

Mesenchymal Stem Cells from Different Tissue Sources and Strategies for Optimizing Their Therapeutic Potential: Emphasis on Preconditioning and Genetic Modification

Zeynab Ghorbani^{1,2}
Hajar Nasiri^{1,3}

¹ Medical Biotechnology Research Center, School of Paramedical, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

² Assistant Professor, Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

³ Assistant Professor, Department of Tissue Engineering and Applied Cell Sciences, School of Paramedical, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

(Received May 26, 2026; Accepted September 2, 2026)

Abstract

Mesenchymal stem cells (MSCs) have emerged as important components of regenerative medicine owing to their self-renewal capacity, multilineage differentiation potential, immunomodulatory properties, and ability to secrete a wide range of paracrine factors. These cells can be isolated from various sources, including bone marrow, adipose tissue, umbilical cord, Wharton's jelly, placenta, and other tissues. Although MSCs derived from different tissues share several common characteristics, they exhibit distinct biological and functional properties depending on their tissue of origin, which may influence their proliferative capacity, differentiation potential, immunoregulatory activity, and therapeutic efficacy. In addition, exosomes secreted by MSCs have attracted considerable attention because they contain a variety of bioactive molecules, including proteins, lipids, RNAs, and other regulatory factors. These extracellular vesicles are thought to play important roles in tissue repair and regeneration. Despite the substantial therapeutic potential of MSCs, several challenges continue to limit their clinical application, including poor post-transplantation survival, inadequate homing to injured tissues, functional heterogeneity, and reduced efficacy under inflammatory conditions. In recent years, various strategies have been developed to enhance the therapeutic efficacy of MSCs. Among these, preconditioning and genetic modification have emerged as two of the most widely investigated approaches. These strategies have been shown to improve cell survival, migratory capacity, paracrine activity, and overall therapeutic efficacy. This review discusses the characteristics and biological properties of MSCs derived from different tissue sources and provides an overview of current strategies for optimising their therapeutic properties, with particular emphasis on preconditioning and genetic modification approaches aimed at improving their regenerative and therapeutic potential.

Keywords: mesenchymal stem cells, exosomes, preconditioning, genetic modification, regenerative medicine

J Mazandaran Univ Med Sci 2026; 36 (261): 208-226 (Persian).

Corresponding Author: Hajar Nasiri - School of Paramedical, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran (E-mail: hajar_nasiri@gums.ac.ir)

ارزیابی منابع مختلف سلول‌های بنیادی مزانشیمی و راهکارهای بهینه‌سازی عملکرد آن‌ها با تأکید بر روش‌های پیش‌شرطی‌سازی و اصلاح ژنتیکی

زینب قربانی^{۱،۲}

هاجر نصیری^{۱،۳}

چکیده

سلول‌های بنیادی مزانشیمی (Mesenchymal Stem Cells; MSCs) به دلیل توانایی خودنوزایی، قابلیت تمایز به رده‌های سلولی مختلف، خواص تعدیل‌کننده سیستم ایمنی و ترشح طیف گسترده‌ای از فاکتورهای پاراکرین، به عنوان یکی از ارکان اصلی پزشکی بازساختی شناخته می‌شوند. این سلول‌های ارزشمند از منابع مختلفی از جمله مغز استخوان، بافت چربی، بند ناف، ژله وارتون، جفت و سایر بافت‌ها قابل استخراج هستند. اگرچه مزانشیم‌های مشتق‌شده از این منابع دارای ویژگی‌های مشترکی هستند، اما با توجه به منشأ بافتی خود، از نظر خصوصیات زیستی و عملکردی تفاوت‌هایی را نشان می‌دهند که می‌تواند بر ظرفیت تکثیر، توان تمایزی، فعالیت‌های ایمنی‌تنظیمی و کارایی درمانی آن‌ها تأثیرگذار باشد. اگرچه مزانشیم‌های ترشح‌شده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی به دلیل دارا بودن انواع پروتئین‌ها، لیپیدها، RNAها و سایر مولکول‌های زیست‌فعال، نقش مهمی در فرایندهای ترمیم و بازسازی بافت ایفا می‌کنند. با وجود پتانسیل درمانی بالا و اگرچه مزانشیم‌های مشتق از آن‌ها، محدودیت‌هایی نظیر بقای پایین پس از پیوند، مهاجرت ناکافی به محل آسیب، ناهمگونی عملکردی و کاهش اثربخشی در شرایط التهابی، کاربرد بالینی آن‌ها را با چالش مواجه کرده است. در سال‌های اخیر، راهکارهای متعددی برای بهینه‌سازی عملکرد مزانشیم‌ها توسعه یافته‌اند که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به پیش‌شرطی‌سازی (Preconditioning) و تغییرات ژنتیکی (Genetic Modification) اشاره کرد. این رویکردها توانسته‌اند به طور قابل توجهی بقای سلولی، توان مهاجرتی، فعالیت پاراکرین و اثربخشی درمانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی را بهبود بخشند. در این مقاله مروری، ضمن بررسی منابع مختلف و ویژگی‌های این سلول‌ها، استراتژی‌های بهینه‌سازی این سلول‌ها با تأکید بر پیش‌شرطی‌سازی و اصلاح ژنتیکی مورد بحث قرار گرفته است.

واژه‌های کلیدی: کلمات کلیدی: سلول‌های بنیادی مزانشیمی، اگرچه مزانشیم، بهینه‌سازی، اصلاح ژنتیکی، پیش‌شرطی‌سازی، پزشکی بازساختی

مؤلف مسئول: هاجر نصیری-رشت، مرکز تحقیقات زیست فناوری پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران
Email: nasirihajar@yahoo.com, hajar_nasiri@gums.ac.ir

۱. مرکز تحقیقات زیست فناوری پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۲. استادیار، دپارتمان علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۳. استادیار، دپارتمان مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۳/۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۵/۳/۱۷ تاریخ تصویب: ۱۴۰۵/۶/۱۱

مقدمه

سلول های بنیادی مزانشیمی (Mesenchymal Stem Cells, MSCs) به عنوان سلول های چندتوان با قابلیت خود بازسازی و تمایز می توانند در شرایط اتولوگ و آلوژنیک مورد استفاده قرار گیرند. به دلیل بیان کم یا عدم بیان مولکول های MHC کلاس II، خطر رد پیوند در پیوندهای آلوژنیک این سلول ها معمولاً پایین است. این سلول ها که مورفولوژی مشابه سلول های فیروبلست دارند در سال ۱۹۷۰ برای اولین بار شناسایی شده (۱)، می توانند از لایه مزودرم و همچنین از نورال کرست منشأ یابند (۲). براساس معیارهای انجمن بین المللی سلول درمانی (ISCT) سلول های بنیادی مزانشیمی سلول های چند ظرفیتی با خاصیت چسبندگی هستند که توان خود نوزایی و تمایز به ردهای سلولی استخوانی، چربی و غضروف را دارند. این سلول ها مارکرهای اصلی شناسایی رده مانند CD73، CD90 و CD105 را بیان نموده و فاقد بیان مارکرهای سلول های بنیادی خون ساز مانند CD34، CD45 و HLA-DR هستند (۳، ۴). این سلول ها علاوه بر توان تمایزی، از طریق ترشح فاکتورهای رشد، سایتوکاین ها و وزیکول های خارج سلولی، نقش مهمی در تعدیل پاسخ ایمنی و عملکرد سلولی و ترمیم بافت ایفا می کنند (۵، ۶). از ویژگی های مهم کاربرد این سلول ها می توان به عواملی مانند دسترسی آسان به منابع بافتی، فرآیند آماده سازی آسان و عدم وجود چالش های اخلاقی جهت استفاده در مقایسه با سایر منابع سلولی همانند منابع رویانی و جنینی اشاره کرد. رایج ترین منابع مورد استفاده شامل MSC های مشتق از مغز استخوان، بند ناف انسانی و همچنین بافت چربی هستند. سایر منابعی که بررسی شده شامل جفت، پالپ دندان، مایع آمنیوتیک، خون محیطی، مخاط بویایی و خون قاعدگی است (۷). وزیکول های خارج سلولی ترشح شده از این سلول ها به ویژه اگزوزوم ها (MSC-Exos) حاوی پروتئین ها، لیپیدها و microRNA هستند و به عنوان نوعی درمان

بدون سلول (Cell-free treatment) در تعدیل سیستم ایمنی و ترمیم بافت مطرح اند (۸). شواهد نشان می دهد که اثرات درمانی آنها با چالش هایی نظیر کاهش بقا پس از پیوند، کارایی پایین در محیط های التهابی و مهاجرت ناکافی به محل آسیب مواجه است (۹). این محدودیت ها منجر به توسعه رویکردهای نوینی تحت عنوان بهینه سازی عملکرد این سلول ها شده است. بهینه سازی سلول های بنیادی مزانشیمی با روش های پیش شرطی و تغییرات ژنتیکی منجر به افزایش توانمندی این سلول های ارزشمند می شود (۱۰، ۱۱). استراتژی های به کار گرفته شده با افزایش قابلیت های ذاتی این سلول منجر به بهره وری بیشتر سلول ها شده و درجه جدیدی را در حوزه پزشکی بازساختی در سلول درمانی باز نموده اند (۱۲). در این مقاله ضمن بررسی منابع مختلف سلول های بنیادی مزانشیمی و خواصشان، به مقوله بهینه سازی آنها با روش های مذکور خواهیم پرداخت.

