

干细胞的基础研究及其临床应用前景

李婷¹, 陈莉智¹, 黄文华^{1,2}

1. 南方医科大学基础医学院人体解剖学国家重点学科, 广东 广州 510515; 2. 广东省医学3D打印应用转化工程技术研究中心, 广东 广州 510515

【摘要】干细胞是一类较为原始的细胞群体,具有极强的更新复制和增殖分化能力,主要分为两大类,包括胚胎干细胞和成体干细胞。近年来,随着科研人员对细胞研究的深入,造血干细胞、间充质干细胞、神经干细胞逐渐成为生物医学领域中极有价值的研究热点。随着干细胞分离、提取、纯化技术的不断发展,且因其特有的生物特性,干细胞在组织修复和再生医学上的应用获得突破性进展,并在临床治疗中发挥重要作用。除此之外,干细胞在药物研发、分子影像示踪以及3D支架等技术中也充当重要角色。针对干细胞在基础科学研究以及临床治疗的作用进行综述,为进一步深入干细胞疗法和提升干细胞研究技术提供参考。

【关键词】干细胞;基础科学研究;临床治疗;分离纯化;增殖潜能;综述

【中图分类号】R329.27

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2019)11-1325-05

Progress in basic research on stem cells and its clinical application prospects

LI Ting¹, CHEN Lizhi¹, HUANG Wenhua^{1,2}

1. National Key Discipline of Human Anatomy, School of Basic Medical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. Guangdong Province Medical 3D Printing Application Transformation Engineering Technology Research Center, Guangzhou 510515, China

Abstract: Stem cells, a kind of primitive cell population with strong ability of renewal, replication, proliferation and differentiation, are mainly divided into two categories, namely embryonic stem cells and adult stem cells. In recent years, with the further in-depth research on cells, several kinds of cells, including hematopoietic stem cells, mesenchymal stem cells and neural stem cells, have become valuable research topics in biomedical sciences. Because of the continuous development of stem cell isolation, extraction, purification technologies and the unique biological characteristics of stem cells, the application of stem cells in tissue repair and regenerative medicine has achieved breakthrough progresses, and they play an important role in clinical treatment. In addition, stem cells play a major role in drug development, molecular imaging, and 3D scaffolds. Herein the roles of stem cells in basic scientific research and clinical treatment are reviewed, so as to provide references for the further research on stem cell therapy and the development of techniques in stem cell research.

Keywords: stem cell; basic scientific research; clinical treatment; isolation and purification; proliferation potential; review

前言

干细胞是一类具有极强自我更新复制和高度增殖分化功能的原始细胞群体,已成为20世纪90年代以来生物医学领域中最受关注的研究热点。随着细胞生物

学技术的不断完善和发展,干细胞已作为“种子细胞”在体外诱导分化成不同类型的组织和器官。其强大的自我更新和多向分化功能让它在一定条件下,可以分化为成体干细胞,并成为各类疾病细胞疗法和基因疗法的首选靶细胞^[1]。由于干细胞具有多系谱分化的可塑性,它能够在特定的环境中分化增殖并形成多种组织器官,因此在再生医学中也具有广阔的发展前景^[2-3]。另外,当前在干细胞的培养方法方面大多数以2D培养为主,但由于干细胞生长对培养基结构和营养物质释放等需求的增加,干细胞3D支架培养技术也不断受到关注,并成为组织工程的研究热点^[4]。本文针对干细胞在基础科学领域的研究以及其在临床治疗中的应用进

【收稿日期】2019-05-21

【基金项目】国家重点研发计划(2017YFC1103400);国家自然科学基金(21773199,61427807)

【作者简介】李婷,硕士在读,研究方向:生物3D打印、成软骨细胞, E-mail: 897379764@qq.com

【通信作者】黄文华,教授,博士生导师,研究方向:人体解剖学、医学3D打印, E-mail: huangwenhua2009@139.com

展进行综述,并就干细胞在3D打印支架技术的发展领域提出展望。

1 干细胞的生物学特性

干细胞是一类同时具有自我复制与多向分化潜能的细胞,也是人体造血组织与其他组织中最为原始的细胞,在医学生物领域被称为“万用细胞”^[5]。干细胞因其来源丰富、易于获取,目前已成为医学研究的热点。它具有多种生物特性,其中最主要的是其自我更新能力、多向分化潜能和高度增殖能力^[6]。这些生物特性为干细胞研究提供有效的研究途径和支撑,帮助干细胞在医学生物领域中不断深入发展。

