

间充质干细胞的研究进展与临床应用前景

韩冰[#] 付小兵

【摘要】 目的 介绍间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)的研究进展及其临床应用前景。方法 查阅国内外近年有关文献,并行综合分析。结果 由于MSCs能分化为多种类型的细胞,所以在细胞移植治疗和工程方面有广泛的应用。由于其能稳定表达转染到细胞内的目的基因,可治疗血友病、脑梗塞及骨缺损等,因此在基因治疗中应用广泛。其所具有的免疫调节特性,使它在免疫性疾病的治疗中也有广泛的用途。结论 MSCs是一种具有自我更新和多向分化潜能的干细胞,且体外易于扩增,是一种理想的细胞治疗和基因治疗的靶细胞,临床应用前景非常广阔。

【关键词】 间充质干细胞 细胞治疗 基因治疗 组织工程 免疫治疗

中图分类号: Q 813 R 318 文献标识码: A

RESEARCH ADVANCE AND CLINICAL APPLICATION OF MESENCHYMAL STEM CELLS/HAN Bing, FU Xiaobing. Key Research Laboratory of Wound Repair of PLA, 304th Clinical Department, General Hospital of PLA, Beijing, 100037, P. R. China

Corresponding author: FU Xiaobing, Email: fuxb@cgw.net.cn

【Abstract】 **Objective** To review the advance in the experimental studies and evaluate the potential therapeutic application of the mesenchymal stem cells (MSCs). **Methods** The related articles published in China and the other countries during the recent years were extensively reviewed and analyzed. **Results** The MSCs were widely used in the cell-transplantation therapy and the tissue engineering because of their pluripotency of differentiation into various kinds of cells. They were also frequently used in the gene therapy because they could stably express the transfected objective genes. Because of their immunomodulatory function, the MSCs could also be used in the immunotherapy. **Conclusion** The MSCs are the stem cells, which have characteristics of renewing them selves, having multipotency, and being easy to undergo amplification in vitro. The MSCs are ideal target cells for the cell therapy, tissue engineering, gene therapy, and immunotherapy.

【Key words】 Mesenchymal stem cells Cell therapy Gene therapy Tissue engineering Immunotherapy

Foundation items: National Basic Science Research and Development Grants (2005CB522603); National Natural Science Foundation of China (30670824, 30230370, 30400172)

随着现代医学的发展,对干细胞的研究也越来越深入。由于干细胞具有自我更新和分化为其它类型细胞的能力,因此干细胞在临床上的应用也越来越广泛。临床上研究较早的干细胞是神经干细胞和胚胎干细胞。但神经干细胞只能分化成为神经细胞,因而临床应用受限。而胚胎干细胞虽然能分化为多种不同的组织,但与之相关的法律和道德问题限制了胚胎干细胞的临床应用。随着人们对间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)研究的深入,MSCs的优越性逐渐显露出来。MSCs不仅具有自我更新的能力,而且具有多向

分化潜能,在不同的诱导条件下可以分化为许多不同的组织^[1],如骨组织、软骨组织、脂肪组织、内皮组织、肌肉组织、神经组织、上皮组织等。更为重要的是,MSCs可以从成体多种组织获得,分离方法简便,体外培养方便。MSCs最常见的来源是骨髓,另外也有研究者从其他组织,如脐带血、骨组织、软骨组织、肌肉组织、肌腱组织、脂肪组织、血管组织等分离出MSCs^[2]。所以近来有关MSCs的研究越来越多。有些研究成果已经应用于临床,有些虽然暂时未应用于临床,但也为有些疾病的临床治疗提供了新的思路。

基金项目:国家重点基础研究发展规划(973)资助项目(2005CB522603);国家自然科学基金资助项目(30670824, 30230370, 30400172)

作者单位:解放军总医院304临床部全军创伤修复重点实验室(北京, 100037)

[#] 现在解放军第148医院

通讯作者:付小兵,教授,博士生导师,研究方向:创伤修复与组织再生, E-mail: fuxb@cgw.net.cn

1 细胞移植治疗

1.1 系统性移植治疗全身性疾病

MSCs在骨髓内的主要功能是支持造血。在骨髓中,红细胞、粒细胞、巨噬细胞、血小板等的分化、成熟都依赖于造血干细胞及祖细胞与MSCs和细胞外基质及血管组成的微环境的接触,包括造血细胞通过表面

