

岳锐博士, 同济大学生命科学与技术学院特聘教授, 同济大学附属东方医院再生医学研究所研究员, 上海市信号转导与疾病研究重点实验室研究员, 博士生导师。主要研究方向为骨髓间充质干细胞与造血干细胞调控机制, 代表性论文发表在*Cell*、*Cell Stem Cell*、*Developmental Cell*、*eLife*和*EMBO Journal*等杂志上。2017年入选第13批“青年千人计划”。现主持国家重点研发计划“干细胞及转化研究”青年项目1项、国家自然科学基金委面上项目1项以及重大研发计划培育项目1项。曾获中国科学院院长特别奖、吴瑞奖和Damon Runyon Fellowship等多项荣誉。

<http://life.tongji.edu.cn/Data/View/1438>

## 骨髓间充质干细胞的临床应用研究

汪健芳 莫春阳 许艳华 徐丽婷 魏含静 张潇颖 王祎斌 岳锐\*

(同济大学附属东方医院再生医学研究所, 同济大学生命科学与技术学院,  
上海市信号转导与疾病研究重点实验室, 上海 200092)

**摘要** 骨髓间充质干细胞不仅能够分化为成骨细胞、脂肪细胞和软骨细胞从而调控骨骼功能, 还能够分泌造血干细胞维持因子从而营造血液微环境。近年来, 以骨髓间充质干细胞为代表的间充质干细胞因其体外扩增能力和免疫调控能力而被广泛地用于临床实验。该文将在描述骨髓间充质干细胞基本功能的基础上着重探讨其在免疫性疾病和纤维化疾病中的临床应用。

**关键词** 骨髓间充质干细胞; 细胞治疗; 免疫性疾病; 纤维化疾病

## Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells and Its Clinical Applications

Wang Jianfang, Mo Chunyang, Xu Yanhua, Xu Liting, Wei Hanjing, Zhang Xiaoying, Wang Yibin, Yue Rui\*

(Institute of Regenerative Medicine, Shanghai East Hospital, Shanghai Key Laboratory of Signaling and Disease Research, School of Life Sciences and Technology, Tongji University, Shanghai 200092, China)

**Abstract** Bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) not only give rise to osteoblasts, adipocytes and chondrocytes, but also secrete important hematopoietic stem cell growth factors to maintain the hematopoietic microenvironment. Recently, mesenchymal stem cells such as BMSCs are widely used in clinical trials to treat various diseases due to their fast-proliferating capacity and immunomodulatory functions. This review will summarize the basic cell functions of BMSCs and focus on their clinical applications in immune diseases and fibrotic diseases.

**Keywords** bone marrow mesenchymal stem cells; cell therapy; immune diseases; fibrotic diseases

国家重点研发计划“干细胞及转化研究”(批准号: 2017YFA0106400)和国家自然科学基金(批准号: 91749124、81772389)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 021-65983623, E-mail: ryue@tongji.edu.cn

This work was supported by the National Key Program on Stem Cell and Translational Research (Grant No.2017YFA0106400) and the National Natural Science Foundation of China (Grant No.91749124, 81772389)

\*Corresponding author. Tel: +86-21-65983623, E-mail: ryue@tongji.edu.cn

网络出版时间: 2019-01-16 12:34:37 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190116.1234.006.html>

## 1 骨髓间充质干细胞的基本功能

上世纪60年代末, Friedenstein等<sup>[1]</sup>发现, 小鼠骨髓悬液中的一些细胞能够在体外培养过程中贴壁并形成纤维细胞集落(colony forming unit-fibroblast, CFU-F)。这些贴壁细胞能够在体外大量扩增, 并在肾囊下移植后形成异位骨。异位骨中的血细胞来源于移植受体, 而其骨组织和基质细胞则来源于供体<sup>[2]</sup>。这一重要研究第一次证明了血细胞和骨骼细胞来源于骨髓中不同的祖细胞。此外, Friedenstein等<sup>[3]</sup>和Kuznetsov等<sup>[4]</sup>还发现, 来源于单个CFU-F的基质细胞能够分化产生成骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞和成纤维细胞, 从而证明了成骨干细胞(osteogenic stem cell)或者骨髓基质干细胞(bone marrow stromal stem cell)的存在。此后, Caplan等<sup>[5]</sup>将此类细胞改称为间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)并被广泛使用。然而, 由于Caplan等<sup>[5]</sup>所谓的MSC存在于体内几乎所有的实体组织和器官中, 例如骨髓、肌肉、脂肪、牙髓、胎盘、毛囊、脑骨膜、真皮、软骨膜、脐带、肺、肝和心脏等<sup>[6]</sup>, 所以在提及MSC时非常有必要指明其组织来源。不同组织来源的MSC因微环境的不同性质迥异, 而且细胞异质性差异很大。目前, 只有骨髓MSC被克隆性移植实验证明其中存在多能性干细胞, 其他组织来源MSC是否真正含有干细胞, 还缺乏严格的证明。此外, 不同种属来源的MSC也有较大的差别<sup>[7]</sup>。

国际细胞与基因治疗协会(International Society for Cell and Gene Therapy, ISCT)规定: 人源MSC必须表达CD105、CD73和CD90, 同时不表达CD45、CD34、CD14、CD11b、CD79a、CD19和HLA-DR<sup>[8]</sup>。然而, 即使符合这些表面抗原要求的细胞仍然具有很强的异质性, 因此亟需更加客观准确的方法, 鉴定出更有效的表面抗原组合, 以用于分选更高纯度的MSC<sup>[9]</sup>。相较于人源MSC, 小鼠骨髓MSC的细胞标志物更加清楚, 其中包括CD51<sup>[10]</sup>、CD105<sup>[11]</sup>、Pdgfra<sup>[12]</sup>和Lepr<sup>[13]</sup>等。CD105<sup>+</sup>Thy1.1细胞被证明标记新生鼠(P3)骨髓MSC<sup>[11]</sup>, 然而CD105在成体小鼠中主要标记了血管内皮细胞, 因此, CD105<sup>+</sup>Thy1.1细胞在成体阶段是否还是骨髓MSC的标志物有待证实。一直以来, Nestin被作为成体小鼠骨髓MSC的经典标志物之一<sup>[14]</sup>, 然而这主要是由于成年小鼠骨髓MSC异位表达了Nestin-GFP转基因蛋白, MSC并不表达内源性Nestin基因<sup>[15]</sup>。因此更准确的表述应为小鼠

MSC是Nestin-GFP<sup>+</sup>细胞, 而不是Nestin<sup>+</sup>细胞。谱系示踪实验表明: Lepr是成体小鼠MSC的重要细胞表面标志物<sup>[13]</sup>。Lepr<sup>+</sup>细胞于小鼠围产期在骨髓中出现, 并能够在成体骨髓中产生成骨细胞和脂肪细胞。此外, 在骨折等应激条件下, Lepr<sup>+</sup>细胞还能产生软骨细胞<sup>[13]</sup>。更为重要的是, Lepr不仅标记骨髓MSC, 而且能够通过感知机体代谢水平(如Leptin水平)从而平衡骨髓MSC的成骨和成脂分化功能<sup>[16]</sup>。

除了作为维持骨骼动态更新的干细胞之外, 骨髓MSC还有维持造血微环境的重要作用<sup>[15,17]</sup>。人源和鼠源MSC均位于骨髓静脉窦周<sup>[18]</sup>, 通过高表达Scf和Cxcl12等重要造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)维持因子吸引HSC迁移至MSC周围并维持其自我更新<sup>[15,17]</sup>。骨髓MSC的旁分泌因子并不局限于血液生长因子, 越来越多的研究发现, 骨髓MSC还分泌大量骨骼生长因子。最近我们的一项研究发现, Lepr<sup>+</sup> MSC和成骨细胞共同分泌了一种叫Ostelectin/Clec11a的骨骼生长因子, 其含量随着小鼠衰老而显著降低<sup>[19]</sup>。Ostelectin基因缺失小鼠有显著的骨质疏松表型, 而体内注射了重组Ostelectin之后能够预防并治疗骨质疏松。这提示, 除了甲状旁腺激素、生长激素和IGF-1(insulin-like growth factor-1)等系统性激素之外, 骨髓微环境中的骨骼生长因子同样能作为潜在的骨质疏松治疗药物。同时, 这也强调了骨髓MSC的旁分泌作用与其干细胞功能同样重要, 可以作为解释其细胞治疗作用的重要机制之一。鉴于骨髓MSC临床研究的相关文章众多, 本文将着重在免疫性疾病和纤维化疾病这两大类疾病中探讨其临床应用价值。