۲- منابع بافتی مختلف سلول های بنیادی مزانشیمی

سلول های بنیادی مزانشیمی از طیف متنوعی از بافت ها قابل جداسازی و فرآوری هستند و این تنوع در منبع بافتی، یکی از دلایل اصلی ناهمگنی احتمالی در نوع عملکرد آنها به شمار می رود. به طور کلی می توان منابع این سلول ها را به دو دسته اصلی پیش تولدی یا خارج جنینی (Prenatal) و بالغ (Adult) تقسیم کرد. این تقسیم بندی از نظر منشأ زیستی بافت، میزان قابلیت دسترسی و ملاحظات اخلاقی اهمیت دارد. همچنین در ظرفیت خود بازسازی، پتانسیل تمایز، میزان توانمندی های ذاتی و ترشحات پاراکرین اهمیت دارد. سلول های مزانشیمی پس از تحریک با سایتوکاین های التهابی مانند $\text{TNF-}\alpha$ ، $\text{IFN-}\gamma$ و $\text{IL-1}\beta$ فعال شده و مجموعه ای از مولکول های تنظیم کننده شامل PGE_2 ، $\text{TGF-}\beta$ ، IL-6 و PD-L1 را ترشح می کنند (۱۳). این فاکتورها از طریق مهار تکثیر لنفوسیت های T، القای سلول های T تنظیمی، کاهش فعالیت NK cells، مهار

بلوغ dendritic cells و تغییر قطبش ماکروفاژها از فنوتیپ التهابی M1 به فنوتیپ ضدالتهابی M2 موجب تعدیل پاسخ ایمنی می‌شوند (۱۴). این تغییرات نشان می‌دهند که اثر درمانی این سلول‌ها نتیجه یک شبکه پیچیده از تنظیمات مولکولی و ایمونولوژیک است. نه صرفاً جایگزینی سلولی (۱۵). لذا انتخاب منبع مناسب باید بر اساس شرایط و میزان دسترسی، وضعیت بیمار و نوع کاربرد بالینی انجام شود؛ همچنین انتخاب منبع مناسب با راهکارهای بهینه‌سازی عملکرد، می‌تواند بهترین نتیجه درمانی را فراهم کند (۱۶).

۱-۲ منابع پیش تولدی

منابع در این بخش شامل بافت‌هایی هستند که بعد از طی مراحل جنینی و در بازه زمانی تولد نوزاد بدست می‌آیند، در نتیجه معمولاً بدون مداخلات تهاجمی و با ملاحظات اخلاقی کمتر نسبت به منابع بافتی رویانی و جنینی قابل دسترسی‌اند. سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از منابع پیش تولدی در مقایسه با منابع بالغ دارای ظرفیت تکثیر بالاتر، ایمنی‌زایی کمتر و پتانسیل ترشح پاراکرینی قوی‌تری هستند، لذا از این منابع به عنوان منابع با ارزش بافتی در فرآوری سلول‌های بنیادی مزانشیمی یاد می‌شود (۱۷).

۱-۱-۲ ژله وارتون (Wharton's Jelly; WJ)

ژله وارتون بافت همبند ژلاتینی موجود در بند ناف است که نخستین بار از نظر آناتومیکی توسط Thomas Wharton در قرن هفدهم توصیف شد که یکی از مهم‌ترین منابع پره ناتال محسوب می‌شود. این بافت به‌عنوان یک ریزمحیط منحصربه‌فرد، غنی از سلول‌های بنیادی مزانشیمی شناخته می‌شود و بدون نیاز به روش‌های تهاجمی به‌راحتی قابل دسترسی است. سلول‌های مشتق از این ناحیه، قدرت تکثیرپذیری بالایی دارند، دچار پیرشدگی زودرس نمی‌شوند و از نظر ایمنی‌زایی در سطح پایینی قرار دارند، به‌گونه‌ای که

برای کاربردهای آلورژنیک منبع مناسبی تلقی می‌شوند (۱۸). علاوه بر این، ترشح فاکتورهای پاراکرین در این سلول‌ها نسبتاً بالا گزارش شده است که آن‌ها را به گزینه‌ای مناسب برای درمان‌های مبتنی بر ترشح فاکتور تبدیل کرده است (۱۹، ۲۰). این سلول‌ها فنوتیپ ایمونولوژیک کلاسیک MSCs را حفظ کرده و مارکرهای CD73، CD90 و CD105 را بیان می‌کنند، در حالی که فاقد بیان CD34، CD45 و HLA-DR هستند که نشان‌دهنده وضعیت ایمنی‌گریز آن‌ها است. سلول‌های مزانشیمی مشتق شده از ژله وارتون دارای اثرات تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی قابل توجهی هستند و می‌توانند از تکثیر لنفوسیت‌ها جلوگیری کرده و تولید سایتوکاین‌ها را تنظیم کنند. علاوه بر توان تمایزی، ترشحات پاراکرین این سلول‌ها نقش مهمی در تحریک آنژیوژنز، ترمیم بافت و ایجاد اثرات ضدالتهابی دارند. اگرچه برای حفظ توان بازسازی و جلوگیری از پیری سلولی در طی تکثیر آزمایشگاهی نیاز به شرایط کشت دقیق وجود دارد، با این حال WJ-MSCs به‌عنوان یکی از امیدبخش‌ترین منابع برای کاربردهای ترجمانی و بالینی شناخته می‌شوند (۲۱).

۲-۱-۲ بافت جفت (Placental Tissue)

بافت جفت یکی دیگر از منابع مهم در این دسته محسوب می‌شود که بخش‌های مختلف آن حاوی جمعیت قابل توجهی از سلول‌های بنیادی مزانشیمی همراه با ظرفیت تکثیر بالا و توان تمایز چندسویه هستند. دسترسی به این منبع از نظر اخلاقی برای جداسازی، قابل قبول است. جمعیت‌های مختلفی از MSCs ها از نواحی گوناگون جفت انسانی جداسازی شده‌اند از جمله می‌توان به سلول‌های مزانشیمی مشتق از پرزهای کوریونی و صفحه کوریونی اشاره کرد. این جمعیت‌ها از نظر ظرفیت تکثیر، توان تمایزی و عملکرد تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی تفاوت‌هایی با یکدیگر دارند. به عنوان مثال سلول‌های مزانشیمی مشتق از پرزهای کوریونی ظرفیت تکثیر بالاتر و

توان تمایز استخوانی و غضروفی بیشتری نشان می دهند، در حالی که MSC های مشتق از صفحه کوریونی دارای اثر تعدیل کنندگی قوی تری بر سلول های لنفوسیت T فعال شده هستند (۲۲). به دلیل نقش طبیعی جفت در ایجاد تحمل ایمنی بین مادر و جنین، سلول های مشتق از آن نیز تمایل به ایجاد پاسخ های ضد التهابی دارند (۲۳). سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق از جفت از طریق سیگنالینگ پاراکرین، نقش فعالی در تنظیم رفتار تروفوبلاست ها ایفا می کنند و در پاتولوژی های مرتبط با جفت مانند پره کلآمپسی، پتانسیل درمانی امیدوار کننده ای از خود نشان داده اند (۲۴). این اثرات از طریق بازگرداندن عملکرد مختل شده میتوکندری، تقویت میتوفاژی انتخابی با افزایش بیان مسیر PINK1/Parkin و تنظیم دینامیک میتوکندری اعمال می شوند (۲۵).

مابع آمنیوتیک نیز به عنوان منبعی با ویژگی های بینابینی بین سلول های جنینی و بالغ شناخته می شود. سلول های مشتق از این مابع دارای ظرفیت تکثیر بالا و انعطاف پذیری قابل توجهی هستند و در برخی مطالعات، پتانسیل تمایزی گسترده تری نسبت به منابع بالغ نشان داده اند (۲۶).

۳-۱-۲ خون بند ناف (Umbilical Cord Blood; UCB)

از دیگر منابع پیش تولدی مهم در دسترس جهت استخراج سلول های بنیادی مزانشیمی خون بند ناف است، هر چند که جداسازی آن ها به دلیل فراوانی پایین در واحدهای خون بند ناف، دشوارتر است. این منبع بیشتر به عنوان منبع سلول های بنیادی خونساز شناخته می شود، ولی می تواند حاوی جمعیت هایی از سلول های مزانشیمی نیز باشد که از نظر ایمنی زایی پایین و کاربردهای آلورژنیک قابل توجهی نیز خواهند داشت (۲۷). بر اساس معیارهای انجمن بین المللی سلول درمانی (ISCT)، سلول های مزانشیمی مشتق شده از خون بند ناف نیز مارکرهای کلاسیک MSC ها شامل CD73، CD90 و CD105 را بیان کرده و فاقد

مارکرهای هماتوپوئیتیک و اندوتلیالی از جمله CD34، CD45 و CD31 هستند (۲۸). مطالعات کشت همزمان نشان داده اند این سلول ها می توانند سطح سایتوکاین های پیش التهابی مانند IFN- γ و TNF- α را کاهش، تکثیر لنفوسیت های T فعال شده را مهار کنند و پروفایل سایتوکاینی را به سمت محیطی ضد التهابی با افزایش تولید IL-10 سوق دهند (۲۹). همچنین UCB-MSC ها توانایی تمایز به رده های مزودرمی از جمله استوبلاست ها و آدیپوسیت ها را حفظ و در شرایط استاندارد کشت، مورفولوژی فیروبلات مانند خود را حفظ می کنند. به دلیل اثرات قوی تنظیم کننده ایمنی (ایمونورگولاتوری) و ایمنی زایی پایین، UCB-MSC ها گزینه ای جذاب برای پیوندهای آلورژنیک محسوب می شوند لذا این سلول ها می توانند منبع مناسبی برای درمان های بازساختی باشند (۳۰).

۲-۲ منابع بافتی بالغین

منابع بافتی بالغ شامل آن دسته بافت هایی هستند که از افراد پس از تولد استخراج می شوند و می توانند مربوط به جنسیت ها و سنین متفاوتی باشند. در این گروه طیف متنوعی از بافت ها جای می گیرند که علاوه بر داشتن خصوصیات مشترک سلول های بنیادی مزانشیمی، با توجه به منبع بافتی خصوصیات رفتاری منحصر به بافت را نیز نشان می دهند.

