

骨髓间充质干细胞的多向分化潜能研究进展

董学君* 孙 荷 张国荣 项黎新¹ 潘若浪¹ 陈 焯¹ 张瑞鹏¹ 邵健忠¹

(绍兴市人民医院, 分子医学中心, 绍兴 312000; ¹浙江大学生命科学院, 浙江省细胞与基因工程重点研究实验室, 杭州 310058)

摘要 骨髓间充质干细胞(bone marrow stromal stem cell, BMSSC)是成体干细胞中最受关注的细胞之一,它不仅在造血和免疫细胞发生发育中发挥重要作用,而且参与多种器官组织的再生和损伤修复,特别是近年来发现 BMSSC 具有向不同胚层来源细胞跨越分化(trans-differentiation)的可塑性,不仅有可能揭示细胞分化的新机制,而且为众多疾病的临床治疗提供了新思路。目前已揭示, BMSSC 除了具有向成骨、软骨和脂肪细胞分化潜能外,还有向肝细胞、神经细胞、心肌细胞、血管内皮细胞和胰岛细胞等多向分化的潜能,本文就当前 BMSSC 的多向分化潜能研究进展作一综述。

关键词 骨髓间充质干细胞; 多向分化潜能; 可塑性; 细胞因子

成体干细胞(adult stem cells)与胚胎干细胞(embryonic stem cell, ES 细胞)相比较,因来源丰富,不受生物伦理限制等优势而受到广泛重视^[1]。在诸多成体干细胞中,骨髓间充质干细胞(bone marrow stromal stem cell, BMSSC)是研究最为深入的细胞之一。以往, BMSSC 的研究主要是成骨、造血和免疫细胞发生发育的关系方面^[2],近年来,发现其参与多种器官组织的再生和损伤修复,特别是具有向不同胚层来源细胞跨越分化(trans-differentiation)的能力,而引起研究者的极大兴趣。BMSSC 跨越分化的研究,不仅有助于揭示细胞分化的机制,而且对间充质干细胞的定向分化及用于疾病治疗具有重要价值。目前,已揭示 BMSSC 具有向成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、肝细胞、神经细胞、心肌细胞、血管内皮细胞和胰岛细胞等分化的潜能,本文就 BMSSC 的这种可塑性研究进展作一综述。

1 BMSSC 分化肝细胞的潜能

1999 年, Peterson 等^[3]首先开展了骨髓来源的干细胞是否具有肝细胞分化潜能的实验研究,他们利用 2-乙酰氨基苄抑制雌性小鼠自体肝细胞增殖,并用 CCl₄ 致肝急性损伤,然后植入从雄性供体小鼠分离的骨髓干细胞;利用 RT-PCR 和原位杂交等技术,在移植第 9 天,观察到了雌性受体小鼠肝组织中出现 Y 染色体阳性细胞,在移植第 13 天,检测到 Y 染色体阳性细胞表达肝细胞标志物,提示移植的骨髓干细胞参与肝脏急性损伤修复,并在损伤肝脏微环境下,实现了向肝细胞的分化。之后,研究者相继证实了骨髓

中的造血干细胞和 BMSSC 均具有向肝细胞分化的潜能^[4];但与造血干细胞相比, BMSSC 具有含量丰富,易于分离培养等优点,而被认为是开展组织工程和细胞移植治疗的理想种子细胞,应用价值更大^[5]。此外, BMSSC 分化肝细胞是中胚层细胞向内胚层细胞的跨越分化,突破了成体干细胞只能在同一胚层分化的传统观点,为揭示细胞分化发育的新规律提供研究模型,因此, BMSSC 分化肝细胞的研究受到广泛关注^[6]。迄今,已建立了多个体内外诱导 BMSSC 分化肝细胞的技术体系,包括损伤肝组织条件培养液诱导体系^[7]、胎肝条件培养液诱导体系及细胞因子组合诱导技术等^[8]。在诱导机制方面, Mizuguchi 等^[9]曾推测肝细胞生长的微环境有利于 BMSSC 向肝细胞分化,因为与肝细胞共培养的 BMSSC,其肝细胞特异性蛋白表达的时间和量均优于单纯细胞因子诱导组;但也有研究者认为该结果可能是因共培养过程中,两种细胞产生融合造成的结果^[10],为了排除这一可能,研究者先将 BMSSC 用 GFP 或 PKH26-GL 标记,然后移植入肝损伤小鼠体内,发现 BMSSC 可以在不发生融合的情况下分化成肝细胞^[11],此外,利用 Transwell 等装置进行的体外诱导试验也揭示了损伤肝组织可以通过分泌一些细胞因子信号,而不经细胞间的直接接触诱导间充质干细胞分化肝细胞^[12]。

2000 年, Oh 等^[13]用肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)体外诱导小鼠骨髓干细胞向肝细