黏附相关分子与MSCs的直接接触来实现造血干/祖细胞的回髓定位和MSCs通过分泌多种细胞因子对造血细胞的分化、成熟进行调控^[3,4]。近来的研究发现,将MSCs与造血干细胞共同移植时,能获得比单纯造血干细胞更理想的治疗效果。Kitamura等^[5]将人的MSCs和人的脐带血CD34⁺细胞共同移植到非肥胖性糖尿病/严重联合免疫缺陷病(nonobese diabetic/severe combined immunodeficiency disease, NOD/SCID)小鼠时,发现共同移植的小鼠外周血、骨髓和脾脏内能检测到比单纯CD34⁺细胞移植组明显增多的造血系细胞。这说明MSCs在移植后仍具有支持造血的功能。Chen等^[6]分离、培养大鼠骨髓MSCs并进行诱导分化,发现诱导分化的细胞呈典型的胰岛样细胞集落。已分化的细胞内胰岛素mRNA和蛋白阳性表达,且其分泌到细胞外的胰岛素水平明显高于分化前细胞。向糖尿病大鼠体内注入已分化细胞能下调血糖水平。这为糖尿病的临床治疗提供了新的思路。

1.2 局部移植治疗局部组织或器官病变

由于MSCs在不同的诱导条件下可分化成骨、椎间盘软骨、膝关节软骨、心肌细胞以及脂肪等许多中胚层来源的组织,而且还能分化成神经组织、内皮组织和皮肤、肺脏、肝脏、肾脏、肠道和脾脏的上皮细胞^[7-21],所以许多组织或器官的缺损或病变可以通过MSCs移植进行治疗。

体外培养条件下,当培养基中含有成骨添加剂(即地塞米松、抗坏血酸和 β 磷酸甘油)时,MSCs发生了一系列的变化,开始表达骨细胞的某些特征。可以观察到细胞内碱性磷酸酶表达一过性增强,I型胶原下调和骨桥素上调。同时,在分化级联反应末期骨唾液蛋白及骨钙蛋白上调,骨粘连蛋白(osteonectin)则为组成型表达^[22]。

通过离心使MSCs形成小的团状沉淀,然后静置于含有转化生长因子 β (transforming growth factor β TGF- β)的无血清培养基中培养,10~14d后,培养物开始表达软骨细胞的特异性分子标记——II型胶原,且随着培养时间的延长,表达II型胶原的细胞越来越多^[23]。Lee等^[24]将经TGF- β 诱导向软骨分化的MSCs注射到一个新型的膀胱内软骨形成的模型中,注射后14周,黏膜下层发现大量软骨形成。HE、阿新蓝和其它特异性染色确认软骨分化。该细胞治疗技术为临床上治疗膀胱输尿管反流、反流性食管炎、尿失禁和软骨再生提供了可能性。

Kramer等^[25]的实验发现,与牙周膜细胞直接接触或培养体系内添加牙周膜分泌的因子诱导的MSCs可在体外获得牙周膜样细胞特征。提示用MSCs修复

或再生牙周组织的可行性。

最近,我们在实验中研究了MSCs在皮肤愈合过程中的应用,发现MSCs能通过分化成血管内皮细胞、表皮细胞等参与皮肤创面的修复。付小兵等^[17]研究发现,将猪的MSCs体外扩增后移植到皮肤创面处,能显著提高皮肤创面愈合的质量。方利君等^[15]发现,将猪的MSCs移植到自体皮下后,能表达血管内皮细胞的标志。该结果不仅表明了MSCs向皮肤分化的潜能,且为MSCs用于皮肤修复提供了新的思路。

1.3 通过分泌某些细胞活性因子来治疗疾病

除细胞替代治疗外,MSCs还能通过分泌某些细胞活性因子治疗某些疾病。由于成体大脑损伤后很少出现神经发生和轴突再生,所以中枢神经损伤后其自发修复很有限。因此细胞移植治疗中枢神经损伤就有了意义。MSCs能通过自体移植进行替代治疗。Wislet-Gendebien等^[26]实验发现移植的MSCs可通过释放活性骨形成蛋白4(bone morphogenetic protein 4, BMP-4)有益于神经祖细胞和干细胞内的星型胶质细胞的生长。

