

胚胎干细胞自我复制及亚全能分化特性 维持的分子机制

刘雨潇 吉 蕾 王韞芳 裴雪涛*

(军事医学科学院野战输血医学研究所 干细胞与再生医学研究室, 北京 100850)

摘要 微环境中的各种细胞因子与细胞内的多种转录因子通过一定的信号系统相互作用构成网络, 共同调控胚胎干细胞的自我复制. 本文对维持胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)亚全能分化特性的相关分子、信号通路以及它们的作用方式进行了综述, 探讨了胚胎干细胞自我复制及亚全能分化特性维持的分子机制.

关键词 胚胎干细胞 自我复制 信号网络 分子机制

胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)是从囊胚期的内细胞团(inner cell mass, ICM)和早期胚胎的原始生殖细胞(primordial germ cells, PGCs)中分离得到的具有自我复制能力和多向分化潜能的细胞. 自1981年, Evans等人^[1]建立了第一个小鼠胚胎干细胞系以来, ESCs如何在长时间的培养中维持其亚全能分化特性及自我复制能力成为研究的热点. 目前研究表明: ESCs亚全能分化特性及自我复制能力的维持是一系列特定转录因子通过一定的信号网络系统共同作用的结果. 本文综述了ESCs自我复制及亚全能分化特性维持的最新研究进展, 旨在初步阐明ESCs自我复制及亚全能分化特性维持信号网络的分子机制.

1 维持胚胎干细胞亚全能分化特性的相关分子

维持胚胎干细胞亚全能分化特性的相关分子数目众多、功能复杂, 目前尚未完全阐明. 仅在细胞内转录因子 Oct3/4、同源蛋白转录因子 Nanog 的研究中取得了一定的进展, 证实上述分子在胚胎干细胞亚

全能分化特性维持机制中, 起到了核心作用.

1.1 Oct3/4

Oct3/4 是POU家族的转录因子, 由 *pou5f1* 基因编码, 在早期胚胎发育中起着关键作用, 所表达的蛋白质是细胞全能性的重要标志. 在体内发育过程中, Oct3/4 限制性地表达于卵细胞、早期胚胎卵裂球、囊胚ICM、原始外胚层和PGCs中, 并随着PGCs的迁移在早期性腺中表达^[2]. 在体外, Oct3/4 只在未分化的原始细胞中表达, 当这些细胞向体细胞分化时, Oct3/4 表达下降^[3].

目前, Oct3/4 的功能研究已取得了一定的进展, 通过基因敲除及过表达实验证明了它具有维持ESCs自我复制和促进ESCs分化的双重作用: 缺失Oct3/4基因的ESCs将自发分化为滋养层细胞, 过量表达Oct3/4基因的ESCs则会向原始内胚层细胞分化. 但在撤除外源性抑制因子的情况下, Oct3/4 并不能维持ESCs的未分化状态, 这说明Oct3/4 不能独立维持ESCs的亚全能分化特性^[4].

近年来, 有研究表明Oct3/4 是ESCs亚全能分化

收稿日期: 2006-10-18; 接受日期: 2006-12-11

本工作为国家重点基础研究发展规划项目(批准号: 2005CB522702), 国家高技术研究发展计划领域重大专项(批准号: 2005AA219010), 北京市科委重大项目培育专项(Z0005190043331)资助项目

* 联系人, E-mail: peixt@nic.bmi.ac.cn

特性调控网的重要组成部分^[5]. Oct3/4 可直接与下游基因启动子区的重复序列AGTCAAAT结合, 从而激活或抑制该基因的转录. 此外, 它还可以与某些辅助因子(ELA, Sox-2 和Rox-1)形成异源二聚体来调节下游基因(*Fgf-4*, *Utf-1*, *Opn*, *Zfp42/Rex1*, *ETn052* 等)的表达情况. 在ESCs中Oct3/4 主要通过结合Sox-2 发挥作用. 当Sox-2 表达降低时, 即使Oct3/4 表达正常, ESCs仍然会向胚外外胚层分化^[6,7]. 但关于Oct3/4 的靶基因及其启动的相关辅助因子与结合方式等方面的研究还不够清楚, 有待于进一步的探讨.

