

# 人胚胎干细胞在药源性心脏和肝毒性研究中的应用进展

王淑颜<sup>1</sup>, 汪溪洁<sup>1</sup>, 胡晓敏<sup>2</sup>, 马 璟<sup>1</sup>

(1. 中国医药工业研究总院上海医药工业研究院 国家上海新药安全评价研究中心, 上海 201203;

2. 国家食品药品监督管理局药品审评中心, 北京 100038)

**摘要:** 人胚胎干细胞(hESC)具有无限增殖和诱导分化为心肌细胞和肝细胞的能力,可应用于新药筛选和药物的安全性评价过程。心脏毒性和肝毒性是新药研发失败、被监管以及撤市的主要原因。hESC 分化的心肌细胞和肝细胞具有结构和功能特性,能在体外模拟药物的心脏和肝毒性,且基于 hESC 诱导分化的心肌细胞和肝细胞建立的体外新药安全评价系统,具有实验周期短、用药量少、成本低和有效避免种属差异等优点。因此,hESC 分化的心肌和肝细胞在药物毒理学研究中具有广阔的应用前景。

**关键词:** 人胚胎干细胞; 心脏毒性; 肝毒性; 安全性评价

**中图分类号:** R972, R975    **文献标志码:** A    **文章编号:** 1000-3002(2014)04-0612-06

**DOI:** 10.3867/j.issn.1000-3002.2014.04.022

新药开发是一个漫长而艰巨的过程。评价新药的安全性和有效性是关键环节。目前,新药的安全评价系统主要是基于动物或体外培养的动物细胞。然而由于种属差异,这些评价体系不能充分反映临床用药后的安全性如 13-顺式维甲酸<sup>[1-2]</sup>和沙利度胺<sup>[3-5]</sup>的代谢动力学在动物体内与人体内有很大差别。因此,动物模型无法准确地预测和评价人源性毒性,使得使用动物模型评价药物的靶器官毒性是导致药物研发效率低的主要问题。近年来,具有自我复制和分化能力的人胚胎干细胞(human embryonic stem cell, hESC)在毒理学研究中的应用,是解决以上问题的一种方法。

## 1 人胚胎干细胞

ESC 来源于着床前囊胚内细胞团,是一类未分化的二倍体全能干细胞。在离体情况下具有自我增殖的能力,同时可分化为各种祖细胞,在不同诱导因子的作用下,后者可进一步分化为许多具有特定功能的细胞系。1998年,Thomson等<sup>[6]</sup>首次成功获

**基金项目:** 国家科技重大专项(2012ZX09302002);上海市科委项目(13140900900)

**作者简介:** 王淑颜(1986-),女,硕士研究生,主要研究方向心脏毒理学, Tel: 13918849591, E-mail: wangshuyan368@163.com; 马 璟(1963-),女,博士,研究员,博士生导师,从事毒理学研究。

**通讯作者:** 马 璟, E-mail: jma@ncdser.com, Tel: (021)50801763

得 hESC,标志着生物医学一个新的研究领域的诞生,这些细胞被从称之为胚泡(受精卵成长到 4~5 d 时)的内细胞团中分离出来。迄今为止,已获得 400 多个 hESC 细胞株。提出 hESC 的最初目的是针对它替代治疗的潜在作用,但目前的研究热点已转移到开发体外药物筛选和毒理学实验系统模型方面。排名前 20 的制药公司中,70%的公司已启动了涉及干细胞的研究,其中 64%涉及到 hESC 的研究<sup>[7]</sup>。

## 2 人胚胎干细胞的生物学特点

hESC 与其他细胞相比明显不同,具有以下生物学特点:① 具有自我复制、无限增殖不分化的能力;② 具有分化的多能性,在体外适宜条件下,可分化为 3 个胚层的所有细胞;③ 具有稳定的遗传功能,在分化过程中能保持原有生理特性和结构特点;④ 具有生殖细胞的特性,能产生精子或卵子细胞;⑤ 保持正常的二倍体特性且核型正常;⑥ 具有全能性,在解除分化抑制的条件下,具有分化为机体的任一细胞类型和形成多种组织器官的能力;⑦ 可操作性,即易于进行基因改造<sup>[8-10]</sup>。

