

A review of diabetes treatment using mesenchymal stem cells and the role of chemical and physical factors in the differentiation process |

Seyede Fatemeh Heydari¹, Mehrdad Moosazadeh Moghaddam^{2*}, Soyar Sari¹, Mohammad Heiat³

1- Department of Cellular and Molecular Biology, TeMS.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Tissue Engineering and Regenerative Medicine Research Center, New Health Technologies Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Baqiyatallah Research Center for Gastroenterology and Liver Diseases (BRCGL), Clinical Sciences Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

***Corresponding Author:** Mehrdad Moosazadeh Moghaddam, Tissue Engineering and Regenerative Medicine Research Center, New Health Technologies Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran;

Email: mm.genetics@gmail.com

| Received | 25/12/2025

| Revised | 28/01/2026

| Accepted | 02/02/2026

| Abstract |

Diabetes mellitus represents a major global health burden and necessitates the development of innovative therapeutic strategies aimed at restoring endogenous pancreatic function. Conventional treatments, including insulin therapy, oral hypoglycemic agents, and pancreas transplantation, are effective for glycemic control but fail to reestablish the physiological function of pancreatic β -cells. However, these approaches are limited by high costs, lifelong dependency, immune-related complications, and donor scarcity. In this context, cell-based therapy has emerged as a promising alternative for generating functional β -cells. Among the various cell sources, mesenchymal stem cells (MSCs) have gained considerable attention due to their accessibility, immunomodulatory properties, and favorable safety profile. Despite substantial progress, conventional differentiation protocols primarily rely on exogenous chemical growth factors, which are often expensive, temporally unstable, and associated with heterogeneous cellular outcomes. Recent advances have shifted the focus toward incorporating biophysical and mechanical cues that recapitulate aspects of the native developmental microenvironment. Parameters such as substrate stiffness, surface nanotopography, and extracellular matrix architecture can modulate mechanotransduction pathways, thereby directing cell fate decisions in a more controlled and cost-effective manner. Accumulating evidence indicates that these physical stimuli significantly enhance the expression of critical pancreatic transcription factors, including *PDX1* and *NKX6.1*, and promote glucose-responsive insulin secretion, ultimately improving the functional maturation of β -like cells in the pancreas. Collectively, the synergistic integration of biochemical and biophysical signals represents a rational and translational strategy for generating stable and functional β -cells and may pave the way for clinically applicable regenerative therapies for diabetes.

| Keywords |

Diabetes| Cell therapy|
Mesenchymal stem cells|
Chemical differentiation|
Physical differentiation|
Growth factors|
Cell imprinting|

| Iau Science |

مروری بر درمان دیابت با استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی و نقش فاکتورهای شیمیایی و فیزیکی در فرایند تمایز |

سیده فاطمه حیدری^۱، مهرداد موسی زاده مقدم^{۲*}، سوبار ساری^۱، محمد هیات^۳

۱- گروه سلولی و مولکولی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- مرکز تحقیقات مهندسی بافت و پزشکی بازساختی، پژوهشکده فناوری‌های نوین سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله، تهران، ایران

۳- مرکز تحقیقات گوارش و بیماری‌های کبد بقیه‌الله (BRCGL)، پژوهشکده علوم بالینی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: مهرداد موسی زاده مقدم، مرکز تحقیقات مهندسی بافت و پزشکی بازساختی، پژوهشکده فناوری‌های نوین سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله، تهران، ایران؛ پست الکترونیکی: mm.genetics@gmail.com

تاریخ دریافت | ۱۴۰۴/۱۰/۰۴ | تاریخ پذیرش | ۱۴۰۴/۱۱/۰۸ | تاریخ انتشار | ۱۴۰۴/۱۱/۱۳

چکیده |

دیابت به عنوان یک معضل بزرگ سلامت جهانی، نیازمند راهکارهای درمانی نوین است. درمان‌های رایج مانند انسولین، داروها و پیوند پانکراس با وجود کمک به کنترل قندخون، نمی‌توانند عملکرد طبیعی سلول‌های بتای پانکراس را بازسازی کنند و با محدودیت‌هایی مانند هزینه بالا و کمبود اهداکننده مواجه هستند. سلول درمانی، به عنوان راهکاری نوین جهت تولید سلول‌های بتای پانکراس در مطالعه‌های متعدد مورد مطالعه قرار گرفته است، در این میان به‌ویژه استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی، به دلیل دسترسی آسان و ایمنی امیدهای تازه‌ای ایجاد کرده است. اما روش‌های متداول تمایز که مبتنی بر فاکتورهای رشد شیمیایی هستند اغلب پُر هزینه، ناپایدار و منجر به تولید سلول‌های ناهمگن می‌شوند. در پاسخ به این چالش‌ها، توجه پژوهش‌ها به سمت استفاده از سیگنال‌های فیزیکی و مکانیکی معطوف شده است که فرایندهای طبیعی تکاملی را تقلید می‌کنند. عواملی مانند سختی بستر، نانوتوپوگرافی سطح و معماری ماتریکس خارج سلولی می‌توانند با فعال‌سازی مسیرهای انتقال سیگنال مکانیکی، به شکل مؤثرتر و مقرون به صرفه‌تری سرنوشت سلول را هدایت کنند و در فرایند تمایز مؤثر واقع باشند. مطالعه‌ها نشان می‌دهند این محرک‌های فیزیکی قادرند بیان ژن‌های کلیدی پانکراسی مانند *PDX1* و *NKX6.1* ترشح انسولین را به‌طور چشمگیری افزایش دهند و کیفیت سلول‌های شبه بتا را بهبود بخشند. بر این اساس، به نظر می‌رسد ترکیب هم‌افزای محرک‌های شیمیایی و فیزیکی می‌تواند راهکاری بهینه، ایمن و سازگار برای تولید سلول‌های بتای عملکردی و پایدار باشد و مسیر را برای کاربرد بالینی آن‌ها در درمان دیابت هموار سازد که تحوّل در درمان دیابت می‌باشد.

واژگان کلیدی |

دیابت | سلول درمانی |

سلول‌های بنیادی مزانشیمی |

تمایز شیمیایی | فاکتورهای رشد |

فاکتورهای فیزیکی |

نقش نگاری سلول |

| علوم Iau |

۱ | مقدمه

دیابت ملیتوس یکی از مهم‌ترین بیماری‌های غدد درون‌ریز و متابولیک است که با افزایش مزمن قندخون و اختلال در عملکرد انسولین مشخص می‌شود. این بیماری به‌طور کلی به دو نوع اصلی تقسیم می‌شود: دیابت نوع ۱ که حاصل تخریب به واسطه خودایمنی سلول‌های بتای پانکراس و در نتیجه کاهش یا فقدان کامل ترشح انسولین است و دیابت نوع ۲ که در آن مقاومت محیطی به انسولین و کاهش تدریجی عملکرد سلول‌های بتا نقش اصلی را در بروز دیابت ایفا می‌کند. عوامل ایجادکننده دیابت شامل زمینه ژنتیکی، اختلالات سیستم ایمنی، چاقی، سبک زندگی کم‌تحرک، التهاب مزمن و استرس اکسیداتیو هستند. شیوع جهانی دیابت طی سال‌های اخیر به‌طور چشمگیری افزایش یافته و این روند بیماری را به یکی از چالش‌های جدی سلامت عمومی تبدیل کرده است. درمان‌های فعلی دیابت براساس نوع بیماری متفاوت است. بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱ به پیوند و یا تزریق مداوم انسولین وابسته‌اند، درحالی‌که بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ معمولاً با ترکیبی از اصلاح سبک زندگی، داروهای خوراکی کاهش‌دهنده قندخون، آگونیست‌های GLP-1 و در مراحل پیشرفته با انسولین درمان می‌شوند. با وجود مؤثر بودن این رویکردها در کنترل علائم و کاهش عوارض، هیچ‌یک قادر به بازگرداندن عملکرد طبیعی پانکراس یا ترمیم پایدار سلول‌های بتا نیستند. وابستگی مادام‌العمر به انسولین یا داروها، نوسان‌های قندخون، هزینه‌های درمانی، بروز عوارض میکروواسکولار، ماکروواسکولار و کاهش کیفیت زندگی از مهم‌ترین محدودیت‌های درمان‌های مرسوم به‌شمار می‌روند (۱، ۲). در این میان، سلول‌درمانی به‌عنوان یک رویکرد درمانی نوین مطرح شده است؛ رویکردی که هدف آن جایگزینی یا ترمیم سلول‌های بتای تخریب‌شده و بازگرداندن توانایی طبیعی بدن در تنظیم قندخون است. استفاده از انواع سلول‌ها، از جمله سلول‌های بنیادی پُر توان، سلول‌های بنیادی مزانشیمی^۱ (MSCs) و سلول‌های پیش‌ساز پانکراسی در مطالعه‌های مختلف موردتوجه قرار گرفته است. در میان این گزینه‌ها، MSCs به‌دلیل دسترسی آسان، توان تکثیر بالا، ویژگی‌های ایمنی تعدیلی و پتانسیل تمایز مناسب یکی از امیدوارکننده‌ترین گزینه‌ها جهت کاربرد در سلول‌درمانی محسوب می‌شوند (۳، ۴). با این حال، دستیابی به سلول‌های بتای عملکردی نیازمند فرایند تمایز است؛ فرایندی که معمولاً با استفاده از

