

文章编号 1006-8147(2017)02-0128-04

论 著

Alport 综合征患者尿肾状杆细胞诱导成多能干细胞系的建立

彭武建¹, 陈文标²

(1. 深圳市第三人民医院肾脏内科, 深圳 518112; 2. 深圳市光明新区人民医院肾脏内科, 深圳 518107)

摘要 目的: 将 Alport 综合征(AS)患者尿肾状杆细胞诱导成多能干细胞(iPSCs)。掌握建立 iPSCs 细胞系的技术与方法。方法: 利用慢病毒介导 4 种转录因子(*OCT4*, *Sox2*, *KLF4*, *c-myc*)诱导从尿液中分离出的尿肾状杆细胞, 建立诱导成干细胞样的克隆。挑选成功诱导的 iPSCs 克隆进行扩大培养, 并对克隆进行免疫荧光检测, 克隆形态观察, RT-PCR 分析 iPSCs 细胞相关基因, 体外三胚层分析及核型鉴定。结果: 成功地从尿肾状杆细胞诱导成 iPSCs, 所获得的 iPSCs 可以表达人胚胎干细胞多能性分子标记, 具有体外分化 3 个胚层的能力。在培养过程中能始终保持核型的稳定, 并且能自我增殖、更新、分化。结论: 从 Alport 综合征患者尿液中的尿肾状杆细胞成功诱导成 iPSCs, 为今后研究 AS 提供了良好的细胞模型。

关键词 Alport 综合征; 诱导多能干细胞; 尿肾状杆细胞

中图分类号 Q343

文献标志码 A

Establishment of a pluripotent stem cells line induced by renal tubular cells in patients with Alport syndrome

PENG Wu-jian¹, CHEN Wen-biao²

(1. Department of Nephrology, The Third People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen 518112, China; 2. Department of Nephrology, Shenzhen Guangming New District People's Hospital, Shenzhen 518107, China)

Abstract Objective: To generate induced pluripotent stem cells (iPSCs) from renal tubular cells of patient with Alport syndrome (AS), and to explore the technology and methods of establishment of iPSCs line. **Methods:** iPSCs were generated from renal tubular cells via ectopic of four transcription factors (*OCT4*, *Sox2*, *KLF4*, *c-myc*). The iPSCs were picked up from colonies to further enlarge cultivation after the successful establishment of iPSCs. Typical colonies were identified by immunofluorescence, colony morphology, RT-PCR analysis, differentiation of three germ layer and karyotype analysis. **Results:** iPSCs were successfully generated from renal tubular cells. The iPSCs showed characteristics similar to those of human embryonic stem cell (HESC), such as the molecule markers of HESC, differentiation into cells types of the three germ layer, the stability of karyotype and the ability of self-renewal, proliferation and differentiation. **Conclusion:** iPSCs could be generated from renal tubular cells of patient of AS, which could be used as the cellular model for further research of AS.

Key words Alport syndrome; induced pluripotent stem cells; renal tubular cells

诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)具有不断自我更新与多向分化的潜能, 这些细胞的重编程领域的突破性进展, 为细胞重编程机制, 人类疾病发病机制的研究及发展新的治疗方法提供了强大的工具^[1]。从 2006 年起, 日本、美国的科学家先后发表对小鼠与人的 iPSCs 研究的论文, iPSCs 的研究如雨后春笋在各地的实验室引起一阵热潮, 并且推动了 iPSCs 领域的突破实质性进展^[2]。只要技术成熟, iPSCs 可以从很多的成熟组织中诱导获得, 已知道的包括人皮肤纤维细胞、肾上皮细胞、羊水细胞等。2011 年, 由中科院广州生物医药与

