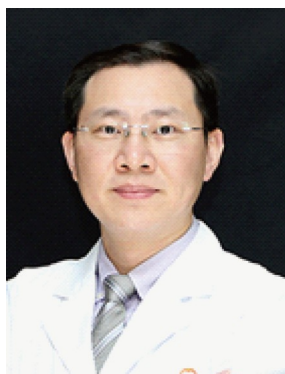


综述



罗剑, 国家杰出青年科学基金获得者、国家优秀青年科学基金获得者、教育部高层次人才青年学者。同济大学医学院长聘/特聘教授、博士生导师。主要从事干细胞与退行性骨疾病研究, 目前已在*Nat Med*、*Nat Commun*、*Sci Adv*、*J Clin Invest*、*J Natl Cancer Inst*等期刊发表高水平研究论文80余篇。获得授权专利14项, 其中4项已转让, 获得候选药物1个。以罗剑教授为课题组长的同济大学医学院干细胞与退行性骨疾病课题组拥有一流的硬件设施和科研平台以及充足的科研经费。近年来, 课题组获批多项国家级课题如国家自然科学基金重大项目、国家自然科学基金国际(地区)合作与交流项目及科技部国家重点研发计划课题等项目。主要研究方向包括: (1)干细胞临床治疗; (2)骨质疏松、关节炎、椎间盘退变和骨肿瘤等疾病的创新诊疗研发; (3)G蛋白偶联受体细胞信号转导通路。

软骨损伤中软骨干/祖细胞与细胞外基质的相互作用

王凡华, 陈柯燃, 罗剑*

(同济大学附属养志康复医院/上海阳光康复中心, 上海 201619)

摘要: 关节软骨是一种坚韧的黏弹性组织, 具有减少关节面摩擦、缓冲关节震荡和外力冲击的功能。由于软骨细胞增殖速度慢且软骨再生能力差, 导致关节软骨损伤后难以自然修复。软骨干/祖细胞(cartilage-derived stem/progenitor cells, CSPCs)因优异的成软骨能力, 在软骨再生修复应用中有很大的优势。对于软骨修复种子细胞CSPCs及提供软骨再生修复微环境的细胞外基质(extracellular matrix, ECM), 本文不仅汇总了ECM与CSPCs相互作用促进软骨生成的研究, 还探讨了应用ECM相关的软骨组织工程。本文旨在为探究软骨干/祖细胞与软骨基质微环境互作在软骨再生中的重要调控作用提供新思路。

关键词: 软骨干/祖细胞; 细胞外基质; 软骨再生; 组织工程

The interaction between cartilage-derived stem/progenitor cells and extracellular matrix during cartilage injury

WANG Fanhua, CHEN Keran, LUO Jian*

(Yangzhi Rehabilitation Hospital of Tongji University/Shanghai Sunshine Rehabilitation Center, Shanghai 201619, China)

Abstract: Joint cartilage is a tough adhesive tissue, which has the function of reducing joint friction, buffering joint shocks and external force impact. Due to the slow proliferation of chondrocytes and poor regeneration ability, it is difficult to present an instinctive self-healing capacity after cartilage damage. Cartilage-derived stem/progenitor cells (CSPCs) exhibit a high degree of chondrogenic characteristics and hold great advantages for cartilage repair. CSPCs regard as cell source for cartilage regeneration, and extracellular matrix (ECM) provides cartilage regeneration micro-environment. In the review, we not only summarize the studies on chondrogenesis induced by CSPCs interaction with ECM, but also explore the application of ECM-

收稿日期: 2023-05-31

基金项目: 国家自然科学基金项目(82201743, 92168204); 中国博士后科学基金项目(2022M722411); 上海市“超级博士后”项目(2022569)

第一作者: E-mail: fanhuawang2017@163.com

*通信作者: E-mail: jianluomail@163.com

related cartilage tissue engineering, providing new thought for exploring the crucial regulatory role of CSPCs interaction with extracellular matrix micro-environment in cartilage regeneration.

Key Words: cartilage-derived stem/progenitor cell; extracellular matrix; cartilage regeneration; tissue engineering

随着运动的兴起和社会老龄化进程的加快, 关节软骨意外损伤和软骨退变的发生逐年增加。由于关节软骨特殊的生物力学和代谢缓慢的特性, 软骨在损伤后几乎无法自行再生修复。关节软骨损伤不仅大多不能完全自我修复, 还会进一步引起关节炎症, 软骨下骨骨重塑失衡等, 最终发展成为骨关节炎, 导致整个关节病变^[1,2]。目前, 临床上对于软骨再生修复的治疗方法主要包括药物治疗如消炎止痛药物、关节腔内注射营养和润滑药物, 手术治疗包括关节镜手术、截骨术等, 最终进行关节置换。针对关节软骨再生修复困难这一特征, 以干细胞为中心思路的软骨组织再生相关研究成为软骨修复的热点。其中, 软骨内源性驻留的软骨干/祖细胞(cartilage-derived stem/progenitor cell, CSPCs)在软骨发生损伤后迁移至受损区域, 进行软骨的再生与修复^[3,4]。也有研究表明, 相较于其他组织来源的间充质干细胞, 软骨干/祖细胞具有更优越的成软骨能力。软骨基质作为软骨再生修复微环境, 其结构和成分不仅维持软骨组织稳态, 基质组分还可以作为细胞表面受体的配体, 经由配体-受体作用传递基质中的信号。本文对当下CSPCs与软骨再生修复相关的研究进行了汇总和分析, 总结了CSPCs的发现过程及其生物标志物, 并系统地汇总了CSPCs的生物学特性。同时, 我们基于现有文献, 分析了CSPCs在软骨修复中的优势和局限性, 为后续CSPCs调控软骨再生相关研究提供新思路。目前, ECM调控软骨再生的具体机制还不明确, 本文通过汇总ECM-CSPCs相互作用的相关研究, 旨在为探究软骨干/祖细胞与软骨基质微环境互作在软骨再生中的重要调控作用提供理论支持。

