

脐带间充质干细胞的生物学特性及旁分泌作用的研究进展

陈小巧, 牧仁*, 李玉玲

内蒙古师范大学生命科学与技术学院, 呼和浩特 010022

摘要: 脐带是由胚胎外中胚层和/或胚胎中胚层发育而来的组织, 脐带间充质干细胞是具有自我更新、多向分化以及高度增殖潜能的多功能干细胞。研究证明, 脐带间充质干细胞具有以下功能: 参与炎症反应, 抑制炎症因子分泌并促进免疫调节; 参与受损伤组织的治疗与修复使其再生并改善特定疾病症状; 抑制肿瘤增殖和迁移以及促进其凋亡等。然而目前尚未明确以上功能是间充质干细胞本身发挥作用, 还是其分泌的相关因子对机体修复产生作用。主要对脐带间充质干细胞的定义、来源、生物学特性、分泌功能等方面的研究进展进行了综述, 旨在更好地利用间充质干细胞修复组织, 为脐带间充质干细胞的后续研究提供参考依据。

关键词: 脐带间充质干细胞; 生物学特性; 免疫调节; 旁分泌作用; 抗肿瘤

DOI: 10.19586/j.2095-2341.2022.0010

中图分类号: R329.2

文献标志码: A

Research Progress on the Biological Characteristics and Paracrine Effects of Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells

CHEN Xiaoqiao, MU Ren*, LI Yuling

College of Life Science and Technology, Inner Mongolia Normal University, Hohhot 010022, China

Abstract: The umbilical cord is a tissue developed from the embryonic outer mesoderm and/or embryonic mesoderm. Umbilical cord mesenchymal stem cells are multifunctional stem cells with self-renewal, multi-directional differentiation and high proliferation potential. Studies have shown that umbilical cord mesenchymal stem cells have following functions: participating in inflammatory response, inhibiting the secretion of inflammatory factors and promoting immune regulation; participating in the treatment and repair of injured tissue to regenerate and improving the symptoms of specific diseases; inhibiting tumor proliferation and migration and promoting its apoptosis. However, it is not clear whether the mesenchymal stem cells themselves or the related factors secreted by mesenchymal stem cells were responsible for body repair. This article mainly reviewed the progress in the definition, source, biological characteristics and secretory function of umbilical cord mesenchymal stem cells, which aimed to make use of the ability of mesenchymal stem cells to repair tissue, and provide references for the follow-up research of umbilical cord mesenchymal stem cells.

Key words: umbilical cord mesenchymal stem cells; biological characteristics; immunomodulatory; paracrine effects; anti-tumor

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一类来源于发育早期中胚层和外胚层的多功能干细胞, 具有成体干细胞的自我更新和多向分化潜能, 可以分化成多种结缔组织细胞、内皮细胞和平滑肌细胞^[1], 在体内分布较广泛。MSCs在一定条件下可分化为骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞等,

因此在不同的组织中均存在 MSCs, 如脂肪、胎盘、肌肉、血液、骨髓以及脐带等^[2]。MSCs 可以治疗自身免疫性疾病、炎症和退行性疾病, 且在各种动物模型治疗中应用广泛^[3-6]。研究表明, MSCs 具有多向分化能力、免疫调节作用、归巢能力和旁分泌作用, 有助于损伤组织修复^[6]。

收稿日期: 2022-01-27; 接受日期: 2022-04-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(31260265); 内蒙古自治区自然科学基金项目(2019MS08166)。

联系方式: 陈小巧 E-mail: cxq1019@qq.com; * 通信作者 牧仁 E-mail: mmarstina@126.com

目前关于出生后胎儿的遗弃组织(羊水、胎盘、羊膜、脐带等)提取的 MSCs 受到了人们广泛的关注,其中脐带是妊娠第 26 天开始由胚胎外中胚层和/或胚胎中胚层发育而来的组织,富含胶原和葡糖胺聚糖(glycosaminoglycans, GAGs),其中胶原约占脐带干重的 50%, GAGs 中透明质酸占 70%^[7]。华通氏胶的主要成分是透明质酸(hyaluronic acid)和硫酸软骨素(chondroitin sulfate),其形成凝胶状包裹住华通氏胶间充质干细胞和胶原纤维。在妊娠期间脐带是胎儿与孕母之间的血管纽带,主要作用为保护血管,确保血液供应和从胎儿体内排出生物废物,其表面覆盖着羊膜衍生的单层上皮,在妊娠后期分层。脐带内含有一条脐静脉血管和两条脐动脉血管,由华通氏胶包裹着 3 条脐血管。脐动脉缺乏内外弹力层,外膜由粘液结缔组织代替。脐静脉的特点是有一层厚厚的肌层,内含不同方向的平滑肌纤维。所有的血管通常都是以左螺旋转弯的方式组织起来的,无毛细血管和淋巴管(图 1~2)。

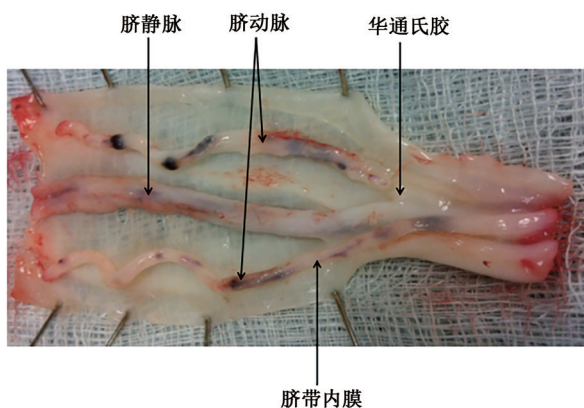


图 1 部分脐带解剖图^[8]

Fig. 1 Partial umbilical cord anatomical diagram^[8]

