

# 不同来源骨髓间充质干细胞的体内成软骨\*\*\*

潘欣宇<sup>1</sup>, 崔颖<sup>2</sup>, 马林祥<sup>3</sup>, 王月田<sup>1</sup>, 远洋<sup>1</sup>, 王雪峰<sup>2</sup>

## Chondrometaplasia of bone marrow mesenchymal stem cells of different resources *in vivo*

Pan Xin-yu<sup>1</sup>, Cui Ying<sup>2</sup>, Ma Lin-xiang<sup>3</sup>, Wang Yue-tian<sup>1</sup>, Yuan Yang<sup>1</sup>, Wang Xue-feng<sup>2</sup>

### Abstract

**BACKGROUND:** Bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) can repair cartilage defects after induction *in vitro*. However, most of the seed cells come from autos or allograft currently.

**OBJECTIVE:** To observe the effects of the chondrometaplasia of homologous and heterogeneous BMSCs on repairing the laryngeal cartilage defects.

**METHODS:** The third generation of human embryonic BMSCs and rabbit BMSCs were involved. The two kinds of cells grew on poly lactic acid-glycolic acid scaffold, and were induced to cartilage cells after adding transforming growth factor  $\beta 1$  and cartilage morphogenetic proteins into the scaffold. The two kinds of cell systems were implanted in New Zealand rabbits. The defects were removed at 4 and 8 weeks after implantation for general and histological observation.

**RESULTS AND CONCLUSION:** The human embryonic BMSCs and rabbit BMSCs were filled with regenerated tissues at 4 and 8 weeks after implantation. Histological observation showed that most cells in the tissues were cartilage cells which could secrete glycosaminoglycan and collagen II. The two types of cell scaffold could generate cartilage cells in about the same amount, and there was no immunological rejection between them. Results revealed that the chondrometaplasia of the heterogeneous BMSCs induced by transforming growth factor  $\beta 1$  and cartilage morphogenetic proteins is similar to the homologous BMSCs for repair of the laryngeal cartilage defects.

Pan XY, Cui Y, Ma LX, Wang YT, Yuan Y, Wang XF. Chondrometaplasia of bone marrow mesenchymal stem cells of different resources *in vivo*. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(49): 9128-9132. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

<sup>1</sup>Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Graduate School, Liaoning Medical University, Jinzhou 121000, Liaoning Province, China; <sup>2</sup>Department of Otolaryngology, the First Affiliated Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou 121000, Liaoning Province, China; <sup>3</sup>Department of Otolaryngology, Affiliated Hospital of Jining Medical College, Jining 272003, Shandong Province, China

Pan Xin-yu★, Master, Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Graduate School, Liaoning Medical University, Jinzhou 121000, Liaoning Province, China xinyupan0105@163.com

Supported by: Natural Science Foundation of Liaoning Province, No. 20062198\*; Foundation for Creative Team of Education Department of Liaoning Province, No. 2007T110\*

Received: 2011-04-06  
Accepted: 2011-07-15

### 摘要

**背景:** 骨髓间充质干细胞经体外诱导后可修复软骨缺损, 但目前采用的种子细胞多来源于自体或同种异体。

**目的:** 观察同种异体及异种来源的骨髓间充质干细胞诱导成软骨后修复喉软骨缺损的效果。

**方法:** 分别取人胚胎骨髓间充质干细胞和刚出生兔骨髓间充质干细胞的第3代细胞种植于聚乳酸-羟基乙酸共聚物生物支架上, 并加入转化生长因子  $\beta 1$  和软骨形态发生蛋白诱导成软骨细胞。将两种细胞体系植入新西兰白兔体内, 并于植入后4, 8周取材行大体、组织学观察。

**结果与结论:** 植入后4, 8周人胚胎骨髓间充质干细胞和兔骨髓间充质干细胞均有新生组织填充, 经组织学观察大部分为软骨细胞, 分泌软骨细胞基质糖胺聚糖和II型胶原, 且两种细胞支架复合物所生成的软骨细胞数大致相同, 并无明显的免疫排斥反应。提示异种来源的骨髓间充质干细胞复合聚乳酸-羟基乙酸共聚物在转化生长因子  $\beta 1$  和软骨形态发生蛋白联合诱导下所得的组织工程化软骨, 与同种来源的骨髓间充质干细胞所获得的组织工程化软骨修复喉软骨缺损具有可比性。

