



异种动物嵌合的研究进展

牛慧敏¹, 郑薇¹, 申辉¹, 杜鹏^{1,2,3*}

1. 北京大学生命科学学院, 细胞增殖与分化教育部重点实验室, 北京 100871

2. 北京大学前沿交叉学科研究院, 北大-清华生命科学联合中心, 北京 100871

3. 北京大学, 核糖核酸北京研究中心, 北京 100871

* 联系人, E-mail: pengdu@pku.edu.cn

收稿日期: 2025-07-21; 接受日期: 2025-10-29; 网络版发表日期: 2026-01-12

国家重点研发计划(批准号: 2024YFA1106900, 2021YFA1100101)、国家自然科学基金杰出青年科学基金(批准号: 32225017)、北京市自然科学基金(批准号: Z230011)和北京高等学校卓越青年科学家计划(批准号: JWZQ20240101003)资助

摘要 对于各种危及生命的疾病, 例如, 终末期器官衰竭, 全器官移植通常是最核心的治疗选择. 目前, 可供患者移植的器官严重短缺. 移植与人类解剖学或生理学相似的动物器官被视为一种潜在的替代方案, 但必须克服不同物种间器官不相容的障碍. 在这一背景下, 种间嵌合技术应运而生, 它能够突破器官体外分化的局限, 利用胚胎的自我组织能力, 在宿主动物体内环境中自然形成复杂的器官结构, 为构建人源化异体器官提供了新的可能, 是实现可移植人类器官培育的潜在策略. 本文将综述异种动物嵌合的最新研究进展, 系统总结种间嵌合中的供体细胞类型、细胞间竞争的调控机制及当前所面临的挑战. 探讨异种嵌合在未来器官生成与移植领域的应用前景, 为发育生物学和再生医学研究提供理论基础与参考.

关键词 异种嵌合, 胚胎发育, 细胞竞争, 全能性干细胞

自1954年首例活体肾移植成功实施以来, 器官移植已成为治疗终末期器官衰竭的关键手段. 然而, 全球范围内的供体严重短缺与等待时间的不断延长, 促使科学界积极寻求替代性器官来源. 在各类潜在供体中, 猪因其器官在解剖结构、生理功能等方面与人类高度接近, 被视为最具前景的异种移植来源之一^[1]. 近年来, 异种器官移植已逐步进入临床探索阶段. 例如, 2022年, 一例经基因编辑的猪心脏被移植至终末期心力衰竭患者体内, 术后患者存活达7周, 不仅延长了其生命, 也初步验证了猪源器官在人体内短期发挥功能的可行性, 为异种移植的临床推进提供了关键性实践依据^[2]. 尽管如此, 即便基因编辑技术显著缓解了超急

性排斥反应等早期障碍, 动物器官在人体内实现长期存活与功能维持仍面临根本性挑战, 其核心限制源于跨物种间固有的生物学不相容性. 为从根源上突破这一限制, 研究者开始将目光转向异种嵌合策略——即在宿主动物(如猪)的早期胚胎发育阶段引入人源多能干细胞^[3], 使其在胚胎自然发育环境中参与形成目标器官. 相较于直接移植动物器官, 异种嵌合有望在动物体内培育出更接近人体免疫与生理特性的“个性化”功能器官, 为器官移植提供一条更具可持续性的解决路径^[4,5].

异种嵌合研究起源于20世纪70年代, 最初被用于追踪胚胎发育过程中的细胞谱系. 随着多能干细胞技

引用格式: 牛慧敏, 郑薇, 申辉, 等. 异种动物嵌合的研究进展. 中国科学: 生命科学, 2026, 56: 530–544

Niu H M, Zheng W, Shen H, et al. Advances in interspecies chimerism in animals (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2026, 56: 530–544, doi: 10.1360/SSV-2025-0231

术的成熟, 利用干细胞在动物体内培育功能性器官逐渐成为再生医学的前沿方向^[6]。目前, 在进化亲缘较近的物种组合(如大鼠-小鼠)中, 跨物种嵌合与器官生成已取得成功。然而在人与猪等远缘物种间, 嵌合效率仍极低, 成为技术转化的主要瓶颈。

为提高供体细胞在远缘嵌合中的贡献效率, 研究者将基因编辑技术与嵌合策略相结合, 通过敲除宿主动物特定器官发育的关键基因, 创造“发育空位”, 从而主动引导人源细胞定植与分化。该技术也被称为囊胚互补技术, 目前已在啮齿类模型中成功培育出跨物种来源的肺^[7-9]、胰腺^[10,11]、甲状旁腺^[12]、肾^[13]等多种器官。然而, 人-动物嵌合体研究仍面临发育时序不匹配、细胞间竞争、表观调控异常以及整合效率低等挑战^[14]。本文将系统总结当前异种嵌合研究中所使用的主要细胞类型与其嵌合潜能, 深入探讨影响嵌合效率的关键因素与内在调控机制, 以期为推动人源化异种器官的构建及其未来临床转化提供理论框架与研究导向。

1 异种动物胚胎嵌合方法

嵌合体已从希腊神话中的怪物演变为现代生物学研究的重要工具。干细胞和异种动物嵌合体的最新研究进展不仅揭示了胚胎发育机制, 还为生成可移植的患者特异性器官提供了新途径。异种动物嵌合是在宿主胚胎中自然发育出供体细胞来源的结构复杂的组织器官, 能够形成细胞间相互支持, 有利于器官功能正常运行^[15], 其方法包括全身性嵌合与器官特异性嵌合。

1.1 全身性嵌合

全身性嵌合是将供体细胞显微注射至着床前的宿主胚胎内, 通过胚胎移植获得嵌合体的技术。该方法可生成在全身多种组织器官中均携带供体细胞的动物个体, 并且供体细胞的定植数量与分布位置通常具有随机性, 难以实现精准控制。目前, 跨物种嵌合效率普遍较低, 即便在亲缘关系较近的物种之间, 其嵌合水平也显著低于种内嵌合。此外, 较高的嵌合率可能加剧供体与宿主细胞之间的竞争与排斥, 甚至导致胚胎早期死亡^[16]。尽管全身性嵌合技术有望通过引入患者来源的供体细胞来降低异种器官移植带来的排斥风险, 但如何稳定提升人源细胞的嵌合效率, 并最终实现完全由

人类细胞构成的功能性器官产生, 仍是该领域面临的核心挑战。研究者尝试将基因编辑技术引入到常规的异种嵌合操作中, 发展了囊胚互补技术。该技术能够有效提高供体细胞在特定组织和器官中的嵌合比例。

1.2 器官特异性嵌合

临床中有一些组织和器官在受损移植治疗时必须使用来自活体的组织才能保证其移植后的活性, 例如骨骼肌, 通常采取自体组织进行移植。但这样会导致供体部位发生病变。囊胚互补技术为此类疾病的治疗提供了可替代的自体器官。其核心在于通过精准敲除宿主胚胎中生成待嵌合器官发育的必要调控基因, 如 *MYF5/MYOD/MYF6* 参与骨骼肌的形成^[17], 为人源供体细胞提供定向分化的生态位, 从而在宿主动物体内产生特定的人源化器官, 满足临床治疗中对自体器官移植的需求(图1)。要实现目标器官的精准生成, 需针对器官发育过程中的关键调控基因对宿主胚胎进行系统性改造, 以支持供体细胞定植、扩增与分化。此项技术为跨物种构建结构完整、功能完善的人源化器官提供了可行路径, 推动患者自体器官移植治疗向临床应用迈进^[18-20]。不同物种间的嵌合研究是人源化器官构建的先驱。囊胚互补技术的可行性最早在种内器官重建中得到验证, 随着跨物种囊胚互补中的关键基因被不断筛选鉴定, 该技术在种间器官构建中也取得了系列进展。研究者先后成功实现了小鼠多个组织的种内囊胚互补, 包括胰腺、胸腺、肾脏、心脏及血管系统、肝脏、肺、唾液腺(salivary gland)、甲状旁腺(parathyroid)、生殖细胞和前脑^[21-31]。随后于跨物种囊胚互补研究中, 在小鼠体内培育出功能性大鼠胰腺、心脏及血管系统、眼睛、血液内皮组织、前脑和生殖细胞^[11,32-38], 以及在大鼠体内生成了小鼠胰腺、肾脏和生殖细胞^[10,13,39](表1)。值得注意的是, 一些基因承担多个器官的发育调控, 例如在小鼠胚胎中敲除胰岛素样生长因子1受体(insulin-like growth factor 1 receptor, Igflr)可在多个器官中创造“细胞竞争性生态位”, 显著提升种内及种间嵌合效率^[38]。

尽管在小鼠和大鼠等近缘物种之间已经实现了跨物种囊胚互补, 但生成的器官仍含有宿主内皮组织, 这成为引发免疫排斥的关键因素。对于亲缘关系更远的物种而言, 实现有效的囊胚互补则面临更大挑战^[19]。2020年, Das等人^[15]通过敲除宿主猪胚胎中的 *ETV2* 基

