



项鹏, 中山大学教授, 博士生导师, 国家杰出青年基金获得者, “万人计划”科技创新领军人才, 国家重点研发计划首席科学家。现任国家干细胞临床研究专家委员会委员, 干细胞与组织工程教育部重点实验室主任, 广东省医学会细胞治疗学分会主任委员, 广东省干细胞与再生医学工程技术研究开发中心主任。长期从事干细胞多能性与组织器官再生研究, 在干细胞治疗的基础研究与临床转化方面取得突出成绩。作为项目负责人承担国家重点研发计划“干细胞及转化研究专项”、国家自然科学基金杰出青年基金(重点、面上项目基金)9项、省部级重大项目10余项。作为通讯作者在*Nat Commun*、*Mol Psychiatry*、*Leukemia*、*Cell Res*、*PNAS*、*Hepatology*等杂志上发表论文60余篇。

<http://zssom.sysu.edu.cn/teacher/520>

间充质干细胞临床转化: 进展与挑战

黄里^{1,2} 陈小湧² 项鹏^{2*}

(¹中山大学附属第三医院, 生物治疗中心, 广州 510630;

²中山大学干细胞与组织工程研究中心, 干细胞与组织工程教育部重点实验室, 广州 510080)

摘要 近年来, 干细胞研究的兴起为各种难治性疾病的治愈带来了新的希望, 标志着医学已步入“再生医学”的新时代。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)是干细胞临床转化的典型代表之一, 具有来源广泛、易于分离和扩增、免疫原性低等特点, 同时拥有旁分泌和免疫调节的作用, 在细胞治疗和组织工程等方面应用前景非常广阔。前期大量的临床前研究和临床试验已经证实, MSC治疗移植排斥、自身免疫性疾病、终末期肝病等方面的安全性和有效性, 但临床实践中也发现了一系列亟待解决的问题。在这里, 我们系统回顾MSC临床转化的现状与挑战, 供同行参考。

关键词 间充质干细胞; 临床转化

Clinical Translation of Mesenchymal Stem Cells: Progress and Challenge

Huang Li^{1,2}, Chen Xiaoyong², Xiang Andy Peng^{2*}

(¹Biotherapy Center, the Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China;

²Key Laboratory for Stem Cells and Tissue Engineering, Ministry of Education, Center for Stem Cell Biology and Tissue Engineering, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract Recently, stem cell therapy has shown great promising to cure various refractory diseases, suggesting the coming of a new era of “regenerative medicine”. Mesenchymal stem cells (MSC), one of the representative stem cells in clinical translation, have lots of advantages, such as a wide range of sources, easy isolation and expansion, low immunogenicity, paracrine effects and immune regulation, making their broad applications in cell therapy and tissue engineering. A large number of preclinical studies and clinical trials have confirmed the safety and efficacy of MSC in the treatment for transplant rejection, autoimmune diseases, end-stage liver disease, tissue

*通讯作者。Tel: 020-87335822, E-mail: xiangp@mail.sysu.edu.cn

*Corresponding author. Tel: +86-20-87335822; E-mail: xiangp@mail.sysu.edu.cn

网络出版时间: 2019-01-21 10:07:10

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190121.1007.002.html>

damage repair, etc., and it is expected to achieve their clinical translation. Here, we systematically review the current status and the challenges of MSC in clinical translation.

Keywords mesenchymal stem cells; clinical translation

1 MSC基本特性

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)是最常见的成体干细胞之一,最初是从骨髓中分离得到的非造血类的干细胞^[1],它参与构成骨髓造血微环境,对造血干细胞的增殖与分化具有明显的支持作用^[2]。其可黏附于塑料培养板上生长,具有类似于成纤维细胞的形态,能自我更新,体外可分化为成骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞,表达CD29、CD44、CD54、CD73、CD90、CD105和CD166,但不表达造血干细胞标志物CD11b、CD14、CD19、CD34、CD45等^[3],同时MSC免疫原性较低,低表达HLA-I类分子,不表达HLA-II类分子以及CD40、CD80、CD86等共刺激因子^[3],同种异体移植时由于缺乏T细胞活化的共刺激信号,故不引起排斥反应,使其成为异基因移植的理想干细胞。目前临床使用的MSC来源于不同组织,包括骨髓、脐带、胎盘、脂肪等,主要是利用其对塑料培养皿和其他塑料容器的黏附特性从各种组织中分离出来,它们均表达相似的标记物,并具有类似的基本生物学特性。

传统观点认为,干细胞是通过分化为特定细胞来替代病损的组织器官,从而实现治疗的作用。确实, MSC具有直接分化为成骨细胞、软骨细胞的能力,可以通过直接替代损伤细胞从而在骨与软骨损伤的修复中发挥重要作用^[4]。然而,当MSC移植至

体内时,通常它们在宿主中存在的时间短暂,可能几天或几周,难于被检测到,那它们是如何发挥治疗作用的呢?近年来的研究发现, MSC的营养支持作用与免疫调节功能在组织损伤修复与疾病治疗中扮演了更加重要的角色。例如, MSC通过旁分泌营养介质(trophic mediators)可以抑制缺血导致的凋亡、抑制瘢痕形成、刺激血管新生和维持血管稳定性、刺激组织内源性干细胞分裂等^[5-6]。在MSC的免疫调节方面(图1), MSC能抑制T细胞增殖、活化及分泌炎症因子(如IL-2、TNF- α 、IFN- γ 等),降低Th1/Th2比例,引起Th17数量下降^[7],同时MSC能诱导、增加调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)的数量,包括经典的CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ Treg^[8-9]以及非经典的Treg(如CD8⁺CD28⁻调节性T细胞)、IL-10⁺ Tr1等^[10-12]; MSC可以调控B细胞的增殖、活化以及其抗体分泌能力,影响B细胞的趋化功能^[13]。近年的研究发现, MSC可以增加调节性B细胞(regulatory B cell, Breg)的比例,如CD5⁺B细胞、CD19⁺CD24^{high}CD38^{high} B细胞等分泌IL-10的Breg^[14-15]。MSC抑制NK细胞增殖、细胞毒作用和细胞因子的分泌^[16]。MSC能抑制M1型巨噬细胞的功能、促进M1型巨噬细胞(促炎型)向M2型巨噬细胞(抗炎型)转化; MSC还影响APC细胞(antigen-presenting cells)的抗原递呈功能,通过下调抗原提