## 2 MSC治疗免疫性疾病

MSC具有广泛的免疫调节功能, 并可以同时作用于固有免疫系统和获得性免疫系统<sup>[20]</sup>。MSC能够与免疫系统中的多种细胞包括树突状细胞(dendritic cell, DC)、自然杀伤细胞(natural killer cell, NKC)、T淋巴细胞和B淋巴细胞发生相互作用。这一过程依赖于细胞间的直接接触以及多种分泌因子的合成<sup>[21]</sup>。在固有免疫中, MSC能够通过下调NKp30(natural cytotoxicity triggering receptor 30)以及NKG2D(natural-killer group 2 member D)的表达进而抑制静息态NKC的毒性作用(NKp30和NKG2D均为NKC活化及对靶细胞杀伤发挥重要作用的激活

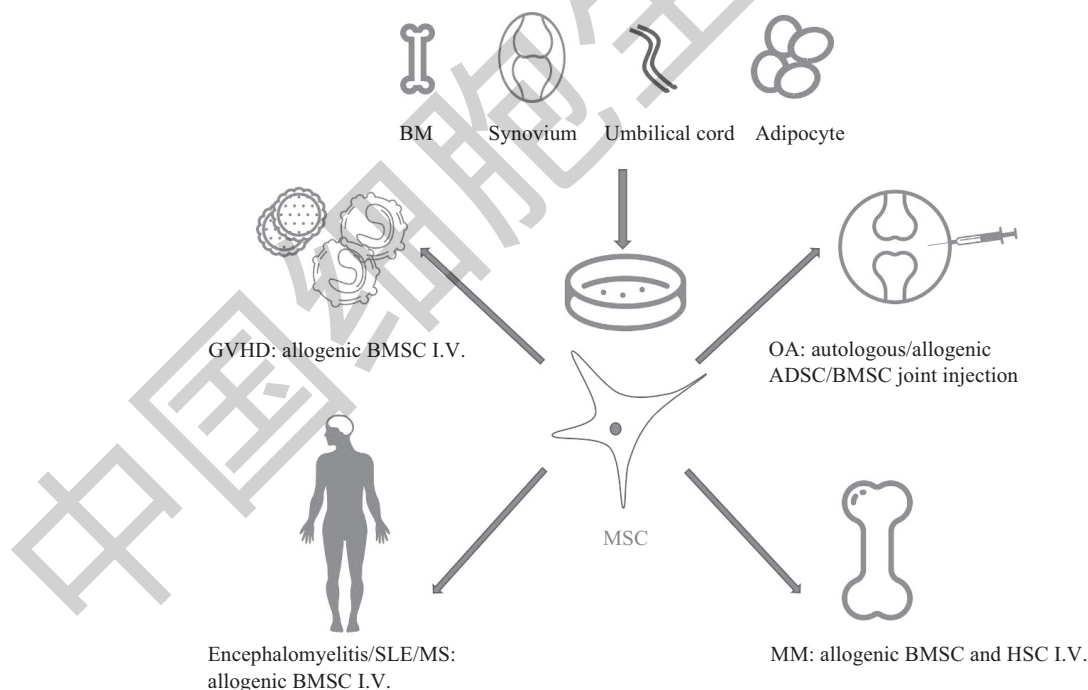
受体)<sup>[22]</sup>。在获得性免疫中, MSC能够抑制单核细胞以及CD34<sup>+</sup>造血祖细胞向DC的分化及成熟从而抑制抗原呈递<sup>[23-24]</sup>。成熟DC与MSC的共培养会导致其细胞表面组织相容性抗原分子II(major histocompatibility complex II, MHCII)、CD11c、CD83以及白介素-12(interleukin-12, IL-12)表达下调, 从而减弱DC向T细胞的抗原呈递作用。MSC也能够通过抑制DC产生的肿瘤坏死因子(tumor-necrosis factor, TNF)进而降低其促炎效应<sup>[25]</sup>。MSC还能分泌肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、吲哚胺2,3-双加氧酶(indolamine 2,3-dioxygenase, IDO)、前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)等从而抑制CD4<sup>+</sup> T细胞的活性, 并减弱B细胞的增殖及抗体产生。另外, MSC可以通过释放人类白细胞抗原-G5(human leukocyte antigen-G5, HLA-G5)促进调节性T细胞(T regulatory cell, Treg)的增殖及成熟, 进而抑制CD8<sup>+</sup> T细胞的细胞毒性作用<sup>[26]</sup>。

最近的研究发现, MSC对免疫系统的影响表现为双向的调节作用<sup>[27-28]</sup>。当炎症微环境中含有高浓度的炎症因子时, MSC会被激活成免疫抑制状态, 但

是当炎症因子水平太低时, MSC则会刺激免疫细胞释放促炎因子<sup>[20,29-30]</sup>。下面就MSC在移植抗宿主、自身免疫性疾病、多发性骨髓瘤和骨关节炎这四种疾病中的治疗作用展开讨论(图1)。

## 2.1 移植物抗宿主病

移植物抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)是细胞移植或器官移植后出现的免疫系统疾病, 急性移植物抗宿主病(acute graft versus host disease, aGVHD)患者现为多器官衰竭<sup>[31-32]</sup>。2003年, Lazarus等<sup>[33]</sup>在一个多中心临床试验中对56名血液肿瘤患者同时输注HSC和MSC(HSCs移植前4个小时静脉输注MSC), 在随访的46名患者中, 有23人没有发生aGVHD, 有11人复发时间延长。这项研究表明, HSC和MSC的共移植能够减少移植副作用, 并可促进骨髓后的骨髓功能恢复。2004年, Le Blanc等<sup>[31,34]</sup>首次利用静脉输注骨髓MSC治愈了1例儿童aGVHD患者。随后的二期临床试验发现, 在接受了异体MSC静脉输注的类固醇抵抗急性GVHD(steroid-refractory acute GVHD, SR-GVHD)的55名患者中, 30名患者完全恢复, 9名患者症状得到明显缓解。这



ADSC: 脂肪间充质干细胞; BM: 骨髓; BMSC: 骨髓间充质干细胞; GVHD: 移植物抗宿主病; I.V.: 静脉注射; MM: 多发性骨髓瘤; MS: 多发性硬化症; MSC: 间充质干细胞; SLE: 系统性红斑狼疮; OA: 骨关节炎。

ADSC: adipocyte-derived mesenchymal stem cell; BM: bone marrow; BMSC: bone marrow mesenchymal stem cell; GVHD: graft versus host diseases; I.V.: intravenous injection; MM: multiple myeloma; MS: multiple sclerosis; MSC: mesenchymal stem cell; SLE: systemic lupus erythematosus; OA: osteoarthritis.

