

骨髓基质干细胞多向分化及临床应用

杨国宏 胡江平 刘春玲 孙晓冬 崔荣军 张春军 刘志新

中图分类号 R329.2

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.07.049

骨髓基质干细胞(bone marrow stromal cells, BMSCs)与胚胎干细胞(embryonic stem cell, ES 细胞)相比较,因具有取材方便、来源丰富、扩增迅速、较强的多向分化能力以及没有伦理问题等优点而受到极大关注^[1-3]。BMSCs 分化能力的研究,对于各种疑难疾病的治疗具有重大意义。笔者现就 BMSCs 的多向分化和临床应用现状做一综述。

一、BMSCs 的多向分化

BMSCs 在药物和细胞因子等诱导剂作用下,可分化为 3 个胚层几乎所有的细胞。

1. BMSCs 分化为骨组织细胞:大量实验表明 BMSCs 可分化为骨组织细胞。研究者发现,将兔的 BMSCs 体外扩增后,贴附在羟基磷灰石上,会形成新的骨组织。有研究者将人和犬的 BMSCs 进行体外培养后,加入 β -磷酸甘油、抗坏血酸等诱导剂,发现 BMSCs 的碱性磷酸酶活性逐渐增强,基质内出现明显的钙沉积,说明生成了新的骨组织^[4]。Mikami 等^[5]将标记有骨形态形成蛋白-2 基因的 BMSCs 植入动物股骨缺损部位,观察到在骨缺损处有新骨生成。

2. BMSCs 分化为软骨细胞:Liu 等^[6]将人 BMSCs 加入到含有地塞米松和转化生长因子 $\beta 3$ (TGF- $\beta 3$) 的培养液中,两周后,在细胞间质中检测到 II 型胶原蛋白表达增强,说明 BMSCs 分化成软骨细胞。有研究者把 BMSCs 移植到生物材料支架上,经检测发现 BMSCs 表达软骨细胞特异性分子,提示 BMSCs 分化为软骨细胞^[7]。

3. BMSCs 分化为肌细胞:有研究者发现,将标记

的 BMSCs 移植入鼠的体内后可以到达受损的骨骼肌处,并通过生成新的骨骼肌细胞来修复受损伤的骨骼肌组织^[8]。心肌细胞几乎没有再生能力,心肌细胞死亡后主要由纤维增生替代,有研究者利用 5-氮杂胞苷对 BMSCs 进行诱导,发现 BMSCs 表达 p-MHC 等心肌细胞标志物,表明 BMSCs 被诱导分化成心肌细胞^[9]。还有研究者使用丹酚酸 B 体外诱导大鼠 BMSCs 分化为心肌细胞^[10]。袁文丹等^[11]将大鼠 BMSCs 与血管成纤维细胞共培养后,发现 BMSCs 的肌动蛋白表达随培养时间的延长而明显增高,表明 BMSCs 分化为血管平滑肌细胞。

4. BMSCs 向神经系统分化:有学者应用苯丙胺和可卡因体外诱导小鼠的 BMSCs 分化,所产生的细胞同时表达神经元特异性烯醇化酶(NSE)和神经丝蛋白(NF-M)等神经元标志物,提示 BMSCs 被诱导分化成神经细胞^[12]。Black^[13]将雄性小鼠的 BMSCs 移植入雌性小鼠体内,一段时间后经检测发现有携带 Y 染色体的神经细胞出现在雌性小鼠体内,说明雄性小鼠的 BMSCs 在雌性小鼠的体内分化成神经细胞。

5. BMSCs 向皮肤诱导分化:邓为民等^[14]将标记的鼠 BMSCs 移植入经致死剂量照射的小鼠体内,1 个月后小鼠局部出现新生的皮肤,经检测发现该处的皮肤细胞内含有标志物,说明新生皮肤的构成细胞是由植入的 BMSCs 分化而来。有研究者以烧伤大鼠血清为诱导物,体外诱导 BMSCs,经检测发现部分 BMSCs 细胞角蛋白阳性,提示分化为表皮细胞^[15]。这为利用 BMSCs 治疗皮肤损伤提供了实验依据,也为治疗烧伤后皮肤修复这一医学难题带来了希望。