## 3 人胚胎干细胞的定向分化

### 3.1 人胚胎干细胞诱导分化的心肌细胞

hESC 诱导分化为心肌细胞的方法有 3 种,拟胚体形成法、与内胚层细胞共培养法及加入特定诱

导因子定向分化法。hESC 诱导分化的心肌细胞属于幼稚型心肌细胞,在结构形态上一般经过 3 个阶段:早期阶段,呈圆形肌原纤维,稀疏且随机分布,显示 A 和 I 带;中期阶段,肌小结结构逐渐完善,心肌细胞收缩更有组织性;晚期阶段,分化为心房、心室和起搏传导等终末细胞<sup>[11]</sup>;在分子表达水平上,表达人心脏特异性基因,如  $\alpha$  辅肌动蛋白、肌钙蛋白 I、心脏  $\alpha$ -主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC)、 $\beta$ -MHC 和心房利钠因子等;在电生理方面,hESC 诱导分化的心肌细胞表达  $I_f$ ,  $Na^+$ , L 型- $Ca^{2+}$  和  $K^+$  等离子通道及人特异性动作电位形态<sup>[12]</sup>。这些特性可通过光镜、逆转录聚合酶链反应、免疫细胞化学和透射电子显微镜等方法进行检测。由此可见,hESC 诱导分化的心肌细胞在结构功能上与天然心肌细胞具有相似性,且为人源性具有无限增殖和可再生的能力。因此,采用 hESC 诱导分化的心肌细胞预测药物心脏毒性,可有效避免种属差异,且实验周期短,化合物用量少,具有广阔的应用前景。

### 3.2 由人胚胎干细胞诱导分化的肝细胞

hESC 诱导分化后 3 周形成均一的、纯度 >90% 的肝样细胞,具有肝细胞典型的形态结构:六边形的细胞形态,大而较暗的细胞质和明亮含有核仁的细胞核;通过高碘酸染色检测到具有合成和储存糖原的能力;通过免疫细胞化学和 qRT-PCR 检测到 hESC 诱导分化的肝细胞表达肝细胞特异性基因白蛋白、亚砷酸盐相关基因 1、尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 1A1、肝细胞核因子 4a、凝血因子 VII 和肝细胞特异性蛋白,如胞内酶磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶、细胞表面蛋白去唾液酸糖蛋白受体 1 和分泌白蛋白;同样运用免疫细胞化学和 qRT-PCR 法检测到 hESC 诱导分化的肝细胞表达具有活性的细胞色素 P450 1A (cytochrome P450 1A, CYP1A), CYP2B6, CYP2C9 和 CYP3A 等 CYP 家族酶;利用转运蛋白探针药物定量地检测到 hESC 诱导分化的肝细胞表达有机阴离子转运多肽 1B1、钠离子-牛磺胆酸共转运蛋白及消除转运蛋白 BSEP<sup>[13-14]</sup>。药物代谢酶 CYP 家族和转运蛋白在药物的代谢过程中起着至关重要的作用,hESC 诱导分化的肝细胞表达几个重要的药物 CYP 代谢酶和药物转运蛋白,且这种细胞资源为人源性的,不存在种属差异,缩短了实验周期,减少动物使用量,符合“减少、替代、优化”原则,有应用于药物研发过程中毒性研究的潜力。

## 4 人胚胎干细胞在毒理学研究中的应用

### 4.1 人胚胎干细胞诱导分化的心肌细胞在心脏毒理学研究中的应用

心脏毒性是药物研发失败的主要原因之一,也是新药研发和安全性评价的关键因素。因此,在药物研发过程中,所有新化合物必须进行临床前心脏毒性检测,评价潜在威胁生命事件或诱导性心脏病的发病率。药物心脏毒性的临床表现主要包括药物诱导性心律失常、心肌炎、心肌病、心肌缺血性毒性、心肌梗死和瓣膜性毒性等<sup>[15]</sup>。近年来,很多药物因不可预见的心脏毒性而被撤市,这是药物研发后期失败的主要原因。因此,在药物研发的早期发现药物致命性的副作用,可大大减小新药开发的风险。值得注意的是,许多非心血管药物由于心脏毒性而被撤市,且这些心脏毒性在动物实验中并未发现,如西沙必利、氟哌利多和罗非昔布等。某跨国制药公司调查结果显示,人类心脏毒性与实验动物心脏毒性的一致性只有 20%<sup>[16]</sup>,这个事实强烈支持使用基于人体组织的毒性评价。