۲-۱-۲ سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان (Bone Marrow-Derived MSCs; BM-MSCs)

مغز استخوان به عنوان نخستین، قدیمی ترین و شناخته شده ترین منبع بافتی بالغین جهت فرآوری سلول های بنیادی مزانشیمی مطرح است و سال ها به عنوان استاندارد مرجع در بسیاری از مطالعات مورد استفاده قرار گرفته است (۳۱). مطالعات بعدی نشان دادند که این سلول ها دارای قابلیت خود نوزایی بوده و می توانند به رده های استئوژنیک، کندروژنیک و آدیپوژنیک تمایز یابند؛ موضوعی که

BM-MSCs را به عنوان جمعیت مزانشیمی شاخص در گونه‌های مختلف معرفی کرد. با این حال، استخراج آن فرآیندی تهاجمی است و از سوی دیگر با افزایش سن تعداد و کارایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی کاهش می‌یابد. علاوه بر این، ظرفیت تکثیر این سلول‌ها در مقایسه با منابع پیش تولدی محدودتر است (۳۲).

BM-MSCs ها گسترده‌ترین نوع سلول‌های مزانشیمی از نظر حجم مطالعات انجام شده هستند و به عنوان منبع اصلی در بسیاری از تحقیقات پیش‌بالینی و بالینی پزشکی بازساختی بکار رفته‌اند. شناسایی این سلول‌ها بر اساس مجموعه‌ای از ویژگی‌های مورفولوژیک، ایمونوفنوتیپی و عملکردی انجام می‌شود؛ به طوری که مورفولوژی فیروبلست مانند دوکی شکل و توانایی چسبندگی به پلاستیک کشت سلولی، از ویژگی‌های شاخص آن‌ها در زمان جداسازی محسوب می‌شود (۴، ۳۳). مارکرهای شناخته شده BM-MSCs ها شامل CD73، CD90 و CD105 هستند و این سلول‌ها فاقد مارکرهای هماتوپوئیتیک مانند CD34، CD45، CD14/CD11b، CD19 و HLA-DR هستند. این ایمونوفنوتیپ باعث تمایز واضح آن‌ها از سلول‌های بنیادی خون ساز (HSCs) می‌شود که در همان ریز محیط مغز استخوان حضور دارند (۳، ۳۴). اگرچه منابع جایگزینی مانند بافت چربی، بند ناف، پالپ دندان و جفت نیز مورد توجه قرار گرفته‌اند، اما مغز استخوان همچنان شناخته شده‌ترین و معتبرترین منبع MSCها در مطالعات بالینی محسوب می‌شود، زیرا به دلیل وجود پروتکل‌های استاندارد جداسازی و شناخت عمیق از رفتار سلولی در شرایط آزمایشگاهی و بالینی، معتبرترین منبع MSCها در مطالعات بالینی به شمار می‌رود (۳۱).

۲-۲-۲ سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی
(Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells; AD-MSCs)

بافت چربی یکی دیگر از پرکاربردترین منابع بافتی بالغ محسوب می‌شود که به دلیل دسترسی آسان و روش‌های استخراج کم‌تهاجمی، مورد توجه گسترده

قرار گرفته است. سلول‌های مزانشیمی به راحتی از بافت چربی زیرجلدی و از طریق روش کم‌تهاجمی لیپوساکشن قابل جداسازی هستند. این روش در مقایسه با مغز استخوان، تعداد بسیار بیشتری سلول فراهم و پروتکل‌های هضم و جداسازی سلولی ساده‌تر است. این سلول‌ها بر اساس معیارهای ISCT در گروه MSCها طبقه‌بندی می‌شوند، زیرا دارای ویژگی‌هایی مانند چسبندگی به پلاستیک، توان تمایز سه گانه و ایمونوفنوتیپ اختصاصی و عدم بیان مارکرهای هماتوپوئیتیک هستند (۳۵). سلول‌های مزانشیمی مشتق از بافت چربی بازده بالایی در جداسازی داشته و از نظر تکثیرپذیری و ترشح فاکتورهای تعدیل کننده سیستم ایمنی عملکرد قابل قبولی نشان می‌دهند. این ویژگی‌ها باعث شده‌اند که در بسیاری از کاربردهای بالینی، به ویژه در حوزه‌های ترمیم بافت و بیماری‌های التهابی، به عنوان جایگزینی مناسب برای مغز استخوان در نظر گرفته شوند (۳۶، ۳۷). سلول‌های مزانشیمی مشتق شده از بافت چربی در بسیاری از کاربردهای پزشکی بازساختی از جمله استئوآرتریت، ترمیم زخم و اختلالات ایسکمیک، عملکرد مؤثرتری نسبت به BM-MSCs ها نشان داده‌اند که این موضوع به ظرفیت تکثیر بالاتر، پیری سلولی کمتر و ترشح بیشتر فاکتورهای آنژیوژنیک و ایمونومدولاتوری مرتبط است. همچنین یکی از مهم‌ترین منابع سلول‌های مزانشیمی بالغ برای کاربردهای آلونژیک مانند بیماری پیوند علیه میزبان (GVHD) محسوب می‌شوند (۳۸).

۲-۲-۲ سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مخاط بویایی
(Olfactory Mucosa-Derived Mesenchymal Stem Cells; OM-MSCs)

سلول‌های مزانشیمی مشتق از مخاط بویایی، سلول‌های بنیادی بالغ شبه‌نورال کرس هستند که از لامینا پروپریای مخاط بویایی بینی جداسازی می‌شوند و به عنوان منبعی کم‌تهاجمی و از نظر جنبه‌های اخلاقی قابل قبول برای

کاربردهای درمانی شناخته می شوند. این سلول ها ویژگی های کلاسیک سلول های مزانشیمی شامل چسبندگی به پلاستیک، توان تمایز مزودرمی سه گانه و بیان مارکرهای سطحی رایج مزانشیمی را دارا هستند. علاوه بر این خصوصیات، این سلول ها قابلیت های نوروتروپیک منحصر به فردی دارند که در بسیاری از منابع دیگر سلول های مزانشیمی مشاهده نمی شود (۳۹). منشأ نورال کرسی این سلول ها باعث افزایش توان حمایتی آن ها نسبت به سیستم عصبی شده است، به گونه ای که از طریق ترشح عوامل نوروتروپیک و نورومحافظتی، موجب افزایش رشد آکسونی، بقای نورونی و تنظیم پاسخ های نوروالتهابی می شوند. در مطالعات پیش بالینی بازسازی عصبی، OM- MSC ها توانسته اند با کاهش التهاب، بازسازی ماتریکس خارج سلولی و بازیابی عملکرد پس از آسیب عصبی، پتانسیل درمانی خود را در ترمیم سیستم عصبی مرکزی (CNS) و سیستم عصبی محیطی (PNS) نشان دهند (۴۰). این سلول ها حتی در غیاب فاکتورهای رشد گلیالی خارجی نیز قادرند به صورت خود به خودی به فنوتیپ های شبه سلول شوان تمایز پیدا کنند و مارکرهایی مانند S100، GFAP و p75NGFR را بیان نمایند (۴۱).

۲-۲-۴ سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق از پالپ دندانی (Dental Pulp-Derived Mesenchymal Stem Cells; DP-MSCs)

امروزه پالپ دندانی نیز به عنوان منبعی نسبتاً در دسترس جهت فرآوری سلول های بنیادی مزانشیمی به ویژه در دندان های شیری یا دندان های خارج شده و از طریق روش های کم تهاجمی مورد توجه قرار گرفته است. این سلول ها از نورال کرسر منشأ گرفته و با داشتن توان خودنوزایی قوی و ظرفیت نورونیک ذاتی، در مطالعات مرتبط با بازسازی بافت عصبی نتایج امیدوارکننده ای را نشان داده اند (۴۲). علاوه بر توان تمایزی، DP-MSC ها فاکتورهای رشد، سایتوکاین ها و وزیکول های خارج سلولی متعددی ترشح می کنند که

موجب تحریک آنژیوژنز، تنظیم پاسخ های ایمنی و تسهیل بازسازی بافت می شود. فعال سازی گیرنده Toll-like receptor 3 (TLR3) در این سلول ها سبب افزایش تولید واسطه های تروفیک مورد نیاز برای بازسازی، از جمله TGF- β 1، VEGF و BDNF می شود. مسیر وابسته به TLR3 از طریق اثرات ایمنومدولاتوری، مهار تکثیر سلول های T در شرایط التهابی را تقویت می کند (۴۳). این ویژگی ها نشان می دهد که DP-MSC ها علاوه بر توانایی مستقیم در حمایت از تمایز استخوانی، از طریق ایمنومدولاسیون و سیگنالینگ پاراکرین نیز محیطی مناسب برای بازسازی ایجاد می کنند. به همین دلیل، این سلول ها به عنوان منبعی بسیار امیدبخش و کاربردی در مهندسی و ترمیم بافت استخوانی شناخته می شوند (۴۴).

