

间充质干细胞研究进展

李忠俊 相丽欣 叶兴德(第三军医大学 新桥医院 输血科, 重庆 400037)

关键词: 间充质干细胞; 诱导分化; 细胞治疗; 基因治疗; 组织工程

中图分类号: R457.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2013)04-0307-03

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是1类具有自我更新能力及多向分化潜能的成体干细胞。在不同的诱导条件下可以分化为许多不同的组织,如骨、软骨、脂肪、内皮、肌肉、神经和上皮组织等。MSCs可以从成体多种组织获得,分离方法简便,体外培养方便,便于自体移植、外源基因转染及表达调控等,在细胞治疗、基因治疗及组织再生及修复等方面具有广阔的应用前景。

1 MSCs 的生物学特性

由于MSCs广泛分布于人体各种不同的组织,如骨髓、外周血、脐血、脐带静脉内皮下层、肌腱、骨膜、脂肪、嗅粘膜、胎肺和胎肾等组织中,它成为目前倍受关注的1类成体干细胞;而骨髓又是MSCs最主要的来源,即便MSCs仅占整个骨髓细胞群的0.01%左右^[1-3]。

1.1 MSCs 表型特征 MSCs的鉴定涉及到细胞表型的特异性标记,但目前尚未发现MSCs的特异性表面标志物;通常通过监测一系列的分子指标来对MSCs鉴定。流式细胞仪分析显示, MSCs表达多种特异性抗原、细胞因子、生长因子受体、粘附相关分子及胞外基质;MSCs表达的特异性抗原有:SH2、SH3、SH4、CD29、CD44、CD71、CD90、CD106、CD120a、CD124、STRO-1、CD105、CD117(c-kit)、 α -smooth muscle actin、MAB1740;表达的细胞因子有IL-1 α 、-6、-7、-8、-11、-12、-14和-15及LIF、Flt-3配体、GM-CSF、G-CSF、M-CSF等;表达的相关粘附分子有:整合素 α v β 3、 α v β 5,整合素链 α 1、 α 2、 α 3、 α 4、 α 5、 α v、 β 1、 β 3、 β 4、ICAM-1、ICAM-2、ICAM-3、VCAM-1、LFA-3、L-选择素、HCAM、ALCAM-1;表达的胞外基质有:胶原蛋白type I、II、III、IV、V和VI、粘连蛋白、透明质酸酶、蛋白聚糖、层粘连蛋白等^[4]。

1.2 MSCs 的增殖性及可塑性 分布于全身各结缔组织中的MSCs的贴壁能力很强,它能贴附在塑料培养器皿壁上生长,有丝分裂活动旺盛,具有活跃的增殖能力。MSCs的另1个重要特性是具有多向分化潜能,在不同诱导条件下,可以向骨、软骨、肌肉、肌腱、血管内皮细胞、脂肪细胞、胰岛 β 细胞及神经胶质细胞、神经细胞等分化,近年来它常被用作组织工程的种子细胞^[5]。针对传统的体外培养体系获取MSCs效率低,难以满足临床及科研需求的情况,我们对该培养体系作了改良,改良后的培养体系中MSCs活力增加、生长增殖更快,而且培养基配制方法简便^[6]。

2 MSCs 的临床应用前景

由于MSCs具有多向分化的特性,使得其在组织工程创

伤修复、细胞替代治疗、支持造血、基因治疗等方面的应用前景相当广阔。

2.1 神经系统疾病 近年来, MSCs 已被认为是治疗急性损伤及渐进性退化等多种中枢神经系统疾病中十分有前途的治疗策略,如中风、帕金森病(PD)、肌肉萎缩性侧索硬化症、多系统萎缩(MSA)、自身免疫性脑脊髓炎(EAE)和脊髓损伤等^[7]。在阿尔茨海默病患者的细胞模型中,人MSCs(HM-SCs)可以阻止由于AT tau的错误折叠诱发的细胞死亡,其有望成为治疗该病的替代细胞治疗方法^[8]。MSCs移植在治疗小脑疾病方面也给予人们以希望,移植MSCs6周后,大鼠的空间记忆能力、运动学习能力、运动功能的不对称性等方面有了明显改善,动物的异常行为明显减少^[9]。

