

间充质干细胞在组织工程中的应用进展***☆

王福科¹, 刘流¹, 李俊男¹, 赵德萍², 代晓明¹, 李逸松¹, 何晓光¹

Application progress of mesenchymal stem cells in tissue engineering

Wang Fu-ke¹, Liu Liu¹, Li Jun-nan¹, Zhao De-ping², Dai Xiao-ming¹, Li Yi-song¹, He Xiao-guang¹

Abstract

¹Department of Head and Neck Surgery, Doctor, Lecturer, Center, First Affiliated Hospital, Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Wang Fu-ke ☆, Doctor, Lecturer, Department of Head and Neck Surgery, First Affiliated Hospital, Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China
wfk.04@126.com

Correspondence to: Liu Liu, Professor, Doctor, Doctoral supervisor, Department of Head and Neck Surgery, First Affiliated Hospital, Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China
liuliu3939@126.com

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 30960388*; the Association Special Project of Department of Science and Technology of Yunnan Province, No. 2007C0007R*; the Doctor Innovation Foundation of Kunming Medical University, No. KM2007D03*

Received: 2010-03-26
Accepted: 2010-05-09

BACKGROUND: Mesenchymal stem cells (MSCs) form connective tissue and organ interstitial in the body. MSCs are characterized by strong proliferative ability, multi-differentiation potential and immunomodulation. With advantages such as convenient source, easy to separate, culture, amplify and purificate, MSCs play an important role in tissue engineering and gene therapy research.

OBJECTIVE: To review biological proterty of different sources of MSCs, support role for other cells, immunogenicity, immune regulation and their application.

METHODS: The relevant article published between March 2001 and March 2010 were searched for in PubMed database by computer with the key words "mesenchymal stem cells, tissue engineering". Also searched related article in Wanfang Database with the key words of "mesenchymal stem cells, tissue engineering". A total of 182 documents were retrieved.

RESULTS AND CONCLUSION: MSCs are derived from embryonic mesoderm, have the potential of multi-directional differentiation, and can be applied to tissue engineering. Moreover, MSCs provide support for cell growth, regulate immune state of the body, and have been extensively utilized in medical field. At present, the studies of MSCs function have achieved some successes, but these studies are at early stage and there are many theoretical and technical problems. Further studies are needed to determine how to effectively control the MSCs directional differentiation, proliferation, migration and integration in vivo and how to participate in host cell tissue function.

Wang FK, Liu L, Li JN, Zhao DP, Dai XM, Li YS, He XG. Application progress of mesenchymal stem cells in tissue engineering. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(36):6800-6804.
[http://www.crter.cn http://en.zgckf.com]

摘要

背景: 间充质干细胞主要存在于结缔组织和器官间质中, 具有强大的增殖能力和多向分化潜能及免疫调节等多种功能; 同时具有来源方便, 易于分离、培养、扩增和纯化等优点, 因而在组织工程, 基因治疗等领域日益受到重视。

目的: 综述不同来源间充质干细胞的生物学特性、对其他细胞的支持作用、免疫原性、免疫调节作用及其应用。

方法: 应用计算机检索 2001-03/2010-03 PubMed 数据库相关文章, 检索词为“mesenchymal stem cells, tissue engineering”, 同时检索万方数据库相关文章, 检索词为“间充质干细胞, 组织工程”。共检索到文献 182 篇。

结果与结论: 间充质干细胞来源于中胚层间充质, 不仅具有多向分化的潜能, 单独应用于组织工程, 而且具有为其他细胞的生长繁殖提供支持的作用, 可以调节机体的免疫状态等特性而被广泛应用于医学领域。目前, 间充质干细胞功能的研究虽然取得了一些成就, 但有关研究才刚刚起步, 仍存在许多理论和技术问题, 对于如何有效控制其在体内定向分化、增殖、迁移并整合参与宿主细胞组织功能还需要大量深入和系统研究。

关键词: 间充质干细胞; 组织工程; 进展; 应用; 综述文献

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.36.034

王福科, 刘流, 李俊男, 赵德萍, 代晓明, 李逸松, 何晓光. 间充质干细胞在组织工程中的应用进展[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(36):6800-6804. [http://www.crter.org http://cn.zgckf.com]

