

间充质干细胞治疗2型糖尿病的机制及研究进展

段静 肖星华 熊丽霞*

(南昌大学基础医学院, 病理生理学教研室, 南昌 330006)

摘要 2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)的主要特征是胰岛 β 细胞功能障碍和不同程度的胰岛素抵抗, 导致无法维持血糖稳态。近年来, 基于细胞的替代疗法展示了在糖尿病(diabetes mellitus, DM)治疗上的优势。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)具有多向分化潜能, 低免疫原性、免疫调节作用、抗炎作用和抗凋亡作用等特性, 被认为是治疗DM的理想候选细胞类型。MSCs对血糖控制的相关研究已经显示出具有显著的治疗效果, 有些已运用到临床试验中, 但是仍然存在许多潜在的问题。在MSCs移植成为T2DM的常规治疗方法之前, 需要进行大量研究, 优化治疗方案, 确保最佳的治疗效果。该文将从MSCs治疗T2DM的分子机制、目前在临床试验中遇到的问题和MSCs疗法的新策略等方面进行综述, 为T2DM的治疗提供新的思路和见解。

关键词 间充质干细胞; 2型糖尿病; 胰岛素分泌样细胞; 胰岛素抵抗

Mechanism and Progress of Mesenchymal Stem Cell in the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus

Duan Jing, Xiao Xinghua, Xiong Lixia*

(Department of Pathophysiology, Basic Medical College, Nanchang University, Nanchang 330006, China)

Abstract Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is characterized by pancreatic β -cell dysfunction and varying degrees of insulin resistance, resulting in failure to maintain glucose homeostasis. In recent years, cell-replacement therapies have shown a considerable therapeutic benefit in diabetes mellitus (DM). Mesenchymal stem cells (MSCs) have various properties of multiple differentiation potential, unique low immunogenicity, immunomodulatory, anti-inflammatory, anti-apoptotic effects and so on. They are considered as ideal candidate cell types for treatment of DM. Research related to MSCs have shown exciting therapeutic effects on glycemic control both *in vitro* and *in vivo* and some of them had applied in clinical practice, but there are still have many potential problems. Before MSCs transplantation becomes a conventional therapy for T2DM, a great deal of research need to be done to optimize the therapeutic regimen and ensure the best therapeutic effect. This article will briefly review the molecular mechanisms of MSCs treat type 2 diabetes, the current problems encountered in clinical trials, and new strategies for MSCs therapy, providing new ideals and insights for the treatment of type 2 diabetes.

Keywords mesenchymal stem cells; type 2 diabetes mellitus; insulin-producing cells; insulin resistance

近几十年来, 糖尿病(diabetes mellitus, DM)已成为全球主要的公共卫生保健问题之一^[1]。据报道,

2017年全球约4.25亿成人患糖尿病, 预计到2045年, 糖尿病患者人数可能会达到6.29亿^[2]。糖尿病在成

收稿日期: 2018-09-21 接受日期: 2018-11-13

国家自然科学基金(批准号: 31660287)和江西省研究生创新专项资金项目(批准号: YC2017-S080)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13879127489, E-mail: xionglxia@ncu.edu.cn

Received: September 21, 2018 Accepted: December 21, 2018

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31660287) and the Postgraduates Innovation Special Fund Project of Jiangxi Province (Grant No.YC2017-S080)

*Corresponding author. Tel: +86-13879127489, E-mail: xionglxia@ncu.edu.cn

网络出版时间: 2019-04-02 13:28:29

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190402.1328.010.html>

人患者中具有高发病率和死亡率高死亡的特点,同时也是心血管等疾病的主要危险因素^[3]。此外,它还会诱发视网膜病变、神经病变和终末期肾脏病等不同器官的并发症,对人们的生命健康造成了严重的危害。

糖尿病分为三型: 1型糖尿病(type 1 diabetes mellitus, T1DM), 2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)和妊娠期糖尿病^[4]。其中, T2DM是一种由外周组织胰岛素抵抗和胰岛素分泌型胰岛β细胞功能障碍而引起的与年龄相关的代谢疾病, 占有糖尿病病例的90%~95%^[5]。T2DM的治疗通常包括口服和注射抗糖尿病药物, 可以减轻高血糖症或暂时改善目标组织中的胰岛素敏感性, 但它们既不能逆转胰岛素抵抗, 也不能逆转进展性和必然性的β细胞功能障碍。通过同种异体胰岛移植来代替分泌胰岛素的胰岛β细胞是一种可选择的策略, 然而这种治疗方法受到供体可用局限性, 自身免疫排斥风险和因定期使用免疫抑制剂药物引起的毒性等因素的阻碍^[6]。