1 软骨干/祖细胞的生物学特性

1.1 软骨干/祖细胞的发现

软骨是一种致密的结缔组织, 其中覆盖于关

节表面的软骨起到润滑、缓冲、减震的功能, 对骨骼系统运动稳态有着不可或缺的作用。由于关节软骨内缺乏血管神经的分布, 关节软骨对于损伤的反馈和修复均不足, 软骨在损伤后几乎无法自行再生修复。所以增龄导致的软骨退行性病变或软骨机械损伤往往是无法逆转的, 最终导致骨关节炎(osteoarthritis, OA)的发生。软骨损伤作为最常见的骨骼肌肉疾病, 目前的干预手段基本上只能通过物理康复及药物治疗缓解短期症状, 最终疾病后期患者都需要关节置换。目前所有的临床治疗方法都没有软骨再生的作用, 不能逆转软骨损伤的过程。软骨损伤修复治疗的临床现状也对国家“健康老龄化”的国民健康规划提出严峻考验, 也对修复受损组织的再生工程在关节损伤修复治疗中的临床应用提出了挑战。

软骨干/祖细胞(cartilage-derived stem/progenitor cells, CSPCs)是关节软骨表面区驻留的一群祖细胞。越来越多的研究发现, CSPCs参与软骨再生修复。最开始研究人员发现, 浅表细胞比深层的关节软骨细胞分裂得更慢, 可以通过对称和不对称分化产生软骨细胞, 这些浅表细胞对关节软骨的生长和重塑具有重要作用^[5,6]。有研究使用差异黏附测定法从牛关节软骨表面分离出该群关节软骨祖细胞, 并通过Notch-1表征该群细胞, 但尚未找到明确的标记物。随后, 一些研究通过表面标志物定义了这群具有间充质特性的细胞。Alsalameh等^[7]分析了从正常人和OA患者膝关节软骨获取的原代细胞中CD105和CD166的表达, 确认正常人软骨中存在CD105和CD166阳性的间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)样祖细胞。后续在分离来自骨关节炎病变软骨的软骨驻留祖细胞时, 显示该群细胞表现出CD9(tetra span)、CD90(Thy-1)和CD166阳性, 具有成骨、成脂和成软骨的谱系分化能力^[8]。

关节软骨具有多层结构, 包括表层区、中层

区和深层区^[9]。一些研究表明, 关节软骨组织的浅表区域中软骨祖细胞的含量相对丰富^[5,10,11]。随着研究的不断深入, CSPCs被证明不只存在于关节软骨表层。Grogan等^[11]使用Notch-1、Stro-1和血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)作为干细胞标记, 解决了软骨祖细胞在健康和OA软骨中的定位问题。研究结果显示, 间充质祖细胞在骨关节炎软骨深层区阳性率较浅层区更高。此外, 在年轻的成年牛关节软骨的深部区域也发现了软骨祖细胞^[12]。综上所述, CSPCs不是仅存在于软骨的浅表区, 而是可以分布于软骨全层。

1.2 软骨干/祖细胞的鉴定

CSPCs可表达MSC相关的细胞表面标志物, 并且二者具有相似的多谱系分化能力和更新能力。由于CSPCs缺乏独特的标志物, 早期主要用MSC或软骨细胞标志物进行鉴定。早期一些研究发现, CSPCs高度表达透明质酸受体(CD44)、纤连蛋白受体(CD49e)、胸腺细胞抗原-1(CD90)、内皮糖蛋白(CD105)和活化的白细胞细胞黏附分子(activated leukocyte cell adhesion molecule, ALCAM或CD166)^[13-18]。此外, Su等^[19]还报道了祖细胞的软骨生成电位与黑色素瘤细胞黏附分子(melanoma cell adhesion molecule, MCAM或CD146)表达之间的相关性, 证明CD146可能是晚期骨关节炎软骨祖细胞群的新细胞表面标志物。

然而, 由于MSC也高度表达CD90、CD105, 在关节软骨内仅依靠该类细胞标记无法完全分别鉴别MSC和CSPCs。随后的研究使用了一些其它标志物进行识别CSPCs, 其中主要是参与Notch信号通路的因子, 包括Notch-1、Notch-2、Delta和Jagged, 以及 $\alpha 5 \beta 1$ 整合素、蛋白聚糖4(proteoglycan 4, PRG4)、层黏连蛋白等^[11,15,20-22]。但软骨细胞也高度表达Notch-1、Stro-1、CD106, 并且细胞表面标志物表达在单层培养中会发生变化, 因此目前难以依靠单个表面标记物来分选CSPCs, 主要是采用多个表面标记物进行组合分析。Riegger等^[23]综合检测了CD90、CD105、CD166、CD1、间充质干细胞抗原-1(mesenchymal stem cell antigen-1, MSCA-1)和Stro-14的表达, Rikkers等^[24]则使用CD73、CD90、CD105、CD166、CD271鉴定了迁

移性软骨祖细胞群。对于CSPCs应用广泛的标志物组合主要有CD9/CD90/CD166、CD44/CD151/CD49c、CD166^{low}骨形态发生蛋白受体1B(bone morphogenetic protein receptor 1B, BMPR1B⁺)^[8,25,26]等。

CSPCs的鉴定除了依赖生物标志物, 还有一些替代方法。比如使用纤连蛋白黏附法分离软骨祖细胞群, 选择离散的细胞集落进行传代, 扩增倍数高的为CSPCs^[14]。一些研究通过软骨组织样品中CSPCs的细长细胞形态进行视觉区分^[22,27]。此外, 因CSPCs的细胞增殖的高周转率, 表达高水平的Ki-67, 因此标记Ki-67成为识别CSPCs的一种方法^[28,29]。还有研究者基于氨基氧基-生物素的多糖或糖蛋白捕获方法结合高通量蛋白质组学定义了CSPCs的表面蛋白质组^[30]。

1.3 软骨干/祖细胞的细胞特性和亚群

CSPCs的显著特点是高克隆性和具有多谱系分化、迁移的能力, 可以在体外形成大量集落。CSPCs的集落形成效率(colony forming efficiency, CFE)不受年龄限制, 自我更新能力很强, 多次传代后仍保持良好的端粒长度和端粒酶活性, 具有良好的成软骨能力^[14]。现有研究主要基于集落形成单位测试和侧群细胞的产生来验证CSPCs的自我更新能力^[4,11,14,31]。成骨、成软骨和成脂分化是区分CSPCs与成熟软骨细胞的决定性特征。CSPCs在克隆扩增过程中Y染色体性别决定区盒转录因子9(sex-determining region of Y chromosome box transcription factor 9, Sox9)的表达升高, 提示其良好的成软骨能力。Koellings等^[4]在OA晚期退化软骨部位检测到迁移性软骨祖细胞。Seol等^[27]发现, 机械诱导的软骨细胞死亡导致CSPCs从附近的健康软骨迁移到受伤的软骨。另外还有研究发现, CSPCs可以从关节表面迁移到遭受创伤的部位^[32]。可见, CSPCs可在软骨组织中到受损部位, 进行损伤修复。

