

- for intractable neuropathic pain[J]. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc, 2013, 170(7):6163—6166.
- [22] Kang BS, Shin HI, Bang MS. Effect of repetitive transcranial magnetic stimulation over the hand motor cortical area on central pain after spinal cord injury[J]. Arch Phys Med Rehabil, 2009, 90(10):1766—1771.
- [23] Defrin R, Grunhaus L, Zamir D, et al. The effect of a series of repetitive transcranial magnetic stimulations of the motor cortex on central pain after spinal cord injury[J]. Arch Phys Med Rehabil, 2007, 88(12):1574—1580.
- [24] Kedzior KK, Azorina V, Reitz SK. More female patients and fewer stimuli per session are associated with the short-term antidepressant properties of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS): a meta-analysis of 54 sham-controlled studies published between 1997-2013[J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2014, 10(5):727—756.
- [25] Berger U, Korngreen A, Bar-Gad I, et al. Magnetic stimulation intensity modulates motor inhibition[J]. Neurosci Lett, 2011, 504(2):93—97.
- [26] Hirayama A, Saitoh Y, Kishima H, et al. Reduction of intractable deafferentation pain by navigation-guided repetitive transcranial magnetic stimulation of the primary motor cortex[J]. Pain, 2006, 122(1—2):22—27.
- [27] Migita K, Uozumi T, Arita K, et al. Transcranial magnetic coil stimulation of motor cortex in patients with central pain[J]. Neurosurgery, 1995, 36(5):1037—1039.
- [28] André-Obadia N, Peyron R, Mertens P, et al. Transcranial magnetic stimulation for pain control. Double-blind study of different frequencies against placebo, and correlation with motor cortex stimulation efficacy[J]. Clin Neurophysiol, 2006, 117(7):1536—1544.
- [29] Casula EP, Tarantino V, Basso D, et al. Low-frequency rTMS inhibitory effects in the primary motor cortex: Insights from TMS-evoked potentials[J]. Neuroimage, 2014, (98): 225—232.
- [30] Khedr EM, Kotb H, Kamel NF, et al. Longlasting antalgic effects of daily sessions of repetitive transcranial magnetic stimulation in central and peripheral neuropathic pain[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2005, 76(6):833—838.
- [31] O'Connell NE, Wand BM, Marston L, et al. Non-invasive brain stimulation techniques for chronic pain[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2014, (4):CD008208.
- [32] Nuti C, Peyron R, Garcia-Larrea L, et al. Motor cortex stimulation for refractory neuropathic pain: four year outcome and predictors of efficacy[J]. Pain, 2005, 118(1—2): 43—52.
- [33] Lefaucheur JP, Drouot X, Nguyen JP. Interventional neurophysiology for pain control: duration of pain relief following repetitive transcranial magnetic stimulation of the motor cortex[J]. Neurophysiol Clin, 2001, 31(4):247—252.
- [34] Lefaucheur JP, André-Obadia N, Poulet E, et al. French guidelines on the use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS): safety and therapeutic indications[J]. Neurophysiol Clin, 2011, 41(5—6):221—295.

·综述·

间充质干细胞移植治疗骨骼肌损伤的研究进展*

刘晓光¹ 肖卫华^{1,2} 赵淋淋¹ 田向阳¹

骨骼肌损伤是运动医学领域最常见的损伤。但骨骼肌具有较强的可塑性,当发生损伤时,它可快速地进行修复和再生。骨骼肌的这种再生能力在很大程度上依赖于骨骼肌中的一类前体细胞——肌卫星细胞(satellite cells, SC)。肌卫星细胞存在于基底膜和肌细胞膜之间,骨骼肌损伤后,静息态卫星细胞被激活,然后增殖、分化、融合成肌管从而完成

损伤修复^[1-2]。但是骨骼肌中肌卫星细胞数量相对较少,只占骨骼肌细胞数量的约1%—5%^[3]。骨骼肌严重损伤后往往募集不到足量的肌卫星细胞参与骨骼肌损伤修复,因此会形成一些纤维化的瘢痕组织代替部分坏死肌纤维,同时伴随着骨骼肌纤维数量减少和骨骼肌功能降低^[4]。

骨骼肌损伤后的治疗措施一般包括:RICE(休息rest,冷

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2015.12.028

*基金项目:国家自然科学基金项目(31300975);教育部博士点基金(20133156120004);上海市人类运动能力开发与保障重点实验室(上海体育学院)(11DZ2261100)资助项目

