



间充质干细胞的生物学特性及临床应用

韩忠朝*, 王伟强

中国医学科学院&北京协和医学院血液病医院(血液学研究所), 天津 300020

* 联系人, E-mail: hanzhongchao@hotmail.com

收稿日期: 2017-10-13; 接受日期: 2017-11-05; 网络版发表日期: 2017-12-14

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs), 也被称为多能干细胞, 最早于1987年被Friedenstein等人^[1]在骨髓中发现并成功分离培养. MSCs几乎存在于所有类型的组织中, 是基质细胞的起源细胞. MSCs可以分化为不同的细胞类型, 如脂肪细胞、骨细胞、软骨细胞、肌肉细胞、肝细胞等^[2]. 根据国际细胞治疗协会的规定, MSCs表达CD105 (SH2), CD73 (SH3), CD44和CD90, 而不表达CD45, CD34, CD11b, CD19和HLA-DR, 同时可以贴壁培养并能够分化为上述不同类型的功能细胞^[3]. 不同组织中MSCs所占比例有很大差异, 从0.001%到0.01%不等^[4]. 研究表明, 从1 g脂肪组织中能够分离 5×10^3 MSCs, 是从1 g骨髓中分离MSCs数量的500倍^[5]. 孕妇生产时通常被丢弃的胎盘和脐带中也含有丰富的MSCs, 有望成为MSCs稳定而丰富的来源. 早在2006年本研究组就开发一套成熟的流程, 能够稳定地从脐带组织分离大量临床应用级别的MSCs, 这些MSCs同样具有支持造血的功能^[6].

1 MSCs的生物学特性

1.1 MSCs的生物学功能

MSCs表面表达MHC I类分子, 但不表达MHC II分子, 同时MSCs也不表达共刺激分子CD40, CD80和CD86. 虽然MSCs表面表达的MHC I类分子会激

活T细胞, 但共刺激分子的缺失表达致使第二信号不能产生, 因此异体应用MSCs不会引起免疫排斥反应^[7]. 除具备自我复制和多系分化的潜能外, MSCs还通过分泌转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、一氧化氮/吡啶昔酚(nitric oxide/idoxifene, NO/IDO)、白介素-10 (interleukin-10, IL-10)、IL-6、白介素-1受体 α (interleukin-1 receptor, IL-1R α)、人白细胞抗原-G (human leucocyte antigen-G, HLA-G)、前列腺素E2 (prostaglandin E2, PGE-2)等多种可溶性因子实现免疫调节、支持造血、促血管新生等生物学功能^[8-10]. 例如, 本研究组发现胎盘MSCs能够促进糖尿病下肢缺血小鼠(*Mus musculus*)血管新生, 除MSCs能够直接形成血管内皮细胞外, 还能够分泌促血管新生因子, 如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、血小板源性生长因子-BB (platelet derived growth factor-BB, PDGF-BB)和碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, b-FGF)^[10]. MSCs分泌的胞外膜泡(主要包括外泌体和微泡)也具有调控免疫反应、减轻氧化应激和组织纤维化等作用, 在移植抗宿主病、急性心梗、肝脏疾病等都发挥了治疗作用^[11,12]. 一项设有安慰剂对照组的临床研究发现, 脐带MSCs分泌的胞外膜泡能够显著改善III和IV期慢性肾病患者血尿素、血肌酐、尿白蛋白/肌酐比值

引用格式: 韩忠朝, 王伟强. 间充质干细胞的生物学特性及临床应用. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 1404-1409

英文版见: Han Z C, Wang W Q. Biological characteristics of mesenchymal stem cells and their clinical application (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2017, 47: 1404-1409, doi: 10.1360/N052017-00264

和肾小球滤过率, 并且治疗过程中没有发生任何毒副反应^[13]. MSCs能够定向归巢到炎症部位, 发挥免疫调节作用, 而且在不同的炎症微环境下MSCs能够发挥截然相反的作用. 在炎症的早期, MSCs能够促进炎症反应, 有利于病菌的清除, 而到了炎症反应的中晚期, 为了抑制过度炎症反应对组织造成的损伤, MSCs会改变表型, 发挥抑制T细胞、B细胞、树突状细胞、NK细胞、巨噬细胞等免疫细胞活化的作用^[14].

