

特约专栏

纳米活性材料在间充质干细胞治疗中的应用

张 然¹, 罗文亚¹, 朱明盛¹, 吴 瑾¹, 黄兴禄¹, 孔德领^{1,2}

(1. 南开大学生命科学学院 生物活性材料教育部重点实验室, 天津 300071)

(2. 南开大学 徐荣祥再生生命科学中心, 天津 300071)

摘 要: 干细胞由于具有自我更新和定向分化潜能, 在疾病治疗中取得了重要进展, 然而其治疗效果还有待进一步提高。近年来, 人们通过纳米材料本身或负载化学小分子药物、细胞因子、核酸药物、多肽等组成一类具有生物活性的纳米材料, 以改善干细胞存活和归巢、调控干细胞的行为、诱导干细胞的分化、增强干细胞的旁分泌等, 从而显著提高干细胞的治疗效果。另外, 为了解干细胞如何发挥治疗效用、优化治疗方法等方面的信息, 一些纳米探针被用于标记示踪干细胞注射或移植后在体内的命运。从介绍干细胞治疗入手, 综合分析了细胞治疗目前存在的问题以及干细胞联合生物材料治疗的必要性, 并对纳米材料在干细胞示踪成像方面的应用以及纳米材料负载化学药物、基因药物提高干细胞治疗效果的研究现状进行了综述。随着纳米技术的发展以及人们对干细胞研究的深入, 相信在不远的将来, 纳米材料联合干细胞将在疾病的治疗中发挥越来越重要的作用。

关键词: 纳米生物活性材料; 纳米颗粒; 间充质干细胞; 治疗; 示踪

中图分类号: R318.08 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-3962(2019)06-0542-09

Application of Bioactive Nanoparticles on Mesenchymal Stem Cell Therapy

ZHANG Ran¹, LUO Wenya¹, ZHU Mingsheng¹, WU Jin¹,
HUANG Xinglu¹, KONG Deling^{1,2}

(1. Key Laboratory of Bioactive Materials for Ministry of Education, College of Life Sciences,
Nankai University, Tianjin 300071, China)

(2. Xu Rongxiang Center for Regenerative Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: Stem cell has made tremendous progress on the treatment of diseases due to its self-renewal and directed differentiation. However, its therapeutic effect needs to be further improved. Recently, bioactive nanoparticles consisting of nanoparticles or nanoparticles loaded with chemicals, cytokines, nucleotides and peptides, could significantly improve the therapeutic efficacy of stem cell. The bioactive nanoparticles could promote the survival, homing, differentiation and paracrine of stem cell and regulate its *in vivo* behaviors. In addition, in order to understand how stem cells play a therapeutic role and optimize treatment methods, the nanoprobes have been developed for tracking stem cell fate *in vivo* following administration or transplantation. Starting with the introduction of stem cells therapy, this paper comprehensively analyzed the current problems in cell therapy and the necessity of stem cells combined with biomaterial, and reviewed the applications of nanoparticles in stem cells tracing, as well as the research of nanoparticles loaded with chemical drugs and gene drugs to improve the therapeutic effect of stem cells. With the development of nanotechnology and the in-depth study of stem cells, it is believed that

nanoparticles combined with stem cells will play an increasingly important role in the treatment of diseases in the near future.

Key words: bioactive nanoparticles; nanoparticles; mesenchymal stem cells; therapy; tracking

收稿日期: 2018-10-31 修回日期: 2018-11-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81830060, 31771066)

第一作者: 张 然, 女, 1990 年生, 博士研究生

通讯作者: 孔德领, 男, 1966 年生, 教授, 博士生导师,

Email: kongdeling@nankai.edu.cn

黄兴禄, 男, 1981 年生, 教授, 博士生导师,

Email: huangxinglu@nankai.edu.cn

DOI: 10.7502/j.issn.1674-3962.201810028

1 干细胞治疗及纳米生物活性材料

干细胞是一类具有增殖和分化潜能的细胞, 即具有

自我更新复制新生命体的潜力。研究证实, 干细胞可以修复、替代受损和死亡的细胞, 激活处于休眠和静默状态的细胞。干细胞旁分泌各种促细胞生长因子、抑炎因子、抗凋亡因子等, 参与和诱导多种免疫调控机制, 促进细胞与细胞间、细胞与细胞基质间信号的传导^[1]。因此, 干细胞作为种子细胞, 在疾病治疗中体现出重要的临床应用价值和前景。

尽管干细胞在疾病治疗中具有显著的优势和重要的地位, 但在实际应用中仍然存在很多问题。首先是安全性, 在干细胞培养过程中添加物如动物血清、胰酶等可能会对人体造成危害, 细菌、支原体等外源致病因子的污染会增加质控难度。其次是移植有效性, 目前较难提取高纯度的干细胞, 同时, 干细胞移植后的存活率较低。所以, 干细胞与生物材料在疾病治疗中的联合应用就应运而生了。目前常用的生物材料有微纳米材料、水凝胶及生物膜仿生材料等。

其中纳米材料因其独特的理化性质在调控干细胞行为方面起着越来越重要的作用, 包括示踪干细胞在体内的命运和分布、诱导干细胞定向分化、促进干细胞疾病“归巢”、刺激干细胞旁分泌行为和调控干细胞周围组织微环境等。在干细胞治疗方面, 纳米生物活性材料是一类本身具有生物活性或通过修饰、包覆等手段额外地附加功能性活性分子的材料, 可主动调控干细胞增殖、分化或迁移等, 也可辅助干细胞协同促进干细胞发挥在疾病治疗上的作用, 成为了近几年的热点话题之一。本文将重点综述这类纳米生物活性材料在调控干细胞治疗方面新的研究进展。

