

血细胞为供体细胞诱导iPSCs的研究进展

黄霞 李彦欣*

(上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心转化所, 儿童血液肿瘤重点实验室, 上海 200000)

摘要 诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)是通过转录因子或者小分子化合物诱导体细胞形成的形态和功能类似于胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)的一类细胞, 具有自我更新及多向分化潜能。由于iPSCs技术不涉及传统ESCs的伦理学问题, 并且获取较为方便、快捷, 使其在再生医学、疾病建模、药物筛选等方面具有突出的优势。经过一定时间的探索, 发现血液细胞作为iPSCs技术的供体细胞具有很大的优势, 这也推动了对血液系统疾病的深入研究。该文就血液细胞在iPSCs诱导重编程技术中的应用以及iPSCs技术在血液系统疾病中的最新进展作一综述。

关键词 诱导多能干细胞; 重编程; 血细胞; 白血病

Advances in Blood Cells as Donor Cell to Generate iPSCs

Huang Xia, Li Yanxin*

(Key Laboratory of Pediatric Hematology & Oncology Ministry of Health, Department of Hematology & Oncology, Shanghai Children's Medical Center, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200000, China)

Abstract Induced pluripotent stem cells (iPSCs) are a type of pluripotent stem cells resembling embryonic stem cells which can be directly generated from somatic cells by transcription factors or small molecule compounds. iPSCs are well known for their self-renewal ability and multilineage differentiation potential with less ethical issues as compared to ES cells, and have a great advantage in regenerative medicine, disease model and drug screening. In recent years, great breakthroughs of iPSCs technology have been made in the field of hematopoietic diseases. In this review, the progress of iPSCs study and its application in hematopoietic diseases are summarized.

Keywords induced pluripotent stem cells; reprogramming; blood cells; leukemia

自从2006年Takahashi等^[1]将小鼠成纤维细胞重编程为诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs), 仅隔一年, 他们又将人成纤维细胞诱导为iPSCs^[2], 展现了诱导多能干细胞在再生医学、药物筛选和疾病机制等研究中的巨大前景。由患者自体细胞诱导的iPSCs可建立疾病模型, 为发病机制的研究提供技术平台, 为药物筛选及自体移植治疗难

治愈的疾病提供新的工具。

目前, 有多种iPSCs诱导方法可用于体细胞重编程。传统逆转录病毒诱导iPSCs方法不适用于分裂较慢或不分裂的细胞, 慢病毒诱导方法虽然适用各种类型细胞, 但是这两种病毒载体都会导致基因插入突变, 带来iPSCs成瘤性及遗传稳定性等问题^[3]。无外源基因插入的诱导方法如重组蛋白质方法^[4]、

收稿日期: 2017-03-20 接受日期: 2017-05-09

国家自然科学基金面上项目(批准号: 81470315)和上海交通大学医学院转化医学协同创新中心项目(批准号: TM201502)资助的课题

*通讯作者。Tel: 021-38626295, E-mail: liyanxincau@163.com

Received: March 20, 2017 Accepted: May 9, 2017

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81470315) and Collaborative Innovation Center for Translational Medicine at Shanghai Jiao Tong University School of Medicine (Grant No.TM201502)

*Corresponding author. Tel: +86-21-38626295, E-mail: liyanxincau@163.com

网络出版时间: 2017-07-18 16:38:02 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20170718.1638.004.html>

mRNA方法^[5]、Sendai病毒方法^[6]、小分子化合物^[7]和Episomal方法^[8-9]等,可解决iPSCs成瘤性及遗传稳定性等问题。Dowey等^[10]构建的episomal质粒通过瞬转方式将诱导因子转到外周血单核细胞内从而产生没有外源基因插入的iPSCs细胞系,是目前临床应用的首选诱导方式。

