由于经过基因纠正的 iPSC 具有同病人 iPSC 一致的基因型, 因此可以提供 iPSC 疾病模型中的严格的实验对照, 使得精确地分析疾病发生和分子机理成为可能<sup>[31]</sup>. 图 1 总结了基于干细胞的基因矫正的再生医学策略.

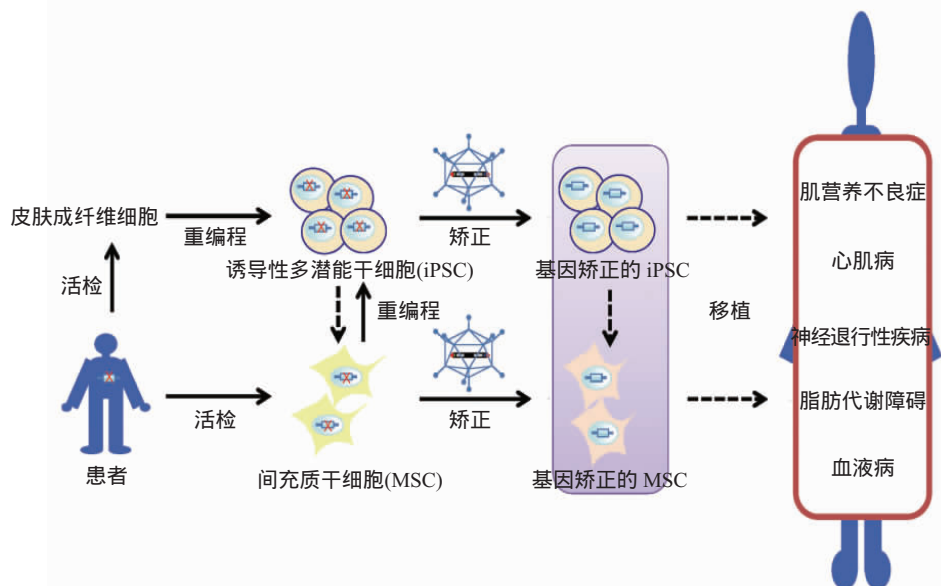


Fig. 1 Potential therapeutic strategies with gene-corrected iPSCs and MSCs

图 1 基于干细胞的基因矫正的再生医学策略

## 4 面临的问题与解决方案

当我们用 iPSC 技术建立疾病模型时, 有几个问题必须考虑。第一, iPSC 能不能等同于 ESC? 事实上, 多篇文献报道了 iPSC 与 ESC 之间细微的差别。这些差别可能是介导重编程的外源因子插入基因组导致的, 也可能是重编程过程中发生的表观遗传学和基因组水平的变异积累而来<sup>[41-46]</sup>。例如, 通过高分辨率单核苷酸多态性和全基因组表达分析, 科学家很快发现相比 hESC, hiPSC 更容易发生点突变、基因片段拷贝数变异以及染色体数目变异等情况<sup>[41-44]</sup>。通过 hESC 与 hiPSC 单碱基分辨率水平的全基因组甲基化修饰分析, 在 hiPSC 接近著丝粒和端粒的区域发现了百万碱基范围的甲基化修饰异常<sup>[45]</sup>。这些异常可能导致重编程后的 iPSC 功能异常, 进而干扰 iPSC 疾病模型的表型分析以及研究人员对疾病分子机理解读。第二, 由于重编程过程中可能积累的随机突变以及个体差异的影响, 导致无论是不同个体衍生的 iPSC 系之间, 还是相同个体来源的不同 iPSC 克隆之间都可能存在着本质的差异, 进而导致对疾病表型和机理的错误解释。

虽然单基因遗传突变的基因修正可以为疾病特异的 iPSC 制备同基因型的 iPSC 对照系, 从而为药物筛选和疾病机理研究提供更可靠的实验对照, 然而更为可靠的方法是, 通过反向遗传学的方法, 在“真正”的多潜能干细胞 hESC 中敲除特定基因或引入特定的疾病突变, 从而产生“疾病特异”的 hESC。这种方法在 iPSC 技术没有出现之前, 就被科学家使用来模拟人类疾病。2004 年, Benvenisty 研究小组<sup>[47]</sup>通过同源重组得到了带有突变了 *HPRT1* 基因的 hESC, 从而模拟了奈恩二氏综合症的部分特性。新一代的基因打靶技术使这种方法更为可行。2011 年, Soldner 等用 ZFN 不但成功有效地纠正了帕金森病人特异的 iPSC 中  $\alpha$ -synuclein 致病基因突变, 而且还产生了帕金森氏症特异的 ESC 细胞系<sup>[31]</sup>。同年, Hockemeyer 等<sup>[48]</sup>用基于 TALEN (transcription activator-like effector nucleases) 的基因打靶技术有效地靶定了 5 个不同的 ESC 和 iPSC 基因组位点。TALEN 是与 ZFN 类似的识别特异序列的核酸酶, 其对基因组修饰的效率和脱靶几率与 ZFN 相当。

