

iPS细胞技术在血液系统疾病中的研究进展及应用

汪文君 邢文 周 圆* 杨逢春

(中国医学科学院北京协和医学院, 血液学研究所血液病医院, 实验血液学国家重点实验室, 天津 300020)

摘要 诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPS细胞)是指将一些特定的转录因子转入已分化的成体细胞,使其重编程为形态及功能上类似于胚胎干细胞(embryonic stem cells, ES细胞)的一类细胞。因此, iPS细胞技术避免了传统ES细胞在临床应用方面的道德伦理问题,使其在再生医学、疾病建模、新药筛选等方面具有巨大优势。近年来, iPS细胞技术在血液系统疾病中的研究及应用取得较大突破,包括体外诱导生成造血干/祖细胞、疾病模型的建立及耐药机制的研究、基因治疗单基因遗传病等。该文对iPS细胞诱导重编程技术在血液系统疾病中的最新研究进展进行了综述。

关键词 诱导性多能干细胞; 疾病模型; 基因治疗; 重编程

The Progress and Applications of iPS Cells Technology in Hematopoietic Diseases

Wang Wenjun, Xing Wen, Zhou Yuan*, Yang Fengchun

(State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology and Hospital of Blood Diseases, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China)

Abstract Induced pluripotent stem cells (iPS cells) can be directly generated from somatic cells by introducing a defined set of transcription factors. iPS cells exhibit functional and phenotypic similarities to the embryonic stem cells (ES cells). iPS cells possess less ethical issues as compared to ES cells, and demonstrate significant advantages in regenerative medicine, disease model and drug screening. In recent years, great breakthroughs of iPS cells technology have been made in the field of hematopoietic diseases, including generation of hematopoietic stem/progenitor cells *in vitro*, establishment of disease models, study of the mechanism of some drug resistance and gene therapy of the monogenic diseases. In this review, we summarized the recent applications and progresses of iPS cells research in hematopoietic diseases.

Key words induced pluripotent stem cells (iPS cells); disease models; gene therapy; reprogramming

哺乳动物从受精卵发育到性成熟个体这一过程,也是全能性、多能性细胞不断分化为成体细胞的过程。这一过程在体内环境中不能被逆转,甚至不能被停止,因此被认为是一种特定的程序。直到1958年, Gurdon等^[1]将蝌蚪已分化细胞的细胞核移

植至卵母细胞的细胞质中,发现能指导卵母细胞发育为性成熟的青蛙。1997年, Wilmot等^[2]利用核移植技术培育出克隆羊“多莉”,这也是研究者首次通过将哺乳动物体细胞核转移到去核卵细胞质后生成全能性胚胎,并且成功发育为成熟个体。这种技术

收稿日期: 2014-05-06 接受日期: 2014-07-28

国家自然科学基金(批准号: 81270575、81170512、81328003)资助的课题

*通讯作者。Tel: 022-23909197, E-mail: yuanzhou@ihcams.ac.cn

Received: May 6, 2014 Accepted: July 28, 2014

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81270575, 81170512, 81328003)

*Corresponding author. Tel: +86-22-23909197, E-mail: yuanzhou@ihcams.ac.cn

网络出版时间: 2014-10-23 16:07 URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.11.0151.html>

称为体细胞核移植技术,其成功地获得了重编程的全能性细胞。“多莉”的诞生使人们认为生物发育进程是可逆的,同时也证实了卵母细胞中存在某些因子,从而指导成体细胞重编程。这一发现也标志着生物领域新时代的到来。2006年, Takahashi等^[3]及 Yu等^[4]基于对ES细胞特异性基因及其表达模式的研究,突破性地发现将4种转录因子Oct4、Sox2、c-Myc、Klf4或Oct4、Sox2、Lin28和Nanog导入成体细胞,得到形态和功能与胚胎干细胞(embryonic stem cell, ES细胞)类似的多潜能细胞,称为诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPS细胞)。这些工作使英国研究员John B. Gurdon和日本科学家Shinya Yamanaka共同获得2012年的诺贝尔生理学或医学奖。重编程技术的出现,打破了全能性细胞临床应用的细胞来源和理论问题,不仅为再生医学和重编程技术开辟了新领域,也为疾病的建模、新药筛选及某些疾病的治疗带来了新的希望。随后,关于iPS细胞的研究取得了一些突破性进展,本文将对iPS细胞在血液系统疾病中的研究进展进行综述。

