

فاکتورهای نسخه‌برداری کلیدی موثر در تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی: مقاله مروری

چکیده

دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۱۳ ویرایش: ۱۳۹۶/۰۹/۰۵ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۱۷ آنلاین: ۱۳۹۶/۰۹/۱۸

محسن شیخ‌حسن^۱مهديه غیاثی^{۲*}

۱- مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
 ۲- گروه فارمکولوژی، مرکز تحقیقات دارویی رازی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.
 ۳- شرکت آوای مه‌سلول ایرانیان، مرکز توسعه فناوری سلامت، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

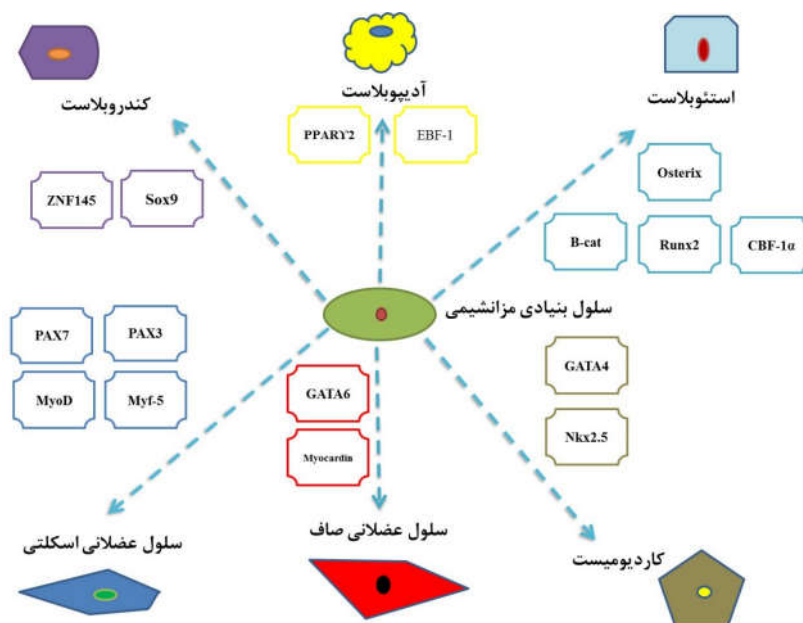
سلول‌های بنیادی، سلول‌های بیولوژیکی منحصر به فردی هستند که می‌توانند به سلول‌های تخصصی متفاوتی تمایز یابند. در پستانداران، دو نوع گسترده از سلول‌های بنیادی وجود دارد: سلول‌های بنیادی جنینی که از توده سلولی داخل بلاستوسیت جدا می‌شوند و سلول‌های بنیادی بالغ که در بافت‌های مختلف یافت می‌شوند. سلول‌های بنیادی مزانشیمی (Mesenchymal stem cells, MSC)، سلول‌های چند توانی هستند که به‌عنوان یکی از مهمترین سلول‌های بنیادی بالغ از آن‌ها یاد می‌شود. به دلیل ظرفیت تکثیری بسیار بالا و توانایی خودنوزایی مناسبی که این سلول‌ها دارند، منبع قدرتمند و امیدوارکننده‌ای را جهت استفاده در زمینه طب ترمیمی ایجاد نموده‌اند. همچنین، سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌توانند به چندین رده سلولی مانند استئوبلاست‌ها (سلول‌های استخوانی)، کندروسیت‌ها (سلول‌های غضروفی)، آدیپوسیت‌ها (سلول‌های چربی) و میوسیت‌ها (سلول‌های عضلانی) تمایز یابند. از آنجایی که سلول‌های بنیادی مزانشیمی به‌عنوان یک منبع جذاب جهت پیوند اتولوگ در زمینه طب ترمیمی محسوب می‌گردند، بررسی چرخه‌های سیگنال‌دهنده سلولی - مولکولی که در تمایز این سلول‌ها موثر بوده و همچنین تغییرات مولکولی ایجاد شده حین تمایز آن‌ها و در نتیجه درک نقش سایتوکین، کموکین و فاکتورهای نسخه‌برداری بر روی تمایز این سلول‌ها پراهمیت می‌باشد. تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده مزانشیمی به صورت ژنتیکی مورد دستکاری واقع شده و توسط فاکتورهای نسخه‌برداری خاصی که با رده‌های سلولی ویژه در ارتباط هستند، تحریک می‌شود. مطالعات اخیر به بررسی نقش عوامل نسخه‌برداری شامل *Sox9*، *Runx2*، *PPAR*، *GATA6* و *GATA9*، *MyoD* در تمایز MSC پرداخته‌اند.

کلمات کلیدی: استخوان، غضروف، تمایز، چربی، سلول‌های بنیادی مزانشیمی، عضله، فاکتورهای نسخه‌برداری.

* نویسنده مسئول: قم، خیابان صفاشهر، دانشگاه علوم پزشکی قم، مرکز توسعه فناوری سلامت
 تلفن: ۰۲۵-۳۲۸۵۲۷۴۰
 E-mail: mahdich.ghiasi@yahoo.com

پانکراس^۹، جفت، خون بند ناف^{۱۰}، پالپ دندان^{۱۱}، خون قاعدگی^{۱۲} و پوست^{۱۳، ۱۴} جداسازی شده است. این سلول‌ها توسط ویژگی‌هایی همچون مورفولوژی دوکی‌شکل‌شان و توانایی آن‌ها جهت تمایز به آدیپوسیت‌ها، کندروسیت‌ها و استئوبلاست‌ها در شرایط برون‌تنی (In vitro) شناخته می‌شوند (شکل ۱).^{۱۵-۱۸} همچنین، این سلول‌ها از لحاظ ایمونوفنوتیپی (مارکرهای ویژه سطحی) توسط بیان مثبت و منفی آنتی‌ژن‌های متعدد سطحی مشخص می‌گردند.^{۱۷} سلول‌های بنیادی مزانشیمی، آنتی‌ژن‌های ویژه سطحی همچون CD44، CD73،

سلول‌های بنیادی مزانشیمی، سلول‌های بنیادی چند توانی هستند که قادر به خودنوزایی و تمایز به انواع سلول‌های عملکردی (دارای عملکرد) می‌باشند.^{۱۹} جداسازی آسان، ظرفیت مهاجرت بالا، میزان تکثیر به‌نسبت زیاد و توانایی آن‌ها جهت جلوگیری از پاسخ‌های آلورژنیک پس از رد پیوند، آن‌ها را به‌عنوان کاندیداهای جذابی در طب ترمیمی معرفی نموده است.^{۳-۵} در طول چند سال گذشته، سلول‌های بنیادی مزانشیمی از بافت‌ها و اندام‌های مختلفی شامل بافت چربی، مایع آمنیوتیک،^۶ بافت بیضه،^۷ مغز استخوان، کبد، ریه، طحال،^۸



شکل ۱: عوامل رونویسی اصلی که فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به استخوان، غضروف، چربی، سلول‌های عضلات صاف، عضله اسکلتی و سلول‌های قلب را تحریک می‌نمایند.