1.2 不同组织来源MSCs的差异

本研究比较了骨髓、脂肪、脐带和胎盘MSCs之间的差异发现, (i) 4种不同来源MSCs均高表达干细胞标记分子Nestin, Sox2, CD29, CD44, CD73, CD90和CD105. 人血管内皮细胞黏附分子1 (VCAM-1/CD106) 是介导MSCs与造血祖细胞结合^[15], 并且是MSCs发挥免疫抑制作用的关键分子^[16], 在胎盘MSCs的表达水平(68%)远高于其他3种来源的MSCs; (ii) 胎盘和脐带MSCs的增殖能力相似, 均明显高于脂肪和骨髓MSCs, 骨髓MSCs增殖能力最弱; (iii) 4种不同来源MSCs的分化能力各有千秋, 骨髓和脂肪MSCs的成脂分化能力明显高于脐带和胎盘MSCs, 而骨髓和胎盘MSCs的血管细胞分化能力远高于脂肪和脐带MSCs; (iv) 在促进血管内皮细胞增殖方面, 骨髓和胎盘MSCs的作用显著高于脂肪和脐带MSCs; (v) 在免疫调节方面, 胎盘MSCs表达PGE2的水平最高, 且抑制外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)合成IFN- γ 的作用最强^[17]. 另外, 本研究组进一步深入研究了不同组织来源MSCs的促血管新生活性, 发现骨髓和胎盘MSCs的促血管新生活性明显优于脐带和脂肪来源的MSCs, 并发现骨髓MSCs分泌更高水平的VEGF, 而胎盘MSCs分泌更高水平HGF和PGE-2^[18].

1.3 MSCs的功能亚群

MSCs是一个异质性细胞群, 鉴定出具备特定生物学功能的细胞亚群是当下的一个重要研究方向. 本研究组发现, CD106⁺ MSCs是胎盘MSCs中一个重要亚群, 与CD106⁻ MSCs相比, 高表达免疫调节和促血管新生的细胞因子^[17], 且促进下肢缺血小鼠血管新生的活性更高^[19]. 另外, CD106⁺ MSCs能够抑制CD4⁺T辅助细胞生成IFN- γ , TNF- α , TGF- β 等炎症因子, 同时促进CD4⁺T辅助细胞分化为免疫抑制细胞Treg^[20]. 图1为

MSCs的生物学特性示意图.

2 间充质干细胞的一般临床应用

2.1 MSCs发挥治疗作用的机制

MSCs的获取途径多, 冻存后易复苏和体外大量扩增, 有望批量生产用于临床疾病治疗^[21]. 目前, MSCs是临床应用研究最多的干细胞类型, 在移植物抗宿主病、肾脏损伤、组织器官移植的免疫耐受、神经损伤、风湿性疾病、肝脏疾病等都发挥了良好的治疗作用^[7,11,22-25]. MSCs发挥治疗作用的机制主要有以下4个方面: (i) 定向归巢到病变组织; (ii) 定向分化为不同的组织细胞类型; (iii) 分泌多种生物活性分子, 调控免疫反应, 促进损伤细胞修复; (iv) 不具有免疫原性, 不会引发机体排斥反应^[26].

2.2 MSCs临床试验

广州多家医院进行的一项多中心II期临床试验结果显示, 骨髓MSCs与半相合造血干细胞共移植治疗重度再生障碍性贫血, 移植失败率和重度移植物抗宿主病的发生率均明显降低^[27]. 同样, 将脐带MSCs与半相合造血干细胞共移植分别治疗难治/复发性恶性血液病和重度再生障碍性贫血, 治疗过程中没有发生任何与脐带MSCs输注相关的不良反应, 造血干细胞的定植成功率显著提升, 重度移植物抗宿主病的发生率

