

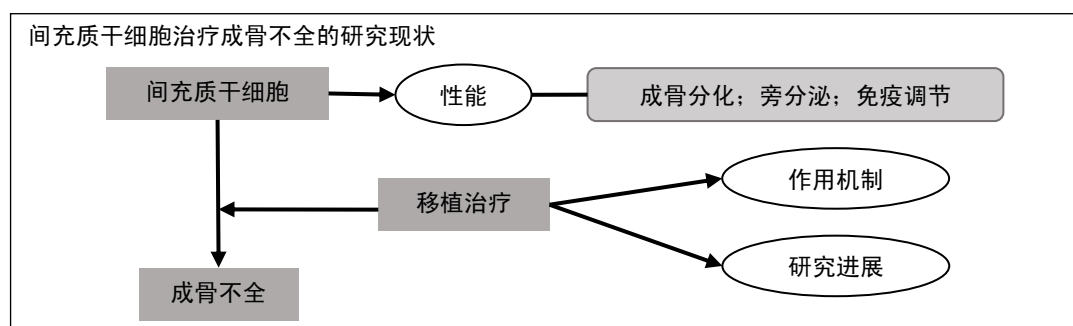
间充质干细胞治疗成骨不全：是直接分化为功能细胞还是旁分泌作用

汪子涵, 刘 义, 鞠明艳, 李 光(天津医科大学基础医学院遗传学系, 天津市 300070)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.0672

ORCID: 0000-0002-3298-5444(李光); 0000-0001-8193-7054(汪子涵)

文章快速阅读:



汪子涵, 女, 1997 年生, 天津市人, 汉族, 天津医科大学基础医学专业本科在读, 主要从事干细胞治疗成骨不全相关研究。

通讯作者: 李光, 教授, 博士生导师, 天津医科大学基础医学院遗传学系, 天津市 300070

中图分类号: R394.2

文献标识码: A

稿件接受: 2018-08-31



文题释义:

间充质干细胞: 是一类从脂肪或骨髓等组织中分离出来的、具有贴壁能力、呈集落样生长的成纤维样多能干细胞, 在体内外可向成骨、成脂、成软骨等方向诱导分化, 具有自我更新和免疫调节能力。

成骨不全: 是一种全身性结缔组织疾病, 约 90% 患者由 I 型胶原合成及分泌异常引起, 表现为常染色体显性遗传, 主要累及骨骼系统, 使骨骼脆性增加, 反复骨折, 骨关节进行性畸形, 同时也可累及眼、耳、皮肤、牙齿等, 出现蓝巩膜、耳聋、皮肤异常以及牙本质发育不全等临床症状。

摘要

背景: 传统的药物治疗和手术治疗成骨不全有诸多局限性, 近年来越来越多的科学家尝试用间充质干细胞移植治疗成骨不全。

目的: 旨在通过间充质干细胞治疗成骨不全进展的总结, 指导动物实验, 以促进其临床应用。

方法: 由第一作者应用计算机检索 PubMed 2000 年 1 月至 2018 年 6 月相关文献。在标题、摘要、关键词中以 “osteogenesis imperfecta, stem cells, mesenchymal stem cells, stem cells therapy, stem cells transplantation” 为检索词进行检索。选择与间充质干细胞治疗成骨不全相关的文章, 同一领域选择近期发表的文章。

结果与结论: 间充质干细胞可以通过直接分化为功能细胞和旁分泌作用治疗成骨不全带来的骨缺损, 其低免疫原性和免疫调节作用可保证移植治疗的安全性。间充质干细胞可以从根本上治疗成骨不全, 并且能避免药物治疗的不良反应, 具有广阔应用前景。尽管目前尚缺乏系统的间充质干细胞治疗成骨不全的有效性和安全性标准, 但间充质干细胞移植治疗可以规避传统药物和手术治疗的局限性, 期待更多相关研究使之趋于成熟和完善, 推动间充质干细胞治疗成骨不全向临床应用转化, 真正使患者受益。

关键词:

成骨不全; 间充质干细胞; 干细胞移植; 骨髓间充质干细胞

主题词:

成骨不全; 间充质干细胞移植; 组织工程

基金资助:

国家重点研发计划(2017YFC1001904); 天津市科技支撑计划(16YFZCSY00900)

缩略语:

间充质干细胞: mesenchymal stem cells, MSCs

Mesenchymal stem cells for treating osteogenesis imperfecta: directly differentiating into functional cells or functioning via paracrine mechanism?

