

سلول بنیادی مزانشیمال: بیولوژی، کاربرد و نقش آن در طب ترمیمی

علی دهقانی فرد^۱، نجم‌الدین ساکی^۲، محمد احمدوند^۳، مریم محمودی‌نیا میمند^۴، مجید مصاحبی محمدی^۱، مسعود سلیمانی^۵

چکیده

سابقه و هدف

سلول‌های بنیادی مزانشیمال (MSC)، سلول‌های بنیادی چند قوه‌ای بوده که دارای قدرت تکثیر و خودنوسازی بالا و هم چنین پتانسیل تمایز به رده‌های مختلف سلولی می‌باشند. قدرت تمایزی این سلول‌ها در محیط‌های *in vivo* و *in vitro* باعث شده که این سلول‌ها به عنوان ابزار مناسبی برای مهندسی بافت و طب ترمیمی مورد توجه قرار بگیرند.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه به دنبال مرور بیش از ۱۰۰ مقاله منتشر شده در سال‌های اخیر در مورد جداسازی، کشت و تمایز سلول‌های MSC، سعی شده است که به طور اجمالی به ارزیابی و بررسی اهمیت استفاده از این سلول‌ها در طب ترمیمی و مهندسی بافت پرداخته شود.

یافته‌ها

رویکرد استفاده بالینی از سلول‌های MSC، نیازمند توجه به دو مبحث کلیدی و مهم می‌باشد؛ طراحی داربست‌های زیست سازگار که استفاده بالینی آن‌ها دارای کمترین میزان عوارض و فاقد هرگونه پاسخ ایمنولوژیک باشد، استفاده از سلول‌های بنیادی که با وجود توان بالا در ترمیم آسیب‌ها، کمترین عوارض بالینی را به همراه داشته باشند.

نتیجه‌گیری

با توجه به قدرت بالای تکثیری و توانایی تمایز چند رده‌ای سلول‌های MSC و خصوصاً به دلیل نقش بارز آن‌ها در اثرات تعدیل ایمنی بدن، از این سلول‌ها می‌توان به عنوان ابزاری کاربردی در جهت اهداف سلول درمانی و ژن درمانی به منظور درمان تعداد زیادی از اختلالات مادرزادی و بیماری‌های ناشی از تخریب بافت استفاده نمود.

کلمات کلیدی: سلول‌های بنیادی مزانشیمال، طب، مهندسی بافت

تاریخ دریافت: ۹۰/۳/۸

تاریخ پذیرش: ۹۰/۷/۳

۱- کارشناس ارشد هماتولوژی - دانشگاه تربیت مدرس - تهران - ایران

۲- دانشجوی دکتری خون شناسی و هماتولوژی - مربی دانشگاه جندی شاپور اهواز - مرکز تحقیقات تالاسمی و هموگلوبینوپاتی - اهواز - ایران

۳- کارشناس ارشد هماتولوژی - دانشگاه علوم پزشکی زاهدان - ایران

۴- کارشناس ارشد زیست شناسی تکوین - مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی بیمارستان صارم - تهران - ایران

۵- مؤلف مسؤول: PhD هماتولوژی - استادیار دانشگاه تربیت مدرس - تهران - ایران - صندوق پستی: ۱۱۱-۱۴۱۱۵

مقدمه

مغز استخوان حاوی دو نوع سلول بنیادی هماتوپوئیتیک و مزانشیمال می باشد (۱). سلول های بنیادی مزانشیمال (MSC)، سلول های بنیادی چند قوه ای بوده که دارای قدرت تکثیر و خودنوسازی بالا و هم چنین پتانسیل تمایز به رده های مختلف سلولی از جمله سلول های استئوبلاست، کندروسیت، آدیپوسیت، سلول های اندوتلیال، سلول های عصبی، سلول های میوسیت قلبی، سلول های هیپاتوسیت و سلول های پانکراس می باشند (۱۰-۲). قدرت تمایزی این سلول ها در محیط های *in vivo* و *in vitro* و همین طور در کشت های *ex vivo* مشاهده شده است. از سلول های MSC به نام های سلول های استرومایی مغز استخوان (Bone Marrow Stromal Cell)، سلول های بنیادی استرومایی مغز استخوان (Bone Marrow Stromal Stem Cell)، سلول های فیبروبلاستی کلونزا (Colony-Forming Fibroblastic Cell) و سلول های پیشتاز مزانشیمی (Mesenchymal Progenitor Cell) نیز یاد می شود (۱۲، ۱۱). بافت مزانشیم، بافت پیوندی رویانی مشتق از مزودرم است که دارای قدرت تمایز به سایر بافت های پیوندی از جمله رده سلول های خونی می باشد، در حالی که سلول های MSC فاقد توان تمایز به سمت سلول های بنیادی خونساز می باشند. سلول های استرومایی نیز از سلول های بافت پیوندی هستند که ساختار حمایت کننده ویژه ای را شکل می دهند و در آن سلول های عملکردی نیز یافت می شود. به هر حال در نام گذاری صحیح این سلول ها، تناقض وجود دارد. هم چنین واژه ای برای سلول های MSC به منظور این که پتانسیل سلول ها را در ترمیم آسیب های بافتی در طب ترمیمی توصیف کند، به کار برده نمی شود (۱۴، ۱۳). از لحاظ ریخت شناسی، سلول MSC همانند سلول USSC (Unrestricted Somatic Stem Cell)، سلولی کوچک و دوکی شکل، دارای هسته بزرگ و گرد با هستک واضح و مشخص، تعدادی اندامک داخل سلولی و زواید سلولی بلند و کوتاه می باشد. تعداد قابل توجهی از این سلول ها در مغز استخوان توسط ماتریکسی با الیاف رتیکولار احاطه شده اند (۱۶، ۱۵). مغز استخوان به عنوان مهم ترین منبع جداسازی سلول های MSC به شمار

می رود. این در حالی است که فرآیند جداسازی و تخلیص سلول های MSC از مغز استخوان و به دست آوردن جمعیتی هموزن از این سلول ها، به دلیل نبود روشی مناسب جهت جلوگیری از رشد سایر سلول ها در کشت اولیه و پاساژهای سلولی، بسیار مشکل است (۱۹-۱۷). بنابراین توجه به منابع جایگزین جهت جداسازی سلول های MSC، بسیار مورد نیاز می باشد. اخیراً از مایع آمنیوتیک به عنوان یک منبع جایگزین مهم برای جداسازی این سلول ها یاد شده است. طی مطالعه هایی، جداسازی سلول های MSC از مایع آمنیوتیک انسانی در سه ماهه دوم بارداری و هم چنین از مایع آمنیوتیک موش C57BL/6 انجام گرفته است (۲۱، ۲۰). تلاش های دیگری نیز در زمینه جداسازی سلول های MSC از خون بندناف و خون محیطی صورت گرفته که نتایج متناقضی را به همراه داشته است. برخی از تحقیقات، عدم وجود سلول های MSC در خون بند ناف را گزارش نموده اند (۲۳، ۲۲)، در حالی که تحقیقات دیگری حاکی از حضور این سلول ها در خون بند ناف و در دیواره اندوتلیال عروق بند ناف می باشد (جدول ۱) (۲۷-۲۴). در بررسی های ما نیز سلول های MSC موجود در مایع آمنیوتیک موش (Naval Medical Research Institute) NMRI در هفته دوم بارداری جداسازی شد به طوری که سلول های MSC مایع آمنیوتیک و سلول های MSC مغز استخوان از لحاظ پتانسیل تمایز با هم مقایسه شدند. نتایج نشان داد که هر دو گروه سلولی، دارای پتانسیل بالای تمایزی به سمت سلول های استئوبلاست و کندروسیت می باشند. هم چنین یافته های ما حاکی از عدم وجود پتانسیل آدیپوژن در سلول های MSC مایع آمنیوتیک بود (۲۸). صحت یافته اخیر با توجه به این که سلول های آدیپوسیت موجود در مغز استخوان دوران بلوغ، در دوران جنینی یافت نمی شود و هم چنین وجود ارتباط مستقیم بین افزایش سن با افزایش میزان آدیپوژن، بیشتر تایید می شود (۱۸).

این در حالی است که نتایج مطالعه دیگری نشان دهنده وجود پتانسیل تمایز به سمت سلول های آدیپوسیت در یک رده سلول بنیادی c-kit+ جداسازی شده از مایع آمنیوتیک با روش ایمونوسلکشن می باشد (۲۱).