在发育中的软骨中, 至少存在两个不同的亚群: 多能软骨干细胞(CSCs)群体和寡能软骨祖细胞(CPCs)群体。Wu等^[26]使用显微切割来鉴定人类胚胎肢芽中软骨干/祖细胞的不同亚群, 发现存在CD166^{low/neg}CD73^{neg}CD146⁺细胞群和CD166^{low/neg}CD73⁺CD146^{low/neg}Lineage cocktail(LIN)^{neg}CD44^{low}细胞群, 前者具有多谱系分化能力, 后者只能成软

骨分化。但缺乏明确定义的标记物对这些细胞群进行特异性纯化, 并且在分离和单层扩增中细胞表型会发生变化, 因此在成人关节软骨中无法明确鉴定CSCs和CPCs。

来自骨关节炎软骨的CSPCs与来自未患病供体的软骨祖细胞相比较具有不相同的增殖或分化能力。有研究报道, OA软骨来源的祖细胞成软骨和成脂谱系分化的能力降低^[33]。但也有其他研究表明, OA软骨中发现大量CD105/CD166阳性和CD146阳性细胞^[7,19]。骨关节炎软骨中含有大约高于正常软骨两倍的CD105和CD166阳性细胞, 这些细胞具有多谱系潜力。在CSPCs的增殖能力方面, 也有不同的研究结论。Hoshiyama等^[28]认为, 与健康软骨中分离的细胞相比, 来自OA的细胞增殖更快, 在体外可产生更多的软骨结节。另一项研究则发现, 源自健康软骨的CSPCs比OA来源的CSPCs增殖得更快^[34]。OA中的CSPCs也分为两个主要的细胞亚群: 早期衰老群体(early senescent population, ES-OA-CPCs)和晚期衰老群体(late senescent population, LS-OA-CPCs)。经历了复制性衰竭的软骨祖细胞被归类为ES-OA-CPCs, LS-OA-CPCs则是可以延长扩增的细胞。两个类群细胞的主要区别在于它们的复制潜力, ES-OA-CPCs的特征是增殖速率降低, 端粒侵蚀增加; LS-OA-CPCs反之^[35]。

2 软骨干/祖细胞用于软骨修复的研究进展

干/祖细胞的存在是各种组织能够快速再生的关键作用细胞。因此评价软骨干/祖细胞的特性对于软骨损伤的未来治疗具有重要指导意义。

2.1 软骨干/祖细胞用于软骨修复的潜力

2.1.1 软骨干/祖细胞可促进软骨损伤修复

一些研究证明, CSPCs能够迁移到受损软骨部位, 这是CSPCs可以促进软骨损伤修复的有力证据。Seol等^[36]证明, 经过局部消化的细胞外基质内驻留的祖细胞能更快速地向损伤软骨部位迁移。在之前的研究中, 他们发现, 在损伤部位周围的ECM中出现了具有成软骨祖细胞特征的迁移细胞群^[27]。与正常软骨细胞相比, 从软骨损伤区域收获的迁移细胞可产生侧细胞群, 并且表达更高水

平的白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和更低水平的软骨ECM基因, 如Ⅱ型胶原。该结果表明, 这群迁移细胞是增殖性的, 并表现出与软骨细胞不同的细胞表型。这些迁移细胞也显示出高表达的PRG4, 因此推测, 这些迁移性的祖细胞可能有助于损伤后软骨的关节表层软骨再生。对于OA后期退化软骨部位的软骨祖细胞迁移群体, 研究认为, 这些细胞可能是局部或从邻近组织迁移到组织修复区域^[4]。在动物模型中, 小鼠软骨发生损伤时, 也发现了具有祖细胞特征的迁移细胞^[37]。进一步的研究表明, 这些具有迁移特性的CSPCs吞噬能力较高, 与滑膜细胞和巨噬细胞具有等同的吞噬能力, 表明CSPCs在软骨损伤中具有巨噬细胞样作用^[38]。Jiang等^[39]的体外分化实验证明, CSPCs能够分化为软骨细胞, 然后迁移到软骨损伤部位进行软骨修复。

有研究证明, CSPCs修复软骨损伤能力的实验是将CSPCs去除, 结果检测到软骨修复能力变差, 使用来自受损软骨外植体的上清处理CSPCs后, 软骨生成能力受损^[23]。另一项研究发现, EGFR敲除小鼠软骨表层祖细胞数目明显减少, 并出现了关节软骨退变加剧, 软骨修复能力受损^[40]。这些研究能解释软骨祖细胞对于软骨损伤修复的重要作用。

对于CSPCs修复软骨损伤的机制, 有研究证明, 白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)能够通过NF- κ B显著抑制CSPCs的成软骨分化能力, 从而调控CSPCs在OA早期增殖与修复软骨的进程。而在体外抑制NF- κ B信号通路能够促进软骨形成, 并且在大鼠OA模型中抑制NF- κ B信号通路同样能够促进软骨再生^[29]。

2.1.2 软骨干/祖细胞可促进软骨基质产生

CSPCs不仅能够成软骨分化, 也能促进软骨基质生成。Tallheden等^[41]发现, 当人CSPCs用于免疫缺陷小鼠时, 可以成功地产生软骨基质, 但如果使用MSC, 主要产生骨骼。进一步的单细胞转录组学分析也证明了CSPCs产生软骨基质的能力, 并且表征了CSPCs在OA不同阶段的不同功能^[42]。有研究认为, CSPCs产生软骨基质的能力与MSC和软骨细胞接近^[43]; 但也有不同的研究表明, CSPCs细胞增殖潜力和体外产生ECM的能力优于其他细

胞类型^[19,44]。

2.2 软骨干/祖细胞用于软骨修复的局限性

与许多基于细胞的软骨治疗方法类似,使用自体CSPCs填充软骨缺陷也具有可预见的局限性。首先,虽然软骨祖细胞起源于天然软骨组织,已被证明具有高增殖能力并在扩增时可保持多能性^[45],但CSPCs缺乏特异性生物标志物,阻碍了其在体内外的鉴定和追踪。正是由于缺乏特征性鉴别标志物,关于CSPCs究竟是一种独特的细胞类型还是多种不同集群细胞的异质混合物尚无定论。评估软骨修复的优势细胞类型及其应用前景仍需要进一步的探究。

