



新生物学丛书

# 间充质干细胞 基础与临床 (第二版)

Mesenchymal Stem Cells: From Basics to Clinical (Second Edition)

韩忠朝 李宗金 韩之波 主编



非外借



科学出版社

新生物学丛书

# 间充质干细胞基础与临床 (第二版)

韩忠朝 李宗金 韩之波 主编



科学出版社

北京

## 内 容 简 介

近十来年,国内外间充质干细胞临床应用与药物开发取得了极大的进展,使得间充质干细胞成为最具有临床应用价值的细胞治疗制品之一。自2012年出版《间充质干细胞基础与临床》一书以来,该书得到读者的好评,期间多次加印。这几年国内外科科研工作者在间充质干细胞研究与应用方面又陆续出现不少新成果,我们在第一版的基础上,更新和补充了近几年关于间充质干细胞的基础与临床研究进展,并新增了间充质干细胞治疗的分子影像学、无标记检测、间充质干细胞外泌体和药物开发策略等方面的内容。

本书系统地对间充质干细胞的国内外研究成果进行总结和综述,可供相关专业的研究人员、干细胞或组织工程药物开发人员、临床医生,以及在校研究生阅读参考。

### 图书在版编目(CIP)数据

间充质干细胞基础与临床/韩忠朝,李宗金,韩之波主编. —2版. —北京:科学出版社,2019.6

(新生物学丛书)

ISBN 978-7-03-061518-3

I. ①间… II. ①韩… ②李… ③韩… III. ①干细胞—临床应用—研究 IV. ①Q24

中国版本图书馆CIP数据核字(2019)第106428号

责任编辑:罗静 岳漫宇 闫小敏/责任校对:张怡君  
责任印制:吴兆东/封面设计:刘新新

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencecp.com>

北京虎彩文化传播有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2012年3月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2019年6月第 二 版 印张:20 1/4

2019年6月第一次印刷 字数:477 000

定价:150.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

## 《新生物学丛书》专家委员会

主 任：蒲慕明

副 主 任：吴家睿

专家委员会成员（按姓氏汉语拼音排序）

昌增益	陈洛南	陈晔光	邓兴旺	高 福
韩忠朝	贺福初	黄大昉	蒋华良	金 力
康 乐	李家洋	林其谁	马克平	孟安明
裴 钢	饶 毅	饶子和	施一公	舒红兵
王 琛	王梅祥	王小宁	吴仲义	徐安龙
许智宏	薛红卫	詹启敏	张先恩	赵国屏
赵立平	钟 扬	周 琪	周忠和	朱 祯

## 《间充质干细胞基础与临床》（第二版）编委会

### 主 编

- 韩忠朝 细胞产品国家工程研究中心  
李宗金 南开大学  
韩之波 细胞产品国家工程研究中心

### 编 委 （按姓氏汉语拼音排名）

- 白 华 天津工业大学电子与信息工程学院  
曹晓沧 天津医科大学总医院  
陈旭义 武警后勤学院附属医院  
耿 洁 围产期干细胞北京市工程实验室  
郝好杰 北京恒峰铭成生物科技有限公司  
何 睿 复旦大学基础医学院  
黄平平 中国医学科学院血液病医院（血液学研究所）  
李美蓉 中国人民解放军总医院  
梁 璐 天津百恩生物科技有限公司  
马步鹏 北京协和医院  
王 斌 天津百恩生物科技有限公司  
王伟强 江西省细胞产品工程技术研究中心  
王有为 俄亥俄州立大学詹姆斯肿瘤医院  
武开宏 南京医科大学附属儿童医院  
吴志宏 北京协和医院  
杨舟鑫 浙江医院老年医学研究所  
张 颢 济宁医学院附属医院  
张 磊 博雅干细胞科技有限公司  
竺晓凡 中国医学科学院血液病医院（血液学研究所）