T2DM的理想治疗方法是改善外周胰岛素抵抗同时促进胰岛β细胞再生。补偿和恢复分泌胰岛素的胰岛β细胞的功能是最有前景的方法。这种方法能控制血糖水平, 并从成体细胞再生出具有分泌胰岛素功能的胰岛β细胞^[7]。然而, 由于胰腺干细胞的表型特征有限, 这种治疗方法并没有得到很好的发展。胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)和诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)的应用也受到伦理问题和致瘤性风险的限制。近年来, 来自不同成人组织的间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)在治疗糖尿病方面引起了很高的关注。MSCs具有低免疫原性, 免疫调节和抗凋亡作用。MSCs能通过提供由旁分泌因子分泌或细胞外基质沉积驱动的支持性微环境, 促进胰岛β细胞的再生, 保护内源性胰岛β细胞免于凋亡, 并改善外周组织的胰岛素抵抗^[8]。本综述简要总结了MSCs治疗T2DM的分子机制、目前在临床试验中遇到的问题和MSCs疗法的新策略, 为T2DM的治疗提供新的思路和见解。

1 MSCs的鉴定和组织来源

成人骨髓MSCs(bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSCs)于1968年由Friedenstein等^[9]发现, 是一组能够分泌参与造血和其他过程的生长因

子和细胞因子的成纤维细胞样细胞。MSCs是基质来源的非造血祖细胞, 源自成体和新生儿的各种组织, 如骨髓(bone marrow, BM)、脐带(umbilical cord, UC)、脐带血液(umbilical cord blood, UCB)、胎盘、牙髓和皮肤等, 并能扩增^[10-11]。研究证实, MSCs具有分化成不同的间充质细胞谱系的潜力, 包括脂肪、成骨和软骨形成谱系。值得注意的是, 各种来源的MSCs的生物学特性均有所不同^[12-15]。2006年, 国际细胞治疗协会建立了最低限度的人MSCs鉴定标准: (1)在标准条件下培养的成纤维细胞样贴壁于塑料的细胞; (2)在体外具有分化成成骨细胞、脂肪细胞和成软骨细胞的能力; (3)体外表达特异性表面标志物如CD105、CD73和CD90, 不表达CD45、CD34、CD14或CD11b、CD79a或CD19和人类白细胞DR抗原(human leukocyte antigen DR, HLA-DR)等阴性标志物^[16]。

基于上述的标志物, 已经开发了许多使用抗体选择来分离MSCs的技术。比如使用阴性选择的方式来富集MSCs细胞群(从造血细胞谱系中分离细胞), 或者用阳性选择特异性抗体的方法来分离MSCs。MSCs的表面标志物表达也可能受到分离方法的影响。而MSCs的来源或培养的阶段不同, 其标记物表达具有可变性^[17]。这都表明间充质前体细胞在表型上非常不均一。这与移植后细胞对宿主组织的存活和归巢能力以及这些细胞在体内的分化潜能息息相关。然而, 科学界缺乏一套可靠和明确的标准来确定MSCs的体内性质和来源, 因此需要确定一个更严格和权威性的标志物来鉴定体内的MSCs。

根据不同来源获得的MSCs的集落形成的频率、扩增特性、多向分化能力、免疫表型以及旁分泌功能, 可确定其在临床上的不同应用^[6]。MSCs具有多能性, 自我更新能力和调节免疫应答的能力, 因此, 被认为是治疗许多疾病和受损组织再生的潜在治疗剂^[18]。例如, 将MSCs诱导分化成胰岛素分泌细胞(insulin-producing cells, IPCs), 促进胰腺再生和减轻胰岛素抵抗, 为糖尿病治疗中胰岛细胞移植提供替代方案。

2 MSCs体外定向转分化为IPCs

现在一般认为, 使用MSCs改善T2DM高血糖的主要机制是它具有分化为IPCs的潜能。胰腺内分泌细胞的分化受关键转录因子, 如胰十二指肠同源

盒-1(pancreatic and duodenal homeobox factor-1, Pdx-1)、神经元素-3(neurogenin-3, Ngn-3)、神经元分化因子1(neurogenic differentiation 1, NeuroD1)、配对盒同源基因4(paired box 4, Pax4)和配对盒同源基因6(paired box 6, Pax6)的控制^[19], 正确重编程细胞以激活这些基因的转录对于诱导MSCs向IPCs分化是必需的。Assady等^[20]报道, ESCs能自发分化产生IPCs。这是第一个原理验证实验, 证实了ESCs是产生胰岛β样细胞的潜在来源, 尽管这些细胞中的IPCs的数量和胰岛素含量比较低。