1 关于重编程机制的研究

由于iPS细胞的诱导是一个长时低效的过程,为了提高诱导效率,关于可诱导形成iPS细胞的转录因子作用机制的研究也有一些进展。

Oct4是具有POU结构域的octamer结合蛋白,也识别相应结构的DNA^[5]。Oct4缺失可导致胚胎死亡。有研究表明^[6], Oct4仅一倍的过度表达即可使得ES细胞向原始内胚层细胞和中胚层分化,而在ES细胞中敲降Oct4,会使得ES细胞分化为滋养层细胞。因此, Oct4被认为是控制ES细胞多能性的关键基因。

Sox2在胚胎早期发育中的作用与Oct4类似。Sox2敲除后胚胎外胚层及胚外组织的发育异常,因而胚胎在植入后很快死亡^[7]。另外, Sox2可调节Oct4的水平,其敲除后可使得ES细胞向滋养层分化。因此, Sox2对多能性的维持至关重要。

Klf4是一种含有锌指蛋白结构域的转录因子,有抑制细胞增殖的作用^[9]。Klf4敲除后的胚胎因其表皮黏膜屏障的缺陷而导致死亡^[10]。同时,有研究表明^[11], Klf家族的其他成员(Klf2、Klf4、Klf5)沉默表达可导致多能性细胞的分化。

c-Myc作为原癌基因,属于Myc转录因子家族,在细胞周期的调控、信号转导、遗传物质的转录后修

饰等方面起着重要作用。有相关研究表明^[12], c-Myc的缺失表达导致胚胎发育的相对延迟,但是对ES细胞多能性的维持及细胞的增殖发育无显著影响。

目前,随着iPS细胞技术的研究不断深入, iPS细胞的诱导方式不仅仅限于早期利用逆转录病毒或者慢病毒载体,这样的诱导方法因其致癌性而限制了临床应用。随后,附加体、转座子、microRNA、小分子化合物及蛋白质等介导的iPS细胞诱导方法也因其低致癌性及较高的诱导效率,也备受瞩目。

2 iPS细胞在血液系统疾病发病机制及药物筛选方面的研究

对于血液系统恶性疾病来说,临床上的化疗效果往往不甚理想,而且大部分病程呈恶性进展。其治疗方案往往需要多药联合化疗,这就避免不了药物的副作用。以往研究疾病发病机制的手段包括疾病相关小鼠模型的建立和疾病相关细胞系的建立,但是这些方法都有各自的局限性。人类许多疾病的小鼠模型建立大大加快了许多基因相关疾病的研究进展,但是由于种属之间的差异,小鼠模型并不能完全概括人类疾病的许多方面^[13]。多种疾病细胞系的建立也为人类疾病的发病机制的研究提供了重要工具,但是也不能囊括所有疾病。从理论上讲,来自原发性患者的样品最适于研究,然而得到的细胞数目可能不足以用于各种分析。此外,来自原发性患者的样本通常难以建立长期稳定存在的细胞系,额外的基因突变也可在细胞系中累积。因此, iPS细胞技术的出现在遗传性和获得性疾病的模型建立方面都有重大意义^[14-15]。

通过转入特定的转录因子, iPS细胞可以来源于不同类型的细胞^[3-4,16-20]。近年研究发现, iPS细胞不仅可以来源于正常组织细胞,也可来源于恶性组织细胞^[21]。利用iPS细胞技术在体外诱导生成的具有肿瘤特异性的iPS细胞称为iPC细胞(induced pluripotent cancer cells),其在肿瘤发病机制及化疗药物筛选方面有重要地位,特别是在个体化治疗研究方面有着突出研究价值。