健康研究院的团队成功的从正常人尿液中的尿肾状杆细胞诱导成 iPSCs^[3]。这一开拓性的研究既解决了 iPSCs 来源的伦理道德问题, 又能减轻患者的痛苦。Alport syndrome (AS) 又叫遗传性肾炎, 其遗传方式有 3 种, X 连锁显性、常染色体隐性、常染色体显性, 其临床表现主要为血尿、肾功能进行性减退、感觉性神经耳聋与眼部异常^[4]。本病的发生与其肾小球基底膜重要成份之一的 IV 型胶原 $\alpha 3-6$ 链编码的基因突变有关, 确诊需要依靠肾脏病理诊断^[5]。AS 没有有效的治疗方法, 大部分 AS 患者在 20 岁左右就进入肾脏衰竭阶段, 需要行肾脏移植等替代治疗^[6]。鉴于 AS 是遗传性疾病, 要想进一步深入研究 AS 的发病机制就需要从 AS 最初的胚胎发育、成熟、分化着眼。本着对 AS 的进一步研究, 我们成功地从 AS 患

基金项目 广东省深圳市科技计划基金资助项目(JXY20140416122812045)

作者简介 彭武建(1976-), 男, 主治医师, 博士, 研究方向: 肾脏病学基础及临床研究; 通信作者: 陈文标, E-mail: chanwenbiao@sina.com。

者的尿肾状杆细胞诱导 iPSCs, 从而建立了 AS 的 iPSCs 系, 为 AS 的体外研究建立理想的细胞模型。

1 材料与方法

1.1 尿肾状杆细胞的培养 在前期的工作中, 暨南大学第二临床学院发现了一个 AS 家族, 呈现 X 连锁显性遗传。先证者是 26 岁的女性, 患者主要表现为肉眼血尿与蛋白尿。经过肾脏病理检查发现肾小球基底膜呈典型的改变, 出现不规则弥漫增厚、变薄与撕裂。再经过先证者家族史分析, 患者母亲已处于尿毒症阶段, 且伴有神经性耳聋与视网膜病变。患者祖母死于尿毒症, 可以明确诊断先证者患有 AS 疾病。用无菌烧杯收集先证者早晨 200 mL 中段尿, 再向烧杯加入 5 mL 青霉素与链霉素混合液, 把装有尿液的烧杯置于 4 °C 冰箱保存用于下一步的试验。接着把尿液平均分配到 4 个离心管, 400×g 离心 10 min, 弃去上层液, 最后剩下 1 mL 混有沉淀物的混合液。混合液加入 2 mL Renal Epithelial Cell Growth Medium (REGM) 尿液培养, 并转移到铺有 0.1% 明胶 12 孔板的一个孔中, 培养板置于 37 °C, 5% CO₂ 浓度环境培养 3 d。锥虫蓝染色检测肾上皮细胞的存活率, 不着色者为存活细胞, 挑去蓝染细胞; 观察细胞贴壁及集落情况, 将培养液与未贴壁细胞一起吸去, 继续培养, 重复上述操作 1 次, 纯化细胞。当培养的液体变成黄色时, 必须更换培养基液体。最后弃去培养基上层液, 以缓冲液冲洗 3 遍, 培养基放在光学显微镜下观察。当发现细胞克隆聚合时, 表明尿肾状杆细胞培养成功。

1.2 iPSCs 的诱导建系 用携带 *OCT4*, *Sox2*, *KLF4*, *c-myc* 基因的慢病毒去感染尿肾状杆细胞, 同时加入浓度为 0.01% 凝聚胺溶液以提高感染的效率。感染 48 h 后, 用胰岛素消化被感染细胞并计数, 接种到 IMEF 培养皿中, 加入人胚胎干细胞 (human embryonic stem cell, HES) 培养液, 培养 5 d 后, 换为 HES 细胞条件培养基培养。一段时间后, 挑选形态较好的克隆用机械法单个克隆分成 3~5 个细胞团块, 种植至新的饲养层细胞上。每 4~6 d 可将细胞集落用机械法分割成 4~6 个细胞团块, 进行 iPSCs 传代培养。

