فصل اول

مقدمه

۱-مقدمه ای بر سلول های بنیاد

سلول های بنیاد به عنوان یکی از زیر بناهای اساسی زیست شناسی بافت ها معرفی می شوند. این سلول ها امکان نوسازی و جایگزینی سلول های خونی، سلول های استخوانی، سلول های جنسی، سلول های بافت پوششی، سلول های بافت عصبی، سلول های بافت عضلانی و بافت های متنوع دیگر را با سلول های تازه در تمام طول حیات فراهم می کنند. سلول های بنیاد در حالت خاموشی[۱] قرار دارند ولی در مراحل ویژه ای از چرخه حیاتی یا در پی آسیب می توانند فعال شوند. این سلول‌ها توسط ریزمحیط[۲] کنترل شده‌ای در بافت که نیچ[۳] نام دارد کنترل می شوند. تا سال ۲۰۰۸ نیچ یک مفهوم تئوریک بود که توسط مدارکی که نشان می‌داد سلول های بنیاد پیوند زده شده فقط در جایگاه ویژه‌ای از بافت قادر به رشد و بقا هستند حمایت می شد با این وجود در سال های اخیر امکان اینکه سلول های بنیاد و نیچ آنها با دقت بیشتر تعریف شوند بوجود آمده است(Morrison and Spradling, 2008).

تعریف دقیق سلول های بنیاد در شرایط *in vivo* هنوز به عنوان بزرگترین مانع در پیشرفت زیست شناسی سلول های بنیاد باقی مانده است. سلول های بنیاد طبیعی و سلول های همسایه آنها در بافت ها به ندرت توسط روش های بافت شناسی شناسایی می شوند. بارها اثبات شده برخی روش ها که می توانند بصورت گسترده سلول های بنیاد را نشانه گذار کنند مانند حفظ ترجیحی برومود اکسی یوریدین[۴] مارکرها قابل اعتماد نیستند(Morrison and Spradling, 2008).

مطالعات تعیین سرنوشت سلول های بنیاد اسپرماتوگونیال(Nakagawa *et al.*, 2007)، سلول های بنیاد اپیدرمی(Clayton *et al.*, 2007) و سلول های روده ای (Barker *et al.*, 2007)ارتباط بین سلول های بنیاد و سلول های دختر آنها و بعلاوه برخی مکانیسم‌ها تنظیم کننده هوموستاز بافت را روشن ساخته است(Morrison and Spradling, 2008)برای مثال سلول های بنیاد فولیکول مو تعیین سرنوشت شده است و نشان داده شده که این سلول ها در میان بالج[۵] به همه انواع سلول های پوششی در محدوده فولیکول مو تبدیل می شوند(Morris *et al.*, 2004) و حتی می توانند در ترمیم پوست آسیب دیده مشارکت کنند(Ito *et al.*, 2005). این مطالعات دیدگاه‌های جدید قابل توجهی را در

---

۱. Quissence
۲. Microenvironment
۳. Niche
۴. Bromo Dioxy Uridine; BrdU
۵. Buldg

زیست شناسی سلول بنیاد فراهم ساخته است(Morrison and Spradling, 2008).

سلول‌های بنیادی می توانند نقشی اساسی در درمان بیماری ها و آسیب ها ایفا کنند. شاید جالب توجه‌ترین توانایی سلول های بنیادی قابلیت استفاده از آنها در پزشکی ترمیمی باشد. اشکالات فراوان پیوندها بافتی به همراه محدودیت ها استفاده از پروتزها، تحقیقات در زمینه درمان بر پایه استفاده از سلول و بافت(سلول درمانی و بافت درمانی) را دشوار کرده است. مزیت کلیدی سلول درمانی و بافت درمانی در برابر درمان ها دارویی در درمان بیمار ها ناتوانکننده و ناهنجار ها این است که اولی "جایگزین-ها زیست شناختی زنده" را در مقابل درمان‌های دارویی که صرفاً یک محلول مسکن فراهم می آورند، ارائه می‌دهد. با این وجود پیش از آنکه درمان بر پایه‌سلول ها بنیادی از میز تحقیق به بستر درمان وارد شود باید بسیار چالش ها بیولوژیکی و مهندسی غلبه شوکنترل خودتنظیمی سلول های بنیادی ، هدایت تمایز سلول ها بنیادی به سلول‌ها تمایز یافته، انتقال سلول‌های تمایز یافته به بافت زنده و هماهنگ شدن این سلول‌ها با محیط میزبان ازجمله این چالش‌ها هستند (Hwang *et al.*, 2008).

۱-۲ انواع سلول های بنیادی

سلول بنیادی بر اساس منشأ بدست آمدن و نیز بر اساس توانایی تولید سلول‌ها تمایز یافته در شرایط خاص به انواع مختلفی تقسیم بندی می شوند. یک‌سلول بنیادی می‌تواند حداقل یک(و اغلب اوقات انواع بیشتر) سلول کاملاً تمایز یافته ایجاد کند. شکل ۱-۱ ساده شده از سرنوشت سلول بنیادی نشان می دهد. این تصویر همچنین کمک می‌کند تا مفهوم پوتنسی‌که به معنا توانایی بوجود آوردن سلول‌ها مختلفی که یک سلول‌بنیادی قادر به تولید آنهاست نشان داده شود.

چند مفهوم برا تعریف مقدار پوتنسی[۱](توان) وجود دارد:

همه توان[۲]: سلول دارا توانایی تولید همه انواع سلول‌ها یک ارگانیسم حتی پرده‌ها خارج جنینی. در پستانداران تنها تخم لقاح یافته(زیگوت) و بلاستومرها اولین تسهیم جنین این توانایی را دارند.

پرتوان[۳]: این سلول ها می توانند همه انواع سلول‌ها بدن موجود زنده‌ی از پرده ها خارج جنینی)را تولید کنند. بطور مثال سلول بنیادی جنینی در این مرحله قرار دارند.

چند توان[۴]: سلول بنیادی چند توان قادر به تولید انواع سلول‌ها متعلق به یک دودمان خاص هستند. مثلاً سلول بنیادی خون ساز که همه انواع سلول‌ها خونی بدن را تولید می‌کنند اما قادر به تولید سلول

---

۱. Potency

۲. Totipotent

۳. Pluripotency

۴. Multipotency

ها دیگر نیستند.

یک توان[1] یا پیش ساز: سلول‌هایی که یک نوع سلول خاص را تولید می کنند مثل سلول‌ها اسپرماتوگونیال که تنها می توانند اسپرم تولید کنند.

سلول ها بنیاد با توانایی مختلف را می توان از منشأها متفاوتی بدست آورد. سلول‌هایی که از جایگاه ها یا فیلچ مختلف بدست می آیند دارا مزایا و معایبی هستند که به اجمال بررسی می شود:

۱-۲-۱-سلول بنیاد جنینی

سلول بنیاد جنینی سلول‌ها همه توانی هستند که می توان آن ها را از توده سلولی درون جنینی بلاستوسیست در طی گاسترولاسیون جداساز کرد(Donovan & Gearhart, 2001). این سلول‌ها اولین بار در سال ۱۹۹۸ جداساز شدند(Thomson *et al.*, 1998).

سلول‌ها جداشده از توده سلولی درون جنینی جنین در حال تکوین می توانند در مرحله تمایز نیافته باقی بمانند و جسم جنین مانند که ساختار با همه انواع سلول‌ها جنینی است ایجاد کنند. سلول‌ها بنیاد جنینی منبع سلولی واجد توانایی خودنوزایی نامحدود و توانایی تمایز را فراهم می کنند. با توجه به توانایی سلول بنیاد درتبدیل شدن به انواع سلول‌ها سوماتیک و سلول‌ها لایه زایا یک موجود زنده کاملاً تکوین یافته، این سلول‌ها پیش سازها تعهد نیافته‌ا از سه لایه زاینده جنینی یعنی: اکتودرم، اندودرم و مزودرم هستند(Lovell-Badge, 2001; Sylvester & Longaker, 2004). سلول‌ها بنیاد جنینی سلول ها وابسته به منشأ هستند و با تواناییشان در گسترده شدن بصورت نامحدود، خودنوزایی و تبدیل شدن به سلول‌ها تمایز یافته تعریف می شوند. سلول بنیاد تمایز نیافته انسانی و مشتقات کلون شده آنها کاریوتایپ دیپلوئید طبیعی نشان می‌دهند و در طی تقسیمات طولانی مدت در محیط کشت سطح بالایی از فعالیت تلومراز را به نمایش می‌گذارند (Thomson *et al.*, 1998, Reubinoff *et al.*, 2000, Amit *et al.*, 2000). پرتوانی این سلول‌ها توسط تزریق سلول‌ها تمایز نیافته‌موشی که سیستم ایمنی آن تضعیف شده بود برا ساختن تراتوماها شامل مشتقات تمایز یافته سه لایه زاینده اثبات شد (Thomson *et al.*, 1998). یکی از مشخصات سلول بنیاد توانایی آنها در تقسیم شدن درجهت تکوین سلول ها تمایز یافته عملکرد و میرا استبرا سختن سلول ها جدید سنتز DNA باید اتفاق بیافتد. چرخه سلولی تحت کنترل دقیق هوموستاتیک قرار دارد تا تقسیم سلولی را با مرگ سلولی هماهنگ کند. سایکلین‌ها و کینازها وابسته به سایکلین(Cdk)پروتئین ها اصلی چرخه سلولی هستند که از طریق فسفریله کردن ژن‌ها هدف اعمال اثر میکنند (Morgan, 1995). در خلال متابولیسم طبیعی و تقسیم سلولی، DNA مستعد آسیب است. آسیب-