2010年, Carette等^[21]利用慢性粒细胞白血病(chronic myelogenous leukemia, CML)细胞株,建立了恶性细胞来源的iPS细胞系。Bedel等^[22]和Kumano等^[23]又相继成功构建了CML患者样本来源的iPS细胞,并且对其造血分化谱系进行研究,从而对CML

患者病理生理情况、初次发病特点等有了进一步的认识。此外,还利用此模型研究CML患者对于imatinib、dasatinib及nilotinib等酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKIs)的耐药机制,试图改变CML患者长期应用TKIs之后出现的耐药复发的现状,改善CML患者的预后。这两项研究都表明,高表达融合基因*BCL-ABL*的iPS细胞,对酪氨酸抑制剂—Imatinib不敏感。然而,当CML-iPS细胞定向诱导分化为造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSC)时,却表现出对Imatinib的敏感性,这表明CML患者TKIs的耐药机制可能与细胞分化时所处的阶段相关。

急性白血病(acute leukemia, AL)具有高度的异质性,它在临床上涉及的因素很多,因此靶向治疗的难度较大。有研究表明,部分AL患者的发病可能与造血干/祖细胞的基因突变或者基因重排有关,但临床上还有部分病例未发现基因突变位点。同时,为了探索AL的发病机制,也有一些AL的小鼠模型的建立,包括‘knock-in’ iPS小鼠和通过逆转录病毒转染建立的小鼠疾病模型等。值得注意的是,有研究表明,通过逆转录病毒转染建立的Notch1通路相关的T细胞急性淋巴细胞白血病疾病模型,在转入‘Yamanaka factors’(Oct4、Sox2、Klf4和c-Myc)后并不能完全重编程为iPS细胞。这表明,至少在某些造血系统的恶性肿瘤中,‘Yamanaka factors’的表达上调并不足以沉默逆转录病毒启动子。所以,并不是所有的恶性细胞都可以通过上述途径实现多能性的恢复。

2013年,Saliba等^[24]利用两个骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasms, MPNs)患者血液中CD34+细胞在体外诱导生成iPS细胞,研究了JAK2V617F的负荷对JAK2/STAT3这一信号通路的影响,并且利用这一模型进行了针对JAK2V617F这一特定通路小分子药物的筛选。研究显示,MPN疾病诱导生成的iPS细胞造血潜能增强,在JAK2V617F这一突变存在时iPS细胞来源的造血干/祖细胞对细胞因子(主要是TPO和EPO)的敏感性增加。

同年,Cheng等^[25]对混合系白血病(mixed lineage leukemia, MLL)的发病机制做了初步探索,并成功地构建了携带*MLL-AF9*融合基因的iPS细胞系。该研究发现,正常和白血病细胞来源的iPS细胞有着几乎相同的基因表达谱。白血病细胞来源的iPS细胞的产生,可能与某种表观遗传调控因子决定的*MLL-*

*AF9*基因表达模式有关。随后,研究者通过iPS细胞技术研究巨噬细胞在肿瘤微环境中的重要作用,并且证实其对肿瘤细胞的调节机制可为临床上相关肿瘤的靶向治疗提供依据^[26]。以上研究均可为我们认识肿瘤细胞提供一个新的视角,并且可为部分恶性血液病的诊断、治疗提供新策略。

3 iPS细胞用于基因治疗

目前,iPS细胞主要用于治疗遗传性和退行性疾病^[15]。也有研究表明,部分血液病的发生、发展与遗传因素相关,例如单基因遗传病,包括Fanconi贫血、镰状细胞贫血、地中海贫血、血友病等。这些疾病的发生是由于基因突变引起DNA分子内碱基类别或顺序发生改变,又或排列组合发生变化,从而不能合成正确的RNA或者蛋白质。迄今为止,这类疾病在临床上缺乏有效的治疗手段。从理论上来说,单基因遗传病可以通过iPS细胞技术和基因治疗技术的联合使用从而达到根治的目的。