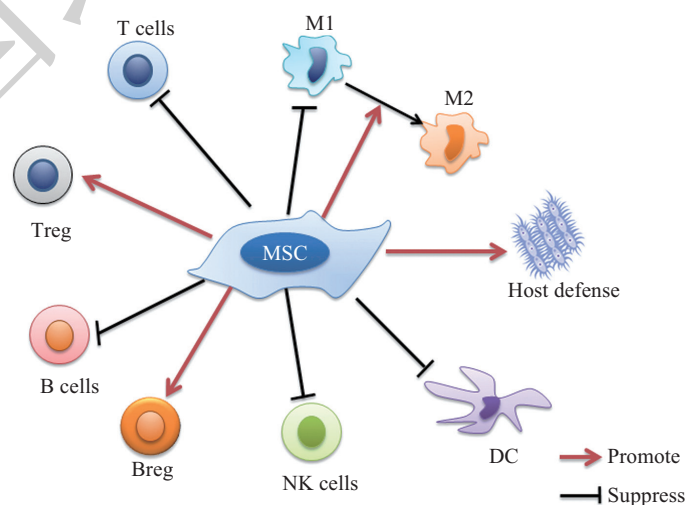


图1 MSC调控免疫细胞

Fig.1 MSC regulate the innate and adaptive immune cells

呈细胞表面的MHC分子以及共刺激分子(CD40、CD86、CD80)和抑制树突状细胞(dendritic cells, DC)成熟来抑制T细胞的活化^[17]。

参与MSC免疫调节作用的主要分子包括转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)、一氧化氮(nitric oxide, NO)、吲哚胺-2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)、肿瘤坏死因子诱导蛋白6(tumor necrosis factor-inducible gene 6 protein, TSG6)、血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)等^[18]。目前,越来越多的分子被证实参与了MSC的免疫调节,如胰岛素样生长因子结合蛋白7(insulin-like growth factor-binding protein 7, IGFBP7)、斯钙素2(stanniocalcin 2, STC2)、羧基谷氨酸蛋白(matrix Gla-protein, MGP)等^[19-21],提示MSC免疫调节作用的广泛性、多样性。同时, MSC免疫调节作用还具有可塑性,在不同的病理微环境下表现出不同的免疫调节功能^[22],这提示MSC与疾病微环境之间的相互作用可能在MSC治疗中扮演了重要的角色。有趣的是,研究还发现, MSC免疫作用还体现在介导宿主防御反应,如MSC通过表达鸟苷酸结合蛋白1(GBP1)抵抗弓形虫(*Toxoplasma gondii*)的感染^[23]。MSC也能通过cGAS-STING通路介导对丙型肝炎病毒(gammaherpesvirus)感染的抵抗反应^[24]。这些反应提示, MSC治疗有望成为降低感染相关发病率和死亡率的新型细胞抗微生物治疗手段。

MSC迁移至损伤或炎症部位也是其发挥治疗作用的重要基础之一。众所周知, MSC表达多种的趋化因子受体以及生长因子受体,如

CXCR1[chemokine (C-X-C motif) receptor 1]、CXCR2、CXCR4、CCR1[chemokine (C-C motif) receptor 1]、CCR2、PDGFR- α (platelet-derived growth factor receptors- α)等^[25]。移植到体内的MSC容易受到不同趋化因子、生长因子的影响,从而趋向特定的组织或器官。特别是当组织或器官处于损伤过程时,大量趋化因子的释放,可驱使MSC向病损组织定向迁移,促进组织损伤修复。例如,组织损伤部位释放大量的基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1),又称趋化因子CXCL12[chemokine (C-X-C motif) ligand 12],通过SDF-1/CXCR4趋化轴,促进MSC向病损组织迁移^[26]。炎症部位同样有大量的趋化因子产生,如巨噬细胞炎症蛋白-1 α (macrophage inflammatory protein-1 α , MIP-1 α)、白细胞介素-8(interleukin 8, IL-8, 又称为趋化因子CXCL8)、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)等,可以分别通过MIP-1 α /CCR2轴、IL-8/CXCR1或CXCR2轴、MCP-1/CCR2轴等途径,趋化MSC至炎症部位^[26-27]。

2 MSC临床转化

MSC的易于分离和扩增、多向分化、向病损组织定向迁移、旁分泌和免疫调节的功能决定了其在细胞治疗和组织工程等方面的广阔应用前景。目前在美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)临床数据库(ClinicalTrials.gov)注册的MSC相关临床试验超过900项,但绝大部分研究仍处于I、II期研究阶段(图2),适用症非常广泛,包括心血管疾病、骨与软骨疾病、肝脏疾病、脊髓损伤、移

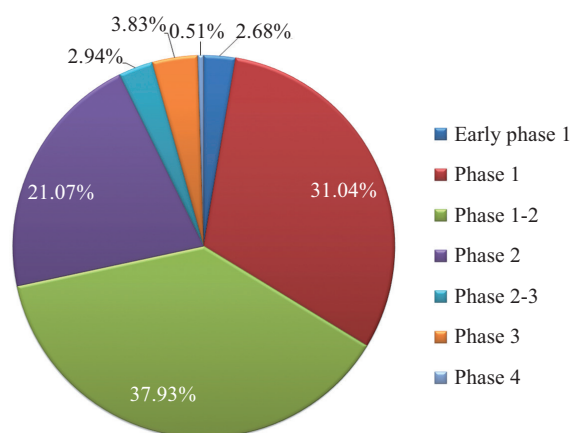


图2 在ClinicalTrial注册的MSC临床试验的分期情况

Fig.2 Clinical trial phases of MSC-related studies

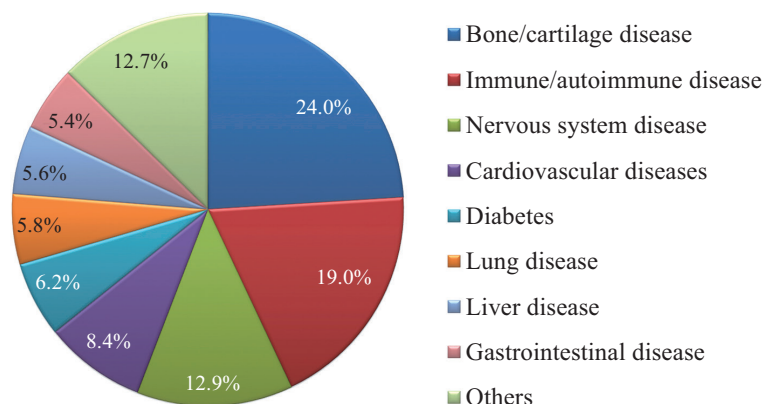


图3 在ClinicalTrial注册的MSC临床试验的主要适用症
Fig.3 Clinical trial indications of MSC

植排斥、自身免疫病等(图3)。以下将以MSC治疗移植排斥、自身免疫性疾病、终末期肝病等疾病为例,介绍MSC的临床研究现状。

2.1 MSC治疗移植物抗宿主病

MSC参与构成骨髓造血微环境,对造血干细胞的增殖与分化具有明显的支持作用^[2],临床上将其与造血干细胞联合移植以促进移植后造血恢复^[28],或是用于治疗异基因造血干细胞移植后继发性植入功能不良(poor graft function, PGF)^[29]。随后发现, MSC不仅能预防移植物抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)的发生,也可以作为GVHD的有效治疗手段。Le Blanc等小组^[30]2004年首次报道了利用半相合MSC成功治疗1例以肝脏和胃肠道表现为主的严重的难治性IV级aGVHD。随后,欧洲血液和骨髓移植团体(the European Group for Blood and Marrow Transplantation, EBMT)入组55例患者的多中心临床研究结果显示,39例患者出现了完全或部分缓解,儿童、成人患者的完全缓解率为68%、43%;总的有效反应率高达70%;且完全缓解的患者(complete responders)的2年存活率明显高于部分缓解患者(partial responders)和没反应的患者(non-responders)^[31]。之后,Osiris公司开展了prochymal(MSC产品)治疗aGVHD的三期临床试验性研究,初步结果表明,实验组与对照组的总体反应率无明显的差异,但实验组的完全缓解率高于对照组(40% vs 28%),且实验组中,胃肠道有效反应率可高达88%^[32]。近期, Ringden等^[33]对全球报道的MSC治疗激素抵抗性aGVHD的病例进行meta分析,结果显示, MSC治疗是安全、有效的,在病情早期以及在儿童aGVHD患者中使用疗效更优。