图1 间充质干细胞在免疫性疾病中的临床研究

Fig.1 Role of MSC in immune diseases



一结果被另一项由37名儿童患者组成的接受了多次MSC输注的临床试验所证实<sup>[35]</sup>。在一项更大规模的临床试验中,美国奥西里斯公司(Osiris Therapeutics)完成了异体骨髓MSC治疗SR-GVHD的三期临床试验(NCT00366145)。该研究通过对244名SR-GVHD患者连续4周共8次静脉输注MSC,发现实验组163名患者与安慰剂组81名患者的整体反应率分别是82%和73%( $P=0.12$ )<sup>[36]</sup>。这一结果虽然印证了MSC用于临床治疗GVHD的安全性,但是其有效性并没有得到证实,因而该疗法迄今为止没有被美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准上市。

## 2.2 自身免疫性疾病

自身免疫性疾病是指机体对自身抗原发生异常免疫反应而导致自身组织损害所引起的疾病,主要包括脑脊髓炎(encephalomyelitis)、系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)和多发性硬化症(multiple sclerosis, MS)等。2007年, Gerdoni等<sup>[32]</sup>通过构建脑脊髓炎小鼠模型发现静脉输注了小鼠骨髓MSC的实验组症状显著缓解,并且与对照组相比表现出更低的复发率。Sun等<sup>[37]</sup>研究发现,重症SLE患者的骨髓HSC和MSC均出现异常,他们从2007年开始用异体MSC移植治疗重症SLE患者,并且发现静脉输注异体骨髓及脐带来源的MSC能够缓解疾病症状。2018年, Wang等<sup>[38]</sup>发现, 81名接受了异体骨髓及脐带MSC静脉输注的SLE患者五年存活率达到84%, 27%的患者症状完全缓解,另有7%的患者症状部分缓解,且包括血清白蛋白、外周白细胞及血小板数量、蛋白尿水平等在内的SLE检测指标在随访过程中均得到持续改善。MSC对于MS的治疗仍处于起步阶段, Bonab等<sup>[39]</sup>招募了25名对传统治疗耐受的MS患者,通过对患者进行鞘膜下注射经体外扩增的MSC并随访12个月后发现,除3名患者因个人原因没有完成治疗外,其余的22名患者均没有出现严重的副作用。通过比较临床指标,其中有4人症状得到缓解,6人出现恶化,12人没有变化,这表明, MSC也许可作为改善或稳定MS患者症状的一种治疗手段。

## 2.3 多发性骨髓瘤

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种恶性血液肿瘤,表现为浆细胞(效应B淋巴细胞)在骨髓中克隆性增殖并积累,血液或尿液中出现单克隆免疫球蛋白<sup>[40]</sup>,并伴随相关终末器官或组织的损

伤<sup>[41]</sup>。在临床上约80%患者表现为骨痛、骨骼变形和病理性骨折。在骨损伤部位,破骨细胞显著增多而成骨分化受到明显抑制<sup>[40,42]</sup>。由于浆细胞为B淋巴细胞的终末分化细胞,因此,世界卫生组织将其归属为B淋巴细胞瘤的一种,称其为浆细胞骨髓瘤/浆细胞瘤。

随着对疾病致病机理的逐渐剖析和多种更为高效的新型药物的投入使用,MM患者的生命周期明显延长<sup>[43]</sup>。研究者在探究其致病机理的基础上进一步开发新型治疗手段及药物,以期进一步提高该疾病的治愈率从而延长患者寿命<sup>[41]</sup>。其中,基于MSC的细胞治疗给MM的治疗带来了希望。2005年, Lazarus等<sup>[33]</sup>第一次发表了对患有血液恶性肿瘤的患者进行HSC和MSC共移植的研究结果,绝大多数患者恢复快速且未伴有GvHD的发生。该研究表明, MSC和HSC的共移植可降低移植的副作用,提高其成功率。2008年, Ning等<sup>[44]</sup>发现,将HSC与骨髓MSC共移植,可以明显减缓排斥反应,但MM复发概率远高于对照组。这可能是由于MSC分泌的部分小分子蛋白(如IL-6<sup>[45]</sup>)可以促进MM细胞的存活和增殖。也有研究报道称,不同来源的MSC对于MM的作用并不相同,如脐带或胎盘来源的MSC对于MM的增殖并没有显著的影响<sup>[40]</sup>。因此,在大规模的临床试验完成前, MSC在MM治疗中的使用必需慎重<sup>[44]</sup>。

## 2.4 骨关节炎

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种病因复杂的退行性疾病,伴随着关节软骨磨损、骨刺形成、半月板磨损以及滑膜炎等症状,严重影响患者的生活质量,也给社会带来巨大经济负担<sup>[46]</sup>。目前在临床上的治疗主要以药物减缓、半月板修复、关节置换为主,还未研发出一种药物能够完全治疗骨关节炎<sup>[47]</sup>。MSC由于其容易获得,具有成骨、成脂和成软骨能力,且致瘤性低,已有相关临床试验将其用于治疗OA患者。

目前,移植MSC治疗骨关节炎主要包括两种方式,即自体移植和异体移植。在自体移植方面, Sekiya等<sup>[48]</sup>从10名OA患者的滑膜中分离获得MSC,将其与患者自体的血清共培养14天后再注射到软骨缺损部位,患者的症状以及各项骨关节炎指标都有明显改善。在异体移植方面, Vega等<sup>[49]</sup>从健康人骨髓中分离MSC,在体外扩增7~10天后再注射到膝关节炎患者关节腔,随访1年后发现,与只注射透明质

酸的对照组相比, 移植骨髓MSC的15名膝关节患者膝关节疼痛明显减轻, 通过影像学分析发现破损软骨有显著修复。De Windt等<sup>[50]</sup>首次发现, 异体骨髓MSC与自体软骨细胞及其基质混合共同注射到OA患者关节腔内能够显著改善膝关节炎症状, 并且没有不良反应。与自体移植相比, 异体移植的成本低、方便、快捷, 但显著的缺点是宿主免疫排斥反应的风险。然而, MSC的免疫排斥反应相对低, 其自体移植和异体移植的免疫排斥反应没有明显差异<sup>[51-52]</sup>。

MSC虽然最早在骨髓中被发现, 但在脂肪、滑膜、肌肉、脐带等组织中也有存在。由于脂肪MSC容易获得, 因此运用脂肪MSC治疗骨关节炎的临床案例也不少。Nguyen等<sup>[53]</sup>从OA患者腹部脂肪组织分离出基质血管组分(stromal vascular fraction, SVF), 将其与患者自体外周血血浆混合共同注射到关节腔, 随访至术后18个月后发现, 接受SVF注射的患者疼痛减轻, 骨关节炎指数明显下降, 膝关节功能评分明显上升。Park等<sup>[54]</sup>使用从脐带中分离扩增的MSC和透明质酸混合注射到OA患者关节腔内, 随访7年后发现患者膝关节软骨组织有明显修复, 且无严重不良反应。

关于MSC改善OA患者症状机制的探讨有多种观点。Murphy等<sup>[55]</sup>从山羊骨髓中分离出MSC进行体外培养并且重新注射到OA山羊的关节腔内, 通过荧光标记发现, 移植进去的细胞大部分位于关节表面, 少量位于软骨基质, 并由此推测, MSC可能是通过分化为软骨从而达到修复的目的。与之不同, Barry和Murphy<sup>[56]</sup>认为, MSC的治疗效果是通过其旁分泌作用来实现的。Horie等<sup>[57]</sup>将人骨髓MSC体外培养之后注射到OA大鼠关节腔内, 促进了OA大鼠半月板修复并且抑制了骨关节炎进程。qPCR检测发现, MSC的数量在一周内急剧减少, 但大鼠的*Ihh*(Indian hedgehog)、*Pthlh*(parathyroid hormone-like hormone) 和*Bmp2*(bone morphogenetic protein 2)以及*Col2a1*的表达显著上升, 从而支持了Barry和Murphy的观点。Van Buul等<sup>[58]</sup>通过体外培养发现, MSC能够抑制炎症因子IL-1 $\beta$ 和参与软骨基质降解的金属蛋白酶的表达, 减轻了炎症反应。

虽然, MSC治疗骨关节炎在临床上的应用越来越多, 但也存在一些问题。Pers等<sup>[59]</sup>取出OA患者自身脂肪MSC进行体外培养再移植到关节腔内, 发现不同剂量的细胞均对患者的疼痛减轻程度和关节功

