

不同组织来源间充质干细胞向血管内皮细胞诱导分化的研究与进展

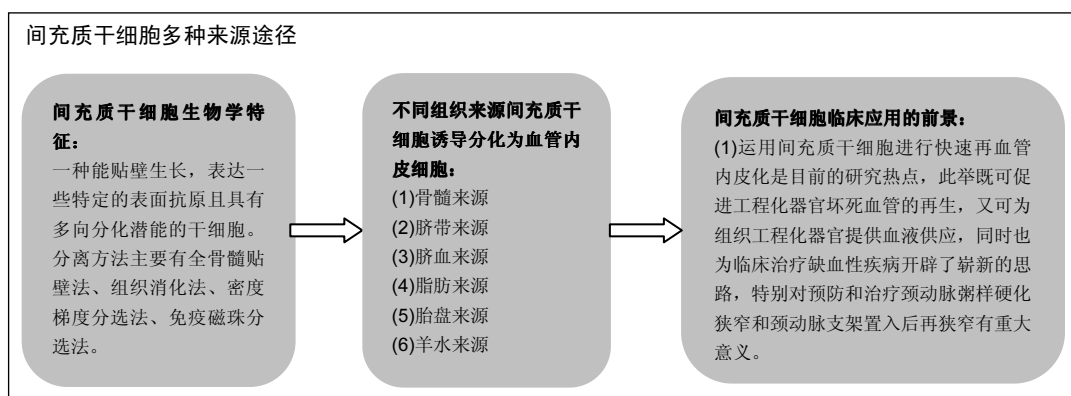
王俊力¹, 许慧芳², 冯莉¹, 魏丹², 陈国华²(¹湖北中医药大学临床医学院, 湖北省武汉市 430061; ²武汉市第一医院神经内科, 湖北省武汉市 430022)

引用本文: 王俊力, 许慧芳, 冯莉, 魏丹, 陈国华. 不同组织来源间充质干细胞向血管内皮细胞诱导分化的研究与进展[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(36):5466-5472.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.36.021

ORCID: 0000-0002-2983-8929(陈国华)

文章快速阅读:



王俊力, 男, 1990年生, 汉族, 湖北中医药大学在读硕士, 主要从事神经介入和脑血管病发病机制方面的研究。

通讯作者: 陈国华, 博士, 主任医师, 硕士生导师, 武汉市第一医院神经内科, 湖北省武汉市 430022

中图分类号: R318

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344

(2016)36-05466-07

稿件接受: 2016-07-07

文题释义:

血管内皮细胞: 亦称内皮细胞, 是胚胎发育最早分化的组织, 且属于中胚层, 通常指在心、血管和淋巴管内表面的单层扁平上皮, 其形成血管的内壁。血管内皮细胞具有吞噬异物、细菌和衰老及坏死组织的功能, 还参与免疫活动。理论上间充质干细胞可以分化为血管内皮细胞。

诱导间充质干细胞分化为内皮细胞的主要因素: 细胞分化是由许多分子信号通路调控的复杂过程, 在细胞分化早期干细胞通过旁分泌作用释放信号蛋白分子, 如血小板衍生生长因子、血管内皮生长因子 A、转化生长因子 β 和 Wnts 等, 刺激距离较远的细胞内的信号级联, 使细胞定向分化。

摘要

背景: 间充质干细胞可诱导分化为血管内皮细胞, 在体外可形成血管移植用于临床治疗缺血性疾病、血管组织工程及再生医学等领域。

目的: 总结间充质干细胞的生物学特征, 不同组织来源间充质干细胞诱导分化为血管内皮细胞的相关研究进展。

方法: 文章由第一作者于 2015 年 9 至 11 月期间检索 PubMed、Sciencedirect、Medline 数据库 2000 年 1 月至 2015 年 6 月的相关文章, 限定文章语言种类为 English, 检索词为 “mesenchymal stem cells, vascular endothelial cell, cell differentiation”, 初检文章 156 篇, 筛选后对 51 篇文章进行分类总结。

结果与结论: ①间充质干细胞来源广泛, 其中骨髓来源研究最早最多, 但随供者年龄增大, 其增殖及分化能力随之减弱; ②脐带、胎盘、羊膜都是产妇自体产物且分娩后会遗弃, 故获取间充质干细胞比较容易, 同时对新生儿和产妇不会造成任何痛苦和心理负担, 受者更易于接受, 不会引起道德伦理及法律方面的纠纷; ③脐血来源充足, 免疫原性较弱, 且受胎盘屏障保护使其成分被病毒、细菌污染的概率低; ④羊水因取材方式等限制其在临床应用。