1.2 同源蛋白转录因子 Nanog

2003 年, Mitsui等人^[8]在小鼠和人的ESCs中发现的一类新的内源性同源异型蛋白, 命名为“Nanog”. 在体内发育过程中, Nanog主要表达于致密桑葚胚的内部细胞、囊胚ICM、胚胎原条的上胚层及外胚层中, 该表达在形成中胚层和限定性内胚层时下调. 在体外, Nanog表达于ESCs、胚胎生殖细胞以及胚胎癌细胞中, 但在造血干细胞、腔壁内胚层、成纤维细胞、成体组织或分化的ESCs中不表达^[9].

Nanog基因发现时间不长, 但它在ESCs调控中的重要作用已得到证实, 该基因可独立于LIF/gp130 外, 维持ICM和ESCs的多能性. 去除外源性LIF, 持续表达Nanog基因的ESCs仍可保持未分化状态, 而缺失Nanog基因的ESCs将向体壁和脏壁内胚层分化^[8]. 缺失Nanog基因的细胞高表达促分化基因*gata4*, *gata6* 及*Cdx2*^[9,10], 因此, 推测Nanog对促分化基因*gata4*, *gata6* 及*Cdx2*抑制作用是它维持ESCs多能性的关键. 此外, 最新的研究表明Nanog可通过结合Smad1 来抑制BMP诱导的ESCs分化^[11]. 但目前还不能精确阐明Nanog的抑分化的机制, 除*gata4*, *gata6* *Cdx2* 和BMP, Nanog还能通过哪些下游途径维持ESCs的亚全能分化特性, 这将是下一步研究的热点.

2 胚胎干细胞自我复制的信号通路

2.1 LIF/gp130/JAK/STAT3 信号通路

白细胞抑制因子(leukemia inhibitor factor, LIF)是白介素-6 的家族成员, 它是维持小鼠 ESCs 亚全能分化特性的关键因子, 但对人类和其他灵长类 ESCs 多能性的维持作用不明显. LIF 受体(L1FR)广泛分布在体细胞上, 由 L1FRb 和 gp130 组成, LIF 与受体结合后可与 gp130 形成高亲和力的异源二聚体, 活化

JAK家族成员, 并因此激活STAT3, 从而参与ESCs的增殖及分化^[12,13]. STAT3 对ESCs的调节机制具体表现在以下几个方面: (i) STAT3 维持与ESCs多能性有关的特异基因(例如, *Oct3/4* 基因)的表达; (ii) STAT3 可调节ESCs的细胞周期. 对STAT3 突变(STAT-/-)细胞的研究显示, STAT3 可加速细胞周期的进程; (iii) STAT3 抑制指导分化的信号转导蛋白的活性. 活化后的细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)可促进细胞分化, 而通过对多种细胞类型的gp130 检测, 发现STAT3 与ERK 信号存在一种互相拮抗的关系, STAT3 可阻断ERK的活化; (iv) STAT3 可维持Wnt信号通路下游分子——糖原合成酶激酶受体 3 β (glycogen synthase kinase receptor, GSK3 β)依赖性原癌基因 (*Myc*)的转录水平. 而*Myc*的稳定转录是维持小鼠 ESCs自我复制的重要条件.

体外培养加入血清时, LIF/STAT3 活性水平对于维持小鼠 ESCs 未分化状态起决定作用, 这提示LIF/STAT3 途径必须与血清中的某些因子协同才能发挥作用. 但目前尚不能具体阐明这些因子以及它们与 LIF 发生协同的方式. 此外, LIF/STAT3 通路的在体作用还需进一步研究, 因为该通路组分突变小鼠并不出现干细胞障碍.

