



癌细胞重编程: 研究方法、应用及意义

沈俊, 程涛*

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

* 联系人, E-mail: chengtao@ihcams.ac.cn

收稿日期: 2017-06-05; 接受日期: 2017-09-01; 网络发表日期: 2017-11-17

国家重点研发计划(批准号: 2016ZY05002341)和国家自然科学基金创新研究群体(批准号: 81421002)资助

摘要 癌, 作为一种恶性重大疾病, 由于其越来越高的发病率及致死性, 已经引起了全社会高度的关注及重视. 科研人员对癌相关疾病的研究也越来越广泛和深入. 然而, 由于癌症发生发展的复杂性, 要想彻底了解癌的发生机制及研究出有效的治疗方法, 还具有很大挑战性. 近些年, 随着细胞重编程技术的发展, 不仅正常的细胞可以被重编程为多潜能状态, 甚至癌细胞也能发生命运的逆转. 越来越多的研究表明, 致癌转变与重编程有着许多相似之处. 因此对癌细胞进行重编程将成为探究癌症发生发展机制及治疗的一种独特的方法和思路. 本文将从重编程的角度, 综述有关癌细胞重编程研究的方法、应用及意义.

关键词 癌, 重编程, 核移植, 诱导多能干细胞(iPSC)

作为恶性肿瘤, 癌具有六大生物学特征: 逃避凋亡、对生长信号抑制不敏感、自身持续产生生长信号、无限增殖、血管发育、组织侵袭和转移^[1]. 这些特征决定了癌症发病率和死亡率的持续攀升. 目前癌症已经成为中国最主要的死亡原因. 据2015年中国癌症统计分析, 预计2015年我国癌症新发病例数及死亡人数将分别达到429.2万例和281.4万例, 相当于平均每天12000人新患癌症、7500人死于癌症^[2]. 可见, 对于癌症的预防、治疗已是刻不容缓. 然而, 由于癌症发生发展的复杂性, 在癌症的机制探究及药物治疗方面, 仍然面临着巨大的挑战.

细胞重编程技术能使已经分化的体细胞重新逆转并恢复到全能性状态. 而重编程与致癌转变有着许多相似之处^[3-5]. 因此对癌细胞进行重编程, 一方面可以帮助建立起一类独特的癌症研究模型, 另一方面有

利于对癌症发生发展新机制的探索, 从而加快抗癌药物的研发. 本文将从重编程的角度, 着重介绍癌细胞重编程的研究方法及其在癌症研究中的应用及意义.

1 细胞核移植介导的重编程

通过核转移技术可以将不同细胞的细胞核转移至去核的卵母细胞, 从而可以重新设定这些核的发育状态, 使之类似于受精卵, 具有发育成新个体的能力^[6-9]. 核转移不仅可以使已分化的正常体细胞逆转为具有多向分化潜能的干细胞, 而且能将恶性癌细胞进行重编程(表1).

早在1965年, King和DiBerardino^[10]将单个豹斑蛙肾癌细胞核移植入去核的蛙卵中, 随后发现该卵细胞能发育成正常蝌蚪不癌变; 1969年, McKinnell等

引用格式: 沈俊, 程涛. 癌细胞重编程: 研究方法、应用及意义. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 1204-1211

Shen J, Cheng T. Cancer cell reprogramming: methodologies, applications and implications (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2017, 47: 1204-1211, doi: [10.1360/N052016-00330](https://doi.org/10.1360/N052016-00330)

表1 核移植介导的癌细胞重编程研究^{a)}

年份	种属	癌细胞类型	畸胎瘤形成	嵌合体形成	参考文献
1965	Frog	Renal adenocarcinoma	–	Tadpoles	[10]
1969	Frog	Triploid tumor cells	–	Triploid tadpoles	[11]
2003	Mouse	Medulloblastomas	–	Embryos (E7.5)	[12]
2004	Mouse	R545	Yes	Adult mouse	[13]
2004	Mouse	F9, P19, METT-1	Yes	Embryos (E14.5)	[14]