能改善有一定作用, 但只有低剂量组有显著差异。虽然没有明显的不良反应, 但有患者在移植后出现不定期的心绞痛以及膝关节疼痛和肿胀。骨髓MSC含量少, 从体内取出后需经过扩增才能达到移植要求。有研究表明, 体外长期培养过的MSC不能一直保持稳定的软骨分化能力, 细胞活力也大大下降, 移植到体内容易成纤维化而不是变成有功能的透明软骨<sup>[60-61]</sup>。此外, 从脂肪中抽出的SVF是一群具有高度异质性的细胞, 其中的干细胞比例非常少, 具体发挥修复软骨的细胞类型不够明确, 是否足够安全也还存在一定的争议。

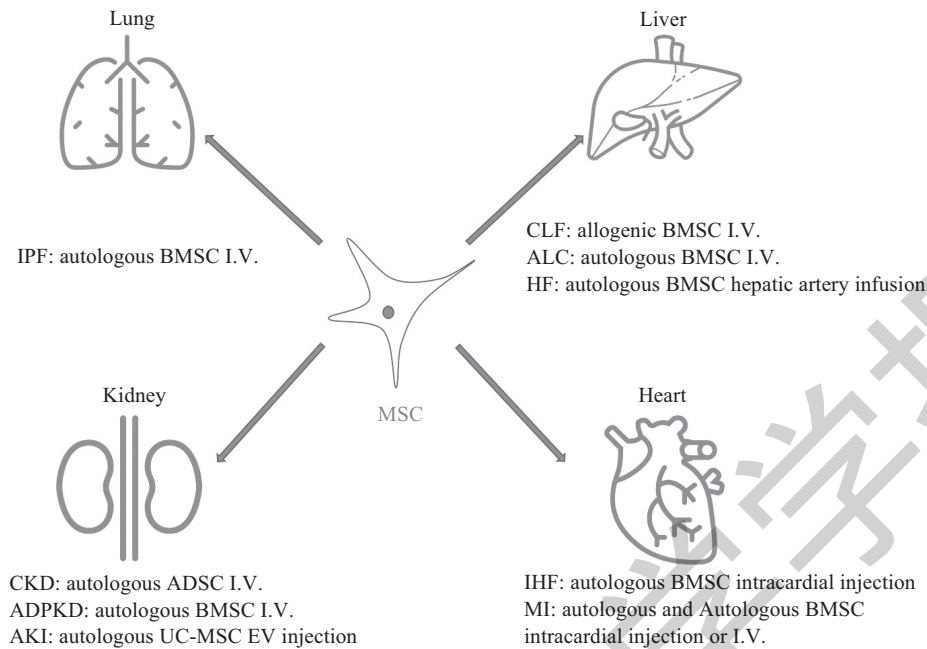
### 3 MSC治疗纤维化疾病

纤维化是一类出现在多种组织和器官中的疾病, 常表现为器官和组织内的结缔组织增多、实质细胞减少, 严重的纤维化会导致器官的功能失调。如肺纤维化导致呼吸衰竭, 肝纤维化导致肝硬化, 肾纤维化导致肾功能衰竭, 血管纤维化导致动脉粥样硬化等, 严重的纤维化甚至可能会危及生命。纤维化疾病几乎可以影响到人类的大部分组织和器官: 皮肤、肺、肾脏、胰腺以及心脏等<sup>[62]</sup>, 可能产生硬皮病、肺纤维化、缺血性心脏病、肝硬化以及慢性肾炎等疾病, 严重影响人类的生活质量。尽管科研人员已经对这类疾病有一定的了解, 但是目前对于纤维化疾病尚无有效的治疗药物。下面就MSC在心脏、肝脏、肾脏和肺脏这四种器官纤维化中的治疗作用展开讨论(图2)。

#### 3.1 心脏纤维化

心脏是人类最重要的器官之一, 由于成年人的心肌细胞再生和修复能力很差, 在经历心脏损伤后心肌细胞难以修复完全, 产生了瘢痕组织, 导致病理性心脏扩张, 再次破坏心肌细胞的功能, 使心肌细胞纤维化扩大和延伸、心律失常, 最终导致心力衰竭<sup>[63]</sup>。近年来, MSC移植由于其具有潜在的治疗功能而被作为一种可能的细胞治疗手段。

2002年, Min等<sup>[64]</sup>发现, 通过将人骨髓MSC或者人骨髓MSC和胎儿心肌细胞以1:1的比例进行心肌内移植, 能够重建受损的心肌并且显著地改善猪心肌梗死模型。相较于对照组, 单独注射MSC和共注射MSC与胎儿心肌细胞均可以改善心脏功能。然而, MSC是通过分化为心肌细胞参与梗死组织的修复还是通过旁分泌机制发挥作用依然未知。研究表明,



ADPKD: 常染色体显性多囊肾病; ADSC: 脂肪来源干细胞; AKI: 急性肾损伤; ALC: 酒精肝硬化; BMSC: 骨髓间充质干细胞; CKD: 慢性肾病; CLF: 慢性肝衰竭; EV: 外泌体; HF: 肝纤维化; IHF: 缺血性心力衰竭; IPF: 特发性肺纤维化; I.V.: 静脉注射; MI: 心肌梗死; MSC: 间充质干细胞; UC-MSC: 脐带间充质干细胞。

ADPKD: autosomal dominant polycystic kidney disease; ADSC: adipose-derived stem cell; AKI: acute kidney injury; ALC: alcoholic liver cirrhosis; BMSC: bone marrow mesenchymal stem cell; CKD: chronic kidney disease; CLF: chronic liver failure; EV: extracellular vesicle; HF: hepatic fibrosis; IHF: ischemic heart failure; IPF: idiopathic pulmonary fibrosis; I.V.: intravenous injection; MI: myocardial infarction; MSC: mesenchymal stem cell; UC-MSC: umbilical cord mesenchymal stem cell.

图2 间充质干细胞在纤维化疾病中的临床研究

Fig.2 Role of MSC in fibrotic diseases

MSC的分泌因子能够参与血管再生与重建从而起到治疗心脏疾病的作用。MSC的分泌因子能抑制局部免疫反应,阻止纤维化和细胞凋亡,促进血管生成,进而缓解心肌梗死<sup>[65]</sup>。Tang等<sup>[66]</sup>通过构建大鼠心肌梗死模型发现,心脏直接注射大鼠骨髓MSC后心肌血管内皮细胞生长因子显著提高,并且伴随着梗死部位血管密度和局部血流量的提高,左心室收缩能力明显改善。2010年,Timmers等<sup>[67]</sup>发现,向心肌梗死猪模型静脉注射人源MSC培养液就能够相较于对照组显著提高心肌血管密度,降低心肌梗死区域,维持心脏的收缩与舒张。但遗憾的是,该研究并没有分析是哪个细胞因子或者趋化因子对提高血管密度起到重要的作用。

自体和异体骨髓MSC的心脏内移植已被证实是安全的<sup>[68]</sup>。在一项随机双盲实验中,研究人员将59名慢性心力衰竭患者分成3组并在心脏内注射MSC、骨髓单个核细胞以及安慰剂,实验结果表明,注射MSC组的左心室收缩功能(left ventricular end-systolic volume, LVESV)没有明显下降,但是疤痕组

织有显著性减少( $P<0.001$ )<sup>[69]</sup>。在另一项涉及60名严重缺血性心脏病患者的自体骨髓MSC治疗试验中,研究者进行了随机双盲以及安慰剂对照实验。6个月的随访结果表明,注射MSC组的LVESV对比安慰剂组有显著性下降( $P=0.001$ ),左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)有显著性升高( $P<0.0001$ ),患者心脏功能有所改善<sup>[70]</sup>。