此外,培养体系中动物源的污染也是iPSCs临床应用的一大障碍。Sun等^[11]首先在无feeder细胞、无血清的培养条件下将脂肪细胞诱导生成iPSCs,成功建立了人iPSCs的培养体系,且彻底避免动物源可能对其产生污染。相关研究不断优化培养条件^[12-14],使得无feeder细胞、无血清的培养体系广泛应用于人iPSCs培养。供体细胞的选择也是促进iPSCs尽快进入临床必需考虑的重要环节,人iPSCs可来源于多种细胞如间充质干细胞^[15]、造血干/祖细胞^[16]和角质形成细胞^[17]等。Aasen等^[17]发现,人角质形成细胞来源的iPSCs的诱导效率是成纤维细胞来源的iPSCs的100倍以上,是效率最高的供体细胞,然而取材对人体造成一定伤害。外周血细胞因采样方便、对人体伤害小、细胞活力好等优势,已成为人重编程供体细胞的最佳来源。目前为止,不同类型的血细胞如CD34⁺造血干/祖细胞^[3,16,18-19]、B细胞^[20]、T细胞以及髓系细胞等^[21-22]都可诱导生成iPSCs。

1 正常血细胞为供体细胞诱导iPSCs技术进展

1.1 B细胞为供体细胞诱导iPSCs技术进展

研究表明,B细胞很难被重编程为诱导多能干细胞^[20,22]。利用早期的iPSCs技术如逆转录病毒或者慢病毒等方法,B细胞的诱导效率比成纤维细胞低很多。2008年,Hanna等^[20]发现,小鼠终末分化的成熟B淋巴细胞可通过CCAAT/增强子结合蛋白(CCAAT enhancer-binding proteins, C/EBP α)的表达或者特异敲除转录因子基因*Pax5*(paired box gene 5),从而干扰保持B细胞特性的转录状态,使成熟B淋巴细胞重编程为iPSCs的效率得到显著的提高。C/EBP α 可诱导Tet甲基胞嘧啶双加氧酶2(Tet methylcytosine dioxygenase 2, Tet2)的合成,促进Tet2转移到核内与多能性基因的调节区域结合,使得脱氧核糖核酸酶I更易接近多能性基因,促进多能性基因的表达,提高重编程的效率^[23]。

不同发育阶段的B淋巴细胞都能被重编程为

iPSCs。C/EBP α 与“Yamanaka因子”(Oct4、Sox2、Klf4和c-Myc)共表达可促进新鲜分离且没有经过培养的人脐带血和外周血中原代B淋巴细胞重编程为具有完整*VDJH*单克隆免疫球蛋白基因(immunoglobulin heavy chain genes)重排的iPSCs^[24]。早期有研究指出,B淋巴细胞在重编程之前或者重编程早期的培养条件会影响激活状态的成熟B淋巴细胞(IgH同种型转换)诱导生成的iPSCs形成嵌合体小鼠的能力^[25]。抗CD40和白介素-4(interleukin-4, IL-4)处理B淋巴细胞后,重编程形成iPSCs的印记基因簇*Dkl1-Dio3*(iodothyronine deiodinase type 3 gene)高度甲基化,Stadtfield等^[26]已证实,*Dkl1-Dio3*异常的表现遗传学沉默会影响诱导多能干细胞的生长潜能,即形成嵌合体小鼠的能力。

与成熟B淋巴细胞相比,未成熟B淋巴细胞没有进行基因重排,可更有效地被诱导为多能状态。例如,人EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)永生化的B淋巴瘤母细胞系能被重编程为不表达EBV相关的分子以及EB病毒核抗原-1(Epstein-Barr nuclear antigen-1, EBNA-1)的iPSCs^[27]。

虽然,B细胞很难被重编程为iPSCs,但是不同发育分化阶段的B细胞蛋白质表达和基因重排不同。因此,B细胞来源的iPSCs能够从细胞、分子和表观遗传学层面为研究B细胞发育的生理过程以及B细胞恶性肿瘤的发病机制提供一个有价值的体外研究系统。