脐带间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cells, UC-MSCs)具有较高的增殖和自我更新能力,其免疫原性低,且不存在道德伦理问题,取材方便,是一种在兽医和人类医学应用中有广阔前景的间充质干细胞来源。但目前关于 UC-MSCs 的报道主要是其对某一种疾病的治疗作用及机制,鲜少有归纳 UC-MSCs 旁分泌效应对修复损伤组织作用的研究。本文综述了 UC-MSCs 的生物学特性,包括 UC-MSCs 的来源、免疫表型、增殖分化潜能,并总结了其旁分泌作用对损伤组织

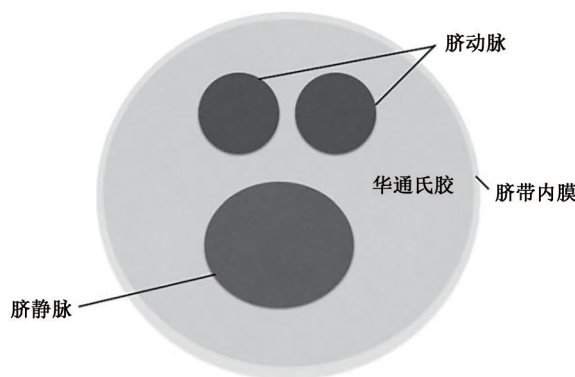


图 2 脐带切面图^[9]

Fig. 2 Umbilical cord section^[9]

修复的影响,旨在全面认识了解 UC-MSCs 的生物学特性,深入研究和探索生物学机制,以期为未来更好地开展 UC-MSCs 相关基础研究和医学转化应用提供理论依据。

1 UC-MSCs 的生物学特性

1.1 UC-MSCs 的来源

UC-MSCs 来源于胎儿脐带结扎后残留的血液和遗弃的脐带组织,是一种多功能干细胞,具有增殖、分化等特性,且还含有免疫特权,同时具有免疫调节的作用,可能适合基于同种异体基因的治疗。1991 年,McElreavey 等^[10]首次从人脐带的华通氏胶中分离并培养出了一种具有高分化潜能的成纤维样细胞。2003 年, Romanov 等^[11]在脐带静脉血管内皮中发现了 MSCs,且其具有向骨细胞、脂肪细胞分化的能力。此外,在脐带内膜、血管周围间质中均发现了间充质干细胞,且这些细胞均具有分化潜能,可以分化成骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞、肝细胞、神经细胞和心脏细胞等^[12]。随后,更多研究在脐带不同区域都分离出高增殖、具有分化潜能的间充质干细胞^[13-18]。

1.2 UC-MSCs 的免疫表型

MSCs 具有多向分化潜能,因此不同组织产生不同类型的终末分化 MSCs。不同来源的 MSCs 之间有许多相似之处,但在生物学特性上表现出一定的差异。目前临床上应用较多的为骨髓、脐带和脐血来源的 MSCs。

文献分析(表 1)发现,脐带来源和骨髓间充质干细胞大多数表达 5-核苷酸酶(5-nucleotidase, CD73)、肿瘤新生血管的标志物(endoglin,

CD105)、CD90(thy-1),单核细胞分化抗原(cluster of differentiation 14, CD14)、I型跨膜糖蛋白(CD34)、白细胞共同抗原(leukocyte common antigen, LCA/CD45)和人类淋巴细胞抗原II(human lymphocyte antigen II, HLA II),这明确区分了MSCs与造血干细胞,可达到MSC最低的鉴定标准,但表1所列出的表面标记并不是MSCs特定的或者唯一的标志,原因为MSCs上的标记谱图可能会随不同分离培养和扩增条件而发生改变。

骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSCs)和器官的自体间充质干细胞的采集具有侵入性,细胞数量有限,干细胞数量随供体年龄的增长而减少,UC-MSCs更加原始,其具有与胚胎干细胞更多共同的表达基因,能表达出胚胎干细胞的一些表面标志物^[13-15],如SSEA-4、Sox2、Nanog和Nucleostemin基因。Nanog参与未分化胚胎干细胞的自我更新,Nanog基因表达量的高低与细胞的分裂、分化情况以及干细胞干性具有相关性。Nanog基因在

分裂旺盛的细胞中高表达,随着细胞分化程度的加深,Nanog基因的表达式逐渐降低,在完全分化的细胞中,Nanog基因不表达^[23]。表明UC-MSC具有很强的干细胞特性,不会随着年龄的增殖而降低分化潜能。SSEA-4胚胎干细胞表面标志物和几个重要的自我更新调控基因可以进一步证明UC-MSCs的中间同一性,即它们与胚胎干细胞和成体干细胞有一些相似的特征,这可能是再生医学的一个重要标志,因为胚胎和成人干细胞在细胞治疗策略中均存在一些障碍,因此探寻一种无胚胎和成人干细胞限制的新干细胞来源具有重要意义。

MSCs能通过细胞间的直接接触或分泌可溶性因子来改变T细胞、B细胞、树突细胞和自然杀伤(natural killer, NK)细胞的功能^[24]。以上结果说明UC-MSCs是一类具有很强干细胞特性的细胞,其具有免疫调节功能,主要通过诱导分泌更多的免疫调节细胞因子从而达到免疫抑制活性的作用。由于UC-MSCs具有较低的免疫原性,故UC-