a) R545: 黑色素瘤细胞; F9, P19, METT-1: 胚胎癌细胞

人^[11]将从三倍体蛙品系中诱发出的三倍体染色体癌细胞核移植入正常蛙卵中, 同样培育出外观正常, 功能健全的三倍体蝌蚪; 与此类似, 2003年, Li等人^[12]在小鼠(*Mus musculus*)身上也得到了类似的结果. 使用体细胞核移植技术, 他们发现来自*Ptc1*^{+/−}小鼠的成神经管细胞瘤可以支持着床前发育并形成囊胚, 更为重要的是, 这些囊胚可以形成具有典型三胚层结构的着床后早期胚胎而且不产生癌变. 然而, 这些实验并不能明确地表明重编程后的细胞到底是来自于供体癌细胞还是来自于污染的非转化细胞. 另外, 重编程后癌表型的变化也有可能是由核转移过程出现新的突变引起. 为了解决这些可能存在的问题, Hochedlinger等人^[13]采用了修改后的两步克隆实验方法, 并利用高分辨率阵列比较基因组杂交(comparative genomic hybridization, CGH)技术, 用与供体小鼠具有相同基因型的小鼠尾成纤维细胞作为对照等方法, 不仅证明了克隆体确实来自癌细胞, 排除了核转移过程中出现新突变的可能, 而且能够对重编程后细胞核的发育和致癌性进行更详细的分析. 他们对多种癌细胞进行了核转移实验, 发现白血病、淋巴瘤、乳腺癌细胞核可以支持正常的着床前发育并形成囊胚但是不能产生胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESC)样细胞. 而*RAS*诱导的黑色素瘤细胞核不仅可以形成囊胚而且能培育出ESC样细胞. 该ESC样细胞体内不仅能分化成多种细胞, 包括黑色素细胞、淋巴细胞、成纤维细胞而且能形成嵌合体小鼠. 然而, 与供体黑色素瘤小鼠相比, 该嵌合体发育成的肿瘤具有更高的侵袭性, 更短的潜伏期及更广泛的肿瘤谱. 另外, 对该ESC样细胞的起源, Hochedlinger等人也提出了一种新的可能: 它们可能来自一群稀少的肿瘤干细胞. 当然这需要进一步更深入的研究. 2004年, 为了进一步评估在调控癌细胞致肿瘤性及发育潜能这一过程中, 表观调控及遗传改变对其影响程

度, Blelloch等人^[14]采用胚胎癌细胞系进行了核转移实验. 实验发现, 具有不同发育及致癌潜能的胚胎癌细胞系(F9, P19, METT-1)在核转移后均能完成早期的胚胎发育, 产生形态正常的囊胚, 并能高效地产生ESC样细胞. 然而, 在致癌性及嵌合体形成方面, 这些核转移起源的ESC样细胞与他们各自的供体胚胎癌细胞具有相同的潜能, 这与以往报道并非一致.

2 iPSC技术介导的重编程

整体上, 核移植介导的癌细胞核重编程的效率还是极其低的, 而且这些研究都局限在动物身上. 2006和2007年, Yamanaka团队^[15,16]通过将Oct4, Sox2, Klf4和c-Myc 4个转录因子(Yamanaka因子)先后导入小鼠和人的成体成纤维细胞成功将这些已分化的细胞重编程为ESC样的诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSC). iPSC技术的问世为研究者们提供了一个非常有效的方法将更广泛的不同类型的细胞进行重编程, 其中也包括癌细胞(表2). 该技术的诞生不仅为再生医学开辟了新途径^[34], 而且为研究癌症等疾病的表现遗传提供了独特而相对简单、高效的方法.

2008年, Lin等人^[17]利用miRNA-302首次高效(2%~5%)地将人的黑色素瘤和前列腺癌细胞系重编程为具有多潜能状态的ESC样细胞. 重编程后的细胞不仅表达ES细胞相关的标志, 而且体内能形成畸胎瘤. 2009年, Utikal等人^[18]利用小鼠的黑色素瘤细胞系发现经典的Yamanaka因子也能介导黑色素瘤细胞的重编程, 而且指出SOX2对于该重编程是非必需的. 2010年, Miyoshi等人^[19]利用iPSC技术在人胃肠道癌细胞中展开了相关重编程研究. 他们发现, 通过反转录病毒介导的Yamanaka因子导入, 可以在食管癌、胃癌、直肠癌、肝癌等胃肠道癌细胞系中诱导出多能状态相