**关键词:** 骨髓间充质干细胞; 异种; 同种异体; 聚乳酸-羟基乙酸共聚物; 软骨组织工程

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.49.002

潘欣宇, 崔颖, 马林祥, 王月田, 远洋, 王雪峰. 不同来源骨髓间充质干细胞的体内成软骨[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(49):9128-9132. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

## 0 引言

各种疾病引起的软骨缺损多年来一直困扰着耳鼻喉科医师。由于软骨细胞缺乏再生能力, 选择合适的种子细胞是修复软骨缺损需首要解决的问题。

存在于骨髓中的骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)取材方便, 来源广泛, 并且具有向多种细胞系转化的潜能, 在一定环境下和特异的因子诱导下, 可分化为多种细胞<sup>[1]</sup>。但是, 由于人BMSCs来源有限, 且大多数来源于成体, 增殖能力差, 因此, 探索异种来源的BMSCs具有重要的意

义。

本实验采用异种来源的BMSCs修复兔喉软骨缺损, 对其修复效果进行评估, 以期耳鼻喉科遇到的软骨缺损问题提供新的途径和方法。

## 1 材料和方法

**设计:** 随机对照动物实验。

**时间及地点:** 于2009-11/2010-07在辽宁医学院耳鼻喉实验室完成。

**材料:** 辽宁医学院附属第一医院自然流产20周左右的胚胎, 胚胎的使用经孕妇的同意<sup>[2]</sup>, 且得到辽宁医学院医学伦理委员会批准。刚出

生的新西兰白兔1只; 3月龄新西兰白兔24只, 体质量3.0~4.0 kg, 雌雄不限, 清洁级, 由辽宁医学院动物实验中心提供, 许可证号: SCXK(辽)2009-0004。实验过程中对动物的处置符合动物伦理学要求<sup>[3]</sup>。

#### 主要试剂及仪器:

| 试剂及仪器  | 来源              |
|--|-----------------|
| DMEM 培养基   | 美国 Gibco 公司     |
| 淋巴细胞分离液  | 上海华精生物科技有限公司    |
| 胎牛血清   | 杭州四季青公司         |
| 胰蛋白酶   | 美国 Sigma 公司     |
| 转化生长因子 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)、软骨形态发生蛋白 1 (CDMP1) | 美国 PeproTech 公司 |
| S-P 试剂盒、鼠抗人或抗兔 II 型胶原单克隆抗体   | 北京博奥森生物技术有限公司   |
| 聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA)                                  | 济南岱罡生物材料有限公司    |
| CO <sub>2</sub> 培养箱  | 德国 Heraeus 公司   |
| 低速离心机 5100   | 日本 KUBOTA 公司    |
| 超净工作台  | 上海贺立氏公司         |
| 酶联免疫检测仪  | 美国 HERUS 公司     |
| 倒置显微镜  | 日本 OLYMPUS 公司   |

#### 方法:

**BMSCs 的分离、培养、纯化<sup>[4-5]</sup>:** 常规消毒 2 周左右流产胚胎(胚胎的使用经孕妇同意), 在无菌条件下分离两侧股骨, 分别剪开股骨两端, 用不含血清的 L-DMEM 冲洗骨髓腔, 将冲出的骨髓液用 4 号针头反复吹打, 100 目筛网过滤, 滤液转入离心管, 用淋巴细胞分离液进行密度梯度离心, 后经 2 000 r/min 离心 20 min, 取单核细胞层, 用无血清 L-DMEM 洗涤细胞两次, 2% 锥虫蓝染色, 细胞计数, 以  $5 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$  左右的浓度接种于培养瓶中。用含体积分数 10% 胎牛血清的 L-DMEM 于 37 °C, 体积分数 5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度的孵箱培养。48 h 首次换液, 以后每隔两三天换 1 次液。待贴壁细胞铺满瓶底时, 0.25% 胰蛋白酶消化, 按照 1:3 比例传代。