1.3 iPSCs 碱性磷酸酶染色及免疫荧光染色 选取生长状况良好的 iPSCs, 步骤详见检测试剂盒操作说明书 (Milipore 公司)。

1.4 RT-PCR 分析 iPSCs 相关基因表达及核型分析 提取尿肾状杆细胞、iPSCs 与 HES 细胞总 RNA, RT-PCR 后电泳观察内源性 & 总体全能性基因表达情况。每个样品以 GAPDH 为参照物, RT-PCR 的扩增引物见表 1。选择 iPSCs 株系第 10 代

细胞进行染色体核型分析。用 0.25 μg/mL 秋水仙碱处理细胞 4 h, 用低渗液重悬浮细胞, 放置 37 °C 水浴箱中 20 min 加入 1 mL 固定液 (冰醋酸: 甲醛=1: 3), 37 °C 水浴 3 min; 200×g 离心 5 min, 弃去上清液, 加入 8 mL 固定液, 吹打均匀, 37 °C 水浴 30 min, 重复固定 1 次; 用 50 mL 固定液重悬浮细胞, 将 1~2 滴细胞悬浮液滴于湿冷载玻片, 过火后置于 65 °C 干燥箱过夜, 第 2 天用 37 °C 预热的胰岛蛋白酶消化 20 s, 10% 吉萨姆染色 5 min, 冲洗后风干, 在显微镜下对染色体进行观察。

表 1 RT-PCR 检测基因表达引物

Tab 1 RT-PCR primer used in the validation assays

表达引物	序列	长度
<i>OCT4-F1</i>	TGTTCTGCACTGCCCGAAA	109
<i>OCT4-R1</i>	TTCTGGCGCCGTTACAGAA	
<i>Sox2-F1</i>	GAACCATCTCTGTGGTCTTG	316
<i>Sox2-R1</i>	GATTCTCGGCAGACTGATTC	
<i>KLF4-F1</i>	CCGCTCCATTACCAAGAGCT	250
<i>KLF4-R1</i>	TGGTCAGTTCATCTGAGCGG	
<i>c-myc-F1</i>	ACACATCAGCACAACTACGC	159
<i>c-myc-R1</i>	CCTCTTGACATTCTCCTCGGT	
<i>Nanog-F1</i>	TTCTGCTGAGATGCCTCACA	322
<i>Nanog-R1</i>	CATTCTCTGTTTCTGGAACC	
<i>Lin28-F1</i>	TGGGGTGTGTTTATTGTATGG	96
<i>Lin28-R1</i>	GGGAAGGGAAGAGTCAGCTT	
<i>SALL4-F1</i>	GACTCACACTGGAGAGAAGC	170
<i>SALL4-R1</i>	TTCCGTCCTTACCTAACAGA	
<i>REX1-F1</i>	CACAGTCCATCCTTACAGAGTT	160
<i>REX1-R1</i>	CGTTCAGTGCCTTCTCTATG	
<i>GAPDH-F1</i>	GGGAACTGTGGCGTGAT	299
<i>GAPDH-R1</i>	GAGTGGGTGTCGCTGTTGA	

1.5 RT-PCR 检测各拟胚层的标志性基因 收集 15 d 拟胚层, 提取总 RNA, 然后用 RT-PCR 检测拟胚层的内胚层 AFP, Amylase; 中胚层 Cactin, Enolase; 外胚层 Sox1, NFH。基因表达以 GAPDH 为内参, RT-PCR 检测各拟胚层的扩增引物见表 2。