2012 年安全性药理学学会年会上有关 ESC 应用的论文数目迅速增加,由每年 1 篇(2005-2007)到 2012 年 27 篇<sup>[17]</sup>,表明 hESC 诱导分化的心肌细胞在药物安全性评价中的应用越来越引人注目。hESC 诱导分化的心肌细胞具有很多潜在的优势。Jonsson 等<sup>[18]</sup>通过膜片钳技术评价 hESC 诱导分化的心肌细胞的电生理特性和预测潜在药物性心律失常的能力,强调 hESC 诱导分化的心肌细胞适用于当代药物的筛选模型。主要表现在以下几个方面:① 搏动频率 <  $50 \text{ min}^{-1}$ 、动作电位间期 (action potentials duration, APD) > 200 ms 的 hESC 诱导分化的心室肌细胞束具有更加成熟的心室样表型,这也得到了基因表达分析的支持。② 给予快速延迟整流性钾通道基因通道抑制剂 E-4031  $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  后,APD > 300 ms 的心室肌样细胞束观察到早后除极的发生,而 APD < 300 ms 的心室肌样细胞束则未观察到。③ 由 hESC 诱导分化的心肌细胞模型获得的数据在定量和定性两方面均能和兔浦肯野纤维束模型相媲美。受试者工作特征曲线表明,hESC 诱导分化的心肌细胞模型至少可以相当于兔浦肯野纤维束模型有效地预测心律失常事件。同样地,Peng 等<sup>[19]</sup>用 hESC 诱导分化的心肌细胞和犬的浦肯野纤维束进行了药理学比较,发现 hESC 诱导分化的心肌细胞对引起动作电位改变的多离子通道阻

滞剂药物具有高敏感性,如特异  $H_1$  受体阻断剂特非那定(terfenadine)、 $Na^+$  通道抑制剂奎尼丁和  $Ca^{2+}$  阻滞剂维拉帕米等。hESC 诱导分化的心肌细胞的高敏感性在于种属差异在离子通道表达上的不同。另外,和浦肯野纤维束相比,hESC 诱导分化的心肌细胞更明显的优势是稳定性更高、实验周期更短和药物作用效果更直接。

hESC 诱导分化的心肌细胞可与多种实验技术相结合,用于药物心脏毒性的安全性评价,如倒置显微镜、膜片钳和微电极阵列等,通过检测心肌细胞暴露受试物后收缩频率、动作电位时程、节律、兴奋性、复极化和传导性的变化评价药物的心脏毒性。2013 年,Himmel<sup>[20]</sup> 利用实时细胞分析技术检测药物 E4031、多非利特、喷他脒和维拉帕米(异搏定)对干细胞分化的心肌细胞收缩性的作用,通过分析心肌细胞的收缩幅度、搏动频率和节律的变化评价药物的心脏毒性。该实验表明,将干细胞诱导分化的心肌细胞接种到实时细胞分析系统底部带有电极的 96 孔板上,当心肌细胞收缩舒张时引起阻抗变化,将这种阻抗变化换算成细胞指数分析心肌细胞搏动频率、节律、幅度和搏动间期的变化对药物的心脏毒性进行评价。这种方法可在近似生理环境下,评价离子通道和非离子通道药物以及多种药物对心肌细胞的相互作用,具有高通量、实验成本低、工作量和化合物用量少等优点。由此可见,随着科学技术的发展,hESC 诱导分化的心肌细胞的应用价值越来越大。