MSCs比ESCs具有优势, 因为它们通常不形成畸胎瘤并且不存在ESCs的伦理问题。而且MSCs易于获得, 容易在实验室中进行扩增和培养。目前研究认为, 通过MSCs获得IPCs主要是通过基因疗法或基于因子的转分化两种途径。一般采取后者, 即使使用富含外源胰岛素促进因子和细胞因子的特定培养基诱导MSCs分化成IPCs。Wu等^[21]最先通过使用含有高浓度葡萄糖、烟酰胺和β-巯基乙醇的无血清培养基体外培养大鼠BM-MSCs, 获得了表达胰岛素和巢蛋白的不完全分化的IPCs。此后, 研究者不断对诱导方案进行改良以提高分化能力和功效, 如使用不同来源的MSCs和刺激剂^[22]。Moriscot等^[23]首先使用编码小鼠Pdx-1的腺病毒载体和三步分化方案(最后一步加入激活素A), 将人BM-MSCs诱导分化为IPCs, 所得到的细胞具有以葡萄糖依赖的方式释放胰岛素的能力。在Karaoz等^[24]的研究中, 证实了在与胰岛细胞共培养38天后, 脂肪来源的MSCs分化为IPCs。Prabakar等^[25]通过逐步培养方案使分化的hUCB-MSCs向葡萄糖响应性IPCs分化。分化的细胞表达胰腺特异性转录因子如Pdx1、Nk6转录因子相关1(NK6 transcription factor related, locus 1, Nkx6.1)、胰岛因子1(islet1, Isl1)、Ngn3和NeuroD1; 并且在体外和体内响应葡萄糖释放胰岛素和C-肽。同样源自脐带的WJ-MSCs(Wharton's jelly derived mesenchymal stem cells)在体内外均具有分化成IPCs的能力, 并且更容易获取和培养。相比于BM-MSCs, hUCB-MSCs和WJ-MSCs与ESCs更为相似^[26], 并且WJ-MSCs分化成的IPCs的β细胞表型更加成熟, 胰岛素分泌和C-肽的表达水平也更高, 在提高治疗效果的同时可降低糖尿病并发症的发病率^[27]。因此, 这些MSCs被认为是糖尿病治疗更具潜力的候选细胞类型。

研究人员经过大量的实验研究, 已经提出了基于不同来源的MSCs分化为IPCs的多步骤方案。并且葡萄糖耐量试验揭示了分化后的IPCs是通过葡萄糖调控的生理信号传导途径生成胰岛素。

3 MSCs促进胰岛β细胞再生

除了分化成IPCs外, MSCs还可以迁移到受损胰岛细胞, 分泌具有旁分泌和自分泌活性的多种细胞因子和生长因子参与胰岛细胞的修复, 从而促进胰岛β细胞的再生^[28]。体外实验表明, MSCs能针对性地分化为胰岛β样细胞。这些细胞具有典型的β细胞形态学特征, 并表达与内分泌胰腺发育和功能有关的转录因子和其他基因, 如Pdx1、Pax4、Ngn3和葡萄糖转运蛋白2(glucose transporter 2, Glut2)^[29]。而对糖尿病小鼠单次或多次注射MSCs后可观察到显著的内源性β细胞再生和胰岛结构恢复^[28,30]。这种作用可能是由MSCs的分泌作用介导的, 因为培养的条件培养基具有相同的调节糖尿病小鼠血糖的能力^[31]。许多研究也证实, MSCs可分泌表皮细胞生长因子(epidermal growth factor, EGF)和肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)等对于β细胞的增殖和凋亡至关重要的细胞因子^[32]。并且, 转录因子Pax4和Pdx1能有效促进MSCs分化成能够产生胰岛素和响应高浓度葡萄糖刺激的功能性β样细胞^[33]。将人脂肪MSCs分化成IPCs, 并将其移植入小鼠T2DM模型中, 会使胰岛素水平升高, 随后改善代谢参数并降低血糖^[34]。此外, Gabr等^[35]从成人T2DM志愿者和非糖尿病捐献者获得骨髓细胞进行三阶段分化程序且进行遗传操作, 证实了IPCs的形成, 且移植到裸小鼠后可控制糖尿病的症状, 这表明了分化形成的IPCs在体内的成熟。

