

人类多能与全能干细胞特征及体外胚胎模型研究进展

谭亚超¹ 刘丽² 高帅² 邸科前¹

【摘要】 人类多能干细胞与全能干细胞是研究早期胚胎发育的重要体外模型。不同发育潜能的干细胞在模拟胚胎发育过程、构建类胚胎模型及研究胚内外谱系分化方面展现出独特优势。本文总结近年来多能性与全能性干细胞领域的研究进展,从不同多能状态干细胞系的相继建立,到具有胚内及胚外发育潜能的全能性相关细胞模型的成功捕获,回顾体外干细胞模型从多能性向全能性回溯的研究历程。从建系方法、分子特征及发育潜能3个维度,比较不同状态干细胞的异同,并探讨基于这些模型构建的类囊胚和着床后胚胎样结构在模拟早期发育中的应用价值。

【关键词】 多能干细胞; 全能干细胞; 发育潜能; 体外胚胎模型; 多能性; 调控

Progress in human pluripotent and totipotent stem cell characteristics and *in vitro* embryo models Tan Yachao¹, Liu Li², Gao Shuai², Di Keqian¹. ¹School of Basic Medical Sciences, Hebei University, Baoding 071007, China; ²College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100080, China
Corresponding author: Di Keqian, Email: 56788604@qq.com; Gao Shuai, Email: gaoshuai@cau.edu.cn

【Abstract】 Human pluripotent and totipotent-like stem cells serve as crucial *in vitro* models for investigating early embryonic development. Stem cells with distinct developmental potentials exhibit unique advantages in simulating embryonic development, constructing embryo-like models, and exploring the differentiation of embryonic and extraembryonic lineages. This review summarizes recent research advances in the fields of pluripotent and totipotent stem cells, outlining progress in converting stem cell models from pluripotency toward totipotency *in vitro*, ranging from the successive establishment of stem cell lines with different pluripotent states to the successful capture of totipotency-related cell models possessing both embryonic and extraembryonic developmental potentials. Furthermore, it compares the similarities and differences among stem cells in various states from three dimensions: establishment methodologies, molecular characteristics, and developmental potentials, and discusses the application value of blastoids and post-implantation embryo-like structures derived from these models in simulating early developmental processes.

【Key words】 Pluripotent stem cells; Totipotent stem cells; Developmental potential; *In vitro* embryo models; Pluripotency; Regulation

人类胚胎发育始于一个全能性的受精卵,具有产生所有胚胎和胚外组织的能力。随着发育进程,受精卵经历连续的细胞分裂,产生2细胞、4细胞和8细胞胚胎,随后经历压实形成桑椹胚,并启动第一次谱系分化,形成由内细胞团和滋养层外胚层组成的囊胚。在植入之前,胚胎经历第二次谱系分化,产生外胚层、原始内胚层和滋养层外胚层^[1]。在这一系列发育事件中,胚胎细胞的发育潜能逐渐受限,由全能性逐步转变为多能性^[2]。然而,人类早期胚胎发育的体内研究

受到伦理约束和技术瓶颈的限制,因此干细胞成为追溯体内早期胚胎发育轨迹的重要体外模型。

自1998年首次分离出人类胚胎干细胞以来,研究者不断优化培养条件,逐步建立对应于不同发育阶段的多能性干细胞系^[3]。根据发育潜能由高到低,人多能干细胞(human pluripotent stem cells, hPSCs)可被划分为初始态(Naïve)、形成态(formative)和始发态(primed)三种状态。随后,多种具有全能性特征的干细胞成功在体外培养,包括人扩展多能干细胞(human extended pluripotent stem cells, hEPSCs)、8-细胞样细胞(8-cell-like cells, 8CLCs)和人全能性卵裂球样细胞(human totipotent blastomere-like cells, hTBLCs)。

体内发育过程中,细胞的发育潜能由全能性逐渐下降为多能性;而体外研究则沿着相反的路径,从多能性干细胞

DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2026.03.007

基金项目: 国家重点研发计划(2024YFA1802400)

作者单位: 710007 保定,河北大学基础医学院¹; 100080 北京,中国农业大学动物科学技术学院²

通信作者: 邸科前, Email: 56788604@qq.com; 高帅, Email: gaoshuai@cau.edu.cn

出发,逐步向全能性干细胞回溯,力求在培养皿中重现早期胚胎的发育轨迹。本文将从建系方法、分子特征及发育潜能3个维度,比较三种多能性状态的干细胞以及以hPSCs、8CLCs和hTBLCs为代表的全能性干细胞模型,总结其研究进展与应用前景,以期深入理解人类早期胚胎发育调控机制及体外重构发育潜能提供参考。