1.4 系统性移植时定位到特定的器官或组织治疗局部病变

MSCs还能在进行系统性移植时,定位到特定的器官或组织治疗局部病变,虽然机制尚不清楚,但很多实验结果支持这种定位理论。MSCs能通过分化为心肌细胞,参与恢复心肌梗死并预防梗死后充血性心力衰竭,临床前的动物实验表明这种治疗能重建心脏血管,肌肉和功能。将MSCs直接注射到梗死区,或经静脉注射后,发现其均能定位于损伤区,分化为心肌细胞,且能预防有害的重构并改善心功能^[27,28]。另外,同时患有SCID和进行性假肥大性肌营养不良的儿童接受骨髓移植治疗13年后进行肌肉组织活检,发现肌肉有供体来源的细胞核。对其骨髓进行分析发现,骨髓内一小部分细胞也来源于移植的骨髓。虽然无证据证明供体来源的肌细胞能减轻肌营养不良的病程进展,但至少提示MSCs能定位于病变的组织。在患者肌肉内发现供体细胞为患有相同疾病的患者带来了希望,也使MSCs移植对肌肉疾病的患者进行治疗提供了理论依据^[29]。

此外,动物实验发现MSCs对肝脏纤维化有一定的治疗作用。史明霞等^[30]用CCl₄制作雌性小鼠肝纤维化模型,在损伤后立即或1周后经尾静脉注射MSCs,2周或5周后检测受体小鼠肝脏的纤维化程度和供体细胞的植入。结果发现,CCl₄损伤后立即注射MSCs,可以使肝脏损伤程度明显减轻,减少胶原沉积,使肝脏羟脯氨酸含量及血清纤维化指标显著下降;而损伤1周

后注射细胞则无明显变化。免疫荧光、PCR 和荧光原位杂交方法证实, 在受体肝脏中有供体细胞植入, 呈上皮细胞形态, 并表达白蛋白, 但是数量很少。因此我们认为 MSCs 具有潜在的植入肝组织的能力, 并可能启动肝组织的内源性修复, 减轻 CCl₄ 导致的肝纤维化。

2 基因治疗

由于 MSCs 具有多向分化的干细胞特征, 体外易于分离和扩增, 回输体内后可定位于骨髓并通过自我更新而长期存活, 且多种外源目的基因可整合至 MSCs 基因组 DNA 中并能长期表达, 因此, MSCs 作为一种理想的靶细胞可用于基因治疗。

Chuah 等^[31]构建 B 区缺失的 VIII 因子 (Factor VIII, F VIII) cDNA 逆转录病毒载体, 以人 MSCs 为靶细胞, 在优化的转导条件下体外可表达 VIII 因子 700 ~ 2 500 mU / (10⁶ cell · 24 h)。将经过转导的 MSCs 以 (1.5 ~ 3.0) × 10⁶ 的剂量移植入 NOD/SCID 小鼠的脾脏后, 小鼠体内人 F VIII 水平能达到 13 ± 4 ng/ml 并保持 3 周。Chiang 等^[32]比较了质粒载体转染和逆转录病毒载体转导的犬 MSCs 的转染效率和体外表达人 F VIII 的水平, 结果显示两者都能表达人的 F VIII, 且逆转录病毒转导的 MSCs 效率更高, 并能分泌更高水平的人 F VIII。提示 MSCs 系统在血友病 A 的基因治疗方面有潜在的应用价值。

Tang 等^[33]将羊骨髓来源的 MSCs 用人 BMP-2 基因转染后注射入裸鼠体内, 发现转染的 MSCs 能在注射部位分化成骨。这说明 MSCs 不仅能稳定表达转染的外源基因, 而且表达的外源基因具有生物活性。

既往文献报道 MSCs 改善中风大鼠神经功能缺陷, 其部分原因是该细胞分泌的细胞因子的作用。为了增强该细胞因子的效应, Kurozumi 等^[34]用突变的 F/RGD 腺病毒载体将脑源性神经营养因子基因转染了人 MSCs, 并研究了该细胞对大鼠大脑中动脉短时间阻塞模型的神经功能恢复的影响。结果发现, 脑源性神经营养因子基因改良的 MSCs 治疗组能促进大脑中动脉闭塞模型的神经功能恢复并减少梗塞面积, 且缺血区边缘凋亡细胞数量比对照组少。