### 参编人员（按姓氏汉语拼音排名）

- 陈惠华 北京恒峰铭成生物科技有限公司

杜 为 南开大学  
高弘烨 中国医学科学院血液病医院（血液学研究所）  
侯慧星 天津医科大学总医院  
李丽丽 天津市妇女儿童保健中心  
林美光 汉氏联合（天津）干细胞研究院  
牛学刚 武警后勤学院附属医院  
孙 军 北京市第六医院  
陶红燕 南开大学  
易 军 北京恒峰铭成生物科技有限公司  
张帅强 南开大学  
赵钦军 江西省干细胞工程技术研究中心  
赵向男 南开大学

## 《新生物学丛书》丛书序

当前，一场新的生物学革命正在展开。为此，美国国家科学院研究理事会于 2009 年发布了一份战略研究报告，提出一个“新生物学”（New Biology）时代即将来临。这个“新生物学”，一方面是生物学内部各种分支学科的重组与融合，另一方面是化学、物理、信息科学、材料科学等众多非生命学科与生物学的紧密交叉与整合。

在这样一个全球生命科学发展变革的时代，我国的生命科学研究也正在高速发展，并进入了一个充满机遇和挑战的黄金期。在这个时期，将会产生许多具有影响力、推动力的科研成果。因此，有必要通过系统性集成和出版相关主题的国内外优秀图书，为后人留下一笔宝贵的“新生物学”时代精神财富。

科学出版社联合国内一批有志于推进生命科学发展的专家与学者，联合打造了一个 21 世纪中国生命科学的传播平台——《新生物学丛书》。希望通过这套丛书的出版，记录生命科学的进步，传递对生物技术发展的梦想。

《新生物学丛书》下设三个子系列：科学风向标，着重收集科学发展战略和态势分析报告，为科学管理者和科研人员展示科学的最新动向；科学百家园，重点收录国内外专家与学者的科研专著，为专业工作者提供新思想和新方法；科学新视窗，主要发表高级科普著作，为不同领域的研究人员和科学爱好者普及生命科学的前沿知识。

如果说科学出版社是一个“支点”，这套丛书就像一根“杠杆”，那么读者就能够借助这根“杠杆”成为撬动“地球”的人。编委会相信，不同类型的读者都能够从这套丛书中得到新的知识信息，获得思考与启迪。

《新生物学丛书》专家委员会

主任：蒲慕明

副主任：吴家睿

2012 年 3 月

## 第二版前言

自 2011 年出版《间充质干细胞基础与临床》一书以来，近几年国内外间充质干细胞临床应用与药物开发取得了极大的进展。我们在第一版的基础上，补充了近几年关于间充质干细胞的基础与临床研究进展，并新增了间充质干细胞治疗的分子影像学研究、无标记检测、外泌体和药物开发策略等方面内容。

我们一直坚信间充质干细胞是目前最具临床应用前景的干细胞，其在免疫调节、促血管新生及抗炎等方面均表现出良好的应用前景及临床疗效。在本书中，除了对前一版本中已有的临床应用相关章节进行了更新，如间充质干细胞用于治疗自身免疫系统疾病、血液系统疾病、糖尿病，以及在治疗神经系统疾病中的应用等，也新增了间充质干细胞在治疗骨关节炎、肝硬化、炎性肠病和慢性肺疾病等中应用的内容，希望本书内容对各位读者有所帮助。

本书出版过程中，在内容设置方面得到了众多专家的指导与帮助，在文字校对与排版方面喻昊博士做了大量工作，在此一并表示感谢。由于撰稿时间仓促，在内容方面难免存在不足之处，欢迎批评指正。