Wang Zi-han, Liu Yi, Ju Ming-yan, Li Guang (Department of Genetics, School of Basic Medicine, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract

BACKGROUND: Some limitations involving drug therapies and surgical treatment exist in the traditional treatment of osteogenesis imperfecta. In recent years, a growing number of scientists attempt to treat osteogenesis imperfecta by mesenchymal stem cells transplantation.

OBJECTIVE: To summarize the mesenchymal stem cell treatment of osteogenesis imperfecta to guide relevant animal experiments, thereby promoting its clinical application.

METHODS: A computer-based online search of PubMed between January 2000 and June 2018 was performed

Wang Zi-han, Department of Genetics, School of Basic Medicine, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Corresponding author:

Li Guang, Professor, Doctoral supervisor, Department of Genetics, School of Basic Medicine, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

to search related articles with the keywords of “osteogenesis imperfecta, stem cells, mesenchymal stem cells, stem cells therapy, stem cells transplantation” in English. Literatures regarding mesenchymal stem cells for treatment of osteogenesis imperfecta were selected; in the same field, the articles published lately in authoritative journals were preferred.

RESULTS AND CONCLUSION: Mesenchymal stem cells can directly differentiate into functional cells or exert paracrine effect to repair bone defects caused by osteogenesis imperfecta. The low immunogenicity and immunomodulatory capacity of mesenchymal stem cells ensure the transplantation safety in the treatment of osteogenesis imperfecta. Mesenchymal stem cells can fundamentally treat osteogenesis imperfecta, and do not produce adverse reactions that are unavoidable in the drug treatment, which have broad application prospects. Although there are currently no systematic criteria for the efficacy and safety of mesenchymal stem cells in the treatment of osteogenesis imperfecta, mesenchymal stem cell transplantation can circumvent the limitations of conventional drugs and surgical treatment. Further studies are expected to improve the treatment of osteogenesis imperfecta using mesenchymal stem cells and promote its clinical applications, as cell transplantation indeed benefits the patients.

Subject headings: Osteogenesis Imperfecta; Mesenchymal Stem Cell Transplantation; Tissue Engineering

Funding: the National Key R&D Program of China, No. 2017YFC1001904; Tianjin City Science and Technology Support Program, No. 16YFZCSY00900

0 引言 Introduction

成骨不全是一种以骨密度降低、骨畸形、骨骼脆性增加和反复骨折为主要临床表现的全身性结缔组织疾病^[1], 90%以上的患者呈常染色体显性遗传^[1]。目前, 临床主要采用药物治疗、外科手术治疗等方法^[2-3], 但存在疗程较长、治愈率较低、患者痛苦等诸多局限性。近年来, 干细胞技术的不断发展, 为成骨不全的治疗带来了新的希望。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一种成体干细胞, 在细胞移植治疗领域应用广泛^[4]。文章就MSCs研究进展及其移植治疗成骨不全的现状进行综述。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 由第一作者检索2000至2018年PubMed数据库, 查阅干细胞治疗成骨不全的相关文献, 检索词为“osteogenesis imperfecta, stem cells, mesenchymal stem cells, stem cells therapy, stem cells transplantation”等, 检索文献类型为原创性论著及综述等。

1.2 纳入和排除标准

纳入标准: ①与MSCs治疗成骨不全相关的文献; ②同一领域选择近期发表的文章; ③综述具有时效性, 反映研究领域最新进展。

排除标准: ①与研究目的不符、重复性研究或Meta分析类文献; ②逻辑不严谨, 可信度差的文献。

1.3 资料提取及文献质量评价 初检得到372篇文献, 阅读标题和摘要进行初筛, 排除与研究目的不符和重复性文章; 查阅全文, 最后选择49篇符合标准的文献。另外补充了里程碑意义的3篇文献, 分别为成骨不全的分类依据^[5]、首例应用MSCs移植治疗成骨不全的案例^[6]、MSCs的首次分离与定义^[7]。

2 结果 Results

2.1 成骨不全概述 成骨不全又称脆骨症, 发病率为1/20 000~1/15 000^[8]。作为一种全身性结缔组织疾病, 成骨不全主要累及骨骼系统, 使骨骼脆性增加, 反复骨

折, 骨关节进行性畸形, 同时也可累及眼、耳、皮肤、牙齿等, 出现蓝巩膜、耳聋、皮肤异常以及牙本质发育不全等临床症状^[1]。临床约90%的成骨不全患者由编码I型胶原蛋白的COL1A1/COL1A2基因突变所致, 主要呈常染色体显性遗传^[9]。基于临床和影像学特征, 1979年Sillence等^[5]将成骨不全分为I-IV型, 随着新的表型和致病基因的陆续发现, 后续研究者又在此基础上将成骨不全扩充至XVI型^[8](表1), 但Sillence分型依然是目前临床应用最广的分型方法^[9]。其中, I型(轻型)成骨不全仅与胶原的数量减少相关, II型(致死型/先天型)成骨不全患者常于宫内死亡或在出生后短期内死亡^[10]、III型(重型)和IV型(中型)均存在不同程度的胶原结构改变^[1]。