表1 不同来源的MSCs表面标志物

Table 1 Surface markers of MSCs from different sources

来源	表面标志物	
	阳性	阴性
骨髓 ^[19-20]	CD29、CD44、CD71、CD73、CD90、CD105(SH2)、CD106、CD120a、CD124、CD166(SH3)	CD14、CD34、CD45、HLA-DR
脐带血 ^[21]	CD29、CD44、CD73、CD105、CD106、HLA I	CD14、CD34、CD45、CD133、HLA II
华通氏胶 ^[13-14, 16]	CD13、CD29、CD44、CD73、CD90、CD105、CD117(C-kit)、HLA I、OCT4、Sox2、Nanog和Nucleostemin	CD31、CD34、CD45、HLA II、CD14
脐血管 ^[15, 18]	CD13、CD29、CD73、CD90、CD105、OCT-4、SSEA-4、Nanog、ZFX、Bmi-1、Nucleostemin	CD34、CD45、HLA-DR、SSEA-3、TRA-1-60、TRA-1-81
脐带内膜 ^[17]	CD44、CD73、CD105、CD106、CD166、STRO-1、SSEA-4、HLA-ABC	CD19、CD34、CD45、CD117、CD133、HLA-DR
脐带血管周围 ^[22]	CD44、CD73(SH3)、CD90(Thy-1)、CD105(SH2)、CD117(C-kit)、MHC I	CD34、CD45、CD235a、CD106、CD123、SSEA-4、HLA-DR、HLA-DP、HLA-DQ(MHC II)、HLA-G、OCT-4

注:CD29—整合素β1;CD44—归巢细胞粘附分子;CD71—转铁蛋白受体;CD73—5-核苷酸酶;CD90—Thy-1细胞表面抗原;CD105(SH2)—肿瘤新生血管的标志物;CD106—血管细胞粘附分子-1;CD120 a—肿瘤坏死因子受体1型;CD124—白细胞介素-4;CD166(SH3)—活化白细胞粘附分子;CD14—单核细胞分化抗原CD14;CD34—CD34分子;CD45—白细胞共同抗原;HLA-DR—人白细胞抗原DR;HLA I—人白细胞抗原I;CD133—造血干细胞抗原;HLA II—人白细胞抗原II;CD13—胺肽酶N;CD117(C-kit)—干细胞生长因子;OCT4—八聚体转录因子;Sox2—性别决定区Y框蛋白2;Nanog—同源盒转录因子;Nucleostemin—核干细胞因子;CD31—血小板-内皮细胞粘附分子;SSEA-4—阶段特异性胚胎表面抗原4;ZFX—X-连锁凋亡蛋白;Bmi-1—B细胞特异性莫洛氏鼠白血病病毒插入位点-1;HLA-DP—人白细胞抗原DP;SSEA-3—阶段特异性胚胎表面抗原3;TRA-1-60—肿瘤相关抗原谱系60;TRA-1-81—肿瘤相关抗原谱系8;STRO-1—基质细胞抗原1;HLA-ABC—人类白细胞ABC抗原;CD19—B淋巴细胞抗原CD19;MHC I—主要组织相容性复合体;CD235 a—糖蛋白A;CD123—白细胞介素-3受体;HLA-DQ—人白细胞抗原DQ;HLA-G—人白细胞抗原G。

MSCs成为最有希望治疗免疫性疾病的一种细胞。但目前对于UC-MSCs的大部分研究仍局限于动物实验,在体内是否具有同等的效果还需进一步研究。

1.3 UC-MSCs的增殖分化潜能

1.3.1 UC-MSCs的增殖能力 UC-MSCs较壁蜕膜间充质干细胞(parietal decidual mesenchymal stem cells, PD-MSCs)、BM-MSCs和脂肪间充质干细胞(adipose-derived mesenchymal stem cells, AD-MSCs)具有更强的增殖能力^[25-26]。不同来源的细胞具有相似的细胞因子分泌谱,此外间充质干细胞分泌的细胞因子,如碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和干细胞因子(stem cell factor, SCF)等,在细胞增殖、分化、生长和组织修复中发挥重要作用。其中UC-MSCs的bFGF表达水平高于DP-MSCs,而KGF、VEGF和SCF的表达水平均低于DP-MSCs^[27]。bFGF具有促进表皮细胞及其他细胞生长分裂和增殖的作用。故UC-MSCs增殖能力高于DP-MSCs。

近年来,有研究发现,与正常氧浓度(21% O₂)情况相比,体外培养UC-MSCs在低氧情况下(3% O₂)能提高增殖能力和克隆形成能力,且低氧预处理的UC-MSCs可通过Wnt/ β -catenin途径促进其体外迁移能力和蛋白水解酶活性^[28]。Wnt信号级联是生物体发育过程中一种进化上保守的调节因子,是维持成年组织多能性和自我更新特性的关键因素。Wnt的激活能促进细胞的增殖^[29]。以上研究表明UC-MSCs能通过分泌细胞因子促进细胞增殖和生长分裂。此外,不同体外培养条件都是通过激活Wnt途径达到促进UC-MSCs增殖的目的。因此增加该通路在UC-MSC生物学中的作用将会极大增强对信号机制的了解,包括UC-MSCs的多能性、干性维持和分化潜能等,以及进一步了解该通路和其中的控制点是否具有明确的治疗潜力,可以为临床上进行间充质干细胞移植治疗提供新思路。

1.3.2 UC-MSCs的分化潜能 在一定的诱导条件下,UC-MSCs除了能分化成中胚层的成骨细胞和脂肪细胞外,还能分化成外胚层的神经元样细胞。UC-MSCs的分化潜能受外界信号调控,不同

种类的培养环境会诱导出不同类型的细胞,如神经元样细胞、胰岛样细胞、心肌样细胞等具有特定功能的细胞,参与损伤组织的修复,从而使机体恢复正常功能。孔吟皓等^[30]在体外诱导UC-MSCs向胰岛样细胞分化的研究中发现,神经元素3(neurogenin 3, Ngn3)过表达能促进UC-MSCs向胰岛素分泌细胞分化,为治疗1型糖尿病提供更多的胰腺 β 细胞。徐雄峰等^[31]在壳聚糖薄膜上培养UC-MSCs,发现其抗炎相关基因,如白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)、白细胞介素6信号转导因子(interleukin 6 cytokine family signal transducer, IL6ST)、白细胞介素10(interleukin 10, IL-10)、肿瘤坏死因子 α 刺激基因-6(umor necrosis factor α stimulated gene 6, TSG6)、细胞色素C氧化酶(cytochrome c oxidase II, COX-2)、斯钙素1(stanniocalcin 1, STC-1)、白细胞介素1受体拮抗剂(interleukin 1 receptor antagonist, IL1RN)、白细胞介素4(interleukin 4, IL-4)、白细胞介素3(interleukin 3, IL-3)mRNA及其他蛋白的表达水平远高于普通平板培养,为软骨修复再生的临床应用和研究提供了一条新的途径。

