

· 综 述 ·

# 干细胞疗法在血友病性关节炎治疗中的应用进展

沈绍宁<sup>1</sup>, 吴东晓<sup>1</sup>, 吕帅洁<sup>1</sup>, 肖鲁伟<sup>1</sup>, 童培建<sup>2</sup>

(1. 浙江中医药大学第一临床医学院, 浙江 杭州 310053;

2. 浙江省中医院, 浙江 杭州 310006)

**摘要** 目前,临床上治疗血友病性关节炎的方法主要为预防出血和骨科手术,但是这2种方法均无法延缓关节炎的病情进展。干细胞是具有多向分化潜能的细胞,在再生医学领域备受关注。近年来,有关干细胞疗法治疗血友病性关节炎的研究取得了显著成果,并已证明此疗法可以修复骨与软骨缺损,延缓血友病性关节炎病情进展。干细胞疗法在血友病性关节炎的治疗中展现出极大的应用前景。本文从治疗血友病性关节炎的干细胞类型、基于造血干细胞的基因治疗和基于间充质干细胞的细胞治疗3个方面,对干细胞疗法在血友病性关节炎治疗中的应用进展进行了综述。

**关键词** 关节炎;血友病 A;血友病 B;造血干细胞;间质干细胞;基因治疗;细胞治疗;综述

血友病是一种 X 染色体连锁的隐性遗传性出血性疾病,可分为血友病 A 和血友病 B,前者为凝血因子 VIII 缺乏、后者为凝血因子 IX 缺乏,均由相应的凝血因子基因突变引起<sup>[1]</sup>。该病的主要临床表现为出血。血友病性关节炎(hemophilic arthritis, HA)是由血友病患者(people with hemophilia, PWH)关节腔内反复出血而引起的关节退行性变和滑膜炎,是血友病主要的并发症之一,严重影响 PWH 的生活质量。目前,临床上治疗 HA 的方法主要为预防出血和骨科手术。凝血因子替代治疗是目前预防血友病出血的主要方法<sup>[2]</sup>,然而替代治疗价格昂贵,在发展中国家应用受到限制;该疗法主要对尚未发生关节炎的儿童 PWH 具有预防作用,而对已经发生关节炎的 PWH,提高凝血因子水平难以延缓病情进展,需采用骨科手术治疗<sup>[3]</sup>。目前,亟需寻求一种新的有效方法来延缓 HA 病情进展。干细胞是具有多向分化潜能的细胞,在再生医学领域备受关注。近年来,有关干细胞疗法治疗 HA 的研究<sup>[4-6]</sup>取得了显著成果,并已证明此疗法可以修复骨与软骨缺损,延缓 HA 病情进展。本文就干细胞疗法在 HA 治疗中的应用进展综述如下。

## 1 治疗 HA 的干细胞类型

目前,用于治疗 HA 的干细胞类型主要包括造血干细胞(hemopoietic stem cell, HSC)与间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)。HSC 是血液系统中具有长期自我更新能力和分化成各类成熟血细胞潜能

的成体干细胞。HSC 作为基因载体细胞,可以用于 HA 的基因治疗。MSC 是源于中胚层的具有自我更新和分化潜能的多能祖细胞,其来源丰富,可从骨髓、脂肪、脐带、软骨等中分离获取。MSC 关节腔内移植法在骨关节炎等疾病的治疗中已被证明具有修复软骨和延缓病情进展的作用,但目前临床上尚无 MSC 关节腔移植治疗 HA 的报道。有研究<sup>[4,7]</sup>表明, MSC 关节腔移植能有效减少关节腔内出血、促进骨与软骨修复、延缓关节炎病情进展,可成为治疗 HA 的有效方法。