فاکتورهای رشد و مواد شیمیایی تنظیم‌کننده مسیرهای تکاملی انجام می‌شود. این روش‌ها با وجود موفقیت نسبی، محدودیت‌هایی مانند هزینه بالا، عدم پایداری فاکتورها و ایجاد جمعیت ناهمگن سلولی دارند. همین چالش‌ها پژوهشگران را به سمت استفاده از سیگنال‌های فیزیکی همچون ویژگی‌های مکانیکی، توپوگرافی، سفتی بستر و تکنیک‌هایی مانند Cell imprinting، مبتنی بر الگوبرداری از ژئومتری اختصاصی سلول، سوق داده است. این عوامل فیزیکی قادرند مسیرهای مکانوترانسدکشن را فعال کرده و محیط فیزیکی سلول را شبیه‌سازی کنند که می‌تواند به تمایز پایدارتر، ایمن‌تر و کم‌هزینه‌تر منجر شود (۵، ۶). هدف از این مقاله مروری، بررسی جامع پتانسیل MSCs و مقایسه کارایی رویکردهای شیمیایی و فیزیکی در هدایت تمایز آن‌ها به سمت سلول‌های شبه بتای پانکراسی است. برای دستیابی به این هدف، مطابق با استانداردهای مقالات مروری نظام‌مند، یک روش کار تدوین گردید. جست‌وجوی منابع در پایگاه‌های اطلاعاتی معتبر Google Scholar، PubMed/Medline، Scopus، Web of Science با استفاده از کلیدواژه‌های مرتبط انجام شد. معیارهای ورود شامل مطالعه‌های اصلی یا مروری به زبان‌های انگلیسی یا فارسی بودند که به تمایز MSCs به سلول‌های شبه‌بتا و نقش فاکتورهای شیمیایی یا فیزیکی در این فرایند می‌پرداختند. همچنین معیارهای خروج شامل مطالعه‌های غیرمرتبط، مقالات کنفرانسی، پایان‌نامه‌ها و عدم‌دسترس به متن کامل برخی مطالعات است. پس از غربالگری اولیه براساس عنوان، چکیده و حذف مطالعه‌های تکراری در نهایت ۸۶ مقاله واجد شرایط انتخاب شدند و داده‌های کلیدی آن‌ها استخراج و به روش کیفی تحلیل گردیدند. فرایند انتخاب و تحلیل مقاله‌ها نیز براساس معیارهای بیان‌شده و با رعایت اصول اخلاقی پژوهش انجام شده است.

¹ Mesenchymal Stem Cell

۲ | اپیدمیولوژی^۱ دیابت در جهان و ایران

دیابت یکی از مهم‌ترین بیماری‌های مزمن جهانی است که براساس گزارش سازمان جهانی بهداشت^۲ بیش از ۵۳۷ میلیون نفر در سال ۲۰۲۳ به آن مبتلا بوده‌اند و پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۴۵ این عدد به بیش از ۷۰۰ میلیون نفر برسد. حدود ۹۰ تا ۹۵ درصد این موارد مربوط به دیابت نوع دو و ۵ تا ۱۰ درصد مربوط به دیابت نوع یک است (۱). افزایش شیوع دیابت با چاقی، کم‌تحرکی، سبک زندگی و رژیم غذایی پرکالری ارتباط مستقیم دارد. بالاترین نرخ‌ها در خاورمیانه، شمال آفریقا و جنوب شرق آسیا گزارش شده است که نشان‌دهنده نقش سبک زندگی و عوامل محیطی است. دیابت، عامل مرگ حدود ۷ میلیون نفر در سال است و هزینه‌های مستقیم و غیرمستقیم درمان آن بیش از ۹۶۶ میلیارد دلار برآورد می‌شود. شیوع بالا و روند افزایشی دیابت، به‌ویژه در کشورهای درحال توسعه، فشار اقتصادی و اجتماعی زیادی ایجاد کرده و نیاز به استراتژی‌های پیشگیری و درمانی مؤثر را افزایش می‌دهد (۱). دیابت در ایران طی چند دهه گذشته روند صعودی داشته و به یکی از مشکلات عمده سلامت عمومی تبدیل شده است. مطالعه‌های ملی و منطقه‌ای نشان داده‌اند که شیوع دیابت نوع دو در جمعیت بالغ ایران بین ۱۰ تا ۱۴ درصد است و حدود ۲۵ درصد از افراد جامعه نیز در مرحله پیش‌دیابت قرار دارند. در مناطق شهری شیوع دیابت نوع دو تقریباً ۲ برابر مناطق روستایی گزارش شده است که احتمالاً ناشی از سبک زندگی کم‌تحرک و تغییرهای رژیم غذایی است. روند افزایش دیابت هم‌زمان با رشد چاقی و سندرم متابولیک در جمعیت ایران دیده می‌شود (۷). چاقی و تجمع چربی احشایی شکمی با مقاومت به انسولین مرتبط است. همان‌طور که اشاره شد دیابت باعث افزایش هزینه‌های سلامت، کاهش کیفیت زندگی و افزایش مرگ‌ومیر ناشی از بیماری‌های قلبی، کلیوی و عروقی می‌شود. مطالعه‌ها نشان می‌دهند که به‌علت کنترل ضعیف گلوکز خون در بیماران دیابتی ایرانی با عوارض مزمن و طول عمر کمتر همراه است (۷).

۳ | درمان‌های فعلی دیابت و محدودیت‌ها

درمان‌های کنونی دیابت بر کنترل قندخون و پیشگیری از عوارض تمرکز دارند، اما توانایی بازسازی سلول‌های β را ندارند. داروهای خوراکی مانند متفورمین^۳ حساسیت بافت‌ها

به انسولین را افزایش و تولید گلوکز کبدی را کاهش می‌دهند. همچنین مهارکننده‌های DPP-4^۴ با افزایش نیمه‌عمر GLP-1، ترشح انسولین وابسته به گلوکز را تقویت می‌کنند. در این روش درمانی، بیمار تا آخر عمر وابسته به دارو خواهد بود و از طرفی این استرس وجود دارد که دارو در زمان مشخص خود مصرف شود. انسولین‌تراپی، به‌ویژه برای بیماران دیابت نوع یک، از جمله دیگر روش‌های درمانی است. در این روش تزریق انسولین جایگزین عملکرد از دست‌رفته سلول‌های بتا می‌شود. این روش اگرچه کنترل گلوکز را بهبود می‌بخشد، اما پاسخ فیزیولوژیک طبیعی و تنظیم دقیق انسولین را بازسازی نمی‌کند (۸). پیوند پانکراس و یا جزایر لانگرهانس به فرد بیمار نیز از جمله روش‌های جایگزینی است که می‌تواند در برخی از بیماران کنترل طبیعی گلوکز خون را بازگرداند. اما این روش نیز دارای مخاطرات و محدودیت‌هایی است که شامل کمبود اهداکننده، نیاز به سرکوب ایمنی طولانی‌مدت، ریسک عفونت و سرطان می‌باشد. با توجه به محدودیت‌های درمان‌های اشاره‌شده، سلول‌درمانی و جایگزینی سلول‌های بتای غیرعملکردی با سلول‌های بنیادی تمایز یافته به تولیدکننده انسولین به روشی نوین و امیدوارکننده تبدیل شده است. هدف این روش‌ها، بازسازی سلول‌های β و بازایی ترشح طبیعی انسولین بدون نیاز به دارو یا پیوند است.

