

文章编号: 1004-0374(2010)09-0832-05

· 评述与综述 ·

## 骨髓间充质干细胞在组织损伤局部微环境中的调节作用

张 贇, 陈 洁\*, 李廷玉

(重庆医科大学附属儿童医院儿童营养研究中心, 重庆 400014)

**摘 要** 骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一种具有自我增殖和多向分化潜能的细胞, 植入体内后对损伤组织具有一定的修复作用, 研究发现 MSCs 在体内的分化效率极低(不足 10%), 故仅用其分化能力不能完全解释它良好的修复效能。新近研究表明, MSCs 可通过旁分泌途径调节损伤局部的微环境, 从而促进受损组织的修复, 提示这种微环境的调节较其自身分化更具有临床意义。该文对 MSCs 在组织损伤局部微环境中的调节作用做一简要概述, 为 MSCs 更广阔地应用于医学领域提供理论基础。

**关键词:** 骨髓间充质干细胞; 损伤组织; 微环境调节

中图分类号: Q813 Q26

文献标识码: A

## Regulation effects of the bone marrow-derived mesenchymal stem cells in local microenvironment of injury tissue

ZHANG Yun, CHEN Jie\*, LI Ting-yu

(Children's Nutrition Research Center, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China)

**Abstract:** Bone marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) are a kind of self-renewal and multipotential cells, and have restoration effects on injured tissue following transplantation *in vivo*. However, the low differentiation efficiency (less than 10%) of MSCs *in vivo* could not explain its recovery function in theory. Recent studies have reported that MSCs can regulate the local injury microenvironment via paracrine pathways and facilitate the restore of impaired tissues, indicating that the microenvironment regulation of MSCs plays more important role than its differentiation in clinical recovery. The current paper reviewed the regulatory effects of MSCs in local microenvironment of damaged tissue, providing theoretical basis for broadly clinical application of MSCs transplantation therapy.

**Key words:** mesenchymal stem cells (MSCs); injured tissue; regulation of microenvironment

骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是存在于骨髓、外周血和脐血等组织中的一种具有高度自我更新能力的成体干细胞。由于其具有来源充足、取材方便、对机体损伤小、排斥反应极弱、体外扩增能力强、能定向分化、易于基因操作、组织相容性好以及不受伦理学限制等优点, 目前广泛用于细胞移植、基因工程和组织工程等方面的研究和治疗。在不同诱导条件下, MSCs 可以分化为各种中胚层和神经外胚层来源的细胞, 包括软骨细胞、骨细胞、脂肪细胞、肌细胞、神

经细胞和内皮细胞等<sup>[1]</sup>, 用于修复组织损伤和治疗疾病。大量研究发现, MSCs 在体外实验中诱导分化效率较高(80%~90%), 而植入体内的分化能力却极低(不足 10%)。因此, 仅用直接分化为有功能

收稿日期: 2010-01-25; 修回日期: 2010-06-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(30872670); 重庆卫生局重点项目

\*通讯作者: E-mail: jchen010@gmail.com; Tel: 023-63630913

的细胞似乎不足以解释MSCs在组织损伤修复中的作用。目前已有研究发现, MSCs可以通过分泌细胞因子来调节损伤局部的微环境, 刺激内源性干细胞样细胞/祖细胞的增殖和分化<sup>[2]</sup>, 降低炎症反应<sup>[3-6]</sup>和免疫反应<sup>[7]</sup>, 从而促进受损组织的再生修复能力。因此, 在MSCs损伤修复的作用中, 对局部损伤组织微环境的调节可能比其直接分化更加有效, 这也许能够更好地解释MSCs的损伤修复作用。