## 2 基于 HSC 的基因治疗

**2.1 基于 HSC 的基因治疗的优势** 将能正常表达凝血因子基因的病毒载体在体外转导至靶细胞,再输入患者体内的方法,称之为间接基因治疗法。随着研究的不断深入,许多体细胞被用于 HA 的基因治疗,如成纤维细胞、血管内皮细胞、肝细胞等,但仍存在细胞活力丧失、难以持续表达等问题<sup>[8]</sup>。基于 HSC 的靶向血小板表达凝血因子 VIII 的基因治疗是目前最具潜力的治疗策略<sup>[9]</sup>。将能正常表达凝血因子 VIII 的基因通过慢病毒载体或 CRISPR/Cas9、TALEN 等基因编辑工程技术<sup>[10]</sup>转导至 HSC,在体外富集增殖后,再将其注入患者体内, HSC 将分化形成包含血小板在内的血细胞,在巨核细胞和血小板特异的启动子控制下,凝血因子 VIII 特异性表达并储存于血小板中,从而实现治愈 HA 的目的。基于 HSC 的基因治疗相较于直接输注病毒载体及其他体细胞基因治疗具有以下优势: ①凝血因子替代治疗与一般基因治疗的凝血因子均表达于血浆中,因此对于临床上存在中和抗体的患

基金项目:国家自然科学基金项目(81904219)

通讯作者:童培建 E-mail:tongpeijian@163.com

者,这 2 项治疗均不能取得良好的效果;而基于 HSC 的基因治疗,在巨核细胞和血小板特异性启动子(包括 GP $\alpha$ IIb 启动子、GP $\alpha$ Ib 启动子、血小板因子 4 启动子)的控制下,凝血因子 VIII 特异性表达并储存于血小板  $\alpha$  颗粒中,减少了其在血液循环中的暴露时间,避免受到中和抗体的抑制作用,对于存在中和抗体的患者同样有效。②血小板可在表达凝血因子 VIII 的同时表达血管性血友病因子(von willebrand factor, VWF),二者结合形成 VWF 和凝血因子 VIII 复合物,并与血管内皮胶原进一步结合,提高血栓稳定性。③HSC 持续表达凝血因子 VIII 的能力更强。王大威<sup>[11]</sup>通过小鼠实验发现,往小鼠体内注射的 HSC 可参与造血系统的发育,持续表达凝血因子 VIII,甚至在二次移植后仍能保持这一能力。

**2.2 基于 HSC 的基因治疗的安全性** 基于 HSC 的基因治疗的安全性是目前的热点问题。首先,体外基因编辑及细胞培养增殖过程中由于基因突变及拷贝数变异等问题<sup>[12]</sup>,存在发生基因组改变的风险,且在后续治疗中存在致癌的危险。尽管许多动物实验未发现通过 HSC 基因治疗后存在致癌现象,但这一问题仍应引起重视。其次,以胚胎干细胞或诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)为来源诱导分化为 HSC 的过程中,因在体外难以模拟生理状况下 HSC 分化的微环境<sup>[13]</sup>,所以很难实现 HSC 准确定向分化。王大威<sup>[11]</sup>通过 iPSC 体内分化畸胎瘤细胞的方法分化形成以髓系及淋系终末造血细胞为终点的 HSC。但由于体内分化存在不可控性以及畸胎瘤本身的类癌风险性,靶向血小板的基因治疗在临床上应用面临巨大挑战。对于老年 PWH,在动脉粥样硬化等风险增大的前提下,靶向血小板表达凝血因子 VIII 的基因治疗是否会增加老年 PWH 血栓形成风险仍不明确<sup>[14]</sup>。为了评估靶向血小板的基因治疗的安全性, Baumgartner 等<sup>[15]</sup>建立了高于凝血因子最低治疗量 30 倍的转基因小鼠模型,并评估了与血栓形成相关的各项参数,结果显示血小板高浓度表达凝血因子 VIII 增加转基因小鼠血栓形成的风险。今后仍需更多的动物实验及临床研究来进一步验证基于 HSC 的基因治疗的安全性。