表 2 iPSC介导的癌细胞重编程研究^{a)}

年份	种属	癌细胞类型	重编程方法	畸胎瘤形成	嵌合体形成	参考文献
2008	Human	Colo和PC3	Retroviral miR-302	Yes	—	[17]
2009	Mouse	R545	Lentiviral Oct4, Klf4和c-Myc	Yes	Adult mouse	[18]
2010	Human	Gastrointestinal cell lines	Retroviral或Lentiviral OSKM	—	—	[19]
2010	Human	KBM7	Retroviral OSKM	Yes	—	[20]
2011	Human	CML primary cells	Episomal OSKM, Nanog, Lin28	—	—	[21]
2011	Human	A549	Lentiviral OSNL andnondegradable HIF α	—	—	[22]
2012	Human	CML primary cells	Retroviral OSKM	Yes	—	[23]
2013	Human	MCF-7	Retroviral OSKM	—	—	[24]
2013	Human	JMML primary cells	Lentiviral OSKM	Yes	—	[25]
2013	Human	PDAC primary cells	Lentiviral OSKM	Yes	—	[26]
2013	Human	GBM neural stem (GNS) cell lines	PiggyBac Oct4和Klf4	Yes	—	[27]
2013	Human	Sarcoma cell lines	Lentiviral OSKM, Nanog, Lin28	Yes	—	[28]
2014	Mouse	Acute myeloid leukemia cells	Dox-induced OSKM	Yes	Adult mouse	[29]
2015	Human	Myelodysplasticsyndromes (MDS)	Lentiviral OSKM	Yes	—	[30]
2015	Human	CHLA-10	Episomal OSKM	Yes	—	[31]
2015	Human	LFS primary cells	Sendai viral OSKM	Yes	—	[32]
2016	Mouse	Acute lymphoblastic leukemia cells	Dox-induced OSKM	Yes	Adult mouse	[33]

a) Colo和R545: 黑色素瘤细胞; PC3: 前列腺癌细胞; KBM7: 慢性髓系白血病细胞; A549: 肺癌细胞; MCF-7: 乳腺癌细胞; CHLA-10: 艾文氏肉瘤细胞; JMML: juvenile myelomonocytic leukemia, 幼年型粒-单核细胞白血病; PDAC: pancreatic ductal adenocarcinoma, 胰腺导管腺癌; GBM: glioblastoma multiforme, 多形性胶质母细胞瘤; LFS: Li-Fraumeni syndrome, 李-佛美尼综合征; CML: chronic myelocytic leukemia, 慢性髓系白血病

关蛋白的表达, 包括Nanog, Ssea4, Tra-1-60和Tra-1-80. 诱导后的细胞能形成典型的三胚层结构, 而未经诱导的原癌细胞则不具备这种能力. 在体外分化实验中, 诱导后的细胞具有缓慢增殖的特点, 并且对分化诱导治疗敏感性增加. 在体内致癌实验中发现, 致癌性明显下降. 可见, 通过iPSC技术可以将癌细胞进行重编程, 重编程后的癌细胞获得了一定多能性, 而且恶性程度降低. 后来研究发现, Yamanaka因子介导的iPSC技术还可以将人的肺癌^[22]、乳腺癌^[24]、胰腺癌^[26]、骨肉瘤^[28]等实体瘤细胞进行重编程.

非实体瘤的重编程研究主要集中在恶性血液病方面. Carette等人^[20]率先对人的CML急变期细胞系KBM7进行了重编程. 研究发现, 尽管存在致癌基因突

变, 癌细胞仍然能恢复多功能状态, 重要的是原来严格依赖*BCR-ABL*致癌基因的CML在重编程之后虽然仍表达*BCR-ABL*融合蛋白, 但却丧失了对*BCR-ABL*的依赖性, 对伊马替尼处理不再敏感. 然而有趣的是, 将这些CML来源的iPSC(CML-iPSCs)诱导分化成造血细胞后其又恢复了对*BCR-ABL*的依赖性. CML急变期往往出现细胞分化阻滞, 但重编程后的细胞恢复了分化能力: 体内实验能形成畸胎瘤, 能检测到典型的三胚层结构; 体外实验能形成拟胚体, 能向神经系统进行分化. 后来, Kumano等人^[23]在对原代CML细胞重编程的研究中也得到了类似的结论, 并进一步对CML-iPSCs呈现出的伊马替尼抵抗性进行了分析: *BCR-ABL*造血细胞的正常生存依赖ERK1/2, AKT, JNK及STAT5的磷