6. BMSCs 向胰岛细胞分化:使 BMSCs 定向分化为胰岛 B 细胞,从而恢复胰岛素的正常分泌,实现对糖尿病的治疗,已经成为目前糖尿病治疗领域的研究热点。有研究者利用损伤胰腺中含有胰腺细胞修复因子的特点,将鼠胰腺提取物与 BMSCs 联合培养,7

基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12531746);黑龙江省卫生厅科研基金资助项目(2012-283);牡丹江医学院科学技术研究项目(2011-09)

作者单位:157011 牡丹江,牡丹江医学院组胚教研室(杨国宏、胡江平、刘春玲、孙晓冬、刘志新);牡丹江医学院生化教研室(崔荣军);牡丹江医学院编辑部(张春军)

通讯作者:刘春玲,电子信箱:liu_chunling@163.com

天后免疫组化检测显示胰腺细胞修复因子表达量显著增高,说明有新的胰岛细胞生成^[16]。还有研究者将胰岛素基因关键转录激活因子构建的载体转染给 BMSCs,在转染的 BMSCs 中发现有胰岛素等特异性基因表达,提示该载体能够诱导 BMSCs 分化成具有功能的胰岛细胞^[17]。

7. 向其他类型细胞的分化:BMSCs 还可以分化为肝细胞、脂肪细胞和内皮细胞等细胞^[18-20]。

二、BMSCs 临床应用研究

自 1999 年 Horwitz 等开创性的将 BMSCs 应用到疾病治疗后,许多研究者在 BMSCs 的临床应用方面做了大量有益的探索。

1. BMSCs 在骨和软骨疾病的应用:有研究者将兔的 BMSCs 体外扩增,贴附在生物材料支架上,再植入到兔股软骨缺损处,3 个月后发现软骨缺损处得以修复^[21]。随着转基因技术的发展,BMSCs 已成为基因工程技术的理想靶细胞,有研究者将转染人 BMP-2 基因的 BMSCs 植入裸鼠肌肉内,结果在肌肉内生成了新的骨组织^[22]。龙华等^[23]以腺病毒为载体,将 TGF- β 2 和 BMP-7 基因转染到兔 BMSCs,将其与骨基质支架一起构建组织工程软骨,移植到兔关节软骨缺损处,经检测发现生成了新的透明软骨。提示可利用 BMSCs 制备组织工程软骨来治疗关节软骨缺损,从而使软骨缺损的修复成为可能。基因治疗目前还处于实验阶段,相信随着软骨损伤机制的深入研究,基因治疗将会在软骨修复中发挥重要作用。

2. BMSCs 在心血管疾病的应用:研究者将自体的 BMSCs 扩增后植入到慢性心肌梗死患者体内,3 个月后发现患者心肌梗死面积缩小了近 1/3,射血分数等心功能指标与对照组相比均有明显改善^[24]。Nagaya 等^[25]将 BMSCs 移植入扩张性心肌病模型大鼠的心脏壁内,发现植入的细胞分化为心肌细胞和内皮细胞并分泌大量促进血管生成的细胞因子。

3. BMSCs 在神经系统疾病的应用:中枢神经系统的神经干细胞增殖所产生的神经细胞很少,多为胶质细胞,因此在中枢神经系统损伤后,神经组织往往难以得到修复,而在体外扩增的 BMSCs 在植入到脑损伤动物模型的脑内后可分化为神经细胞及胶质细胞,利用 BMSCs 的这种特性,就可以治疗帕金森病和神经退行性病变等中枢神经系统疾病。

4. BMSCs 在肝脏疾病的应用:有研究者将大鼠骨髓基质干细胞分离培养标记后,经血管移植回大鼠体内,半年后检测发现大鼠肝内有一部分肝细胞来源

于标记的骨髓基质干细胞,提示骨髓基质干细胞在体内环境下可以分化为肝细胞^[26]。有研究者对 4 例失代偿期肝硬化患者,分别进行 BMSCs 分离培养扩增,再经静脉输注回各自体内,随访 1 年发现其中一半患者肝病模型评分明显改善,全部患者生存质量显著提高,均未出现严重的不良反应。但由于病例数偏少且缺乏长时间的随访,故其安全性和有效性有待进一步的观察。

