

骨髓间充质干细胞修复软骨缺损的应用前景

鲁先闯¹, 张志峰², 黄健²(¹内蒙古医科大学, 内蒙古自治区呼和浩特市 010059; ²内蒙古医科大学第二附属医院, 内蒙古自治区呼和浩特市 010030)

文章亮点:

- 1 此问题的已知信息: 骨髓间充质干细胞是具有多向分化潜能的干细胞, 国内外对骨髓间充质干细胞的研究已取得了很大进展。
- 2 文章增加的新信息: 文章综述和归纳了促进骨髓间充质干细胞向软骨细胞分化的几种生长因子和生物支架, 为今后骨髓间充质干细胞向软骨细胞分化的研究和临床应用提供理论依据。
- 3 临床应用的意义: 在临床中由于年龄、创伤、感染、自身免疫、肿瘤等因素引起的各种关节表面疾患造成软骨损伤非常常见。利用组织工程的原理, 将转染细胞因子的骨髓间充质干细胞复合生物支架植入体内, 可达到修复软骨缺损的目的。

关键词:

干细胞; 骨髓干细胞; 软骨缺损; 组织工程; 生物支架; 骨髓间充质干细胞; 细胞因子

主题词:

骨髓; 间质干细胞; 细胞因子类; 组织支架

基金资助:

内蒙古医科大学科技百万工程(YKD2012KJBW003)

摘要

背景: 骨髓间充质干细胞是一种非造血性成体干细胞, 主要存在于骨髓, 具有很强的增殖能力和多向分化潜能, 临床应用前景广阔。

目的: 对促进骨髓间充质干细胞向软骨细胞分化的生长因子、生物支架等方面的最新研究进展进行综述。

方法: 以“cartilage defects, tissue engineering, biological scaffolds, bone marrow mesenchymal stem cells, cytokines”和“软骨缺损, 组织工程, 生物支架, 骨髓间充质干细胞, 细胞因子”为检索词, 由第一作者检索 1990 至 2014 年 PubMed 和中国知网数据库, 查阅近年骨髓间充质干细胞向软骨细胞分化的相关文献, 最终保留 51 篇文献进行分析。

结果与结论: 骨髓间充质干细胞具有向软骨细胞分化的潜能, 目前许多细胞因子可以促进骨髓间充质干细胞向软骨细胞分化, 很多生物支架可以作为骨髓间充质干细胞向软骨细胞分化的载体。但是骨髓间充质干细胞向软骨细胞分化的研究还在探索过程中, 真正进入临床还有许多亟待解决和深入探究的问题。

鲁先闯, 张志峰, 黄健. 骨髓间充质干细胞修复软骨缺损的应用前景[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(19): 3083-3088.

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2015.19.022

Bone marrow mesenchymal stem cells for repair of cartilage defects

Lu Xian-chuang¹, Zhang Zhi-feng², Huang Jian² (¹Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010059, Inner Mongolia Autonomous Region, China; ²Second Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010030, Inner Mongolia Autonomous Region, China)

Abstract

BACKGROUND: Bone marrow mesenchymal stem cells are a kind of non-hematopoietic adult stem cells, mainly distributing in the bone marrow, with strong proliferation and differentiation potential, which has a promising clinical prospect.

OBJECTIVE: To review the latest progress in growth factors and biological scaffolds to promote chondrogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells.

METHODS: PubMed and CNKI databases were searched by the first author using key words of “cartilage defects, tissue engineering, biological scaffolds, bone marrow mesenchymal stem cells, cytokines” in English and in Chinese, respectively, to retrieve relevant articles published from 1990 to 2014. Literatures addressing the chondrogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells were included, and 51 articles were chosen for further analysis eventually.

RESULTS AND CONCLUSION: Bone marrow mesenchymal stem cells have the potential to differentiate into chondrocytes, which can be induced by many cytokines. Various biological scaffolds act as a carrier for chondrogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells. But there are still lots of problems to be solved and in-depth explored clinically.

鲁先闯, 男, 1987 年生, 河南省濮阳县人, 汉族, 内蒙古医科大学在读硕士, 主要从事关节外科研究。

并列第一作者: 张志峰, 男, 1980 年生, 内蒙古自治区赤峰市人, 蒙古族, 2011 年内蒙古医科大学毕业, 硕士, 主治医师, 主要从事关节外科研究。

通讯作者: 黄健, 博士, 主任医师, 内蒙古医科大学第二附属医院, 内蒙古自治区呼和浩特市 010030

中图分类号:R318

文献标识码:A

文章编号:2095-4344

(2015)19-03083-06

稿件接受: 2015-04-02

http://www.crter.org

Lu Xian-chuang, Studying for master's degree, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010059, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Zhang Zhi-feng, Master, Attending physician, Second Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010030, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Lu Xian-chuang and Zhang Zhi-feng contributed equally to this article.

