

多能性幹細胞技術發展之回顧⁽¹⁾

廖御靜⁽²⁾⁽³⁾ 唐品琦⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾ 陳立人⁽²⁾⁽⁶⁾ 楊鎮榮⁽²⁾⁽⁷⁾

收件日期：106 年 10 月 23 日；接受日期：107 年 1 月 9 日

摘 要

近年來，已發展出多種建立多能性幹細胞之技術，如胚幹細胞技術 (embryonic stem cells, ESCs)、單一胚葉胚幹細胞 (single blastomere-derived embryonic stem cells)、體細胞核轉置胚幹細胞 (somatic cell nuclear transferred embryonic stem cells)、孤雌生殖胚幹細胞 (parthenogenetic embryonic stem cells) 及誘導性多能幹細胞 (induced pluripotent stem cell, iPSCs) 等。其中，誘導性多能幹細胞自 2006 年發表以來已歷 10 餘年，迄今已被廣泛應用於疾病模式、藥物篩選及細胞治療等多項生物醫學之研究，開創幹細胞科技與再生醫學領域的全新發展。iPSC 技術之發展乃建立在體細胞再程式化 (reprogramming)、轉錄因子 (transcription factors) 的發現與胚幹細胞培養技術上，這些研究成果成就了 iPSC 的誕生。然而，iPSC 技術並非完美無瑕，尚有許多問題仍待進一步研究，如 iPSC 產製方式的改進、產製效率的提升及產製品質的控制等。本篇報告將介紹多能性幹細胞技術的發展歷程、家畜幹細胞進展及未來展望，讓讀者更瞭解這項新興科技。

關鍵詞：誘導性多能幹細胞、胚幹細胞、畜產動物。

緒 言

生命科學史在 2006 年時有了一項重大的突破，日本京都大學的山中伸彌 (Shinya Yamanaka) 教授利用 *Oct3/4*、*Sox2*、*Klf4* 與 *c-Myc* 等 4 種基因進行轉染，即可將體細胞 (somatic cells) 的基因表現與分化潛能提升至相當於胚幹細胞 (embryonic stem cells, ESCs) 的層級，此細胞稱為誘導性多能幹細胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs) (Takahashi and Yamanaka, 2006)，自此這 4 個轉錄因子被命名為 Yamanaka factors。接著 6 年後，50 歲的山中伸彌教授因這項技術，與 79 歲的英國發育生物學家約翰格登爵士 (John Gurdon)，共同榮獲 2012 年諾貝爾生理與醫學獎殊榮。iPSC 技術發展至今已 10 餘年，在 2006 年發表的文獻，亦被引用逾 2 萬次，舉凡齧齒動物、實驗動物、畜產動物，甚至人類，欲建立該物種之 iPSC 皆引用此技術與文獻。而基礎醫學領域與臨床前研究，皆因此項技術能有更進一步的突破。本篇報告即對多能性幹細胞技術發展歷程做詳細的回顧。

I. 幹細胞分化潛能分類

幹細胞學所述的細胞分化 (differentiation) 與未分化 (undifferentiation) 之分別係以細胞是否特化為區分。分化細胞為特化出特定細胞之特徵，並可執行特定生理功能，如肌肉細胞、皮膚細胞與神經細胞等；而未分化細胞即尚未特化，需於特定環境條件下，方可分化成特定細胞，並具有執行特定生理功能的能力。幹細胞即屬於未分化階段的細胞，體內可無限制地進行細胞分裂，並分化為特定細胞 (Sreenivas *et al.*, 2011)。不同種類幹細胞其分化潛能亦不同，分化潛能由高至低可分類為分化全能性 (totipotency)、分化多能性 (pluripotency)、分化複能性 (multipotency)、分化寡能性 (oligopotency) 與分化單能性 (unipotency) (表 1)。根據 NIH (2001) 對分化全能性之定義為「非常早期的胚細胞具有分化成胚體及胎膜等所有各類組織與器官之能力」。因此，當受精卵開始進行卵裂後，在發育至 4 至 8 細胞期之前，每顆胚葉細胞 (blastomere) 均保有最強的分化潛能，此時每一個胚葉細胞即具備有分化全能性之潛能，此為目前已知分化潛能最強之細胞。而分化多能性是指「單一細胞具有發育分化成

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2584 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所生理組。

(3) 國立中興大學動物科學系。

(4) 國立中興大學農業生物科技發展中心。

(5) 國立中興大學鳥禽類演化與基因體研究中心。

(6) 國立成功大學生物科技研究所。

(7) 通訊作者，E-mail : jryang@mail.tlri.gov.tw。

內胚層、中胚層與外胚層等三種胚層之分化潛能」，而常見的 ESC 與本文介紹的 iPSC 即屬於分化多能性之細胞。分化複能性係指該幹細胞具有分化成多種特化細胞的分化潛能，例如間葉幹細胞 (mesenchymal stem cells) 與造血幹細胞 (hematopoietic stem cells) 即屬於分化複能性。具分化寡能性的幹細胞分化能力有限，僅能分化成少數幾種細胞，例如少數骨髓來源幹細胞即屬於分化寡能性。分化單能性之幹細胞只能朝單一方向分化，例如肌肉幹細胞即屬於分化單能性，分化潛力最低，僅能分化為肌肉細胞 (NIH, 2001; Bellomo, 2006; Maron-Gutierrez *et al.*, 2009; Sreenivas *et al.*, 2011)。

表 1. 幹細胞分化潛能分類

Table 1. Classification of stem cell differentiation potential

Classification	Differentiation potential	Examples
Totipotency	Embryo and placenta	Oocytes, zygotes
Pluripotency	Three germ layers	ESC, iPSC
Multipotency	Cell types of their original tissue sites	Mesenchymal stem cells, hematopoietic stem cells
Oligopotency	Few cells	Lymphoid stem cells, myeloid stem cells
Unipotency	One single cell type	Type II pneumocytes, muscle stem cells

(Maron-Gutierrez *et al.*, 2009; Sreenivas *et al.*, 2011)

若依取得來源不同，幹細胞可區分為 ESC 與成體幹細胞 (adult stem cells) 兩類，兩者之特性如表 2 所示。ESC 源自於囊胚 (blastocyst) 的內細胞團 (inner cell mass)，屬於分化多能性幹細胞，可分化超過 220 種細胞，但因為無法分化成為胎盤細胞。因此，不具備有分化全能性之潛能。然因 ESC 係源自於胚，因此使用上一直存在醫學倫理與道德爭議等問題。此外，ESC 移植後是否會出現免疫反應與排斥現象，亦是應用上的一大疑慮。相較於 ESC，成體幹細胞源自於體內各種組織，如腦、骨髓、血液、血管、骨骼肌細胞、牙齒、心臟、腸道、皮膚、肝臟、卵巢上皮與睪丸等來源之幹細胞平常處於休眠階段，若疾病發生或組織受損才會活化。然而，成體幹細胞數量稀少，且分離純化與繼代培養技術困難，又隨年齡增長以及環境、毒物或 DNA 複製錯誤影響，皆會提高成體幹細胞 DNA 發生異常的風險。反之，成體幹細胞之取得較 ESC 容易，僅需患者同意即可，且細胞移植上較不易有排斥現象。因此，醫學上亦有許多應用成體幹細胞進行治療與研究之例證 (Maron-Gutierrez *et al.*, 2009; Sreenivas *et al.*, 2011)。

表 2. 胚幹細胞與成體幹細胞之特性

Table 2. Characteristics of embryonic stem cells and adult stem cells

Items	Embryonic stem cells	Adult stem cells
Source	Embryo	Adult tissue
Potency	Pluripotency	Limited differentiation
Cell culture	Easy	Hard
Transplant rejection	Yet to know	Less likely
Usage	Ethical concern	Patient consent

(Maron-Gutierrez *et al.*, 2009)

