

肌腱干细胞特性相关研究新进展

李於聪, 陈继营, 柴伟, 倪明, 李想
解放军总医院 骨科, 北京 100853

摘要: 肌腱干细胞从肌腱中分离获得, 是具有多向分化潜能的间充质类干细胞, 其在肌腱修复中发挥非常重要的作用。肌腱干细胞的发现为慢性腱病的发病机制研究提供了新方向, 也为多种疾病的治疗提供了新思路。然而其在体内的分布、作用、调控机制等仍存在未知和争议。本文围绕肌腱干细胞的来源、微环境、调控因素进行综述, 阐述其可能的生物特性, 并探讨潜在的研究方向。

关键词: 肌腱干细胞; 间充质干细胞

中图分类号: R 329.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-5227(2017)06-0548-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-5227.2017.06.015

网络出版时间: 2017-04-11 10:47

网络出版地址: http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20170411.1047.006.html

Advances in study of the characteristics of tendon-derived stem cells

LI Yucong, CHEN Jiying, CHAI Wei, NI Ming, LI Xiang

Department of Orthopedics, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: CHEN Jiying. Email: chenjiying_301@163.com

Abstract: Tendon-derived stem cells are multi-potent adult stem cells with broad differentiation plasticity that render them of great importance in cell-based therapies for the repair of tendons, and they provide new directions for the pathogenesis study of chronic tendon disease and the treatment of various diseases. However, information of the distribution, function and regulation mechanism of tendon-derived stem cells in vivo still remain limited and controversial. This review focuses on the origin, microenvironment and regulatory factors of tendon-derived stem cell to expound the possible biological characteristics and to explore the potential research directions.

Keywords: tendon-derived stem cells; mesenchymal stem cells

近年来, 不少研究从多种动物的肌腱组织中分离出了间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)^[1-4]。这类干细胞可在体外诱导时成骨、成软骨和成脂肪, 并且可以在裸鼠皮下移植后形成肌腱样、软骨样、骨样和腱骨移行带样组织^[1-2]。这类细胞被称为肌腱干细胞(tendon-derived stem cells, TDSCs)。肌腱干细胞在体内的分布、特性及在肌腱中的作用仍不明确。近年来, 针对肌腱损伤的机制和治疗的TDSCs研究越来越多, 其他方向的研究也逐渐开展。本文通过对肌腱干细胞的来源、调控因素进行综述, 阐述其可能的生物特性, 并探讨潜在的研究方向。

1 TDSCs的来源

MSCs来源于周细胞(pericyte)^[5-6]。有研究表明人类肌腱毛细血管的周细胞可表达肌腱细胞标记物(Scx, I型胶原, III型胶原, smad8)、干/祖细胞标记物(CD133, Musashi-1, 巢蛋白, CD44, CD29)以及周细胞相关标记物 α -SMA^[7]。肌腱本身不含血管, 主要通过内皮和腱旁组织供养^[8]。流式细胞检测发现, 人来源TDSCs细胞表面不表达周细胞标

记物CD146^[9]。Bi等^[1]发现, 在BMSCs上表达的血管细胞标记物CD106, 在体外TDSCs中并不表达。这些研究使用的TDSCs是从肌腱本体中分离所得, 在分离过程中除去了腱旁组织。Mienaltowski等^[10]报道了从小鼠跟腱的腱鞘和肌腱分离出两种不同的干细胞, 这两种细胞均为CD133阴性, 但只有从肌腱本身分离的细胞能够产生钙化基质, 而腱鞘分离的干细胞mRNA检测显示其Eninucin(血管标记)更高, Tenomodulin和Sclerax低于肌腱本身分离的干细胞。这些研究说明肌腱干细胞同时存在血管和非血管来源, 且其功能可能并不完全相同。非血管来源的TDSCs是否是从血管周围迁移而来尚不清楚, 此类研究将对动员肌腱远端血管系统促进肌腱愈合起到重要意义, 从而为肌腱损伤治疗提供新方向。