۲-۲-۵ سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق از خون قاعدگی (Menstrual Blood-Derived Stem Cells; Men-MSCs Mesenchymal)

سلول های بنیادی مشتق از خون قاعدگی به عنوان یکی از منابع جدید سلول های مزانشیمی، از زمان معرفی آن ها در سال ۲۰۰۷ توجه زیادی را در حوزه پزشکی بازساختی به خود جلب کرده اند. این سلول ها به دلیل جمع آوری غیرتهاجمی، امکان نمونه گیری دوره ای، نبود محدودیت های اخلاقی و ظرفیت تکثیر بالا، به عنوان جایگزینی مناسب برای برخی منابع کلاسیک سلول های مزانشیمی مطرح شده اند. مطالعات نشان داده اند که Men-MSC ها در مقایسه با MSC های مشتق از مغز استخوان و بافت چربی، سرعت تکثیر بیشتری داشته و در شرایط کشت آزمایشگاهی، پایداری مناسبی از خود نشان می دهند. از نظر ایمنوفنوتیپی، این سلول ها مارکرهای کلاسیک MSC ها را بیان کرده و فاقد مارکرهای هماتوپوئیک هستند. همچنین Men-MSC ها توانایی تمایز به رده های مزودرمی شامل استئوژنیک، کندروژنیک و آدیپوژنیک را حفظ می کنند و در برخی مطالعات، قابلیت

تمایز به سلول‌های اندوتلیالی نیز برای آن‌ها گزارش شده است (۴۵). یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های Men-MSCs، توان بالایی آن‌ها در تنظیم پاسخ‌های ایمنی است. این سلول‌ها با ترشح فاکتورهایی مانند VEGF، IL-10 و HGF می‌توانند آتزیوزنز، ترمیم بافت و کاهش التهاب را تقویت کنند. Men-MSCs ها توانایی مهار تکثیر سلول‌های ایمنی فعال و تعدیل محیط التهابی را دارند که این ویژگی آن‌ها را به گزینه‌ای مناسب برای درمان بیماری‌های التهابی و آسیب‌های بافتی تبدیل کرده است (۴۳). در سال‌های اخیر، آگروم‌ها و وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از Men-MSCs ها نیز مورد توجه قرار گرفته‌اند. این وزیکول‌ها می‌توانند در بازسازی بافت، ترمیم زخم، بهبود آسیب‌های قلبی، کاهش فیروز و تنظیم پاسخ‌های ایمنی نقش مؤثری ایفا کنند. با وجود این مزایا، محدود بودن مطالعات بالینی گسترده و نبود پروتکل‌های استاندارد جداسازی و کشت، همچنان از چالش‌های اصلی استفاده بالینی این سلول‌ها محسوب می‌شود (۴۶، ۴۷). جدول شماره ۱ اطلاعاتی را در مورد انواع مارکرهای شناسایی مثبت و منفی در کنار مزایای کاربردی هر منبع بافتی ارائه می‌دهد.

۳- چالش‌های کاربرد سلول‌های بنیادی مزانشیمی و

راهکارهای بهینه‌سازی آنها

با توجه به مزایای فراوان سلول‌های بنیادی مزانشیمی و کاربرد آن‌ها در حوزه درمان سلولی، راهبردهای بهینه‌سازی با رفع محدودیت‌های ذاتی این

سلول‌ها، از جمله کاهش میزان بقا و زنده‌مانی پس از پیوند، کاهش قدرت مهاجرت، کاهش توانایی لانه‌گزینی و کاهش عملکرد در محیط‌های التهابی، به‌طور هدفمند طراحی شده‌اند (۵۲-۵۰). در این طراحی سلول‌ها قبل از کاربرد پیش‌بالینی یا مرحله پیش از پیوند در سطح ژنتیکی و یا به صورت پیش شرطی سازی در توانایی‌های ذاتی خود ارتقا می‌یابند؛ این دو روش، ستون‌های اصلی بهینه‌سازی سلول‌های بنیادی مزانشیمی محسوب می‌شوند (۵۳).

۳-۱ پیش‌شرطی‌سازی (Preconditioning)

یک ریزمحیط نامساعد، مانند ایسکمی، التهاب، آسیب اکسیداتیو و استرس مکانیکی، طول عمر و اثربخشی بیولوژیکی سلول‌های بنیادی مزانشیمی را در داخل بدن کاهش می‌دهد (۵۴). گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند با اکسید کردن پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA مستقیماً باعث آسیب به اندامک‌های سلولی شوند و در نهایت افزایش آن پیش‌ساز شروع مرگ سلولی باشد. این محدودیت‌ها مانع از تحقق کامل ظرفیت درمانی مبتنی بر سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌شوند (۵۵). در تکنیک پیش شرطی سازی روش‌ها شامل آماده‌سازی دارویی و مولکول‌های کوچک، تحریک با سیتوکین‌ها و پیش شرطی سازی با کاهش میزان اکسیژن (هایپوکسی) هستند.

جدول شماره ۱. مقایسه ویژگی‌های زیستی، مارکرهای سطحی و مزایای سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از منابع مختلف

منبع MSCs	مارکرهای مثبت	مارکرهای منفی	مزایا	رفرنس
زله وارتن	CD44, CD29, CD105, CD90, CD73	HLA-DR, CD19, CD14, CD45, CD34	منع غیرتهاجمی؛ ظرفیت تکثیر بالا؛ اثرات قوی تعدیل‌کننده سیستم ایمنی و پاراکرین	(۱۸)
بند ناف	CD44, CD29, CD105, CD90, CD73	HLA-DR, CD31, CD19, CD14, CD45, CD34	منع غیرتهاجمی؛ ظرفیت تکثیر بالا؛ اثرات قوی تعدیل‌کننده سیستم ایمنی و پاراکرین	(۲۰)
چفت	CD166, CD29, CD44, CD105, CD90, CD73	HLA-DR, CD45, CD34, CD14	ظرفیت تکثیر بالا؛ خواص تعدیل‌کننده سیستم ایمنی؛ توان بالای آتزیوزنیک و بازسازی	(۲۶)
خون بند ناف	CD105, CD90, CD73, CD44	HLA-DR, CD19, CD14, CD45, CD34	ایمنی‌زایی پایین؛ گزینه‌ای امیدبخش برای سلول‌درمانی	(۲۷)
مغز استخوان	CD271, CD146, CD44, CD105, CD90, CD73	HLA-DR, CD19, CD14, CD45, CD34	منع کلاسیک، تهاجمی و به‌خوبی مطالعه‌شده؛ دارای توان تمایز سه‌گانه بالا	(۴۸)
بافت چربی	CD105, CD90, CD73, CD13	HLA-DR, CD19, CD14, CD45	فراوان؛ استخراج آسان؛ بازده بالای جداسازی	(۴۹)
خون قاعدگی	CD105, CD73, CD90, CD44, CD29	CD45, CD34, CD14	جمع‌آوری غیرتهاجمی و تکرارپذیر؛ ظرفیت تکثیر و بازسازی بالا	(۴۵)
پالپ دندان	CD146, CD105, CD90, CD44, CD29	HLA-DR, CD45, CD34, CD14	دسترسی آسان از دندان‌های کشیده‌شده؛ توان بالا در بازسازی استخوان و بافت دندان	(۴۲)
مخاط بینی	CD44, CD105, CD90, CD73	HLA-DR, CD45, CD34	پتانسیل بازسازی عصبی؛ ترشح فاکتورهای آتزیوزنیک؛ کاربرد بالقوه در ترمیم سیستم عصبی مرکزی	(۴۱)

۱-۳-۱ آماده سازی دارویی و مولکول های کوچک

پیش شرطی سازی MSC ها با مولکول های کوچک می تواند توانایی های خاصی از جمله تعدیل سیستم ایمنی، مهاجرت و بقا را افزایش دهد. برای مثال، والپروئیک اسید و لیتوم به صورت سینرژیک مهاجرت و محافظت عصبی MSC ها را افزایش می دهند (۵۶). در حالی که پیش شرطی سازی با ATRA باعث کاهش سیتوکین های پیش التهابی (TNF α / IL-17) و افزایش بیان فاکتورهای رگ زایی مانند VEGF شده و منجر به بهبود نتایج در مدل های بهبود زخم و آمفیژم می شود (۵۷).

۲-۳-۱ پیش شرطی سازی با سایتوکین

قرار گرفتن در معرض سایتوکین ها، چشم انداز درمانی سلول های مزانشیمی را به طور اساسی تغییر می دهد. قرار گرفتن در معرض TNF- α قبل از انتقال و انجام پیوند، MSC ها را به یک فنوتیپ ضد التهابی سوق داده و ترشح آگروزوم های تنظیم کننده ایمنی را افزایش می دهد [۵۸]. به طور مشابه، IL-1 β اثر ترمیمی آگروزوم های سلول های بنیادی مزانشیمی را با القای فعال سازی NRF2 در آستروسیت ها تقویت می کند، در حالی که IL-3 بیان CXCR4 را افزایش داده و کموتاکسی را به سمت SDF-1 افزایش می دهد (۵۹).

۳-۳-۱ پیش شرطی سازی با هیپوکسی

برخلاف شرایط اکسیژن نرمال، شرایط آزمایشگاهی هیپوکسی (O₂ 1-5%)، جایگاه فیزیولوژیکی سلول های مزانشیمی را تقلید می کند. پیش شرطی سازی با هیپوکسی می تواند تکثیر، گلیکولیز، پایداری ژنتیکی و بقای سلول ها را افزایش داده و همزمان موجب بهبود رگ زایی، مهاجرت و ترشح آگروزوم شود (۶۰). آگروزوم های سلول های بنیادی مزانشیمی تحت هیپوکسی، در مقایسه با گروه کنترل با اکسیژن نرمال، اثربخشی بالاتری در ترمیم

بافت، محافظت عصبی و پاسخ های ضد فیبروتیک نشان داده اند (۶۱). آگروزوم های سلول های مزانشیمی که در شرایط هیپوکسی قرار گرفته اند، با افزایش بیان برخی از فاکتورهای رشد مانند فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF)، فاکتور رشد هپاتوسیت (HGF)، فاکتور رشد فیروبلست (FGF) و فعال کردن مسیرهای سیگنالینگ مانند پروتئین کیناز B، اندوتلیال نیتریک اکسید سنتاز (AKT/eNOS) و پروتئین کیناز فعال شده با میتوزن (MAPK) سبب افزایش رگ زایی در شرایط برون و درون تنی می شود. آگروزوم های بهینه شده همچنین قادر هستند سایتوکین های پیش التهابی IL-1 β ، TNF- α را سرکوب کرده و سایتوکین ضد التهابی IL-10 را تقویت می کنند. با به کارگیری روش پیش شرطی سازی هیپوکسی فنوتیپ های سلول های ایمنی مانند ماکروفاژها را به سمت شاخص های پیش درمانی تغییر یافته و با فعال سازی مسیر بقای سلولی، میزان مرگ و میر سلولی را کاهش می دهند (۶۲).