MSC治疗慢性GVHD(cGVHD)的起步较晚,早期Muller等^[34]的报道中,3例cGVHD患者接受MSC治疗仅有1例患者稍有反应。同期国内有研究报道, MSC在治疗4例硬皮病的cGVHD患者取得较满意的疗效^[35]。随后研究证实, MSC可以作为激素抵抗型MSC的挽救性疗法,19例接受MSC治疗的难治性cGVHD患者,73.7%的患者出现了完全或部分缓解;2年存活率为77.7%。前瞻性临床研究也证实了MSC治疗激素抵抗型cGVHD的安全性和有效性,对cGVHD引起的干眼症也有显著的改善作用^[14,36-37]。近期一项随机对照、双盲临床研究发现,半相合造血干细胞移植中联合MSC输注可显著降低cGVHD的发生率,提示MSC在cGVHD预防中的应用前景^[38]。有趣的是,系统的临床免疫学观察发现伴随MSC改善cGVHD患者,外周血B淋巴细胞亚群发生了明显变化,例如,CD27⁺CD19⁺记忆性B淋巴细胞的增加,外周血B细胞活化因子(B cell-activating factor, BAFF)水平降低,BAFF与B淋巴细胞比值明显下降^[39],表达IL-10的CD5⁺调节性B细胞(regulatory B cell, Breg)的比例显著增加^[14],提示B淋巴细胞亚群的改变可能参与了MSC的治疗机制。总体来说, MSC对cGVHD的临床治疗效果是值得肯定的。随着研究的深入, MSC有望成为cGVHD的重要治疗手段之一。

2.2 MSC治疗肝衰竭

我国是乙肝大国(近1.3亿慢性乙肝病毒携带者),其中20%~30%的患者将发展为终末期肝病。以肝衰竭为例,主要类型为慢加急性肝衰竭(acute-on-chronic liver failure, ACLF),占87.6%,主要发病机制为当基础肝病遭受各种肝损伤诱因急性打击时首先出现肝功能严重损伤(初发反应),继而出现全身和

肝脏免疫系统异常应答(继发反应), 最终演变为终末阶段的多脏器功能衰竭, 死亡率超过50%^[40-41]。目前临床研究认为, MSC治疗肝衰竭是安全、有效的。在一项开放标签随机对照研究中, 56例乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)相关的ACLF患者接受了同种异体骨髓MSC治疗, 每周注射MSC, 持续4周治疗, 随访24周。结果发现, MSC治疗降低患者血清总胆红素(total bilirubin, TBIL)水平, 改善终末期肝病评分模型(model for end-stage liver disease, MELD)的评分, 降低严重感染的发生率, 进而提高累积生存率。此外, 未发现MSC输注的异常反应, 且任何试验患者中均未检测到肿瘤发生^[42]。在另外一项MSC治疗ACLF的临床研究中, 入组了20例HBV相关ACLF患者, 接受3次脐带MSC输注治疗, 剂量为 5×10^5 细胞/kg, 每4周输注1次。结果显示, 脐带MSC输注显著增加ACLF患者的血清白蛋白(albumin, ALB)、胆碱酯酶、凝血酶原活性和血小板计数, 且增加患者存活率; 并降低TBIL、ALT(alanine transaminase)水平和MELD评分^[43]。在一项为期24个月的前瞻性研究中, 通过肝动脉单次输注 1×10^8 脐带MSC治疗11例HBV相关ACLF患者, 治疗组在MSC移植4周后, 患者血清ALB、ALT、AST(aspartate transaminase)、胆红素、直接胆红素、PT(prothrombin time)、国际标准化比值(international normalized ratio, INR)和MELD评分均有显著改善; 在24个月时, ALB、PT和INR水平仍有显著增加^[44]。同样通过肝动脉输注MSC的另一研究中, 发现自体骨髓MSC移植对于HBV相关的肝衰竭患者是安全的。短期结果是明显的, 移植组ALB、TBIL、PT和MELD评分在移植后2~3周均有改善。然而, 长期效果并不显著, 在随访192周后MSC治疗组和对照组之间肝细胞癌的发病率或死亡率没有显著差异^[45]。关于MSC治疗肝衰竭可能机制, 早期研究认为, MSC可以分化为肝细胞样细胞(hepatocyte-like cells, HLCs)从而改善肝脏功能。但是, 输注的MSC在体内能否分化为肝细胞样细胞仍然存在争议。有研究发现, MSC治疗效果等同甚至好于诱导的HLCs, 提示转化为HLCs并不一定是MSC改善肝衰竭的必经之路^[46]。目前的研究更倾向于认为, 改善肝衰竭主要是依赖于MSC的营养支持以及免疫调节, 如增加抑炎因子TGF- β 、IL-10, 减少促炎因子IL-6、TNF- α 等, 抑制Th1、Th7、细胞毒性CD8⁺ T细胞、NK细胞, 促进调节性T细胞、调节性DC细胞、

M2型巨噬细胞等, 从而改善异常的免疫微环境^[46]。

2.3 MSC治疗肾移植排斥

肾移植是治疗终末期肾病患者的最有效方法, 肾移植后排斥是导致移植肾失功甚至移植失败的主要原因。基于实体器官移植动物模型的一些令人鼓舞的数据, 现已开展MSC治疗肾移植排斥的临床研究。一项探索性研究发现, 2个活体肾移植患者接受自体MSC的输注, 在MSC输注后7天和14天血清肌酐升高, 病理活检结果排除急性排斥但存在炎症浸润。2个患者移植肾功能稳定, CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺CD127⁻ Treg比例增加, 显著抑制了CD45RO⁺RA-CD8⁺ T细胞的扩增以及减少CD8⁺ T细胞的活性^[47], 提示MSC在肾移植中应用的可行性。另一项同种异基因的MSC治疗肾移植患者的研究中, MSC输注患者未出现相关的毒副作用。同时, MSC治疗组中他克莫司剂量(0.045 ± 0.002 mg/kg)明显低于对照组(0.077 ± 0.005 mg/kg)。在12个月随访中, 所有患者均存活且具有稳定的肾功能^[48], 提示MSC在肾移植中具有潜在优势, 可以减少维持长期移植存活和功能稳定所需的常规免疫抑制药物的剂量。此外, 一项大型随机对照研究评价了自体MSC输注对肾移植后急性排斥及肾功能的影响^[49]。研究入组了159例患者, 分为MSC治疗联合正常免疫抑制剂组、MSC治疗联合低剂量免疫抑制剂组和正常免疫抑制剂联合抗IL2受体抗体组。研究发现, 3组患者移植存活时间接近(13~30月); 移植6个月后, MSC联合正常免疫抑制剂组和MSC联合低剂量免疫抑制剂组的急性排斥发生率明显低于对照组, 且两个MSC组患者的肾功能恢复明显好于对照组; 1年随访发现, 两个MSC治疗组患者感染发生率明显低于对照组。研究表明, 与抗IL2受体抗体治疗组相比, MSC治疗能有效减低急性排斥的发生率, 且减少感染^[49]。近期, 一项多中心随机对照研究评价了MSC输注作为诱导疗法(induction therapy)预防移植肾功能延迟恢复(delayed graft function, DGF)和急性排斥反应, 试验中的21例患者在肾移植前接受 2×10^6 细胞/kg脐带MSC静脉输注, 在手术过程中, 通过肾动脉注射 5×10^6 个MSC。尽管MSC组和非MSC组之间没有出现显著差异, 但MSC作为诱导治疗可以显著降低DGF的发生率(MSC组比非MSC组: 9.5% vs 33.3%)^[50]。