MSCs还能促进胰岛α细胞向β细胞的转分化。在链脲佐菌素(streptozocin, STZ)诱导的T2DM小鼠中, 同种异体BM-MSCs的静脉注射会生成大量胰岛素/胰高血糖素双重激素阳性细胞, 然后恢复β细胞团并显著改善高血糖症^[36]。α细胞向β细胞的转分化为MSCs治疗DM提供了一个革命性的范例, 再次证实MSCs具有促进胰岛β细胞再生的能力。

4 MSCs的免疫学特性

MSCs具有低免疫原性和免疫调节的性质, 能保护胰岛β细胞, 减少因自身免疫导致的损伤。许

多研究表明, MSCs在体外和体内对几种免疫细胞[不仅是T淋巴细胞, 而且对B淋巴细胞、树突状细胞(dendritic cells, DC)和自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)]都具有免疫调节或免疫抑制作用。体外研究已经确定, MSCs通过细胞—细胞接触和可溶性因子来发挥免疫调节功能^[37]。MSCs通过分泌白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)、转化生长因子- β (transforming growth factor-beta, TGF- β)和人类白细胞抗原-G(human leukocyte antigen-G, HLA-G)等可溶性抗炎性因子, 抑制促炎性细胞因子分泌, 从而抑制免疫细胞增殖, 并将免疫细胞类型变为调节性克隆^[38]。此外, MSCs通过抑制T细胞群的能量代谢, 促进T细胞耐受, 或通过诱导调节性T细胞群的增殖来抑制T淋巴细胞的增殖^[39]。虽然这种作用的确切机制尚未完全阐明, 但这些特性使得MSCs有希望成为自身免疫性疾病如T2DM的新替代疗法。

研究认为, 胰岛素抵抗与全身性慢性低度炎症有关。炎症细胞因子的分泌可能会诱导免疫抗原在IPCs表面的表达, 引起免疫排斥反应。临床试验结果表明, MSCs能减少T2DM患者的全身炎症。在用高脂饮食/STZ给药诱导的T2DM大鼠中注射MSCs, 也发现大鼠靶组织的胰岛素抵抗减轻^[40-41]。炎症小体与胰岛素抵抗的发展和T2DM的严重程度相关。近来的研究表明, 点状受体蛋白3(nod-like receptor protein 3, NLRP3)炎症小体在因肥胖和T2DM而诱导的全身炎症和胰岛素抵抗的机制中起关键的调节作用; MSCs可能以旁分泌的方式抑制NLRP3炎症小体激活从而改善胰岛素抵抗和葡萄糖不耐受^[42]。以上研究进一步为临床应用MSCs治疗胰岛素抵抗和T2DM提供了理论基础。

5 MSCs应用于T2DM临床治疗

基于MSCs潜在的免疫应答和组织再生的生物学机制, 众多研究小组对其在临床上的作用进行了一系列探索。

在T2DM的治疗中, 对10例患者移植胎盘源性MSCs后发现患者的肾脏和心脏功能得到了改善, 胰岛素的日均剂量也有所减少^[43]。此外, 对WJ-MSCs的研究也证实了代谢控制和 β 细胞功能的改善^[40]。另一项研究将UCB-MSCs细胞通过微导管注入3例不同糖尿病史的T2DM患者的背侧胰动脉后, 患者的C-肽水平平均升高, 对胰岛素的要求都有所降低^[44]。

为了探究给药途径是如何影响临床疗效的, Sood等^[45]将自体骨骼MSCs分别通过胰十二指肠动脉、脾动脉和外周静脉等途径注入21名患者体内。用PET示踪剂F18-FDG标记细胞以查看它们的归巢和体内分布。结果表明, 静脉注射组没有可辨别的归巢, 临床结果也无显著改变或改善。说明此方法在T2DM患者中无效。胰十二指肠动脉组归巢效果最为明显, 目标患者的胰岛素剂量需求显著减少。这证明, 将干细胞递送到胰腺是实现治疗功效的重要先决条件。

另一方面, 在临床研究中, 干细胞治疗使用的注射剂量与治疗效果之间存在直接关系。临床研究中表明, 注射高剂量(200~400 mL)的自体骨骼MSCs, 治疗效果更佳^[46-47], 但这些研究中没有提及细胞数量。最近的研究也证实了同种异体BM-MSC治疗T2DM的剂量反应关系, 在使用 $0.3 \times 10^6 \sim 2.0 \times 10^6$ 个/Kg的MSCs进行治疗后, 表明注射较高剂量的干细胞治疗效果更佳^[48]。与安慰剂相比, 在所有时间点, MSCs的剂量越高, HbA1c水平的降低越大。然而, 这项研究只有3个月的随访, 并且治疗剂量的选择需要从多方面进行考虑, 如MSCs的类型、细胞传递的途径、MSCs的生存能力和纯度以及患者的病情等。研究者仍需要进一步探索, 以确定在设计良好、剂量递增的临床试验中最安全、有效的最适细胞剂量。