关键词:

干细胞; 分化; 间充质干细胞; 血管内皮细胞; 骨髓; 脐带; 脐血; 胎盘; 羊膜; 羊水; 湖北省自然科学基金

主题词:

间充质干细胞; 内皮细胞; 细胞分化; 组织工程

基金资助:

湖北省自然科学基金重点项目(CDA061); 武汉市科技局(201271130458); 武汉市卫生局科研项目(WZ13D18)

Wang Jun-li, Studying for master's degree, College of Clinical Medicine, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430061, Hubei Province, China

Corresponding author: Chen Guo-hua, M.D., Chief physician, Master's supervisor, Department of Neurology, Wuhan No.1 Hospital, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Mesenchymal stem cells isolated from different sources differentiate into vascular endothelial cells under induction

Wang Jun-li¹, Xu Hui-fang², Feng Li¹, Wei Dan², Chen Guo-hua² (¹College of Clinical Medicine, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430061, Hubei Province, China; ²Department of Neurology, Wuhan No.1 Hospital, Wuhan 430022, Hubei Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Mesenchymal stem cells (MSCs) can be differentiated into vascular endothelial cells to construct ideal blood vessel grafts *in vitro* that have wide prospective utility in the clinical treatment of ischemic diseases, vascular engineering and regeneration medicine.

OBJECTIVE: To review the recent research progress and related issue in biological characteristics of MSCs as well as differentiation of MSCs isolated from different sources into vascular endothelial cells.

METHODS: The first authors retrieved PubMed, Sciencedirect and Medline databases for relevant articles published from January 2000 to June 2015. The key words were "mesenchymal stem cells; vascular endothelial cell; cell differentiation" in English. Initially, 156 articles were retrieved, and finally 51 articles were included in result analysis.

RESULTS AND CONCLUSION: The MSCs sources are abundant. The research about bone marrow-derived MSCs is the earliest and maximum, but with the increasing donor age, their proliferation and differentiation ability decreases. MSCs from umbilical cord, placenta and amniotic membrane are easy to obtain, and meanwhile both neonatal and maternal does not feel any pain and psychological burden. Given these, these cells are more acceptable for recipients, and there are no ethical, moral and legal disputes. MSCs from the umbilical cord blood are abundant with weak cell immunogenicity and low viral and bacterial contamination probability. However, the clinical application of amniotic fluid marrow-derived MSCs is limited because of its sampling methods.

Subject headings: Mesenchymal Stem Cells; Endothelial Cells; Cell Differentiation; Tissue Engineering

Funding: the Natural Science Foundation of Hubei Province, No. CDA061; the grant from Wuhan Science and Technology Department, China, No. 201271130458; the Scientific Research Project of Wuhan Health Department, China, No. WZ13D18

Cite this article: Wang JL, Xu HF, Feng L, Wei D, Chen GH. Mesenchymal stem cells isolated from different sources differentiate into vascular endothelial cells under induction. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(36):5466-5472.

0 引言 Introduction

间充质干细胞起源于中胚层早期发育阶段,广泛来源于全身各结缔组织及器官间质中,是一种具有高度自我更新能力和多向分化潜能的成体干细胞^[1]。血管内皮细胞是胚胎发育最早分化的组织,且属于中胚层,理论上间充质干细胞可以分化为血管内皮细胞^[2]。血管内皮细胞可以移植用于修复血管内膜和重建血管网,研究并选择最佳组织来源的间充质干细胞诱导分化为血管内皮细胞用于治疗相关疾病就显得尤为重要。文章就间充质干细胞的生物学特征,不同组织来源间充质干细胞诱导分化为血管内皮细胞的相关研究以及研究中存在的问题作一综述。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 文献检索和筛选要求

1.1.1 检索数据库 美国国立医学图书馆生物医学信息检索系统(PubMed)、荷兰Elsevier电子期刊全文

(Sciencedirect)、美国《医学索引》(Medline)。

1.1.2 检索途径、检索词及各检索词的逻辑关系

检索途径: 以主题词检索途径检索。

检索词: Mesenchymal stem cells, Vascular endothelial cell, Cell differentiation。

检索词的逻辑组配: "Mesenchymal stem cells" AND "Vascular endothelial cell" AND "Cell differentiation"。