**2.3 基于 HSC 的基因治疗存在的问题** 血友病作为单基因缺陷疾病是基因治疗的首选疾病之一。Nathwani 等<sup>[16]</sup>通过对血友病 B 患者静脉注射能够表

达凝血因子 IX 的腺相关病毒载体 8 (adeno associated virus, AAV8),成功地进行了血友病 B 基因治疗的 I 期临床试验研究。但是,通过直接注射病毒载体的方式仍存在许多问题。首先,AAV8 病毒载体表达的凝血因子于血液循环中,若 PWH 存在中和抗体,难以避免受到中和抗体的抑制作用<sup>[17]</sup>。其次,大部分 PWH 因长期输血或使用血液制品,存在感染肝炎病毒或 HIV 病毒的风险,易导致基因治疗失败。此外,在凝血因子 VIII 或 IX 基因成功导入肝细胞后常伴随谷氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)升高随即凝血因子表达下降的情况,难以实现基因持续表达<sup>[16]</sup>。以往由于凝血因子 VIII 基因过于庞大(编码区长度约为 7.0 kb,超过了插入 AAV 的允许范围),且全长凝血因子 VIII 蛋白的细胞表达率较差等原因,血友病 A 的基因治疗被认为比血友病 B 更具挑战性。Valoctocogene roxaparvovec 疗法又名 BMN270 疗法,是一种使用 AAV5 病毒载体递送表达凝血因子 VIII 基因的创新基因疗法,该疗法的出现给血友病 A 患者带来新希望。BMN270 是一种无复制能力的 AAV5 基因载体,包括位于其 5 和 3 末端的双链反向末端重复序列,以及编码杂合人类肝脏特异性启动子的单链 DNA、B 结构域缺失的人凝血因子 VIII cDNA 和合成型聚腺苷酸化信号<sup>[18-19]</sup>。ALT 升高是 BMN270 基因疗法最常见的不良反应,需使用激素加以控制。此外, BMN270 基因疗法对于存在凝血因子 VIII 抑制物病史患者的疗效仍不确切。目前, BMN270 基因疗法的基础研究仍存在较多局限性,需要更多的临床研究以验证其长期疗效及安全性<sup>[20]</sup>。

### 3 基于 MSC 的细胞治疗

对于已发生关节病变的 PWH,虽然基因治疗可以提高患者凝血因子水平,避免自发性出血,但是难以遏制关节病变的进展<sup>[21]</sup>。鉴于此, Kashiwakura 等<sup>[22]</sup>提出了基于 MSC 的细胞治疗。基于 MSC 的细胞治疗已经在骨关节炎的治疗中取得了显著成效<sup>[23]</sup>。HA 与骨关节炎在病理机制上存在相似性,且大量动物实验研究<sup>[4,6,22]</sup>也证实了基于 MSC 的细胞治疗对 HA 有相当的疗效。

**3.1 基于 MSC 的细胞治疗的作用机制** 与骨关节炎的细胞治疗不同, HA 的细胞治疗需将表达正常凝血因子 VIII 和 IX 基因的病毒载体转导至 MSC,体外富集增殖后再输入患者关节腔内。从 HA 的发病机制出

发,HA 治疗的潜在目标包括含铁血黄素清除、炎症消除、血管重塑及骨与软骨修复<sup>[24]</sup>。基于 MSC 的细胞治疗机制与 HA 治疗的潜在目标有着较高的契合度,主要包括止血、免疫调节及骨与软骨修复。

**3.1.1 止血** HA 发生发展的关键在于关节腔内反复出血,而出血产生的含铁血黄素将沉积于滑膜并引起炎症,Fe<sup>2+</sup> 刺激滑膜薄层转化为肥大的绒毛膜。由于炎症与增生滑膜的需氧量增加,刺激血管内皮生长因子的表达,导致滑膜新生血管形成,而新生血管更容易受到损伤而引发出血。因此,出血-增生滑膜-新生血管这一恶性循环是加剧 HA 进展的主要原因。基于 MSC 的细胞治疗有望打破这一恶性循环,因为 MSC 在关节腔内呈高浓度,当出血发生时,高浓度的凝血因子被及时释放而用于止血,在血浆凝血因子Ⅷ水平未增加的情况下,基于 MSC 的细胞治疗仍能有效进行止血。与凝血因子替代治疗相比,MSC 移植治疗的优势是持续地产生凝血因子而非突然地大量增加凝血因子,这也有利于避免凝血因子抗体的产生。