此外, 给药的间隔和频率也需要进一步优化。考虑到单次给予MSCs可能不足以维持长期的治疗效果, 对多次注射MSCs进行了许多临床研究, 一般为注射2~4次, 间隔2~12周^[49-50]。结果显示, 多次注射后, 患者的胰岛素剂量需求进一步降低, 可能产生更持久的治疗效果。因此, 需要对MSCs注射的最佳时间、频率和间隔进行深入的研究, 以寻求最佳的治疗方案。

这些研究表明, MSCs能有效治疗T2DM, 但是在临床应用上仍存在很多问题需要进一步探究。重点在于找到最佳的细胞传递途径和技术, 寻找获得理想治疗效果所需细胞的最佳类型和数量, 并找出归巢特征与治疗效果之间的关系。

6 MSCs治疗的创新策略

由于MSCs在临床试验中的治疗效果有限, 目前研究人员试图构建高效率的MSCs以提高治疗效果^[51]。MSCs治疗的主要潜在缺陷是它们的“肇事逃

逸”机制,而不是通过持续植入受损组织来发挥作用。因此,研究者通过病毒和非病毒的基因修饰、表面受体的生物工程以及用生物制剂引发等技术手段,延长其体内持续性和维持免疫调节因子释放,开发具有最大益处和最小风险的高效MSCs^[52]。

鉴于MSCs可通过旁分泌信号发挥作用^[53-55],一些研究者正在探索用分泌蛋白酶替代细胞用于治疗应用的可能性^[56]。MSCs衍生的外泌体已被证明诱导有益的体外效应,主要由外泌体包裹的miRNA介导,并能在多种疾病/损伤模型中恢复组织功能^[57-58]。此外, MSCs的来源和培养条件也已证明影响外泌体诱导的再生反应。并且,这些纳米囊泡的静脉内给药尚无产生不良反应的报道^[59-60]。这些研究揭示, MSCs衍生的外泌体在无细胞疗法中具有巨大潜力,此疗法比细胞疗法更安全且更容易操作,可以规避目前干细胞移植中存在的移植细胞存活率低和安全性差等问题。尽管如此,这仍然是一个尚待发展的研究领域,需要进行大量的研究和临床试验,不断优化以充分利用MSCs衍生的外泌体的再生潜能。

7 MSCs治疗的挑战和前景

大量的研究显示, MSCs在治疗T2DM上具有极大的潜力。但是,还有许多障碍需要克服。首先,我们需要建立MSCs的标准化生产流程,包括MSCs的来源、培养基、传代等。如何建立高效率的MSCs扩增体系满足临床需要,同时保持高扩增和转分化的潜能这些都需要进一步研究。其次, MSCs的给药途径、剂量、给药间隔和频率需要不断优化,以得到最佳的治疗方案。另外, MSCs在T2DM临床治疗上仍存在潜在的风险,包括急性过敏和呼吸道感染等不良事件,需要得到有效的解决。综上所述, MSCs治疗T2DM的未来成功将取决于治疗策略的合理优化以及对治疗机制的充分理解,同时不断发掘新的MSCs疗法,比如将MSCs衍生的外泌体应用到T2DM的治疗上。

参考文献 (References)