兔 BMSCs 的原代分离、培养、纯化的培养方法同上。实验动物采用刚出生的健康新西兰白兔, 雌雄不限。

**细胞活率的测定<sup>[6]</sup>:** 分别取两种细胞的单细胞悬液接种于 96 孔培养板,  $1 \times 10^4$  /孔, 每孔培养液总量 200  $\mu\text{L}$ , 37 °C, 体积分数 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h, 加入 MTT 液 (20  $\mu\text{L}$  /孔), 继续培养 4 h。吸出孔内培养液, 加入 DMSO 液 (150  $\mu\text{L}$  /孔),

室温下, 将平板置于微孔板振荡器上振荡 10 min, 使结晶物溶解。酶标仪检测各孔吸光度(A)值(570 nm)。

**细胞表面标志物的鉴定<sup>[7]</sup>:** 由于抗兔的抗体较少, 本实验只做人 BMSCs 鉴定。取一瓶达到 80%~90% 融合的细胞, 0.25% 的胰酶消化, 当在镜下观察细胞之间的间隙明显增大时, 终止消化, PBS 洗 2 次, 将消化的细胞重新悬浮, 2% 锥虫蓝染色, 显微镜下计数。以  $5 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$  的浓度将细胞平均分装在流式管中, 分别加入 5  $\mu\text{L}$  FITC 标记的 CD34、HLA-DR、CD45、CD90, PE 标记的 CD166、CD44 及其相对应的同型对照 IgG, 4 °C 避光孵育 30 min。PBS 洗去未结合的抗体, 细胞沉淀中加入 500  $\mu\text{L}$  流式固定液固定, FACS 流式细胞仪鉴定。

**BMSCs 定向诱导为软骨细胞及于支架的复合:** 分别取人和兔的第 3 代细胞, 以  $5 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$  的浓度制成细胞悬液, 缓缓加入含有 TGF- $\beta$ 1 和 CDMP1 的软骨诱导液, 终浓度分别为 10  $\mu\text{g/L}$  和 300  $\mu\text{g/L}$ 。将加入生长因子的细胞悬液滴加到 PLGA 生物支架上, 每三四天更换 1 次诱导液, 诱导 21 d。

**动物模型及实验分组<sup>[8-9]</sup>:** 取 24 只 3 月龄新西兰白兔, 按随机数字表法分为 3 组。耳缘静脉注射 4% 异戊巴比妥 (60 mg/kg) 麻醉, 将实验动物固定于手术台上, 颈部剃毛, 常规消毒, 铺无菌洞巾, 颈前正中切口, 分离皮下及肌层, 暴露甲状软骨, 在左侧做一 0.5 cm  $\times$  0.5 cm 全层软骨缺损, 不能穿透喉黏膜。将上述细胞支架复合物移植动物体内。实验组动物植入人胚胎 BMSCs 细胞支架复合物; 对照组动物植入兔 BMSCs 细胞支架复合物; 空白组植入用生理盐水浸湿的 PLGA 支架。用缝线稍做固定。逐层缝合肌层。植入后 3 d, 每日每只动物耳缘静脉注射青霉素  $160 \times 10^4 \text{ U}$ 。

**主要观察指标:** ①倒置显微镜下观察原代及传代细胞的生长和发育情况。②MTT 检测细胞活率。③流式细胞仪鉴定 BMSCs 表面标志。④于植入后 4, 8 周, 每组处死 4 只动物, 取材固定, 组织切片。观察大体外观, 阿利新蓝染色及免疫组织化学 S-P 法测软骨糖胺聚糖和 II 型胶原的表达。

**统计学分析:** 由第一作者采用 SSPS 17.0 统计软件完成统计处理, 所得数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 对各组的均值进行多个样本均数间的多重比较, 两组间比较采用 *t* 检验, 以  $P < 0.05$  为差异有显著性意义。

<sup>1</sup> 辽宁医学院研究生学院耳鼻咽喉头颈外专业, 辽宁省锦州市 121000; <sup>2</sup> 辽宁医学院附属第一医院耳鼻咽喉科, 辽宁省锦州市 121000; <sup>3</sup> 济宁医学院附属医院耳鼻咽喉科, 山东省济宁市 272003