近年来,在基于 hESC 诱导分化心肌细胞的毒理学研究中,心脏毒性标志物越来越受到重视。例如,培养基中心肌肌钙蛋白 T(cardiac troponin T, cTnT)和心脏型脂肪酸结合蛋白(heart type fatty acid binding protein, HFABP)的释放量可用来衡量心肌细胞损伤。cTnT 是评价药源性心脏毒性和心肌损伤的重要生物标志物,cTnT 在心肌损伤时从心肌纤维上降解释放入血,引起血清 cTnT 增高。因此,测定血清 cTnT 浓度即可反映心肌细胞的损伤情况,在临床,cTnT 被称为心肌损伤的金标准。HFABP 是一种在心肌细胞质中含量丰富、稳定的小分子量蛋白,这种小分子量水溶性蛋白能通过快速扩散进入血液,心肌损伤后 90 min 即可检测到,6 h 释放量达到峰值,36 h 回归正常水平,可能是药源性心脏毒性评价中一个更加敏感的生物标志物<sup>[21]</sup>。通过测定药物暴露后 hESC 诱导分化心肌细胞的 cTnT 和 HFABP 的释放量评价药物的心脏毒性是一种新颖的方法。hESC 诱导分化心肌细胞

为人源性的,比动物实验更具有临床相关性,cTnT 在临床上心肌损伤的金标准,HFABP 可能具有更高的灵敏性。因此,hESC 诱导分化的心肌细胞更适合药物心脏毒性的体外实验。

#### 4.2 人胚胎干细胞诱导分化的肝细胞在肝毒理学研究中的应用

药物性肝损伤(drug-induced liver injury, DILI)是临床常规治疗中出现的一种严重的并发症,也是药物频繁撤市的主要原因。在近期的一次 DILI 调查中,已批准的 298 种药品被确定具有导致肝损伤的副作用。其中 265 种药物与急性肝衰竭有关,6 种无论是在美国还是欧洲都已被暂停销售或撤市<sup>[22]</sup>。另外,一些中草药也具有广泛的肝毒性,如雷公藤<sup>[23]</sup>。药物及其代谢产物诱发肝毒性的机制主要包括抑制线粒体功能<sup>[24-25]</sup>、破坏细胞内稳态、激活细胞凋亡、氧化应激、抑制特定的酶或者转运蛋白,尤其是胆汁酸转运蛋白以及活性代谢产物的形成,可能会导致直接的毒性或免疫原性。虽然有些 DILI 在临床前的动物实验可以被检测到,但大部分 DILI 在人身上很少发生,部分肝毒性只有在上市后经过长时间的使用后被发现,且没有明显的剂量依赖关系。因此,急需建立模拟人肝细胞的体外毒性实验系统,即建立基于 hESC 诱导分化肝细胞的毒性筛选模型。

Hengstler 等<sup>[26]</sup> 提出,hESC 诱导分化的肝细胞在具有以下功能特性后才能定义为真正的肝细胞,这些功能特性主要表现为代谢外源化合物和内源性物质:合成和分泌白蛋白、凝血因子、补体、转运蛋白、胆汁、脂类和脂蛋白;储存葡萄糖(糖原)、脂溶性维生素 A、维生素 D、维生素 E 和维生素 K,叶酸,维生素  $B_{12}$ 、铜和铁。近年来,分析 hESC 诱导分化肝细胞特征主要包括形态学、超微结构特征、基因表达和功能特征<sup>[27]</sup>。形态学分析显示,hESC 诱导分化肝细胞的细胞核为多边形和不同的圆形,以及肝细胞特定的超微结构特征,如核仁显著、发达的高尔基体、丰富的线粒体和溶酶体,糖原颗粒、粗面内质网和滑面内质网、胆汁淤积等<sup>[28-33]</sup>。在肝中,药物主要由 I 相和 II 相酶代谢。大量研究表明,DILI 主要是由 CYP3A 酶家族产生的活性代谢产物造成的。因此,hESC 诱导分化肝细胞应用于药物早期筛选关键是 CYP3A 家族酶活性,且在体内药物主要是由 CYP3A4 代谢,但是没有研究表明 hESC 诱导分化的肝细胞与原代培养肝细胞的 CYP 酶活性相似。Ulvestad 等<sup>[14]</sup> 研究表明,hESC 诱导分化肝细胞在培养 48 h 后 CYP3A 酶的活性