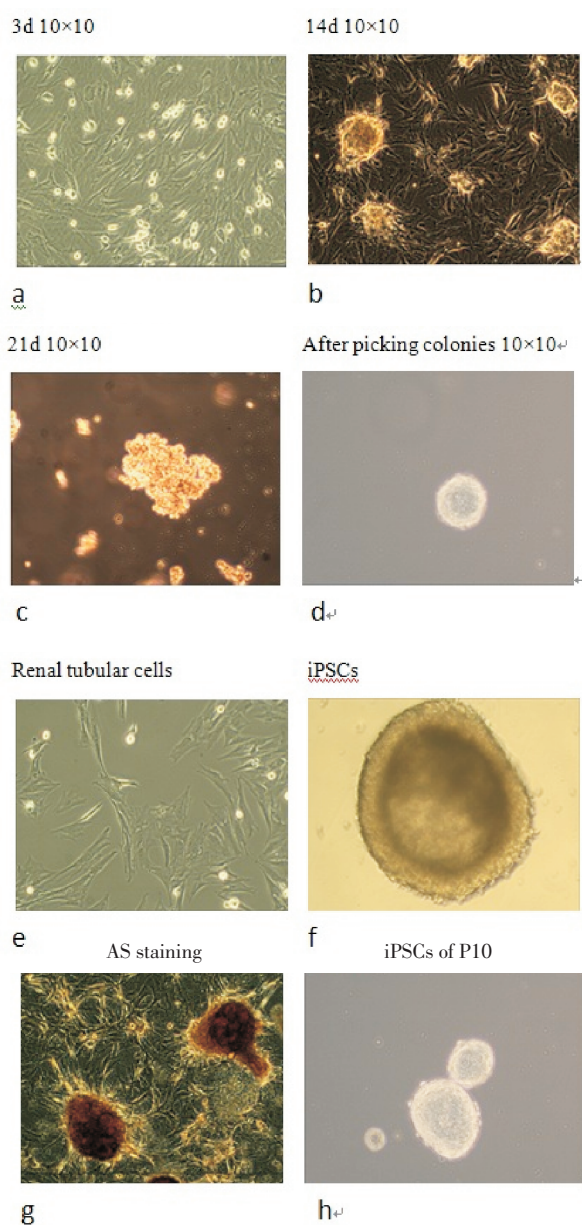
表 2 RT-PCR 检测基因各胚层基因表达引物

Tab 2 RT-PCR primer used in the validation assays of three embryonic germ layers

表达序列	序列	长度
<i>AFP-F1</i>	AGCGGCTGACATTATTATCG	150
<i>AFP-R1</i>	GCAGGAGGGACATATGTTTC	
<i>Amylase-F1</i>	GGACCCAGTTTCTTTCTTAGC	169
<i>Amylase-R1</i>	CCAATGGTGAAAAGCAACCA	
<i>NFH-F1</i>	AGTCAAAGAGCCCCCAAA	148
<i>NFH-R1</i>	TTCGACAGCAGGTCCTT	
<i>Enolase-F1</i>	CCCTTTGACCAGGATGACT	130
<i>Enolase-R1</i>	TGCAGGACTTCTCGTTTAC	
<i>Sox1-F1</i>	GGACTCTCTCTGAGGTTCTTTG	130
<i>Sox1-R1</i>	GGCCCACATCCTAATCTTGA	
<i>C actin-F1</i>	TGTGCTAGACAGGAAGCTCAGAT	152
<i>C actin-R1</i>	GATGAGTCCAGAGTACTCCAAA	
<i>GAPDH-F1</i>	GGGAACTGTGGCGTGAT	299
<i>GAPDH-R1</i>	GAGTGGGTGTCGCTGTTGA	

2 结果

2.1 iPSCs 的诱导建立 用携带 *OCT4*、*Sox2*、*KLF4*、*c-myc* 基因的慢病毒去感染尿肾状杆细胞, 大约 7 d 后, 可以观察到细胞的形态改变, 细胞的形态从长条形变成圆形(图 1 a-d)。细胞的体积每天都在长大, 大约第 14 天, 可以发现具有胚胎干细胞形态的克隆(图 1b)。第 21 天, 挑选形态较好的克隆细胞在 MEF 培养基继续培养, 可以观察到大而且具有明显界限的细胞克隆(图 1d)。该克隆经过碱性磷酸酶染色为阳性。iPSCs 在体外可以长期传代培养, 图 1h 显示了 iPSCs 传代至 12 代的图片——典型的胚胎干细胞克隆形态。