[1].Unipotent

هـ محیطی مـانند اشعه ماوراء بنفش واسترس‌هـ اکسیداتیو بـار اضافی را بـر DNA تحمیـل مـی کننـد. نشان داده شده سلول بنیاد جنینی موش دفاع کافی در برابر آسیب‌هایی مانند رادیکال ها آزاد دارنـد کـــه در تمـــایز کـــاهش مـــی یابنـــد (Saretzki *et al.*, 2004). سلول بنیاد موشی همچنین در آپوپتوز مستقـل از p53 (Aladjem *et al.*, 1998) کـه از جهـش در سلول‌ها جلوگیر مـی‌کند کـارا هستند. در سلول بنیاد انسانی بسیار از ژن‌ها مربـوط بـه تـرمیم در سـطح بـالا بیـان مـی شـوند(Miurra *et al.*, 2004). مکانیسـم‌ها اپـی ژنتیکـی ماننـد متیلاسـیون سـیتوزین DNA در جزایـر CpG (Bird and Wolff, 1999)، تغییـرات پسـاترجمله هیسـتون‌هـا (Jenuwein and Allis, 2001)، و جابجـایی هیسـتون‌هـا (Ahmad and Henikoff, 2002) ی تواننـد نقش زیاد در بیان ژن ها توسط جلوگیر یا فعالساز ژن‌ها و از این طریـق در مراحـل تکـوینی سلول‌ها داشته باشند.الگو متیلاسیون سلول بنیاد انسانی در حال بررسی است. هیستون‌ها چنانکه گفتـه شد می‌توانند توسط مکانیسم‌ها مختلفی مانند استیلاسیون و متیلاسیون در جهت ساخت یوکروماتین مناسب بـرا رونویسـی کـه فـاکتورهـا رونویسـی مـی‌تواننـد بـه آنهـا دسترسـی داشـته باشـند و بـه نـواحی پـیش برنده(پروموتر) متصل شوند ویا هتروکروماتین بسته و فشرده که به لحاظ رونویسی غیر فعال اسـت تغییرکننـد. کارها ابتدایی پیشنهاد می کند که پرتوانی در سلول بنیـاد جنینـی بـر اسـاس اصـلاح منحصـر بـه فـرد هیستون است (Azuara *et al.*, 2006; Bernstein *et al.*, 2006) که بر بیان ژن در سلول بنیاد جنینـی موثر استروشن شدن مکانیسم این تغییرات ممکن است بـه فهـم پروسـه هـا رخـدادها تکـوین، متعهـد شدن، محدودیت تـوان(پتانسیل)و پیر کمک کند(Cedar & Minger, 2008). بـا توجـه بـه تمـام توانـایی هـ هسلول‌بنیاد جنینی برا کاربردها تحقیقـاتی و درمـانی اسـتفاده از ایـن سـلول‌هـا(بخصـوص در انسان)با مشکلات اخلاقی روبروست که استفاده از این سلول‌ها را محدود می‌کند.

۱-۲-۲-سلول بنیاد جنسی

در ۱۹۹۸گروه محققینی تحت رهبر Gerhart سلول بنیاد پرتوان را از سلول‌ها جنسـی اولیـه جنینی ۹-۵ هفته پس از لقاح انسان در محیط کشـت جداسـاز کردنـد(Shamblott *et al.*, 1998). از آن زمان سلول‌ها جنسی جنینی به همراه سلول بنیاد جنینی دو گروه سلول بنیاد پرتوان اصـلی انسـان هستند. در برابر سلول‌هـ بنیاد چند تـوان، سلول هـ بنیاد پرتوان دو توانایی قـابـل توجـه دارنـد: ایـن سلول‌هـا می‌توانند بطـور نامحدود در شرایـط آزمایشگاهـی تکثیر شـده و گسترش یابنـد و در شرایـط تمـایز نیافته و پرتوان یعنـی شرایطـی کـه تـوانایی تبدیل شدن بـه هـرسه لایـه زاینـده یعنـی اکـتودرم، مـزودرم و آنـدودرم را دارند، حفـظ شونـد و بـه همین دلیـل از این سلـول‌هـارا توسعـه استراتژ هـ جدیـد بازسلو بـافت و پیـوند در بیمارو هـ تحلیـل برنـده بخصوص آسیب‌هـ نـورونـی یـا تحلیـل‌هـ

عملکرد استفاده می شوند (deWert & Mummery, 2003). سلول های جنسی جنینی انسان[1] از سلول‌های پیش ساز جنسی[2] در ناحیه ستیغ تناسلی[3] جنین‌ها مراحل ابتدایی که بدست آوردن آنها از دست یابی به بلاستوسیست ساده تر است حاصل می شوند (Shamblott *et al.*, 1998,Turnpenny *et al.*, 2003) . خوشبختانه Gearhart و گروهش پس از جداساز سلول بنیاد جنسی جنینی متوجه شدند که این سلول‌ها طور خودبخود با تشکیل ساختارها سه بعد از اجتماع سلول‌ها یعنی جسم جنینی[4] (یا جسم جنین مانند) تمایل به تمایز دارند و کشت‌ها موفقیت آمیز این سلول ها پیش ساز تعهد نیافته دامنه وسیعی از مارکرها مختص دودمان‌بخصوص قو ترین و پایدارترین مارکرها که مارکرها بیان شده توسط سلول‌ها دودمان عصبی هستند، را بیان می کنند (Pan *et al.*, 2005). سلول‌های بنیاد جنسی انسانی در شرایطی مشابه با سلول های بنیاد موشی یعنی در حضور LIF[5]، فاکتور رشد فیبروبلاستی[6] و بر لایه زاینده فراهم کننده فاکتور سلول بنیاد متصل[7] به غشا جداساز می شوند که این مسئله پیشنهاد دهنده مکانیسم ها حفظ شده در طی تکامل است (Turnpenny *et al.*, 2005)سلول ها بنیاد جنسی انسانی تحت آزمایشات اثبات پرتوانی مشابه سلول ها بنیاد جنینی قرار گرفتند. خودنوزایی در این سلول ها با وجود کاریوتایپ طبیعی و مشخص شدن بیان مارکرها شناخته شده سلول ها همه توان ارزیابی شدهسلول‌بنیاد جنینی پریمات ها، سلول ها کارسینوما جنینی انسانی و سلول های بنیاد جنینی انسانی، مارکرهای ویژه مرحله جنینی[8] ۳ و۴،گلیکوپروتئین‌ها با وزن مولکولی بالا مانند TRA-1-60 و TRA-1-81 و فعالیت آلکالین فسفاتاز را نشان می دهند. از طرف دیگر این سلول‌ها SSEA-1 را نیز بیان می کنند که توسط سلول کارسینوما جنینی و سلول بنیاد جنینی بیان نمی شود (Thomson and Odorico, 2000). استفاده از این سلول ها نیز به دلیل مسائل اخلاقی با محدودویت هایی روبروست.