## 5 未来展望

人类遗传学是研究人类在形态、结构、生理、免疫、行为等各种性状的遗传特性和规律, 以及人类遗传性疾病的发生机理等方面的遗传学分支学科。自孟德尔遗传定律被发现后, 随着新一代基因组测序的推动, 大量的数据揭示了导致个体之间差异的基因突变的存在。有害的基因突变会导致个体发育或功能缺陷甚至死亡。目前人们对疾病相关突变如何引起机体缺陷的分子机理的认识还非常表浅。中国科学院生物物理研究所多能干细胞与人类疾病实验室同时具有 hPSC 疾病模型、hPSC 基因打靶、细胞核生物学和衰老研究的经验和优势<sup>[29, 33]</sup>。实验室的未来发展方向是利用 HDAdV 基因编辑技术有效地修饰 hPSC 基因组, 在 hESC 中引入疾病相关的定点突变, 即在实验室中产生“疾病特异的”hESC。我们也将利用基因编辑技术建立用于体外分离纯化特定细胞类型的内源性报告系统。通过体外建模和基因组范围分析等手段揭示人类疾病的分子病理表型及相关的分子通路。这些模型将摒弃目前 iPSC 疾病模型所具有的偏见, 为实验室内研究人类遗传疾病的细胞分子机理、寻找相关药物作用靶点及活性化合物筛选提供一个优质的平台系统。此外, 我们也将致力于研究体细胞重编程和细胞命运转化过程中的细胞核内分子事件, 并希望通过调节特定的细胞核内分子开关来精确控制重编程的效率, 并最终提高 iPSC 的安全性。总之, 疾病特异性 iPSC 的建立、基因矫正和疾病特异 hESC 的产生将在一定程度上推动人们对疾病的研究和治疗尝试。