何万里等^[32]推测,UC-MSCs向心肌细胞分化与T转录调控因子5(T box transcription factor, Tbx5)、结合蛋白4(GATA binding protein 4, GATA4)和心脏转录因子(NK2 homeobox 5, Nkx2.5)的表达量有关,当Tbx5、GATA4和Nkx2.5低表达时,无法自发分化,当Tbx5、GATA4和Nkx2.5表达量达到一定程度后,会调控下游基因心肌标志物——心肌肌钙蛋白I(cardiac troponin I, cTnI)和心肌肌钙蛋白T(cardiac troponin T, cTnT)的表达。加入缬沙坦诱导能使Tbx5、GATA4和Nkx2等转录因子表达量增高,从而使具有表向心肌细胞分化潜能的UC-MSCs向心肌样细胞分化。上述研究表明,不同的培养环境能将UC-MSCs诱导成为不同类型的细胞,虽然这些诱导分化而来的细胞是否具备该诱导样细胞的功能还有待进一步研究,但也为后续针对性疾病的治疗,如心肌类疾病、糖尿病以及许多多发性疾病的治疗提供了一种新的思路,具有重要的临床意义。

2 UC-MSCs旁分泌作用

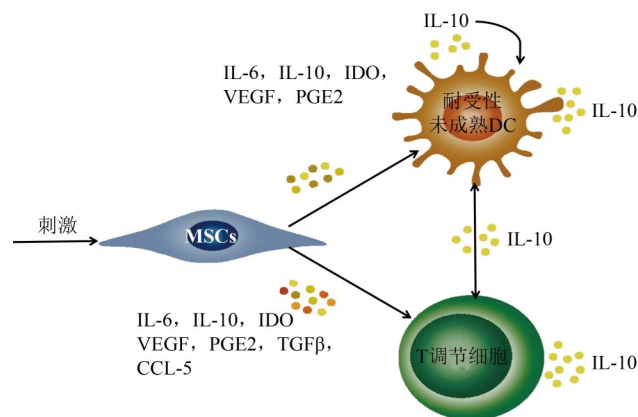
MSCs具有旁分泌效应,可促进免疫调节以及

抗凋亡和抗氧化作用,这可能有助于治疗神经肌肉痛^[33]、噬血细胞淋巴瘤组织细胞增多^[34]、急性肝功能障碍^[35]以及其他疾病^[36]。此外有研究认为, MSCs还可用于治疗退行性疾病和神经紊乱,如帕金森氏病(Parkinson's disease, PD)^[37]。同时 MSCs 还具有低免疫原性、刺激抗炎分子分泌、抑制炎症反应、对正常组织无毒、易于临床使用等特点,引起了人们广泛地关注^[38]。

UC-MSCs 作为饲养细胞可以分泌多种促进有丝分裂因子,如 bFGF、KGF、 β -神经生长因子(β -nerve growth factor, NGF)等,且其作为饲养层可以为细胞间提供复杂的微环境,如刘峰等^[39]采用 UC-MSCs 饲养层细胞培养人胚胎干细胞,结果发现,胚胎干细胞能在 UC-MSCs 饲养层上生长,并维持未分化的状态,从而解决鼠源性细胞饲养层带来的安全性和人源成体干细胞伦理问题。Nam 等^[40]将 UC-MSCs 作为人晶状体上皮细胞与动物/无血清共培养体系中的饲养细胞,发现其除了能分泌出 KGF 和 NGF 因子刺激人角膜缘上皮细胞生长外,还能通过整合素信号来发挥调节功能,使其有望成为一种新的人角膜缘上皮细胞生长促进因子,从而建立治疗人角膜缘上皮细胞缺乏症

的无动物培养体系。此外研究发现, UC-MSCs 还可以为脐血干细胞长期培养提供基质支持^[41]。以上研究证明 UC-MSCs 作为饲养细胞相对于其他类型的饲养层细胞而言在免疫原性、材料获取以及医学伦理方面具有相当大的优势。

UC-MSCs 细胞分泌的营养因子可能部分归因于分泌的旁分泌因子,其中包括外泌体(图 3)。UC-MSCs 外泌体富含一系列增殖和抗凋亡因子,如转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β 1)、表皮细胞生长因子(epidermal growth factor, EGF)、粒细胞集落刺激因子(granulocyte Colony-stimulating factor, G-CSF)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)、血小板源生长因子 AA (platelet derived growth factor AA, PDGF-AA) 和 VEGF,此外还有一些趋化因子,如单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、核细胞趋化蛋白-3(monocyte chemoattractant protein-3, MCP-3)、趋化因子配体 5(chemokine C-C motif ligand 5, CCL5)、转录共抑制因子(groucho, GRO)和白细胞介素 8(interleukin, IL-8)^[42]。



注:IL—白介素;IDO—吡啶胺 2,3-双加氧酶;VEGF—血管内皮生长因子;PGE2—甲基前列腺素 E2;TGF β —转化生长因子 β ;CCL-5—趋化因子配体 5;DC—树突状细胞。