与原代培养肝细胞的 CYP3A 酶活性相似。更重要的是, hESC 诱导分化肝细胞的 CYP3A 酶活性稳定时间至少 >1 周, 而原代培养肝细胞的 CYP3A 酶活性在 48 h 后开始下降, 可见 hESC 诱导分化的肝细胞允许给药 >1 周, 且具有药物主要体内代谢酶, 因此, hESC 诱导分化的肝细胞具有支持长期体外毒性实验的潜力。hESC 的自我增殖和复制能力为实验研究提供了取之不竭的资源, 它是人源性且可来源于患者, 构建疾病模型, 有效避免了种属差异, 以及健康状态与疾病状态下的差异, 具有更高的临床相关性; 减少实验动物使用量, 符合“减少、替代、优化”原则。

目前, hESC 诱导分化肝细胞的新陈代谢能力、外源化合物 I 相和 II 相代谢酶表达以及等离子体转运蛋白水平和肝、体外培养的原代肝细胞近似<sup>[34]</sup>。因此, hESC 诱导分化的肝细胞模型可在药物研发早期识别引起肝损伤的化合物, 但目前仅极少数研究机构有能力生产足够多的、有质量保证的肝细胞进行大型的、严谨的研究。所以, hESC 诱导分化的肝细胞在毒理学评价中仍处于起步阶段。欧洲委员会和欧洲联盟制药企业提出的“创新药物引起的肝损伤”的倡议, 在未来几年内, 将有可能促进 hESC 诱导分化的肝细胞在新药研发中的运用。然而, 下一阶段的验证研究则是一个大型跨学科项目, 涉及到 hESC 诱导分化肝细胞的生产商、毒理学家、生物统计学家以及制药公司和监管机构。

## 5 展望

近年来, 人们逐渐认识到 hECS 在药物研发和毒理学中广阔的应用前景。hECS 的无限增殖、同源性、可分化为任一细胞的特性, 为药物的安全性评价提供了丰富的资源, 克服了由动物实验推向人的种属差异性。细胞实验周期短、用药量少, 大大减少了药物安全评价中的人力物力, 降低了药物研发过程中的实验成本。但同时, 仍有许多问题需要解决。例如提出高效、定向分化为特异性细胞类型的实验方案, 细胞的大规模扩增平台, 提高 hECS 向心肌细胞分化的纯度和效率, 建立一项经过验证的 hECS 向肝细胞分化的实验方案等。综上所述, 虽然 hECS 技术仍存在许多瓶颈, 但它巨大的应用前景必将推动相关领域的发展。

## 参考文献:

- [1] Anon. Teratology Society position paper: recommendations for vitamin A use during pregnancy [J]. *Teratology*, 1987, **35**(2):269-275.
- [2] Makori N, Peterson PE, Hendrickx AG. 13-Cis-retinoic acid causes patterning defects in the early embryonic rostral hindbrain and abnormal development of the cerebellum in the macaque [J]. *Teratology*, 2001, **63**(2):65-76.
- [3] Nau H. Correlation of transplacental and maternal pharmacokinetics of retinoids during organogenesis with teratogenicity [J]. *Methods Enzymol*, 1990, **190**:437-448.
- [4] Nau H. Embryotoxicity and teratogenicity of topical retinoic acid [J]. *Skin Pharmacol*, 1993, **6**(Suppl 1):35-44.
- [5] Tzimas G, Sass JO, Wittfoht W, Elmazar MM, Ehlers K, Nau H. Identification of 9,13-dicis-retinoic acid as a major plasma metabolite of 9-cis-retinoic acid and limited transfer of 9-cis-retinoic acid and 9,13-dicis-retinoic acid to the mouse and rat embryos [J]. *Drug Metab Dispos*, 1994, **22**(6):928-936.
- [6] Khan JM, Lyon AR, Harding SE. The case for induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes in pharmacological screening [J]. *Br J Pharmacol*, 2013, **169**(2):304-317.
- [7] Jensen J, Hyllner J, Björquist P. Human embryonic stem cell technologies and drug discovery [J]. *J Cell Physiol*, 2009, **219**(3):513-519.
- [8] Spivakov M, Fisher AG. Epigenetic signatures of stem-cell identity [J]. *Nat Rev Genet*, 2007, **8**(4):263-271.
- [9] Gearhart J. New potential for human embryonic stem cells [J]. *Science*, 1998, **282**(5391):1061-1062.
- [10] van der Kooy D, Weiss S. Why stem cells? [J]. *Science*, 2000, **287**(5457):1439-1441.
- [11] Snir M, Kehat I, Gepstein A, Coleman R, Itskovitz-Eldor J, Livne E, et al. Assessment of the ultrastructural and proliferative properties of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003, **285**(6):H2355-H2363.
- [12] Lieu DK, Fu JD, Chiamvimonvat N, Tung KC, McNerney GP, Huser T, et al. Mechanism-based facilitated maturation of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes [J]. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2013, **6**(1):191-201.
- [13] Sivertsson L, Synnergren J, Jensen J, Björquist P, Ingelman-Sundberg M. Hepatic differentiation and maturation of human embryonic stem cells cultured in a perfused three-dimensional bioreactor