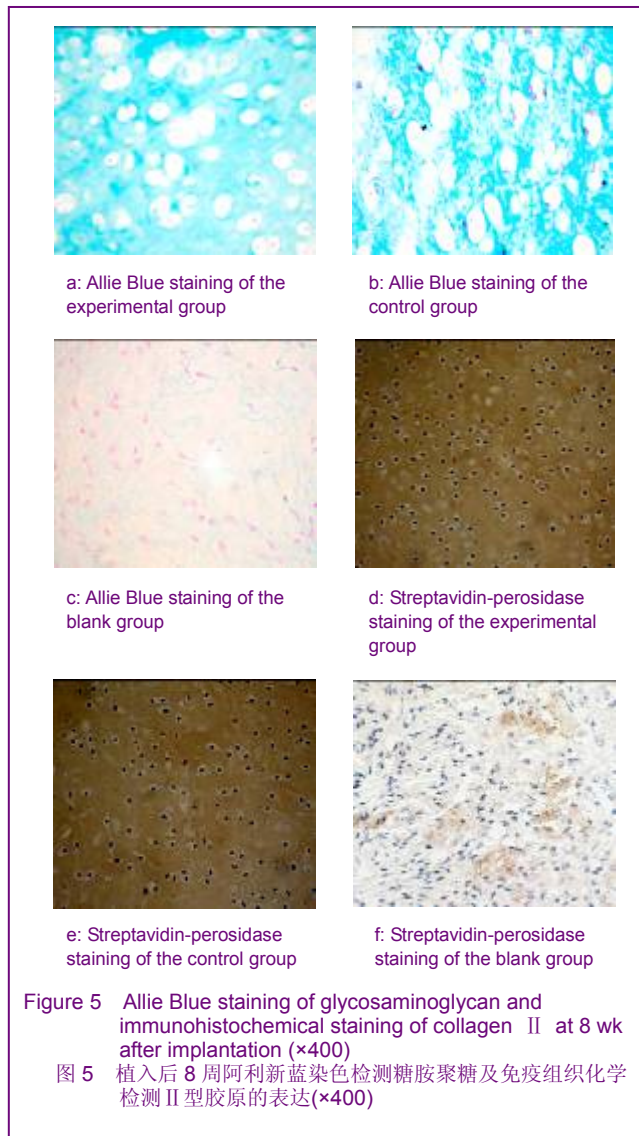
潘欣宇★, 女, 辽宁省大石桥市人, 汉族, 2011 年辽宁医学院毕业, 硕士, 主要从事骨髓间充质干细胞定向分化为软骨及软骨组织重建研究。  
xinyupan0105@163.com

中图分类号: R394.2  
文献标识码: A  
文章编号: 1673-8225  
(2011)09-09128-05

收稿日期: 2011-04-06  
修回日期: 2011-07-15  
(20110228017/G · L)



阳性面积大致相同; 空白组阴性表达。植入后8周实验组和对照组糖胺聚糖及II型胶原均为强阳性, 并且阳性面积大致相同, 均较4周时增多, 空白组仍呈阴性表达, 见图5。



用Image-proplus图像分析软件对II型胶原染色面积进行分析。所得结果为4周时实验组、对照组、空白组II型胶原阳性率分别为(36.37±0.84)%, (36.40±1.35)%和(5.07±0.70)%。8周时分别为(82.87±3.66)%、(84.65±3.91)%和(5.51±0.72)%。实验组和对照组II型胶原染色面积大致相同, 差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。实验组和对照组II型胶原染色面积均明显高于空白组( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

软骨组织工程技术是一门生物学与材料学结合的新兴学科, 它将体外分离的组织细胞种植于降解材料支架上, 在体外或体内培养最终形成新的工程化软

骨组织<sup>[10-11]</sup>。若想将此技术应用于临床, 构建工程化软骨需要数量众多、增殖能力强的种子细胞, 而自体、同种异体的种子细胞来源有限。本实验尝试采用不同种属来源的BMSCs进行体外培养, 扩增及定向诱导, 继而复合PLGA生物支架修复兔的喉软骨缺损, 证实了异种BMSCs和同种异体BMSCs所获得的组织工程化软骨修复软骨缺损的效果具有可比性, 异种BMSCs可为软骨组织工程提供数量众多及增殖能力更强的优质种子细胞。