### 3.2 肝纤维化

三种主要的肝炎病毒HAV、HBV和HCV会直接影响肝细胞并诱发急性肝炎<sup>[71]</sup>。由于肥胖、酒精损伤或者非酒精损伤等原因导致的慢性肝炎患者如果没有得到有效的治疗,大部分会发展成为肝纤维化直至肝硬化。部分肝硬化患者可以利用抗病毒治疗阻断或逆转慢性肝病纤维化,也有一些在体外和动物模型中被证明具有抗纤维化能力的化合物,但是在临床上没有被证实能有效治愈疾病<sup>[72]</sup>。肝移植的手术耗时长且费用昂贵,移植供体有限,因此并不适用于所有患者。

MSC能否作为一种治疗手段目前正在探寻之



中。在一项由110名乙型肝炎导致的慢性肝衰竭患者参与的随机分组研究中,实验组为外周静脉注射同种异体骨髓MSC,对照组为标准药物治疗。治疗24周后研究人员发现,实验组的存活率(73.2%)高于对照组存活率(55.6%)<sup>[73]</sup>。在另一项涉及72名酒精肝硬化患者的随机分组实验中,实验组为自体骨髓MSC肝动脉注射,随访6个月后发现,其纤维化指标以及MELD(model for end-stage liver disease)分数没有显著性差异,但是实验组Child-Pugh分数较对照组有显著性下降<sup>[74]</sup>,表明其有可能减缓纤维化发展。对于慢性乙型肝炎引起的肝硬化和肝衰竭,自体骨髓MSC移植能够提高患者的肝功能临床指数<sup>[75-76]</sup>。Peng等<sup>[76]</sup>通过对527名患者进行分组移植实验,将自体骨髓MSC通过肝动脉进行输注,2~3周后发现,患者的白蛋白、总胆红素、凝血酶原时间和晚期肝病模型的指标与未进行移植的患者相比有显著提高,但192周后患者肝肿瘤细胞数和死亡率与对照组无差异。因此,他们认为,自体骨髓MSC移植只在短期内有效,而对长期预后并无作用。

肝硬化主要指晚期肝脏纤维化,酗酒以及肝炎病毒感染是主要发病原因。目前认为,星状细胞是肝脏纤维硬化的主要细胞来源<sup>[77]</sup>,然而谱系示踪研究表明,血管周围的Gli1<sup>+</sup>MSC样细胞在CCl<sub>4</sub>诱导的肝脏纤维化过程中也能产生肌成纤维细胞。这两种细胞都处于肝脏血管周,但他们之间的关系以及与肝脏纤维硬化的关系仍存在许多疑惑<sup>[77]</sup>。Chen等<sup>[78]</sup>通过活体成像技术发现,循环MSC可在肝脏损伤刺激后被招募至肝脏中,并指出CCR9、CXCR4和c-MET是招募过程中细胞迁移必要的指导性因子,MSC可下调肝脏星状细胞的活性以抑制胶原蛋白积累和肝脏纤维的发育。Sakaida等<sup>[79]</sup>通过CCl<sub>4</sub>诱导构建肝纤维化小鼠,并通过尾静脉注射全骨髓细胞后发现,供体源GFP<sup>+</sup>细胞与纤维组织接近并强烈表达基质金属蛋白酶MMP-9,4周后小鼠肝纤维化明显减少。

近年来,有研究表明,MSC可分化为骨组织以外的其他细胞,如肝细胞<sup>[80-81]</sup>。Lee等<sup>[80]</sup>发现,人骨髓和脐带MSC在体外肝细胞生长因子和抑癌蛋白M作用下,可分化成具有肝细胞表型和功能的细胞。Stock等<sup>[81]</sup>将人骨髓MSC在体外特定生长条件下进行诱导培养,待细胞获得肝细胞功能特征后原位移植入免疫缺陷小鼠中,并在小鼠肝脏实质中检测到了

移植的细胞。然而两篇发表在*Nature*的文章陆续发现,移植之后所检测到的骨髓来源肝细胞是骨髓细胞与肝细胞的融合而形成的,并非转分化而来<sup>[82-83]</sup>。由此可见,MSC在体可分化为肝细胞缺乏说服力,MSC与肝细胞之间的关系仍有待探索。

### 3.3 肾纤维化

慢性肾炎以每年8%的增长率影响了全球人口,其阶段性标志为肾间质纤维化<sup>[77]</sup>,然而目前并无有效的药物和方法阻止慢性肾炎发展为肾衰竭<sup>[84]</sup>。肾脏发生损伤之后的自我修复能力有限,目前对于肾脏疾病有三种常见的疗法:透析、肾脏移植以及普通药物治疗。虽然这些治疗方法提高了存活率,但是发病率和死亡率依旧很高,不能从根本上改变肾脏的病理损害或者不能有效预防各种并发症的发生,因此迫切需要一种新的治疗方法<sup>[85]</sup>。

用MSC治疗肾脏疾病可分为自体移植和异体移植,主要包括脂肪MSC、骨髓MSC以及脐带MSC。在一项涉及40名慢性和急性肾炎患者的自体脐带MSC外泌体注射的随机分组实验中,实验组血清中TGF- $\beta$ 1和IL-10显著增多,TNF- $\alpha$ 显著降低,说明其有减轻肾病炎症反应的作用<sup>[86]</sup>。Roemeling-van等<sup>[87]</sup>在16名晚期肾病患者中发现,其自体脂肪MSC的细胞增殖率与健康人的相似,说明了肾脏疾病患者自体移植MSC治疗的可行性。Bateman等<sup>[88]</sup>发现,脂肪MSC可以降低肾脏损伤的标志物,提高急性肾脏损伤的存活率。此外,该研究发现,静脉输注50万个MSC并无不良反性,但如果输注更高剂量会出现肺栓塞。Andrade等<sup>[89]</sup>发现,尽管骨髓MSC可以移植到肾脏中,但是其发挥作用主要通过旁分泌而非转分化途径。事实上,干细胞转分化为肾脏细胞取代受损细胞的现象非常罕见。

Brodie等<sup>[90]</sup>发现,在体外低氧培养的MSC可以增加细胞保护因子,为进一步优化肾脏病的干细胞治疗提供了新策略。应用天然聚合物(如携带MSC进行组织修复的生物支架)是提高MSC治疗效果的另外一种有效方法。这些生物支架包括海藻酸盐、胶原蛋白、白蛋白、透明质酸、富血小板血浆和明胶<sup>[91]</sup>。基于MSC的细胞治疗被认为是治疗肾病的新方法,但仍需要进一步的临床研究证明其有效性。

### 3.4 肺纤维化

特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)是一种严重的呼吸系统疾病,临床主要表现为

不可逆转的肺功能丧失并最终导致死亡<sup>[92]</sup>。目前被FDA批准的治疗药物包括吡非尼酮和尼达尼布。虽然这两种药物对于患者的肺部纤维化症状有改善作用,但是只能在纤维化早期起作用<sup>[93]</sup>,并不能诱导损伤组织的再生<sup>[94]</sup>。一项在9名中等IPF患者中的临床研究表明,在IPF患者体内静脉注射异体骨髓MSC细胞是安全的,并且在治疗60周后患者的用力肺活量(forced vital capacity, FVC)平均下降3%,肺一氧化碳弥散量(diffusing capacity of the lung for carbon monoxide, DLCO)平均下降5.4%<sup>[95]</sup>,但是该实验缺少安慰剂对照试验的数据。目前,并没有充分的临床证据表明MSC对肺纤维化有治疗效果<sup>[96]</sup>。

#### 4 存在的问题与展望

MSC移植作为一种颇有前景的细胞疗法,迄今为止,已经在全世界范围内开展了877项临床研究(ClinicalTrials.gov)。然而令人遗憾的是,尚未有一种基于MSC的细胞疗法被FDA批准上市。MSC的来源及功能差异较大,目前临床研究所使用的MSC均为非克隆化(non-clonal)培养而来,其细胞异质性极大,缺乏特异性细胞表面标志物对其有效细胞亚群进行分离纯化。MSC的治疗原理目前更多归因于其旁分泌功能而非干细胞功能,因此将其冠以“干细胞治疗”之名,有商业炒作之嫌。

