

间充质干细胞促进脐带血干细胞体外扩增的研究进展

李华^{1,2} 李晓帆¹ 李乃农¹

【摘要】 非亲缘脐带血移植是治疗造血系统疾病的重要移植方式之一,但脐带血移植面临的挑战是造血干细胞(HSCs)数量不足,特别是成人患者受到脐带血干细胞数量的限制,导致造血及免疫恢复延迟,非复发死亡率升高。体外扩增脐带血HSCs(UCB-HSCs)是解决该问题的途径之一。研究发现可以通过模拟骨髓造血龛(niche)这一生态位使HSCs在体外进行自我更新增殖,而间充质干细胞(MSCs)正是造血龛的重要组成细胞之一。本文将探讨MSCs在UCB-HSCs体外扩增中的应用。重点以MSCs促进造血的特点、机制,促进脐带血干细胞增殖的各种策略以及其临床应用和前景做一综述。

【关键词】 间充质干细胞; 脐带血造血干细胞; 体外扩增

Research advances of umbilical cord blood stem cells proliferation promoted by mesenchymal stem cells *in vitro* Li Hua^{1,2}, Li Xiaofan¹, Li Nainong¹. ¹Hematopoietic Stem Cell Transplantation Center, Fujian Institute of Hematology, Fujian Provincial Key Laboratory on Hematology, Clinical Research Center for hematological malignancies of Fujian province, Fujian Medical University Union Hospital, Fuzhou 350001, China; ²Department of Science and Education, The Second Affiliated Hospital of Xiamen Medical college, Xiamen 361021, China

Corresponding author: Li Nainong, Email: nainli@aliyun.com

【Abstract】 Umbilical cord blood transplantation (UCBT) is one of the most important transplantation in treating hematological disorders. The biggest challenge in UCBT is the insufficient number of hematopoietic stem cells (HSCs), especially in adult patients limited by the number of stem cells from umbilical cord blood, which leads to delayed hematopoietic and immune recovery and increases the risk of infection and early transplant-related death. *In vitro* expansion of umbilical cord blood HSCs (UCB-HSCs) is one of the ways to solve this problem. Studies have found that HSCs could be self-renewal *in vitro* by mimetic hematopoietic niches in bone marrow. Mesenchymal stem cells (MSCs) play an important role in niche. In this review, we will discuss the application of MSCs in UCB-HSCs expansion *in vitro*, focusing on characteristics and mechanisms of hematopoiesis promoted by MSCs, strategies of promoting the proliferation of umbilical cord blood stem cells. Clinical applications and development prospect are also reviewed.

【Key words】 Mesenchymal stem cells; Umbilical cord blood-hematopoietic stem cells; *In vitro* expansion

非亲缘脐带血移植应用于各种药物治疗无法改善的恶性血液病和非血液病。在儿童和成人的急性白血病、高危骨髓增生异常综合征和再生障碍性贫血等血液病,免疫缺陷、代谢异常和神经运动发育不良等非血液病的移植中广泛应用^[1-2]。脐带血造血干细胞(umbilical cord blood hematopoietic stem cells, UCB-HSCs)是移植中造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)的重要来源之一,由于它容易获得,病原微生物感染率低,且淋巴细胞没有受到外界

抗原刺激,免疫原性相对较弱,能够较大幅度上容许人类白细胞抗原不匹配,从而具有移植抗宿主病发生较低的优势^[3],对于缺乏同胞全相合的患者,脐带血移植已经成为继单倍体移植的另一重要移植方式,移植数量逐年上升。

与成体造血干祖细胞(hematopoietic stem and progenitor cells, HSPCs)相比,脐带血移植面临的主要问题是UCB-HSCs数量不足。增加HSCs数量或者在干细胞的数量不变的情况下增加其归巢的比例是目前研究热点^[4]。单份脐带血移植所需的最小细胞数量是总有核细胞(total nucleated cells, TNC)数 $\geq (2.5 \sim 3.0) \times 10^7/\text{kg}$ 和 $\text{CD}34^+$ 细胞 $\geq 1.5 \times 10^5/\text{kg}$ ^[5]。成人患者接受脐带血移植时脐带血干细胞数量相对不足,导致造血或免疫恢复延迟,从而引起的感染及其他非复发死亡率较高。因此,临床上尝试采用双份脐带血移植以增加HSPCs数量,或非血缘脐带血移植的同时加用外周血 $\text{CD}34^+$ 干细胞移植,促进脐带血植入,缩短造血

DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2022.01.006

基金项目: 国家自然科学基金(81270641, 81541024, 81200400); 厦门市科技局指导性项目(3502220179008)