2007年,Hanna等^[14]将镰状细胞贫血小鼠尾巴的成纤维细胞体外诱导生成iPS细胞,后通过同源重组的方式用野生型 β A珠蛋白基因代替了突变的 β S珠蛋白基因,随后将基因纠正过的iPS细胞定向分化为造血干/祖细胞,纯化后重新输注到小鼠体内,这些细胞恢复正常造血,从而明显缓解小鼠的疾病症状。2009年,Xu等^[27]将小鼠尾部皮肤的成纤维细胞体外诱导形成iPS细胞,这些iPS细胞表达ES细胞的主要标志,且分泌凝血因子VIII。随后,通过拟胚体(embryoid body, EB)的形成及分化将其体外诱导为内皮祖细胞及内皮细胞,并表达特异性的表面抗原。再将诱导分化的细胞移植注射到照射处理过的血友病模型小鼠的肝脏,随后将实验组和对照组小鼠的尾部剪断使其流血,通过不同的时间段(7~90 d)的观察分析发现,没有移植的患病小鼠在几小时后死亡,而移植后的患病小鼠出血症状得到明显缓解,并且存活时间大于三个月。同时,移植后的患病小鼠血浆中的凝血因子VIII水平逐渐恢复,且疾病表征也得到了较为明显的改善。该研究为治疗人类单基因障碍疾病带来了曙光。

同年,Raya等^[28]对Fanconi贫血患者的体细胞进行体外诱导,获得了患者来源的iPS细胞,并对这些细胞进行基因纠正。研究证实,基因纠正后的iPS细胞可分化为正常表型的髓系和红系造血干/祖细胞。

以上实验证明了鼠的iPS细胞和人的iPS细胞在基因治疗方面有着巨大的潜力。此外, iPS细胞技术也可很好地解决疾病个体化差异及免疫排斥。因此, 疾病特异性的iPS细胞在细胞替代治疗开发方面有着良好的应用前景。

4 iPS细胞向造血分化的研究成果及进展

近10年来, ES细胞在造血分化的研究领域有较大进展, 血制品治疗(输注红细胞、血小板)可能首先走入临床。但是, 利用iPS细胞分化为成熟血细胞、分化为HSC移植后长期维持造血依然有待我们进行进一步的研究探索。

2004年, ES细胞在体外向红细胞分化取得了较大进展。Cerdan等^[29]将ES细胞诱导分化获得了可以在体外长期培养的红系祖细胞, 同时指出, VEGF-A165提供了ES细胞向红系谱系分化的重要信号。2008年, Ma等^[30]将ES细胞与小鼠胎肝基质细胞共培养, 可以高效诱导其向红细胞分化, 而且诱导形成的红细胞样的细胞其血红蛋白的表达模式经历胎儿期向成体血红蛋白的转变, 最终能够100%表达成年期血红蛋白, 并且都具有携氧能力和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶的活性。以上研究都奠定了iPS细胞诱导分化为成熟且有功能的红细胞的基础。

2008年, Schenke-Layland等^[31]将小鼠皮肤成纤维细胞重编程形成iPS细胞后, 成功地分化为造血细胞。此后, iPS细胞分化出有核红细胞和血小板的研究也有所报道。同年, Lu等^[32]在体外成功地建立了iPS细胞向红细胞诱导分化的技术体系。以上研究结果证明, 由iPS细胞诱导分化成成熟的人类红细胞和白细胞是可以实现的, 这同时也为临床上血制品不足这一难题提供了可行的解决方案。