## 参 考 文 献

- [1] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, *et al.* Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 2007, **131**(5): 861-872
- [2] Yu J, Vodyanik M A, Smuga-Otto K, *et al.* Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science*, 2007, **318**(5858): 1917-1920
- [3] Pickering S J, Minger S L, Patel M, *et al.* Generation of a human embryonic stem cell line encoding the cystic fibrosis mutation deltaF508, using preimplantation genetic diagnosis. *Reprod Biomed Online*, 2005, **10**(3): 390-397
- [4] 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. *Cell Stem Cell*, 2007, **1**(5): 568-577
- [5] Park I H, Arora N, Huo H, *et al.* Disease-specific induced pluripotent stem cells. *Cell*, 2008, **134**(5): 877-886
- [6] Dimos J T, Rodolfa K T, Niakan K K, *et al.* Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. *Science*, 2008, **321**(5893): 1218-1221
- [7] Unternaehrer J J, Daley G Q. Induced pluripotent stem cells for modelling human diseases. *Philos Trans R Soc Lond B BiolSci*, 2011, **366**(1575): 2274-2285
- [8] Brennand K J, Simone A, Jou J, *et al.* Modelling schizophrenia using human induced pluripotent stem cells. *Nature*, 2011, **473**(7346): 221-225
- [9] Liu J, Verma P J, Evans-Galea M V, *et al.* Generation of induced pluripotent stem cell lines from Friedreich ataxia patients. *Stem Cell Rev*, 2011, **7**(3): 703-713
- [10] Dawson T M, Ko H S, Dawson V L. Genetic animal models of Parkinson's disease. *Neuron*, 2010, **66**(5): 646-661
- [11] Mitne-Neto M, Machado-Costa M, Marchetto M C, *et al.* Downregulation of VAPB expression in motor neurons derived from induced pluripotent stem cells of ALS8 patients. *Human Molecular Genetics*, 2011, **20**(18): 3642-3652
- [12] Ebert A D, Yu J, Rose F F, *et al.* Induced pluripotent stem cells from a spinal muscular atrophy patient. *Nature*, 2009, **457**(7227): 277-280
- [13] Soldner F, Hockemeyer D, Beard C, *et al.* Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors. *Cell*, 2009, **136**(5): 964-977
- [14] Hargus G, Cooper O, Deleidi M, *et al.* Differentiated Parkinson patient-derived induced pluripotent stem cells grow in the adult rodent brain and reduce motor asymmetry in Parkinsonian rats. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(36): 15921-15926
- [15] Swistowski A, Peng J, Liu Q, *et al.* Efficient generation of functional dopaminergic neurons from human induced pluripotent stem cells under defined conditions. *Stem Cells*, 2010, **28** (10): 1893-1904
- [16] Nguyen H N, Byers B, Cord B, *et al.* LRRK2 Mutant iPSC-Derived DA neurons demonstrate increased susceptibility to oxidative stress. *Cell Stem Cell*, 2011, **8**(3): 267-280
- [17] Devine M J, Rytan M, Vodicka P, *et al.* Parkinson's disease induced pluripotent stem cells with triplication of the alpha-synuclein locus. *Nat Commun*, 2011, **2**: 440
- [18] Seibler P, Graziotto J, Jeong H, *et al.* Mitochondrial Parkin recruitment is impaired in neurons derived from mutant PINK1 induced pluripotent stem cells. *J Neurosci*, 2011, **31** (16): 5970-5976
- [19] Urbach A, Bar-Nur O, Daley G Q, *et al.* Benvenisty N. Differential modeling of fragile X syndrome by human embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell*, 2010, **6** (5): 407-411
- [20] Lee G, Papapetrou E P, Kim H, *et al.* Modelling pathogenesis and treatment of familial dysautonomia using patient-specific iPSCs. *Nature*, 2009, **461**(7262): 402-406
- [21] Marchetto M C, Carromeu C, Acab A, *et al.* A model for neural development and treatment of Rett syndrome using human induced pluripotent stem cells. *Cell*, 2010, **143**(4): 527-539
- [22] Kim K Y, Hysolli E, Park I H. Neuronal maturation defect in induced pluripotent stem cells from patients with Rett syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(34): 14169-14174
- [23] Ku S, Soragni E, Campau E, *et al.* Friedreich's ataxia induced pluripotent stem cells model intergenerational GAATTC triplet repeat instability. *Cell Stem Cell*, 2010, **7**(5): 631-637
- [24] Zwaka T P, Thomson J A. Homologous recombination in human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol*, 2003, **21**(3): 319-321
- [25] Lombardo A, Genovese P, Beausejour C M, *et al.* Gene editing in human stem cells using zinc finger nucleases and integrase-defective lentiviralvector delivery. *Nat Biotechnol*, 2007, **25** (11): 1298-1306
- [26] Hockemeyer D, Soldner F, Beard C, *et al.* Efficient targeting of expressed and silent genes in human ESCs and iPSCs using zinc-finger nucleases. *Nat Biotechnol*, 2009, **27**(9): 851-857
- [27] Gabriel R, Lombardo A, Arens A, *et al.* An unbiased genome-wide analysis of zinc-finger nuclease specificity. *Nat Biotechnol*, 2011, **29**(9): 816-823
- [28] Pattanayak V, Ramirez C L, Joung J K, *et al.* Revealing off-target cleavage specificities of zinc-finger nucleases by *in vitro* selection. *Nat Methods*, 2011, **8**(9): 765-770
- [29] Liu G H, Suzuki K, Qu J, *et al.* Targeted gene correction of laminopathy-associated LMNA mutations in patient-specific iPSCs. *Cell Stem Cell*, 2011, **8**(6): 688-694
- [30] Stem cells: Gene repair tool for stem cells. *Nature*. 2011, **474**(7349): 8
- [31] Kim H W, Svendsen C N. Gene editing in stem cells hits the target. *Cell Stem Cell*, 2011, **9**(2): 93-94
- [32] Hanna J, Wernig M, Markoulaki S, *et al.* Treatment of sickle cell anemia mouse model with iPS cells generated from autologous skin. *Science*, 2007, **318**(5858): 1920-1923
- [33] Liu G H, Barkho B Z, Ruiz S, *et al.* Recapitulation of premature ageing with iPSCs from Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature*, 2011, **472**(7342): 221-225
- [34] Soldner F, Laganieri J, Cheng A W, *et al.* Generation of isogenic pluripotent stem cells differing exclusively at two early onset Parkinson point mutations. *Cell*, 2011, **146**(2): 318-331
- [35] Howden S E, Gore A, Li Z, *et al.* Genetic correction and analysis of induced pluripotent stem cells from a patient with gyrate atrophy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(16): 6537-6542
- [36] Sebastiano V, Maeder M L, Angstman J F, *et al.* *In Situ* genetic correction of the sickle cell anemia mutation in human induced pluripotent stem cells using engineered zinc finger nucleases. *Stem Cells*, 2011
- [37] Zou J, Mali P, Huang X, *et al.* Site-specific gene correction of a point mutation in human iPS cells derived from an adult patient with sickle cell disease. *Blood*, 2011
- [38] Papapetrou E P, Lee G, Malani N, *et al.* Genomic safe harbors