我们希望本书能对我国间充质干细胞临床研究与间充质干细胞药物开发起到积极的推动作用。

韩忠朝

2018 年 11 月 18 日



## 第一版前言

干细胞是一类具有自我复制和多向分化能力的细胞，它们可以不断地自我更新，并在特定条件下转分化成为一种或多种构成人体组织或器官的细胞。干细胞是机体的起源细胞，是形成人体各种组织的祖宗细胞。干细胞技术是一门尚处于试验阶段的医疗新技术。干细胞的临床治疗目前存在着许多争议，这是由于干细胞疗法是目前临床使用的最复杂的生物疗法；许多疾病的动物模型不能准确反映人类所患的疾病，有时在动物中的毒理学研究很难预示在人体内的毒性；干细胞可能作用几个靶标部位，发挥有利或有害的作用，因此对临床前试验的安全性要求更高；不同来源的干细胞具有不同的分子特征，这方面尚未形成国际公认的标准；干细胞技术范围很广，不同的技术成熟度也不一致。造血干细胞移植等已被证明是安全有效的干细胞疗法，而胚胎干细胞以及诱导多能干细胞（induced pluripotent stem cell, iPSC）技术仍处于实验室阶段，其安全性和分化可控性问题仍未解决，技术尚远未成熟至可用于临床。

间充质干细胞（mesenchymal stem cell, MSC）是干细胞家族的重要成员，来源于发育早期的中胚层和外胚层。MSC最初在骨髓中发现，因其具有多向分化潜能、造血支持和促进干细胞植入、免疫调控和自我复制等特点而日益受到人们的关注。例如，间充质干细胞在体内或体外特定的诱导条件下，可分化为脂肪、骨、软骨、肌肉、肌腱、韧带、神经、肝、心肌、内皮等多种组织细胞，连续传代培养和冷冻保存后仍具有多向分化潜能，可作为理想的种子细胞用于衰老和病变引起的组织器官损伤修复。

间充质干细胞的临床研究已经在许多国家开展，美国批准了数十项临床试验，中国批准了2项临床试验。目前，间充质干细胞除了用来促进恢复造血，与造血干细胞共移植治疗白血病和难治性贫血等以外，还用于心血管疾病、肝硬化、骨和肌肉衰退性疾病、脑及脊髓神经损伤、老年痴呆、红斑狼疮和硬皮病等自身免疫系统疾病的临床研究，已经取得的部分临床结果令人鼓舞。

迄今的研究表明，脐带、胎盘来源的间充质干细胞不但能够成为骨髓间充质干细胞的理想替代物，而且具有更大的应用潜能。脐带、胎盘间充质干细胞表达多种胚胎干细胞的特有分子标志，具有分化潜能大、增殖能力强、免疫原性低、取材方便、无道德伦理问题的限制、易于工业化制备等特征，因此有可能成为最具临床应用前景的多能干细胞。

本书涉及间充质干细胞的基础研究与国内外临床研究进展、间充质干细胞库、间充质干细胞制剂的质量标准，以及临床医生十分关注的间充质干细胞安全性研究进展、间充质干细胞与肿瘤的关系等；同时将干细胞应用所涉及的伦理学问题及相关知识产权保护进行了适当的介绍。各章节除介绍该领域的最新进展外，还适当介绍了有关的背景资料。由于全书各章节所属领域研究工作的深度不同，不同作者的写作风格也有差别，全书在文字上难免有较大的差异。由于干细胞研究进展很快，难免会有不同意见，甚至观

点相悖，敬请读者谅解。另外，由于撰稿时间短促，在内容上难免出现不足之处，欢迎批评指正。

本书能够得以出版需要感谢各位作者的辛勤工作。同时，还需要感谢中国医学科学院血液病医院（血液学研究所）徐茂强主任的前期准备工作，以及细胞产品国家工程研究中心的郑重在文字处理方面所做的工作。

世界范围内干细胞技术的迅猛发展，给人类健康带来了巨大福音。2007年，美国食品药品监督管理局已经批准间充质干细胞作为治疗造血干细胞移植排斥的一线药物进入III期临床。尽管对于间充质干细胞的临床治疗机制还有许多未解之谜，但这并不能阻碍间充质干细胞的临床应用之路，因为越来越多的临床证据显示应用间充质干细胞治疗多种疾病的确安全有效。正如阿司匹林的临床应用过程，作为一种最有效的解热、镇痛、消炎药物在临床上使用已经有100余年，但它的作用机制直到其进入市场70年后才得以阐明。带着疑问和目标上路的人最终不会迷路，我们希望并相信我们可以成为间充质干细胞探索之路上清醒的推动者。