图 3 间充质干细胞通过与树突状细胞和 T 调节细胞的相互作用提供免疫调节作用^[38]

Fig. 3 Mesenchymal stem cells (MSCs) provide an immunoregulatory effect by interactions of dendritic cells and T regulatory cells^[38]

2.1 免疫调节

在病理情况下,损伤部位伴有一定程度的免疫功能紊乱,研究发现, UC-MSCs 外泌体具有一定的免疫调节作用, MSCs 集中到损伤部位,通过抑制炎症因子和趋化因子来减轻炎症反应^[3]。

UC-MSCs 还可以通过旁分泌机制或细胞之间的直接接触调节中性粒细胞表型极化,诱导中性粒细胞从 N1 转化成 N2,使前炎症因子和抗炎因子的表达达到平衡,以减轻炎症,实现免疫调节作用^[4]。

此外,UC-MSCs外泌体的治疗作用也已在许多炎症动物模型中得到证实,且UC-MSCs是炎症性疾病和自身免疫性疾病的潜在候选治疗方案。Ahmadvand等^[5]在研究UC-MSCs外泌体对实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠模型的临床评分和炎症/抗炎细胞因子的影响中发现,用UC-MSCs外泌体进行静脉注射治疗后,小鼠体内促炎因子白细胞介素-17 a(interleukin 17 a, IL-17a)、肿瘤坏死因子(tumour necrosis factor- α , TNF- α)和干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)显著降低,且抗炎因子IL-4和IL-10明显提高。经过UC-MSCs外泌体处理的小鼠脊髓中的浸润性细胞显著减少。研究表明UC-MSCs外泌体通过将巨噬细胞促炎表型M1转化为抗炎表型M2来减少肺气肿从而有助于免疫调节改善肺部疾病^[6]。上述研究表明,UC-MSCs具有强大的抗炎作用,能参与多种免疫调节,是一种理想的治疗选择,可用于不同炎症性疾病的临床试验。

2.2 血管生成

血管能为组织提供必需的氧气和营养物质,在伤口愈合和组织再生中发挥至关重要的作用。目前尚未明确UC-MSCs在促进血管新生中的主要机制,但研究发现,UC-MSCs可以通过提高细胞因子及生长因子的分泌诱导血管新生,如VEGF、细胞角蛋白(cytokeratin 19, CK-19)、肿瘤增殖标志物(Ki-67)、血小板-内皮细胞粘附分子(platelet endothelial cell adhesion molecule-1, PECAM-1/CD31)、基质金属蛋白等^[43]。

Qu等^[44]研究发现,UC-MSCs外泌体能抑制移植静脉内膜增生,加速大鼠移植静脉模型的内皮再生作用,并能作用于PI3K/AKT和MAPK/ERK1/2信号通路的下游,诱导VEGF表达,促进血管生成。Zhang等^[45]研究发现,UC-MSCs外泌体在修复大鼠颅骨缺损模型中,UC-MSCs可促进内皮祖细胞的增殖、迁移和血管生成分化,其外泌体miR-21是潜在的细胞间信使,通过上调NOTCH1/DLL4途径促进血管生成。上述研究表明,UC-MSCs外泌体在促进血管生成、修复受损血管上有重要作用。

2.3 促进伤口愈合

纤维细胞由间充质细胞分化而来,也是疏松结缔组织中数量最多、体积最大的细胞,其具有较强的增殖分裂能力,在组织损伤修复期间,成纤维

细胞数量会明显增多,使结缔组织再生。UC-MSCs可以迁移到损伤部位,通过旁分泌作用于成纤维细胞和角质细胞,创造一个促进愈合的生物微环境,进而促进成纤维细胞增殖。Shi等^[46]在大鼠糖尿病足溃疡模型中,通过股静脉注射UC-MSCs后发现其具有向创伤组织迁移和定位的能力。主要是通过UC-MSCs促进大鼠创伤部位再上皮化、肉芽组织形成以及血管生成,UC-MSCs促进大鼠创伤部位再一次生长上皮组织。同时,在注射UC-MSCs后IL-10等抗炎细胞因子和趋化因子配体(chemotactic cytokines ligand, CCL)、中性粒细胞趋化因子(cytokine induced neutrophil chemoattractant, CINC)、趋化因子(C-X3-C基元)配体[chemokine (C-X3-C motif) ligand, CX3CL]等显著增加,伤口创面处VEGF、bFGF和肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)的显著增加,促进了血管生成,抑制了炎症反应,从而加快创伤面的愈合。以上研究证明,UC-MSCs有望成为治疗难愈合伤口的有效选择。

2.4 减少纤维化

受损组织中纤维结缔组织增多,实质细胞减少,严重情况下会导致器官衰竭。UC-MSCs外泌体可以减轻纤维化程度,提高损伤部位细胞活力。Zhang等^[43]指出尾静脉注射的UC-MSCs在大鼠子宫受损的内膜区域聚集,子宫内膜间质标志物Vimentin和上皮标志物CK-19表达明显增强,血管标志物CD31、VEGFA和MMP9表达普遍上调。IFN- γ 、TNF- α 和IL-2在第2次和第3次UC-MSCs注射组中均显著下调,纤维化标志物 α -SMA和TGF- β 的表达也显著下调,表明UC-MSCs能通过抑制子宫内膜过度纤维化和炎症,促进子宫内膜细胞增殖和血管重塑,进而促进子宫内膜损伤的修复和生育能力的恢复。研究表明,UC-MSCs通过阻断SMAD2/3通路和TAK-1/p38丝裂原活化蛋白激酶信号通路进而降低细胞外基质成分基因*Fn-1*、*COL1A1*和*COL10A1*的表达和减少TGF- β 1因子诱导的纤维化,从而减轻急性炎症,减少纤维化,促进组织功能恢复。以上研究表明UC-MSCs在减少纤维化上具有一定优势,可以促进损伤修复^[3]。但其在临床应用中仍面临很多挑战,需要研究人员对其内在主要作用机制进行深入研究,为UC-MSCs用于临床治疗奠定了理论基础。