作者单位: 350001 福州, 福建医科大学附属协和医院造血干细胞移植中心 福建省血液病研究所 福建省血液病重点实验室 福建省恶性血液病临床医学研究中心¹; 361021 厦门医学院附属第二医院科教部²

通信作者: 李乃农, Email: nainli@aliyun.com

重建时间,这些移植方式已经在部分移植中心开展。脐带血 HSPCs 体外扩增实验也进行了几种优化扩增条件的尝试,包括使用多种特定培养基、细胞因子组合、小分子化合物使用、相关信号通路的调控和表观遗传学调控等,目前利用细胞因子扩增技术仍是最重要的工具,几乎所有成熟的扩增体系中均有细胞因子的参与^[6-7]。小分子化合物扩增和基因水平改造受到小分子自身的细胞毒性以及基因水平的改造后对 HSCs 的长期影响,扩增后 HSCs 的安全问题尚需进一步观察验证,临床尚未应用。在体外如何安全扩增 UCB-HSCs 并应用到临床,仍是基础和临床科学家们关心的问题。

1978 年,Deans 等^[8]提出了“造血龛(niche)”的概念,使人们认识到骨髓微环境对 HSCs 的生物学特性非常重要,它能够调控 HSCs 的功能和分化,在龛中的 HSCs 可以维持自我更新,一旦离开龛,就向造血祖细胞分化^[9-11]。龛是骨髓的体内微环境,主要由成骨细胞、间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)和内皮细胞及其它细胞等构成,通过细胞分泌因子、表达与 HSCs 相结合分子、产生细胞外基质等而产生造血组织内特定的微环境,为 HSCs 的自我更新、分化和存活提供了重要的前提条件^[12]。因此开发能够模拟造血生态位微环境的体外系统将改善体外 HSPCs 扩增策略。研究显示,骨髓微环境中 MSCs 的存在是诱导 HSCs 自我更新的关键。MSCs 能够分泌多种细胞因子和表达黏附分子,促进 HSCs 自我更新和分化。因此本文重点以 MSCs 作为“造血龛”的主要成分之一体外扩增 HSCs 并保持其干性的这一能力,其各种扩增策略及其临床应用和前景做一综述。

1 MSCs 的概况

MSCs 是发育早期中胚层内一种具有多向分化能力的干细胞,存在于全身结缔组织和器官间质中,如骨髓、脐带、胎盘和脂肪组织等^[13]。在 20 世纪 60 年代 Friedenstien^[14]首次在实验中分离 MSCs,其具有多向分化潜能、支持造血和促进 HSCs 植入、调节免疫等特点。来自羊膜、绒毛膜、脐带华通氏胶、羊水、脐带血及骨髓的 MSCs 与 HPSCs 共培养,均可以使 HSPCs 扩增^[15-16]。其中人骨髓来源(human bone marrow mesenchymal stem cells, hBM-MSCs)和人脐带来源的 MSCs(human umbilical cord mesenchymal stem cell, hUC-MSCs)促进 HSCs 增殖的研究较多,本文着重论述。

1.1 MSCs 的表面标志

2006 年国际细胞治疗学会提出鉴定 MSCs 的最低标准^[17]:(1)体外标准培养条件下具有塑料黏附性;(2)表达细胞表面标记物 CD105、CD73、CD90,而不表达 CD45、CD34、CD14 或 CD11b、CD79 α 或 CD19 和 HLA-DR;(3)体外分化为成骨细胞、脂肪细胞和软骨细胞。不同来源的 MSCs 具有不同的表面标志。

1.2 MSCs 促进造血重建的相关特性

1.2.1 MSCs 分泌多种支持造血的细胞因子 MSCs 在造血微环境中作为 HSCs 生长的天然支架,分泌造血细胞因子,为 HSPCs 增殖、分化和归巢提供支持^[18]。通过与造血细胞直接接触、分泌细胞外基质及多种细胞因子维持造血微环境结构和功能的完整性,实现对造血的精细调控^[19]。UC-MSCs 与

BM-MSCs 都可以表达干细胞因子(stem cell factor, SCF)、白血病抑制因子、巨噬细胞集落刺激因子、fms 样酪氨酸激酶 3(FMS-like tyrosine kinase-3, FLT3)和白细胞介素-6^[20]。此外,UC-MSCs 还产生粒细胞集落刺激因子和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子等,但 BM-MSCs 中没有发现^[21]。