II. 多能性幹細胞的建立技術

近年來，隨著幹細胞技術不斷進步，由最初自囊胚之內細胞團建立 ESC 之技術 (Evans and Kaufman, 1981; Thomson *et al.*, 1998)，已發展出可獲得與 ESC 相似之多能性幹細胞技術，如單一胚葉胚幹細胞 (single blastomere-derived embryonic stem cells) (Chung *et al.*, 2006)、體細胞核轉置胚幹細胞 (somatic cell nuclear transferred embryonic stem cells, SCNT ESCs) (Wakayama *et al.*, 2001)、孤雌生殖胚幹細胞 (parthenogenetic embryonic stem cells) (Revazova *et al.*, 2007) 與 iPSC (Takahashi and Yamanaka, 2006) 等分化多能性幹細胞 (圖 1)。以下針對各項技術做簡短之介紹：

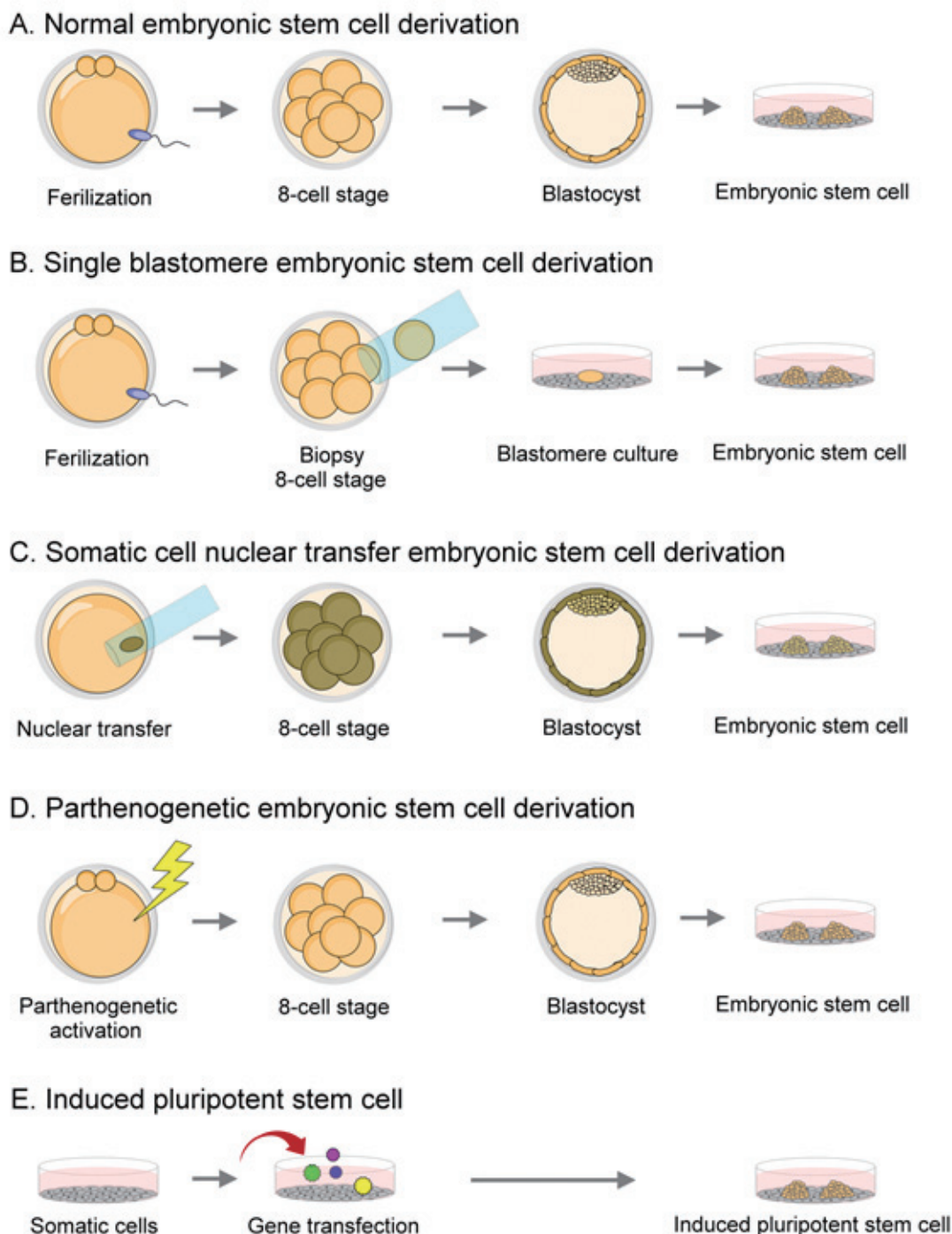


圖 1. 多能性幹細胞的建立方式 (石與郭, 2011; Kao *et al.*, 2008)。

Fig. 1. The methods to establish pluripotent stem cells (石與郭, 2011; Kao *et al.*, 2008).

(i) 內細胞團胚幹細胞技術

最初建立 ESC 之技術係先取得囊胚，將內細胞團與滋養層細胞 (trophectoderm) 分離後進行培養，以株化建立 ESC (圖 1A)。而獲得內細胞團建立 ESC 之方法有：(1) 免疫外科法 (immunosurgery method)：品質良好的囊胚先以蛋白酶素 (pronase) 溶解囊胚之透明帶 (zona pellucida)，再利用抗滋養層細胞之多價抗體免疫球蛋白 (polyvalent immunoglobulins) 與天竺鼠補體 (guinea pig complement)，去除囊胚外圍之滋養層細胞後，取得內細胞團進行培養而建立 ESC (陳等, 1991a, 1991b; Solter and Knowles, 1975; Chen *et al.*, 1999)。(2) 部分胚培養法 (partial-embryo culture method)：將普通等級之囊胚利用顯微操作技術切除大部分的滋養層細胞後，僅取其中品質較佳的內細胞團進行培養而建立 ESC (Kim *et al.*, 2005)。(3) 全胚培養法 (whole-embryo culture method)：僅具有少量內細胞團之囊胚，利用蛋白酶素溶解囊胚之透明帶後，將全胚進行培養而建立 ESC (Evans and Kaufman, 1981; Martin, 1981; Chen *et al.*, 1999)。

(ii) 單一胚葉胚幹細胞技術

著床前檢測基因缺陷時，常取出受精胚中的胚葉細胞做檢測。因受精卵發育至 4 – 8 細胞期時，每顆胚葉細胞仍保有分化全能性，僅取出單一胚葉細胞進行培養，可成功建立 ESC，此即為單一胚葉胚幹細胞技術 (Chung *et al.*, 2006) (圖 1B)。

(iii) 體細胞核轉置胚幹細胞技術

複製羊桃莉 (Dolly) 的誕生證實體細胞核轉置技術，可使細胞再程式化重回到分化全能性階段 (Wilmot *et al.*, 1997)。利用此技術可獲得完整囊胚以提供內細胞團，並進一步建立 ESC，此即為體細胞核轉置胚幹細胞技術 (Wakayama *et al.*, 2001) (圖 1C)。

(iv) 孤雌生殖胚幹細胞技術

孤雌生殖為一種無性生殖方式，即卵未經受精即發育成完整個體，為自然界許多生物的繁衍方式。小鼠、兔、豬、綿羊、牛與狨猴 (marmoset) 的卵母細胞亦可經人工孤雌激活 (parthenogenetic activation) 發育成囊胚，然而因未受精使銘印基因 (imprinting genes) 缺陷，胚著床後無法正常發育成個體 (Allen *et al.*, 1994; Brevini and Gandolfi, 2008; Hsieh *et al.*, 2010)。利用孤雌激活發育之囊胚，取得內細胞群培養後獲得 ESC，即為孤雌生殖胚幹細胞技術 (Revazova *et al.*, 2007) (圖 1D)。