1.1 干细胞强大的自我更新、自我稳定能力

干细胞的生长主要是通过对称分裂和非对称分裂两种方式进行。干细胞不仅可以发生对称分裂,形成与自身表型、基因型一致的子代细胞,也可以通过非对称分裂形成不同类别的子代细胞^[7]。干细胞产生分裂后,其子细胞与母细胞保持一致,但是同时分别保留其自身原有的细胞生物特性^[1]。干细胞在机体内形成后,始终具有自我更新能力,能够良好地维持机体组织器官内的稳定性,从而使得组织器官保持生长和衰亡的动态平衡^[2]。

1.2 干细胞具有极强的多向分化能力

干细胞具有极强的多向分化能力,既可以连续分裂,也可以在较长的时间内保持静止状态。它既可以分化成各种不同的胚层组织细胞,也能够分化成同一系统各谱系的细胞^[3]。干细胞能够分化成多类细胞类型,然而不同的干细胞,其分化的潜能也有所不同。例如,胚胎干细胞(Embryonic Stem Cells, ESC)的分化具有全能性,能够分化发育出形成机体的任一组织器官^[8];成体干细胞则发育到一定的阶段甚至是成体,仍有部分细胞能够进行分化,并且发挥组织的更新和修复作用。干细胞多向分化的潜能,为损伤组织的修复再造提供巨大动力,因而干细胞研究在再生医学领域也受到广泛关注。

1.3 干细胞高度增殖能力

干细胞本身的数量不是很多,但由于其具有多能性,可以通过对其体外增殖进行数量的扩增,进而对其研究^[1]。因此,干细胞的高度增殖能力具有极其重要的意义。高度增殖作为干细胞的生物特性之一,不仅能够维持体内的正常功能,并且在体外进行扩增,也给研究和应用提供有效途径。例如,造血干细胞能够通过高速扩增,补充正常细胞衰亡所缺失的血细胞。而经过体外增殖培养所获得的干细胞,则能够为后期的研究需要给予提供和支持。

2 干细胞的分类

目前研究人员发现,通过对各类组织和器官的分离,能够获取干细胞。例如,在发育早期的胚泡内细胞群或原始生殖嵴中可以分离出ESC^[8-9];在特定的诱导后,发育早期的中胚层和外胚层能够分化出骨髓、软骨、肌肉、肌腱等组织细胞,并且可以从中提取成体干细胞。按照干细胞的来源、分化潜能以及发育阶段,干细胞主要包括两大类:ESC和成体干细胞。

2.1 ESC

ESC也称全能干细胞。它是经过对受孕3~5 d、未着床的囊胚期内细胞团分离培养所得到的干细胞,具有无限增殖和三胚层分化的潜能。ESC的形态和体积较小,细胞核较大,核内可见一个或几个核仁。ESC在体外抑制分化培养时,呈较为紧密的排列,各细胞间界限不清楚。在特定的体外环境下,ESC化成多种细胞系,这可以为研究各类细胞发育生长建立模型^[9]。由于ESC的多向分化和增殖能力,科研人员已将它运用于发育学、转基因生物生产、克隆动物、药物开发和筛选、组织器官修复和移植治疗等多个领域,并取得重大的成果和进展。杨国宏等^[9]建立500余个与癌症和心血管疾病等人类疾病相关的动物模型,并将这些模型用于药物筛选中,借助ESC模拟体内细胞对于药物的反应,进而为药物筛选提供更好的模型。

2.2 成体干细胞

成体干细胞指的是一类始终保留增殖和分化潜能的成年个体组织中的干细胞,主要包括骨髓间充质干细胞(NSC)、脂肪间充质干细胞、脐血间充质干细胞、神经干细胞、表皮干细胞、牙髓干细胞等^[10-11]。与ESC相比,成体干细胞更易于在组织来源的细胞方向进行定向诱导分化,因此更易于向机体所需的组织细胞分化培养,发挥组织细胞损伤的修复作用^[12]。其中,间充质干细胞不仅具有强大的增殖分化能力,还有特殊的免疫调控特性,能够多方面同时进行作用,对某些免疫性疾病如多发性硬化症进行调控治疗^[13]。骨髓间充质干细胞是成体干细胞家庭中的重要一员,由于其易于提取、来源广泛且具有干细胞的生物特性,使其在组织细胞移植、基因治疗领域中发挥重要作用。