表1 成骨不全的分型

分型	突变基因	遗传方式	严重程度
I	COL1A1/2	AD	轻或无畸形
II	COL1A1/2	AD	围产期死亡
III	COL1A1/2	AD	严重
IV	COL1A1/2	AD	中等
V	IFITM5	AD	中等
VI	SERPINF1	AR	中等-严重
VII	CRTAP	AR	中等
VIII	LEPRE1/P3H1	AR	严重-围产期死亡
IX	PPIB	AR	严重
X	SERPINH1	AR	严重
XI	FKBP10	AR	严重
XII	SP7	AR	中等
XIII	BMP1	AR	中等
XIV	TMEM38B	AR	中等-严重
XV	WNT1	AR	中等
XVI	CREB3L1	AR	中等
未分型	PLOD2	AR	中等-严重

表注: AD 为常染色体显性遗传; AR 为常染色体隐性遗传。

正常骨的生长发育, 需要成骨细胞的骨形成作用和破骨细胞的骨吸收作用共同维持, 成骨与破骨的平衡是维持正常骨量的关键。成骨细胞是骨形成的主要功能细胞, 负责骨基质的合成、分泌和矿化^[2]。I型胶原是骨基质中含量最多(约占90%)的有机成分, 由2条COL1A1基因编码的α1链和1条COL1A2基因编码的α2链构成, α1链和α2链中含有甘氨酸(glycine, Gly)三联体的

Gly-X-Y重复序列(X和Y多为脯氨酸和羟脯氨酸),形成稳定的三股螺旋结构^[8]。胶原分子之间通过共价键横向交联,构成钙和磷等矿物质沉积的矿化骨架^[8]。COL1A1/COL1A2基因中任何一个位点发生突变都有可能使成骨细胞合成胶原的结构或量发生异常改变,进而引起矿化异常,导致成骨不全发生。目前报道的COL1A1/COL1A2基因突变包括无义突变、错义突变、移码突变、剪接突变等类型,其中无义突变、移码突变、剪接突变主要使胶原数量减少,其患者临床症状较轻,通常为I型;错义突变主要导致三联体中甘氨酸被丝氨酸为主的其他氨基酸替代,引起I型胶原蛋白三螺旋区域空间构象改变,其患者临床表型较重,主要为II-IV型(II型常于宫内死亡或在出生后短期内死亡,临床不常见)^[11]。

2.2 成骨不全的传统治疗方法 目前,临床上针对成骨不全主要有药物治疗和外科手术治疗等方法。

成骨不全的药物治疗中,双膦酸盐类是目前临床治疗成骨不全最有效的药物^[2],可以提高骨密度、降低骨折发生风险、减轻骨痛、增强肌力、改善生活质量等^[12-15],但不同种类双膦酸盐的用药剂量不同,对成骨不全患者的疗效也不同,仍有待进一步研究^[14],且长期使用会出现颌骨坏死、食管癌、严重肌肉骨骼痛和肾功能衰竭等严重不良反应^[15]。除双膦酸盐类之外,还有一些药物研究主要以抑制破骨和调节成骨合成代谢为主,包括生长激素、甲状旁腺激素、骨硬化蛋白抗体等。生长激素可直接作用于成骨细胞^[16],促进I型胶原的合成和长骨的生长发育^[17],但同时增加骨转换率,使成骨不全患者存在畸形加重的风险^[18]。甲状旁腺激素可调节哺乳动物钙磷代谢^[19],激活休眠的骨内膜细胞并促进其分化为成骨细胞,使成骨细胞的数目显著增加,进而增加骨形成率,提高患者骨量和骨密度^[20],但能否作为成骨不全的一线用药仍需进一步研究。骨硬化蛋白抗体可以靶向抑制骨硬化蛋白^[21],促进骨形成,提高骨量^[22],被广泛用于骨质疏松症的研究,治疗胶原蛋白翻译后修饰缺陷引起的成骨不全效果显著^[23],但仍处于动物实验阶段^[24],临床治疗成骨不全的研究未见报道。