其次,CSPCs在成人关节软骨中所占比例少于1%^[11,46],这使得人们不得不关注于寻找具有软骨生成潜力的祖细胞的替代来源,如从关节滑膜和髌下脂肪垫中获取祖细胞^[47-49]。所以CSPCs在软骨修复领域的应用与发展前景也受限于缺少高丰度的细胞来源。

此外,虽然已有较为广泛的研究进行优化CSPCs的培养条件,但在CSPCs成软骨分化和促进增殖方面的最佳方案目前仍然没有统一。这对于CSPCs在软骨修复中的应用也造成了阻碍。

当然,尽管存在这些局限性,这类来自于天然软骨的CSPCs因具有良好的克隆潜力和分化能力,依然可作为基于细胞软骨修复方式的更好选择。

3 细胞外基质对于软骨干/祖细胞产生的影响

细胞外基质(extracellular matrix, ECM)是组织微环境的重要组成部分,可提供可溶性因子、细胞间相互作用和机械刺激。其中,ECM的构成和功能蛋白还可通过细胞-基质相互作用调节细胞存活、增殖、黏附、迁移和分化。细胞黏附受体和基质成分调节细胞信号传导,影响多种细胞功能。软骨组织工程主要基于干细胞的软骨分化,有研究表明,ECM具有能够引导干细胞的特定功能^[50-52]。并且细胞-ECM黏附的动态调节是细胞迁移以及细胞增殖、分化和存活必需的因素^[53]。所以,ECM对于CSPCs的调节机制还有待进一步阐明,但其重要性已初现端倪。

3.1 软骨干/祖细胞-细胞外基质的相互作用

3.1.1 透明质酸

透明质酸(hyaluronic acid, HA)是一种天然糖胺聚糖,由重复的二糖单元(d-葡萄糖醛酸和N-乙酰基-d-葡萄糖胺)组成,目前已经广泛应用于软骨组织工程。透明质酸属于天然材料,具有ECM相似结构,已有研究证明其能促进软骨细胞的增殖^[54,55]。有研究发现,在多种动物模型中,主要由HA组成的复合水凝胶/水凝胶构建体(如甲基丙烯酸明胶、软骨素-6-硫酸盐、壳聚糖等)可有效修复损伤模型的全层软骨病变^[56]。他们也发现,这种修复作用的部分原因在于HA水凝胶对CSPCs的影响。除此之外,HA凝胶+木兰花碱显著提高了CSPCs的活力、细胞增殖周期、迁移速率和软骨生成,并且可以减轻前交叉韧带横断模型诱导的OA软骨降解和维持软骨下骨稳定^[57]。

3.1.2 纤连蛋白

纤连蛋白是一种普遍存在的ECM蛋白,介导胶原蛋白和其他ECM蛋白与细胞连接。多个研究表明了纤连蛋白对CSPCs的调节作用。当纤连蛋白的功能被抑制后,小鼠软骨细胞系的分化作用受到抑制^[58]。纤连蛋白富亮氨酸跨膜蛋白(fibronectin leucine rich transmembrane, FLRT2)结合纤连蛋白可能调节软骨祖细胞系ATDC5的关键细胞事件^[59]。并且有研究发现,纤连蛋白Ⅲ和原纤维蛋白-1(fibrillin-1, FBN1)片段PF8支持人类胚胎干细胞来源的软骨祖细胞生成软骨^[60]。

3.1.3 蛋白多糖

蛋白多糖又称蛋白寡糖,是由聚糖及蛋白质构成的共价结合物,是构成细胞外基质的重要成分之一。研究证明,蛋白多糖作为支架形成剂可以用于增殖软骨祖细胞和诱导软骨祖细胞分化^[61]。

除了上述的一些主要的ECM成分之外,Jayasuriya等^[62]报道了CSPCs中ECM特异性成分Matrilin-3发生突变后,出现软骨生成减弱、软骨细胞过早肥大的表型。

3.2 机械力对软骨干/祖细胞的影响

关节软骨的主要功能是适应关节运动过程中的生物力学,吸收和分配受到的压缩负荷及剪切应力。这些力学功能主要由ECM介导,因此正常

的ECM介导的机械力对于CSPCs的调节作用不可忽视。ECM具有复杂的机械性能,能够通过机械转导调节细胞行为。近些年一些研究对ECM机械性能调节CSPCs的相关方向进行了探究,为细胞-基质相互作用以及这些相互作用如何差异调节细胞功能提供了部分见解。

3.2.1 ECM硬度

ECM是一种高度动态的结构,通过周围细胞的沉积、降解、修饰等不断进行重塑。干/祖细胞可以感知并响应ECM硬度的动态变化,这种动态反馈机制在ECM对干/祖细胞命运中起着重要作用。研究发现,CSPCs在基质中的分化和软骨形成能力都受到基质硬度和配体组成的调节^[63]。另有研究阻断了CSPCs对接种支架硬度的感知,结果显示,支架硬度对CSPCs成软骨分化的作用消失了^[64]。

3.2.2 机械刺激

除了ECM硬度之外,针对ECM的机械刺激同样能够影响CSPCs的功能。给予小鼠ATDC5软骨祖细胞系超重力刺激,细胞骨架会由于超重而改变,从而影响ATDC5成软骨分化能力^[65]。Jiang等^[66]的研究显示,低强度脉冲超声能够通过诱导CSPCs向软骨损伤区域迁移来促进软骨愈合。还有研究发现,在压力的影响下,海藻酸盐中包埋的兔CSPCs修复性能显著增强,表明CSPCs结合机械刺激,可能是软骨组织工程的有效策略^[67]。另外的研究发现,机械刺激的累加作用促使CSPCs增殖和分化,从而促进软骨基质产生和软骨形成^[68],进一步证实,CSPCs与力学刺激结合后发挥软骨损伤修复的有利作用。

4 利用软骨祖细胞的软骨再生组织工程

长期以来,再生领域的研究重点一直是建立替代受损组织或器官的功能性器官组织。在这样的组织工程和再生医学中,需要相应的生物材料供干细胞或者其他增殖性的细胞附着,并产生相应的机械或生化转导信号。细胞外基质作为天然生物材料,其3D结构和组成能够引导细胞增殖并迁移到相应的组织或器官。虽然CSPCs在组织工程、生物制造和临床应用方面的潜力已有部分研究,但是在软骨再生组织工程中如何利用CSPCs与