2 干细胞分类及间充质干细胞特性

目前细胞治疗中主要用到的干细胞分为3类, 包括胚胎干细胞、成体干细胞和诱导多功能干细胞。其中, 胚胎干细胞是早期胚胎(原肠胚期之前)或原始性腺中分离出来的一类细胞, 它具有体外培养无限增殖、自我更新和多向分化的特性。成体干细胞包括间充质干细胞、神经干细胞、血液干细胞和表皮干细胞等, 可取自动物的骨髓、脂肪、上皮、血液等多种部位。诱导多功能干细胞是通过导入外源基因使体细胞去分化得到的一类多能干细胞, 具有多向分化潜能, 在体内可以分化为3个胚层来源的所有细胞, 在体外可诱导分化成多种细胞, 如表皮样干细胞^[2]、晶状体上皮细胞^[3]、心肌细胞^[4]等。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)因其来源丰富、易于获取、可多向分化为多种下游功能细胞, 被作为目前细胞治疗中应用最广泛的种子细胞。

间充质干细胞的来源比较广泛, 主要包括脂肪、骨

髓、脐带和脐带血等, 在细胞治疗应用方面具有多种优势: ① 强大的增殖能力, 其具有高的端粒酶活性, 一定程度上可无限自我复制; ② 低免疫原性, 因细胞可从同源/同体生物体获取, 不易被机体免疫系统识别, 所以间充质干细胞移植后不会发生免疫排斥反应; ③ 多向分化潜能, 可向下游多种功能细胞分化, 包括脂肪细胞、成骨细胞、软骨细胞等^[5]; ④ 归巢作用, 鉴于损伤炎症部位会分泌一些细胞因子或炎性因子等, 其浓度向周围环境呈现梯度性分布, 故间充质干细胞移植后可主动趋向这些因子, 向炎症部位归巢从而发挥治疗作用, 这也是细胞迁移、植入组织并发挥功能和保护作用的重要步骤; ⑤ 伦理学问题, 自体来源的间充质干细胞不存在类似胚胎干细胞在来源等方面的伦理学问题。而且, 越来越多的研究表明, 间充质干细胞除了极少数可通过归巢至损伤部位修复组织外, 其主要是通过旁分泌功能发挥其治疗作用。因此, 间充质干细胞自身或受到疾病部位微环境调控时, 能够产生一系列不同的细胞因子, 包括促血管生成因子(VEGF、PDGF、Ang-1、bFGF)、免疫调节因子(IL-10、HGF、TGF β)、促细胞新生因子(EGF、IGF)、抗细胞凋亡因子(Bcl-2)等^[6, 7], 如图1所示。

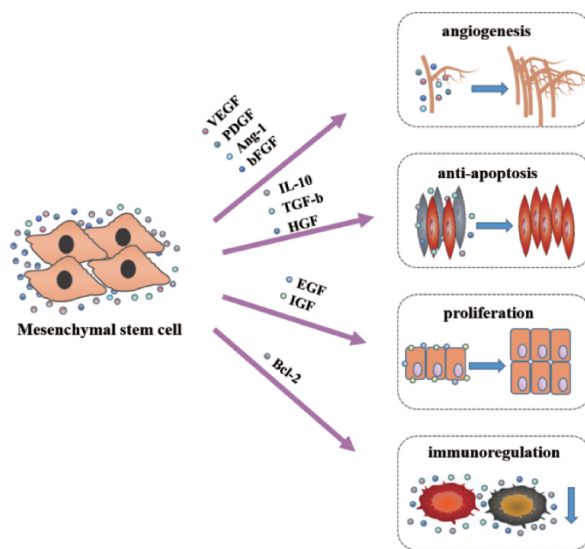


图1 间充质干细胞分泌的多种具有不同功能的生长因子

Fig. 1 Various growth factors secreted by mesenchymal stem cells with different functions

基于以上特性, 间充质干细胞已被广泛用于帕金森综合症^[8]、阿尔茨海默症^[9]、心血管疾病^[10]、肌肉退行性疾病^[11]等多种疾病的治疗。经过近年来的发展, 其越来越多的应用已走向临床试验。如2011年12月中国人民解放军第105医院神经内科的汪青松等对脐带间充质

干细胞移植治疗脑梗死和帕金森综合症的疗效和安全性进行了临床研究, 目前正处于 II 期临床试验阶段^[12]。2012 年 3 月中国人民武装警察部队总医院的安沂华等就脐带间充质干细胞股动脉介入移植治疗脊髓损伤的安全性和有效性开展临床试验, 目前正处于 II 期临床试验阶段^[13]。间充质干细胞部分临床试验可参见表 1。

表 1 间充质干细胞临床试验
Table 1 Clinical trial of mesenchymal stem cells

Type of disease application	Clinical trial registration batch number	Clinical trial approval date and stage
Dilated heart disease	NCT01219452	2010-01/II
Alzheimer's disease	NCT02054208	2014-01/II
Liver failure	NCT01844063	2013-01/II
Cirrhosis	ChiCTR1800015735	2016-01/I
Infertility	ChiCTR-OPC-14005553	2014-11/I
Spinal cord injury	ChiCTR-ONC-12002005	2012-03/II
Diabetic nephropathy	ChiCTR-ONC-17011065	2016-04/I
Brain infarction	ChiCTR-ONRC-12002929	2011-12/II
Parkinson's disease	ChiCTR-ONRC-12002937	2011-12/II
Rheumatoid arthritis	ChiCTR-ONC-16008770	2016-03/I