### 1 MSCs 的神经保护作用

将MSCs移植到新生小鼠的中枢神经系统, 它可以在整个大脑中持久地移行并呈现出星形胶质细胞及神经元的形态和表型特征<sup>[8,9]</sup>, 这为中风、创伤性脑损伤、脊髓损伤和帕金森病等神经系统疾病的治疗带来了新的希望。Crigler等<sup>[10]</sup>通过ELISA法检测MSCs与成神经瘤细胞的共培养体系中脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)和 $\beta$ -神经生长因子(nerve growth factor, NGF)的表达水平, 评估MSCs促进神经细胞存活和神经再生的效应, 进一步阐明了MSCs不同亚群在神经障碍性疾病中的疗效。另外, García等<sup>[11]</sup>将大鼠MSCs体外培养至6代后, 经RT-PCR分析发现, MSCs可产生NGF, 从而抑制脊髓损伤后神经元的凋亡、促进残存神经元出芽、增加神经元可塑性, 上调生长相关蛋白43表达<sup>[12]</sup>。通过静脉移植MSCs可以降低凋亡细胞的总数, 增加局部缺氧脑区BDNF、NGF、成纤维细胞生长因子-2(fibroblast growth factor, FGF2)的水平, 同时增加同侧室下区有丝分裂细胞的数量<sup>[13,14]</sup>。因此, MSCs的神经保护作用可能是基于神经营养因子和一些细胞因子的产生, 通过刺激内源性细胞增殖, 减少受损细胞死亡, 从而促进损伤组织的修复和再生。

### 2 MSCs 的成骨作用

将MSCs植入骨骼缺陷的实验动物体内, 利用对损伤的修复效能来评估其成骨作用, 随后则应用在成骨不全症患者、骨遗传缺陷和其他一些因I型胶原基因突变而引起的组织缺陷中<sup>[15]</sup>。在长期体外培养过程中, MSCs可以自发成骨分化。Seib等<sup>[16]</sup>研究发现, 在hMSCs原位骨分化过程中, 它可以持续表达具有生物活性的内源性骨形成蛋白-2、4、6(bone morphogenetic proteins, BMPs)及其活性受体, 从而诱导碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)的活性, 上调暴露于BMP-2的成骨蛋白(ALP、

BSP1、I型胶原和Runx2等)编码基因的表达; 另一方面, 抑制BMP活性则显著降低ALP的活性, 下调与成骨相关转录因子Runx2的表达。Potier等<sup>[17]</sup>在研究缺氧对MSCs成骨分化的作用时提出, 短暂缺氧对MSCs的存活没有影响, 持久不供氧则下调cbfa-1/Runx2、骨钙素、I型胶原的表达, 上调骨桥蛋白质的mRNA表达水平; 同时, 在短暂缺氧条件下, 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达无论在mRNA水平还是蛋白质水平都成两倍的增加, 而其他一些由MSCs分泌的生长因子和细胞因子, 如碱性成纤维细胞生长因子、转化生长因子- $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)和白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)的表达则变化不大。在早期hMSCs成骨分化过程中, Dugue等<sup>[18]</sup>应用小干扰RNA阻断干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )的内源性分泌, 可以观察到很强烈地抑制hMSCs的成骨分化作用, 同时伴随着Runx2的减少; 外源性添加IFN- $\gamma$ 则促进hMSCs成骨分化, 在分化早期还可以诱导Runx2高表达。综上所述, 在MSCs成骨分化过程中, VEGF、BMP、TGF等参与诱导分化, 促进细胞增殖、胶原合成、血管生长和骨的吸收重塑。

### 3 MSCs 在心血管系统中的作用

血管受损后需要修复的不仅仅是它的形态和结构, 更重要的是功能的修复。基因表达序列分析研究显示无论是来源于人类或鼠类的MSCs, 都可以在局部微环境的诱导下表达大量血管生成因子和调节内皮细胞运动的蛋白, 如VEGF、肝细胞生长因子、肾上腺髓质蛋白、血小板生长因子等, 以保护因缺血所导致的心肌细胞和血管内皮细胞的死亡, 加快受损血管的内皮化, 改善血管重构, 从而修复受损心脏<sup>[19]</sup>。Tang等<sup>[20]</sup>给心肌梗死大鼠移植了自体的MSCs, 2个月后发现VEGF的表达水平显著上升, 梗死区的血管密度和局部血流增加, 心肌细胞的凋亡减少, 从而使心肌梗死面积缩小, 心肌收缩力提高, 心功能得以改善。Dai等<sup>[21]</sup>利用MSCs和心肌细胞体外共培养模型, 通过Q-PCR法检测发现, 由MSCs释放的VEGF的显著升高和缺氧情况下高水平的缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )之间存在时间依从性, 而且在加入HIF-1 $\alpha$ 抗体后, VEGF的分泌以及MSCs的心肌保护作用被消除; 激活HIF-1 $\alpha$ 则可以上调VEGF的分泌, 从而达到心肌保护作用。与此同时, Gneccchi等<sup>[22]</sup>