细胞外基质的相互作用促进软骨修复仍是一个需要深入研究的问题。在这里,我们通过总结CSPCs以及其他特性相似的干细胞与ECM的作用进而促进软骨再生修复相关的研究,为后续探究通过调控CSPCs-ECM相互作用促进软骨再生修复的应用提供新思路。

4.1 3D水凝胶

水凝胶主要由聚乙二醇、藻酸盐和透明质酸等交联组成,常作为组织再生的生物学材料。3D水凝胶提供的生理微环境与细胞外基质相似,能够模拟干细胞的自然环境,为其提供胞外支架,因此总结水凝胶在CSPCs方面的应用有助于未来运用ECM材料调节干细胞的行为。

耳软骨中的软骨祖细胞在3D水凝胶中显示出较强的软骨形成能力,并且在蛋白多糖产生和机械性能方面优于软骨细胞^[43]。在水凝胶影响马来源的CSPCs的两项研究中也得到了相似的结果。其中一项结果显示,与MSC相比,负载CSPCs的凝胶中检测到PRG4的表达增加,而X型胶原表达降低^[69]。另一项研究发现,含有CSPCs的甲基丙烯酰化明胶(gelatin methacryloyl, GelMA)/结冷胶(gellan)/甲基丙烯酰化透明质酸(hyaluronic acid methacryloyl, HAMA)水凝胶或巯基化的透明质酸(hyaluronate-thiol, HA-SH)水凝胶的软骨生成潜力与间充质干细胞的相似^[70,71]。这可能是因为水凝胶以及分化培养基最初是为MSC开发的,如果适当调整其组成成分或比例,CSPCs的基质产生能力可能会更好。更加有趣的是,使用一种谷氨酰胺转移酶交联透明质酸包裹CSPCs后,CSPCs增殖并产生的软骨基质使水凝胶的软骨力学接近天然软骨的杨氏模量,这有力地证明了CSPCs在组织工程上的优异表现^[72]。

3D水凝胶在其他干细胞中的应用也非常广泛。在3D水凝胶上负载骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)后,能够通过细胞-ECM相互作用保持细胞活力并减少BMSCs凋亡^[73]。不仅如此,BMSCs在低相对分子质量的3D透明质酸水凝胶中可以通过激活Wnt/ β -catenin途径保持细胞干性,在高相对分子质量的水凝胶中则能通过香草素受体亚家族4(transient receptor potential vanilloid 4, TRPV 4)/ Ca^{2+} 促进成软骨分

化^[74]。多能干细胞来源的神经祖细胞(iPSC-derived neural progenitor cells, hiNPC)在3D水凝胶中能够分化为神经元和星形胶质细胞,证明3D水凝胶在未来的3D神经疾病建模中具有巨大的潜力^[75]。3D打印的水凝胶支架还可以促进神经干/祖细胞(neural stem cells, NSCs)的迁移,这对于干细胞治疗脑组织损伤至关重要。

目前对于3D水凝胶在CSPCs的应用评估主要是成软骨分化和产生基质的能力,但是通过对其它细胞类型的研究,未来还可以探究CSPCs在水凝胶中的生物功能活性、迁移能力和具体调节机制。除此之外,其他研究中水凝胶的组成和特性(如硬度)也值得在CSPCs中借鉴和验证。

4.2 细胞来源的ECM支架

近年来,由组织或器官脱细胞衍生而来的ECM支架作为一种新的支架应用,越来越多的研究证明了其潜在优势。但细胞衍生的ECM支架在骨科疾病方面的研究尚不完善,CSPCs衍生的ECM支架的研究更是凤毛麟角。因此,除了关注CSPCs,我们试图通过其它类型的干细胞来推测用CSPCs制备ECM支架的可能性。

与传统培养相比,MSC衍生的ECM支架培养的MSC更能促进MSC的软骨形成能力^[76]。据研究显示,MSC可以在无细胞基质中分化为成软骨谱系,而无需补充成软骨诱导培养基,并且MSC衍生的ECM支架比软骨细胞来源的支架促进MSC成软骨分化的效果更好。这说明干细胞衍生的ECM支架可能对干细胞培养的作用更加明显,但也可能是因为软骨细胞在体外扩增培养过程中容易去分化。除了成软骨方面,MSC衍生的ECM支架也能在成骨和成脂方面起到促进作用^[77,78]。MSC的ECM作为体外软骨细胞扩增的培养底物或基于软骨细胞的软骨修复支架也显示出优异的软骨形成能力。接种其中的软骨细胞不仅增殖速度更快,分化特征也更加明显^[79]。

ECM支架在一些组织特异性干细胞中的应用也很值得关注。多项研究显示,使用滑膜来源干细胞(synovial-deprived mesenchymal stem cells, SDSCs)衍生的ECM后,SDSCs细胞数量显著增加,软骨生成能力也显著增强^[80-85]。除此之外,细胞衍生的ECM支架在牙周韧带干细胞、神经祖细

胞等多种干/祖细胞中也有相应的作用^[86,87]。

这些研究提示,脱细胞的ECM支架可以用作再生组织或者促进细胞谱系分化的生物材料。所以探究在软骨再生修复中使用CSPCs衍生的ECM,可以为软骨再生的组织材料应用提供更高的可行性。

5 总结

大量研究表明,关节软骨中存在具有显著软骨生成潜力的干/祖细胞,能够通过干细胞标志物、增殖性能、集落形成能力来进行鉴定。目前的研究已经证明,CSPCs在软骨损伤修复中起到至关重要的作用,并且基于CSPCs的软骨修复方式明显优于软骨细胞。

ECM能够通过其蛋白质组成成分和机械性能调节CSPCs细胞的功能,促进其在软骨生成方面的能力。然而,目前关于利用CSPCs-ECM相互作用在软骨组织工程方面的应用还缺乏有力的证明。通过其他类型干/祖细胞的应用,我们可以推测软骨再生领域中CSPCs-ECM相互作用的重要性。后续研究可以在目前的基础上,开发基于CSPCs的ECM支架,并且探究其对于软骨细胞或者CSPCs本身具体的作用机制,这对软骨组织再生领域仍是不可缺少的一部分。