جدول ۱: سایر منابع استفاده شده در جداسازی سلول‌های بنیادی مزانشیمال

منبع	مارکر مورد بررسی در سلول‌های جداسازی شده	ویژگی سلول‌های جداسازی شده	نحوه جداسازی	بافت
۲۹	بررسی هیستوشیمیایی از نظر وجود فعالیت آلکالین فسفاتازی، استفاده از روش RT-PCR برای بررسی وجود mRNA ژن نانوک، بررسی منحنی رشد سلول‌های جدا شده	احتمالاً سلول‌های MSC به دست آمده با توجه به عدم بیان ژن نانوک در کشت نهم فاقد خاصیت پرتوانی می‌باشند	قرارگیری قطعات ژل وارتون بند ناف در محیط کشت، خارج کردن قطعات پس از ۵ روز از ظروف و ادامه کشت سلول‌های جدا شده تا ۵ روز دیگر	ژل وارتون بند ناف
۳۰	ایمونوهیستوشیمی و فلوسیتومتری برای CD73 و CD105، بررسی ژن توسط روش RT-PCR و انجام رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی سلول‌های القا شده به سمت استئوسیت و آدیپوسیت	جداسازی از بافت سینوویوم کنده شده طی عمل جراحی زانو، قدرت تکثیر بالا در مقایسه با انواع مشابه، قدرت تمایز بالا به بافت چربی و غضروف	تیمار بافت سینوویوم زانوی انسان با آنزیم کلاژناز، انجام کشت سلولی و اتصال سلول‌های MSC به کف فلاسک کشت	سینوویوم زانو
۳۱	بررسی فلوسایتومتری برای مارکرهای CD34, CD45, CD73, CD90 و CD105 و به دنبال آن تمایز به رده‌های استئوبلاستی، آدیپوسیت و عصبی	سلول‌های MSC به دست آمده طی ۱۸ تا ۲۰ مرحله پاساژ سلولی به صورت تمایز نیافته باقی می‌مانند. این سلول‌ها علاوه بر توان بالای تمایزی به رده سلول‌های مزودرمی، دارای توان تمایز به سلول‌های شبه عصبی نیز می‌باشند	تیمار آمینون با تریپسین و EDTA، انجام کشت سلولی در محیط کشت حاوی DMEM با ۱۰٪ FBS	آمینون
۳۲	مارکرهایی نظیر CD29+ CD44+, SH2+, CD13+ و CD166+, SH3+ و هم چنین ژن‌های Oct-4, Nanog, Rex-1 را بیان می‌کند	این سلول‌ها علاوه بر قابلیت تمایزی به سلول‌های استئوبلاستی، کندروبلاستی و آدیپوزنیک، به سلول‌های عصبی نیز تمایز می‌یابند	بعد از بیوپسی، بخش استرومائی بافت ملتحمه چشم کشت داده شد	ملتحمه چشم
۳۳	فلوسیتومتری و ایمونوشیمی برای بیان ITGB1 (CD29), CD44, NT5E (CD73), THY1 (CD90), PDGFRB, ENG (CD105), MCAM (CD140B), عدم بیان PECAM1 (CD31), EpCAM, PTPRC (CD45), CD34	سلول‌های MSC به دست آمده دارای توان خودنوسازی بالا و توان تمایز به رده‌های سلولی استئوبلاست، کندروسیت، آدیپوسیت و عضلات صاف می‌باشند	تیمار بافت اندومتر با دو آنزیم کلاژناز ۳ و ریبونوکلئاز ۱ جهت تهیه سوسپانسیون تک سلولی، حذف لکوسیت‌ها با استفاده از anti-CD45 (PTPRC), انجام کشت سلولی سلول‌های MSC و اپی‌تلیال در محیط DMEM/F-12 حاوی ۱۰٪ FBS، جداسازی سلول‌های اپی‌تلیال با استفاده از anti-EpCAM	اندومتر
۳۴	فلوسیتومتری برای بیان CD73, CD90, CD105, CD166, CD14, CD34, CD45 عدم بیان	سلول‌های MSC به دست آمده دارای توان تکثیر سریع و توان تمایز به استئوبلاست و آدیپوسیت می‌باشد	تیمار بافت چربی با کلاژناز ۳ جهت تهیه سوسپانسیون تک سلولی، کشت در محیط کشت Ultra Culture حاوی ۲٪ Ultrosor G	بافت چربی

موش به کمک روش‌های مختلفی از جمله روش استفاده از مواد سیتوتوکسیک در محیط کشت، جداسازی سلولی (cell sorting)، کشت در محیط DMEM با دانسیته بالا و پایین و گزینش مثبت و منفی انجام می‌گیرد (۴۸-۴۳، ۱۹). اساس این روش‌ها برای جداسازی و تخلیص سلول‌های MSC، بر مبنای تمایل فیزیکی این سلول‌ها در اتصال به کف پلاستیکی پلیت کشت سلول می‌باشد. اما مشاهده شده است که به دنبال استفاده از این روش‌ها، رده‌های مختلف خونساز روی لایه استرومایی کف پلیت متصل شده و به همراه سلول‌های MSC جداسازی شده، تکثیر می‌یابند. در نتیجه همواره جمعیت هتروژنی از سلول‌ها در پلیت کشت سلول تشکیل خواهد شد. البته در تعدادی از این روش‌ها، مرحله‌ای به منظور حذف سلول‌های غیر MSC از کف پلیت قرار داده شده است، که این مراحل نیز نهایتاً سبب کاهش پتانسیل تکثیر و تمایز سلول‌های MSC خواهند شد (۴۸، ۴۷). در یک مطالعه نیز به وجود جمعیتی از سلول‌های غیر چسبنده MSC در مغز استخوان اشاره شده که در مقایسه با روش‌های استفاده شده در مطالعه ما، روشی ساده و مؤثر جهت جداسازی سلول‌های MSC به کار برده است و در آن به دنبال ایجاد تغییراتی در محیط کشت و کاهش زمان ترپسینه کردن، جمعیت تخلیص شده از این سلول‌ها در پاساژ اول به دست آمد (۱۳). به هر صورت در حداقل یک مطالعه نیز به وجود جمعیتی از سلول‌های غیر چسبنده MSC در مغز استخوان اشاره شده است که با روش‌هایی بر پایه چسبندگی سلولی قابل جداسازی نیستند (۴۹).

نانوفیبرها و داربست‌های سلولی:

اغلب روش‌های نوین کشت سلول‌های MSC مغز استخوان، بر مبنای جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای، انتقال سلول‌ها به محیط کشت سلولی و به دنبال آن اتصال سلول‌های MSC به کف پلاستیکی ظرف کشت سلولی می‌باشد (۵۱، ۵۰، ۲۷). هم چنین طراحی داربست‌های سلولی زیست سازگار، به عنوان بخش مهمی در بحث طب ترمیمی و مهندسی بافت مطرح می‌باشد. هدف از طراحی داربست‌های مختلف، شبیه‌سازی بهترین الگوی

هم چنین دیده شده است که سلول‌های MSC مایع آمنیوتیک در مقایسه با سلول‌های MSC مغز استخوان، به لحاظ تکاملی تمایز نیافته‌تر بوده و زمان دو برابر شدن کوتاه‌تری دارند. این ویژگی‌ها سبب توجه بیشتر به این سلول‌ها در تحقیقات آزمایشگاهی می‌شود (۵).

علی‌رغم این که شناسایی مارکرهای سطحی سلول‌های MSC جهت جداسازی این سلول‌ها از بافت‌های مورد نظر لازم است، ولی نتایج متناقضی از معرفی آنتی‌ژن‌های سطحی سلول‌های MSC وجود دارد. برخی از مطالعه‌ها، مارکرهایی مثل Thy1,2، Vcam-1 و sca-1 را به عنوان مارکرهای سطحی مشترک در سلول‌های هماتوپوئیک، سلول‌های غیر هماتوپوئیک، سلول‌های اندوتلیالی و لنفوسیت‌های T بالغ معرفی می‌کنند (۳۵، ۱۲). مطالعه‌های دیگری از عدم بیان CD45، CD11b و c-kit به عنوان شاخص‌های جداسازی سلول‌های MSC مغز استخوان موشی یاد می‌کنند (۳۷، ۳۶). در مطالعه‌هایی نیز به معرفی سلول‌های STRO-1+ به عنوان یک جمعیت سلولی هموژن با پتانسیل اتصال و تکثیری بالا پرداخته شده است (۳۹، ۳۸).

البته هنوز تفاوت‌های دقیق بین سلول‌های STRO-1+ و سلول‌های MSC مشخص نیست. هم چنین از مارکرهای سطحی نظیر CD29، CD44، CD73، CD90، CD105، CD166 و MHC کلاس یک نیز به عنوان مارکرهای مزانشیمی مشهور یاد می‌شود. با این وجود استفاده از یک پروفایل اختصاصی آنتی‌بادی علیه مارکرهای سطحی به منظور جداسازی و تخلیص سلول‌های MSC از سایر جمعیت‌های سلولی، هم چنان میسر نیست (۴۰). در دو مطالعه اخیر نیز از گانگلیوزید عصبی GD-2 و SSEA-4 به عنوان مارکرهای سطحی سلول‌های MSC یاد شده است (۴۲، ۴۱).