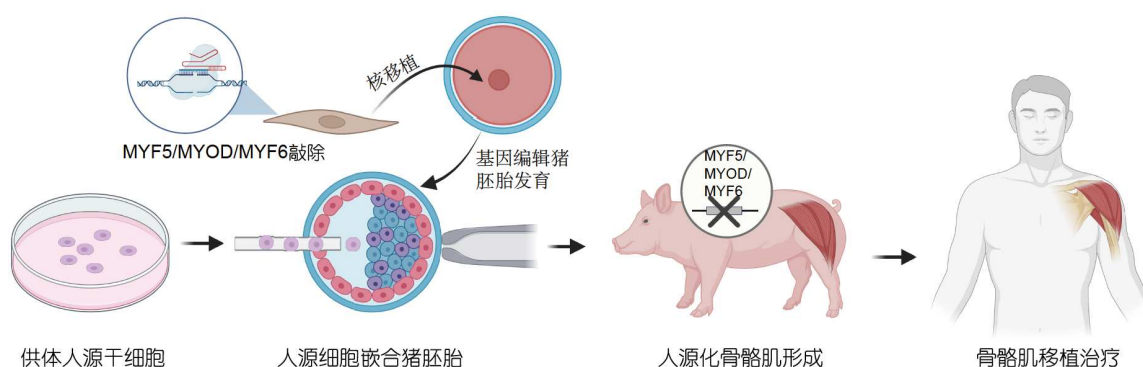


图1 囊胚互补产生人源器官示意图

Figure 1 Schematic diagram of humanized organ generation via blastocyst complementation

因成功生成人类供体细胞来源的内皮组织,从而有效解决了免疫排斥问题。在此基础之上,利用人诱导多能干细胞(human induced pluripotent stem cells, hiPSCs)的囊胚互补技术还成功生成人类肾脏^[51]、骨骼肌^[17]等组织,将人类器官的异体培育工程推向新的高度。

2 异种嵌合中的主要供体细胞类型

在异种嵌合中,供体细胞扮演着外来“器官种子”的角色,其状态以及发育潜能直接决定着嵌合效率和嵌合体质量。供体细胞需要适应宿主胚胎的发育时间及环境,克服不同物种间的遗传障碍而成功整合到宿主胚胎中。胚胎发育过程中,细胞命运经历了由全能性向多能性的转变,而处于不同发育阶段的细胞,其嵌合能力也存在显著差异。因此,选择合适的供体细胞类型在异种胚胎嵌合的应用中至关重要^[59]。

2.1 多能干细胞及其嵌合潜能

异种嵌合体研究中,研究人员尝试了多种供体细胞类型。其中,多能干细胞(pluripotent stem cells, PSCs)具有分化为胎儿所有细胞类型的潜能,是构建异种嵌合体的理想供体细胞^[60]。目前在体外成熟培养的PSCs主要包括植入前胚胎特征的原始态多能干细胞(naïve pluripotent stem cells, naïve PSCs),由小鼠胚胎干细胞(mouse embryonic stem cells, mESCs)以及诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)所代表。还有植入后胚胎特征的形成态多能干细胞(formative pluripotent stem cells, formative PSCs),由

小鼠上胚层样细胞(mouse epiblast-like cells, mEpiLCs)代表,始发态多能干细胞(primed pluripotent stem cells, primed PSCs),由小鼠上胚层干细胞(mouse epiblast stem cells, mEpiSCs)^[44]或人多能干细胞(human pluripotent stem cells, PSCs, hPSCs)代表。

对应于胚胎不同发育时期的供体干细胞在嵌合操作中也需要匹配相应发育阶段的受体。首个源自PSCs的种间嵌合体是通过将森林鼠(*Apodemus sylvaticus*)的ESC注射到小鼠(*M. musculus*)囊胚中实现的。随后,研究人员通过将大鼠PSCs注入小鼠囊胚,或将小鼠PSCs注入大鼠囊胚,成功构建了大鼠-小鼠嵌合体^[6]。人类多能干细胞包括ESC以及iPSCs,均为始发态多能干细胞(primed human pluripotent stem cells, primed hPSCs)^[61,62]。而原始态人多能干细胞(naïve human pluripotent stem cells, naïve hPSCs)则需在特定培养条件下(如5i/L/A或PXGL)诱导获得。然而,naïve hPSCs存在基因组不稳定性问题,并常在原代印迹区出现DNA甲基化丢失现象^[63,64],在小鼠、猪和猴等物种的早期胚胎嵌合中的能力有限^[32,65,66]。因此,已有多项研究致力于优化naïve hPSCs的培养条件,以提升其嵌合效率^[45,46,67,68]。Primed hPSCs与小鼠EpiSCs相似,注射至原肠胚阶段后可参与小鼠正常发育^[69,70]。在畜禽动物中,通过诱导重编程因子的表达,已成功将山羊成纤维细胞重编程为诱导多能干细胞(goat induced pluripotent stem cells, giPSCs),并实现其嵌合至小鼠E6.5胚胎中^[50]。除此之外,通过调节培养条件,从小鼠和灵长类动物的PSCs中高效获得一种具有特定空间定位、分子特征和功能特性的干细胞类型,称为区域选择性多能干细胞(region-selective pluripotent stem cells, rsPSC)。

表 1 异种嵌合技术成果对比表^{a)}Table 1 Comparative table of research outcomes in interspecies chimerism^{a)}

供体细胞类型	宿主胚胎	胚胎发育时期	嵌合部位/比例	参考文献
hTBLCs	8细胞期小鼠胚胎	E10.5	胎儿(25.6%)/胎盘(23.1%)/卵黄囊(15.3%)	[40]
h8CLCs	8细胞期小鼠胚胎	E4.5/E10.5	胎儿/胎盘/卵黄囊	[41]
hEPSCs	8细胞期小鼠胚胎	E4.5	14.7%	[42]
hEPSCs	8细胞期小鼠胚胎	E10.5	1%	[42]
hEPSCs	小鼠囊胚	E10.5	—	[43]
hEPSCs	食蟹猴囊胚	E9~19 E19	EPI(7.08%), HYP(4.96%)	[43]
naïve hPSCs	小鼠囊胚	E17.5	0.1%~4.0%	[44]
naïve hPSCs	8细胞期小鼠胚胎	E4.5/E10.5	胎儿/胎盘/卵黄囊	[41]
naïve hPSCs	小鼠囊胚	E10.5	—	[45]
naïve hPSCs	小鼠桑椹胚	E8.5~E10.5	颅面及神经系统	[46]
hESCs	小鼠囊胚	E8.5	前神经褶	[47]
hiPSCs	猪囊胚	E4.5	—	[32]
hiPSCs	猪囊胚	28天猪胚胎	—	[32]
rPSCs	正常小鼠囊胚	出生后	20%	[32]
cmESCs	猪囊胚	出生后	心/肝/脾/肺/皮肤/子宫 (0.001~0.0001)	[48]
naïve RhiPSCs	8细胞期小鼠胚胎	E16	肠道/肝/心/大脑	[49]
giPSCs	E6.5小鼠	体外培养48小时后	—	[50]
mESCs	<i>Fgfr2b</i> ^{-/-} 小鼠四倍体囊胚	出生后	肺	[7]
rESCs	<i>Fgfr2b</i> ^{-/-} 小鼠四倍体囊胚	出生后	肺	[7]
mESCs	<i>Nkx2-1</i> ^{-/-} 大鼠囊胚	E20.5	肺	[8]
mPSCs	(Foxa2-Cre) <i>Fgfr2</i> ^{-/-} 小鼠囊胚	出生后	肺	[9]
mESCs	<i>Gcm2</i> ^{-/-} 大鼠囊胚	出生后	甲状旁腺	[12]
mESCs	小鼠囊胚	出生后	肝	[31]
miPSCs	<i>Pdx1</i> ^{-/-} 大鼠囊胚	出生后	胰腺	[10]
rPSCs	<i>Pdx1</i> ^{-/-} 小鼠囊胚	出生后	胰腺	[11]
mESCs	<i>Sall1</i> ^{mut/mut} 大鼠囊胚	出生后	肾	[13]
hiPSCs	<i>SLX1</i> ^{-/-} <i>SALL1</i> ^{-/-} 猪桑椹胚	E25或E28	肾	[51]
mPSCs	<i>Prdm14</i> ^{mut/IV} 大鼠囊胚	出生后	精子	[39]
rPSCs	<i>Tsc22d3</i> ^{-/-} 小鼠囊胚	出生后	雄性生殖细胞	[35]
mPSCs	(Foxa2-Cre) <i>Fgfr2</i> ^{-/-} 小鼠囊胚	出生后	唾液腺	[52]
mPSCs	<i>Nkx2.5</i> -Cre; <i>Tie2</i> -Cre; R26-DTA小鼠囊胚	出生后	心脏及血管系统	[53]
mPSCs 或 rPSCs	<i>Mesp1</i> ^{-/-} , <i>Mesp2</i> ^{-/-} 小鼠囊胚	E12.5~E14.5	心脏及血管系统	[54]
rPSCs	<i>Nkx2.5</i> -Cre; <i>Tie2</i> -Cre; R26-DTA小鼠囊胚	E10.5	心脏及血管系统	[53]
rPSCs	<i>Nkx2.5</i> ^{-/-} 小鼠囊胚	E10.5	心脏及血管系统	[32]
rESCs	<i>Flk-1</i> ^{EGFP/EGFP} 的小鼠囊胚	出生后	血管内皮和造血细胞	[34,36]
hiPSCs	<i>ETV2</i> ^{-/-} 猪胚胎	E17和E18	血管内皮细胞	[5]
hPSCs	猪桑椹胚	E21	心脏及血管系统	[55]
rPSCs	<i>Hesx1</i> ^{-/-} 小鼠囊胚	出生后	脑	[37]
rPSCs	(OMP-Cre)小鼠囊胚	出生后	脑	[56]
naïve hESCs	<i>En1</i> ^{-/-} 小鼠囊胚	出生后	脑	[57]
rPSCs	正常小鼠囊胚	出生后	胆囊	[32]
rPSCs	<i>Pax6</i> ^{-/-} 小鼠囊胚	出生后	眼	[32]
<i>TP53</i> ^{-/-} hiPSCs	<i>MYF5</i> / <i>MYOD</i> / <i>MYF6</i> 敲除的猪囊胚	E20和E27	骨骼肌	[17]
区域选择性多能干细胞 (rsPSCs)	E7.5小鼠上胚层	体外培养36小时后	三个胚层	[58]