5. BMSCs 在肺脏疾病的应用:对肺纤维化的治疗,目前缺乏有效的方法。Laurent 等在制作肺纤维化小鼠模型初期,将 BMSCs 移植入小鼠体内,发现与对照组相比可以明显减轻肺的纤维化程度,表明 BMSCs 可能具有修复肺损伤的功能。

6. BMSCs 在其他疾病的应用:BMSCs 除在上述疾病中的应用外,研究结果表明,一定程度上可以修复受损的肾脏,在急性肾衰竭的治疗中必将发挥重要的作用。利用组织工程技术还可以将 BMSCs 诱导生成皮肤、肌肉等结构用于烧伤等创伤性疾病的治疗。由于 BMSCs 对机体几乎所有的组织都有修复作用,因而受到研究者的广泛关注。

三、展 望

BMSCs 具有胚胎干细胞等其他干细胞无法比拟的优点,已经成为重要的种子细胞。目前对该细胞的研究还处于起步阶段,有许多问题需要解决,如 BMSCs 的定向诱导机制以及如何提高在体内的增殖能力等问题。相信随着研究的逐渐深入,BMSCs 必将对医学的发展产生深远的影响。

参考文献

- 1 姚灿,郑舜杰,陈海,等.大鼠骨髓间充质干细胞分离培养及鉴定[J].医学研究杂志,2013,42(5):67-70
- 2 杨国宏,张春军,孙晓冬,等.自体骨髓基质干细胞移植联合 EPO 治疗脊髓损伤的研究[J].中国医学创新,2014,11(32):1-3
- 3 张凯,王大平,朱伟民,等.骨髓间充质干细胞与纳米羟基磷灰石支架材料的体外相容性研究[J].中国临床解剖学杂志,2011,29(2):213-216
- 4 赵大成,汪玉良,党跃修,等.大鼠骨髓间充质干细胞的体外成骨诱导[J].中国组织工程研究,2012,16(14):2491-2494
- 5 Mikami Y, Lee M, Irie S, et al. Dexamethasone modulates osteogenesis and adipogenesis with regulation of osterix expression in rat calvaria derived cells[J]. J Cell Physiol, 2011, 226(3):739-748
- 6 Liu K, Zhou GD, Liu W, et al. The dependence of in vivo stable ectopic chondrogenesis by human mesenchymal stem cells on chondrogenic differentiation in vitro[J]. Biomaterials, 2008, 29(14):2183-2192
- 7 Cavallo C, Desando G, Columbaro M, et al. Chondrogenic differentiation of bone marrow concentrate grown onto a hyaluronan scaffold: Ra-