0 引言

间充质干细胞来源于中胚层间充质, 具有向成骨细胞、成软骨细胞、成脂肪细胞、骨髓基质和心肌细胞分化能力, 不仅如此, 它还可以跨胚层分化为神经细胞、肝脏细胞、胰岛细胞等多向分化的潜能^[1]。近年研究还表明间充质干细胞不仅可单独应用于组织工程, 而且可以为其他细胞的生长繁殖提供支持作用, 可以调节机体的免疫状态。正是由于间充质干细胞这些强大的功能, 使其在组织工程、细胞替代

治疗和基因治疗等领域得到了日益广泛的应用。

1 资料和方法

1.1 资料来源 由第一作者于 2001-03/03 进行检索。中文以“间充质干细胞, 组织工程”为检索词, 检索万方数据库。英文以“mesenchymal stem cells, tissue engineering”为检索词, 检索 PubMed 数据库。共检索到文献 182 篇。

1.2 入选标准 纳入较新有代表性的间充质干

细胞文献。排除较陈旧的文献及重复研究。

1.3 资料提取 由两名评价员分别仔细阅读所获文献文题、摘要和全文, 以确定符合纳入标准的文献。共收集到 182 篇相关论文。

1.4 文献检索结果及质量评价 对符合纳入标准的文献进行以下几个方面评价: ①随机分配方法。②是否采用盲法评估。文献筛选和质量评价由第一作者独立进行并交叉核对, 如有分歧, 则通过讨论或由第二作者协助解决。初检得到 182 篇文献, 阅读标题和摘要进行初筛, 排除研究目的与此文无关、内容重复及 Meta 分析, 保留 30 篇文献和专著 1 篇进行综述。

2 结果

2.1 不同来源的间充质干细胞

2.1.1 骨髓来源的间充质干细胞 间充质干细胞最早发现于骨髓中, 1867 年德国科学家 Cohnheim 在研究创伤愈合时, 提出了骨髓中存在非造血干细胞的观点。1976 年 Friedenstein 发现在骨髓培养中有呈纺锤状少量贴壁生长的细胞, 1987 年又发现贴壁生长的细胞在一定条件下能分化形成类似骨及软骨的沉积物。这种贴壁生长的细胞为骨髓间充质干细胞^[2]。

骨髓间充质干细胞表面标志: 骨髓间充质干细胞缺少独特的表面标志物, 无特异性标志分子。该类细胞既有间质细胞的表面抗原特征, 又有内皮细胞、上皮细胞、肌细胞的表面抗原, 但不表达造血细胞表面抗原标志(CD14, CD34, CD45), 也不表达与人白细胞抗原相关的因子(B7-1, B7-2, 人白细胞抗原_DR 等), 而 CD9, CD10, CD13, CD29, CD10, CD44, CD49e, CD54, CD55, CD59, CD90, CD105, CD106, CD107, CD146, CD166 等多种表面抗原标志阳性^[3], 根据这些单克隆抗原阳性特征, 可以利用这些抗原来对骨髓单个核细胞进行分离纯化, 得到纯度较高的骨髓间充质干细胞。

骨髓间充质干细胞的分离培养: 其分离方法有: ①根据骨髓间充质干细胞的底物黏附特性实现分离的贴壁筛选法。②根据间充质干细胞与其他细胞的密度不同来分离的密度梯度离心法。③根据细胞表面的一些特殊标志分离的流式细胞仪分选法。④根据细胞表面的一些表面抗原标志来分离的磁珠分离法等。流式细胞仪分选和磁珠分离是纯度最高的分离方法, 它直接利用间充质干细胞的表面抗原特征, 用磁珠分离出 CD45⁻, NGFR(+) 细胞。但是骨髓间充