2.4 MSC治疗炎症性肠病

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, BD)是

累及回肠、直肠、结肠的一种特发性肠道炎症性疾病, 主要分为克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)两类^[51]。目前, MSC治疗克罗恩病的临床试验主要涉及管腔型或瘻管型克罗恩病。Molendijk等^[52]报道了使用同种异体骨髓来源的MSC改善顽固性肛瘻型CD的愈合, 共入组21例顽固性肛瘻型CD患者, 其中5例单次注射 1×10^7 个MSC, 5例注射 3×10^7 个MSC, 5例注射 9×10^7 个MSC, 6例为对照组, 结果显示, MSC组有7例(47%)、对照组有2例(33%)患者达到肛瘻愈合, 注射 3×10^7 个MSC促进肛瘻愈合的效果最佳。Panes等^[53]报道了利用同种异体脂肪来源的MSC治疗复杂性肛瘻的III期随机、双盲、平行组、安慰剂对照研究, 共入组212例患者, MSC组107例, 对照组105例。研究发现, MSC组有53例(50%)、对照组有36例(34%)患者达到肛瘻愈合标准, 证实了MSC对瘻管的愈合作用显著。Duijvestein等^[54]报道了使用自体骨髓来源的MSC治疗难治性管腔型CD的I期研究, 有2例患者肠道黏膜愈合明显, 初步证实了MSC治疗的安全性和可行性。Forbes等^[55]开展了一项II期研究, 使用同种异体骨髓来源的MSC治疗难治性的管腔型CD共15例, 患者每周接受 2×10^6 个/kg的MSC输注, 持续4周, 发现其中有12例患者具有临床改善(clinical response), 8例患者达到临床缓解(clinical remission), 7例患者达到内镜下改善(endoscopic improvement), 证实同种异体MSC可以降低难治性管腔型CD患者的CD活性指数(Crohn's disease activity index, CDAI)和CD内镜严重程度指数(Crohn's disease endoscopic index of severity, CDEIS)评分。目前, 一项多中心、随机、安慰剂对照、双盲的III期研究正在进行, 旨在研究MSC治疗IBD的安全性和有效性^[56]。在溃疡性结肠炎方面, 一项针对严重性UC的I/II期研究, 通过外周血和肠系膜上动脉联合注射, 证实了MSC输注的安全性, 同时发现, MSC能减轻弥漫性和深部溃疡形成以及严重的黏膜炎症^[57]。

2.5 MSC治疗系统性红斑狼疮

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种弥漫性、全身性自身免疫病, 主要累及皮肤、黏膜、骨骼、肌肉、肾脏及中枢神经系统, 还可以累及肺、心脏、血液等多个器官和系统, 表现出多种临床症状; 血清中可检测到多种自身抗体和免疫学指标异常^[58]。2010年, 一项MSC治疗的

探索性临床研究中, 共入组15例患者, 在超过12个月的随访中发现, 患者24小时蛋白尿显著减少和SLE疾病活动指数(SLE disease activity index, SLEDAI)评分改善, 所有患者的抗dsDNA滴度在MSC移植后1个月均下降^[59]。2013年, 一项前瞻性临床研究发现, 87例患者4年随访的总生存率为94%(82/87), 1年完全临床缓解率(complete response, CR)为28%(23/83), 1年复发率为12%(10/83); 4年随访期间的总复发率为23%(20/87); SLEDAI评分、血清自身抗体、白蛋白和补体水平的显著改善^[60], 提示疾病活动性下降。随后, 一项多中心的研究发现, 12月随访的总生存率为92.5%(37/40), 32.5%(13/40)患者达到显著临床缓解(major clinical response, MCR), 27.5%(11/40)患者达到部分临床缓解(partial clinical response, PCR)。随访3、6、9和12个月, SLEDAI评分均显著下降, 英岛狼疮评定组指数(British isles lupus assessment group, BILAG)评分在3个月时显著下降, 并在后续的随访中持续下降。肾、造血和皮肤系统的BILAG评分显著改善。在狼疮性肾炎患者中, 移植后24小时蛋白尿减少, 在9个月和12个月具有统计学差异^[61]。近期, 一项针对狼疮肾的随机双盲、安慰剂对照试验, 共入组患者18例(试验组12例, 对照组6例), 研究发现, 2组患者疾病缓解无明显差异, 提示除了标准免疫抑制外, MSC没有明显的治疗作用^[62]。尽管如此, MSC输注治疗SLE患者仍是一种安全的治疗方法, 未有任何不良并发症的报道。现阶段仍然需要更多的随机、双盲、对照试验进一步评价MSC在SLE治疗中的安全性和有效性。

3 MSC临床转化的挑战

尽管目前MSC临床治疗显示巨大的应用前景, 但是也不能忽视临床试验失败或者终止的案例, 如Osiris公司的Prochymal产品在治疗GVHD的3期临床试验未达预期疗效^[32], 这也是Prochymal产品未获得美国FDA批准上市的主要原因。2014年, Athersys公司宣称其产品MultiStem(R)在治疗溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的II期临床试验同样未达到预期效果^[63]。此外, MSC用于心脏修复(Miltenyi Biotec公司、FBC Pharmicell公司和Stempeutics Research公司分别开展的3项临床研究)、急性肾损伤(AlloCure公司开展的临床研究)、缺血性中风(Manipal Acunova公司开展的临床研究)等临床试验也失败或