- Bommer C, Sagalova V, Heesemann E, Manne-Goehler J, Atun R, Bärnighausen T, *et al.* Global economic burden of diabetes in adults: projections from 2015 to 2030. *Diabetes Care* 2018; 41(5): dc171962.
- Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, da Rocha Fernandes JD, Ohlrogge AW, *et al.* IDF diabetes atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract* 2018; 138: 271-81.
- Tun NN, Arunagirinathan G, Munshi SK, Pappachan JM. Diabetes mellitus and stroke: A clinical update. *World J Diabetes* 2017; 8(6): 235-48.
- Willis K, Alexander C, Sheiner E. Bariatric surgery and the pregnancy complicated by gestational diabetes. *Curr Diabetes Rep* 2016; 16(4): 21.
- Choi SB, Lee JH, Lee JH, Kim S, Han SD, Kim IH, *et al.* Improvement of β -cell function after achievement of optimal glycaemic control via long-term continuous subcutaneous insulin infusion therapy in non-newly diagnosed type 2 diabetic patients with suboptimal glycaemic control. *Diabetes Metab Res Rev* 2013; 29(6): 473-82.
- Mohammed KH, Ahmed AD, Han J, Subbroto KS, Yang GM, Yeon CH, *et al.* Recent advances in disease modeling and drug discovery for diabetes mellitus using induced pluripotent stem cells. *Int J Mol Sci* 2016; 17(2): 256.
- Vetere A, Choudhary A, Burns SM, Wagner BK. Targeting the pancreatic β -cell to treat diabetes. *Nat Rev Drug Discov* 2014; 13(4): 278-89.
- Labusca L, Herea DD, Mashayekhi K. Stem cells as delivery vehicles for regenerative medicine-challenges and perspectives. *World J Stem Cells* 2018; 10(5): 43-56.
- Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell Proliferat* 2010; 3(4): 393-403.
- Jeon Y, Kim J, Cho JH, Chung H, Chae J. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, placenta, and adipose tissue as sources of cell therapy. *J Cell Biochem* 2016; 117(5): 1112-25.
- Hoogduijn MJ, Betjes MG, Baan CC. Mesenchymal stromal cells for organ transplantation: different sources and unique characteristics? *Curr Opin Organ Transplant* 2014; 19(1): 41-6.
- Elahi KC, Klein G, Avci-Adali M, Sievert KD, Macneil S, Aicher WK. Human mesenchymal stromal cells from different sources diverge in their expression of cell surface proteins and display distinct differentiation patterns. *Stem Cells Int* 2016; 2016: 5646384.
- Ahlm K, Yonggook K, Myungshin K, Jiyeon K, Hayoung C, Wook JD, *et al.* Tissue-specific differentiation potency of mesenchymal stromal cells from perinatal tissues. *Sci Rep* 2016; 6: 23544.
- Davies JE, Walker JT, Keating A. Concise review: Wharton's jelly: the rich, but enigmatic, source of mesenchymal stromal cells. *Stem Cell Transl Med* 2017; 6(7): 1620-30.
- Chen JY, Mou XZ, Du XC, Xiang C. Comparative analysis of biological characteristics of adult mesenchymal stem cells with different tissue origins. *Asian Pac J Trop Med* 2015; 8(9): 725-31.
- Dominici M, Le BK, Mueller I, Slapercoortenbach 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.
- Mafi P, Hindocha S, Mafi R, Griffin M, Khan WS. Adult mesenchymal stem cells and cell surface characterization: a systematic review of the literature. *Open Orthop J* 2011; 5(Suppl 2): 253-60.
- Volarevic V, Gazdic M, Simovic Markovic B, Jovicic N, Djonov