质干细胞的表面标志特异性不强, 对细胞活性有一定影响, 操作复杂等特点, 目前分离培养方法多采用贴壁筛选法和密度梯度离心法^[2]。

骨髓间充质干细胞的诱导分化: 骨髓间充质干细胞是存在于骨髓基质内的非造血细胞来源的细胞亚群, 属成体干细胞。近来研究发现骨髓间充质干细胞具有向中胚层和神经外胚层来源的组织细胞分化的能力, 能向骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、肌腱细胞、肌管、神经细胞等多方向分化^[1], 具体向哪一方向分化是由周围微环境所调控。地塞米松、维生素 C、 β -甘油磷酸钠、1, 25-(OH)₂VitD₃、碱性成纤维细胞生长因子、转化生长因子 β 及骨形态发生蛋白等能诱导骨髓间充质干细胞向成骨方向分化。

骨髓间充质干细胞的应用: 因自体骨髓间充质干细胞来源便捷, 取材简单, 对患者伤害小, 骨髓穿刺得到的骨髓间充质干细胞纯化后经体外低温保存, 其生物学性能无明显改变, 可在体外传代培养多达 30 次, 扩增超过 10 亿倍其成骨潜能也不变, 无免疫原性, 是目前最有希望在临床上使用的组织工程种子细胞。

自 1976 年 Friedenstein 发现骨髓间充质干细胞以来, 骨髓间充质干细胞应用于多种组织缺损的修复, 取得了良好的效果。Kon 等^[4]将体外培养扩增的羊骨髓间充质干细胞复合多孔羟基磷灰石修复羊胫骨节段性缺损, 术后 2 个月骨组织的生成量及新生骨组织强度明显优于单用羟基磷灰石的对照组, 复合材料组材料周围及孔隙内均有骨组织形成, 而对照组仅于材料表面有骨组织形成, 说明骨髓间充质干细胞可以有效地增加骨组织工程的成骨量。刘鹏等^[5]以间充质干细胞为种子细胞构建组织工程皮肤修复烫伤创面, 观察移植 2 周后实验组创面基本愈合, 表皮角质化, 真皮层毛细血管增生, 6 周后创面收缩到原始面积的 61%, 而空白对照组收缩到原始面积的 21%, 骨髓间充质干细胞明显增加了皮肤的生成速度, 是一种优秀的皮肤组织工程组织细胞。2007 年吴坚等^[6]采用荧光金逆行示踪方法来评价自体骨髓间充质干细胞组织工程化神经修复犬坐骨神经 5 cm 缺损, 结果显示再生神经修复了缺损, 恢复了神经干的连续性, 再生神经具有良好的物质运输功能。骨髓间充质干细胞虽然取得了巨大的成就, 但随着研究的深入也会暴露一些缺陷。

骨髓间充质干细胞的缺点和应用前景: 虽然骨髓间充质干细胞在种子细胞中有很多优势, 但存在给患者带来一定创伤, 数量少, 对培养基中胎牛

昆明医学院第一附属医院,¹ 头颈外科,² 实验中心, 云南省昆明市 650032

王福科^{*}, 男, 1975 年生, 河南省焦作市人, 汉族, 2009 年昆明医学院毕业, 博士, 讲师, 主要从事骨组织工程的研究。
wfk.04@126.com

通讯作者: 刘流, 教授, 博士, 博士生导师, 昆明医学院第一附属医院头颈外科, 云南省昆明市 650032
liuliu3939@126.com

中图分类号: R394.2
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2010)36-06800-05

收稿日期: 2010-03-26
修回日期: 2010-05-09
(20091026014/WL · Q)

血清的来源和质量要求严格, 在数量上随标本来源人群年龄增长而明显下降等缺点^[7]。无论如何, 骨髓间充质干细胞是目前研究最多的组织工程种子细胞之一, 但有关研究才刚刚起步, 仍存在许多理论和技术问题: 采集获得细胞数量少, 如何建立规范的分离纯化和扩增技术, 以满足临床需要。还需探明细胞分化和调控的确切机制, 研究多种调控因素间的相互作用, 找到使其向不同组织转化的最佳条件, 如何选择适宜载体以及基因修饰问题还待进一步深入研究。

2.1.2 脐血来源的间充质干细胞 近来大量研究证实人类脐带血中不仅含有大量的造血干细胞, 其中还包括多种其他的干/祖细胞, 包括间充质干细胞、内皮祖细胞和非限制性体干细胞等。随着美国、欧洲和中国相继建立了脐带血库及国际脐带血登记处, 人们对脐血来源间充质干细胞的研究逐渐深入, 越来越认识到脐血来源的间充质干细胞具有很多优秀的价值。