检索的时间范围: 2000年1月至2015年6月。

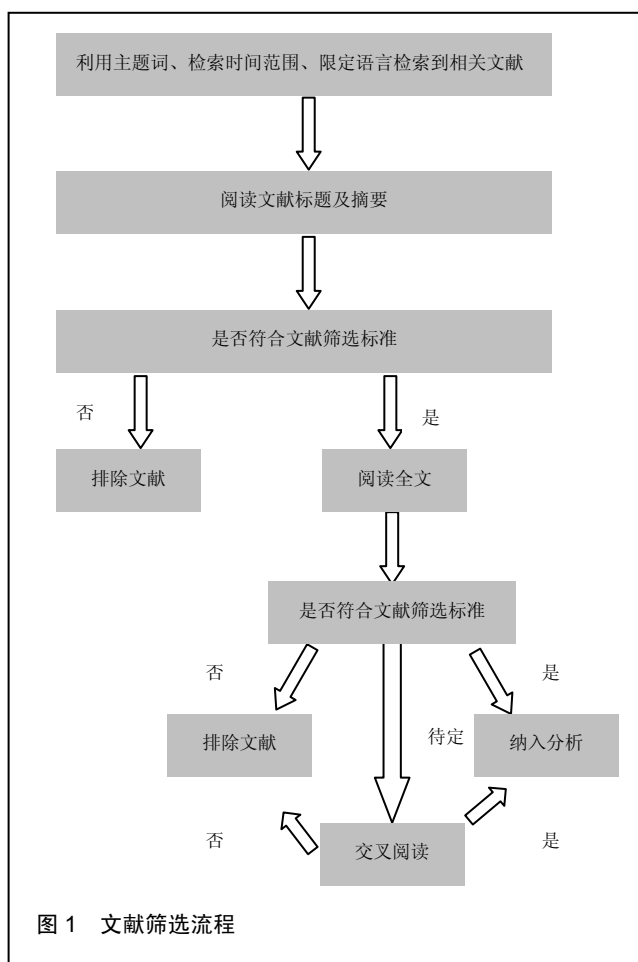
1.2 文献筛选流程和筛选标准

1.2.1 文献筛选流程 按照图1的步骤进行。首先阅读所有检索文章的标题,不能判断则阅读摘要与全文,然后由第一、二作者交叉阅读所有入选文献,剔除重复文献,共入选文献51篇。

1.2.2 文献的筛选标准 不同组织来源间充质干细胞诱导分化为血管内皮细胞的一次文献。

1.2.3 排除的文献 ①综述、评论、摘要、会议论文、

科技成果、短篇报道、报刊文章等常规一次文献; ②重复文献; ③不符合研究目的的文献。



2 结果 Results

2.1 间充质干细胞的生物学特征

2.1.1 间充质干细胞的定义 Friedenstien^[3]最早在骨髓中发现了间充质干细胞, 1976年其研究报道: 骨髓提取物中的小部分黏附细胞可在一定的培养条件下分化成类似骨或软骨的细胞集群, 推测这些类似骨或软骨的细胞集群可能为间质细胞的前体部分, 1991年Caplan^[4]将这些细胞集群命名为间充质干细胞。近几年来因其具有高度再生功能、多向分化潜能、造血支持功能及免疫调控等特点而受到众多研究者的广泛关注^[5-6]。间充质干细胞没有特定的细胞表面标志物, 不同实验室的分离扩增方法、生物学特征和功能应用无法统一, 实验结果也不具有可比性^[7]。为了更好的鉴定间充质干细胞, 2006年国际细胞疗法协会认定间充质干细胞需满足以下3个标准: ①间充质干细胞在标准组织培养条件下能贴壁生长; ②细胞表达一些特定的表面抗原, 高表达CD90、CD73、CD105, 不表达CD14/CD11b、CD79a/CD19、CD45、CD34、HLA

class II; ③多向分化潜能, 指在体外特定的诱导条件下可以向成骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞等不同种类的组织细胞分化^[8]。