بین هورمون‌ها و فاکتورهای رشد کنترل‌کننده فرآیند تمایز این سلول‌ها به رده استخوانی وجود دارد. فاکتورهای نسخه‌برداری عمده‌ای که نقش کلیدی را در این فرآیند تمایزی بازی می‌کنند شامل *Osterix* و *Runx2/CBFA-1* می‌باشند.^{۲۴} مطالعات مختلف نشان داده است که حضور فاکتور نسخه‌برداری مرتبط با *Runt* (*Runt-related transcription factor 2*) جهت تمایز به رده استخوانی ضروری است.^{۲۴}

فاکتور نسخه‌برداری *Runx2*، سلول‌های بنیادی را به سمت تمایز به سلول‌های پیش‌ساز استخوانی هدایت نموده و از تمایز آن‌ها به رده استخوانی و چربی ممانعت به عمل می‌آورد.^{۲۵} نتایج حاصل از مطالعه Zhao و همکاران، نشان داد که سلول‌های بنیادی مزانشیمی القا شده با *Runx2* قادر به تشکیل سلول‌های استخوانی بیشتری نسبت به سلول‌های القا نشده (به‌عنوان کنترل) هستند.^{۲۶} این یافته‌ها آشکار نمود که *Runx2* نقش مهمی را در فرآیند تمایز به استخوان بازی می‌کند و همچنین توانایی استفاده از انتقال ژن *Runx2* را جهت افزایش تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سلول‌های استخوانی

CD105 و DC29، CD9 را بیان نموده و فاقد نشانگرهای اندوتلیالی همچون CD45، CD11، CD31، CD14، CD34 می‌باشند.^{۲۱-۱۹} این سلول‌ها به‌طور معمول در شرایط برون‌تنی و در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی و ۱٪ آنتی‌بیوتیک و ال-گلوتامین، به‌صورت تک لایه رشد می‌یابند.^۸ پس از کشف فرآیند تمایز این سلول‌ها در شرایط برون‌تنی و درون‌تنی (*In vivo*) به چندین رده سلولی، مطالعات زیادی بر روی این فرآیند انجام پذیرفته است. این مطالعات نشان دادند که این سلول‌ها قابلیت تمایز به چندین نوع رده سلولی مزودرمی شامل عضلانی، چربی، استخوانی و غضروفی را دارا می‌باشند (شکل ۱).^{۸-۶}

تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سمت رده استخوانی، به‌وسیله قرار دادن یک محیط تک لایه از سلول‌های بنیادی مزانشیمی در محیط ویژه تمایزی شامل بتا-گلیسرول فسفات، دگزامتازون، اسکوربیک اسید ۲-فسفات، و ترکیبی از فاکتورهای رشد $TGF-\beta$ ، پروتئین‌های مورفوژنتیک استخوان (Bone morphogenetic proteins) و ویتامین D3 صورت می‌پذیرد.^{۲۲، ۲۳} در سطح مولکولی نیز، تعاملی

سیگنال‌دهنده Wnt نیز یک نقش اساسی را در این فرآیند بازی می‌کند.^{۳۷} پروتئین مرتبط با Yes (*Yes-associated protein*), یک کمک فعال‌کننده در فرآیند نسخه‌برداری می‌باشد که توسط ارتباط خود با خانواده فاکتورهای نسخه‌برداری *TEAD* عمل نموده و در فرآیندهای رشد، نمو، ترمیم هموستازی و پیشرفت سرطان‌های مختلف به‌عنوان یک تنظیم‌کننده نسخه‌برداری دخیل می‌باشد.^{۳۸} مشخص شده است که تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده استخوانی توسط فعالیت *YAP* که به‌عنوان یک تنظیم‌کننده فرآیند نسخه‌برداری حساس از لحاظ مکانیکی محسوب می‌شود، افزایش می‌یابد.^{۳۸} همچنین، از نتایج حاصل از مطالعات Yuan و همکاران، می‌توان نتیجه گرفت که القاگرهای فرآیند تمایز استخوانی از جمله BMP و Wnt می‌توانند عملکرد فعال‌سازی چرخه *PPAR γ* را به‌صورت ترانس در طول تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سمت رده چربی از طریق بسیاری از مکانیسم‌ها سرکوب کنند.^{۳۹}

براساس نتایج حاصل از مطالعه Mahl و همکاران، نشان داده شد که بیان داخلی پروتئین غنی از سیستئین همراه با موتیف کازال القا کننده فرآیند پسرست (Reversion inducing cysteine rich protein with Kazal motifs) تحت شرایط تمایز به استخوان، بیش بیان شده و پس از تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به چربی کاهش می‌یابد.^{۴۰} این نتایج نشان داد که RECK می‌تواند به‌عنوان یک سویچ بین دو چرخه تمایز به استخوان و چربی در سلول‌های بنیادی مزانشیمی عمل نماید.^{۴۰} Biam و همکاران نشان دادند که فاکتور نسخه‌برداری مرتبط با میوکاردین (Myocardin-related transcription factor A) به‌عنوان یک تنظیم‌کننده جدید فرآیند هموستازی اسکلتی توسط ایجاد تعادل بین سلول‌های بنیادی مزانشیمی موش به رده‌های چربی و استخوان می‌باشد.^{۴۱}

در شرایط برون‌تنی، تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده غضروفی توسط محیط کشت DMEM همراه با مواد شیمیایی همچون ویتامین C (اسکوربیک اسید)، دگزامتازون، آلبومین سرم گاوی، لینولیک اسید، پیرووات سدیم، ترانسفرین، اسید سلنئوس، ال-گلوتامین و *TGF- β 1* یا *TGF- β 3* تحریک می‌گردد.^{۴۲، ۴۳، ۴۴، ۴۵} در طول تمایز، مورفولوژی سلول‌های بنیادی از حالت فیروبیلاست مانند به شکل کروی ماندنی تغییر می‌یابد.^{۴۶، ۴۷} فاکتورهای رشد، نقش مهمی را در تنظیم بیان ژن‌های کلان‌نوع دو، ۹، ۱۰ و ۱۱، آگریکان

نمایان ساخت.^{۴۶} بیان *Runx2* توسط بسیاری از چرخه‌های سیگنال‌دهنده همچون چرخه‌های سیگنال‌دهنده Wnt، BMP و Notch تنظیم می‌گردد. به‌عنوان نمونه، فاکتور BMP به گیرنده BMPR متصل شده و فاکتور *Smad* را فعال می‌نماید که در نتیجه فاکتور *Smad* به هسته انتقال یافته و به‌عنوان یک فاکتور نسخه‌برداری عمل می‌کند.^{۴۷، ۴۸} بنابراین، حذف لیگاندهای BMP باعث اختلال در فرآیند تمایز به غضروف می‌گردد.^{۴۹} افزون بر این، BMP9 فعال‌سازی چرخه‌های سیگنال‌دهنده *Smad 1, 5, 8* و تمایز به استخوان را در سلول‌های بنیادی مزانشیمی تحریک می‌کند.^{۳۰} تعامل بین *Smad-Runx2* جهت تمایز به استخوان ضروری است.^{۳۱} به‌طوری که جهش القایی در دامنه موجود در انتهای C در فاکتور نسخه‌برداری *Runx2* باعث اختلال در فعالیت‌های نسخه‌برداری *Smad-Runx2* می‌شود که در نهایت به مهار فرآیند تمایز به استخوان منجر می‌گردد.^{۳۱} فاکتور نسخه‌برداری *TWIST* نیز به‌عنوان یک عامل پایین‌دست فاکتور القا کننده هیپوکسی- 1α (Hypoxia-inducible factor 1-alpha) عمل نموده و بیان *Runx2* را در سلول‌های بنیادی مزانشیمی مهار می‌کند.^{۳۲} این مهار منجر به تنظیم فرآیند تمایز به استخوان می‌گردد.^{۳۲} فاکتور *Osterix*، در نوعی مدل موشی دارای *Runx2/Cbfa1*، بیان نشد که پیشنهاد می‌نماید که این فاکتور به‌عنوان فرودست *Runx2* عمل می‌کند. این مشاهدات این نتیجه را حاصل نمود که *Osterix* به‌منظور هدایت فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سمت رده استخوانی مورد نیاز بوده و از این رو، جهت تشکیل استخوان ضروری می‌باشند.^{۳۳} به‌علاوه، فعال‌سازی چرخه سیگنال‌دهنده Wnt در سلول‌های بنیادی مزانشیمی، باعث تحریک بیان *Osterix* و مهار *PPAR- γ* می‌گردد.^{۳۴}