目前, 临床上HSC移植技术不断成熟, 已成为恶性血液病、部分实体瘤、单基因遗传病、自身免疫性疾病等的有效治疗手段之一。但是, 对于自体移植来说, 自体HSC中残存的肿瘤细胞可能导致移植后疾病复发; 供者来源的骨髓HSC资源有限, 从而限制了异基因HSC移植的临床应用。诱导多能干细胞技术也为HSC的供者来源不足及移植排斥等问题提供了解决的可能性。HSC具有自我更新和分化为多种成熟血细胞的能力。因此iPS细胞向造血干、祖细胞的分化成为研究热点。2010年, Szabo1等^[33]将Oct4转入人成纤维细胞后, 在一些特定的细胞因子

的刺激下, 可以直接获得带有各系特定标记的造血祖细胞, 从而维持机体短时间造血的能力。这一报道证明了从成体细胞诱导生成各系造血祖细胞后进一步分化为成熟血细胞的可行性, 并且对血细胞发育机制有了更加深入的研究, 是iPS细胞技术领域的重大进展。但这一研究途径绕过了iPS细胞向HSC分化的这一途径, 而是直接分化为各系造血祖细胞, 因而没有解决临床上HSC移植的来源问题。2012年, Tashiro等^[34]通过下调衔接蛋白Lnk的表达, 在小鼠体内成功地获得并扩增了iPS细胞来源的HSC, 并且证实了其造血能力。

最近, Riddell等^[35]发现, 在血细胞中瞬时转染Run1t1、Hlf、Lmo2、Prdm5、Pbx1和Zfp37六种转录因子后, 得到的细胞具有向造血系统多系分化的潜能, 并且基因表达谱与内源性HSC高度相似。这表明, 特定转录因子的瞬时表达, 足以稳定地激活造血干/祖细胞功能的基因调节网络。因而, 血细胞重编程技术也可为临床上干细胞移植提供一种新策略。

因此, 我们希望在未来几年内, 新的实验技术及方法的涌现, 可以为iPS细胞向有功能的HSC分化提供契机。

5 iPS细胞在血液系统疾病的应用中面临的挑战与设想

目前关于iPS细胞的研究正如火如荼地进行着, 通过转入特定的转录因子实现已分化的成体细胞向干/祖细胞的转换, 这种不违背传统伦理道德、又可有效地避免自身免疫排斥作用的iPS细胞技术具有巨大潜力。通过对患者特异性细胞进行诱导, 从而生成患者特异性的iPS细胞, 进而应用于临床上的自体替代治疗、细胞治疗等也将会是未来几年的研究热点。同时, iPS细胞在发育生物学、再生医学、新药筛选、疾病建模等方面的前景也不容小觑。可是, 在iPS细胞用于临床血液系统疾病的治疗之前, 还有一些问题亟待解决。

5.1 iPS细胞来源的HSC重建能力的判定

iPS细胞和ES细胞具有相似的表型、基因表达模式及分化潜能。早前有研究者发现, 小鼠成体HSC和ES细胞来源的HSC有着相同的表型和体外造血重建的能力, 并且体内经股骨头注射移植ES细胞来源的HSC, 也能检测到其向红细胞、粒细胞及淋

巴细胞分化。这就表明,小鼠ES细胞来源的HSC有重建造血的能力。但是转录因子Hoxb-4的低表达,限制了ES细胞来源的HSC的增殖和迁移能力。因此,有研究发现,通过上调Hoxb-4的表达,可以为ES细胞来源的HSC建立移植造血模型^[36-37]。此外,也有研究者通过小鼠骨髓连续移植的实验,再次证明了小鼠ES细胞来源的HSC具备重建造血的能力。但是,人类ES细胞来源的HSC并未成功地重建造血。iPS细胞来源的HSC是否也不具备重建造血的能力?有哪些关键的信号通路及分子在iPS细胞诱导分化为HSC这一途径中发挥关键作用?这些问题都将会是以后研究的热点。