脐血来源间充质干细胞的表面标志: Lu 等^[8]自人脐血单个核细胞中获得成纤维样细胞, 发现该细胞可以表达 CD29, CD44, CD90, CD95, CD105, CD166 及 MHC-I, 而不表达 CD14, CD34, CD40, CD45, CD80, CD86, CD117, CD152 和 MHC-II, 其中 CD90 和 CD166 的表达水平高于骨髓间充质干细胞, 提示脐血间充质干细胞中骨祖细胞的含量较丰富, 而且脐血间充质干细胞可以表达 CD105(转化生长因子 β 受体 III), 提示转化生长因子 β 信号通路可能在控制其向软骨细胞分化中有一定作用。

脐血来源间充质干细胞的分离培养: 脐血中间充质干细胞含量极其稀少, 培养困难, 据统计约有 1/4 的脐带血样单个核细胞培养后出现间充质干细胞, 3/4 的脐带血样单个核细胞培养后出现破骨样细胞^[9]。由于这个特点, 在细胞的分离方法中流式细胞仪和免疫磁珠分离法对细胞活性影响较大, 甚至可导致细胞完全失去活性, 操作复杂, 因而应用不普遍。单纯贴壁法虽然方法简单, 但所获细胞成分复杂, 细胞纯度不足, 其内可杂以红细胞、巨噬细胞和破骨样细胞等多种细胞成分, 经多次传代, 仍可见较多杂质细胞存在, 增殖活力相对较低。现多提倡密度梯度离心法结合贴壁法进行分离。也有人认为密度梯度离心的方法能增加间充质干细胞分化成为成骨细胞克隆的数量, 在培养过程中能更多更快的形成成纤维细胞集落形成单位。故认为此法分离脐血来源的基质干细胞是较合理的^[10]。因为脐血间充质干细胞数量少, 频度低, 对细胞进行有效扩增尤其必要。Bieback 等^[11]认为脐血间充质干细胞分离培养成功的关键在于分离在脐血采集后 15 h 内进行, 所得脐血量大于 33 mL 以及单个核细胞总数多于 1×10^8 个。总之脐血间充质干细胞分离培养较困难, 还需要今后进一步探索以找到一种高效的分离培养方法。

脐血来源间充质干细胞的应用及前景: 近年的研究证实脂肪间充质干细胞可以向骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、神经细胞、肌肉细胞、内皮细胞、肝细胞等细胞分化^[12], 脐血来源的间充质干细胞因为免疫原性极低, 表现出间充质干细胞的所有功能, 在组织工程中应用越来越广泛。

中国 1996 年开始相继建立了脐带血库, 但其研究及临床应用还处于起步阶段, 脐带血间充质干细胞含量较少, 每 10 万有核细胞中含有 0.05~2.80 个间充质干细胞, 每份脐带血有核细胞数仅有 $(0.7 \sim 3.2) \times 10^8$ 个, 脐带血中间充质干细胞的量为 3.5~896.0 个, 数量太少, 分离扩增较难^[13]。脐血间充质干细胞的培养、增殖、分离纯化技术还不成熟, 免疫原性、组织相容性及体内成骨特性还未明确, 内皮祖细胞和非限制性体干细胞组织工程骨中的作用还未探明, 内皮祖细胞在组织工程骨血管化的作用还没有相关的研究。

2.1.3 脂肪来源的间充质干细胞 近来研究发现脂肪组织中存在一类间充质干细胞称为处理过抽脂术细胞, 因其克隆细胞株增殖能力强, 具有多向分化潜能, 在体外培养中保持稳定的生长增殖活性, 具有与骨髓间充质干细胞一样的多向分化潜能, 故又称为脂肪干细胞^[14]。

脂肪来源间充质干细胞的表面标志: 大量的研究表明, 脂肪干细胞与骨髓间充质干细胞不仅具有非常相似的生物学特性, 而且在细胞表面标志谱的表达方面也非常接近, 脂肪来源间充质干细胞的表面标志为: CD9, CD10, CD13, CD29, CD10, CD44, CD49e, CD49d, CD54, CD55, CD59, CD90, CD105, CD107, CD146, CD166 等多种表面抗原标志阳性, 与骨髓间充质干细胞相比仅为骨髓间充质干细胞 CD106 阳性, 脂肪间充质干细胞为 CD49d 阳性^[3], 由此可见两种来源的间充质干细胞功能上也会基本相同。