2.2 Wnt 信号通路

对Wnt信号通路作用机制的研究已取得以下结论: (i) Wnt蛋白介导3种不同的信号通路, 它们分别是 Wnt/ β -catenin, Wnt/ Ca^{2+} 和 Wnt/polarity; (ii) Wnt/ β -catenin通路是调节ESCs发育情况的主要通路, 在该通路中Wnt信号蛋白通过与受体蛋白Frizzled及LRP5/6 结合来离解已经存在的蛋白复合物——APC 蛋白. GSK3 β 及酪蛋白激酶 I (CK I), 使它们失活. 而在生理条件下, GSK3 β 可磷酸化核内的 $\beta 2$ 连环素(catenin $\beta 2$)使它们发生降解. 因此, GSK3 β 的失活就造成了catenin $\beta 2$ 的积累, 核内的catenin $\beta 2$ 可以与转录抑制因子——T细胞因子(T cell factor, TCF)结合, 从而激活了一系列特异序列(*Oct4*, *Nanog*, 分化抑制基因, *Stat3*)的转录, 抑制了ESCs的分化^[14-16]. 最新研究发现, 在无血清培养体系中加入Wnt活化因子后, 活化的Wnt通路可通过促进*Nodal*的表达来维持ESCs的亚分化全能性^[17].

2.3 BMP 信号通路

骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins,

BMPs)是转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF β)家族成员,该家族有4种不同的受体BMPRI α (ALK2, ALK3), BMPRI β (ALK6)和BMPRII, BMPs可与BMPRIa, BMPRII异二聚体结合活化Smad,从而促进抑分化基因(inhibitor of differentiation, Id)的表达^[18].

BMP信号通路对人ESCs和小鼠ESCs的作用完全不同, BMP可通过抑制小鼠ESCs中的ERK和p38来促进Id基因的表达,此外它诱导小鼠ESCs向中胚层及内胚层分化的能力可被LIF/STAT3抑制^[19].因此,在无血清条件下, BMPs和LIF是维持小鼠ES的亚全能特性的主要因子,但它们必须协同发挥作用.与此相反,该通路不能维持人ESCs的亚分化全能性, BMP信号会使人ESCs的Nanog与Oct3/4的表达降低,并向滋养外胚层分化^[20,21].

2.4 FGF 信号通路

成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)是维持人胚胎干细胞亚全能分化特性的最关键因子之一,撤除培养液中的FGF后人胚胎干细胞不再表达TRA-1-60和Oct3/4,迅速发生分化^[22].细胞外基质(extracellular matrix, ECM)对于维持人胚胎干细胞的亚全能分化特性有着极大的作用,加入ECM后,即使在无滋养层的条件下,人胚胎干细胞也能长时间地维持亚全能分化特性^[23].在撤除培养液中的FGF或抑制PI3K/Akt/PKB信号系统后,ECM的表达量会明显减少,人胚胎干细胞将不能继续维持亚全能分化特性^[24].因此,有人认为FGF与其酪氨酸激酶受体可通过激活PI3K/Akt/PKB信号通路来提高ECM分子的表达量,维持人胚胎干细胞的亚全能分化特性.最新的研究表明,FGF还可以通过抑制BMP及MEK/ERK信号通路来维持人胚胎干细胞的未分化状态^[25].

2.5 TGF β /activin/nodal 信号通路

最新研究表明TGF β /activin/nodal信号通路可通过信使SMAD2/3调节人ESCs的自我复制和小鼠囊胚的发育^[26].SMAD2/3位于人ESCs核内,该因子的磷酸化水平影响着Oct3/4及Nanog基因的表达情况.当TGF β 通路被活化时,SMAD2/3发生磷酸化,Oct3/4及Nanog基因高表达.有人认为该通路位于Wnt信号通路下游,必须与Wnt信号通路协同才能维持人ESCs

的亚全能分化特性,但对TGF β /activin/nodal信号通路的研究还不够深入,还不清楚它具体的作用机制.