۴ | سلول درمانی دیابت

همان‌طور که اشاره شد، دیابت به‌ویژه نوع یک آن یک بیماری خودایمنی است که در آن بدن سلول‌های بتای تولیدکننده انسولین در پانکراس را از بین می‌برد. برای دهه‌ها، درمان استاندارد، تزریق روزانه انسولین و مدیریت دقیق قندخون بوده است. اگرچه این روش‌ها نجات‌بخش هستند، اما درمان قطعی محسوب نمی‌شوند و بیماران را با چالش‌های روزانه و خطر عوارض بلندمدت رها می‌کنند. در این میان، سلول‌درمانی به‌عنوان یک رویکرد پیشگیرانه، نویدبخش درمانی ریشه‌ای و تغییردهنده زندگی برای میلیون‌ها نفر در سراسر جهان است (۹). این روش درمانی دارای مزیت‌هایی است که در ادامه به آن‌ها اشاره می‌گردد:

^۳ Metformin

^۴ Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor

^۱ Epidemiology

^۲ WHO

۱-۴ | درمان علت بیماری، نه تنها کنترل علائم

مهم‌ترین مزیت سلول درمانی، هدف قرار دادن ریشه مشکل است. این روش به بازسازی و جایگزینی سلول‌های بتای آسیب‌دیده یا از بین رفته در عوض جایگزینی خارجی انسولین می‌پردازد. با پیوند سلول‌های سالم، بدن دوباره توانایی طبیعی خود را برای تولید، ذخیره و ترشح انسولین در پاسخ به سطح گلوکز خون به دست می‌آورد (۱۰).

۲-۴ | دستیابی به کنترل متابولیک طبیعی و پایدار

تزریق انسولین هرگز نمی‌تواند تقلید کاملی از عملکرد ظریف و پویای پانکراس سالم باشد. سلول درمانی با بازگرداندن تولید داخلی انسولین، امکان کنترل قندخون با دقت و حساسیت بیشتری را فراهم می‌نماید. این امر منجر به کاهش نوسان‌های شدید قندخون (هایپرگلیسمی و هیپوگلیسمی) و رسیدن به سطح هموگلوبین A1C طبیعی‌تر می‌گردد (۱۱).

۳-۴ | کاهش یا حذف وابستگی به تزریق انسولین

برای بسیاری از بیماران، رهایی از تزریق‌های روزانه هدف نهایی است. سلول درمانی موفقیت‌آمیز می‌تواند به طور چشمگیری نیاز به انسولین خارجی را کاهش داده یا حتی به طور کامل حذف کند. این امر نه تنها بار فیزیکی بیماری را کم می‌کند، بلکه بار روانی و استرس ناشی از مدیریت مداوم دیابت را نیز به میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد (۱۲).

۴-۴ | پیشگیری از عوارض بلندمدت دیابت

کنترل پایدار و طبیعی قندخون، کلید جلوگیری از عوارض جدی دیابت مانند نارسایی کلیوی، آسیب‌های چشمی (رتینوپاتی)، نوروپاتی (آسیب عصبی) و بیماری‌های قلبی-عروقی است. با ارائه یک راه حل پایدار، سلول درمانی پتانسیل آن را دارد که از بروز این عوارض ناتوان‌کننده جلوگیری کرده، کیفیت زندگی و سلامت بلندمدت بیمار را نیز تضمین نماید (۱۳).

۵-۴ | بهبود چشمگیر کیفیت زندگی

رهایی از نظارت و تزریق مداوم، کاهش ترس از عوارض و احساس به دست آوردن کنترل مجدد بر بدن، به بهبودی شگفت‌انگیزی در کیفیت زندگی منجر می‌شود. بیماران می‌توانند انعطاف‌پذیری بیشتری در رژیم غذایی و فعالیت‌های روزمره خود داشته باشند و با آرامش خاطر بیشتری زندگی کنند (۱۴).

۶-۴ | استفاده از سلول‌های بنیادی به عنوان یک منبع نامحدود

امروزه پژوهش‌های بیشتری بر روی استفاده از سلول‌های بنیادی متمرکز شده‌اند. مطالعه‌های گسترده‌ای نیز نشان داده‌اند که این سلول‌های همه‌کاره را می‌توان به سلول‌های بتای عملکردی تبدیل نمود. این روش می‌تواند مشکل کمبود اهداکننده عضو را حل نماید و منبعی پایدار و قابل گسترش برای سلول‌های مورد نیاز پیوند فراهم آورد (۱۵). در یک نگاه کلی، اگرچه سلول درمانی برای دیابت هنوز در مراحل تحقیقاتی و کارآزمایی‌های بالینی پیشرفته قرار دارد و با چالش‌هایی برای غلبه بر آن همراه است، اما بدون شک آینده درمان این بیماری را متحول خواهد نمود. این رویکرد، با وعده درمان قطعی، نه تنها به کنترل علائم می‌پردازد بلکه با بازگرداندن عملکرد طبیعی بدن، امید به زندگی عاری از محدودیت‌های دیابت را در دل بیماران زنده کرده است. با شتاب گرفتن پژوهش‌ها، به نظر می‌رسد که سلول درمانی به زودی به یک واقعیت بالینی تبدیل شود و فصل جدیدی را در تاریخ مبارزه با دیابت آغاز نماید (۱۶).

۵ | تاریخچه سلول درمانی دیابت

تاریخچه سلول درمانی برای دیابت، داستان پیگیری جسورانه یک درمان ریشه‌کن‌کننده است. این تاریخچه را می‌توان به چند دوره کلیدی تقسیم‌بندی نمود:

۱-۵ | بنیان‌های اولیه درمان دیابت در قرن بیستم

در اوایل قرن بیستم و حتی قبل از کشف انسولین، دانشمندان می‌دانستند که پانکراس نقش کلیدی در تنظیم قندخون دارد. پس از کشف انسولین توسط فردریک بانتینگ^۱ و چارلز بست^۲ در سال ۱۹۲۲، که اساس یک درمان نجات‌بخش اما نه یک درمان قطعی بود، این سؤال مطرح شد که آیا می‌توان بخش تولیدکننده انسولین پانکراس را

² Charles Best

¹ Frederick Banting

یک بیمار، به جزایر حاصل از ۲-۳ پانکراسی اهدایی نیاز بود، از دست دادن تدریجی عملکرد که نشان داد در درازمدت تنها حدود ۱۰ درصد از بیماران پس از ۵ سال همچنان از انسولین بی‌نیاز بودند زیرا سیستم‌ایمنی بدن بسیاری از بیماران به تدریج به سلول‌های پیوندی حمله می‌کرد (رد پیوند) یا خود سلول‌ها در محیط جدید کبد دچار استرس و ناکارآمدی می‌شدند، عوارض داروهای سرکوبگر ایمنی در درازمدت و یا مادام‌العمر بیماران را در معرض خطر عفونت و عوارض دیگر قرار می‌داد که درنهایت این چالش‌ها، محققان را وادار به یافتن راه‌حل‌های جدیدی نمود (۲۱).

۳-۵ | عصر نوآوری با استفاده از سلول‌های بنیادی و فناوری‌های نوین (۲۰۱۰ تا به امروز)

در این دوره برای غلبه بر موانع اشاره‌شده در بالا، پژوهش‌ها برپایه سه راهبرد اصلی توسعه یافتند:

۱- توجه به سلول‌های بنیادی به‌عنوان یک منبع نامحدود: در این راستا تمرکز اصلی از پیوند به تولید سلول‌های ترشح‌کننده انسولین معطوف گردید. در این دوره، دانشمندان شروع به برنامه‌ریزی مجدد سلول‌های بنیادی پُرَتوان (hPSCs) شامل سلول‌های بنیادی جنینی و سلول‌های بنیادی پُرَتوان القایی (iPSCs) برای تمایز به سلول‌های بتای عملکردی کردند (۲۱، ۲۲). این فناوری می‌تواند منبعی نامحدود و در دسترس از سلول‌های تولیدکننده انسولین ایجاد کند. شرکت‌هایی مانند Vertex Pharmaceuticals با استفاده از سلول‌های بنیادی جنینی، به موفقیت‌های چشمگیری در کارآزمایی‌های بالینی دست یافته‌اند و اولین بیماران با سلول‌های مشتق از سلول بنیادی درمان شده‌اند (شکل ۱ و جدول ۱) (۲۳).