收稿日期: 2009-03-18 接受日期: 2009-12-25

浙江省省部共建项目资助(No. WKJ2007-2-037)

* 通讯作者。Tel: 0575-88228576, E-mail: dxj9666@163.com

胞分化。之后, Schwartz 等^[14]模拟肝脏发育调控机制, 用成纤维细胞生长因子-4 (fibroblast growth factor-4, FGF-4)和 HGF 联合诱导大鼠、小鼠和人 BMSSC, 能检测到分化细胞逐步表达肝细胞特异标志物 HNF3 β 、CK19、CK18 和 ALB 等, 诱导 21 天后, 分化细胞具备了合成尿素、储存糖原和分泌 ALB 等功能, 并发现 FGF4 和 HGF 联合诱导效率显著高于单因子诱导效率。后续研究表明, 不同的细胞因子组合, 如 HGF 和表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF), HGF 和 OSM, FGF 和 OSM, FGF-4、OSM、HGF 和 EGF 以及干细胞因子(stem cells factor, SCF)、HGF、EGF 和 FGF-4 等, 都能不同程度地诱导 BMSSC 向肝细胞分化, 而且 Dex、DMSO 和 ITS 等对细胞因子的组合诱导具有协同效应^[15]。目前, 依据肝脏发育过程中细胞因子的表达顺序和作用特点, 已优化出 FGF4、HGF 和 OSM 顺序诱导方案, 能更为有效地诱导 BMSSC 分化肝细胞。在上述众多的细胞因子中, FGF 和 HGF 被认为是诱导 BMSSC 分化肝细胞的关键细胞因子^[16]。FGF 包括了 FGF-1~FGF-4 等家族成员, 除了 FGF-4 外, FGF-1 和 FGF-2 也参与肝细胞的分化调控^[17]。研究表明, 添加 FGF 后的 BMSSC, 能启动肝细胞早期分化基因 Foxa2 和 AFP 的表达, 但只添加 FGF 而不添加 HGF 并不能检测到 ALB 等成熟肝细胞指标, 提示 FGF 是启动肝细胞分化的重要因子, 而 HGF 则对肝细胞的成熟发挥重要作用^[18]; 此外, OSM 也具有促进肝细胞成熟的作用^[19]。近年来, 由于表观遗传修饰在干细胞分化中的作用被揭示, 已有研究者用调节组蛋白乙酰化和甲基化等表观遗传修饰的因子, 建立调节 BMSSC 分化肝细胞的新方法, 如 Snykers 等^[20]已发现组蛋白乙酰化酶抑制剂 Trichostatin A (TSA)具有显著促进人 BMSSC 分化肝细胞的作用; Chen 等^[16]发现丙戊酸钠(valproic acid, VPA)能促进 FGF4、HGF 和 OSM 组合体系诱导小鼠 BMSSC 分化肝细胞; 这些研究提示, BMSSC 向肝细胞分化过程中, 涉及组蛋白去乙酰化酶参与的组蛋白乙酰化修饰。

2 BMSSC分化神经细胞的潜能

2000 年, Woodbury 等^[21]利用抗氧化剂 β - 巯基乙醇或二甲基亚砷和丁羟茴香醚等物质, 对来源于大鼠和人的 BMSSC 进行了体外诱导神经细胞分化试验, 发现经 6 天诱导, BMSSC 呈现神经元形态特征, 同时