目前,对人ESCs亚全能分化特性维持的信号通路所知甚少,已证实Wnt蛋白在干细胞分化、调控机制中起着重要的作用^[27].本实验室研究发现,Wnt蛋白可以维持人造血干细胞的增殖,且在人ESCs亚全能分化特性维持中起重要作用,同时在人ESCs的不同培养扩增体系中发现,ESCs自分泌的FGF能维持其亚全能分化特性,目前我们正致力于其作用机制的研究.

3 小 RNA(micro-RNA, miRNA)对胚胎干细胞亚全能分化特性影响

近年来,有研究表明小RNA可维持ESCs亚全能分化特性并调节早期胚胎的发育,缺少miRNA转录调控机制的ESCs不能进行分化,ESCs向造血细胞及神经细胞的分化过程受特定的miRNA调控^[28].对人胚胎干细胞的研究表明,在人胚胎干细胞中存在14条miRNA,它们与Oct3/4, Sox2及Nanog协同作用调节下游基因的表达情况.miRNA主要通过下述方式调节ESCs的亚全能分化特性:(i)诱导靶基因的mRNA发生降解从而抑制靶基因表达;(ii)通过染色体修饰及DNA甲基化来抑制靶基因转录;(iii)直接与靶基因mRNA发生结合从而抑制其转录^[29,30].

4 维持胚胎干细胞亚全能分化特性的调控模式

ESCs自我复制的体系是由多种调控因子和多条信号途径共同组成的庞大网络,其中各个组分的微小变化都会影响ESCs的命运(见图1).Oct3/4/Nanog是ESCs发育的核心调控因子,它们既相互独立又彼此协同^[31].首先它们之间没有直接作用,缺失Oct3/4并不影响Nanog的表达,同样过表达Nanog也不能增强Oct3/4的表达.其次它们可以依靠作用位点的重叠相互协同.最近,有人使用染色体免疫沉淀及DNA微序列分析法证明,Oct3/4, Sox2和Nanog在人胚胎干细胞编码基因和miRNA启动子区域中共同占据355个位点,该发现首次从结构上证实了Oct3/4和Nanog的协同关系^[32].研究者还据此推测胚胎干细胞中存在一个涉及353个编码基因及2个miRNA的前反馈体系,该体系以Nanog和Oct3/4-sox2复合物