(v) 誘導性多能幹細胞技術

山中伸彌教授利用 4 個特定基因 *Oct3/4*、*Sox2*、*Klf4* 與 *c-Myc* 轉染入已分化之體細胞中，獲得分化能力與 ESC 相似的多能性幹細胞。此類幹細胞經由基因轉染誘導而成，且與 ESC 同屬於分化多能性，故稱作誘導性多能幹細胞 (Takahashi and Yamanaka, 2006) (圖 1E)。前揭之四項技術仍需利用卵母細胞、早期胚或囊胚為材料，方可建立 ESC，並未完全克服道德爭議；然而，iPSC 不需經由囊胚即可獲得，可完全避免犧牲囊胚之爭議。

III. 多能性幹細胞之形態特性

多能性幹細胞於體外培養時易發生自發性分化 (spontaneous differentiation)，產生異於正常幹細胞形態之細胞族群而失去分化多能性，因此定期更新供養層細胞 (feeder cells) 與更換新鮮培養液，為維持幹細胞分化多能性之重要工作。多能性幹細胞之體外培養過程中，如何判斷其細胞特定形態與未分化狀態是否維持良好，亦相當重要。未分化之多能性幹細胞外觀形態上具有以下 4 種特徵：

1. 緊密的細胞群落：群落中每顆細胞的界限難以辨別 (圖 2A)。
2. 細胞群落邊界明顯：細胞群落與供養層細胞之界線明顯 (圖 2A)。
3. 較大的核質比：擁有較大細胞核與少量的細胞質 (圖 2B)。
4. 明顯的核仁 (nucleoli)：顯微鏡觀察下，可見到細胞核內有明顯的核仁。

若多能性幹細胞開始走向分化，上述特徵將逐漸失去，並朝向群落邊界模糊、細胞形狀異常或不正常堆疊等方向生長 (圖 2C、2D)。朝向分化之多能性幹細胞較常分佈於細胞群落週圍或中心區域，因此細胞群落中可能同時含有未分化與已分化之幹細胞 (圖 2E)。此外，不同物種的多能性幹細胞之細胞群落形態亦有些許差異，如靈長類 (人或猴) 或有蹄類 (豬) 的多能性幹細胞形態為扁平狀 (flat-shaped) (圖 2A)，而齧齒類 (大鼠或小鼠) 的多能性幹細胞形態為圓丘狀 (dome-shaped) (圖 2F) (Chen *et al.*, 1999; 錢, 2008)。

IV. 多能性幹細胞的發展歷程

多能性幹細胞大多源自於早期胚，然而 2006 年日本京都大學山中伸彌教授發現，已分化的成體細胞亦可經由轉染某些特定的轉錄因子，而回復至分化多能性階段，利用此技術僅需利用體細胞即可獲得誘導性多能幹細胞。如同其他科學研究，iPSC 的技術乃立基於前人的研究成果而得，而該項技術的基礎有以下 3 項：

(i) 體細胞核轉置的再程式化

約翰格登爵士於 1962 年，發現將成年非洲爪蟾的腸道上皮細胞的細胞核移置未受精的卵子內，可成功發育成蝌蚪 (Gurdon, 1962)。35 年後，英國胚胎學家伊恩威爾穆特 (Ian Wilmut) 首次以乳腺上皮細胞成功複製出桃莉羊 (Wilmut *et al.*, 1997)。這些研究成果證實，已分化的體細胞含有可供發育成完整個體的基因訊息，且卵子含有許多因子可將已分化之體細胞核再程式化。此外，研究亦發現未分化的 ESC 本身亦有許多因子，可再程式化體細胞，也因此亦可利用 ESC 來達到體細胞再程式化的效果 (Tada *et al.*, 2001)。

(ii) 轉錄因子的發現

轉錄因子為一種可與 DNA 結合，進而調控基因表現的蛋白質。有研究發現果蠅 (*Drosophila*) 的 Antenna-pedia 轉錄因子可使觸角發育成腳 (Schneuwly *et al.*, 1987)，而 MyoD 轉錄因子可使纖維母細胞 (fibroblasts) 轉變成肌細胞 (myocytes) (Davis *et al.*, 1987)。這些結果顯示，轉錄因子可以使細胞朝新的走向發展。而常見與幹細胞分化多能性有關之轉錄因子有 *Oct3/4*、*Sox2*、*Klf4*、*c-Myc*、*Nanog*、*Lin28* 與 *Glis1* 等。

(iii) 胚幹細胞研究進展

英國生物學家馬丁約翰埃文斯爵士 (Martin John Evans) 與美國蓋爾羅伯塔馬丁 (Gail Roberta Martin) 教授，同於 1981 年分別成功建立小鼠 ESC (Evans and Kaufman, 1981; Martin, 1981)，爾後發現維持多能性的關鍵因子為白血病抑制因子 (leukemia inhibitory factor, LIF) (Smith *et al.*, 1988)。於 17 年後，美國發育生物學家詹姆斯亞歷山大湯姆森 (James Alexander Thomson) 成功建立人類 ESC (Thomson *et al.*, 1998)，亦發現維持其多能性的關鍵因子為鹼性纖維母細胞生長因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF)。