表达神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)、神经元核抗原(neuronal nuclear antigen, NeuN)和中等分子量神经微丝(neurofilament-M, NFM)等神经细胞标志物, 提示来源于中胚层的 BMSSC 具备向神经外胚层细胞跨越分化的潜能。有学者推测, 抗氧化剂在诱导 BMSSC 分化神经细胞过程中, 可能发挥了与活性氧类似的第二信使功能, 但该假设尚需进一步的验证。另有学者对抗氧化剂诱导 BMSSC 分化神经细胞持否定态度, 认为化学诱导剂诱导神经细胞样细胞的形成, 可能是由于其产生的毒性使细胞收缩或细胞骨架发生变化所致^[22]。目前, 已发现神经细胞的增殖和分化受多种细胞因子的影响, 其中神经生长因子(nerve growth factor, NGF)是最早被发现和被认为是最重要的一种生长因子, 它具有刺激神经元生长和神经纤维延长, 促进神经节增长等功能^[23]。Li 等^[24]注射 β - 淀粉蛋白至小鼠双侧海马组织, 造成阿尔海默茨疾病模型, 然后将 NGF 克隆入 pcDNA3 转染 BMSSC, 通过移植转染 NGF 的 BMSSC, 发现 BMSSC 向损伤的脑组织迁移并分化为有功能的神经元细胞。除 NGF 外, FGF 在 BMSSC 向神经细胞分化中的作用也受到关注。已有研究显示, FGF 是一种有效的丝裂原和分化抑制因子, 可影响神经外胚层和中胚层细胞的增殖和分化, 是体内重要的神经营养因子^[25]。Kim 等^[26]在利用 FGF 诱导神经细胞分化的同时, 添加不同剂量的视黄酸(retinoic acid, RA), 发现 16% 以上的细胞表达神经丝, 诱导效率比单独使用 FGF 显著提高, 提示 FGF 与 RA 具有协同诱导效应。此外, Sanchez-Ramos 等^[27]还建立了以神经营养因子 V 为基础的诱导 BMSSC 分化神经细胞的培养体系, 经该体系诱导 7~14 天后的 BMSSC 群体中, 出现典型的神经样细胞。同时, EGF、脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)和胶质细胞源性神经营养因子(glial-derived neurotrophic factor, GDNF)在 BMSSC 分化神经细胞中的作用也受到关注, 如 Yamaguchi 等^[28]利用基因芯片等技术, 检测到这些因子的受体大量存在于 BMSSC 的细胞膜上, 因而推测这些因子及其受体介导的信号通路可能在 BMSSC 分化神经细胞过程中发挥作用, 但对其确切的调控机制尚需深入研究。BMSSC 向神经细胞, 特别是向多巴胺神经元分化潜能和相关技术的建立, 对于多种神经系统疾病, 如脑血管病、Parkinson 综合征、脱髓鞘病变以及中枢神经系统创伤等的治疗,

提供了新的思路。

3 BMSSC分化心肌细胞的潜能

成年哺乳动物心肌细胞是退出细胞周期的G₀期细胞, 丧失增殖分化能力, 因此, 心肌细胞损伤坏死后将由纤维组织代替, 导致心脏收缩舒张功能障碍。Hiroshi等^[29]较早开展了BMSSC体内分化心肌细胞的研究, 他们利用GFP标记的小鼠BMSSC, 静脉注射植入心肌梗死小鼠体内, 经G-CSF刺激后, 发现植入的细胞可以向心肌梗死区游走, 并分化出具有搏动功能的心肌细胞。但这方面的研究尚存争议, 因为移植实验存在复杂性和不确定性; 部分研究显示, 心肌梗死小鼠模型中从BMSSC分化而成的心肌细胞数量并不多见, 因此, 对于BMSSC在体内心肌损伤条件下能否真实分化成心肌细胞, 尚需深入研究。然而, 与体内分化实验相比较, 体外分化试验却取得了较明确的结果^[30]。目前, 已有多位学者利用5-氮杂胞苷(5-azacytidine, 5-AZA)诱导BMSSC分化心肌细胞的试验^[31]。5-氮杂胞苷是一种核苷类似物, 能选择性活化真核基因表达, 而被广泛应用于多种细胞的分化研究^[32]。研究显示, 经5-氮杂胞苷诱导后的BMSSC, 能迅速表达NKX2-5/CSX、 β -MHC和肌动蛋白等心肌细胞标志物, 同时在电镜下也能观察到细胞内形成成束的肌丝结构, 表明5-氮杂胞苷能有效诱导BMSSC分化为心肌细胞。为了提高5-氮杂胞苷的诱导效率, Dong等^[33]曾尝试用内皮素-1(endothelin, ET-1)进行协同诱导, ET-1是一种由21个氨基酸组成的血管收缩肽, 在心肌缺血、缺氧和内皮细胞损伤时大量表达, 可促进培养的心肌细胞生长及增加胶原的合成, 刺激收缩蛋白和多个原癌基因的表达。Dong等的结果表明, 与单因子作用相比, ET-1与5-氮杂胞苷共同作用BMSSC后, 无论是细胞直径、 β -肌球蛋白重链和GATA-4等心肌细胞相关蛋白的表达量及磷酸化水平, 还是分化细胞中肌钙蛋白的心肌细胞水平化的变化, 均有显著性差异, 提示ET-1具有协同5-氮杂胞苷诱导心肌细胞分化的效应; 有学者认为, 这与ET-1促进心肌细胞增殖分化过程中, 5-氮杂胞苷调节DNA甲基化转移酶表达和促进效应分子的去甲基化有关^[34]。此外, 另有学者发现, 将BMSSC和血小板源性生长因子-AB(platelet derived growth factor-AB, PDGF-AB)植入心肌梗死小鼠, 可使其心肌细胞动力学指标得到明显改善, 比单独使用BMSSC的对照组提高2倍以上^[35], 提示PDGF-AB在调节