a) 上胚层: EPI; 下胚层: HYP; 大鼠多能干细胞: rPSCs; 人扩展多能干细胞: hEPSCs; 原始态人多能干细胞: naïve hPSCs; 人诱导多能干细胞: hiPSCs; 人8细胞样细胞: h8CLCs; 食蟹猴(*Macaca fascicularis*) ESCs: cmESCs; 恒河猴(*rhesus monkey*)原始态iPSCs: naïve RhiPSCs; 奶山羊 iPSCs: giPSCs; 大鼠多能干细胞: rPSCs; 小鼠胚胎干细胞: mESCs; 小鼠多能干细胞: mPSCs; 大鼠胚胎干细胞: rESCs; 人诱导多能干细胞: hiPSCs

目前研究表明, 人类rsPSCs能够参与植入后阶段的跨物种嵌合胚胎发育^[58]。

2.2 全能性干细胞及其嵌合潜能

供体细胞的发育潜能决定了其在嵌合胚胎中的生存及分化方向。在异种嵌合研究中, 全能性干细胞相较于传统多能性干细胞展现出显著的发育优势。具体在于具备双向发育潜能, 不仅能分化为胚内组织, 还可贡献于胚外组织^[40,71]。这种完整的发育能力使其在异种嵌合过程中可能更具有嵌合优势, 为器官再生研究提供了新的细胞来源选择。虽然全能性干细胞在近几年才实现了体外培养, 但是早在2017年, Yang^[42,72]和Gao^[73]等人通过在PSCs中进行化学筛选, 利用混合化合物, 能够赋予人类和小鼠PSCs参与胚胎及胚胎外组织发育的能力。这类细胞被称为扩展多能干细胞(extended pluripotent stem cells, EPSCs)。尽管EPSCs在功能上能够支持胚外谱系的细胞发育^[42,43], 但在基因表达方面仍然与primed hPSCs相似。2022年, Mazid等人^[41]应用了增强型4CL培养基(enhanced 4CL medium, e4CL), 将hPSCs诱导为表达全能性基因的8细胞样细胞(8C-like cells, 8CLCs), 且在小鼠囊胚嵌合后发育至E10.5天, 成功嵌合到小鼠的胚内和胚外组织中。值得注意的是, 这些8CLCs是亚稳态的, 会迅速恢复到多能状态, 不能够稳定培养多次传代^[41,74]。2024年, 北京大学杜鹏超^[40]报道, 基于剪接抑制剂pladienolide B (PlaB)对hPSCs进行重编程, 首次捕获了一种新型的ZGA样细胞(ZGA-like cells, ZLCs), 并进一步在体外稳定培养了具有pre-ZGA特征的人全能性干细胞(human totipotent blastomere-like cells, hTBLCs), 其在小鼠的异种胚胎嵌合中也能够稳定贡献到胚内和胚外组织, 进一步验证了全能性干细胞的嵌合潜能。

在小鼠naïve PSCs培养体系中, 约有0.5%的细胞具有两细胞期胚胎卵裂球特征。这类细胞被称为2细胞样细胞(2C-like cells, 2CLCs), 可以瞬时激活2细胞特异性基因, 例如*Zscan4*和*Zfp352*。但处于进入和退出细胞全能样状态的亚稳定状态^[75]。尽管2CLCs的存在比例很低, 但可以在特定条件下提高其比例^[76]。目前已成功建系的全能性干细胞包括剪接抑制剂PlaB诱导的全能卵裂球样细胞(totipotent blastomere-like cells, TBLCs), 相较于2CLCs, TBLCs具有更完全且稳定的全能性特征^[71]。还有基于表观遗传操纵获得的全能性

干细胞(totipotent potential stem cells, TPSCs)^[77]、全能样干细胞(totipotent-like stem cells, TLSCs)^[78]和化学诱导全能干细胞(chemically induced totipotent stem cells, ciTotiSCs)^[79]。与小鼠TBLCs类似, TPSCs, TLSCs和ciTotiSCs在分子水平上显示出全能基因的广泛激活和多能基因的抑制。在功能上, 这些细胞有助于一系列胚胎和胚外谱系分化。

异种嵌合能力很大程度上依赖于供体细胞自身的发育潜能。全能性干细胞表现最优, 其次为原始态和中间态PSCs, 而始发态的EpiSCs嵌合能力最弱^[80](图2)。相比于primed hPSCs无法有效整合到植入前胚胎^[32,81,82], hTBLCs, 8CLCs, naïve hPSCs和formative hPSCs在小鼠、猪、兔和猴的囊胚(inner cell mass, ICM)中表现出较强的嵌合能力^[32,40,41,45,46,65-67,80,83,84]。

3 影响异种嵌合的因素

异种动物细胞在宿主胚胎内的存活、分化、功能性整合以及印记基因的正确表达均面临诸多挑战^[85]。相较于宿主细胞, 异种供体细胞脱离其原有培养环境后, 在嵌合胚胎中适应度较差, 细胞间竞争力相对较弱^[86], 难以有效增殖与分化, 最终往往走向凋亡。此外, 供体细胞与宿主胚胎在发育时序上的不同步, 也进一步削弱了供体细胞在嵌合环境中的适应能力。通过调控供体细胞中的抗凋亡相关通路, 可人为提升异种胚胎嵌合的成功率。例如, 在大鼠EpiSCs中过表达抗凋亡基因*Bcl2*, 能够克服其与小鼠囊胚在发育时序上的不匹配, 成功构建大鼠-小鼠种间嵌合体^[87]。类似地, 在hPSCs中过表达*BCL2L1*和*BCL-2*, 也能有效促进人-鼠嵌合体的形成^[82]。

因此, 为提高供体细胞在嵌合过程中的整合与增殖效率, 有必要深入研究早期胚胎发育过程中跨物种细胞混合所引发的分子及细胞间相互作用机制。相较于同种或近缘物种之间的嵌合, 人类细胞与进化距离较远的宿主动物之间在多个层面存在显著差异, 严重限制了嵌合效率。主要障碍包括细胞竞争、发育异时性、细胞黏附及配体-受体不兼容等。

3.1 种间细胞竞争

不同物种间, 进化距离较远的细胞间更容易发生竞争, 进而诱发细胞凋亡。而在近缘物种(如人-恒河

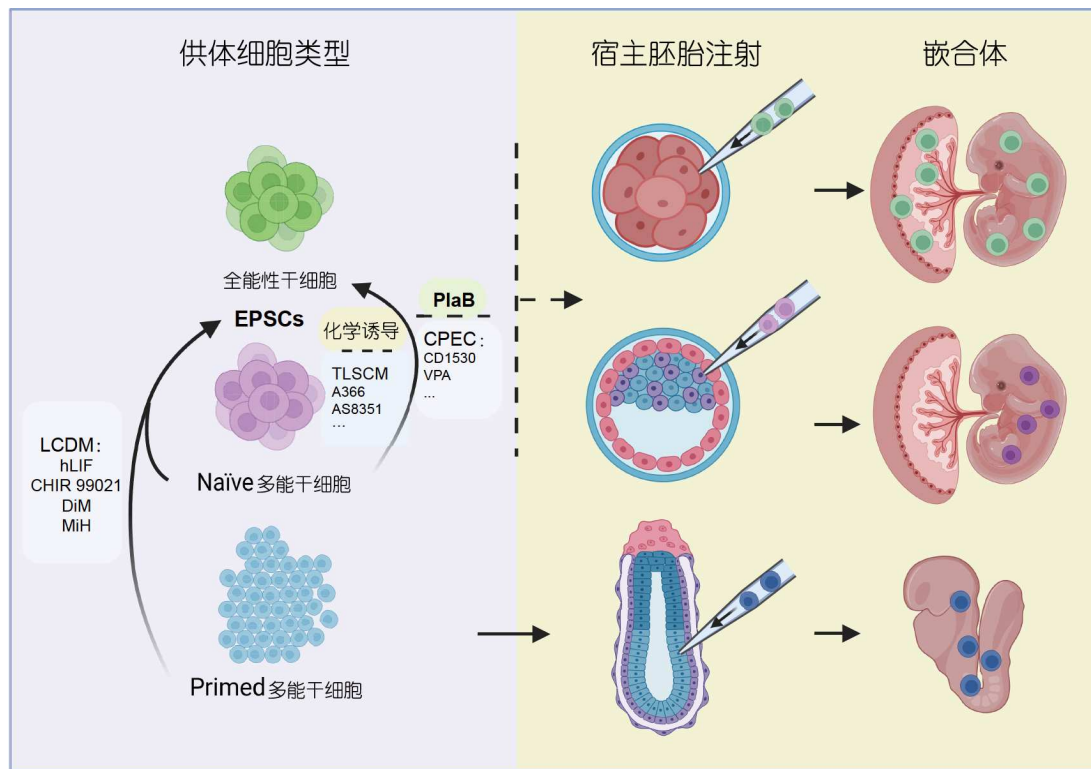


图 2 不同供体细胞的发育潜能示意图

Figure 2 Schematic diagram of the developmental potential of different donor cells