۲- فناوری کپسوله‌سازی^۲ سلول‌ها: برای حذف نیاز به داروهای سرکوبگر ایمنی، دانشمندان درحال توسعه پوشش‌های نانویی یا بیولوژیکی هستند که سلول‌های بتا را مانند یک پناهگاه احاطه می‌کنند. این پوشش‌ها مانند یک سد عمل می‌کنند به‌طوری که به گلوکز و انسولین اجازه تبادل می‌دهند، اما از ورود سلول‌های ایمنی مهاجم جلوگیری می‌کنند (۲۴).

۳- ویرایش ژن: از فناوری‌هایی مانند کریسپر برای ایجاد سلول‌های نامرئی برای سیستم‌ایمنی یا افزایش بقا و عملکرد سلول‌های بتا استفاده می‌شود (۲۵).

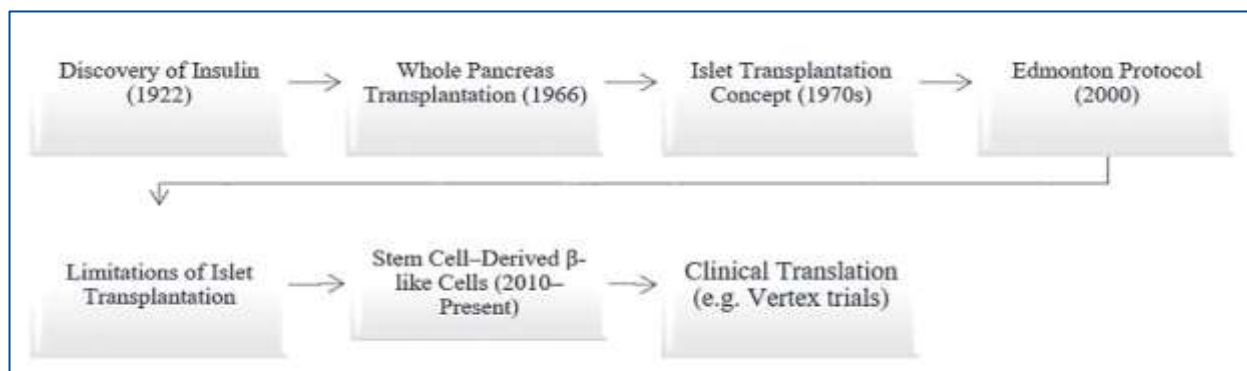
جایگزین نمودن نقطه عطف بزرگ در این زمینه، اولین پیوند موفق پانکراس در سال ۱۹۶۶ توسط دکتر ویلیام کلی^۱ و همکارانش در دانشگاه مینه‌سوتا بود. این عمل ثابت کرد که جایگزینی کل پانکراس می‌تواند قندخون را در بیماران دیابتی نرمال کند و آن‌ها را از تزریق انسولین بی‌نیاز نماید. بااین‌حال، این جراحی بسیار پیچیده، پرخطر و همراه با عوارض جانبی ناشی از داروهای سرکوبگر سیستم‌ایمنی بود و تنها برای تعداد محدودی از بیماران منتخب قابل انجام بود (۱۷، ۱۸).

۲-۵ | بنیان‌های اولیه سلول‌درمانی در اوایل قرن بیست‌ویکم (۲۰۰۰-۲۰۱۰)

به موازات پیوند عضو جامد، این سؤال مطرح شد که به‌جای پیوند کل پانکراس پُر عارضه، آیا می‌توان فقط بخش خاصی از آن را که حاوی جزایر لانگرهانس یا خوشه‌های سلولی حاوی سلول‌های بتای تولیدکننده انسولین است را پیوند زد؟ در اواخر دهه ۷۰ میلادی این ایده، اساس «سلول‌درمانی» مدرن را تشکیل داد (۱۹). چالش اصلی، جداسازی موفقیت‌آمیز این جزایر از پانکراس اهدایی و زنده نگه داشتن آن‌ها پس از پیوند بود. نقطه‌عطف این ایده تولد یک موفقیت بر مبنای پروتکل ادمونتون در سال ۲۰۰۰ بود. این اتفاق بزرگ‌ترین جهش در تاریخچه سلول‌درمانی دیابت، با انتشار مقاله تیم تحقیقاتی دکتر جیمز شاپیرو (James Shapiro) در دانشگاه آلبرتا (ادمونتون، کانادا) در مجله معتبر New England Journal of Medicine رخ داد. آن‌ها روشی به‌نام «پروتکل ادمونتون» (Edmonton Protocol) را معرفی کردند که برپایه چندین مؤلفه جهت پیوند جزایر لانگرهانس بود. مؤلفه‌های کلیدی پروتکل ادمونتون شامل استفاده از جزایر تازه و باکیفیت از چندین اهداکننده، تزریق جزایر به داخل کبد از طریق ورید باب به‌عنوان یک روش نسبتاً کم‌تهاجم و استفاده از یک رژیم دارویی سرکوبگر سیستم‌ایمنی جدید، قوی و بدون استروئید (غیرسمی برای سلول‌های جزایر) بود. در این مطالعه، تمامی ۷ بیمار مبتلا به دیابت نوع یک شدید، به‌طور کامل و برای مدت طولانی از وابستگی به انسولین رهایی یافتند. این موفقیت، توجه جهانیان را به خود جلب کرد و اثبات نمود که سلول‌درمانی می‌تواند دیابت نوع یک را درمان کند (۲۰). اما بااین‌حال پس از هیجان اولیه، چالش‌های پروتکل ادمونتون نیز به تدریج آشکار شد که شامل این موارد بود: کمبود شدید اهداکننده زیرا برای درمان

² Encapsulation

¹ William Kelly



شکل ۱- روند زمانی پیشرفت راهبردهای درمانی دیابت با تمرکز بر سلول‌درمانی و فناوری‌های نوین مبتنی بر سلول‌های بنیادی

جدول ۱- روند تاریخی درمان دیابت با استفاده از سلول‌های بنیادی

سال	رویداد یا دستاورد کلیدی	اهمیت
۱۹۹۸	جداسازی اولین سلول‌های بنیادی جنینی انسان (hESCs)	پایه و اساس علمی را برای تولید تمام انواع سلول‌ها، از جمله سلول‌های بتای سازنده انسولین فراهم کرد (۲۶).
۲۰۰۶	کشف سلول‌های بنیادی پُر توان القایی (iPSCs) توسط شینیا یاماناکا (Shinya Yamanaka)	به‌عنوان یک انقلاب بزرگ امکان ایجاد سلول‌های بنیادی از سلول‌های بالغ (مانند پوست) بیمار فراهم شد. این کار چالش‌های اخلاقی را کاهش داد و راه را برای پزشکی شخصی هموار نمود (۲۷).
دهه ۲۰۱۰	توسعه پروتکل‌های تمایز	دانشمندان (مانند دوگ ملتون (Doug Melton) به تدریج «دستورالعمل» دقیق برای هدایت hESCs و iPSCs به سمت تبدیل شدن به سلول‌های شبه-بتای عملکردی را کشف و بهینه کردند (۲۸).
۲۰۱۴	اثبات مفهوم در مدل‌های حیوانی	سلول‌های مشتق از سلول بنیادی به موش‌های دیابتی پیوند زده و این سلول‌ها بالغ شدند، انسولین را تولید و با موفقیت قندخون بالا را درمان کردند. این موضوع اثبات کرد که این روش در یک موجود زنده کارایی دارد (۲۸).
۲۰۲۰	شروع کارآزمایی‌های بالینی انسانی	انتقال علم از آزمایشگاه به کلینیک: شرکت‌هایی مانند Vertex Pharmaceuticals کارآزمایی‌های انسانی را با سلول‌های مشتق از hESCs با نام VX-880 آغاز کردند (۲۹).
۲۰۲۲-۲۰۲۳	انتشار نتایج موفقیت‌آمیز اولیه در انسان	Vertex گزارش داد که اولین بیماران تولید انسولین داخلی را از سر گرفتند و وابستگی به انسولین تزریقی را تا ۹۱ درصد کاهش دادند یا به‌طور کامل حذف کردند؛ که این موضوع این یک نقطه عطفی تاریخی بود (۳۰).
حال و آینده	تمرکز بر فناوری‌های کپسوله‌سازی و غلبه بر چالش‌ها	تمرکز فعلی بر روی توسعه پوشش‌ها (کپسول‌ها) برای محافظت از سلول‌های پیوندی در برابر حمله سیستم ایمنی بدون نیاز به داروهای سرکوبگر قوی و همچنین بهبود بلوغ و ماندگاری طولانی‌مدت سلول‌ها است (۳۱).