هم چنین بررسی حاضر، حاکی از وجود تفاوت در مارکرهای اختصاصی در سلول‌های MSC جداسازی شده از منابع مختلف می‌باشد (جدول ۲) (۲۸).

جداسازی و تخلیص سلولی:

فرآیند جداسازی سلول‌های MSC از مغز استخوان

جدول ۲: مارک‌های بیان شده توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمال

مارکر	نام	کروموزوم	سلول بیان‌کننده	نقش	عامل افزایش دهنده بیان
CD9	motility related protein 1 (MRP1)	12 p 13.3	B1,MZ, pre-B cell	Cell adhesion, proliferation, motility, osteoclastogenesis, metastasis supresor, signal transduction	SDF1
CD13	Aminopeptidase N (APN)	15 q 25-q 26	Myeloid antigen, Fibroblasts, osteoclasts, endothelial cells, BM stromal cells, Neuronalssynaptic membranes	Presenting Antigens, regulatory role in T cells, angiogenesis	TGFβ1, c-Maf
CD29	Integrin β1	10 p 11.2	Th17, Fibroblasts, monocytes, mast cells, endothelial cells	Cell-cell & cell-matrix interaction, adhision	-----
CD44	H-CAM	11 p 13	-----	Cell adhesion & migration, secration& activation of MMP-2, T cell accumulation	-----
CD49e	Integrin α5 (VLA-5)	12 q 11- q 13	T cells, B cells, monocytes	Cell migration, development & survival, signal transduction(RTK/Ras/Erk)	-----
CD54	ICAM1	19 p 13.3-p 13.2	leukocyte	Innate & adaptive immune, tumor cell growth arrest	-----
CD55	decay-accelerating factor(DAF)	1q32	Many cell type(RBC,WBC)	Inhibition of complement activation	-----
CD71	Transferrin receptor	3 q 29	Erythroidlineage	Iron uptake, Erk-MAPK signaling	-----
CD73	5-terminal nucleotidase	6 q 14-q 21	B cells & T cells, lymphatic vessels	Prevent TRALI-induced apoptosis, suppression of proinflammatory prosses	HIF-1
CD90	Thy1 glycoprotein	11 q 23.3	Neurons, fibroblasts	Apoptotic signaling, tumor suppression , Thy1 signaling,	Iron level
CD105	Endoglin	9 q 33-q 34.1	Endothelial cell, monocytes,	Angiogenesis, TGFβ/ALK1 signaling, anti apoptotic effect	Hypoxia, TGFβ1
CD123	IL3RA	Xp22.3 or Yp11.3	plasmacytoid dendritic cells	STAT5 & c-fos activation	-----
CD124	IL4R	16 p 12.1-p 11.2	B & T cells	IL4Rα signaling, immune modulation	-----
CD126	IL6R	1q21	Hepatocytes, neutrophils, Monocytes/macrophage, lymphocytes	Signal transduction, JAK1/Tyk2 & Ras activation	-----
CD127	IL7R	5p13	Naïve T cell, granulose cells, cumulus cells, preovulatory oocytes	T cell survival, upregulation of Bcl2 and Glut1	Foxo1
CD166	ALCAM (Activated leukocyte cell adhesion molecule)	3 q 13.1	neurons, T cells,monocytes	-----	-----
ASMA	α-smooth muscle actin	10 q 23.3	-----	-----	-----
CD271	LNGFR	17 q 21- q 22	-----	-----	-----

داربست‌های طراحی شده، یک ماتریکس سه بعدی متخلخل که ابعاد منافذ آن کمتر از ۱۰ میکرومتر است را فراهم می‌کنند. ماتریکس مذکور مانع عبور راحت سلول‌ها از فضاهای خالی می‌شود و شرایط مناسبی برای اتصال، تکثیر و رشد سلول‌های MSC فراهم می‌کند (۵۴، ۵۵). داربست نانوفیبری زیستی تخریب‌پذیر بر پایه پلی ۴-کارپولاکتون (PCL) و پلی L-لاکتیک اسید (PLLA)، در تحقیقات مختلف مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در مجموع استفاده از داربست‌های سلولی در مهندسی بافت از طریق دو روش مختلف انجام می‌شود: ۱- ابتدا سلول‌های MSC در داربست قرار می‌گیرند و سپس مجموعه داربست و سلول‌های MSC کشت می‌شوند. ۲- ابتدا سلول‌های MSC کشت می‌شوند و سپس در داربست قرار می‌گیرند (جدول ۳) (۵۶-۵۸).

ساختاری و محیطی برای ماتریکس خارج سلولی است (۴). در مطالعه‌های مختلف از داربست‌های سلولی متفاوتی نظیر داربست هیبریدی متخلخل و زیست تخریب‌پذیر بر پایه کیتوسان - ژلاتین - تری فسفات کلسیم، داربست سرامیکی متخلخل و دوفازی هیدروکسی آپاتیت/تری کلسیم فسفات (HA/TCP) به منظور اتصال، تکثیر و تمایز سلول‌های MSC به رده‌های مختلف بافتی و استفاده در مهندسی بافت و طب ترمیمی استفاده شده است (۵۲، ۵۳). اخیراً استفاده از فرآیند الکترو اسپینینگ (Electro Spinning) که به عنوان یک فرآیند آسان و مقرون به صرفه به منظور طراحی داربست‌های سلولی سه بعدی نانوفیبری به کار می‌رود، در مهندسی بافت بسیار مورد توجه می‌باشد. در این فرآیند، پلی‌مرهای زیستی تجزیه‌پذیر برای تولید نانو فیبرها استفاده می‌شود.

جدول ۳: داربست‌ها و منابع سلول بنیادی مزانشیمال مورد استفاده در طب ترمیمی

منبع سلول مزانشیمال	مارکر تمایزی	بیماری	اسکفلد و نانوفیبر	منبع
مغز استخوان انسان	albumin, AFP & CK-19	ضایعات کبدی	PCL/collagen/PES nanofiber scaffold	۵۹
مغز استخوان	calponin-I, α -smooth muscle actin, collagen and elastin	ضایعات عروقی	1- PLGA, PGS, P-PGS, PI-P-PGS	۶۰
مغز استخوان	SDF-1	ضایعات پوستی	Integra®), an artificial dermal matrix	۶۱
مغز استخوان	-----	ضایعات استخوانی	chitosan-based scaffolds	۶۲
مغز استخوان و بافت چربی	-----	ضایعات استخوانی	SPCL	۶۳
مغز استخوان	PECAM & vWF expressions and NO production	ضایعات عروقی	PMF	۶۴
مغز استخوان	-----	ضایعات استخوانی	thin film of pegylated multiwalled carbon nanotubes spray dried onto preheated coverslips	۶۵
سلول‌های پرتوان القایی	-----	ضایعات استخوانی و غضروفی	Calcified Structures in Scaffolds	۶۶
جفت	-----	ضایعات سلول‌های لانگرهانس (انسولین ساز)	-----	۶۷
مغز استخوان سگ	-----	ضایعات استخوانی	-----	۶۸