猴、大鼠-小鼠)间则未观察到类似现象,表明进化距离直接影响细胞间竞争水平^[88]。异种动物间的细胞竞争是一种通过清除弱势细胞以维持胚胎和组织稳态的生物学机制。该现象最早在果蝇翅原基的遗传嵌合中被报道,携带Minute杂合突变的细胞会被邻近的野生型细胞通过诱导凋亡的方式清除^[89]。类似地,在跨物种嵌合体中,异种供体细胞(如hPSCs)也会被宿主胚胎识别为异常细胞,从而激活凋亡程序。因此,增强供体细胞的抗凋亡能力成为缓解种间细胞竞争的一种可行策略。为模拟跨物种嵌合体中的细胞竞争,研究人员采用跨物种细胞共培养策略,以揭示PSCs之间的竞争性相互作用。例如,在与小鼠EpiSCs共培养时,hPSCs会发生死亡^[88]。研究显示,在竞争失败的hPSCs中,NF- κ B信号通路相关基因表达上调。通过敲除该通路的核心成分P65及其上游调控因子MyD88,可有效抑制NF- κ B信号活化,从而避免hPSCs在与小鼠EpiSCs共培养时发生凋亡,并显著提升其在小鼠早期胚胎中的存活率与嵌合效率^[88](图3)。另一方面,多梳蛋白BMI1也被证实可显著抑制人胚胎干细胞(human embryonic stem

cells, hESCs)的凋亡。BMI1的过表达使hPSCs能够成功嵌合至小鼠、兔及猪的囊胚中,并参与内、外胚层等胚胎组织的形成^[81]。在人-鼠PSCs竞争过程中,弱势细胞的凋亡受到TLR/MyD88/RELA信号轴调控,这一机制与果蝇翅原基发育中Toll样受体-NF- κ B通路介导的细胞竞争性清除现象高度相似^[90]。除细胞间竞争引发的凋亡外,培养基条件差异也是影响嵌合成功率的关键因素。常规细胞培养基与胚胎培养基(EM)在pH和渗透压等方面存在差异,单一培养基往往难以同时满足供体细胞与宿主胚胎的发育需求,容易导致发育失衡并加剧细胞竞争,最终造成嵌合失败。为解决这一问题,研究者将细胞培养基与EM按1:1混合,构建出一种驯化培养基(DM),在该培养基中培养获得的ESCs(即D-ESCs)具备正常细胞形态、核型与多能性标志物表达,可形成三胚层来源的畸胎瘤,并表现出更强的抗凋亡能力,更适于胚胎嵌合发育^[48]。

3.2 发育异时性

跨物种嵌合面临的另一个主要障碍是供体与宿主

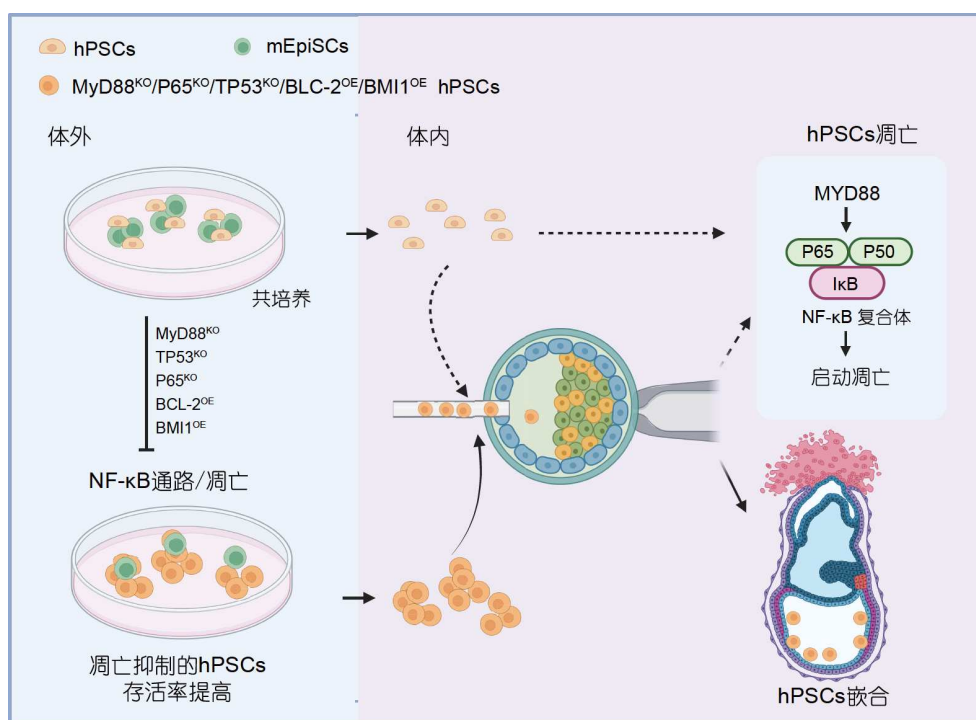


图3 跨物种嵌合中的细胞间竞争机制

Figure 3 Mechanisms of intercellular competition in interspecies chimerism

细胞发育阶段和速率上的不匹配。这种发育时序的差异通常与物种的体型、寿命等生物学特征相关，易导致嵌合体细胞发育不同步，从而阻碍跨物种嵌合的成功^[15,91]。为解决这一复杂问题，需要从发育阶段匹配性和发育节奏同步性两个维度进行系统性干预。

从细胞多能性状态角度分析，naïve PSCs更接近植入前囊胚的内细胞团，适于注射至囊胚阶段，而primed PSCs则与原肠胚期的上胚层更为兼容。若互换使用，嵌合效率会显著下降^[92]，等时注射是解决阶段匹配问题的核心策略，确保细胞与胚胎的“发育起点”一致。具体而言，naïve hPSCs可成功嵌合到小鼠囊胚并分化为三胚层来源的成熟人源细胞；而primed hPSCs虽难以在囊胚中有效嵌合，但可成功整合到小鼠原肠胚上胚层并参与后续分化^[69,93]。将primed hPSCs转化为naïve状态后注射至小鼠囊胚，可获得小鼠-人嵌合胚胎，并在E17.5阶段检测到0.1%~4.0%的人类细胞嵌合率^[44,46]。需要注意的是，实现原肠胚阶段的器官生成通常依赖延长宫外胚胎培养系统，以弥补目前代孕子宫移植的技术限制^[94]。

在发育节奏同步性方面，即使发育起点阶段相匹

配，供体与宿主细胞固有的发育速度差异仍会导致分化不同步。研究表明，人类细胞在小鼠胚胎中倾向于维持自身较慢的发育节奏，表现出明显的细胞自主性^[95]。例如，在相同培养条件下，hPSCs的神经分化进程明显慢于mPSCs^[96]。这导致在宿主胚胎进入器官形成阶段时，人源细胞因发育滞后而被淘汰。值得注意的是，仍有少数hPSCs在注入异种囊胚后能够主动加速发育，以适应宿主胚胎的节奏，体现出一定的发育可塑性^[32,83]。该特性也为解决节奏不同步的困难提供了重要依据。有研究显示，与小鼠干细胞共培养可加速人类干细胞的分化进程，尤其在神经发育方面，许多关键基因表达提前，整体发育进程更接近真实人体胚胎，且这种加速效应与两种细胞的混合比例相关^[97]。因此，供体与宿主细胞的预适应性共培养可能增强两者间的发育协调性，从而促进异种细胞的协同发育与高效整合，是提升发育同步性的另一有效方法。

因此，突破异时性障碍，提升跨物种嵌合的效率需要系统性结合“阶段匹配”与“节奏同步”双主线。通过等时注射确保发育起点匹配，利用细胞可塑性筛选和预适应共培养促进供体和宿主细胞发育节奏同步。常

用于嵌合研究的物种中, 人类、狨猴、小鼠和猪早期胚胎的最佳匹配发育阶段分别为人类囊胚(E6/E7)、小鼠原肠胚(E6~E6.75)、狨猴晚期内细胞团和猪晚期囊胚. 选择发育阶段相匹配的供体细胞与宿主胚胎, 有助于增强细胞嵌合能力, 进而提高器官生成效率^[98].

3.3 细胞黏附及配体受体不兼容

物种间细胞黏附分子(CAM)的差异也可能导致细胞间互作不兼容, 进而影响供体细胞与宿主胚胎的整合效率, 最终阻碍嵌合体的形成和发育^[99]. 为增强供体细胞在宿主胚胎中的嵌入能力, 目前主要采取两种策略: 一是对供体细胞的CAM进行遗传修饰, 使其更适配宿主环境; 二是采用合成生物学方法, 利用膜定位的纳米抗体与抗原的特异性相互作用, 主动增强细胞间黏附力, 从而促进嵌合体的发育^[100,101]. 例如, 已有研究开发出一种基于纳米抗体-抗原配对的合成黏附系统, 可在不影响天然黏附功能的前提下精确调控细胞间黏附强度. 未来研究可进一步验证此类系统在跨物种背景中增强异种细胞黏附的潜力, 为提高供体细胞在宿主体内的嵌合效率提供新途径^[101].