展望未来,ISCT推荐检测IFN- $\gamma$ 刺激MSC后所产生的IDO含量从而对MSC的免疫调控能力进行质量控制<sup>[97]</sup>。除此之外,不同的体外分离及培养方法也会对治疗效果产生影响,尤其需对MSC制备过程中的衰老细胞比例加以评估。最后需要指出的是,全身性MSC静脉输注会导致绝大多数MSC堵塞在肺部毛细血管中而达不到靶器官<sup>[98]</sup>,这提示今后的临床研究应当更多地集中在器官内移植。总而言之,只有我们对MSC的转录组、蛋白组及分泌组进行更深入地分析<sup>[99]</sup>,并在其生产制备过程中引入标准化的质控体系,才有可能使其更安全有效地应用于临床疾病治疗。

#### 参考文献 (References)

- Friedenstein AJ, Piatetzky S, Il, Petrakova KV. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. *J Embryol Exp Morphol* 1966; 16(3): 381-90.
- Friedenstein AJ, Petrakova KV, Kurolesova AI, Frolova GP. Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues. *Transplantation* 1968; 6(2): 230-47.
- Friedenstein AJ, Deriglasova UF, Kulagina NN, Panasuk AF, Rudakova SF, Luria EA, *et al.* Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the *in vitro* colony assay method. *Exp Hematol* 1974; 2(2): 83-92.
- Kuznetsov SA, Krebsbach PH, Satomura K, Kerr J, Riminucci M, Benayahu D, *et al.* Single-colony derived strains of human marrow stromal fibroblasts form bone after transplantation *in vivo*. *J Bone Miner Res* 1997; 12(9): 1335-47.
- Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 1991; 9(5): 641-50.
- Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. Mesenchymal stem cells: revisiting history, concepts, and assays. *Cell Stem Cell* 2008; 2(4): 313-9.
- Galderisi U, Giordano A. The gap between the physiological and therapeutic roles of mesenchymal stem cells. *Med Res Rev* 2014; 34(5): 1100-26.
- Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, *et al.* Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy Position Statement. *Cytotherapy* 2006; 8(4): 315-7.
- Bianco P, Cao X, Frenette PS, Mao JJ, Robey PG, Simmons PJ, *et al.* The meaning, the sense and the significance: translating the science of mesenchymal stem cells into medicine. *Nat Med* 2013; 19(1): 35-42.
- Pinho S, Lacombe J, Hanoun M, Mizoguchi T, Bruns I, Kunisaki Y, *et al.* PDGFR $\alpha$  and CD51 mark human nestin<sup>+</sup> sphere-forming mesenchymal stem cells capable of hematopoietic progenitor cell expansion. *J Exp Med* 2013; 210(7): 1351-67.
- Chan CK, Chen CC, Luppen CA, Kim JB, DeBoer AT, Wei K, *et al.* Endochondral ossification is required for haematopoietic stem-cell niche formation. *Nature* 2009; 457(7228): 490-4.
- Morikawa S, Mabuchi Y, Kubota Y, Nagai Y, Niibe K, Hiratsu E, *et al.* Prospective identification, isolation, and systemic transplantation of multipotent mesenchymal stem cells in murine bone marrow. *J Exp Med* 2009; 206(11): 2483-96.
- Zhou BO, Yue R, Murphy MM, Peyer JG, Morrison SJ. Leptin-receptor-expressing mesenchymal stromal cells represent the main source of bone formed by adult bone marrow. *Cell Stem Cell* 2014; 15(2): 154-68.
- Mendez-Ferrer S, Michurina TV, Ferraro F, Mazloom AR, Macarthur BD, Lira SA, *et al.* Mesenchymal and haematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche. *Nature* 2010; 466(7308): 829-34.
- Ding L, Saunders TL, Enikolopov G, Morrison SJ. Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells. *Nature* 2012; 481(7382): 457-62.
- Yue R, Zhou BO, Shimada IS, Zhao Z, Morrison SJ. Leptin receptor promotes adipogenesis and reduces osteogenesis by regulating mesenchymal stromal cells in adult bone marrow. *Cell Stem Cell* 2016; 18(6): 782-96.
- Ding L, Morrison SJ. Haematopoietic stem cells and early lymphoid progenitors occupy distinct bone marrow niches. *Nature* 2013; 495(7440): 231-5.
- Sacchetti B, Funari A, Michienzi S, Di Cesare S, Piersanti S, Saggio I, *et al.* Self-renewing osteoprogenitors in bone marrow