۶۹	3-D woven fabric Scaffold	ضایعات استخوانی	-----	مغز استخوان
۷۰	pullulan-collagen composite hydrogel matrices	ضایعات پوستی	-----	مغز استخوان موش
۷۱	-----	ضایعات استخوان سر و صورت	-----	-----
۷۲	PGA:PLLA scaffolds	ضایعات دریچه‌های قلبی	-----	مغز استخوان گوسفند
۷۳	PLLA/ PCL	ضایعات عروقی	-----	مغز استخوان انسان
۷۴	Fresh fibrin (FG) and platelet-rich fibrin (PR-FG) glues produced by the CryoSeal(®) FS System	ضایعات غضروفی	collagen II gene, aggrecan gene	مغز استخوان انسان
۷۵	coral scaffold	ضایعات استخوانی	-----	مغز استخوان انسان
۷۶	LIFT three-dimensional scaffold	ضایعات استخوانی و غضروفی	-----	مغز استخوان انسان
۷۷	heparin-releasing PLLA	ضایعات عروقی	-----	مغز استخوان انسان
۷۸	biomaterial scaffolds consisting of native tissue matrices derived from cartilage	ضایعات اسکلتی عضلانی	-----	بافت چربی
۷۹	3D silk Scaffolds	ضایعات استخوانی	-----	مغز استخوان انسان
۸۰	trabecular titanium scaffolds	ضایعات استخوانی	-----	بافت چربی انسان
۸۱	Scaffold-free cell sheet	ضایعات استخوانی	-----	مغز استخوان انسان
۸۲	nanofibrous poly-L-lactic acid scaffolds	ضایعات بافت مثانه	uroplakin-Ia, cytokeratin-7, and cytokeratin-13	مغز استخوان انسان
۸۳	fibrinogen-fibronectin-vitronectin hydrogel (FFVH) scaffolds	ضایعات ریوی	-----	ریه گوسفند
۸۴	Hydroxyapatite scaffolds	ضایعات استخوانی	alkaline phosphatase, extracellular calcium deposition, osteocalcin and osteonectin	بافت چربی خوک، خرگوش و موش صحرایی
۸۵	highly porous PLLA scaffold	ضایعات بافت مثانه	-----	مغز استخوان انسان
۸۶	cell-scaffold construct composed of gelatin-based hydrogel and ceramic (CaCO ₃ /beta-TCP) particles	ضایعات استخوانی	-----	مغز استخوان انسان
۸۷	Pura Matrix (PM)	ضایعات استخوانی	-----	مغز استخوان سگ
۸۸	benzyl ester of hyaluronan	ضایعات کبدی، غضروفی، عصبی و پوستی	-----	-----
۸۹	-----	ضایعات استخوانی	-----	مغز استخوان موشی
۹۰	3D chitosan scaffold	ضایعات غضروفی	-----	مغز استخوان انسان
۹۱	biodegradable chitosan/polyester scaffolds	ضایعات استخوانی	Runx2, collagen I, bone sialoprotein (BSP) and	مغز استخوان انسان

osteocalcin			
۹۲	-----	ضایعات اسکلتی	-----
۹۳	PLLA	-----	-----
۹۴	nonporous, smart, and stimulus responsive chitosan-based scaffolds	ضایعات استخوانی	-----
۹۵	macroporous poly(ethylene glycol) diacrylate hydrogel scaffold	-----	-----
۹۶	3D calcium phosphate (CP) scaffolds	ضایعات عروقی	-----
۹۷	Hydroxyapatite scaffolds	-----	-----
۹۸	Porous hydroxyapatite ceramics	ضایعات استخوانی	-----
۹۹	Collagen scaffold carrier	ضایعات دندانی	-----
۱۰۰	-----	ضایعات استخوانی	-----
۱۰۱	porous collagen I/III scaffold	ضایعات استخوانی	mRNA of ALP, osteopontin, Runx2, Twist 1 and 2, Notch-1/2, osteonectin, osteocalcin, BSP, and collagen-A1
۱۰۲	PLGA polymer scaffold	-----	-----
۱۰۳	ceramic scaffolds	ضایعات استخوانی	-----
۱۰۴	PLA	ضایعات استخوانی	-----

کاربرد در طب ترمیمی:

رویکرد استفاده از طب ترمیمی و مهندسی بافت، نیازمند توجه به دو مبحث کلیدی و مهم می‌باشد: (۱) طراحی داربست‌های زیست سازگار که استفاده بالینی از آن‌ها دارای کمترین میزان عوارض و فاقد هرگونه پاسخ ایمنولوژیک باشد. (۲) استفاده از سلول‌های بنیادی که با وجود توان بالا در ترمیم آسیب‌ها، کمترین عوارض بالینی را به همراه داشته باشند. با توجه به توانایی بالای تکثیر و توانایی تمایز چند رده‌ای سلول‌های MSC و خصوصاً به دلیل نقش بارز آن‌ها در اثرات تعدیل ایمنی، از این سلول‌ها می‌توان به عنوان ابزاری کاربردی در جهت اهداف سلول درمانی و ژن درمانی به منظور درمان تعداد زیادی از اختلالات مادرزادی و بیماری‌های دژنراتیو استفاده نمود (۱۰۶، ۱۰۵). بررسی‌های کلینیکی نشان می‌دهند سلول‌های MSC، در بهبود وضعیت پیوند آلوژنی سلول‌های بنیادی و کاهش عوارض ناشی از واکنش مزمن پیوند علیه میزبان (cGVHD) دارای توانایی بالا می‌باشند. در حقیقت این سلول‌ها از طریق فعال کردن لنفوسیت‌های T

مهارکننده و ترشح برخی مواد تعدیل کننده ایمنی، اثرات ضد التهابی و تعدیل ایمنی خود را بروز می‌دهند. از طرفی این سلول‌ها با اثرات پاراکرین خود، ناحیه آسیب دیده را شناسایی کرده، در آن لانه گزینی کرده و با ترشح فاکتورهای مختلف، سبب تسریع روند ترمیم ضایعه می‌شوند (۱۰۸، ۱۰۷). تاکنون از سلول‌های MSC جهت درمان شماری از بیماری‌های انسانی در مدل‌های حیوانی از قبیل بیماری استئوزنر ایمپرفکتا (osteogenesis imperfecta)، ضایعات نخاعی، بیماری پارکینسون و سگته مغزی نتایج قابل قبولی گزارش شده است (۱۱۳-۱۰۹، ۱۴).

با این وجود، گسترش استفاده از کاربردهای بالینی سلول‌های MSC به طور روتین در نمونه‌های انسانی، منوط به انجام تحقیقات بیشتر روی مدل‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک سایر پستانداران و پیگیری نتایج آن می‌باشد (۴۸). تحقیقات نشان می‌دهند که سلول‌های MSC جداسازی شده از بافت‌های مختلف، همانند سلول‌های بنیادی رویانی (ESC)، دارای قدرت بالای تمایزی به رده سلول‌های هپاتوسیت انسانی می‌باشند (۱۱۵، ۱۱۴). این در

حالی است که استفاده از سلول‌های MSC در مقایسه با سلول‌های ESC به دلیل تمایز یافتگی بیشتر و در نتیجه کاهش قدرت تومورزایی، بیشتر مورد توجه می‌باشند (۱۱۶). در تحقیقات مختلف، قدرت تمایزی سلول‌های MSC به سمت سلول‌های هپاتوسیت و سلول‌های شبه هپاتوسیت که در ترمیم بافت کبد ایفای نقش می‌کنند، مورد بررسی قرار گرفته است. به طوری که سلول‌های شبه هپاتوسیت با عملکرد بیولوژیک و متابولیک مناسب، از سلول‌های MSC انسانی تمایز یافته‌اند و می‌توانند به مدت ۲۱ روز روی داربست سلولی سه بعدی، فعال باقی بمانند (۱۱۷، ۱۱۸). بر اساس یافته دیگری مشخص شده است که الگوی گلوبال بیان ژنی در سلول‌های شبه هپاتوسیت مشتق از سلول‌های MSC انسانی، به طور مشخصی متفاوت از الگوی گلوبال بیان ژنی در سلول‌های MSC تمایز نیافته‌تر می‌باشد (۱۱۹). سلول‌های هپاتوسیت مشتق از سلول‌های MSC، علاوه بر بیان مارکرهای اختصاصی نظیر آلبومین، AFP، CK-18 و CK-19، باید از لحاظ عملکرد بیولوژیکی که با بیان آنزیم‌های سیتوکروم P450 (زیر واحدهای CYP1B1 و CYP2B6) ارزیابی می‌گردد، نیز فعال باشند (۱۲۰). در حقیقت آنزیم‌های سیتوکروم P450 که نقش مهمی در متابولیسم داروها و مواد کارسینوژن ایفا می‌کنند، در سلول‌های هپاتوسیت و شبه هپاتوسیت فعال مشتق از سلول‌های MSC، میزان بیان بالایی دارند (۱۲۱).

از کاربردهای دیگر سلول‌های MSC در مهندسی بافت، رویکرد استفاده از این سلول‌ها جهت تمایز به رده سلول‌های استخوانی و به منظور درمان ضایعات استخوانی وسیع ناشی از تروما و یا آسیب‌های پاتولوژیک دژنراتیو است. از آن جایی که استفاده از پیوند استخوانی اتولوگ دارای محدودیت‌هایی است، به کارگیری مهندسی بافت جهت ترمیم ضایعات استخوانی با استفاده از داربست‌های سه بعدی طراحی شده برای تکثیر و تمایز سلول‌های MSC مورد بحث می‌باشد (۱۲۲). در حقیقت طراحی داربستی که

بتواند به عنوان پشته‌ای مناسب برای اتصال و تکثیر سلولی، القای تمایز به رده استخوانی و ایجاد فضایی متخلخل به منظور ارتباط مناسب سلول‌های استخوانی تولید شده عمل نماید، به عنوان بحثی مهم و ضروری برای رسیدن به هدف طب ترمیمی استخوان مطرح می‌باشد. در یکی از کاربردهای بالینی می‌توان مجموعه داربست و سلول‌های MSC را به منظور بررسی توان استخوان‌سازی سلول‌های MSC، زیر استخوان جمجمه موش قرار داد. نتایج تحقیقات ما حاکی از تسریع ترمیم بافت استخوانی سینوس فکی با استفاده از سلول‌های MSC می‌باشد. در واقع بررسی‌های هیستومورفولوژیکی، نشان دهنده ایجاد سلول‌های استئوبلاستی که قدرت تشکیل یک ماتریکس استئوئید را دارند، به کمک داربست‌های دوفازی HA/TCP است (۱۲۳).