1 上海体育学院运动科学学院,上海,200438; 2 通讯作者

作者简介:刘晓光,男,硕士研究生; 收稿日期:2015-06-26

疗 ice, 加压包扎 compression, 抬高伤肢 elevation)、制动、主动或被动的关节活动,这是当前治疗骨骼肌损伤的标准方法。但是,当发生严重的肌肉损伤时,患者可能出现如肌肉萎缩、挛缩和疼痛等症状,处理不当可导致功能障碍^[5]。目前对骨骼肌严重损伤的治疗仍没有公认的最佳方案,其治疗手段也较局限。此前有较多的研究关注于肌卫星细胞移植技术治疗骨骼肌损伤^[6-8],但该技术受到如细胞高度特异性、来源有限性等诸多条件限制^[9],一定程度上影响了该技术的发展。近年来,随着间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs),特别是骨髓来源间充质干细胞的作用被逐步揭示,间充质干细胞移植技术用来治疗骨骼肌损伤成为了新的研究热点^[10-11]。越来越多的证据表明,移植间充质干细胞有助于促进损伤骨骼肌功能和形态的恢复,减少瘢痕组织和纤维化^[12-15]。而且间充质干细胞具有分化能力强、来源广泛、方便获取等优点,在治疗骨骼肌损伤中具有非常重要的临床应用价值。但目前国内对此尚少关注。为了加深我们对间充质干细胞与骨骼肌损伤修复关系的认识,了解国外最新研究进展,本文对近几年文献进行了系统梳理。

1 骨骼肌损伤修复的病理过程

骨骼肌损伤后修复过程可以分为三个阶段,第一个阶段是炎症反应阶段,在损伤后的前几天,肌肉损伤处局部肿胀,形成血肿,肌组织坏死、降解及出现炎症反应,嗜中性粒细胞和巨噬细胞浸润增多。第二个阶段是损伤修复期,一般是伤后第5—10天,损伤组织被吞噬,位于损伤肌肉周围处于静止期的肌卫星细胞或其他干细胞受生长因子以及损伤肌肉释放的信号刺激而活化,迁移到损伤处增殖、延伸,新形成的肌管向幸存的肌纤维融合,从而修复受损肌纤维。若损伤范围过大,损伤处可形成大量致密结缔组织和瘢痕组织,这可能阻碍肌肉的再生和影响修复效果。第三个阶段是组织塑形期,一般从伤后第2周或第3周开始,再生骨骼肌成熟,瘢痕组织机化^[16-17]。

2 间充质干细胞特征与移植方法

间充质干细胞是干细胞家族的重要成员,最初在骨髓中发现,是一种多能干细胞^[18]。MSCs来源广泛,分布于骨髓、脂肪、脐带等多种组织和器官,且各有其功能特点,如骨髓来源MSCs具有较强的分化潜能,脂肪来源MSCs在传代培养后可以分化成不同的群落,脐带来源MSCs治疗骨折后不愈合具有非常好的效果^[19]。人间充质干细胞是一种梭形细胞,在较低密度培养时是一种纤维样细胞^[13]。

MSCs很少表达主要组织相容性复合体Ⅱ(major histocompatibility complex-Ⅱ, MHC-Ⅱ)和共刺激分子,所以机体免疫系统无法识别MSCs, MSCs具有免疫特赦的特征^[20]。

因此,不仅同种异体来源MSCs可以进行成功移植^[21],而且不同种属之间移植MSCs也不会引起宿主的免疫抑制和炎症反应^[22-23]。正是这一特征,使MSCs移植治疗多种疾病成为了可能,具有广泛的应用前景。为促进MSCs移植疗法的发展,国际细胞治疗协会确定了间充质干细胞鉴定的三个原则,包括:①MSCs在标准培养条件下会贴壁生长;②MSCs可表达CD105、CD73、CD90细胞表面分子,而不表达CD45、CD34、CD14或CD11b、CD79a或CD19、HLA-DR;③MSCs在体外具有分化特性,可以分化成造骨细胞、脂肪细胞和成骨细胞等^[24]。