1 hPSCs的多能性状态

hPSCs的多能性是一个动态的连续状态^[4],根据其在胚胎发育中所对应的阶段、分子特征和发育潜能,hPSCs被划分为不同的多能性状态。

1.1 Naïve多能性状态

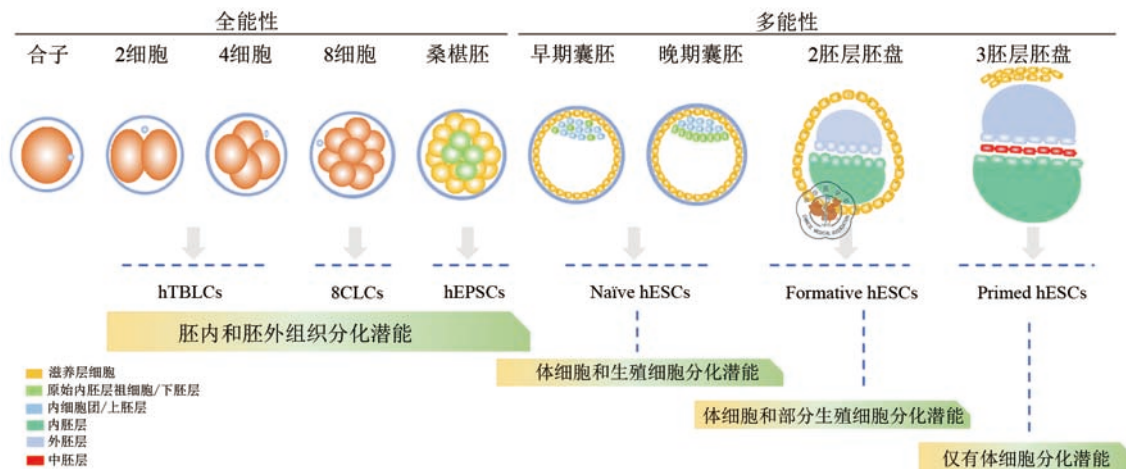
与小鼠胚胎干细胞呈现穹顶状形态、具有Naïve多能性特征不同,早期建立的hPSCs更类似于Primed多能性状态,表现为扁平的上皮样集落。在小鼠中有效的Naïve诱导体系(2iLIF)无法支持人Naïve干细胞的建立。人Naïve样多能干细胞早期通过在成纤维细胞中过表达OCT4、SOX2、NANOG、LIN28获得,采用含人源白血病抑制因子,添加丝裂原活化蛋白激酶、糖原合成酶激酶3与活化素受体样激酶5特异性抑制剂的培养基^[5]。随后,通过在成纤维细胞或常规hPSCs中过表达外源转录因子和调控关键信号通路等方法,研究者们相继开发多种诱导方案,包括PXGL、5iLAF、ReST、NHSM、HENSM、4CL、2a2iL、LIF-3i、t2iLGö、t2iLGöY、3iL和LAY^[6-14]。这些已建立的Naïve hPSCs在形态上呈现典型的穹顶状集落(表1),转录组特征与植入前上胚层细胞相似:REX1、KLF2、KLF17和DPPA3等Naïve标志物表达上调,而OTX2和SOX11等谱系特异性基因表达下调^[15-16]。在表观遗传特征方面,这些细胞表现出X染色体再激活、全基因组DNA去甲基化、H3K27me3和H3K9me3修饰水平降低等特征。不同的培养方案所产生的细胞系在关键生物学特性上存在显著差异。例如,在5iLAF体系中

培养的细胞更容易出现染色体非整倍性,并伴随印记基因区域的甲基化丢失^[6];而NHSM等体系培养的细胞则表现出更高的基因组和表观遗传稳定性^[17]。Naïve状态干细胞在发育潜能上处于更为原始的分化阶段。相较于Primed状态干细胞,Naïve状态干细胞不仅保留向外胚层、中胚层和内胚层衍生细胞分化的能力,还具备分化为胚外组织(如滋养层细胞)的潜能,且Naïve状态干细胞在囊胚注射实验中可实现较高比例的生殖系嵌合^[18-20]。多项研究表明,仅有Naïve状态的干细胞能够在体外条件下自组织形成类囊胚样结构^[18-20]。

Naïve hPSCs培养体系的相继开发,推动对人植入前囊胚的理解进一步加深。然而不同培养条件导致的细胞状态出现一定差异,揭示当前领域内缺乏统一的标准。因此,建立标准化的诱导和鉴定方案,对于确保研究的可重复性和可比性至关重要。