成骨不全的外科手术治疗主要集中在长骨畸形及反复骨折、脊柱侧凸和听力缺失的矫正与治疗等。针对长骨畸形、移位和不稳定性骨折,除常规的钢板固定和骨切开术外,还可通过微创手术在长骨髓腔内放置可伸缩髓内钉,不仅无需进行关节切除就可稳定严重骨折,而且在矫正治疗中断后仍能提供持续的内部支撑^[3]。尽管可伸缩髓内钉可降低移位率,但手术操作难度大,术后并发症较多,易增加成骨不全患者再骨折风险^[25]。脊柱侧凸是成骨不全的常见并发症之一,常引起疼痛和活动障碍,严重时亦可危及生命。当成骨不全患者脊柱稳定且Cobb角>50°时,可采用halo式支架以防止侧凸的持续加重^[26],但其应用可能会导致脊柱韧带松弛,使

曲线矫正的效果逐渐丧失^[27]。成骨不全也常伴随听力缺失的发生,在成骨不全患者听力缺失初期可使用助听器进行治疗,但随着病情的不断加重,患者则需进行镫骨切除术治疗^[28]。

2.3 MSCs治疗成骨不全的可行性(图1)

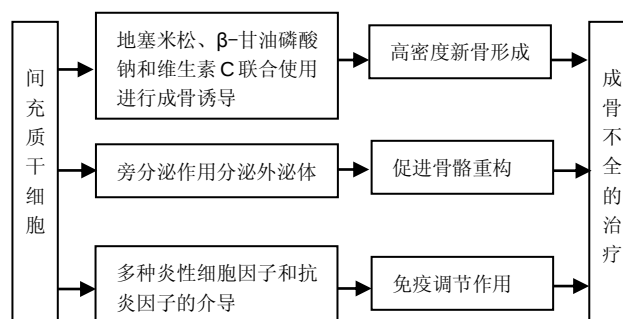


图1 间充质干细胞治疗成骨不全的可行性

2.3.1 MSCs具有成骨分化潜能 干细胞是一类具有自我更新能力和多向分化潜能的原始细胞,可在体内及体外诱导分化为多种细胞类型,多依照不对称分裂方式进行自我更新,即产生一个与亲代干细胞完全一致的子细胞和一个已确定分化方向的终末期细胞^[29],从干细胞所处发育状态的角度出发,可以分为胚胎干细胞和成体干细胞2种类型^[29]。MSCs是目前临床应用范围最广、应用安全性较高的成体干细胞之一^[4],最早由Friedenstein等^[6]采用贴壁黏附培养方法从骨髓中分离获得。MSCs是一类多能成体干细胞,在体外依然具有多向分化能力及一定的增殖能力,表达CD29、CD44、CD71、CD90、CD105和CD166等间质细胞抗原标志,不表达CD34和CD45等造血干细胞抗原标志,可以在一定诱导条件下向成肌、成脂、成骨、成软骨等方向分化^[30]。MSCs取材范围广,可以从骨髓、脂肪、骨片、牙髓、胎盘、脐带等多种组织中分离培养^[31]。MSCs具有支持造血的功能^[32],且免疫原性低^[33],可用于自体移植或同种异体移植。在成骨不全治疗中,应用较多的是骨髓MSCs,骨髓MSCs来源较易、细胞数目较多、成骨分化能力强且具有较强的造血支持功能,在成骨不全治疗中发挥了积极作用^[4]。

在成骨不全治疗中,将MSCs局部注射至骨髓腔中,在地塞米松、β-甘油磷酸钠和维生素C联合使用的条件下^[34],可向成骨方向分化,增加成骨细胞和骨细胞的数量^[31],重建部分骨和骨髓等组织,形成高密度的新骨^[35]。研究显示,将MSCs移植到小鼠骨髓腔内,可以促进I型胶原合成,改善小鼠骨骼力学参数,进而起到组织修复作用^[31]。在MSCs修复损伤骨组织的过程中,MSCs也可分泌数十种生物活性分子,刺激受损部位的细胞增殖,促进受损组织修复,并抑制骨骼受损区域炎症反应^[36]。此外, MSCs可以向内皮细胞等方向分化,参与

形成骨髓微环境, 构成骨髓造血的空间, 维持骨髓在结构和功能上的完整性; MSCs还可分泌和表达白细胞介素6、白细胞介素8、粒细胞集落刺激因子、干细胞因子等多种造血相关因子, 促进造血细胞发育成熟, 因而在成骨不全患者的骨损伤病灶处可实现局部血运的加强, 为骨损伤修复提供足够的营养支持, 促进骨损伤修复^[31]。