BMSSC向心肌细胞分化过程中发挥重要作用。最近, 还有研究显示, BMSSC在体内分化心肌细胞过程中, 可能需要与心肌细胞直接接触的信号; 另外, 心肌微环境中存在的多种因子, 如转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、FGF、SCF、G-CSF、激素、离子以及由其他内分泌或旁分泌细胞产生的可溶性物质, 也构成了BMSSC生长和分化的微环境信号, 共同调节其增殖分化^[36]。与5-氮杂胞苷的特性不同的是, 心肌微环境中的各种因子, 如TGF- β 、FGF、SCF和G-CSF等, 需要在心肌微环境下才能发挥其促分化作用, 即所谓的“环境依赖性”, 它们并不能单独使BMSSC分化为心肌细胞。

4 BMSSC分化成骨、软骨和脂肪细胞的潜能

成骨、软骨和脂肪细胞被认为源于同一种BMSSC前体细胞, 即在一定条件下, BMSSC既可以向成骨、软骨细胞分化, 也可以向脂肪细胞分化, 而分化成熟的细胞也有向另一种细胞转分化的能力^[37]。BMSSC在地塞米松、抗坏血酸和 β -甘油磷酸钠的诱导下可分化为成骨细胞; 在TGF- β 、地塞米松、抗坏血酸、丙酮酸钠、脯氨酸和ITS的诱导下分化为软骨细胞; 在地塞米松、胰岛素、异丁基甲基黄嘌呤和吲哚美辛诱导下分化为脂肪细胞。在体内, BMSSC向成骨、软骨和脂肪细胞分化受多种细胞因子及信号通路调控, 包括骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)、TGF- β 、胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)、Hedgehog蛋白、Wnt蛋白等^[38]。BMP是TGF- β 超家族中的另一个成员, 它在调节BMSSC的分化中发挥重要作用, 如对BMSSC移植小鼠皮下或肌肉注射BMP5/BMP6/BMP7, 可促使韧带的形成; 联合注射BMP2和BMSSC到颅骨缺失小鼠, 可促进其骨的形成; 注射BMP2/BMP4/BMP6, 可诱导BMSSC向软骨分化^[39]。在作用方式上, BMP也是一种浓度依赖性诱导因子, 低浓度BMP促进BMSSC分化为前成骨细胞, 但随着浓度的增加, 此过程被抑制, 转而分化为前脂肪细胞。TGF- β 对于体内的成熟细胞属于一种负向调控因子, 而对于未分化的细胞则属于一种促进分化的因子, 它作用BMSSC后, 能够促进软骨细胞的分化而抑制成骨细胞分化^[40]。但有研究者发现, TGF- β 是一种剂量依赖性细胞因子, 只有在0~5 ng/

ml 的浓度下,才能有效实现其促进分化的作用^[41]。另外, TGF- β 还是许多信号通路的激活因子,如 TGF- β /Smad 通路、TGF- β /BMP 通路和 TGF- β /Wnt 通路等^[42],在促进 BMSSC 向软骨细胞分化中,均发挥其促进软骨形成的作用^[60]。来源于肝细胞的 IGF 也可促进 BMSSC 向软骨细胞分化^[43],特别在 IGF-I 诱导 BMSSC 分化前,先用 TGF- β 预处理细胞,可大大促使 BMSSC 增殖并表达 I 型胶原和蛋白多糖;然后再经 IGF-I 作用,基质蛋白多糖及 II 型胶原等软骨细胞标志蛋白的表达显著升高,胞体变得细长并逐渐与周围的细胞连接成网状^[44],表明 IGF-I 与 TGF- β 具有协同诱导作用。Hedgehog 蛋白 Ihh (Indian hedgehog) 和 Shh (Sonic hedgehog) 也是参与骨和软骨形成的重要蛋白。由于成熟的成骨细胞和软骨细胞增殖能力有限,体外扩增易发生老化和去分化,丧失骨、软骨形成能力,这成为骨组织工程和软骨组织工程的主要障碍(图 1)。因此,利用 BMSSC 分化技术,将为骨组织工程和软骨组织工程研究提供重要的种子细胞来源。

5 BMSSC 分化血管内皮细胞的潜能

Takizawa 等^[45]曾将 GFP 标记的 BMSSC 移植入小鼠大脑,两个月后对受体小鼠进行脑动脉永久性梗塞试验,然后用细胞因子继续处理小鼠一个月,发现植入的 BMSSC 发生了分化,表达血管内皮细胞和神经胶质细胞特异性蛋白,表明在低氧环境下, BMSSC 不仅具有向血管内皮细胞分化的潜能,而且可以应激性地对抗低氧造成的损伤。尔后, Liang 等^[46]开展了体外诱导 BMSSC 分化血管内皮细胞试验,他们将血