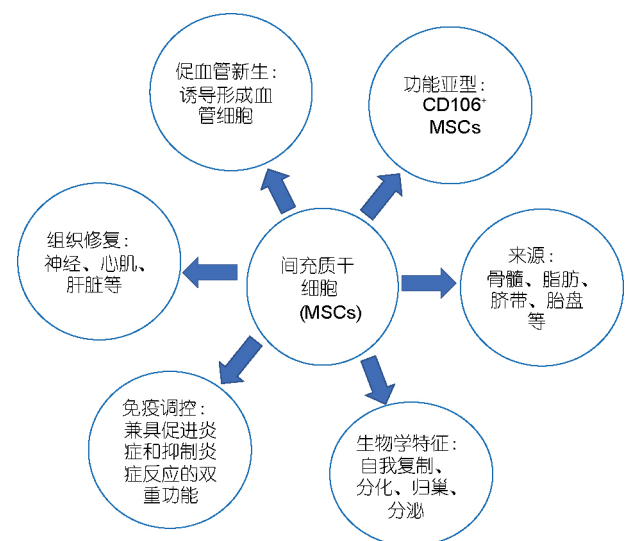


图1 MSCs的生物学特性示意图(网络版彩图)

明显减少^[28,29], 这提示脐带MSCs与骨髓MSCs相似, 同样具有促进造血干细胞定植和减轻移植物抗宿主病的作用. 应用脐带MSCs治疗一例合并下肢溃疡的系统性硬化症患者, 细胞移植过程中及移植后均未发生毒副反应, 患者的炎症评分显著下降, 足部溃疡基本愈合^[30]. 有临床个案报道称脐带MSCs对自身免疫性疾病系统性红斑狼疮和干燥综合症亦有治疗作用^[31]. 用胎盘MSCs治疗胰岛细胞功能异常的2型糖尿病患者, 干细胞静脉输注后大部分患者的胰岛素用量减半, 并且血清胰岛素水平明显升高^[32]. 与本研究组的发现相似, 有研究者报道胎盘MSCs对糖尿病相关的心脏舒张功能异常具有明显改善作用, 机制是降低患者心肌的僵硬度^[33].

近期, 本研究组即将开展胎盘间充质干细胞治疗肝硬化和克罗恩并并发瘻管的临床试验. MSCs的临床试验在世界范围内也正在如火如荼的进行中. 截止到2017年7月, clinicaltrial.org网站注册应用MSCs开展

的临床试验有601项, 中国临床试验注册中心注册的间充质干细胞临床试验有57项. 这充分说明MSCs是世界范围内临床应用研究的热点, 而我国在这一领域也显示了强劲的发展势头.

2.3 世界上批准上市的MSCs临床治疗产品

目前, 全世界各国批准上市的干细胞产品有13种(绝大多数为MSCs产品), 如表1所示.

3 MSCs在皮肤损伤修复中的应用

应用皮肤来源的细胞进行细胞治疗或培养皮肤上皮细胞进行移植是医院治疗烧伤和皮肤创伤的常用方法. 然而, 该方法存在细胞利用率低、移植排斥等诸多问题. 鉴于MSCs具备促进血管新生、调节免疫反应、分泌生长因子等特性, 在深度皮肤烧伤、糖尿病足溃疡、皮肤伤口不愈合等的治疗中显示了良好