- permit high beta-globin transgene expression in thalassemia induced pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol*, 2011, **29**(1): 73-78
- [39] Raya A, Rodriguez-Piza I, Guenechea G, *et al.* Disease-corrected haematopoietic progenitors from Fanconianaemia induced pluripotent stem cells. *Nature*, 2009, **460**(7251): 53-59
- [40] Zou J, Maeder M L, Mali P, *et al.* Gene targeting of a disease-related gene in human induced pluripotent stem and embryonic stem cells. *Cell Stem Cell*, 2009, **5**(1): 97-110
- [41] Mayshar Y, Ben-David U, Lavon N, *et al.* Identification and classification of chromosomal aberrations in human induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell*, 2010, **7**(4): 521-531
- [42] Gore A, Li Z, Fung H L, *et al.* Somatic coding mutations in human induced pluripotent stem cells. *Nature*, 2011, **471**(7336): 63-67
- [43] Hussein S M, Batada N N, Vuoristo S, *et al.* Copy number variation and selection during reprogramming to pluripotency. *Nature*, 2011, **471**(7336): 58-62
- [44] Laurent L C, Ulitsky I, Slavin I, *et al.* Dynamic changes in the copy number of pluripotency and cell proliferation genes in human ESCs and iPSCs during reprogramming and time in culture. *Cell Stem Cell*, 2011, **8**(1): 106-118
- [45] Lister R, Pelizzola M, Kida Y S, *et al.* Hotspots of aberrant epigenomic reprogramming in human induced pluripotent stem cells. *Nature*, 2011, **471**(7336): 68-73
- [46] Barrero M J, Belmonte J C I. iPSC cells forgive but do not forget. *Nat Cell Biol*, 2011, **13**(5): 523-525
- [47] Urbach A, Schuldiner M, Benvenisty N. Modeling for Lesch-Nyhan disease by gene targeting in human embryonic stem cells. *Stem Cells*, 2004, **22**(4): 635-641
- [48] Hockemeyer D, Wang H, Kiani S, *et al.* Genetic engineering of human pluripotent cells using TALE nucleases. *Nat Biotechnol*, 2011, **29**(8): 731-734

## Pluripotent Stem Cells and Human Diseases\*

ZHANG Wei-Qi, LIU Guang-Hui\*\*

(National Laboratory of Biomacromolecules, Institute of Biophysics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

**Abstract** Human pluripotent stem cells including embryonic stem cell (hESC) and induced pluripotent stem cell (hiPSC) are able to differentiate into various somatic cell types in the body. Successful gene targeting in hESC/hiPSC enables not only to correct human diseases-associated mutations prior to clinical transplantation but also genetic engineering of human genome for basic research. By using the genetically modified hESC/hiPSC, biologists and physicians have found a way to study the pathogenesis and mechanism of human diseases, screen for novel drugs, and develop relevant therapeutic strategies. The combination of stem cell biology and gene editing technology will open a new avenue to advance the understanding of human diseases and develop related therapies.

**Key words** human pluripotent stem cell, gene targeting, disease modeling

**DOI:** 10.3724/SP.J.1206.2011.00466

\* This work was supported by a grant from One Hundred Talents Project of the Chinese Academy of Sciences.

\*\*Corresponding author.

E-mail: ghliu@ibp.ac.cn

Received: October 19, 2011 Accepted: October 23, 2011