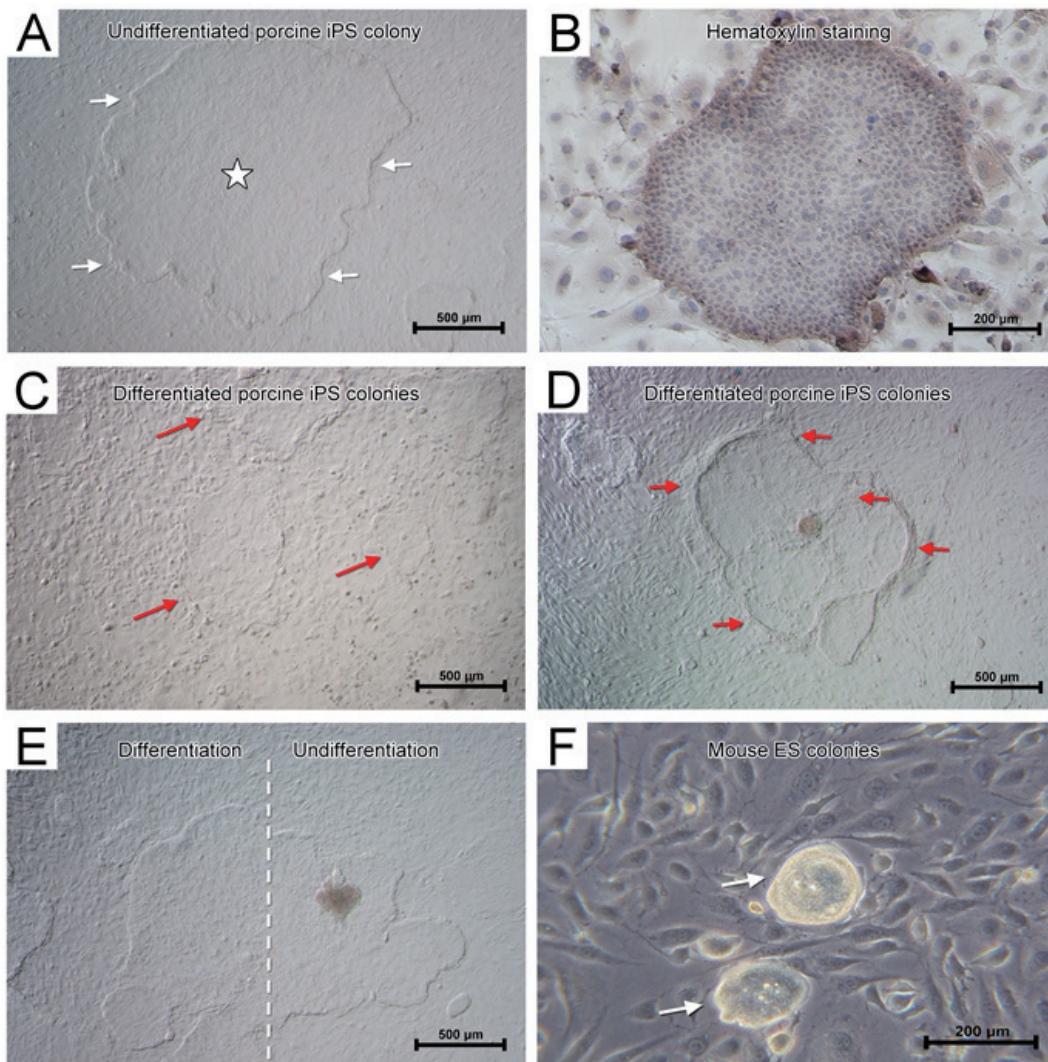


圖 2. 多能性幹細胞的形態。未分化的豬誘導性多能幹細胞，其細胞群落緊密 (☆)、邊界明顯 (白色箭頭) (A) 且細胞核質比大 (利用 hematoxylin 染色觀察) (B)。已分化的豬誘導性多能幹細胞，其細胞群落邊界模糊 (黑色箭頭) (C)，細胞不正常堆疊生長 (黑色箭頭) (D)。細胞群落中可能同時存在未分化 (虛線右邊) 與已分化之細胞 (虛線左邊)，未分化細胞的界線仍清楚，已分化細胞的界線模糊 (E)。小鼠胚幹細胞形態呈現圓丘狀 (白色箭頭) (F)。

Fig. 2. Morphology of pluripotent stem cells. The undifferentiated porcine iPS show compact colonies (☆) with intact boundary (white arrows) (A) and high nucleus-to-cytoplasm ratio (by hematoxylin staining) (B). The differentiated porcine iPS show blurry boundary in colonies (black arrows) (C) and irregular growth (black arrows) (D). The undifferentiated (right side of dashed line) and differentiated cells (left side of dashed line) might exist in the same colony, and the boundaries of them are intact and blurry, respectively (E). The mouse ESC show dome-like morphology (white arrows) (F).

綜合上述研究成果推知，卵子或 ESC 內含多種因子，可使體細胞再程式化回溯到胚胎階段。此外，胚幹細胞培養條件的建立，使幹細胞能持續維持分化多能性狀態。這些研究結果為 iPSC 技術之發展奠定了基礎 (圖 3) (Yamanaka, 2012)。起初，山中伸彌教授的研究團隊將 *Ecat1*、*Dppa5* (*Esg1*)、*Fbxo15*、*Nanog*、*Eras*、*Dnmt3l*、*Ecat8*、*Gdf3*、*Sox15*、*Dppa4*、*Dppa2*、*Fthl17*、*Sall4*、*Oct3/4* (*Pou5f1*)、*Sox2*、*Rex1* (*Zfp42*)、*Utf1*、*Tcl1*、*Dppa3* (*Stella*)、*Klf4*、 β -*catenin*、*c-Myc*、*Stat3* 與 *Grb2* 等 24 個基因經反轉錄病毒 (retrovirus) 轉染入小鼠胎體纖維母細胞 (mouse embryonic fibroblasts)，獲得與 ESC 相似的細胞群落。經過不斷的篩選與驗證，發現僅需 *Oct3/4*、*Sox2*、*Klf4* 與 *c-Myc* 等 4 種基因，即可使小鼠體細胞回復多能性狀態 (Takahashi and Yamanaka, 2006)。隔年，山中伸彌教授與詹姆斯亞歷山大湯姆森的研究團隊相繼發表了人類 iPSC 的研究成果 (Takahashi *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2007)。

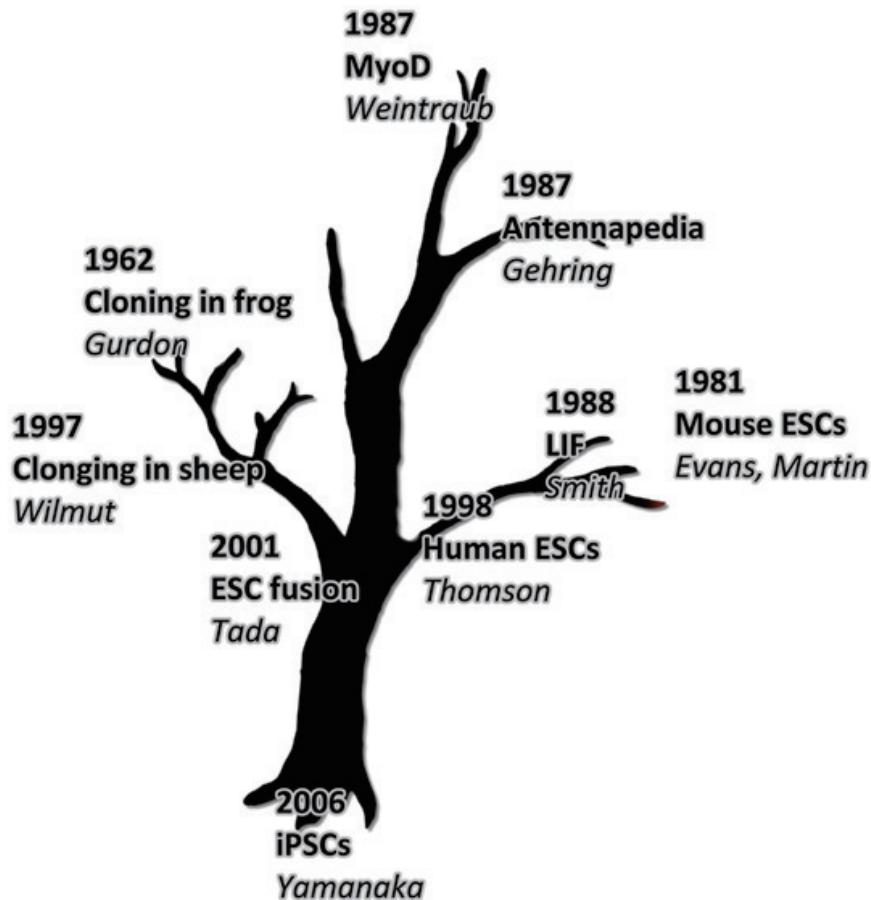


圖 3. 誘導性多能幹細胞發展基礎 (Yamanaka, 2012)。

Fig. 3. The foundation of induced pluripotent stem cell development (Yamanaka, 2012).

由於約翰格登爵士與山中伸彌教授的研究證實體細胞能回復至多能性狀態，兩位於 2012 年同時獲得諾貝爾生理醫學獎。隨後於 2014 年，日本理化研究所發育生物學 (RIKEN Center for Developmental Biology) 研究人員高橋雅代 (Masayo Takahashi) 與山中伸彌教授合作，進行首次 iPSC 的人體試驗。研究團隊將來自患有黃斑部病變 (macular degeneration) 患者的體細胞，建立患者自身的 iPSC。經進一步分化為視網膜色素上皮 (retinal pigment epithelium) 後移植回患者眼睛，改善了黃斑部病變。然而，於 2015 年進行第二次人體試驗時，山中伸彌教授發現患者的 iPSC 與移植細胞的基因有兩處發生變化，為了患者安全因此中止試驗 (Scudellari, 2016)。

V. 誘導性多能幹細胞的建立方法

iPSC 技術發展至今已 10 餘年，當初的建立方法經不斷的改進，現已超過 10 種方法可成功產製出 iPSC。然而，產製方式仍以基因轉染為主，效率約 0.001% – 1% 左右，因轉染方式或細胞來源的不同而異。轉染選用的轉錄因子基因也由原先的 *Oct3/4*、*Sox2*、*Klf4* 與 *c-Myc* 等 4 種，增加 *Nanog*、*Lin28* 與 *Glis1* 等 3 種可供選擇。轉染方式可分為病毒性與非病毒性載體，其中病毒性載體轉染為目前最常用的方式。常用的病毒載體為反轉錄病毒、慢病毒 (lentivirus)、腺病毒 (adenovirus) 與仙臺病毒 (sendai virus)。其中反轉錄病毒與慢病毒載體屬於嵌