- tionale for its use in the treatment of cartilage lesions[J]. J Biomed Mater Res A, 2012, 7 (11) : 1552 – 1562
- 8 Bettiol E, Clement S, Krause KH, *et al.* Embryonic and adult stem cell derived cardiomyocytes: lessons from in vitro models[J]. Rev Physiol Biochem Pharmacol, 2006, 157(3) : 1 – 30
- 9 Xinyun C, Zhi Z, Bin Z, *et al.* Effects of cardiotrophin – 1 on differentiation and maturation of rat bone marrow mesenchymal stem cells induced with 5 – azacytidine in vitro[J]. Int J Cardiol, 2010, 143 (2) : 171 – 177
- 10 李伟望, 王海萍, 张娟娟, 等. 丹酚酸 B 体外诱导大鼠骨髓间充质干细胞分化为心肌样细胞[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2013, 15(12) : 1312 – 1315
- 11 袁文丹, 李京敏, 徐芳, 等. 大鼠骨髓间充质干细胞体外向血管平滑肌样细胞的诱导分化[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(10) : 1719 – 1723
- 12 Liu Z, Huang D, Zhang M, *et al.* Cocaine and amphetamine regulated transcript promotes the differentiation of mouse bone marrow derived mesenchymal stem cells into neural cells[J]. BMC Neurosci, 2011, 12 (67) : 2197 – 2202
- 13 Black IB, Woodbury D. Adult rat and human bone marrow stromal stem cells differentiate into neurons[J]. Blood Cells Mol Dis, 2010, 27(3) : 632 – 636
- 14 邓为民, 李长虹, 廖联明, 等. 成体骨翻源多能间充质干细胞体内分化皮肤干细胞和皮肤组织[J]. 细胞生物学杂志, 2008, 25 : 99 – 103
- 15 李仙松, 杜娟, 宋振岚, 等. 大鼠骨髓间充质干细胞重建表皮细胞及皮肤附件[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(6) : 853 – 859
- 16 Choi KS, Shin JS, Lee JJ, *et al.* In vitro trans – differentiation of rat mesenchymal cells into insulin – producing cells by rat pancreatic extract[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 330(4) : 1299 – 1305
- 17 Sun J, Yang Y, Wang X, *et al.* Expression of Pdx – 1 in bone marrow mesenchymal stem cells promotes differentiation of islet – like cells in vitro[J]. Sci China C Life Sci, 2006, 49(5) : 480 – 489
- 18 陈鹏飞, 吴小翎, 周伟, 等. 大鼠骨髓间充质干细胞向肝样细胞的定向诱导分化[J]. 中国生物制品学杂志, 2011, 24(1) : 20 – 24
- 19 刘晓刚, 邓宇斌, 赵晓娟, 等. 猴骨髓间充质干细胞体外诱导分化为脂肪细胞的实验探讨[J]. 临床与实验病理学杂志, 2013, 29 (6) : 658 – 662
- 20 Sanchez – ramos J, Song S, Cardozo – pelaez F, *et al.* Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro[J]. Exp Neurol, 2010, 164(2) : 247 – 256
- 21 Lou J, Xu F, Merkel K, *et al.* Gene therapy: adenovirus mediated human bone morphogenetic protein – 2 gene transfer induces mesenchymal progenitor cell proliferation and in vitro and bone formation in vivo[J]. J Orthop Res, 2009, 156(17) : 43 – 50
- 22 李春根, 宋广明, 康晓乐, 等. 补肾活血汤结合组织工程软骨修复兔膝关节软骨缺损[J]. 医学研究杂志, 2011, 40(9) : 62 – 65
- 23 龙华, 袁华, 马保安, 等. 腺病毒介导 TGF – β 1 及 BMP – 7 基因共表达感染骨髓间充质干细胞修复兔关节软骨缺损[J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2008, 23(6) : 471 – 475
- 24 Strauer BE, Brehm M, Zeus T, *et al.* Regeneration of human infarcted heart muscle by intracoronary autologous bone marrow cell transplantation in chronic coronary artery disease: the IACT study[J]. J Am Coll Cardiol, 2008, 46(9) : 1651 – 1658
- 25 Nagaya N, Kangawa K, Itoh T, *et al.* Transplantation of mesenchymal stem cells improves cardiac function in a rat model of dilated cardiomyopathy[J]. Circulation, 2010, 112(8) : 1128 – 1135

(收稿日期: 2014 – 11 – 28)

(修回日期: 2014 – 12 – 25)

(上接第 170 页)

- 16 Gruber L, Kisling S, Lichti P, *et al.* High fat diet accelerate spathogenesis of murine Crohn's disease – like ileitis independently of obesity[J]. PLoS One, 2013, 8(8) : 22 – 29
- 17 Cabré E, Domènech E. Impact of environmental and dietary factors on the course of inflammatory bowel disease[J]. World J Gastroenterol, 2012, 18(29) : 3814 – 3822
- 18 Maher MM, Nassar MI. Acute cytomegalovirus infection is a risk factor in refractory and complicated inflammatory bowel disease[J]. Dig Dis Sci, 2009, 54(11) : 2456 – 2462
- 19 Fu N. P – 066 YI herpes simplex virus infections are more common among patients with inflammatory bowel disease[J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2013, 53(19) : 56 – 62
- 20 Virginia F. Prospective study of BK virus infection in patients with inflammatory bowel disease[J]. The Scientific World Journal, 2014, 27 (4) : 322 – 328
- 21 Fang C, Zhuang Y, Xu T, *et al.* Changes in rice allelopathy and rhizosphere microflora by inhibiting rice phenylalanine ammonia – lyase gene expression[J]. J Chem Ecol, 2013, 39(2) : 204 – 212
- 22 Frank DN, Amand ALS, Feldman RA, *et al.* Molecular – phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2007, 104(34) : 13780 – 13785
- 23 Ford AC, Achkar JP, Khan KJ, *et al.* Efficacy of 5 – aminosalicylates in ulcerative colitis: systematic review and meta – analysis[J]. Am J Gastroenterol, 2011, 106(4) : 601 – 616
- 24 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗共识意见(2012 年, 广州)[J]. 中华消化杂志, 2012, 32(12) : 796 – 813
- 25 Mowat C, Cole A, Windsor A, *et al.* Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in adults[J]. Gut, 2011, 60(5) : 571 – 607

(收稿日期: 2014 – 12 – 21)

(修回日期: 2014 – 12 – 26)