2.5 抗肿瘤特性

肿瘤细胞具有异质性,肿瘤微环境中除了肿瘤细胞外,还包括其他细胞,多种细胞之间相互作用,共同影响肿瘤的发展进程^[47]。利用MSCs作为基因的载体进行靶向治疗是治疗各种类型癌症的新途径之一。MSCs在医疗应用上的简单性和优势使其成为癌症治疗中一种独特而有前景的选择,其作为治疗性基因微载体的优势之一是易于提取细胞,在不损失其主要生物学特性的前提下具有丰富的体外增殖能力,可用于治疗受损或受伤的组织、免疫疾病等。

研究表明UC-MSCs直接注射到有MDA-MB-231乳腺癌干细胞的免疫缺陷异种移植小鼠模型中,UC-MSCs可减少这些小鼠的肿瘤体积和肿瘤重量,且UC-MSCs可能通过激活细胞凋亡和抑制Wnt信号传导,在体外抑制人肺癌和肝细胞癌细胞的恶性生物学行为^[48]。此外,其还能通过细胞周期阻滞机制诱导肿瘤休眠^[49];UC-MSCs可显著抑制食管鳞状细胞癌的生长,miR-375表达增强或ENAH表达减弱会抑制食管鳞癌细胞增殖、侵袭、迁移、瘤体形成,促进凋亡^[50]。以上研究表明,UC-MSCs对肿瘤微环境具有显著的趋向性,能够向肿瘤位点迁移,在疾病治疗中具有显著效果,可以作为基因或抗癌药物的载体。

3 展望

1968年世界首例骨髓干细胞移植治疗患者的临床应用^[51]开启了干细胞在医学上的应用。干细胞是一种珍贵的生物遗传资源,不仅能运用于治疗各种疾病,还有利于物种遗传资源保存。在众多的以细胞为基础用于治疗的案例中,UC-MSCs是较有效且可靠的细胞来源,从脐带分离出来的MSCs是目前医学领域备受关注的研究热点,相对于其他来源的MSCs,脐带来源的MSCs具有较高的增殖能力和自我更新能力,且其免疫原性低、无道德伦理问题、获得方式可靠。加强脐带的研究及保存对人类的健康具有重要意义,随着实验技术的不断进步,该领域的研究也得到很大的发展。现阶段已证实,UC-MSCs对多种威胁人类生命的疾病,如血液系统疾病、心血管疾病、糖尿病、免疫性疾病、癌症等均具有一定的辅助治疗效果,但其生物学机制仍需进一步研究和探索。

目前对UC-MSCs的研究主要集中在人源细胞、绵羊、马等物种上,对于一些濒危物种的研究还较少,如对野生盘羊UC-MSCs进行保存管理,有利于后续盘羊的克隆^[52]。加强稀有物种UC-MSCs的保存,将有助于为稀有动物物种资源及其相关繁殖试验研究和技术平台的建立提供参考。UC-MSCs具备多种有益的生物学特性,但其释放的一些细胞因子或趋化因子也可能是有害的,如TNF- α 和IL-6,因此细胞移植时的剂量、移植频率等问题,均需要研究人员进一步探索。目前对UC-MSCs表面标记尚存在一定争议,因其来源多样性、供体差异及其他原因,学术界尚未对其标志物表达达成普遍共识,因此确定UC-MSCs的特异性标记物,对未来UC-MSCs的鉴定、保存和临床应用具有重要的现实意义。

参 考 文 献

- [1] 沈霞芬. 家畜组织学与胚胎学[M]. 北京:中国农业出版社, 2009, 40-47.
- [2] 兰萨,阿塔拉. 干细胞生物学基础[M]. 北京:化学工业出版社, 2020, 156-161.
- [3] SU W, WANG C, FU H, *et al.* Human umbilical cord mesenchymal stem cells extricate bupivacaine-impaired skeletal muscle function via mitigating neutrophil-mediated acute inflammation and protecting against fibrosis[J/OL]. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, 20(17): 4312[2022-05-27]. <https://doi.org/10.3390/ijms20174312>.
- [4] WANG G, JOEL M D M, YUAN J, *et al.* Human umbilical cord mesenchymal stem cells alleviate inflammatory bowel disease by inhibiting ERK phosphorylation in neutrophils[J]. *Inflammopharmacology*, 2020, 28(2): 603-616.
- [5] AHMADVAND K S, ABSALAN A, AZADI D. Human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles attenuate experimental autoimmune encephalomyelitis via regulating pro and anti-inflammatory cytokines[J/OL]. *Sci. Rep.*, 2021, 11(1): 11658[2022-05-27]. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91291-3>.
- [6] RIDZUAN N, ZAKARIA N, WIDERA D, *et al.* Human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles ameliorate airway inflammation in a rat model of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) [J/OL]. *Stem Cell Res. Ther.*, 2021, 12(1): 54[2022-05-27]. <https://doi.org/10.1186/s13287-020-02088-6>.
- [7] SOBOLEWSKI K, BAŃKOWSKI E, CHYCEWSKI L. Collagen and glycosaminoglycans of wharton's jelly[J]. *Neonatology*, 1997, 71: 11-21.
- [8] MENNAN C, WRIGHT K, BHATTACHARJEE A, *et al.* Isolation and characterisation of mesenchymal stem cells from different regions of the human umbilical cord[J]. *BioMed. Res. Int.*, 2013, 2013: 916136-916138.