酸化. 其中ERK1/2, AKT, JNK磷酸化对于iPSC及ESC的维持也很重要, 而STAT5磷酸化在正常iPSC不被激活. 研究发现, 经伊马替尼处理后, 在CML-iPSCs中, ERK1/2, AKT及JNK的磷酸化状态并未发生改变, 而在CML-iPSCs来源的造血细胞中均减少. STAT-5的磷酸化在两者中均明显下降. 这些结果表明, 在CML-iPSCs中维持iPSC生存的这些信号(ERK1/2, AKT, JNK)可能弥补了伊马替尼对*BCR-ABL*的抑制从而导致*BCR-ABL*依赖性丧失. 除了CML, JMML^[25], 骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)^[30]也先后被得到了重编程.

上述癌细胞重编程研究借助的都是逆转录病毒或慢病毒系统. 这两种系统介导的重编程会导致基因组插入, 从而影响基因表达及改变疾病表型, 不利于疾病模型的建立及临床应用. 因此非整合性重编程技术越来越受到重视. Hu等人^[21]和Moore等人^[31]采用Episomal质粒介导的非整合性重编程技术先后对CML及尤文氏肉瘤(Ewing's sarcoma, EWS)进行了重编程. Stricker等人^[27]利用非整合性的PiggyBac转座子成功对GBM进行了重编程. 仙台病毒也能介导非整合性重编程. 2015年, Lee等人^[32]用仙台病毒对LFS进行了重编程. 然而由于评价这些人类iPSC多能性的限制, 现在并不清楚能否像小鼠细胞一样通过嵌合体实验或四倍体补偿实验将重编程的癌细胞诱导回真正的多能状态, 原代恶性细胞可被重新编程的程度也没有得到严格的评价, 为此本实验室建立了一个急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)模型^[29]. 该模型在鼠的造血细胞中过度表达人类混合系白血病*AF9*(*MLL-AF9*)融合基因. 该造血细胞受多西环素(doxycycline, Dox)控制并携带Yamanaka因子. 实验发现, 添加Dox至培养基, 白血病细胞能被可控地转变成iPSC, 并且能形成畸胎瘤和嵌合体. 有趣的是, 大多数嵌合体小鼠在两个月内自发地发育成同种类型的AML. 而且发现, 不论是重编程细胞还是再生的白血病细胞都起源于同样的白血病起始细胞. 该实验第一次表明, 原代癌细胞可以被重编程成具有能形成嵌合体小鼠的全能性iPSC. 与髓系白血病相比, 淋系白血病往往更难被重编程. 值得一提的是, 近期本团队又成功对原代急性T淋巴细胞白血病(T-ALL)细胞进行了重编程, 重编程后的iPSC具有全能性, 不仅能形成畸胎瘤而且也能形成嵌合体^[33].

3 其他技术介导的重编程

1975年, Mintz和Illmensee^[35]开始利用胚胎注射法来研究癌细胞的重编程. 他们发现将胚胎癌细胞注射到同系动物的胚泡内, 能产生不长肿瘤的嵌合体小鼠. 而且该小鼠可形成具有正常繁殖功能的精子并形成后代. 1976年, 他们又紧接着进行了单个胚胎癌细胞胚泡注射实验, 进一步证明了胚胎癌细胞在重编程后确实获得了全能性^[36]. 另外, 还有研究发现, 细胞融合法也能介导癌细胞的重编程. 1978年, Howell和Sager^[37]就发现癌细胞与正常细胞融合可以使癌细胞失去恶性表型.