با وجود نتایج امیدوار کننده حاصل از پیش شرطی سازی، میزان اثربخشی این رویکردها می تواند تحت تأثیر نوع محرک، شدت و مدت زمان اعمال آن قرار گیرد. تفاوت در پروتکل های مورد استفاده در مطالعات مختلف، مقایسه مستقیم نتایج را دشوار ساخته و ممکن است بر تکرارپذیری یافته ها تأثیر بگذارد. از این رو، استاندارد سازی شرایط پیش شرطی سازی و تعیین پروتکل های بهینه، از الزامات مهم برای توسعه کاربردهای آینده این راهبرد محسوب می شود.

۳-۲ تغییرات ژنتیکی (Genetic Modification)

تغییرات ژنتیکی می تواند با افزایش یا کاهش بیان ژن های مربوط به خصوصیت ذاتی سلول، توانایی عملکردی سلول های مزانشیمی را به طور قابل توجهی افزایش دهد. این تنظیم می تواند بیان واسطه ها و سایتوکین های کلیدی ضد التهابی و ضد فیبروتیک را تعدیل نموده و در نتیجه اثر بخشی درمانی را بهبود بخشد.

علاوه بر این، ورود ژن‌های خارجی به درون سلول‌های مزانشیمی، امکان تولید مولکول‌های درمانی هدفمند را فراهم کرده و پتانسیل آن‌ها را در درمان‌های ترمیمی و تعدیل‌کننده سیستم ایمنی گسترش می‌دهد (۶۳، ۶۴). پیوند سلول‌های بنیادی مزانشیمی دست ورزی شده ژنتیکی، نتایج عملکردی بهتری را در مقایسه با سلول‌های بنیادی مزانشیمی طبیعی نشان داده که می‌توان به افزایش طول عمر سلولی از طریق کاهش پیری و افزایش بقا، چسبندگی و ظرفیت مهاجرت اشاره کرد (۶۵).

۱-۲-۳ مزایای ایجاد تغییرات ژنتیکی در سلول‌های بنیادی مزانشیمی

سلول‌های بنیادی مزانشیمی اصلاح شده ژنتیکی در محیط‌های بالینی پس از انجام پیوند می‌توانند فرآیندهای سلولی مختلفی از جمله رگ‌زایی، بقا، لانه‌گزینی، تمایز، توانایی‌های ضد التهابی و مهاجرتی را بهبود بخشیده و نتایج درمانی بهتری را فراهم کنند (۶۶). برخی از این مزایا شامل موارد زیر هستند:

۱. افزایش اثرات درمانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی با بهبود بقا، چسبندگی و لانه‌گزینی و همچنین پتانسیل تمایز به سلول‌های خاص در میزبان

۲. اثرات تعدیل‌کننده سیستم ایمنی و ضد التهابی سلول‌های مزانشیمی برای کاهش التهاب و بیماری‌های خودایمنی

۳. سلول‌های مزانشیمی مهندسی شده حامل‌های ایمن و مناسبی هستند که به منظور انتقال ژن‌ها یا پروتئین‌های درمانی منحصر به فرد در سلول‌ها یا بافت‌ها طراحی شده‌اند.

۴. استفاده از وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از MSC برای انتقال محموله‌های درمانی به عنوان یک درمان مؤثر و قدرتمند بدون سلول در ژن درمانی از سایر مزایای این استراتژی است (۶۷).

بنابراین، برای بهبود عملکرد مورد انتظار از سلول‌های مزانشیمی در استفاده بالینی، تعیین اثر بخشی

اصلاح ژنتیکی بر خواص سلول‌های پیوند شده ضروری است.

۲-۲-۳ روش‌های اعمال تغییرات ژنتیکی در سلول‌های بنیادی مزانشیمی

انتقال اسیدهای نوکلئیک شامل RNA و DNA همچنان یک چالش مهم در ژن درمانی به شمار می‌رود؛ زیرا این مولکول‌ها ناپایداری ذاتی داشته و حتی در دوره‌های کوتاه، در محیط‌های بیولوژیکی ناپایدارند. از طرفی، ناتوانی آن‌ها در عبور از غشای سلولی و رسیدن به هسته هدف‌گیری و اصلاح کارآمد ژن را دشوار می‌سازد. بنابراین، انتخاب یک راهبرد مناسب جهت اعمال تغییرات ژنتیکی برای موفقیت ژن درمانی حیاتی است (۶۸). ویژگی کلیدی این روش‌ها، دستیابی به سطوح بالای بیان ترانس ژن همراه با حداقل مرگ سلولی به منظور رسیدن به اثربخشی درمانی مطلوب است (۶۹). این روش‌ها عموماً به دو دسته اصلی طبقه بندی می‌شوند: دسته اول شامل رویکردهای غیر همسان ساز برای بیان گذرای ژن، مانند انتقال DNA پلاسمید و انتقال مستقیم RNA است. دسته دوم شامل راهبردهای ادغام ژنوم برای بیان پایدار و طولانی مدت ژن است. این رویکرد معمولاً از وکتورهای ویروسی، از جمله رتروویروس‌ها و لنتی ویروس‌ها، که مواد ژنتیکی را در ژنوم میزبان ادغام می‌کنند، استفاده می‌کند (۷۰). اصلاح ژنتیکی سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌تواند از طریق دو رویکرد اصلی سیستم‌های انتقال ژن ویروسی و غیر ویروسی انجام شود. این روش‌ها برای افزایش سطح بیان و مدت زمان ژن‌های نو ترکیب و همچنین تأثیرگذاری بر رفتار و ویژگی‌های فنوتیپی سلول‌های منتقل شده به کار می‌روند (۶۵).

جدیدترین فناوری ویرایش ژن با استفاده از تکنیک *Clustered regularly interspaced short palindromic repeats* / Cas9 (CRISPR) برای افزایش پتانسیل‌های درمانی سلول‌های مزانشیمی انجام می‌شود (۷۱). CRISPR

Cas9 / برای اصلاح ژن های خاص طراحی شده که عملکردهای حیاتی از جمله مهاجرت، تکثیر، بقا و پاسخ های التهابی را تنظیم نموده و سلول های مهندسی شده تغییراتی در ترشح سایتوکین ها و فاکتورهای رشد مختلف و افزایش کارایی درمانی را نشان می دهند (۷۲).

۳-۲-۳ سیستم های انتقال ویروسی

وکتورهای ویروسی یکی از مؤثرترین ابزارهای روش های انتقال ژن محسوب می شوند. برای ارتقای ویژگی های سلول های بنیادی در درمان های سلولی، از وکتورهای متنوعی استفاده می شود که از جمله رایج ترین آن ها در کارآزمایی های بالینی می توان به آدنوویروس ها (AdVs)، رتروویروس ها/لنتی ویروس ها (RVs/LVs) و ویروس های مرتبط با آدنو (AAVs) اشاره کرد (۷۳). وکتورهای ویروسی با داشتن مزایایی مانند کارایی بالای انتقال و بیان پایدار ترانس ژن از مؤثرترین ابزارها در اصلاح ژنتیکی محسوب می شوند. با این حال موانعی مانند ایمنی زایی، محدودیت ظرفیت انتقال ژنوم و خطر احتمالی جهش زایی محدودیت هایی در کاربرد گسترده درمانی آن ها ایجاد می نماید (۷۰). در ادامه به بررسی این وکتورها خواهیم پرداخت:

وکتورهای آدنوویروسی به طور گسترده در کاربردهای ژن درمانی مورد استفاده قرار می گیرند و قادر به القای بیان گذرای ژن در سلول های خاموش و در حال تکثیر هستند (۷۴). به دلیل مشخصات ایمنی مطلوب آنها آدنوویروس ها در بیش از ۲۰ درصد از آزمایشات بالینی ژن درمانی در سطح جهان به کار گرفته شده اند. نکته قابل توجه این است که ایمنی زایی ذاتی آن ها یک ویژگی مفید در ایمونوتراپی سرطان و توسعه واکسن محسوب می شود (۷۵). یکی دیگر از مزایای کلیدی AdV ها ظرفیت انتقال ژن قابل توجه آنها است که امکان انتقال تقریباً ۸ تا ۳۰ کیلو باز از ماده ژنتیکی را فراهم می کند (۷۶). ایمنی زایی بالای مرتبط با ناقل های ویروسی می تواند منجر به تخریب سریع ذرات

ویروسی شود و در نهایت مدت و کارایی بیان ژن را محدود کند (۷۷). افزون بر این، سلول های بنیادی مزانشیمی بیان ناچیزی از گیرنده های غشایی ویژه آدنوویروس را نشان می دهند که به کاهش کارایی این وکتورها در انتقال ژن منجر می شود (۷۸).

وکتورهای رتروویروس (RVV) شامل گاما رتروویروس و لنتی ویروس هستند که توانایی ادغام دائمی در ژنوم میزبان و بیان ژن طولانی مدت دارد. وکتورهای گاما رتروویروسی کارایی انتقال نسبتاً بالایی دارند اما به سلول های در حال تقسیم محدود می شوند (۷۹). وکتورهای لنتی ویروسی به دلیل کارایی بالای خود برای انتقال و بیان پایدار ترانس ژن در سلول های مزانشیمی کاربردی ترین ناقل ها در ژن درمانی و سلول درمانی هستند (۶۷). وکتورهای این دسته می توانند انواع سلول ها را در حالت های تقسیم و عدم تقسیم آلوده و همچنین به راحتی در سلول های میزبان مزانشیمی منتقل می شوند (۶۷). وکتورهای AVV از نظر کارایی انتقال و ایمنی از مناسب ترین وکتورهای انتقال ژن محسوب می شوند با این حال ظرفیت انتقال آن ها نسبتاً کم و تقریباً به ۴ کیلو بایت محدود می شود (۸۰). AAV ها از سوی انجمن دارویی اروپا (EMA) و سازمان غذا و داروی ایالات متحده (FDA) تأیید شده می باشند (۸۱).