2.3.2 MSCs的旁分泌作用促进成骨 干细胞的旁分泌效应对骨、软骨均存在一定的保护作用, 外泌体是干细胞旁分泌的产物, 是包含了复杂RNA和蛋白质的囊性小泡(直径为40-100 nm), 其本质为脂质双分子层, 在信息交流和物质传递方面发挥重要作用^[37]。不同干细胞来源的外泌体功能有所差异, MSCs来源的外泌体可通过促进受体细胞的增殖来促进成骨分化、抑制成骨细胞凋亡、促进骨骼重构等, 在成骨不全治疗中起到重要作用^[38]。Otsuru等^[39]发现在生长板中注射MSCs来源的外泌体, 可以刺激软骨细胞增殖, 从而改善成骨不全模型小鼠的骨生长状态。注入机体的MSCs本身存活时间短, 它们通过旁分泌作用合成分泌基质细胞衍生因子1、血管内皮生长因子等来促进其在靶位募集, 并在分化过程中通过分泌骨形态发生蛋白2等促进其向成骨细胞方向分化^[40]。同时, MSCs具有归巢特性, 可在趋化因子的作用下向损伤组织靶向迁移, 修复成骨不全患者的骨损伤^[4]。MSCs分泌的生物活性分子还可以直接作用引起自身细胞内信号转导, 通过间接作用引起邻近其他细胞分泌功能活性物质, 促进成骨不全患者的骨损伤区域组织再生^[40]。

2.3.3 MSCs不产生免疫排斥 MSCs具有低免疫原性的特点并兼备免疫调节功能, 对抗原提呈细胞、T淋巴细胞、B淋巴细胞和自然杀伤细胞(NK细胞)等免疫细胞有直接抑制作用。MSCs抑制免疫应答的作用并非通过直接的细胞效应, 而是在多种炎性细胞因子和抗炎因子的介导下发挥调节作用^[41]。MSCs表面HLA/MHC I 分子表达水平极低, 使其能够逃避免疫识别和免疫监视, 便于进行自体移植和异体移植, 不会出现免疫排斥现象^[42], 保证了治疗的安全性。English等^[43]研究显示, MSCs可抑制效应性T细胞的活性, 同时促进调节性T细胞的增殖, 发挥启动和抑制免疫应答的双重功能, 因而在维持免疫稳态方面也具有关键作用。成骨不全造成患者骨损伤后, 病灶局部释放的促炎因子在消灭抗原的同时, 也会对机体自身造成损害, 移植的MSCs可以通过分泌转化生长因子 β 和造血生长因子等来抑制这种炎症反应, 在治疗同时有效规避炎症损伤^[41]。

2.4 MSCs治疗成骨不全的研究现状

2.4.1 动物实验研究 MSCs移植在成骨不全的实验性治疗中已取得部分进展。Jones等^[44]通过上调MSCs表面CXCR4的表达, 调节CXCR4-SDF1信号通路, 增加MSCs的迁移能力, 促进MSCs向损伤组织迁移, 可

以提高成骨不全鼠的治愈率; 同时, MSCs移植可在成骨不全鼠中定向分化为成骨细胞, 表达成骨细胞的特异性蛋白, 合成I型胶原并形成新骨, 显著改善小鼠长骨的韧性和强度等力学特性, 为MSCs移植治疗成骨不全提供了理论支持^[45]。Vanleene等^[46]从分子水平揭示了MSCs治疗成骨不全的机制, 结果表明移植到成骨不全小鼠体内的MSCs可分化为成熟的成骨细胞, 后者合成I型胶原, 同时可以减少骨组织中羟脯氨酸的含量, 使骨基质中羟基磷灰石的晶体结构发生改变, 增加骨基质的硬度, 降低骨骼脆性, 从而减少治疗后骨折的发生率。

2.4.2 临床试验研究 MSCs治疗成骨不全的临床试验开展较早, 最初主要采用全骨髓移植的方法治疗成骨不全^[7]。Horwitz等^[47]针对3例患有严重成骨不全的婴儿进行全骨髓移植, 发现成骨不全患者在全骨髓移植术后, 全身骨骼矿物质密度增加, 生长有所改善, 且骨折率明显降低; 对患有成骨不全且接受过全骨髓移植治疗的儿童注射MSCs, 其能分化成为成骨细胞和骨细胞, 并合成分泌正常的胶原蛋白, 使一部分成骨不全患者出现了明显的生长加速, 证明了MSCs移植在成骨不全儿童中的治疗作用^[48]。随着MSCs的发现与广泛应用, Horwitz等^[49]将基因标记的骨髓MSCs移植到6例成骨不全儿童中, 除1例患者出现荨麻疹外, 接受细胞移植的成骨不全患者的骨、皮肤和骨髓基质等生长速度均呈上升趋势。对确诊患有成骨不全的胎儿进行MSCs移植, 发现患儿出生后无骨折现象, 且未出现毒性作用, 证明同种异体MSCs也可以移植并分化成为新生儿骨骼, 在成骨不全患者中有较好的临床疗效和较高的安全性^[50-51]。腺相关病毒的广泛应用也促进了成骨不全治疗手段的发展, 使用腺相关病毒载体靶向灭活成骨不全患者MSCs中发生突变的COL1A2基因, 使MSCs产生正常的I型前胶原, 并分化成骨, 进而修复成骨不全患者的骨缺损^[52], 显示出较好的临床应用前景。