表1 全世界各国批准上市的干细胞产品

批准时间	国家	商品名(公司)	活性成分	适应症
2009.10	欧洲	ChondroCelect (TiGenix)	自体软骨细胞	膝关节软骨缺损
2009.12	美国	Prochymal	人异基因骨髓来源间充质干细胞	GVHD和克罗恩病
2010.07	澳洲	MesenchymalPrecursor (Mesoblast)	自体间质前体细胞	骨修复
2011.07	韩国	Hearticellgram-AMI (FCB-Pharmicell)	自体骨髓间充质干细胞	急性心肌梗死
2011.11	美国	Hemacord (New York Blood Center)	脐带血造血干细胞	造血系统疾病
2012.01	韩国	Cartistem (Medipost Inc.)	脐带血源间充质干细胞	退行性关节炎和受损膝盖软骨
2012.01	韩国	Cuepistem (Anterogen)	自体脂肪间充质干细胞	复杂性克隆氏病并发肛痿
2012.05	加拿大 新西兰	Prochymal (Osiris Therapeutic)	骨髓间充质干细胞	对激素类药物无反应的儿童严重GVHD
2012.07	美国	MultiStem (Athersys Inc.)	骨髓多能成体祖细胞	赫尔勒氏综合征Hurler's Syndrome
2015.02	欧盟	Holoclar (Chiesi Farmaceutici)	自体角膜缘干细胞	角膜损伤
2015.06	欧盟	Stempeusel	骨髓来源混合间充质干细胞	血栓闭塞性动脉炎
2015.09	日本	TEMCELL [®] HS (JCR Pharmaceuticals Co.,Ltd.)	同种异体人骨髓间充质干细胞	造血干细胞移植后急性GvHD
2016.12	美国	Maci	自体软骨细胞	膝关节软骨损伤

的效果^[34-37]. 对于严重的放射性皮肤损伤, 传统的外科治疗包括切除、自体皮肤移植或皮瓣, 但常不能控制皮肤坏死过程的进展. 临床前和临床研究的结果均显示, 将体外扩增的MSCs注射到严重辐射灼伤的皮肤, 能够显著控制疾病的进展^[38].

将人胎盘MSCs与凝胶混合, 制备了MSCs凝胶制剂并申请发明专利(申请号201210133427X), 外用治疗大鼠(*Rattus norvegicus*)和兔子(*Leporidae*)的皮肤损伤, 取得了良好的效果. 另外, 还将MSCs凝胶制剂用于严重烧伤和糖尿病溃疡的患者, 也取得了良好的效果. 相关的研究结果正在整理之中, 近期会投稿发表. 本研究为MSCs的外用提供了一个新的应用途径.

4 MSCs在癌症治疗中的应用

癌细胞丢失了正常细胞的周期检测点, 呈现不可控的分裂增殖, 大量掠夺机体营养, 最终造成机体死亡^[39]. 对于晚期肿瘤, 往往只能使用放疗或化疗, 但疗效并不尽如人意, 其中一个重要的原因是治疗的副作用太大. 在过去的几十年中, 科学家一直期望找到能够准确靶向治疗癌症的方法. 虽然取得了一些进展,

如针对非小细胞肺癌的小分子靶向药吉非替尼, 但到目前为止, 还没有出现非常准确或推荐的癌症靶向治疗手段. 由于MSCs具有向癌症部位定向迁移和大量表达外源导入基因的双重特性, 因此有望作为载体携带自杀基因发挥靶向杀死肿瘤细胞的作用^[40]. 另外, 加利福尼亚大学的科研人员利用间充质干细胞能够感知肿瘤的僵硬并改变自身行为的能力, 通过间充质干细胞向小鼠体内靶向输送抗癌药物, 大大减少了药物对非肿瘤组织的损害^[41].

5 结论与展望

临床前和临床再生医学研究已深入探究了MSCs的免疫调节、旁分泌作用和移植后细胞存活等生物学特性及临床潜能, 间充质干细胞治疗已逐渐成为疾病治疗手段的重要组成部分. 大量的研究正逐步总结出间充质干细胞用于临床治疗的方式、时机、细胞来源等方案和流程. 围产期组织含有丰富的MSCs, 且不存在伦理障碍, 是未来大批量制备MSCs的最佳来源. 进一步的研究聚焦于优化MSCs的工业化制备工艺及其组织和器官再生潜能, 以不断验证和强化其在未来再生医学中的价值.