1.2 T细胞为供体细胞诱导iPSCs

与B淋巴细胞相比,终末分化的循环T淋巴细胞与非整合型的病毒载体仙台病毒(SeV)共培养,可以获得很高的iPSCs重编程效率^[14,28]。在细胞质中复制的仙台病毒其携带的“Ymanaka因子”不会整合到宿主基因组上,能够诱导生成有效、安全的人多能干细胞。仙台病毒也可感染非增殖状态的细胞如黏膜相关恒定T细胞(mucosal associated invariant T cells, MAIT)^[29],诱导生成的iPSCs在T细胞适宜生长的条件下可有效分化为与黏膜相关恒定T细胞类似的淋巴细胞,表达T细胞受体V α 7.2、CD161和L-18受体链 α 。

T细胞衍生的iPSCs基因组中含有重排的单克隆T细胞受体基因(T-cell receptor gene, *TCR*)^[22,30],因此,TiPSCs可分化为抗原特异性T细胞用于新型免疫治疗^[31-32],并且TiPSCs的克隆以及诱导分化后的目

的细胞可通过其在TCR基因位点独特的排列模式来加以筛选和识别^[22]。利用TiPSCs技术,可结合嵌合抗原受体T细胞免疫疗法(chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy, CAR-T)产生大量具有抗肿瘤活性的功能性T细胞用于癌症免疫治疗,使得T细胞成为产生iPSCs独特的细胞来源。目前,多种不同类型T细胞能够被重编程为iPSCs,如细胞毒性T细胞(cytotoxic T cell, CTL)^[31,33]、黏膜相关恒定T细胞(MAIT)和自然杀伤性T细胞(natural killer T cells, NKT)^[34]等,可用于诱导生成参与固有免疫和适应性免疫的抗原特异性T淋巴细胞。

然而, TiPSCs中预先存在的T细胞受体基因位点的V(D)J重排也可能导致T细胞淋巴瘤的生成^[35], TiPSCs中重排的基因组对iPSCs其他功能的影响目前还不得而知。

1.3 外周血(混合单核细胞)为供体细胞诱导iPSCs

目前,绝大多数实验室都使用混合的血液单核细胞作为供体细胞重编程为iPSCs用于临床研究。Dowey等^[10]构建的episomal瞬转方法,是诱导外周血单核细胞为iPSCs的首选诱导方法。除了T、B细胞,外周血单核细胞群体(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)中少量的CD34⁺细胞也是重编程的供体细胞^[21,36],其中, Mack等^[36]通过同时添加小分子混合物包括PD0325901、CHIR99021、A-83-01和HA-100来提高CD34⁺细胞的重编程效率。虽然CD34⁺细胞在外周血中极易识别,具有很高的重编程效率且没有基因重排,是理想的重编程供体细胞,但是CD34⁺细胞在外周血中的数量很少,限制了其在iPSCs技术中广泛的应用。

外周血单核细胞正在成为产生iPSCs的常规来源细胞。除了正常人的PBMC,来自患血液病、阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)和帕金森病(Parkinson's disease, PD)等患者的PBMC也能成功地衍生出iPSCs^[37-39]。

1.4 脐带血为供体细胞诱导iPSCs

与外周血单核细胞相比,脐带血的获取和保存程序十分复杂且费用昂贵,但是脐带血来源的细胞非常“年轻”,在细胞核和线粒体DNA中含有更少的基因突变,是重编程为iPSCs的理想供体细胞^[40-43]。已经建立的脐血库含有丰富的脐带血资源,可用于建立正常人iPSCs库^[44]。

2 血液系统疾病来源细胞为供体细胞诱导iPSCs技术进展

血液系统疾病发病机制的研究对寻找特定的靶向药物以及个体化治疗方案的选择至关重要。然而存在原发疾病的标本来源少、细胞数量和质量不符合要求、体外直接培养效果差以及很多疾病PDX(patient-derived xenograft)模型造模不成功或者造模成功的成本太高等缺陷,为体外研究疾病的发病机制增添了很多困难。iPSCs不仅可以来源于正常组织细胞,也可以来源于疾病细胞^[45]。利用iPSCs技术获得疾病特异性的诱导多能干细胞,可研究特定的基因突变在血液系统疾病发生、发展中所起的作用,能够解决稀有疾病样本细胞来源问题。iPSCs可以体外分化为成熟血液细胞,为研究疾病的致病机制、药物筛选提供了平台,并为白血病和再生障碍性贫血的治疗提供干细胞来源。目前,研究阐明的疾病来源iPSCs特点叙述如下。