1.2.2 MSCs 表达与造血细胞相互作用的黏附分子 MSCs 既能分泌造血调控因子又能选择性黏附支持 CD34⁺ HSPCs 的增殖和分化,细胞黏附分子在 HSCs 的生长发育和归巢中起重要作用。MSCs 与 HSCs 直接接触可分泌黏附因子,如血管细胞黏附分子-1、细胞间黏附因子-1、P 选择素以及基质细胞源性因子-1(stromal cell-derived factor, SDF-1),介导 HSCs 归巢^[22]。UC-MSCs 还通过表达 C-X-C 趋化因子受体(C-X-C chemokine receptor 4, CXCR-4),提高了 CD34⁺ 细胞向骨髓和脾脏的归巢和迁移效率^[23]。

1.2.3 MSCs 分化基质细胞构建造血龛 MSCs 除了可以分化为成骨细胞、脂肪细胞和软骨细胞等,还能在特定条件下分化为基质细胞,并通过分泌细胞外基质形成复杂的网状支架结构,参与造血微环境构成,构建 HSPCs 网状基质龛,调节定植于其中的造血细胞生理活动。对 HPSCs 的归巢、增殖和分化起重要的调控作用^[24]。

1.3 MSCs 促进造血中的 Notch 和 Wnt 信号通路

Notch 和 Wnt 信号是高度保守的细胞间通讯通路,参与造血等发育过程。MSCs 表达和分泌包括 Notch 和 Wnt 生物活性分子,Notch 和 Wnt 信号通路的激活对 HSCs 的维持、自我更新、增殖和分化所有阶段至关重要。UC-MSCs 及 CD34⁺ 细胞表面存在 Notch 信号配体及受体的表达,当它们共培养时 Notch 通路相关信号分子 Jagged 1 和 Notch1 基因表达明显增加^[25],说明 Notch 信号在 MSCs 支持的 UCB-HSCs 增殖过程中发挥重要作用。另外, MSCs 的 Notch 和 Wnt 通路激活还参与介导 HSCs 的黏附和迁移^[7,26],促进 HSCs 归巢。

Acuto 等^[27]研究显示通过模拟造血生态位的直接细胞接触培养系统,UC-MSCs 可以支持 UCB-HSCs 扩增。发现在 Wnt 信号通路中,主要是 Wnt 蛋白具有增殖-诱导生长因子的作用,它可以决定细胞的命运。但是与 BM-MSCs 相比,UC-MSCs 的造血支持能力未显示出优势,可能是由于 UC-MSCs 对成骨细胞和脂肪细胞的谱系启动和分化能力较弱,这与 Wnt 信号相关分子 WISP1 和 sFRP4 在 UC-MSCs 表达较低有关^[28]。

2 MSCs 构建的促进脐带血干细胞体外扩增培养体系

2.1 间充质基质细胞作为“饲养层”

MSCs 作为“饲养层”与脐带血干细胞共培养可以提高 CD34⁺ 细胞的干细胞数量并维持其干性。研究发现 MSCs 结合或者不结合造血刺激因子均能够提高扩增效率以增加 CD34⁺ 细胞的数量^[29-31]。Li 等^[32]使用 hUC-MSCs 作为饲养层,使用无血清培养系统和细胞因子,进行脐带血来源的 CD34⁺ 细胞体外扩增, TNC 增加 6~20 倍, CD34⁺ 细胞增加 8~37 倍。Oubari 等^[33]在具有添加 SCF、FLT-3、粒细胞集落刺激因子、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子等细胞因子和 MSCs 饲养层存在下扩增 UCB-HSCs,与无 MSCs 饲养

层而具有细胞因子的培养条件相比,仅 FLT-3 与 MSCs 共培养就可以使 CD34⁺ 达到 20 倍的扩增。Iacono 等^[27] 通过与 hUC-MSCs 直接接触培养、Transwell 系统分离培养或在 hUC-MSCs 条件培养基存在的情况下,也发现在短期内可以显著扩增脐带血来源的 CD34⁺ 的 HSPCs。

2.2 MSCs 参与仿生 3-D 造血龛

HSCs 的命运与造血龛密切相关,因此在体外模仿 HSPCs 生态位可能是一种有效的策略。过去以 MSCs 为基础模拟骨髓龛的胶原或纤维蛋白 3D 支架促进了 HSCs 的增殖^[34]。近几年利用各种无机和有机生物支架在体外联合 MSCs 促进 HSCs 增殖的研究较多。Liu 等^[35] 以人股骨干骺端生物源骨为支架,将不含任何细胞因子的骨髓源性 MSCs 与 MSCs 分化而来的成骨细胞共培养,这种新型的 HSPCs 三维培养体系不仅促脐带血来源的 HSCs 的自我更新和体外扩增,而且维持了原始 HSPCs 的表型和功能。Darvish 等^[36] 利用 3D 聚乳酸支架,将 MSCs 填充在支架上作为脐带血 HSCs 的微环境,从而有效促进其扩增。Tavakol 等^[37] 通过多孔的、胶原包覆的羧甲基纤维素微支架中共同培养 MSCs 和 HSPCs,在体外模拟三维造血生态位,证实在没有外源性细胞因子的情况下,该模型具有支持体外造血的能力。利用不同的生物材料制作造血模型均离不开 MSCs 的支持,3D 支架提供了 HSCs 的生态位,且研究显示仿生的环境中 MSCs 以三维球体的形式存在利于 HSPCs 增长^[38]。