细胞产品国家工程研究中心 韩忠朝

二〇一一年十月一日

# 目 录

第一章 间充质干细胞概述	1
参考文献	8
第二章 不同组织来源间充质干细胞的生物学特性	11
第一节 不同组织来源间充质干细胞表面标志的比较	11
第二节 不同组织来源间充质干细胞增殖能力的比较	16
第三节 不同组织来源间充质干细胞分化能力的比较	16
第四节 不同组织来源间充质干细胞造血支持能力的比较	17
第五节 不同组织来源的间充质干细胞免疫调节能力的比较	18
第六节 不同组织来源间充质干细胞促血管生成能力的比较	19
第七节 不同组织来源间充质干细胞迁移能力的比较	19
第八节 小结	20
参考文献	20
第三章 间充质干细胞制剂的质量控制	22
第一节 间充质干细胞质量研究的必要性	23
第二节 干细胞治疗监管政策的演进	23
第三节 间充质干细胞质量研究的主要内容	25
第四节 小结	32
参考文献	33
第四章 间充质干细胞的安全性研究进展	34
第一节 间充质干细胞的体外安全性研究进展	34
第二节 间充质干细胞的体内安全性研究进展	39
第三节 目前临床上间充质干细胞治疗的安全性问题	41
第四节 小结	43
参考文献	43
第五章 间充质干细胞的免疫调节机制	48
第一节 免疫系统的构成和功能	48
第二节 间充质干细胞的免疫学特性	50
第三节 间充质干细胞的免疫调节机制研究	51
第四节 间充质干细胞免疫调节能力的可塑性	56
第五节 间充质干细胞治疗免疫相关疾病的临床应用研究	58
参考文献	59

<b>第六章 间充质干细胞与治疗性血管新生</b> .....	65
第一节 血管新生的概念 .....	65
第二节 间充质干细胞在血管新生中的角色 .....	67
第三节 间充质干细胞的内皮分化 .....	71
第四节 间充质干细胞作为载体搭载血管新生因子 .....	73
第五节 间充质干细胞促进血管新生的进展与展望 .....	73
参考文献 .....	76
<b>第七章 间充质干细胞的生物学特性及在造血干细胞移植中的应用</b> .....	79
第一节 间充质干细胞的生物学特性 .....	79
第二节 间充质干细胞在造血干细胞移植中的应用 .....	80
第三节 小结 .....	85
参考文献 .....	85
<b>第八章 间充质干细胞在心血管疾病治疗中的应用</b> .....	90
第一节 心血管疾病的概述 .....	90
第二节 干细胞移植的方法 .....	91
第三节 干细胞移植的作用机制 .....	92
第四节 干细胞移植存在的问题 .....	93
第五节 干细胞构建组织工程心肌 .....	95
第六节 问题与展望 .....	99
参考文献 .....	99
<b>第九章 间充质干细胞在慢性肺疾病治疗中的应用</b> .....	105
第一节 慢性肺疾病治疗现状 .....	105
第二节 间充质干细胞治疗慢性肺疾病的临床前研究 .....	106
第三节 间充质干细胞治疗慢性肺疾病的临床研究 .....	110
第四节 间充质干细胞治疗慢性肺疾病的注册临床试验 .....	112
参考文献 .....	113
<b>第十章 间充质干细胞在自身免疫系统疾病治疗中的应用</b> .....	116
第一节 自身免疫系统疾病 .....	116
第二节 间充质干细胞驱动的免疫调节 .....	116
第三节 间充质干细胞治疗自身免疫系统疾病的临床前模型 .....	118
第四节 间充质干细胞在自身免疫系统疾病治疗中的临床应用 .....	120
第五节 间充质干细胞在自身免疫系统疾病治疗中面临的问题 .....	126
参考文献 .....	127
<b>第十一章 间充质干细胞在下肢缺血性疾病治疗中的应用</b> .....	133
第一节 下肢缺血性疾病的概述 .....	133
第二节 间充质干细胞治疗下肢缺血性疾病的研究进展 .....	134
参考文献 .....	142