2.1 iPSCs携带特定突变基因

2010年, Carette等^[46]首次尝试将人恶性细胞——慢性粒细胞白血病细胞株诱导为iPSCs,这些重编程细胞携带*BCR-ABL*融合基因(philadelphia translocation gene),且持续表达BCR-ABL蛋白质。但是在iPSCs水平,重编程细胞失去了对*BCR-ABL*癌基因信号的依赖性。因此,对*BCR-ABL*的抑制剂伊马替尼产生了耐药作用,提示伊马替尼作用的靶细胞是处于特定表观遗传学分化状态的一群细胞。在此基础上, Kumano实验室^[47]成功构建了慢性髓细胞白血病(chronic myelocytic leukemia, CML)患者样本来源的iPSCs,同样持续表达*BCR-ABL*。通过对CML-iPSCs的研究发现,其对伊马替尼产生耐药作用可能是保持iPSCs细胞状态的信号将伊马替尼抑制*BCR-ABL*的信号抵消。CML重编程为iPSCs会逆转白血病特异性的甲基化标记,尽管存在*BCR-ABL*癌基因,但是这些iPSCs在体外能诱导分化为正常血液细胞^[48]。与此相反, Chao等^[49]发现,急性髓细胞白血病(acute myelocytic leukemia, AML)重编程的iPSCs保留了谱系白血病基因(mixed lineage leukemia gene, *MLL*)重排,但是会导致癌症特异性甲基化标记(基因表达模式)发生改变。当这些iPSCs诱导分化为血液细胞时,它们能在体内重新建立白血病DNA甲基化/基因表达模式,从而获得了白血病特性,具有生成白血病的能力。这意味着表观遗传重

编程不足以消除白血病行为, 不能够超越这种肿瘤类型的遗传突变。

大量研究认为, 有特定基因突变的血液系统肿瘤细胞诱导生成的iPSCs也携带同样的突变基因。例如, 骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasms, MPNs)主要的基因突变是*JAK2^{V617F}*, MPNs患者血液中CD34⁺细胞在体外可诱导产生含有*JAK2^{V617F}*突变的iPSCs^[50]。7q染色体缺失的骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)患者造血细胞可重编程为del(7q)iPSCs, 这些诱导多能干细胞能够重现MDS疾病的相关表型^[51]。人AML疾病细胞能够重编程为iPSCs, 重编程重置了表观遗传状态, 但保留了异常的细胞遗传和突变^[49]。携带特定突变基因的疾病来源的iPSCs用于研究血液疾病的发生机制和筛选血液系统疾病细胞亚克隆具有巨大的价值。

2.2 突变基因在iPSCs水平不表达而在分化后表达

在iPSCs小鼠(强力霉素控制“Yamanaka因子”的表达)造血细胞中过表达人*MLL-AF9*融合基因构建AML模型, Cheng等^[52]发现, 白血病细胞重编程为iPSCs后形成的大部分嵌合体小鼠会自发产生同种类型的AML, 相同白血病起源细胞中的iPSCs重编程和白血病再起始通路下调。RNA-seq的结果显示, 这些白血病细胞与iPSCs的相互转化在于*MLL-AF9*的激活, 它们大部分基因的表达模式可逆, 提示存在一种充分的表观遗传学调控(致癌分子与重编程因子之间的相互作用)在促进白血病的发生。进一步的研究发现, iPSCs中*MLL-AF9*基因的沉默可能是因为*KAP1*和*Dnmt3b*基因导致*MLL-AF9*基因逆转录病毒甲基化的结果。因此, 并不是所有的突变基因在iPSCs水平都会表达。此外, 功能丧失性的基因突变在iPSCs水平也不表达。如*RUNX1*(Runt-related transcription factor 1)基因突变是一种功能丧失性的体细胞突变, 与各种血液系统肿瘤有关。将携带有*RUNX1*突变的家族性血小板障碍(familial platelet disorder, FDP)/AML患者外周血单核细胞重编程为iPSCs, 体外诱导分化出现造血前体细胞生成障碍和巨核细胞分化障碍, 而在iPSCs中过表达*WT-RUNX1*可回复这些表型^[53]。