3 干细胞的应用

3.1 干细胞在椎间盘退行性病变的研究

椎间盘退行性病变往往会引起严重的腰痛,给患者的日常生活产生负面的影响。它作为一种普遍存在的慢性疾病,尽管通过卧床休息、理疗、抗炎药物治疗以及手术治疗等方法能够短暂或一定程度上减轻椎间盘退行性病变给患者带来的痛苦,但依然无法从根本上

上解决问题^[14]。近年来,干细胞移植技术成为生命科学的研究热点,因此干细胞疗法在椎间盘退行性病变的应用也受到广泛关注。干细胞移植处理椎间盘退行性病变,其目的是植入生物活性因子或细胞以达到移植异常细胞因子的生成,或刺激细胞外基质的合成,这样就能更有效地促进椎间盘的修复再生。Yoshikawa等^[15]通过注射脐带间充质干细胞至两名经过椎间盘造影术后病人的椎间盘内24个月,其腰痛和功能均有所改善。

目前,间充质干细胞、造血干细胞等被广泛应用于干细胞移植椎间盘治疗,其中间充质干细胞主要来源于骨髓、软骨、脐带血、软骨组织等^[16]。Chun等^[17]将脂肪干细胞移植入兔椎间盘损伤模型,结果发现脂肪干细胞能够增加细胞外基质的生成。这些研究阐释了不同的间充质干细胞移植于椎间盘内都能有缓解椎间盘退行性病变的作用。

3.2 干细胞向生殖细胞分化的研究

由于配子质量问题、生殖细胞早衰或减少等造成人类生殖障碍疾病,人类面临的生殖问题没有得到良好的解决。如果能够在体外通过诱导干细胞分化生成生殖细胞,在人类辅助生殖技术的帮助下,会为生殖系统疾病的患者带来福音。

干细胞是一类具有强大的分化能力的特殊细胞,它能够在一定的诱导条件下分化出各类不同的细胞。近年来,有研究发现,干细胞可以在特定的体外诱导环境中,诱导分化出早期生殖细胞、卵母细胞样细胞以及精子样细胞等细胞。Saitou团队在2012年通过动物实验证明,雌性小鼠的ESC在体外诱导分化后所形成的原始生殖细胞样细胞,与雄性纤维细胞混合形成“卵巢”,一并移植入受体鼠的卵巢囊膜下,能够获得功能性的卵母细胞^[17-18]。这为干细胞向生殖细胞分化提供了有力的证明,也为干细胞在生殖医学领域的应用提供有力的支持和依据。

3.3 干细胞在肝脏疾病上的治疗

干细胞疗法作为一种新的医疗技术,在多种肝脏损伤和疾病中发挥重要作用。有研究指出,间充质干细胞能够在特定的条件下通过分化生成肝样细胞,并参与肝脏疾病中的免疫调节、细胞增殖和损伤修复等^[19]。2001年Yamada等^[20]通过实验证明拟胚体具有诱导分化为干细胞的能力,同时验证ESC可以分化为肝细胞。吴玉卓等^[21]通过将84名肝功能失代偿期患者随机分为试验组和对照组进行临床试验,对于试验组进行常规治疗加肝左右动脉骨髓间充质干细胞移植治疗,随访两年后发现,实验组在各方面功能恢复都优于对照组,证明自体骨髓间充质干细胞移植治疗能够改善肝衰竭患者肝纤维化。

3.4 干细胞在眼科疾病的研究

近年来,有研究发现可以利用诱导干细胞分化的方式,生成视神经祖细胞,达到改善和治疗眼科疾病的目的。ESC具有巨大的自我更新和定向分化的潜力,使得其成为眼科疾病中移植疗法的理想供体细胞。Steven等^[22]在2014年针对9例Stargardt的黄斑营养不良性患者以及9例年龄相关性黄斑变性患者进行视网膜下移植ESC,移植后并没有出现不良的排斥反应或安全性问题,表明ESC可以应用于眼部的移植且安全性良好。同时,也可以通过定向分化,让干细胞分泌出能够抑制视网膜神经节细胞衰亡的多种神经营养因子,并且利用这些营养因子进行替代视网膜神经节细胞治疗,帮助眼部疾病患者改善和恢复健康^[23]。黄晓峰等^[24]指出,干细胞不仅有定向分化和增殖的能力,还具有良好的移行潜能,可以通过营造促内源细胞恢复环境或者诱导分化特定的组织细胞,形成组织修复。除此之外,也有研究显示,对萎缩性视网膜膜的血管中进行整合阴性骨髓源系造血干细胞是能够实现的,人类自体骨髓细胞也对视锥细胞有一定的保护作用^[25]。利用干细胞技术对眼科疾病进行治疗,为眼科疾病患者提供治疗的希望和条件。