Potapova 等^[35]用心脏起搏器基因 (HCN 2 基因) 转染了人的 MSCs, 发现转染的细胞能加速新生大鼠心室细胞的搏动。结果说明基因修饰的人 MSCs 能表达功能性 HCN 2 通道, 模拟心肌细胞内 HCN 2 基因过表达, 提示 MSCs 能用作将起搏器基因导入心脏的载体。

3 生物组织工程

除了通过细胞移植来修复受损组织和器官, MSCs 还能通过组织工程的方法参与受损组织和器官的修复。

骨缺损的临床治疗是一个比较棘手的问题。虽然自体或异体骨移植是治疗骨缺损的一种疗效相对较好的方法, 但限于骨来源的问题, 在临床上的应用很受限制。如何构建组织工程骨并用于临床修复骨缺损, 就成了一个令医学界十分关注的问题。由于 MSCs 的自我复制和多向分化的能力, 近年来成了组织工程骨构建过程中最常用的种子细胞^[36]。El-Amin 等^[37]研究发现, 将 MSCs 种植于多孔的生物可降解聚合材料上以后, 能形成有功能的组织工程化骨, 植入严重骨缺损处能修复骨缺损。Yamada 等^[38]把富含血小板血浆当作体外扩增的 MSCs 的同源支架构建组织工程骨并移植入动物体内, 对照组动物行微粒骨移植治疗作为对照, 发现 MSCs 加富含血小板血浆治疗组在 2 周和 4 周时新生成骨和新生血管化情况比微粒骨移植组治疗效果更好。

除了构建组织工程骨, MSCs 在其他的结缔组织工程方面也有着广泛的应用。Wakitani 等^[39]将自体 MSCs 种植在 I 型胶原凝胶上构建的组织工程软骨, 可以修复膝关节软骨全层缺损。同样, MSCs 也能通过组织工程的方法促进肌腱的愈合。Young 等^[40]将骨髓来源的 MSCs 与 I 型胶原混合并植入恢复中的跟腱, 随后可见 MSCs 治疗组较对照组有更好的力学特性, 组织学上可见治疗组跟腱内细胞和胶原纤维排列更接近正常跟腱。

另外, 由于 MSCs 能分化为具有肝细胞功能的肝脏上皮细胞, 所以 MSCs 也被用于生物人工肝的研究^[41], 以治疗肝硬化等原因导致的肝功能衰竭。

4 免疫治疗

LeBlanc 等^[42, 43]的研究表明, MSCs 无免疫原性, 不刺激同种异体反应性, 且能逃避细胞毒性 T 细胞和自然杀伤细胞的溶解。因此 MSCs 能在人类白细胞抗原配型不同的个体间移植, 不需要对宿主进行免疫抑制。另外, 成体 MSCs 具有免疫抑制性, 因为它们能在体外减少同种异体反应性和细胞毒性淋巴细胞的产生。在体内, 成体 MSCs 能延迟错误配型的狒狒的皮肤移植物的排斥反应。这种免疫抑制特征在胎儿的最初 3 个月不显著, 但能被干扰素 γ 诱导。他们还研究了当淋巴细胞在有 MSCs 存在的情况下被活化时淋巴细胞活化标志的表达的情况, 发现 MSCs 能抑制血细胞凝集素刺激的 CD 3⁺, CD 4⁺ 和 CD 8⁺ 淋巴细胞的增生, 减

少淋巴细胞活化标志的表达,且抑制淋巴细胞增生。同时发现环孢素A和MSCs的免疫抑制作用不相互干扰。Gotherstrom等^[44]在实验中发现成体MSCs在体外能减少淋巴细胞的增生。但当把成人和胎儿MSCs加入含有外周血淋巴细胞和胎肝细胞的混合淋巴细胞培养液内后,发现成人MSCs抑制混合淋巴细胞增生,但胎儿MSCs不抑制混合淋巴细胞增生,却能抑制促有丝分裂原诱导的淋巴细胞增生。