1.2 Formative多能性状态

在体外诱导Primed状态干细胞向Naïve状态的转变过程中,存在一个关键的中间阶段,即Formative状态(表1)。通过抑制Naïve hPSCs的WNT和视黄酸信号通路可获得Formative hPSCs,其细胞呈紧密排列的上皮样结构,分子特征接近于植入后的上胚层^[21]。而在Primed hPSCs中激活成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)和WNT/β-catenin信号通路获取的Formative hPSCs,其细胞形态呈现出玫瑰花环状结构,转录组分子特征与人E8胚胎的上胚层细胞相似(图1)^[22]。这类细胞表现出Naïve状态标记物KLF4、KLF17和TFCP2L1的下调,以及Primed标记物如SOX1和OTX2的上调,同时高表达Formative状态的标记基因(如SOX12、FZD2),其不仅能在体外快速高效地分化成三胚层细胞,也能高效地贡献到囊胚注射后的嵌合体发育过程中^[21-23]。



注: hTBLCs为人全能性卵裂球样细胞; 8CLCs为8细胞样细胞; hEPSCs为人扩展多能干细胞; Naïve/Formative/Primed hESC为原始态/形成态/始发态的人类胚胎干细胞

图1 干细胞与人类早期胚胎关系

表 1 部分人类多能与全能干细胞类型及核心特征

细胞类型	核心定义	分子表达	细胞来源
Naïve 多能干细胞	转录组与植入前胚胎的上胚层细胞相似,具备无限制的发育潜能,是多能性的最原始状态。可分化为所有体细胞和生殖细胞谱系	高表达: REX1、KLF2、KLF17、DPPA3 低表达: OTX2、SOX11	Primed hPSCs 经外源转录因子过表达/关键信号通路调控诱导获得
Formative 多能干细胞	Naïve 向 primed 的过渡状态,转录组与植入后胚胎上胚层相似,可响应原始生殖细胞诱导、具备嵌合能力、无谱系预启动,是胚胎上胚层启动分化前的关键状态	高表达: SOX12、FZD2 下调: KLF4、KLF17、TFCP2L1 上调: SOX1、OTX2	Naïve hPSC 抑制 WNT/RA 信号通路诱导获得; Primed hPSCs 激活 FGF、TGF- β 和 WNT/ β -catenin 信号通路诱导获得
Primed 多能干细胞	转录组与植入后胚胎上胚层细胞相似,受体外组织诱导信号作用,处于准备分化的状态。分化潜能更偏向体细胞谱系,缺乏生殖系嵌合能	高表达: OTX2、FGF5、SOX11、ZIC3、DUSP6 低表达: OCT4、SOX2、NANOG	常规 hPSCs 培养
扩展多能干细胞 (hEPSCs)	具有分化为胚胎和胚外谱系双向潜能的 hPSCs,是介于多能干细胞和全能干细胞之间的细胞类型	高表达: ZSCAN4、OCT4、SOX2、NANOG	Primed hPSCs 转化获得; 人囊胚在特异性培养基中诱导获得
8 细胞样细胞 (8CLCs)	模拟人类 8 细胞胚胎分子和表观遗传特征的类全能干细胞,展现体外实验性全能性	高表达: DUX4、TPRX1、HERVL、MLT2A1 下调: 核心多能性基因	Naïve hPSC 中天然存在的稀有瞬时亚群; 通过 DUX4 过表达或表观遗传药物 3-去氮腺嘌呤 A 诱导获得
人全能性卵裂球样细胞 (hTBLCs)	经剪接体抑制等方法诱导形成的、呈现前 ZGA 状态的人类全能样干细胞,模拟人类受精卵及 2C-4C 卵裂球特征	高表达: ZBTB16、ZNF337、L1P5、LTR18A 下调: 多能性相关基因 抑制: DUXA/B、TPRX1	hPSCs 经剪接体抑制剂 PlaB 短暂处理, MYCP 培养基中长期培养诱导获得

注: Naïve/Formative/Primed 为原始态/形成态/始发态的多能性状态; hPSCs 为人类多能干细胞; ZGA 为合子基因组激活; PlaB 为普拉地内酯 B; MYCP 为含有 MiH、Y27632、CHIR99021、PlaB 四种小分子的培养液

不同诱导策略所获得的 Formative hPSCs 展现出异质性分子特征,提示 Formative 状态本身可能是一个包含多个功能亚群的动态过程,Formative hPSCs 的成功鉴定与捕获,为人类多能性状态的连续性提供重要实验依据。