有些突变基因只在特定的分化细胞类型表达并产生功能, 在血液系统疾病中可研究致病基因在特定的表观遗传学分化状态驱动疾病发生、发展的机制用于疾病建模, 并且可尝试在不同分化状态下

进行敏感药物的筛选。

2.3 特定基因突变抑制重编程

然而, 也有研究表明, 特定的基因突变可以抑制重编程。Salci等^[54]近期的研究发现, 人AML来源的成纤维细胞诱导为iPSCs后定向分化成的造血前体细胞, 在体外具有正常的分化能力, 而且这些细胞基因组中没有AML相关的异常的突变基因。受到该研究的启发, Hoffmann等^[55]将含有t(8;21)易位的AML病人的骨髓细胞重编程为不含有异常易位基因的正常的iPSCs, 他们认为, 特定的基因突变可以抑制重编程。所以, 对这些含有特定基因畸变的血液系统疾病通过iPSCs技术构建疾病模型具有一定的难度。

由此可见, 不同的突变基因在血液系统疾病细胞诱导的iPSCs中携带或表达并非一致, 造成这些差异的分子机制还有待深入研究。使用iPSCs技术对恶性血液系统疾病发病机制的研究和探索, 为认识血液肿瘤细胞、iPSCs重编程分子机制以及异常基因突变与重编程因子之间的相互作用提供了一个新的视角, 也为部分恶性血液病的诊断、治疗提供新的方法和策略。

3 iPSCs技术在血液系统疾病中的研究展望

iPSCs技术在血液系统疾病中可用于体外研究发病机制、构建疾病细胞模型、药物筛选、干细胞治疗等。不同的实验目的、用于重编程的来源细胞以及重编程技术的选择、细胞的培养条件等, 都会影响到iPSCs的形成以及这些细胞的全能性、分化能力和在体内的成瘤性。

目前, 患者来源的iPSCs定向分化成造血干/祖细胞有望成为治疗血液系统疾病如急性淋巴细胞白血病、重型再障等造血干细胞的新来源。iPSCs诱导分化的白细胞、红细胞和血小板, 是一种潜在的血细胞来源。近年来, 一系列新的研究发现, 转分化可直接将人成纤维细胞、内皮细胞等重编程为造血前体细胞和成熟血液细胞, 而不用通过全能性细胞这一阶段, 这样简化获得目的细胞的实验步骤, 降低成瘤性。

虽然, iPSCs技术规避了使用胚胎干细胞治疗的伦理学和异体造血干细胞免疫排斥反应的问题, 但诱导为具有完全功能的成体干细胞或者分化细胞还有很长一段路要走。此外, 找到诱导分化形成的造

血干细胞植入体内的最佳时机, 怎样避免耗竭等种种问题, 归根结底就是要弄清干细胞诱导分化的分子机制。随着重编程技术的日益完善和成熟, 其在退行性疾病和损伤性疾病的治疗方面已经得到了一定的应用。相信随着相关研究的深入, iPSCs技术将会成功应用于临床治疗血液系统疾病。

参考文献 (References)