2.1.2 间充质干细胞的分离 目前常用的间充质干细胞分离方法有4种: 全骨髓贴壁法^[9]、组织消化法^[10]、密度梯度分选法^[11]、免疫磁珠分选法^[12]。全骨髓贴壁法具有操作简单, 获得的间充质干细胞数量较多且细胞贴壁时间较早, 细胞分化潜能保存好等优点, 但为了纯化需多次换液传代, 换液传代后细胞间难免残留消化间充质干细胞的胰蛋白酶、EDTA等物质, 其可以影响间充质干细胞的增殖和分化潜能, 甚至会导致间充质干细胞生物学特征消失。组织消化法短时间内能高效、稳定地获得大量存活的间充质干细胞, 且间充质干细胞生物学特征与其体内相似并能反映其生长特性, 但是此种方法步骤繁多、容易污染, 难以把握合适的消化时间, 所以会直接影响获得的间充质干细胞的纯度, 甚至会破坏其细胞结构、增殖及分化能力, 获得异种细胞集群。Rosca等^[13]运用密度梯度分选法在1.067-1.070 g/mL的密度区间发现间充质干细胞, 说明合适密度的介质可分离获得纯度较高的间充质干细胞。MACS、FACS组织培养瓶铺展贴壁(Collector培养瓶)和亲和吸附柱(CEPRATE)为目前常用的免疫磁珠分选方法^[12], 这些方法都具有特异性分离出高纯度目的细胞的优点, 但也有技术要求高、实验设备昂贵、易污染等不足。目前研究表明CD133、CD271、CD105和CD11b作为间充质干细胞分离的表面标记物^[14-16], 仍需一些阴性标记物作为辅助条件, 比如CD3、CD19、CD14、CD38、CD34、CD66b等, 如果只用单一特异性标记物理论上会造成其他间充质干细胞亚群的丢失; 如果用多种特异性标记物则显著提高研究成本。Phinney等^[17]设计了一种新的分离方法——免疫耗竭法(immunodepletion), 此方法从大鼠骨髓中分离获得去掉血液系及内皮系细胞后的成纤维基质细胞, 因为不用长时间的体外贴壁增殖, 所以不会产生永生细胞系。Pierini等^[18]运用BD真空采血细胞制备管收集到了间充质干细胞。Xing等^[19]通过组织块改良法和直接铺种法相结合, 可从人骨髓中简单高效的提取出间充质干细胞。

2.1.3 间充质干细胞的鉴定及表面标志物 细胞表面标记物可以体现细胞的一些基本特征, 与其特定的功能相关^[20-21], 不同组织来源的间充质干细胞虽然保持了间充质干细胞的表面标记, 但相互之间仍有差异

性^[22-23]。如脐带来源的间充质干细胞表达CD29、CD44、CD51、CD105、SH2、SH3, 不表达CD34、CD45^[24]; 胎盘来源的间充质干细胞表达的标记物有CD105、SH-2、SH-3及SH-4, 同时表达部分胚胎干细胞表面标记物, 比如SSEA-4、TRA-1-61及TRA-1-80等, 不表达造血细胞、内皮细胞及滋养层细胞的特殊细胞标记物^[25]; 脂肪来源的间充质干细胞表达CD49, 不表达CD106, 而骨髓来源的间充质干细胞表达CD106, 不表达CD49^[26]。Lee等^[27]应用密度梯度离心法从脐血中分离获得间充质干细胞, 证明脐血来源的间充质干细胞不表达CD90, 低表达CD166, 有别于骨髓来源的间充质干细胞。Tantrawatpan等^[28]和Teotia等^[29]研究也表明, 不同来源组织间充质干细胞的表面标记物、免疫表型等生物功能均有差异性, 这直接影响干细胞在再生、组织工程、细胞修复治疗等方面的临床应用。

2.2 不同组织来源间充质干细胞诱导分化为血管内皮细胞

2.2.1 间充质干细胞诱导分化为血管内皮细胞的理论基础

研究表明间充质干细胞具有部分血管内皮细胞的表型。Haynesworth等^[30]1992年首次用免疫小鼠制备单克隆抗体SH2, SH2仅识别骨髓来源的间充质干细胞, 而对造血细胞无反应, 因此SH2被认为是间充质干细胞的特征性抗原。Barry等^[31]1999年研究发现endoglin蛋白(CD105), endoglin蛋白主要存在于血管内皮细胞中, 其功能作用与血管发育相关, 而endoglin蛋白是Barry等^[31]运用SH2单克隆抗体从人间充质干细胞中免疫沉淀出来的, 因此间充质干细胞表达此特异性抗原说明人间充质干细胞与血管内皮细胞存在着一定的内在联系。目前一些研究检测发现细胞间黏附分子(ICAM-1)、血管内皮细胞黏附分子(VCAM-1)和整合素(Integrin β 3)参与了血管的生成, 与血管内皮细胞有关。其他一些研究结果也提示间充质干细胞与血管的形成有关。例如Tremain等^[32]分析人间充质干细胞RNA发现干细胞中存在着血管内皮细胞的某些特征性基因, 如果人间充质干细胞培养在可以向血管内皮细胞分化的微环境下, 干细胞的这些特征性血管内皮细胞基因将被激活, 并可能表达出相关性蛋白, 从而使干细胞直接稳定地分化为血管内皮细胞。