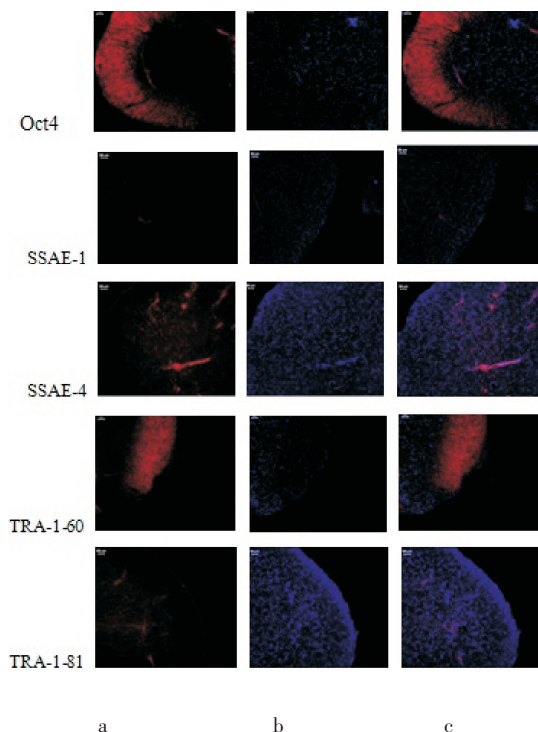


a-d.尿肾状杆细胞的培养过程;e.尿肾状杆细胞;f.iPSCs;g. iPSCs 的碱性磷酸酶染色;h.iPSCs 传代至 12 代。比例尺:1 μm

图 1 iPSCs 的诱导建立

Fig 1 The process of inducing iPSCs

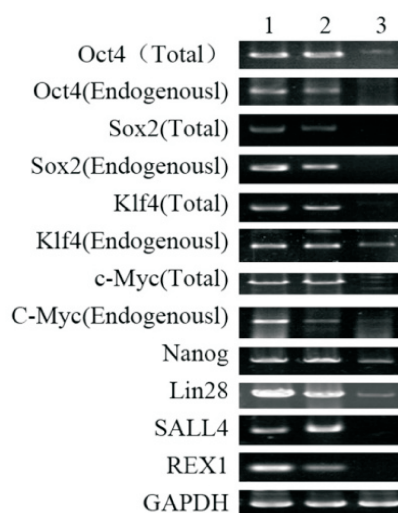
2.2 iPSCs 细胞及其鉴定 免疫荧光染色证明 iPSCs 可以表达胚胎干细胞的特有标志蛋白(*Oct4*, *SSAE-4*, *TRA-1-60*, *TRA-1-81*)。但是 iPSCs 不表达 *SSAE-1* 蛋白(图 2)。RT-PCR 验证 iPSCs 相关基因表达, 包括 *OCT4*、*Sox2*、*KLF4*、*c-myc*、*Nanog*、*Lin28*、*SALL4*、*REX1*, 从图 3 我们可以看出细胞多能性相关基因在 iPSCs 的表达远远高于尿肾状细胞, 并且相关基因的表达水平与胚胎干细胞相似, 但是多能性相关基因在尿肾状杆细胞基本不表达。



a.SSAE-4 免疫荧光检测; b.DAPI 染色; c.左边、中间两张重叠图

图 2 iPSCs 特有蛋白的免疫荧光检测

Fig 2 Immunohistochemical analysis on special protein of iPSCs



1.iPSCs; 2.胚胎干细胞; 3.尿肾状杆细胞

图 3 RT-PCR 检测 iPSCs 相关基因的表达

Fig 3 RT-PCR analysis of gene expression in iPSCs

2.3 iPSCs 多能性及其核型分析 运用 RT-PCR 检测 3 个胚层特有的基因标志物,结果显示内胚层高度表达 *AFP* 与 *Amyse*; 中胚层高度表达 *C actin* 与 *Enolase* 基因; 外胚层高度表达 *NFH* 与 *Sox1* 基因(图 4)。iPSCs 的核型分析表明 iPSCs 的核型与尿肾状干细胞基本相同,都是 46,XX(图 5)。