细胞因子是具有刺激细胞生长活性的生物因子。TGF- $\beta$ 超家族是一类结构相关的多肽类多功能调节蛋白, 可以下调蛋白水解酶活性受体的mRNA表达, 抑制蛋白多糖的丢失<sup>[12]</sup>。TGF- $\beta$ 在哺乳动物组织中有TGF- $\beta$ 1、TGF- $\beta$ 2、TGF- $\beta$ 3, 及TGF- $\beta$ 4种形式<sup>[13]</sup>。其中TGF- $\beta$ 1是诱导BMSCs向软骨细胞分化的主要细胞因子, 能刺激软骨细胞分泌蛋白聚糖和II型胶原, 并保持软骨细胞表型稳定<sup>[14]</sup>。而且TGF- $\beta$ 1能减轻炎症反应, 有利于炎症中的软骨修复<sup>[15]</sup>。软骨形态发生蛋白是一种多肽生长因子, 具有特异的软骨诱导能力, 可在异位诱导软骨形成<sup>[16]</sup>。Spiro等<sup>[17]</sup>的一系列体内、外实验证明, 软骨形态发生蛋白具有诱导活性, 可诱导BMSCs分化为软骨细胞。本课题的前期试验证明两种因子联合应用可以提高BMSCs分化为软骨的能力, 因此本实验将两种因子联合应用, 以提高软骨缺损的修复效果。

Kuboki等<sup>[18]</sup>认为组织工程支架应该具有三维多孔结构, 一定孔径、孔隙率的支架是细胞与周围环境进行营养物质交换, 促进组织再生、修复的必要条件。PLGA可根据需要改变材料的组成, 降解率、孔隙及形状具有可控性, 并有一定的机械强度和三维立体结构等, 是目前软骨组织工程较适宜的支架材料。故本实验采用PLGA作为支架材料, 为细胞提供良好的生长环境。

BMSCs最初是由Friedenstein等<sup>[19]</sup>提出的, 由于其来源广泛, 取材容易, BMSCs被认为是理想的种子细胞来源之一, 在细胞替代治疗、基因治疗及组织器官再造中具有重要临床应用价值<sup>[20-21]</sup>, 并且由于其具有多向分化潜能, 可定向分化为骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、心肌细胞以及神经细胞, 在软骨组织工程中的应用前景非常广阔<sup>[22-23]</sup>。同时BMSCs具有低免疫原性, 有实验证明BMSCs缺少T细胞活化所需的第一信号和第二信号系统, 从而不会引起T淋巴细胞增殖。还有实验证明BMSCs可分泌白细胞介素2, 6, 7, 8, 10, 11~15、 $\gamma$ -干扰素、肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 等细胞因子<sup>[24]</sup>。其中部分因子可抑制T细胞和B细胞的增殖, 影响树突细胞的成熟从而降低其抗原递呈作用<sup>[25]</sup>。有实验将BMSCs与同种异体淋巴细胞在体外共同培养, 发现BMSCs并没有引起淋巴细胞的显著增殖, 经定向分化所得成骨细胞、软骨细胞、心肌细胞、脂肪细胞等多种类型的细胞亦如此<sup>[26]</sup>。同时软骨基质的抗原性较弱, 对于包埋于其

中的软骨细胞有保护作用。因此异种来源的BMSCs修复软骨缺损在理论上具有一定的可行性。本实验分别用人胚胎BMSCs及兔BMSCs两种细胞修复兔喉软骨缺损, 对术后4, 8周缺损修复处的外观及组织学进行比较。结果显示, 异种实验组及同种实验组的修复效果及修复速度大致相同, 均未见明显免疫排斥反应。术后8周时实验组软骨缺损处均被新生的软骨样组织所填充, 组织学观察缺损处有软骨细胞生成并逐渐成熟, 形成软骨陷窝。