参考文献

- 1 Friedenstein A J, Chailakhyan R K, Gerasimov U V. Bone marrow osteogenic stem cells: *in vitro* cultivation and transplantation in diffusion chambers. *Cell Tissue Kinet*, 1987, 20: 263–272
- 2 Chamberlain G, Fox J, Ashton B, et al. Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. *Stem Cells*, 2007, 25: 2739–2749
- 3 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: 315–317
- 4 Pittenger M F, Mackay A M, Beck S C, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 1999, 284: 143–147
- 5 Fraser J K, Wulur I, Alfonso Z, et al. Fat tissue: an underappreciated source of stem cells for biotechnology. *Trends Biotech*, 2006, 24: 150–154
- 6 Lu L L, Liu Y J, Yang S G, et al. Isolation and characterization of human umbilical cord mesenchymal stem cells with hematopoiesis-supportive function and other potentials. *Haematologica*, 2006, 91: 1017–1026
- 7 Dunavin N, Dias A, Li M, et al. Mesenchymal stromal cells: what is the mechanism in acute graft-versus-host disease? *Biomedicines*, 2017, 5: 39
- 8 Volarevic V, Gazdic M, Simovic Markovic B, et al. Mesenchymal stem cell-derived factors: immuno-modulatory effects and therapeutic potential. *Biofactors*, 2017, 43: 633–644
- 9 Aqmasheh S, Shamsasanjan K, Akbarzadehlaleh P, et al. Effects of mesenchymal stem cell derivatives on hematopoiesis and hematopoietic stem cells. *Adv Pharm Bull*, 2017, 7: 165–177
- 10 Liang L, Li Z, Ma T, et al. Transplantation of human placenta-derived mesenchymal stem cells alleviates critical limb ischemia in diabetic nude rats. *Cell Transplant*, 2017, 26: 45–61
- 11 Lou G, Chen Z, Zheng M, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes as a new therapeutic strategy for liver diseases. *Exp Mol Med*, 2017, 49: e346