3.5 干细胞在口腔医学的应用

目前,应用于口腔移植的干细胞种类包括骨髓间充质干细胞、牙囊干细胞、牙髓干细胞等。乳牙牙髓干细胞作为牙源性干细胞的一种,具有多向分化的能力,能够在特定的条件下分化生成适合的组织细胞,具有良好的优势。它作为理想的干细胞来源,在口腔干细胞移植治疗中有良好的应用前景。Batoulis等^[26]通过动物实验证明人根乳头干细胞和牙周韧带干细胞在移植入猪牙损伤模型内之后,能成功生成牙根,帮助牙齿恢复。干细胞在口腔医学的动物实验研究中逐渐成熟,研究者也开始探索干细胞在口腔医学中的联合新疗法。Iohara等^[27]通过将单纯牙髓干细胞移植治疗和牙髓干细胞联合粒细胞集落刺激因子移植治疗进行比较,发现联合疗法更能够促进牙本质和牙髓再生。目前,生命科学技术和口腔医学结合日益紧密,干细胞和口腔治疗将会成为未来生命科学研究热点。

3.6 干细胞在糖尿病的治疗

糖尿病患者在传统治疗方法上通常没有根治性的作用,I型糖尿病患者由于自身免疫系统出错,体内几乎没有胰岛素支撑,只能通过注射胰岛素才能在一定程度上控制病情;II型糖尿病患者也由于免疫细胞功能障碍,导致胰岛素缺乏。因此,研究者试图通过干细胞疗法寻找出新的治疗糖尿病的方法。目前,运用干细胞进行糖尿病治疗的原理主要有4种^[28-29]:(1)直接或间接

移植一种或几种干细胞,利用分化潜能对其进行诱导分化;(2)化学培养诱导体系,在体外分阶段进行干细胞诱导,择其一阶段分化所得干细胞移植入体内,进一步诱导分化生成组织细胞,从而逆转高血糖;(3)利用腺病毒或慢病毒进行电转染,产生和胰腺相关的转录因子,进而诱导其分化成组织细胞,发挥治疗作用;(4)将化学培养诱导体系和基因转染相结合,促进疾病治疗。干细胞治疗糖尿病尚处于动物实验研究阶段,但是已经验证成体干细胞能够用于糖尿病治疗,这种疗法将会成为研究热点。

3.7 干细胞在神经系统疾病中的应用

帕金森病、老年性痴呆是老年人神经系统的常见退行性疾病,近年来干细胞在这些神经性疾病中也开始应用。NSC具有分化能力,能够分化神经元、星形胶质细胞、少突胶质细胞等,同时能进行自我更新,以供大量脑组织细胞。Reynolds等^[30]用神经细胞球形形成法,在表皮生长因子生长条件中,持续培养悬浮的NSC,发现细胞不断增殖并且形成了由同一样来源的NSC细胞球。Inoue^[31]通过诱导性多能干细胞技术将肌萎缩侧索硬化症(ALS)患者的体细胞诱导逆转成为多能干细胞,在体外培养并建立特异性诱导多能干细胞系,制备用于ALS的实验研究的动物模型。Oshimura等^[32]采用同样技术建立出Duchenne型肌营养不良(DMD)的诱导性多能干细胞系,并制备相应的动物模型。对NSC的研究过程中,将会不断涌现出新的技术,并为多种神经系统疾病患者的治疗带来希望^[33]。

3.8 干细胞在药物筛选中的运用

干细胞的应用不仅存在于临床治疗当中,在药物研发方面也发挥着重要作用。以干细胞作为药物筛选的模型,能够充分利用干细胞多向分化、自我更新和高度增殖的生物特性,通过高效的筛选模型能够缩短药物研发的周期以及成本^[34]。Ying等^[35]通过采用MTT法测定化合物对NSC毒性,筛选出80种药物和杀虫剂。Tetsuro等^[36]使用间充质干细胞筛选768个药理活性化合物,结果显示山奈酚可以诱导碱性磷酸酶表达并没有细胞毒性。通过干细胞建立药物筛选模型,能够为高通量药物筛选提供更好的支持。