软骨主要由胶原纤维和蛋白聚糖构成, 而软骨细胞的主要功能是分泌胶原蛋白和酸性黏多糖, 其中II型胶原占大部分, 它和糖胺聚糖是软骨细胞的特征性标志<sup>[27]</sup>。本实验采用免疫组织化学和阿利新蓝染色方法对缺损处的组织工程软骨的II型胶原和糖氨聚糖进行检测。统计学分析, 两实验组糖胺聚糖和软骨II型胶原的分泌量差异无显著性意义( $P > 0.05$ ), 且均好于单纯支架组, 差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。证明了异种BMSCs生物支架复合体和同种异体BMSCs生物支架复合体在实验动物体内均可以形成成熟的组织工程软骨。

综上所述, 异种来源的BMSCs与同种来源的BMSCs所获得的组织工程化软骨修复喉软骨缺损具有可比性。提示异种BMSCs可为软骨组织工程提供来源更广、增殖能力更强的优质种子细胞。

#### 4 参考文献

[1] Bernardo ME, Locatelli F, Fibble WE. Mesenchymal stromal cells. *Ann N Y Acad Sci*. 2009; 1176: 101-117.

[2] State Council of the People's Republic of China, Administrative Regulations on Medical Institution. 1994-09-01. 中华人民共和国国务院. 医疗机构管理条例. 1994-09-01.

[3] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance Suggestions for the Care and Use of Laboratory Animals. 2006-09-30. 中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见. 2006-09-30.

[4] Han JN, Xu FC, Hou YQ, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2008; 12(3): 429-432. 韩济南, 徐富翠, 侯艳秋, 等. 体外全骨髓法培养人骨髓间充质干细胞的生物学性状[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(3): 429-432.

[5] Li RS, Zhang H, Wang CJ, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2010; 14(10): 1869-1873. 李鲁生, 张涵, 王成俊, 等. 骨髓间充质干细胞的分离方法和生物学特性[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14(10): 1869-1873.

[6] Dai G, Huang C, Li Y, et al. *Shengli Xuebao*. 2006; 58(2): 110-115. 戴国, 黄畅, 李焯, 等. AcSDKP抑制体外培养条件下人骨髓间充质干细胞的增殖[J]. *生理学报*, 2006, 58(2): 110-115.

[7] Elabd C, Basillais A, Beanpied H, et al. Oxytocin controls differentiation of human mesenchymal stem cells and reverses osteoporosis. *Stem Cells*. 2008; 26(9): 2399-2407.

[8] Zhao DQ, Chen WX, Li GZ, et al. *Zhonghua Erbi Yanhouke Zazhi*. 2002; 37(2): 112-113. 赵大庆, 陈文弦, 李贵泽, 等. 同种异体软骨修复甲状软骨缺损的实验研究[J]. *中华耳鼻咽喉科杂志*, 2002, 37(2): 112-113.

[9] Luo JS, Chen WX, Cui PC, et al. *Zhongguo Linchuang Kangfu*. 2005; 9(18): 70-71. 罗家胜, 陈文弦, 崔鹏程, 等. 异种骨载体复合骨形态发生蛋白修复兔甲状软骨缺损的实验[J]. *中国临床康复*, 2005, 9(18): 70-71.

[10] Kim IY, Seo SJ, Moon HS, et al. Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications. *Biotechnol Adv*. 2008; 26(1): 1-21.

[11] Chen FH, Rousche KT, Tuan RS. An analysis of the quality of cartilage repair studies. *J Bone Joint Surg Am*. 2005; 87(10): 2232-2239.

[12] Xiang Y, Masuko-Hongo K, Sekine T, et al. Expression of proteinase-activated receptors (PAR)-2 in articular chondrocytes is modulated by IL-1beta, TNF-alpha and TGF-beta. *Osteoarthritis Cartilage*. 2006; 14(11): 1163-1173.

[13] Moulharat N, Lesur C, Thomas M, et al. Effects of transforming growth factor beta on aggrecanase production and proteoglycan degradation by human chondrocytes in vitro. *Osteoarthritis Cartilage*. 2004; 12(4): 296.