这些发现意味着MSCs不仅自己不刺激同种异体反应性,而且还能抑制宿主的免疫反应,可用于有些免疫相关的疾病的治疗。其中最有意义的,就是在治疗移植抗宿主反应中的应用^[45]。LeBlanc等^[46]已经将这一研究成果用于临床。他们给一位肝肠联合移植后严重移植抗宿主病的患者移植了MSCs,患者临床症状明显减轻,并维持至少1年不复发。

除了上述免疫疾病的治疗外,MSCs在肿瘤的免疫治疗方面也扮演着非常重要的角色^[47,48]。脑神经胶质瘤动物模型治疗实验结果表明,MSCs拥有良好的迁移能力,并能抑制神经胶质瘤细胞的增生。将MSCs注射到恶性神经胶质瘤内后,能明显地抑制肿瘤生长并增加荷瘤大鼠的存活时间。将MSCs用编码人白介素2基因的腺病毒载体进行基因修饰后,显著增强其抗肿瘤效应,并明显延长荷瘤大鼠的存活时间。所以,用MSCs当作进行基因治疗的靶向载体将会是治疗顽固性脑瘤的有效方法。这也为其他肿瘤的免疫治疗开拓了新的思路。

5 存在问题和展望

在对MSCs进行研究的过程中,研究者都希望得到大量的纯化的未分化干细胞成分。由于不同实验室对MSCs的研究方向上的不同和在分离培养MSCs方案上的差异,对MSCs本身的研究目前还不系统,不全面。目前还未找到一个理想的标记性分子用来鉴定MSCs,也就不能保证MSCs的同质性。如何有效地获得大量同质性的MSCs,依赖于对其生物学特性和异质细胞群中各类细胞标志物的进一步研究。

尽管目前已观察到MSCs在移植入体内后能定位到损伤的组织^[49]并分化为相应的细胞参与创伤修复,但仍有许多基本问题需要进一步解决。如:这些MSCs是如何定位到损伤部位的?引起它们定位到局部的始动因素和其中的调节机制是什么?它们是如何分化为其它细胞的?是什么因素在调控或决定着细胞的分化及功能?这些问题的解决,必将拓宽MSCs在临床上的应用范围。

尽管如此,由于MSCs具有公认的多向分化潜能

等干细胞的特征和易于体外扩增等特征,已被认为是一种理想的细胞治疗、组织工程^[50,51]和基因治疗的靶细胞。相信研究的进一步深入,一定会为其临床应用带来新的更为广阔的前景。

6 参考文献

- 1 Kassem M, Kristiansen M, Abdallah BM. Mesenchymal stem cells: cell biology and potential use in therapy. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2004, 95(5): 209-214
- 2 吴清法, 王立生, 吴祖泽. 间充质干细胞的来源及临床应用. *军事医学科学院院刊*, 2002, 26(3): 213-217.
- 3 Weaver A, Ryder WD, Testa NG. Measurement of long-term culture initiating cells (LTC-ICs) using limiting dilution: comparison of endpoints and stromal support. *Exp Hematol*, 1997, 25(13): 1333-1338
- 4 Koller MR, Palsson MA, Machel I, et al. Long-term culture-initiating cell expansion is dependent on frequent medium exchange combined with stromal and other accessory cell effects. *Blood*, 1995, 86(5): 1784-1793
- 5 Kitamura S, Ohgushi H, Hirose M, et al. Osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal cells cultured on alumina ceramics. *Artif Organs*, 2004, 28(1): 72-82
- 6 Chen LB, Jiang XB, Yang L. Differentiation of rat marrow mesenchymal stem cells into pancreatic islet beta-cells. *World J Gastroenterol*, 2004, 10(20): 3016-3020
- 7 Chamberlain JR, Schwarze U, Wang PR, et al. Gene targeting in stem cells from individuals with osteogenesis imperfecta. *Science*, 2004, 303(5661): 1198-1201.
- 8 Arinze TL, Peter SJ, Archambault MP, et al. Allogeneic mesenchymal stem cells regenerate bone in a critical-sized canine segmental defect. *J Bone Joint Surg (Am)*, 2003, 85(10): 1927-1935
- 9 Crevensten G, Walsh AJ, Ananthkrishnan D, et al. Intervertebral disc cell therapy for regeneration: mesenchymal stem cell implantation in rat intervertebral discs. *Ann Biomed Eng*, 2004, 32(3): 430-434
- 10 Barry FP. Mesenchymal stem cell therapy in joint disease. *Novartis Found Symp*, 2003, 249: 86-96; discussion 96-102, 170-104, 239-141.
- 11 Grinnemo KH, Mansson A, Dellgren G, et al. Xenoreactivity and engraftment of human mesenchymal stem cells transplanted into infarcted rat myocardium. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2004, 127(5): 1293-1300
- 12 Dennis JE, Merriam A, Awadallah A, et al. A quadripotential mesenchymal progenitor cell isolated from the marrow of an adult mouse. *J Bone Miner Res*, 1999, 14(5): 700-709
- 13 Prockop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science*, 1997, 276(5309): 71-74
- 14 Sugaya K. Potential use of stem cells in neuroreplacement therapies for neurodegenerative diseases. *Int Rev Cytol*, 2003, 228: 1-30
- 15 方利君, 付小兵, 孙同柱, 等. 骨髓间充质干细胞分化为血管内皮细胞的实验研究. *中华烧伤杂志*, 2003, 19(1): 22-24
- 16 韩冰, 付小兵, 孙晓庆. 骨髓基质细胞基因表达的研究进展. *中国修复重建外科杂志*, 2005, 19(2): 153-158
- 17 付小兵, 方利君, 王玉新, 等. 骨髓间充质干细胞自体移植提高猪皮肤创面修复质量的初步研究. *中华医学杂志*, 2004, 84(11): 920-924
- 18 Chapel A, Bertho JM, Bensidhoum M, et al. Mesenchymal stem cells home to injured tissues when co-infused with hematopoietic