۱-۲-۳سلول ها بنیاد مایع آمنیوتیک و جفت

شواهد رو به افزایشی وجود دارد که نشان می دهد جفت انسان دارا سلول ها پرتوان (Pluripotent) و یا چندتوان (Multipotent) انواع ویژه ا از سلول ها بنیاد مانند تروفوبلاستیک، خون ساز و

---

[1]. Human Embryonic Germ cell; hEGC

[2]. Primordial Germ Cell

[3]. Gonadal Ridge

[4]. Embryoid Body; EB

[5]. Leukemia Inhibitory Factor; LIF

[6]. Fibroblast Growth Factor-2; FGF-2

[7]. Stem Cell Factor; SCF

[8]. Stage-Specific Embryonic Antigen; SSEA

سلولها هـ بنیاد مزانشیمی در مقالات مختلفی مـورد بحث قرار گرفتـه انـد. برخلاف دیگـر قسـمت هـا جفت، اپی تلیوم آمنیوتیکی از اپی بلاست پرتوان در روز هشتم پـیش از گاسترولاسـیون کـه نقطـه هـدایت کننده هر سلول برا تخصصی شدن در جهت هدفی خاص است، مشـتق مـی شـوندباجـزا دیگـر جفـت مانند کوریون از تروفواکتودرم خارج جنینی تمایز می یابند. از آنجا کـه آمنیون از اپـی بلاست در زمانـی کـه اپی بلاست پرتوانی خود را حفظ می کند تمایز مـی یابد، منطقی است کـه انتظار داشته باشیم کهسلول هـا اپی تلیال آمنیوتیک ممکن است از تخصصی شدن که با گاسترولاسـیون همـراه اسـت رهـایی یافتـه و برخـی خصوصیات اپی بلاست مانند پرتوانی را حفظ کنند.

غشا تقریباً شفاف و نازک آمنیون که شامل سلول ها اپی بلاست و سلولها فیبروبلاسـت مزانشـیمی آمنیوتیک است پس از چند بار شست وشو برا از بین بردن خون موجود بدست مـی آیـدبـرا جداسـاز سلول ها اپی بلاست آمنیوتیکی غشا آمنیونی تریپسینه شده و سلولها اپـی بلاسـت آمنیـوتیکی از بافـت پیوند محافظ و نیز سلولها فیبروبلاست جدا می شوند. در حضور فاکتور رشد اپی‌درمی[1] و یا عامل تغییـر شکل دهنده آلفا[2] سلولها اپی‌بلاست به سرعت تکثیر شده و یـک لایـه سنگفرشـی شـکل از سـلولها پوششی تشکیل می‌دهند (Miki & Storm, 2006).

سایتوکایها و ویمنتین به عنوان مارکرهایی برا شناسایی سلولها با دودمان ها مختلف اسـتفاده مـی شوندویمنتین بطور طبیعی توسط سلول ها مزانشیمی مانند فیبروبلاست ها یا میوسیت هـا و نیـز سـلولها اندوتلیالی عروق بیان می شودگزارش ها اخیر پیشنهاد می‌کند کـه ویمنتین مـی توانـد یـک مارکـربـرا سـلولها بنیـاد یـا پـیش سـاز، بخصـوص سـلولها بنیـاد عصـبی باشـد (Klassen *et al.*, 2004; Schwartz *et al.*, 2003). درکشتها تک لایه سلولها اپـی بلاسـت آمنیـوتیکی ۱۰۰٪ سـلول‌هـا بـا آنتی باد ها سایتوکاین ها با وزن مولکولی پایین واکنش می کنند که نشان دهنـده ذات پوششـی ایـن سلول ها است. جالب توجـه اینکـه اگـرچـه سـلول‌هـا اپـی بلاسـت آمنیوتیکـی در ابتـدا ویمنتـین منفـی هستنـد(ویمنتین را بیان نمی کنند)در طی کشت شروع به بیان آن می‌کنندسلول ها اپی بلاسـت آمنیـوتیکی بیان کننده ویمنتین همچنین بیان سایتوکاین‌ها را حفظ می‌کنند. این اطلاعات نشان می دهـد کـه کشـت در شرایط *in vitro* یا تاثیرات محیطی می توانند تمایز را در سلولها اپی بلاست آمنیوتیکی القا کند.

از ۱۹۸۰ تحقیقاتتعی برا یافتن مدارکی برا اثبات وجود سـلول هـا پرتـوان در مـایع آمنیوتیـک انجام شده اسروش نهایی برا تعیین پرتوانی سلول ها بنیاد جدا شـده از اپـی تلیـوم آمنیـوتیکی تولیـد حیوانات کایمرا از طریق تزریق یک سلول بنیاد درون یک بلاستوسیست استاگر سلول بنیاد در همـه لایه‌هـ زاینده مشارکت کند پرتوانـی آن تأئیـد مـی‌شـود (Miki & Storm, 2006). تاماگـاوا و همکـاران

[1]. Epidermal Growth Factor; EGF

[2]. Transforming Growth Factor-α; TGF-α

وده سلولی که از تمام آمنیون جداساز شده بودند شامل سلولها اپی‌بلاست آمنیوتیکی[1] و فیبروبلاستها مزانشیمی آمنیوتیک[2] را شناسایی و معرفی کرده اند (Tamagawa *et al.*, 2004).

پیش از این گزارش شده که برخی سلول ها اپی بلاست آمنیوتیک آنتی ژنها سطحی ویژه سلولهای بنیاد جنینی مانند SSEA-3,SSEA-4,TRA1-60,TRA1-81 را بیان می کنند. بعلاوه سلولها اپی بلاست آمنیوتیکی مارکرها مولکولی پرتوانی مانند OCT-4 وNanog را بیان می کنند و تمایز آنها به همه لایها زاینده اثبات شده است. این اطلاعات پیشنهاد می‌کند که مانند سلولهای بنیاد جنینی، سلولها اپی‌بلاست آمنیوتیکی میتوانند برا پیوند سلولی و پزشکی ترمیمی مفید باشند. به لحاظ تئوریک سلولهای بنیاد میتوانند از هر کودک تازه متولد شده جداساز شوند.

آمنیون به راحتی از کوریون و دسیدوا جداساز می شود. جفت پس از تولد دور انداخته می شود بنابراین استفاده از جفت به عنوان یک منبع سلولهای بنیاد اغلب اگر نگوئیم همه آنها) مشکلات مربوط به مسائل اخلاقی، مذهبی یا سیاسی را مرتفع سازد (Miki & Storm, 2006).

۱-۲-سلول ها بنیاد بالغ(سوماتیک)

سلول ها بنیاد بالغ در بسیار بافتها بدن شامل چشم، مغز، ماهیچه اسکلتی، بافت چربی، پالپ دندانی، کبد، پانکراس، پوست، مغز استخوان ومجرا معد -روده یافت می شوند(جدول۱-۱) و توانایی حفظ، تولید و جایگزینی سلولها تمایز یافته انتهایی را دارند (Burt *et al.*, 2004).

Cell type	Tissue-specific location	Cells or tissue produced
Hematopoietic stem cells	Bone marrow, peripheral blood	Bone marrow and blood lymphohematopoietic cells
Mesenchymal stem cells	Bone marrow, peripheral blood	Bone, cartilage, tendon, adipose tissue, muscle, marrow stoma, neural cells
Neural stem cells	Ependymal cells, astrocytes (subventricular zone) of the central nervous system	Neurons, astrocytes, oligodendrocytes
Hepatic stem cells	In or near the terminal bile ductules (canals of Hering)	Oval cells that subsequently generate hepatocytes and ductular cells
Pancreatic stem cells	Intra-islet, nestin-positive cells, oval cells, duct cells	β cells
Skeletal-muscle stem cells or satellite cells	Muscle fibers	Skeletal muscle fibers
Stem cells of the skin (keratinocytes)	Basal layer of the epidermis, bulge zone of the hair follicles	Epidermis, hair follicles
Epithelial stem cells of the lung	Tracheal basal and mucus-secreting cells, bronchiolar Clara cells, alveolar type II pneumocyte	Mucous and ciliated cells, type I and II pneumocytes
Stem cells of the intestinal epithelium	Epithelial cells located around the base of each crypt	Paneth's cells, brush-border enterocytes, mucus-secreting goblet cells, enteroendocrine cells of the villi

جدول ۱-۱. سلول های بنیادی بالغ و هدایت ابتدایی آنها به تمایز (van de Ven *et al.*, 2007).

با وجود چنین فراوانی و تنوع، چندین مانع وجود دارد که نهایتاً از جذابیت سلول ها بنیاد بالغ نسبت به

[1]. Amniotic Epiblast; AE

[2]. Amniotic Mesenchymal Fibroblast; AMF

سلول ها بنیاد جنینی می‌کاهدجداساز سلول‌ها از بافت ها بالغ مشکل است، سلول ها تعداد کمی دارند و حفظ آنها در حالت تکثیر در شرایط کشت مشکل است. امروزه بنظر می رسد که سلول ها بنیاد بالغ تنها به تعداد محدود از انواع سلول‌ها تبدیل می شوندر نهایت آنها سلول ها بالغ هستند و در مدت عمر خود در معرض سموم محیطی قرار دارند و نیز جهش ها ژنتیکی در آنها انباشته شده است. با وجود این موانع واضح، تحقیقات در سلول‌های بنیاد بالغ باید بشدت دنبال شود چراکه این مشکلات می تواند با تکنیک‌ها و دیدگاه ها جدید مرتفع شود. ارزش درمانی سلول‌های بنیاد خونساز با خلوص کم در بازساز جمعیت مغز استخوان به دنبال دوز بالا شیمی درمانی بر پایه کشف فاکتورها رشد که تکثیر سلول‌ها پیش ساز خون را تسهیل می کند قابل ذکر است (Fischbach and Fischbach, 2004).