第十二章 间充质干细胞在神经损伤修复中的应用 .....	144
第一节 间充质干细胞与神经损伤修复的概述 .....	144
第二节 间充质干细胞与神经损伤修复的基础研究 .....	145
第三节 间充质干细胞与神经损伤修复的临床研究 .....	149
参考文献 .....	151
第十三章 间充质干细胞在炎性肠病治疗中的应用 .....	157
第一节 炎性肠病 .....	157
第二节 间充质干细胞治疗炎性肠病的可能机制 .....	157
第三节 间充质干细胞治疗炎性肠病的基础及临床研究 .....	159
第四节 间充质干细胞对炎性肠病相关瘘管的局部治疗 .....	160
参考文献 .....	163
第十四章 间充质干细胞在肝硬化治疗中的应用 .....	168
第一节 肝硬化治疗现状 .....	168
第二节 间充质干细胞治疗肝硬化的临床前研究 .....	169
第三节 间充质干细胞治疗肝硬化的临床研究 .....	171
第四节 间充质干细胞治疗肝硬化的临床试验 .....	173
参考文献 .....	174
第十五章 间充质干细胞在糖尿病治疗中的应用 .....	176
第一节 糖尿病的概述 .....	176
第二节 间充质干细胞治疗糖尿病的机制 .....	177
第三节 间充质干细胞治疗糖尿病的临床试验进展 .....	179
第四节 问题与展望 .....	181
参考文献 .....	183
第十六章 间充质干细胞在骨关节炎疾病治疗中的应用 .....	187
第一节 间充质干细胞与骨关节炎 .....	187
第二节 间充质干细胞治疗骨关节炎的研究进展 .....	189
第三节 间充质干细胞治疗骨关节炎的机制 .....	192
第四节 问题与展望 .....	194
参考文献 .....	194
第十七章 间充质干细胞在皮肤修复与再生中的应用 .....	198
第一节 皮肤创面修复的一般过程 .....	198
第二节 间充质干细胞参与皮肤修复的机制 .....	200
第三节 影响间充质干细胞促修复能力的因素 .....	204
第四节 间充质干细胞治疗皮肤损伤的临床研究 .....	206
参考文献 .....	207
第十八章 间充质干细胞组织工程 .....	216
第一节 间充质干细胞组织工程的概述 .....	216

第二节	间充质干细胞在组织工程中的应用	218
第三节	发展趋势预测与展望	223
	参考文献	225
<b>第十九章</b>	<b>间充质干细胞基因治疗</b>	229
第一节	干细胞的来源	229
第二节	间充质干细胞的归巢能力	230
第三节	对干细胞进行基因工程改造的方法	231
第四节	研究进展	234
第五节	总结与展望	238
	参考文献	239
<b>第二十章</b>	<b>间充质干细胞的分子影像学</b>	243
第一节	干细胞的分子影像学	243
第二节	分子影像学方法	243
第三节	间充质干细胞的标记方法	245
第四节	间充质干细胞治疗的分子影像学	248
第五节	间充质干细胞治疗的分子影像技术应用前景	251
	参考文献	251
<b>第二十一章</b>	<b>基于拉曼散射的间充质干细胞无标记检测</b>	255
第一节	引言	255
第二节	拉曼散射的基本概念	255
第三节	间充质干细胞的典型拉曼光谱	260
第四节	拉曼光谱在间充质干细胞检测中的应用	261
	参考文献	267
<b>第二十二章</b>	<b>间充质干细胞外泌体</b>	269
第一节	间充质干细胞和外泌体	269
第二节	外泌体的研究	269
第三节	间充质干细胞来源外泌体的治疗作用	274
第四节	提高间充质干细胞来源外泌体生物活性的研究	277
	参考文献	282
<b>第二十三章</b>	<b>间充质干细胞药物开发策略</b>	286
第一节	干细胞临床转化探索之路	286
第二节	间充质干细胞药品开发流程	292
第三节	制约干细胞药物开发的技术瓶颈	296
第四节	国外已上市的干细胞药物及生物制品概要	300
	参考文献	305