Corresponding author: Huang Jian, M.D., Chief physician, Second Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010030, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Accepted: 2015-04-02

Subject headings: Bone Marrow; Mesenchymal Stem Cells; Cytokines; Tissue Scaffolds

Funding: the Scientific Millions Engineering of Inner Mongolia Medical University, No. YKD2012KJBW003

Lu XC, Zhang ZF, Huang J. Bone marrow mesenchymal stem cells for repair of cartilage defects. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2015;19(19):3083-3088.

0 引言 Introduction

如今越来越多的中老年人由于不恰当的运动方式, 例如剧烈运动、爬山等, 使关节软骨损伤非常常见。另外, 关节处着凉、过度行走、长期负重也是膝关节软骨缺损的常见诱因。骨性关节炎是软骨面受到了磨损, 破坏了正常的关节保护垫, 人们在走路时, 关节活动缺乏关节软骨, 骨骼直接摩擦接触, 产生疼痛。关节软骨一旦损伤, 病变通常由不同生物学特性的瘢痕组织和修复机械功能受损的纤维软骨所替代。骨性关节炎是导致中老年人膝关节疼痛和畸形的慢性疾病, 不仅使患者感到无比痛苦、活动受限, 而且治疗骨性关节炎需要花费巨额的费用, 给社会带来巨大的经济压力。由于关节软骨面磨损后, 自身不能修复, 而且预后不佳, 目前没有特效治疗方法^[1]。

近几年来, 组织工程学的研究为治疗软骨磨损带来了极大的希望^[2]。组织工程的基本原理和方法是将体外培养的正常细胞, 吸附于一种生物相容性良好、可被机体吸收的支架上。最近研究表明在受损的部位使用适当的细胞因子联合生物支架可刺激骨髓间充质干细胞向软骨方向分化^[3-4]。与其他种子细胞相比, 骨髓间充质干细胞具有以下优点: ①获取容易。②传代培养所用的时间短, 增殖速度快。③细胞黏附性好。④随着机体的衰老, 骨髓间充质干细胞仍可以保持良好的干细胞特征。⑤骨髓间充质干细胞具有免疫耐受的特性。

本文对骨髓间充质干细胞成软骨细胞分化的潜能、具有促进骨髓间充质干细胞向软骨细胞分化的生长因子以及促进骨髓间充质干细胞向软骨细胞分化的生物支架等最新研究进展作一综述。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 由第一作者通过计算机检索1990至2014年PubMed数据库和中国知网数据库收录的与骨髓间充质干细胞向软骨细胞分化有关的文献。英文检索词为“cartilage defects, tissue engineering, chicken, isolation, culture, differentiation”, 中文检索词为“软骨缺损, 组织工程, 生物支架, 骨髓间充质干细胞, 细胞因子”。

1.2 入选标准

纳入标准: 文献内容相关程度高, 具有原创性, 且观点明确, 论据可靠。

排除标准: 内容陈旧、重复性文章。

1.3 文献质量评估 共检索到126篇文献, 阅读标题与

摘要进行筛选, 排除与此文无关的文献, 最后共纳入51篇文献。文献类型包括实验研究和综述文献。

2 结果 Results

2.1 骨髓间充质干细胞成软骨细胞分化的潜能 骨髓间充质干细胞来源于中胚层, 具有很强的多向分化潜力, 能分化为许多类型的子代细胞, 同时具有很强增殖能力^[5], 在适宜的条件下, 不仅可以诱导分化为具有同源性的中胚层的间质细胞, 还可以诱导分化为骨细胞^[6]、软骨细胞^[7]、脂肪细胞^[8]、上皮样细胞^[9]、心肌细胞^[10]、肝细胞等。由于骨髓间充质干细胞具有容易获得、易于培养的特点, 而且向软骨细胞分化的潜力确切, 因此, 骨髓间充质干细胞被认为是组织工程中用于软骨缺损修复的最理想的种子细胞^[11]。

2.2 促进骨髓间充质干细胞向软骨细胞分化的生长因子 细胞生长因子发挥功能是通过细胞间的信号传导, 并且生长因子对细胞具有促进或抑制其分裂、增殖、迁移和基因表达等方面的作用。