1.3 Primed 多能性状态

传统的在 mTeSR1 培养基中培养的 hPSCs,包括人胚胎干细胞^[3]和诱导多能干细胞^[24],呈现扁平的克隆形态,其分子水平更接近于植入后胚胎(约 E7.5)的上胚层细胞(图 1)。这些特征被定义为 Primed 状态(表 1)^[25-27]。Primed 状态的干细胞自我更新主要依赖于 FGF 和 TGF- β 信号通路,其 OCT4、SOX2、NANOG 等核心多能性基因的表达水平低于 Naïve 状态,并且高表达 OTX2、FGF5、SOX11、ZIC3、DUSP6 谱系特异性基因^[6,28-31]。表观遗传层面,Primed 状态全局 DNA 甲基化水平高于 Naïve 态^[25-26]。在雌性 Primed hPSCs 中,X 染色体发生随机失活,核型呈现 Xa/Xi(一条激活、一条异染色质失活)^[32],这种表观重编程标志着基因组稳定性提升,同时限制全能性的回溯。Primed hPSCs 具备向外胚层、中胚层和内胚层衍生细胞定向分化的能力,但其发育潜能主要局限于胚胎组织谱系,而不具备分化为胚外组织的能力。在体外条件下,Primed hPSCs 可通过拟胚体形成实验产生来源于三胚层的细胞类型;在体内移植实验中,其亦可形成包含三胚层衍生组织的畸胎瘤。然而,Primed hPSCs 不仅难以分化为滋养层细胞等胚外谱系细胞,在囊胚嵌合实验中,也不具备向生殖系贡献、形成嵌合胚胎的能力^[33]。

Primed hPSCs 的获得首次实现人类多能性的体外维持,其作为人类早期胚胎发育机制的重要体外模型,为后续

Naïve 等其他多能性状态的研究提供关键参照和重要启发。

2 全能性的探索

捕获具有全能性特征的细胞有助于突破多能干细胞在胚外发育模拟方面的局限。具有胚内外双向分化潜能的 hEPSCs 建立为全能性干细胞建立打下了基础。随后通过筛选并调整小分子组合,建立具有人 8 细胞胚胎特征的 8CLCs 和具有 2-4 细胞胚胎特征的 hTBLCs,这极大推动人全能干细胞的研究进程。不仅为研究早期发育机制提供新的模型,也拓展类胚胎构建能力。

2.1 hEPSCs

hEPSCs 是首类被证实具有胚内和胚外双向分化潜能的人干细胞(表 1)。它们的建立标志着体外细胞潜能的重大扩展。hEPSCs 通常由 Primed hPSCs 转化或囊胚在特定的培养基中诱导而来^[34-36]。这些培养体系的核心策略是使用多种小分子抑制剂,靶向在胚胎第 1 次细胞谱系分化中起决定性作用的信号通路,如 Src 激酶、聚腺苷二磷酸核糖聚合酶、糖原合成酶激酶 3 和丝裂原活化蛋白激酶通路。通过阻断细胞走向分化的路径,从而将其维持在一个更高潜能的未定型状态^[35]。

从分子特征上看,hEPSCs 的转录组与人 E5-E7 胚胎的上胚层细胞相似,但与普通 hPSCs 不同的是,它们上调部分与合子基因组激活(zygotic genome activation, ZGA)相关的基因(如 ZSCAN4)^[37]。尽管如此,hEPSCs 在很大程度上仍保留多能性细胞的基因表达特征,核心多能性因子 OCT4、NANOG 和 SOX2 维持高表达,且全基因组 DNA 甲基化水平较高,这与 Naïve 或全能性细胞的低甲基化状态形成对

比^[35]。hEPSCs在发育潜能上优于传统多能干细胞,具有同时分化为胚胎内源性组织和胚外组织的能力,为构建完整类胚胎结构提供新的研究工具。然而,与真正具备全能性特征的细胞相比,hEPSCs在重现受精后最初几个细胞周期的基因表达谱、染色质状态及发育潜能方面仍存在一定差距,尚不具备完全模拟受精卵至早期卵裂球阶段发育过程的能力。因此,hEPSCs在扩展多能性的基础上,仍需进一步向全能性推进,以更好地服务于类胚胎构建及人早期发育研究。

2.2 8CLCs

在人胚胎发育至8细胞阶段时发生ZGA,这是胚胎从依赖母源物质向自主调控发育转变的关键节点,也是全能性得以体现的重要标志。近年来,研究人员在Naïve hPSCs中发现一小群罕见的、瞬时存在的细胞亚群,其转录组特征与人8细胞胚胎高度相似,因此被命名为8CLCs(表1)^[38-40]。8CLCs的发现为在体外研究人ZGA提供直接模型。其分子标志是激活一整套ZGA特异性的转录程序,包括关键转录因子*DUX4*和*TPRX1*的表达,以及特定转座子(如*HERVL*和*MLT2A1*)的重新激活,同时,核心多能性基因的表达则被下调^[38-40]。这些分离出的8CLCs已展现出发育潜能,它们不仅能自组织形成类囊胚结构,还能在畸胎瘤和跨物种嵌合体实验中分化形成胚内和胚外两种谱系的组织^[23]。这群细胞的比例可以通过多种方式提高,例如过表达*DUX4*或通过表观遗传药物3-去氮腺嘌呤A进行调控^[38]。长散在核元件1转座子家族通过其RNA与多梳抑制复合体2共同维持H3K27me3介导的基因抑制及三维核组织,从而阻止Naïve人胚胎干细胞(human embryonic stem cells, hESCs)向8CLCs逆转^[41]。*OTX2*也被认为是hPSCs向8CLCs和桑椹胚样细胞重编程的关键抑制因子,*OTX2*敲降的8CLC具有更强的双向分化潜能^[42]。