فاکتور دیگری که نقش حیاتی را در تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی بازی می‌کند، بتا-کاتنین (β -catenin) می‌باشد.^{۳۵} عدم حضور این فاکتور، امکان مسدود شدن فرآیند تمایز به استخوان را فراهم نموده و شرایط تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی را به رده غضروفی مهیا می‌سازد.^{۳۵} طی مطالعات انجام‌شده مشخص گردید که *TNF- α* در تحریک فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بند ناف از طریق چرخه سیگنال‌دهنده NF-Kb به سمت تولید استخوان نقش دارد.^{۳۶} فاکتور نسخه‌برداری *FoxC2*، تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی را به رده استخوانی تحریک می‌نماید و چرخه

سلول‌های بنیادی مزانشیمی به استخوان محسوب شده و همچنین دارای اثر مهارکنندگی بر روی فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به غضروف می‌باشد.^{۵۵} Kondo و همکاران نشان دادند که STAT3، نقش کلیدی را در فرآیند تعهد سلول‌های بنیادی مزانشیمی جهت تمایز به رده غضروفی از طریق فعال‌سازی چرخه STAT3 توسط سایتوکین IL-6، بازی می‌کند.^{۵۶} یافته‌های حاصل از مطالعه Liu و همکارانش، نشان داد که بیش بیان نمودن *Wnt11* باعث تحریک بیان تنظیم‌کننده‌های ژنی مرتبط با غضروف‌سازی می‌شود.^{۵۷} افزون بر این، بیش بیان نمودن *Wnt11* در هم‌افزایی با TGF- β باعث تحریک پیشرفت فرآیند غضروف‌سازی سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌گردد.^{۵۸}

تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به چربی توسط قرار گرفتن این سلول‌ها در محیط حاوی DMEM به‌همراه ۳-ایزوبوتیل-۱-متیل زانتین، انسولین، ایندومتاسین، تری‌یدوتیرونین، آسکوربیک ۲-فسفات، FGF پایه و گلوکوکورتیکوئید دگزامتازون تحریک می‌شود.^{۵۹، ۶۱} فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سلول چربی، به تجمع چربی در واکوئل‌های درون سلولی منجر می‌گردد.^{۵۹} *PPAR γ* ، یکی از فاکتورهای نسخه‌برداری است که بیان ژن‌های مسئول در فرآیند تمایز به چربی را تنظیم می‌نماید.^{۶۱، ۶۲} براساس نتایج حاصل از مطالعات، فاکتور *PPAR γ* در طول فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده چربی، بیش بیان شده و مهار این فاکتور باعث سرکوب فرآیند تمایز این سلول‌ها به رده چربی می‌گردد.^{۶۰-۶۲} ایزوفرماهای *PPAR γ 1* و *PPAR γ 2* توسط Yu و همکارانش گزارش شدند و طی این گزارش، همچنین به نقش حیاتی این فاکتورهای رشد در تحریک فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده چربی نیز اشاره شد.^{۶۴}

گزارش شده است که *TAZ* می‌تواند به‌عنوان کمک مهارکننده *PPAR γ* عمل نماید، بنابراین شرایط را جهت مسدود شدن فرآیند تمایز به چربی مساعد می‌نماید.^{۶۶} همچنین، یک مطالعه اخیر نشان داد که برهم‌کنش فاکتور دو افزایشنده سلول عضلانی با مهارکننده نسخه‌برداری، از طریق تعامل با *PPAR γ 2* و مهار فعالیت این فاکتور نسخه‌برداری، نقش مهمی را در سرکوب فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده چربی بازی می‌کند.^{۶۷} یافته‌های حاصل از نتایج یک مطالعه نشان داد که *EBF-1* و *PPAR γ 2* باعث تحریک

و پروتیین اتصال غضروف که به‌عنوان نشانگرهایی جهت شناسایی سلول‌های غضروفی محسوب می‌گردند، بازی می‌کنند.^{۴۷-۴۹} با این حال، تعداد کمی از عوامل ژنتیکی که غضروف‌سازی را در سلول‌های بنیادی مزانشیمی تنظیم می‌نمایند، مشخص شده‌اند.^{۴۴} فاکتور نسخه‌برداری عمده‌ای که نقش کلیدی را در تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده غضروفی بر عهده دارد، *SRY-related high mobility group-box gene 9* نام دارد.^{۴۴} *Sox9*، با اتصال به راه‌انداز ژن کلاژن نوع ۹ و تشکیل کمپلکس‌های فعال‌کننده ترانس با دیگر پروتیین‌ها، باعث کنترل بیان کلاژن نوع ۹ می‌شود.^{۴۳، ۴۸} بیش تنظیم نمودن miR-574-3p باعث مهار *Sox9* و در نتیجه مهار فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده غضروفی می‌شود.^{۴۹} افزون بر این، ترکیبی از ژن‌های *Sox5*، *Sox6* و *Sox9* به سلول‌های بنیادی مزانشیمی انتقال داده شد.^{۵۰} این انتقال به افزایش چشمگیر و معناداری در تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده استخوانی منجر گردید.^{۵۰} طی یک مطالعه پژوهشی، کاهش در بیان *Hoxa2* در طول فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به غضروف مشخص گردید و بیش بیان نمودن اجباری *Hoxa2* منجر به مهار فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به غضروف شد.^{۴۷}

همچنین گزارش شد که فاکتورهای *HOXD9*، *HOXD10*، *HOXD11* و *HOXD13* باعث مهار شدن فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به غضروف می‌شوند.^{۴۷} پروتیین انگشت روی ۱۴۵ (*Zinc-finger protein 145*)، یک فاکتور نسخه‌برداری است که براساس گزارشات حاصل از مطالعات، در فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به کندروسیت‌ها نقش دارد.^{۵۱} به همین دلیل، Liu و همکارانش، به بررسی نقش *ZNF145* در فرآیند غضروف‌سازی سلول‌های بنیادی مزانشیمی پرداختند.^{۵۲} آن‌ها دریافتند که مهار *ZNF145* باعث کاهش فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده غضروفی می‌گردد، در حالی که بیش بیان نمودن *ZNF145* باعث افزایش بیان *Sox9* و غضروف‌سازی می‌شود.^{۵۲} نقش *Smad* نیز به‌عنوان تنظیم‌کننده فرآیند غضروف‌سازی سلول‌های بنیادی مزانشیمی به خوبی شناخته شده است.^{۵۳} Furumatsu و همکاران نشان دادند که *Smad3* به فاکتور نسخه‌برداری *Sox9* اتصال یافته و باعث اختلال در فرآیند تمایز این سلول‌ها به رده غضروفی می‌شود.^{۵۴} *YAP* که در این مقاله به آن اشاره شد، به‌عنوان یک تنظیم‌کننده فرآیند تمایز

Myf-5 تعیین می‌کنند که از فرآیند متعهد شدن سلول‌های بنیادی مزانشیمی چه نوع سلول عضلانی ایجاد شود.^{۷۵} چندین فاکتور نسخه‌برداری از جمله *Pax3*, *Pax7*, *Myf-5* و *MyoD* به جهت داشتن نقش‌های تنظیمی کلیدی در تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده عضلانی در مطالعات مختلف گزارش شده‌اند. همچنین، چند فاکتور نسخه‌برداری دیگر شامل *Myogenin*, *TAZ* و *TGF-II* به دلیل داشتن نقش‌های عملکردی در تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سلول‌های عضله اسکلتی معرفی شده‌اند. با این حال، اثرات مهارتی *TNF-α* بر روی تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی از طریق فعال‌سازی چرخه سیگنال‌دهنده NF-Kb مشخص گردیده است. همچنین، اثرات مهارکنندگی *Smad3* نیز بر روی فرآیند تمایز این سلول‌ها به رده عضلانی مشاهده شده است.^{۴۲-۴۶}