2.2.1 血管内皮生长因子(VEGF) 血管内皮生长因子是血管内皮细胞有效的有丝分裂原, 在目前已知的生长因子中, 血管内皮生长因子是诱导血管再生能力最强的生长因子, 而且在软骨修复的过程中, 血管内皮生长因子同样也起着非常重要的调节作用。

2.2.2 碱性成纤维细胞生长因子(bFGF) 碱性成纤维细胞生长因子是成纤维生长因子家族中的重要一员, 它是一种广谱的有丝分裂原, 对中胚层、神经外胚层和肿瘤细胞均具有促增殖、分化的能力, 并且参与新生血管形成的过程, 以及软骨组织、骨组织和神经组织等组织损伤的修复。

2.2.3 转化生长因子 β (TGF- β) 转化生长因子 β 是转化生长因子 β 超家族中的重要一员, 还包括激动蛋白(activin)、抑制蛋白(inhibin)、骨形态发生蛋白(BMP)等。转化生长因子 β 包含有转化生长因子 β 1、 β 2和 β 3三种异构体。先前的研究主要集中在对转化生长因子 β 生物学功能方面的研究, 例如在炎症反应、组织修复和胚胎发育等方面的研究, 随着近几年来研究发现, 转化生长因子 β 对间充质起源细胞的生长和分化均具有重要的调节作用。骨髓间充质干细胞作为种子细胞, 向软骨细胞表型分化受多种因素的限制, 其中转化生长因子 β 是骨髓间充质干细胞向软骨细胞方向分化所必须的细胞因子。转化生长因子 β 参与调节细胞增殖、分化和运动, 也参与细胞外基质的合成和沉积。已有研究表明, 一些化学

物质能够抑制或促进转化生长因子 β 对骨髓间充质干细胞向软骨细胞方向分化的作用。转化生长因子 β 1在胚胎软骨细胞中丰富表达^[12]。Kim等^[13]研究表明浓度高的转化生长因子 β 2可明显促进骨髓间充质干细胞向软骨细胞方向分化。体外培养骨髓间充质干细胞向软骨细胞分化的实验研究显示, 10 μ g/L的转化生长因子 β 1诱导后细胞II型胶原和聚集蛋白聚糖的mRNA表达最明显^[14], 见图1, 2。

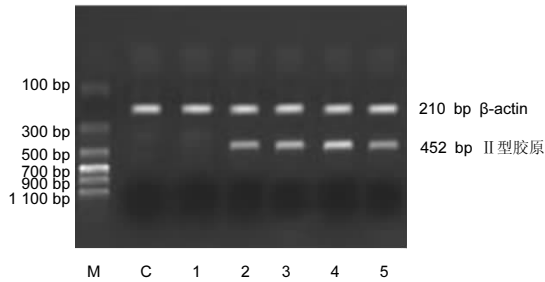


图1 转化生长因子 β 1诱导骨髓间充质干细胞II型胶原基因mRNA表达^[14]

图注: M: Marker; C: 对照组; 1: 0 μ g/L 转化生长因子 β 1; 2: 1 μ g/L 的转化生长因子 β 1; 3: 5 μ g/L 的转化生长因子 β 1; 4: 10 μ g/L 的转化生长因子 β 1; 5: 20 μ g/L 的转化生长因子 β 1。

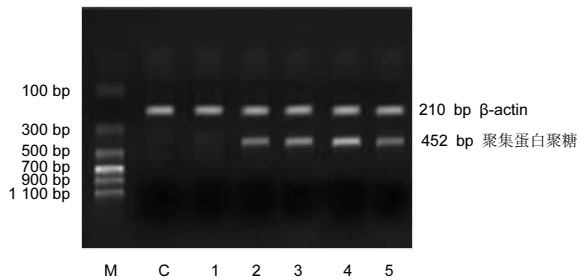


图2 转化生长因子 β 1诱导骨髓间充质干细胞聚集蛋白聚糖mRNA表达^[14]

图注: M: Marker; C: 对照组; 1: 0 μ g/L 转化生长因子 β 1; 2: 1 μ g/L 的转化生长因子 β 1; 3: 5 μ g/L 的转化生长因子 β 1; 4: 10 μ g/L 的转化生长因子 β 1; 5: 20 μ g/L 的转化生长因子 β 1。