- 1 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.
- 2 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.
- 3 Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature* 2007; 448(7151): 313-7.
- 4 Zhou H, Wu S, Joo JY, Zhu S, Han DW, Lin T, *et al.* Generation of induced pluripotent stem cells using recombinant proteins. *Cell Stem Cell* 2009; 4(5): 381-4.
- 5 Warren L, Manos PD, Ahfeldt T, Loh YH, Li H, Lau F, *et al.* Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. *Cell Stem Cell* 2010; 7(5): 618-30.
- 6 Ban H, Nishishita N, Fusaki N, Tabata T, Saeki K, Shikamura M, *et al.* Efficient generation of transgene-free human induced pluripotent stem cells (iPSCs) by temperature-sensitive Sendai virus vectors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(34): 14234-9.
- 7 Hou P, Li Y, Zhang X, Liu C, Guan J, Li H, *et al.* Pluripotent stem cells induced from mouse somatic cells by small-molecule compounds. *Science* 2013; 341(6146): 651-4.
- 8 Wen W, Zhang JP, Xu J, Su RJ, Neises A, Ji GZ, *et al.* Enhanced Generation of Integration-free iPSCs from Human Adult Peripheral Blood Mononuclear Cells with an Optimal Combination of Episomal Vectors. *Stem Cell Rep* 2016; 6(6): 873-84.
- 9 Schlaeger TM, Daheron L, Brickler TR, Entwisle S, Chan K, Cianci A, *et al.* A comparison of non-integrating reprogramming methods. *Nat Biotechnol* 2015; 33(1): 58-63.
- 10 Dowey SN, Huang X, Chou BK, Ye Z, Cheng L. Generation of integration-free human induced pluripotent stem cells from postnatal blood mononuclear cells by plasmid vector expression. *Nat Protoc* 2012; 7(11): 2013-21.
- 11 Sun N, Panetta NJ, Gupta DM, Wilson KD, Lee A, Jia F, *et al.* Feeder-free derivation of induced pluripotent stem cells from adult human adipose stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(37): 15720-5.
- 12 Chou BK, Gu H, Gao Y, Dowey SN, Wang Y, Shi J, *et al.* A facile method to establish human induced pluripotent stem cells from adult blood cells under feeder-free and xeno-free culture conditions: A clinically compliant approach. *Stem Cells Transl Med* 2015; 4(4): 320-32.
- 13 Nakagawa M, Taniguchi Y, Senda S, Takizawa N, Ichisaka T, Asano K, *et al.* A novel efficient feeder-free culture system for the derivation of human induced pluripotent stem cells. *Sci Rep* 2014; 4: 3594.
- 14 Kishino Y, Seki T, Yuasa S, Fujita J, Fukuda K. Generation of induced pluripotent stem cells from human peripheral T cells using sendai virus in feeder-free conditions. *J Vis Exp* 2015; doi: 10.3791/53225.
- 15 Streckfuss-Bomeke K, Wolf F, Azizian A, Stauske M, Tiburey M, Wagner S, *et al.* Comparative study of human-induced pluripotent stem cells derived from bone marrow cells, hair keratinocytes, and skin fibroblasts. *Eur Heart J* 2013; 34(33): 2618-29.
- 16 Loh YH, Agarwal S, Park IH, Urbach A, Huo H, Heffner GC, *et al.* Generation of induced pluripotent stem cells from human blood. *Blood* 2009; 113(22): 5476-9.
- 17 Aasen T, Raya A, Barrero MJ, Garreta E, Consiglio A, Gonzalez F, *et al.* Efficient and rapid generation of induced pluripotent stem cells from human keratinocytes. *Nat Biotechnol* 2008; 26(11): 1276-84.
- 18 Merling RK, Sweeney CL, Choi U, De Ravin SS, Myers TG, Otaizo-Carrasquero F, *et al.* Transgene-free iPSCs generated from small volume peripheral blood nonmobilized CD34⁺ cells. *Blood* 2013; 121(14): e98-107.
- 19 Ramos-Mejia V, Montes R, Bueno C, Ayllon V, Real PJ, Rodriguez R, *et al.* Residual expression of the reprogramming factors prevents differentiation of iPSC generated from human fibroblasts and cord blood CD34⁺ progenitors. *PLoS one* 2012; 7(4): e35824.
- 20 Hanna J, Markoulaki S, Schorderet P, Carey BW, Beard C, Wernig M, *et al.* Direct reprogramming of terminally differentiated mature B lymphocytes to pluripotency. *Cell* 2008; 133(2): 250-64.
- 21 Okita K, Yamakawa T, Matsumura Y, Sato Y, Amano N, Watanabe A, *et al.* An efficient nonviral method to generate integration-free human-induced pluripotent stem cells from cord blood and peripheral blood cells. *Stem Cells* 2013; 31(3): 458-66.
- 22 Seki T, Yuasa S, Oda M, Egashira T, Yae K, Kusumoto D, *et al.* Generation of induced pluripotent stem cells from human terminally differentiated circulating T cells. *Cell Stem Cell* 2010; 7(1): 11-4.
- 23 Di Stefano B, Sardina JL, van Oevelen C, Collombet S, Kallin EM, Vicent GP, *et al.* C/EBPalpha poises B cells for rapid reprogramming into induced pluripotent stem cells. *Nature* 2014; 506(7487): 235-9.
- 24 Bueno C, Sardina JL, Di Stefano B, Romero-Moya D, Munoz-Lopez A, Ariza L, *et al.* Reprogramming human B cells into induced pluripotent stem cells and its enhancement by C/EBPalpha. *Leukemia* 2016; 30(3): 674-82.
- 25 Wesemann DR, Portuguese AJ, Magee JM, Gallagher MP, Zhou X, Panchakshari RA, *et al.* Reprogramming IgH isotype-switched B cells to functional-grade induced pluripotent stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(34): 13745-50.
- 26 Stadtfeld M, Apostolou E, Akutsu H, Fukuda A, Follett P, Natesan S, *et al.* Aberrant silencing of imprinted genes on chromosome 12qF1 in mouse induced pluripotent stem cells. *Nature* 2010; 465(7295): 175-81.
- 27 Choi SM, Liu H, Chaudhari P, Kim Y, Cheng L, Feng J, *et al.* Reprogramming of EBV-immortalized B-lymphocyte cell lines