**3.1.2 免疫调节** 免疫调节作用机制包括分泌免疫抑制性细胞因子配体和受体以及直接调节免疫细胞分化来调节免疫反应<sup>[25]</sup>。首先,炎症因子干扰素  $\gamma$ 、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF) $\alpha$  和白介素(interleukin, IL)1 $\beta$  等能刺激 MSC 表达免疫抑制剂、程序性细胞死亡配体 1(programmed cell death Ligand 1, PD-L1)和 PD-L2 以及下调免疫球蛋白样转录物受体,从而抑制炎症反应<sup>[26]</sup>。其次,MSC 还可通过其表达的免疫调节因子来调节多种类型的免疫细胞,从而达到抗炎的目的。MSC 不仅抑制高度糖基化的 I 型跨膜糖蛋白 CD34 和 HSC 的单核细胞分化<sup>[27]</sup>,还可以通过吡啶胺 2,3-二加氧酶、CC 基序配体 18 和前列腺素 E2 诱导巨噬细胞从促炎切换到抗炎<sup>[28]</sup>,表达高水平的免疫抑制因子(如 IL-10)和低水平的免疫激活剂(如 IL-6, IL-12, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-23, CD86)。活化的 MSC 分泌免疫抑制蛋白 TNF- $\alpha$  刺激基因 6(TNF- $\alpha$  stimulated gene 6, TSG-6),并抑制新分化的巨噬细胞的活化。TSG-6 与巨噬细胞上表达的 CD44 相互作用并减少核因子- $\kappa$ B 的核易位<sup>[29]</sup>。此外,MSC 可以根据微环境,释放抑制因子、刺激因子或表达其他表面分子,抑制 B 细胞、T 细胞、NK 细胞等活性,发挥其免疫调节功能,从而降低炎症反应。

**3.1.3 骨与软骨修复** MSC 的分化作用与旁分泌作用是骨与软骨修复的主要作用机制。MSC 微环境在其中起到了重要作用,主要指分子及细胞层面的基质细胞、微循环、信号转导通路等多方面多层次组成的 MSC 生存环境<sup>[30]</sup>。HA 的病情进展与骨质疏松和骨质破坏有着密切关系,而 MSC 所具有的成骨、成软骨分化能力有助于骨质疏松和骨质破坏的改善。在 MSC 的成骨、成软骨分化过程中微环境起到了决定性作用。在 MSC 的成骨分化机制中,BMP 信号通路、Wnt 信号通路、Notch 信号通路、整合素家族、非编码 RNA 包括长链非编码 RNA、微小 RNA 和环状 RNA 均起着重要作用<sup>[28]</sup>。此外,微环境产生的空间边界条件因素对成骨分化也具有重要作用。研究发现,在直径为 100  $\mu$ m 和 150  $\mu$ m 空间边界条件下培养的 MSC 具有更强的成骨分化能力<sup>[31]</sup>。MSC 的成软骨分化,除受 Wnt 信号通路、Notch 信号通路等调控外,还受到包括 Sox 家族的 Sox9、T-box 转录因子家族的 Brachyury、C-myc、ERG 和 Runx2 等转录因子的调控。因此,对下游信号通路及转录因子的调控是促进 MSC 成骨、成软骨分化的关键。

既往学者们认为,MSC 是通过分化骨细胞、软骨细胞进而替代原有损伤组织来修复骨与软骨缺损的。但是,近年来的研究发现,MSC 是通过旁分泌作用特别是外泌体调节微环境来促进其自身修复的<sup>[32-33]</sup>,而非简单地进行新旧细胞的更替。外泌体通过对多条信号通路及细胞因子的调控(如蛋白激酶 B、细胞外调节蛋白激酶、Wnt 信号通路、微小 RNA 等)来抑制软骨细胞凋亡、促进损伤软骨细胞修复及促进软骨细胞增殖。

