

间充质干细胞抗衰老研究进展

李溢溪, 刘启明, 刘娜, 吴珂珂

(中南大学湘雅二医院心内科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] 间充质干细胞; 衰老; 外泌体

[摘要] 人口老龄化加重医疗负担, 干细胞移植逆转衰老及其伴随的功能障碍成为治疗领域的新方法。间充质干细胞(MSC)作为兼具再生和免疫调节功能的干细胞类型, 可通过直接分化的细胞替代和细胞赋能方式促进衰老组织的再生修复。最近研究发现, 连续离心可分离 MSC 中以外泌体为代表的主要治疗载体, 外泌体中衰老相关的 miRNA 有助于阐明 MSC 抗衰老治疗的分子机制。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Research progress on anti-aging of mesenchymal stem cell

LI Yixi, LIU Qiming, LIU Na, WU Keke

(Department of Cardiology, Xiangya Second Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410011, China)

[KEY WORDS] mesenchymal stem cell; senescence; exosome

[ABSTRACT] With the aging of population, the burden of medical is aggravated. As a new treatment method, stem cell transplantation has reversed aging and its accompanying dysfunction. Mesenchymal stem cell, as a type of stem cell with both regeneration and immunoregulatory functions, can promote the regeneration and repair of aging tissues through direct differentiation of cell replacement and cell empowerment. At the same time, recent studies have found that continuous centrifugation can separate exosomes which is the main therapeutic carrier from mesenchymal stem cell. Senescence-related miRNA in exosomes is helpful to elucidate the molecular mechanism of anti-aging treatment of mesenchymal stem cell.

随着现代社会进入 21 世纪, 发展中国家人口老龄化现象欲趋严重, 并加重医疗保健和社会成本的负担。1881 年, Weismann 等发现器官性能受到组织有限的细胞分裂的影响。随后, Hayflick 等^[1]于 1961 年发现正常人体细胞具有有限的细胞复制和寿命, 当细胞达到最大复制能力时, 这种现象称为细胞衰老。衰老的特征表现为细胞水平上的生物完整性的累积丧失, 且其影响全身的生理功能。衰老过程的主要生物学标志包括: (1) 组织再生能力的下降, 内源性干细胞群的耗尽或失调; (2) 细胞周期的稳定停滞及 DNA 累积损害蛋白质稳态、细胞功能和通信以及正常器官生理^[2]。衰老与干细胞完整性密切相关。干细胞生物学和再生医学的主要目标之一是如何利用干细胞来逆转衰老及其伴随的功能障碍。

1 间充质干细胞

自 1961 年 Till 和 McCulloch 发现多能干细胞以来, 已经确定干细胞的功能既包括促进新细胞的发育又能维持当前正常细胞的稳态。1998 年威斯康星大学的 Thomson 等^[3]从人类胚胎胚泡中成功分离并繁殖了人类胚胎干细胞, 这些干细胞是全能的并且能够在体内形成 250 种不同的人类细胞类型。近来, 研究证据支持的干细胞生理模型表现为: 体内干细胞保持静止状态, 即使在长时间静止后, 其也可以响应细胞外刺激而重新激活进入细胞周期进程, 分裂增殖产生未分化的后代并进一步分化形成新的细胞^[4]。凭借干细胞的自我更新能力, 干细胞库可确保持续供应干细胞, 并在生物体的整个生命周期内提供分化细胞。

[收稿日期] 2019-10-14

[修回日期] 2019-11-28

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81770337, 81570310)

[作者简介] 李溢溪, 硕士, 医师, 研究方向为动脉粥样硬化和心律失常, E-mail 为 liyixi2017@hotmail.com。通信作者刘启明, 博士, 主任医师, 教授, 研究方向为心律失常和动脉粥样硬化, E-mail 为 qimingliu@csu.edu.cn。

间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)是一种首先在骨髓中发现的非造血干细胞群,几乎存在于所有结缔组织中,通常从躯体(包括胎儿和成人)组织中分离,如脐带、羊膜、羊水、胎盘、骨髓、血液、脂肪和牙髓等。国际细胞治疗协会对MSC进一步表征分析发现:在标准培养条件下黏附于塑料培养板;表达细胞表面标志物CD105、CD73和CD90,而不表达CD45、CD34、CD14或CD11b、CD79、CD19或HLA-DR;保留体外自我复制的能力,以及分化成多种细胞谱系的潜力,如成骨细胞、成软骨细胞、脂肪细胞和肌细胞^[5]。MSC具有很高的增殖能力和可塑性,可以分化成许多体细胞谱系,并可转移到受损组织中,促进组织再生,减少炎症^[6]并抑制衰老过程。