3 展望 Prospects

近年来, 传统的药物和手术治疗可以使成骨不全患者减轻痛苦, 一定程度地恢复其生活自理能力, 提高患者的生活质量, 但仍存在一定的局限性, 从远期疗效和经济成本的角度考虑, 干细胞疗法将是未来成骨不全治疗的主要趋势。MSCs因具有取材方便、形态学稳定、分化能力强、安全性高且不受伦理制约等优势, 在移植治疗中突显潜能。同时, MSCs可通过直接分化为功能细胞和旁分泌作用治疗成骨不全带来的骨缺损, 其低免疫原性和免疫调节作用可保证移植治疗的安全性。此外, MSCs易于被基因修饰, 与基因治疗联合也有望成为未来成骨不全治疗的研究热点。然而, 目前尚缺乏系统的MSCs治疗成骨不全的有效性和安全性标准, 期待更多相关研究使之趋于成熟和完善, 推动MSCs治疗成

骨不全向临床应用转化, 真正使患者受益。

致谢: 衷心感谢导师李光教授的悉心指导和严格要求, 感谢刘义老师专业技术上的指导, 感谢鞠明艳师姐在成文过程中的指导与帮助!

作者贡献: 汪子涵进行文献的收集、整理, 在鞠明艳指导下书写成文, 李光教授和刘义老师进行文章审校。

经费支持: 该文章接受了“国家重点研发计划(2017YFC1001904)”和“天津市科技支撑计划(16YFZCSY00900)”的资助。所有作者声明, 经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