- cells to treat a radiation-induced multi-organ failure syndrome. *J Gene Med*, 2003, 5(12): 1028-1038
- 19 Deng Y, Guo X, Yuan Q, *et al* Efficiency of adenoviral vector mediated CTLA 4 Ig gene delivery into mesenchymal stem cells. *Chin Med J (Engl)*, 2003, 116(11): 1649-1654
- 20 Ortiz LA, Gambelli F, McBride C, *et al* Mesenchymal stem cell engraftment in lung is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(14): 8407-8411.
- 21 Rasubov MF, Vasilchenkov AV, Onishchenko NA, *et al* First experience of the use bone marrow mesenchymal stem cells for the treatment of a patient with deep skin burns. *Bull Exp Biol Med*, 2005, 139(1): 141-144
- 22 Bruder SP, Jaiswal N, Ricalton NS, *et al* Mesenchymal stem cells in osteobiology and applied bone regeneration. *Clin Orthop Relat Res*, 1998, (355 Suppl): 247-256
- 23 Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, *et al* Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 1999, 284(5411): 143-147.
- 24 Lee JW, Kim YH, Kim SH, *et al* Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells and its clinical applications. *Yonsei Med J*, 2004, 45 Suppl: 41-47.
- 25 Kramer PR, Nares S, Kramer SF, *et al* Mesenchymal stem cells acquire characteristics of cells in the periodontal ligament in vitro. *J Dent Res*, 2004, 83(1): 27-34
- 26 W islet-Gendebien S, Bruyere F, Hans G, *et al* Nestin-positive mesenchymal stem cells favour the astroglial lineage in neural progenitors and stem cells by releasing active BMP4. *BMC Neurosci*, 2004, 5(1): 33-44
- 27 Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. *Circ Res*, 2004, 95(1): 9-20
- 28 Wang FS, Trester C. Bone marrow cells and myocardial regeneration. *Int J Hematol*, 2004, 79(4): 322-327.
- 29 Smogorzewska EM, Weinberg KI Treatment progress of Duchenne Muscular Dystrophy (DMD). *Med Wieku Rozwoj*, 2004, 8(1): 25-32
- 30 史明霞, 房佰俊, 廖联明, 等. FLK1+ 间充质干细胞减轻四氯化碳导致的肝纤维化的研究. *生物工程学报*, 2005, 21(3): 396-401.
- 31 Chuah MK, Van Damme A, Zwinen H, *et al* Long-term persistence of human bone marrow stromal cells transduced with factor VIII-retroviral vectors and transient production of therapeutic levels of human factor VIII in nonmyeloablated immunodeficient mice. *Hum Gene Ther*, 2000, 11(5): 729-738
- 32 Chiang GG, Rubin HL, Cherington V, *et al* Bone marrow stromal cell-mediated gene therapy for hemophilia A: in vitro expression of human factor VIII with high biological activity requires the inclusion of the proteolytic site at amino acid 1648. *Hum Gene Ther*, 1999, 10(1): 61-76
- 33 Tang TT, Xu XL, Dai KR, *et al* Ectopic bone formation of human bone morphogenetic protein-2 gene transfected goat bone marrow-derived mesenchymal stem cells in nude mice. *Chin J Traumatol*, 2005, 8(1): 3-7.