2 间充质干细胞直接分化抗衰老

MSC到达受损组织后主要通过细胞替换和细胞赋能方式发挥对疾病的治疗作用。许多研究致力于研究MSC的分化潜能,以实现其原位替换受损细胞,促进各种器官组织(心脏、肾脏和肝脏)的再生修复^[7]。在Hare等^[8]的研究中,53例近期(1~10天)前壁心肌梗死患者接受为期6月的MSC治疗,在该研究中,与接受安慰剂的患者相比,MSC治疗患者的左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)增加了7.3%,心律失常事件发生率降低(治疗组为8.8%,安慰剂组为36.8%)。MSC具有强大的免疫抑制作用,其主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)的低表达可允许同种异体MSC用于治疗,而不需要供体和受体之间的MHC匹配。TRIDENT研究中^[9],30例经心内膜手术的缺血性心肌病的两组患者分别接受 2×10^7 个和 1×10^8 个的同种异体MSC治疗12月,其心肌瘢痕大小减少到相似的程度(6.4 g比6.1 g);而接受 1×10^8 个MSC治疗患者的LVEF提高了3.7%,但接受 2×10^7 个MSC治疗患者的LVEF没有显著变化。到目前为止,很少发现有与MSC治疗相关的不良反应,这些优势共同解释了为什么MSC是最广泛使用的干细胞类型。

Wu等通过比较青年组和老年组小鼠的骨髓间充质干细胞(marrow MSC, BMSC),发现青年组中SA- β -gal阳性细胞的百分比低于老年组^[10],而来自幼龄小鼠的MSC移植到老龄小鼠中,发现接受幼龄MSC治疗的老龄小鼠可以推迟生殖障碍的发生时间,改善老龄小鼠的存活率并延缓老龄小鼠自身

的衰老过程。另有研究发现人脂肪组织来源的MSC(adipose tissue-derived MSC, AD-MSC)的移植改善了老年小鼠的运动活动能力和认知功能,同时恢复了脑组织中的乙酰胆碱水平^[11],移植AD-MSC还恢复了老年小鼠脑中的微管相关蛋白2,增强了酪氨酸受体激酶B表达,以及脑源性神经营养因子和神经生长因子的浓度,这些结果表明,AD-MSC的移植可以恢复老年小鼠的认知功能。在另一项研究中,Cao等^[12]研究了人脐带来源的MSC对由D半乳糖诱导的衰老小鼠模型认知衰老的影响,该研究对衰老小鼠行腹膜注射人脐带来源的MSC,每周1次,持续2周,研究发现MSC移植3月后,衰老小鼠海马依赖性学习和记忆得到改善,衰老小鼠海马CA1区突触可塑性增强并改善了衰老小鼠海马区域中的树突棘密度、突触后密度和神经发生;该研究进一步表明,MSC移植的有益效果是通过激活衰老小鼠大脑海马区域中MAPK-ERK-CREB信号通路来发挥作用。Charles-de-Sa等^[13]通过分别移植自体脂肪组织和 2×10^6 自体脂肪组织来源的MSC至45岁至65岁病人面部的右侧和左侧的耳前区域^[13],发现这两种方法均可改善病人皮肤真皮层胶原蛋白和纤维蛋白的结构,从而改善面部皮肤衰老。Dong等^[14]通过分别移植大鼠骨髓来源的MSC和大鼠骨髓来源过表达Wnt的MSC给后背脱毛的小鼠,发现Wnt过表达的MSC能够加速毛囊从休止期向生长期的进展,增强真皮乳头区碱性磷酸酶的表达,同时可上调毛发诱导相关基因表达,促进毛囊再生。

研究发现来自较老供体的脐带来源的MSC显示出增殖和集落形成能力降低,伴随成骨分化潜能降低但脂肪形成潜能增加^[15]。MSC需要在体外扩增以满足治疗所需的细胞数量,在长时间培养后,MSC像大多数原代细胞一样变得衰老;氧化应激可诱导MSC进入过早衰老状态^[16]。