# 第一章 间充质干细胞概述

间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC) 是中胚层来源的具有高度自我更新能力和多向分化潜能的多能干细胞, 广泛存在于全身多种组织中, 可在体外培养扩增, 并在特定条件下分化为神经细胞、成骨细胞、软骨细胞、肌肉细胞、脂肪细胞等<sup>[1]</sup>。MSC 是多能干细胞, 具有“横向分化”或“跨系分化”的能力, 不仅支持造血干细胞 (hematopoietic stem cell, HSC) 的生长, 还可以在地塞米松、抗坏血酸、胰岛素、异丁基甲基黄嘌呤等不同诱导条件下, 在体外分化为多种组织细胞如神经细胞、成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、心肌细胞等。MSC 具有广阔的临床应用前景, 是细胞替代治疗和组织工程的首选种子细胞, 是移植和自身免疫系统疾病治疗领域的研究热点。

## 一、间充质干细胞的发现

间充质干细胞的发现最早可以追溯到 130 多年前。1867 年, 德国病理学家 Cohnheim 在研究伤口愈合时, 首次提出骨髓中存在非 HSC 的观点, 指出成纤维细胞可能来源于骨髓。直到 1976 年, Friedenstein 等<sup>[2]</sup>从骨髓细胞中培养出这种成纤维细胞, 并证实其可在体外大量扩增, 易贴壁, 呈集落样生长, 且具有定向分化的特点。1988 年这类干细胞被命名为“骨髓基质干细胞”<sup>[3]</sup>。随后, Prockop<sup>[4]</sup>和 Pittenger 等<sup>[1]</sup>分别证明了这种成纤维细胞包含间充质干细胞, 其具有形成多种间质组织 (如骨、软骨、脂肪和平滑肌) 的能力。Caplan 教授在 1992 年进一步把这类干细胞命名为“间充质干细胞”<sup>[5]</sup>。“间充质干细胞”的命名逐渐被广泛接受和使用。有学者认为间充质干细胞的英文名称应为 mesenchymal stromal cell, 但是更多学者习惯采用 mesenchymal stem cell。

骨髓是 MSC 的主要来源, 对骨髓间充质干细胞 (bone marrow-mesenchymal stem cell, BM-MSC) 的研究也最为深入。但骨髓中 MSC 的含量极少, 仅占骨髓单个核细胞 (bone marrow mononuclear cell, BMMC) 的 0.002%~0.005%。近年来, 研究人员陆续从其他组织如脐血、脐带、胎盘、脂肪、肌肉、头皮、牙周质等中分离得到 MSC。da Silva 等<sup>[6]</sup>报道, MSC 几乎存在于所有的成体组织器官中, 他认为血管周围是 MSC 的体内“干细胞龛”。Bruno Peault 实验室<sup>[7]</sup>也从成体的肺、心脏、脑、小肠等中分离出 MSC。

## 二、间充质干细胞的定义

一直以来 MSC 被作为一种具有特征性形态、表型及功能性质的细胞群体来研究, 由于没有找到特异性的表面标志物, 对 MSC 的定义一直存在争议。MSC 高表达 CD13、CD29、CD105、CD44, 低表达 CD106, 不表达 CD14、CD34、CD11a、CD31、CD45<sup>[1]</sup> 及人白细胞抗原 II (human leukocyte antigen-II, HLA-II), 不表达或低表达 HLA-I 抗原<sup>[8]</sup>。其中 CD29 属于整合素家族, CD105 是间充质相关抗原, CD14 是单核巨噬细胞表面标记, CD11a 是淋巴细胞功能相关抗原-1, CD34 和 CD45 是 HSC 阳性标记, CD31 是