- sinusoids can organize a hematopoietic microenvironment. *Cell* 2007; 131(2): 324-36.
- 19 Yue R, Shen B, Morrison SJ. *Clec11a*/osteolectin is an osteogenic growth factor that promotes the maintenance of the adult skeleton. *Elife* 2016; doi: 10.7554/eLife.18782.
- 20 Bernardo ME, Fibbe WE. Mesenchymal stromal cells: sensors and switchers of inflammation. *Cell Stem Cell* 2013; 13(4): 392-402.
- 21 Li W, Ren G, Huang Y, Su J, Han Y, Li J, *et al.* Mesenchymal stem cells: a double-edged sword in regulating immune responses. *Cell Death Differ* 2012; 19(9): 1505-13.
- 22 Spaggiari GM, Capobianco A, Becchetti S, Mingari MC, Moretta L. Mesenchymal stem cell-natural killer cell interactions: evidence that activated NK cells are capable of killing MSCs, whereas MSCs can inhibit IL-2-induced NK-cell proliferation. *Blood* 2006; 107(4): 1484-90.
- 23 Jiang XX, Zhang Y, Liu B, Zhang SX, Wu Y, Yu XD, *et al.* Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. *Blood* 2005; 105(10): 4120-6.
- 24 Nauta AJ, Kruisselbrink AB, Lurvink E, Willemze R, Fibbe WE. Mesenchymal stem cells inhibit generation and function of both CD34<sup>+</sup>-derived and monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol* 2006; 177(4): 2080-7.
- 25 Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood* 2005; 105(4): 1815-22.
- 26 Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2008; 8(9): 726-36.
- 27 Shi Y, Hu G, Su J, Li W, Chen Q, Shou P, *et al.* Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression and tissue repair. *Cell Res* 2010; 20(5): 510-8.
- 28 Le Blanc K, Mougiakakos D. Multipotent mesenchymal stromal cells and the innate immune system. *Nature Reviews Immunology* 2012; 12(5): 383-96.
- 29 Waterman RS, Tomchuck SL, Henkle SL, Betancourt AM. A new mesenchymal stem cell (MSC) paradigm: polarization into a pro-inflammatory MSC1 or an immunosuppressive MSC2 phenotype. *PLoS One* 2010; 5(4): e10088.
- 30 Hall SR, Tsoyi K, Ith B, Padera RF Jr, Lederer JA, Wang Z, *et al.* Mesenchymal stromal cells improve survival during sepsis in the absence of heme oxygenase-1: the importance of neutrophils. *Stem Cells* 2013; 31(2): 397-407.
- 31 Le Blanc K, Frassoni F, Ball L, Locatelli F, Roelofs H, Lewis I, *et al.* Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet* 2008; 371(9624): 1579-86.
- 32 Gerdoni E, Gallo B, Casazza S, Musio S, Bonanni I, Pedemonte E, *et al.* Mesenchymal stem cells effectively modulate pathogenic immune response in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Ann Neurol* 2007; 61(3): 219-27.
- 33 Lazarus HM, Koc ON, Devine SM, Curtin P, Maziarz RT, Holland HK, *et al.* Cotransplantation of HLA-identical sibling culture-expanded mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells in hematologic malignancy patients. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11(5): 389-98.
- 34 Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, Götherström C, Hassan M, Uzunel M, *et al.* Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *The Lancet* 2004; 363(9419): 1439-41.
- 35 Ball LM, Bernardo ME, Roelofs H, van Tol MJ, Contoli B, Zwaginga JJ, *et al.* Multiple infusions of mesenchymal stromal cells induce sustained remission in children with steroid-refractory, grade III-IV acute graft-versus-host disease. *Br J Haematol* 2013; 163(4): 501-9.
- 36 Galipeau J, Sensebe L. Mesenchymal stromal cells: clinical challenges and therapeutic opportunities. *Cell Stem Cell* 2018; 22(6): 824-33.
- 37 Sun L, Wang D, Liang J, Zhang H, Feng X, Wang H, *et al.* Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in severe and refractory systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2010; 62(8): 2467-75.
- 38 Wang D, Zhang H, Liang J, Wang H, Hua B, Feng X, *et al.* A long-term follow-up study of allogeneic mesenchymal stem/stromal cell transplantation in patients with drug-resistant systemic lupus erythematosus. *Stem Cell Rep* 2018; 10(3): 933-41.
- 39 Bonab MM, Sahraian MA, Aghsaie A, Karvigh SA, Hosseini SM, Nikbin B, *et al.* Autologous mesenchymal stem cell therapy in progressive multiple sclerosis: an open label study. *Curr Stem Cell Res Ther* 2012; 7(6): 407-14.
- 40 Xu S, De Veirman K, De Becker A, Vanderkerken K, Van Riet I. Mesenchymal stem cells in multiple myeloma: a therapeutical tool or target? *Leukemia* 2018; 32(7): 1500-14.
- 41 Garcia-Gomez A, Sanchez-Guijo F, Del Canizo MC, San Miguel JF, Garayoa M. Multiple myeloma mesenchymal stromal cells: Contribution to myeloma bone disease and therapeutics. *World J Stem Cells* 2014; 6(3): 322-43.
- 42 Noll JE, Williams SA, Tong CM, Wang H, Quach JM, Purton LE, *et al.* Myeloma plasma cells alter the bone marrow microenvironment by stimulating the proliferation of mesenchymal stromal cells. *Haematologica* 2014; 99(1): 163-71.
- 43 Seidl S, Kaufmann H, Drach J. New insights into the pathophysiology of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2003; 4(9): 557-64.
- 44 Ning H, Yang F, Jiang M, Hu L, Feng K, Zhang J, *et al.* The correlation between cotransplantation of mesenchymal stem cells and higher recurrence rate in hematologic malignancy patients: outcome of a pilot clinical study. *Leukemia* 2008; 22(3): 593-9.
- 45 Gunn WG, Conley A, Deininger L, Olson SD, Prockop DJ, Gregory CA. A crosstalk between myeloma cells and marrow stromal cells stimulates production of DKK1 and interleukin-6: a potential role in the development of lytic bone disease and tumor progression in multiple myeloma. *Stem Cells* 2006; 24(4): 986-91.
- 46 Buckwalter JA, Martin JA. Osteoarthritis. *Adv Drug Deliv Rev* 2006; 58(2): 150-67.
- 47 Zhang W, Moskowitz RW, Nuki G, Abramson S, Altman RD, Arden N, *et al.* OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis. Part II: OARSI evidence-based, expert consensus guidelines. *Osteoarthritis Cartilage* 2008; 16(2): 137-62.
- 48 Sekiya I, Muneta T, Horie M, Koga H. Arthroscopic transplantation of synovial stem cells improves clinical outcomes in knees with cartilage defects. *Clin Orthop Relat Res* 2015; 473(7): 2316-26.

- 49 Vega A, Martin-Ferrero MA, Del Canto F, Alberca M, Garcia V, Munar A, *et al.* Treatment of knee osteoarthritis with allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells: a randomized controlled trial. *Transplantation* 2015; 99(8): 1681-90.
- 50 de Windt TS, Vonk LA, Slaper-Cortenbach IC, van den Broek MP, Nizak R, van Rijen MH, *et al.* Allogeneic mesenchymal stem cells stimulate cartilage regeneration and are safe for single-stage cartilage repair in humans upon mixture with recycled autologous chondrons. *Stem Cells* 2017; 35(1): 256-64.
- 51 Ankrum JA, Ong JF, Karp JM. Mesenchymal stem cells: immune evasive, not immune privileged. *Nat Biotechnol* 2014; 32(3): 252-60.
- 52 Muschler GE, Nakamoto C, Griffith LG. Engineering principles of clinical cell-based tissue engineering. *J Bone Joint Surg Am* 2004; 86a(7): 1541-58.
- 53 Nguyen PD, Tran TD, Nguyen HT, Vu HT, Le PT, Phan NL, *et al.* Comparative clinical observation of arthroscopic microfracture in the presence and absence of a stromal vascular fraction injection for osteoarthritis. *Stem Cells Transl Med* 2017; 6(1): 187-95.
- 54 Park YB, Ha CW, Lee CH, Yoon YC, Park YG. Cartilage regeneration in osteoarthritic patients by a composite of allogeneic umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells and hyaluronate hydrogel: results from a clinical trial for safety and proof-of-concept with 7 years of extended follow-up. *Stem Cells Transl Med* 2017; 6(2): 613-21.
- 55 Murphy JM, Fink DJ, Hunziker EB, Barry FP. Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48(12): 3464-74.
- 56 Barry F, Murphy M. Mesenchymal stem cells in joint disease and repair. *Nat Rev Rheumatol* 2013; 9(10): 584-94.
- 57 Horie M, Choi H, Lee RH, Reger RL, Ylostalo J, Muneta T, *et al.* Intra-articular injection of human mesenchymal stem cells (MSCs) promote rat meniscal regeneration by being activated to express Indian hedgehog that enhances expression of type II collagen. *Osteoarthritis Cartilage* 2012; 20(10): 1197-207.
- 58 van Buul GM, Villafuertes E, Bos PK, Waarsing JH, Kops N, Narcisi R, *et al.* Mesenchymal stem cells secrete factors that inhibit inflammatory processes in short-term osteoarthritic synovium and cartilage explant culture. *Osteoarthritis Cartilage* 2012; 20(10): 1186-96.
- 59 Pers YM, Rackwitz L, Ferreira R, Pullig O, Delfour C, Barry F, *et al.* Adipose mesenchymal stromal cell-based therapy for severe osteoarthritis of the knee: a phase I dose-escalation trial. *Stem Cells Transl Med* 2016; 5(7): 847-56.
- 60 Farrell MJ, Fisher MB, Huang AH, Shin JI, Farrell KM, Mauck RL. Functional properties of bone marrow-derived MSC-based engineered cartilage are unstable with very long-term *in vitro* culture. *J Biomech* 2014; 47(9): 2173-82.
- 61 Vinardell T, Sheehy EJ, Buckley CT, Kelly DJ. A comparison of the functionality and *in vivo* phenotypic stability of cartilaginous tissues engineered from different stem cell sources. *Tissue Eng Part A* 2012; 18(11/12): 1161-70.
- 62 Rockey DC, Bell PD, Hill JA. Fibrosis—a common pathway to organ injury and failure. *N Engl J Med* 2015; 372(12): 1138-49.
- 63 Hashimoto H, Olson EN, Bassel-Duby R. Therapeutic approaches for cardiac regeneration and repair. *Nat Rev Cardiol* 2018; 15(10): 585-600.
- 64 Min JY, Sullivan MF, Yang Y, Zhang JP, Converso KL, Morgan JP, *et al.* Significant improvement of heart function by cotransplantation of human mesenchymal stem cells and fetal cardiomyocytes in postinfarcted pigs. *Ann Thorac Surg* 2002; 74(5): 1568-75.
- 65 Caplan AI, Dennis JE. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *J Cell Biochem* 2006; 98(5): 1076-84.
- 66 Tang YL, Zhao Q, Zhang YC, Cheng L, Liu M, Shi J, *et al.* Autologous mesenchymal stem cell transplantation induce VEGF and neovascularization in ischemic myocardium. *Regul Pept* 2004; 117(1): 3-10.
- 67 Timmers L, Lim SK, Hofer IE, Arslan F, Lai RC, van Oorschot AA, *et al.* Human mesenchymal stem cell-conditioned medium improves cardiac function following myocardial infarction. *Stem Cell Res* 2011; 6(3): 206-14.
- 68 Hare JM, Fishman JE, Gerstenblith G, DiFede Velazquez DL, Zambrano JP, Suncion VY, *et al.* Comparison of allogeneic vs autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells delivered by transcatheter injection in patients with ischemic cardiomyopathy: the POSEIDON randomized trial. *JAMA* 2012; 308(22): 2369-79.
- 69 Heldman AW, DiFede DL, Fishman JE, Zambrano JP, Trachtenberg BH, Karantalis V, *et al.* Transcatheter mesenchymal stem cells and mononuclear bone marrow cells for ischemic cardiomyopathy: the TAC-HFT randomized trial. *JAMA* 2014; 311(1): 62-73.
- 70 Mathiasen AB, Qayyum AA, Jorgensen E, Helqvist S, Fischer-Nielsen A, Kofoed KF, *et al.* Bone marrow-derived mesenchymal stromal cell treatment in patients with severe ischaemic heart failure: a randomized placebo-controlled trial (MSC-HF trial). *Eur Heart J* 2015; 36(27): 1744-53.
- 71 Duffy D, Mamdouh R, Laird M, Sonesson C, Le Foulter L, El-Daly M, *et al.* The ABCs of viral hepatitis that define biomarker signatures of acute viral hepatitis. *Hepatology* 2014; 59(4): 1273-82.
- 72 Trautwein C, Friedman SL, Schuppan D, Pinzani M. Hepatic fibrosis: Concept to treatment. *J Hepatol* 2015; 62(1 Suppl): S15-24.
- 73 Lin BL, Chen JF, Qiu WH, Wang KW, Xie DY, Chen XY, *et al.* Allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stromal cells for hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure: A randomized controlled trial. *Hepatology* 2017; 66(1): 209-19.
- 74 Suk KT, Yoon JH, Kim MY, Kim CW, Kim JK, Park H, *et al.* Transplantation with autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells for alcoholic cirrhosis: Phase 2 trial. *Hepatology* 2016; 64(6): 2185-97.
- 75 Ren G, Chen X, Dong F, Li W, Ren X, Zhang Y, *et al.* Concise review: mesenchymal stem cells and translational medicine: emerging issues. *Stem Cells Transl Med* 2012; 1(1): 51-8.
- 76 Peng L, Xie DY, Lin BL, Liu J, Zhu HP, Xie C, *et al.* Autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in liver failure patients caused by hepatitis B: short-term and long-term outcomes. *Hepatology* 2011; 54(3): 820-8.
- 77 El Agha E, Kramann R, Schneider RK, Li X, Seeger W, Humphreys BD, *et al.* Mesenchymal stem cells in fibrotic disease. *Cell Stem Cell* 2017; 21(2): 166-77.