**3.2 基于 MSC 的细胞治疗存在的问题** 理想的基于 MSC 的细胞治疗应为移植后的 MSC 能长期稳定地表达凝血因子,然而多项已经通过移植 MSC 治疗成功提高了凝血因子水平的动物实验均未能实现凝血因子的长期持续表达,其原因可能为细胞生存能力丧失或出现了抑制抗体<sup>[34]</sup>。由于很难实现凝血因子长期持续表达这一理想目标,HA 患者可能需要定期地进行 MSC 移植治疗,这无疑是对关节的重复损伤,并且还增加了感染的风险。此外,Kashiwakura 等<sup>[4]</sup>的研究结果表明,能表达凝血因子Ⅷ的 MSC 移植治疗会导致凝血因子Ⅷ抗体滴度升高,这意味着此项治疗可能会增加 PWH 凝血因子Ⅷ抗体滴度。今后仍需进

行更多的动物实验及临床研究来进一步验证基于 MSC 的细胞治疗的安全性。

#### 4 小 结

基于干细胞的基因治疗与细胞治疗为 HA 的治疗提供了新的思路。腺相关病毒载体(AAV5、AAV8)介导的基因治疗已经在临床上取得一定的成果,但存在受抑制物影响、ALT 升高及凝血因子难以持续表达等问题。基于 HSC 的靶向血小板基因治疗有望突破这些局限,但仍难以逆转 HA 的进展。基于 MSC 的细胞治疗或将成为 HA 的主流治疗方法,因其可以有效止血并通过抑制炎症反应、促进骨与软骨修复等机制延缓甚至逆转 HA 的进展。目前,基于 MSC 的细胞治疗仍未应用于 HA 的临床治疗,因此其注射方式、剂量、优化疗效途径及安全性问题是今后亟需解决的问题。