- V, Arsenijevic N. Mesenchymal stem cell-derived factors: Immuno-modulatory effects and therapeutic potential. *Biofactors* 2017; 43(5): 633-44.
- 19 Malenczyk K, Szodorai E, Schnell R, Lubec G, Szabó G, Hökfelt T, *et al.* Secretagogin protects Pdx1 from proteasomal degradation to control a transcriptional program required for β cell specification. *Mol Metab* 2018; 14: 108-20.
- 20 Assady S, Maor G, Amit M, ItskovitzEldor J, Skorecki KL, Tzukerman M. Insulin production by human embryonic stem cells. *Diabetes* 2001; 50(8): 1691-7.
- 21 Wu XH, Liu CP, Xu KF, Mao XD, Zhu J, Jiang JJ, *et al.* Reversal of hyperglycemia in diabetic rats by portal vein transplantation of islet-like cells generated from bone marrow mesenchymal stem cells. *World J Gastroentero* 2007; 13(24): 3342.
- 22 Paz AH, Salton GD, Ayalaalugo A, Gomes C, Terraciano P, Scalco R, *et al.* Betacellulin overexpression in mesenchymal stem cells induces insulin secretion *in vitro* and ameliorates streptozotocin-induced hyperglycemia in rats. *Stem Cells Dev* 2011; 20(2): 223-23.
- 23 Moriscot C, de Fraipont F, Richard MJ, Marchand M, Savatier P, Bosco D, *et al.* Human bone marrow mesenchymal stem cells can express insulin and key transcription factors of the endocrine pancreas developmental pathway upon genetic and/or microenvironmental manipulation *in vitro*. *Stem Cells* 2005; 23(4): 594-603.
- 24 Karaoz E, Okcu A, Ünal ZS, Subasi C, Saglam O, Duruksu G. Adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells efficiently differentiate into insulin-producing cells in pancreatic islet microenvironment both *in vitro* and *in vivo*. *Cytotherapy* 2013; 15(5): 557-70.
- 25 Prabakar KR, Domínguezbandala J, Molano RD, Pileggi A, Villate S, Ricordi C, *et al.* Generation of glucose-responsive, insulin-producing cells from human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells. *Cell Transplant* 2012; 21(6): 1321.
- 26 El-Badri N, Ghoneim MA. Mesenchymal stem cell therapy in diabetes mellitus: progress and challenges. *J Nucleic Acids* 2013; 2013(6): 194858.
- 27 Nagaishi K, Mizue Y, Chikenji T, Otani M, Nakano M, Saijo Y, *et al.* Umbilical cord extracts improve diabetic abnormalities in bone marrow-derived mesenchymal stem cells and increase their therapeutic effects on diabetic nephropathy. *Sci Rep* 2017; 7(1): 8484.
- 28 Hao H, Liu J, Shen J, Zhao Y, Liu H, Hou Q, *et al.* Multiple intravenous infusions of bone marrow mesenchymal stem cells reverse hyperglycemia in experimental type 2 diabetes rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 436(3): 418-23.
- 29 Moshtagh PR, Emami SH, Sharifi AM. Differentiation of human adipose-derived mesenchymal stem cell into insulin-producing cells: an *in vitro* study. *J Physiol Biochem* 2013; 69(3): 451-8.
- 30 Si Y, Zhao Y, Hao H, Liu J, Guo Y, Mu Y, *et al.* Infusion of mesenchymal stem cells ameliorates hyperglycemia in type 2 diabetic rats: identification of a novel role in improving insulin sensitivity. *Diabetes* 2012; 61(6): 1616-25.
- 31 Gao X, Song L, Shen K, Wang H, Qian M, Niu W, *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cells promote the repair of islets from diabetic mice through paracrine actions. *Mol Cell Endocrinol* 2014; 388(1/2): 41-50.
- 32 He L, Wang X, Kang N, Xu J, Dai N, Xu X, *et al.* MiR-375 inhibits the hepatocyte growth factor-elicited migration of mesenchymal stem cells by downregulating Akt signaling. *Cell Tissue Res* 2018; 372(1): 99-114.
- 33 Xu L, Xu C, Zhou S, Liu X, Jian W, Liu X, *et al.* PAX4 promotes PDX1-induced differentiation of mesenchymal stem cells into insulin-secreting cells. *Am J Transl Res* 2017; 9(3): 874-86.
- 34 Nam JS, Kang HM, Kim J, Park S, Kim H, Ahn CW, *et al.* Transplantation of insulin-secreting cells differentiated from human adipose tissue-derived stem cells into type 2 diabetes mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 443(2): 775-81.
- 35 Gabr MM, Zakaria MM, Refaie AF, Khater SM, Ashamallah SA, Ismail AM, *et al.* Generation of insulin-producing cells from human bone marrow-derived mesenchymal stem cells: comparison of three differentiation protocols. *Biomed Res Int* 2014; 2014(3): 832736.
- 36 Zang L, Hao H, Liu J, Li Y, Han W, Mu Y. Mesenchymal stem cell therapy in type 2 diabetes mellitus. *Diabetol Metab Syndr* 2017; 9(1): 36.
- 37 Lu X, Liu T, Gu L, Huang C, Zhu H, Meng W, *et al.* Immuno-modulatory effects of mesenchymal stem cells involved in favoring type 2 T cell subsets. *Transpl Immunol* 2009; 22(1/2): 55-61.
- 38 Rahavi H, Hashemi SM, Soleimani M, Mohammadi J, Tajik N. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells exert *in vitro* immunomodulatory and beta cell protective functions in streptozotocin-induced diabetic mice model. *J Diabetes Res* 2015; 2015(9): 878535.
- 39 Hematti P, Kim J, Stein AP, Kaufman D. Potential role of mesenchymal stromal cells in pancreatic islet transplantation. *Transplant Rev-Orlan* 2013; 27(1): 21-9.
- 40 Liu X, Zheng P, Wang X, Dai G, Cheng H, Zhang Z, *et al.* A preliminary evaluation of efficacy and safety of Wharton's jelly mesenchymal stem cell transplantation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Stem Cell Res Ther* 2014; 5(2): 57.
- 41 Si Y, Zhao Y, Hao H, Liu J, Guo Y, Mu Y, *et al.* Infusion of mesenchymal stem cells ameliorates hyperglycemia in type 2 diabetic rats: identification of a novel role in improving insulin sensitivity. *Diabetes* 2012; 61(6): 1616.
- 42 Sun X, Hao H, Han Q, Song X, Liu J, Liang D, *et al.* Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells ameliorate insulin resistance by suppressing NLRP3 inflammasome-mediated inflammation in type 2 diabetes rats. *Stem cell Res Ther* 2017; 8(1): 241.
- 43 Jiang R, Han Z, Zhuo G, Qu X, Li X, Wang X, *et al.* Transplantation of placenta-derived mesenchymal stem cells in type 2 diabetes: a pilot study. *Front Med-Prc* 2011; 5(1): 94-100.
- 44 Tong Q, Duan L, Xu Z, Wang H, Wang X, Li Z, *et al.* Improved insulin secretion following intrapancreatic UCB transplantation in patients with T2DM. *J Clin Endocr Metab* 2013; 98(9): E1501.
- 45 Vikas, Sood, Anil, Bhansali, Bhagwant, Mittal, *et al.* Autologous bone marrow derived stem cell therapy in patients with type 2 diabetes mellitus-defining adequate administration methods. *World J Diabetes* 2017; 8(7): 381-9.
- 46 Hu J, Li C, Wang L, Zhang X, Zhang M, Gao H, *et al.* Long term effects of the implantation of autologous bone marrow mononuclear cells for type 2 diabetes mellitus. *Endocr J* 2012; 59 (11):