2.2.2 骨髓来源的间充质干细胞及其分化条件

骨髓来源的间充质干细胞是目前研究最多、最深入的间充质干细胞, 关于其诱导分化为血管内皮细胞的文献报道有很多。比如Jianguo等^[33]运用经典的血管内皮

细胞生长因子方案对骨髓间充质干细胞进行内皮细胞分化并获得成功; Yan等^[34]在高密度低扩增条件下, 加入血管内皮细胞生长因子和牛垂体提取物对间充质干细胞进行诱导培养, 可诱导分化出血管内皮细胞。Raida等^[35]还认为血管内皮细胞生长因子诱导骨髓间充质干细胞可促进重组人骨形成蛋白2增加, 重组人骨形成蛋白2再反作用于骨髓间充质干细胞, 从而加速骨髓间充质干细胞向血管内皮细胞转化。

2.2.3 脐带来源的间充质干细胞及其分化条件

脐带来源的间充质干细胞是一种大部分存在于脐带华通胶和血管周围组织中的多能成体干细胞。2003年Mitchell等^[36]首次成功地从人脐带基质中分离培养出脐带来源间充质干细胞, 同年Romanov等^[37]也从脐带华通胶、血管周围组织、人脐静脉内皮和人脐静脉内皮下分别培养获得脐带来源的间充质干细胞, 同时建立了脐带来源间充质干细胞植块法和酶解法的分离培养体系。人血管生成素1是脐带来源间充质干细胞诱导分化为血管内皮细胞过程中不可或缺的调节因子。2006年Baffert等^[38]提出血管生成素1(Ang-1/Tie系统)能与血管内皮细胞特异性表达的酪氨酸激酶受体结合, 通过信号转导来使Ang-1/Tie系统磷酸化发挥其调节人脐带间充质干细胞诱导分化为血管内皮细胞的作用。因为Ang-1/Tie系统可缓解血管渗漏, 阻碍新生血管的形成, 所以其在调节人脐带间充质干细胞诱导分化为血管内皮细胞过程中的地位是不可或缺的, 这一发现也从理论上验证了脐带来源间充质干细胞可以直接诱导分化为血管内皮细胞。

2.2.4 脐血来源的间充质干细胞及其分化条件

Erices等^[39]2000年第1次报道了脐血中可以分离培养出间充质干细胞。Gang等^[40]发现在血管内皮细胞生长因子、表皮生长因子和氢化可的松的培养条件下, 脐血来源的间充质干细胞可诱导分化具有血管内皮细胞形态的细胞集群, 通过流式细胞仪、RT-PCR和免疫荧光法分析检测后发现脐血来源间充质干细胞诱导分化的细胞集群可表达FIT-1、FIK-1、血管内皮细胞黏附分子1、血管内皮钙黏蛋白、酪氨酸激酶1, 2(Tie-1、Tie-2)、vWF等血管内皮细胞特异性的表面标志物, 且诱导分化的细胞集群可以形成血管管状结构; 2007年Wu等^[41]同样证实了脐血来源间充质干细胞能在含有血管内皮细胞生长因子和碱性成纤维生长因子的培养基微环境中, 诱导分化出血管内皮细胞, 经检测证实诱导分化出的细胞群落可以表达血小板内

皮细胞黏附分子(PECAM)和CD34等血管内皮细胞的特异性蛋白。目前关于脐血来源间充质干细胞存在较大的分歧, 主要集中于脐血来源间充质干细胞容易丧失SH-2、SH-3和SH-4等间充质干细胞的特异性表面标记物、多向分化潜能低和脐血中含有间充质干细胞个数少(脐血中每 10^5 – 10^8 个单核细胞才含有1个间充质干细胞)等方面, 但脐血来源较充足, 免疫原性较弱, 且由于病毒、细菌等难以透过胎盘屏障使其成分受污染的概率较低, 这些都是其临床实际应用中的先天优势, 同时脐血有望作为间充质干细胞的自体来源, 成为临床上间充质干细胞的最好组织来源。

2.2.5 脂肪来源间充质干细胞及其分化条件 脂肪来源间充质干细胞研究起步较晚, 直到2001年Zuk等^[42]才首次从人类脂肪组织中分离出一种干细胞, 这种干细胞在形态结构上与骨髓间充质干细胞相似, 且具有多向分化潜能, 故将其命名为脂肪间充质干细胞。