4 癌细胞重编程的应用及意义

4.1 重现癌症演变进程

癌症模型的建立对于癌症的研究至关重要. 当前癌症模型绝大多数来自于患者身上切除的原代肿瘤及其来源的细胞系. 这些模型对于晚期癌症的研究有很好的应用价值, 但却无法捕获早期癌症的进展情况^[38]. 癌细胞重编程为早期癌症的研究提供了新的手段和线索, 可以再现癌症的进展过程. 被称为“癌症之王”的胰腺癌是所有恶性肿瘤中预后最差的癌症. 这种癌症恶性程度极高, 预后极差且诊断和治疗都很困难. 绝大多数的胰腺癌为PDAC. Kim等人^[26]在对PDAC重编程的研究中发现, PDAC来源的iPSC可以在免疫缺陷小鼠内发生胰腺上皮内瘤变(PanIN). PanIN是PDAC的前体阶段, 可以逐渐向侵袭性阶段演变. 对PanIN样细胞进一步培养发现, 他们能分泌很多与胰腺癌进展相关的蛋白. 进一步的通路分析发现, 这些蛋白均受转录因子HNF4 α 调控. HNF4 α 是一种新的转录因子, 在以往的PDAC研究中并没有被发现. 那么HNF4 α 在人的胰腺癌进展过程中是否真的存在呢? 人的PDAC组织阵列表明, HNF4 α 特异性存在于PDAC早、中期病变阶段, 在晚期的PDAC组织中并不存在. 可见, 癌细胞重编程模型的建立不仅能再现癌症进展过程, 而且能帮助找到新的癌症进展相关的调控因子, 从而有利于癌症的早发现早治疗.

4.2 探究癌症的表观调控

肿瘤的产生伴随着基因组基因遗传和表观修饰的

改变^[39-41]. 表观修饰在正常细胞发育中通过激活或沉默分化相关基因来调控基因表达. 与此类似, 在肿瘤产生过程中, 它可以通过激活致癌基因, 沉默肿瘤抑制基因来促进细胞增殖、抑制凋亡和诱导血管新生^[41]. 例如, *P16*和*VHL*等肿瘤抑制基因在癌症中常因启动子区甲基化而沉默^[42]. 用甲基化和组蛋白修饰药物可以抑制肿瘤细胞恶性增殖, 这一作用就与重新激活重要的肿瘤抑制基因有关^[40,42]. 也就是说通过表观遗传的逆转, 原先在肿瘤中沉默的肿瘤抑制基因又恢复了活性. 可见探究癌症的表观调控机制, 对于癌症的治疗有着重要意义. 癌细胞重编程是探究癌症表观调控的一种独特而重要的途径. 在本课题组已经建立的*MLL-AF9* AML模型中, 白血病细胞可以转变成iPSC, iPSC也可以转变成白血病细胞. RNA测序分析发现, 在这些可以相互转变的白血病和iPSC之间, 宏观上具有完全可逆的全基因表达谱. 可见, 遗传因素在这一实验系统中是已知且可控的, 依此可以进一步寻找驱使白血病发生和逆转的表观因素. 致癌基因*MLL-AF9*受*LTR*启动子驱动. 在ESC中, *LTR*启动子活性可以被KAP1或DNA甲基化而沉默. 如预期, 在AML来源的iPSC中, *MLL-AF9*-GFP并没有表达, 表明在AML来源的iPSC中*MLL-AF9*发生了沉默. 在对*MLL-AF9* 3'端*LTR*进行重亚硫酸盐基因组测序分析时发现, 与原代白血病细胞或再生白血病细胞相比, AML来源的iPSC *LTR*区发生了高度的甲基化^[29]. 这表明*MLL-AF9*的沉默是由*LTR*甲基化导致的. 虽然这一机制并不能反映人白血病发生的实际情况, 但据此可以深入探索能够驾驭遗传致癌因子的表观调控分子机制, 进而寻找新的白血病治疗靶点.

4.3 追踪肿瘤干细胞

癌症的复发与转移是当今临床面临的一项重大难题. 在肿瘤组织中存在一小部分具有干细胞属性的细胞群体, 它们具有自我更新能力, 被称为肿瘤干细胞^[43-45]. 这群细胞对放化疗并不敏感, 因此是肿瘤治疗失败和复发的根源. 正确追踪到肿瘤干细胞, 深入了解肿瘤干细胞的生物学特性, 研发出肿瘤干细胞靶向治疗药物, 对于癌症的治愈意义重大. 然而, 由于肿瘤干细胞的稀少, 要想正确找到并分离出这群细胞还是很困难的. 癌细胞重编程为追踪肿瘤干细胞提供了一种很好的方法. CML是一类由*BCR-ABL*融合基因引起