2 调控TDSCs的可能因素

2.1 氧分压 目前仍没有对肌腱内氧分压进行测量的研究, 但是由于肌腱内供血仅是肌肉的1/3^[11], 我们有理由推断肌腱内部的氧分压较低, 预期肌腱环境是缺氧的。在缺氧与常氧(2%和20%氧压)条件下培养的人TDSCs显示, 缺氧条件下TDSCs的增殖能力明显更高;第14天时缺氧条件下集落中的成纤维细胞数量较常氧条件下增加1倍, 从而可逆地抑制TDSCs的分化^[9]。这一数据表明, 缺氧不仅增强了TDSCs的增殖能力, 而且增强了其可塑性。因此, 在低氧环境下可以缩短TDSCs培养时间并更好地维持其多向分化能力。

收稿日期: 2017-01-12

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(81301564; 81301565)

Supported by the National Natural Science Foundation of China(81301564; 81301565)

作者简介: 李於聪, 男, 在读硕士。Email: 631367134@qq.com

通信作者: 陈继营, 男, 博士, 主任医师, 教授, 博士生导师。

Email: chenjiying_301@163.com

2.2 细胞外基质 细胞外基质(extracellular matrix, ECM)结构成分的改变可能影响ECM内细胞因子和生长因子的平衡,或影响肌腱干细胞的细胞形状和信号传导,进而介导TDSCs的调控。Bi等^[1]利用双基因敲除小鼠模型研究发现,双糖链蛋白聚糖(biglycan)和纤维调节素(fibromodulin)的消耗会妨碍髌腱的形成。从双基因敲除小鼠中分离的TDSCs可同时形成肌腱样组织和骨样组织,而普通小鼠的TDSCs只形成肌腱样组织,这表明双糖链蛋白聚糖和纤维调节素对肌腱干细胞的分化存在调节作用^[1]。而在肌腱疾病患者的肌腱组织中常可以观察到ECM成分的变化,如蛋白多糖的沉积增加^[12]。有研究对比了在塑料表面与脱细胞的肌腱基质上培养兔TDSCs,结果显示脱细胞的肌腱基质上培养的TDSCs表现出更强的增殖能力和更好的干性^[13]。另外,ECM的微/纳米结构也可能存在调节作用。TDSCs培养在均衡纳米纤维支架中可以增强其增殖能力,而培养在随机纳米纤维支架中可以增强体外成骨分化能力^[14]。TDSCs的细胞骨架可能参与介导了与ECM的相互作用^[14]。体外TDSCs培养时,使用适当的基质或支架可以更好地维持TDSCs的特性。

2.3 机械负荷 国内外研究结果均表明重复性的机械刺激对肌腱干细胞的增殖和分化有着重要的影响^[15-17]。Zhang和Wang^[16]报道,低强度的机械拉伸会促进肌腱干细胞向肌腱细胞分化,而高强度的拉伸可导致TDSCs脂质积累、黏液形成和组织钙化。另有研究指出,跑步机训练后的小鼠,髌骨和跟腱分离的TDSCs增殖速率较笼内饲养小鼠加倍^[17]。这些研究结果提示我们,运动和机械负荷可能改变体内肌腱干细胞的功能,从而影响肌腱的愈合。事实上,过度使用肌腱已被认为是肌腱疾病发病的危险因素之一,控制运动量可辅助损伤后的肌腱愈合。机械负荷对TDSCs的影响仍需进一步研究,以便帮助我们更好地了解腱病的发病机制、探索促进肌腱愈合同时减少瘢痕形成的最佳运动方案。

2.4 生物因素 微环境中的生物因子如BMPs和Wnts对于肌腱干细胞生长、分化及行使生理功能方面起着至关重要的作用。Wnt3a在体外促进TDSCs的骨形成分化^[18],而BMP-2在体外促进TDSCs向非肌腱细胞分化和蛋白聚糖沉积^[15,19]。多项研究分别在动物模型和人损伤肌腱样本中发现,愈合过程的肌腱细胞、软骨样细胞和骨化沉积物中BMPs和Wnt3a的表达增加^[18,20-21]。由于TDSCs的多项分化潜能,这种分子防御机制可能是为了防止TDSCs向错误的方向分化。有先前研究表明激活的Smad8蛋白可以抑制BMP-2诱导MSCs成骨分化能力,同时可促进其向肌腱分化^[22]。这些分子调控TDSCs的机制仍需要进一步研究,这些研究将会为如何防止软骨骨化、促进肌腱愈合提供理论支持。