تصور می شد که سلول ها بنیاد بالغ به استثنا سلول ها بنیاد خونساز توانایی محدود در خودنوزایی دارند. با وجود این واژه سلول‌های بنیاد جمعیتی از سلول‌ها را توصیف می کند که توانایی خودنوزایی و تمایز به سلول ها عملکرد را دارند. مثال سلول ها بنیاد و پیش ساز متحرک حاصل شده برا پیوند اتولوگ خونساز که توسط بیان $CD34^+$ انتخاب شده اند شامل مخلوط ناهمگنی از خون محیطی، مغز استخوان یا سلول ها طناب خونی‌هستند که درصد کمی سلول چند دودمانی بازساز کننده جمعیت سلول‌های بنیاد خونساز می‌باشند (Weissman, 2002).

امروزه نقش سلول بنیاد برا استفاده در پزشکی در انسان یکی از مسائل مورد علاقه در تحقیقات است. در عرصه کلینیکی سلول‌های بنیاد در ریه و بیضه درمیود رگ زایی و بازساز میوکارد آزمایش شده اند.

چنانکه گفته شد سلول ها بنیاد بالغ در شرایط خاص قابلیت تبدیل شدن به سلول‌ها پیش ساز(پروژنیتور) را هم‌نسلول ها بنیاد بالغ و هم سلول ها پیش ساز در تمامی بافت ها بالغ یافت می شوند و در بافت‌ها به عنوان یک ذخیره‌و برا جایگزینی بافت‌ها در حین نوساز طبیعی و یا بدنبال آسیب حفظ می‌شوند، و می‌توانند یک منبع برا جایگزینی سلول‌ها فراهم کنند. سلول‌های بنیاد بالغ با وجود داشتن توانایی تمایز به سلول ها تخصص یافته در صورت پیوند زده شدن به حیواناتی که سیستم ایمنی آنها سرکوب شده تومور تشکیل نمی‌دهند(Yu and Estrada, 2010)علاوه بسته به نوع سلول ها پیش ساز بالغ این سلول ها می توانند به سمت تمایز به سلول هایی با دودمان متفاوت(Transdifferentiation)یت شوند و یک منبع سلولی نویددهنده برا بازساز بافت ها در شرایط آزمایشگاهی فراهم‌دکنند.ان سلول ها بنیاد بالغ سلول ها بنیاد مزانشیمی بیش از سایرین مورد مطالعه قرار گرفته انداین سلول ها از بافت پیوند بدست می آیند و از بیشتر اندام ها از قبیل بافت چربی، بند ناف، مایع آمنیوتیک، ریه، کبد، ماهیچه اسکلتی‌کلیه و مغز استخوان جداساز شده‌اند (Yu and Estrada, 2010).

۱-۲-۵-سلول بنیاد همه توان القایی[۱]

در دسترس‌ترین سلول‌ها بدن سلول‌ها سوماتیک هستند که با توجه به تمایز یافتگی تنها یک توانایی دارند. ایده تبدیل یک سلول تمایز یافته به یک سلول پرتوان یا حتی یک سلول همه توان دهه‌ها پیش بوجود آمد با این وجود تا تولد اولین گوسفند شبیه ساز شده یعنی "دالی" این ایده در مورد پستانداران محقق نشد (Wilmut *et al.*, 1997). این نخستین مدرکی بود که نشان می‌داد سلول‌ها سوماتیک کاملاً تمایز یافته می‌توانند توسط انتقال به یک اووسیت بدون هسته به یک جنین همه توان تبدیل شوند که در نهایت این جنین می تواند تمام اندام‌ها یک موجود کامل را بوجود آورد. در نتیجه تولید سلول ها جنینی تولید شده با انتقال هسته ا سازگار با بافت ها که می توانند برا پزشکی ترمیمی استفاده شوند، شبیه ساز ها درمانی پیشنهاد شدند. با این وجود کمبود اووسیت ها، مسائل اخلاقی و چالش های تکنیکی از پیشرفت ها شبیه ساز درمانی در انسان ممانعت می‌کند. با این وجود روش‌ها سلولی پرتوان بسیار با استفاده از انتقال هسته ا در موش آزمایشگاهی ساخته شده است (Kang *et al.*, 2010).

از طریق آنالیز مجموعه‌بیان ژن در سلول ها بنیاد جنینی، بسیار از ژن‌هایی که در سلول‌ها بنیاد جنینی به فراوانی بیان می شوند شناخته شده است.

بر پایه این یافته ها آزمایشات برجسته توسط Yamanaka و همکارانش در سال ۲۰۰۶ انجام شد که طی آن آن‌ها از یک روش ایجاد عفونت ویروسی و وارد کردن موفقیت‌آمیز ۲۴ فاکتور رونویسی در هسته‌سلول‌فیبروبلاست جداشده از جنین موش برا تولید سلول ها بنیاد پرتوان استفاده کردند. این ۲۴ فاکتور رونویسی به فراوانی در سلول ها بنیاد جنینی بیان می شوند و احتمالاً همگی در پروسه ایجاد توانایی خودنوزایی و بنیادینگی[۲] صاحب نقش هستند (Takahashi and Yamanaka, 2006). با کاهش یک به یک فاکتورها رونویسی در پروسه عفونت ویروسی گروه Yamanaka چهار فاکتور نهایی شامل Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc را شناسایی کردند که برا تبدیل فیبروبلاست به سلول بنیاد پرتوان القایی ضرور و اساسی هستند(Takahashi and Yamanaka, 2006) در مطالعات اخیر روشن شده که c-Myc برا القا پرتوانی در سلول ها بنیاد پرتوان القایی ضرور نیست (Nakagawa *et al.*, 2008).

این آزمایشات شگفت انگیز زمینه جدید از نوبرنامه‌نویسی[۳] که فاقد مباحث و مخالفت‌ها اخلاقی است و نیز منبع سلولی نامحدود و بدون نگرانی را فراهم می‌کند، آشکار ساخت سلول ها سوماتیک و سلول ها بنیاد جنینی به لحاظ مورفولوژ ، بیان ژن، فعالیت عملکرد و غیره دو جمعیت کاملاً متفاوت هستند. در نتیجه بسیار شگفت‌آور است که تنها بیان چهار یا حتی سه ژن منجر به این تغییر حالت شگرف شود.با این وجود هیچ ردسلولی از سلول ها بنیاد القایی بدست نیامده است که مطابق دقیق‌ترین معیار

---

۱. Induced pluripotent stem cells; iPSCs

۲. Stemness

۳. Reprogamming

ارزیابی پرتوانی سلول‌های بنیاد جنینی باشد. بخوبی شناخته شده که استاندارد طلایی ارزیابی پرتوانی سلول‌های بنیاد، آزمون کامل کردن بلاستوسیست تتراپلوئید است. این آزمون بر مبنا اینکه سلول‌های بنیاد پرتوان با پرتوانی کامل می‌توانند بطور خودبخود یک موجود کامل را بسازند، استوار است. با این وجود اثبات نشده که هیچ رده سلولی القایی بتواند بطور خودبخود یک موجود کامل را از طریق تکمیل شدن با یک جنین تتراپلوئید بوجود آورد (Kang *et al.*, 2010).

۱-۳-سلول‌های بنیاد مزانشیمی

با توجه به مزایا و معایب گفته شده برای انواع سلول های بنیاد به نظر می رسد استفاده از سلول های بنیاد بالغ در شرایط کنونی بهترین راه باشد. این انواع سلول های بنیاد بالغ سلول های بنیاد مزانشیمی[1] بدلیل ویژگی منحصر به فرد از جذابیت بیشتر برخوردارند. از زمان شناسایی اولیه سلول-ها بنیاد مزانشیمی به عنوان فیبروبلاست‌های واحد تولید کننده کلونی[2] توسط Friedenstein و همکارانش در ۱۹۷۰ (Friedenstein *et al.*, 1970) و توضیح جزئیات توانایی سه دودمانی سلول‌های مذکور توسط Pittenger و همکارانش (Pittenger *et al.*, 1999) فهم ما از این سلول‌ها منحصر به فرد بسیار بیشتر شده است. سلول‌های MSC بدلیل پتانسیل چندگانه عمومی و نیز سهولت نسبی‌شان در جداسازی از بافت مختلف جذابیت زیادی برای استفاده در مهندسی بافت و کاربردهای درمانی دارند.