的造血干细胞异常克隆性恶性疾病. 伊马替尼可以在分子水平减少CML细胞数量, 对CML有着很好的治疗效果, 但一旦停用会引起白血病复发, 这提示CML中存在CML干细胞. 找到这群干细胞, 了解这群干细胞的属性, 对于根治CML有着重要意义. Carette等人^[20]指出, CML来源的iPSC(CML-iPSCs)失去了*BCR-ABL*依赖性, 对伊马替尼的处理不再敏感. 但将这些iPSC再分化为造血细胞时, 其又恢复了对伊马替尼处理的敏感性. 更为有趣的是, Kumano等人^[23]进一步指出, CML-iPSCs来源的造血细胞中只有较成熟的血细胞(CD34⁻CD45⁺)才能恢复对伊马替尼处理的敏感性, 而相对早期的不成熟的血细胞(CD34⁺38⁻90⁺45⁺)对伊马替尼处理仍然不敏感. CML干细胞与CD34⁺38⁻90⁺45⁺这群不成熟的血细胞非常相似: 都表达*BCR-ABL*融合基因, 但却丧失了对*BCR-ABL*的依赖性, 对伊马替尼处理不再敏感; 伊马替尼处理后STAT5磷酸化降低, 但却不影响AKT磷酸化. 可见, CML干细胞与CD34⁺38⁻90⁺45⁺这群不成熟的血细胞之间可能存在许多共同的作用机制. 利用CML-iPSCs来源的CD34⁺38⁻90⁺45⁺细胞或许能更好地追踪CML干细胞, 进而去寻找CML耐药复发的机制, 从而有望找到可以根治CML的方法.

4.4 加速抗癌药物的筛选和评价

iPSC的自我更新及多向分化潜能为药物的高通量筛选及毒性实验提供了一个良好的平台^[46]. 首先可以建立起患者特异性的iPSC癌症模型, 紧接着可以向感兴趣的细胞进行分化. 对于致癌基因阻碍iPSC进一步分化的模型, 可以寻找诱导分化的化合物, 如经典的全反式维甲酸对急性早幼粒白血病(acute promyelocytic leukemia, APL)的治疗^[46]. 而对于致癌基因引起的iPSC向某一类细胞过度分化增殖的模型, 可以筛选相关的小分子去抑制这种过度增殖. JMML是一种罕见的克隆性造血干细胞增生异常性疾病, 造血祖细胞对粒-单集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)高度敏感, 进而导致粒单系祖细胞大量自发生长. 这种疾病具有高致死性, 当前唯一有效的治愈方法是造血干细胞移植. 有研究指出将JMML来源的iPSC再分化为造血细胞时仍然具备JMML的特点: 粒单系统异常增生, 持续性激活GM-CSF. 利用这一模型, 研究者通过筛选发现MEK激酶抑制剂PD901能降低GM-CSF高敏感性, 减少粒系增生^[25]. 可见,

癌we症相关iPSC疾病模型的建立将会促进抗癌药物的研发.

5 总结与展望

癌细胞重编程研究不仅为进一步揭示癌症发生发展机制提供了一种独特的研究视角,更为癌症的治疗带来了新曙光. Kim等人^[26]通过对PDAC的重编程再现了PDAC的发生及进展过程; Carette等人^[20]对CML的重编程研究有望找到CML干细胞,从而根治CML; JMML的重编程研究将加速对这一罕见恶性疾病的药物开发^[25]. 然而癌细胞重编程目前还存在很多问题. 首先不是所有的癌细胞都可以被重编程. 在Hochedlinger等人^[13]的研究中,只有黑色素瘤核可以被重编程,而其他癌细胞核却不可以. 这可能与癌细胞的类型,细

胞所处的周期以及癌细胞中不同的基因改变有关. 其次,与正常细胞重编程相比,癌细胞重编程整体效率偏低,而且会发生不完全重编程. 找到癌细胞重编程过程中的“障碍”,对于进一步提高重编程效率以及完全重编程有重要意义. 例如,淋系白血病一向很难被重编程. 近期本课题组就发现凋亡, NF- κ B, DOT1L和LSD1信号通路正是T-ALL重编程过程中的“障碍”,小分子抑制这些信号通路后能提高T-ALL重编程的效率^[33]. 此外,目前还存在很多其他问题: 重编程方法不一、重编程细胞的起源不清以及重编程后的细胞同样具有致癌性等. 这些问题都需要进一步去探索和解决,但可以预见iPSC技术的普及和应用将大大加速癌细胞重编程的研究进程. 癌细胞重编程广泛而深入的研究也必将开启人类战胜癌症道路上的一个新篇章.