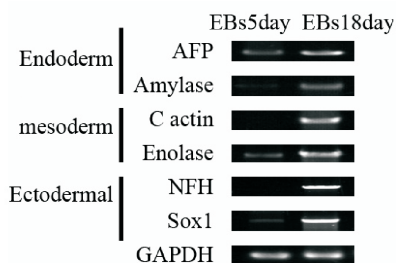
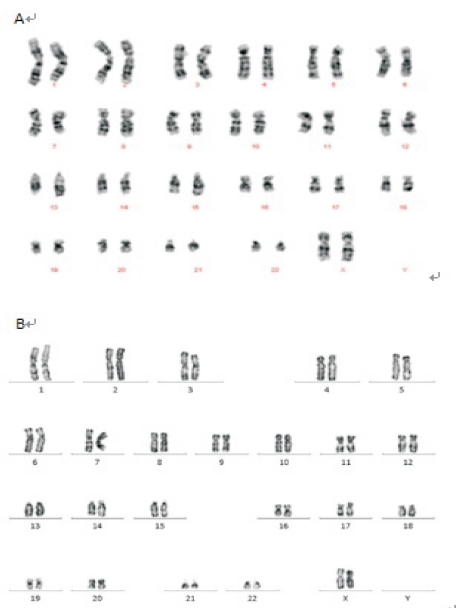


图 4 RT-PCR 检测内胚层,中胚层与外胚层特异性基因表达

Fig 4 RT-PCR detected the specific gene expression of endoderm, mesoderm, and ectoderm in EBs



A: 尿肾状干细胞的核型; B: 由尿肾状干细胞诱导成 iPSCs 的核型

图 5 iPSCs 的核型分析

Fig 5 Karyotype analysis of iPSCs

3 讨论

在本研究中,我们利用慢病毒介导转录因子(*OCT4*, *Sox2*, *KLF4*, *c-myc*)诱导从尿液分离尿肾状干细胞。iPSCs 形态学改变,特异性基因表达产物,3 个胚胎层的分化特性证明了其具有胚胎干细胞的特点。我们的研究也表明尿肾状干细胞具有诱导为 iPSCs 潜能,并且 iPSCs 可以保持长时间的传代培养与胚胎干细胞的生物学特点。这也说明了我们成功地从尿肾状干细胞诱导成 iPSCs。iPSCs 为我们提供了宝贵的研究模型,用于基因水平研究 AS 的发病机制。

自日本学者 Yamanaka 第一次从纤维细胞诱导成 iPSCs 后, iPSCs 成为全球研究的热点^[7]。这项研究不仅克服了技术、伦理与传统观念的屏障,并且为我们研究遗传性疾病提供了基因系统模型,特别是对于遗传性疾病,其发病机制可能来源于胚胎层的发育异常^[8-9]。科研工作者已经从皮肤、血液、神经纤维等体细胞诱导成 iPSCs, 并且都运用于研究各种遗传性疾病的发病机制^[10-11]。在本研究中,我们提供了一种简便的,无侵入性的,易接受的方法从 AS 患者尿液中尿肾状干细胞诱导成 iPSCs。我们相信这一成功的 iPSCs 诱导必将为研究 AS 的发病机制提供理想的生物学模型^[12]。有学者从肾脏系膜细胞诱导成 iPSCs^[13]。我们的研究团队在前期的研究工作中,也从系统性红斑狼疮的患者尿液中的尿肾状干细胞诱导成 iPSCs^[14]。总的来说,从尿液中提取的细胞是可以诱导成 iPSCs, 并且这种方法最易被患者接受。这些从尿液中细胞诱导成的 iPSCs 适用于肾脏疾病的研究,特别是肾脏遗传性疾病。