2.3 MSCs 来源的胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 作为造血龛的“交通工具”

MSCs 是分泌 EVs 能力最强的细胞之一。EVs 是细胞在血浆和其他体液中释放的不同大小的膜包裹颗粒,分为 3 种:来自细胞膜外层的微粒或微囊泡 (microvesicles, MVs),由细胞膜内层形成的外泌体和凋亡小体^[39-40]。它们作为载体转移各种分子,如基因、蛋白质、mRNA 和 miRNA 等,以活性形式将其成分转移到目标细胞,是细胞间通信的重要工具。研究表明 MSCs 通过旁分泌携带活性的蛋白质、细胞因子和核酸类物质的 EVs 方式发挥作用^[41]。这些颗粒在造血龛调节中调节 HSCs 的增殖和分化等^[42]。骨髓来源的 MSCs 囊泡中富含 HSCs 代谢、增殖、分化和归巢必需的 miRNA^[43]。Ghebes 等^[44] 发现来自成人和胎儿骨髓 MSCs 的 EVs 能够不同程度地促进 UCB-HSCs 的体外扩增。在体外加入 MSCs 来源 MVs 的共培养系统中, MSCs-MVs 通过上调 β -catenin 表达,增加脐带血中 CD34⁺ 细胞增殖率,并提高早期造血前体祖细胞的数量^[45]。Sarvar 等^[46] 研究 MSCs 来源的 MVs 对脐带血来源的 CD34⁺ 细胞红系分化的影响,发现 MSCs 来源的 MVs 降低脐带血来源的 CD34⁺ 干细胞向红细胞分化。MSCs-MVs 还能够促进脐带血来源的 CD34⁺ 干细胞向巨核细胞谱系的分化,促进巨核细胞特异性基因的表达^[47]。Jalnapurkar 等^[48] 研究显示通过携带编码 HSCs 支持基因 MVs 的细胞间转移,显著地提高了与 MSCs 共培养 UCB-HSCs 的植入能力。

2.4 基因修饰的 MSCs 促进造血

基因修饰技术也被尝试应用于 MSCs 促进 HSCs 体外扩增。Zhang 等^[49] 利用重组腺病毒,进行基因重组表达 SDF-1、HOXB4 和 SDF-1/HOXB4 融合基因,然后将这些基因修饰

过的 MSCs 与 UCB-HSCs 共培养,结果发现 SDF-1/HOXB4 融合基因修饰的 MSCs (SDF-1/HOXB4-MSCs) 和人脐血 CD34⁺ 细胞共培养,明显提高了 HSCs 体外扩增的数量,而且辐射小鼠的血细胞快速恢复,造血潜能显著提升。Ajami 等^[50] 利用过表达 SCF 和 SDF-1 的 MSCs 共培养 CD34⁺ HSCs,其 CD34⁺ 细胞被扩增了 (4.73 ± 0.26) 倍,克隆形成能力也增加 (5.3 ± 0.25) 倍^[50]。另一项研究评估了 HSCs 和过表达 CXCR4 的小鼠骨髓来源的 MSCs (CXCR4-MSCs) 共移植对接受致死照射小鼠中重建潜力的影响^[51]。发现 CXCR4-MSCs 共移植后受体 BM 中 c-kit⁺Sca⁺lin⁺ HSCs 的频率更高,这表明 CXCR4-MSCs 联合移植可促进早期造血恢复和持续造血^[51]。Kiani 等^[52] 使用过表达缺氧诱导因子-1 α 的 MSCs 扩增脐带血来源的 CD34⁺ HSCs 可以改善 HSCs 的支持功能,并增强共培养的 HSCs 的集落形成能力。这种效应与缺氧诱导因子-1 α 修饰的 MSCs 产生更高水平的 SCF 有关。