骨骼肌中MSCs数量并非一成不变的,在运动或骨骼肌损伤后其数量会增多。骨骼肌损伤后产生的多种炎症因子和趋化因子,可促进骨骼肌局部、血液和骨髓中间充质干细胞向损伤部位迁移,直接分化成肌纤维,或者分泌多种生长因子从而参与骨骼肌损伤修复^[25-27]。正因间充质干细胞在骨骼肌损伤修复中具有重要作用,它已越来越多地被应用于细胞治疗。目前细胞移植所需间充质干细胞主要来源于骨髓、脂肪和脐带等^[10,23,28],细胞移植的方法主要是直接移植到损伤部位或者间接通过动脉或者静脉注射进行移植间充质干细胞,而且这几种方法都取得了非常好的效果^[11,15,29]。

3 间充质干细胞移植对损伤骨骼肌功能和形态的影响

3.1 间充质干细胞移植对损伤骨骼肌功能的影响

研究表明,骨骼肌损伤后移植MSCs可以促进损伤骨骼肌功能恢复。如Natsu等^[21]研究发现,从绿色荧光蛋白转基因SD大鼠胫骨和股骨获取骨髓间充质干细胞,体外培养扩增后移植到骨骼肌损伤部位。1个月后发现,移植MSCs大鼠损伤骨骼肌收缩力量几乎达到未损伤骨骼肌水平,而对照组只恢复了约80%的收缩力量。

同时, MSCs移植改善损伤骨骼肌功能与移植的MSCs数量有关。Winkler等^[30]在大鼠比目鱼肌损伤1周后移植不同数量MSCs到损伤骨骼肌。4周后测试发现,骨骼肌收缩力量和移植的MSCs数量呈对数关系,且移植MSCs的数量在 10×10^6 时促进骨骼肌损伤后力量恢复效果最明显,而未移植MSCs对照组骨骼肌损伤后力量恢复的幅度最小。

但是, MSCs移植改善损伤骨骼肌功能并没有严格的时效性,损伤后不同时间移植MSCs,损伤骨骼肌功能改善效果相似。如Winkler等^[31]在大鼠骨骼肌损伤后即刻和在损伤1周后移植MSCs,发现在损伤后第4周,损伤即刻和损伤1周后移植MSCs相比,骨骼肌收缩力量并没有显著差异,而未移植MSCs对照组骨骼肌损伤后力量恢复和移植组相比显著较低。而且, MSCs移植改善损伤骨骼肌功能这一效应不受性别影响。Roth等^[32]在SD大鼠损伤1周后,分别移植同等数量的MSCs到雌雄鼠损伤比目鱼肌中。损伤4周后检测

发现, MSCs移植显著促进损伤骨骼肌力量恢复, 并且雄性和雌性大鼠相比没有显著差异。

3.2 间充质干细胞移植对损伤骨骼肌形态的影响

骨骼肌损伤后, 移植MSCs不仅可以促进骨骼肌功能恢复, 还能促进其形态学恢复。如Ninagawa等^[33]研究发现, 移植小鼠胚胎来源间充质干细胞(E-MSCs)到损伤的胫骨前肌, 这能显著地促进骨骼肌损伤修复。他们发现, 移植E-MSCs 2周后, 胫骨前肌和对照组相比横断面积显著增加, 且到第3周时几乎达到未损伤肌肉水平。

骨骼肌损伤后, 移植MSCs不仅能增加骨骼肌横断面积, 还能促进骨骼肌血管发生和增加血流量。如Natsu等^[21]发现, 在小鼠后肢缺血模型中移植低氧预处理MSCs, 和阴性对照组相比, 其毛细血管数量增加了2倍、血管连接和分支增加了7倍, 而正常处理MSCs移植组血管数量、血管连接和分支与阴性对照组和低氧预处理MSCs组相比处于中间水平。然而, 并不是所有研究都认为移植MSCs可以促进损伤骨骼肌形态学修复。如Natsu等^[21]发现, 移植MSCs到SD大鼠损伤骨骼肌虽能增强骨骼肌力量, 但HE染色并没有发现移植的MSCs分化或者融合成肌纤维。因此, 他们认为移植MSCs可以显著促进损伤骨骼肌力量恢复, 但是没有分化成肌纤维。Roth等^[15]的研究也支持此观点。他们通过股动脉内注射MSCs, 发现MSCs移植可以显著促进损伤骨骼肌功能恢复。但是, 移植MSCs组和对照组相比纤维化面积并没有显著变化。笔者认为出现这种矛盾的现象可能与MSCs来源、预处理方式、移植方式等有关, 不同来源、不同处理方式、不同移植方式可能影响MSCs移植对骨骼肌损伤修复的影响。