除了细胞黏附不匹配外, 不同物种间配体-受体的不相容性也是制约嵌合效率的重要因素, 其根源在于物种间遗传背景的差异. 例如, 人白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)能够激活小鼠LIF受体并维持小鼠胚胎干细胞的自我更新, 而小鼠LIF却无法有效激活人源LIF受体, 因而对人类细胞不具备生物活性^[102]. 针对此类问题, 关键策略在于识别并修复导致配体-受体互作失败的核心信号通路, 可通过基因替换或受体工程化修饰等手段实现兼容性改造. 此外, 通过抑制供体细胞凋亡、促进其向内胚层定向分化以及推动供体来源内皮的形成, 也有助于提升嵌合器官的功能成熟度与免疫相容性^[103].

4 不同物种宿主嵌合体的形成

尽管异种动物嵌合研究的最终目标是为临床移植提供可用的人体器官替代来源, 但目前仍面临免疫不兼容等一系列跨物种嵌合难题. 为此, 研究多采取分阶段推进的策略: 首先以啮齿类动物为宿主模型, 初步探索种间嵌合过程中的细胞互作机制; 随后在与人类器官结构更为接近的大型动物(如猪)体内, 进一步

开展人源器官发育的研究. 此外, 非人灵长类动物因其与人类进化距离相近, 也成为重要的研究体系. 通过囊胚互补等技术在不同物种宿主体内进行异种嵌合研究(图4), 为推动人源化器官迈向临床治疗提供了必要的理论和实践依据^[104].

以啮齿类动物为宿主的胚胎中已成功实现了种内及近缘种间的嵌合体构建, 但在更远缘物种之间, 嵌合体形成能力仍然有限^[32]. 研究表明, 以小鼠为宿主胚胎构建人源PSCs来源的种间嵌合体时, 其嵌合效率普遍偏低, 说明小鼠可能并非理想的异种嵌合宿主模型. 相比之下, 猪、牛、羊等有蹄类动物在器官大小、解剖结构及生理代谢特征方面与人类更为接近, 因而被视为更具潜力的受体模型. 然而, 跨物种嵌合在实际操作中仍面临显著挑战. 例如, 将大鼠胚胎干细胞和小鼠诱导多能干细胞注射至猪囊胚后, 尽管这些细胞在同类或近缘物种中具备良好的嵌合能力, 却未能观察到其在进化距离较远的猪胚胎中有效整合与进一步发育. 有趣的是, 经过驯化培养的食蟹猴胚胎干细胞(D-ESC)可在猪体内成功分化为三胚层细胞, 并形成组织特异性嵌合, 但其嵌合水平仍较低, 仅为0.001~0.0001^[48].

后续研究在将hPSCs整合至猪胚胎方面取得了重要进展. 实验表明, 将不同类型的hPSCs注入猪囊胚并移植入代孕母猪体内后, 部分胚胎出现发育迟缓现象, 推测与种间细胞竞争及发育节奏不协调有关. 尽管在植入后的猪胚胎中可检测到人源细胞的嵌合, 但其效率仍远低于大鼠-小鼠等近缘物种嵌合系统. 值得注意的是, naïve状态的hPSCs在猪和牛的植入前囊胚中展现出较强的整合能力, 而formative状态的hPSCs则能够在植入后的猪胚胎中形成嵌合并产生后代细胞. 因此, 优化人源干细胞状态、选择更适配的宿主物种以及调控嵌合微环境, 是提高异种嵌合效率的关键^[32]. 随着囊胚互补技术的不断成熟, Garry团队^[5]于2020年在ETV2基因敲除的猪胚胎中首次实现了人体内皮组织的生成, 标志着在大型动物体内构建人体功能性组织的重大突破. 在此基础上, 该团队进一步利用hiPSCs在肌发育关键基因(MYF5/MYOD/MYF6)缺失的猪胚胎中成功构建了人体来源的骨骼肌组织^[17]. 随后在2023年, Wang等人^[51]通过多种技术优化嵌合条件, 在3~4周龄的猪胎儿中获得了人源细胞占比达40%~60%的肾脏组织, 推动了人源化器官生成的实质

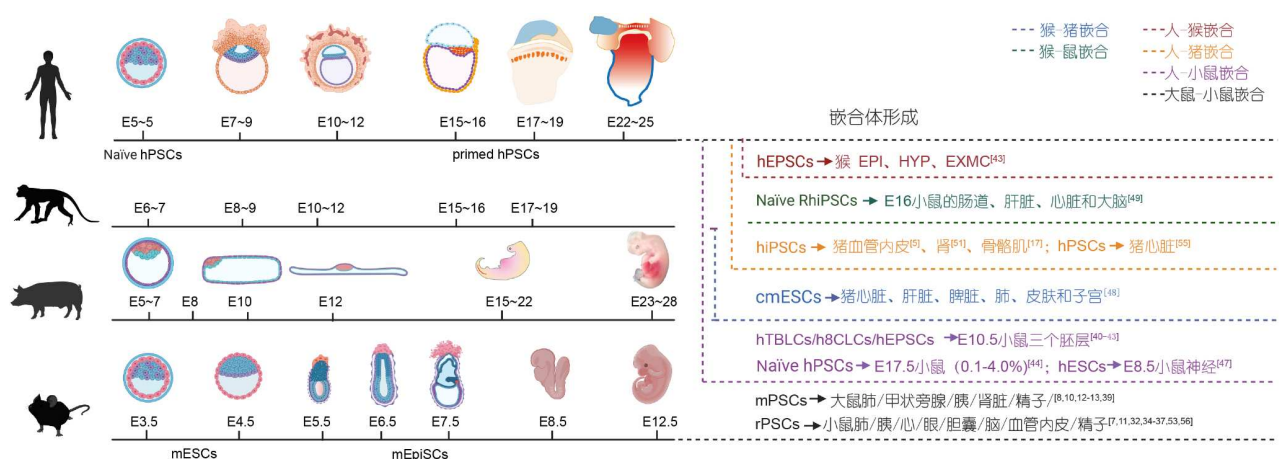


图4 不同物种间胚胎发育比较及嵌合总结

Figure 4 Comparison of embryonic development across species and summary of chimerism outcomes

性进展。在机制探索方面, 研究发现同时敲除小鼠宿主胚胎中的*Foxa1*基因与供体hPSCs中的*MYD88*基因, 可显著提升异种嵌合效率至80%^[105]。2025年的最新研究发现, 通过敲除2个猪心脏发育关键基因, 并注入抗凋亡处理的人源干细胞, 成功在猪体内培育出具备自主搏动能力、存活达21天的人类心脏组织^[55]。这一突破性成果显著推进了人源化器官向临床应用的转化进程。

为拓展人类器官培育的潜在宿主体系, 研究人员正积极探索除猪以外的其他宿主动物模型。其中, 与人类进化关系更近的非人灵长类动物备受关注。Tan等人^[43]采用一种延长的体外胚胎培养系统, 系统评估了hEPSCs在食蟹猴胚胎着床前及着床后阶段的嵌合能力。研究发现, hEPSCs能够有效参与多个胚胎及胚外谱系的发育, 尤其在上胚层(epiblast EPI)、下胚层(hypoblast, HYP)以及胚外间充质细胞(extra-embryonic mesenchyme cells, EXMC)中表现出明显的嵌合贡献, 但在滋养外胚层(trophectoderm, TE)中的嵌合程度相对有限。该研究揭示了人源细胞在灵长类胚胎环境中具有广泛的发育潜能, 同时展现出明确的谱系偏好性, 为后续基于非人灵长类模型的异种嵌合研究提供了重要的细胞行为学依据。

5 讨论与展望

解决器官短缺问题是再生医学领域的重要挑战, 其核心在于实现可移植器官的体外生成, 而重建器官

发生过程中需要复杂的细胞间相互作用。囊胚互补技术可以为供体细胞提供天然的宿主胚胎内发育环境, 克服了体外器官发育中无组织支持的困难。目前, 该技术已在多种动物模型中成功实施, 使供体PSCs特异性锚定目标生成器官, 占据宿主原有器官生态位而促使异种动物器官的嵌合生长。人源化嵌合包括内皮^[5]、骨骼肌^[17]和肾脏^[51]等组织器官生成, 这些成果为异种动物体内构建人类可移植器官提供了新的可能, 并拓展了疾病模型、药物筛选与个体化治疗的应用前景。

然而, 跨物种嵌合仍面临诸多挑战, 包括物种间的进化距离与发育进程不匹配、细胞竞争、信号通路不兼容以及伦理争议等。近年来, 基因编辑技术、细胞命运调控以及培养体系的不断优化也为异种动物嵌合开辟了新的途径^[106]。囊胚互补技术中, 通过CRISPR/Cas9技术为供体细胞提供了“空宿主”微环境, 使其更易于突破细胞竞争的限制而向目标器官嵌合发育。同时, 对供体细胞进行适当的基因修饰, 使其在细胞竞争中获得生长优势也能够提高异种动物器官嵌合的效率。不仅如此, 近年来不断优化的供体细胞培养体系旨在增强细胞的生长状态, 从而更好地应用于嵌合^[51]。