和Chien<sup>[23]</sup>也发现,在心肌梗死的大鼠体内,通过静脉植入方式,只有少量MSCs迁移到组织损伤部位,而局部损伤微环境中却有大量肝细胞生长因子、内皮细胞生长因子、胰岛素样生长因子-1、肿瘤转化因子 $\beta$ 1等的分泌,它们可以促进血管新生,抑制局部免疫反应、细胞凋亡和组织纤维化。Hattori等<sup>[24]</sup>报道MSCs分泌的VEGF和血管生成素-1如同神经营养素一样,可以促进造血细胞增殖,诱导毛细血管生成和窦状隙扩大,同时在脉管生长和重塑中也发挥重要作用。上述研究表明:MSCs也可以通过旁分泌途径促进新生血管的发生,而不仅仅通过被诱导分化为心肌细胞或血管内皮细胞来显著影响受损心肌的修复。

#### 4 MSCs 在呼吸系统中的作用

特发性肺纤维化的炎症反应是由活化的巨噬细胞、IL-1和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor, TNF- $\alpha$ )介导的。它们可以诱导内皮细胞表达黏附分子和炎症趋化因子,从而使白细胞聚集到损伤部位<sup>[25]</sup>;同时,IL-1和TNF- $\alpha$ 还可以刺激内皮细胞和成纤维细胞的增殖,促进损伤部位的血供,形成瘢痕组织而达到损伤组织的修复<sup>[26]</sup>。Ortiz等<sup>[27]</sup>的研究表明,MSCs可产生肿瘤坏死因子拮抗剂及其他一些细胞因子阻断肺纤维化的信号通路,从而缓解肺组织损伤后的纤维化程度。

在博来霉素诱导的肺损伤中,MSCs通过改变损伤局部的微环境来保护受损组织。Ortiz等<sup>[28]</sup>的研究进一步表明,将经免疫耗竭法纯化的MSCs植入到博来霉素损伤的肺组织中,虽然通过荧光原位杂交技术观察到植入的MSCs迁移到博来霉素诱导的肺损伤部位,并表现出上皮样细胞的表型,但由MSCs分化为肺泡上皮细胞的分化效率却极低;同时通过对比实验发现,MSCs的植入可显著降低肺部损伤引起的炎症反应,减少胶原蛋白沉积,抑制基质金属蛋白酶的活性,促进肺损伤的修复。MSCs也表达高水平的IL-1RN(IL-1 receptor antagonist),用来消除促炎因子IL-1的作用,改善博来霉素诱导的小鼠肺损伤。

#### 5 MSCs 在泌尿系统中的作用

MSCs可以促进各种组织类型细胞的更新和修复,包括肾脏<sup>[29,30]</sup>。Kunter等<sup>[31]</sup>在大鼠发生急性肾衰竭两天后,通过左肾动脉移植MSCs,可以促进受损肾小球膜的快速修复和肾小球动脉细胞的增

殖,减少28%的蛋白尿。在体外研究中,他们还发现MSCs可以分泌大量的VEGF和TGF- $\beta$ ,通过旁分泌途径促进肾脏损伤的修复。在急性肾小管损伤时,表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)在肾组织内的表达增多,可增强肾小管细胞的再生和修复能力,加快肾功能的恢复<sup>[32]</sup>。另外,也有研究发现MSCs通过释放大量的前血管源性血管内皮生长因子和促纤维化转化生长因子-1,从而在缺血再灌注诱导的急性肾功能衰竭中发挥有益的作用<sup>[33,34]</sup>。总而言之,MSCs促进小管细胞的修复,短期内并不是或不主要是通过自身的分化功能起作用,而可能通过减轻炎症反应,增加肾组织微环境中有利于肾小管上皮细胞修复的细胞因子的分泌,如EGF、造血生长因子(hematopoietic growth factor, HGF)、血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)等在肾组织内的表达,这可能是MSCs促进肾小管上皮细胞快速修复的主要机制之一。