对比hEPSCs和8CLCs诱导策略,揭示2种获取更高潜能细胞的不同思路:hEPSCs的诱导通过抑制分化信号通路阻止细胞做出命运决定,从而维持其高潜能状态。这种方法产生的是一种稳定、可扩增但特异性相对较低的细胞群体;8CLCs的诱导通过*DUX4*过表达或添加表观修饰剂等方式主动触发ZGA,产生一个高度特异但瞬时存在的细胞模型。2种不同的思路成功捕获不同特性的早期胚胎样细胞状态。

2.3 hTBLCs

hEPSCs和8CLCs代表向全能性探索的重要一步,但它们分别在发育潜能的广度和状态的稳定性上存在局限。近期一项突破性进展是成功建立hTBLCs(表1)^[43],这不仅是首个可稳定培养的人全能样细胞系,更重要的是,它所模拟的是比8细胞期更早的、处于ZGA前的全能性状态。

与小鼠TBLCs类似^[44],hTBLCs通过剪接体抑制剂普拉地内酯B(pladienolide B, PlaB)短暂处理hPSCs,随后在MYCP(MiH、Y27632、CHIR99021、PlaB)培养基中长期培养,最终可诱导细胞转变为能够稳定传代的hTBLCs,转录组和表观遗传学特征更接近于人合子或2-4细胞期的卵裂球^[43]。hTBLCs中*DUXA/B*和*TPRX1*等经典ZGA驱动基

因被抑制,同时更彻底地沉默多能性相关基因并激活一些在人合子及早期卵裂球中特异性高表达的基因(如*ZBTB16*、*ZNF337*)和转座子(如*LIP5*、*LTR18A*)^[45]。近期研究发现RNA的m⁶A甲基化修饰通过特异性抑制转座元件的活性是维持细胞多能性的重要机制,当相应的转座元件被激活时则促进细胞向全能性转变^[46]。hTBLCs作为首个可在体外长期稳定培养(传代超过20代)的人全能样细胞,展现迄今最强大的发育潜能,这使其成为模拟人早期胚胎全能性的最佳体外模型。

3 体外胚胎模型

干细胞来源的体外胚胎模型为研究人类早期发育提供重要平台。目前,已建立的基于Naïve hPSCs、hEPSCs、8CLCs和hTBLCs等多种干细胞来源的类囊胚模型,是研究人类早期胚胎发育的重要工具。其中,通过抑制TGF- β 等信号通路,Naïve hPSCs可自组织形成类囊胚^[47-48];hEPSCs可与滋养层样细胞联合构建^[49];而8CLCs和hTBLCs则表现出更高的自组装效率^[39-40,43],特别是hTBLCs无需添加通路抑制剂,仅在胚胎培养基中即可形成细胞构成高度近似人囊胚的类囊胚结构,提示越接近体内全能性状态的干细胞,越易生成与天然胚胎相似的结构。功能验证表明,类囊胚可重现囊胚着床、生长过程,与子宫内膜样器官共培养可模拟着床后发育^[50]。然而,单细胞转录组分析显示,类囊胚中滋养层样细胞与羊膜外胚层细胞更为相似,且存在标志物异常表达,提示当前模型与人囊胚仍存在功能差异,需进行严格的基准比较^[51]。这些差异的发现,为利用干细胞模型重新审视体内囊胚中细胞类型的精确界定提供重要线索,体现多能及全能干细胞在反哺体内机制研究中的核心作用。

目前,研究者已通过多种策略成功构建干细胞来源着床后模型,成为替代获取困难人类着床后样本的重要工具。在二维培养体系中,通过微图案调控细胞空间分布并激活骨形态发生蛋白4信号,可诱导hESCs形成从中心到周边依次分化为外胚层、中胚层、内胚层和滋养层的组织样结构,重现原肠胚阶段的细胞空间组织特征^[52]。在三维培养体系中,hESCs可自组装形成羊膜囊样不对称结构,羊膜样细胞与滋养层样细胞分居两侧;通过形成hESCs球体再转入Geltrex基质诱导,可获得效率约50%的原肠胚前胚胎样组织^[53]。此外,利用hEPSCs和Naïve hPSCs自组装形成的原肠胚样模型,有效重现着床后发育过程及细胞间相互作用,为研究轴线形成和原肠运动等关键事件提供重要工具^[54]。然而,当前模型仍存在局限:部分模型缺乏滋养层细胞和绒毛膜腔;不同细胞系间形成效率差异大;培养时间通常局限于11~13d,之后发育停滞。干细胞模型在揭示这些局限的同时,也为深入理解体内着床后发育的调控机制提供新的研究切入点,进一步彰显体外模型对体内发育研究的推动作用。