با این وجود، کاربرد مهندسی بافت در ترمیم ضایعات استخوانی به دلیل تعداد کم سلول‌های بنیادی جداسازی شده از آسپیراسیون مغز استخوان، دارای محدودیت‌هایی می‌باشد (۴۰). هم‌چنین بررسی‌های بیشتری در زمینه استفاده از داربست‌های مختلف جهت تکثیر و تمایز سلول‌های MSC و نیز پیگیری وضعیت سلول‌های MSC ایمپلنت شده از لحاظ بالینی مورد نیاز است (۱۲۴، ۱۲۵).

نتیجه‌گیری

در این تحقیق به اهمیت استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی به عنوان راه کار درمانی جهت ترمیم ضایعات بافتی پرداخته شد. برای رسیدن به این هدف، انتخاب منابع مناسب جهت جداسازی سلول‌های بنیادی مزانشیمی و هم‌چنین طراحی داربست‌های زیست سازگار و زیست تخریب‌پذیر مناسب جهت انجام تکثیر و تمایز به رده‌های مختلف سلولی حایز اهمیت می‌باشند. تحقیقات بیشتر در این زمینه می‌تواند مسیر استفاده از طب ترمیمی بر مبنای استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی را هموارتر سازد.

References :

- 1- Yin T, Li L. The stem cell niches in bone. *J Clin Invest* 2006; 116(5): 1195-201.
- 2- Mohammadi Y, Mirzadeh H, Moztaazadeh F, Soleimani M, Jabbari E. Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells on novel three-dimensional poly (L-lactic acid)/chitosan/gelatin/ β -tricalcium phosphate hybrid scaffolds. *Iranian Polymer Journal* 2007; 19(1): 57-69.
- 3- Risbud MV, Shapiro IM, Guttapalli A, Di Martino A, Danielson KG, Beiner JM, *et al.* Osteogenic potential of adult human stem cells of the lumbar vertebral body and the iliac crest. *Spine (Phila Pa 1976)* 2006; 31(1): 83-9.
- 4- Worster AA, Nixon AJ, Brower-Toland BD, Williams J. Effect of transforming growth factor beta1 on chondrogenic differentiation of cultured equine mesenchymal stem cells. *Am J Vet Res* 2000; 61(9): 1003-10.
- 5- Moerman EJ, Teng K, Lipschitz DA, Lecka-Czernik B. Aging activates adipogenic and suppresses osteogenic programs in mesenchymal marrow stroma/stem cells: the role of PPAR-gamma2 transcription factor and TGF-beta/BMP signaling pathways. *Aging Cell* 2004; 3(6): 379-89.
- 6- Yue WM, Liu W, Bi YW, He XP, Sun WY, Pang XY, *et al.* Mesenchymal stem cells differentiate into an endothelial phenotype, reduce neointimal formation, and enhance endothelial function in a rat vein grafting model. *Stem Cells Dev* 2008; 17(4): 785-93.
- 7- Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo-Pelaez F, Hazzi C, Stedeford T, Willing A, *et al.* Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells *in vitro*. *Exp Neurol* 2000; 164(2): 247-56.
- 8- Strem BM, Zhu M, Alfonso Z, Daniels EJ, Schreiber R, Beygui R, *et al.* Expression of cardiomyocytic markers on adipose tissue-derived cells in a murine model of acute myocardial injury. *Cytotherapy* 2005; 7(3): 282-91.
- 9- Aurich H, Sgodda M, Kaltwasser P, Vetter M, Weise A, Liehr T, *et al.* Hepatocyte differentiation of mesenchymal stem cells from human adipose tissue *in vitro* promotes hepatic integration *in vivo*. *Gut* 2009; 58(4): 570-81.
- 10- Sun Y, Chen L, Hou XG, Hou WK, Dong JJ, Sun L, *et al.* Differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells from diabetic patients into insulin-producing cells *in vitro*. *Chin Med J (Engl)* 2007; 120(9): 771-6.
- 11- Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp Hematol* 1976; 4(5): 267-74.
- 12- Sun S, Guo Z, Xiao X, Liu B, Liu X, Tang PH, *et al.* Isolation of mouse marrow mesenchymal progenitors by a novel and reliable method. *Stem Cells* 2003; 21(5): 527-35.
- 13- Soleimani M, Nadri S. A protocol for isolation and culture of mesenchymal stem cells from mouse bone marrow. *Nat Protoc* 2009; 4(1): 102-6.
- 14- Schwarz EJ, Alexander GM, Prockop DJ, Azizi SA, *et al.* Multipotential marrow stromal cells transduced to produce L-DOPA: engraftment in a rat model of Parkinson disease. *Hum Gene Ther* 1999; 10(15): 2539-49.
- 15- Alhadlaq A, Mao JJ. Mesenchymal stem cells: isolation and therapeutics. *Stem Cells Dev* 2004; 13(4): 436-48.
- 16- Brighton CT, Hunt RM. Early histologic and ultrastructural changes in microvessels of periosteal callus. *J Orthop Trauma* 1997; 11(4): 244-53.
- 17- Meirelles Lda S, Nardi NB. Murine marrow-derived mesenchymal stem cell: isolation, *in vitro* expansion, and characterization. *Br J Haematol* 2003; 123(4): 702-11.
- 18- Peister A, Mellad JA, Larson BL, Hall BM, Gibson LF, Prockop DJ. Adult stem cells from bone marrow (MSCs) isolated from different strains of inbred mice vary in surface epitopes, rates of proliferation, and differentiation potential. *Blood* 2004; 103(5): 1662-8.
- 19- Eslaminejad MB, Nikmahzar A, Taghiyar L, Nadri S, Massumi M. Murine mesenchymal stem cells isolated by low density primary culture system. *Dev Growth Differ* 2006; 48(6): 361-70.
- 20- Tsai MS, Lee JL, Chang YJ, Hwang SM. Isolation of human multipotent mesenchymal stem cells from second-trimester amniotic fluid using a novel two-stage culture protocol. *Hum Reprod* 2004; 19(6): 1450-6.
- 21- De Coppi P, Bartsch G Jr, Siddiqui MM, Xu T, Santos CC, Perin L, *et al.* Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nat Biotechnol* 2007; 25(1): 100-6.
- 22- Wexler SA, Donaldson C, Denning-Kendall P, Rice C, Bradley B, Hows JM. Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal 'stem' cells but umbilical cord and mobilized adult blood are not. *Br J Haematol* 2003; 121(2): 368-74.
- 23- Yu M, Xiao Z, Shen L, Li L. Mid-trimester fetal blood-derived adherent cells share characteristics similar to mesenchymal stem cells but full-term umbilical cord blood does not. *Br J Haematol* 2004; 124(5): 666-75.
- 24- Lee OK, Kuo TK, Chen WM, Lee KD, Hsieh SL, Chen TH. Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Blood* 2004; 103(5): 1669-75.
- 25- Wang JF, Wang LJ, Wu YF, Xiang Y, Xie CG, Jia BB, *et al.* Mesenchymal stem/progenitor cells in human umbilical cord blood as support for *ex vivo* expansion of CD34(+) hematopoietic stem cells and for chondrogenic differentiation. *Haematologica* 2004; 89(7): 837-44.
- 26- Romanov YA, Svintsitskaya VA, Smirnov VN. Searching for alternative sources of postnatal human mesenchymal stem cells: candidate MSC-like cells from umbilical cord. *Stem Cells* 2003; 21(1): 105-10.
- 27- Covas DT, Siufi JL, Silva AR, Orellana MD. Isolation and culture of umbilical vein mesenchymal stem cells. *Braz J Med Biol Res* 2003; 36(9): 1179-83.
- 28- Nadri S, Soleimani M. Comparative analysis of mesenchymal stromal cells from murine bone marrow and amniotic fluid. *Cytotherapy* 2007; 9(8): 729-37.
- 29- Maleki M, Parivar K, Nabionni M, Yaghmaei P, Naji M. Isolation of mouse umbilical cord mesenchymal stem cells and its differentiation to lens fiber cells. *JAUMS* 2009; 9(2): 164-170.
- 30- Kadivar M, Darvishi M, Salehi Moghadam M. Isolation, culture and characterization of human