3 纳米材料在间充质干细胞应用方面的设计思路

纳米材料用于间充质干细胞中主要有两方面的应用, 一是设计开发纳米探针示踪干细胞命运, 二是利用纳米颗粒自身特性或设计开发纳米药物来提高干细胞治疗效率。

在间充质干细胞用于疾病治疗方面, 决定细胞治疗效果的关键和前提是细胞移植或注射后要有足够数量的干细胞到达病灶部位。因此, 这就要求我们必须掌握以下几方面的信息: ① 干细胞移植或注射后在体内的存活和滞留状态; ② 干细胞进入体内的命运, 尤其是是否以及如何到达病灶; ③ 干细胞在体内的最终命运归宿如何。要想充分了解这些信息, 现有的成像技术或多或少会存在一些弊端, 如小分子探针的细胞滞留时间短、体内代谢速度快; 光学成像无法在临床上应用; 单一成像模式存在弊端等。纳米探针因其尺寸上的生物学效应、作为载体平台负载多种成像模式等方面的优势, 能够克服目前一些成像技术的弊端, 而被应用于了解干细胞在体内的命运。

进入体内或到达疾病靶组织后, 干细胞如何发挥治

疗作用是决定干细胞发展潜力的主要因素。目前, 间充质干细胞治疗效果还有待进一步提高, 其效果不理想的原因包括: 干细胞定向迁移至损伤部位的能力较弱, 且最终富集于损伤部位的数量有限; 干细胞的旁分泌作用仅改善了整体组织微环境效应, 而特异性或定向性针对某一种因子的调控能力不足。研究表明, 人为干预这个治疗过程能有效地弥补或提高治疗效率。基于纳米材料的优势, 一些纳米材料自身或附加功能分子能够主动调节干细胞的行为, 从而提高治疗上的效果。其设计原理主要分为自身具有一定生物活性的纳米材料和附加某些生物活性分子的纳米材料。附加的生物活性分子包括化学小分子药物、核酸类药物、多肽类药物、细胞因子, 如图 2 所示。

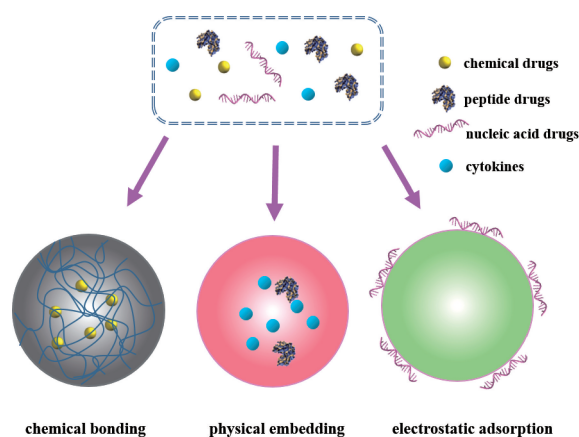


图 2 附加于纳米材料的生物活性分子及其与纳米材料之间的负载方式

Fig. 2 Bioactive molecules loaded on nanomaterials and their loading patterns with nanomaterials

4 纳米探针示踪间充质干细胞体内命运

4.1 纳米探针设计原理

与传统探针相比, 纳米探针不仅具有良好的生物相容性和稳定性^[14], 而且可作为载体负载各种功能小分子, 有效提高纳米材料的靶向性、延长其在体内的循环时间, 并可显著提高成像清晰度。因此, 纳米探针一经发现便引起了广泛的关注。纳米探针可根据所要检测细胞的特性进行设计, 像内部包覆和嵌入、表面电荷吸附、特定配体修饰等手段^[15], 从而实现对于干细胞的标记、特定疾病部位的靶向。

按材料来分, 纳米探针主要分为有机纳米探针和无机纳米探针^[16]。有机纳米探针具有生物相容性好、体内循环时间长、负载可控等优势, 但在体内不稳定易导致信号失真, 一般仅作为载体应用, 自身无法直接用于成

像; 无机纳米探针性质稳定、纳米颗粒可控、可自身成像, 但在体内不易被快速清理而易导致蓄积性毒性。按成像模式来分, 可分为单一模式成像纳米探针和多模式成像纳米探针^[17, 18]。单一模式纳米探针易于在材料制备和标准化上进行控制, 但往往受限于各种检测设备; 多模式纳米探针可以弥补各种成像模式的缺陷, 实现“一针多用”的通用化成像方式, 但不易可控标准化制备、各成像模式可能相互干扰。

4.2 单一模式成像纳米探针

荧光成像纳米探针是研究者开发的最为常见的纳米探针, 代表性的有量子点、硅基探针、碳点等。Li 等^[19]在 CdTe/ZnS 核壳量子点 (QDs) 表面用短肽 (RGD) 和氨基-环糊精 (CD) 来修饰, 得到的短肽-环糊精-量子点 (RGD-CD-QDs) 纳米载体增强了间充质干细胞对纳米颗粒的摄取, 从而提高了成像的信号强度。Lei 等^[20]使用 PEG 修饰 CdSe/ZnS 核壳量子点 (PEG-CdSe/ZnS), 通过二硫键与 Tat 肽偶联作为纳米探针。研究发现, PEG 包覆量子点可减少细胞毒性、延长体内循环时间, 从而实现偶联 Tat 肽的 PEG-CdSe/ZnS 在体内长期追踪移植的间充质干细胞。基于硅的纳米材料也可以用于体内干细胞的追踪。Liu 等^[21]利用二氧化硅修饰钌纳米颗粒 ($\text{SiO}_2 @ \text{Ru}$) 来标记移植的间充质干细胞, 并可以促进间充质干细胞的分化。Shao 等^[22]用柠檬酸和乙二胺通过水热法制备了基于柠檬酸的碳点及其衍生物 1-乙基-5-氧-1,2,3,5-四氢-咪唑-[1,2-a]吡啶-7-羧酸 (Et-IPCA)。研究表明, 基于柠檬酸的 CDs 和 Et-IPCA 能够长期跟踪和促进骨髓间充质干细胞的成骨分化, 并表现出良好的生物相容性和低毒性。Barron 等^[23]利用肽包裹的碳纳米点追踪间充质干细胞在体内的分布, 并监控其增殖、分化过程。结果显示碳纳米点对间充质干细胞无不良影响, 这为碳纳米点应用于组织修复和再生奠定了基础。