قابلیت خودتجدیدی، تمایز چندسویه و خصوصیات ایمونومدولاتوری، به عنوان گزینه‌ای ایده‌آل برای درمان دیابت بر مبنای سلول درمانی شناخته می‌شوند. این سلول‌ها می‌توانند به صورت مستقیم به سلول‌های شبه‌بتای تولیدکننده انسولین تمایز یابند و به خوبی بیان ژن‌های کلیدی نظیر *PDX1* و *NKX6.1* را نشان داده‌اند، این ژن‌ها نقش قابل توجهی در تمایز سلول‌های بنیادی به سلول‌های بتای پانکراسی دارند. علاوه بر این، MSCs از طریق ترشح فاکتورهای رشد، سایتوکاین‌ها و اگزوزوم‌ها محیط التهابی پانکراس را با بازتنظیم سیستم ایمنی بهبود بخشیده و به بازسازی بافت کمک می‌کنند. دسترسی آسان و خطر پایین تومورزایی از دیگر مزایای مهم این سلول‌هاست که آن‌ها را در پژوهش‌ها و کارآزمایی‌های بالینی بسیار جذاب می‌سازد (۳۳).

۴-۶ | سلول‌های پرتوان القایی (iPSCs)

این سلول‌ها از نوع سلول‌های پرتوان تمایزی می‌باشند که از طریق بازبرنامه‌ریزی با استفاده از فاکتورهای ژنی یاماناکا از سلول‌های سوماتیک بالغ به دست می‌آیند و دارای توانایی تمایز به انواع سلول‌ها از جمله سلول‌های شبه‌بتای پانکراسی هستند. در این سلول‌ها مسیرهای ژنی تمایز به سلول‌های بتای مشابه با سلول‌های بنیادی جنینی امکان فعال داشته و از این رو تولید سلول‌های تخصصی با عملکرد انسولین‌سازی را فراهم می‌کنند. از مزایای برجسته iPSCها، امکان استفاده از سلول‌های خود بیمار برای اجتناب از رد ایمنی است. با این حال، فرایندهای پیچیده تمایز و کنترل خطر تومورزایی، چالش‌های مهمی در استفاده بالینی آن‌ها به شمار می‌رود. در جدول ۲ به صورت خلاصه به این منابع اشاره شده است (۳۴).

۶ | انواع سلول‌های کاربردی در درمان دیابت با استفاده از سلول درمانی

۶-۱ | جزایر پانکراسی بالغ

همان‌طور که اشاره شد قدیمی‌ترین و اثبات‌شده‌ترین روش سلول درمانی در دیابت نوع یک، پیوند جزایر پانکراسی اهداکننده به بیماران است. این جزایر شامل سلول‌های بتای بالغ با توانایی طبیعی تولید انسولین هستند و می‌توانند کنترل گلوکز خون را بهبود دهند. با این حال، محدودیت‌های مهم این روش شامل کمبود شدید منابع اهداکننده، نیاز به مصرف مادام‌العمر داروهای سرکوب‌کننده سیستم ایمنی برای جلوگیری از رد پیوند، ریسک عوارض ناشی از داروها و سرکوب سیستم ایمنی است که کاربرد گسترده‌تر آن را محدود می‌کند (۳۲).

۶-۲ | سلول‌های بنیادی جنینی (ESCs)

سلول‌های بنیادی جنینی به دلیل قابلیت تکثیر نامحدود و توانایی تمایز به انواع سلول‌های تخصصی از جمله سلول‌های شبه‌بتا، به عنوان منبع بالقوه‌ای برای تمایز و تولید سلول‌های درمانی دیابت مطرح هستند. در این سلول‌ها امکان فعال‌سازی مسیرهای ژنی مهم در تمایز پانکراسی وجود دارد و از این رو حجم زیادی از سلول‌های شبه‌بتا را می‌توان تولید نمود. اما استفاده از ESCها با چالش‌های اخلاقی مرتبط با منشأ سلول‌ها و نیز خطر بالقوه تومورزایی همراه است که نیازمند طراحی دقیق پروتکل‌های ایمنی و کنترل کیفیت است (۳۲).

۶-۳ | سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs)

این نوع از سلول‌های بنیادی از منابع مختلفی مانند بافت چربی، مغز استخوان، بندناف و جفت مشتق شده و به دلیل

جدول ۲- انواع سلول‌های بنیادی مورد استفاده جهت تمایز به سلول‌های شبه بتای پانکراس

مرجع	کاربرد کلیدی	مزایا	نوع سلول و منبع
(۲۰)	کاربرد بالینی اثبات‌شده اما محدود به خاطر کمبود دهنده و نیاز به سرکوب سیستم ایمنی	عملکرد طبیعی و تولید انسولین فیزیولوژیک	جزایر لانگرهانس انسانی (Islet transplantation) پانکراس انسانی (اهداکننده)
(۲۸)	مناسب برای تولید سلول درمانی اما با نگرانی‌های ایمنی و اخلاقی	پتانسیل بالا برای تولید انبوه سلول‌های شبه‌بتا	سلول‌های بنیادی جنینی (hESCs)

سلول‌های پرتوان القایی (iPSCs)	امکان تولید سلول‌های به صورت اتولوگ	غلبه بر مخاطرات اخلاقی اما با وجود چالش‌های جهش ژنتیکی و ایمنی	(۲۷, ۳۵)
سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) چربی (ADSC)، مغز استخوان (BM- MSCs)، بندناف (UC/Wharton's jelly)	ایمن، دسترسی آسان، اثرهای ایمنومودولاتوری و پاراکرین	می‌توانند به فنوتیپ‌های شبه‌بنا سوق یابند؛ چندین کارآزمایی فاز I/II صورت گرفته است.	(۳۶)

سلول‌های بتا و افزایش رگ‌زایی در بافت پانکراس هستند که این مکانیسم در بازیابی عملکرد ترشحی پانکراس نقش اساسی ایفا می‌کند (۴۰, ۴۱).