#### 6 MSCs 在感光系统中的作用

Chen等<sup>[35]</sup>研究表明,MSCs的培养上清可以促进感光细胞的增殖,虽然关于MSCs修复光感受器的机制仍在进一步的研究中,但目前认为可能是由于移植MSCs后释放的营养因子改善了局部微环境,而不是直接分化为感光细胞而起作用,这也与体外实验的结果相一致<sup>[36]</sup>。

#### 7 结语

在不同的损伤部位,MSCs表达的调节蛋白和细胞因子是不完全相同的,从而发挥着不尽相同的作用,但总的来说,它们都在一定程度上促进组织损伤的修复,提高了疾病的疗效。目前,虽然对于MSCs在不同损伤微环境中的修复机制尚不完全明确,但随着不断的研究和探索,我们相信MSCs在损伤微环境中的调节作用会更有助于干细胞移植治疗的推广应用。

#### [参 考 文 献]

- [1] Oswald J, Boxbenger S, Jorgensen B, et al. Mesenchymal stem cells can be differentiated into endothelial cells *in vitro*. *Stem Cells*, 2004, 22(3): 377-84
- [2] Munoz JR, Stoutenger BR, Robinson AP, et al. Human stem/progenitor cells from bone marrow promote neurogenesis of endogenous neural stem cells in the hippocampus of mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(50): 18171-6