۳-۲-۴ سیستم های انتقال غیر ویروسی

سیستم های انتقال ژن غیر ویروسی اغلب برای استفاده بالینی نامطلوب تلقی می شود زیرا با محدودیت هایی مانند کاهش بقای سلول، بیان گذرای ژن و کارایی پایین انتقال ژنوم همراهند. با این وجود این سیستم دارای برخی مزایای اساسی می باشد که جایگاه آن را در تحقیقات ژن درمانی حفظ می کند. مزایای کلیدی این انتقال شامل حداقل ایمنی زایی، بهبود ایمنی زیستی، ظرفیت بارگذاری بالاتر و توانایی پذیرش بارهای ژنتیکی بزرگتر می باشد. علاوه بر این ناقل های

غیر ویروسی در دسترس تر، مقرون به صرفه تر هستند و معمولاً پاسخ‌های ایمنی اندکی را ایجاد می‌کنند که آنها را به جایگزین‌های مناسبی در کاربردهای درمانی انتخابی تبدیل می‌کند (۶۹). این روش‌ها به دو دسته فرآیندهای فیزیکی و شیمیایی تقسیم می‌شوند.

روش‌های فیزیکی مانند میکرو اینجکشن، الکتروپورشن، میکروپورشن و نوکلئوفکشن در هنگام انتقال اسید نوکلئیک به داخل سلول‌ها غشای سلول را از نظر فیزیکی مختل می‌کنند (۸۲). هر چند این روش‌ها در انتقال ژن موثرند، اما معمولاً با محدودیت‌هایی مانند آسیب به غشا سلولی، کاهش زنده ماندن یا نیاز به تجهیزات تخصصی همراهند. در میان آن‌ها الکتروپورشن و نوکلئوفکشن کارایی قابل قبولی دارند ولی اغلب زنده ماندن سلول را کاهش می‌دهند (۶۷). روش‌های شیمیایی به عنوان رویکرد دیگری برای انتقال معرفی شده‌اند. این روش‌ها از طریق مولکول‌های حامل انجام می‌شوند که رویکردی ایمن و با کاربرد آسان محسوب می‌شوند. حامل‌های شیمیایی با اسیدهای نوکلئیک همکاری می‌کنند تا عوامل جدیدی تولید، سپس از طریق برهمکنش‌ها بارها و اتصال به گیرنده‌های سطحی به داخل غشای سلولی نفوذ می‌کنند (۸۳). پلیمرهای کاتیونی، نانوهیدروکسی آپاتیت و پپتیدهای آمفی پاتیک معمولاً برای رساندن ژن‌های هدف به سلول‌های مزانشیمی با کارایی انتقال حدود ۱۵ تا ۲۰ درصد استفاده می‌شوند (۶۵). استراتژی‌های شیمیایی و فیزیکی در سیستم‌های انتقال ژن غیر ویروسی توجه فزاینده‌ای را به خود جلب کرده‌اند. با این که رویکردها عموماً ایمن‌تر و مناسب‌تر هستند، اما کارایی آن در انتقال نسبت به ناقل‌های ویروسی کمتر می‌باشد. جدول شماره ۲ اطلاعاتی در خصوص روش‌های انتقال ویروسی و غیر ویروسی را خلاصه نموده است.

علی‌رغم مزایای قابل توجه اصلاح ژنتیکی در ارتقای عملکرد درمانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی، همچنان چالش‌هایی نظیر پایداری بیان ژن، پیچیدگی

فرایندهای تولید، ملاحظات ایمنی زیستی و الزامات مربوط به انتقال بالینی این فناوری‌ها وجود دارد. پیشرفت فناوری‌های نوین ویرایش ژن و سامانه‌های انتقال ژن می‌تواند در آینده به رفع بخشی از این محدودیت‌ها و افزایش ایمنی و کارایی سلول‌های مهندسی شده کمک کند.

امروزه سلول‌های بنیادی مزانشیمی به‌عنوان یکی از امیدبخش‌ترین ابزارهای پزشکی بازساختی شناخته می‌شوند، با این حال برخی محدودیت‌های عملکردی همچنان مانع از دستیابی به حداکثر ظرفیت درمانی آن‌ها در کاربردهای بالینی شده است. راهبردهای بهینه‌سازی به‌ویژه پیش شرطی‌سازی و اصلاح ژنتیکی، نقش مهمی در ارتقای ویژگی‌های زیستی و عملکرد درمانی این سلول‌ها ایفا می‌کنند. اگرچه سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از منابع بافتی مختلف دارای ویژگی‌های پایه مشترکی هستند، اما تفاوت در خصوصیات زیستی، ظرفیت تکثیر، توان تمایزی و عملکردهای پاراکرین آن‌ها، امکان انتخاب مناسب‌ترین منبع سلولی را متناسب با اهداف درمانی و شرایط پژوهشی فراهم می‌سازد. شواهد موجود نشان می‌دهد که به‌کارگیری راهبردهای بهینه‌سازی می‌تواند موجب بهبود بقا، کارایی و اثربخشی این سلول‌ها شود و نتایج حاصل از مطالعات پیش‌بالینی و بالینی را ارتقا دهد. پیش شرطی‌سازی و اصلاح ژنتیکی به‌عنوان دو راهبرد مکمل، ظرفیت قابل توجهی برای افزایش اثربخشی درمان‌های مبتنی بر سلول‌های بنیادی مزانشیمی دارند. با این حال، دستیابی به کاربرد گسترده بالینی این رویکردها مستلزم استانداردسازی روش‌ها، ارزیابی ایمنی بلندمدت و انجام مطالعات بیشتر برای تأیید اثربخشی و تکرارپذیری نتایج است. امید می‌رود ترکیب این رویکردها با فناوری‌های نوین، از جمله مهندسی اگزوزوم، زمینه را برای توسعه درمان‌های مؤثرتر و ایمن‌تر مبتنی بر سلول‌های بنیادی مزانشیمی در آینده فراهم سازد.

جدول شماره ۲: بررسی روش های مورد استفاده در اصلاح ژنتیکی

روش	نوع	اثربخشی	زمانه مانی تقریبی	مزایا	محدودیت ها
وکتور ویروسی	آدنوویروس	بالا	بالا	راندمان انتقال بالا	ایمنی زایی و بیان موقت
لنتی ویروس	AAV	متوسط تا بالا	بالا	بیان پایدار ژن	احتمال insertional mutagenesis
روش غیر ویروسی	الکتروپوریشن	متوسط تا بالا	پایین تا متوسط	انتقال مستقیم DNA/RNA	ظرفیت محدود ژنی
	نوکلئوفکشن	متوسط تا بالا	متوسط	مناسب سلول های بنیادی	آسیب سلولی
	لیپوفکشن	پایین تا متوسط	بالا	ساده و کم هزینه - مناسب سلول های بنیادی	هزینه و سمیت
	نانوذرات	پایین تا متوسط	بالا	ایمنی بیشتر	نیاز به بهینه سازی
ویرایش ژنی	CRISPR/Cas9	متوسط تا بالا	متوسط	ویرایش دقیق ژنوم	off-target effects

References

- 1- Friedenstien AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell Tissue Kinet* 1970; 3(4): 393-403 PMID: 5523063.
- 2- ei Y, Wang B, Jia L, Huang W, Xiang AP, Fang C, et al. Lateral Mesoderm-Derived Mesenchymal Stem Cells With Robust Osteochondrogenic Potential and Hematopoiesis-Supporting Ability. *Front Mol Biosci* 2022; 9: 767536 PMID: 35573747.
- 3- Taebi S, Eskandari F, Kohandani M, Manoochehrabadi T, Nasiri H. Genetic Engineering in Hematopoietic Stem Cells for β -Hemoglobinopathies Treatment: Advances, Challenges, and Clinical Translation. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res* 2025; 19(4):399-423 PMID: 42083602.
- 4- Mohammadi S, Norooznezhad AH, Mohammadi AM, Nasiri H, Nikbakht M, Saki N, et al. Optimizing peripheral blood stem cells transplantation outcome through amend relapse and graft failure: a review of current literature. *Exp Hematol Oncol* 2017;6(1): 24 PMID: 28808609.
- 5- Pînzariu AC, Moscalu R, Soroceanu RP, Maranduca MA, Drochioi IC, Vlasceanu VI, et al. The Therapeutic Use and Potential of MSCs: Advances in Regenerative Medicine. *Int J Mol Sci* 2025; 26(7): 3084.
- 6- Alizadeh S, Mahboobi L, Nasiri M, Khosrowpour Z, Khosravimelal S, Asgari F, et al. Decellularized Placental Sponge Seeded with Human Mesenchymal Stem Cells Improves Deep Skin Wound Healing in the Animal Model. *ACS Appl Bio Mater* 2024; 7(4): 2140-2152 PMID: 38470456.
- 7- Viswanathan S, Blanc KL, Ciccocioppo R, Dagher G, Filiano AJ, Galipeau J, et al. An International Society for Cell and Gene Therapy Mesenchymal Stromal Cells (MSC) Committee perspectives on International Standards Organization/Technical Committee 276 Biobanking Standards for bone marrow-MSCs and umbilical cord tissue-derived MSCs for research purposes. *Cytotherapy* 2023; 25(8): 803-807 PMID: 37149800.
- 8- Wang Y, Zhu J, Ma Q, Zhou W, Yang L, Sheng S, et al. Trends in mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles clinical trials 2014-2024: is efficacy optimal in a narrow dose range? *Front Med* 2025; 12: 1625787 PMID: 41048938.
- 9- Piñeiro-Ramil M, Gómez-Seoane I, Rodríguez-Cendal AI, Fuentes-Boquete I, Díaz-Prado S. Mesenchymal stromal cells-derived extracellular vesicles in cartilage