2.5 TDSCs的周围微环境 近年来针对TDSCs微环境的相关研究越来越多^[20,23-26]。Zhang和Wang^[24]报道了富血小板血浆体外可增强TDSCs的增殖和成肌腱能力,表明PRCR作为临床上常用的肌腱损伤治疗方式,可能通过体内动员TDSCs的方式对肌腱愈合发挥促进作用。Zhang等^[25]用地塞米松处理人类TDSCs,发现地塞米松会妨碍TDSCs增殖并

促进其向非肌腱细胞分化。这说明地塞米松可能妨碍肌腱愈合、导致异位骨化。然而,由于缺乏追踪TDSCs的特异性标记,确定TDSCs的分布和功能、分析鉴定微环境构成以及微环境对其的调节仍然非常困难。

3 结语

近年来,肌腱干细胞的发现和深入研究,为慢性腱病的发病机制提供了新的研究方向,也为肌腱疾病的治疗提供了新的思路。BMSCs在肌腱损伤中的应用已广泛开展^[27],作为BMSCs的替代细胞,TDSCs在肌腱疾病中的应用有着明显优势;同时TDSCs在骨科其他相关疾病如股骨头骨坏死中,其替代BMSCs的应用研究也逐渐开展^[28-29]。然而,由于TDSCs的作用机制复杂、特性尚不完全清楚,其在研究和临床中的应用仍受到很大的限制。更好地了解TDSCs的各方面特性、调控因素,才能实现精准动员、调控TDSCs,从而打破传统治疗方式,为慢性腱病及其他疾病的治疗提供新的方法。

参考文献

- 1 Bi Y, Ehrlich D, Kilts TM, et al. Identification of tendon stem/progenitor cells and the role of the extracellular matrix in their niche [J]. *Nat Med*, 2007, 13 (10): 1219-1227.
- 2 Zhang J, Wang JH. Characterization of differential properties of rabbit tendon stem cells and tenocytes [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2010, 11: 10.
- 3 Rui YF, Lui PP, Li G, et al. Isolation and characterization of multipotent rat tendon-derived stem cells [J]. *Tissue Eng Part A*, 2010, 16 (5): 1549-1558.
- 4 Lovati AB, Corradetti B, Lange Consiglio A, et al. Characterization and differentiation of equine tendon-derived progenitor cells [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2011, 25 (2 Suppl): S75-S84.
- 5 Crisan M, Yap S, Casteilla L, et al. A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs [J]. *Cell Stem Cell*, 2008, 3 (3): 301-313.
- 6 Caplan AI. All MSCs are pericytes [J]. *Cell Stem Cell*, 2008, 3 (3): 229-230.
- 7 Tempfer H, Wagner A, Gehwolf R, et al. Perivascular cells of the supraspinatus tendon express both tendon- and stem cell-related markers [J]. *Histochem Cell Biol*, 2009, 131 (6): 733-741.
- 8 Theobald P, Benjamin M, Nokes L, et al. Review of the vascularisation of the human Achilles tendon [J]. *Injury*, 2005, 36 (11): 1267-1272.
- 9 Lee WY, Lui PP, Rui YF. Hypoxia-mediated efficient expansion of human tendon-derived stem cells in vitro [J]. *Tissue Eng Part A*, 2012, 18 (5-6): 484-498.
- 10 Mienaltowski MJ, Adams SM, Birk DE. Regional differences in stem cell/progenitor cell populations from the mouse achilles tendon [J]. *Tissue Eng Part A*, 2013, 19 (1-2): 199-210.
- 11 Benjamin M, Ralphs JR. Tendons and ligaments--an overview [J]. *Histol Histopathol*, 1997, 12 (4): 1135-1144.
- 12 Fu SC, Chan KM, Rolf CG. Increased deposition of sulfated glycosaminoglycans in human patellar tendinopathy [J]. *Clin J Sport Med*, 2007, 17 (2): 129-134.
- 13 Zhang J, Li B, Wang JH. The role of engineered tendon matrix in the stemness of tendon stem cells in vitro and the promotion of tendon-like tissue formation in vivo [J]. *Biomaterials*, 2011, 32 (29): 6972-6981.
- 14 Yin Z, Chen X, Chen JL, et al. The regulation of tendon stem cell differentiation by the alignment of nanofibers [J]. *Biomaterials*, 2010, 31 (8): 2163-2175.