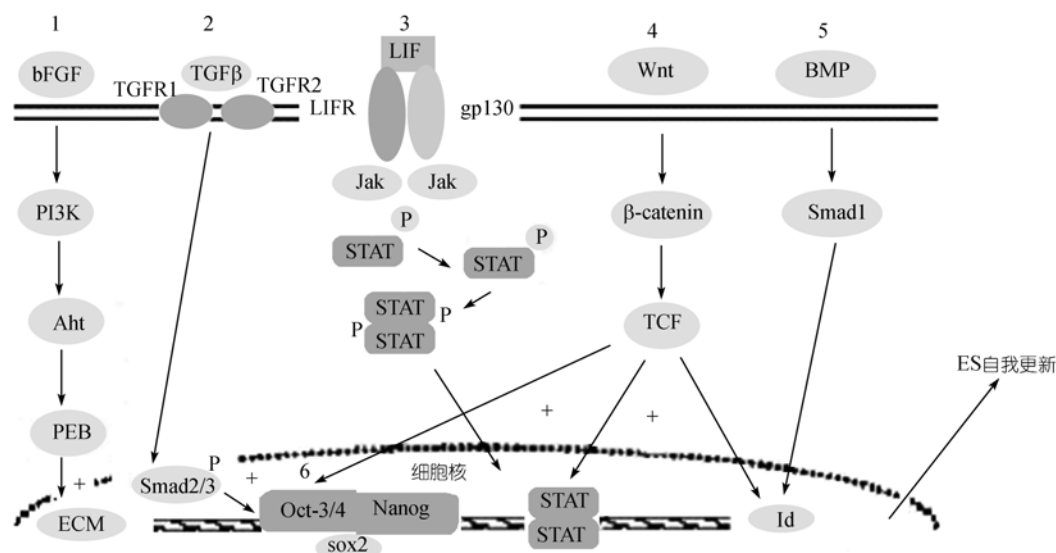


图 1 ESCs 自我复制的信号网络

1 示 FGF 信号通路: FGF 活化了 PI3K/AKT/PKB 信号通路并通过提高 ECM 分子的表达量来促进 ESCs 的自我更新; 2 示 TGFβ 信号通路: TGFβ 结合 TGFβR1 和 2, 从而活化了 Smad2/3, 使其发生磷酸化并因此影响 Oct3/4 和 Nanog 的表达; 3 示 LIF 信号通路: LIF 结合其受体复合物从而活化 Jak, 使 STAT3 发生磷酸化并诱导自我更新相关基因的表达; 4 示 Wnt 通路: Wnt 信号蛋白与受体结合造成了 cateninβ2 的积累, 核内的 cateninβ2 可以与转录抑制因子 TCF 结合, 从而激活了一系列特异序列的转录, 抑制了 ESCs 的分化; 5 示 BMP 通路: BMPs 可与 BMPR1a, BMPR II 异二聚体结合活化 Smad, 从而促进 *Id* 的表达维持 ESCs 的亚分化全能性; 6 示 Oct3/4, Sox2, Nanog 在人胚胎干细胞编码基因和 miRNA 启动子区域中共同占据 355 个位点从而调控 ESCs 的发育

为核心调控因子, 通过这些结合位点的重叠调节其他靶基因的表达^[31]. 2006 年, 在上述研究结果的基础上, Chickar-mane 等人^[33]利用计算机生物学分析了 Oct3/4-Sox2-Nanog 调控体系的作用机制并得到如下结论: ESCs 中存在一个由 Oct3/4-Sox2-Nanog 组成的可随着外界环境信号的改变打开或关闭的双稳态开关, 当 Nanog 和 Oct3/4/Sox2 复合物表达时, 开关开启, 细胞增殖基因活化, 分化基因抑制, 细胞对外界刺激的反应降低; 当上述两个调控因子表达降低时, 开关关闭, 细胞增殖基因抑制、分化基因活化, 细胞对外界刺激的应答增强.

Wnt 通路与其他通路具有广泛联系, 它不仅可以调节 BMP2, 7 及 Nanog 的表达情况, 还与 TGFβ 途径和 LIF 途径在一定层面上发生协同作用^[34~36]. BMP 信号通路具有促分化和抑分化的双重作用, 它可以与 LIF 通路协同维持小鼠 ES 的亚全能分化特性, 但却不能抑制人 ESCs 的分化. 小鼠 ES 的调控机制与人 ESCs 并不完全相同, FGF 通路和 TGFβ 通路是人 ESCs 自我复制的特有通路, FGF 可活化 PI3K/AKT 信号通路并抑制 MEK/ERK 通路. 此外, 它还可以抑制 GSK3β 与 Wnt 信号通路发生协同作用^[37].

综上所述, ESCs 亚全能分化特性及增殖能力主要由 2 个核心调控因子和 5 条信号通路来调节. 上述因素的动态平衡, 决定了 ESCs 的状态. 但是目前尚无法具体阐明 ES 自我复制的机制, 诸如不受 LIF/gp130 调控的 Nanog 是否可以通过别的途径活化 STAT, TGFβ/activin 通路与 PI3K 通路有没有交互作用, Wnt 通路通过什么途径调节 TGFβ/activin 通路, 除上述途径外还有哪些其他途径参与调节 ESCs 的发育等问题将随着研究的进一步深入逐渐解决, 从而为 ESCs 的生物学特性研究铺平道路.