4 间充质干细胞促进骨骼肌损伤修复的机制

4.1 MSCs直接分化成肌细胞参与骨骼肌损伤修复

MSCs具有强大的定向分化能力, 可以分化成脂肪细胞、软骨细胞、成骨细胞、心肌细胞等^[34-35]。大量的离体研究证明, 通过不同诱导方式可以诱导MSCs直接分化成肌细胞。如Gang等^[36]发现Pax-3能诱导MSCs分化成成肌细胞, Deza-wa等^[37]发现用细胞内结构域基因能诱导MSCs分化成骨骼肌细胞, Haghighipour等^[38]发现, 循环机械牵拉能诱导人骨髓间充质干细胞向骨骼肌细胞分化。

在体研究表明, MSCs在体内可以分化成骨骼肌细胞, 从而参与骨骼肌损伤修复。如Dezawa等^[37]将绿色荧光蛋白标记MSCs移植到心脏毒素诱导损伤的腓肠肌中, 2周后发现绿色荧光标记MSCs掺入到新生的未成熟肌纤维中。而且, Ninagawa等^[33]发现, 移植小鼠胚胎来源间充质干细胞到损伤的胫骨前肌能显著地促进骨骼肌损伤修复, 有大于60%的E-MSCs分化成骨骼肌细胞。Winkler等^[39]运用核磁共振成像

技术, 在可视化角度下在体研究移植的MSCs如何参与骨骼肌损伤修复。他们发现, 移植MSCs 24h后, 标记的MSCs游离到受损肌纤维处, 并发现标记的MSCs与肌纤维发生了融合。

4.2 MSCs通过分泌多种细胞因子、生长因子调控骨骼肌损伤修复

MSCs除了能直接分化成肌细胞参与骨骼肌修复外, 还可分泌多种细胞因子, 参与骨骼肌修复和再生。如MSCs可通过合成和分泌1-磷酸-鞘氨醇(sphingosine-1-phosphate, S1P)促进肌原细胞增殖^[40]。S1P是一种具有多种生物活性的磷脂, 能促进肌原细胞增殖, 对除神经支配的肌纤维具有营养作用。外源性补充S1P能减少离心运动造成的骨骼肌损伤, 促进肌卫星细胞增殖和分化、减少肌纤维凋亡^[41]。研究发现MSCs也能够合成和分泌S1P, 在培养基中加入S1P抑制剂能显著抑制MSCs引起的细胞增殖, 再添加S1P能显著促进肌细胞增殖。此外, MSCs来源的外泌体(exosomes)在骨骼肌损伤修复中发挥了重要作用。如Nakamura等^[42]发现注射MSCs来源外泌体到损伤胫骨前肌, 和对照组相比, 其中央核肌纤维的直径和数量显著增加、纤维化面积减少、毛细血管密度增加, 说明MSCs来源的外泌体能显著促进骨骼肌再生、促进血管发生、减少纤维化。外泌体是一种多泡体的小囊泡, 是细胞内和胞吞作用有关的细胞器, 内含mRNA、microRNA和一些蛋白质。MSCs来源外泌体除含有较多的毛细血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等生长因子外, 还含有大量miRNA, 如miR-21和miR-494等。miR-21可抑制细胞凋亡, miR-494则能促进C2C12细胞迁移和融合, 因此MSCs源性外泌体促进骨骼肌损伤修复可能是部分通过外泌体中miRNA介导的^[42]。

血管再生在骨骼肌损伤修复过程中起到至关重要的作用, MSCs可通过分泌细胞因子促进损伤骨骼肌中血管再生。Sassoli等^[4]研究发现, MSCs可以分泌大量VEGF, 他们认为MSCs可能通过旁分泌形式分泌VEGF, 上调Notch-1信号途径促进骨骼肌损伤修复。此外, MSCs还能通过Toll-like受体2/6, 以旁分泌形式促进血管发生^[43]。因为MSCs可以表达Toll-like受体2/6, 而且在体内Toll-like受体2/6促效剂(MLP-2)可以促进血管发生, 同时, 添加MLP-2到MSCs培养基中可以促进VEGF和粒-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)等细胞因子和生长因子的表达量显著升高, 因此MSCs还可能通过Toll-like受体2/6, 以旁分泌形式促进血管发生^[43]。