(上接549页)

- 15 Rui YF, Lui PP, Ni M, et al. Mechanical loading increased BMP-2 expression which promoted osteogenic differentiation of tendon-derived stem cells [J] . J Orthop Res, 2011, 29 (3) : 390-396.
- 16 Zhang J, Wang JH. Mechanobiological response of tendon stem cells : implications of tendon homeostasis and pathogenesis of tendinopathy [J] . J Orthop Res, 2010, 28 (5) : 639-643.
- 17 Zhang J, Pan T, Liu Y, et al. Mouse treadmill running enhances tendons by expanding the pool of tendon stem cells (TSCs) and TSC-related cellular production of collagen [J] . J Orthop Res, 2010, 28 (9) : 1178-1183.
- 18 Lee YW, Lui PPY, Wong YM, et al. Expression of Wnt pathway mediators in metaplastic tissue in animal model and clinical samples of tendinopathy-Potential effects of Wnts on the erroneous differentiation of tendon-derived stem cells (TDSCs) in the pathogenesis [A] . Proceedings of 58th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society [C] . 2012.
- 19 Rui YF, Lui PP, Wong YM, et al. BMP-2 stimulated non-tenogenic differentiation and promoted proteoglycan deposition of tendon-derived stem cells (TDSCs) in vitro [J] . J Orthop Res, 2013, 31(5) : 746-753.
- 20 Rui YF, Lui PP, Rolf CG, et al. Expression of chondro-osteogenic BMPs in clinical samples of patellar tendinopathy [J] . Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2012, 20 (7) : 1409-1417.
- 21 Yee Lui PP, Wong YM, Rui YF, et al. Expression of chondro-osteogenic BMPs in ossified failed tendon healing model of tendinopathy [J] . J Orthop Res, 2011, 29 (6) : 816-821.
- 22 Hoffmann A, Pelled G, Turgeman G, et al. Neotendon formation induced by manipulation of the Smad8 signalling pathway in mesenchymal stem cells [J] . J Clin Invest, 2006, 116 (4) : 940-952.
- 23 Tan Q, Lui PP, Rui YF. Effect of in vitro passaging on the stem cell-related properties of tendon-derived stem cells-implications in tissue engineering [J] . Stem Cells Dev, 2012, 21 (5) : 790-800.
- 24 Zhang J, Wang JH. Platelet-rich plasma releasate promotes differentiation of tendon stem cells into active tenocytes [J] . Am J Sports Med, 2010, 38 (12) : 2477-2486.
- 25 Zhang J, Keenan C, Wang JH. The effects of dexamethasone on human patellar tendon stem cells : implications for dexamethasone treatment of tendon injury [J] . J Orthop Res, 2013, 31 (1) : 105-110.
- 26 Haasters F, Polzer H, Prall WC, et al. Bupivacaine, ropivacaine, and morphine : comparison of toxicity on human hamstring-derived stem/progenitor cells [J] . Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2011, 19 (12) : 2138-2144.
- 27 邬晓勇, 刘玉杰, 石斌, 等. 自体骨髓间充质干细胞移植促进交叉韧带重建后腱骨愈合的研究 [J] . 军医进修学院学报, 2010, 31 (10) : 954-956.
- 28 李志锐, 王玉, 陈继凤, 等. 激素性股骨头坏死模型骨髓间充质干细胞的生物学特性评估 [J] . 军医进修学院学报, 2012, 33 (5) : 525-527.
- 29 张立岩, 徐睿, 陈继营, 等. 肌腱干细胞的特性及在股骨头坏死治疗中的应用 [J] . 中国临床医生, 2015, 43 (3) : 30-33.