参 考 文 献

- 1 Evans M J, Kaufman M H. Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryos. *Nature*, 1981, 292(5819): 154—156[DOI]
- 2 Palmieri S L, Peter W, Hess H, et al. Oct-4 transcription factor is differentially expressed in the mouse embryo during establishment of the first two extraembryonic cell lineages involved in implantation. *Dev Biol*, 1994, 166(1): 259—267[DOI]
- 3 Niwa H. Molecular mechanism to maintain stem cell renewal of ES cells. *Cell Struct Funct*, 2001, 26(3): 137—148[DOI]
- 4 Hay D C, Sutherland L, Clark J, et al. Oct-4 knockdown induces similar patterns of endoderm and trophoblast differentiation markers in human and mouse embryonic stem cells. *Stem Cells*, 2004,

- 22(2): 225—235[DOI]
- 5 Loh Y H, Wu Q, Chew J L, et al. The Oct4 and Nanog transcription network regulates pluripotency in mouse embryonic stem cells. *Nat Gen*, 2006, 38(4): 431—440[DOI]
- 6 Catena R, Tiveron C, Ronchi A, et al. Conserved POU binding DNA sites in the Sox2 upstream enhancer regulate gene expression in embryonic and neural stem cells. *J Biol Chem*, 2004, 279(40): 41846—41857[DOI]
- 7 Chew J L, Loh Y H, Zhang W, et al. Reciprocal transcriptional regulation of Pou5f1 and Sox2 via the Oct4/Sox2 complex in embryonic stem cells. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(14): 6031—6046[DOI]
- 8 Mitsui K, Tokuzawa Y, Itoh H, et al. The homeoprotein Nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells. *Cell*, 2003, 113(5): 631—642[DOI]
- 9 Hyslop L, Stojkovic M, Armstrong L, et al. Downregulation of nanog induces differentiation of human embryonic stem cells to extraembryonic lineages. *Stem Cells*, 2005, 23(8): 1035—1043[DOI]
- 10 Bhattacharya B, Miura T, Brandenberger R, et al. Gene expression in human embryonic stem cell lines: unique molecular signature. *Blood*, 2004, 103(8): 2956—2964[DOI]
- 11 Suzuki A, Raya A, Kawakami Y, et al. Nanog binds to Smad1 and blocks bone morphogenetic protein-induced differentiation of embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(27): 10294—10299[DOI]
- 12 Niwa H, Burdon T, Chambers I, et al. Self-renewal of pluripotent embryonic stem cells is mediated via activation of STAT3. *Genes Dev*, 1998, 12(13): 2048—2060
- 13 Burdon T, Stracey C, Chambers I, et al. Suppression of SHP-2 and ERK signalling promotes self-renewal of mouse embryonic stem cells. *Dev Biol*, 1999, 210(1): 30—43[DOI]
- 14 Barker N, Clevers H. Catenins, Wnt signaling and cancer. *Bioessays*, 2000, 22(11): 961—965[DOI]
- 15 Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature*, 2005, 434(7035): 843—850[DOI]
- 16 Bienz M, Clevers H. Armadillo/beta-catenin signals in the nucleus—proof beyond a reasonable doubt? *Nat Cell Biol*, 2003, 5(3): 179—182[DOI]
- 17 Besser D. Expression of nodal, lefty-a and lefty-B in undifferentiated human embryonic stem cells requires activation of Smad2/3. *J Biol Chem*, 2004, 279(43): 45076—45084[DOI]
- 18 Ying Q L, Nichols J, Chambers I, et al. BMP induction of Id proteins suppresses differentiation and sustains embryonic stem cell self-renewal in collaboration with STAT3. *Cell*, 2003, 115(3): 281—292[DOI]