2.2.4 胰岛素样生长因子(IGF) 胰岛素样生长因子不仅具有促进骨髓间充质干细胞增殖、分化能力。胰岛素样生长因子可分为两种生物多肽: 胰岛素样生长因子1和胰岛素样生长因子2。它们具备相似的化学结构, 在体外有相同的生物活性, 但在体内有不同的生物学效应。胰岛素样生长因子1的作用主要是促进骨髓间充质干细胞的分裂、增殖以及促进细胞外基质的合成。胰岛素样生长因子2在细胞内的物质代谢过程中起重要的调节作用, 不仅能够刺激软骨细胞的增生, 而且增加了软骨细胞的分化和II型胶原合成。目前的研究发现致有丝分裂和促进合成代谢的胰岛素样生长因子1的持续超表达通过基因转染提高了人骨髓间充质干细胞的生物活动^[15]。

2.2.5 结缔组织生长因子(CTGF) 结缔组织生长因子是分泌丰富半胱氨酸调节蛋白的CCN家族成员之一。结缔组织生长因子与胰岛素样生长因子、转化生长因子 β 1、骨形态发生蛋白4结合刺激软骨细胞的增殖和分化, 促进血管生成, 促进成纤维细胞、内皮细胞、上皮细胞的黏附。

结缔组织生长因子促进骨髓间充质干细胞向软骨细胞方向分化能力主要与以下方面有关: ①结缔组织生长因子可以促进生长期的软骨细胞增殖, 从而显著增加软骨细胞的数量。②增加软骨细胞中的蛋白聚糖和II型胶原的合成, 使蛋白聚糖和II型胶原含量显著增高。③防止软骨细胞的去分化, 从而防止软骨细胞数量大幅度减少。④使接近衰老或达到退变的软骨细胞反分化。100 μ g/L结缔组织生长因子是促进骨髓间充质干细胞向软骨细胞增殖的最佳质量浓度^[16]。

2.2.6 软骨形态发生蛋白1(CDMP-1) 软骨形态发生蛋白1转染骨髓间充质干细胞与对照组相比, 能够增强II型胶原、糖胺聚糖和其他软骨特性基质表达, 有一种促进骨髓间充质干细胞向软骨方向分化的趋势^[17]。据报道, 使用不同的因子使骨髓间充质干细胞向软骨方向分化有不同的影响, 这些因子包括软骨基质蛋白, 印度豪猪蛋白, 骨形态发生蛋白^[18-20]。

2.2.7 其他 除了上述细胞因子外, 还有其他来自于软骨下骨因子, 在向软骨分化作用中起着关键的作用^[21]。骨髓间充质干细胞是软骨再生一个很好的来源, 它们可以直接迁移到软骨受损的部位并分化为软骨细胞。关节软骨不完全愈合是由于在受伤的部位缺乏软骨细胞或骨髓间充质干细胞。化学趋化因子受体或趋化因子受体(CCR2, CCR4, CCR6, CXCR1和CXCR2)都能在正常的骨髓间充质干细胞上表达, 具有显著增加促炎细胞因子的作用^[22]。

2.3 生物支架 近几年来大多数研究表明使用支架能够使缺损的软骨达到足够的厚度。随着组织工程技术的迅猛发展, 结合微骨折术和包括合成的和天然的各种支架(聚乙醇酸、聚乳酸、聚乙醇酸结合聚乳酸、胶原、聚氨基葡萄糖、透明质酸)均可以来修复软骨缺损^[23]。

2.3.1 明胶支架 最近报道明胶经化学改性处理后机械性能得到了提高^[24]。

2.3.2 水凝胶支架 Sharma等^[25]发现与单独使用微骨折术相比, 当生物材料水凝胶凝胶剂被应用在微骨折术中时, 通过核磁共振成像和患者疼痛评分结果显示, 能显著改善软骨填充。选择注入凝胶在软骨缺损的部位, 导致软骨最佳的填充^[26]。

2.3.3 透明质酸支架 透明质酸是一种特殊分子, 应用透明质酸可以制作组织工程支架^[27]。把骨髓间充质干细胞放在聚乙醇糖联合透明质酸(PGA-HA)支架上有形成软骨的潜力^[28]。

2.3.4 软骨胶原支架 在猕猴动物模型上, 用软骨胶原支架作为载体加入骨髓间充质干细胞能够改善整体的软骨缺损和修复软骨缺损^[29]。

2.3.5 人脱细胞羊膜(HAAM) 骨髓间充质干细胞加载到经脱细胞处理后的羊膜上, 为体外提供一个更好的修复软骨缺损的环境^[30]。

2.3.6 聚乳酸(PLGA)支架 在软骨组织工程中, 刺激骨髓间充质干细胞增殖和控制分化到特定的目的细胞是很重要的。国外学者报道由结缔组织生长因子基因转染的骨髓间充质干细胞和NaOH处理过聚乳酸支架复合可以修复关节软骨。