2.5 联合造血龛中其他细胞促进造血

HSCs 位于小梁内膜 (成骨细胞生态位) 或窦状动脉血管周围 (血管生态位) 区域。除了 MSCs,造血龛中的成骨细胞和内皮细胞也是其重要的组成部分。成骨细胞与 HSCs 通过信号传导和细胞黏附分子相互作用,维持 HSCs 在细胞分裂/增殖和静止之间的平衡^[53]。同时它可以调节 HSCs 的募集,以及根据其分化阶段,沿着淋巴、髓系和红细胞谱系的活性、增殖和分化^[54]。在胚胎发育过程中,内皮细胞和 HSPCs 是来源于同一前体细胞,功能位上决定了内皮祖细胞和 HSPCs 有着密切的联系。骨髓血窦血管内皮细胞通过表达细胞因子、黏附分子参与 HSCs 的动员、归巢及移植过程,利用血管内皮细胞和 MSCs 构建 3D 模型,模拟造血龛能够促进 HSPCs 增殖^[55]。

3 MSCs 体外扩增脐带血干细胞的临床应用

MSCs 在调节骨髓微环境和支持造血方面发挥重要作用,因而在临床中具有潜在的应用价值,特别是在脐带血移植。移植失败常与较低的造血细胞数量相关,研究显示 MSCs 与 HSCs 共同输注可增加移植的成功率^[56]。临床研究证实 MSCs 可以促进 HSCs 移植后造血重建,缩短粒细胞和血小板植入时间,延长生存时间^[27,57]。Lima 等^[58] 在新英格兰杂志发表了 31 例成人血液肿瘤患者接受 MSCs 扩增的脐带血移植结果。患者接受了 2 份脐带血移植,其中 1 份脐带血在体外与自体间充质干细胞共培养。将这些移植的患者与接受 2 份未经处理的脐带血移植的 80 例患者作为对照组进行比较,接受扩增脐带血的患者中性粒细胞植入的中位时间为 15 d,血小板植入的中位时间是 42 d,而对照组分别为 24 d 和 49 d。在第 26 天,扩增后的中性粒细胞植入累积植入率为 88%,对照组累积植入率为 53%;第 60 天,血小板的累积植入率分别为 71% 和 31%。Mehta 等^[59] 报道了 27 例血液肿瘤患者在减低强度预处理下接受了利用 MSCs 扩增的 UCB,中性粒细胞植入的中位时间为 12 d,而对照组为 16 d。第 26 天累积中性粒细胞植入率为 75%,而未扩增的患者为 50%。表明利用 MSCs 扩增的 UCB 的移植是安全有效,且植入速度更快。

4 MSCs 扩增脐带血干细胞应用前景

MSCs 扩增脐带血从基础到临床已经做了大量的研究, 不仅 MSCs 能够在体外促进 UCB-HSCs 扩增, 在体内也可以促进 HSPCs 增殖、分化和归巢, 加快造血重建。新型的模拟造血干细胞生态位的培养方法是体外扩增 HPSCs 的新方法, 也是进一步研究 HPSCs 行为的生物特性的新工具^[60]。体外模拟的造血龛能够扩增 HPSCs 的同时维持其干性, 具有其它扩增方式不可比拟的优势。另外, MSCs 的 EVs 具有与其亲代 MSCs 相同的免疫调节活性, 可携带 HSCs 代谢、增殖、分化和归巢所需的分子, 且体积小, 性质稳定、易低温保存, 可以形成一种随时可用的生物制剂, 用它来扩增脐带血 HSCs 更方便快捷, 可能比 MSCs 具有广泛的应用。与 hBM-MSCs 相比, hUC-MSCs 具有较高的扩增能力和较低的免疫原性, 且取材方便, 无伦理学争议等优势, 因此 hUC-MSCs 的临床应用价值更高。扩增后的脐带血 HSCs 是否具有与新鲜脐带血一样的功能和“干性”, 只有充分了解脐血 HPSCs 体外扩增过程中的机制、途径以及影响因素, 才能制定合理有效的方案以促进临床的更广泛应用。