3.9 干细胞在3D支架上的体外培养

干细胞能够在生物体内进行扩增、发育以及功能复制等,但由于体外环境的培养会影响这些功能的发挥,同时生物微环境中的细胞、分子等之间相互的作用也会使干细胞展现不同的生物活动^[4]。3D打印支架可以模拟体内细胞机制的结构和环境,帮助干细胞的诱导分化、增殖生长尽可能接近体内的状态。目前,3D壳聚糖支架广泛运用于干细胞的培养,并有良好的生物

活性,Malafaya等^[29]构建以壳聚糖为材料的3D支架,并将其导入生物体内,表现出良好的性能。除此之外,3D支架在造血干细胞培养中的应用不断得到发展。早期有实验研究发现,3D钽多孔支架材料培养造血干细胞,能够使得细胞数量比2D培养获取更多^[37]。干细胞在医学生物领域的发展在不断深入,3D技术与干细胞的结合也将在生命科学研究领域中拥有广阔的研究前景。

4 展望

干细胞技术从20世纪开始不断走上生命科学研究的大舞台,并且在基础科研和临床医疗等各个领域内绽放奇光异彩。至今,国内外关于干细胞的生物特性及其相关类细胞等方面已经进行大量的实验研究,干细胞技术的研究已远远不止是对其本身进行探索,而应将其与临床疾病治疗、组织工程以及转化医学相结合。在临床治疗方面,可以将干细胞移植导入体内,进行诱导分化帮助组织细胞的损伤修复或者分泌保护因子促进机体恢复;在转化医学领域,干细胞技术可以与基因重组等方法结合,干细胞更有效、安全地转化为另一种干细胞或成体细胞,实现转化率的高效提升;在组织工程方面,干细胞技术可以与3D打印支架相结合,研制出干细胞最理想的3D环境,有利于其能在最接近体内状态的体外3D生物微环境中进行增殖分化,促进干细胞的生长。目前对干细胞及其分化生成的组织细胞仍然没有理想的分离纯化、鉴定、繁殖的手段和方法,在临床进行应用还存在一定的难度。因此,应建立一系列科学、可靠的技术手法,完善整个干细胞系,保证干细胞技术的研究更为规范、科学。

【参考文献】

- [1] CROSSMAN J, ELYASI M, EL-BIALY T, et al. Cementum regeneration using stem cells in the dog model: a systematic review [J]. Arch Oral Biol, 2018, 91: 78-90.
- [2] 王欣欣, 吴军卫, 郭瑞霞, 等. 干细胞诱导分化为生殖细胞的研究进展[J]. 中国生殖与避孕杂志, 2017, 37(2): 146-150.
WANG X X, WU J W, GUO R X, et al. Advances in stem cell induction and differentiation into germ cells [J]. Chinese Journal of Reproduction and Contraception, 2017, 37(2): 146-150.
- [3] 廖世奇, 袁红霞. 论干细胞异常分化进化形成肿瘤[J]. 甘肃医药, 2017, 36(12): 1003-1006.
LIAO S Q, YUAN H X. Abnormal differentiation and evolution of stem cells into tumors [J]. Gansu Medical Journal, 2017, 36(12): 1003-1006.
- [4] 徐竹, 诸葛启钊, 黄李洁. 干细胞3D支架的研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2017, 37(9): 112-117.
XU Z, ZHUGE Q C, HUANG L J. Advances in stem cell 3D scaffolds [J]. Journal of Chinese Biotechnology, 2017, 37(9): 112-117.
- [5] SAHARE M G, SUYATN O, IMAI H. Recent advances of *in vitro* culture systems for spermatogonial stem cells in mammals [J]. Reprod Med Biol, 2018, 17(2): 134-142.