参考文献

- [1] 胡中岭,王佳洋,崔逸爽,等. 关节软骨损伤的治疗和研究进展. *中国综合临床*, 2019(6): 566-571
- [2] Lories RJ, Luyten FP. The bone-cartilage unit in osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol*, 2011, 7(1): 43-49
- [3] Seol D, Zhou C, Brouillette MJ, et al. Characteristics of meniscus progenitor cells migrated from injured meniscus. *J Orthop Res*, 2017, 35(9): 1966-1972
- [4] Koelling S, Kruegel J, Irmer M, et al. migratory chondrogenic progenitor cells from repair tissue during the later stages of human osteoarthritis. *Cell Stem Cell*, 2009, 4(4): 324-335
- [5] Dowthwaite GP, Bishop JC, Redman SN, et al. The surface of articular cartilage contains a progenitor cell population. *J Cell Sci*, 2004, 117(6): 889-897
- [6] Hayes AJ, MacPherson S, Morrison H, et al. The development of articular cartilage: evidence for an appositional growth mechanism. *Anat Embryol*, 2001,

- 203(6): 469-479
- [7] Alsalameh S, Amin R, Gemba T, et al. Identification of mesenchymal progenitor cells in normal and osteoarthritic human articular cartilage. *Arthritis Rheumatism*, 2004, 50(5): 1522-1532
 - [8] Fickert S, Fiedler J, Brenner RE. Identification of subpopulations with characteristics of mesenchymal progenitor cells from human osteoarthritic cartilage using triple staining for cell surface markers. *Arthritis Res Ther*, 2004, 6(5): R422
 - [9] Grogan SP, Duffy SF, Pauli C, et al. Zone-specific gene expression patterns in articular cartilage. *Arthritis Rheumatism*, 2013, 65(2): 418-428
 - [10] Kozhemyakina E, Zhang M, Ionescu A, et al. Identification of a *Prg4*-expressing articular cartilage progenitor cell population in mice. *Arthritis Rheumatol*, 2015, 67(5): 1261-1273
 - [11] Grogan SP, Miyaki S, Asahara H, et al. Mesenchymal progenitor cell markers in human articular cartilage: normal distribution and changes in osteoarthritis. *Arthritis Res Ther*, 2009, 11(3): R85
 - [12] Yu Y, Zheng H, Buckwalter JA, et al. Single cell sorting identifies progenitor cell population from full thickness bovine articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*, 2014, 22(9): 1318-1326
 - [13] Fickert S, Fiedler J, Brenner RE. Identification, quantification and isolation of mesenchymal progenitor cells from osteoarthritic synovium by fluorescence automated cell sorting. *Osteoarthritis Cartilage*, 2003, 11(11): 790-800
 - [14] Williams R, Khan IM, Richardson K, et al. Identification and clonal characterisation of a progenitor cell subpopulation in normal human articular cartilage. *PLoS One*, 2010, 5(10): e13246
 - [15] Zhang K, Shi J, Li Y, et al. Chondrogenic cells respond to partial-thickness defects of articular cartilage in adult rats: an *in vivo* study. *J Mol Hist*, 2016, 47(3): 249-258
 - [16] Tao T, Li Y, Gui C, et al. Fibronectin enhances cartilage repair by activating progenitor cells through integrin $\alpha 5 \beta 1$ receptor. *Tissue Eng Part A*, 2018, 24(13-14): 1112-1124
 - [17] Walsh SK, Schneider SE, Amundson LA, et al. Maturity-dependent cartilage cell plasticity and sensitivity to external perturbation. *J Mech Behav BioMed Mater*, 2020, 106: 103732
 - [18] Pretzel D, Linss S, Rochler S, et al. Relative percentage and zonal distribution of mesenchymal progenitor cells in human osteoarthritic and normal cartilage. *Arthritis Res Ther*, 2011, 13(2): R64
 - [19] Su X, Zuo W, Wu Z, et al. CD146 as a new marker for an increased chondroprogenitor cell sub-population in the later stages of osteoarthritis. *J Orthop Res*, 2015, 33(1): 84-91
 - [20] Ustunel I, Ozenci AM, Sahin Z, et al. The immunohistochemical localization of notch receptors and ligands in human articular cartilage, chondroprogenitor culture and ultrastructural characteristics of these progenitor cells. *Acta Histochemica*, 2008, 110(5): 397-407
 - [21] De Luca P, Kouroupis D, Viganò M, et al. Human diseased articular cartilage contains a mesenchymal stem cell-like population of chondroprogenitors with strong immunomodulatory responses. *J Clin Med*, 2019, 8(4): 423
 - [22] Schminke B, Frese J, Bode C, et al. Laminins and nidogens in the pericellular matrix of chondrocytes. *Am J Pathol*, 2016, 186(2): 410-418
 - [23] Riegger J, Palm HG, Brenner RE. The functional role of chondrogenic stem/progenitor cells: novel evidence for immunomodulatory properties and regenerative potential after cartilage injury. *Eur Cell Mater*, 2018, 36: 110-127
 - [24] Rikkers M, Korpershoek JV, Levato R, et al. The clinical potential of articular cartilage-derived progenitor cells: a systematic review. *NPJ Regen Med*, 2022, 7(1): 2
 - [25] Grogan SP, Barbero A, Diaz-Romero J, et al. Identification of markers to characterize and sort human articular chondrocytes with enhanced *in vitro* chondrogenic capacity. *Arthritis Rheum*, 2007, 56(2): 586-595
 - [26] Wu L, Blugermann C, Kyupelyan L, et al. Human developmental chondrogenesis as a basis for engineering chondrocytes from pluripotent stem cells. *Stem Cell Rep*, 2013, 1(6): 575-589
 - [27] Seol D, McCabe DJ, Choe H, et al. Chondrogenic progenitor cells respond to cartilage injury. *Arthritis Rheumatism*, 2012, 64(11): 3626-3637
 - [28] Hoshiyama Y, Otsuki S, Oda S, et al. Chondrocyte clusters adjacent to sites of cartilage degeneration have characteristics of progenitor cells. *J Orthop Res*, 2015, 33(4): 548-555
 - [29] Tong W, Geng Y, Huang Y, et al. *In vivo* identification and induction of articular cartilage stem cells by inhibiting NF- κ B signaling in osteoarthritis. *Stem Cells*, 2015, 33(10): 3125-3137
 - [30] Matta C, Boockch DJ, Fellows CR, et al. Molecular phenotyping of the surfaceome of migratory chondroprogenitors and mesenchymal stem cells using biotinylation, glyco-capture and quantitative LC-MS/MS proteomic analysis. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 9018
 - [31] Quintin A, Schizas C, Scaletta C, et al. Plasticity of fetal cartilaginous cells. *Cell Transplant*, 2010, 19(10): 1349-1357
 - [32] Yu Y, Brouillette MJ, Seol D, et al. Use of recombinant human stromal cell-derived factor 1 α -loaded fibrin/hyaluronic acid hydrogel networks to achieve functional