[1] Anon. Teratology Society position paper: recom-

- [J]. *Stem Cells Dev*, 2013, **22**(4):581-594.
- [14] Ulvestad M, Nordell P, Asplund A, Rehnström M, Jacobsson S, Holmgren G, *et al*. Drug metabolizing enzyme and transporter protein profiles of hepatocytes derived from human embryonic and induced pluripotent stem cells[J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, **86**(5):691-702.
- [15] Stummann TC, Beilmann M, Duker G, Dumotier B, Fredriksson JM, Jones RL, *et al*. Report and recommendations of the workshop of the European Centre for the Validation of Alternative Methods for Drug-Induced Cardiotoxicity[J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2009, **9**(3):107-125.
- [16] Olson H, Betton G, Robinson D, Thomas K, Monro A, Kolaja G, *et al*. Concordance of the toxicity of pharmaceuticals in humans and in animals[J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2000, **32**(1):56-67.
- [17] Pugsley MK, Authier S, Curtis MJ. Back to the future: Safety pharmacology methods and models in 2013[J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2013, **68**(1):1-6.
- [18] Jonsson MK, Duker G, Tropp C, Andersson B, Sartipy P, Vos MA, *et al*. Quantified proarrhythmic potential of selected human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes[J]. *Stem Cell Res*, 2010, **4**(3):189-200.
- [19] Peng S, Lacerda AE, Kirsch GE, Brown AM, Bruning-Wright A. The action potential and comparative pharmacology of stem cell-derived human cardiomyocytes[J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2010, **61**(3):277-286.
- [20] Himmel HM. Drug-induced functional cardiotoxicity screening in stem cell-derived human and mouse cardiomyocytes: effects of reference compounds[J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2013, **68**(1):97-111.
- [21] Andersson H, Steel D, Asp J, Dahlenborg K, Jonsson M, Jeppsson A, *et al*. Assaying cardiac biomarkers for toxicity testing using biosensing and cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells[J]. *J Biotechnol*, 2010, **150**(1):175-181.
- [22] Suzuki A, Andrade RJ, Björnsson E, Lucena MI, Lee WM, Yuen NA, *et al*. Drugs associated with hepatotoxicity and their reporting frequency of liver adverse events in Vigibase: unified list based on international collaborative work [J]. *Drug Saf*, 2010, **33**(6):503-522.
- [23] Seeff LB. Herbal hepatotoxicity[J]. *Clin Liver Dis*, 2007, **11**(3):577-596, vii.
- [24] Russmann S, Kullak-Ublick GA, Grattagliano I. Current concepts of mechanisms in drug-induced hepatotoxicity [J]. *Curr Med Chem*, 2009, **16**(23):3041-3053.
- [25] Chalasani N, Björnsson E. Risk factors for idiosyncratic drug-induced liver injury[J]. *Gastroenterology*, 2010, **138**(7):2246-2259.
- [26] Hengstler JG, Brulport M, Schormann W, Bauer A, Hermes M, Nussler AK, *et al*. Generation of human hepatocytes by stem cell technology: definition of the hepatocyte[J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2005, **1**(1):61-74.
- [27] Sancho-Bru P, Najimi M, Caruso M, Pauwelyn K, Cantz T, Forbes S, *et al*. Stem and progenitor cells for liver repopulation: can we standardise the process from bench to bedside? [J]. *Gut*, 2009, **58**(4):594-603.
- [28] Baharvand H, Hashemi SM, Kazemi Ashtiani S, Farrokhi A. Differentiation of human embryonic stem cells into hepatocytes in 2D and 3D culture systems *in vitro*[J]. *Int J Dev Biol*, 2006, **50**(7):645-652.
- [29] Baharvand H, Hashemi SM, Shahsavani M. Differentiation of human embryonic stem cells into functional hepatocyte-like cells in a serum-free adherent culture condition [J]. *Differentiation*, 2008, **76**(5):465-477.
- [30] Shiraki N, Umeda K, Sakashita N, Takeya M, Kume K, Kume S. Differentiation of mouse and human embryonic stem cells into hepatic lineages [J]. *Genes Cells*, 2008, **13**(7):731-746.
- [31] Basma H, Soto-Gutiérrez A, Yannam GR, Liu L, Ito R, Yamamoto T, *et al*. Differentiation and transplantation of human embryonic stem cell-derived hepatocytes [J]. *Gastroenterology*, 2009, **136**(3):990-999.
- [32] Pei H, Yang Y, Xi J, Bai Z, Yue W, Nan X, *et al*. Lineage restriction and differentiation of human embryonic stem cells into hepatic progenitors and zone 1 hepatocytes[J]. *Tissue Eng Part C Methods*, 2009, **15**(1):95-104.
- [33] Sasaki K, Ichikawa H, Takei S, No HS, Tomotune D, Kano Y, *et al*. Hepatocyte differentiation from human ES cells using the simple embryoid body formation method and the staged-additional cocktail[J]. *Sci World J*, 2009, **9**:884-890.
- [34] Yoshie S, Ito J, Shirasawa S, Yokoyama T, Fujimura Y, Takeda K, *et al*. Establishment of novel detection system for embryonic stem cell-derived hepatocyte-like cells based on nongenetic manipulation with indocyanine green [J]. *Tissue Eng Part C Methods*, 2012, **18**(1):12-20.