骨髓间充质干细胞或结缔组织生长因子基因修饰的骨髓间充质干细胞种植在聚乳酸支架或NaOH处理过聚乳酸支架进行体外培养, NaOH处理过聚乳酸显著刺激骨髓间充质干细胞的增殖, 结缔组织生长因子基因转染促进向软骨形成方向分化^[31]。

2.3.7 低聚糖多聚二醇延胡索酸(OPF)凝胶支架 把骨髓间充质干细胞植入冷冻干燥的低聚糖多聚二醇延胡索酸凝胶支架, 此支架能创造一个为骨髓间充质干细胞浸润和聚集的有利环境, 从而更有利于修复关节软骨缺损^[32]。

2.3.8 聚乳酸-聚乙醇酸支架 聚乳酸-聚乙醇酸支架或复合自体骨髓间充质干细胞植入软骨缺损上, 在12个月的随访观察中, 关节镜下发现支架复合细胞处理后的软骨形成的质量更好^[33]。把骨髓间充质干细胞装载到聚乳酸-聚乙醇酸支架上, 加入软骨形态发生蛋白1和转化生长因子 β 1较单独使用软骨形态发生蛋白1或转化生长因子 β 1能更有效的修复关节软骨缺损^[34]。

2.3.9 线型I型胶原/透明质酸混合支架(Yarn-CH) 在体外试验结果显示, 线型I型胶原/透明质酸混合支架(Yarn-CH)像海绵支架一样可以让细胞渗透。在兔模型上, 在软骨形成的阶段, 把骨髓间充质干细胞接种在线型I型胶原/透明质酸/多孔 β 磷酸三钙两相支架上, 能够成功修复软骨缺损, 并且显著提高了修复分数和压缩模量^[35]。

2.3.10 纳米软骨支架 Childs等^[36]为了增强人骨髓间充质干细胞软骨分化能力, 通过生物自组装莲座状碳纳米管(RNTs)和不会引起排斥的多聚乳酸, 设计一种新型组织工程纳米软骨支架。研究结果显示, 与没有使用纳米管的多聚乳酸比较, 自组装莲座状碳纳米管能够显著增强糖胺聚糖、胶原蛋白和蛋白质含量。

2.3.11 三维支架 骨髓间充质干细胞被接种在由蚕丝蛋白、聚氨基葡萄糖构成的三维支架上修复兔膝关节软骨缺损。由蚕丝蛋白、聚氨基葡萄糖构成的三维支架可以为骨髓间充质干细胞提供载体来修复关节软骨缺损^[37]。

2.3.12 其他 Berninger等^[38]描述了一项把纤维蛋白、骨髓间充质干细胞和凝块一起植入兔膝关节骨软骨缺

损中的技术。

2.4 骨髓间充质干细胞修复软骨缺损的应用前景 临床试验已经报道了骨髓间充质干细胞治疗骨性关节炎患者的安全性和疗效^[39]。最近的研究显示, 动物体内软骨缺损以后, 很难引导透明软骨自发的修复^[40]。因此应该找到一种方法和试剂在软骨受损区域激活自身的干细胞或祖细胞^[41]。

骨髓间充质干细胞具有软骨分化潜能和再生性能^[42], 可恰当、确定的治疗局灶软骨病变^[43-44]。随着组织工程技术的飞速发展, 组织工程方面的研究为修复软骨缺损开辟了新的领域, 利用组织工程技术修复骨、软骨缺损已成为近几年来研究的热点。骨髓间充质干细胞具有获取非常方便、创伤比较小、繁殖能力特别强及与双向支架黏附性好等特点, 是近几年来组织工程最常用的种子细胞之一。骨髓间充质干细胞已经用于骨及软骨疾病^[45]、心脏疾病、肝脏疾病^[46]、伤口及肢体缺血疾病、肌腱损伤、半月板损伤, 肌肉组织损伤、椎间盘疾病、脊髓损伤、帕金森疾病、眼科疾病、糖尿病、肾脏疾病、脑肿瘤疾病的治疗等。随着近几年来细胞组织工程和基因工程的迅猛发展, 骨髓间充质干细胞在组织工程学、细胞因子的替代治疗、基因疾病的治疗和器官移植等领域研究也逐渐成为研究热点。