- [6] 谭伟源, 安荣泽, 齐新文, 等. 股骨头坏死与干细胞移植的研究进展[J]. 医学综述, 2018, 24(3): 438-443.
TAN W Y, AN R Z, QI X W, et al. Advances in femoral head necrosis and stem cell transplantation[J]. Medical Recapitulate, 2018, 24(3): 438-443.
- [7] 赵新广, 刘丹卓. 干细胞定向分化及中医药干预研究现状思考[J]. 光明中医, 2015, 30(2): 429-431.
ZHAO X G, LIU D Z. Current situation of stem cell directed differentiation and TCM intervention research [J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2015, 30(2): 429-431.
- [8] PIJUAN-SALA B, GUIBENTIF C, GOTTGENS B, et al. Single-cell transcriptional profiling: a window into embryonic cell-type specification[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 19: 399-412.
- [9] 杨国宏, 孙晓冬. 胚胎干细胞的研究进展[J]. 中国当代医药, 2015, 22(33): 25-27.
YANG G H, SUN X D. Advances in embryonic stem cell research[J]. China Modern Medicine, 2015, 22(33): 25-27.
- [10] 刘晓智, 姜忠敏. 成体干细胞作为药物载体治疗胶质瘤的作用途径研究进展[J]. 山东医药, 2016, 56(43): 101-104.
LIU X Z, JIANG Z M. Advances in the study of adult stem cells as drug carriers for the treatment of glioma [J]. Shandong Medical Journal, 2016, 56(43): 101-104.
- [11] UMBERTO G, ANTONIO G. The gap between the physiological and therapeutic roles of mesenchymal stem cells[J]. Med Res Rev, 2014, 34(5): 1100-1126.
- [12] NEDIME S A, UMUT F, CHRISTENSEN R. Mesenchymal stem cells, cancer challenges and new directions[J]. Eur J Cancer, 2014, 50(8): 1522-1530.
- [13] 李晓庆, 王欣, 马诗雨, 等. 间充质干细胞在促进烧伤创面修复中的免疫调控作用研究进展[J]. 山东医药, 2018, 56(6): 111-114.
LI X Q, WANG X, MA S Y, et al. Advances in immunoregulation of mesenchymal stem cells in burn wound repair[J]. Shandong Medical Journal, 2018, 56(6): 111-114.
- [14] 刘玉端, 于占革. 髓核细胞表型对干细胞治疗椎间盘退变的意义[J]. 医学综述, 2017, 23(9): 1712.
LIU Y D, YU Z G. Significance of nucleus pulposus cell phenotype in the treatment of intervertebral disc degeneration by stem cells[J]. Medical Recapitulate, 2017, 23(9): 1712.
- [15] YOSHIKAWA T, UEDA Y, MIYAZAKI K, et al. Discrepancy in the rapy using marrow mesenchymal cell transplantation: a report of two cases studies[J]. Spine, 2010, 35(11): E475-E480.
- [16] 湛佳, 黄东. 干细胞疗法治疗慢性疼痛疾病的进展、使用和不良反应的回顾[J]. 中国疼痛医学杂志, 2018, 24(2): 86-88.
ZHAN J, HUANG D. Review on the progress, use and adverse reactions of stem cell therapy in the treatment of chronic pain diseases[J]. Chinese Journal of Pain Medicine, 2018, 24(2): 86-88.
- [17] CHUN H J, KIM Y S, KIM B K, et al. Transplantation of human adipose-derived stem cells in a rabbit model of traumatic degeneration of lumbar discs[J]. World Neurosurg, 2012, 78(3-4): 364-371.
- [18] CHUN H J, KIM Y S, KIM B K, et al. Transplantation of human adipose-derived stem cells in a rabbit model of traumatic degeneration of lumbar discs[J]. World Neurosurg, 2012, 78(3-4): 364-371.
- [19] KUO K T, HUANG S P, CHUANG C H, et al. Stem cell therapy for liver disease: parameters governing the success of using bone marrow mesenchymal stem cells[J]. Gastroenterology, 2008, 134(7): 2111-2121.
- [20] YAMADA T, YOSHIKAWA M, KANDA S, et al. *In vitro* differentiation of embryonic stem cells into hepatocyte-like cells identified by cellular uptake of indocyanine green[J]. Stem Cells, 2002, 20(2): 146-154.
- [21] 吴玉卓, 杨乐, 翟玉峰, 等. 自体骨髓间充质干细胞治疗乙型肝炎失代偿期患者: 肝纤维化、肝功能、MELD评分及1年生存率分析[J]. 中国组织工程研究, 2017, 21(13): 2049-2055.