۱-۳-۱-منشا جنینی و بالغ سلول های بنیاد مزانشیمی

تشخیص سلول های پیش ساز سلول های بنیاد مزانشیمی بدلیل اینکه این سلول ها حالت قابل تشخیصی در شرایط بدن موجود زنده ندارند مشکل است. با استفاده از متد پروتئین های فلوروسنس گروهی از محققین یک جمعیت سلولی گذرا بیان کننده SOX-1 را شناسایی کرده اند که از نوروایپتلیوم که ویژگی چندتوانی را نشان می دهند منشا گرفته و از یک داربست نورال کرستی (ستیغ عصبی) انتقال یافته و به سلول های بنیاد مزانشیمی بالغ تبدیل می شوند (Takashima *et al.*, 2007). سلول هایی با توانایی متفاوت تمایز چند دودمانی و اجزا اسکلت سلولی که یادآور سلول های بنیاد بالغ است می‌توانند از اولین قوس آئورتی جداساز شوند (Deng *et al.*, 2004, Bhattacherjee *et al.*, 2007, Yan *et al.*, 2006). تاکنون هیچ مطالعه ای اتفاقات ژنتیکی که تخصصی شدن دودمانی پیش سازها جنینی به سلول های بنیاد مزانشیمی را هدایت می کنند شناسایی نکرده است. هرچند مغز استخوان به عنوان یک منبع اولیه از سلول های بنیاد مزانشیمی ثابت شده است، به سبب ذات تهاجمی آسپیره کردن مغز استخوان تلاش هایی در حال انجام است که منبع جدید برای سلول های بنیاد مزانشیمی را استفاده های کلینیکی شناسایی

---

[1]. Mesenchymal stem cell; MSC

[2]. Colony Forming Unit Fibroblast; CFU-F

شود. در مطالعات بسیار نشان داده شده است که سلول های بنیاد مزانشیمی می توانند از خون بند ناف (Gang *et al.*, 2004, Erices *et al.*, 2000) بافت های جفتی (Battula *et al.*, 2007) و بافت چربی (Zuk *et al.*, 2002) جداسازی شوند که توانایی تمایز چندتوانی این سلول ها مشابه سلول های مغز استخوان است در حالیکه مطالعات متضاد دیگر عدم وجود این سلول‌ها را در این جایگاه‌ها محیطی گزارش کرده است (Wexler *et al.*, 2003;Romanov *et al.*, 2003). به هرحال ارتباط قطعی بین سلول ها بدست آمده از منابع مختلف بدلیل انجام نشدن کامل مطالعات چندتوانی در شرایط *in vivo* کاملاً مشخص نیست. علاوه مهم است که در تفسیر آنالیزها مطالعات تشکیل کلنی در سلول های بنیاد مزانشیمی بدست آمده از منابعی غیر از مغز استخوان سلول ها شبه فیبروبلاستی چسبنده در بافت ها غیر خونساز، با احتیاط برخورد شود (Parekkadan & Milwid, 2010).

مکان یابی و نیز مطالعه دینامیک نیچ سلول ها بنیاد مزانشیمی مغز استخوان بدلیل عدم وجود مارکر منحصر به فرد شناسایی این سلول ها و به سبب سختی مطالعه حفره مغز استخوان در شرایط *in vivo* دشوار است. ذکر شده است که بر پایه ارتباط بین فنوتیپ ایمنی و آزمایشات کلنی زایی *ex vivo* خواهد وجود دارد که این ایده که سلول های بنیاد مزانشیمی در مکان های اطراف عروقی[1] وجود دارند را تقویت می کند(Shi & Gronthos 2003; Zannettino *et al.*, 2008). این تئوری شامل مشاهدات ذیل است:

الف: یافتن سلول های بنیاد در انواع بافت های مختلف شامل مایع مفصلی(سینوویوم)، پریوست، چربی، خون بند ناف و جفت محتمل است (Phinney & Prockop 2007; Yoshimura *et al.*, 2007; da Silva Meirelles *et al.*, 2006).

تعداد سلول های بنیاد مزانشیمی بدست آمده از بافت ها با تراکم ریز سیستم عروقی[2] سنجش می شود.

سلول های بنیاد مزانشیمی فاکتورهایی را ترشح می کنند که رگ زایی را تسهیل می کنند و سبب پایدار سلول ها اندوتلیال می شوند (Tang *et al.*, 2004).

لایه سلول ها وابسته به نوع بافتی که از آن بدست آمده اند می توانند ویژگی های عملکرد مختلفی را نشان دهند (Gardner *et al.*, 2008).

همتایان استرومایی این سلول ها ممکن است تمایز یابند و از این فضا مهاجرت کرده و در سمت مقابل لومنی سینوزوئیدها مغز استخوان مستقر شده و یک شبکه سه بعد را تشکیل دهند که بستر مویرگی را حمایت می‌کند. سلول ها رتیکولی آدوانتیسی، یا پریسایت ها که زوائد فیبروبلاستی منشعب شده در لومن سینوزوئید ها دارند جانشین فیبروبلاست ها واحد تولید کلنی در شرایط *in vivo* هستند (Jones & McGonagle, 2008). این پریسایت ها در الگو بیان پروتئین ها سطحی و پروتئین

---

[1]. Perivascular

[2]. Microvasculature

ها درون سلولی بالول ها بنیاد مزانشیمی مشترک هستند که نشان می دهد این سلول ها به لحاظ تبار با هم ارتباط دارند (Traktuev *et al.*, 2008).

این منطقه بخوبی در سیستم ها مصنوعی بازساز شده استسلول ها استرومایی خارجی (اکتوپیک) که بیان کننده یک رسپتور فاکتور رشد مشتق از پلاکت ها [1]، NG2، و بیان بالایی از CD146 هستند، بطور تیپیک در مناطق اطراف سینوزوئید تمرکز می یابند (Sacchetti *et al.*, 2007). این تمرکز یافتگی پیشنهاد کنندهاین است که سلول ها بنیاد مزانشیمی می توانند بطور تنگاتنگی در آنژیوژنز و بهبود زخم درگیر باشندفرض وجود این مناطق مجاور عروقی، اینکه آیا سلول ها بنیاد مزانشیمی در طی سلامتی و بیمار به جریان خون مهاجرت می کنند یا نه سوال مهمی است که پاسخ داده نشده است. اینکه سلول بنیاد مزانشیمی شرایط گردش محیطی داشته باشند، به خاطر تعداد محدود(حدود۰/۰۱ ٪ سلول ها تک هسته ا مغز استخوان) آنها نامحتمل است؛ بلکه بیشتر محتمل است که این سلول ها یک گونه سلولی ویژه دودمان تولید کنند که در بافت ها به عنوان یک فیکلم بازساز سلول ها غیر پارانشیمی قرار بگیرندفیبروسیت ها سلول ها گردش کننده مشتق از مغز استخوان هستند(حدود ۰/۱ تا ۰/۵٪ سلول ها غیر اریتروسایتی در خون محیطی)که به لحاظ فنوتیپی یک هیبرید از سلول ها مونوسیتی و فیبروبلاست ها بیان کننده کلاژن I و مارکرهلـ سطحی CD11b، CD13، CD34 و CD45RO هستند (Abe *et al.*, 2001). با بررسی مغز استخوان کایمراهایی که به لحاظ جنسی با هم مطابقت ندارند، یافت شد که این سلول ها زاده پیش سازها مقاوم به رادیواکتیو مغز استخوان هستند. در خلال آسیب، فیبروسیت ها سریعاً و بطور ویژه در منطقه التهاب (Bucala *et al.*, 1994)، فیبروز (Quan *et al.*, 2006)، و سرطان (Nimphius *et al.*, 2007)جایی که تصور می شود این سلول ها به سلول ها میوفیبروبلاست مقیم در بافت ها بالغ شوند (Powel *et al.*, 1999)یافت می شوند. آنها رسپتورها کموتاکتیک مانند CCR7, CCR5, CCR7و CXCR4 را بیان کرده و CCR6, CCR4و CXCR3 را بیان نمی کنند(Abe *et al.*, 2001). بطور قابل توجه فیبروسیت‌ها مولکول هلـ سطحی مانند کمپلکس اصلی سازگار با بافت کلاس II، CD80، و CD86 را بیان می‌کنند و نشان داده شده است که آنتی ژن ها ضربانیسلول ها Tحلی و اصلی در یک الگو موثر در مقایسه با مونوسیت ها و سلول ها دندریتی حضور دارند، اگرچه این مسئله در شرایط بدن موجود زنده تحقیق نشده است. این سلول ها با سلول ها بنیاد مزانشیمی مقیم در مغز استخوانشابه عملکرد و فنوتیپی دارند بنابراین خالص ساز تئور ها رایج برا توضیح محور سلول ها بنیاد مزانشیمی/ فیبروسیتی ممکن است که به فهم نوع هر سلول در طی بیمار و سلامتی منجر شود.