- synovium derived mesenchymal stem cells. *Cell Journal (Yakhteh)* 2009; 11(2): 160-167.
- 31- Manochantr S, Tantrawatpan C, Kheolamai P, U-pratya Y, Supokawej A, Issaragrisil S. Isolation, characterization and neural differentiation potential of amnion derived mesenchymal stem cells. *J Med Assoc Thai* 2010; 93 Suppl 7: S183-91.
 - 32- Nadri S, Soleimani M, Kiani J, Atashi A, Izadpanah R. Multipotent mesenchymal stem cells from adult human eye conjunctiva stromal cells. *Differentiation* 2008; 76(3): 223-31.
 - 33- Gargett CE, Schwab KE, Zillwood RM, Nguyen HP, Wu D. Isolation and culture of epithelial progenitors and mesenchymal stem cells from human endometrium. *Biol Reprod* 2009; 80(6): 1136-45.
 - 34- Pourhabibi Zarandi N, Attar A, Khosravi M, Monabatti A. Serum-Free Isolation of Adipose Tissue Derived Multipotent Mesenchymal Stromal Cells. *Cell Journal (Yakhteh)* 2010; 12(1).
 - 35- Kinashi T, St Pierre Y, Springer TA. Expression of glycoposphatidylinositol-anchored and -non-anchored isoforms of vascular cell adhesion molecule 1 in murine stromal and endothelial cells. *J Leukoc Biol* 1995; 57(1): 168-73.
 - 36- Schrepfer S, Deuse T, Lange C, Katzenberg R, Reichenspurner H, Robbins RC, *et al.* Simplified protocol to isolate, purify, and culture expand mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev* 2007; 16(1): 105-7.
 - 37- Huss R. Perspectives on the morphology and biology of CD34-negative stem cells. *J Hematother Stem Cell Res* 2000; 9(6): 783-93.
 - 38- Brusnahan SK, McGuire TR, Jackson JD, Lane JT, Garvin KL, O'Kane BJ. Human blood and marrow side population stem cell and Stro-1 positive bone marrow stromal cell numbers decline with age, with an increase in quality of surviving stem cells: correlation with cytokines. *Mech Ageing Dev* 2010; 131(11-12): 718-22.
 - 39- Gronthos S, Simmons PJ. The growth factor requirements of STRO-1-positive human bone marrow stromal precursors under serum-deprived conditions *in vitro*. *Blood* 1995; 85(4): 929-40.
 - 40- Xiao Y, Mareddy S, Crawford R. Clonal characterization of bone marrow derived stem cells and their application for bone regeneration. *Int J Oral Sci* 2010; 2(3): 127-35.
 - 41- Martinez C, Hofmann TJ, Marino R, Dominici M, Horwitz EM. Human bone marrow mesenchymal stromal cells express the neural ganglioside GD2: a novel surface marker for the identification of MSCs. *Blood* 2007; 109(10): 4245-8.
 - 42- Gang EJ, Bosnakovski D, Figueiredo CA, Visser JW, Perlingeiro RC. SSEA-4 identifies mesenchymal stem cells from bone marrow. *Blood* 2007; 109(4): 1743-51.
 - 43- Modderman WE, Vrijheid-Lammers T, Löwik CW, Nijweide PJ. Removal of hematopoietic cells and macrophages from mouse bone marrow cultures: isolation of fibroblastlike stromal cells. *Exp Hematol* 1994; 22(2): 194-201.
 - 44- Falla N, Van Vlasselaer, Bierkens J, Borremans B, Schoeters G, Van Gorp U. Characterization of a 5-fluorouracil-enriched osteoprogenitor population of the murine bone marrow. *Blood* 1993; 82(12): 3580-91.
 - 45- Van Vlasselaer P, Falla N, Snoeck H, Mathieu E. Characterization and purification of osteogenic cells from murine bone marrow by two-color cell sorting using anti-Sca-1 monoclonal antibody and wheat germ agglutinin. *Blood* 1994; 84(3): 753-63.
 - 46- Wang QR, Wolf NS. Dissecting the hematopoietic microenvironment. VIII. Clonal isolation and identification of cell types in murine CFU-F colonies by limiting dilution. *Exp Hematol* 1990; 18(4): 355-9.
 - 47- Nadri S, Soleimani M. Isolation murine mesenchymal stem cells by positive selection. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2007; 43(8-9): 276-82.
 - 48- Tropel P, Noël D, Platet N, Legrand P, Benabid AL, Berger F. Isolation and characterisation of mesenchymal stem cells from adult mouse bone marrow. *Exp Cell Res* 2004; 295(2): 395-406.
 - 49- Wan C, He Q, McCaigue M, Marsh D, Li G. Nonadherent cell population of human marrow culture is a complementary source of mesenchymal stem cells (MSCs). *J Orthop Res* 2006; 24(1): 21-8.
 - 50- Majumdar MK, Thiede MA, Mosca JD, Moorman M, Gerson SL. Phenotypic and functional comparison of cultures of marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) and stromal cells. *J Cell Physiol* 1998; 176(1): 57-66.
 - 51- Phinney DG. Building a consensus regarding the nature and origin of mesenchymal stem cells. *J Cell Biochem Suppl* 2002; 38: 7-12.
 - 52- Mohammadi Y, Mirzadeh H, Moztaazadeh Fath E, Soleymani M, Jabari E. Design and Fabrication of Biodegradable Porous Chitosan/Gelatin/ Tricalcium Phosphate Hybrid Scaffolds for Tissue Engineering, *Iranian Journal of Polymer Science and Technology* 2007; 20 (3): 297-308.
 - 53- Arinzech TL, Peter SJ, Archambault MP, van den Bos C, Gordon S, Kraus K, *et al.* Allogeneic mesenchymal stem cells regenerate bone in a critical-sized canine segmental defect. *J Bone Joint Surg Am* 2003; 85-A(10): 1927-35.
 - 54- Ifkovits JL, Sundararaghavan HG, Burdick JA. Electrospinning fibrous polymer scaffolds for tissue engineering and cell culture. *J Vis Exp* 2009(32). pii: 1589
 - 55- Liao S, Murugan R, Chan CK, Ramakrishna S. Processing nanoengineered scaffolds through electrospinning and mineralization suitable for biomimetic bone tissue engineering. *J Mech Behav Biomed Mater* 2008; 1(3): 252-60.
 - 56- Li WJ, Tuli R, Okafor C, Derfoul A, Danielson KG, Hall DJ, *et al.* A three-dimensional nanofibrous scaffold for cartilage tissue engineering using human mesenchymal stem cells. *Biomaterials* 2005; 26(6): 599-609.
 - 57- Tamai H, Igaki K, Kyo E, Kosuga K, Kawashima A, Matsui S, *et al.* Initial and 6-month results of biodegradable poly-L-lactic acid coronary stents in humans. *Circulation* 2000; 102(4): 399-404.
 - 58- Kazemnejad S, Allameh A, Gharehbaghian A, Soleimani M, Amirizadeh N, Jazayeri M. Efficient replacing of fetal bovine serum with human platelet releasate during propagation and differentiation of human bone-marrow-derived mesenchymal stem cells