Amos等^[43]首先建立缺血肠系膜大鼠模型, 然后体内分离获得脂肪来源间充质干细胞并将其在体外进一步培养、扩增, 同时用免疫荧光法对其进行标记, 最后注射至缺血的肠系膜大鼠模型体内。经过观察检测发现大量脂肪来源间充质干细胞表达血管管状系统的亚型和特异性的表面标志物。Konno等^[44]将脂肪来源间充质干细胞注入至下肢缺血的裸鼠模型体内也得到了与Amos等^[43]研究相同的结论, 同时论证了脂肪来源间充质干细胞可诱导分化为血管内皮细胞。

2.2.6 胎盘来源间充质干细胞及其分化条件 2004年Zhang等^[45]研究报道胎盘灌流液可以分离培养出一种成体干细胞, 研究发现其生物学特征和功能等方面与间充质干细胞相似。近年来有动物实验表明胎盘来源间充质干细胞体外可以分化为血管内皮细胞, 并促进血管生成, 且与丝素蛋白/羟基磷灰石复合材料联合移植能够较好的促进血管生成, 还可提高周围性动脉病模型小鼠的运动能力^[46]。同样有最新研究显示, 成纤维细胞生长因子2及血小板源性生长因子BB转基因的人胎盘来源间充质干细胞可以促进血管再生^[47]。

2.2.7 羊水来源间充质干细胞及其分化条件 近年来关于羊水来源间充质干细胞文献报道较少, Kaviani等^[48]首次报道了羊水细胞的一个亚群具有间充质干细胞的特性, 在体外比成体间充质干细胞增殖更快, 称这个亚群细胞为羊水来源间充质干细胞。In't Anker等^[49]研究发现孕中期(17–22周)和孕晚期(平均38⁺周)羊水中都能够分离培养出间充质干细胞, 但孕

中期(17–22周)羊水中分离培养出间充质干细胞的成功率远高于孕晚期(平均38⁺周)。Mauro等^[50]和Antonucci等^[51]研究证实羊水来源间充质干细胞在特定的情况下可以分化为血管内皮细胞, 但羊水来源间充质干细胞诱导分化为血管内皮细胞的条件有待进一步研究证实。

3 间充质干细胞临床应用的前景与相关问题

Prospects and problems regarding clinical use of mesenchymal stem cells

运用间充质干细胞进行快速再血管内皮化是目前的研究热点, 此举既可促进工程化器官坏死血管的再生, 又可为组织工程化器官提供血液供应, 同时也为临床治疗缺血性疾病开辟了崭新的思路, 特别对预防和治疗颈动脉粥样硬化性狭窄和颈动脉支架置入后再狭窄有重大意义。

目前关于间充质干细胞的生物学特征及不同来源间充质干细胞向血管内皮细胞诱导分化的研究已取得很多进展, 但该领域仍属于摸索研究阶段, 有以下几点问题待进一步研究解决: ①间充质干细胞生物学特征多数在体外实验获得, 是否与体内相同有待于证实; ②间充质干细胞诱导分化为血管内皮细胞的最佳方案; ③间充质干细胞诱导分化为血管内皮细胞后的治疗剂量及其疗效评估。总之, 随着对间充质干细胞向血管内皮细胞诱导分化的深入研究, 统一标准的分离、培养、扩增和分化体系的建立, 间充质干细胞有可能成为血管再生的理想种子细胞。