脂肪来源间充质干细胞的分离培养: 脂肪干细胞在一出现就表现出非凡的能力, 这些脂肪干细胞不像骨髓间充质干细胞对培养基中胎牛血清的来源和质量有严格的要求, 在加有任何批号胎牛血清的 DMEM 培养基中均能很好的繁殖, 传代培养中增殖迅速, 并且保持稳定的人倍增率直到 13~15 代。在数量上处理 300 mL 的脂肪组织可以得到 $(2 \sim 6) \times 10^8$ 个脂肪干细胞, 脂肪干细胞在体外的生长状态类似成纤维细胞和骨髓间充质干细胞, 传代培养细胞可在两三天增殖 1 倍, 经过多次传代后 (10~20 代), 细胞的增殖速度无明显的减慢^[14]。

脂肪来源间充质干细胞的应用: 近年的研究证实脂肪间充质干细胞可以向骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、神经细胞、肌肉细胞、内皮细胞、肝细胞等细胞分化^[15]。在 2005 年 Peterson 等^[16]用骨形态发生蛋白 2 修饰的脂肪干细胞成功的修复了裸鼠股骨缺损, 为脂肪干细胞作为组织工程化骨的种子细胞奠定了基础。

脂肪来源间充质干细胞的应用前景: 细胞克隆试验表

明, 骨髓间充质干细胞只占成人骨髓的 $(0.2\sim 1.0)\times 10^{-5}$ ^[7], 而脂肪组织比骨髓中所含的间充质干细胞概率大, 成纤维样细胞集落形成单位试验表明, 脂肪中干细胞至少是骨髓的 500 多倍^[17]。且 Muschler 等^[7]还发现骨髓来源的干细胞随年龄的增大逐渐减少, 而且细胞集落试验表明女性的细胞集落随年龄明显下降。可见脂肪干细胞在临床应用上比骨髓来源的干细胞更具潜力, 这更说明了脂肪干细胞比骨髓间充质干细胞具有优越性。脂肪组织来源广泛, 取材方便, 可获得基质细胞数量大, 易于培养扩增, 脂肪抽吸术是一种可以获得大量脂肪的安全、微创技术, 通过美容及整形外科常用的手段, 可获得足量的种子细胞。这就降低了培养增殖的难度, 显著降低了临床上实际组织工程骨移植的风险。

2.1.4 其他来源的间充质干细胞 在随后的研究中, 人们逐渐从外周血、骨骼肌或皮肤的组织结构中发现了间充质干细胞的存在^[18-20]。在骨髓中发现了一种更原始的细胞^[21-23], 称为多能成体祖细胞, 这种干细胞具有胚胎干细胞的某些特征, 不仅可以在体内、外分化为包括 3 个胚层来源的几乎所有组织的细胞, 而且具有极强的增殖能力, 体外培养至少可以扩增 30 代以上。其表面标志为 CD13⁺、CD44⁻、CD45⁻、c-Kit⁻、FLK-1dim⁻、MHC-I⁻、MHC-II class⁻。在不久的将来相信会发现更多种类的间充质干细胞供组织工程应用。

2.2 间充质干细胞对其他细胞的支持作用 近来研究发现间充质干细胞虽然仅占骨髓单核细胞总数 1/100 000~1/10 000, 但却发挥了重要的作用。间充质干细胞可以同其他间充质细胞一起构成结缔组织骨架, 分泌细胞因子及胞外基质蛋白, 调节造血细胞的增殖和归巢。Liu 等^[24]用 RT-PCR 和 ELISA 等方法检测了在创伤微环境作用下生长因子在骨髓间充质干细胞中的表达, 显示在创伤微环境作用下骨髓间充质干细胞可分泌转化生长因子 $\beta 1$ 、表皮生长因子、血管内皮生长因子、血小板衍生生长因子、角质细胞生长因子、成纤维细胞生长因子、肝细胞生长因子等, 而这些生长因子在创伤修复过程中起到关键的促进作用。这些研究表明间充质干细胞可以在共同培养中对许多细胞有支持作用。血细胞的分化和成熟有赖于造血干细胞和祖细胞与由间充质干细胞、胞外基质和血管组成的微环境接触, 间充质干细胞通过分泌多种细胞因子等功能直接或间接对造血细胞的分化、成熟进行调控, 所以间充质干细胞可以支持、调节造血干/祖细胞的生长繁殖。