入型 (integration)，病毒 DNA 會與宿主 DNA 相結合；腺病毒與仙臺病毒載體則屬於非先嵌入型 (non-integration)。然而，病毒載體轉染方式可能使宿主細胞產生基因毒性 (genotoxicity)，因此發展出非病毒性載體的轉染方式，以增進再生醫學上的應用 (Kumar *et al.*, 2015)。例如重組蛋白 (recombinant proteins) (Kim *et al.*, 2009)、附加型載體 (episomal vectors) (Yu *et al.*, 2009)、piggyBac transposon (Woltjen *et al.*, 2009)、小分子 (small molecules) (Despots and Ding 2010)、微環 DNA (minicircle DNA) (Jia *et al.*, 2010)、質體載體 (plasmid vector) (Okita *et al.*, 2010)、mRNA (Warren *et al.*, 2010) 與 Sleeping Beauty transposon (Kues *et al.*, 2013) 等轉染方式，均已證實可成功建立 iPSC (圖 4)。

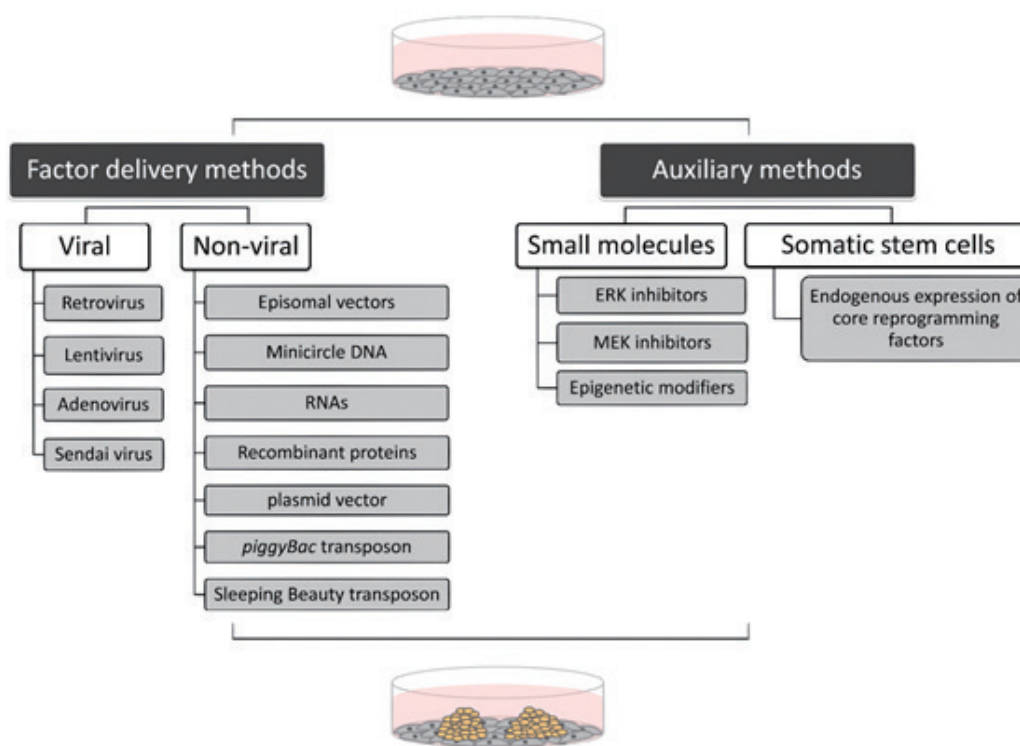


圖 4. 誘導性多能幹細胞的建立方式 (Kumar *et al.*, 2015)。

Fig. 4. Methods in establishment of induced pluripotent stem cells (Kumar *et al.*, 2015).

VI. 誘導性多能幹細胞的評估指標

評估 iPSC 特性的方式與 ESC 相同，除直接觀察形態外，也可利用分子鑑定與分化能力檢測來評估。分子鑑定即檢測細胞表面與分化多能性相關之標記的表現，分化能力即檢視其是否可分化為他種細胞。齧齒類 (如大鼠、小鼠) 與靈長類 (如人類) 的 iPSC，其細胞表面抗原不同。例如，小鼠 iPSC 之細胞表面抗原可被 stage-specific embryonic antigens-1 (SSEA-1) 抗體偵測；而人類 iPSC 則表現 SSEA-3 與 SSEA-4 表面抗原，而非 SSEA-1。分化能力檢測又可分为體外與體內分化。體外分化可利用誘發類胚體形成 (embryoid body formation) 或定向分化 (directed differentiation)，檢測受檢細胞在特殊的體外分化培養條件下，是否可分化為特定體細胞。體內分化即將細胞移植入動物體內以檢視分化情形，例如將受檢細胞移植於免疫缺陷小鼠 (immuno-deficient mice) 以促其形成畸胎瘤 (teratoma)，然後檢視畸胎瘤內的細胞是否分化為歸屬於三胚層 (three germ layers) 之細胞譜系。或將受檢細胞移植入囊胚中與囊胚本身的內細胞團形成嵌合，經胚移植後產下的嵌合體 (chimera)，檢視其體內的器官、組織與細胞是否有發育自移植入的受檢細胞 (錢, 2008; Stadtfeld and Hochedlinger, 2010)。

VII. 誘導性多能幹細胞的醫學應用

iPSC 的技術使再生醫學、藥理研究與動物生物技術的發展邁進一大步。特定條件下，iPSC 能定向分化為特定細胞。因此，可用來檢測藥物對細胞之毒性，協助瞭解藥物的作用機制，有利於人類新藥的開發。iPSC 對產製轉基因動物或復育瀕臨絕種的動物亦有很大的幫助。若將 iPSC 分化為精子或卵子，可增加孕育下一代的機會 (Kumar *et al.*, 2015)。此外，結合 iPSC 的分化能力與藥物篩選技術，有益於人類疾病治療。例如，可從脊髓性肌肉萎縮症 (spinal muscular atrophy, SMA) 患者身上取得體細胞，建立患者自身的 iPSC，再將其誘導分化為運動神經元 (motor neuron)。利用此帶有 SMA 缺陷的運動神經元進行藥物篩選，可直接找出最適合患者的藥物，

以減少藥物的使用量並進行精準醫療。此外，亦可利用基因工程方式修復 iPSC 的 SMA 缺陷，再將正常的 iPSC 分化為運動神經元，最後移植回患者身上進行神經修復 (Stadtfield and Hochedlinger, 2010)。

VIII 誘導性多能幹細胞與胚幹細胞的比較

雖然 iPSC 產製方式與 ESC 不同，兩者無論細胞形態、分子標誌特徵或分化能力方面，卻有相似的特性。然而隨著研究不斷進步，於 2009 年後，許多文獻開始探討兩者間的差異，例如人類 iPSC 與 ESC 的基因表現有上百種的差異 (Chin *et al.*, 2009)，人類 iPSC 仍表現來供體細胞 (donor cells) 的基因 (Marchetto *et al.*, 2009; Ghosh *et al.*, 2010)，以及 DNA 甲基化 (methylation) 程度的差異 (Deng *et al.*, 2009)。隨後，亦發現人類 iPSC 的後生遺傳記憶 (epigenetic memory) 現象，即來源體細胞的細胞特質仍存在於人類 iPSC，使分化時易朝向原細胞形態的胚層分化。(Kim *et al.*, 2011; Lister *et al.*, 2011; Ohi *et al.*, 2011)。相反的，亦有研究持反對意見，指稱兩者間的差異可以忽略。認為不同的誘導或培養條件，即使會讓 iPSC 與 ESC 的基因產生變化，然兩者間的變化趨勢相似 (Guenther *et al.*, 2010; Newman and Cooper, 2010)，且兩者無論在基因表現或 DNA 甲基化程度，相較於整體的基因體之基因總數而言，皆難以辨別差異 (Bock *et al.*, 2011)。此外，雖然神經分化試驗顯示人類 ESC 有 90% 的分化能力，而僅有 10 – 50% 的人類 iPSC 可成功分化為神經細胞 (Hu *et al.*, 2010)。然而，另一項研究顯示，兩者分化為運動神經元的能力無顯著差異 (Boulting *et al.*, 2011)。由於不同的誘導或培養條件皆會造成不同的結果，而 iPSC 產製過程較 ESC 容易產生變異，因此兩者間是否有明顯的差異仍有爭議。此外，認為兩者有差異的文獻，其研究中所使用的細胞數目，遠少於認為兩者相同的研究文獻所使用的細胞數目 (表 3) (Yamanaka, 2012)。因此，各實驗室產製的 iPSC 品質差異大，仍需更進一步探討兩者的差異。