管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和 bFGF 与 BMSSC 共培养 3~21 天,发现 BMSSC 先后表达 CD34、CD31、FLt-1 (VEGFR-1)、Flk-1 (VEGFR-2)和 vWF (von Willebrand factor)等血管内皮细胞特异性蛋白。此外, Mieno 等^[47]通过在低血清(2% 胎牛血清)培养基中添加 VEGF,对 BMSSC 进行诱导培养,换液过程中不断去除非粘附细胞,2 周后收集的细胞除了表达血管内皮细胞特异性因子(VEGFR、VE-钙粘着蛋白、VCAM-1 和 vWF)外,还在半固体培养基中形成了具有毛细血管样的结构。表明 VEGF 不仅作为血管内皮细胞特异的有丝分裂原,在胚胎发生和创伤愈合过程中发挥启动血管形成和促血管生长的作用,而且具有调控间充质干细胞分化血管内皮细胞以抵抗因低氧胁迫造成的血管损伤等功能。进一步研究显示,低氧环境与 VEGF 促进 BMSSC 向血管内皮细胞分化的机制相似,它们都可以上调促血管生成的细胞因子,如 FGF、VEGF、VEGF 受体(KDR)和 FLT-1 等的表达,而这些因子在血管生成及促进毛细管样结构形成过程中发挥重要作用。BMSSC 的血管内皮细胞分化潜能,对于心肌梗死和脑梗塞等疾病的细胞移植治疗具有重要的临床应用价值。

6 BMSSC 分化胰岛细胞的潜能

利用 BMSSC 定向分化和修复胰岛细胞,从而实现 I 型糖尿病的治疗和控制,是许多学者感兴趣的研究课题,目前在该领域已取得一些进展。如 Sun 等^[48]利用胰岛素基因关键转录激活因子胰腺十二指肠同源异型盒(PDX-1),构建真核表达载体,并转染 BMSSC,发现经转染的 BMSSC 分泌胰岛素的能力显著高于未经转染的对照组,同时,在转染的 BMSSC 中,还可检测到胰高血糖素和生长激素释放抑制因子等 β 细胞特异性基因的表达,表明 PDX-1 不仅能够诱导 BMSSC 向胰岛细胞分化,而且所分化的细胞具备了胰岛细胞特有的分泌胰岛素、降低血糖等生物学功能。Choi 等利用损伤后的胰腺提取物中含有大量应激性修复胰腺细胞因子的特性,将 60% 胰脏切除两天后的小鼠胰腺提取物与 BMSSC 共同培养,一周后检测上述胰岛细胞特异性基因的表达,发现表达量均明显升高,从而初步建立了利用损伤胰腺提取物诱导 BMSSC 分化胰岛细胞的方法,这为诱导 BMSSC 定向分化为胰腺细胞所需的关键细胞因子分离鉴定,打下了基础^[49]。Sordi 等^[50]对吸引 BMSSC 向损伤胰岛迁

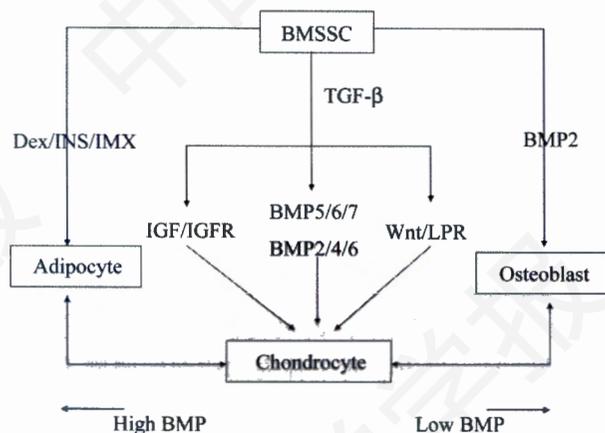


Fig.1 Chondrocyte, osteoblast and adipocyte differentiation from BMSSC by cytokine pathways

移的机制进行研究,发现损伤的胰岛组织可以分泌趋化因子CXCL12、CX3CL1、CXCL16、CCL3、CCL19等,而2%~25%的BMSSC表达一系列相应的趋化因子受体,包括CXCR4、CX3CR1、CXCR6、CCR1、CCR7等。通过对BMSSC体外培养添加趋化因子实验和体内移植实验发现,BMSSC不仅依赖趋化因子及受体的诱导向损伤胰岛组织迁移,而且这种迁移作用具有明显的剂量依赖性。

综上所述,BMSSC具有易获得,易培养的特点,克服了胚胎干细胞伦理学的限制,具有向各胚层细胞多向分化的潜能,成为自体移植理想的“种子”细胞。因此,利用BMSSC的分化特点,发展一种高效、稳定的诱导方法成为近年来的研究热点之一。BMSSC体外分化培养的研究发现,一定的细胞因子、化合物、药物等的作用,甚至损伤组织的微环境都能使BMSSC在形态和功能上向成体细胞分化。小鼠BMSSC移植入肝脏或心肌细胞损伤的小鼠体内的,BMSSC能够向损伤的组织游走并分化为有利于损伤修复的成体细胞。然而,BMSSC的定向分化过程涉及复杂的信号网络途径,可能细胞因子在BMSSC分化的不同时期,调控了其定向分化的程度和方向,了解分化过程的分子机制是实现有效控制BMSSC分化方向的关键。BMSSC的多向分化潜能研究与应用,涉及细胞生物学、器官发育学、组织工程学等多个领域;BMSSC的定向分化,有望广泛应用于临床,但BMSSC用于人类疾病治疗,其安全性等方面还有更多的问题有待解决。