3 间充质干细胞的外泌体抗衰老

在大多数MSC临床应用实例中,MSC在受损组织的植入效率并不高,并且定植后MSC的存活时间较短,提示MSC除了分化替代损伤细胞外,还利用了其他机制发挥治疗效果^[17-18]。1996年Haynesworth等^[19]报道,MSC合成并分泌广谱的生长因子和细胞因子,包括血管内皮生长因子、成纤维细胞生长因子、单核细胞趋化蛋白1、肝细胞生长因子、胰岛素样生长因子1、基质细胞衍生因子1和

血小板生成素。MSC 通过旁分泌作用对局部细胞发挥抗细胞凋亡和营养作用,尽管 MSC 旁分泌模式是普遍接受的概念,但尚未明确导致其治疗功效的精确生物活性部分。

MSC 分泌的蛋白组由多种功能的蛋白质、寡核苷酸和代谢物组成^[20],在过去几年已报道, MSC 分泌的这些生物活性分子可发挥治疗作用。最近,已显示 MSC 在体外和在心肌中分泌相同的细胞因子和其他生物活性因子,如分泌型卷曲相关蛋白 2,可以限制炎性细胞因子在心肌中的表达和活化,并且限制中性粒细胞、淋巴细胞和巨噬细胞浸润到急性梗死心肌中,保护心肌细胞和血管细胞,改善心肌代谢,并限制梗死面积和左心室重塑^[21-27]。此外, MSC 旁分泌因子可以显著激活心肌细胞中的 Akt 和 Bcl2,活化的 Akt 和 Bcl2 可增加心肌细胞活力并减少细胞凋亡^[28]。MSC 还可以分泌抗炎细胞因子白细胞介素 4 (interleukin-4, IL-4) 和 IL-10^[22], IL-4 可以减少游离氧自由基的释放,下调基质金属蛋白酶并减少纤维蛋白原合成;IL-10 可降低心肌梗死区域中肿瘤坏死因子、IL-1 和基质金属蛋白酶的表达以及 T 淋巴细胞的浸润,此外,IL-10 可以减少炎症细胞释放的游离氧自由基,抑制中性粒细胞与血管内皮的黏连,利于中性粒细胞浸润到受损和梗死的心肌。但多个研究表明从 MSC 分泌的物质中分离的生物活性分子不能产生一致且可重复的结果,因而可推断 MSC 分泌的蛋白组中发挥治疗作用的活性分子具有更高的分子复杂性。

外泌体是亚微米大小的质膜封闭的细胞外囊泡 (extracellular vesicle, EV), EV 基于它们的生物物理特性 (例如大小、密度和主要蛋白质标记物) 进行亚类分组^[29], EV 分为 3 个亚类:外泌体 (直径约 30 ~ 150 nm)、微泡 (直径约 100 nm ~ 1 μ m) 和凋亡小体 (直径大于 1 μ m)。最初外泌体被认为是通过机体分选机制产生的不具有生物功能的细胞亚类,而最新的证据表明,外泌体在细胞之间及不同组织之间形成一个通信网络,参与细胞间信号传导、细胞内通信和免疫功能的调节^[30-31]。通过 EV 亚型的分离技术可以帮助鉴定区分功能性亚群并富集各亚群的活性物质,这不仅会产生更有效的制剂,而且所得到的同源群体将有助于分子机制研究。Kowal 等^[32]发现可以通过连续离心步骤分离大、中、小 3 个尺寸的 EV 亚型,并且在小型 EV 中通过 CD63、CD9 和 CD81 四跨膜蛋白富集程度可定义外泌体亚群。最近的研究表明, MSC 可释放出不同的外泌体亚群,这些亚群在生理学、蛋白质组学和

RNA 谱系方面存在差异。不同来源 MSC 的外泌体的治疗能力已经在各种疾病模型中得到验证,其可减少心肌梗死的大小^[33-34],有助于肾损伤的修复^[35],通过转移 miRNA (在 RNA 沉默和基因表达的转录后调节中起作用的小的非编码 RNA 分子) 来协调神经保护,因此 MSC 外泌体本身具有重要的治疗作用。