软骨组织工程中, 骨髓间充质干细胞修复软骨缺损有很强的能力, 这是因为骨髓间充质干细胞有自我复制的能力和向多个细胞谱系分化^[47]。国内外最近的一项病例报道中, 54例患者中有52例患者能够有效地改善临床评分^[48]。而且, 最近的几项研究表明, 骨髓间充质干细胞不仅能恢复软骨的完整性, 而且可以阻止软骨退变进展^[49]。

3 结语 Conclusion

骨髓间充质干细胞有向软骨、骨、脂肪方向分化的潜力^[50]。Takazawa等^[51]报道软骨细胞已被广泛应用于关节软骨再生领域中。应用骨髓间充质干细胞来治疗软骨缺损的基础是掌握骨髓间充质干细胞的体外提取、分离、培养方法, 经诱导软骨起源的自体骨髓间充质干细胞, 可以较好的用做人工软骨组织工程构建中的种子细胞。骨髓间充质干细胞诱导成软骨细胞, 从而发育成软骨组织可以用于自体软骨缺损的修复, 在未来关节外科具有潜在临床应用价值。

作者贡献: 第一作者构思并设计此综述, 通讯作者对文章负责, 第一作者负责资料收集、数据分析。

利益冲突: 文章及内容不涉及相关利益冲突。

伦理要求: 未涉及伦理冲突的内容。

学术术语: 碱性成纤维细胞生长因子-可以由内皮细胞、平滑肌细胞、巨噬细胞分泌。它的作用是促进内皮细胞的游走

和平滑肌细胞的增殖, 能够促进新血管形成, 修复损害的内皮细胞。

作者声明: 文章为原创作品, 无抄袭剽窃, 无泄密及署名和专利争议, 内容及数据真实, 文责自负。

4 参考文献 References

- [1] Maegawa N, Kawamura K, Hirose M, et al. Enhancement of osteoblastic differentiation of mesenchymal stromal cells cultured by selective combination of bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) and fibroblast growth factor-2 (FGF-2). *J Tissue Eng Regen Med.* 2007;1(4):306-313.
- [2] Abdallah BM, Kassem M. Human mesenchymal stem cells: from basic biology to clinical applications. *Gene Ther.* 2008; 15(2):109-116.
- [3] Nukavarapu SP, Dorcenus DL. Osteochondral tissue engineering: current strategies and challenges. *Biotechnol Adv.* 2013;31(5):706-721.
- [4] Panseri S, Russo A, Cunha C, et al. Osteochondral tissue engineering approaches for articular cartilage and subchondral bone regeneration. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012;20(6):1182-1191.
- [5] Jones E, McGonagle D. Human bone marrow mesenchymal stem cells in vivo. *Rheumatology (Oxford).* 2008;47(2): 126-131.
- [6] Zhang W, Li Z, Huang Q, et al. Effects of a hybrid micro/nanorod topography-modified titanium implant on adhesion and osteogenic differentiation in rat bone marrow mesenchymal stem cells. *Int J Nanomedicine.* 2013;8: 257-265.
- [7] Jungebluth P, Alici E, Baiguera S, et al. Tracheobronchial transplantation with a stem-cell-seeded bioartificial nanocomposite: a proof-of-concept study. *Lancet.* 2011;378 (9808):1997-2004.
- [8] Karagianni M, Brinkmann I, Kinzebach S, et al. A comparative analysis of the adipogenic potential in human mesenchymal stromal cells from cord blood and other sources. *Cytotherapy.* 2013;15(1):76-88.
- [9] Sun Z, Wang Y, Gong X, et al. Secretion of rat tracheal epithelial cells induces mesenchymal stem cells to differentiate into epithelial cells. *Cell Biol Int.* 2012;36(2): 169-175.
- [10] Zhao JW, Zhang MR, Ji QY, et al. The role of slingshot-1L (SSH1L) in the differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells into cardiomyocyte-like cells. *Molecules.* 2012;17(12):14975-14994.
- [11] Getgood A, Brooks R, Fortier L, et al. Articular cartilage tissue engineering: today's research, tomorrow's practice. *J Bone Joint Surg Br.* 2009;91(5):565-576.
- [12] Kang SW, Yoo SP, Kim BS. Effect of chondrocyte passage number on histological aspects of tissue-engineered cartilage. *Biomed Mater Eng.* 2007;17(5):269-276.
- [13] Kim HJ, Im GI. Chondrogenic differentiation of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells: greater doses of growth factor are necessary. *J Orthop Res.* 2009;27(5): 612-619.
- [14] 俞猛, 于方, 付胜良. 兔骨髓间充质干细胞体外培养定向诱导分化为软骨细胞[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(27): 4951-4954.