为了使人类供体细胞更好地适应宿主动物, 研究人员便提出了“人源化宿主”的概念, 即在宿主动物中导入人类基因, 便于人类供体细胞与宿主的相互识别。例如, 为促进人类造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)在小鼠体内的长期植入与存活, 在小鼠中过表达人干细胞因子(stem cell factor, SCF)^[107]以及敲入人

血小板生成素(thrombopoietin, TPO)^[108], 能够显著提高人源血细胞在宿主体内的贡献。在免疫缺陷型 *Rag2*^{-/-}和*Il2rg*^{-/-}小鼠中敲入人源*M-CSF*, *IL-3*, *GM-CSF*和*TPO*基因, 可构建MISTRG小鼠模型, 该模型能够支持人源HSCs的功能性先天免疫细胞(如单核细胞、巨噬细胞和自然杀伤细胞)的发育^[109]。人源化宿主能够有效减弱人类供体细胞与宿主动物之间的细胞竞争和排斥, 但“人源化”以及供体细胞可能进入动物生殖系统或大脑等伦理问题也显得尤为突出^[57,106]。国际干细胞研究学会(International Society for Stem Cell Research, ISSCR)于2021年发布的干细胞研究和临床转化指南对人类干细胞胚胎模型(human stem cell-based embryo models, SCBEMs)的研究监督做了详细规定^[110,111], 并于2025年对指南进行了重新修订, 将多数多能干细胞体外培养和类器官研究归为1A类, 免于专项伦理审查。人-动物嵌合胚胎体外培养归为1B类, 需向伦理委员会报告但通常不需进一步审查。因此, 为了限制人源供体细胞的嵌合范围, 使用组织特异性启动子(如PDX1^[112])修饰供体细胞显得更加安全。将所有参与形成三维空间组织的人类SCBEM归为2类研究, 需经专项伦理审查批准^[113]; 而可遗传的基因组编辑和SCBEMS离体培养至可能形成存活个体的阶段仍属禁止范畴的3类研究, 并重申人类SCBEM是体外模型, 不得移植到活体动物或人类宿主的子宫中。这些规定都严格限制了人类突破伦理方向的研究, 是研究

人类干细胞与器官再生的必要前提。

异种动物产生的人源化器官有望在未来临床治疗中解决器官短缺的困难。并行于异种动物嵌合研究的还有多种基于人体细胞培养的器官工程研究, 包括组织工程、生物打印和类器官技术, 旨在体外合成临床可用的组织器官。目前研究已经成功应用的工程组织结构包括皮肤和角膜组织, 分别用于治疗皮肤病和恢复视力^[114,115]。此外, 类器官的出现也在模拟人体器官发育和疾病方面显示出较大的前景^[116], 并且其中血管网络的构建以及多组织类器官的组装已取得重要进展^[117], 为研究器官内部及器官之间的相互通信提供了有力支持。类器官能够在体外构建具有组织学与部分功能的微结构, 其优势在于可控性强与伦理负担较低。尽管研究中已经逐渐渗入多组织的协调构建, 但对于结构较为复杂的器官来说, 其在完整器官的血管化、免疫整合与长期功能稳定方面仍有限。相比之下, 异种嵌合利用胚胎发育的内在程序可实现更完整的器官结构与原位血管网络, 但面临宿主-供体相容性与伦理风险。因此, 类器官可作为筛选平台(细胞系/基因改造效率、药物反应), 与异种嵌合方法互补可以快速推进人源化器官的研究与应用。未来, 随着人类多能干细胞状态的持续优化、高效嵌合模型的构建以及伦理法规的不断完善, 跨物种嵌合技术有望在体内器官再生和疾病治疗等领域发挥关键作用, 并最终实现人源器官在异种宿主体内的生成与临床应用^[106]。

参考文献

- Mani V, Mathew R, Homer-Vanniasinkam S. Xenotransplantation: animal rights and human wrongs. *Ethics Med*, 2003, 19: 55–61
- Griffith B P, Goerlich C E, Singh A K, et al. Genetically modified porcine-to-human cardiac xenotransplantation. *N Engl J Med*, 2022, 387: 35–44
- Ruan D, Xuan Y, Tam T T K K, et al. An optimized culture system for efficient derivation of porcine expanded potential stem cells from preimplantation embryos and by reprogramming somatic cells. *Nat Protoc*, 2024, 19: 1710–1749
- Blake M J, Steer C J. Chimeric livers: interspecies blastocyst complementation and xenotransplantation for end-stage liver disease. *Hepat Med*, 2024, 16: 11–29
- Das S, Koyano-Nakagawa N, Gafni O, et al. Generation of human endothelium in pig embryos deficient in ETV2. *Nat Biotechnol*, 2020, 38: 297–302
- Wu J, Greely H T, Jaenisch R, et al. Stem cells and interspecies chimaeras. *Nature*, 2016, 540: 51–59
- Yuri S, Murase Y, Isotani A. Generation of rat-derived lung epithelial cells in Fgfr2b-deficient mice retains species-specific development. *Development*, 2024, 151: dev202081
- Wen B, Li E, Wang G, et al. CRISPR-Cas9 genome editing allows generation of the mouse lung in a rat. *Am J Respir Crit Care Med*, 2024, 210: 167–177

- 9 Miura A, Sarmah H, Tanaka J, et al. Conditional blastocyst complementation of a defective Foxa2 lineage efficiently promotes the generation of the whole lung. *eLife*, 2023, 12: e86105
- 10 Yamaguchi T, Sato H, Kato-Itoh M, et al. Interspecies organogenesis generates autologous functional islets. *Nature*, 2017, 542: 191–196
- 11 Kobayashi T, Yamaguchi T, Hamanaka S, et al. Generation of rat pancreas in mouse by interspecific blastocyst injection of pluripotent stem cells. *Cell*, 2010, 142: 787–799
- 12 Kano M, Mizuno N, Sato H, et al. Functional calcium-responsive parathyroid glands generated using single-step blastocyst complementation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2023, 120: e2216564120
- 13 Goto T, Hara H, Sanbo M, et al. Generation of pluripotent stem cell-derived mouse kidneys in *Sall1*-targeted anephric rats. *Nat Commun*, 2019, 10: 451
- 14 Thomas J, Zimmerlin L, Huo J S, et al. Running the full human developmental clock in interspecies chimeras using alternative human stem cells with expanded embryonic potential. *NPJ Regen Med*, 2021, 6: 25
- 15 Wu J, Fu J. Toward developing human organs via embryo models and chimeras. *Cell*, 2024, 187: 3194–3219
- 16 Yamaguchi T, Sato H, Kobayashi T, et al. An interspecies barrier to tetraploid complementation and chimera formation. *Sci Rep*, 2018, 8: 15289
- 17 Maeng G, Das S, Greisinger S M, et al. Humanized skeletal muscle in *MYF5/MYOD/MYF6*-null pig embryos. *Nat Biomed Eng*, 2021, 5: 805–814
- 18 Ballard E B, Wu J. Growth competition in interspecies chimeras: a new paradigm for blastocyst complementation. *Cell Stem Cell*, 2021, 28: 3–5
- 19 Zheng C, Ballard E B, Wu J. The road to generating transplantable organs: From blastocyst complementation to interspecies chimeras. *Development*, 2021, 148: dev195792
- 20 Chen J, Lansford R, Stewart V, et al. RAG-2-deficient blastocyst complementation: an assay of gene function in lymphocyte development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 4528–4532
- 21 Kitahara A, Ran Q, Oda K, et al. Generation of lungs by blastocyst complementation in apneumatic *Fgf10*-deficient mice. *Cell Rep*, 2020, 31: 107626
- 22 Mori M, Furuhashi K, Danielsson J A, et al. Generation of functional lungs via conditional blastocyst complementation using pluripotent stem cells. *Nat Med*, 2019, 25: 1691–1698
- 23 Chang A N, Liang Z, Dai H Q, et al. Neural blastocyst complementation enables mouse forebrain organogenesis. *Nature*, 2018, 563: 126–130
- 24 Sturzu A C, Rajarajan K, Passer D, et al. Fetal mammalian heart generates a robust compensatory response to cell loss. *Circulation*, 2015, 132: 109–121
- 25 Usui J, Kobayashi T, Yamaguchi T, et al. Generation of kidney from pluripotent stem cells via blastocyst complementation. *Am J Pathol*, 2012, 180: 2417–2426
- 26 Stanger B Z, Tanaka A J, Melton D A. Organ size is limited by the number of embryonic progenitor cells in the pancreas but not the liver. *Nature*, 2007, 445: 886–891
- 27 Müller S M, Terszowski G, Blum C, et al. Gene targeting of VEGF-A in thymus epithelium disrupts thymus blood vessel architecture. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 10587–10592
- 28 Wen B, Li E, Ustiyani V, et al. *In vivo* generation of lung and thyroid tissues from embryonic stem cells using blastocyst complementation. *Am J Respir Crit Care Med*, 2021, 203: 471–483
- 29 Miura K, Matoba S, Hirose M, et al. Generation of chimeric mice with spermatozoa fully derived from embryonic stem cells using a triple-target CRISPR method for *Nanos3*. *Biol Reprod*, 2021, 104: 223–233
- 30 Ran Q, Zhou Q, Oda K, et al. Generation of thyroid tissues from embryonic stem cells via blastocyst complementation *in vivo*. *Front Endocrinol*, 2020, 11: 609697
- 31 Huang C, Jiang H, Dong J, et al. Functional mouse hepatocytes derived from interspecies chimeric livers effectively mitigate chronic liver fibrosis. *Stem Cell Rep*, 2024, 19: 877–889
- 32 Wu J, Platero-Luengo A, Sakurai M, et al. Interspecies chimerism with mammalian pluripotent stem cells. *Cell*, 2017, 168: 473–486.e15
- 33 Santa Cruz-Pavlovich F J, Bolaños-Chang A J, Del Rio-Murillo X I, et al. Beyond vision: an overview of regenerative medicine and its current applications in ophthalmological care. *Cells*, 2024, 13: 179
- 34 Wang X, Shi H, Zhou J, et al. Generation of rat blood vasculature and hematopoietic cells in rat-mouse chimeras by blastocyst complementation. *J Genet Genomics*, 2020, 47: 249–261
- 35 Zvick J, Tarnowska-Sengül M, Ghosh A, et al. Exclusive generation of rat spermatozoa in sterile mice utilizing blastocyst complementation with