## Application of human embryonic stem cells in study of drug-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity

WANG Shu-yan<sup>1</sup>, WANG Xi-jie<sup>1</sup>, HU Xiao-min<sup>2</sup>, MA Jing<sup>1</sup>

(1. Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, National Shanghai Center for New Drug Safety Evaluation & Research, State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203, China;  
2. Center for Drug Evaluation, State Food and Drug Administration, Beijing 100038, China)

**Abstract:** Human embryonic stem cells (hESC), characterized by unique capacities of self-renewal and differentiation into cardiomyocytes and hepatocytes, can be used in new drug screening and drug safety evaluation processes. Cardiotoxicity and hepatotoxicity are major obstacles to development and marketing of new drugs. hESC-derived cardiomyocytes and hepatocytes have structural and functional characteristics, which can be used for cardiotoxicity and hepatotoxicity testing *in vitro* and for building a drug safety evaluation system *in vitro* that has the advantage of short experiment cycles, small dose, low cost and few species differences. hESC-derived cardiomyocytes and hepatocytes have broad prospects of application in toxicology.

**Key words:** human embryonic stem cells; cardiotoxicity; hepatotoxicity; safety evaluation

**Foundation item:** The project supported by National Science and Technology Major Project of China (2012ZX09302002); and Shanghai Science and Technology Project(13140900900)

**Corresponding author:** MA Jing, E-mail: jma@ncdser.com, Tel: (021)50801763

(收稿日期: 2013-08-29 接受日期: 2014-04-02)

(本文编辑: 付良青 乔虹)