AS 患者无可避免地发展到肾衰竭的阶段,唯一的治疗是肾移植等替代治疗。但是肾源的贫乏与透析的治疗给患者带来了沉重的负担。运用 iPSCs 对患者进行细胞治疗给患者带来了很大的研究前景。因为 iPSCs 具有全部胚胎干细胞的特点,可以分化成各种人体组织与器官。iPSCs 还具有胚胎干细胞无法比拟的优势,其克服了伦理的屏障。在我们下一步研究中,我们利用 iPSCs 作为模型,用锌指酶技术修复 AS 基因的突变位点,修复的 iPSCs 与未修复的 iPSCs 同时分化成体细胞。我们会观察经过修复的 iPSCs 与未修复的 iPSCs 分化过程的差异。将修复的 iPSCs 与未修复的 iPSCs 进行微小核糖核苷酸(microRNA)、转录组(transcriptome)、非编码长链核糖核苷酸(long non-coding RNA)的分析,以便找到分化过程两者之间的差别。如果我们能够修复引起 AS 基因突变的基因,明确遗传分子在 iPSCs 分化成体细胞的作用位点,利用细胞治疗 AS 是有可能实现的,但是这仍需要长时间探索研究。

综上,本研究得出两项前期成果,第一,成功地从人的尿肾状干细胞诱导成 iPSCs; 第二,经过验证,成功诱导的 iPSCs 具有胚胎干细胞的潜能。前期的研究成果可能有助于深入探讨 Alport 综合征的发病机制及 iPSCs 运用于 Alport 综合征的治疗。

参考文献:

- [1] 彭静, 黄聪, 蒋思文. 诱导多潜能干细胞(iPSCs)的临床应用进展 [J]. 科学通报, 2014(9): 763

(下转第 147 页)

综上所述,CysC在肺癌化疗患者肾功能早期损害评估中较其它3个指标更为灵敏准确。定期监测肺癌患者化疗过程中血清CysC的水平变化,可以在早期对肺癌患者化疗后的肾脏损伤程度进行全面地评价,较准确地反映GFR的轻微变化,为临床预防化疗后肾损伤提供依据。那么,CysC与其它指标联合检测是否更具优势,这是我们下一步待解决的问题。

参考文献:

- [1] 陈万青,郑荣寿,张思维,等. 2012年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J].中国肿瘤,2016,24(1):1
- [2] Cha R, Lee C, Lim Y, et al. Clinical usefulness of serum cystatin C and the pertinent estimation of glomerular filtration rate based on cystatin C[J]. Nephrology (Carlton), 2010, 15(8): 768
- [3] Slort P, Ozden N, Pape L, et al. Comparing cystatin C and creatinine in the diagnosis of pediatric acute renal allograft dysfunction[J]. Pediatr Nephrol, 2012, 27(5): 843
- [4] Lagos-Arevalo P, Palijan A, Vertullo L, et al. Cystatin C in acute kidney injury diagnosis: early biomarker or alternative to serum creatinine?[J]. Pediatric Nephrol, 2015, 30(4): 665
- [5] 邱梅婷.血清胱抑素C、 β_2 -微球蛋白、视黄醇结合蛋白对恶性肿瘤患者化疗早期肾损害的意义[J].海南医学,2011,22(16):101
- [6] Chen M, Xu Y, Ma J, et al. Relation between the level of TPS, NSE, CEA and beta2-mG in the serum and the biological behavior of small cell lung cancer [J]. Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi, 2007, 23(8): 751
- [7] Simonsen O, Grubb A, Thysell H. The blood serum concentration of cystatin C (gamma-trace) as a measure of the glomerular filtration rate[J]. Scand J Clin Lab Invest, 1985, 45(2): 97
- [8] 秦立东,孔繁宏.血清胱抑素C监测肺癌化疗早期肾损害价值分析[J].中华肿瘤防治杂志,2013,20(16):1267
- [9] Stabuc B, Vrhovec L, Stabuc-Silih M, et al. Improved prediction of decreased creatinine clearance by serum cystatin C: use in cancer patients before and during chemotherapy[J]. Clin Chem, 2000, 46(2): 193
- [10] 喻靓,张煜,卢仁泉,等. CysC、 β_2 -MG、RBP、MAU在肿瘤患者化疗后早期肾损伤中的临床意义[J].中国肿瘤,2015,24(4):340
- [11] Dharmidharka V R, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis[J]. Am J Kidney Dis, 2002, 40(2): 221
- [12] Lamb E, Stowe H, Simpson D, et al. Diagnostic accuracy of cystatin C as a marker of kidney disease in patients with multiple myeloma: calculated glomerular filtration rate formulas are equally useful[J]. Clin Chem, 2004, 50(10): 1848
- [13] Du Y, Sun T, Hou L, et al. Applicability of various estimation formulas to assess renal function in Chinese children[J]. World J Pediatr, 2015, 11(4): 346
- [14] 周云丽,张鹏,张伟,等. 恶性肿瘤患者肾功能指标的临床应用评价[J].中国肿瘤临床,2012,39(4):212
- [15] 熊阳琼,杨雨文,黄丁能. 3761例血清胱抑素C检测对诊断肾损伤临床意义的探讨[J].实验与检验医学,2013,31(3):275