در حضور میوسیت‌ها (سلول‌های عضلانی)، سلول‌های بنیادی مزانشیمی، قابلیت تمایز به سلول‌های عضلانی قلب را با سطح بیان بالاتر فاکتور *GATA4* نسبت به سلول‌های تمایز نیافته سلول‌های بنیادی مزانشیمی دارا می‌باشند.^{۷۹,۷۸} افزون بر این، بیش بیان نمودن *NKX 2.5* و *GATA4* باعث تهییج فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده سلولی عضله قلب می‌شود و *NKX 2.5* و *GATA4* به‌منظور انجام تمایز به رده عضله قلب مورد نیاز می‌باشند.^{۸۱,۸۰} *NKX 2.5* و *GATA4*، دو فاکتور نسخه‌برداری هستند که به‌صورت گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته و نقش تنظیمی عمده آن‌ها در فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده سلولی عضله قلب شناخته شده است. فاکتورهای نسخه‌برداری دیگری نیز همچون میوکاردین، *Trx1*، *Wnt11* و *Notch1* وجود دارند که مطالعات زیادی بر روی آن‌ها صورت پذیرفته و نقش عملکردی آن‌ها در فرآیندهای تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سلول‌های عضله قلب بارها گزارش شده است.^{۴۶-۴۲}

در بین انواع سلول‌ها، سلول‌های بنیادی مزانشیمی به‌عنوان یک کاندید قدرتمند در زمینه طب ترمیمی و همچنین مطالعه تمایز سلولی محسوب می‌گردند.^{۸۲} به دلیل اینکه این سلول‌ها قابلیت جداسازی از بافت‌های مختلف را دارند، به‌عنوان یک منبع سلولی جذاب و قابل توجه برای پیوند به‌شمار می‌آیند.^{۱-۵} افزون بر این، توانایی تمایز این سلول‌ها به رده‌های مختلف سلولی از جمله رده سلولی چربی، غضروف، استخوان، عضله صاف، سلول‌های اندوتلیال و عضله قلب

فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده چربی می‌شوند.^{۶۸} مهار فاکتور نسخه‌برداری *GATA-2* پدیده دیگری است که باعث افزایش در فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده چربی می‌گردد، در حالی که فعال‌سازی این فاکتور رشد، باعث مهار فرآیند تمایز به چربی می‌شود.^{۶۹} به‌طور مشابه، از بین بردن (Knock down) فاکتور نسخه‌برداری سر چنگالی (*Foxal*) باعث افزایش در فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده غضروفی شده و بیان فاکتورهای رشد *PPARγ* و *C/EBPα* را که به‌عنوان فاکتورهای نسخه‌برداری کلیدی در چربی‌سازی محسوب می‌گردند، افزایش می‌دهد.^{۷۰} این یافته‌ها، نشان می‌دهد که *GATA-2* و *Foxal* یک نقش مهمی را در فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به آدیپوسیت بازی می‌کنند.^{۷۰,۶۹}

Jiang و همکاران نشان دادند که فاکتورهای Kruppel-like factor (KLFs)، به‌عنوان یک تنظیم‌کننده اصلی، فرآیند تمایز به رده سلولی چربی سلول‌های خوک را تنظیم می‌نمایند.^{۷۱} همچنین این فاکتور، یک فاکتور نسخه‌برداری پیش چربی‌ساز بوده و اثر خود را از طریق فعال‌سازی بیان ژن *PPARγ* به‌صورت ترانس انجام می‌دهند.^{۷۱} این مطلب گزارش شده است که فاکتور نسخه‌برداری *Twist-1* یک نقش تنظیم‌کنندگی را در فرآیند تمایز به چربی بازی می‌کند.^{۷۲} همچنین، یافته‌های مطالعات حاکی از آن است که بیش بیان نمودن اجباری *Twist-1* و *Dermo-1* در محیط کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی، با افزایش در بیان ژن نشانگرهای مرتبط با آدیپوسیت ارتباط دارد.^{۷۲} در طول فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده چربی مشاهده شد که بیان miR-194 کاهش یافته و هم‌زمان با آن، بیان *COUP-TFII* افزایش می‌یابد که این مشاهدات باعث این پیشنهاد گردید که *COUP-TFII*، یک نقش کلیدی را در این فرآیند دارد.^{۷۳} بیش بیان نمودن این دو فاکتور نسخه‌برداری *Sox2* و *Oct4*، قابلیت تمایز به چربی بالاتری نسبت به کنترل نشان داد.^{۷۴}

تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده عضلانی همراه با فعال شدن برخی از فاکتورهای نسخه‌برداری ویژه عضلات از جمله جعبه جفتی ۳ (*Paired box3*)، *MyoD*، *Myf-5* و میوژنین (*Myogenin*) صورت می‌پذیرد.^{۷۵-۷۷} جالب توجه است که بیان فاکتورهای نسخه‌برداری *MyoD* و *Myf-5* درون هر سلول بنیادی مزانشیمی متعهد شده رخ نمی‌دهد. بنابراین، فاکتورهای نسخه‌برداری *MyoD* و

شامل *Runx2* و *PPAR γ* تنظیم می‌گردد و تحریک تمایز به یک رده، باعث مسدود شدن مسیر تعهد سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده دیگر می‌گردد، به عبارتی دیگر، در صورتی که سلول‌ها به یک رده سلولی تمایز پیدا کنند، توانایی آن‌ها در تمایز همزمان به رده دیگر مسدود می‌گردد.^{۸۶} فرآیند تعهد سلول‌های بنیادی مزانشیمی جهت تمایز به یکی از دو رده چربی یا استخوان از طریق چرخه‌های سیگنال‌دهنده مختلف شامل *Wnt*, *Hedgehog*, *NELL-1*, *BMP* و *IGF* تنظیم می‌گردد.^{۸۶} در نهایت، اعضای خانواده فاکتور نسخه‌برداری مارپیچ-حلقه-مارپیچ، مجموعه‌های دایمری نامشابه دارای پروتئین‌های E را تشکیل داده و تمایز به رده عضلانی را تهییج می‌نمایند.^{۸۲} فعالیت این فاکتورهای نسخه‌برداری به تعامل با پروتئین‌های MEF بستگی دارد.^{۸۲} فاکتورهای نسخه‌برداری دیگر به ترتیب شامل *GATA6*, *MyoD*, *GATA4*، به‌عنوان یک محرک برای سلول‌های عضلانی صاف، عضلانی اسکلتی و عضلانی قلب عمل می‌نمایند (شکل ۱).

تعدادی از مطالعاتی وجود دارد که به بحث و ارزیابی فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به فیبروبلاست پرداخته و نقش فاکتورهای رشد را در این فرآیند مورد بررسی قرار می‌دهند. در واقع، سلول‌های بنیادی مزانشیمی قادر به تمایز به سلول‌های شبه فیبروبلاستی در محیط شرطی حاوی ۱۰۰ ng/ml از فاکتور رشد بافت همبند (Connective tissue growth factor) و ۵۰ mg/ml اسید آسکوربیک (ویتامین C) در شرایط مناسب برون‌تی می‌باشند.^{۸۸،۸۷} همچنین ثابت شده است که فاکتور رشد *CTGF*، جهت تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سلول‌های فیبروبلاستی کافی و لازم بوده و سلول‌های تمایز یافته، توانایی تمایز به دیگر رده‌های سلولی را ندارند.^{۸۹} فاکتور رشد *CTGF*، بیان نشانگرهای *CD44* و *STRO-1* را در سلول‌های بنیادی مزانشیمی کاهش داده و بیان نشانگرهای ویژه فیبروبلاستی همچون پروتئین ویژه فیبروبلاست-۱ (Fibroblast-specific protein-1) را افزایش می‌دهد.^{۸۸} سلول‌های بنیادی مزانشیمی تیمار شده، افزایش قابل توجهی را در بیان کلاژن نوع I و *Tenascin C* نشان دادند.^{۹۰} سلول‌های شبه فیبروبلاستی که از سلول‌های بنیادی مزانشیمی تمایز می‌یابند، قادر به تولید پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی هستند.^{۸۶} اگرچه تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به فیبروبلاست دارای پیامدهای بسیاری در زمینه مهندسی بافت به‌ویژه