表 3. 文獻中誘導性多能幹細胞與胚幹細胞的使用量

Table 3. Number of iPSC and ESC clones analyzed in published articles

Items	Clone Numbers		References
	iPSC	ESC	
Difficult to distinguish	68	23	Newman and Cooper, 2010
	54	36	Guenther <i>et al.</i> , 2010
	12	20	Bock <i>et al.</i> , 2011
Notable differences	5	3	Chin <i>et al.</i> , 2009
	2	2	Marchetto <i>et al.</i> , 2009
	4	3	Deng <i>et al.</i> , 2009
	4	6	Ghosh <i>et al.</i> , 2010
	9	3	Doi <i>et al.</i> , 2009
	9	3	Ohi <i>et al.</i> , 2011
	12	6	Kim <i>et al.</i> , 2011
	5	2	Lister <i>et al.</i> , 2011

(Yamanaka, 2012)

IX. 幹細胞與畜產動物

自 1990 年至今，家畜 ESC 研究已逾 20 餘載，其中以豬與牛的研究最多，然目前仍未有一株家畜 ESC 的特性與小鼠 ESC 相似。培養過程中，家畜 ESC 可能會遇到無法持續繼代的問題，且大多數分化潛能較差，幾乎無法形成嵌合體與畸胎瘤 (Ezashi *et al.*, 2015)。而家畜 iPSC 的研究量比家畜 ESC 多，且大多使用病毒轉染的方式將 *Oct3/4*、*Sox2*、*Klf4* 與 *c-Myc* 等 4 種基因轉染纖維母細胞而得 (Liao *et al.*, 2014; Ezashi *et al.*, 2015; Kumar, *et al.*, 2015)。目前所有家畜 iPSC 皆可成功形成畸胎瘤，然是否可形成嵌合體或具有性腺遺傳 (germline transmission) 能力，仍需更進一步驗證。小鼠 iPSC 的研究已相當透徹，最終的結果期盼能應用於人類。然而因風險與道德問題，致使人類 iPSC 的許多後續試驗如形成嵌合體或性腺遺傳能力仍無法驗證。iPSC 於齧齒動物、家畜與人類之研究進展如表 4 所示 (Kumar *et al.*, 2015)。此外，行政院農業委員會畜產試驗所建立之豬胚幹細胞 (Yang *et al.*, 2009) 已應用於帕金森氏症 (楊, 2012; Yang *et al.*, 2010)、脊髓損傷 (Yang *et al.*, 2013a) 與牙周炎 (Yang *et al.*, 2013b) 等動物模式上，並獲得良好的治療效果。雖然家畜幹細胞的研究成果不如小鼠豐碩多樣，然而家畜幹細胞無論形態、分子標誌與分化能力皆近似人類幹細胞，因此家畜可作為人類研究上的橋樑，其重要性亦不容忽視。

表 4. 誘導性多能幹細胞於齧齒動物、家畜與人類之研究進展

Table 4. Achievements of induced pluripotent stem cells from rodents, farm animals and humans

Achievements of iPSC	Rodents	Farm animals	Humans
<i>In vivo</i> differentiation	Fully proven	Fully proven	Fully proven
<i>In vitro</i> differentiation	Fully proven	Fully proven	Fully proven
Chimera	Fully proven	Partially proven	NA/NCD*
Germline transmission	Fully proven	Partially proven	NA/NCD*
Follow up generations	Fully proven	Not achieved yet	NA/NCD*
Transplantation of iPSC-derived cells	Fully proven	Partially proven	NA/NCD*

* NA/NCD: not allowed or no clinical data

(Kumar *et al.*, 2015)

結 論

多能幹細胞提供疾病研究良好的研究平臺，而其中誘導性多能幹細胞使近 10 年內的醫學研究，無論是在疾病發病機制或治療方針皆有重大突破 (Shi *et al.*, 2017)。然而，不同之多能性幹細胞其分化能力未盡相同，例如即使體細胞來源相同，誘發產製的 iPSC 的分化能力仍有差異，因此其應用時需格外注意 (Inoue *et al.*, 2014)。相較於齧齒動物，畜產動物尤其是豬，其體型、器官大小、解剖構造、生理功能、代謝與病理狀態皆與人類較為相似，對於人類臨床前的研究有相當大的幫助 (Gün and Kues, 2014)，因此家畜幹細胞的研究對人類疾病機制和治療方法的開發亦可提供有效的線索和貢獻。

參考文獻

- 石力、郭紘志。2011。建立多能性幹細胞株的方式與技術發展。中國畜牧學會會誌 40(3)：141-157。
- 楊鎮榮。2012。豬胚幹細胞應用於帕金森氏症治療之研究。農業生技產業季刊 31：44-51。
- 錢宗良。2008。幹細胞學。幹細胞與組織工程教學資源中心。臺北市。
- 陳立人、吳明哲、王建平。1991a。哺乳動物胚幹細胞之體外培養 (II) 小鼠與豬囊胚衍生物之體外培養。中國畜牧學會會誌 20(3)：327-339。
- 陳立人、吳明哲、許登造。1991b。分離小鼠與豬囊胚內細胞群之兔抗血清的製備。中國畜牧學會會誌 20(1)：61-67。
- Allen, N. D., S. C. Barton, K. Hilton, M. L. Norris and M. A. Surani. 1994. A functional analysis of imprinting in parthenogenetic embryonic stem cells. *Development* 120: 1473-1482.
- Bellomo, M. 2006. The stem cell divide: the facts, the fiction, and the fear driving the greatest scientific, political, and religious debate of our time. American Management Association. New York, NY, USA.
- Bock, C., E. Kiskinis, G. Verstappen, H. Gu, G. Boulting, Z. D. Smith, M. Ziller, G. F. Croft, M. W. Amoroso, D. H. Oakley, A. Gnirke, K. Eggan and A. Meissner. 2011. Reference Maps of human ES and iPS cell variation enable high-throughput characterization of pluripotent cell lines. *Cell* 144: 439-452.
- Boulting, G. L., E. Kiskinis, G. F. Croft, M. W. Amoroso, D. H. Oakley, B. J. Wainger, D. J. Williams, D. J. Kahler, M. Yamaki, L. Davidow, C. T. Rodolfa, J. T. Dimos, S. Mikkilineni, A. B. MacDermott, C. J. Woolf, C. E. Henderson, H. Wichterle and K. Eggan. 2011. A functionally characterized test set of human induced pluripotent stem cells. *Nat. Biotechnol.* 29: 279-286.
- Brevini, T. A. and F. Gandolfi. 2008. Parthenotes as a source of embryonic stem cells. *Cell Prolif.* 41: 20-30.
- Chen, L. R., Y. L. Shiue, L. Bertolini, J. F. Merdrano, R. H. BonDurant and G. B. Anderson. 1999. Establishment of pluripotent cell lines from porcine preimplantation embryos. *Theriogenology* 52: 195-212.
- Chin, M. H., M. J. Mason, W. Xie, S. Volinia, M. Singer, C. Peterson, G. Ambartsumyan, O. Aimiwu, L. Richter, J. Zhang, I. Khvorostov, V. Ott, M. Grunstein, N. Lavon, N. Benvenisty, C. M. Croce, A. T. Clark, T. Baxter, A. D. Pyle, M. A. Teitell, M. Pelegri, K. Plath and W. E. Lowry. 2009. Induced pluripotent stem cells and embryonic stem cells are distinguished by gene expression signatures. *Cell Stem Cell* 5: 111-123.