间充质干细胞的这些机制不仅显著促进造血干细胞移植治疗造血系统疾病的研究, 而且为进一步促进组织工程的快速血管化提供了理论依据。有学者在构建组织工程骨时, 不仅植入有成骨潜能的间充质干细胞, 而且同时植入加速血管形成的内皮细胞, 结果发现成骨细胞及其前体细胞能分泌血管内皮生长因子, 而同时发现

内皮细胞可以分泌骨形态发生蛋白, 促进成骨分化的同时刺激血管发生和形成^[25]。

2.3 间充质干细胞的免疫调节作用

间充质干细胞的免疫原性: 目前已经发现, 间充质干细胞的免疫原性非常低, 其表面表达 MHC-I、MHC-II、淋巴细胞相关抗原 LFA-3、干扰素相关细胞黏附因子 ICAM-1 抗原, 但不表达 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞活化膜抗原 CD80, CD86 和 CD40, 极大限制了 CD3 标记的 T 淋巴细胞和单核细胞的活化增殖^[26]。这些分子是效应性 T 细胞激活所必需的, 共刺激分子缺失, 使 T 细胞活化的第二信号丧失, 导致 Th 细胞的无反应性而促成免疫耐受, 表现出耐受原性和低免疫原性。虽然间充质干细胞表面存在 MHC-II 类分子, 但在与同种异体淋巴细胞共培养时却不能引起细胞的增殖反应, 即使加入 C 干扰素诱导 MHC-II 类分子表达, 也不能刺激同种异体反应。实验表明, 在不表达 MHC-I 类和 MHC-II 类分子的鼠类动物间充质干细胞、表达 MHC-I 和 MHC-II 类分子的人类间充质干细胞都能抑制免疫应答^[27]。所以移植同种异体间充质干细胞和同体的间充质干细胞所引起的效果是相同的, 同样不会引起免疫排斥反应。这些研究为异体间充质干细胞进一步在组织工程中的应用提供了理论基础。

间充质干细胞对外周血 T 淋巴细胞的调节作用: 另外有研究表明间充质干细胞不仅免疫原性极低, 而且有重要的免疫调节作用, 间充质干细胞可以在体外共培养中抑制 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞和单核细胞的增殖。Kim 等^[28]在对人脐带血造血干细胞移植 NOD/SCID 小鼠动物模型的研究中发现, 异源性人骨髓间充质干细胞共移植可以有效克服双份脐带血移植带来的“单供体优势现象”, 这可理解为异源人间充质干细胞有效抑制了发生在双份脐带血的“移植排斥反应”。这些研究为间充质干细胞应用于移植物的移植排斥反应和移植排斥反应提供了前所未有的解决方法。但这些现象的机制究竟是怎样的还有待探究。

目前对于间充质干细胞和免疫系统的关系并不十分清楚, 但已有一些证据显示间充质干细胞通过不同的机制调节免疫系统。在体外, 间充质干细胞能够抑制 B 淋巴细胞的增殖和一些细胞因子的分泌。把间充质干细胞和 B 淋巴细胞用半透膜隔开培养情况下, 这种抑制作用依然存在, 证明有一种可溶性因素在发挥作用, 而且 B 淋巴细胞并不是简单通过细胞凋亡的方式被抑制的, 而是被抑制在 G₀/G₁ 期; B 淋巴细胞的 CXCR4, CXCR5 和 CCR7 表达配体和 CXCL12, CXCR4, CXCL13 和 CXCR5 趋化配体一样被有效的调整了, 因此可以认为间充质干细胞是通过影响 B 淋巴细胞的趋化性来抑制细胞增殖的^[29]。对于上面的研究有人提出了相同的见解, 认为转化生长因子 $\beta 1$ 和肝细胞生长因子介导了间