近年来, 聚集诱导发光 (aggregation-induced emission, AIE) 的发现引起了人们极大的兴趣。相对于传统荧光成像纳米探针, AIE 材料在单分子分散状态下荧光较弱甚至不发光, 而在聚集状态下可发出较强的光。因此, AIE 纳米颗粒兼具 AIE 分子和纳米颗粒的优点, 被广泛应用于对间充质干细胞的标记和示踪。有机纳米点包裹 AIE 分子制备的成像用纳米颗粒, 能够长期精确地示踪移植到体内的间充质干细胞的行为, 为干细胞治疗监测、细胞优化给药等方面提供了重要的信息^[24]。Li 等^[25]将 AIE 分子与二氧化硅纳米颗粒相结合用于监测干细胞的行为, 为移植后干细胞的命运提供了重要的信息。

光学成像较难穿透深层组织, 探针很难对体内干细

胞进行示踪。磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI)、正电子发射断层成像 (positron emission computed tomography, PET) 具有较好的组织穿透性, 可应用于移植干细胞在体内的成像。MRI 是通过细胞内吞超顺磁性氧化铁 (SPIO) 纳米颗粒, 利用核磁共振原理成像对移植后干细胞的迁移和归巢进行示踪^[26, 27]。Liu 等^[28]利用低分子量的两亲性多聚乙炔与 SPIO 纳米颗粒形成稳定的纳米颗粒, 该纳米颗粒纵向弛豫时间 (T_2) 的弛豫率较高, 成像效果良好, 能够精确地示踪间充质干细胞。PET 成像是利用半衰期较短的放射性核素来标记干细胞, 通过对放射性核素的定位实现对移植干细胞的示踪^[29]。Dwyer 等^[30]采用碘化钠同向转运体递送放射性核素 (I-131) 至间充质干细胞, 进行原位成像。该方法的一个主要优点是能够非侵入式摄取示踪剂 (I-131), 从而更多地靶向间充质干细胞, 并提高成像的清晰度。

4.3 多模式成像纳米探针

为了提高纳米探针成像的准确性和精确性, 并实现成像的多功能化, 多模式成像纳米探针应运而生^[31]。多模式成像将不同的成像方式有机结合, 综合多种成像方式的优势, 增加了检测深度、提高了检测分辨率和灵敏度, 可提供更为全面的成像信息。将间充质干细胞与多模式成像纳米探针结合, 用于肿瘤靶向的诊疗体系, 通过光学成像、MRI 和 PET 等成像方式的有机结合, 实现了对肿瘤部位干细胞的精确示踪^[32]。在间充质干细胞的检测中, Sung 等^[33]制备了一种同时负载 SPIO 纳米颗粒和罗丹明 B-硫氰酸盐的二氧化硅纳米颗粒, 可实现荧光和核磁共振双模式成像, 实现体内对外对移植干细胞的精确示踪。

5 纳米生物活性材料调控干细胞行为

5.1 纳米材料调控干细胞行为

近年来, 研究发现一些纳米颗粒不仅起着载体的作用, 其自身还能够主动调节生物体的活动^[34]。这些纳米颗粒通过调控一些分子信号通路, 从而参与干细胞的增殖、分化、旁分泌。以氧化铁纳米颗粒为例, 铁代谢是维持机体平衡的重要组成部分, 很多蛋白的功能依赖铁的存在, 氧化铁纳米颗粒释放的铁离子能够干预干细胞一些关键因子的表达, 如上调细胞核转录因子 HIF-1 α 的表达^[35]。目前, 纳米材料主动调控干细胞行为主要表现为: ① 通过不同的机制促进干细胞增殖^[32, 36-39]; ② 调节干细胞分化为不同类型的细胞, 包括神经细胞、心肌细胞、脂肪细胞和成骨细胞^[32, 36-39]; ③ 增强间充质干细胞的旁分泌功能, 刺激其产生更多的抗炎和促血管生成因子^[35, 40-44], 如表 2 所示。

表 2 不同纳米材料对间充质干细胞的调控机制及其在疾病治疗中的应用

Table 2 The regulation mechanism of different nanoparticles on mesenchymal stem cells and its application in the treatment of diseases

Materials	Regulation method	Type of disease application
SiO ₂ nanoparticles	Promote mesenchymal stem cells proliferation and differentiation	Fracture, bone defect, nerve repair ^[32]
Au nanoparticles	Promote mesenchymal stem cells proliferation and differentiation	Fracture, bone defect ^[36]
TiO ₂ nanoparticles	Promote mesenchymal stem cells proliferation and differentiation	Fracture, bone defect ^[37]
Graphene and graphene oxide nanoparticles	Promote mesenchymal stem cells proliferation and differentiation	Fracture, bone defect, nerve repair ^[38, 39]
Iron oxide nanoparticles	Promote paracrine secretion of mesenchymal stem cells	Myocardial infarction ^[35]
Polylactic acid-co-glycolic acid nanofiber scaffold	Promote paracrine secretion of mesenchymal stem cells	Atherosclerosis ^[40]
Chitosan nanoparticles	Promote paracrine secretion of mesenchymal stem cells	Acute liver failure ^[41]
Polycaprolactone nanofiber stent	Promote paracrine secretion of mesenchymal stem cells	Skin damage, cardiovascular disease ^[42]
Heparin nanofiber	Promote paracrine secretion of mesenchymal stem cells	Cardiovascular disease ^[43]
Composite poly-L-lactic acid/poly-(α , β)-DL-aspartic acid/collagen nanofiber scaffold	Promote paracrine secretion of mesenchymal stem cells	Skin damage ^[44]
Iron-based magnetic nanoparticles	Improve mesenchymal stem cells homing efficiency	Traumatic brain injury ^[45]