作者贡献: 构思设计为王俊力、许慧芳、陈国华, 资料收集为王俊力、许慧芳、冯莉, 分析并解析数据为王俊力、冯莉、魏丹, 审校为许慧芳。

利益冲突: 所有作者共同认可文章内容不涉及相关利益冲突。

伦理问题: 没有与相关伦理道德冲突的内容。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] Liedtke S, Freytag EM, Bosch J, et al. Neonatal mesenchymal-like cells adapt to surrounding cells. *Stem Cell Res.* 2013;11(1):634-646.
- [2] Vodyanik MA, Yu J, Zhang X, et al. A mesoderm-derived precursor for mesenchymal stem and endothelial cells. *Cell Stem Cell.* 2010;7(6):718-729.
- [3] Friedenstein AJ. Precursor cells of mechanocytes. *Int Rev Cytol.* 1976;47:327-359.
- [4] Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res.* 1991;9(5):641-650.
- [5] Caplan AI. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *J Cell Physiol.* 2007;213(2):341-347.
- [6] Pontikoglou C, Deschaseaux F, Sensebé L, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells: biological properties and their role in hematopoiesis and hematopoietic stem cell transplantation. *Stem Cell Rev.* 2011;7(3):569-589.
- [7] Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. Mesenchymal stem cells: revisiting history, concepts, and assays. *Cell Stem Cell.* 2008;2(4):313-319.
- [8] 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. *Cytotherapy.* 2006;8(4):315-317.
- [9] Friedenstein A, Kuralesova AI. Osteogenic precursor cells of bone marrow in radiation chimeras. *Transplantation.* 1971;12(2):99-108.
- [10] Lee KS, Nah JJ, Lee BC, et al. Maintenance and characterization of multipotent mesenchymal stem cells isolated from canine umbilical cord matrix by collagenase digestion. *Res Vet Sci.* 2013;94(1):144-151.
- [11] Chang Y, Hsieh PH, Chao CC. The efficiency of Percoll and Ficoll density gradient media in the isolation of marrow derived human mesenchymal stem cells with osteogenic potential. *Chang Gung Med J.* 2009;32(3):264-275.
- [12] Fong CY, Peh GS, Gauthaman K, et al. Separation of SSEA-4 and TRA-1-60 labelled undifferentiated human embryonic stem cells from a heterogeneous cell population using magnetic-activated cell sorting (MACS) and fluorescence-activated cell sorting (FACS). *Stem Cell Rev.* 2009;5(1):72-80.
- [13] Rosca AM, Burlacu A. Isolation of a mouse bone marrow population enriched in stem and progenitor cells by centrifugation on a Percoll gradient. *Biotechnol Appl Biochem.* 2010;55(4):199-208.
- [14] Conconi MT, Burra P, Di Liddo R, et al. CD105(+) cells from Wharton's jelly show in vitro and in vivo myogenic differentiative potential. *Int J Mol Med.* 2006;18(6):1089-1096.
- [15] Tondreau T, Meuleman N, Delforge A, et al. Mesenchymal stem cells derived from CD133-positive cells in mobilized peripheral blood and cord blood: proliferation, Oct4 expression, and plasticity. *Stem Cells.* 2005;23(8):1105-1112.
- [16] Battula VL, Trembl S, Bareiss PM, et al. Isolation of functionally distinct mesenchymal stem cell subsets using antibodies against CD56, CD271, and mesenchymal stem cell antigen-1. *Haematologica.* 2009;94(2):173-184.
- [17] Phinney DG. Isolation of mesenchymal stem cells from murine bone marrow by immunodepletion. *Methods Mol Biol.* 2008;449:171-186.
- [18] Pierini M, Dozza B, Lucarelli E, et al. Efficient isolation and enrichment of mesenchymal stem cells from bone marrow. *Cytotherapy.* 2012;14(6):686-693.
- [19] Xing W, Pang AM, Yao JF, et al. Efficient isolation of mesenchymal stem cells from human bone marrow by direct plating method combined with modified primary explant culture. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi.* 2013;21(2):451-454.
- [20] 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. *Haematologica.* 2006;91(8):1017-1026.
- [21] MacLaine SE, McNamara LE, Bennett AJ, et al. Developments in stem cells: implications for future joint replacements. *Proc Inst Mech Eng H.* 2013;227(3):275-283.
- [22] Mou XZ, Lin J, Chen JY, et al. Menstrual blood-derived mesenchymal stem cells differentiate into functional hepatocyte-like cells. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2013;14(11):961-972.
- [23] Motaln H, Schichor C, Lah TT. Human mesenchymal stem cells and their use in cell-based therapies. *Cancer.* 2010;116(11):2519-2530.
- [24] Wang HS, Hung SC, Peng ST, et al. Mesenchymal stem cells in the Wharton's jelly of the human umbilical cord. *Stem Cells.* 2004;22(7):1330-1337.
- [25] Feldmann RE Jr, Bieback K, Maurer MH, et al. Stem cell proteomes: a profile of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord blood. *Electrophoresis.* 2005;26(14):2749-2758.
- [26] Rodriguez AM, Elabd C, Amri EZ, et al. The human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Biochimie.* 2005;87(1):125-128.