参考文献(References)

- 1 Kim JB, Zaehres H, Wu G, Gentile L, Ko K, Sebastiano V, *et al.* Pluripotent stem cells induced from adult neural stem cells by reprogramming with two factors. *Nature* 2008; 454(7204): 646-50.
- 2 Francesca DR. T-lymphocyte interaction with stromal, bone and hematopoietic cells in the bone marrow. *Immunol Cell Biol* 2009; 87(1): 20-9.
- 3 Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, *et al.* Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science*, 1999; 284(5417):1168-70.
- 4 Bae SH. Clinical application of stem cells in liver diseases. *Korean J Hepatol* 2008; 14(3): 309-17.
- 5 Kallis YN, Alison MR, Forbes SJ. Bone marrow stem cells and liver disease. *Gut* 2007; 56(11): 1640-1.
- 6 Maria OM, Khosravi R, Mezey E, Tran SD. Cells from bone marrow that evolve into oral tissues and their clinical applications. *Oral Dis* 2007; 13(1): 11-6.
- 7 Chen Y, Dong XJ, Zhang GR, Shao JZ, Xiang LX. *In vitro* differentiation of mouse bone marrow stromal stem cells into hepatocytes induced by conditioned culture medium of hepatocytes. *J Cell Biochem*. 2007; 102(1): 52-63.
- 8 Chen Y, Dong XJ, Zhang GR, Shao JZ, Xiang LX. Transdifferentiation of mouse BM cells into hepatocyte-like cells. *Cytotherapy* 2006; 8(4): 381-9.
- 9 Mizuguchi T, Hui T, Palm K, Sugiyama N, Mitaka T, Demetriou AA, *et al.* Enhanced proliferation and differentiation of rat hepatocytes cultured with bone marrow stromal cells. *J Cell Physiol* 2001; 189(1):106-19.
- 10 Medvinsky A, Smith A. Stem cells: fusion brings down barriers. *Nature* 2003; 422(6934): 823-5.
- 11 Terai S, Sakaida I, Yamamoto N, Omori K, Watanabe T, Ohata S, *et al.* An *in vivo* model for monitoring trans-differentiation of bone marrow cells into functional hepatocytes. *J Biochem* 2003; 134(4): 551-8.
- 12 Forte G, Minieri M, Cossa P, Antenucci D, Sala M, Gnocchi V, *et al.* Hepatocyte growth factor effects on mesenchymal stem cells: proliferation, migration, and differentiation. *Stem Cells* 2006; 24(1): 23-33.
- 13 Oh SH, Miyazaki M, Kouchi H, Inoue Y, Sakaguchi M, Tsuji T, *et al.* Hepatocyte growth factor induces differentiation of adult rat bone marrow cells into a hepatocyte lineage *in vitro*. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 279(2):500-4.
- 14 Schwartz RE, Reyes M, Koodie L, Jiang Y, Blackstad M, Lund T, *et al.* Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. *J Clin Invest* 2000; 109(10): 1291-302.
- 15 Lazaro CA, Rhim JA, Yamada Y, Fausto N. Generation of hepatocytes from oval cell precursors in culture. *Cancer Res* 1998; 58(23): 5514-22.
- 16 Chen Y, Pan RL, Zhang XL, Shao JZ, Xiang LX, Dong XJ, *et al.* Induction of hepatic differentiation of mouse bone marrow stromal stem cells by the histone deacetylase inhibitor VPA. *J Cell Mol Med* 2008; 13(8): 2582-92.
- 17 Xie JM, Chen JF, Gao Y, Yao KH. Hepatocyte growth factor and fibroblast growth factor-4-induced differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells *in vitro*. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2006; 26(10): 1439-42.
- 18 Kang XQ, Zang WJ, Song TS, Xu XL, Yu XJ, Li DL, *et al.* Rat bone marrow mesenchymal stem cells differentiate into hepatocytes *in vitro*. *World J Gastroenterol* 2005; 11(22): 3479-84.
- 19 Lee MJ, Song HY, Kim MR, Sung SM, Jung JS, Kim JH. Oncostatin M stimulates expression of stromal-derived factor-1 in human mesenchymal stem cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39(3): 650-9.
- 20 Snykers S, Vanhaecke T, De Becker A, Papeleu P, Vinken M, Van Riet I, *et al.* Chromatin remodeling agent trichostatin A: a key-factor in the hepatic differentiation of human mesenchymal stem cells derived of adult bone marrow. *BMC Dev Biol* 2007; 7: 24.
- 21 Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, Black IB. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J Neurosci Res* 2000; 61(4): 364-70.
- 22 Neuhuber B, Gallo G, Howard L, Kostura L, Mackay A, Fischer I. Reevaluation of *in vitro* differentiation protocols for bone