- into induced pluripotent stem cells. *Blood* 2011; 118(7): 1801-5.
- 28 Seki T, Yuasa S, Fukuda K. Generation of induced pluripotent stem cells from a small amount of human peripheral blood using a combination of activated T cells and Sendai virus. *Nat Protoc* 2012; 7(4): 718-28.
- 29 Wakao H, Yoshikiyo K, Koshimizu U, Furukawa T, Enomoto K, Matsunaga T, *et al.* Expansion of functional human mucosal-associated invariant T cells via reprogramming to pluripotency and redifferentiation. *Cell Stem Cell* 2013; 12(5): 546-58.
- 30 Loh YH, Hartung O, Li H, Guo C, Sahalie JM, Manos PD, *et al.* Reprogramming of T cells from human peripheral blood. *Cell Stem Cell* 2010; 7(1): 15-9.
- 31 Vizcardo R, Masuda K, Yamada D, Ikawa T, Shimizu K, Fujii S, *et al.* Regeneration of human tumor antigen-specific T cells from iPSCs derived from mature CD8⁺ T cells. *Cell Stem Cell* 2013; 12(1): 31-6.
- 32 Nishimura T, Kaneko S, Kawana-Tachikawa A, Tajima Y, Goto H, Zhu D, *et al.* Generation of rejuvenated antigen-specific T cells by reprogramming to pluripotency and redifferentiation. *Cell Stem Cell* 2013; 12(1): 114-26.
- 33 Maeda T, Nagano S, Ichise H, Kataoka K, Yamada D, Ogawa S, *et al.* Regeneration of CD8 alpha T cells from T-cell-derived iPSC imparts potent tumor antigen-specific cytotoxicity. *Cancer Res* 2016; 76(23): 6839-50.
- 34 Kitayama S, Zhang R, Liu TY, Ueda N, Iriguchi S, Yasui Y, *et al.* Cellular adjuvant properties, direct cytotoxicity of re-differentiated valpha24 invariant NKT-like cells from human induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Rep* 2016; 6(2): 213-27.
- 35 Serwold T, Hochedlinger K, Inlay MA, Jaenisch R, Weissman IL. Early TCR expression and aberrant T cell development in mice with endogenous prearranged T cell receptor genes. *J Immunol* 2007; 179(2): 928-38.
- 36 Mack AA, Kroboth S, Rajesh D, Wang WB. Generation of induced pluripotent stem cells from CD34⁺ cells across blood drawn from multiple donors with non-integrating episomal vectors. *PLoS One* 2011; 6(11): e27956.
- 37 Tancos Z, Varga E, Kovacs E, Dinnyes A, Kobolak J. Establishment of induced pluripotent stem cell (iPSC) line from a 75-year old patient with late onset Alzheimer's disease (LOAD). *Stem Cell Res* 2016; 17(1): 81-3.
- 38 Tancos Z, Varga E, Kovacs E, Dinnyes A, Kobolak J. Establishment of induced pluripotent stem cell (iPSC) line from an 84-year old patient with late onset Alzheimer's disease (LOAD). *Stem Cell Res* 2016; 17(1): 75-7.
- 39 Zhou H, Martinez H, Sun B, Li A, Zimmer M, Katsanis N, *et al.* Rapid and efficient generation of transgene-free iPSC from a small volume of cryopreserved blood. *Stem Cell Rev* 2015; 11(4): 652-65.
- 40 Haase A, Olmer R, Schwanke K, Wunderlich S, Merkert S, Hess C, *et al.* Generation of induced pluripotent stem cells from human cord blood. *Cell Stem Cell* 2009; 5(4): 434-41.