---

[1]. Platelet Drived Growth Factor Receptor (PDGF-R)

[2]. Pulsed antigene

۱-۳-۳- خودنوزایی سلول ها بنیاد مزانشیمی

خودنوزایی اصطلاحی است که به مسیراه زیستی و مکانیسم هایی که مرحله تمایز نیافتگی را حفظ می کنند اشاره داردآزمایشات ژنومیکی برا شناسایی اثرات مولکولی مورد قبول که مرحله بنیادینگی در سلولها بنیاد شامل سلول ها بنیاد مزانشیمی را حفظ می کنند انجام شده است (Song *et al.*, 2006). فاکتور مهارکننده لوکمیا[۱] (Jiang *et al.*, 2002, Metcalf, 2003)فاکتورها رشد فیبروبلاستی[۲](Tsutsumi *et al.*, 2001, Zaragosi *et al.*, 2006)و همولوگ ها پستاندار وینگلس دروزوفیلا(Tsutsumi *et al.*, 2001, Boland *et al.*, 2004)و میان دیگر فاکتورها رشد و سایتوکاین ها، در حفظ بنیادینگی سلول ها بنیاد مزانشیمی مسئول هستند. LIF که یک سایتوکاین پلیوتروپیک است، مرحلیاد سلول ها بنیاد مزانشیمی (Jiang *et al.*, 2002)و دیگر انواع سلول ها بنیاد (Metcalf, 2003) را حفظ می کند. LIFهمچنین فعالیت ها استئوبلاست ها و استئوکلاست را هم فعال کرده و هم سرکوب می کند(Heymann & Rousselle, 2000). توانایی دوگانه LIF پیشنهاد می کند که محیط سلولی و مرحله تکوینی سلول هدف، بر تفاوت پاسخگویی آن به LIF موثر است. مکانیسم ها فعالیت LIFرا خودنوزایی سلول ها بنیاد مزانشیمی ناشناخته است ولی ممکن است میانکنش ها پاراکرین با سلول ها همسایه هم دخیل باشند. FGF2 مرحلهبنیادینگی سلول ها بنیاد مزانشیمی را در انواعی از گونه ها توسطجلوگیر از مرگ آن ها در کشت، حفظ می کند(Zaragosi *et al.*, 2006). این مسئله یادآور حفظ جوانه اندام حرکتی تمایز نیافته توسط حلقه پیشرو FGF4، FGF8 و FGF10 بین برآمدگی اکتودرم راسی و مزانشیم زیرین است (Niswander, 2002) . نقشبودار ها گستردهژنتیکی ارتباط ها تصادفی بین جهش ها آللی FGF و رسپتورFGF و یک طیف از بیمار هلـ کرانیوسینوستوزیس و آکوندرودیسپلاستیک در انسان (Niswander, 2002) و حیوانات مدل را (Marie *et al.*, 2005) نشان داده استژن ها هدف FGF در حفظ بنیادینگی سلول ها بنیاد مزانشیمی ناشناخته باقی مانده است. ممکن است حلقه تنظیمی اوتوکرینی فعالیت خودتنظیمی FGF را مانند آنچه در اندام حرکتی مهره داران است انجام دهد(Marie *et al.*, 2005).

نتایج آزمایشات Bolandو همکارنش نشان داده است که اعضا گروه Wntنیز ممکن است بقا سلولیادها مزانشیمی را همانطور که در سلول ها خونساز، سلول ها عصبی، سلول ها روده ا و سلول ها بنیاد پوست(Kleber & Sommer, 2004)انجام می دهند، تنظیم کنند (Boland *et al.*, 2004). Wnt3aتسیم سلول ها بنیاد مزانشیمی بالغ را حفظ می کند در حالیکه تمایز استخوانی را در آن ها مهار می کند(Boland *et al.*, 2004)با این حال تشخیص دقیق دخالت اعضا خانواده Wnt بدلیل

---

۱. Leukemia Inhibitory Factor (LIF)

۲. Fibroblast Growth Factor(FGF)

اثرات پلیوتروپیک آنها مشکل استقبال ها عملکردها متعارف Wnt شامل پیشرفت کشت ها طولانی مدت سلول ها بنیاد ، افزایش نوساز رده ها خونساز در شرایط *in vivo* و یا مختص به Wnt درجمعیت ها سلول ها بنیاد روده ا و پوستی است(Kleber & Sommer, 2004). بدلیل اینکه سلول ها بنیاد ممکن است مسیرها سیگنالی مشترکی با سلول ها سرطانی داشته باشند، بیان تقویت شده بتا-کتنین مشاهده شده در برخی کارسینوماها کولون (Bienz, 2002) پیشنهاد می‌کند که بتا-کتنین در پایین دست Wnt تنظیم خودنوزایی سلول ها بنیاد مزانشیمی دخالت می کند.

سلول ها بنیاد مزانشیمی از گونه ها مختلف پستانداران همچنین مارکرها ژنی سلول ها بنیاد جنینی مانند Oct-4، Sox-2 و Rex-1 را بیان می کنند(Izadpanah *et al.*, 2006). مطالعات ایمونوپرسیپیتیشن کروماتین پیشنهاد می‌کند که برخی پروتئین ها پلی کامب پیوسته با کروماتین بطور عمومی در حفظ کوب ژن ها تمایز دخیل هستند(Boyer *et al.*, 2006). بنابراین پروتئین ها پلی کامب می توانند بطور غیر مستقیم فعالیت Oct-4، Sox-2 و Rex-1 در سلول ها بنیاد مزانشیمی حفظ کنند؛ متناوباً پروتئین ها تریتوراکس که پروتئین ها پلی کامب را توسط حفظ فعالیت ژن-ها هومئوتیک تکمیل می کنند (Ringrose & Paro, 2004) می توانند بطور مستقیم بیان ژن ها Oct-4، Rex-1 و Sox-2 را تنظیم کنند.

زمینه ها مطالعاتی دیگر در مورد زیست شناسی سلول ها بنیاد مزانشیمی است آغاز شده است. این زمینه ها بر تنظیم انواع دیگر از سلول ها توسط سلول ها بنیاد مزانشیمی که شامل عملکرد سلول ها بنیاد مزانشیمی به عنوان عوامل تغذیه (Caplan & Dennis, 2006) و اثرات تعدیل ایمونولوژیکی این سلول ها است تمرکز دارد(Chen *et al.*, 2006).

۱-٤-ویژگی‌ها فنوتیپی سلول بنیاد مزانشیمی مغز استخوان

وقتی که سلول ها مغز استخوان در شرایط آزمایشگاهی کشت می شوند سلول ها چسبنده تمایل به ایجاد کلنی دارند. سلول ها دوکی شکل مشابه سلول ها فیبروبلاستی دارند و بنابراین فیبروبلاست ها واحد تشکیل دهنده کلنی نام دارند. این ویژگی مهم به فراوانی در مطالعه توانایی ها سلول ها بنیاد مزانشیمی مغز استخوان در شرایط کشت مورد استفاده قرار می‌گیرد. تعداد، توانایی تمایز و بیشترین مدت زندگی سلول ها بنیاد مغز استخوان با افزایش سن کاهش می یابد (Kern *et al.*, 2006). سلول ها بنیاد مزانشیمی بدست آمده از اهدا کنندگان جوان می توانند تا چند بار دو برابر شدن جمعیت در محیط کشت رشد کنند در حالیکه سلول ها بدست آمده از اهدا کنندگان مسن تر توانایی تقسیم و پتانسیل محدودتر دارند. بعد از چند بار دو برابر شدن جمعیت، سلول ها وارد مرحله پیر می شوند که وابسته به چند عامل شامل کوتاه شدن پیش رونده تلومرها ناشی از فقدان عملکرد

تلومرازها است (Pittenger *et al.*, 1999).

در ابتدا سلول ها شبه فیبروبلاستی آلکالین فسفاتاز مثبت، سودان سیاه مثبت، کلاژن IV مثبت، فیبرونکتین مثبت و آلفا-نفتیل استات استراز منفی هستند. بعلاوه کلاژن I و لامینین هم که مربوط به غشا پایه هستند در ماتریکس خارج سلولی احاطه کننده این سلول ها یافت می شود. طیف گسترده ا از آنتی ژن ها سطحی و پپتیدها مانند SB-10, SH-4(CD-73) ,SH-3, SH-2(CD-105), و نیز مولکول ها چسبندهدیگر و گیرنده ها فاکتورها رشد و سایتوکاین ها مانند CD121a,b, CD117, CD102, CD124, CD123, CD166 ,CD29 ,CD54, CD90 و CD49 با استفاده ازگروه وسیعی از آنتی باد ها در جمعیت ها اولیه این سلول‌ها شناسایی شده‌اند (Alhadlaq and Mao, 2004).