参 考 文 献

- Shouval R, Fein JA, Labopin M, et al. Outcomes of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation from HLA-matched and alternative donors: a European Society for Blood and Marrow Transplantation registry retrospective analysis[J]. *Lancet Haematol*, 2019, 6(11):e573-e584.
- Barker JN, Kurtzberg J, Ballen K, et al. Optimal practices in unrelated donor cord blood transplantation for hematologic malignancies[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2017, 23(6):882-896.
- Rocha V, Wagner JE Jr, Sobocinski KA, et al. Graft-versus-host disease in children who have received a cord-blood or bone marrow transplant from an HLA-identical sibling. Eurocord and International Bone Marrow Transplant Registry Working Committee on Alternative Donor and Stem Cell Sources[J]. *N Engl J Med*, 2000, 342(25):1846-1854.
- Mehta RS, Dave H, Bollard CM, et al. Engineering cord blood to improve engraftment after cord blood transplant[J]. *Stem Cell Investig*, 2017, 4:41.
- Dehn J, Spellman S, Hurley CK, et al. Selection of unrelated donors and cord blood units for hematopoietic cell transplantation: guidelines from the NMDP/CIBMTR[J]. *Blood*, 2019, 134(12):924-934.
- Ghafouri-Fard S, Niazi V, Taheri M, et al. Effect of small molecule on *ex vivo* expansion of cord blood hematopoietic stem cells: A concise review[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9:649115.doi: 10.3389/fcell.2021.649115.
- Kadekar D, Kale V, Limaye L. Differential ability of MSCs isolated from placenta and cord as feeders for supporting *ex vivo* expansion of umbilical cord blood derived CD34(+) cells[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2015, 6:201.doi: 10.1186/s13287-015-0194-y.
- Deans RJ, Moseley AB. Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses[J]. *Exp Hematol*, 2000, 28(8):875-884.
- Mendez-Ferrer S, Michurina TV, Ferraro F, et al. Mesenchymal and haematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche[J]. *Nature*, 2010, 466(7308):829-834.
- Discher DE, Mooney DJ, Zandstra PW. Growth factors, matrices, and forces combine and control stem cells[J]. *Science*, 2009, 324(5935):1673-1677.
- Morrison SJ, Scadden DT. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells[J]. *Nature*, 2014, 505(7483):327-334.
- Szade K, Gulati GS, Chan CKF, et al. Where hematopoietic stem cells live: the bone marrow niche[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 29(2):191-204.
- Rendra E, Scaccia E, Bieback K. Recent advances in understanding mesenchymal stromal cells[J]. *F1000Res*, 2020, 9:F1000 Faculty Rev-156. doi:10.12688/f1000research.21862.1.
- Friedenstein AJ. Stromal mechanisms of bone marrow: cloning in vitro and retransplantation *in vivo*[J]. *Haematol Blood Transfus*, 1980, 25:19-29.
- Klein C, Strobel J, Zingsem J, et al. *Ex vivo* expansion of hematopoietic stem- and progenitor cells from cord blood in coculture with mesenchymal stroma cells from amnion, chorion, Wharton's jelly, amniotic fluid, cord blood, and bone marrow[J]. *Tissue Eng Part A*, 2013, 19(23-24):2577-2585.
- Orticelli V, Papait A, Vertua E, et al. Human amniotic mesenchymal stromal cells support the *ex vivo* expansion of cord blood hematopoietic stem cells[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2021, 10(11):1516-1529.
- Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement[J]. *Cytherapy*, 2006, 8(4):315-317.
- Stik G, Crequit S, Petit L, et al. Extracellular vesicles of stromal origin target and support hematopoietic stem and progenitor cells[J]. *J Cell Biol*, 2017, 216(7):2217-2230.
- Zhang Y, Chai C, Jiang XS, et al. Co-culture of umbilical cord blood CD34⁺ cells with human mesenchymal stem cells[J]. *Tissue Eng*, 2006, 12(8):2161-2170.
- Lu LL, Liu YJ, Yang SG, et al. Isolation and characterization of human umbilical cord mesenchymal stem cells with hematopoiesis-supportive function and other potentials[J]. *Haematologica*, 2006, 91(8):1017-1026.
- Friedman R, Betancur M, Boissel L, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cells: adjuvants for human cell transplantation[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2007, 13(12):1477-1486.
- Szydlak R. Biological, chemical and mechanical factors regulating migration and homing of mesenchymal stem cells[J]. *World J Stem Cells*, 2021, 13(6):619-631.
- Su G, Liu L, Yang L, et al. Homing of endogenous bone marrow mesenchymal stem cells to rat infarcted myocardium via ultrasound-mediated recombinant SDF-1 α adenovirus in microbubbles[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(1):477-487.
- Frenette PS, Pinho S, Lucas D, et al. Mesenchymal stem cell: keystone of the hematopoietic stem cell niche and a stepping-stone for regenerative medicine[J]. *Annu Rev Immunol*, 2013, 31:285-316.
- 石蕊, 徐曼, 苏永峰, 等. Notch 信号介导共培养脐带间充质干细胞和造血干细胞的相互作用[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2012, 28(8):793-796.
- Kim A, Shim S, Kim MJ, et al. Mesenchymal stem cell-mediated Notch2 activation overcomes radiation-induced injury of the hematopoietic system[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):9277.doi:10.1038/s41598-018-27666-w.
- Lo Iacono M, Russo E, Anzalone R, et al. Wharton's Jelly mesenchymal stromal cells support the expansion of cord blood-derived CD34(+) cells mimicking a hematopoietic niche in a direct cell-cell contact culture system[J]. *Cell Transplant*, 2018, 27(1):117-129.
- Batsali AK, Pontikoglou C, Koutroulakis D, et al. Differential expression of cell cycle and WNT pathway-related genes accounts for differences in the growth and differentiation potential of Wharton's jelly and bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1):102.doi:10.1186/s13287-017-0555-9.
- Kadereit S, Deeds LS, Haynesworth SE, et al. Expansion of LTC-ICs and maintenance of p21 and BCL-2 expression in cord blood CD34(+) / CD38(-) early progenitors cultured over human MSCs as a feeder