- [27] Lee ES, Yu SH, Jang YJ, et al. Transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells into the developing mouse eye. *Acta Histochem Cytochem*. 2011;44(5):213-221.
- [28] Tantrawatpan C, Manochantr S, Kheolamai P, et al. Pluripotent gene expression in mesenchymal stem cells from human umbilical cord Wharton's jelly and their differentiation potential to neural-like cells. *J Med Assoc Thai*. 2013;96(9):1208-1217.
- [29] Teotia PK, Hussein KE, Park KM, et al. Mouse adipose tissue-derived adult stem cells expressed osteogenic specific transcripts of osteocalcin and parathyroid hormone receptor during osteogenesis. *Transplant Proc*. 2013;45(8):3102-3107.
- [30] Haynesworth SE, Baber MA, Caplan AI. Cell surface antigens on human marrow-derived mesenchymal cells are detected by monoclonal antibodies. *Bone*. 1992;13(1):69-80.
- [31] Barry FP, Boynton RE, Haynesworth S, et al. The monoclonal antibody SH-2, raised against human mesenchymal stem cells, recognizes an epitope on endoglin (CD105). *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;265(1):134-139.
- [32] Tremain N, Korkko J, Ibberson D, et al. MicroSAGE analysis of 2,353 expressed genes in a single cell-derived colony of undifferentiated human mesenchymal stem cells reveals mRNAs of multiple cell lineages. *Stem Cells*. 2001;19(5):408-418.
- [33] Jianguo W, Tianhang L, Hong Z, et al. Optimization of culture conditions for endothelial progenitor cells from porcine bone marrow in vitro. *Cell Prolif*. 2010;43(4):418-426.
- [34] Yan K, Wang J, Li Q. Experimental study on differentiation of adult marrow mesenchymal stem cells into vascular endothelial cells in vitro. *Zhongguo Xue Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2007;21(1):76-80.
- [35] Raida M, Heymann AC, Günther C, et al. Role of bone morphogenetic protein 2 in the crosstalk between endothelial progenitor cells and mesenchymal stem cells. *Int J Mol Med*. 2006;18(4):735-739.
- [36] Mitchell KE, Weiss ML, Mitchell BM, et al. Matrix cells from Wharton's jelly form neurons and glia. *Stem Cells*. 2003;21(1):50-60.
- [37] Romanov YA, Svintsitskaya VA, Smirnov VN. Searching for alternative sources of postnatal human mesenchymal stem cells: candidate MSC-like cells from umbilical cord. *Stem Cells*. 2003;21(1):105-110.
- [38] Baffert F, Le T, Thurston G, et al. Angiopoietin-1 decreases plasma leakage by reducing number and size of endothelial gaps in venules. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;290(1):H107-118.
- [39] Erices A, Conget P, Minguell JJ. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *Br J Haematol*. 2000;109(1):235-242.
- [40] Gang EJ, Jeong JA, Han S, et al. In vitro endothelial potential of human UC blood-derived mesenchymal stem cells. *Cytotherapy*. 2006;8(3):215-227.
- [41] Wu KH, Zhou B, Lu SH, et al. In vitro and in vivo differentiation of human umbilical cord derived stem cells into endothelial cells. *J Cell Biochem*. 2007;100(3):608-616.
- [42] Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*. 2001;7(2):211-228.
- [43] Amos PJ, Shang H, Bailey AM, et al. IFATS collection: The role of human adipose-derived stromal cells in inflammatory microvascular remodeling and evidence of a perivascular phenotype. *Stem Cells*. 2008;26(10):2682-2690.
- [44] Konno M, Hamazaki TS, Fukuda S, et al. Efficiently differentiating vascular endothelial cells from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in serum-free culture. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;400(4):461-465.
- [45] Zhang Y, Li CD, Jiang XX, et al. Comparison of mesenchymal stem cells from human placenta and bone marrow. *Chin Med J (Engl)*. 2004;117(6):882-887.
- [46] Zhang B, Adesanya TM, Zhang L, et al. Delivery of placenta-derived mesenchymal stem cells ameliorates ischemia induced limb injury by immunomodulation. *Cell Physiol Biochem*. 2014;34(6):1998-2006.
- [47] Yin T, He S, Su C, et al. Genetically modified human placenta-derived mesenchymal stem cells with FGF-2 and PDGF-BB enhance neovascularization in a model of hindlimb ischemia. *Mol Med Rep*. 2015;12(4):5093-5099.
- [48] Kaviani M, Ezzatabadipour M, Nematollahi-Mahani SN, et al. Evaluation of gametogenic potential of vitrified human umbilical cord Wharton's jelly-derived mesenchymal cells. *Cytotherapy*. 2014;16(2):203-212.
- [49] In 't Anker PS, Scherjon SA, Kleijburg-van der Keur C, et al. Isolation of mesenchymal stem cells of fetal or maternal origin from human placenta. *Stem Cells*. 2004;22(7):1338-1345.
- [50] Mauro A, Turriani M, Ioannoni A, et al. Isolation, characterization, and in vitro differentiation of ovine amniotic stem cells. *Vet Res Commun*. 2010;34 Suppl 1:S25-28.
- [51] Antonucci I, Stuppia L, Kaneko Y, et al. Amniotic fluid as a rich source of mesenchymal stromal cells for transplantation therapy. *Cell Transplant*. 2011;20(6):789-795.