5.2 iPS细胞体外定向诱导分化为HSC后的分离纯化

iPS细胞在体外诱导分化为HSC后,如何分离和纯化有长期造血功能的HSC?根据目前报道的HSC特异性的表面分子抗原Thy1(CD90),2011年,John Dick团队^[38]发现具有长期造血重建HSC的表面分子标记CD49,但是以上这些分子标志是否可以充分定义经过iPS细胞诱导生成、有长期造血维持能力的HSC仍有待进一步证明。对iPS细胞定向诱导分化形成的HSC进行体内、体外分子机制的研究,或许对iPS细胞诱导分化的HSC和成体HSC的区分有一定帮助,使临床上获得iPS细胞来源的具有长期造血支持能力的HSC,从而有效解决HSC移植的来源和排斥性问题。

5.3 iPS细胞的遗传安全性及质量监控问题

随着iPS细胞研究的不断深入,iPS细胞的遗传安全性问题也备受关注。

目前研究表明,导致iPS细胞发生遗传学异常的因素主要有:(1)体细胞本身存在的遗传异常;(2)同时在iPS细胞产生的不同阶段均可造成遗传物质改变,例如,诱导因子造成的遗传异常、诱导过程中及诱导后长时细胞培养所造成的细胞异常。2011年,Pasi等^[39]发现在iPS细胞中存在染色体异常,但用于其来源的体细胞核型均正常。同时,iPS细胞基因拷贝数异常、点突变、表观遗传学异常等方面也先后被重视。

因此,iPS细胞的临床应用依旧存在很多问题。iPS细胞的遗传及表观遗传异常一直是限制其临床应用的关键问题。这提示我们必须利用更先进的实验技术来检测iPS细胞的遗传安全问题。另外,也迫使我们采用新的诱导途径、更安全有效的诱导方式

来维护遗传物质的稳定性。

另外,iPS细胞的多能性验证方面也存在一些问题。由于各种伦理问题的限制,人的iPS细胞不可能像小鼠iPS细胞那样通过四倍体补偿技术来充分证实其多能性。目前,我们对于人iPS细胞的检测大多仅限于观察免疫缺陷鼠皮下注射的iPS细胞,看其是否能够在一定时间内形成具有三胚层的畸胎瘤组织来对其进行多能性的检测。但是这样的鉴定也不能完全肯定iPS细胞具有多能性。因此,是否能在这一方面确定新标准,与iPS细胞的进一步研究紧密相关。

同时,近年来有研究表明,iPS细胞的传代比例及次数与其多能性有紧密的联系,并且证实,早期传代的iPS细胞可能没有完全重编程,存在部分表观遗传学的修饰,从而导致多能性基因没有得到完全激活。因此,iPS细胞的应用在这方面应该确立新的标准,以保证临床应用过程中遗传学的稳定。

如今,在iPS细胞的细胞来源、诱导效率、遗传安全性等方面都取得了较大的进展。iPS细胞来源的全能性小鼠已经通过四倍体囊胚注射技术得到验证。iPS细胞技术在退行性疾病和损伤性疾病的治疗方面已经得到有效应用。但是,目前的研究距离iPS细胞应用于临床治疗血液系统疾病还有一段距离,更加有效的诱导手段还需得到开发,遗传学上的稳定性和安全性还需进一步验证,细胞重编程的分子机制需要进一步地探索。不过,相信随着相关研究的进一步深入,iPS细胞的优势会在临床治疗血液系统疾病方面得到进一步体现。

参考文献 (References)

- 1 Gurdon JB, Elsdale TR, Fischberg M. Sexually mature individuals of *Xenopus laevis* from the transplantation of single somatic nuclei. *Nature* 1958; 182(4627): 64-5.
- 2 Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KH. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997; 385(6619): 810-3.
- 3 Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126(4): 663-76.
- 4 Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 2007; 318(5858): 1917-20.
- 5 Scholer HR, Ruppert S, Suzuki N, Chowdhury K, Gruss P. New type of POU domain in germ line-specific protein Oct-4. *Nature* 1990; 344(6265): 435-9.
- 6 Niwa H, Miyazaki J, Smith AG. Quantitative expression of Oct-3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES

- cells. *Nat Genet* 2000; 24(4): 372-6.
- 7 Avilion AA, Nicolis SK, Pevny LH, Perez L, Vivian N, Lovell-Badge R. Multipotent cell lineages in early mouse development depend on SOX2 function. *Genes Dev* 2003; 17(1): 126-40.
 - 8 Masui S, Nakatake Y, Toyooka Y, Shimosato D, Yagi R, Takahashi K, *et al.* Pluripotency governed by Sox2 via regulation of Oct3/4 expression in mouse embryonic stem cells. *Nat Cell Biol* 2007; 9(6): 625-35.
 - 9 Shields JM, Christy RJ, Yang VW. Identification and characterization of a gene encoding a gut-enriched Kruppel-like factor expressed during growth arrest. *J Biol Chem* 1996; 271(33): 20009-17.
 - 10 Segre JA, Bauer C, Fuchs E. Klf4 is a transcription factor required for establishing the barrier function of the skin. *Nat Genet* 1999; 22(4): 356-60.
 - 11 Jiang J, Chan YS, Loh YH, Cai J, Tong GQ, Lim CA, *et al.* A core Klf circuitry regulates self-renewal of embryonic stem cells. *Nat Cell Biol* 2008; 10(3): 353-60.
 - 12 Davis AC, Wims M, Spotts GD, Hann SR, Bradley A. A null c-myc mutation causes lethality before 10.5 days of gestation in homozygotes and reduced fertility in heterozygous female mice. *Genes Dev* 1993; 7(4): 671-82.
 - 13 Barabe F, Kennedy JA, Hope KJ, Dick JE. Modeling the initiation and progression of human acute leukemia in mice. *Science* 2007; 316(5824): 600-4.
 - 14 Hanna J, Wernig M, Markoulaki S, Sun CW, Meissner A, Casaday JP, *et al.* Treatment of sickle cell anemia mouse model with iPS cells generated from autologous skin. *Science* 2007; 318(5858): 1920-3.
 - 15 Park IH, Arora N, Huo H, Maherali N, Ahfeldt T, Shimamura A, *et al.* Disease-specific induced pluripotent stem cells. *Cell* 2008; 134(5): 877-86.
 - 16 Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature* 2007; 448(7151): 313-7.
 - 17 Wernig M, Meissner A, Foreman R, Brambrink T, Ku M, Hochedlinger K, *et al.* *In vitro* reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. *Nature* 2007; 448(7151): 318-24.
 - 18 Meissner A, Wernig M, Jaenisch R. Direct reprogramming of genetically unmodified fibroblasts into pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol* 2007; 25(10): 1177-81.
 - 19 Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, *et al.* Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007; 131(5): 861-72.
 - 20 Park IH, Zhao R, West JA, Yabuuchi A, Huo H, Ince TA, *et al.* Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors. *Nature* 2008; 451(7175): 141-6.
 - 21 Carette JE, Pruszak J, Varadarajan M, Blomen VA, Gokhale S, Camargo FD, *et al.* Generation of iPSCs from cultured human malignant cells. *Blood* 2010; 115(20): 4039-42.
 - 22 Bedel SA, Moreau-Gaudry F, Pasquet JM, Taillepiere M, Lippert E, Lagarde V. Induced pluripotent stem cells (iPSC) from chronic myeloid leukemia: Study of BCR-ABL addiction and effect of tyrosine kinase inhibitors. *Blood* 2011; 118(21): 1602-3.
 - 23 Kumano K, Arai S, Hosoi M, Taoka K, Takayama N, Otsu M, *et al.* Generation of induced pluripotent stem cells from primary chronic myelogenous leukemia patient samples. *Blood* 2012; 119(26): 6234-42.