一些金属纳米颗粒具有促进或抑制干细胞分化的能力^[36]。金纳米颗粒的大小、形状和表面修饰可以影响干细胞对纳米颗粒的摄取,从而影响其对干细胞的调节作用^[34]。在诱导间充质干细胞成骨分化时,70 nm 的棒状金纳米颗粒显著促进了成骨分化,而当长度为 40 nm 时则对干细胞的成骨分化产生抑制作用。同样,二氧化钛纳米颗粒的粒径、形状不同时,对干细胞的调控作用也可能截然不同^[32]。另一些研究发现,氧化铁纳米颗粒可以在与间充质干细胞共培养中提高心肌细胞的间隙连接

蛋白 43(Cx43)的表达,这对于与间充质干细胞的间隙连接通信至关重要,可产生更高水平的电生理心脏生物标志物,提高对心脏修复有利的旁分泌,从而达到治疗的目的。Huang 等^[45]报道了一种包载磁性铁纳米颗粒,增加了 CXC 趋化因子受体 4 型(CXCR4)的表达,提高了干细胞的归巢效应。同时通过 MRI 对注射的携带包载磁性铁纳米颗粒的干细胞进行体内示踪发现,这种纳米颗粒有效提高了干细胞对急性脑创伤的修复效果。

石墨烯和氧化石墨烯纳米颗粒是介导干细胞生长和分化的理想材料^[38]。两者的不同表面特性对调节小鼠诱导多能干细胞增殖和分化具有不同的效果。石墨烯纳米颗粒加速诱导多能干细胞分化,而氧化石墨烯纳米颗粒则维持细胞处于未分化状态^[39]。而对于硅纳米颗粒而言,介孔二氧化硅纳米颗粒也可以用于干细胞的调控^[32]。聚合物纳米颗粒在干细胞的调控中也起到重要作用。当壳聚糖纳米颗粒与干细胞共孵育时,干细胞显示出很好的肝靶向能力和控释特性,并可以刺激其旁分泌释放出大量的肝细胞生长因子(HGF)和血管内皮生长因子(VEGF),显著改善急性肝衰竭^[41]。

5.2 纳米材料附加功能分子调控干细胞行为

在纳米材料上负载具有生物活性的分子(如化学小分子药物、细胞因子、核酸类药物、多肽类药物等),来增强干细胞增殖、分化、旁分泌等功能,是目前研究的热点。纳米颗粒主要作为载体,提高这些功能分子向干细胞的递送和转染效率。如表 3 所示。

5.2.1 化学小分子药物

负载化学小分子药物的纳米颗粒可实现对药物的缓释和控释,从而增强 MSC 在治疗中的存活。Wu 等^[46]将紫杉醇(PTX)加载到二氧化硅纳米球中,并掺入金纳米棒形成具有介孔的纳米球(GNR@HPMOs-PTX)。间充质干细胞与 1000 $\mu\text{g/mL}$ GNR@HPMOs-PTX 共同孵育得到 GNR@HPMOs-PTX@MSC,在光热处理后,可有效杀死乳腺癌细胞。注射 24 h 后体内成像显示,GNR@HPMOs-PTX@MSC 比 GNR@HPMOs-PTX 在肿瘤组织中的分布更均匀且显著抑制肿瘤的生长。在 Li 等^[48]的研究中,用二氧化硅纳米颗粒作为多柔比星(DOX)的递送载体(SN-DOX),通过与 MSC 膜蛋白 CD73 和 CD90 特异性结合使 SN-DOX 有效锚定在间充质干细胞上。这种结合方式延长了纳米颗粒在间充质干细胞上的保留时间,同时负载药物 DOX 可以被运送至整个肿瘤组织。而且,负载 SN-DOX 的间充质干细胞可有效地靶向肿瘤细胞以促进肿瘤细胞的凋亡。Li 等^[50]观察到金纳米颗粒以浓度响应的方式被细胞高度摄取,故将 2,2,6,6-四甲基哌啶-N 共轭氧化物(TEMPO)缀合在金纳米颗粒表面,实现了 TEMPO

表 3 纳米材料附加功能分子对间充质干细胞的调控机制及其在疾病治疗中的应用

Table 3 The regulation mechanism of mesenchymal stem cells by functional molecules of nanoparticles and its application in disease treatment

	Drugs	Materials	Regulation method	Type of disease application
Chemical drugs	PTX	SiO ₂ nanoparticles	Enhance drug targeting	Breast cancer ^[46]
	ATV	PLGA nanoparticles	Promote mesenchymal stem cells proliferation	Myocardial infarction ^[47]
	DOX	SiO ₂ nanoparticles	Enhance drug targeting	Glioma ^[48]
	DEX	CMCh/PAMAM nanoparticles	Promote mesenchymal stem cells proliferation and differentiation	Bone repair ^[49]
	TEMPO	Au nanoparticles	Promote mesenchymal stem cells differentiation	Osteoporosis ^[50]
Cytokines	TGF- β 1, IGF-1	PNIPAM, PLGA nanoparticles	Promote mesenchymal stem cells proliferation and differentiation	Cartilage tissue damage ^[51]
	BMP-2	MSN nanoparticles	Promote mesenchymal stem cells differentiation	Bone repair ^[52]
	FGF18	BGn nanoparticles	Promote mesenchymal stem cells differentiation	Bone repair ^[53]
	EGF	PLGA nanoparticles	Promote mesenchymal stem cells proliferation and angiogenesis	Ischemic diseases ^[54]
	SDF-1 α	PPADT nanoparticles	Enhance drug targeting, angiogenesis	Ischemic diseases, inflammatory diseases ^[55]
Nucleic acid drugs	CCR2-siRNA	PMSN nanoparticles	Promote mesenchymal stem cells proliferation	Myocardial infarction ^[56]
	pHGF	HMONs-PEI nanoparticles	Enhanced paracrine	Myocardial infarction ^[57]
	Cbfa-1-siRNA	PLGA nanoparticles	Promote mesenchymal stem cells differentiation	Bone repair ^[58]
Peptide drugs	IGF-1C	Chitosan Hydrogel	Promote mesenchymal stem cells proliferation and angiogenesis	Acute renal failure ^[59]
	Silk fibroin	GO nanofiber	Promote mesenchymal stem cells differentiation	Bone repair ^[60]
	Collagen	PLGA nanofiber	Promote mesenchymal stem cells differentiation	Wound healing, skin regeneration ^[61]