- repair of full-thickness bovine articular cartilage via homing of chondrogenic progenitor cells. *Arthritis Rheumatol*, 2015, 67(5): 1274-1285
- [33] Murphy JM, Dixon K, Beck S, et al. Reduced chondrogenic and adipogenic activity of mesenchymal stem cells from patients with advanced osteoarthritis. *Arthritis Rheumatism*, 2002, 46(3): 704-713
- [34] Xia Z, Ma P, Wu N, et al. Altered function in cartilage derived mesenchymal stem cell leads to OA-related cartilage erosion. *Am J Transl Res*, 2016, 8(2): 433-446
- [35] Fellows CR, Williams R, Davies IR, et al. Characterisation of a divergent progenitor cell sub-populations in human osteoarthritic cartilage: the role of telomere erosion and replicative senescence. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 41421
- [36] Seol D, Yu Y, Choe H, et al. Effect of short-term enzymatic treatment on cell migration and cartilage regeneration: *in vitro* organ culture of bovine articular cartilage. *Tissue Eng Part A*, 2014, 20(13-14): 1807-1814
- [37] Sun Y, Fang Y, Li X, et al. A static magnetic field enhances the repair of osteoarthritic cartilage by promoting the migration of stem cells and chondrogenesis. *J Orthop Translat*, 2023, 39: 43-54
- [38] Zhou C, Zheng H, Buckwalter JA, et al. Enhanced phagocytic capacity endows chondrogenic progenitor cells with a novel scavenger function within injured cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016, 24(9): 1648-1655
- [39] Jiang Y, Cai Y, Zhang W, et al. Human cartilage-derived progenitor cells from committed chondrocytes for efficient cartilage repair and regeneration. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5(6): 733-744
- [40] Jia H, Ma X, Tong W, et al. EGFR signaling is critical for maintaining the superficial layer of articular cartilage and preventing osteoarthritis initiation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(50): 14360-14365
- [41] Tallheden T, Dennis JE, Lennon DP, et al. Phenotypic plasticity of human articular chondrocytes. *J Bone Joint Surg*, 2003, 85: 93-100
- [42] Qi L, Wang J, Chen X, et al. Single-cell transcriptomics reveals variable trajectories of CSPCs in the progression of osteoarthritis. *Heliyon*, 2022, 8(11): e11148
- [43] Otto IA, Levato R, Webb WR, et al. Progenitor cells in auricular cartilage demonstrate cartilage-forming capacity in 3D hydrogel culture. *Eur Cell Mater*, 2018, 35: 132-150
- [44] Carluccio S, Martinelli D, Palamà MEF, et al. Progenitor Cells Activated by Platelet Lysate in Human Articular Cartilage as a Tool for Future Cartilage Engineering and Reporative Strategies. *Cells*, 2020, 9(4): 1052
- [45] Rikkers M, Korpershoek JV, Levato R, et al. Progenitor cells in healthy and osteoarthritic human cartilage have extensive culture expansion capacity while retaining chondrogenic properties. *Cartilage*, 2021, 13(2_suppl): 129S-142S
- [46] Hattori S, Oxford C, Reddi AH. Identification of superficial zone articular chondrocyte stem/progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 358(1): 99-103
- [47] De Bari C, Dell'Accio F, Tylzanowski P, et al. Multipotent mesenchymal stem cells from adult human synovial membrane. *Arthritis Rheumatism*, 2001, 44(8): 1928-1942
- [48] Nishimura K, Solchaga LA, Caplan AI, et al. Chondroprogenitor cells of synovial tissue. *Arthritis Rheumatism*, 1999, 42(12): 2631-2637
- [49] Peng L, Jia Z, Yin X, et al. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, cartilage, and adipose tissue. *Stem Cells Dev*, 2008, 17(4): 761-774
- [50] Engler AJ, Sen S, Sweeney HL, et al. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell*, 2006, 126(4): 677-689
- [51] Even-Ram S, Artym V, Yamada KM. Matrix control of stem cell fate. *Cell*, 2006, 126(4): 645-647
- [52] Vidane AÅS, Zomer HD, Oliveira BMM, et al. Reproductive stem cell differentiation: extracellular matrix, tissue microenvironment, and growth factors direct the mesenchymal stem cell lineage commitment. *Reprod Sci*, 2013, 20(10): 1137-1143
- [53] Parsons JT, Martin KH, Slack JK, et al. Focal adhesion kinase: a regulator of focal adhesion dynamics and cell movement. *Oncogene*, 2000, 19(49): 5606-5613
- [54] Liu M, Zeng X, Ma C, et al. Injectable hydrogels for cartilage and bone tissue engineering. *Bone Res*, 2017, 5(1): 17014
- [55] Li J, Chen G, Xu X, et al. Advances of injectable hydrogel-based scaffolds for cartilage regeneration. *Regen Biomater*, 2019, 6(3): 129-140
- [56] V Thomas L, Vg R, D Nair P. Effect of stiffness of chitosan-hyaluronic acid dialdehyde hydrogels on the viability and growth of encapsulated chondrocytes. *Int J Biol Macromol*, 2017, 104: 1925-1935
- [57] Cai Z, Hong M, Xu L, et al. Prevent action of magnoflorine with hyaluronic acid gel from cartilage degeneration in anterior cruciate ligament transection induced osteoarthritis. *Biomed Pharmacother*, 2020, 126: 109733
- [58] Singh P, Schwarzbauer JE. Fibronectin matrix assembly is essential for cell condensation during chondrogenesis. *J Cell Sci*, 2014, 127(Pt 20): 4420-4428
- [59] Flintoff KA, Arudchelvan Y, Gong SG. FLRT2 interacts with fibronectin in the ATDC5 chondroprogenitor cells. *J Cell Physiol*, 2014, 229(10): 1538-1547
- [60] Cheng A, Cain SA, Tian P, et al. Recombinant