4 总结与展望

从多能性连续谱的精细划分,到hEPSCs、8CLCs的相继

发现,再到可稳定传代 hTBLCs 的成功捕获,一套从多能性到全能性的体外干细胞模型体系已初步构建。这些模型为在培养皿中重现人类早期胚胎发育过程提供基础,得以绕过伦理和技术限制,直接观察和干预那些在体内难以触及的发育事件。体外干细胞研究的核心价值,不仅在于模拟体内发育过程,更在于通过对体外模型的系统解析,反哺并深化对体内发育机制的理解。一方面,不同多能性状态干细胞的建系与分子特征分析,为体内胚胎发育过程中细胞状态的转变提供参照坐标。例如,Naïve、Formative、Primed 三种多能态的先后建立,清晰地勾勒出从着床前到着床后上胚层细胞状态转变的分子轨迹,而 8CLCs 和 hTBLCs 的捕获则分别对应 ZGA 前后 2 个关键发育节点的体外再现。另一方面,基于这些干细胞构建的类囊胚和着床后胚胎模型,在揭示细胞谱系分化、形态发生及胚胎-母体互作等关键发育事件的同时,其与天然胚胎的差异为验证体内机制、揭示发育规律提供关键线索,并指出新的研究方向。

尽管取得上述进展,从多能性到全能性的体外研究仍面临诸多挑战。在细胞状态稳定性方面,不同模型在稳定性与发育潜能之间难以平衡,部分模型呈瞬时存在难以长期传代,而可稳定扩增的模型则可能保留大量多能性基因表达,未完全脱离多能特征。在发育潜能上,现有模型尚不能完全复刻天然胚胎从全能性到多能性的完整发育程序,尤其是在模拟早期关键事件及特定谱系分化效率方面仍存在不足。在分子特征层面,各类细胞与天然胚胎在关键调控因子的表达谱、表观遗传修饰状态等方面仍存在显著差异。此外,不同诱导方法(小分子组合、信号通路调控策略)的异质性,也导致细胞模型标准化困难,限制研究结果的可比性和可重复性。过去,在单细胞测序、空间转录组和表观遗传测序等高通量技术的推动下,多能性与全能性相关细胞模型的转录组图谱、表观遗传特征及发育谱系已得到初步解析。未来,人工智能的发展将进一步加速多能性及全能性模型的开发与应用。人工智能在生物医学研究领域已展现出在数据分析、预测建模和自动化能力方面的独特优势,将人工智能开发的大数据模型与人体内复杂的生物数据相结合,有望实现从体外模型到体内机制的快速映射,从而更高效地揭示早期胚胎发育的核心规律^[55]。

胚胎模型研究的下一前沿或将是构建更接近子宫微环境的培养体系,并深入研究其与子宫内膜的相互作用。目前,除人类外,尚无法规禁止将非人类胚胎模型移植入活体动物,但此类操作若导致活产可能引发伦理争议。因此,未来涉及胚胎模型的研究必须谨慎推进,在推动技术创新的同时,同步建立完善的伦理规范与安全评估体系,以期为再生医学和生殖健康研究提供新的理论支撑。

参 考 文 献

- 1 Plusa B, Piliszek A. Common principles of early mammalian embryo self-organisation[J]. *Development*, 2020, 147(14):dev183079.
- 2 Iwamoto-Stohl LK, Petelski AA, Quan B, et al. Fertilization triggers