而MSCs在移植前先经特殊处理, 可通过不同的信号途径诱导血管和骨骼肌再生。如Leroux等^[44]发现, 在骨骼肌局部缺血后, 移植经过低氧预处理的MSCs到骨骼肌中, 促进了骨骼肌再生、提高了血流量和脉管再生, 并显著增强了

Wnt4 表达。而抑制低氧预处理 MSCs 中 Wnt4 的表达,则导致血管再生功能丧失,因此他们认为低氧预处理 MSCs 通过 Wnt4 信号途径促进血管和骨骼肌再生。上述研究表明 MSCs 可通过分泌多种活性物质通过不同的信号途径促进骨骼肌损伤修复。

4.3 MSCs 通过调节局部炎症反应促进骨骼肌损伤修复

MSCs 除了具有免疫特赦特征外还能调节炎症反应。在正常状态下 MSCs 不分泌 TSG-6 蛋白,但是当有促炎因子(如 TNF- α 、IL-1 β 等)出现时, MSCs 通过分泌 TSG-6 蛋白减弱炎症反应^[45]。树突状细胞(dendritic cells, DCs)是一种抗原递呈细胞,在早期的先天性炎症反应中起主导作用。MSCs 可以抑制 DCs 成熟,进而影响其功能发挥。MSCs 还能抑制自然杀伤细胞(natural killer cell, NKCs)激活,使 IFN- γ 、TNF- α 不能发挥其作用^[20]。如 Pinheiro 等^[46]发现,连续 4 周注射脂肪来源 MSCs 到 mdx 小鼠腓肠肌中,腓肠肌中促炎因子 TNF- α 、IL-6 和 ROS 水平显著降低,而抑炎因子 IL-4、IL-10 水平显著升高。这些促炎因子和抑炎因子在骨骼肌损伤修复中发挥重要作用。如,促炎因子 TNF- α 能促进 M1 巨噬细胞释放 iNOS 促进骨骼肌损伤,而抑炎因子 IL-10 可以抑制炎症反应,促进骨骼肌损伤修复^[2,16,47]。最近的研究发现,不同种属之间 MSCs 免疫调节方式不同。人类和猴子来源 MSCs 通过吡咯啉胺 2,3 双加氧酶(IDO)发挥免疫抑制作用,而小鼠来源 MSCs 通过 NO 来发挥免疫抑制作用^[14]。

5 小结

间充质干细胞是一种多能干细胞,可定向分化成骨骼肌细胞、软骨细胞、脂肪细胞等。间充质干细胞很少表达 MHC-II 和共刺激分子,因此可不被免疫系统识别,可成功进行同种异体或异种异体移植。骨骼肌损伤后,移植的间充质干细胞可以直接分化成骨骼肌细胞,还可以分泌多种细胞因子、调控因子参与骨骼肌修复再生,可显著改善损伤骨骼肌功能。间充质干细胞分化能力强、来源广泛、方便获取,在临床治疗骨骼肌损伤中具有非常重要的应用价值。

参考文献

- [1] Relaix F, Zammit PS. Satellite cells are essential for skeletal muscle regeneration: the cell on the edge returns centre stage[J]. Development, 2012, 139(16):2845—2856.
- [2] Sakuma K, Yamaguchi A. Molecular and Cellular Mechanism of Muscle Regeneration [J]. 2012,
- [3] Hawke TJ, Garry DJ. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology[J]. J Appl Physiol (1985), 2001, 91(2): 534—551.
- [4] Sassoli C, Pini A, Chellini F, et al. Bone marrow mesenchymal stromal cells stimulate skeletal myoblast proliferation through the paracrine release of VEGF[J]. PLoS One, 2012,