- pluripotent stem cells. *Stem Cell Rep*, 2022, 17: 1942–1958
- 36 Hamanaka S, Umino A, Sato H, et al. Generation of vascular endothelial cells and hematopoietic cells by blastocyst complementation. *Stem Cell Rep*, 2018, 11: 988–997
 - 37 Huang J, He B, Yang X, et al. Generation of rat forebrain tissues in mice. *Cell*, 2024, 187: 2129–2142.e17
 - 38 Nishimura T, Suchy F P, Bhadury J, et al. Generation of functional organs using a cell-competitive niche in intra- and inter-species rodent chimeras. *Cell Stem Cell*, 2021, 28: 141–149.e3
 - 39 Kobayashi T, Goto T, Oikawa M, et al. Blastocyst complementation using Prdm14-deficient rats enables efficient germline transmission and generation of functional mouse spermatids in rats. *Nat Commun*, 2021, 12: 1328
 - 40 Li S, Yang M, Shen H, et al. Capturing totipotency in human cells through spliceosomal repression. *Cell*, 2024, 187: 3284–3302.e23
 - 41 Mazid M A, Ward C, Luo Z, et al. Rolling back human pluripotent stem cells to an eight-cell embryo-like stage. *Nature*, 2022, 605: 315–324
 - 42 Yang Y, Liu B, Xu J, et al. Derivation of pluripotent stem cells with *in vivo* embryonic and extraembryonic potency. *Cell*, 2017, 169: 243–257.e25
 - 43 Tan T, Wu J, Si C, et al. Chimeric contribution of human extended pluripotent stem cells to monkey embryos *ex vivo*. *Cell*, 2021, 184: 2020–2032.e14
 - 44 Zhang B, Li H, Hu Z, et al. Generation of mouse-human chimeric embryos. *Nat Protoc*, 2021, 16: 3954–3980
 - 45 Tai 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. *EMBO Rep*, 2020, 21: e47533
 - 46 Gafni O, Weinberger L, Mansour A A F, et al. Derivation of novel human ground state naïve pluripotent stem cells. *Nature*, 2013, 504: 282–286
 - 47 James D, Noggle S A, Swigut T, et al. Contribution of human embryonic stem cells to mouse blastocysts. *Dev Biol*, 2006, 295: 90–102
 - 48 Fu R, Yu D, Ren J, et al. Domesticated cynomolgus monkey embryonic stem cells allow the generation of neonatal interspecies chimeric pigs. *Protein Cell*, 2020, 11: 97–107
 - 49 Fang R, Liu K, Zhao Y, et al. Generation of naïve induced pluripotent stem cells from rhesus monkey fibroblasts. *Cell Stem Cell*, 2014, 15: 488–497
 - 50 Na Q, Zhang S, Shao P, et al. *In vitro* generation of trophoblast like stem cells from goat pluripotent stem cells. *Theriogenology*, 2024, 226: 120–129
 - 51 Wang J, Xie W, Li N, et al. Generation of a humanized mesonephros in pigs from induced pluripotent stem cells via embryo complementation. *Cell Stem Cell*, 2023, 30: 1235–1245.e6
 - 52 Tanaka J, Miura A, Shimamura Y, et al. Generation of salivary glands derived from pluripotent stem cells via conditional blastocyst complementation. *Cell Rep*, 2024, 43: 114340
 - 53 Coppiello G, Barlabé P, Moya-Jódar M, et al. Generation of heart and vascular system in rodents by blastocyst complementation. *Dev Cell*, 2023, 58: 2881–2895.e7
 - 54 Yuri S, Arisawa N, Kitamuro K, et al. Blastocyst complementation-based rat-derived heart generation reveals cardiac anomaly barriers to interspecies chimera development. *iScience*, 2024, 27: 111414
 - 55 Mallapaty S. Tiny human hearts grown in pig embryos for the first time. *Nature*, 2025, 642: 852
 - 56 Throesch B T, bin Imtiaz M K, Muñoz-Castañeda R, et al. Functional sensory circuits built from neurons of two species. *Cell*, 2024, 187: 2143–2157.e15
 - 57 Wang H, Yin X, Xu J, et al. Interspecies chimerism with human embryonic stem cells generates functional human dopamine neurons at low efficiency. *Stem Cell Rep*, 2024, 19: 54–67
 - 58 Wu J, Okamura D, Li M, et al. An alternative pluripotent state confers interspecies chimaeric competency. *Nature*, 2015, 521: 316–321
 - 59 Wang J, Zhou Q. Derivation and application of pluripotent stem cells for regenerative medicine. *Sci China Life Sci*, 2016, 59: 576–583
 - 60 Huang J, He B, Wu J. Recent advances in interspecies chimeras and organogenesis. *Curr Opin Genet Dev*, 2025, 93: 102368
 - 61 Weinberger L, Ayyash M, Novershtern N, et al. Dynamic stem cell states: naïve to primed pluripotency in rodents and humans. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17: 155–169
 - 62 De Los Angeles A, Sakurai M, Wu J. Embryonic chimeras with human pluripotent stem cells. *Methods Mol Biol*, 2019, 2005: 125–151
 - 63 Pastor W A, Chen D, Liu W, et al. Naïve human pluripotent cells feature a methylation landscape devoid of blastocyst or germline memory. *Cell Stem Cell*, 2016, 18: 323–329