[14] Palmer GD, Steinert A, Pascher A, et al. Gene-induced chondrogenesis of primary mesenchymal stem cells in vitro. *Mol Ther*. 2005; 12(2): 219-228.

[15] Kofron MD, Laurencin CT. Orthopaedic applications of gene therapy. *Current Gene Therapy*. 2005; 5(1): 37-61.

[16] Gruber R, Mayer C, Bobacz K, et al. Effect of cartilage-derived morphogenetic proteins and osteogenic protein-1 on osteochondrogenic differentiation of periosteum-derived cells. *Endocrinology*. 2001; 142(5): 2087-2094.

[17] Spiro RC, Liu L, Heidaran MA, et al. Inductive activity of recombinant human growth and differentiation factor-5. *Biochem Soc Trans*. 2000; 28(4): 284-368.

[18] Kuboki Y, Takita H, Kobayashi D, et al. BMP-induced osteogenesis on the surface of hydroxyapatite with geometrically feasible and nonfeasible structures: topology of osteogenesis. *Biomed Mater Res*. 1998; 39(2): 190-199.

[19] Friedenstein AJ, Chailakhyan PK, Gerasimov UV. Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation in diffusion chamber. *Cell Tissue Res*. 1987; 20(3): 263-272.

[20] Van Damme A, Vanden Driessche T, Collen D, et al. Z. Bone marrow stromal cells as targets for gene therapy. *Current Gene Therapy*. 2002; 2(2): 195-209.

[21] Mohamadnejad M, Alimoghaddam K, Mohyeddin-Bonab M, et al. Phase I trial of autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with decompensated liver cirrhosis. *Arch Iran Med Pittenger MF*. 2007; 10(4): 459-466.

[22] Lysy PA, Campard D, Smets F, et al. Stem cells for liver tissue repair: current knowledge and perspectives. *World J Gastroenterol*. 2008; 14(6): 864-875.

[23] Chamberlain G, Fox J, Ashton B, et al. Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. *Stem Cells*. 2007; 25(11): 2739-2749.

[24] Guo J, Lin GS, Bao CY, et al. Anti-inflammation role for mesenchymal stem cells transplantation in myocardial infarction. *Inflammation*. 2007; 30(3-4): 97-104.

[25] Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood*. 2005; 105(4): 1815-1822.

[26] Popp FC, Eggenhofer E, Renner P, et al. Mesenchymal stem cells can induce long-term acceptance of solid organ allografts in synergy with low-dose mycophenolate. *Transpl Immunol*. 2008; 20(1-2): 55-60.

[27] Bosnakovski D, Mizuno M, Kim G, et al. Chondrogenic differentiation of bovine bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs) in different hydrogels: influence of collagen type II extracellular matrix on MSC chondrogenesis. *Biotechnol Bioeng*. 2006; 93(6): 1152-1163.

#### 来自本文课题的更多信息—

**基金资助:** 辽宁省自然科学基金资助(20062198); 辽宁省教育厅创新团队资助(2007T110)。

**作者贡献:** 实验由第一作者设计、实施, 通讯作者评估, 均通过正规培训, 未采用盲法评估。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**伦理批准:** 胚胎的使用经孕妇同意, 且得到辽宁医学院医学伦理委员会批准; 实验中对动物的处置符合动物伦理学要求。

**本文创新性:** 检索 CNKI 数据库、重庆维普数据库、Pubmed 数据库 2000/2010 的相关文章, 发现现阶段国内外的研究多采用同种异体或自体的 BMSCs 作为种子细胞进行软骨缺损修复, 采用异种来源 BMSCs 作为种子细胞的实验较少。文章采用异种来源的 BMSCs 复合 PLGA 在 TGF-β1 和软骨形态发生蛋白联合诱导下所得的组织工程化软骨修复喉软骨缺损。结果证明, 异种来源的 BMSCs 与同种来源的 BMSCs 所获得的组织工程化软骨修复喉软骨缺损具有可比性。异种来源的 BMSCs 可能成为软骨缺损修复的新的种子细胞, 为耳鼻喉科及骨科的软骨缺损修复提供了新的思路和方法。