内皮细胞特异性抗原标记。同时 MSC 也不表达或低表达移植免疫排斥相关表面标志 CD80 (B7-1)、CD86 (B7-2)、CD40、CD40L<sup>[9]</sup>, 表明细胞高表达 MSC 相关标志而不表达 HSC、内皮细胞特异性抗原及移植排斥相关表面标志。Pittenger 等<sup>[1]</sup>提出的有关 MSC 的定义是目前公认的“金标准”, 即 BM-MSC 可以在体外适宜的刺激下, 向骨细胞、脂肪细胞及软骨细胞分化。2006 年, 国际细胞治疗协会 (International Society for Cellular Therapy, ISCT) 确定 MSC 的鉴定标准<sup>[10]</sup>为: ①在塑料培养皿内, 贴壁生长, 在含血清的培养基内, 高度增殖; ②表达 CD105、CD73、CD90, 不表达 CD45、CD34、CD14 或 CD11 $\beta$ 、CD79 $\alpha$  或 CD19; ③在体外可以分化为成骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞。

人们通过高密度培养和多次传代获得的形态均一和表型一致的 MSC 的这一培养方法可能已经丢失了一些 MSC 的特有特性。通过单细胞来源克隆培养 MSC 发现人 MSC (human MSC, hMSC) 至少包括三种不同形态的细胞: ①一种体积小但自我更新很快的细胞; ②一种细长的纺锤状的成纤维样的细胞; ③一种大而扁平的增殖速度慢的细胞。其中体积小的 MSC 具有更好的增殖能力和更强的分化、迁移和定植能力, 而连续传代后这类细胞会不断减少<sup>[11]</sup>。这也说明连续传代后 MSC 出现了不对称分裂和分化。除了表型, 早期的 MSC 的蛋白质表达也是多样的, 一些对细胞活性十分重要的受体蛋白只表达于特定的亚群中。MSC 的异质性会造成得到不同的研究结果, 也会影响细胞治疗的疗效。因此研究不同 MSC 亚群的增殖、分化和生物学特性具有深远的意义。将具有不同生物学活性的特定 MSC 亚群应用到相对应的疾病治疗中, 可使其更有效地发挥治疗作用。

Stro-1 高表达于增殖能力高的 MSC 细胞表面, 是评价 MSC 功能特性的一个重要的表面标志物。在贴壁培养的骨髓细胞中, 表达 Stro-1 的细胞大约占 6%。Stro-1<sup>+</sup> MSC 具有更强的迁移和组织修复能力<sup>[12]</sup>。CD271 (低亲和力神经生长因子受体) 被认为是更原始的 MSC 的一个表面标志物, 它在不同组织来源 MSC 中的表达量差异大, CD271<sup>+</sup> MSC 表达成软骨的基因水平比其他 MSC 亚群要高, 具有很强的成软骨能力, 适合应用于软骨修复<sup>[13,14]</sup>。CD105 是转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 受体复合物的一部分, 对血管形成和重塑至关重要。脂肪和骨髓来源 MSC 表达 CD105 的水平较高, 超过 90%<sup>[14]</sup>。CD105<sup>+</sup> MSC 具有很强的成心肌能力, 研究表明 CD105<sup>+</sup> MSC 可以减少心肌梗死面积和改善心功能<sup>[15]</sup>。CD106 [血管细胞黏附分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)] 在胎盘组织中表达量最高, 大约为 75%。CD106<sup>+</sup> MSC 表达免疫调节因子的水平要高于其他亚群, 具有很强的免疫抑制能力, 适合应用于自身免疫系统疾病<sup>[16]</sup>。CD146 是一种膜糖蛋白, 在 BM-MSC 中占 40%~70%, 在 UC-MSC 中占 16%~40%, 在脂肪间充质干细胞 (adipose-derived mesenchymal stem cell, AD-MSC) 中约占 20%<sup>[17]</sup>。CD146<sup>+</sup> MSC 同时还表达 NG2 和 PDGFR $\beta$ , CD146<sup>+</sup> MSC 表达骨相关因子的水平要高于其他亚群, 具有很强的成骨分化能力, 适合应用于骨折后的骨愈合和骨重建<sup>[18]</sup>。PDGFR $\alpha$  是血小板源生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF) 家族成员的酪氨酸激酶受体, PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> MSC 对皮肤疾病具有很好的治疗作用, 可以向损伤皮肤趋