- marrow stromal cells: disruption of actin cytoskeleton induces rapid morphological changes and mimics neuronal phenotype. *J Neurosci Res* 2004; 77: 192-204.
- 23 Wang TH, Feng ZT, Wei P, Li H, Shi ZJ, Li LY. Effects of pcDNA3-beta-NGF gene-modified BMSC on the rat model of Parkinson's disease. *J Mol Neurosci* 2008; 35(2):161-9.
- 24 Li LY, Li JT, Wu QY, Li J, Feng ZT, Liu S, *et al.* Transplantation of NGF-gene-modified bone marrow stromal cells into a rat model of Alzheimer' disease. *J Mol Neurosci* 2008; 34(2): 157-63.
- 25 Farre J, Roura S, Prat-Vidal C, Soler-Botija C, Llach A, Molina CE, *et al.* FGF-4 increases *in vitro* expansion rate of human adult bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Growth Factors* 2007; 25(2): 71-6.
- 26 Kim BJ, Seo JH, Bubien JK, Oh YS . Differentiation of adult bone marrow stem cells into neuroprogenitor cells *in vitro*. *Neuroreport* 2002; 13(9): 1185-8.
- 27 Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo-Pelaez F, Hazzi C, Stedford T, Willing A , *et al.* Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells *in vitro*. *Exp Neurol* 2000; 164(2): 247-56.
- 28 Yamaguchi S, Kuroda S, Kobayashi H, Shichinohe H, Yano S, Hida K, Shinpo K, *et al.* The effects of neuronal induction on gene expression profile in bone marrow stromal cells (BMSC) — a preliminary study using microarray analysis. *Brain Res* 2006; 1087(1): 15-27.
- 29 Hakuno D, Fukuda K, Makino S, Konishi F, Tomita Y, Manabe T, *et al.* Bone marrow-derived cardiomyocytes (CMG cell) expressed functionally active adrenergic and muscarinic receptors. *Circulation* 2002; 105(3): 380-86.
- 30 Kawada H, Fujita J, Kinjo K, Matsuzaki Y, Tsuma M, Miyatake H, *et al.* Nonhematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. *Blood* 2004; 104(12): 3581-87.
- 31 Antonitsis P, Ioannidou-Papagiannaki E, Kaidoglou A, Papakonstantinou C. *In vitro* cardiomyogenic differentiation of adult human bone marrow mesenchymal stem cells. The role of 5-azacytidine. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2007; 6(5): 593-7.
- 32 Antonitsis P, Ioannidou-Papagiannaki E, Kaidoglou A, Charokopos N, Kalogeridis A, Kouzi-Koliakou K, *et al.* Cardiomyogenic potential of human adult bone marrow mesenchymal stem cells *in vitro*. *Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 56(2): 77-82.
- 33 Dong HY, Zhang ZM, Zhou ZX. Effects of endothelin-1 on differentiation of cardiac myocyte induced from rabbit bone marrow stromal cells. *Chin Med J* 2006; 119(10): 832-9.
- 34 Martin-Rendon E, Sweeney D, Lu F, Girdlestone J, Navarrete C, Watt SM. 5-Azacytidine-treated human mesenchymal stem/progenitor cells derived from umbilical cord, cord blood and bone marrow do not generate cardiomyocytes *in vitro* at high frequencies. *Vox Sang* 2008; 95(2): 137-48.
- 35 Xaymardan M, Tang L, Zagreda L, Pallante B, Zheng J, Chazen JL, *et al.* Platelet-derived growth factor-AB promotes the generation of adult bone marrow-derived cardiac myocytes. *Circ Res* 2004; 94(5): E39-45.
- 36 Baffour R, Pakala R, Hellinga D, Joner M, Okubagzi P, Epstein SE, *et al.* Bone marrow-derived stem cell interactions with adult cardiomyocytes and skeletal myoblasts *in vitro*. *Cardiovasc Revasc Med* 2006; 7(4): 222-30.
- 37 Claros S, Alonso M, Becerra J, Andrades JA. Selection and induction of rat skeletal muscle-derived cells to the chondro-osteogenic lineage. *Cell Mol Biol* 2008; 54(1): 1-10.
- 38 Shen B, Wei A, Tao H, Diwan AD, Ma DD. BMP-2 Enhances TGF-beta3-mediated chondrogenic differentiation of human bone marrow multipotent mesenchymal stromal cells in alginate bead culture. *Tissue Eng Part A* 2009; 15(6):1311-20.
- 39 Sekiya I, Larson BL, Vuoristo JT, Reger RL, Prockop DJ. Comparison of effect of BMP-2, -4, and -6 on *in vitro* cartilage formation of human adult stem cells from bone marrow stroma. *Cell Tissue Res* 2005; 320(2): 269-76.
- 40 Ogawa R, Mizuno H, Hyakusoku H, Watanabe A, Migita M, Shimada T. Chondrogenic and osteogenic differentiation of adipose-derived stem cells isolated from GFP transgenic mice. *J Nippon Med Sch* 2004; 71(4): 240-1.
- 41 Ahmed N, Sammons J, Carson RJ, Khokher MA, Hassan HT. Effect of bone morphogenetic protein-6 on haemopoietic stem cells and cytokine production in normal human bone marrow stroma. *Cell Biol Int* 2001; 25(5): 429-35.
- 42 Zhou S, Eid K, Glowacki J. Cooperation between TGF-beta and Wnt pathways during chondrocyte and adipocyte differentiation of human marrow stromal cells. *J Bone Miner Res* 2004; 19(3): 463-70.
- 43 Jian H, Shen X, Liu I, Semenov M, He X, Wang XF. Smad3-dependent nuclear translocation of beta-catenin is required for TGF-beta1-induced proliferation of bone marrow-derived adult human mesenchymal stem cells. *Genes Dev* 2006; 20(6): 666-74.
- 44 Koch H, Jadlowiec JA, Campbell PG. Insulin-like growth factor-I induces early osteoblast gene expression in human mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev* 2005; 14(6): 621-31.
- 45 Takizawa S. Differentiation of adult bone marrow cells into neurons and endothelial cells in rat brain after stroke in the presence of cytokines. *Rinsho Shinkeigaku* 2003; 43(11): 830-1.
- 46 Liang F, Wang YF, Nan X, Yue HM, Xu YX, Shi SS, *et al.* *In vitro* differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells into blood vessel endothelial cells. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 2005; 27(6): 665-9.
- 47 Mieno S, Clements RT, Boodhwani M, Sodha NR, Ramlawi B, Bianchi C, *et al.* Characteristics and function of cryopreserved bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Ann Thorac Surg* 2008; 85(4): 1361-6.
- 48 Sun J, Yang Y, Wang X, Song J, Jia Y. Expression of Pdx-1 in bone marrow mesenchymal stem cells promotes differentiation of islet-like cells *in vitro*. *Sci China C Life Sci* 2006; 49(5): 480-9.
- 49 Choi KS, Shin JS, Lee JJ, Kim YS, Kim SB, Kim CW. *In vitro* trans-differentiation of rat mesenchymal cells into insulin-producing cells by rat pancreatic extract. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 330(4): 1299-305.
- 50 Sordi V, Malosio ML, Marchesi F, Mercalli A, Melzi R, Giordano T, *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cells express a restricted set of functionally active chemokine receptors capable of promoting migration to pancreatic islets. *Blood* 2005; 106(2): 419-27.