2.2 心血管系统疾病 随着溶栓治疗、介入治疗、外科治疗等方法的开展,心肌梗死患者的死亡率明显下降;但现有的治疗方法都不能逆转已有的心肌病变(包括心肌细胞的大量丧失)。MSCs可以减少心肌创伤及梗死面积,恢复心肌机械能量,改善局部及整体心室功能,增加血管密度及心肌灌注^[10],因此移植外源性MSCs有望成为防止和逆转心力衰竭的1个有效途径,而其中关注最多也最有临床应用潜力的是骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BM-SCs)。目前,BMSCs移植治疗心血管疾病的研究主要集中于心肌梗死和心肌缺血方面,把BMS Cs注入急性心肌梗死模型中,发现BMS Cs能分化为血管内皮细胞,加强血管生成的能力,增强缺血部位再灌注^[11],将患者自体BMS Cs移植到稳定性心绞痛患者心缺血区,3个月后患者的症状、缺血区心肌灌注以及心功能明显改善^[12]。这一系列研究均证实,给严重缺血性心脏病患者行BMS Cs移植是1种相对安全的疗法,有望改善心肌的血液供应并提高心功能。

2.3 在骨组织工程中的应用 由疾病、创伤所致的骨、软骨缺损是临床常见且较难解决的问题,目前常规的方法有自体或异体、异种骨移植,但它们都存在一定的问题和限制,难以完全满足临床需要。MSCs为骨或软骨缺损的治疗提供了广阔前景。目前已有超过100多个涉及MSCs的临床试验在美国官方注册^[13]。MSCs修复半月板的临床I/II期试验早已于2003年完成^[14]。3名长骨缺损患者移植了体外扩增的BMS Cs 1~2年后获得了良好的修复缺损的效果^[15]。将来源于髌下脂肪垫的MSCs直接注射到骨关节炎兔模型的受损膝盖中,20周后与对照组相比,注射了MSCs的兔在软骨退化率、骨赘形成及软骨硬化方面均表现出较低水平^[16]。

2.4 糖尿病 这是危害人类健康的常见内分泌代谢性疾病

病,目前全世界糖尿病患者数达 2.23 亿,据 WHO 推测到 2025 年将增加到 3.33 亿^[17]。依赖于口服降糖药物和外源性胰岛素治疗,不能完全阻止、逆转高血糖症带来的慢性并发症的发生和进展。MSCs 具有组织同源性,能够克服免疫排斥反应,在体内外能够向胰岛样细胞分化,并能够降低糖尿病受体的血糖水平,且来源广泛,取材方便,是 1 种十分有前景的治疗糖尿病的细胞疗法^[18]。在比格犬中通过自体移植 MSCs 表达人胰岛素,可以有效缓解 I 型糖尿病症状长达 16 周^[19]。此外,约有 1/5 的 II 型糖尿病患者患有外周动脉疾病(PAD),其中包括危重肢体缺血(CLI);BMSCs 的自体移植可以有效缓解 II 型糖尿病患者的危重肢体缺血并促进溃疡面修复^[20]。

2.5 肝脏疾病 以往对于严重晚期肝脏疾病的唯一明确有效的治疗方法是原位肝移植,但因肝移植手术复杂、术后可能发生排斥反应、生存率不高等缺点,尤其是供体肝缺乏,使得这种治疗措施难以广泛推广。已有 I 期临床试验证明通过外周血移植 BMSCs 治疗人肝硬化是安全可行的方法^[21]。有学者对 4 名肝硬化患者,通过外周血移植标记了 111In-oxine 的 MSCs,结果显示 111In-oxine 标记是安全的,并且 111In-oxine 标记后可以追踪 MSCs 移植后的生物分布情况^[22]。

2.6 皮肤创伤修复及再生 虽然目前可用于临床的皮肤移植物和皮肤替代品很多,但是仍不能满足临床的各种需求,特别是针对大面积深度皮肤烧伤、自体皮皮源十分缺乏的患者。将 MSCs 移植到创伤部位可以明显加速伤口愈合,促进上皮细胞再生及血管生成。并且移植到创伤部位的 MSCs 可以表达角化细胞特异性蛋白,形成腺体结构,参与皮肤再生^[23]。体外诱导 BMSCs 分化为汗腺细胞,并将这些细胞移植到深度烧伤患者疤痕切除后的伤口上,移植部位排汗功能得到了恢复,由 BMSCs 分化而来的汗腺细胞(SGCs)参与了汗腺功能的恢复^[24]。