- extracellular matrix protein fragments support human embryonic stem cell chondrogenesis. *Tissue Eng Part A*, 2018, 24(11-12): 968-978
- [61] Teruaki M. Agent i.e. scaffold-forming agent for proliferating cartilage progenitor cells and inducing differentiation of cartilage progenitor cells into chondrocytes, useful for producing cartilage and treating osteoarthritis, comprises proteoglycan: Japanese, JP2021558437-X[P].2022-05-31. <https://www.webofscience.com/wos/diiddw/full-record/DIIDDW:202157283N?SID=USW2EC0F8BMGq-bU60Ui3gsaLie98A>
- [62] Jayasuriya C, Zhou F, Pei M, et al. Matrilin-3 chondrodysplasia mutations cause attenuated chondrogenesis, premature hypertrophy and aberrant response to TGF- β in chondroprogenitor cells. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(8): 14555-14573
- [63] Carrion B, Souzanchi MF, Wang VT, et al. The synergistic Effects of matrix stiffness and composition on the response of chondroprogenitor cells in a 3D precondensation microenvironment. *Adv Healthcare Mater*, 2016, 5(10): 1192-1202
- [64] Arora A, Kothari A, Katti DS. Pericellular plasma clot negates the influence of scaffold stiffness on chondrogenic differentiation. *Acta Biomater*, 2016, 46: 68-78
- [65] Kim J, Montagne K, Nemoto H, et al. Hypergravity down-regulates c-fos gene expression via ROCK/Rho-GTP and the PI3K signaling pathway in murine ATDC5 chondroprogenitor cells. *PLoS One*, 2017, 12(9): e0185394
- [66] Jiang KW, Ding L, Seol D, et al. Low-Intensity pulsed ultrasound promotes chondrogenic progenitor cell migration via focal adhesion kinase pathway. *Ultrasound Med Biol*, 2014, 40(6): 1177-1186
- [67] Li Y, Zhou J, Yang X, et al. Intermittent hydrostatic pressure maintains and enhances the chondrogenic differentiation of cartilage progenitor cells cultivated in alginate beads. *Dev Growth Differ*, 2016, 58(2): 180-193
- [68] Juhász T, Matta C, Somogyi C, et al. Mechanical loading stimulates chondrogenesis via the PKA/CREB-Sox9 and PP2A pathways in chicken micromass cultures. *Cell Signal*, 2014, 26(3): 468-482
- [69] Levato R, Webb WR, Otto IA, et al. The bio in the ink: cartilage regeneration with bioprintable hydrogels and articular cartilage-derived progenitor cells. *Acta BioMater*, 2017, 61: 41-53
- [70] Mouser VHM, Levato R, Mensinga A, et al. Bio-ink development for three-dimensional bioprinting of heterocellular cartilage constructs. *Connective Tissue Res*, 2020, 61(2): 137-151
- [71] Mancini IAD, Schmidt S, Brommer H, et al. A composite hydrogel-3D printed thermoplast osteochondral anchor as example for a zonal approach to cartilage repair: *in vivo* performance in a long-term equine model. *Biofabrication*, 2020, 12(3): 035028
- [72] Broguiere N, Cavalli E, Salzmänn GM, et al. Factor XIII cross-linked hyaluronan hydrogels for cartilage tissue engineering. *ACS Biomater Sci Eng*, 2016, 2(12): 2176-2184
- [73] Pereira DR, Silva-Correia J, Oliveira JM, et al. Macromolecular modulation of a 3D hydrogel construct differentially regulates human stem cell tissue-to-tissue interface. *Biomater Adv*, 2022, 133: 112611
- [74] Ren Y, Zhang H, Wang Y, et al. Hyaluronic acid hydrogel with adjustable stiffness for mesenchymal stem cell 3D culture via related molecular mechanisms to maintain stemness and induce cartilage differentiation. *ACS Appl Bio Mater*, 2021, 4(3): 2601-2613
- [75] Kapr J, Petersilie L, Distler T, et al. Human induced pluripotent stem cell-derived neural progenitor cells produce distinct neural 3D *in vitro* models depending on alginate/gellan gum/laminin hydrogel blend properties. *Adv Healthc Mater*, 2021, 10(16): e2100131
- [76] Lu H, Hoshiba T, Kawazoe N, et al. Cultured cell-derived extracellular matrix scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials*, 2011, 32(36): 9658-9666
- [77] Hoshiba T, Kawazoe N, Tateishi T, et al. Development of stepwise osteogenesis-mimicking matrices for the regulation of mesenchymal stem cell functions. *J Biol Chem*, 2009, 284(45): 31164-31173
- [78] Hoshiba T, Kawazoe N, Tateishi T, et al. Development of extracellular matrices mimicking stepwise adipogenesis of mesenchymal stem cells. *Adv Mater*, 2010, 22(28): 3042-3047
- [79] Yang Y, Lin H, Shen H, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular matrix enhances chondrogenic phenotype of and cartilage formation by encapsulated chondrocytes *in vitro* and *in vivo*. *Acta Biomater*, 2018, 69: 71-82
- [80] He F, Chen X, Pei M. Reconstruction of an *in vitro* tissue-specific microenvironment to rejuvenate synovium-derived stem cells for cartilage tissue engineering. *Tissue Eng Part A*, 2009, 15(12): 3809-3821
- [81] Li J, Pei M. Optimization of an *In Vitro* Three-dimensional microenvironment to reprogram synovium-derived stem cells for cartilage tissue engineering. *Tissue Eng Part A*, 2011, 17(5-6): 703-712
- [82] Li J, He F, Pei M. Creation of an *in vitro* microenvironment to enhance human fetal synovium-derived stem cell chondrogenesis. *Cell Tissue Res*, 2011, 345(3): 357-365
- [83] Li J, He F, Pei M. Chondrogenic priming of human fetal synovium-derived stem cells in an adult stem cell matrix

- microenvironment. [Genes Dis](#), 2015, 2(4): 337-346
- [84] Pei M, Zhang Y, Li J, et al. Antioxidation of decellularized stem cell matrix promotes human synovium-derived stem cell-based chondrogenesis. [Stem Cells Dev](#), 2013, 22(6): 889-900
- [85] Zhang Y, Li J, Davis ME, et al. Delineation of *in vitro* chondrogenesis of human synovial stem cells following preconditioning using decellularized matrix. [Acta Biomater](#), 2015, 20: 39-50
- [86] Xiong X, Yang X, Dai H, et al. Extracellular matrix derived from human urine-derived stem cells enhances the expansion, adhesion, spreading, and differentiation of human periodontal ligament stem cells. [Stem Cell Res Ther](#), 2019, 10(1): 396
- [87] Hoshiba T, Sugano Y, Yokoyama N. Murine neural stem cell (NSC) line, MEB5-derived decellularized matrix as an *in vitro* extracellular matrix model in NSC niche. [Chem Lett](#), 2018, 47(12): 1498-1501