- 12 Börger V, Bremer M, Ferrer-Tur R, et al. Mesenchymal stem/stromal cell-derived extracellular vesicles and their potential as novel immunomodulatory therapeutic agents. *Int J Mol Sci*, 2017, 18: 1450
- 13 Nassar W, El-Ansary M, Sabry D, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cells derived extracellular vesicles can safely ameliorate the progression of chronic kidney diseases. *Biomater Res*, 2016, 20: 21
- 14 黄庆雷, 魏晓飞. 间充质干细胞免疫调节的可塑性. *中国科学: 生命科学*, 2016, 46: 799–808
- 15 Simmons P J, Masinovsky B, Longenecker B M, et al. Vascular cell adhesion molecule-1 expressed by bone marrow stromal cells mediates the binding of hematopoietic progenitor cells. *Blood*, 1992, 80: 388–395
- 16 Ren G, Zhao X, Zhang L, et al. Inflammatory cytokine-induced intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in mesenchymal stem cells are critical for immunosuppression. *J Immunol*, 2010, 184: 2321–2328
- 17 Han Z C, Du W J, Han Z B, et al. New insights into the heterogeneity and functional diversity of human mesenchymal stem cells. *BME*, 2017, 28: S29–S45
- 18 Du W J, Chi Y, Yang Z X, et al. Heterogeneity of proangiogenic features in mesenchymal stem cells derived from bone marrow, adipose tissue, umbilical cord, and placenta. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7: 163
- 19 Du W, Li X, Chi Y, et al. VCAM-1⁺ placenta chorionic villi-derived mesenchymal stem cells display potent pro-angiogenic activity. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7: 49
- 20 Yang Z X, Han Z B, Ji Y R, et al. CD106 identifies a subpopulation of mesenchymal stem cells with unique immunomodulatory properties. *PLoS ONE*, 2013, 8: e59354
- 21 DiGirolamo C M, Stokes D, Colter D, et al. Propagation and senescence of human marrow stromal cells in culture: a simple colony-forming assay identifies samples with the greatest potential to propagate and differentiate. *Br J Haematol*, 1999, 107: 275–281
- 22 Roushbandeh A M, Bahadori M, Roudkenar M H. Mesenchymal stem cell-based therapy as a new horizon for kidney injuries. *Archiv Med Res*, 2017, 48: 133–146
- 23 Contreras-Kallens P, Terraza C, Oyarce K, et al. Mesenchymal stem cells and their immunosuppressive role in transplantation tolerance. *Ann NY Acad Sci*, 2017, in press doi: 10.1111/nyas.13364
- 24 Qu J, Zhang H. Roles of mesenchymal stem cells in spinal cord injury. *Stem Cells Int*, 2017, 2017: 1–12
- 25 Franceschetti T, De Bari C. The potential role of adult stem cells in the management of the rheumatic diseases. *Ther Adv Musculoskeletal Dis*, 2017, 9: 165–179
- 26 Sharma R R, Pollock K, Hubel A, et al. Mesenchymal stem or stromal cells: a review of clinical applications and manufacturing practices. *Transfusion*, 2014, 54: 1418–1437
- 27 Liu Z, Zhang Y, Xiao H, et al. Cotransplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in patients with severe aplastic anemia: an interim summary for a multicenter phase II trial results. *Bone Marrow Transplant*, 2017, 52: 704–710
- 28 Wu Y, Wang Z, Cao Y, et al. Cotransplantation of haploidentical hematopoietic and umbilical cord mesenchymal stem cells with a myeloablative regimen for refractory/relapsed hematologic malignancy. *Ann Hematol*, 2013, 92: 1675–1684
- 29 Wu Y, Cao Y, Li X, et al. Cotransplantation of haploidentical hematopoietic and umbilical cord mesenchymal stem cells for severe aplastic anemia: successful engraftment and mild GVHD. *Stem Cell Res*, 2014, 12: 132–138
- 30 顾菲, 张华勇, 冯学兵, 等. 脐带间充质干细胞移植治疗难治性系统性硬化症一例. *中华风湿病学杂志*, 2009, 13: 208–209
- 31 Phillips C D, Wongsaisri P, Htut T, et al. Purified umbilical cord derived mesenchymal stem cell treatment in a case of systemic lupus erythematosus. *Clin Trans Med*, 2017, 6: 31
- 32 Jiang R, Han Z, Zhuo G, et al. Transplantation of placenta-derived mesenchymal stem cells in type 2 diabetes: a pilot study. *Front Med*, 2011, 5: 94–100
- 33 Van Linthout S, Hamdani N, Miteva K, et al. Placenta-derived adherent stromal cells improve diabetes mellitus-associated left ventricular diastolic performance. *Stem Cells Transl Med*, 2017, in press doi: 10.1002/scrm.17-0130
- 34 Falanga V, Iwamoto S, Chartier M, et al. Autologous bone marrow-derived cultured mesenchymal stem cells delivered in a fibrin spray accelerate healing in murine and human cutaneous wounds. *Tissue Eng*, 2007, 13: 1299–1312
- 35 Rasulov M F, Vasil'chenkov A V, Onishchenko N A, et al. First experience in the use of bone marrow mesenchymal stem cells for the treatment of a patient with deep skin burns. *Bull Exp Biol Med*, 2005, 139: 141–144
- 36 Ravari H, Hamidi-Almadari D, Salimifar M, et al. Treatment of non-healing wounds with autologous bone marrow cells, platelets, fibrin glue and collagen matrix. *Cytotherapy*, 2011, 13: 705–711
- 37 Vojtassák J, Danisovic L, Kubes M, et al. Autologous biograft and mesenchymal stem cells in treatment of the diabetic foot. *Neuro Endocrinol*

- Lett, 2006, 27: 134–137
- 38 Benderitter M, Gourmelon P, Bey E, et al. New emerging concepts in the medical management of local radiation injury. [Health Phys](#), 2010, 98: 851–857
- 39 Gore L, DeGregori J, Porter C C. Targeting developmental pathways in children with cancer: what price success? [Lancet Oncol](#), 2013, 14: e70–e78
- 40 Moradian Tehrani R, Verdi J, Noureddini M, et al. Mesenchymal stem cells: A new platform for targeting suicide genes in cancer. [J Cell Physiol](#), 2017, in press doi: 10.1002/jcp.26094
- 41 Liu L, Zhang S X, Liao W, et al. Mechanoresponsive stem cells to target cancer metastases through biophysical cues. [Sci Transl Med](#), 2017, 9: ean2966