写作指南: 该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

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。

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。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] Marini JC, Forlino A, Bächinger HP, et al. Osteogenesis imperfecta. Nat Rev Dis Primers. 2017;3:17052.
- [2] Morello R. Osteogenesis imperfecta and therapeutics. Matrix Biol. 2018 Mar 11. doi:10.1016/j.matbio. 2018.03.010. [Epub ahead of print]
- [3] Esposito P, Plotkin H. Surgical treatment of osteogenesis imperfecta: current concepts. Curr Opin Pediatr. 2008;20(1): 52-57.
- [4] 李颖,董武.干细胞治疗女性压力性尿失禁研究进展[J].中国实用妇科与产科杂志,2011,27(5):398-400.
- [5] Sillence DO, Rimoin DL, Danks DM. Clinical variability in osteogenesis imperfecta-variable expressivity or genetic heterogeneity. Birth Defects Orig Artic Ser. 1979;15(5B): 113-129.
- [6] Friedenstien AJ, Deriglasova UF, Kulagina NN, et al. Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method. Exp Hematol. 1974;2(2):83-92.
- [7] Horwitz EM, Prockop DJ, Fitzpatrick LA, et al. Transplantability and therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal cells in children with osteogenesis imperfecta. Nat Med. 1999;5(3):309-313.
- [8] Forlino A, Marini JC. Osteogenesis imperfecta. Lancet. 2016;387(10028):1657-1671.
- [9] Forlino A, Cabral WA, Barnes AM, et al. New perspectives on osteogenesis imperfecta. Nat Rev Endocrinol. 2011;7(9): 540-557.
- [10] Marini JC, Blissett AR. New genes in bone development: what's new in osteogenesis imperfecta. J Clin Endocrinol Metab. 2013;98(8):3095-3103.
- [11] Marini JC, Forlino A, Cabral WA, et al. Consortium for osteogenesis imperfecta mutations in the helical domain of type I collagen: regions rich in lethal mutations align with collagen binding sites for integrins and proteoglycans. Hum Mutat. 2007;28(3):209-221.
- [12] Castillo H, Samson-Fang L, American Academy for Cerebral Palsy and Developmental Medicine Treatment Outcomes Committee Review Panel. Effects of bisphosphonates in children with osteogenesis imperfecta: an AACPDM systematic review. Dev Med Child Neurol. 2009;51(1):17-29.
- [13] Semler O, Beccard R, Palmisano D, et al. Reshaping of vertebrae during treatment with neridronate or pamidronate in children with osteogenesis imperfecta. Horm Res Paediatr. 2011;76(5):321-327.
- [14] Gökşen D, Coker M, Darcan S, et al. Low-dose intravenous pamidronate treatment in osteogenesis imperfecta. Turk J Pediatr. 2006;48(2):124-129.
- [15] Barros ER, Saraiva GL, de Oliveira TP, et al. Safety and efficacy of a 1-year treatment with zoledronic acid compared with pamidronate in children with osteogenesis imperfecta. J Pediatr Endocrinol Metab. 2012;25(5-6):485-491.
- [16] Marini JC, Hopkins E, Glorieux FH, et al. Positive linear growth and bone responses to growth hormone treatment in children with types III and IV osteogenesis imperfecta: high predictive value of the carboxyterminal propeptide of type I procollagen. J Bone Miner Res. 2003;18(2):237-243.
- [17] Antoniazzi F, Monti E, Venturi G, et al. GH in combination with bisphosphonate treatment in osteogenesis imperfecta. Eur J Endocrinol. 2010;163(3):479-487.
- [18] Florenzano P, Ernst D, Lustig N, et al. Vitamin D and parathyroid hormone levels and bone mineral density in patients undergoing hematopoietic cell transplantation. Rev Med Chil. 2016;144(9):1119-1124.
- [19] Välimäki VV, Mäkitie O, Pereira R, et al. Teriparatide Treatment in Patients With WNT1 or PLS3 Mutation-Related Early-Onset Osteoporosis: A Pilot Study. J Clin Endocrinol Metab. 2017;102(2):535-544.
- [20] Baron R, Kneissel M. WNT signaling in bone homeostasis and disease: from human mutations to treatments. Nat Med. 2013;19(2):179-192.
- [21] Li X, Ominsky MS, Warmington KS, et al. Sclerostin antibody treatment increases bone formation, bone mass, and bone strength in a rat model of postmenopausal osteoporosis. J Bone Miner Res. 2009;24(4):578-588.
- [22] Li X, Warmington KS, Niu QT, et al. Inhibition of sclerostin by monoclonal antibody increases bone formation, bone mass, and bone strength in aged male rats. J Bone Miner Res. 2010;25(12):2647-2656.
- [23] Grafe I, Alexander S, Yang T, et al. Sclerostin Antibody Treatment Improves the Bone Phenotype of Crtp(-/-) Mice, a Model of Recessive Osteogenesis Imperfecta. J Bone Miner Res. 2016;31(5):1030-1040.
- [24] Veverka V, Henry AJ, Slocum PM, et al. Characterization of the structural features and interactions of sclerostin: molecular insight into a key regulator of Wnt-mediated bone formation. J Biol Chem. 2009;284(16):10890-10900.
- [25] Cho TJ, Kim JB, Lee JW, et al. Fracture in long bones stabilised by telescopic intramedullary rods in patients with osteogenesis imperfecta. J Bone Joint Surg Br. 2011;93(5): 634-638.