- [9] DING D C, CHANG Y H, SHYU W C, *et al.* Human umbilical cord mesenchymal stem cells: a new era for stem cell therapy[J]. *Cell Transplant*, 2015, 24(3): 339-347.
- [10] MCELREAVEY K D, IRVINE A I, ENNIS K T, *et al.* Isolation, culture and characterisation of fibroblast-like cells derived from the Wharton's jelly portion of human umbilical cord[J/OL]. *Biochem. Soc. Trans.*, 1991, 19(1): 29S[2022-05-10]. <https://doi.org/10.1042/bst019029s>.
- [11] ROMANOV Y A, SVINTSITSKAYA V A, SMIRNOV V N. Searching for alternative sources of postnatal human mesenchymal stem cells: candidate MSC-like cells from umbilical cord[J]. *Stem Cells* (Dayton, Ohio), 2003, 21(1): 105-110.
- [12] PU L, MENG M, WU J, *et al.* Compared to the amniotic membrane, Wharton's jelly may be a more suitable source of mesenchymal stem cells for cardiovascular tissue engineering and clinical regeneration[J/OL]. *Stem Cell Res. Ther.*, 2017, 8(1): 72[2022-05-10]. <https://doi.org/10.1186/s13287-017-0501-x>.
- [13] YOON J H, ROH E Y, SHIN S, *et al.* Comparison of explant-derived and enzymatic digestion-derived MSCs and the growth factors from Wharton's jelly[J/OL]. *BioMed. Res. Int.*, 2013, 2013: 428726[2022-05-10]. <https://doi.org/10.1155/2013/428726>.
- [14] SALEHINEJAD P, ALITHEEN N B, ALI A M, *et al.* Comparison of different methods for the isolation of mesenchymal stem cells from human umbilical cord Wharton's jelly[J]. *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.*, 2012, 48(2): 75-83.
- [15] KERMANI A J, FATHI F, MOWLA S J. Characterization and genetic manipulation of human umbilical cord vein mesenchymal stem cells: potential application in cell-based gene therapy[J]. *Rejuvenation Res.*, 2008, 11(2): 379-386.
- [16] CHRISTODOULOU I, KOLISIS F N, PAPADEVANGELIOU D, *et al.* Comparative evaluation of human mesenchymal stem cells of fetal (Wharton's Jelly) and adult (adipose tissue) origin during prolonged in vitro expansion: considerations for cytotherapy[J/OL]. *Stem Cells Int.*, 2013, 2013: 246134[2022-05-10]. <https://doi.org/10.1155/2013/246134>.
- [17] GONZALEZ R, GRIPARIC L, UMANA M, *et al.* An efficient approach to isolation and characterization of pre- and postnatal umbilical cord lining stem cells for clinical applications[J]. *Cell Transplant.*, 2010, 19(11): 1439-1449.
- [18] 杨嫣君,余飞,丁利军,等.人脐带动脉旁、静脉旁与华通氏胶间充质干细胞的血管生成能力比较及移植安全性评价[J]. *中国比较医学杂志*, 2020, 30(2): 43-53.
- [19] MABUCHI Y, OKAWARA C, MÉNDEZ-FERRER S, *et al.* Cellular heterogeneity of mesenchymal stem/stromal cells in the bone marrow[J/OL]. *Front Cell Dev. Biol.*, 2021, 9: 689366[2022-05-10]. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.689366>.
- [20] MAMIDI M K, NATHAN K G, SINGH G, *et al.* Comparative cellular and molecular analyses of pooled bone marrow multipotent mesenchymal stromal cells during continuous passaging and after successive cryopreservation[J]. *J. Cell. Biochem.*, 2012, 113(10): 3153-3164.
- [21] BIEBACK K, KERN S, KLÜTER H, *et al.* Critical parameters for the isolation of mesenchymal stem cells from umbilical cord blood[J]. *Stem Cells* (Dayton, Ohio), 2004, 22(4): 625-634.
- [22] SARUGASER R, LICKORISH D, BAKSH D, *et al.* Human umbilical cord perivascular (hucpv) cells: a source of mesenchymal progenitors[J]. *Stem Cells* (Dayton, Ohio), 2005, 23(2): 220-229.
- [23] CHOI H J, JIN S D, RENGARAJ D, *et al.* Differential transcriptional regulation of the NANOG gene in chicken primordial germ cells and embryonic stem cells[J/OL]. *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, 2021, 12(1): 40[2022-05-10]. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00563-5>.
- [24] YANG Z X, HAN Z B, JI Y R, *et al.* CD106 identifies a subpopulation of mesenchymal stem cells with unique immunomodulatory properties[J/OL]. *PLoS ONE*, 2013, 8(3): e59354[2022-05-10]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059354>.
- [25] 王刚,李东升,管玉涛,等.两种不同来源间充质干细胞的生物学特性比较[J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(17): 2705-2710.
- [26] 黄平,张坤,李芳,等.脐带和脂肪源性间充质干细胞生物学特性比较[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2018, 56(3): 72-78.
- [27] GUAN Y T, XIE Y, LI D S, *et al.* Comparison of biological characteristics of mesenchymal stem cells derived from the human umbilical cord and decidua parietalis[J]. *Mol. Med. Rep.*, 2019, 20(1): 633-639.
- [28] OBRADOVIC H, KRSTIC J, TRIVANOVIC D, *et al.* Improving stemness and functional features of mesenchymal stem cells from Wharton's jelly of a human umbilical cord by mimicking the native, low oxygen stem cell niche[J]. *Placenta* (Eastbourne), 2019, 82: 25-34.
- [29] JOTHIMANI G, DI LIDDO R, PATHAK S, *et al.* Wnt signaling regulates the proliferation potential and lineage commitment of human umbilical cord derived mesenchymal stem cells[J]. *Mol. Biol. Rep.*, 2020, 47(2): 1293-1308.
- [30] 孔吟皓,徐龙飞,王琪,等.神经元素3过表达对诱导人脐带间充质干细胞向胰岛素分泌细胞分化的影响[J]. *解剖学报*, 2021, 52(3): 398-404.
- [31] 徐雄峰,邱波,李华杰,等.壳聚糖薄膜培养对脐带间充质干细胞抗炎基因表达的影响[J]. *生物技术进展*, 2019, 9(4): 404-408.
- [32] 何万里,李永海,杨军政,等.缬沙坦诱导人脐带间充质干细胞向心肌样细胞分化[J]. *解剖学报*, 2014, 45(6): 841-846.
- [33] BUUL G M, SIEBELT M, LEIJS M J C, *et al.* Mesenchymal stem cells reduce pain but not degenerative changes in a moniodoacetate rat model of osteoarthritis[J]. *J. Orthop. Res.*, 2014, 32(9): 1167-1174.
- [34] YANG X, ZHANG S, HUANG D, *et al.* Treatment of refractory secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis with umbilical cord mesenchymal stem cells[J]. *J. Int. Med. Res.*, 2019, 47(5): 2135-2144.
- [35] GUO G, ZHUANG X, XU Q, *et al.* Peripheral infusion of human umbilical cord mesenchymal stem cells rescues acute liver failure lethality in monkeys[J/OL]. *Stem Cell Res. Ther.*, 2019, 10(1): 84[2022-05-10]. <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1184-2>.
- [36] DE WITTE S F H, LUK F, SIERRA PARRAGA J M. Immunomodulation by therapeutic mesenchymal stromal cells (MSC) is triggered through phagocytosis of MSC by monocytic cells[J]. *Stem Cells*, 2018, 2018, 36(4): 602-615.