- [3] Ortiz LA, Dutreil M, Fattman C, et al. Interleukin 1 receptor antagonist mediates the anti-inflammatory and antifibrotic effect of mesenchymal stem cells during lung injury. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(26): 11002-7
- [4] Xu J, Woods CR, Mora AL, et al. Prevention of endotoxin-induced systemic response by bone marrow-derived mesenchymal stem cells in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2007, 293(1): L131-41
- [5] Gupta N, Su X, Popov B, et al. Intrapulmonary delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves survival and attenuates endotoxin-induced acute lung injury in mice. *J Immunol*, 2007, 179(3): 1855-63
- [6] Guo J, Lin GS, Bao CY, et al. Anti-inflammation role for mesenchymal stem cell transplantation in myocardial infarction. *Inflammation*, 2007, 30(3-4): 97-104
- [7] Uccelli A, Pistoia V, Moretta L. Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression? *Trends Immunol*, 2007, 28(5): 219-26
- [8] Kopen GC, Prockop DJ, Phinney DG. Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(19): 10711-6
- [9] Munoz-Elias G, Marcus AJ, Coyne TM, et al. Adult bone marrow stromal cells in the embryonic brain: engraftment, migration, differentiation, and long-term survival. *J Neurosci*, 2004, 24(19): 4585-95
- [10] Crigler L, Robey RC, Asawachaicharn A, et al. Human mesenchymal stem cell subpopulations express a variety of neuro-regulatory molecules and promote neuronal cell survival and neurogenesis. *Exp Neurol*, 2006, 198(1): 54-64
- [11] Garcia R, Aguiar J, Alberti E, et al. Bone marrow stromal cells produce nerve growth factors and glial cell line-derived neurotrophic factors. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 316(3): 753-4
- [12] Taylor L, Jones L, Tuszynski MH, et al. Neurotrophin-3 gradients established by lentiviral gene delivery promote short-distance axonal bridging beyond cellular grafts in the injured spinal cord. *J Neurosci*, 2006, 26(9): 9713-21
- [13] Li Y, Chen J, Chen XG, et al. Human marrow stromal cell therapy for stroke in rat: neurotrophins and functional recovery. *Neurology*, 2002, 59(4): 514-23
- [14] Chen J, Li Y, Katakowski M, et al. Intravenous bone marrow stromal cell therapy reduces apoptosis and promotes endogenous cell proliferation after stroke in female rat. *J Neurosci Res*, 2003, 73(6): 778-86
- [15] Horwitz EM, Gordon PL, Koo WK, et al. Isolated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal cells engraft and stimulate growth in children with osteogenesis imperfecta: implications for cell therapy of bone. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(13): 8932-7
- [16] Seib FP, Franke M, Jing D, et al. Endogenous bone morphogenetic proteins in human bone marrow-derived multipotent mesenchymal stromal cells. *Eur J Cell Biol*, 2009, 88(5): 257-71
- [17] Potier E, Ferreira E, Andriamanalijaona R, et al. Hypoxia affects mesenchymal stromal cell osteogenic differentiation and angiogenic factor expression. *Bone*, 2007, 40(4): 1078-87
- [18] Dugue G, Huang DC, Macoritto M, et al. Autocrine regulation of interferon  $\gamma$  in mesenchymal stem cells plays a role in early osteoblastogenesis. *Stem Cells*, 2009, 27(3): 550-8
- [19] Phinney DG. Biochemical heterogeneity of mesenchymal stem cell populations: clues to their therapeutic efficacy. *Cell Cycle*, 2007, 6(23): 2884-9
- [20] Tang YL, Zhao Q, Zhang YC, et al. Autologous mesenchymal stem cell transplantation induce VEGF and neovascularization in ischemic myocardium. *Regul Pept*, 2004, 117(1): 3-10
- [21] Dai Y, Xu M, Wang Y, et al. HIF-1 $\alpha$  induced-VEGF overexpression in bone marrow stem cells protects cardiomyocytes against ischemia. *J Mol Cell Cardiol*, 2007, 42(6): 1036-44
- [22] Gnecci M, He H, Noiseux N, et al. Evidence supporting paracrine hypothesis for Akt-modified mesenchymal stem cell-mediated cardiac protection and functional improvement. *FASEB J*, 2006, 20(6): 661-9
- [23] Chien KR. Lost and found: cardiac stem cell therapy revisited. *J Clin Invest*, 2006, 116(7): 1838-40
- [24] Hattori K, Dias S, Heissig B, et al. Vascular endothelial growth factor and angiopoietin-1 stimulate postnatal hematopoiesis by recruitment of vasculogenic and hematopoietic stem cells. *J Exp Med*, 2001, 193(9): 1005-14
- [25] Kaneider NC, Leger AJ, Kuliopulos A. Therapeutic targeting of molecules involved in leukocyte-endothelial cell interactions. *FEBS J*, 2006, 273(19): 4416-24
- [26] Kolb M, Margetts PJ, Anthony DC, et al. Transient expression of IL-1 $\beta$  induces acute lung injury and chronic repair leading to pulmonary fibrosis. *J Clin Invest*, 2001, 107(12): 1529-36
- [27] Ortiz LA, Lasky J, Hamilton RF Jr, et al. Expression of TNF and the necessity of TNF receptors in bleomycin-induced lung injury in mice. *Exp Lung Res*, 1998, 24(6): 721-43
- [28] Ortiz LA, Gambelli F, McBride C, et al. Mesenchymal stem cell engraftment in lung is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(14): 8407-11
- [29] Cornacchia F, Fornoni A, Plati AR, et al. Glomerulosclerosis is transmitted by bone marrow-derived mesangial cell progenitors. *J Clin Invest*, 2001, 108(11): 1649-56
- [30] Poulson R, Forbes SJ, Hodivala-Dilke K, et al. Bone marrow contributes to renal parenchymal turnover and regeneration. *J Pathol*, 2001, 195(2): 229-35
- [31] Kunter U, Rong S, Djuric Z, et al. Transplanted mesenchymal stem cells accelerate glomerular healing in experimental glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17(8): 2202-12
- [32] Verstrepen WA, Nouwen EJ, Zhu MQ, et al. Time course of growth factor expression in mercuric chloride acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant*, 1995, 10(8): 1361-71
- [33] Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, et al. Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote *in vitro* and *in vivo* arteriogenesis through paracrine mechanisms. *Circ Res*, 2004,

- 94 (5) : 678-85
- [34] Togel F, Hu Z, Weiss K, et al. Administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through differentiation-independent mechanisms. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2005, 289(1) : F31-42
- [35] Chen Q, Long Y, Yuan X, et al. Protective effects of bone marrow stromal cell transplantation in injured rodent brain: synthesis of neurotrophic factors. *J Neurosci Res*, 2005, 80 (5) : 11-9
- [36] Inoue Y, Iriyama A, Ueno S, et al. Subretinal transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells delays retinal degeneration in the RCS rat model of retinal degeneration. *Exp Eye Res*, 2007, 85(2) : 234-41