MSC 外泌体携带许多与衰老相关的 miRNA 且其表达通常随着年龄的增长而下调,从而导致细胞增殖能力和炎症调节能力失调。Hisamatsu 等^[36]研究发现 miR-17 及其旁系同源物 miR-106a 和 miR-106b (miR-17/106) 的下调诱导衰老的 MSC 分化潜能下降和分泌因子表达失调;另有研究报告支持 miR-17/106 与 MSC 骨形成潜能的年龄依赖性降低相关,过表达 miR-17 的转基因小鼠表现出骨组织生长能力增强并具有延长的寿命^[37]。miR-17/106 不仅调节分化潜能,还调节生长分化因子的表达。生长分化因子 6 (growth differentiation factor-6, GDF6) 作为年轻 MSC 分泌的再生因子,上调 GDF6 可恢复体外衰老 MSC 的分化潜能。同时流行病学研究报告称,miR-17 家族在百岁老人中上调,这支持 miR-17 对长寿有重要作用^[38]。Yu 等^[39]发现老年恒河猴骨髓来源 MSC 外泌体中的 miR-125b 表达下降,而前期研究发现 lin-4 miR 作为哺乳动物 miR-125b 家族的同源物,通过控制胰岛素/胰岛素样生长因子 1 途径影响组织衰老速度^[40];lin-4 miR 的过表达可延长寿命,而突变的丧失加速了组织的衰老,因此,可推测 miR-125b 对衰老有重要作用。慢性炎症可加速全身衰老,miR-181 家族成员具有抗炎作用,同时 miR-181 也可调节 MSC 的分化^[41],研究表明 miR-181 家族成员在 MSC 外泌体中随着年龄的增长而下调。此外, Davis 等^[42]研究表明年龄相关的骨质减少和骨质疏松症可能是由骨干细胞,特别是 BMSC 的潜在缺陷引起的,他们发现其中一个潜在的机制是 miR-183-5p 随着衰老而增加,导致 BMSC 的衰老并抑制成骨分化。上述 miRNA 的下调诱导了与 MSC 相关的年龄相关功能障碍,进一步研究其他的 miRNA 将有助于阐明 MSC 外泌体的抗衰老治疗的中心分子机制。

与再生医学中基于细胞的疗法相比, MSC 外泌体治疗对于临床开发更具吸引力,其一, MSC 外泌体具有较低量的主要组织相容性复合物 II,并且其免疫原性低于其亲本细胞,因此可能使 MSC 外泌体不易在外来宿主中引发免疫应答;其二,通过用其分泌的外泌体代替活细胞,能减轻与干细胞移植相

关的许多安全性问题和伦理限制;其三,新出现的证据表明外泌体是可雾化的,可以在-20℃下冷冻保存6月,同时不会损失其生物化学活性。但制造安全且可重复的MSC外泌体相关的医药产品的挑战是复杂的,因为MSC外泌体复杂的生物活性特性可能包括致瘤性和未知的脱靶活性^[43]。

4 展 望

干细胞的范围包括从内细胞团中分离的全能干细胞,从其他来源如胎儿组织和出生相关组织分离的多能干细胞以及成人组织中分离的单能干细胞。尽管这些不同的全能干细胞及多能干细胞为治疗衰老和与年龄有关的疾病提供了巨大的潜力,但是存在几个相关的缺点:一是可能致瘤^[44],二是具有遗传不稳定性^[45],三是胚胎干细胞存在的伦理问题^[46],四是供体细胞的突变和损伤会降低其增殖能力^[47]。而基于MSC的干细胞移植已在许多与新生物学相关的临床前模型中显示出前景,最近的数据已经证明MSC的治疗能力包括:其一是直接分化的细胞替代和细胞赋能方式,其二是以外泌体为代表的主要治疗载体。然而,它们的临床应用和开发仍然受到技术和安全问题的阻碍,如:来自不同细胞来源和供体的MSC外泌体是否具有相同的免疫调节能力?MSC外泌体是否受到宿主内源性T细胞或自然杀伤细胞的细胞毒性的影响?因此,MSC的抗衰老治疗仍存在很多挑战,期望未来的研究能更深入地阐明MSC在抗衰老进程中的作用机制,为临床工作提供有利的帮助。

[参考文献]