- regeneration: potential and limitations. *Stem Cell Res Ther* 2025; 16(1): 11 PMID: 39849578.
- 10- Patel JC, Shukla M, Shukla M. From bench to bedside: translating mesenchymal stem cell therapies through preclinical and clinical evidence. *Front Bioeng Biotechnol* 2025; 13: 1639439 PMID: 40809065.
 - 11- Huang W, Zhou C, Yu Y, Qin S, Chen L, Lin H, et al. Functionalized mesenchymal stem cells for enhanced bone regeneration: advances and challenges. *Stem Cell Res Ther* 2025; 16(1): 600 PMID: 41174641.
 - 12- Zhidu S, Ying T, Rui J, Chao Z. Translational potential of mesenchymal stem cells in regenerative therapies for human diseases: challenges and opportunities. *Stem Cell Res Ther* 2024; 15(1):266 PMID: 39183341.
 - 13- Alvites R, Branquinho M, Sousa AC, Lopes B, Sousa P, Maurício AC. Mesenchymal Stem/Stromal Cells and Their Paracrine Activity-Immunomodulation Mechanisms and How to Influence the Therapeutic Potential. *Pharmaceutics* 2022;14: (2):381 PMID: 35214113.
 - 14- Song N, Scholtemeijer M, Shah K. Mesenchymal Stem Cell Immunomodulation: Mechanisms and Therapeutic Potential. *Trends Pharmacol Sci* 2020;41(9): 653-664 PMID: 32709406.
 - 15- Han X, Liao R, Li X, Zhang C, Huo S, Qin L, et al. Mesenchymal stem cells in treating human diseases: molecular mechanisms and clinical studies. *Signal Transduct Target Ther* 2025; 10(1):262 PMID: 40841367.
 - 16- Li J, Wu Z, Zhao L, Lio Y, Su Y, Gong X, et al. The heterogeneity of mesenchymal stem cells: an important issue to be addressed in cell therapy. *Stem Cell Res Ther* 2023; 14(1): 381 PMID: 38124129.
 - 17- Huang J, Deng Q, Tsang LL, Chang G, Guo J, Ruan YC, et al. Mesenchymal stem cells from perinatal tissues promote diabetic wound healing via PI3K/AKT activation. *Stem Cell Res Ther* 2025; 16(1): 59 PMID: 39923118.
 - 18- Krishnan I, Ng CY, Kee LT, Ng MH, Law JX, Thangarajah T, et al. Quality Control of Fetal Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cells-Derived Small Extracellular Vesicles. *Int J Nanomedicine* 2025;20: 1807-1820.
 - 19- Timoneri F, Lo Iacono M, Corrao S, Alberti G, Amico G, Corsello T, et al. Wharton's jelly mesenchymal stromal cells derived from preterm umbilical cord reveal a hepatogenic potential. *Front Cell Dev Biol* 2025;13:1626353.
 - 20- Allouh MZ, Rizvi SFA, Alamri A, Jimoh Y, Aouda S, Ouda ZH, et al. Mesenchymal stromal/stem cells from perinatal sources: biological facts, molecular biomarkers, and therapeutic promises. *Stem Cell Res Ther* 2025;16(1): 127 PMID: 40055783.
 - 21- Drobiova H, Sindhu S, Ahmad R, Haddad D, Al-Mulla F, Al Madhoun A. Wharton's jelly mesenchymal stem cells: a concise review of their secretome and prospective clinical applications. *Front Cell Dev Biol* 2023; 11:1211217 PMID: 37440921.
 - 22- Huang Q, Yang Y, Luo C, Wen Y, Liu R, Li S, et al. An efficient protocol to generate placental chorionic plate-derived mesenchymal stem cells with superior proliferative and immunomodulatory properties. *Stem Cell Res Ther* 2019;10(1): 301 PMID: 31623677.
 - 23- Deng X, Zhang S, Qing Q, Wang P, Ma H, Ma Q, et al. Distinct biological

- characteristics of mesenchymal stem cells separated from different components of human placenta. *Biochem Biophys Res Commun* 2024;39: 101739 PMID: 38974020.
- 24- Jin S, Wu C, Chen M, Sun D, Zhang H. The pathological and therapeutic roles of mesenchymal stem cells in preeclampsia. *Front Med* 2022; 9.
 - 25- Hou C, Zhu H, Chang X. Mesenchymal stem cells: opening a new chapter in the treatment of gynecological diseases. *Stem Cell Res Ther* 2025;16(1): 520 PMID: 41013726.
 - 26- Dallatana A, et al. The Placenta as a Source of Human Material for Neuronal Repair. *Biomedicines* 2024; 12(7): 1567 PMID: 39062139.
 - 27- Choi YJ, Kim WR, Kim DH, Kim JH, Yoo JH. Human umbilical cord/placenta mesenchymal stem cell conditioned medium attenuates intestinal fibrosis in vivo and in vitro. *Stem Cell Res Ther* 2024; 15(1): 69 PMID: 38454492.
 - 28- Nguyen TH, Dao HH, Duong CM, Nguyen XH, Hoang DH, Do XH, et al. Cytokine-primed umbilical cord mesenchymal stem cells enhanced therapeutic effects of extracellular vesicles on osteoarthritic chondrocytes. *Front Immunol* 2022; 13: 1041592 PMID: 36389838.
 - 29- Mi L, Gao J, Li N, Liu Y, Zhang N, Gao Y, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomes loaded miR-451a targets ATF2 to improve rheumatoid arthritis. *Int Immunopharmacol* 2024;127:111365 PMID: 38104370.
 - 30- Hao C, You J, Qiu H, Zhou O, Liu J, Zou W, et al. Hypoxic preconditioning improves the survival and pro-angiogenic capacity of transplanted human umbilical cord mesenchymal stem cells via HIF-1 α signaling in a rat model of bronchopulmonary dysplasia. *Biochem Biophys Res Commun* 2022; 605: 111-118 PMID: 35316761.
 - 31- Baghaei K, Hashemi SM, Tokhanbigli S, Asadi Rad A, Assadzadeh-Aghdahi H, Sharifian A, et al. Isolation, differentiation, and characterization of mesenchymal stem cells from human bone marrow. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2017;10(3): 208-213 PMID: 29118937.
 - 32- Zhang J, Wang L, Liu D, Liu Z, Liu Z, Zhou S. Bone marrow mesenchymal stem cells-derived exosomes protect against β -cell destruction models and kidney injury by suppressing ferroptosis. *Sci Rep* 2025; 15(1): 40644.
 - 33- Park JH, Bae HS, Kim I, Jung J, Roh Y, Lee D, et al. Efficacy of Bone Regeneration Cell Therapy Using Mesenchymal Stem Cells Originating from Embryonic Stem Cells in Animal Models; Bone Defects and Osteomyelitis. *Tissue Eng Regen Med* 2025; 22(1): 145-157 PMID: 39612134.
 - 34- Shanaki M, Ehteram H, Nasiri H, Azad M, Kouhkan F, Pakzad R, et al. Assessment of Liver and Kidney Functional Parameters along with Oxidative Stress and Inflammatory Biomarker in Patients with β -Thalassemia Major. *Iran J Ped Hematol Oncol* 2016;6(4): 249-260.
 - 35- Zhao X, Wu J, Yuan R, Li Y, Yang Q, Wu B, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cell therapy for reverse bleomycin-induced experimental pulmonary fibrosis. *Sci Rep* 2023; 13(1): 13183 PMID: 37580529.
 - 36- Zhang L, Yu Z, Liu S, Liu F, Zhou S, Zhang Y, et al. Advanced progress of adipose-derived stem cells-related

- biomaterials in maxillofacial regeneration. *Stem Cell Res Ther* 2025;16(1): 110 PMID: 40038758.
- 37- Suchanecka M, Grzelak J, Farzaneh M, Azizidoost S, Dari MAG, Józkowiak M,etal. Adipose derived stem cells – Sources, differentiation capacity and a new target for reconstructive and regenerative medicine. *Biomed Pharmacother* 2025;186: 118036.
- 38- Lee H, Lim Y, Lee SH. Rapid-acting pain relief in knee osteoarthritis: autologous-cultured adipose-derived mesenchymal stem cells outperform stromal vascular fraction: a systematic review and meta-analysis. *Stem Cell Res Ther* 2024; 15(1): 446 PMID: 39568086.
- 39- Wang X, Hong CG, Duan R, Pang ZL, Zhang MN, Xie H, etal. Transplantation of olfactory mucosa mesenchymal stromal cells repairs spinal cord injury by inducing microglial polarization. *Spinal Cord* 2024; 62(8): 429-439 PMID: 38849489.
- 40- Ertem T, Uysal O. Differentiation of neural stem cells from human olfactory mucosa into dopaminergic neuron-like cells. *IUBMB Life* 2024; 76(9): 697-711.
- 41- Zhuo Y, Li WS, Lu W, Li X, Ge LT, Huang Y, etal. TGF- β 1 mediates hypoxia-preconditioned olfactory mucosa mesenchymal stem cells improved neural functional recovery in Parkinson's disease models and patients. *Mil Med Res* 2024; 11(1): 48 PMID: 39034405.
- 42- Namjoynik A, Islam MD, Islam M. Evaluating the efficacy of human dental pulp stem cells and scaffold combination for bone regeneration in animal models: a systematic review and meta-analysis. *Stem Cell Res Ther* 2023; 14(1): 132.
- 43- Ren H, Sang Y, Zhang F, Liu Z, Qi N, Chen Y . Comparative Analysis of Human Mesenchymal Stem Cells from Umbilical Cord, Dental Pulp, and Menstrual Blood as Sources for Cell Therapy. *Stem Cells Int* 2016; 2016: 3516574 PMID: 26880954.
- 44- Tomasello L, Mauceri R, Coppola A, Pitrone M, Pizzo G, Campisi G, etal. Mesenchymal stem cells derived from inflamed dental pulpal and gingival tissue: a potential application for bone formation. *Stem Cell Research & Therapy* 2017; 8(1): 179.
- 45- Vaiciuleviciute R, Pachaleva J, Bernotiene E, Kugaudaite G, Lebedis I, Krugly E, etal. Menstrual blood-derived mesenchymal stromal cell extracellular vesicles – a potential tool for tissue regeneration and disease detection. *Front Bioeng Biotechnol* 2025;13:1643408.
- 46- Chen L, Qu J, Cheng T, Chen X, Xiang C . Menstrual blood-derived stem cells: toward therapeutic mechanisms, novel strategies, and future perspectives in the treatment of diseases. *Stem Cell Res Ther* 2019; 10(1): 406 PMID: 31864423.
- 47- Shemshadsara FG, Ai J, Bayat M, Ebrahimi-Barough S, Shirian S, Mohamadnia A, etal. Exosome-functionalized collagen-coated 3D-printed PCL scaffold for enhanced osteogenic differentiation and bone regeneration: an in vitro and in vivo study. *J Biol Eng* 2025; 19(1): 107 PMID: 41310766.
- 48- Fuloria NK, Fuloria S, Sekar M, Porwal O,Ansari MT,Biswas A,etal. Regenerative Engineering of Fibrotic Diseases: Mechanistic and Clinical Advances with Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells.