 - 24 Saliba J, Hamidi S, Lenglet G, Langlois T, Yin J, Cabagnols X, *et al.* Heterozygous and homozygous JAK2 (V617F) states modeled by induced pluripotent stem cells from myeloproliferative neoplasm patients. *PLoS One* 2013; 8(9): e74257.
 - 25 Liu Y, Cheng H, Gao S, Lu X, He F, Hu L, *et al.* Reprogramming of MLL-AF9 leukemia cells into pluripotent stem cells. *Leukemia* 2014; 28(5): 1071-80.
 - 26 Goodridge HS. Induced pluripotent stem cell-derived myeloid phagocytes: Disease modeling and therapeutic applications. *Drug Discov Today* 2014; 19(6): 774-80.
 - 27 Xu D, Alipio Z, Fink LM, Adcock DM, Yang J, Ward DC, *et al.* Phenotypic correction of murine hemophilia A using an iPS cell-based therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(3): 808-13.
 - 28 Raya A, Rodriguez-Piza I, Guenechea G, Vassena R, Navarro S, Barrero MJ, *et al.* Disease-corrected haematopoietic progenitors from Fanconi anaemia induced pluripotent stem cells. *Nature* 2009; 460(7251): 53-9.
 - 29 Cerdan C, Rouleau A, Bhatia M. VEGF-A165 augments erythropoietic development from human embryonic stem cells. *Blood* 2004; 103(7): 2504-12.
 - 30 Ma F, Ebihara Y, Umeda K, Sakai H, Hanada S, Zhang H, *et al.* Generation of functional erythrocytes from human embryonic stem cell-derived definitive hematopoiesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(35): 13087-92.
 - 31 Schenke-Layland K, Rhodes KE, Angelis E, Butylkova Y, Heydarkhan-Hagvall S, Gekas C, *et al.* Reprogrammed mouse fibroblasts differentiate into cells of the cardiovascular and hematopoietic lineages. *Stem Cells* 2008; 26(6): 1537-46.
 - 32 Lu SJ, Feng Q, Park JS, Vida L, Lee BS, Strausbauch M, *et al.* Biologic properties and enucleation of red blood cells from human embryonic stem cells. *Blood* 2008; 112(12): 4475-84.
 - 33 Szabo E, Rampalli S, Risueno RM, Schnerch A, Mitchell R, Fiebig-Comyn A, *et al.* Direct conversion of human fibroblasts to multilineage blood progenitors. *Nature* 2010; 468(7323): 521-6.
 - 34 Tashiro K, Omori M, Kawabata K, Hirata N, Yamaguchi T, Sakurai F, *et al.* Inhibition of Lnk in mouse induced pluripotent stem cells promotes hematopoietic cell generation. *Stem Cells Dev* 2012; 21(18): 3381-90.
 - 35 Riddell J, Gazit R, Garrison BS, Guo G, Saadatpour A, Mandal PK, *et al.* Reprogramming committed murine blood cells to induced hematopoietic stem cells with defined factors. *Cell* 2014; 157(3): 549-64.
 - 36 Kyba M, Perlingeiro RC, Daley GQ. HoxB4 confers definitive lymphoid-myeloid engraftment potential on embryonic stem cell and yolk sac hematopoietic progenitors. *Cell* 2002; 109(1): 29-37.
 - 37 Wang L, Menendez P, Shojaei F, Li L, Mazuric F, Dick JE, *et al.* Generation of hematopoietic repopulating cells from human embryonic stem cells independent of ectopic HOXB4 expression. *J Exp Med* 2005; 201(10): 1603-14.
 - 38 Notta F, Doulatov S, Laurenti E, Poepll A, Jurisica I, Dick JE. Isolation of single human hematopoietic stem cells capable of long-term multilineage engraftment. *Science* 2011; 333(6039): 218-21.
 - 39 Pasi CE, Dereli-Oz A, Negrini S, Friedli M, Fragola G, Lombardo A, *et al.* Genomic instability in induced stem cells. *Cell Death Differ* 2011; 18(5): 745-53.