者终止^[63]。究其原因,以下几方面的问题值得思考。

3.1 MSC的免疫相容性

传统认为, MSC具有低免疫原性,低表达MHC-I分子和HLA-I类分子,不表达HLA-II类分子以及CD40、CD80、CD86等共刺激因子^[18],具有类似“免疫豁免”的性质,可以用于同种异基因抑制而不引起排斥,因此,目前MSC产品多数是来自少数供者并大规模扩增得到的。然而,已经有研究证明, MSC在组成性表达MHC I类分子并且当暴露于炎症信号(如干扰素- γ)时,具有表达MHC II类的能力^[64-65]。尽管, MSC能表达相关的免疫抑制分子,但这些是否足以抵抗同种异体免疫反应仍有待验证^[64-65]。另外,供体MSC和受体之间的免疫相容性在某些情况下是至关重要的,如促进移植骨髓的植入、治疗肾移植后的抗体型排斥或者需要长期重复多次输注的慢性疾病等。尽管这不一定是造成临床试验失败的主要原因,但可以在后续同种异基因MSC临床研究中关注这一问题。

3.2 MSC的质量

首先,临床应用的MSC主要来源于健康志愿者,而不同个体之间存在差异,其细胞属性也不尽相同^[66];其次, MSC的体外扩增不可避免地造成细胞的衰老^[67],而细胞衰老不仅会造成自身功能的下降,还会出现衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP)并分泌一些因子影响周围细胞的功能^[68];此外,目前用于临床试验的MSC多为低温复苏的,低温及冻存液等因素均可导致MSC存活率及功能的下降^[69-70]。以上原因均可造成目前临床应用的MSC质量参差不齐。而目前临床应用的MSC的准入标准仍采用2006年国际细胞移植学会提出的鉴定标准^[71]: (1)标准培养条件下,能贴壁生长; (2)CD105、CD73、CD90的表达不低于95%,而CD45、CD34、CD14/CD11b、CD79a/CD19、HLA-DR的表达不超过2%; (3)具有成骨、成脂及成软骨三向分化潜能。尽管2016年该学会推荐增加MSC免疫调节功能相关因子检测作为补充检测标准^[72],但总体而言,现阶段仍然缺乏MSC生物学有效性的评价体系。如何保证并提高临床用MSC质量,特别是生物学有效性的评测,已成为亟待解决的瓶颈问题。在此基础上,预测MSC生物学功能的指标挖掘也显得非常重要,Marklein等^[73]开拓了利用MSC形态预测其成骨能力的方法。Klinker等^[73]发现, IFN- γ

刺激后MSC出现形态改变,通过形态改变能有效预测MSC的免疫调节功能,甚至可以通过转录因子的表达,预测MSC促血管新生或者抑制免疫的状态^[74]。相关研究的进一步推进,对于建立预测MSC生物学功能的快检指标,筛选满足临床应用需求的MSC具有重要意义。

3.3 MSC的异质性

众所周知, MSC具有异质性。一方面,可以表现为同一组织来源的MSC中存在不同的功能亚群,如有研究表明,骨髓MSC存在多种形态不同的MSC亚群,这些MSC亚群成骨、成脂、成软骨分化能力存在差异,免疫调节功能也不尽相同^[75]。另一方面,也可以体现为不同组织来源的MSC存在功能差异,如大量的研究报道,脐带、脂肪、骨髓来源的MSC功能存在差异^[76-77],且特定组织来源的MSC在其靶组织损伤修复中展现出良好的能力^[78-79]。MSC功能亚群的鉴定一直是国际研究热点,研究发现,骨髓中Nestin⁺细胞具有MSC的分化特性与造血支持能力^[2]。而睾丸、肾脏等组织Nestin⁺细胞同样具有MSC特性和修复病损组织的能力^[78-79]。骨髓中Lepr⁺细胞具有MSC特性,在HSC干性维持中扮演重要角色^[80-81]。Gli1被证实是心、肾、肺等组织MSC的重要标志,并参与了损伤后纤维化的发生^[82-83]。因此,定义不同MSC亚群的功能特征,获得适合不同损伤修复的MSC功能亚群也是提高MSC临床治疗效果的重要手段之一。

3.4 MSC的定向迁移

MSC定向迁移/归巢到特定组织,取决于组织分泌的趋化因子和MSC表面相应趋化因子受体之间的匹配性和相互作用。研究发现,新鲜分离的MSC具有较好的归巢效应,但体扩增后会导致归巢能力的降低^[84]。例如,识别CXCL12(也称为SDF-1 α)的CXCR4趋化因子受体在原代骨髓MSC上高度表达,但培养后CXCR4会逐渐丢失^[84-85]。当然,也存在组织和MSC之间趋化因子和受体不匹配的情况,如当特定趋化因子(CXCL1、CXCL2和CCL7)在梗死心肌中表达升高,但相应趋化因子受体(CCR1和CXCR2)在MSC上的表达水平却非常低^[86]。因此,已有研究通过基因修饰MSC,使其表达的特定的趋化因子受体,从而增加其靶向性。如CCR7修饰的MSC能有效靶向次级淋巴器官(secondary lymphoid organs, SLO),并显著改善在小鼠接触性超敏反应模

型中的小鼠移植抗宿主病(GVHD)^[87]。CXCL13在疾病过程中高表达, 其受体CXCR5的MSC可靶向迁移至病损皮肤组织, 并显著减轻超敏反应^[88]。这为实现MSC的精准靶向治疗提供了坚实基础。

3.5 MSC的治疗机制

MSC的作用非常广泛且作用机制较为复杂, 以免疫调节为例, 体外实验中MSC展现出广谱的免疫调节能力, 不仅能调控适应性免疫细胞, 也能影响固有免疫细胞^[8], 甚至介导抗感染等宿主防御反应^[23-24], 然而, 其针对特定免疫相关疾病的治疗机制仍知之甚少。MSC对免疫系统的影响具有两面性, 例如, 当MSC数量少时, 倾向于使树突细胞促进T细胞活化; 而MSC数量多时, 可以产生相反的效果^[89]。类似地, 低剂量的IFN- γ 可使MSC表达MHC-II类分子并表现为抗原呈递细胞^[90]; 较高剂量的IFN- γ 导致MHC-II分子表达降低^[90]并分泌相关的抗炎因子^[91]。这些发现表明, MSC对免疫系统的作用是具有可塑性的, 且与疾病微环境密切相关, 因此系统解析MSC在特定疾病中的治疗机制, 既要了解机体病理微环境炎症因子的组成及强度, 又要考虑MSC对抗炎因子的应答反应及对靶细胞的调控需求, 优化MSC剂量、介入时机、生物学功能等, 以达到预期的效果。

综上所述, MSC治疗已从基础研究、动物实验逐步跨进了临床转化阶段, I、II期的研究也取得了鼓舞人心的成果, 然而, 我们应该清晰认识到这仅仅是MSC临床转化的开端, 更应认真总结现阶段的临床转化经验, 重视临床转化中暴露的问题(质量标准、功能亚群、精准靶向、治疗机制等), 再次回归到基础研究与动物实验中来解决问题, 进而推进临床转化。总体来说, 以解决临床问题为导向推进临床转化, 并在临床转化过程中解决新的问题, 实现MSC的临床转化。

参考文献 (References)