- [37] KIM H W, LEE H, KANG J M, *et al.*. Dual effects of human placenta-derived neural cells on neuroprotection and the inhibition of neuroinflammation in a rodent model of Parkinson's disease[J]. *Cell Transplan.*, 2018, 27(5): 814-830.
- [38] KYURKCHIEV D, BOCHEV I, IVANOVA-TODOROVA E, *et al.*. Secretion of immunoregulatory cytokines by mesenchymal stem cells[J]. *World J. Stem Cells*, 2014, 6(5): 552-570.
- [39] 刘峰,徐永胜,俞海燕,等.人脐带间充质干细胞作为维持人胚胎干细胞生长饲养层细胞的研究[J]. *中国实验动物学报*, 2011,19(4):271-276.
- [40] NAM S M, MAENG Y S, KIM E K, *et al.*. Ex vivo expansion of human limbal epithelial cells using human placenta-derived and umbilical cord-derived mesenchymal stem cells[J]. *Stem Cells Int.*, 2017, 2017: 4206187.
- [41] BAKHSHI T, ZABRISKIE R C, BODIE S, *et al.*. Mesenchymal stem cells from the Wharton's jelly of umbilical cord segments provide stromal support for the maintenance of cord blood hematopoietic stem cells during long-term ex vivo culture[J]. *Transfusion*, 2008, 48(12): 2638-2644.
- [42] PEREIRA T, IVANOVA G, CASEIRO A R, *et al.*. MSCs conditioned media and umbilical cord blood plasma metabolomics and composition[J/OL]. *PLoS ONE*, 2014, 9(11): e113769 [2022-05-10]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113769>.
- [43] ZHANG L, LI Y, GUAN C, *et al.*. Therapeutic effect of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells on injured rat endometrium during its chronic phase[J/OL]. *Stem Cell Res. Ther.*, 2018, 9(1): 36[2022-05-10]. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-0777-5>.
- [44] QU Q, PANG Y, ZHANG C, *et al.*. Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells inhibit vein graft intimal hyperplasia and accelerate reendothelialization by enhancing endothelial function[J/OL]. *Stem Cell Res. Ther.*, 2020, 11(1): 133[2022-05-10]. <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01639-1>.
- [45] ZHANG Y, XIE Y, HAO Z, *et al.*. Umbilical mesenchymal stem cell-derived exosome-encapsulated hydrogels accelerate bone repair by enhancing angiogenesis[J]. *ACS Appl. Mater. Interfaces.*, 2021, 13(16): 18472-18487.
- [46] SHI R, LIAN W, JIN Y, *et al.*. Role and effect of vein-transplanted human umbilical cord mesenchymal stem cells in the repair of diabetic foot ulcers in rats[J]. *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)*, 2020, 52(6): 620-630.
- [47] 王惠,赵鹏翔,张旭娟,等.间充质干细胞在疾病治疗中的应用潜力[J]. *生物技术进展*, 2021,11(6):688-693.
- [48] MA Y, HAO X, ZHANG S, *et al.*. The in vitro and in vivo effects of human umbilical cord mesenchymal stem cells on the growth of breast cancer cells[J]. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2012, 133(2): 473-485.
- [49] YUAN Y, ZHOU C, CHEN X, *et al.*. Suppression of tumor cell proliferation and migration by human umbilical cord mesenchymal stem cells: a possible role for apoptosis and Wnt signaling[J]. *Oncol. Lett.*, 2018, 15(6): 8536-8544.
- [50] HE Z, LI W, ZHENG T, *et al.*. Human umbilical cord mesenchymal stem cells-derived exosomes deliver microRNA-375 to downregulate ENAH and thus retard esophageal squamous cell carcinoma progression[J/OL]. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 2020, 39(1): 140[2022-05-10]. <https://doi.org/10.1186/s13046-020-01631-w>.
- [51] PERRY A R, LINCH D C. The history of bone-marrow transplantation[J]. *Blood Rev.*, 1996, 10(4): 215-219.
- [52] 周桂珍,周正娜,唐小云,等.盘羊脐带间充质干细胞的分离培养及诱导分化[J]. *中国畜牧兽医*, 2021,48(5):1584-1592.