- layer[J]. Stem Cells, 2002, 20(6):573-582.
- 30 Wang JF, Wang LJ, Wu YF, et al. Mesenchymal stem/progenitor cells in human umbilical cord blood as support for *ex vivo* expansion of CD34(+) hematopoietic stem cells and for chondrogenic differentiation[J]. Haematologica, 2004, 89(7):837-844.
 - 31 Lin HD, Fong CY, Biswas A, et al. Allogeneic human umbilical cord Wharton's jelly stem cells increase several-fold the expansion of human cord blood CD34⁺ cells both *in vitro* and *in vivo*[J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1):527.
 - 32 Li Q, Zhao D, Chen Q, et al. Wharton's jelly mesenchymal stem cell-based or umbilical vein endothelial cell-based serum-free coculture with cytokines supports the *ex vivo* expansion/maintenance of cord blood hematopoietic stem/progenitor cells[J]. Stem Cell Res Ther, 2019, 10(1):376.
 - 33 Oubari F, Amirzade N, Mohammadpour H, et al. The important role of FLT3-L in *ex vivo* expansion of hematopoietic stem cells following co-culture with mesenchymal stem cells[J]. Cell J, 2015, 17(2):201-210.
 - 34 Ferreira MS, Jahnke-Dechent W, Labude N, et al. Cord blood-hematopoietic stem cell expansion in 3D fibrin scaffolds with stromal support[J]. Biomaterials, 2012, 33(29):6987-6997.
 - 35 Huang X, Zhu B, Wang X, et al. Three-dimensional co-culture of mesenchymal stromal cells and differentiated osteoblasts on human bio-derived bone scaffolds supports active multi-lineage hematopoiesis *in vitro*: functional implication of the biomimetic HSC niche[J]. Int J Mol Med, 2016, 38(4):1141-1151.
 - 36 Darvish M, Payandeh Z, Soleimanifar F, et al. Umbilical cord blood mesenchymal stem cells application in hematopoietic stem cells expansion on nanofiber three-dimensional scaffold[J]. J Cell Biochem, 2019, 25. doi:10.1002/jcb.28487.
 - 37 Tavakol DN, Tratwal J, Bonini F, et al. Injectable, scalable 3D tissue-engineered model of marrow hematopoiesis[J]. Biomaterials, 2020, 232:119665. doi:10.1016/j.biomaterials.2019.119665.
 - 38 Futrega K, Atkinson K, Lott WB, et al. Spheroid coculture of hematopoietic stem/progenitor cells and monolayer expanded mesenchymal stem/stromal cells in polydimethylsiloxane microwells modestly improves *in vitro* hematopoietic stem/progenitor cell expansion[J]. Tissue Eng Part C Methods, 2017, 23(4):200-218.
 - 39 Thery C, Witwer KW, Aikawa E, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines[J]. J Extracell Vesicles, 2018, 7(1):1535750. doi:10.1080/20013078.2018.1535750.
 - 40 Jeppesen DK, Fenix AM, Franklin JL, et al. Reassessment of exosome composition[J]. Cell, 2019, 177(2):428-445.e418.
 - 41 Borger V, Bremer M, Ferrer-Tur R, et al. Mesenchymal stem/stromal cell-derived extracellular vesicles and their potential as novel immunomodulatory therapeutic agents[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(7):1450. doi:10.3390/ijms18071450.
 - 42 Abels ER, Breakefield XO. Introduction to extracellular vesicles: biogenesis, RNA cargo selection, content, release, and uptake[J]. Cell Mol Neurobiol, 2016, 36(3):301-312.
 - 43 Abreu SC, Lopes-Pacheco M, Weiss DJ, et al. Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles in lung diseases: current status and perspectives[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9:600711. doi:10.3389/fcell.2021.600711.
 - 44 Ghebes CA, Morhayim J, Kleijer M, et al. Extracellular vesicles derived from adult and fetal bone marrow mesenchymal stromal cells differentially promote *ex vivo* expansion of hematopoietic stem and progenitor cells[J]. Front Bioeng Biotechnol, 2021, 9:640419. doi:10.3389/fbioe.2021.640419.