WU Y Z, YANG L, ZHAI Y F, et al. Autologous bone marrow mesenchymal stem cells were used to treat decompensated hepatitis b patients: liver fibrosis, liver function, MELD score and 1-year survival rate analysis [J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2017, 21(13): 2049-2055.
- [22] STEVEN D, CARL D, BYRON L, et al. Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies[J]. Articles, 2015, 385(9967): 509-516.
- [23] 张青林, 张旭. 干细胞治疗青光眼的研究进展[J]. 眼科新进展, 2017, 37(9): 886-889.
ZHANG Q L, ZHANG X. Advances in stem cell therapy for glaucoma [J]. Recent Advances in Ophthalmology, 2017, 37(9): 886-889.
- [24] 黄晓峰, 俞江, 张晓洁, 等. 翼状胬肉切除联合自体角膜缘干细胞移植对创面上皮修复及复发的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2016, 15(3): 262-264.
HUANG X F, YU J, ZHANG X J, et al. Effect of pterygium excision combined with limbal autologous stem cell transplantation on wound epithelial repair and recurrence [J]. Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2016, 15(3): 262-264.
- [25] 段红涛, 陈松. 间充质干细胞在视网膜疾病应用研究进展[J]. 中国实用眼科杂志, 2015, 33(3): 213-216.
DUAN H T, CHEN S. Advances in the application of mesenchymal stem cells in retinal diseases [J]. Chinese Journal of Practical Ophthalmology, 2015, 33(3): 213-216.
- [26] BATOULI S, MIURA M, BRAHIM J, et al. Comparison of stem-cell-mediated osteogenesis and dentinogenesis[J]. J Dent Res, 2003, 82(12): 976-981.
- [27] IOHARA K, MURAKAMI M, TAKEUCHI N, et al. A novel combinatorial therapy with pulp stem cells and granulocyte colony-stimulating factor for total pulp regeneration[J]. Stem Cells Transl Med, 2013, 2(7): 521-533.
- [28] SEYED H, SAEID A, MASOUD S, et al. Expansion of human cord blood hematopoietic stem/progenitor cells in three dimensional nanoscaffold coated with fibronectin[J]. Int J Hematol Oncol Stem Cell Res, 2015, 9(2): 72-79.
- [29] MALAFAYA P B, OLIVEIRA J T, REIS R L. The effect of insulin-loaded chitosan particle-aggregated scaffolds in chondrogenic differentiation[J]. Tissue Eng Part A, 2010, 16(2): 735-747.
- [30] REYNOLDS B A, WEISS S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system[J]. Science, 1992, 255(5052): 1707-1710.
- [31] INOUE H. ALS patient-specific iPS cells[J]. Rinsho Shinkeigaku, 2012, 52(11): 1137-1138.
- [32] OSHIMURA M, KAZUKI Y, UNO N. Challenge toward gene-therapy using iPS cells for Duchenne muscular dystrophy [J]. Rinsho Shinkeigaku, 2012, 52(11): 1139-1142.
- [33] 刘金梦, 管英俊, 蒋欣, 等. 干细胞治疗肌萎缩侧索硬化症的研究进展[J]. 神经解剖学杂志, 2019, 35(4): 459-462.
LIU J M, GUAN Y J, JIANG X, et al. Progress of stem cells in the treatment of amyotrophic lateral sclerosis [J]. Chinese Journal of Neuroanatomy, 2019, 35(4): 459-462.
- [34] 徐梦莎, 华允芬. 干细胞药物筛选模型研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2017, 39(4): 504-509.
XU M S, HUA Y F. Advances in drug screening models for stem cells [J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2017, 39(4): 504-509.
- [35] YING P, JUN P, MAMTA B, et al. Comparative neurotoxicity screening in human iPSC-derived neural stem cells, neurons and astrocytes[J]. Brain Res, 2015, 1638(Pt A): 57-73.
- [36] TETSURO M, TAKASHI K, YASUYUKI S, et al. *In vitro* and *in vivo* enhanced osteogenesis by kaempferol found by a high-throughput assay using human mesenchymal stromal cells[J]. J Funct Foods, 2013, 6: 241-247.
- [37] EHRING B, BIBER K, UPTON T M, et al. Expansion of HPCs from cord blood in a novel 3D matrix[J]. Cytotherapy, 2003, 5(6): 490-499.

(编辑:陈丽霞)