- 7(7):e37512.
- [5] Nozaki M, Li Y, Zhu J, et al. Improved muscle healing after contusion injury by the inhibitory effect of suramin on myostatin, a negative regulator of muscle growth[J]. Am J Sports Med, 2008, 36(12):2354—2362.
- [6] Montarras D, Morgan J, Collins C, et al. Direct isolation of satellite cells for skeletal muscle regeneration[J]. Science, 2005, 309(5743):2064—2067.
- [7] Boubaker el Andalousi R, Daussin PA, Micallef JP, et al. Changes in mass and performance in rabbit muscles after muscle damage with or without transplantation of primary satellite cells[J]. Cell Transplant, 2002, 11(2):169—180.
- [8] Boldrin L, Elvassore N, Malerba A, et al. Satellite cells delivered by micro-patterned scaffolds: a new strategy for cell transplantation in muscle diseases[J]. Tissue Eng, 2007, 13(2):253—262.
- [9] Biressi S, Rando TA. Heterogeneity in the muscle satellite cell population[J]. Semin Cell Dev Biol, 2010, 21(8):845—554.
- [10] Bashir J, Sherman A, Lee H, et al. Mesenchymal stem cell therapies in the treatment of musculoskeletal diseases [J]. PMR, 2014, 6(1):61—69.
- [11] von Roth P, Winkler T, Rechenbach K, et al. Improvement of contraction force in injured skeletal muscle after autologous mesenchymal stroma cell transplantation is accompanied by slow to fast fiber type shift[J]. Transfus Med Hemother, 2013, 40(6):425—430.
- [12] Matziolis G, Winkler T, Schaser K, et al. Autologous bone marrow-derived cells enhance muscle strength following skeletal muscle crush injury in rats[J]. Tissue Eng, 2006, 12(2):361—367.
- [13] Aldahmash A, Zaher W, Al-Nbaheen M, et al. Human stromal (mesenchymal) stem cells: basic biology and current clinical use for tissue regeneration[J]. Ann Saudi Med, 2012, 32(1):68—77.
- [14] Lee RH, Oh JY, Choi H, et al. Therapeutic factors secreted by mesenchymal stromal cells and tissue repair[J]. J Cell Biochem, 2011, 112(11):3073—3078.
- [15] von Roth P, Duda GN, Radojewski P, et al. Intra-arterial MSC transplantation restores functional capacity after skeletal muscle trauma[J]. Open Orthop J, 2012, (6):352—356.
- [16] Tidball JG. Mechanisms of muscle injury, repair, and regeneration[J]. Compr Physiol, 2011, 1(4):2029—2062.
- [17] 肖卫华,陈佩杰,刘宇.巨噬细胞在骨骼肌急性损伤修复中的作用研究进展[J].中国运动医学杂志,2014,(03):269—274.
- [18] Friedenstien AJ, Petrakova KV, Kurolesova AI, et al. Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues[J]. Transplantation, 1968, 6(2):230—247.
- [19] Meligy FY, Shigemura K, Behnsawy HM, et al. The efficiency of in vitro isolation and myogenic differentiation of MSCs derived from adipose connective tissue, bone marrow, and skeletal muscle tissue[J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2012, 48(4):203—215.
- [20] De Miguel MP, Fuentes-Julián S, Blázquez-Martínez A, et