- to functional hepatocyte-like cells. *Vox Sang* 2008; 95(2): 149-58.
- 59- Wu W, Allen R, Gao J, Wang Y. Artificial Niche Combining Elastomeric Substrate and Platelets Guides Vascular Differentiation of Bone Marrow Mononuclear Cells. *Tissue Eng Part A* 2011; 17(15-16): 1979-92.
 - 60- Li C, Zheng Y, Wang X, Xia W, Wang X, Gao H, *et al.* Bone marrow-derived stem cells contribute skin regeneration in skin and soft tissue expansion. *J Cell Physiol* 2011; 226(11): 2834-40.
 - 61- Costa-Pinto AR, Corrello VM, Sol PC, Bhattacharya M, Srouji S, Livne E, *et al.* Chitosan-poly(butylene succinate) scaffolds and human bone marrow stromal cells induce bone repair in a mouse calvaria model. *J Tissue Eng Regen Med* 2011.
 - 62- Rada T, Santos TC, Marques AP, Corrello VM, Frias AM, Castro AG, *et al.* Osteogenic differentiation of two distinct subpopulations of human adipose-derived stem cells: an *in vitro* and *in vivo* study. *J Tissue Eng Regen Med* 2011.
 - 63- Moby V, Labrude P, Kadi A, Bordenave L, Stoltz JF, Menu P. Polyelectrolyte multilayer film and human mesenchymal stem cells: an attractive alternative in vascular engineering applications. *J Biomed Mater Res A* 2011; 96(2): 313-9.
 - 64- Nayak TR, Jian L, Phua LC, Ho HK, Ren Y, Pastorin G. Thin films of functionalized multiwalled carbon nanotubes as suitable scaffold materials for stem cells proliferation and bone formation. *ACS Nano* 2011; 4(12): 7717-25.
 - 65- Bilousova G, Hyun Jun D, King KB, Delanghe S, Chick WS, Torchia EC, *et al.* Osteoblasts Derived from Induced Pluripotent Stem Cells form Calcified Structures in Scaffolds both *in vitro* and *in vivo*. *Stem Cells* 2010.
 - 66- Suşman S, Sorişau O, Rus-Ciucă D, Tomuleasa C, Pop VI, Mişu CM. Placental stem cell differentiation into islets of Langerhans-like glucagon-secreting cells. *Rom J Morphol Embryol* 2010; 51(4): 733-8.
 - 67- Yamada Y, Nakamura S, Ito K, Sugito T, Yoshimi R, Nagasaka T, *et al.* A feasibility of useful cell-based therapy by bone regeneration with deciduous tooth stem cells, dental pulp stem cells, or bone-marrow-derived mesenchymal stem cells for clinical study using tissue engineering technology. *Tissue Eng Part A* 2010; 16(6): 1891-900.
 - 68- Baba S, Inoue T, Hashimoto Y, Kimura D, Ueda M, Sakai K, *et al.* Effectiveness of scaffolds with pre-seeded mesenchymal stem cells in bone regeneration - Assessment of osteogenic ability of scaffolds implanted under the periosteum of the cranial bone of rats. *Dent Mater J* 2010; 29(6): 673-81.
 - 69- Wong VW, Rustad KC, Galvez MG, Neofytou E, Glotzbach JP, Januszyk M, *et al.* Engineered pullulan-collagen composite dermal hydrogels improve early cutaneous wound healing. *Tissue Eng Part A* 2011; 17(5-6): 631-44.
 - 70- Taylor JA. Bilateral orbitozygomatic reconstruction with tissue-engineered bone. *J Craniofac Surg* 2010; 21(5): 1612-4.
 - 71- Eckert CE, Mikulis BT, Gottlieb D, Gerneke D, LeGrice I, Padera RF, *et al.* Three-dimensional quantitative micromorphology of pre- and post-implanted engineered heart valve tissues. *Ann Biomed Eng* 2011; 39(1): 205-22.
 - 72- Centola M, Rainer A, Spadaccio C, De Porcellinis S, Genovese JA, Trombetta M. Combining electrospinning and fused deposition modeling for the fabrication of a hybrid vascular graft. *Biofabrication* 2010; 2(1): 014102.
 - 73- Ahmed TA, Giulivi A, Griffith M, Hincke M. Fibrin glues in combination with mesenchymal stem cells to develop a tissue-engineered cartilage substitute. *Tissue Eng Part A* 2010; 17(3-4): 323-35.
 - 74- Tran CT, Gargiulo C, Thao HD, Tuan HM, Filgueira L, Michael Strong D. Culture and differentiation of osteoblasts on coral scaffold from human bone marrow mesenchymal stem cells. *Cell Tissue Bank* 2011; 12(4): 247-61.
 - 75- Gruene M, Deiwick A, Koch L, Schlie S, Unger C, Hofmann N, *et al.* Laser Printing of Stem Cells for Biofabrication of Scaffold-Free Autologous Grafts. *Tissue Eng Part C Methods* 2010.
 - 76- Spadaccio C, Rainer A, Centola M, Trombetta M, Chello M, Lusini M, *et al.* Heparin-releasing scaffold for stem cells: a differentiating device for vascular aims. *Regen Med* 2010; 5(4): 645-57.
 - 77- Guilak F, Estes BT, Diekman BO, Moutos FT, Gimble JM. Nicolas Andry Award: Multipotent adult stem cells from adipose tissue for musculoskeletal tissue engineering. *Clin Orthop Relat Res* 2010; 468(9): 2530-40.
 - 78- Park SH, Gil ES, Kim HJ, Lee K, Kaplan DL. Relationships between degradability of silk scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials* 2010; 31(24): 6162-72.
 - 79- Gastaldi G, Asti A, Scaffino MF, Visai L, Saino E, Cometa AM, *et al.* Human adipose-derived stem cells (hASCs) proliferate and differentiate in osteoblast-like cells on trabecular titanium scaffolds. *J Biomed Mater Res A* 2010; 94(3): 790-9.
 - 80- Akahane M, Shigematsu H, Tadokoro M, Ueha T, Matsumoto T, Tohma Y, *et al.* Scaffold-free cell sheet injection results in bone formation. *J Tissue Eng Regen Med* 2010; 4(5): 404-11.
 - 81- Tian H, Bharadwaj S, Liu Y, Ma PX, Atala A, Zhang Y. Differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells into bladder cells: potential for urological tissue engineering. *Tissue Eng Part A* 2010; 16(5): 1769-79.
 - 82- Ingenito EP, Sen E, Tsai LW, Murthy S, Hoffman A. Design and testing of biological scaffolds for delivering reparative cells to target sites in the lung. *J Tissue Eng Regen Med* 2010; 4(4): 259-72.
 - 83- Arrigoni E, Lopa S, de Girolamo L, Stanco D, Brini AT. Isolation, characterization and osteogenic differentiation of adipose-derived stem cells: from small to large animal models. *Cell Tissue Res* 2009; 338(3): 401-11.
 - 84- Tian H, Bharadwaj S, Liu Y, Ma H, Ma PX, Atala A, *et al.* Myogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells on a 3D nano fibrous scaffold for bladder tissue engineering. *Biomaterials* 2010; 31(5): 870-7.
 - 85- Ben-David D, Kizhner T, Livne E, Srouji S. A tissue-like construct of human bone marrow MSCs composite scaffold support *in vivo* ectopic bone formation. *J*