- Friedenstein AJ, Deriglasova UF, Kulagina NN, Panasuk AF, Rudakowa 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.
- 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.
- Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. Mesenchymal stem cells: Revisiting history, concepts, and assays. *Cell Stem Cell* 2008; 2(4): 313-19.
- Xu C, Su P, Chen X, Meng Y, Yu W, Xiang AP, *et al.* Biocompatibility and osteogenesis of biomimetic bioglass-collagen-phosphatidylserine composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2011; 32(4): 1051-8.
- Caplan AI, Correa D. The MSC: an injury drugstore. *Cell Stem Cell* 2011; 9(1): 11-5.
- Caplan AI. Adult mesenchymal stem cells: when, where, and how. *Stem Cells Int* 2015; 2015: 628767.
- Devine SM, Cobbs C, Jennings M, Bartholomew A, Hoffman R. Mesenchymal stem cells distribute to a wide range of tissues following systemic infusion into nonhuman primates. *Blood* 2003; 101(8): 2999-3001.
- Gonzalez MA, Gonzalez-Rey E, Rico L, Buscher D, Delgado M. Adipose-derived mesenchymal stem cells alleviate experimental colitis by inhibiting inflammatory and autoimmune responses. *Gastroenterology* 2009; 136(3): 978-89.
- Sun L, Akiyama K, Zhang H, Yamaza T, Hou Y, Zhao S, *et al.* Mesenchymal stem cell transplantation reverses multiorgan dysfunction in systemic lupus erythematosus mice and humans. *Stem Cells* 2009; 27(6): 1421-32.
- Mougiakakos D, Jitschin R, Johansson CC, Okita R, Kiessling R, Le Blanc K. The impact of inflammatory licensing on heme oxygenase-1-mediated induction of regulatory T cells by human mesenchymal stem cells. *Blood* 2011; 117(18): 4826-35.
- Liu Q, Zheng H, Chen X, Peng Y, Huang W, Li X, *et al.* Human mesenchymal stromal cells enhance the immunomodulatory function of CD8⁺CD28⁻ regulatory T cells. *Cell Mol Immunol* 2015; 12(6): 708-18.
- Chen X, Liu Q, Xiang AP. CD8⁺CD28⁻ T cells: not only age-related cells but a subset of regulatory T cells. *Cell Mol Immunol* 2018; 15(8): 734-36.
- Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, Giunti D, Cappiello V, Cazzanti F, *et al.* Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood* 2006; 107(1): 367-72.
- Peng Y, Chen X, Liu Q, Zhang X, Huang K, Liu L, *et al.* Mesenchymal stromal cells infusions improve refractory chronic graft versus host disease through an increase of CD5⁺ regulatory B cells producing interleukin 10. *Leukemia* 2015; 29(3): 636-46.
- Franquesa M, Mensah FK, Huizinga R, Strini T, Boon L, Lombardo E, *et al.* Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells abrogate plasmablast formation and induce regulatory B cells independently of T helper cells. *Stem cells* 2015; 33(3): 880-91.
- Spaggiari GM, Capobianco A, Abdelrazik H, Becchetti F, Mingari MC, Moretta L. Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2,3-dioxygenase and prostaglandin E2. *Blood* 2008; 111(3): 1327-33.
- 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): 4120-26.
- Gebler A, Zabel O, Seliger B. The immunomodulatory capacity of mesenchymal stem cells. *Trends Mol Med* 2012; 18(2): 128-34.
- Feng Y, Liao Y, Huang W, Lai X, Luo J, Du C, *et al.* Mesenchy-