از آنجا که سلول ها بنیاد مغز استخوان در بین گونه ها مختلف و نیز در کشت ها مختلف پروفایل ها ژنی متفاوتی را بیان می کنند این مارکرها در شرایط مختلف دستخوش تغییر می شوند(Kassem *et al.*, 2004; Javazon *et al.*, 2004). بیان ترکیبی هتروژنی از خصوصیات ژنی سلول ها هماتوپویتیک و نیز رده ها مزانشیمی مختلفی مانند رده ها استئوژنیک (مانند آلکالین فسفاتاز، استئوکلسین، استئوپونتین، cbfa1 و رده ها آدیپوسیتی (لیپوپروتئین لیپاز) کشت ها ابتدایی سلول ها بنیاد مغز استخوان مشاهده شده که نشان دهنده تعهد یافتگی کم این سلول‌هاست. از طرف دیگر این جمعیت ها سلولی مارکرها سلول ها اندوتلیال (CD31) مارکرها مونوسیتی ماکروفاژ (CD14)، مارکرها لمفوسیتی (CD11a/LFA-1) مارکرها لوکوسیتی (CD45) مارکرها گلبول ها قرمز خون (Glycophorin A) و سایر سلول ها هماتوپویتیک (CD3, CD14, CD19, CD34, CD38, and CD66b) را بیان نمی کنند سلول ها بنیاد مغز استخوان کشت شده همچنین طیف گسترده ا از سایتوکاین ها و فاکتورها رشد را شامل فاکتور رشد سلول بنیاد (لیگاند c-kit)، اینترلوکین ۷ (IL-7)، IL-8، IL-11، فاکتور رشد تغییر شکل دهنده -بتا[1] ، کوفیلین، گالکتین-۱، رسپتور لامینین-۱، سیکلوفیلین A، ماتریکس متالوپروتئیناز-۲ (MMP-2) را بیان می کنند (Alhadlaq and Mao, 2004).

استخوان نقشی اساسی در ساختار، حفاظت و تحرک بدن ایجاد می کند. استخوان پستانداران شامل سلول هایی در مراحل متفاوت تکوینی (شامل پیش استئوبلاست‌ها، استئوبلاست‌ها و استئوسیت‌ها)، فیبرها کلاژن و رسوب ها معدنی مثل کلسیم و فسفات است (Boskey, 1984; Meghji, 1992). حفره استخوان پر از بافت نرم مغز استخوان و عروق خونی است. سلول ها در حال تکوین خونساز در حفره استخوان تا زمانی که بالغ شده و به درون سیستم عروقی آزاد شوند در مغز استخوان باقی می مانند (Meghji, 1992; Fliedner, 1998). سلول ها بنیاد خونساز[2] یا HSC ها و دودمان آنها توسط سلول ها استرومایی

---

[1]. Transforming growth factor-β; TGF-β

[2]. Hematopoietic stem cells; HSCs

در مغز استخوان احاطه شده استسلول ها بنیاد مزانشیمی نیز در حفره استخوان مستقر هستند و توانایی تبدیل شدن به اکثر سلول ها دودمان استرومایی مغز استخوان، شامل کندروسیت ها، استئوبلاست ها و فیروبلاست ها، آدیپوسیت هاسلول ها اندوتلیال و میوسیت ها را چنانکه در شرایط *in vitro* و تا حدود *in vivo* نشان داده شده است دارند(Hristov and Weber 2004; Lacaud *et al.*, 2001; Robertson *et al.*, 1999).

سلول ها بنیاد مزانشیمی در زمانی که به مدل ها حیوانی تزریق می شوند به محل آسیب مهاجرت می کنند(da Silva Meirelles *et al.*, 2008) این توانایی را می توان به بیان فاکتورها رشد، کموکاین‌ها و گیرنده ها ماتریکس خارج سلولی در سطح این سلول ها نسبت داد. آزمایشات کموتاکسی نشان می دهد سلول‌ها بنیاد مزانشیمی کشت شده در شرایط آزمایشگاهی در یک مدل وابسته به دوز به سمت فاکتورها رشد مختلف و کموکاین ها مهاجرت می کنند و این مهاجرت وابسته به کموکاین ها توسط سایتوکاین التهابی فاکتور نکروز تومور-a[1] میانجیگر می شود که نشان می دهد جذب شیمیایی می تواند بطور سیستماتیک سلول ها بنیاد مزانشیمی را در جهت جایگاه ها التهابی القا کند.

۱-۵-نیچ سلول بنیاد مزانشیمی در مغز استخوان

تحقیقات زیاد به بررسی این که چه عواملی نیچ سلول‌ها مزانشیمی را تعیین و تعریف می‌کند، پرداخته‌اند. به روشنی بیان شده است که نیچ‌ها مشخصی درون مغز استخوان وجود دارند که با ایجاد فاکتورها و مشخصات اتصالی لازم برا حفظ حیات سلول‌ها بنیاد خون‌ساز (HSC)از رشد و بقا آن-ها حمایت می‌کنند و نیز یک منبع تولید متعادل و مناسب از دودمان بالغ را در تمام طول زندگی یک موجود، حمایت می‌نمایند (Janowska-Wieczorek *et al.*, 2001). همچنین مشخص شده است که این نیچ‌ها بوسیله سلول‌هاپیش‌ساز استرومایی بخصوص استئوبلاست‌ها تشکیل می‌شوند (Calvi *et al.*, 2003). استروما و سلول‌ها استرومایی حمایت فیزیکی لازم را برا بلوغ اجداد سلول‌ها خونی فراهم می‌کنند و به عنوان منبع گسترده ازعلایم مشتق از سلول و سیگنال‌ها هدایت کننده تعهد، تمایز و بلوغ سلول‌ها خون‌ساز به شمار می‌روند (Koller *et al.*, 1997). سلول‌ها اندوتلیال، آدیپوسیت‌ها، ماکروفاژها، سلول‌ها رتیکولار، فیبروبلاست‌ها، اجداد استخوان‌ساز، سلول‌ها بنیاد هماتوپویتیک و اخلاف آن‌ها، ترکیبات سلولی اولیه استروما استخوانی هستند که درون این ریز محیط پویا[2] وسلولی، وجود دارند (Wang and Wolf, 1990). سئوالی که مطرح می‌شود این است که آیا سلول ها بنیاد مزانشیمی مغز استخوان‌در نیچ بنیاد منحصر به فرد خود ساکن هستند یا این که در نیچ یکسانی با سلول‌ها بنیاد خون‌سازسهیم می‌باشند؟ ممکن است چنین استدلال شود که این دو بخش نیچ یکسانی را

---

[1]. Tumor Necrosis Factor; TNF-a

[2]. Dynamic microenvironment

اشغال می‌کنند که مجاورت بسیار نزدیکی را به لحاظ فیزیکی برا سلول‌ها مزانشیمی و هماتوپیتیک فراهم می‌کند. با وجود این سیگنال داخل یا خارج سلولی که برا حفظ برنامه تکوینی سلول بنیاد هماتوپویتیک و مزانشیمی در ریز محیط مغز استخوان لازم هستند، به احتمال زیاد بسیار با هم متفاوت می‌باشند. یک توصیف کامل از برهم‌کنش‌ها بیوشیمیایی، سلولی و مولکولی سلول‌ها بنیاد مزانشیمی مغز استخوان درون نیچ خود به منظور فهمیدن چگونگی تنظیم این سلول‌ها در شرایط *in vitro* لازم است (Baksh *et al.*, 2004).

۱-۵-۱-ترکیبات محلول

محیط مغز استخوان به طور طبیعی محیطی کم‌اکسیژن است که این مسئله از اهمیت ویژه برخوردار است. مقایسه سلول ها بنیاد مزانشیمی مغز استخوان انسانی که در شرایط کم‌اکسیژن(۲%) کشت شده بودند با سلول ها کشت شده در شرایط طبیعی (۲۰% اکسیژن) نشان داد که ظرفیت تکثیر سلول ها بنیاد مزانشیمی مغز استخوان در شرایط کم اکسیژن بهتر حفظ می‌شود (Grayson *et al.*, 2006). کمبود اکسیژن، تعداد کلنی ها تشکیل شده در محیط کشت را حداقل دو برابر می‌کند و بیان ژن‌ها Oct-4 و Rex-1 را که به وسیله سلول بنیاد جنینی بیان می‌شوند و تصور می‌شود در حفظ وضعیت بنیاد نقش اساسی داشته باشند، افزایش می‌دهد. این داده‌ها پیشنهاد می‌کند که کمبود اکسیژن نه تنها ظرفیت تکثیر را افزایش می‌دهد بلکه بر پلاستیسیته سلول ها بنیاد مزانشیمی مغز استخوان نیز می‌افزاید. مکانیسم عمل کمبود اکسیژن بر سلول ها بنیاد مزانشیمی مغز استخوان در حال حاضر شناخته شده نیست، اگر چه احتمال تنظیم افزایشی Oct-4 به وسیله فاکتور رونویسی HIF-2α نیز وجود دارد (Covello *et al.*, 2006).