向细胞中的高效递送。研究还发现，高浓度的 Au-PEG-TEMPO 纳米颗粒可有效降低特定培养条件下间充质干细胞的活性氧(ROS)水平，且促进其成骨分化，可用于骨质疏松症和其他疾病的干细胞移植。

5.2.2 细胞因子

细胞因子可诱导间充质干细胞定向分化，采用纳米材料包封的方法可实现细胞因子的缓慢释放。骨形态发生蛋白-2(BMP-2)是有效的骨诱导生长因子，但在体内易被蛋白酶快速降解。将其固定在二氧化硅纳米颗粒表面形成 BMP-2 肽功能化介孔二氧化硅纳米粒子(MSNs-pep)，与 MSN 相比具有更好的细胞相容性和较大的细胞摄取率。体外和体内实验表明，MSNs-pep 促进了间充质干细胞成骨分化，且具有诱导体内异位骨形成的能力^[52]。由于表皮生长因子(EGF)在体液中快速降解，Wang 等^[54]将携带 EGF 的聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)纳米颗粒(NP-EGF)包封在藻酸盐水凝胶微胶囊中(NP-EGF@BM)，从而使 EGF 与间充质干细胞表面受体相互作用促进间充质干细胞的增殖。将由间充质干细

胞和 NP-EGF@BM 整合的胶原水凝胶注射到体内发现，胶原水凝胶改善了注射部位间充质干细胞的保留和存活，而释放的 EGF 增强了间充质干细胞的增殖及血管生成因子的分泌，从而诱导血管的形成。Tao 等^[55]将基质细胞衍生因子-1 α (SDF-1 α)掺入含有 ROS 反应性基团硫代缩酮的新型聚合物聚(1,4-亚苯基丙酮二亚甲基硫代缩酮)(PPADT)中，形成了一种 ROS 响应性纳米颗粒。将 MSC 和 SDF-1 α -PPADT 注射入皮肤缺陷的小鼠体内后，由于 ROS 可使硫代缩酮键断裂，使 SDF-1 α 向靶向伤口有效释放，从而促进间充质干细胞向伤口及其周围的趋化性，诱导伤口血管形成并加速伤口愈合。因此，ROS 响应性纳米颗粒可以用于针对具有 ROS 升高的各种疾病的生物靶向疗法，例如缺血性疾病和炎症疾病。

5.2.3 核酸类药物

基因工程是改善间充质干细胞体内功能的一种方法，间充质干细胞的遗传修饰通常通过病毒载体实现，但由于该方法生产成本低且存在体内免疫反应，因而具有一定的局限性。相反，非病毒载体克服了这些缺点，具有

适合扩大生产和减少免疫刺激的优点,例如新兴的纳米材料作为非病毒载体可负载小干扰 RNA (siRNA) 等,实现对间充质干细胞的修饰从而对其产生调控作用。缺血性心脏中 Ly6C^{high} 单核细胞的募集和浸润与趋化因子 CCL2/受体 CCR2 (CCL2/CCR2) 信号传导相关,需要通过靶向 CCL2/CCR2 来控制促炎单核细胞,改善对 MSC 移植有不利影响的炎性微环境。Lu 等^[56]将附载 siCCR2 的光致发光多孔硅纳米颗粒 (PMSN) 与 MSC 应用于缺血性心肌损伤的治疗,siCCR2 在 Ly6C^{high} 炎性单核细胞中靶向 CCR2 表达,减少了这些细胞在梗塞中的积累,从而提高间充质干细胞移植的功效并改善心肌重塑。低分子量的聚乙烯亚胺 (PEI) 通过共价键缀合在中空介孔有机二氧化硅纳米颗粒 (HMOSs) 表面后,不仅降低了 PEI 的细胞毒性,而且还在 HMOSs 上形成阳离子表面,改善了 HMOSs 的基因负载和保护能力。Zhu 等^[57]使用加载肝细胞生长因子基因 (pHGF) 的 HMOSs-PEI 转染间充质干细胞,发现转染 pHGF 的间充质干细胞旁分泌作用得到增强,在心肌梗塞大鼠模型的移植中减轻了心肌细胞凋亡并促进了血管形成。纳米材料表面涂覆 siRNA 也可实现对间充质干细胞的诱导。Su 等^[58]制备的 PLGA 纳米颗粒,其核心负载软骨分化相关蛋白 (SOX9),外层用靶向核结合因子 $\alpha 1$ (Cbfa-1) 的 siRNA 包覆。研究发现,使用 PLGA 纳米颗粒转染的间充质干细胞在 mRNA 和蛋白质水平表达了成熟软骨细胞的标志物。

5.2.4 多肽类药物

模拟生长因子生物活性的肽通过共价偶联与材料结合,可模拟间充质干细胞的生长微环境从而控制干细胞的命运。Feng 等^[59]将胰岛素样生长因子 1 (IGF-1) 的 C 结构域肽 (IGF-1C) 通过共价键连接在壳聚糖上合成生物活性水凝胶,通过旁分泌作用增加了间充质干细胞的活力,为间充质干细胞提供了有利的微环境。在缺血性肾脏中共移植壳聚糖-IGF-1C 水凝胶和间充质干细胞,可增加 MSC 移植的存活率、促进血管生成、减轻纤维化并显著改善肾功能。丝素蛋白是一种很有前途的天然生物相容性蛋白质,Shuai 等^[60]将丝素蛋白与氧化石墨烯制成纳米纤维复合材料,加速了间充质干细胞的生长及早期细胞粘附,可在缺乏成骨分化培养基的情况下诱导间充质干细胞成骨分化,促进骨组织形成以进行骨修复。胶原蛋白通过构成真皮组分和促进上皮细胞附着来帮助伤口愈合。在 Ma 等^[61]的研究中,通过与 CD29 抗体 (Ab) 缀合制备胶原/PLGA 聚合物纳米纤维支架 (NFSs),以模拟天然细胞外机制的特性和结构。由于 NFSs 上的 Ab 可特异性识别并结合间充质干细胞表面的 CD29 抗原,使间充质干细胞在该支架上快速附着并在特定的伤口环境