۷-۲ | ویژگی تنظیم‌کنندگی سیستم ایمنی^۶

مطالعه‌ها نشان داده‌اند که در حوزه تنظیم ایمنی، MSCs با چند مکانیسم هم‌افزا عمل می‌کنند که شامل این موارد است: الف) سرکوب پاسخ لنفوسیت‌های T از طریق تولید عوامل سرکوب‌کننده مانند $TGF-\beta$ که موجب مهار تکثیر و فعالیت سیتوتوکسیک T می‌شود، ب) تغییر دادن قطبیت ماکروفاژها به سوی فنوتیپ M2 ضدالتهابی که با کاهش ترشح سیتوکاین‌های التهابی همراه است، ج) مهار بلوغ و ارائه آنتی‌ژن توسط سلول‌های دندریتیک که شروع پاسخ ایمنی را کند می‌سازد. این چندلایه‌بودن مکانیسم‌های ایمنومودولاتور موجب می‌شود MSCs هم‌زمان از سلول‌های بتا حفاظت کرده و التهاب موضعی را کاهش دهند، نکته‌ای با اهمیت ویژه در دیابت نوع یک که عامل اصلی واکنش خودایمنی و آسیب درمقابل سلول‌های بتا است. در مدل‌های حیوانی نشان داده شده است که تجویز MSCs باعث کاهش نفوذ لنفوسیتی به بافت جزایر لانگرهانس و بهبود بازمانده‌های عملکردی بتا شده که تأییدکننده عملکرد حفاظتی مؤثر آن‌هاست (۴۱, ۴۲). با توجه به توضیح‌های ارائه‌شده و گزارش‌های علمی موجود می‌توان عنوان کرد که MSCs به دلیل توانایی تمایز به فنوتیپ‌های شبه‌بتا و امکان فعال‌سازی ژن‌های شاخص پانکراسی مانند *MAFA* و *NKX6.1, PDX1* اثرهای پاراکرین و ایمنومودولاتوری، در شرایط القایی مناسب یکی از مهم‌ترین گزینه‌ها در سلول‌درمانی دیابت محسوب می‌شوند (۴۳, ۴۴). با این وجود، بلوغ کامل عملکردی و پاسخ مرحله‌ای به گلوکز به‌شدت تحت تأثیر منبع سلولی، پروتکل‌های القایی و وضعیت

۷ | سلول‌های بنیادی مزانشیمی به‌عنوان کاندید جهت درمان دیابت

MSCs به‌عنوان یک رده سلولی چندمنظوره، ترکیبی از سه ویژگی کلیدی را ارائه می‌دهند که آن‌ها را برای کاربرد در درمان دیابت با استفاده از سلول‌درمانی متمایز می‌سازد که شامل توان تمایز چندخطی، ترشح گستره‌ای از عوامل پاراکرین و قابلیت تنظیم پاسخ ایمنی میزبان می‌باشد. این عملکرد چندوجهی اجازه می‌دهد که MSCs به صورت مستقیم (از طریق تمایز به خطوط اندوکرینی) و غیرمستقیم (از طریق حمایت پاراکرین و تعدیل ایمنی) در بازیابی عملکرد پانکراس دخالت کنند، ویژگی‌ای که در مقایسه با روش‌های سنتی درمانی مانند جایگزینی انسولین یا پیوند بافتی، مزیت‌های بالقوه قابل توجهی فراهم می‌آورد (۳۷-۳۹).

۷-۱ | نقش پاراکرینی

یکی از برجسته‌ترین عملکردهای غیرمستقیم MSCs، نقش پاراکرینی آن‌هاست. سلول‌های بنیادی مزانشیمی فاکتورهای رشد پرو-آنژیوژنیک مانند $VEGF^1$ و HGF^2 و نیز سیتوکاین‌های ضدالتهابی مانند $IL-10^3$ و $TGF-\beta^4$ را ترشح می‌کنند. این فاکتورها از طریق القای رگ‌زایی، کاهش استرس اکسیداتیو و تحریک مسیرهای بازسازی، شرایط میکرومحیط پانکراس را برای بازتوانی سلول‌های بتا بهبود می‌دهند. افزون بر آن، وزیکول‌های خارج‌سلولی^۵ مشتق از MSCs حامل miRNA، پروتئین‌ها و لیپیدهایی هستند که می‌توانند مسیرهای سیگنالینگ سلول‌های گیرنده را بازبرنامه‌ریزی کنند و بدین ترتیب نه تنها بقای سلول‌های بتا را افزایش دهند بلکه مسیرهای التهابی موضعی را نیز تعدیل نمایند. مطالعه‌های پیش‌بالینی نشان داده‌اند که اگزوزوم‌های MSCs قادر به کاهش نرخ آپوپتوز

⁴ Transforming Growth Factor Beta

⁵ Exosomes

⁶ Immunomodulatory

¹ Vascular Endothelial Growth Factor

² Hepatocyte Growth Factor Receptor

³ Interleukin 10

و مولکولی با تکوین طبیعی پانکراس در دوران جنینی، توجه گسترده‌ای را در پژوهش‌های مهندسی بافت و پزشکی بازساختی به خود جلب کرده است. در این راهبرد مجموعه‌ای از فاکتورهای رشد، مولکول‌های کوچک و تنظیم‌کننده‌های اپی‌ژنتیکی به صورت مرحله‌ای به کار گرفته می‌شوند تا MSCs را از مرحله اندودرم قطعی تا پیش‌سازهای پانکراسی و در نهایت سلول‌های بالغ ترشح‌کننده انسولین هدایت کنند. این ترکیب‌ها با تنظیم مسیرهای سیگنالینگ کلیدی مانند *EGFR*, *RA*, *FGF*, *Wnt/β-catenin*, *Nodal/Activin A* موجب افزایش بیان ژن‌های اصلی تکوین پانکراس از جمله *MAFA*, *NEUROD1*, *SOX9*, *NKX6.1*, *PDX1* می‌شوند. موفقیت این فرایند کاملاً وابسته به زمان‌بندی و دوز دقیق این فاکتورها است، به طوری که تغییرهای جزئی در غلظت یا مدت‌زمان القا می‌تواند مسیر تمایز را منحرف کرده و سلول‌ها را به سمت سرنوشت‌های غیرپانکراسی هدایت کند (۵، ۵۱).

۹-۱ فاز اول: القای اندودرم قطعی^۱

در نخستین مرحله، هدف تبدیل MSCs به سلول‌هایی با ویژگی‌های مولکولی اندودرم قطعی است؛ مرحله‌ای که بنیان موفقیت مراحل بعدی تمایز را تشکیل می‌دهد. فعال‌سازی هم‌زمان مسیرهای *Nodal/Activin A* و *Wnt/β-catenin* از مهم‌ترین رویدادهای این فاز است. استفاده از (100 ng/ml) *Activin A* در کنار *CHIR* (3 μM) منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های اندودرم شامل *SOX17*, *FOXA2* و *CXCR4* می‌شود. محیط‌های عاری از سرم و دارای غلظت پایین گلوکز به طور معمول ترجیح داده می‌شوند، زیرا گلوکز بالا می‌تواند مسیرهای مزودرمی را تقویت نماید. مطالعه‌ها نشان داده‌اند که حضور کوتاه‌مدت *Wnt3a* در ۴۸ ساعت نخست باعث تقویت بیان ژن‌های اندودرم می‌شود، اما تداوم آن می‌تواند موجب انحراف سلول‌ها به مسیر مزودرم گردد. در پایان این مرحله، افزایش بیان *E-cadherin* و تغییر مورفولوژی به فرم اپی‌تلیوئیدی نشان‌دهنده موفقیت در عبور از فاز مزانشیمی و ورود به مرحله اندودرم است (۵۲، ۵۳).

۹-۲ فاز دوم: القای پیش‌ساز پانکراسی^۲

در مرحله دوم، هدف هدایت سلول‌های اندودرمی به سمت سرنوشت پانکراسی است. در این فاز از ترکیباتی استفاده

اپی‌ژنتیک قرار دارد و این مسئله منجر به ناهمگنی قابل توجه در نتایج مطالعه‌های مختلف می‌شود. به همین دلیل استانداردسازی جداسازی، تکثیر، تمایز و پیش‌فراوری MSCs یک ضرورت در مطالعه‌های پژوهشی و بالینی است (۴۵، ۴۶).