نقش پروتئین‌ها ترشح شده در نیچ سلول ها بنیاد مزانشیمی مغز استخوان نیز شناخته شده نیست. در برخی مطالعات، محیط‌ها مشخصی به منظور تجزیه و تحلیل اثرات پروتئین‌ها ترشح شده به وسیله سلول گوناگون رو سلول ها بنیاد مزانشیمی مغز استخوان بدون تماس مستقیم سلولی، مورد بررسی قرار گرفتند (Kaigler *et al.*, 2005). تا کنون از هیچ یک از بررسی‌ها، پروتئین‌ها تأثیرگذار یا نوعی سلول که فاکتورها ترشح شده از آن اثر رو سلول ها بنیاد مزانشیمی مغز استخوان داشته باشد، شناسایی نشده است. به بیان دیگر انواع مختلف سلول بررسی شده، یا هیچ تأثیر رو سلول ها بنیاد مزانشیمی مغز استخوان ندارند یا تمایز را در آن‌ها القا می‌نمایندیافتن یک یا تعداد بیشتر پروتئین که تمایز سلول ها بنیاد مزانشیمی مغز استخوان را مهار می‌کند در حالی که تکثیر آن‌ها را امکان پذیر می‌سازد، جهت تقلید نیچ و بهبود شرایط *ex vivo* سلول بنیاد مزانشیمی مغز استخوان در دست بررسی است (Kolf *et al.*, 2007).

۱-۵-۲-ترکیبات ماتریکس خارج سلولی[۱]

ترکیبات ماتریکسی خاصی که بتواند به حفظ سلول ها بنیاد مزانشیمی مغز استخوان در وضعیت طبیعی خود کمک کنند، شناسایی نشده اند. وجود این، با بهره گیر از مهندسی بافت شواهد وجود دارد که ماتریکس خارج سلولی می تواند به تنهایی تمایز سلول ها بنیاد مزانشیمی مغز استخوان را تنظیم کند. به عنوان مثال ماتریکس خارج سلولی به جا مانده از استئوبلاست ها بر رو داربست تیتانیوم بعد از سلول زدایی، مارکرها استئوژنز مانند آلکالین فسفاتاز و رسوب کلسیم را در سلول ها بنیاد مزانشیمی مغز استخوان افزایش می دهد (Datta *et al.*, 2005). مشاهدات انجام شده، همچنین پیشنهاد می کند ماتریکس خارج سلولی بر جا مانده به وسیله سلول ها پوششی عروق کوچک، تولید سلول ها اندوتلیال[۲] را از سلول بنیاد مزانشیمی مغز استخوان افزایش می دهد (Kolf *et al.*, 2007).

ماتریکس ها مصنوعی طراحی شده که می توانند ریز محیط ها[۳] بافتی داخل بدن را تقلید کنند و تمایز مناسب سلول ها بنیاد را تنظیم نمایند، نوید بخش روشی جهت کاربردهای درمانی هستند (Kolf *et al.*, 2007).

۱-۵-۳-ترکیبات سلولی

مطالعات اخیر پیشنهاد کننده ماهیت دورعروقی[۴] نیچ سلول ها بنیاد مزانشیمی مغز استخوان است (شکل ۲-۱). این تئوری بر مبنا بیان اکتین آلفا عضله صاف[۵] سلول ها بنیاد مزانشیمی مغز استخوان جداسازی شده از انواع بافت ها مورد آزمایش و نیز منطقه بندی ایمونوهیستوشیمیایی سلول های CD4-/CD31-/Sca-1+/Thy-1+ در مکان های دور عروقی استوار است (Blashki *et al.*, 2006; Da Silva *et al.*, 2006). در تایید این تئوری ، با استفاده از مارکرها Stro-1، CD146، سلول بنیاد مزانشیمی در مغز استخوان و پالپ دندان یافت شدند که عروق خونی را دربرگرفته اند. این سلول ها همچنین اکتین آلفا عضله صاف را بیان کرده و حتی برخی از آن ها مارکر سطحی مربوط به پریسایت ها را بیان می کردند (Shi and Gronthos, 2003). برخی محققان فرضیه را مطرح کردند مبنی بر این که پریسایت ها در واقع همان سلول ها بنیاد مزانشیمی هستند، زیرا می توانند به سمت استئوبلاست ها، کندروسیت ها و آدیپوسیت ها تمایز یابند (Doherty *et al.*, 1999). منطقه سلول ها بنیاد مزانشیمی در نیچ دور عروقی در سراسر بدن به آن ها امکان دستیابی به بافت ها مختلف را

---

۱. Extra Cellular Matrix (ECM)

۲. Endothelialogenesis

۳. Microenviroment

۴. Perivascular

۵. α- Smoth Muscle Actin

می‌دهد آزمایشات دیگر در شرایط *in vivo* نیز اعتبار بخشیدن به این تئوری مورد نیاز است (Kolf *et al.*, 2007).

کادهرین‌ها پروتئین‌های عرض غشایی سلول هستند که در اتصال سلول–سلول، مهاجرت، تمایز و قطبیت سلول ها بنیادی مزانشیمی شرکت می‌کنند و با Wnts که در زیست شناسی سلول های بنیادی مزانشیمی مهم هستند، بر هم‌کنش دارند. آن‌ها همچنین در زیست شناسی نیچ‌های سلولی بنیادی دیگر نیز توصیف شده‌اند (Nelson and Nusse, 2004). نقش آن‌ها در نیچ سلولی بنیادی مزانشیمی یک حوزه بررسی نشده است و برای درک پایه‌های مولکولی برهم‌کنش‌های بین‌سلولی های بنیادی مزانشیمی و همسایگان آن، حیاتی می‌باشد (Tuli *et al.*, 2003).

۱–۷– پتانسیل تمایز چند دودمانی

پتانسیل تمایز چند دودمانی جمعیت های سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق از گونه‌های مختلف، از زمان کشف آن‌ها در سال ۱۹۶۰ به‌طور گسترده در شرایط *in vitro* مطالعه شده است (Friedenstein *et al.*, 1966). این مطالعات اثبات کرده‌اند که جمعیت‌های سلول های بنیادی مشتق از مغز استخوان انسان، سگ، خرگوش، رت و موش، توانایی تکوین به سمت فنوتیپ‌های مزانشیمی تمایز یافته، شامل استخوان (Bruder *et al.*, 1997; Galmiche *et al.*, 1993)، غضروف (Vogel *et al.*, 2003) تاندون (Young *et al.*, 1998; Awad *et al.*, 1999)، ماهیچه (Ferrari *et al.*, 1998)، بافت‌های چربی (Dennis *et al.*, 1999) واستروما حمایت کننده هماتوپویتیک (Owen, 1988) را هم در شرایط *in vitro* و هم *in vivo* دارند (شکل ۱–۸–A).

توانایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی برای تمایز به سمت یک واریته از انواع سلولی بافت پیوند، آن‌ها را به عنوان منبع سلولی ایدآل برای روش‌های ترمیم بافت در شرایط بالینی، شامل بهبود بخشیدن ، ترمیم موضعی و بازساز استخوان (Richards *et al.*, 1999)، غضروف (Johnstone *et al.*, 1999) و تاندون (Young *et al.*, 1998) معرفی کرده است. Pittenger و همکاران گزارش کردند که تنها یک سوم کلون‌های سلول های بنیادی مغز استخوان توانایی تمایز چند دودمانی را نشان می دهند (Pittenger *et al.*, 1999). علاوه بر این ۳۰٪ کلون‌های سلولی غیرنامیرا[1] پتانسیل تمایز سه دودمانی (استخوان، چربی، غضروف) را از خود به نمایش می‌گذارند در صورتی که مابقی، یک پتانسیل دو دودمانی(استخوان، غضروف) و یا یک دودمانی(استخوان) را از خود نشان می‌دهند (Muraglia *et al.*, 2000).

بعلاوه Kuznetsov و همکاران اثبات کردند که تنها ۵۸/۸٪ از کلون‌های مشتق از یک کلونی منفرد، دارای توانایی تشکیل استخوان درون داربست‌های سرامیکی هیدروکسی آپاتیت تر کلسیم فسفات بعد از

[1]. Nonimmortal