- [15] Frisch J, Venkatesan JK, Rey-Rico A, et al. Influence of insulin-like growth factor I overexpression via recombinant adeno-associated vector gene transfer upon the biological activities and differentiation potential of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther.* 2014;5(4):103.
- [16] 欧阳冰, 林绵辉, 左文建, 等. 结缔组织生长因子对体外培养的兔关节软骨细胞增殖和表型的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(20):3816-3820.
- [17] Wu G, Cui Y, Wang YT, et al. Repair of cartilage defects in BMSCs via CDMP1 gene transfection. *Genet Mol Res.* 2014; 13(1):291-301.
- [18] Haleem-Smith H, Calderon R, Song Y, et al. Cartilage oligomeric matrix protein enhances matrix assembly during chondrogenesis of human mesenchymal stem cells. *J Cell Biochem.* 2012;113(4):1245-1252.
- [19] Steinert AF, Weissenberger M, Kunz M, et al. Indian hedgehog gene transfer is a chondrogenic inducer of human mesenchymal stem cells. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(4): R168.
- [20] Neumann AJ, Alini M, Archer CW, et al. Chondrogenesis of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells is modulated by complex mechanical stimulation and adenoviral-mediated overexpression of bone morphogenetic protein 2. *Tissue Eng Part A.* 2013;19(11-12):1285-1294.
- [21] de Vries-van Melle ML, Narcisi R, Kops N, et al. Chondrogenesis of mesenchymal stem cells in an osteochondral environment is mediated by the subchondral bone. *Tissue Eng Part A.* 2014;20(1-2):23-33.
- [22] Park MS, Kim YH, Jung Y, et al. In situ recruitment of human BMSCs using chemokines for articular cartilage regeneration. *Cell Transplant.* 2014 Apr 22. [Epub ahead of print]
- [23] Christensen BB, Foldager CB, Hansen OM, et al. A novel nano-structured porous polycaprolactone scaffold improves hyaline cartilage repair in a rabbit model compared to a collagen type I/III scaffold: in vitro and in vivo studies. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012;20(6):1192-1204.
- [24] Hoch E, Schuh C, Hirth T, et al. Stiff gelatin hydrogels can be photo-chemically synthesized from low viscous gelatin solutions using molecularly functionalized gelatin with a high degree of methacrylation. *J Mater Sci Mater Med.* 2012;23 (11): 2607-2617.
- [25] Sharma B, Fermanian S, Gibson M, et al. Human cartilage repair with a photoreactive adhesive-hydrogel composite. *Sci Transl Med.* 2013;5(167):167ra6.
- [26] de Vries-van Melle ML, Tihaya MS, Kops N, et al. Chondrogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a simulated osteochondral environment is hydrogel dependent. *Eur Cell Mater.* 2014;27: 112-123.
- [27] Spoliti M, Iudicone P, Leone R, et al. In vitro release and expansion of mesenchymal stem cells by a hyaluronic acid scaffold used in combination with bone marrow. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2013;2(4):289-294.
- [28] Patrascu JM, Krüger JP, Böss HG, et al. Polyglycolic acid-hyaluronan scaffolds loaded with bone marrow-derived mesenchymal stem cells show chondrogenic differentiation in vitro and cartilage repair in the rabbit model. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2013;101(7):1310-1320.