و همچنین رده‌های عصبی و کبدی، آن‌ها را بیش از پیش جهت استفاده درمانی و پژوهشی قابل توجه ساخته است.^{۸۵-۸۳} هر کدام از این سلول‌ها با بیان یک سری مشخص از پروتئین‌ها در ارتباط هستند.^{۸۲} با این حال، چالش‌های متعددی جهت درک کامل مکانیسم‌های دخیل در فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده‌های مختلف سلولی وجود دارد.^{۸۲} این چالش‌ها، شامل شناسایی فاکتورهای سیگنال‌دهنده و فاکتورهای نسخه‌برداری و همچنین تداخل و ارتباطات تنگاتنگ بین مسیرهای سیگنال‌دهنده می‌باشد که در تهییج فرآیند خودنوزایی و تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده‌های مختلف سلولی نقش دارند.^{۸۲} پتانسیل سلول‌های بنیادی مزانشیمی در تمایز به رده‌های خاص مزانشیمی متکی بر مکانیسم‌های بیش تنظیمی یا مهار ژن‌های مختص رده‌ها می‌باشد.^{۸۲} در طول فرآیند تمایز، بیش تنظیمی یا مهار فاکتورهای نسخه‌برداری از طریق چرخه‌های سیگنال‌دهنده یا تعامل و برهم‌کنش این عوامل نسخه‌برداری با عوامل نسخه‌برداری دیگر که به‌عنوان کمک تنظیم‌کننده عمل می‌نمایند، رخ می‌دهد.^{۸۲}

تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به هر یک از این رده‌های سلولی توسط فاکتورهای رشد ویژه مرتبط با یک رده سلولی کلیدی تهییج می‌گردد.^{۸۲} در مورد فرآیند تمایز به استخوان، *Runx2* یک فاکتور نسخه‌برداری کلیدی محسوب می‌گردد که تمایز به استئوبلاست‌ها را افزایش داده و از تمایز سلول‌ها به رده غضروفی و چربی ممانعت به عمل می‌آورد.^{۸۲} بیان *Runx2* توسط چندین چرخه سیگنال‌دهنده از جمله چرخه *Wnt*, *BMP* و *Notch* تنظیم می‌گردد.^{۸۲} فرآیند تمایز به غضروف توسط فاکتور نسخه‌برداری *Sox9* کنترل می‌شود.^{۸۲} با این حال، *NKX 3.2* جهت بیان *Sox9* و مهار فرآیند تمایز به استخوان مورد نیاز می‌باشد.^{۸۲}

همچنین، *Sox9* می‌تواند تعامل فیزیکی ایجاد نموده و باعث مهار *Runx2* گردد.^{۲۴} این تعامل، تعیین‌کننده وضعیت تعهد سلول‌های بنیادی مزانشیمی و سرنوشت آن‌ها جهت تمایز به رده غضروفی یا استخوانی می‌باشد.^{۸۲} فرآیند تمایز به چربی، به‌طور عمده توسط فاکتور نسخه‌برداری *PPAR γ* کنترل می‌گردد که این فاکتور تهییج بیان نشانگرهای ویژه رده چربی را با همکاری فاکتورهای نسخه‌برداری دیگر انجام می‌دهد.^{۸۲} تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده‌های چربی یا استخوان توسط تعامل فاکتورهای نسخه‌برداری مختلف

یک فاکتور نسخه‌برداری تنها در سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌تواند باعث تحریک فرآیند تمایزی به چندین رده سلولی گردد که امکان درمان بسیاری از بیماری‌ها را فراهم می‌سازد.^{۸۷}

مطالعات بیشتری به‌منظور جلوگیری از هرگونه فعال‌سازی ذاتی تمایل این سلول‌ها در جهت تمایز ناخواسته به بافت‌های مزانشیمی دیگر مورد نیاز می‌باشد. شناسایی فاکتورهای نسخه‌برداری ویژه، گیرنده‌ها و مولکول‌های سیگنال‌دهنده در طول فرآیند تمایز، در درک ارتباط بین شبکه‌های سیگنال‌دهنده داخل و خارج سلولی مهم و پراهمیت می‌باشد.^{۸۸} مطالعات اضافی به‌منظور درک عمیق مکانیسم‌های تمایزی سلول‌های بنیادی مزانشیمی که توسط فاکتورهای رشد در مراحل مشخص در طول پیشرفت یک چرخه تمایزی صورت می‌پذیرد، ضروری است. از آنجا که عوامل نسخه‌برداری به‌صورت طبیعی به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اصلی فرآیندهای سلولی عمل می‌نمایند، انتظار می‌رود که آن‌ها به‌عنوان کاندیدهای عمده و اصلی جهت کنترل فرآیند تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به رده‌های مختلف سلولی به‌شمار آیند و فناوری‌های مبتنی بر فاکتورهای نسخه‌برداری به احتمال زیاد به یکی از بخش‌های برجسته در نسل بعدی درمان یعنی درمان مبتنی بر سلول‌های بنیادی مزانشیمی تبدیل شوند.^{۸۹}

در مورد بازسازی تاندون و لیگامنت‌ها می‌باشد،^{۸۹} اما مطالعات محدودی جهت بررسی بیشتر، هنوز هم مورد نیاز می‌باشد. مطالعات اضافی جهت شناسایی فاکتورهای سیگنال‌دهنده، فاکتورهای نسخه‌برداری اصلی و چرخه‌های سیگنال‌دهنده که واسطه تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به فیروبلاست‌ها می‌باشند مورد نیاز می‌باشد. چندین روش در حال آزمایش (کارآزمایی) بوده و جهت انتقال ژن فاکتورهای نسخه‌برداری به سلول‌های بنیادی مزانشیمی جهت به‌کار بردن آن‌ها در زمینه درمان بازساختی در حال استفاده هستند. روش‌های انتقال ژن به‌واسطه باکتری (Transfection)، کارایی پایینی را در انتقال DNA پلاسمید (تحویل DNA پلاسمید - DNA پلاسمید رسانی) به سلول‌های بنیادی مزانشیمی و همین‌طور میزان مرگ‌ومیر بالایی را نشان دادند.^{۸۹}

در طرف مقابل، روش‌های انتقال ویروسی، توانایی انتقال DNA پلاسمید (تحویل DNA پلاسمید) را با کارایی بالا و سمیت پایین‌تری نشان دادند.^{۸۹} با این حال، نگرانی‌های ایمنی مرتبط با انتقال ویروسی، یک موضوع بحث‌برانگیز می‌باشد. تا به امروز، مطالعات زیادی نشان دادند که میزان تحویل (انتقال) فاکتورهای نسخه‌برداری به سلول‌های بنیادی مزانشیمی، افزایش یافته و باعث حفظ پتانسیل این سلول‌ها جهت تمایز به رده سلولی مورد نظر می‌گردد.^{۸۹} بنابراین، بیان اجباری