- mal stromal cells-derived matrix Gla protein contribute to the alleviation of experimental colitis. *Cell Death Dis* 2018; 9(6): 691.
- 20 Chen X, Liu Q, Huang W, Cai C, Xia W, Peng Y, *et al.* Stanniocalcin-2 contributes to mesenchymal stromal cells attenuating murine contact hypersensitivity mainly via reducing CD8⁺ Tc1 cells. *Cell Death Dis* 2018; 9(5): 548.
 - 21 Liao Y, Lei J, Liu M, Lin W, Hong D, Tuo Y, *et al.* Mesenchymal stromal cells mitigate experimental colitis via insulin-like growth factor binding protein 7-mediated immunosuppression. *Mol Ther* 2016; 24(10): 1860-72.
 - 22 Wang Y, Chen X, Cao W, Shi Y. Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: pathological and therapeutic implications. *Nat Immunol.* 2014; 15(11): 1009-16.
 - 23 Qin AP, Lai DH, Liu QF, Huang WJ, Wu YP, Chen XY, *et al.* Guanylate-binding protein 1 (GBP1) contributes to the immunity of human mesenchymal stromal cells against *Toxoplasma gondii*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017; 114(6): 1365-70.
 - 24 Yang K, Wang JL, Wu MH, Li MY, Wang Y, Huang X. Mesenchymal stem cells detect and defend against gammaherpesvirus infection via the cGAS-STING pathway. *Sci Rep* 2015; 5: 7820.
 - 25 Eseonu OI, De Bari C. Homing of mesenchymal stem cells: mechanistic or stochastic? Implications for targeted delivery in arthritis. *Rheumatology* 2015; 54(2): 210-8.
 - 26 Ringe J, Strassburg S, Neumann K, Endres M, Notter M, Burmester GR, *et al.* Towards *in situ* tissue repair: Human mesenchymal stem cells express chemokine receptors CXCR1, CXCR2 and CCR2. and migrate upon stimulation with CXCL8 but not CCL2. *J Cell Biochem* 2007; 101(1): 135-46.
 - 27 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.
 - 28 Ball LM, Bernardo ME, Roelofs H, Lankester A, Cometa A, Egeler RM, *et al.* Cotransplantation of ex vivo-expanded mesenchymal stem cells accelerates lymphocyte recovery and may reduce the risk of graft failure in haploidentical hematopoietic stem-cell transplantation. *Blood* 2007; 110(7): 2764-67.
 - 29 Liu XD, Wu MQ, Peng YW, Chen XY, Sun J, Huang F, *et al.* Improvement in poor graft function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation upon administration of mesenchymal stem cells from third-party donors: a pilot prospective study. *Cell Transplant* 2014; 23(9): 1087-98.
 - 30 Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, Gotherstrom C, Hassan M, Uzunel M, *et al.* Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet* 2004; 363(9419): 1439-41.
 - 31 LeBlanc K, Frasson 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 Martin PJ, Uberti JP, Soiffer RJ, Klingemann H, Waller EK, Daly A, *et al.* Prochymal (R) improves response rates in patients with steroid-refractory acute graft-versus-host disease involving the liver and gut: results of a randomized, placebo-controlled, multicentre phase III trial in GvHD. *Bone Marrow Transpl* 2010; 45: S17.
 - 33 Hashmi S, Ahmed M, Murad MH, Litzow MR, Adams RH, Ball LM, *et al.* Survival after mesenchymal stromal cell therapy in steroid-refractory acute graft-versus-host disease: systematic review and meta-analysis. *Lancet Haematol* 2016; 3(1): E45-52.
 - 34 Muller I, Kordowich S, Holzwarth C, Isensee G, Lang P, Neunhoeffer F, *et al.* Application of multipotent mesenchymal stromal cells in pediatric patients following allogeneic stem cell transplantation. *Blood Cell Mol Dis* 2008; 40(1): 25-32.
 - 35 Zhou H, Guo M, Bian CJ, Sun Z, Yang Z, Zeng Y, *et al.* Efficacy of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of sclerodermatous chronic graft-versus-host disease: clinical report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16(3): 403-12.
 - 36 Weng JY, Du X, Geng SX, Peng YW, Wang Z, Lu ZS, *et al.* Mesenchymal stem cell as salvage treatment for refractory chronic GVHD. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45(12): 1732-40.
 - 37 Weng JY, He C, Lai PL, Luo CW, Guo R, Wu SJ, *et al.* Mesenchymal stromal cells treatment attenuates dry eye in patients with chronic graft-versus-host disease. *Mol Ther* 2012; 20(12): 2347-54.
 - 38 Gao L, Zhang Y, Hu B, Liu J, Kong P, Lou S, *et al.* Phase II multicenter, randomized, double-blind controlled study of efficacy and safety of umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells in the prophylaxis of chronic graft-versus-host disease after HLA-haploidentical stem-cell transplantation. *J Clin Oncol* 2016; 34(24): 2843-50.
 - 39 Peng YW, Chen XY, Liu QF, Xu DJ, Zheng HQ, Liu LS, *et al.* Alteration of naive and memory B-cell subset in chronic graft-versus-host disease patients after treatment with mesenchymal stromal cells. *Stem Cell Transl Med* 2014; 3(9): 1023-31.
 - 40 段钟平. 慢加急性肝衰竭: 从病理生理到临床实践. 中华医学会第十三次全国感染病学术会议中国广东广州(Duan Zhong ping. Acute on chronic liver failure: from pathophysiology to clinical practice. The 13th National Congress of Chinese Society of Infectious Diseases. Guangzhou, Guangdong, China) 2014; 5: 85-9.
 - 41 汤善宏, 曾维政, 吴晓玲, 徐辉, 范泉水, 蒋明德. 东西方学者对慢加急性肝衰竭的认识差异及研究进展. 世界华人消化杂志(Tang Shanhong, Zeng Weizheng, Wu Xiaoling, Xu Hui, Fan Quanshui, Jiang Mingde. Differences in understanding of acute-on-chronic liver failure between eastern and western scholars. *WCJD*) 2014; 22(35): 5441-6.
 - 42 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.
 - 43 Shi M, Zhang Z, Xu RN, Lin H, Fu JL, Zou ZS, *et al.* Human mesenchymal stem cell transfusion is safe and improves liver function in acute-on-chronic liver failure patients. *Stem Cell Transl Med* 2012; 1(10): 725-31.
 - 44 Li YH, Xu Y, Wu HM, Yang J, Yang LH, Wan YM. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cell transplantation in hepatitis B virus related acute-on-chronic liver failure treated with plasma exchange and entecavir: a 24-month prospective study. *Stem Cell Rev Rep* 2016; 12(6): 645-53.
 - 45 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.
- 46 Wang YH, Wu DB, Chen B, Chen EQ, Tang H. Progress in mesenchymal stem cell-based therapy for acute liver failure. *Stem Cell Res Ther* 2018; 9: 227.
 - 47 Perico N, Casiraghi F, Introna M, Gotti E, Todeschini M, Cavinato RA, *et al.* Autologous mesenchymal stromal cells and kidney transplantation: a pilot study of safety and clinical feasibility. *Clin J Am Soc Nephro* 2011; 6(2): 412-22.
 - 48 Peng YW, Ke M, Xu L, Liu LS, Chen XY, Xia WJ, *et al.* Donor-derived mesenchymal stem cells combined with low-dose tacrolimus prevent acute rejection after renal transplantation: a clinical pilot study. *Transplantation* 2013; 95(1): 161-8.
 - 49 Tan JM, Wu WZ, Xu XM, Liao LM, Zheng F, Messinger S, *et al.* Induction therapy with autologous mesenchymal stem cells in living-related kidney transplants a randomized controlled trial. *JAMA* 2012; 307(11): 1169-77.
 - 50 Sun QP, Huang ZY, Han F, Zhao M, Cao RH, Zhao DQ, *et al.* Allogeneic mesenchymal stem cells as induction therapy are safe and feasible in renal allografts: pilot results of a multicenter randomized controlled trial. *J Transl Med* 2018; 16: 52.
 - 51 Hodson R. Inflammatory bowel disease. *Nature* 2016; 540(7634): S97.
 - 52 Molendijk I, Bonsing BA, Roelofs H, Peeters KCMJ, Wasser MNJM, Dijkstra G, *et al.* Allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stromal cells promote healing of refractory perianal fistulas in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2015; 149(4): 918-27.
 - 53 Panes J, Garcia-Olmo D, Van Assche G, Colombel JF, Reinisch W, Baumgart DC, *et al.* Expanded allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells (Cx601) for complex perianal fistulas in Crohn's disease: a phase 3 randomised, double-blind controlled trial. *Lancet* 2016; 388(10051): 1281-90.
 - 54 Duijvestein M, Vos ACW, Roelofs H, Wildenberg ME, Wendrich BB, Verspaget HW, *et al.* Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cell treatment for refractory luminal Crohn's disease: results of a phase I study. *Gut* 2010; 59(12): 1662-9.
 - 55 Forbes GM, Sturm MJ, Leong RW, Sparrow MP, Segarajasingam D, Cummins AG, *et al.* A phase 2 study of allogeneic mesenchymal stromal cells for luminal Crohn's disease refractory to biologic therapy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014; 12(1): 64-71.
 - 56 Salem GA, Selby GB. Stem cell transplant in inflammatory bowel disease: a promising modality of treatment for a complicated disease course. *Stem Cell Investig* 2017; 4: 95.
 - 57 Hu JX, Zhao G, Zhang LZ, Qiao CX, Di AP, Gao H, *et al.* Safety and therapeutic effect of mesenchymal stem cell infusion on moderate to severe ulcerative colitis. *Exp Ther Med* 2016; 12(5): 2983-9.
 - 58 Kaul A, Gordon C, Crow MK, Touma Z, Urowitz MB, van Vollenhoven R, *et al.* Systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Dis Primers* 2016; 2: 16039.
 - 59 Liang J, Zhang HY, Hua BZ, Wang H, Lu LW, Shi ST, *et al.* Allogenic mesenchymal stem cells transplantation in refractory systemic lupus erythematosus: a pilot clinical study. *Ann Rheum Dis* 2010; 69 (8): 1423-9.
 - 60 Wang D, Zhang H, Liang J, Li X, Feng X, Wang H, *et al.* Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in severe and refractory systemic lupus erythematosus: 4 years of experience. *Cell Transplant* 2013; 22(12): 2267-77.
 - 61 Wang DD, Li J, Zhang Y, Zhang MJ, Chen JY, Li X, *et al.* Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in active and refractory systemic lupus erythematosus: a multicenter clinical study. *Arthritis Res Ther* 2014; 16(2): 254-9.
 - 62 Deng DQ, Zhang PL, Guo Y, Lim TO. A randomised double-blind, placebo-controlled trial of allogeneic umbilical cord-derived mesenchymal stem cell for lupus nephritis. *Ann Rheum Dis* 2017; 76(8): 1436-9.
 - 63 Trounson A, McDonald C. Stem cell therapies in clinical trials: progress and challenges. *Cell Stem Cell* 2015; 17(1): 11-22.
 - 64 Le Blanc K, Gotherstrom C, Tammik C, Ringden O. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated adult and fetal mesenchymal stem cells. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31: S244-5.
 - 65 Ankrum JA, Ong JF, Karp JM. Mesenchymal stem cells: immune evasive, not immune privileged. *Nat Biotechnol* 2014; 32(3): 252-60.
 - 66 Kretlow JD, Jin YQ, Liu W, Zhang WJ, Hong TH, Zhou GD, *et al.* Donor age and cell passage affects differentiation potential of murine bone marrow-derived stem cells. *BMC Cell Biol* 2008; 9: 60.
 - 67 De Witte SF, Lambert EE, Merino A, Strini T, Douben HJCW, O'Flynn L, *et al.* Aging of bone marrow- and umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells during expansion. *Cytotherapy* 2017; 19(7): 798-807.
 - 68 Campisi J, di Fagagna FD. Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nat Rev Mol Cell Bio* 2007; 8(9): 729-40.
 - 69 Francois M, Copland IB, Yuan SL, Romieu-Mourez R, Waller EK, Galipeau J. Cryopreserved mesenchymal stromal cells display impaired immunosuppressive properties as a result of heat-shock response and impaired interferon-gamma licensing. *Cytotherapy* 2012; 14(2): 147-52.
 - 70 Moll G, Alm JJ, Davies LC, von Bahr L, Heldring N, Stenbeck-Funke L, *et al.* Do cryopreserved mesenchymal stromal cells display impaired immunomodulatory and therapeutic properties? *Stem Cells* 2014; 32(9): 2430-42.
 - 71 Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini FC, Krause DS, *et al.* Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The international society for cellular therapy position statement. *Cytotherapy* 2006; 8(4): 315-17.
 - 72 Galipeau J, Krampera M, Barrett J, Dazzi F, Deans RJ, Debruijn J, *et al.* International society for cellular therapy perspective on immune functional assays for mesenchymal stromal cells as potency release criterion for advanced phase clinical trials. *Cytotherapy* 2016; 18 (2): 151-9.
 - 73 Marklein RA, Lo Surdo JL, Bellayr IH, Godil SA, Puri RK, Bauer SR. High content imaging of early morphological signatures predicts long term mineralization capacity of human mesenchymal stem cells upon osteogenic induction. *Stem Cells* 2016; 34(4): 935-47.
 - 74 Boregowda SV, Krishnappa V, Haga CL, Ortiz LA, Phinney DG. A clinical indications prediction scale based on TWIST1 for human mesenchymal stem cells. *Ebiomedicine* 2016; 4: 62-73.
 - 75 Lei JX, Hui DY, Huang WJ, Liao Y, Yang L, Liu LS, *et al.* Heterogeneity of the biological properties and gene expression profiles of murine bone marrow stromal cells. *Int J Biochem Cell*