化并分化成表皮细胞,促进皮肤损伤修复和重建<sup>[19]</sup>。另外,其他表型如 Nestin、CXCR4、SSEA-4、Stro-3、GD2、Leptin R 等都被报道过单独表达或者联合表达在 MSC 的表面,表达这些标志物的细胞或是具有更强的集落形成能力、造血支持作用,或是具有更好的迁移或者分化能力<sup>[20]</sup>。随着研究者的深入研究,更纯的 MSC 的生物学功能将被确定,并特定地应用于治疗相应的疾病。

### 三、间充质干细胞的作用机制

MSC 具有很强的分化能力,这一特性曾经被认为是其参与组织损伤修复的主要作用机制。然而目前许多的研究结果表明,MSC 在动物疾病模型中确实能发挥治疗作用,但是在免疫健全的动物体内定植和分化的细胞数量甚微<sup>[21,22]</sup>。MSC 具有强大的旁分泌功能,通过分泌一系列的细胞因子、化学分子和生长因子来调节微环境,激活内源性的干细胞发挥组织损伤修复作用<sup>[23]</sup>。通过已有的蛋白质检测方法可以检测有一定表达量的分泌蛋白。应用质谱仪定量检测方法检测到鼠 MSC 表达 258 种蛋白,其中分泌蛋白为 54 种<sup>[24]</sup>,但许多细胞因子和生长因子的含量要低于质谱仪的检测限度;蛋白质芯片法可以检测到低浓度的蛋白质,但是只有已知的蛋白质可以通过这个方法检测。有研究人员通过质谱法确定了 hMSC 表达的 247 种蛋白,包括 29 个未知蛋白,通过芯片法确定了低表达的 72 种蛋白,其中只有 3 个与质谱法检测到的蛋白相同。通过生物信息学的方法分析了编码这些蛋白的 201 种基因,这些基因涉及 58 种生物过程和 30 条信号通路,58 种生物过程主要分成 3 个部分,即代谢、防御应答和组织分化;30 条信号通路涉及的范围很广,包括受体结合、信号转导、细胞直接接触、细胞迁移、免疫应答和代谢<sup>[25]</sup>。MSC 通过分泌血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF)、成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF)、胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1) 和 TB4 等来保护缺血性心肌细胞,促进心肌再生<sup>[26]</sup>。MSC 通过分泌一系列的生长因子如 HGF、VEGF、基质细胞衍生因子-1 (stromal cell derived factor-1, SDF-1)、角质细胞生长因子 (keratinocyte growth factor, KGF)、FGF、胎盘生长因子 (placental growth factor, PLGF)、单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) 和 IGF-1 等来促进细胞增殖和组织损伤修复<sup>[27]</sup>。MSC 通过分泌抗炎因子[白介素-10 (interleukin, IL-10)、肿瘤坏死因子刺激基因-6 (tumor necrosis factor stimulated gene 6, TSG-6)]和抑制促炎因子 [IL-1a、IL-6、IL-17、干扰素- $\gamma$  (interferon, IFN- $\gamma$ )、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)、巨噬细胞炎性蛋白-2 $\alpha$  (macrophage inflammatory protein-2 $\alpha$ , MIP-2 $\alpha$ )、MCP-1]来发挥抗炎作用<sup>[28]</sup>。

外泌体 (exosome) 是由细胞内多泡体 (multivesicular body, MVB) 与细胞膜融合后,释放到细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 中的一种直径为 30~120nm 的膜性囊泡。外泌体所携带的“货物”具有重要的生物学意义,包括具有多种生物学特性的脂质、蛋白质、RNA 和 DNA。其中脂质包括胆固醇、鞘磷脂和己糖基神经酰胺。蛋白质