2.7 自身免疫系统疾病 MSCs 具有免疫调节作用,低免疫原性,其在体外可以抑制 T 细胞同种异体反应性,并几乎可以抑制免疫系统的所有细胞,将其移植到人体内不会产生急性毒性反应及形成异常组织,因此 MSCs 在治疗自身免疫系统疾病方面也给予了人们希望,如移植植物抗宿主病(GVHD),系统性红斑狼疮(SLE),类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)等^[25,26]。髓细胞白血病异基因造血干细胞移植后经常规抗 GVHD 药物治疗无效的患者,行脐带血间充质干细胞(UCMSCs)治疗,5 名患者中有 4 名患者均恢复良好^[27]。此外,联合 UCMSCs 移植对造血干细胞移植后的归巢、发育、分化、成熟以及移植后的造血重建均有促进的作用,有助于减少移植后患者的感染率、GVHD 发生率及死亡率^[28]。

3 MSCs 的研究前景

虽然 MSCs 在组织工程创伤修复、细胞替代治疗、基因治疗等方面具有很好的临床应用价值和广阔的应用前景,但是直到目前为止 MSCs 的分离、纯化及扩增方法还不够完善,还未建立鉴定 MSCs 的统一标准;MSCs 在体内的细胞生物学和分子生物学作用机制尚不清楚;MSCs 广泛应用于临床还有许多问题亟待解决。比如 MSCs 移植时机、移植路径,移植细

胞的成分、数量以及移植后的细胞能否长期存活,移植后是否产生无法控制的细胞分化增殖,如何限定 MSCs 在体内外诱导条件下向所需细胞、组织定向分化等诸多问题;此外,细胞移植 MSCs 后是否具有致瘤性,其对肿瘤的发生及发展有何影响也是目前人们关注的问题。MSCs 驻留在骨髓微环境中,具有多向分化潜能,当给予正确的信号后,分化成为软骨、肌肉、脂肪、成骨等细胞类型,同时 MSCs 表达一些趋化因子及趋化因子受体使得他们能够渗入到受损及发炎组织^[29]。已有研究显示移植到乳腺肿瘤的 MSCs 通过分泌趋化因子 CXCL7 及 CCL5 转移促进肿瘤干细胞的发展及转移^[30]。另有研究证实 BMSCs 在乳腺癌细胞系的转移过程中具有重要作用,推测 MSCs 在体内的乳腺癌骨转移中具有潜在的作用^[31]。但是,由于 MSCs 本身具有极大的临床应用潜力,随着以上问题的不断解决,对于其作用机制的不断了解,人们将可以更好地利用这一资源。

参 考 文 献

- [1] Zhang X, Hirai M, Cantero S, et al. Isolation and characterization of mesenchymal stem cells from human umbilical cord blood: reevaluation of critical factors for successful isolation and high ability to proliferate and differentiate to chondrocytes as compared to mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue. *J Cell Biochem*, 2011, 112(4): 1206-1218.
- [2] Khan WS, Adesida AB, Tew SR, et al. Fat pad-derived mesenchymal stem cells as a potential source for cell-based adipose tissue repair strategies. *Cell Prolif*, 2012, 45(2): 111-120.
- [3] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 1999, 284(5411): 143-147.
- [4] Robert J, Deans, Annemarie B. Moseley Mesenchymal stem cells: Biology and potential clinical uses. *Exp Hematol*, 2000, 28(8): 875-884.
- [5] Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*, 2002, 418(6893): 41-49.
- [6] 叶兴德,冉茜,李忠俊,等.人骨髓间充质干细胞体外培养方法的改良.中国输血杂志,2013,26(4):310-315.
- [7] Daniel JM, Steven AH, Stefan AP. Role of mesenchymal stem cells in neurogenesis and nervous system repair. *Neurochem Int*, 2011, 59: 347-356.
- [8] Zilka N, Zilkova M, Kazmerova Z, et al. Mesenchymal stem cells rescue the Alzheimer's disease cell model from cell death induced by misfolded truncated tau. *Neuroscience*, 2011, 193: 330-337.
- [9] Edalatmanesh MA, Bahrami AR, Hosseini E, et al. Bone marrow derived mesenchymal stem cell transplantation in cerebellar degeneration: a behavioral study. *Behav Brain Res*, 2011, 225(1): 63-70.
- [10] Madonna R, de Caterina R. Stem cells and growth factor delivery systems for cardiovascular disease. *J Biotechnol*, 2011, 154 (4): 291-297.
- [11] Silva GV, Litovsky S, Assad JA, et al. Mesenchymal stem cells differentiate into an endothelial phenotype, enhance vascular density, and improve heart function in a canine chronic ischemia model. *Circulation*, 2005, 111(2): 150-156.
- [12] Tse HF, Kwong YL, Chan JK, et al. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear

cell implantation. *Lancet*, 2003, 361 (9351) :47-49.