中向表皮分化,进而促进急性全层皮肤创伤中的伤口愈合和皮肤再生。

6 结 语

干细胞是疾病治疗中非常重要的种子细胞,但是目前干细胞治疗存在移植后存活率低、不能可视化治疗等问题,而生物活性纳米材料可实现移植后干细胞在体内的示踪,实现干细胞的可视化治疗,同时纳米材料可负载化学药物、基因药物等,大大提高干细胞的治疗效果。

纳米技术在辅助或干预干细胞在疾病中的治疗发挥着越来越重要的作用,通过标记和示踪干细胞更好地了解了干细胞是否以及如何发挥治疗效用,通过纳米颗粒本身或负载一些功能分子可诱导干细胞定向分化、促进干细胞向损伤部位的“归巢”、刺激干细胞旁分泌、调控干细胞周围组织微环境等,从而显著提高疾病治疗效果。从目前论文发表趋势来看,这种结合势将会越来越普遍和深入。

生物活性纳米材料与干细胞的联合应用为疾病的治疗提供了新的思路,这方面研究涉及生物学、材料学、医学和化学等多门类交叉学科,涉及亟待解决的瓶颈性难题还很多。例如,干细胞静脉注射后主要会被肺部截留,到达疾病部位的会非常有限;干细胞标记用纳米探针会随着细胞的扩增在细胞内得到稀释,所以单细胞的成像信号会越来越低;生物活性纳米材料对干细胞的正面调控是否能转化到临床应用。随着纳米技术的发展,我们期望越来越多的瓶颈问题能够得到解决。

参考文献 References

- [1] KOLIOS G, MOODLEY Y. *Respiration* [J], 2013, 85(1): 3-10.
- [2] ITOH M, UMEGAKI-ARAO N, GUO Z, *et al.* *PLoS One* [J], 2013, 8(10): e77673
- [3] LI D, QIU X, YANG J, *et al.* *Journal of Cellular Physiology* [J], 2016, 231(12): 2555-2562.
- [4] FUJIWARA M, YAN P, OTSUJI T, *et al.* *PLoS One* [J], 2011, 6(2): e16734
- [5] ARDHANAREESWARAN K, MARIANI J, COPPOLA G, *et al.* *Nature Reviews Neurology* [J], 2017, 13(5): 265-278.
- [6] TÖGEL F, WESTENFELDER C. *Nature Reviews Nephrology* [J], 2010, 6(3): 179-183.
- [7] CANTALUPPI V, BIANCONE L, QUERCIA A, *et al.* *American Journal of Kidney Diseases* [J], 2013, 61(2): 300-309.
- [8] XI J, ZHANG S. *Journal of Cellular Biochemistry* [J], 2008, 105(5): 1153-1160.
- [9] MAGGA J, SAVCHENKO E, MALM M, *et al.* *Journal of Cellular & Molecular Medicine* [J], 2012, 16(5): 1060-1073.
- [10] PERIN E, SILVA G, ZHENG Y, *et al.* *American Heart Journal* [J],