- early proteomic symmetry breaking in mammalian embryos[J]. *Cell*, 2025, 188(26):7428-7444.e21.
- 3 Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts[J]. *Science*, 1998, 282(5391):1145-1147.
- 4 Du P, Wu J. Hallmarks of totipotent and pluripotent stem cell states[J]. *Cell Stem Cell*, 2024, 31(3):312-333.
- 5 Li W, Wei W, Zhu S, et al. Generation of rat and human induced pluripotent stem cells by combining genetic reprogramming and chemical inhibitors[J]. *Cell Stem Cell*, 2009, 4(1):16-19.
- 6 Theunissen TW, Powell BE, Wang H, et al. Systematic identification of culture conditions for induction and maintenance of naïve human pluripotency[J]. *Cell Stem Cell*, 2014, 15(4):524-526.
- 7 Chan YS, Göke J, Ng JH, et al. Induction of a human pluripotent state with distinct regulatory circuitry that resembles preimplantation epiblast[J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 13(6):663-675.
- 8 Ware CB, Nelson AM, Mecham B, et al. Derivation of naïve human embryonic stem cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(12):4484-4489.
- 9 Duggal G, Warriar S, Ghimire S, et al. Alternative routes to induce naïve pluripotency in human embryonic stem cells[J]. *Stem Cells*, 2015, 33(9):2686-2698.
- 10 Zimmerlin L, Park TS, Huo JS, et al. Tankyrase inhibition promotes a stable human naïve pluripotent state with improved functionality[J]. *Development*, 2016, 143(23):4368-4380.
- 11 Szczerbinska I, Gonzales KAU, Cukuroglu E, et al. A chemically defined feeder-free system for the establishment and maintenance of the human naïve pluripotent state[J]. *Stem Cell Reports*, 2019, 13(4):612-626.
- 12 Taei A, Kiani T, Taghizadeh Z, et al. Temporal activation of LRH-1 and RAR- γ in human pluripotent stem cells induces a functional naïve-like state[J]. *EMBO Reports*, 2020, 21(10):e47533.
- 13 Bayerl J, Ayyash M, Shani T, et al. Principles of signaling pathway modulation for enhancing human naïve pluripotency induction[J]. *Cell Stem Cell*, 2021, 28(9):1549-1565.e12.
- 14 Bi Y, Hu J, Wu T, et al. Optimized derivation and culture system of human naïve pluripotent stem cells with enhanced DNA methylation status and genomic stability[J]. *Protein Cell*, 2025, 16(10):858-872.
- 15 Guo G, von Meyenn F, Santos F, et al. Naïve pluripotent stem cells derived directly from isolated cells of the human inner cell mass[J]. *Stem Cell Reports*, 2016, 6(4):437-446.
- 16 Yoneyama Y, Zhang RR, Maezawa M, et al. Intercellular mRNA transfer alters the human pluripotent stem cell state[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2025, 122(4):e2413351122.
- 17 Gafni O, Weinberger L, Mansour AA, et al. Derivation of novel human ground state naïve pluripotent stem cells[J]. *Nature*, 2013, 504(7479):282-286.
- 18 Rostovskaya M, Stirparo GG, Smith A. Capacitation of human naïve pluripotent stem cells for multi-lineage differentiation[J]. *Development*, 2019, 146(7):dev172916.
- 19 Io S, Kabata M, Iemura Y, et al. Capturing human trophoblast development with naïve pluripotent stem cells *in vitro*[J]. *Cell Stem Cell*, 2021, 28(6):1023-1039.e13.
- 20 Sasaki H, Sasaki I, Nichols J, et al. Generation of blastoids from human naïve pluripotent stem cells[J]. *Methods Mol Biol*, 2025.
- 21 Kinoshita M, Barber M, Mansfield W, et al. Capture of mouse and human stem cells with features of formative pluripotency[J]. *Cell Stem Cell*, 2021, 28(3):453-471.e8.