Progress in Multilineage Potential Study of Bone Marrow Stromal Stem Cell

Xue-Jun Dong*, Sun He, Guo-Rong Zhang, Li-Xin Xiang¹, Ruo-Lang Pan¹,
Ye Chen¹, Rui-Peng Zhang¹, Jian-Zhong Shao¹

(Molecular Medicine Center, Shaoxing People's Hospital, Shaoxing 312000, China; ¹Key Laboratory for Cell and Gene Engineering of Zhejiang Province, College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract Bone marrow stromal stem cells (BMSSCs) are one of the most favorable cells in adult stem cells. Not only they played an important role in the production and development of hemopoietic system and immune system, but also they had effects on the process of tissue regeneration and injury repair. Especially, recent research showed that BMSSCs had the capability of trans-differentiating into adult cells derived from different germ-layers. It might reveal the new mechanism of cells' differentiation based on this research model, and also it provided us a creative way on the tissue engineering with BMSSCs and clinical therapy. At present, BMSSCs have been confirmed to be able to differentiate into hepatocytes, neurocyte, cardiocyte, vascular endothelial cell and islet cell, besides differentiating into osteoblast, chondrocyte and adipocyte. In this review, we will mainly focus on the research progress on the plasticity mechanism of BMSSCs.

Key words bone marrow stromal stem cells; multipotency; plasticity; cytokine

Received: March 3, 2009 Accepted: December 25, 2009

This work was supported by the Province-Ministry Co-constructing Foundation of Zhejiang Province (No.WKJ2007-2-037)

*Corresponding author: Tel: 86-575-88228576, E-mail: dxj9666@163.com