#### 参考文献

- [1] 中华医学会血液学分会血栓与止血学组、中国血友病协作组. 血友病诊断与治疗中国专家共识(2017 年版)[J]. 中华血液学杂志, 2016, 37(5): 364 - 370.
- [2] BHARDWAJ R, RATH G, GOYAL A K. Advancement in the treatment of haemophilia [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 118(Pt A): 289 - 295.
- [3] HANLEY J, MCKERNAN A, CREAGH M D, et al. Guidelines for the management of acute joint bleeds and chronic synovitis in haemophilia; a United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation (UKHCDO) guideline [J]. *Haemophilia*, 2017, 23(4): 511 - 520.
- [4] KASHIWAKURA Y, OHMORI T, MIMURO J, et al. Intra-articular injection of mesenchymal stem cells expressing coagulation factor ameliorates hemophilic arthropathy in factor VIII-deficient mice [J]. *J Thromb Haemost*, 2012, 10(9): 1802 - 1813.
- [5] RODRIGUEZ-MERCHAN E C. Intra-articular injections of mesenchymal stem cells (MSCs) as a treatment for hemophilic arthropathy [J]. *Expert Rev Hematol*, 2016, 9(8): 737 - 741.
- [6] VANNABOUATHONG C, DEL FABBRO G, SALES B, et al. Intra-articular injections in the treatment of symptoms from ankle arthritis: a systematic review [J]. *Foot Ankle Int*, 2018, 39(10): 1141 - 1150.
- [7] OHMORI T, MIZUKAMI H, KATAKAI Y, et al. Safety of intra-articular transplantation of lentivirally transduced mesenchymal stromal cells for hemophilic arthropathy in a non-human primate [J]. *Int J Hematol*, 2018, 108(3): 239 - 245.
- [8] MATSUI H, SHIBATA M, BROWN B, et al. Ex vivo gene therapy for hemophilia A that enhances safe delivery and sustained in vivo factor VIII expression from lentivirally engineered endothelial progenitors [J]. *Stem Cells*, 2007, 25(10): 2660 - 2669.
- [9] FOMIN M E, TOGARRATI P P, MUENCH M O. Progress and challenges in the development of a cell-based therapy for hemophilia A [J]. *J Thromb Haemost*, 2014, 12(12): 1954 - 1965.
- [10] LYU C, SHEN J, WANG R, et al. Targeted genome engineering in human induced pluripotent stem cells from patients with hemophilia B using the CRISPR-Cas9 system [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 92.
- [11] 王大威. 基于干细胞的靶向血小板基因治疗血友病 A 的研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2017.
- [12] YOSHIHARA M, OGUCHI A, MURAKAWA Y. Genomic instability of iPSCs and challenges in their clinical applications [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1201: 23 - 47.
- [13] VASKO T, FROBEL J, LUBBERICH R, et al. iPSC-derived mesenchymal stromal cells are less supportive than primary MSCs for co-culture of hematopoietic progenitor cells [J]. *J Hematol Oncol*, 2016, 9: 43.
- [14] 王韵, 施小凤, 毛建华, 等. 靶向血小板表达 FVIII 基因治疗血友病 A 的新进展 [J]. *国际输血及血液学杂志*, 2020, 43(1): 17 - 22.
- [15] BAUMGARTNER C K, MATTSON J G, WEILER H, et al. Targeting factor VIII expression to platelets for hemophilia A gene therapy does not induce an apparent thrombotic risk in mice [J]. *J Thromb Haemost*, 2017, 15(1): 98 - 109.
- [16] NATHWANI A C, TUDDENHAM E G, RANGARAJAN S, et al. Adenovirus-associated virus vector-mediated gene transfer in hemophilia B [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(25): 2357 - 2365.
- [17] IORIO A, HALIMEH S, HOLZHAUER S, et al. Rate of inhibitor development in previously untreated hemophilia A patients treated with plasma-derived or recombinant factor VIII concentrates: a systematic review [J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(6): 1256 - 1265.
- [18] BUNTING S, ZHANG L, XIE L, et al. Gene therapy with BMN 270 results in therapeutic levels of FVIII in mice and primates and normalization of bleeding in hemophilic mice [J]. *Mol Ther*, 2018, 26(2): 496 - 509.
- [19] LONG B R, VERON P, KURANDA K, et al. Early phase clinical immunogenicity of valoctocogene roxaparovec, an