- Chung, Y., I. Klimanskaya, S. Becker, J. Marh, S. J. Lu, J. Johnson, L. Meisner and R. Lanza. 2006. Embryonic and extraembryonic stem cell lines derived from single mouse blastomeres. *Nature* 439: 216-219.
- Davis, R. L., H. Weintraub and A. B. Lassar. 1987. Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts. *Cell* 51: 987-1000.
- Deng, J., R. Shoemaker, B. Xie, A. Gore, E. M. LeProust, J. Antosiewicz-Bourget, D. Egli, N. Maherali, I. H. Park, J. Yu, G. Q. Daley, K. Eggan, K. Hochedlinger, J. Thomson, W. Wang, Y. Gao and K. Zhang. 2009. Targeted bisulfate sequencing reveals changes in DNA methylation associated with nuclear reprogramming. *Nat. Biotechnol.* 27: 353-360.
- Despots, C. and S. Ding. 2010. Using small molecules to improve generation of induced pluripotent stem cells from somatic cells. *Methods Mol. Biol.* 636: 207-218.
- Doi, A., I. H. Park, B. Wen, P. Murakami, M. J. Aryee, R. Irizarry, B. Herb, C. Ladd-Acosta, J. Rho, S. Loewer, J. Miller, T. Schlaeger, G. Q. Daley and A. P. Feinberg. 2009. Differential methylation of tissue- and cancer-specific CpG island shores distinguishes human induced pluripotent stem cells, embryonic stem cells and fibroblasts. *Nat. Genet.* 41: 1350-1353.
- Evans, M. J. and M. H. Kaufman. 1981. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 292: 154-156.
- Ezashi, T., Y. Yuan and R. M. Roberts. 2015. Pluripotent stem cells from domesticated mammals. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 4: 223-253.
- Ghosh, Z., K. D. Wilson, Y. Wu, S. Hu, T. Quertermous and J. C. Wu. 2010. Persistent donor cell gene expression among human induced pluripotent stem cells contributes to differences with human embryonic stem cells. *PLoS ONE* 5: e8975.
- Guenther, M. G., G. M. Frampton, F. Soldner, D. Hockemeyer, M. Mitalipova, R. Jaenisch and R. A. Young. 2010. Chromatin structure and gene expression programs of human embryonic and induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 7: 249-257.
- Gün, G. and W. A. Kues. 2014. Current progress of genetically engineered pig models for biomedical research. *BioResearch Open Access* 3: 255-264.
- Gurdon, J. B. 1962. The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 10: 622-640.
- Hsieh, Y. C., P. Intawicha, N. W. Lo, K. H. Lee and J. C. Ju. 2010. Characterization and applications of embryonic stem cells derived from parthenogenetically activated embryos- A review. *J. Agri. Assoc. China* 11: 580-601.
- Hu, B. Y., J. P. Weick, J. Yu, L. X. Ma, X. Q. Zhang, J. A. Thomson and S. C. Zhang. 2010. Neural differentiation of human induced pluripotent stem cells follows developmental principles but with variable potency. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 4335-4340.
- Inoue, H., N. Nagata, H. Kurokawa and S. Yamanaka. 2014. iPS cells: a game changer for future medicine. *EMBO J.* 33: 409-417.
- Jia, F., K. D. Wilson, N. Sun, D. M. Gupta, M. Huang, Z. Li, N. J. Panetta, Z. Y. Chen, R. C. Robbins, M. A. Kay, M. T. Longaker and J. C. Wu. 2010. A nonviral minicircle vector for deriving human iPS cells. *Nat. Methods* 7: 197-199.
- Kao, C. F., C. Y. Chuang, C. H. Chen and H. C. Kuo. 2008. Human pluripotent stem cells: Current status and future perspectives. *Chin. J. Physiol.* 51: 214-225.
- Kim, D., C. H. Kim, J. I. Moon, Y. G. Chung, M. Y. Chang, B. S. Han, S. Ko, E. Yang, K. Y. Cha, R. Lanza and K. S. Kim. 2009. Generation of human induced pluripotent stem cells by direct delivery of reprogramming proteins. *Cell Stem Cell* 4: 472-476.
- Kim, H. S., S. K. Oh, Y. B. Park, H. J. Ahn, K. C. Sung, M. J. Kang, L. A. Lee, C. S. Suh, S. H. Kim, D. W. Kim and S. Y. Moon. 2005. Methods for derivation of human embryonic stem cells. *Stem Cells.* 23: 1228-1233.
- Kim, K., R. Zhao, A. Doi, K. Ng, J. Unternaehrer, P. Cahan, H. Huo, Y. H. Loh, M. J. Aryee, M. W. Lensch, H. Li, J. J. Collins, A. P. Feinberg and G. Q. Daley. 2011. Donor cell type can influence the epigenome and differentiation potential of human induced pluripotent stem cells. *Nat. Biotechnol.* 29: 1117-1119.
- Kues, W. A., D. Herrmann, B. Barg-Kues, S. Haridoss, M. Nowak-Imialek, T. Buchholz, M. Streeck, A. Grebe, I. Grabundzija, S. Merkert, U. Martin, V. J. Hall, M. A. Rasmussen, Z. Ivics, P. Hyttel and H. Niemann. 2013. Derivation and characterization of sleeping beauty transposon-mediated porcine induced pluripotent stem cells. *Stem Cells Dev.* 22: 124-135.