- 22 Yu L, Wei Y, Sun HX, et al. Derivation of intermediate pluripotent stem cells amenable to primordial germ cell specification[J]. *Cell Stem Cell*, 2021, 28(3):550-567.e12.
- 23 Yoshihara M, Kere J. Transcriptomic differences between human 8-cell-like cells reprogrammed with different methods[J]. *Stem Cell Reports*, 2023, 18(8):1621-1628.
- 24 Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors[J]. *Cell*, 2007, 131(5):861-872.
- 25 Brons I GM, Smithers LE, Trotter MWB, et al. Derivation of pluripotent epiblast stem cells from mammalian embryos[J]. *Nature*, 2007, 448(7150):191-195.
- 26 Tesar PJ, Chenoweth JG, Brook FA, et al. New cell lines from mouse epiblast share defining features with human embryonic stem cells[J]. *Nature*, 2007, 448(7150):196-199.
- 27 Vallier L, Alexander M, Pedersen RA. Activin/Nodal and FGF pathways cooperate to maintain pluripotency of human embryonic stem cells[J]. *J Cell Sci*, 2005, 118(Pt 19):4495-4509.
- 28 Ludwig TE, Levenstein ME, Jones JM, et al. Derivation of human embryonic stem cells in defined conditions[J]. *Nat Biotechnol*, 2006, 24(2):185-187.
- 29 Reubinoff BE, Pera MF, Fong CY, et al. Embryonic stem cell lines from human blastocysts: somatic differentiation *in vitro*[J]. *Nat Biotechnol*, 2000, 18(4):399-404.
- 30 Guo G, von Meyenn F, Rostovskaya M, et al. Epigenetic resetting of human pluripotency[J]. *Development*, 2017, 144(15): 2748-2763.
- 31 Yoo DH, Im YS, Oh JY, et al. DUSP6 is a memory retention feedback regulator of ERK signaling for cellular resilience of human pluripotent stem cells in response to dissociation[J]. *Sci Rep*, 2023,13(1):5683.
- 32 Silva SS, Rowntree RK, Mekhoubad S, et al. X-chromosome inactivation and epigenetic fluidity in human embryonic stem cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(12):4820-4825.
- 33 Varzideh F, Gambardella J, Kansakar U, et al. Molecular mechanisms underlying pluripotency and self-renewal of embryonic stem cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(9):8386.
- 34 Liu B, Chen S, Xu Y, et al. Chemically defined and xeno-free culture condition for human extended pluripotent stem cells[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1):3017.
- 35 Yang Y, Liu B, Xu J, et al. Derivation of pluripotent stem cells with *in vivo* embryonic and extraembryonic potency[J]. *Cell*, 2017,169(2):243-257.e25.
- 36 Chen ACH, Lee YL, Ruan H, et al. Expanded potential stem cells from human embryos have an open chromatin configuration with enhanced trophoblast differentiation ability[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2023, 10(11): e2204797.
- 37 Ruan D, Chen ACH, Tam TTKK, et al. Establishment of human expanded potential stem cell lines via preimplantation embryo cultivation and somatic cell reprogramming[J]. *Nat Protoc*, 2025, 20(10):2698-2734.
- 38 Taubenschmid-Stowers J, Rostovskaya M, Santos F, et al. 8C-like cells capture the human zygotic genome activation program *in vitro*[J]. *Cell Stem Cell*, 2022, 29(3):449-459.e6.
- 39 Yu X, Liang S, Chen M, et al. Recapitulating early human development with 8C-like cells[J]. *Cell Rep*, 2022, 39(12):110994.
- 40 Mazid MA, Ward C, Luo Z, et al. Rolling back human pluripotent stem cells to an eight-cell embryo-like stage[J]. *Nature*, 2022, 605(7909):315-324.
- 41 Zhang J, Ateei L, Mittal K, et al. LINE1 and PRC2 control nucleolar organization and repression of the 8C state in human ESCs[J]. *Dev Cell*, 2025, 60(2):186-203.e13.
- 42 Kong X, Jiang N, Chen S, et al. OTX2 inhibits human pluripotent stem cell reprogramming toward 8-cell-like and morula-like states[J]. *Nat Commun*, 2026, 17(1):1685.
- 43 Li S, Yang M, Shen H, et al. Capturing totipotency in human cells through spliceosomal repression[J]. *Cell*, 2024, 187(13):3284-3302.e23.
- 44 Shen H, Yang M, Li S, et al. Mouse totipotent stem cells captured and maintained through spliceosomal repression[J]. *Cell*, 2021, 184(11): 2843-2859.e20.
- 45 Li S, Shen H, Peng B, et al. Exploring the origin of the development: totipotent stem cells[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2025, 94:102377.
- 46 Zhu X, Chang Z, Xiao W, et al. N6-methyladenosine on L1PA governs the trans-silencing of LTRs and restrains totipotency in naïve human embryonic stem cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2025, 32(11):1773-1791.e13.
- 47 Kagawa H, Javali A, Khoei H H, et al. Human blastoids model blastocyst development and implantation[J]. *Nature*, 2022, 601(7894): 600-605.
- 48 Yanagida A, Spindlow D, Nichols J, et al. Naïve stem cell blastocyst model captures human embryo lineage segregation[J]. *Cell Stem Cell*, 2021, 28(6):1016-1022.e4.
- 49 Fan Y, Min Z, Alsolami S, et al. Generation of human blastocyst-like structures from pluripotent stem cells[J]. *Cell Discov*, 2021, 7(1):81.
- 50 Yu L, Logsdon D, Pinzon-Arteaga CA, et al. Large-scale production of human blastoids amenable to modeling blastocyst development and maternal-fetal cross talk[J]. *Cell Stem Cell*, 2023, 30(9):1246-1261.e9.
- 51 Zhao C, Plaza Reyes A, Schell JP, et al. A comprehensive human embryo reference tool using single-cell RNA-sequencing data[J]. *Nat Methods*, 2025, 22(1):193-206.
- 52 Minn KT, Dietmann S, Wayne SE, et al. Gene expression dynamics underlying cell fate emergence in 2D micropatterned human embryonic stem cell gastruloids[J]. *Stem Cell Reports*, 2021, 16(5): 1210-1227.
- 53 Weatherbee BAT, Gantner CW, Iwamoto-Stohl LK, et al. Pluripotent stem cell-derived model of the post-implantation human embryo[J]. *Nature*, 2023, 622(7983):584-593.
- 54 Oldak B, Wildschutz E, Bondarenko V, et al. Complete human day 14 post-implantation embryo models from naïve ES cells[J]. *Nature*, 2023, 622(7983):562-573.
- 55 Marei HE. Smarter stem cells: how AI is supercharging iPSC technology[J]. *Cell Tissue Res*, 2025, 402(3):283-301.

(收稿日期: 2025-11-26)

(本文编辑: 蔡晓珍)

谭亚超, 刘丽, 高帅, 等. 人类多能与全能干细胞特征及体外胚胎模型研究进展 [J/OL]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2026, 16 (3):185-190.