- 34 Kurozumi K, Nakamura K, Tamiya T, *et al* BDNF gene-modified mesenchymal stem cells promote functional recovery and reduce infarct size in the rat middle cerebral artery occlusion model. *Mol Ther*, 2004, 9(2): 189-197.
- 35 Potapova I, Plotnikov A, Lu Z, *et al* Human mesenchymal stem cells as a gene delivery system to create cardiac pacemakers. *Circ Res*, 2004, 94(7): 952-959
- 36 Tuan RS, Boland G, Tuli R. Adult mesenchymal stem cells and cell-based tissue engineering. *Arthritis Res Ther*, 2003, 5(1): 32-45
- 37 El-Am in SF, Attaw ia M, Lu HH, *et al* Integrin expression by human osteoblasts cultured on degradable polymeric materials applicable for tissue engineered bone. *J Orthop Res*, 2002, 20(1): 20-28
- 38 Yamada Y, Ueda M, Naiki T, *et al* Autogenous injectable bone for regeneration with mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma: tissue-engineered bone regeneration. *Tissue Eng*, 2004, 10(5-6): 955-964
- 39 Wakitani S, Goto T, Pineda SJ, *et al* Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg (Am)*, 1994, 76(4): 579-592
- 40 Young RG, Butler DL, Weber W, *et al* Use of mesenchymal stem cells in a collagen matrix for Achilles tendon repair. *J Orthop Res*, 1998, 16(4): 406-413
- 41 张卫光. 间充质干细胞与生物人工肝的研究进展. *解剖科学进展*, 2004, 10(3): 232-234
- 42 Le Blanc K, Rasmusson I, Gotherstrom C, *et al* Mesenchymal stem cells inhibit the expression of CD25 (interleukin-2 receptor) and CD38 on phytohemagglutinin-activated lymphocytes. *Scand J Immunol*, 2004, 60(3): 307-315
- 43 Le Blanc K. Immunomodulatory effects of fetal and adult mesenchymal stem cells. *Cytotherapy*, 2003, 5(6): 485-489
- 44 Gotherstrom C, Ringden O, Westgren M, *et al* Immunomodulatory effects of human foetal liver-derived mesenchymal stem cells. *Bone Marrow Transplant*, 2003, 32(3): 265-272
- 45 Frank MH, Sayegh MH. Immunomodulatory functions of mesenchymal stem cells. *Lancet*, 2004, 363(9419): 1411-1412
- 46 Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, *et al* Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet*, 2004, 363(9419): 1439-1441.
- 47 Hamada H, Kobune M, Nakamura K, *et al* Mesenchymal stem cells (MSC) as therapeutic cytoagents for gene therapy. *Cancer Sci*, 2005, 96(3): 149-156
- 48 Nakamura K, Ito Y, Kawano Y, *et al* Antitumor effect of genetically engineered mesenchymal stem cells in a rat glioma model. *Gene Ther*, 2004, 11(14): 1155-1164
- 49 段小军, 杨柳, 周跃, 等. 增强型绿色荧光蛋白标记技术对骨折后骨髓间充质干细胞的迁移示踪. *中国修复重建外科杂志*, 2006, 20(2): 102-106
- 50 董世武, 应大君, 朱楚洪, 等. 核心结合因子 $\alpha 1$ 基因修饰骨髓间充质干细胞对骨缺损的修复研究. *中国修复重建外科杂志*, 2006, 20(5): 555-559
- 51 葛薇, 姜文学, 李长虹, 等. 骨髓间充质干细胞复合纤维蛋白封闭剂体内构建可注射性组织工程软骨. *中国修复重建外科杂志*, 2006, 20(2): 139-143

(收稿: 2005-12-13 修回: 2006-02-23)

(本文编辑: 董奇男)