充质干细胞的抑制效应, 并且通过抗体中和实验, 证实了在加了骨髓基质细胞的混合淋巴细胞培养中同时加入抗重组人转化生长因子和抗重组人肝细胞生长因子抗体, T细胞的增殖反应得到一定程度的恢复^[30]。但Tse等^[26]虽然承认这种抑制作用有可溶性因素存在, 但同时认为这种抑制作用并不能被白细胞介素 10、转化生长因子 β 、前列腺素 E2 和培养基中缺少色氨酸来解释; 在混合培养中间充质干细胞并不能刺激单核细胞和 T 淋巴细胞增殖, 也不像非专业性抗原递呈细胞那样, 这种抑制作用并不能被 CD28 和 γ -干扰素介导的刺激因素消除; 并建议同种异体间充质干细胞移植并不需要免疫抑制剂。Le Blanc 等^[31]认为抑制作用不仅和移植的剂量有关, 而且和间充质干细胞体外培养时间也有关。在体外加入高剂量间充质干细胞 $(1\sim4)\times 10^4$ 个时外周血淋巴细胞被抑制, 再加入极低剂量间充质干细胞 $(10\sim1\ 000)$ 个时则低度抑制或者刺激淋巴细胞增殖; 在培养间充质干细胞第 6 天时加入抑制效果最强烈, 在 3~5 d 时加入可以有效地抑制细胞增殖。间充质干细胞免疫调节作用的机制虽然还未完全探明, 但这些研究都为以后的研究提供了非常有益的线索, 为间充质干细胞应用于临床提供了理论基础。

3 小结

目前, 间充质干细胞功能的研究虽然取得了一些成就, 但有关研究才刚刚起步, 仍存在许多理论和技术问题, 对于如何有效控制其在体内定向分化、增殖、迁移并整合参与宿主细胞组织功能还需要大量深入和系统研究。如何选择适宜载体以及基因修饰问题还待进一步深入研究。

4 参考文献

[1] Minguell JJ, Ericas A, Conget P. Mesenchymal stem cells. *Exp Biol Med*(Maywood). 2001;226(6):507-520.
 [2] 裴雪涛. 干细胞实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 2006:83-100.
 [3] Sakaguchi Y, Sekiya I, Yagishita K, et al. Comparison of human stem cells derived from various mesenchymal tissues: superiority of synovium as a cell source. *Arthritis Rheum*. 2005;52(8):2521-2529.
 [4] Kon E, Muraglia A, Corsi A, et al. Autologous bone marrow stromal cells loaded onto porous hydroxyapatite ceramic accelerate bone repair in critical-size defects of sheep long bones. *J Biomed Mater Res*. 2000;49(3):328-337.
 [5] 刘鹏, 邓志宏, 温宁, 等. 复合骨髓间充质干细胞的组织工程皮肤修复烧伤创面的实验研究[J]. *中国美容医学*, 2007, 16(4):437-439.
 [6] 吴坚, 胡文, 姚健, 等. 犬自体骨髓间充质干细胞组织工程化神经荧光逆行示踪标记实验[J]. *组织工程与重建外科杂志*, 2007, 3(1):46-48.
 [7] Muschler GF, Nitto H, Boehm CA, et al. Age- and gender-related changes in the cellularity of human bone marrow and the prevalence of osteoblastic progenitors. *J Orthop Res*. 2001;19(1):117-125.
 [8] Lu FZ, Fujino M, Kita zawa Y, et al. Characterization and gene transfer in mesenchymal stem cells derived from human umbilical-cord blood. *J Lab Clin Med*. 2005;146(5):271-278.
 [9] 罗凯, 单根法, 钟斌, 等. 脐血间充质干细胞肌源性诱导分化的研究[J]. *上海第二医科大学学报*, 2005, 25(2):134-137.
 [10] Lisignoli G, Remiddi G, Cattini L, et al. An elevated number of differentiated osteoblast colonies can be obtained from rat bone marrow stromal cells using a gradient isolation procedure. *Connect Tissue Res*. 2001;42(1):49-58.