- al. Immunosuppressive properties of mesenchymal stem cells: advances and applications[J]. *Curr Mol Med*, 2012, 12 (5):574—591.
- [21] Natsu K, Ochi M, Mochizuki Y, et al. Allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stromal cells promote the regeneration of injured skeletal muscle without differentiation into myofibers[J]. *Tissue Eng*, 2004, 10(7—8):1093—1112.
- [22] Shabbir A, Zisa D, Leiker M, et al. Muscular dystrophy therapy by nonautologous mesenchymal stem cells: muscle regeneration without immunosuppression and inflammation [J]. *Transplantation*, 2009, 87(9):1275—1282.
- [23] de la Garza-Rodea AS, van der Velde I, Boersma H, et al. Long-term contribution of human bone marrow mesenchymal stromal cells to skeletal muscle regeneration in mice [J]. *Cell Transplant*, 2011, 20(2):217—231.
- [24] 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.
- [25] Palermo AT, Labarge MA, Doyonnas R, et al. Bone marrow contribution to skeletal muscle: a physiological response to stress[J]. *Dev Biol*, 2005, 279(2):336—344.
- [26] Drapeau C, Antarr D, Ma H, et al. Mobilization of bone marrow stem cells with stemenhance improves muscle regeneration in cardiotoxin-induced muscle injury[J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(9):1819—1823.
- [27] Valero MC, Huntsman HD, Liu J, et al. Eccentric exercise facilitates mesenchymal stem cell appearance in skeletal muscle[J]. *PLoS One*, 2012, 7(1):e29760.
- [28] Grabowska I, Streminska W, Janczyk-Ilach K, et al. Myogenic potential of mesenchymal stem cells - the case of adhesive fraction of human umbilical cord blood cells[J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2013, 8(1):82—90.
- [29] Li P, Cui K, Zhang B, et al. Transplantation of human umbilical cord-derived mesenchymal stems cells for the treatment of Becker muscular dystrophy in affected pedigree members[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 35(4):1051—1057.
- [30] Winkler T, von Roth P, Matziolis G, et al. Dose-response relationship of mesenchymal stem cell transplantation and functional regeneration after severe skeletal muscle injury in rats[J]. *Tissue Eng Part A*, 2009, 15(3):487—492.
- [31] Winkler T, von Roth P, Radojewski P, et al. Immediate and delayed transplantation of mesenchymal stem cells improve muscle force after skeletal muscle injury in rats[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2012, 6(Suppl 3):s60—67.
- [32] von Roth P, Duda GN, Radojewski P, et al. Mesenchymal stem cell therapy following muscle trauma leads to improved muscular regeneration in both male and female rats [J]. *Gend Med*, 2012, 9(2):129—136.
- [33] Ninagawa NT, Isobe E, Hirayama Y, et al. Transplanted mesenchymal stem cells derived from embryonic stem cells promote muscle regeneration and accelerate functional recovery of injured skeletal muscle[J]. *Biores Open Access*, 2013, 2(4):295—306.
- [34] Thanabalasundaram G, Arumalla N, Tailor HD, et al. Regulation of differentiation of mesenchymal stem cells into musculoskeletal cells[J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2012, 7 (2):95—102.
- [35] Galli D, Vitale M, Vaccarezza M. Bone marrow-derived mesenchymal cell differentiation toward myogenic lineages: facts and perspectives[J]. *Biomed Res Int*, 2014, (2014): 762695.
- [36] Gang EJ, Bosnakovski D, Simsek T, et al. Pax3 activation promotes the differentiation of mesenchymal stem cells toward the myogenic lineage[J]. *Exp Cell Res*, 2008, 314(8): 1721—1733.
- [37] Dezawa M, Ishikawa H, Itokazu Y, et al. Bone marrow stromal cells generate muscle cells and repair muscle degeneration[J]. *Science*, 2005, 309(5732):314—317.
- [38] Haghighipour N, Heidarian S, Shokrgozar MA, et al. Differential effects of cyclic uniaxial stretch on human mesenchymal stem cell into skeletal muscle cell[J]. *Cell Biol Int*, 2012, 36(7):669—675.
- [39] Winkler T, von Roth P, Schuman MR, et al. In vivo visualization of locally transplanted mesenchymal stem cells in the severely injured muscle in rats[J]. *Tissue Eng Part A*, 2008, 14(7):1149—1160.
- [40] Sassoli C, Frati A, Tani A, et al. Mesenchymal stromal cell secreted sphingosine 1-phosphate (S1P) exerts a stimulatory effect on skeletal myoblast proliferation[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9):e108662.
- [41] Sassoli C, Formigli L, Bini F, et al. Effects of S1P on skeletal muscle repair/regeneration during eccentric contraction[J]. *J Cell Mol Med*, 2011, 15(11):2498—2511.
- [42] Nakamura Y, Miyaki S, Ishitobi H, et al. Mesenchymal-stem-cell-derived exosomes accelerate skeletal muscle regeneration[J]. *FEBS Lett*, 2015, 589(11):1257—1265.
- [43] Grote K, Petri M, Liu C, et al. Toll-like receptor 2/6-dependent stimulation of mesenchymal stem cells promotes angiogenesis by paracrine factors[J]. *Eur Cell Mater*, 2013, (26):66—79.
- [44] Leroux L, Descamps B, Tojais NF, et al. Hypoxia preconditioned mesenchymal stem cells improve vascular and skeletal muscle fiber regeneration after ischemia through a Wnt4-dependent pathway[J]. *Mol Ther*, 2010, 18(8):1545—1552.
- [45] Bartosh TJ, Ylöstalo JH, Mohammadipoor A, et al. Aggregation of human mesenchymal stromal cells (MSCs) into 3D spheroids enhances their antiinflammatory properties[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(31):13724—13729.
- [46] Pinheiro CH, de Queiroz JC, Guimarães-Ferreira L, et al. Local injections of adipose-derived mesenchymal stem cells modulate inflammation and increase angiogenesis ameliorating the dystrophic phenotype in dystrophin-deficient skeletal muscle[J]. *Stem Cell Rev*, 2012, 8(2):363—374.
- [47] Deng B, Wehling-Henricks M, Villalta SA, et al. IL-10 triggers changes in macrophage phenotype that promote muscle growth and regeneration[J]. *J Immunol*, 2012, 189(7): 3669—3680.