参考文献

- 1 Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011, 144: 646–674
- 2 Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66: 115–132
- 3 Kawamura T, Suzuki J, Wang Y V, et al. Linking the p53 tumour suppressor pathway to somatic cell reprogramming. *Nature*, 2009, 460: 1140–1144
- 4 Tapia N, Schöler H R. p53 connects tumorigenesis and reprogramming to pluripotency: Figure 1. *J Exp Med*, 2010, 207: 2045–2048
- 5 Daley G Q. Common themes of dedifferentiation in somatic cell reprogramming and cancer. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol*, 2008, 73: 171–174
- 6 Wilmot I, Schnieke A E, McWhir J, et al. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*, 1997, 385: 810–813
- 7 Wakayama T, Perry A C F, Zuccotti M, et al. Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. *Nature*, 1998, 394: 369–374
- 8 Wakayama T, Yanagimachi R. Mouse cloning with nucleus donor cells of different age and type. *Mol Reprod Dev*, 2001, 58: 376–383
- 9 李鑫, 王加强, 周琪. 体细胞重编程研究进展. *中国科学: 生命科学*, 2016, 46: 4–15
- 10 King T J, DiBerardino M A. Transplantation of nuclei from the frog renal adenocarcinoma. I. Development of tumor nuclear-transplant embryos. *Ann N Y Acad Sci*, 1965, 126: 115–126
- 11 McKinnell R G, Deggins B A, Labat D D. Transplantation of pluripotent nuclei from triploid frog tumors. *Science*, 1969, 165: 394–396
- 12 Li L, Connelly M C, Wetmore C, et al. Mouse embryos cloned from brain tumors. *Cancer Res*, 2003, 63: 2733–2736
- 13 Hochedlinger K, Blüthgen R, Brennan C, et al. Reprogramming of a melanoma genome by nuclear transplantation. *Genes Dev*, 2004, 18: 1875–1885
- 14 Blüthgen R H, Hochedlinger K, Yamada Y, et al. Nuclear cloning of embryonal carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 13985–13990
- 15 Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, 126: 663–676
- 16 Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 2007, 131: 861–872
- 17 Lin S L, Chang D C, Chang-Lin S, et al. Mir-302 reprograms human skin cancer cells into a pluripotent ES-cell-like state. *RNA*, 2008, 14: 2115–2124
- 18 Utikal J, Maherali N, Kulalert W, et al. Sox2 is dispensable for the reprogramming of melanocytes and melanoma cells into induced pluripotent stem cells. *J Cell Sci*, 2009, 122: 3502–3510
- 19 Miyoshi N, Ishii H, Nagai K, et al. Defined factors induce reprogramming of gastrointestinal cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107:

- 40–45
- 20 Carette J E, Pruszk J, Varadarajan M, et al. Generation of iPSCs from cultured human malignant cells. *Blood*, 2010, 115: 4039–4042
- 21 Hu K, Yu J, Suknutha K, et al. Efficient generation of transgene-free induced pluripotent stem cells from normal and neoplastic bone marrow and cord blood mononuclear cells. *Blood*, 2011, 117: e109–e119
- 22 Mathieu J, Zhang Z, Zhou W, et al. HIF induces human embryonic stem cell markers in cancer cells. *Cancer Res*, 2011, 71: 4640–4652
- 23 Kumano K, Arai S, Hosoi M, et al. Generation of induced pluripotent stem cells from primary chronic myelogenous leukemia patient samples. *Blood*, 2012, 119: 6234–6242
- 24 Corominas-Faja B, Cufi S, Oliveras-Ferraro C, et al. Nuclear reprogramming of luminal-like breast cancer cells generates Sox2-overexpressing cancer stem-like cellular states harboring transcriptional activation of the mTOR pathway. *Cell Cycle*, 2013, 12: 3109–3124
- 25 Gandre-Babbe S, Paluru P, Aribana C, et al. Patient-derived induced pluripotent stem cells recapitulate hematopoietic abnormalities of juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood*, 2013, 121: 4925–4929
- 26 Kim J, Hoffman J P, Alpaugh R K, et al. An iPSC line from human pancreatic ductal adenocarcinoma undergoes early to invasive stages of pancreatic cancer progression. *Cell Rep*, 2013, 3: 2088–2099
- 27 Stricker S H, Feber A, Engström P G, et al. Widespread resetting of DNA methylation in glioblastoma-initiating cells suppresses malignant cellular behavior in a lineage-dependent manner. *Genes Dev*, 2013, 27: 654–669
- 28 Zhang X, Cruz F D, Terry M, et al. Terminal differentiation and loss of tumorigenicity of human cancers via pluripotency-based reprogramming. *Oncogene*, 2013, 32: 2249–2260, 2260.e1–21
- 29 Liu Y, Cheng H, Gao S, et al. Reprogramming of MLL-AF9 leukemia cells into pluripotent stem cells. *Leukemia*, 2014, 28: 1071–1080
- 30 Kotini A G, Chang C J, Boussaad I, et al. Functional analysis of a chromosomal deletion associated with myelodysplastic syndromes using isogenic human induced pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol*, 2015, 33: 646–655
- 31 Moore J B 4th, Loeb D M, Hong K U, et al. Epigenetic reprogramming and re-differentiation of a Ewing sarcoma cell line. *Front Cell Dev Biol*, 2015, 3: 15
- 32 Lee D F, Su J, Kim H S, et al. Modeling familial cancer with induced pluripotent stem cells. *Cell*, 2015, 161: 240–254
- 33 Zhang H, Cheng H, Wang Y, et al. Reprogramming of Notch1-induced acute lymphoblastic leukemia cells into pluripotent stem cells in mice. *Blood Cancer J*, 2016, 6: e444
- 34 王加强, 周琪. 干细胞与再生医学. *中国科学: 生命科学*, 2016, 46: 791–798
- 35 Mintz B, Illmensee K. Normal genetically mosaic mice produced from malignant teratocarcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1975, 72: 3585–3589
- 36 Illmensee K, Mintz B. Totipotency and normal differentiation of single teratocarcinoma cells cloned by injection into blastocysts. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1976, 73: 549–553
- 37 Howell A N, Sager R. Tumorigenicity and its suppression in cybrids of mouse and Chinese hamster cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1978, 75: 2358–2362
- 38 Kim J J. Applications of iPSCs in cancer research. *Biomark Insights*, 2015, 10: 125–131
- 39 Hahn W C, Weinberg R A. Rules for making human tumor cells. *N Engl J Med*, 2002, 347: 1593–1603
- 40 Egger G, Liang G, Aparicio A, et al. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature*, 2004, 429: 457–463
- 41 Felsner D W. Opinion: cancer revoked: oncogenes as therapeutic targets. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3: 375–379
- 42 Jones P A, Baylin S B. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet*, 2002, 3: 415–428
- 43 Reya T, Morrison S J, Clarke M F, et al. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*, 2001, 414: 105–111
- 44 Pardo R, Clarke M F, Morrison S J. Applying the principles of stem-cell biology to cancer. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3: 895–902
- 45 马丽君, 战军, 张宏权. 人乳腺癌PDX模型的研究进展. *中国科学: 生命科学*, 2016, 46: 695–704
- 46 Ramos-Mejia V, Fraga M F, Menendez P. iPSCs from cancer cells: challenges and opportunities. *Trends Mol Med*, 2012, 18: 245–247

Cancer cell reprogramming: methodologies, applications and implications

SHEN Jun & CHENG Tao

State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China

Cancer, as a major malignant disease, has aroused widespread concern and attention of the society because of its increasing incidence and mortality. Cancer research is becoming increasingly extensive and deep. However, due to complexity of the development of cancer, it still faces a great challenge in thoroughly understanding the mechanism of cancer development and exploring the effective treatment strategies. In recent years, with the development of cell reprogramming technology, not only normal cells can be reprogrammed into a pluripotent state, but also cancer cells can be reversed. More and more studies have indicated that there are many similarities between carcinogenesis and reprogramming. Reprogramming cancer cells will provide us a unique approach and idea for exploring the occurrence and development of cancer and its treatment. This article reviews the methodologies, applications and implications of cancer cell reprogramming.

cancer, reprogramming, nuclear transplantation, induced pluripotent stem cell (iPSC)

doi: [10.1360/N052016-00330](https://doi.org/10.1360/N052016-00330)