[13] Aicher WK, Bhring HJ, Hart M, et al. Regeneration of cartilage and bone by defined subsets of mesenchymal stromal cells-potential and pitfalls. *Adv Drug Deliv Rev*, 2011, 63 (4-5) :342-351.

[14] Murphy JM, Fink DJ, Hunziker EB, et al. Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, 2003, 48 (12) : 3464-3474.

[15] Quarto R, Mastrogiacomo M, Cancedda R, et al. Repair of large bone defects with the use of autologous bone marrow stromal cells. *N Engl J Med*, 2001, 344 (5) :385-386.

[16] Toghraie FS, Chenari N, Gholipour MA, et al. Treatment of osteoarthritis with infrapatellar fat pad derived mesenchymal stem cells in Rabbit. *Knee*, 2011, 18 (2) :71-75.

[17] Zimmet P. The burden of type 2 diabetes; are we doing enough? *Diabetes Metab*, 2003, 29 (4 Pt 2) :6S9-6S18.

[18] Vija L, Farge D, Gautier JF, et al. Mesenchymal stem cells: stem cell therapy perspectives for type 1 diabetes. *Diabetes Metab*, 2009, 35 (2) :85-93.

[19] Zhu S, Lu Y, Zhu J, et al. Effects of intrahepatic bone-derived mesenchymal stem cells autotransplantation on the diabetic Beagle dogs. *Surg Res*, 2011, 168 (2) :213-223.

[20] Tateishi-yuyama E, Matsubara H, Murohara T, et al. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet*, 2002, 360 (9331) :427-435.

[21] Mohamadnejad M, Alimoghaddam K, Mohyeddin-bonab M, et al. Phase 1 trial of autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with decompensated liver cirrhosis. *Arch Iran Med*, 2007, 10 (4) :459-466.

[22] Gholamrezanezhad A, Mirpour S, Bagheri M, et al. In vivo tracking of (111) in-oxine labeled mesenchymal stem cells following infusion in patients with advanced cirrhosis. *Nucl Med Biol*, 2011, 38 (7) :961-967.

[23] Wu Y, Chen L, Scott PG, et al. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis. *Stem Cells*, 2007, 25 (10) :2648-2659.

[24] Sheng Z, Fu X, Cai S, et al. Regeneration of functional sweat gland-like structures by transplanted differentiated bone marrow mesenchymal stem cells. *Wound Repair Regen*, 2009, 17 (3) :427-435.

[25] Eyal BA, Sonia BA, Ariel Miller. Mesenchymal stem cells as an immunomodulatory therapeutic strategy for autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*, 2011, 10, 410-415.

[26] 文钦, 陈幸华, 高蕾, 等. 人脐带间充质干细胞治疗移植植物抗宿主病的临床观察. *中国输血杂志*, 2012, 25 (2) :123-126.

[27] 肖燕妮, 张曦, 李忠俊, 等. 脐血间充质干细胞治疗 GVHD 的效果. *中国输血杂志*, 2013, 26 (4) :318-320.

[28] 肖燕妮, 张曦, 李忠俊, 等. 脐血间充质干细胞在造血干细胞移植中的临床应用. *中国输血杂志*, 2013, 26 (4) :315-317.

[29] Spaeth E, Klopp A, Dembinski J, et al. Inflammation and tumor microenvironments: defining the migratory itinerary of mesenchymal stem cells. *Gene Ther*, 2008, 15 (10) :730-738.

[30] Liu S, Ginesstier C, Ou SJ, et al. Breast cancer stem cells are regulated by mesenchymal stem cells through cytokine networks. *Cancer Res*, 2011, 71 (2) :614-624.

[31] Halpern JL, Kilbarger A, Lynch CC. Mesenchymal stem cells promote mammary cancer cell migration in vitro via the CXCR2 receptor. *Cancer Lett*, 2011, 308 (1) :91-99.

(2013-02-26 收稿 04-22 終回)

本文编辑:蔡辉

《中国输血杂志》第六届编辑委员会成员名单