- 2012, 163(3): 415–421.
- [11] CERLETTI M, JURGA S, WITCZAK C, *et al.* Cell[J], 2008, 134(1): 37–47.
- [12] 中国临床试验注册中心. 脐带间充质干细胞移植治疗帕金森病疗效和安全性[EB/OL]. (2016–01–02)[2018–10–28]. <http://www.chictr.org.cn/showproj.aspx?proj=6618>.
Chinese Clinical Trial Registry. Safety and Efficacy Study of Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Transplantation for Treatment of Parkinson's Disease[EB/OL]. (2016–01–02)[2018–10–28]. <http://www.chictr.org.cn/showproj.aspx?proj=6618>.
- [13] 中国临床试验注册中心. 脐带间充质干细胞介入移植治疗脊髓损伤的安全性和有效性[EB/OL]. (2015–08–04)[2018–10–28]. <http://www.chictr.org.cn/showproj.aspx?proj=7543>.
Chinese Clinical Trial Registry. The Safety and Efficacy of Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell Transplantation Through Femoral Artery Interventional Procedure in Spinal Cord Injury Patients[EB/OL]. (2015–08–04)[2018–10–28]. <http://www.chictr.org.cn/showproj.aspx?proj=7543>.
- [14] CMIEL V, SKOPALIK J, POLAKOVA K, *et al.* European Biophysics Journal[J], 2016, 46(5): 01–12.
- [15] KOBAYASHI K, WEI J, IIDA R, *et al.* Polymer Journal[J], 2014, 46(8): 460–468.
- [16] LI J, YOU J, DAI Y, *et al.* Analytical Chemistry[J], 2014, 86(22): 11306–11311.
- [17] CHEN D, WAN D, WANG R, *et al.* ACS Biomaterials Science & Engineering[J], 2018, 4(2): 626–634.
- [18] LIU W, NAYDENOV B, CHAKRABORTTY S, *et al.* Nano Letters[J], 2016, 16(10): 6236–6244.
- [19] LI J, LEE W Y, WU T, *et al.* Advanced Healthcare Materials[J], 2016, 5(9): 1049–1057.
- [20] LEI Y, TANG H, YAO L, *et al.* Bioconjugate Chemistry[J], 2008, 19(2): 421–427.
- [21] LIU Y, HUANG N, YU Y, *et al.* Journal of Materials Chemistry B[J], 2015, 4(25): 301–306.
- [22] SHAO D, LU M, XU D, *et al.* Biomaterials Science[J], 2017, 5(9): 1820–1827.
- [23] MOONEY E, DOCKERY P, GREISER U, *et al.* Nano Letters[J], 2008, 8(8): 2137–2143.
- [24] DING D, MAO D, LI K, *et al.* ACS Nano[J], 2014, 8(12): 12620–12631.
- [25] LI J, LEUNG C W T, WONG D S H, *et al.* ACS Applied Materials & Interfaces[J], 2017. Doi: 10.1021/acsami.7b00845.
- [26] NAMESTNIKOVA D, GUBSKIY I, KHOLODENKO I, *et al.* PLoS One[J], 2017, 12(10): e0186717.
- [27] QI Y, YANG Z, DING Q, *et al.* Experimental & Therapeutic Medicine[J], 2016, 11(2): 458–466.
- [28] LIU G, WANG Z, LU J, *et al.* Biomaterials[J], 2011, 32(2): 528–537.
- [29] FAIVRE L, CHAUSSARD M, VERCELLINO L, *et al.* Current Research in Translational Medicine[J], 2016, 64(3): 141–148.
- [30] DWYER R M, RYAN J, HAVELIN R J, *et al.* Stem Cells[J], 2011, 29(7): 1149–1157.
- [31] LIN X, XIE J, NIU G, *et al.* Nano Letters[J], 2011, 11(2): 814–819.
- [32] HUANG X, ZHANG F, WANG H, *et al.* Biomaterials[J], 2013, 34(7): 1772–1780.
- [33] KYU S C, HONG K A, LIN S, *et al.* Korean Journal of Radiology[J], 2009, 10(6): 613–622.
- [34] TUNG J, PAIGE S, RATNER B, *et al.* Stem Cell Reports[J], 2014, 2(3): 271–281.
- [35] HAN J, KIM B, SHIN J, *et al.* ACS Nano[J], 2015, 9(3): 2805–2819.
- [36] LI J, LI J, ZHANG J, *et al.* Nanoscale[J], 2016, 8(15): 7992–8007.
- [37] LV L, LIU Y, ZHANG P, *et al.* Biomaterials[J], 2015, 39: 193–205.
- [38] LEE W, LIM C, SHI H, *et al.* ACS Nano[J], 2011, 5(9): 7334–7341.
- [39] CHEN G, PANG D, HWANG S, *et al.* Biomaterials[J], 2012, 33(2): 418–427.
- [40] SU N, GAO P, WANG P, *et al.* Biomaterials[J], 2017, 141: 74–85.
- [41] XIAO J, SHI X, MA H, *et al.* Archives of Medical Research[J], 2013, 44(5): 370–379.
- [42] KOOK Y, KIM H, KIM S, *et al.* Nanomaterials-Basel[J], 2018, 8(2): 117.
- [43] WEBBER M, HAN X, MURTHY S, *et al.* Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine[J], 2010, 4(8): 600–610.
- [44] RAVICHANDRAN R, VENUGOPAL J, SUNDARRAJAN S, *et al.* Materials Science & Engineering C[J], 2012, 32(6): 1443–1451.
- [45] HUANG X, ZHANG F, WANG Y, *et al.* ACS Nano[J], 2014, 8(5): 4403–4414.
- [46] WU J, LIU Y, TANG Y X, *et al.* ACS Applied Materials & Interface[J], 2016, 8(28): 17927–17935.
- [47] YAO G T, SONG L P, XUE W H, *et al.* Saudi Journal of Biological Sciences[J], 2018, 25(6): 1016–1021.
- [48] LI L L, GUAN Y Q, LIU H Y, *et al.* ACS Nano[J], 2011, 5(9): 7462–7470.
- [49] JOAQUIM M O, RUI A S, NORIKO K, *et al.* Biomaterials[J], 2009, 30(5): 804–813.
- [50] LI J C, ZHANG J, CHEN Y, *et al.* ACS Applied Materials & Interfaces[J], 2017, 9(41): 35683–35692.
- [51] AYŞE B E, PINAR Y, BANU B, *et al.* Journal of Tissue Engineering & Regenerative Medicine[J], 2013, 7(2): 149–160.
- [52] ZHOU X J, FENG W, QIU K X, *et al.* ACS Applied Materials & Interfaces[J], 2015, 7(29): 15777–15789.
- [53] CHINMAYA M, RAJENDRA K S, JUNG J K, *et al.* ACS Applied Materials & Interfaces[J], 2016, 8(41): 27573–27584.
- [54] WANG H, PRANAY A, XIAO Y C, *et al.* ACS Central Science[J], 2017, 3(8): 875–885.
- [55] TANG T, JIANG H, YU Y, *et al.* International Journal of Nanomed-

- cine[J], 2015, 10: 6571–6585.
- [56] LU W B, XIE Z Y, TANG Y, *et al.* Theranostics[J], 2015, 5(10): 1068–1082.
- [57] ZHU K, WU M Y, LAI H, *et al.* Biomaterials[J], 2016, 74: 188–199.
- [58] SU Y J, JI S P, YANG H N, *et al.* Biomaterials[J], 2014, 35(28): 8236–8248.
- [59] FENG G W, ZHANG J M, LI Y, *et al.* Journal of the American Society of Nephrology Jasn[J], 2016, 27(8): 2357–2369.
- [60] SHUAI Y J, MAO C B, YANG M Y. ACS Applied Materials & Interfaces[J], 2018, 10(38): 31988–31997.
- [61] MA K, LIAO S S, HE L M, *et al.* Tissue Engineering Part A[J], 2011, 17(9/10): 1413–1424.

(编辑 吴 锐)