- 78 Chen Y, Xiang LX, Shao JZ, Pan RL, Wang YX, Dong XJ, *et al.* Recruitment of endogenous bone marrow mesenchymal stem cells towards injured liver. *Journal of cellular and molecular medicine* 2010; 14(6B): 1494-508.
- 79 Sakaida I, Terai S, Yamamoto N, Aoyama K, Ishikawa T, Nishina H, *et al.* Transplantation of bone marrow cells reduces CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis in mice. *Hepatology* 2004; 40(6): 1304-11.
- 80 Lee KD, Kuo TK, Whang-Peng J, Chung YF, Lin CT, Chou SH, *et al.* *In vitro* hepatic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Hepatology* 2004; 40(6): 1275-84.
- 81 Stock P, Bruckner S, Ebensing S, Hempel M, Dollinger MM, Christ B. The generation of hepatocytes from mesenchymal stem cells and engraftment into murine liver. *Nat Protoc* 2010; 5(4): 617-27.
- 82 Vassilopoulos G, Wang PR, Russell DW. Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion. *Nature* 2003; 422(6934): 901-4.
- 83 Wang X, Willenbring H, Akkari Y, Torimaru Y, Foster M, Al-Dhalimy M, *et al.* Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature* 2003; 422(6934): 897-901.
- 84 Hickson LJ, Eirin A, Lerman LO. Challenges and opportunities for stem cell therapy in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int* 2016; 89(4): 767-78.
- 85 Ibrahim A. Plain text encoding/decoding technique using a combination of Huffman and run-length algorithms. *Bri J Appl Sci Technol* 2016; 16(2): 1-10.
- 86 Nassar W, El-Ansary M, Sabry D, Mostafa MA, Fayad T, Kotb E, *et al.* Umbilical cord mesenchymal stem cells derived extracellular vesicles can safely ameliorate the progression of chronic kidney diseases. *Biomater Res* 2016; doi: 10.1186/s40824-016-0068-0.
- 87 Roemeling-van Rhijn M, Reinders ME, de Klein A, Douben H, Korevaar SS, Mensah FK, *et al.* Mesenchymal stem cells derived from adipose tissue are not affected by renal disease. *Kidney Int* 2012; 82(7): 748-58.
- 88 Bateman ME, Strong AL, Gimble JM, Bunnell BA. Concise review: using fat to fight disease: a systematic review of non-homologous adipose-derived stromal/stem cell therapies. *Stem Cells* 2018; 36(9): 1311-28.
- 89 Andrade L, Rodrigues CE, Gomes SA, Noronha IL. Acute kidney injury as a condition of renal senescence. *Cell Transplant* 2018; 27(5): 739-53.
- 90 Brodie JC, Humes HD. Stem cell approaches for the treatment of renal failure. *Pharmacol Rev* 2005; 57(3): 299-313.
- 91 Eirin A, Lerman LO. Mesenchymal stem cell treatment for chronic renal failure. *Stem Cell Res Ther* 2014; 5(4): 83.
- 92 Tzouvelekis A, Toonkel R, Karamitsakos T, Medapalli K, Ninou I, Aidinis V, *et al.* Mesenchymal stem cells for the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. *Front Med (Lausanne)* 2018; 5:142.
- 93 Lederer DJ, Martinez FJ. Idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2018; 378(19): 1811-23.
- 94 Richeldi L, Collard HR, Jones MG. Idiopathic pulmonary fibrosis. *Lancet* 2017; 389(10082): 1941-52.
- 95 Glassberg MK, Minkiewicz J, Toonkel RL, Simonet ES, Rubio GA, DiFede D, *et al.* Allogeneic human mesenchymal stem cells in patients with idiopathic pulmonary fibrosis via intravenous delivery (AETHER). *Chest* 2017; 151(5): 971-81.
- 96 Adegunsoye A, Streck ME. Therapeutic approach to adult fibrotic lung diseases. *Chest* 2016; 150(6): 1371-86.
- 97 Krampera M, Galipeau J, Shi Y, Tarte K, Sensebe L. Immunological characterization of multipotent mesenchymal stromal cells-The International Society for Cellular Therapy (ISCT) working proposal. *Cytotherapy* 2013; 15(9): 1054-61.
- 98 Lee RH, Pulin AA, Seo MJ, Kota DJ, Ylostalo J, Larson BL, *et al.* Intravenous hMSCs improve myocardial infarction in mice because cells embolized in lung are activated to secrete the anti-inflammatory protein TSG-6. *Cell Stem Cell* 2009; 5(1): 54-63.
- 99 Ranganath SH, Levy O, Inamdar MS, Karp JM. Harnessing the mesenchymal stem cell secretome for the treatment of cardiovascular disease. *Cell Stem Cell* 2012; 10(3): 244-58.