 - 45 Xie H, Sun L, Zhang L, et al. Mesenchymal stem cell-derived microvesicles support *ex vivo* expansion of cord blood-derived CD34(+) cells[J]. Stem Cells Int, 2016, 2016:6493241. doi:10.1155/2016/6493241.
 - 46 Pashoutan Sarvar D, Karimi MH, Movassaghpour A, et al. The effect of mesenchymal stem cell-derived microvesicles on erythroid differentiation of umbilical cord blood-derived CD34(+) Cells[J]. Adv Pharm Bull, 2018, 8(2):291-296.
 - 47 Aqmasheh S, Shamsasenjan K, Khalaf Adeli E, et al. Effect of mesenchymal stem cell-derived microvesicles on megakaryocytic differentiation of CD34(+) hematopoietic stem cells[J]. Adv Pharm Bull, 2020, 10(2):315-322.
 - 48 Jalnapurkar S, Moirangthem RD, Singh S, et al. Microvesicles secreted by nitric oxide-primed mesenchymal stromal cells boost the engraftment potential of hematopoietic stem cells[J]. Stem Cells, 2019, 37(1):128-138.
 - 49 Chen T, Zhang P, Fan W, et al. Co-transplantation with mesenchymal stem cells expressing a SDF-1/HOXB4 fusion protein markedly improves hematopoietic stem cell engraftment and hematogenesis in irradiated mice[J]. Am J Transl Res, 2014, 6(6):691-702.
 - 50 Ajami M, Soleimani M, Abroun S, Atashi A. Comparison of cord blood CD34⁺ stem cell expansion in coculture with mesenchymal stem cells overexpressing SDF-1 and soluble /membrane isoforms of SCF[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(9):15297-15309.
 - 51 Chen W, Li M, Su G, et al. Co-transplantation of hematopoietic stem cells and Cxcr4 gene-transduced mesenchymal stem cells promotes hematopoiesis[J]. Cell Biochem Biophys, 2015, 71(3):1579-1587.
 - 52 Kiani AA, Abdi J, Halabian R, et al. Over expression of HIF-1alpha in human mesenchymal stem cells increases their supportive functions for hematopoietic stem cells in an experimental co-culture model[J]. Hematology, 2014, 19(2):85-98.
 - 53 Arai F, Suda T. Maintenance of quiescent hematopoietic stem cells in the osteoblastic niche. Ann N Y Acad Sci. 2007, 1106:41-53.
 - 54 Galan-Diez M, Kousteni S. The osteoblastic niche in hematopoiesis and hematological myeloid malignancies[J]. Curr Mol Biol Rep, 2017, 3(2):53-62.
 - 55 Barreto-Duran E, Mejia-Cruz CC, Jaramillo-Garcia LF, et al. 3D multicellular spheroid for the study of human hematopoietic stem cells: synergistic effect between oxygen levels, mesenchymal stromal cells and endothelial cells[J]. J Blood Med, 2021, 12:517-528.
 - 56 Teixeira FG, Salgado AJ. Mesenchymal stem cells secretome: current trends and future challenges[J]. Neural Regen Res, 2020, 15(1):75-77.
 - 57 Romanov YA, Volgina NE, Balashova EE, et al. Human umbilical cord mesenchymal stromal cells support viability of umbilical cord blood hematopoietic stem cells but not the "Stemness" of their progeny in co-culture[J]. Bull Exp Biol Med, 2017, 163(4):523-527.
 - 58 de Lima M, McNiece I, Robinson SN, et al. Cord-blood engraftment with *ex vivo* mesenchymal-cell coculture[J]. N Engl J Med, 2012, 367(24):2305-2315.
 - 59 Mehta RS, Saliba RM, Cao K, et al. *Ex Vivo* mesenchymal precursor cell-expanded cord blood transplantation after reduced-intensity conditioning regimens improves time to neutrophil recovery[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2017, 23(8):1359-1366.
 - 60 Congrains A, Bianco J, Rosa RG, et al. 3D scaffolds to model the hematopoietic stem cell niche: applications and perspectives[J]. Materials (Basel), 2021, 14(3):569. doi:10.3390/ma14030569.

(收稿日期:2021-06-30)

(本文编辑:李少婷)