- AAV5 – mediated gene therapy for hemophilia A [J]. *Mol Ther*, 2021, 29(2) : 597 – 610.
- [20] AGBOOLA F, RIND D M, WALTON S M, et al. The effectiveness and value of emicizumab and valoctocogene roxaparvec for the management of hemophilia A without inhibitors [J]. *J Manag Care Spec Pharm*, 2021, 27 ( 5 ) : 667 – 673.
- [21] NIJDAM A, FOPPEN W, VAN DER SCHOUW Y T, et al. Long – term effects of joint bleeding before starting prophylaxis in severe haemophilia [J]. *Haemophilia*, 2016, 22(6) : 852 – 858.
- [22] KASHIWAKURA Y, OHMORI T, MIMURO J, et al. Intra – articular injection of mesenchymal stem cells expressing coagulation factor ameliorates hemophilic arthropathy in factor VIII deficient mice [J]. *J Thromb Haemost*, 2012, 10 ( 9 ) : 1802 – 1813.
- [23] 王志伟, 索海强, 梁寒光, 等. 不同来源的间充质干细胞在早期骨关节炎中治疗的特点比较及展望 [J]. *中华老年骨科与康复电子杂志*, 2020, 6(6) : 364 – 369.
- [24] PULLES A E, MASTBERGEN S C, SCHUTGENS R E, et al. Pathophysiology of hemophilic arthropathy and potential targets for therapy [J]. *Pharmacol Res*, 2017, 115 : 192 – 199.
- [25] JIANG W, XU J. Immune modulation by mesenchymal stem cells [J]. *Cell Prolif*, 2020, 53(1) : e12712.
- [26] KRAMPERA M. Mesenchymal stromal cell “icensing” : a multistep process [J]. *Leukemia*, 2011, 25(9) : 1408 – 1414.
- [27] NAUTA A J, KRUISSELBRINK A B, LURVINK E, et al. Mesenchymal stem cells inhibit generation and function of both CD34 + – derived and monocyte – derived dendritic cells [J]. *J Immunol*, 2006, 177(4) : 2080 – 2087.
- [28] ABUMAREE M H, AL JUMAH M A, KALIONIS B, et al. Human placental mesenchymal stem cells (pMSCs) play a role as immune suppressive cells by shifting macrophage differentiation from inflammatory M1 to anti-inflammatory M2 macrophages [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2013, 9 ( 5 ) : 620 – 641.
- [29] CHOI H, LEE R H, BAZHANOV N, et al. Anti – inflammatory protein TSG – 6 secreted by activated MSCs attenuates zymosan – induced mouse peritonitis by decreasing TLR2/ NF –  $\kappa$ B signaling in resident macrophages [J]. *Blood*, 2011, 118(2) : 330 – 338.
- [30] 张纯希, 李想, 周钰翔, 等. 骨骼微环境中谁决定间充质干细胞的分化命运 [J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(25) : 4045 – 4052.
- [31] HUANG G, LI F, ZHAO X, et al. Functional and biomimetic materials for engineering of the three-dimensional cell micro-environment [J]. *Chem Rev*, 2017, 117(20) : 12764 – 12850.
- [32] ZHANG S, CHUAH S J, LAI R C, et al. MSC exosomes mediate cartilage repair by enhancing proliferation, attenuating apoptosis and modulating immune reactivity [J]. *Biomaterials*, 2018, 156 : 16 – 27.
- [33] GURUNATHAN S, KANG M H, JEYARAJ M, et al. Review of the isolation, characterization, biological function, and multifarious therapeutic approaches of exosomes [J]. *Cells*, 2019, 8(4) : 307.
- [34] GANGADHARAN B, PARKER E T, IDE L M, et al. High-level expression of porcine factor VIII from genetically modified bone marrow – derived stem cells [J]. *Blood*, 2006, 107(10) : 3859 – 3864.

(收稿日期: 2021-03-21 本文编辑: 时红磊)

(上接第 32 页)

- [21] DE MENDONÇA F S, DE TARSO CAMILLO DE CARVALHO P, BIASOTTO – GONZALEZ D A, et al. Muscle fiber conduction velocity and EMG amplitude of the upper trapezius muscle in healthy subjects after low – level laser irradiation: a randomized, double – blind, placebo – controlled, crossover study [J]. *Lasers Med Sci*, 2018, 33 ( 4 ) : 737 – 744.
- [22] FALLA D, O’LEARY S, FARINA D, et al. Association between intensity of pain and impairment in onset and activation of the deep cervical flexors in patients with persistent neck pain [J]. *Clin J Pain*, 2011, 27(4) : 309 – 314.
- [23] BLOMGREN J, STRANDELL E, JULL G, et al. Effects of deep cervical flexor training on impaired physiological functions associated with chronic neck pain: a systematic review [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2018, 19(1) : 415.
- [24] GHADERI F, JAFARABADI M A, JAVANSHIR K. The clinical and EMG assessment of the effects of stabilization exercise on nonspecific chronic neck pain: a randomized controlled trial [J]. *J Back Musculoskelet Rehabil*, 2017, 30(2) : 211 – 219.
- [25] LASCURAIN – AGUIRREBEÑA I, NEWHAM D J, CASADO – ZUMETA X, et al. Immediate effects of cervical mobilisations on neck muscle activity during active neck movements in patients with non-specific neck pain. A double blind placebo controlled trial [J]. *Physiotherapy*, 2021, 110 : 42 – 53.

(收稿日期: 2021-03-10 本文编辑: 吕宁)