- [1] Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains[J]. *Exp Cell Res*, 1961, 25: 585-621.
- [2] Lopez-Otin C, Blasco MA, Partridge L, et al. The hallmarks of aging[J]. *Cell*, 2013, 153(6): 1194-1217.
- [3] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts[J]. *Science*, 1998, 282(5391): 1145-1147.
- [4] Sharpless NE, DePinho RA. How stem cells age and why this makes us grow old[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(9): 703-713.
- [5] Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells: The international society for cellular therapy position statement [J]. *Cytotherapy*, 2006, 8(4): 315-317.
- [6] Koliakos G. Stem cells and aging[J]. *Rejuvenation Res*, 2017, 20(1): 4-8.
- [7] Rose RA, Jiang H, Wang X, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stromal cells express cardiac-specific markers, retain the stromal phenotype, and do not become functional cardiomyocytes in vitro[J]. *Stem Cells*, 2008, 26(11): 2884-2892.
- [8] Hare JM, Traverse JH, Henry TD, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 54(24): 2277-2286.
- [9] Florea V, Rieger AC, DiFede DL, et al. Dose comparison study of allogeneic mesenchymal stem cells in patients with ischemic cardiomyopathy (the TRIDENT study)[J]. *Circ Res*, 2017, 121(11): 1279-1290.
- [10] Wu H, Li JZ, Xie BD, et al. Lower senescence of adipose-derived stem cells than donor-matched bone marrow stem cells for surgical ventricular restoration [J]. *Stem Cells Dev*, 2018, 27(9): 612-623.
- [11] Park D, Yang G, Bae DK, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improve cognitive function and physical activity in ageing mice[J]. *J Neurosci Res*, 2013, 91(5): 660-670.
- [12] Cao N, Liao T, Liu J, et al. Clinical-grade human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells reverse cognitive aging via improving synaptic plasticity and endogenous neurogenesis [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(8): e2996.
- [13] Charles-de-Sa L, Gontijo-de-Amorim NF, Maeda Takiya C, et al. Antiaging treatment of the facial skin by fat graft and adipose-derived stem cells [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2015, 135(4): 999-1009.
- [14] Dong L, Hao H, Xia L, et al. Treatment of MSCs with Wnt1a-conditioned medium activates DP cells and promotes hair follicle regrowth[J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 5432.
- [15] Huang S, Feng C, Wu Y, et al. Dissimilar characteristics of umbilical cord mesenchymal stem cells from donors of different ages [J]. *Cell Tissue Bank*, 2013, 14(4): 707-713.
- [16] Zhou L, Chen X, Liu T, et al. Melatonin reverses H₂O₂-induced premature senescence in mesenchymal stem cells via the SIRT1-dependent pathway[J]. *J Pineal Res*, 2015, 59(2): 190-205.
- [17] Prockop DJ, Kota DJ, Bazhanov N, et al. Evolving paradigms for repair of tissues by adult stem/progenitor cells (MSCs)[J]. *J Cell Mol Med*, 2010, 14(9): 2190-2199.
- [18] Von Bahr L, Batsis I, Moll G, et al. Analysis of tissues following mesenchymal stromal cell therapy in humans indicates limited long-term engraftment and no ectopic tissue formation [J]. *Stem Cells*, 2012, 30(7): 1575-1578.
- [19] Haynesworth SE, Baber MA, Caplan AI. Cytokine expression by human marrow-derived mesenchymal progenitor cells in vitro: effects of dexamethasone and IL-1 alpha [J]. *J Cell Physiol*, 1996, 166(3): 585-592.
- [20] Kourembanas S. Exosomes: vehicles of intercellular signaling, biomarkers, and vectors of cell therapy [J]. *Annu Rev Physiol*, 2015, 77: 13-27.
- [21] Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, et al. Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote in vitro and in vivo arteriogenesis through paracrine mechanisms [J]. *Circ Res*, 2004, 94(5): 678-685.