[11] Bieback K, Kern S, Kluter H, et al. Critical parameters for the isolation of mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Stem Cells*. 2004;22(4):625-634.
 [12] Kogler G, Sensken S, Airey JA, et al. A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential. *J Exp Med*. 2004;200(2):123-135.
 [13] 田新, 符仁义, 邓力, 等. 脐血间充质干细胞的分离扩增及向成骨及脂肪细胞的分化[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2007, 21(1):81-85.
 [14] Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell*. 2002;13(12):4279-4295.
 [15] Leong DT, Khor WM, Chew FT, et al. Characterization of osteogenically induced adipose tissue-derived precursor cells in 2-dimensional and 3-dimensional environments. *Cells Tissues Organs*. 2006;182(1):1-11.
 [16] Peterson B, Zhang J, Iglesias R, et al. Healing of critically sized femoral defects, using genetically modified mesenchymal stem cells from human adipose tissue. *Tissue Eng*. 2005;11(1-2):120-129.
 [17] Fraser JK, Wulur I, Alfonso Z, et al. Fat tissue: an underappreciated source of stem cells for biotechnology. *Trends Biotechnol*. 2006;24(4):150-154.
 [18] Wexler SA, Donaldson C, Denning-Kendall P, et al. Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal 'stem' cells but umbilical cord and mobilized adult blood are not. *Br J Haematol*. 2003;121(2):368-374.
 [19] Mizuno Y, Chang H, Umeda K, et al. Generation of skeletal muscle stem/progenitor cells from murine induced pluripotent stem cells. *FASEB J*. 2010 Feb 24. [Epub ahead of print]
 [20] Orciani M, Mariggio MA, Morabito C, et al. Functional Characterization of Calcium-Signaling Pathways of Human Skin-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Skin Pharmacol Physiol*. 2009;23(3):124-132.
 [21] Zeng L, Rahrmann E, Hu Q, et al. Multipotent adult progenitor cells from swine bone marrow. *Stem Cells*. 2006;24(11):2355-2366.
 [22] Jiang ZS, Gao Y, Mu N. Multipotent adult progenitor cells from human bone marrow differentiate into hepatocyte-like cells induced by co-culture with human hepatocyte line. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2007;87(6):414-418.
 [23] Bobick BE, Tuan RS, Chen FH, et al. The intermediate filament vimentin regulates chondrogenesis of adult human bone marrow-derived multipotent progenitor cells. *J Cell Biochem*. 2010;109(1):265-276.
 [24] Liu Y, Dulchavsky DS, Gao X, et al. Wound repair by bone marrow stromal cells through growth factor production. *J Surg Res*. 2006;136(2):336-341.
 [25] Lammert E, Cleaver O, Melton D. Induction of pancreatic differentiation by signals from blood vessels. *Science*. 2001;294(5542):564-567.
 [26] Tse WT, Pendleton JD, Beyer WM, et al. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation. *Transplantation*. 2003;75(3):389-397.
 [27] Potian JA, Aviv H, Ponzio NM, et al. Veto-like activity of mesenchymal stem cells: functional discrimination between cellular responses to alloantigens and recallantigens. *J Immunol*. 2003;171(7):3426-3434.
 [28] Kim DW, Chung YJ, Kim TG, et al. Cotransplantation of third-party mesenchymal stromal cells can alleviate single-donor predominance and increase engraftment from double cord transplantation. *Blood*. 2004;103(5):1941-1948.
 [29] Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood*. 2006;107(1):367-372.
 [30] Di Nicola M, Carlo-Stella C, Magni M, et al. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood*. 2002;99(10):3838-3843.
 [31] Le Blanc K, Tammik L, Sundberg B, et al. Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex. *Scand J Immunol*. 2003;57(1):11-20.

关于作者: 第一作者构思并设计综述, 第一作者进行文章资料收集, 所有作者共同起草, 第二作者为审核者, 第一作者对文章负责。
基金资助: 国家自然科学基金(30960388); 云南科技厅联合专项基金资助项目 (2007C0007R); 昆明医学院博士创新基金项目 (KM2007D03)。
利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。
伦理批准: 没有与相关伦理道德冲突的内容。