- Kumar, D., T. R. Talluri, T. Anand and W. A. Kues. 2015. Induced pluripotent stem cells: Mechanisms, achievements and perspectives in farm animals. *World J. Stem Cells* 7: 315-328.
- Liao, Y. J., C. H. Liao, J. W. Liao, K. Yuan, Y. Z. Liu, Y. S. Chen, L. R. Chen and J. R. Yang. 2014. Establishment and characterization of novel porcine induced pluripotent stem cells expressing hrGFP. *J. Stem Cell Res. Ther.* 4: 208.
- Lister, R., M. Pelizzola, Y. S. Kida, R. D. Hawkins, J. R. Nery, G. Hon, J. Antosiewicz-Bourget, R. O'Malley, R. Castanon, S. Klugman, M. Downes, R. Yu, R. Stewart, B. Ren, J. A. Thomson, R. M. Evans and J. R. Ecker. 2011. Hotspots of aberrant epigenomic reprogramming in human induced pluripotent stem cells. *Nature* 471: 68-73.
- Marchetto, M. C., G. W. Yeo, O. Kainohana, M. Marsala, F. H. Gage and A. R. Muotri. 2009. Transcriptional signature and memory retention of human-induced pluripotent stem cells. *PLoS ONE* 4: e7076.
- Maron-Gutierrez, T., I. Araujo, M. M. Morales, C. S. Garcia and P. R. Rocco. 2009. Stem cell therapy in acute respiratory distress syndrome. *Rev. Bras. Ter. Intensiva.* 21: 51-57.
- Martin, G. R. 1981. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78: 7634-7638.
- Newman, A. M. and J. B. Cooper. 2010. Lab-specific gene expression signatures in pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 7: 258-262.
- NIH. 2001. Stem cells: Scientific progress and future research directions. Terese Winslow Press. Alexandria, VA, USA.
- Ohi, Y., H. Qin, C. Hong, L. Blouin, J. M. Polo, T. Guo, Z. Qi, S. L. Downey, P. D. Manos, D. J. Rossi, J. Yu, M. Hebrok, K. Hochedlinger, J. F. Costello, J. S. Song and M. Ramalho-Santos. 2011. Incomplete DNA methylation underlies a transcriptional memory of somatic cells in human iPS cells. *Nat. Cell Biol.* 13: 541-549.
- Okita, K., H. Hong, K. Takahashi and S. Yamanaka. 2010. Generation of mouse induced pluripotent stem cells with plasmid vectors. *Nat. Protoc.* 5: 418-428.
- Revazova, E. S., N. A. Turovets, O. D. Kochetkova, L. B. Kindarova, L. N. Kuzmichev, J. D. Janus and M. V. Pryzhkova. 2007. Patient-specific stem cell lines derived from human parthenogenetic blastocysts. *Cloning Stem Cells* 9: 432-449.
- Schneuwly, S., R. Klemenz and W. J. Gehring. 1987. Redesigning the body plan of *Drosophila* by ectopic expression of the homoeotic gene *Antennapedia*. *Nature* 325: 816-818.
- Scudellari, M. 2016. A decade of iPS cells. *Nature* 534: 310-312.
- Shi, Y., H. Inoue, J. C. Wu and S. Yamanaka. 2017. Induced pluripotent stem cell technology: a decade of progress. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 16: 115-130.
- Smith, A. G., J. K. Heath, D. D. Donaldson, G. G. Wong, J. Moreau, M. Stahl and D. Rogers. 1988. Inhibition of pluripotential embryonic stem cell differentiation by purified polypeptides. *Nature* 336: 688-690.
- Solter, D. and B. B. Knowles. 1975. Immunosurgery of mouse blastocyst. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 72: 5099-5102.
- Sreenivas, S. D., A. S. Rao, S. S. Satyavani, B. H. Reddy and S. Vasudevan. 2011. Where will the stem cells lead us? Prospects for dentistry in the 21st century. *J. Indian. Soc. Periodontol.* 15: 199-204.
- Stadtfeld, M. and K. Hochedlinger. 2010. Induced pluripotency: history, mechanisms, and applications. *Genes Dev.* 24: 2239-2263.
- Tada, M., Y. Takahama, K. Abe, N. Nakatsuji and T. Tada. 2001. Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells. *Curr. Biol.* 11: 1553-1558.
- Takahashi, K. and S. Yamanaka. 2006. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126: 663-676.
- Takahashi, K., K. Tanabe, M. Ohnuki, M. Narita, T. Ichisaka, K. Tomoda and S. Yamanaka. 2007. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131: 861-872.
- Thomson, J. A., J. Itskovitz-Eldor, S. S. Shapiro, M. A. Waknitz, J. J. Swiergiel, V. S. Marshall and J. M. Jones. 1998. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 282: 1145-1147.
- Wakayama, T., V. Tabar, I. Rodriguez, A. C. Perry, L. Studer and P. Mombaerts. 2001. Differentiation of embryonic stem cell lines generated from adult somatic cells by nuclear transfer. *Science* 292: 740-743.
- Warren, L., P. D. Manos, T. Ahfeldt, Y. H. Loh, H. Li, F. Lau, W. Ebina, P. K. Mandal, Z. D. Smith, A. Meissner, G. Q. Daley, A. S. Brack, J. J. Collins, C. Cowan, T. M. Schlaeger and D. J. Rossi. 2010. Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. *Cell Stem Cell* 7: 618-630.
- Wilmut, I., A. E. Schnieke, J. McWhir, A. J. Kind and K. H. Campbell. 1997. Viable offspring derived from fetal and adult

- mammalian cells. *Nature* 385: 810-813.
- Woltjen, K., I. P. Michael, P. Mohseni, R. Desai, M. Mileikovsky, R. Hämäläinen, R. Cowling, W. Wang, P. Liu, M. Gertsenstein, K. Kaji, H. K. Sung and A. Nagy. 2009. *piggyBac* transposition reprograms fibroblasts to induced pluripotent stem cells. *Nature* 458: 766-770.
- Yamanaka, S. 2012. Induced pluripotent stem cells: past, present, and future. *Cell Stem Cell* 10: 678-684.
- Yang, J. R., C. H. Liao, C. Y. Pang, L. L. H. Huang, Y. L. Chen, Y. L. Shiue and L. R. Chen. 2013a. Transplantation of porcine embryonic stem cells and their derived neuronal progenitors in a spinal cord injury rat model. *Cytherapy* 15: 201-208.
- Yang, J. R., C. H. Liao, C. Y. Pang, L. L. H. Huang, Y. T. Lin, Y. L. Chen, Y. L. Shiue and L. R. Chen. 2010. Directed Differentiation into neural lineages and therapeutic potential of porcine embryonic stem cells in rat Parkinson's disease model. *Cell Reprogram.* 12: 447-461.
- Yang, J. R., C. W. Hsu, S. C. Liao, Y. T. Lin, L. R. Chen and K. Yuan. 2013b. Transplantation of embryonic stem cells improves the regeneration of periodontal furcation defects in a porcine model. *J. Clin. Periodontol.* 40: 364-731.
- Yang, J. R., Y. L. Shiue, C. H. Liao, S. Z. Lin and L. R. Chen. 2009. Establishment and characterization of novel porcine embryonic stem cell lines expressing hrGFP. *Cloning Stem Cells* 11: 235-244.
- Yu, J., K. Hu, K. Smuga-Otto, S. Tian, R. Stewart, I. I. Slukvin and J. A. Thomson. 2009. Human induced pluripotent stem cells free of vector and transgene sequences. *Science* 324: 797-801.
- Yu, J., M. A. Vodyanik, K. Smuga-Otto, J. Antosiewicz-Bourget, J. L. Frane, S. Tian, J. Nie, G. A. Jonsdottir, V. Ruotti, R. Stewart, I. I. Slukvin and J. A. Thomson. 2007. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 318: 1917-1920.

An historical overview on the development of pluripotent stem cell technology ⁽¹⁾

Yu-Jing Liao ⁽²⁾⁽³⁾ Pin-Chi Tang ⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾ Lih-Ren Chen ⁽²⁾⁽⁶⁾ and Jenn-Rong Yang ⁽²⁾⁽⁷⁾

Received: Oct. 23, 2017; Accepted: Jan. 9, 2018

Abstract

Recently, various techniques for establishment of pluripotent stem cells has been developed, such as embryonic stem cells (ESCs), single blastomere-derived embryonic stem cells, somatic cell nuclear transferred embryonic stem cells, parthenogenetic embryonic stem cells, and induced pluripotent stem cells (iPSCs). Among these techniques, the success of iPSC technology in 2006 was more than a decade which had been widely used for biomedical research, such as disease modeling, drug screening, and cell therapy. This technique had opened an avenue for stem cell technology and regenerative medicine. Thanks to the previous studies that verified the mechanism for reprogramming somatic cells, discovered transcription factors, and optimized culture conditions of ESCs, foundations established from these basic researches promote the development of iPSCs. However, many issues, such as production efficiency, and quality of iPSCs, should be improved. In this review, we discussed in detail and looked back the history of pluripotent stem cells, stem cell development in farm animals, and the future perspectives for better understanding of this new technology.

Key words: Induced pluripotent stem cells, Embryonic stem cells, Farm animals.

(1) Contribution No. 2584 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Physiology Division, COA-LRI, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(3) Department of Animal Science, National Chung Hsing University, Taichung, 40249, Taiwan. R. O. C.

(4) Agricultural Biotechnology Center, National Chung Hsing University, Taichung, 40249, Taiwan. R. O. C.

(5) Center for the Integrative and Evolutionary Galliformes Genomics, National Chung Hsing University, Taichung, 40249, Taiwan. R. O. C.

(6) Institute of Biotechnology, National Cheng Kung University, Tainan 70101, Taiwan. R. O. C.

(7) Corresponding author, E-mail: jryang@mail.tlri.gov.tw.