۸ پروتکل‌های تمایزی سلول‌های بنیادی مزانشیمی

به سلول‌های بتای پانکراسی

مطالعه‌ها نشان داده‌اند که تمایز MSCs به سلول‌های شبه‌بتا از طریق دو مسیر تمایزی به واسطه فاکتورهای شیمیایی و محرک‌های فیزیکی امکان‌پذیر است. در تمایز شیمیایی، محیط‌کشت با فاکتورهای رشد و سایر ریزمولکول‌های سیگنال‌دهنده، مسیرهای تنظیمی تکوین اندوکروینی را تقلید می‌کند که منجر به فعال شدن بیان ژن‌های کلیدی مانند *PDX1* و *NKX6.1* شده که گامی حیاتی جهت تمایز سلول‌های بنیادی به سلول‌های شبه‌بتا هستند (۴۷). در مقابل، تمایز فیزیکی بر پایه محرک‌ها و سیگنال‌های بیوفیزیکی میکرومحیط مانند سفتی بستر و ساختار سطح است که مسیرهای مکانوسنسینگ را فعال می‌کنند. مکانیسم‌های مهم در این مسیر شامل *integrin-FAK* و *YAP/TAZ* هستند که به واسطه تنظیم اسکلت اکتینی و ساختمان کروماتینی، تغییرهای ژنی مهم را ایجاد می‌کنند. مطالعه‌های اخیر نشان داده‌اند که شبیه‌سازی محیط بیوفیزیکی نیچ جزایر پانکراسی می‌تواند با فعال‌سازی مکانیسم‌های *YAP/TAZ*، تمایز مؤثرتر MSCs به سلول‌های شبه‌بتا را تسهیل کند (۴۸، ۴۹). با وجود این تفاوت‌ها، دو رویکرد شیمیایی و فیزیکی به هم گره خورده‌اند؛ هم‌ترازی آن‌ها می‌تواند منجر به تمایز کارآمدتر، بلوغ عملکردی و پاسخ‌پذیری بالا به گلوکز شود. مطالعه‌های آینده باید نشان دهند که چگونه می‌توان این دو مکانیسم را به شکلی ترکیبی به کار گرفت تا سلول‌هایی با عملکرد نزدیک‌تر به سلول بتای بالغ تولید نمود و قابلیت کاربرد در سلول‌درمانی دیابت را ارتقا داد (۵۰).

۹ روش‌های شیمیایی در تمایز سلول‌های بنیادی

مزانشیمی به سلول‌های شبه‌بتای پانکراس

تمایز شیمیایی MSCs به سلول‌های شبه‌بتا یکی از رایج‌ترین و بنیادی‌ترین رویکردها در تولید سلول‌های تولیدکننده انسولین به شمار می‌رود. این روش به دلیل شباهت ساختاری

² Pancreatic Progenitor Induction

¹ Definitive Endoderm Induction

تمایز افزایش می‌دهد (۵۱). Betacellulin. یکی از لیگندهای خانواده EGF، از طریق مسیر EGFR/PI3k، تکثیر سلول‌های پیش‌ساز پانکراسی را تحریک کرده و بیان *NKX6.1* را افزایش می‌دهد. علاوه بر این Forskolin (5 μ M) و (100 nM) Dexamethasone در بسیاری از پروتکل‌های بلوغ استفاده می‌شوند تا تنظیم متابولیسم گلوکز را بهبود بخشیده و عملکرد ترشحی را تقویت کنند. Forskolin با افزایش سطح cAMP، ترشح انسولین را تحریک می‌کند و Dexamethasone با اثر ضدالتهابی خود، استرس اکسیداتیو ناشی از تمایز را کاهش می‌دهد (۵۸، ۵۹). مطالعه‌ها بیانگر این امر هستند که افزودن ترکیب فوق به محیط تمایز در روزهای ۱۰ تا ۱۴ موجب افزایش معنی‌دار بیان *INS*، *UCN3* و *MAFA* و نیز بهبود شاخص $GSIS^4$ به‌ویژه نشانگر بلوغ عملکردی سلول‌های شبه‌بتا و توان پاسخ‌دهی فاز دوم ترشح انسولین است (۶۰-۶۲).

۹-۴ | نقش تنظیمات اپی‌ژنتیکی و microRNAها در بهبود تمایز شیمیایی

در سال‌های اخیر، ادغام رویکردهای اپی‌ژنتیکی با روش‌های شیمیایی، پیشرفت قابل‌توجهی در بازده و کیفیت سلول‌های شبه‌بتا ایجاد کرده است. مهارکننده‌های HDAC مانند Trichostatin A (TSA) و Valproic Acid (VPA) با کاهش فشاردگی کروماتین، دسترسی ژنی را افزایش داده و بیان *PDX1*، *INS* و *MAFA* را تقویت می‌کنند. اضافه کردن VPA در روزهای ۵ تا ۱۰ تمایز افزایش چندبرابری بیان *INS* را به دنبال دارد. microRNAهای کلیدی مانند miR-375 و miR-7 نیز در بلوغ عملکردی نقش محوری دارند؛ miR-375 با هدف‌گیری ژن‌هایی نظیر *PAX6* و *MYT1* گذار به سمت سلول بتای بالغ را تسهیل می‌کند و miR-7 با کاهش فعالیت mTOR حساسیت به گلوکز را افزایش می‌دهد. به همین دلیل، بسیاری از پروتکل‌های به‌روز از ترکیب فاکتورهای شیمیایی و اپی‌ژنتیک استفاده می‌کنند (۶۳، ۶۴). مزایای تمایز برپایه فاکتورهای شیمیایی شامل قابلیت ایجاد جمعیت‌های یکنواخت، کنترل‌پذیری بالا در مسیر تمایز، امکان تقلید نسبی مسیرهای تکوین طبیعی، بازده مطلوب تمایز به سلول‌های شبه‌بتا و مناسب بودن برای مدل‌سازی *in-vitro* و مطالعه‌های پیش‌بالینی می‌باشد اما از طرفی دارای

می‌شود که مسیرهای RA، BMP^۱ و Hedgehog را به‌طور هدفمند تنظیم می‌کنند. مطالعه‌ها گزارش کرده‌اند که ترکیب Retinoic Acid (2 μ M)، FGF10 (50 ng/mL) و Noggin (100 ng/mL) طی پنج روز، موجب القای بیان ژن‌های *HNF6*، *PDX1* و *SOX9* در MSCs می‌شود (۵۴). همچنین Retinoic Acid نقش تعیین‌کننده‌ای در سرکوب مسیر Hedgehog دارد که در تکوین پانکراسی جنینی باید مهار شود (۵۵). هم‌زمان FGF10 با فعال‌سازی مسیر MAPK/ERK موجب تکثیر سلول‌های پیش‌ساز و افزایش بیان ژن *PDX1* می‌گردد (۵۶). یکی از جنبه‌های نوظهور در این فاز، استفاده از محیط‌های کشت سه‌بعدی یا داربست‌های ماتریکسی زیست‌تقلیدی است که شباهت بیشتری به محیط تکوینی طبیعی دارند. گزارش شده که القای *PDX1* در محیط سه‌بعدی هیدروژلی نسبت به محیط دو‌بعدی به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (۵۷). علاوه بر این، افزودن ترکیب‌هایی مانند ITS^۲ و Ascorbic Acid می‌تواند پایداری ساختار سلولی را در طی فرایند تمایز افزایش دهد (۲۲). در پایان این فاز، سلول‌ها دارای بیان بالای *PDX1* و *HNF6* و همچنین بیان متوسط *SOX9* و *NKX6.1* هستند. این پروفایل ژنی نشانگر تبدیل موفق به پیش‌ساز پانکراسی اولیه است. در این حالت، سلول‌ها هنوز فاقد توان ترشح انسولین هستند، اما آماده ورود به مرحله نهایی تمایز می‌باشند.

۹-۳ | فاز سوم: بلوغ نهایی و القای سلول‌های شبه‌بتا^۳

مرحله سوم، مهم‌ترین و چالش‌برانگیزترین فاز در تمایز شیمیایی محسوب می‌شود، زیرا در این مرحله باید سلول‌های پیش‌ساز به سلول‌هایی با توانایی ترشح انسولین وابسته به گلوکز تبدیل شوند. در این فاز از ترکیب‌های متعددی برای فعال‌سازی مسیرهای مولکولی کلیدی استفاده می‌شود. Exendin-4، آنالوگ GLP-1، با فعال‌سازی مسیر cAMP/PKA موجب افزایش بیان ژن‌های *INS* و *MAFA* شده و پاسخ ترشحی سلول‌ها به گلوکز را تقویت می‌کند (۲۲). Nicotinamide نیز به‌عنوان مهارکننده PARP1 عمل می‌کند و با افزایش سطح NAD⁺ درون سلولی، پایداری متابولیک و بقای سلولی را در طی

³ B-Like Cell Maturation

⁴ Glucose-Stimulated Insulin Secretion

¹ Bone Morphogenetic Protein

² Insulin-Transferrin-Selenium

محدودیت‌هایی چون وابستگی به فاکتورهای رشد گران‌قیمت، زمان طولانی لازم برای بلوغ کامل، ناتوانی در بازسازی کامل میکرومحیط پیچیده پانکراس، بلوغ ناکامل سلول‌های شبه‌بتا و پاسخ به گلوکز ضعیف‌تر نسبت به سلول‌های بتای طبیعی می‌باشد (۶۵، ۶۶).