(2016-10-18收稿)

(上接第131页)

- [2] 褚海涛,李晓蕾,贾心善.诱导多能干细胞的研究现状及展望[J].中国组织工程研究,2013,23(23):4340
- [3] Zhou T, Benda C, Duzinger S, et al. Generation of induced pluripotent stem cells from urine[J]. J Am Soc Nephrol, 2011, 22(7): 1221
- [4] 董程,陈斯琦,张焱琴,等. X-连锁 Alport 综合征的听力表现与皮肤 $\alpha_5(\text{IV})$ 胶原表达的关系 [J]. 中华耳科学杂志,2014,11(2):275
- [5] 李玉峰,卫敏江,吴伟岚,等. 儿童肾活检 977 例病理及临床分析[J]. 上海交通大学学报(医学版),2014,34(3):333
- [6] 陈楠. 重视遗传性肾脏疾病的筛查与诊治 [J]. 中国实用内科杂志,2014,34(3):217
- [7] Takahashi K, Yamanaka S. A developmental framework for induced pluripotency[J]. Development, 2015, 142(19): 3274
- [8] Bahadur G, Morrison M, Machin L. Beyond the "embryo question": human embryonic stem cell ethics in the context of biomaterial donation in the UK[J]. Reprod Biomed Online, 2010, 21(7): 868
- [9] Gauthier M, Maury Y, Peschanski M, et al. Human pluripotent stem cells for genetic disease modeling and drug screening[J]. Regen Med, 2011, 6(5): 607
- [10] Telliam G, Féraud O, Griscelli F, et al. Generation of an induced pluripotent stem cell line from a patient with chronic myeloid leukemia (CML) resistant to targeted therapies[J]. Stem Cell Res, 2016, 17(2): 235
- [11] Wan W, Cao L, Kalonis B, et al. Applications of induced pluripotent stem cells in studying the neurodegenerative diseases[J]. Stem Cells Int, 2015, 2015: 382530
- [12] Inoue H, Nagata N, Kurokawa H, et al. iPS cells: a game changer for future medicine[J]. EMBO J, 2014, 33(5): 409
- [13] Song B, Niclis J, Alikhan M, et al. Generation of induced pluripotent stem cells from human kidney mesangial cells[J]. J Am Soc Nephrol, 2011, 22(7): 1213
- [14] Chen Y, Luo R, Xu Y, et al. Generation of systemic lupus erythematosus-specific induced pluripotent stem cells from urine [J]. Rheumatol Int, 2013, 33(8): 2127

(2016-07-25收稿)