- [26] Monti E, Mottes M, Fraschini P, et al. Current and emerging treatments for the management of osteogenesis imperfecta. *Ther Clin Risk Manag*. 2010;6:367-381.
- [27] Janus GJ, Finidori G, Engelbert RH, et al. Operative treatment of severe scoliosis in osteogenesis imperfecta: results of 20 patients after halo traction and posterior spondylodesis with instrumentation. *Eur Spine J*. 2000;9(6):486-491.
- [28] Swinnen FK, De Leenheer EM, Coucke PJ, et al. Stapes surgery in osteogenesis imperfecta: retrospective analysis of 34 operated ears. *Audiol Neurotol*. 2012;17(3):198-206.
- [29] Green DR, Levine B. To be or not to be? How selective autophagy and cell death govern cell fate. *Cell*. 2014;157(1):65-75.
- [30] Da Silva Meirelles L, Malta TM, Panepucci RA, et al. Transcriptomic comparisons between cultured human adipose tissue-derived pericytes and mesenchymal stromal cells. *Genom Data*. 2015;7:20-25.
- [31] Li F, Wang X, Niyibizi C. Bone marrow stromal cells contribute to bone formation following infusion into femoral cavities of a mouse model of osteogenesis imperfecta. *Bone*. 2010;47(3):546-555.
- [32] Lee CW, Huang WC, Huang HD, et al. DNA Methyltransferases Modulate Hepatogenic Lineage Plasticity of Mesenchymal Stromal Cells. *Stem Cell Reports*. 2017;9(1):247-263.
- [33] Lotfy A, Salama M, Zahran F, et al. Characterization of mesenchymal stem cells derived from rat bone marrow and adipose tissue: a comparative study. *Int J Stem Cells*. 2014;7(2):135-142.
- [34] Chen R, Mian M, Fu M, et al. Attenuation of the progression of articular cartilage degeneration by inhibition of TGF- β 1 signaling in a mouse model of osteoarthritis. *Am J Pathol*. 2015;185(11):2875-2885.
- [35] Kaneto CM, Lima PS, Zanette DL, et al. Osteoblastic differentiation of bone marrow mesenchymal stromal cells in Bruck Syndrome. *BMC Med Genet*. 2016;17(1):38.
- [36] Dueñas F, Becerra V, Cortes Y, et al. Hepatogenic and neurogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells from abattoir-derived bovine fetuses. *BMC Vet Res*. 2014;10:154.
- [37] Boyiadzis M, Whiteside TL. Information transfer by exosomes: A new frontier in hematologic malignancies. *Blood Rev*. 2015;29(5):281-290.
- [38] Lee Y, El Andaloussi S, Wood MJ. Exosomes and microvesicles: extracellular vesicles for genetic information transfer and gene therapy. *Hum Mol Genet*. 2012;21(R1):R125-134.
- [39] Otsuru S, Desbordes L, Guess AJ, et al. Extracellular vesicles released from mesenchymal stromal cells stimulate bone growth in osteogenesis imperfecta. *Cytotherapy*. 2018;20(1):62-73.
- [40] Yang Y, Adachi K, Sheridan MA, et al. Heightened potency of human pluripotent stem cell lines created by transient BMP4 exposure. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(18):E2337-2346.
- [41] Samsonraj RM, Raghunath M, Nurcombe V, et al. Concise Review: Multifaceted Characterization of Human Mesenchymal Stem Cells for Use in Regenerative Medicine. *Stem Cells Transl Med*. 2017;6(12):2173-2185.
- [42] Rousseau J, Gioia R, Layrolle P, et al. Allele-specific Col1a1 silencing reduces mutant collagen in fibroblasts from *Brl* mouse, a model for classical osteogenesis imperfecta. *Eur J Hum Genet*. 2014;22(5):667-674.
- [43] English K, Mahon BP. Allogeneic mesenchymal stem cells: agents of immune modulation. *J Cell Biochem*. 2011;112(8):1963-1968.
- [44] Jones GN, Moschidou D, Lay K, et al. Upregulating CXCR4 in human fetal mesenchymal stem cells enhances engraftment and bone mechanics in a mouse model of osteogenesis imperfecta. *Stem Cells Transl Med*. 2012;1(1):70-78.
- [45] Guillot PV, Abass O, Bassett JH, et al. Intrauterine transplantation of human fetal mesenchymal stem cells from first-trimester blood repairs bone and reduces fractures in osteogenesis imperfecta mice. *Blood*. 2008;111(3):1717-1725.
- [46] Vanleene M, Saldanha Z, Cloyd KL, et al. Transplantation of human fetal blood stem cells in the osteogenesis imperfecta mouse leads to improvement in multiscale tissue properties. *Blood*. 2011;117(3):1053-1060.
- [47] Horwitz EM, Prockop DJ, Gordon PL, et al. Clinical responses to bone marrow transplantation in children with severe osteogenesis imperfecta. *Blood*. 2001;97(5):1227-1231.
- [48] Otsuru S, Gordon PL, Shimono K, et al. Transplanted bone marrow mononuclear cells and MSCs impart clinical benefit to children with osteogenesis imperfecta through different mechanisms. *Blood*. 2012;120(9):1933-1941.
- [49] Horwitz EM, Gordon PL, Koo WK, et al. Isolated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal cells engraft and stimulate growth in children with osteogenesis imperfecta: Implications for cell therapy of bone. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(13):8932-8937.
- [50] Le Blanc K, Götherström C, Ringdén O, et al. Fetal mesenchymal stem-cell engraftment in bone after in utero transplantation in a patient with severe osteogenesis imperfecta. *Transplantation*. 2005;79(11):1607-1614.
- [51] Götherström C, Westgren M, Shaw SW, et al. Pre- and postnatal transplantation of fetal mesenchymal stem cells in osteogenesis imperfecta: a two-center experience. *Stem Cells Transl Med*. 2014;3(2):255-264.
- [52] Chamberlain JR, Deyle DR, Schwarze U, et al. Gene targeting of mutant COL1A2 alleles in mesenchymal stem cells from individuals with osteogenesis imperfecta. *Mol Ther*. 2008;16(1):187-193.