References

- Chen SL, Fang WW, Ye F, Liu YH, Qian J, Shan SJ, et al. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2004;94(1):92-5.
- Fouillard L, Chapel A, Bories D, Bouchet S, Costa JM, Rouard H, et al. Infusion of allogeneic-related HLA mismatched mesenchymal stem cells for the treatment of incomplete engraftment following autologous haematopoietic stem cell transplantation. *Leukemia* 2007;21(3):568-70.
- Le Blanc K, Ringdén O. Immunobiology of human mesenchymal stem cells and future use in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005;11(5):321-34.
- Ripa RS, Haack-Sørensen M, Wang Y, Jørgensen E, Mortensen S, Bindslev L, et al. Bone marrow derived mesenchymal cell mobilization by granulocyte-colony stimulating factor after acute myocardial infarction: results from the Stem Cells in Myocardial Infarction (STEMMI) trial. *Circulation* 2007;116(11 Suppl):I24-30.
- Sekiya I, Larson BL, Smith JR, Pochampally R, Cui JG, Prockop DJ. Expansion of human adult stem cells from bone marrow stroma: conditions that maximize the yields of early progenitors and evaluate their quality. *Stem Cells* 2002;20(6):530-41.
- De Coppi P, Bartsch G Jr, Siddiqui MM, Xu T, Santos CC, Perin L, et al. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nat Biotechnol* 2007;25(1):100-6.
- Guan K, Nayernia K, Maier LS, Wagner S, Dressel R, Lee JH, et al. Pluripotency of spermatogonial stem cells from adult mouse testis. *Nature* 2006;440(7088):1199-203.
- in 't Anker PS, Noort WA, Scherjon SA, Kleijburg-van der Keur C, Kruisselbrink AB, van Bezooijen RL, et al. Mesenchymal stem cells in human second-trimester bone marrow, liver, lung, and spleen exhibit a similar immunophenotype but a heterogeneous multilineage differentiation potential. *Haematologica* 2003;88(8):845-52.
- Kruse C, Kajahn J, Petschnik AE, Maass A, Klink E, Rapoport DH, et al. Adult pancreatic stem/progenitor cells spontaneously differentiate in vitro into multiple cell lineages and form teratoma-like structures. *Ann Anat* 2006;188(6):503-17.
- Meng X, Ichim TE, Zhong J, Rogers A, Yin Z, Jackson J, et al. Endometrial regenerative cells: a novel stem cell population. *J Transl Med* 2007;5:57.
- Pierdomenico L, Bonsi L, Calvitti M, Rondelli D, Arpinati M, Chirumbolo G, et al. Multipotent mesenchymal stem cells with immunosuppressive activity can be easily isolated from dental pulp. *Transplantation* 2005;80(6):836-42.
- Ringe J, Leinhase I, Stich S, Loch A, Neumann K, Haisch A, et al. Human mastoid periosteum-derived stem cells: promising candidates for skeletal tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med* 2008;2(2-3):136-46.

13. Sabatini F, Petecchia L, Tavian M, Jodon de Villeroché V, Rossi GA, Brouty-Boyé D. Human bronchial fibroblasts exhibit a mesenchymal stem cell phenotype and multilineage differentiating potentialities. *Lab Invest* 2005;85(8):962-71.
14. Sellheyer K, Krahl D. Cutaneous mesenchymal stem cells: status of current knowledge, implications for dermatopathology. *J Cutan Pathol* 2010;37(6):624-34.
15. Ghiasi M, Tabatabaei Qomi R, Nikbakht M, Sheykhhasan M. Expression of collagen type I and II, aggrecan and SOX9 genes in mesenchymal stem cells on different bioscaffolds. *Tehran Univ Med J* 2015;73(3):158-67.
16. Sheykhhasan M, Qomi RT, Kalhor N, Mehdizadeh M, Ghiasi M. Evaluation of the ability of natural and synthetic scaffolds in providing an appropriate environment for growth and chondrogenic differentiation of adipose-derived mesenchymal stem cells. *Indian J Orthop* 2015;49(5):561-8.
17. Ghiasi M, Kalhor N, Tabatabaei Qomi R, Sheykhhasan M. The effects of synthetic and natural scaffolds on viability and proliferation of adipose-derived stem cells. *Front Life Sci* 2016;9(1):1-12.
18. Sheykhhasan M, Qomi RT, Ghiasi M. Fibrin scaffolds designing in order to human adipose-derived mesenchymal stem cells differentiation to chondrocytes in the presence of TGF- β 3. *Int J Stem Cells* 2015;8(2):219-27.
19. Haynesworth SE, Baber MA, Caplan AI. Cell surface antigens on human marrow-derived mesenchymal cells are detected by monoclonal antibodies. *Bone* 1992;13(1):69-80.
20. Lodie TA, Blickarz CE, Devarakonda TJ, He C, Dash AB, Clarke J, et al. Systematic analysis of reportedly distinct populations of multipotent bone marrow-derived stem cells reveals a lack of distinction. *Tissue Eng* 2002;8(5):739-51.
21. Suva D, Garavaglia G, Menetrey J, Chapuis B, Hoffmeyer P, Bernheim L, et al. Non-hematopoietic human bone marrow contains long-lasting, pluripotential mesenchymal stem cells. *J Cell Physiol* 2004;198(1):110-8.
22. Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Gerasimov UV. Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation in diffusion chambers. *Cell Tissue Kinet* 1987;20(3):263-72.
23. Okamoto T, Aoyama T, Nakayama T, Nakamata T, Hosaka T, Nishijo K, et al. Clonal heterogeneity in differentiation potential of immortalized human mesenchymal stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;295(2):354-61.
24. Augello A, De Bari C. The regulation of differentiation in mesenchymal stem cells. *Hum Gene Ther* 2010;21(10):1226-38.
25. Komori T. Regulation of osteoblast differentiation by transcription factors. *J Cell Biochem* 2006;99(5):1233-9.
26. Zhao Z, Zhao M, Xiao G, Franceschi RT. Gene transfer of the RUNX2 transcription factor enhances osteogenic activity of bone marrow stromal cells in vitro and in vivo. *Mol Ther* 2005;12(2):247-53.
27. Seifert A, Werheid DF, Knapp SM, Tobiasch E. Role of Hox genes in stem cell differentiation. *World J Stem Cells* 2015;7(3):583-95.
28. Fujii M, Takeda K, Imamura T, Aoki H, Sampath TK, Enomoto S, et al. Roles of bone morphogenetic protein type I receptors and Smad proteins in osteoblast and chondroblast differentiation. *Mol Biol Cell* 1999;10(11):3801-13.
29. Bandyopadhyay A, Tsuji K, Cox K, Harfe BD, Rosen V, Tabin CJ. Genetic analysis of the roles of BMP2, BMP4, and BMP7 in limb patterning and skeletogenesis. *PLoS Genet* 2006;2(12):e216.
30. Xu DJ, Zhao YZ, Wang J, He JW, Weng YG, Luo JY. Smads, p38 and ERK1/2 are involved in BMP9-induced osteogenic differentiation of C3H10T1/2 mesenchymal stem cells. *BMB Rep* 2012;45(4):247-52.
31. Javed A, Bae JS, Afzal F, Gutierrez S, Pratap J, Zaidi SK, et al. Structural coupling of Smad and RUNX2 for execution of the BMP2 osteogenic signal. *J Biol Chem* 2008;283(13):8412-22.
32. Yang DC, Yang MH, Tsai CC, Huang TF, Chen YH, Hung SC. Hypoxia inhibits osteogenesis in human mesenchymal stem cells through direct regulation of RUNX2 by TWIST. *PLoS One* 2011;6(9):e23965.
33. Nakashima K, Zhou X, Kunkel G, Zhang Z, Deng JM, Behringer RR, et al. The novel zinc finger-containing transcription factor Osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation. *Cell* 2002;108(1):17-29.
34. Kang S, Bennett CN, Gerin I, Rapp LA, Hankenson KD, Macdougald OA. Wnt signaling stimulates osteoblastogenesis of mesenchymal precursors by suppressing CCAAT/enhancer-binding protein alpha and peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *J Biol Chem* 2007;282(19):14515-24.
35. Day TF, Guo X, Garrett-Beal L, Yang Y. Wnt/beta-catenin signaling in mesenchymal progenitors controls osteoblast and chondrocyte differentiation during vertebrate skeletogenesis. *Dev Cell* 2005;8(5):739-50.
36. Marupanthorn K, Tantrawatpan C, Tantikanlayaporn D, Kheolamai P, Manochantr S. The effects of TNF- α on osteogenic differentiation of umbilical cord derived mesenchymal stem cells. *J Med Assoc Thai* 2015;98 Suppl 3:S34-40.
37. Kim SH, Cho KW, Choi HS, Park SJ, Rhee Y, Jung HS, et al. The forkhead transcription factor Foxe2 stimulates osteoblast differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;386(3):532-6.
38. Choi CK, Xu YJ, Wang B, Zhu M, Zhang L, Bian L. Substrate coupling strength of integrin-binding ligands modulates adhesion, spreading, and differentiation of human mesenchymal stem cells. *Nano Lett* 2015;15(10):6592-600.
39. Yuan Z, Li Q, Luo S, Liu Z, Luo D, Zhang B, et al. PPAR γ and Wnt signaling in adipogenic and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Curr Stem Cell Res Ther* 2016;11(3):216-25.
40. Mahl C, Egea V, Megens RT, Pitsch T, Santovito D, Weber C, et al. RECK (reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs) regulates migration, differentiation and Wnt/ β -catenin signaling in human mesenchymal stem cells. *Cell Mol Life Sci* 2016;73(7):1489-501.
41. Bian H, Lin JZ, Li C, Farmer SR. Myocardin-related transcription factor A (MRTFA) regulates the fate of bone marrow mesenchymal stem cells and its absence in mice leads to osteopenia. *Mol Metab* 2016;5(10):970-9.
42. Sottile V, Halleux C, Bassilana F, Keller H, Seuwen K. Stem cell characteristics of human trabecular bone-derived cells. *Bone* 2002;30(5):699-704.
43. Bridgewater LC, Lefebvre V, de Crombrughe B. Chondrocyte-specific enhancer elements in the Col11a2 gene resemble the Col2a1 tissue-specific enhancer. *J Biol Chem* 1998;273(24):14998-5006.
44. Kou I, Ikegawa S. SOX9-dependent and -independent transcriptional regulation of human cartilage link protein. *J Biol Chem* 2004;279(49):50942-8.
45. Lefebvre V, Huang W, Harley VR, Goodfellow PN, De crombrughe B. SOX9 is a potent activator of the chondrocyte-specific enhancer of the pro alpha1(II) collagen gene. *Mol Cell Biol* 1997;17(4):2336-46.
46. Sekiya I, Tsuji K, Koopman P, Watanabe H, Yamada Y, Shinomiya K, et al. SOX9 enhances aggrecan gene promoter/enhancer activity and is up-regulated by retinoic acid in a cartilage-derived cell line, TC6. *J Biol Chem* 2000;275(15):10738-44.
47. Zhang P, Jimenez SA, Stokes DG. Regulation of human COL9A1 gene expression. Activation of the proximal promoter region by SOX9. *J Biol Chem* 2003;278(1):117-23.
48. Wang ZH, Li XL, He XJ, Wu BJ, Xu M, Chang HM, et al. Delivery of the SOX9 gene promotes chondrogenic differentiation of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in an in vitro model. *Braz J Med Biol Res* 2014;47(4):279-86.
49. Guérit D, Philipot D, Chuchana P, Toupet K, Brondello JM, Mathieu M, et al. SOX9-regulated miRNA-574-3p inhibits

- chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *PLoS One* 2013;8(4):e62582.
50. Park JS, Yang HN, Woo DG, Jeon SY, Do HJ, Lim HY, et al. Chondrogenesis of human mesenchymal stem cells mediated by the combination of SOX trio SOX5, 6, and 9 genes complexed with PEI-modified PLGA nanoparticles. *Biomaterials* 2011;32(14):3679-88.
 51. Liu TM, Martina M, Huttmacher DW, Hui JH, Lee EH, Lim B. Identification of common pathways mediating differentiation of bone marrow- and adipose tissue-derived human mesenchymal stem cells into three mesenchymal lineages. *Stem Cells* 2007;25(3):750-60.
 52. Liu TM, Guo XM, Tan HS, Hui JH, Lim B, Lee EH. Zinc-finger protein 145, acting as an upstream regulator of SOX9, improves the differentiation potential of human mesenchymal stem cells for cartilage regeneration and repair. *Arthritis Rheum* 2011;63(9):2711-20.
 53. Zhang T, Wen F, Wu Y, Goh GS, Ge Z, Tan LP, et al. Cross-talk between TGF-beta/SMAD and integrin signaling pathways in regulating hypertrophy of mesenchymal stem cell chondrogenesis under deferral dynamic compression. *Biomaterials* 2015;38:72-85.
 54. Furumatsu T, Tsuda M, Yoshida K, Taniguchi N, Ito T, Hashimoto M, et al. SOX9 and p300 cooperatively regulate chromatin-mediated transcription. *J Biol Chem* 2005;280(42):35203-8.
 55. Karystinou A, Roelofs AJ, Neve A, Cantatore FP, Wackerhage H, De bari C. Yes-associated protein (YAP) is a negative regulator of chondrogenesis in mesenchymal stem cells. *Arthritis Res Ther* 2015;17:147.
 56. Kondo M, Yamaoka K, Sakata K, Sonomoto K, Lin L, Nakano K, et al. Contribution of the Interleukin-6/STAT-3 Signaling Pathway to Chondrogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells. *Arthritis Rheumatol* 2015;67(5):1250-60.
 57. Liu S, Zhang E, Yang M, Lu L. Overexpression of Wnt1 promotes chondrogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in synergism with TGF- β . *Mol Cell Biochem* 2014;390(1-2):123-31.
 58. Zhang HH, Huang J, Düvel K, Boback B, Wu S, Squillace RM, et al. Insulin stimulates adipogenesis through the Akt-TSC2-mTORC1 pathway. *PLoS One* 2009;4(7):e6189.
 59. Prawitt J, Niemeier A, Kassem M, Beisiegel U, Heeren J. Characterization of lipid metabolism in insulin-sensitive adipocytes differentiated from immortalized human mesenchymal stem cells. *Exp Cell Res* 2008;314(4):814-24.
 60. Nuttall ME, Gimble JM. Controlling the balance between osteoblastogenesis and adipogenesis and the consequent therapeutic implications. *Curr Opin Pharmacol* 2004;4(3):290-4.
 61. Zhuang H, Zhang X, Zhu C, Tang X, Yu F, Shang GW, et al. Molecular mechanisms of PPAR- γ governing MSC osteogenic and adipogenic differentiation. *Curr Stem Cell Res Ther* 2016;11(3):255-64.
 62. Bionaz M, Monaco E, Wheeler MB. Transcription adaptation during in vitro adipogenesis and osteogenesis of porcine mesenchymal stem cells: dynamics of pathways, biological processes, up-stream regulators, and gene networks. *PLoS One* 2015;10(9):e0137644.
 63. Morganstein DL, Wu P, Mane MR, Fisk NM, White R, Parker MG. Human fetal mesenchymal stem cells differentiate into brown and white adipocytes: a role for ERRalpha in human UCP1 expression. *Cell Res* 2010;20(4):434-44.
 64. Yu WHI, Li FG, Chen XY, Li JT, Wu YH, Huang LH, et al. PPAR γ suppression inhibits adipogenesis but does not promote osteogenesis of human mesenchymal stem cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2012;44(2):377-84.
 65. Zou L, Zou X, Chen L, Li H, Mygind T, Kassem M, et al. Multilineage differentiation of porcine bone marrow stromal cells associated with specific gene expression pattern. *J Orthop Res* 2008;26(1):56-64.
 66. Hong JH, Hwang ES, McManus MT, Amsterdam A, Tian Y, Kalmukova R, et al. TAZ, a transcriptional modulator of mesenchymal stem cell differentiation. *Science* 2005;309(5737):1074-8.
 67. Chen YH, Yeh FL, Yeh SP, Ma HT, Hung SC, Hung MC, et al. Myocyte enhancer factor-2 interacting transcriptional repressor (MITR) is a switch that promotes osteogenesis and inhibits adipogenesis of mesenchymal stem cells by inactivating peroxisome proliferator-activated receptor gamma-2. *J Biol Chem* 2011;286(12):10671-80.
 68. Akerblad P, Månsson R, Lagergren A, Westerlund S, Basta B, Lind U, et al. Gene expression analysis suggests that EBF-1 and PPAR-gamma2 induce adipogenesis of NIH-3T3 cells with similar efficiency and kinetics. *Physiol Genomics* 2005;23(2):206-16.
 69. Okitsu Y, Takahashi S, Minegishi N, Kameoka J, Kaku M, Yamamoto M, et al. Regulation of adipocyte differentiation of bone marrow stromal cells by transcription factor GATA-2. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;364(2):383-7.
 70. Fujimori K, Amano F. Forkhead transcription factor Foxal is a novel target gene of C/EBP β and suppresses the early phase of adipogenesis. *Gene* 2011;473(2):150-6.
 71. Jiang S, Wei H, Song T, Yang Y, Zhang F, Zhou Y, et al. KLF13 promotes porcine adipocyte differentiation through PPAR γ activation. *Cell Biosci* 2015;5:28.
 72. Isenmann S, Arthur A, Zannettino AC, Turner JL, Shi S, Glackin CA, et al. TWIST family of basic helix-loop-helix transcription factors mediate human mesenchymal stem cell growth and commitment. *Stem Cells* 2009;27(10):2457-68.
 73. Jeong BC, Kang IH, Hwang YC, Kim SH, Koh JT. MicroRNA-194 reciprocally stimulates osteogenesis and inhibits adipogenesis via regulating COUP-TFII expression. *Cell Death Dis* 2014;5:e1532.
 74. Han SM, Han SH, Coh YR, Jang G, Chan Ra J, Kang SK, et al. Enhanced proliferation and differentiation of Oct4- and Sox2-overexpressing human adipose tissue mesenchymal stem cells. *Exp Mol Med* 2014;46:e101.
 75. Braun T, Arnold HH. Myf-5 and MYOD genes are activated in distinct mesenchymal stem cells and determine different skeletal muscle cell lineages. *EMBO J* 1996;15(2):310-18.
 76. Charytonowicz E, Matushansky I, Castillo-martin M, Hricik T, Cordon-cardo C, Ziman M. Alternate PAX3 and PAX7 C-terminal isoforms in myogenic differentiation and sarcomagenesis. *Clin Transl Oncol* 2011;13(3):194-203.
 77. Gang EJ, Bosnakovski D, Simsek T, To K, Perlingeiro RC. Pax3 activation promotes the differentiation of mesenchymal stem cells toward the myogenic lineage. *Exp Cell Res* 2008;314(8):1721-33.
 78. Hatzistergos KE, Quevedo H, Oskouei BN, Hu Q, Feigenbaum GS, Margitich IS, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells stimulate cardiac stem cell proliferation and differentiation. *Circ Res* 2010;107(7):913-22.
 79. Xu M, Wani M, Dai YS, Wang J, Yan M, Ayub A, et al. Differentiation of bone marrow stromal cells into the cardiac phenotype requires intercellular communication with myocytes. *Circulation* 2004;110(17):2658-65.
 80. Armiñán A, Gandía C, García-Verdugo JM, Lledó E, Mullor JL, Montero JA, et al. Cardiac transcription factors driven lineage-specification of adult stem cells. *J Cardiovasc Transl Res* 2010;3(1):61-5.
 81. Yamada Y, Sakurada K, Takeda Y, Gojo S, Umezawa A. Single-cell-derived mesenchymal stem cells overexpressing Csx/Nkx2.5 and GATA4 undergo the stochastic cardiomyogenic fate and behave like transient amplifying cells. *Exp Cell Res* 2007;313(4):698-706.
 82. Almalki SG, Agrawal DK. Key transcription factors in the differentiation of mesenchymal stem cells. *Differentiation* 2016;92(1-2):41-51.
 83. Pacary E, Legros H, Valable S, Duchatelle P, Lecocq M, Petit E, et al. Synergistic effects of CoCl₂ and ROCK inhibition on mesenchymal stem cell differentiation into neuron-like cells. *J Cell Sci* 2006;119(Pt 13):2667-78.
 84. Taléns-Visconti R, Bonora A, Jover R, Mirabet V, Carbonell F, Castell JV, et al. Hepatogenic differentiation of human mesenchymal stem cells from adipose tissue in comparison with bone marrow mesenchymal stem cells. *World J Gastroenterol* 2006;12(36):5834-45.