- Tissue Eng Regen Med 2010; 4(1): 30-7.
- 86- Yoshimi R, Yamada Y, Ito K, Nakamura S, Abe A, Nagasaka T, *et al.* Self-assembling peptide nanofiber scaffolds, platelet-rich plasma, and mesenchymal stem cells for injectable bone regeneration with tissue engineering. *J Craniofac Surg* 2009; 20(5): 1523-30.
 - 87- Vindigni V, Cortivo R, Iacobellis L, Abatangelo G, Zavan B. Hyaluronan benzyl ester as a scaffold for tissue engineering. *Int J Mol Sci* 2009; 10(7): 2972-85.
 - 88- Juffroy O, Noël D, Delanoye A, Viltart O, Wolowczuk I, Verwaerde C. Subcutaneous graft of D1 mouse mesenchymal stem cells leads to the formation of a bone-like structure. *Differentiation* 2009; 78(4): 223-31.
 - 89- Breyner NM, Hell RC, Carvalho LR, Machado CB, Peixoto Filho IN, Valério P, *et al.* Effect of a three-dimensional chitosan porous scaffold on the differentiation of mesenchymal stem cells into chondrocytes. *Cells Tissues Organs* 2010; 191(2): 119-28.
 - 90- Costa-Pinto AR, Correlo VM, Sol PC, Bhattacharya M, Charbord P, Delorme B, *et al.* Osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells seeded on melt based chitosan scaffolds for bone tissue engineering applications. *Biomacromolecules* 2009; 10(8): 2067-73.
 - 91- Panetta NJ, Gupta DM, Quarto N, Longaker MT. Mesenchymal cells for skeletal tissue engineering. *Paininerv Med* 2009; 51(1): 25-41.
 - 92- D'Alessandro D, Battolla B, Trombi L, Barachini S, Cascone MG, Bernardini N, *et al.* Embedding methods for poly(L-lactic acid) microfiber mesh/human mesenchymal stem cell constructs. *Micron* 2009; 40(5-6): 605-11.
 - 93- Martins AM, Pham QP, Malafaya PB, Raphael RM, Kasper FK, Reis RL, *et al.* Natural stimulus responsive scaffolds/cells for bone tissue engineering: influence of lysozyme upon scaffold degradation and osteogenic differentiation of cultured marrow stromal cells induced by CaP coatings. *Tissue Eng Part A* 2009; 15(8): 1953-63.
 - 94- Keskar V, Marion NW, Mao JJ, Gemeinhart RA. *In vitro* evaluation of macroporous hydrogels to facilitate stem cell infiltration, growth, and mineralization. *Tissue Eng Part A* 2009; 15(7): 1695-707.
 - 95- Moiola EK, Clark PA, Chen M, Dennis JE, Erickson HP, Gerson SL, *et al.* Synergistic actions of hematopoietic and mesenchymal stem/progenitor cells in vascularizing bioengineered tissues. *PLoS One* 2008; 3(12): e3922.
 - 96- Ciocca L, De Crescenzo F, Fantini M, Scotti R. CAD/CAM and rapid prototyped scaffold construction for bone regenerative medicine and surgical transfer of virtual planning: a pilot study. *Comput Med Imaging Graph* 2009; 33(1): 58-62.
 - 97- Yoshikawa H, Tamai N, Murase T, Myoui A. Interconnected porous hydroxyapatite ceramics for bone tissue engineering. *J R Soc Interface* 2009; 6 Suppl 3: S341-8.
 - 98- Li H, Yan F, Lei L, Li Y, Xiao Y. Application of autologous cryopreserved bone marrow mesenchymal stem cells for periodontal regeneration in dogs. *Cells Tissues Organs* 2009; 190(2): 94-101.
 - 99- Kwan MD, Slater BJ, Wan DC, Longaker MT. Cell-based therapies for skeletal regenerative medicine. *Hum Mol Genet* 2008; 17(R1): R93-8.
 - 100- Jäger M, Fischer J, Dohrn W, Li X, Ayers DC, Czibere A. Dexamethasone modulates BMP-2 effects on mesenchymal stem cells *in vitro*. *J Orthop Res* 2008; 26(11): 1440-8.
 - 101- Rooney GE, Moran C, McMahon SS, Ritter T, Maenz M, Flügel A, *et al.* Gene-modified mesenchymal stem cells express functionally active nerve growth factor on an engineered poly lactic glycolic acid (PLGA) substrate. *Tissue Eng Part A* 2008; 14(5): 681-90.
 - 102- Olivo C, Alblas J, Verweij V, Van Zonneveld AJ, Dhert WJ, Martens AC. *In vivo* bioluminescence imaging study to monitor ectopic bone formation by luciferase gene marked mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 2008; 26(7): 901-9.
 - 103- Kanczler JM, Ginty PJ, Barry JJ, Clarke NM, Howdle SM, Shakesheff KM, *et al.* The effect of mesenchymal populations and vascular endothelial growth factor delivered from biodegradable polymer scaffolds on bone formation. *Biomaterials* 2008; 29(12): 1892-900.
 - 104- Kazemnejad S, Allameh A, Soleimani M, Gharehbaghian A, Mohammadi Y, Amirzadeh N, *et al.* Development of a novel three-dimensional biocompatible nanofibrous scaffold for the expansion and hepatogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Iranian Journal of Biotechnology* 2007; 5(4): 201-211.
 - 105- Behnia H, Khojasteh A, Soleimani M, Tehranchi A, Khoshzaban A, Keshel SH, *et al.* Secondary repair of alveolar clefts using human mesenchymal stem cells. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 108(2): e1-6.
 - 106- Justesen J, Stenderup K, Kassem MS. Kassem, [Mesenchymal stem cells. Potential use in cell and gene therapy of bone loss caused by aging and osteoporosis]. *Ugeskr Laeger* 2001; 163(40): 5491-5.
 - 107- Battiwalla M, Hematti P. Mesenchymal stem cells in hematopoietic stem cell transplantation. *Cytotherapy* 2009; 11(5): 503-15.
 - 108- Bonfield TL, Nolan Koloze MT, Lennon DP, Caplan AI. Defining human mesenchymal stem cell efficacy *in vivo*. *J Inflamm (Lond)* 2010; 7: 51.
 - 109- Horwitz EM, Gordon PL, Koo WK, Marx JC, Neel MD, McNall RY, *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 U S A* 2002; 99(13): 8932-7.
 - 110- Sasaki M, Honmou O, Akiyama Y, Uede T, Hashi K, Kocsis JD. Transplantation of an acutely isolated bone marrow fraction repairs demyelinated adult rat spinal cord axons. *Glia* 2001; 35(1): 26-34.
 - 111- Hofstetter CP, Schwarz EJ, Hess D, Widenfalk J, El Manira A, Prockop DJ, *et al.* Marrow stromal cells form guiding strands in the injured spinal cord and promote recovery. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99(4): 2199-204.
 - 112- Schindehütte J, Paulus W, Mansouri A. [Stem cell therapy in Parkinson disease]. *Pharm Unserer Zeit* 2006; 35(3): 250-4.
 - 113- Chen J, Zhang ZG, Li Y, Wang L, Xu YX, Gautam SC,

- et al.* Intravenous administration of human bone marrow stromal cells induces angiogenesis in the ischemic boundary zone after stroke in rats. *Circ Res* 2003; 92(6): 692-9.
- 114- Suzuki A, Zheng YW, Kaneko S, Onodera M, Fukao K, Nakauchi H, *et al.* Clonal identification and characterization of self-renewing pluripotent stem cells in the developing liver. *J Cell Biol* 2002; 156(1): 173-84.
- 115- Huang S, Yam H, Pang C, Chen M, Gong Z, Zeng F, *et al.* [The expression of human specific proteins in liver tissue of chimeric goats engrafted with human hematopoietic stem cells]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2002; 82(13): 894-8.
- 116- O'Donoghue K, Fisk NM. Fetal stem cells. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004; 18(6): 853-75.
- 117- Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, *et al.* Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes *in vivo*. *Nat Med* 2000; 6(11): 1229-34.
- 118- Kazemnejad S, Allameh A, Soleimani M, Gharehbaghian A, Mohammadi Y, Amirzadeh N, *et al.* Biochemical and molecular characterization of hepatocyte-like cells derived from human bone marrow mesenchymal stem cells on a novel three-dimensional biocompatible nanofibrous scaffold. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24(2): 278-87.
- 119- Stock P, Staeger MS, Müller LP, Sgodda M, Völker A, Volkmer I, *et al.* Hepatocytes derived from adult stem cells. *Transplant Proc* 2008; 40(2): 620-3.
- 120- Allameh A, Esmali S, Kazemnejad S, Soleimani M. Differential expression of glutathione S-transferases P1-1 and A1-1 at protein and mRNA levels in hepatocytes derived from human bone marrow mesenchymal stem cells. *Toxicol In Vitro* 2009; 23(4): 674-9.
- 121- Raucy JL, Mueller L, Duan K, Allen SW, Strom S, Lasker JM. Expression and induction of CYP2C P450 enzymes in primary cultures of human hepatocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 302(2): 475-82.
- 122- Yamada Y, Boo JS, Ozawa R, Nagasaka T, Okazaki Y, Hata K, *et al.* Bone regeneration following injection of mesenchymal stem cells and fibrin glue with a biodegradable scaffold. *J Craniomaxillofac Surg* 2003; 31(1): 27-33.
- 123- Shayesteh YS, Khojasteh A, Soleimani M, Alikhasi M, Khoshzaban A, Ahmadbeigi N. Sinus augmentation using human mesenchymal stem cells loaded into a beta-tricalcium phosphate/hydroxyapatite scaffold. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008; 106(2): 203-9.
- 124- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, *et al.* Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284(5411): 143-7.
- 125- Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA. The role of growth factors in the repair of bone. *Biology and clinical applications. J Bone Joint Surg Am* 2002; 84-A(6): 1032-44.

Review Article

Mesenchymal stem cell; biology, application and its role in regenerative medicine

Dehghani Fard A.¹, Saki N.², Ahmadvand M.³, Mahmoodinia Maymand M.⁴,
Mosahebi Mohammadi M.¹, Soleimani M.¹

¹Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

²Research Center of Thalassemia & Hemoglobinopathy, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahwaz, Iran

³Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

⁴Sarem Hospital Stem Cell Research Center, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

Mesenchymal Stem Cells have extensive potential to proliferate and differentiate into different cell lineages. Their differentiation capability *in vivo* and *in vitro* makes them ideal tools for tissue engineering and regenerative medicine.

Materials and Methods

In the present study more than 100 recent published articles which are about isolation, culture and differentiation of MSCs were reviewed for application of MSC in regenerative medicine and tissue engineering.

Results

Clinical applications of MSCs seem to be in two distinctive lines: bio-scaffold design without immunological responses as well as multipotent stem cell without clinical obstacles.

Conclusions

MSCs due to their capacity of self-renewability, multilineage differentiation and immune modulatory effects are of great therapeutic potential for cell and gene therapy of congenital and degenerative disorders.

Key words: Mesenchymal Stem Cells, Medicine, Tissue Engineering
Sci J Iran Blood Transfus Organ 2012; 8(4):306-320

Received: 12 May 2011

Accepted: 26 Oct 2011

Correspondence: Soleimani M, PhD of Hematology. Assistant Professor of Tarbiat Modares University
P.O.Box: 14115-111, Tehran, Iran.Tel: (+9821) 88011001; Fax: (+9821)88013030
E-mail: soleimani.masoud@gmail.com