- Regenerative Engineering and Translational Medicine 2025.
- 49- Yuan C, Song W, Jiang X, Wang Y, Li C, Yu W,etal. Adipose-derived stem cell-based optimization strategies for musculoskeletal regeneration: recent advances and perspectives. *Stem Cell Res Ther* 2024;15(1): 91 PMID: 38539224.
 - 50- Liu Y, Zhang L, Wang J, Qin Y, Zhang L, Yue A,etal. Genetic Modification of Mesenchymal Stem Cell to Overexpress CXCR4 Enhances Treatment Efficacy for Brain Injury After Cardiopulmonary Resuscitation. *CNS Neurosci Ther* 2025;31(9): e70621 PMID: 40984643.
 - 51- Nasiri H, Khosravi F, Eskandari F, Manoochehrabadi T, Samadikuchaksaraei A, Lotfi E, etal. From scarring to healing: Emerging regenerative therapies for pulmonary fibrosis using MSCs and exosomes. *Clinical and Translational Discovery* 2026; 6(4): e70172.
 - 52- Milan PB, Amini N, Mehrabi A, Mousazadeh S, Ababzadeh S, Rezapour A. Cell Sources in Cardiac Tissue Engineering: Current Choices. *Curr Stem Cell Res Ther* 2021; 16(6): 745-752 PMID: 33494682.
 - 53- Wong RSY, Tan EW, Goh BH. Mesenchymal Stem Cell-Based Therapies: Challenges and Enhancement Strategies. *Cell Biochem Biophys* 2025 ;84(1):131-147 PMID: 41004016.
 - 54- Moghaddam MH, Bayat AH, Eskandari N, Abdollahifar MA, Fotouhi F, Forouzannia A,etal. Elderberry diet ameliorates motor function and prevents oxidative stress-induced cell death in rat models of Huntington disease. *Brain Res* 2021; 1762: 147444 PMID: 33745925.
 - 55- Ocansey DKW, Pei B, Yan Y, Qian H, Zhang X, Xu W ,etal. Improved therapeutics of modified mesenchymal stem cells: an update. *Journal of Translational Medicine* 2020; 18(1): 42.
 - 56- Linares GR, Chiu CT, Scheuing L, Leng Y, Liao HM, Maric D, etal. Preconditioning mesenchymal stem cells with the mood stabilizers lithium and valproic acid enhances therapeutic efficacy in a mouse model of Huntington's disease. *Exp Neurol* 2016; 281: 81-92 PMID: 27085395.
 - 57- Pourjafar M, Saidijam M, Mansouri K, Ghasemibasir H, Karimi Dermani F, Najafi R. All-trans retinoic acid preconditioning enhances proliferation, angiogenesis and migration of mesenchymal stem cell in vitro and enhances wound repair in vivo. *Cell Prolif* 2017; 50(1): e12315 PMID: 27862498.
 - 58- Chen S, Sun F, Qian H, Xu W, Jiang J. Preconditioning and engineering strategies for improving the efficacy of mesenchymal stem cell-derived exosomes in cell-free therapy. *Stem Cells Int* 2022; 2022(1): 1779346 PMID: 35607400.
 - 59- Barhanpurkar-Naik A, Mhaske ST, Pote ST, Singh K, Wani MR. Interleukin-3 enhances the migration of human mesenchymal stem cells by regulating expression of CXCR4. *Stem Cell Res Ther* 2017; 8(1): 168 PMID: 28705238.
 - 60- Alagesan S, Brady J, Byrnes D, Fandiño J, Masterson C, McCarthy S,etal. Enhancement strategies for mesenchymal stem cells and related therapies. *Stem Cell Res Ther* 2022; 13(1): 75 PMID: 35189962.
 - 61- Haider KH. Priming mesenchymal stem cells to develop “super stem cells”. *World*

- journal of stem cells. World J Stem Cells 2024; 16(6): 623-640 PMID: 38948094.
- 62- Ha DH, Kim HK, Lee J, Kwon HH, Park GH, Yang SH,etal. Mesenchymal stem/stromal cell-derived exosomes for immunomodulatory therapeutics and skin regeneration. Cells 2020; 9(5): 1157 PMID: 32392899.
 - 63- Nowakowski A, Walczak P, Lukomska B, Janowski M. Genetic engineering of mesenchymal stem cells to induce their migration and survival. Stem Cells Int 2016; 2016(1) 4956063 PMID: 27242906.
 - 64- Rafati F, Ghorbani Z, Manoochehrabadi T, Khosravi F, Majidi J, Eskandari F,etal. Smart integrated biomaterial systems for precision and optimized delivery of MSCs and their exosomes: Transforming wound healing and organ regeneration. Regenerative Therapy 2026; 31: 101045.
 - 65- Ebrahim N, James V, Rizvanov AA, Mukhamedshina Y. Genetic Modification of Mesenchymal Stem Cells for Neurological Disease Therapy: What Effects Does it Have on Phenotype/Cell Behavior, Determining Their Effectiveness? Mol Diagn Ther 2020; 24(6): 683-702 PMID: 32926348.
 - 66- Sani F, Sani M, Moayedfard Z, Darayee M, Tayebi L, Azarpira N. Potential advantages of genetically modified mesenchymal stem cells in the treatment of acute and chronic liver diseases. Stem Cell Res Ther 2023; 14(1): 138 PMID: 37226279.
 - 67- Nasiri H, Manoochehrabadi T, Eskandari F, Majidi J, Gholipourmalekabadi M. Genetic modification of mesenchymal stem cells (MSCs): novel strategy to expand their naïve applications in critical illness. Mol Biol Rep 2025; 52(1): 501 PMID: 40411639.
 - 68- Varkouhi AK, . Genetically modified mesenchymal stromal/stem cells: application in critical illness. Stem Cell Rev 2020; 16(5): 812-827.
 - 69- Damasceno PKF, de Santana TA, Santos GC, Orge ID, Silva DN, Albuquerque JF, etal. Genetic engineering as a strategy to improve the therapeutic efficacy of mesenchymal stem/stromal cells in regenerative medicine. Front Cell Dev Biol 2020; 8: 737.
 - 70- Lundstrom K. Viral vectors in gene therapy. Diseases 2018; 6(2): 42.
 - 71- Gerace D, Martiniello-Wilks R, Nassif NT, Lal S, Steptoe R, Simpson AM. CRISPR-targeted genome editing of mesenchymal stem cell-derived therapies for type 1 diabetes: a path to clinical success? Stem Cell Res Ther 2017; 8(1): 62 PMID: 28279194.
 - 72- Hazrati A, Malekpour K, Soudi S, Hashemi SM. CRISPR/Cas9-engineered mesenchymal stromal/stem cells and their extracellular vesicles: a new approach to overcoming cell therapy limitations. Biomed Pharmacother 2022; 156: 113943 PMID: 36411629.
 - 73- David RM, Doherty AT. Viral vectors: the road to reducing genotoxicity. Toxicol Sci 2017;155(2): 315-325 PMID: 27803388.
 - 74- Wold WS, Toth K. Adenovirus vectors for gene therapy, vaccination and cancer gene therapy. Curr Gene Ther 2013; 13(6): 421-433 PMID: 24279313.
 - 75- Lee CS, Bishop ES, Zhang R, Yu X, Farina EM, Yan S,etal. Adenovirus-mediated gene delivery: potential applications for gene and cell-based therapies in the new era of

- personalized medicine. *Genes Dis* 2017; 4(2): 43-63 PMID: 28944281.
- 76- Mirnalini Sharma M, Mishra B, Saikia UN, Bahl A, Ratho RK, Talwar KK. Role of coxsackievirus and adenovirus receptor (CAR) expression and viral load of adenovirus and enterovirus in patients with dilated cardiomyopathy. *Arch Virol* 2016.
- 77- Thomas CE, Ehrhardt A, Kay MA. Progress and problems with the use of viral vectors for gene therapy. *Nat Rev Genet* 2003;4(5): 346-358 PMID: 12728277.
- 78- Suzuki T, Kawamura K, Li Q, Okamoto S, Tada Y, Tatsumi K, et al. Mesenchymal stem cells are efficiently transduced with adenoviruses bearing type 35-derived fibers and the transduced cells with the IL-28A gene produces cytotoxicity to lung carcinoma cells co-cultured. *BMC Cancer* 2014; 14(1): 713 PMID: 25255777.
- 79- Yin H, Wei X. The design of retroviral vectors used in the CAR-T products, risk management, and future perspective. *MedComm* 2025; 6(2): e70067 PMID: 39866836.
- 80- Naso MF, Tomkowicz B, Perry WL, Strohl WR. Adeno-associated virus (AAV) as a vector for gene therapy. *BioDrugs* 2017; 31(4): 317-334.
- 81- Srivastava A, Mallela KM, Deorkar N, Brophy G. Manufacturing challenges and rational formulation development for AAV viral vectors. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2021; 110(7): 2609-2624.
- 82- Hamann A, Nguyen A, Pannier AK. Nucleic acid delivery to mesenchymal stem cells: a review of nonviral methods and applications. *J Biol Eng* 2019; 13(1): 7 PMID: 30675180.
- 83- Xiang S, Tong H, Shi Q, Fernandes JC, Jin T, Dai K, et al. Uptake mechanisms of non-viral gene delivery. *J Control Release* 2012; 158(3): 371-378 PMID: 21982904.