- 19 Qi X, Li T G, Hao J, et al. BMP4 supports self-renewal of embryonic stem cells by inhibiting mitogen-activated protein kinase pathways. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(16): 6027—6032[DOI]
- 20 Beattie G M, Lopez A D, Bucay N, et al. Activin A maintains pluripotency of human embryonic stem cells in the absence of feeder layers. *Stem Cells*, 2005, 23(4): 489—495[DOI]
- 21 Xu R H, Chen X, Li D S, et al. BMP4 initiates human embryonic stem cell differentiation to trophoblast. *Nat Biotechnol*, 2002, 20(12): 1261—1264[DOI]
- 22 Kim S J, Cheon S H, Yoo S J, et al. Contribution of the PI3K/Akt/PKB signal pathway to maintenance of self-renewal in human embryonic stem cells. *FEBS Lett*, 2005, 579(2): 534—540[DOI]
- 23 Amit M, Shariki C, Margulets V, et al. Feeder layer- and serum-free culture of human embryonic stem cells. *Biol Reprod*, 2004, 70(3): 837—845[DOI]
- 24 Wang G, Zhang H, Zhao Y, et al. Noggin and bFGF cooperate to maintain the pluripotency of human embryonic stem cells in the absence of feeder layers. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 330(3): 934—942[DOI]
- 25 Paling N R, Wheadon H, Bone H K, et al. Regulation of embryonic stem cell self-renewal by phosphoinositide 3-kinase-dependent signaling. *J Biol Chem*, 2004, 279(46): 48063—48070[DOI]
- 26 James D, Levine A J, Besser D, et al. TGFbeta/activin/nodal signaling is necessary for the maintenance of pluripotency in human embryonic stem cells. *Development*, 2005, 132(6): 1273—1282[DOI]
- 27 师伟, 韩姝, 李艳华, 等. Wnt3a 转基因基质细胞的建立及其对脐血 CD34+造血干/祖细胞扩增作用的研究. *生物化学与生物物理进展*, 2005, 32(9): 835—837
- 28 Tsuchiya S, Okuno Y, Tsujimoto G. MicroRNA: Biogenetic and functional mechanisms and involvements in cell differentiation and cancer. *J Pharmacol Sci*, 2006, 101(4): 267—270[DOI]
- 29 Krichevsky A M, Sonntak K C, Isacson O, et al. Specific microRNAs modulate embryonic stem cell-derived neurogenesis. *Stem Cells*, 2006, 24(4): 857—864[DOI]
- 30 Houbavii H B, Murray M F, Sharp P A. Embryonic stem cell-specific microRNAs. *Dev Cell*, 2003, 5(2): 351—358[DOI]
- 31 Pan G, Li J, Zhou Y, et al. A negative feedback loop of transcription factors that controls stem cell pluripotency and self-renewal. *FASEB J*, 2006, 20(10): 1730—1732[DOI]
- 32 Boyer L A, Lee T I, Cole M F, et al. Core transcriptional regulatory circuitry in human embryonic stem cells. *Cell*, 2005, 122(6): 947—956[DOI]
- 33 Chickarmane V, Troein C, Nuber U A, et al. Transcriptional dynamics of the embryonic stem cell switch. *Plos comput Biol*, 2006, 2(9): e123[DOI]
- 34 Haegel L, Ingold B, Naumann H, et al. Wnt signalling inhibits neural differentiation of embryonic stem cells by controlling bone morphogenetic protein expression. *Mol Cell Neurosci*, 2003, 24(3): 696—708[DOI]
- 35 Hao J, Li T G, Qi X, et al. WNT/beta-catenin pathway up-regulates Stat3 and converges on LIF to prevent differentiation of mouse embryonic stem cells. *Dev Biol*, 2006, 290(1): 81—89[DOI]
- 36 Xiao L, Yuan X, Sharkis S J, et al. Activin A maintains self-renewal and regulates fibroblast growth factor, Wnt, and bone morphogenic protein pathways in human embryonic stem cells. *Stem Cells*, 2006, 24(6): 1476—1486[DOI]
- 37 Stewart R, Stojkovic M, Lako M, et al. Mechanisms of self-renewal in human embryonic stem cells. *Eur J Cancer*, 2006, 42(9): 1257—1272[DOI]