85. Yuan H, Liu H, Tian R, Li J, Zhao Z. Regulation of mesenchymal stem cell differentiation and insulin secretion by differential expression of Pdx-1. *Mol Biol Rep* 2012;39(7):7777-83.
86. James AW. Review of signaling pathways governing MSC osteogenic and adipogenic differentiation. *Scientifica (Cairo)* 2013;2013:684736.
87. Hu R, Ling W, Xu W, Han D. Fibroblast-like cells differentiated from adipose-derived mesenchymal stem cells for vocal fold wound healing. *PLoS One* 2014;9(3):e92676.
88. Tong Z, Sant S, Khademhosseini A, Jia X. Controlling the fibroblastic differentiation of mesenchymal stem cells via the combination of fibrous scaffolds and connective tissue growth factor. *Tissue Eng Part A* 2011;17(21-22):2773-85.
89. Lee CH, Shah B, Moioli EK, Mao JJ. CTGF directs fibroblast differentiation from human mesenchymal stem/stromal cells and defines connective tissue healing in a rodent injury model. *J Clin Invest* 2010;120(9):3340-9.
90. Lee CH, Moioli EK, Mao JJ. Fibroblastic differentiation of human mesenchymal stem cells using connective tissue growth factor. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2006;1:775-8.

Key transcription factors involved in the differentiation of mesenchymal stem cells: review article

Mohsen Sheykhasan Ph.D.
Student¹
Mahdieh Ghiasi Ph.D.^{2,3*}

1- Research Center for Molecular Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.

2- Department of Pharmacology, Razi Drug Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3- Avay Mahd Cell Iranian Company, Health Technology Development Center, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.

* Corresponding author: Health Technology Development Center, Qom University of Medical Sciences, Safashahr St., Qom, Iran.
Tel: +98 25 32852740
E-mail: mahdieh.ghiasi@yahoo.com

Abstract

Received: 04 Aug. 2017 Revised: 26 Nov. 2017 Accepted: 08 Dec. 2017 Available online: 09 Dec. 2017

Stem cells are undifferentiated biological cells that can differentiate into more specialized cells and divide (through mitosis) to produce more stem cells (self-renew). In mammals, there are two broad types of stem cells: embryonic stem cells, which are isolated from the inner cell mass of blastocysts, and adult stem cells, which are found in various tissues. Mesenchymal stem cells (MSCs) are multipotent cells that are called as one of the most adult stem cells. Due to their highly proliferative potential and their suitable self-renewal capacity, these cells have provided a powerful and promising source for use in the field of regenerative medicine. Also, mesenchymal stem cells are known for their important properties involving multilineage differentiation potential, trophic factor secretion and localization along various organs and tissues. So that MSCs can differentiate into a variety of cell lineages, including: Osteoblasts (bone cells), chondrocytes (cartilage cells), adipocytes (fat cells), myocytes (muscle cells), hepatocytes (liver cells) and endothelial cells. Efficacy of differentiated MSCs to regenerate cells in the injured tissues requires the ability to maintain the differentiation toward the desired cell fate. Since MSCs represent an attractive source for autologous transplantation, cellular and molecular signaling pathways and micro-environmental changes have been studied in order to understand the role of cytokines, chemokines, and transcription factors on the differentiation of MSCs. The differentiation of MSC into a mesenchymal lineage is genetically manipulated and promoted by specific transcription factors associated with a particular cell lineage. Recent studies have explored the integration of transcription factors, including *Runx2*, *Sox9*, *PPAR γ* , *MyoD*, *GATA4*, and *GATA6* in the differentiation of MSCs. Therefore, the overexpression of a single transcription factor in MSCs may promote trans-differentiation into specific cell lineage, which can be used for treatment of some diseases. In this review, we critically discussed and evaluated the role of transcription factors and related signaling pathways that affect the differentiation of MSCs toward adipocytes, chondrocytes, osteocytes, skeletal muscle cells, cardiomyocytes, and smooth muscle cells.

Keywords: bone, cartilage, differentiation, fat, mesenchymal stem cells, muscle, transcription factors.