- [22] Henning RJ, Dennis S, Sawmiller D, et al. Human umbilical cord blood mononuclear cells activate the survival protein Akt in cardiac myocytes and endothelial cells that limits apoptosis and necrosis during hypoxia[J]. *Transl Res*, 2012, 159(6): 497-506.
- [23] Gneccchi M, He H, Liang OD, et al. Paracrine action accounts for marked protection of ischemic heart by Akt-modified mesenchymal stem cells[J]. *Nat Med*, 2005, 11(4): 367-368.
- [24] Mirotsov M, Zhang Z, Deb A, et al. Secreted frizzled related protein 2 (Sfrp2) is the key Akt-mesenchymal stem cell-released paracrine factor mediating myocardial survival and repair[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(5): 1643-1648.
- [25] Timmers L, Lim SK, Arslan F, et al. Reduction of myocardial infarct size by human mesenchymal stem cell conditioned medium [J]. *Stem Cell Res*, 2007, 1(2): 129-137.
- [26] Henning RJ, Burgos JD, Ondrovic L, et al. Human umbilical cord blood progenitor cells are attracted to infarcted myocardium and significantly reduce myocardial infarction size[J]. *Cell Transplant*, 2006, 15(7): 647-658.
- [27] Henning RJ, Shariff M, Eadula U, et al. Human cord blood mononuclear cells decrease cytokines and inflammatory cells in acute myocardial infarction [J]. *Stem Cells Dev*, 2008, 17(6): 1207-1219.
- [28] Rajendran RL, Gangadaran P, Bak SS, et al. Extracellular vesicles derived from MSCs activates dermal papilla cell in vitro and promotes hair follicle conversion from telogen to anagen in mice [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 15560.
- [29] Mitsialis SA, Kourembanas S. Stem cell-based therapies for the newborn lung and brain: Possibilities and challenges [J]. *Semin Perinatol*, 2016, 40(3): 138-151.
- [30] Rashed MH, Bayraktar E, Helal GK, et al. Exosomes; from garbage bins to promising therapeutic targets [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(3): 538.
- [31] Willis GR, Kourembanas S, Mitsialis SA. Therapeutic applications of extracellular vesicles: perspectives from newborn medicine [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1660: 409-432.
- [32] Kowal J, Arras G, Colombo M, et al. Proteomic comparison defines novel markers to characterize heterogeneous populations of extracellular vesicle subtypes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(8): E968-E977.
- [33] Lai RC, Arslan F, Lee MM, et al. Exosome secreted by MSC reduces myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Stem Cell Res*, 2010, 4(3): 214-222.
- [34] Arslan F, Lai RC, Smeets MB, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes increase ATP levels, decrease oxidative stress and activate PI3K/Akt pathway to enhance myocardial viability and prevent adverse remodeling after myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Stem Cell Res*, 2013, 10(3): 301-312.
- [35] Reis LA, Borges FT, Simoes MJ, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells repaired but did not prevent gentamicin-induced acute kidney injury through paracrine effects in rats [J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e44092.
- [36] Hisamatsu D, Ohno-Oishi M, Nakamura S, et al. Growth differentiation factor 6 derived from mesenchymal stem/stromal cells reduces age-related functional deterioration in multiple tissues [J]. *Aging*, 2016, 8(6): 1259-1275.
- [37] Du WW, Yang W, Fang L, et al. miR-17 extends mouse lifespan by inhibiting senescence signaling mediated by MKP7 [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1355.
- [38] Gombor S, Jung HJ, Dong F, et al. Comprehensive microRNA profiling in B-cells of human centenarians by massively parallel sequencing [J]. *BMC Genomics*, 2012, 13: 353.
- [39] Yu JM, Wu X, Gimble JM, et al. Age-related changes in mesenchymal stem cells derived from rhesus macaque bone marrow [J]. *Aging cell*, 2011, 10(1): 66-79.
- [40] Boehm M, Slack F. A developmental timing microRNA and its target regulate life span in *C. elegans* [J]. *Science*, 2005, 310(5756): 1954-1957.
- [41] Liu L, Wang Y, Fan H, et al. MicroRNA-181a regulates local immune balance by inhibiting proliferation and immunosuppressive properties of mesenchymal stem cells [J]. *Stem Cells*, 2012, 30(8): 1756-1770.
- [42] Davis C, Dukes A, Drewry M, et al. MicroRNA-183-5p increases with age in bone-derived extracellular vesicles, suppresses bone marrow stromal (stem) cell proliferation, and induces stem cell senescence [J]. *Tissue Eng Part A*, 2017, 23(21-22): 1231-1240.
- [43] Lalu MM, McIntyre L, Pugliese C, et al. Safety of cell therapy with mesenchymal stromal cells (safe cell): a systematic review and meta-analysis of clinical trials [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e47559.
- [44] Lee AS, Tang C, Rao MS, et al. Tumorigenicity as a clinical hurdle for pluripotent stem cell therapies [J]. *Nat Med*, 2013, 19(8): 998-1004.
- [45] Peterson SE, Garitaonandia I, Loring JF. The tumorigenic potential of pluripotent stem cells: what can we do to minimize it? [J]. *Bioessays*, 2016, 38(Suppl 1): S86-S95.
- [46] King NM, Perrin J. Ethical issues in stem cell research and therapy [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2014, 5(4): 85.
- [47] Yoshihara M, Hayashizaki Y, Murakawa Y. Genomic instability of iPSCs: challenges towards their clinical applications [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2017, 13(1): 7-16.

(此文编辑 曾学清)