- 1031-39.
- 47 Sood V, Mittal BR, Bhansali A, Singh B, Khandelwal N, Marwaha N, *et al.* Biodistribution of 18F-FDG-Labeled autologous bone marrow-derived stem cells in patients with type 2 diabetes mellitus: exploring targeted and intravenous routes of delivery. *Clin Nucl Med* 2015; 40(9): 697-700.
 - 48 Sun X, Hao H, Han Q, Song X, Liu J, Liang D, *et al.* Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells ameliorate insulin resistance by suppressing NLRP3 inflammasome-mediated inflammation in type 2 diabetes rats. *Stem cell Res Ther* 2017; 8(1): 241.
 - 49 Bhansali A, Asokumar P, Walia R, Bhansali S, Gupta V, Jain A, *et al.* Efficacy and safety of autologous bone marrow-derived stem cell transplantation in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized placebo-controlled study. *Cell Transplant* 2014; 23(9): 1075-85.
 - 50 Hu J, Wang Y, Gong H, Yu C, Guo C, Wang F, *et al.* Long term effect and safety of Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells on type 2 diabetes. *Exp Ther Med* 2016; 12(3): 1857-66.
 - 51 Shin TH, Kim HS, Choi SW, Kang KS. Mesenchymal stem cell therapy for inflammatory skin diseases: clinical potential and mode of action. *Int J Mol Sci* 2017; 18(2): pii: E244..
 - 52 Ankrum JA, Ong JF, Karp JM. Mesenchymal stem cells: immune evasive, not immune privileged. *Nat Biotechnol* 2014; 32(3): 252-60.
 - 53 Doorn J, Moll G, Le BK, Van BC, De BJ. Therapeutic applications of mesenchymal stromal cells: paracrine effects and potential improvements. *Tissue Eng Part B Rev* 2012; 18(2): 101-15.
 - 54 Liang X, Ding Y, Zhang Y, Tse HF, Lian Q. Paracrine mechanisms of mesenchymal stem cell-based therapy: current status and perspectives. *Cell Transplant* 2014; 23(9): 1045-59.
 - 55 Yáñez-Mó M, Siljander RM, Andreu Z, Zavec AB, Borràs FE, Buzas EI, *et al.* Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J Extracell Vesicles* 2015; 4: 27066.
 - 56 Phinney DG, Pittenger MF. Concise review: MSC-derived exosomes for cell-free therapy. *Stem Cells* 2017; 35(4): 851-8.
 - 57 Konala VBR, Mamidi MK, Bhonde R, Das AK, Pochampally R, Pal R. The current landscape of the mesenchymal stromal cell secretome: A new paradigm for cell-free regeneration. *Cytotherapy* 2016; 18(1): 13-24.
 - 58 Baglio SR, Rooijers K, Koppers-Lalic D, Verweij FJ, Lanzón MP, Zini N, *et al.* Human bone marrow- and adipose-mesenchymal stem cells secrete exosomes enriched in distinctive miRNA and tRNA species. *Stem Cell Res Ther* 2015; 6(1): 127.
 - 59 Sun Y, Shi H, Yin S, Ji C, Zhang X, Zhang B, *et al.* Human mesenchymal stem cell derived exosomes alleviate type 2 diabetes mellitus by reversing peripheral insulin resistance and relieving β -cell destruction. *Acs Nano* 2018; 12(8): 7613-28.
 - 60 Wang X, Gu H, Qin D, Yang L, Huang W, Essandoh K, *et al.* E. *Sci Rep* 2015; 5: 13721.