- 41 Nishishita N, Takenaka C, Fusaki N, Kawamata S. Generation of human induced pluripotent stem cells from cord blood cells. *J Stem Cells* 2011; 6(3): 101-8.
- 42 Wang J, Gu Q, Hao J, Bai D, Liu L, Zhao X, *et al.* Generation of induced pluripotent stem cells with high efficiency from human umbilical cord blood mononuclear cells. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 2013; 11(5): 304-11.
- 43 Nam Y, Rim YA, Jung SM, Ju JH. Cord blood cell-derived iPSCs as a new candidate for chondrogenic differentiation and cartilage regeneration. *Stem Cell Res Ther* 2017; 8(1): 16.
- 44 Zhou H, Rao MS. Can cord blood banks transform into induced pluripotent stem cell banks? *Cytotherapy* 2015; 17(6): 756-64.
- 45 Telliam G, Feraud O, Griscelli F, Opolon P, Divers D, Bennaceur-Griscelli A, *et al.* Generation of an induced pluripotent stem cell line from a patient with chronic myeloid leukemia (CML) resistant to targeted therapies. *Stem Cell Res* 2016; 17(2): 235-37.
- 46 Carette JE, Pruszk 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.
- 47 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.
- 48 Amabile G, Di Ruscio A, Muller F, Welner RS, Yang H, Ebraldize AK, *et al.* Dissecting the role of aberrant DNA methylation in human leukaemia. *Nat Commun* 2015; 6: 7091.
- 49 Chao MP, Gentles AJ, Chatterjee S, Lan F, Reinisch A, Corces MR, *et al.* Human AML-iPSCs reacquire leukemic properties after differentiation and model clonal variation of disease. *Cell Stem Cell* 2017; 20(3): 329-44, e7.
- 50 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.
- 51 Kotini AG, Chang CJ, Boussaad I, Delrow JJ, Dolezal EK, Nagulapally AB, *et al.* Functional analysis of a chromosomal deletion associated with myelodysplastic syndromes using isogenic human induced pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol* 2015; 33(6): 646-55.
- 52 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.
- 53 Sakurai M, Kunimoto H, Watanabe N, Fukuchi Y, Yuasa S, Yamazaki S, *et al.* Impaired hematopoietic differentiation of RUNX1-mutated induced pluripotent stem cells derived from FPD/AML patients. *Leukemia* 2014; 28(12): 2344-54.
- 54 Salci KR, Lee JH, Laronde S, Dingwall S, Kushwah R, Fiebig-Comyn A, *et al.* Cellular reprogramming allows generation of autologous hematopoietic progenitors from AML patients that are devoid of patient-specific genomic aberrations. *Stem Cells* 2015; 33(6): 1839-49.
- 55 Hoffmann D, Göhring G, Heuser M, Ganser A, Schambach A, Morgan MA. Letter to the editor: Production of mature healthy hematopoietic cells from induced pluripotent stem cells derived from an AML diagnostic sample containing the t(8;21) translocation. *Stem Cells* 2016; 34(3): 797-9.