- [29] Araki S, Imai S, Ishigaki H, et al. Improved quality of cartilage repair by bone marrow mesenchymal stem cells for treatment of an osteochondral defect in a cynomolgus macaque model. *Acta Orthop*. 2015;86(1):119-126.
- [30] Liu PF, Guo L, Zhao DW, et al. Study of human acellular amniotic membrane loading bone marrow mesenchymal stem cells in repair of articular cartilage defect in rabbits. *Genet Mol Res*. 2014;13(3):7992-8001.
- [31] Zhu S, Zhang B, Man C, et al. Combined effects of connective tissue growth factor-modified bone marrow-derived mesenchymal stem cells and NaOH-treated PLGA scaffolds on the repair of articular cartilage defect in rabbits. *Cell Transplant*. 2014;23(6):715-727.
- [32] Lim CT, Ren X, Afizah MH, et al. Repair of osteochondral defects with rehydrated freeze-dried oligo[poly(ethylene glycol) fumarate] hydrogels seeded with bone marrow mesenchymal stem cells in a porcine model. *Tissue Eng Part A*. 2013;19(15-16):1852-1861.
- [33] Caminal M, Moll X, Codina D, et al. Transitory improvement of articular cartilage characteristics after implantation of polylactide:polyglycolic acid (PLGA) scaffolds seeded with autologous mesenchymal stromal cells in a sheep model of critical-sized chondral defect. *Biotechnol Lett*. 2014;36(10):2143-2153.
- [34] Wu G, Cui Y, Ma L, et al. Repairing cartilage defects with bone marrow mesenchymal stem cells induced by CDMP and TGF- β 1. *Cell Tissue Bank*. 2014;15(1):51-57.
- [35] Liu S, Wu J, Liu X, et al. Osteochondral regeneration using an oriented nanofiber yarn-collagen type I/hyaluronate hybrid/TCP biphasic scaffold. *J Biomed Mater Res A*. 2015;103(2):581-592.
- [36] Childs A, Hemraz UD, Castro NJ, et al. Novel biologically-inspired rosette nanotube PLLA scaffolds for improving human mesenchymal stem cell chondrogenic differentiation. *Biomed Mater*. 2013;8(6):065003.
- [37] Deng J, She R, Huang W, et al. A silk fibroin/chitosan scaffold in combination with bone marrow-derived mesenchymal stem cells to repair cartilage defects in the rabbit knee. *J Mater Sci Mater Med*. 2013;24(8):2037-2046.
- [38] Berninger MT, Wexel G, Rummeny EJ, et al. Treatment of osteochondral defects in the rabbit's knee joint by implantation of allogeneic mesenchymal stem cells in fibrin clots. *J Vis Exp*. 2013;(75):e4423.
- [39] Gupta PK, Das AK, Chullikana A, et al. Mesenchymal stem cells for cartilage repair in osteoarthritis. *Stem Cell Res Ther*. 2012;3(4):25.
- [40] Inagaki Y, Kitamura N, Kurokawa T, et al. Effects of culture on PAMPS/PDMAAm double-network gel on chondrogenic differentiation of mouse C3H10T1/2 cells: in vitro experimental study. *BMC Musculoskelet Disord*. 2014;15:320.
- [41] Iwamoto M, Ohta Y, Larmour C, et al. Toward regeneration of articular cartilage. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2013;99(3):192-202.
- [42] Orth P, Rey-Rico A, Venkatesan JK, et al. Current perspectives in stem cell research for knee cartilage repair. *Stem Cells Cloning*. 2014;7:1-17.
- [43] Via AG, Frizziero A, Oliva F. Biological properties of mesenchymal Stem Cells from different sources. *Muscles Ligaments Tendons J*. 2012;2(3):154-162.
- [44] Rocha B, Calamia V, Casas V, et al. Secretome analysis of human mesenchymal stem cells undergoing chondrogenic differentiation. *J Proteome Res*. 2014;13(2):1045-1054.
- [45] 童培建, 厉驹, 瞿杭波, 等. 经皮自体骨髓间充质干细胞移植治疗四肢骨折骨不连[J]. *中华创伤杂志*, 2007, 23(7):499-501.
- [46] 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.
- [47] Delaine-Smith RM, Reilly GC. Mesenchymal stem cell responses to mechanical stimuli. *Muscles Ligaments Tendons J*. 2012;2(3):169-180.
- [48] Skowroński J, Skowroński R, Rutka M. Large cartilage lesions of the knee treated with bone marrow concentrate and collagen membrane--results. *Ortop Traumatol Rehabil*. 2013;15(1):69-76.
- [49] Suhaeb AM, Naveen S, Mansor A, et al. Hyaluronic acid with or without bone marrow derived-mesenchymal stem cells improves osteoarthritic knee changes in rat model: a preliminary report. *Indian J Exp Biol*. 2012;50(6):383-390.
- [50] Tan SL, Ahmad TS, Selvaratnam L, et al. Isolation, characterization and the multi-lineage differentiation potential of rabbit bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *J Anat*. 2013;222(4):437-450.
- [51] Takazawa K, Adachi N, Deie M, et al. Evaluation of magnetic resonance imaging and clinical outcome after tissue-engineered cartilage implantation: prospective 6-year follow-up study. *J Orthop Sci*. 2012;17(4):413-424.