- 2013; 45(11): 2431-43.
- 76 Du WJ, Chi Y, Yang ZX, Li ZJ, Cui JJ, Song BQ, *et al.* Heterogeneity of proangiogenic features in mesenchymal stem cells derived from bone marrow, adipose tissue, umbilical cord, and placenta. *Stem Cell Res Ther* 2016; 7(1): 163.
- 77 Heo JS, Choi Y, Kim HS, Kim HO. Comparison of molecular profiles of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, umbilical cord blood, placenta and adipose tissue. *Int J Mol Med* 2016; 37(1): 115-25.
- 78 Jiang MH, Li GL, Liu JF, Liu LS, Wu BY, Huang WJ, *et al.* Nestin⁺ kidney resident mesenchymal stem cells for the treatment of acute kidney ischemia injury. *Biomaterials* 2015; 50: 56-66.
- 79 Jiang MH, Cai B, Tuo Y, Wang JC, Zang ZJ, Tu XA, *et al.* Characterization of Nestin-positive stem Leydig cells as a potential source for the treatment of testicular Leydig cell dysfunction. *Cell Res* 2014; 24(12): 1466-85.
- 80 Zhou BO, Yu H, Yue R, Zhao ZY, Rios JJ, Naveiras O, *et al.* Bone marrow adipocytes promote the regeneration of stem cells and haematopoiesis by secreting SCF. *Nat Cell Biol* 2017; 19(8): 891-903.
- 81 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.
- 82 Schneider RK, Mullally A, Dugourd A, Peisker F, Hoogenboezem R, Van Strien PMH, *et al.* Gli1⁺ mesenchymal stromal cells are a key driver of bone marrow fibrosis and an important cellular therapeutic target. *Cell Stem Cell* 2017; 20(6): 785-800.
- 83 Kramann R, Schneider RK, DiRocco DP, Machado F, Fleig S, Bondzie PA, *et al.* Perivascular Gli1⁺ progenitors are key contributors to injury-induced organ fibrosis. *Cell Stem Cell* 2015; 16(1): 51-66.
- 84 Rombouts WJC, Ploemacher RE. Primary murine MSC show highly efficient homing to the bone marrow but lose homing ability following culture. *Leukemia* 2003; 17(1): 160-70.
- 85 Honczarenko M, Le Y, Swierkowski M, Ghiran I, Glodek AM, Silberstein LE. Human bone marrow stromal cells express a distinct set of biologically functional chemokine receptors. *Stem Cells* 2006; 24(4): 1030-41.
- 86 Huang J, Zhang ZP, Guo JA, Ni AG, Deb A, Zhang LN, *et al.* Genetic modification of mesenchymal stem cells overexpressing CCR1 increases cell viability, migration, engraftment, and capillary density in the injured myocardium. *Circ Res* 2010; 106(11): 1753-62.
- 87 Li H, Jiang YM, Jiang XX, Guo XM, Ning HM, Li YH, *et al.* CCR7 guides migration of mesenchymal stem cell to secondary lymphoid organs: a novel approach to separate GvHD from GvL effect. *Stem Cells* 2014; 32(7): 1890-903.
- 88 Zhang XR, Huang WJ, Chen XY, Lian YF, Wang JC, Cai C, *et al.* CXCR5-overexpressing mesenchymal stromal cells exhibit enhanced homing and can decrease contact hypersensitivity. *Mol Ther* 2017; 25(6): 1434-47.
- 89 Le Blanc K, Tammik L, Sundberg B, Haynesworth SE, Ringden O. Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex. *Scand J Immunol* 2003; 57(1): 11-20.
- 90 Chan JL, Tang KC, Patel AP, Bonilla LM, Pierobon N, Ponzio NM, *et al.* Antigen-presenting property of mesenchymal stem cells occurs during a narrow window at low levels of interferon-gamma. *Blood* 2006; 107(12): 4817-24.
- 91 Ryan JM, Barry F, Murphy JM, Mahon BP. Interferon-gamma does not break, but promotes the immunosuppressive capacity of adult human mesenchymal stem cells. *Clin Exp Immunol* 2007; 149(2): 353-63.