- 64 Liu X, Nefzger C M, Rossello F J, et al. Comprehensive characterization of distinct states of human naive pluripotency generated by reprogramming. [Nat Methods](#), 2017, 14: 1055–1062
- 65 Aksoy I, Rognard C, Moulin A, et al. Apoptosis, G1 phase stall, and premature differentiation account for low chimeric competence of human and rhesus monkey naive pluripotent stem cells. [Stem Cell Rep](#), 2021, 16: 56–74
- 66 Theunissen T W, Friedli M, He Y, et al. Molecular criteria for defining the naive human pluripotent state. [Cell Stem Cell](#), 2016, 19: 502–515
- 67 Bayerl J, Ayyash M, Shani T, et al. Principles of signaling pathway modulation for enhancing human naive pluripotency induction. [Cell Stem Cell](#), 2021, 28: 1549–1565.e12
- 68 Theunissen T W, Powell B E, Wang H, et al. Systematic identification of culture conditions for induction and maintenance of naive human pluripotency. [Cell Stem Cell](#), 2014, 15: 471–487
- 69 Mascetti V L, Pedersen R A. Human-mouse chimerism validates human stem cell pluripotency. [Cell Stem Cell](#), 2016, 18: 67–72
- 70 Rossant J. Mouse and human blastocyst-derived stem cells: vive les differences. [Development](#), 2015, 142: 9–12
- 71 Shen H, Yang M, Li S, et al. Mouse totipotent stem cells captured and maintained through spliceosomal repression. [Cell](#), 2021, 184: 2843–2859.e20
- 72 Yang J, Ryan D J, Wang W, et al. Establishment of mouse expanded potential stem cells. [Nature](#), 2017, 550: 393–397
- 73 Gao X, Nowak-Imialek M, Chen X, et al. Establishment of porcine and human expanded potential stem cells. [Nat Cell Biol](#), 2019, 21: 687–699
- 74 Taubenschmid-Stowers J, Rostovskaya M, Santos F, et al. 8C-like cells capture the human zygotic genome activation program *in vitro*. [Cell Stem Cell](#), 2022, 29: 449–459.e6
- 75 Macfarlan T S, Gifford W D, Driscoll S, et al. Embryonic stem cell potency fluctuates with endogenous retrovirus activity. [Nature](#), 2012, 487: 57–63
- 76 Olbrich T, Vega-Sendino M, Tillo D, et al. CTCF is a barrier for 2C-like reprogramming. [Nat Commun](#), 2021, 12: 4856
- 77 Xu Y, Zhao J, Ren Y, et al. Derivation of totipotent-like stem cells with blastocyst-like structure forming potential. [Cell Res](#), 2022, 32: 513–529
- 78 Yang M, Yu H, Xu X, et al. Chemical-induced chromatin remodeling reprograms mouse ESCs to totipotent-like stem cells. [Cell Stem Cell](#), 2022, 29: 400–418.e13
- 79 Hu Y, Yang Y, Tan P, et al. Induction of mouse totipotent stem cells by a defined chemical cocktail. [Nature](#), 2023, 617: 792–797
- 80 Wu J, Izpisua Belmonte J C. Dynamic pluripotent stem cell states and their applications. [Cell Stem Cell](#), 2015, 17: 509–525
- 81 Huang K, Zhu Y, Ma Y, et al. BMI1 enables interspecies chimerism with human pluripotent stem cells. [Nat Commun](#), 2018, 9: 4649
- 82 Wang X, Li T, Cui T, et al. Human embryonic stem cells contribute to embryonic and extraembryonic lineages in mouse embryos upon inhibition of apoptosis. [Cell Res](#), 2018, 28: 126–129
- 83 Hu Z, Li H, Jiang H, et al. Transient inhibition of mTOR in human pluripotent stem cells enables robust formation of mouse-human chimeric embryos. [Sci Adv](#), 2020, 6: eaaz0298
- 84 Takashima Y, Guo G, Loos R, et al. Resetting transcription factor control circuitry toward ground-state pluripotency in human. [Cell](#), 2014, 158: 1254–1269
- 85 Starr A L, Nishimura T, Igarashi K J, et al. Disentangling cell-intrinsic and extrinsic factors underlying evolution. [bioRxiv](#), 2024, 592777
- 86 Masaki H, Kato-Itoh M, Umino A, et al. Interspecific *in vitro* assay for the chimera-forming ability of human pluripotent stem cells. [Development](#), 2015, 142: 3222–3230
- 87 Masaki H, Kato-Itoh M, Takahashi Y, et al. Inhibition of apoptosis overcomes stage-related compatibility barriers to chimera formation in mouse embryos. [Cell Stem Cell](#), 2016, 19: 587–592
- 88 Zheng C, Hu Y, Sakurai M, et al. Cell competition constitutes a barrier for interspecies chimerism. [Nature](#), 2021, 592: 272–276
- 89 Morata G, Ripoll P. Minutes: mutants of drosophila autonomously affecting cell division rate. [Dev Biol](#), 1975, 42: 211–221
- 90 Meyer S N, Amoyel M, Bergantiños C, et al. An ancient defense system eliminates unfit cells from developing tissues during cell competition. [Science](#), 2014, 346: 1258236
- 91 Akhlaghpour A, Taei A, Ghadami S A, et al. Chicken interspecies chimerism unveils human pluripotency. [Stem Cell Rep](#), 2021, 16: 39–55
- 92 Huang Y, Osorno R, Tsakiridis A, et al. *In vivo* differentiation potential of epiblast stem cells revealed by chimeric embryo formation. [Cell Rep](#), 2012, 2: 1571–1578
- 93 Liu B, Chen S, Xu Y, et al. Chemically defined and xeno-free culture condition for human extended pluripotent stem cells. [Nat Commun](#), 2021, 12: 3017
- 94 Aguilera-Castrejon A, Oldak B, Shani T, et al. *Ex utero* mouse embryogenesis from pre-gastrulation to late organogenesis. [Nature](#), 2021, 593:

119–124

- 95 Barry C, Schmitz M T, Jiang P, et al. Species-specific developmental timing is maintained by pluripotent stem cells *ex utero*. *Dev Biol*, 2017, 423: 101–110
- 96 Rayon T, Stamatakis D, Perez-Carrasco R, et al. Species-specific pace of development is associated with differences in protein stability. *Science*, 2020, 369: eaba7667
- 97 Brown J, Barry C, Schmitz M T, et al. Interspecies chimeric conditions affect the developmental rate of human pluripotent stem cells. *PLoS Comput Biol*, 2021, 17: e1008778
- 98 Shetty A, Lim S, Strell P, et al. *In silico* stage-matching of human, marmoset, mouse, and pig embryos to enhance organ development through interspecies chimerism. *Cell Transplant*, 2023, 32: 96
- 99 Ballard E, Sakurai M, Yu L, et al. Incompatibility in cell adhesion constitutes a barrier to interspecies chimerism. *Cell Stem Cell*, 2024, 31: 1419–1426.e7
- 100 Glass D S, Riedel-Kruse I H. A synthetic bacterial cell-cell adhesion toolbox for programming multicellular morphologies and patterns. *Cell*, 2018, 174: 649–658.e16
- 101 Stevens A J, Harris A R, Gerdt J, et al. Programming multicellular assembly with synthetic cell adhesion molecules. *Nature*, 2023, 614: 144–152
- 102 Dahéron L, Opitz S L, Zaehres H, et al. LIF/STAT3 signaling fails to maintain self-renewal of human embryonic stem cells. *Stem Cells*, 2004, 22: 770–778
- 103 Larson E L, Joo D J, Nelson E D, et al. Fumarylacetoacetate hydrolase gene as a knockout target for hepatic chimerism and donor liver production. *Stem Cell Rep*, 2021, 16: 2577–2588
- 104 Li Y, Huang K. Human-animal interspecies chimerism via blastocyst complementation: advances, challenges and perspectives: a narrative review. *Stem Cell Investig*, 2021, 8: 20
- 105 Wang L N, Jia J S, Yang X L, et al. Foxa1 disruption enhances human cell integration in human-mouse interspecies chimeras. *Cell Tissue Res*, 2025, 399: 231–245
- 106 Strell P, Shetty A, Steer C J, et al. Interspecies chimeric barriers for generating exogenic organs and cells for transplantation. *Cell Transplant*, 2022, 31: 9636897221110525
- 107 Brehm M A, Racki W J, Leif J, et al. Engraftment of human HSCs in nonirradiated newborn NOD-*scid* *IL2r γ* ^{null} mice is enhanced by transgenic expression of membrane-bound human SCF. *Blood*, 2012, 119: 2778–2788
- 108 Rongvaux A, Willinger T, Takizawa H, et al. Human thrombopoietin knockin mice efficiently support human hematopoiesis *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 2378–2383
- 109 Rongvaux A, Willinger T, Martinek J, et al. Development and function of human innate immune cells in a humanized mouse model. *Nat Biotechnol*, 2014, 32: 364–372
- 110 Clark A T, Brivanlou A, Fu J, et al. Human embryo research, stem cell-derived embryo models and *in vitro* gametogenesis: considerations leading to the revised ISSCR guidelines. *Stem Cell Rep*, 2021, 16: 1416–1424
- 111 Lovell-Badge R, Anthony E, Barker R A, et al. ISSCR guidelines for stem cell research and clinical translation: the 2021 update. *Stem Cell Rep*, 2021, 16: 1398–1408
- 112 Ebrahim N, Shakirova K, Dashinimaev E. PDX1 is the cornerstone of pancreatic β -cell functions and identity. *Front Mol Biosci*, 2022, 9: 1091757
- 113 Clark A T, Cook-Andersen H, Franklin S, et al. Stem cell-based embryo models: the 2021 ISSCR stem cell guidelines revisited. *Stem Cell Rep*, 2025, 20: 102514
- 114 Rafat M, Jabbarvand M, Sharma N, et al. Bioengineered corneal tissue for minimally invasive vision restoration in advanced keratoconus in two clinical cohorts. *Nat Biotechnol*, 2023, 41: 70–81
- 115 Hirsch T, Rothoef T, Teig N, et al. Regeneration of the entire human epidermis using transgenic stem cells. *Nature*, 2017, 551: 327–332
- 116 Gong L, Zhang Y, Zhu Y, et al. Rapid generation of functional vascular organoids via simultaneous transcription factor activation of endothelial and mural lineages. *Cell Stem Cell*, 2025, 32: 1200–1217.e6
- 117 Miao Y, Pek N M, Tan C, et al. Co-development of mesoderm and endoderm enables organotypic vascularization in lung and gut organoids. *Cell*, 2025, 188: 4295–4313.e27

Advances in interspecies chimerism in animals

NIU HuiMin¹, ZHENG Wei¹, SHEN Hui¹ & DU Peng^{1,2,3*}

¹ MOE Key Laboratory of Cell Proliferation and Differentiation, School of Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China

² Peking-Tsinghua Center for Life Sciences, Academy for Advanced Interdisciplinary Studies, Peking University, Beijing 100871, China

³ Beijing Advanced Center of RNA Biology, Peking University, Beijing 100871, China

* Corresponding author; E-mail: pengdu@pku.edu.cn

In the case of various life-threatening diseases like end-stage organ failure, whole-organ transplantation is typically the central therapeutic option. However, the global shortage of transplantable human organs poses a major clinical challenge. Although animal organs that are anatomically and physiologically similar to human organs have been explored as alternatives, interspecies incompatibility remains a significant barrier. Interspecies chimerism has emerged as a promising strategy to address this issue. By harnessing the self-organizing capacity of embryos *in vivo*, this approach enables the generation of complex organ structures and circumvents the limitations of *in vitro* differentiation. This review summarizes recent advances in interspecies chimerism research, focusing on donor cell types, mechanisms of cell competition, and current technical and ethical challenges. It also discusses the future potential of this technology for organ generation and transplantation, providing a theoretical foundation for research in developmental biology and regenerative medicine.

interspecies chimerism, embryonic development, cell competition, totipotent stem cells

doi: [10.1360/SSV-2025-0231](https://doi.org/10.1360/SSV-2025-0231)