برای غلبه بر این محدودیت‌ها، رویکردهای جدید شامل استفاده ترکیبی محرک‌های فیزیکی و یا مدل‌سازی نیچ‌های سلولی که کارکردشان بر پایه محرک‌های مکانیکی و فیزیکی است توسعه یافته‌اند که می‌توانند کیفیت بلوغ و پایداری عملکردی سلول‌ها را به‌طور قابل‌توجهی افزایش دهند.

۱۰ روش‌های فیزیکی در تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سلول‌های شبه‌بتای پانکراس

در دهه‌های اخیر، شواهد نشان داده‌اند که فرایندهای تمایزی سلول‌های بنیادی نه تنها تحت کنترل عوامل بیوشیمیایی، بلکه به‌طور بنیادین وابسته به ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی محیط پیرامون سلول هستند. در بافت‌های زنده، سلول‌ها در تعامل دائم با ماتریکس خارج سلولی قرار دارند و این ماتریکس از طریق پارامترهایی نظیر سختی، کشش، الاستیسیته و توپوگرافی سطحی قادر است مسیر تکوین و سرنوشت سلولی را جهت‌دهی نماید (۶۷). این شناخت موجب شکل‌گیری شاخه‌ای نوظهور در زیست‌فناوری و پزشکی بازساختی شده است که با عنوان تمایز فیزیکی^۱ شناخته می‌شود و مکمل روش‌های شیمیایی کلاسیک در تمایز سلول به‌شمار می‌رود (۶۸). اساس این رویکرد بر دو فرایند کلیدی استوار است: مکانوسنسینگ که شامل دریافت فعالانه سیگنال‌های فیزیکی-مکانیکی توسط گیرنده‌های سطحی همچون اینتگرین‌ها می‌باشد و مکانوترانسداکشن که تبدیل این نیروهای فیزیکی-مکانیکی به پاسخ‌های سلولی از طریق مسیرهای درون سلولی مرتبط با شبکه اسکلت سلولی و انتقال به هسته است. فعال‌سازی کمپلکس‌های چسبندگی کانونی و تنظیم دینامیک اسکلت سلولی در این فرایند منجر به فعال شدن مسیرهای سیگنالینگ مهمی شامل FAK، RhoA/ROCK و YAP/TAZ می‌شود که مستقیماً بیان‌ژن‌های مرتبط با تکوین و بلوغ سلول‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۶۷). به همین دلیل، اعمال محرک‌های مکانیکی

² Cell Imprinting

³ Good Manufacturing Practice

¹ Mechanical/Biophysical Differentiation

۱-۱۰ | نقش مکانوسنسینگ و مکانوترنسداکشن در

تنظیم رفتار MSCsها

مکانوسنسینگ^۱ فرایندی است که طی آن سلول‌ها قادرند محرک‌های مکانیکی محیط اطراف خود را شناسایی و به آن پاسخ دهند. این محرک‌ها شامل تغییرهایی در سختی بستر، نیروهای کششی و فشاری، جریان مایعات و ویژگی‌های سطحی می‌شوند که به‌طور مستقیم بر رفتار، سرنوشت و عملکرد سلول‌ها تأثیر می‌گذارند. MSCs، به‌عنوان سلول‌هایی چندتوان که توانایی تمایز به انواع مختلف سلول‌های تخصصی را دارند حساسیت ویژه‌ای به این سیگنال‌های مکانیکی نشان می‌دهند و مسیرهای تمایزی آن‌ها از طریق ساختارهای مکانوسنسینگ خاصی هدایت می‌شود.

یکی از اجزای اصلی مکانوسنسینگ در MSCsها، مولکول‌هایی به نام اینتگرین‌ها هستند که نقش گیرنده‌های اتصال سلول به ماتریکس خارج سلولی^۲ را ایفا می‌کنند. اینتگرین‌ها با اتصال به پروتئین‌های ECM و فیلامان‌های اسکلت سلولی، نیروهای مکانیکی را به سیگنال‌های بیوشیمیایی تبدیل می‌کنند. همچنین، خوشه‌های کانونی^۳ که شامل پروتئین‌هایی مانند کیناز خوشه کانونی^۴ هستند، نقش مهمی در انتقال این سیگنال‌ها به داخل سلول دارند. فعال‌سازی FAK مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با تمایز، تکثیر و حرکت سلولی را تنظیم می‌کند (۷۱، ۷۲). پس از دریافت این سیگنال‌ها، نیروهای فیزیکی-مکانیکی از طریق اسکلت سلولی شامل میکروفیلامان‌ها، میکروتوبول‌ها و رشته‌های اکتین به بخش‌های داخلی سلول منتقل می‌شوند و منجر به فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ متعددی می‌گردند که بر بیان‌ژن‌های مرتبط با تمایز تأثیرگذار هستند. یکی از مسیرهای مهم فعال‌شده توسط مکانوسنسینگ، مسیر YAP^۵/TAZ^۶ است. این دو فاکتور رونویسی که نسبت به نیروهای مکانیکی حساس هستند، در پاسخ به افزایش سختی بستر به هسته سلول منتقل شده و ژن‌های مربوط به رشد، بقای سلولی و تمایز را تنظیم می‌کنند. نقش YAP/TAZ در تعیین سرنوشت تمایزی MSCها، به‌ویژه در تمایز به سلول‌های استخوانی و شبه‌بنا به‌خوبی شناخته شده است. مسیر RhoA/ROCK نیز از مسیرهای مهم مکانوسنسینگ است که با تنظیم ساختار اکتین و تشکیل

فیبرهای استرس، به کنترل شکل، سختی سلول و مسیرهای تمایزی کمک می‌کند. فعال‌سازی RhoA موجب افزایش فعالیت ROCK شده و بازآرایی ساختار اسکلت سلولی را موجب می‌شود که این فرایند موجب انتقال سیگنال‌های مکانیکی به هسته سلول می‌شود. همچنین، تعامل این مسیرهای مکانیکی با مسیرهای سیگنالینگ کلاسیک مانند Wnt/ β -catenin و Notch نقش مهمی در تنظیم دقیق تمایز MSCها ایفا می‌کند. برای نمونه، فعال شدن YAP/TAZ می‌تواند مسیر Wnt را تعدیل کرده و روند تمایز را کنترل نماید. کانال‌های یونی حساس به کشش مانند TRPV4 و Piezo1 نیز در فرایند مکانوسنسینگ نقش اساسی دارند. این کانال‌ها با پاسخ به فشار و کشش، ورود کلسیم و سایر یون‌ها را تنظیم کرده و مسیرهای سیگنالینگ ثانویه‌ای مانند MAPK و NF- κ B را فعال می‌کنند. ورود کلسیم به‌عنوان پیام‌رسان داخلی، تأثیر گسترده‌ای بر تنظیم مسیرهای سلولی و رفتار MSCها دارد (۷۳).

در مجموع، مکانوسنسینگ و مکانوترنسداکشن در MSCها شبکه‌ای پیچیده و چندلایه از مسیرهای سیگنالینگ را تشکیل می‌دهند که همراه با سیگنال‌های شیمیایی، سرنوشت تمایزی، بقای سلولی و عملکرد آن‌ها را تعیین می‌کنند. درک بهتر این فرایندها و تعامل آن‌ها با محیط فیزیکی می‌تواند منجر به توسعه روش‌های بهینه‌تر برای تمایز MSCها به سلول‌های شبه‌بنا شود که در نهایت تولید سلول‌های بالغ‌تر و کارآمدتر برای درمان دیابت را ممکن می‌سازد.

۱-۲ | تأثیر سختی بستر بر مسیر تمایز MSCها به

سلول‌های شبه‌بنا

سختی بستر یا مدول الاستیسیته^۷، از مهم‌ترین عوامل فیزیکی-مکانیکی است که نقش اساسی در هدایت مسیرهای تمایزی MSCs ایفا می‌کند. این ویژگی توسط حسگرهای مکانیکی سلول، مانند اینتگرین‌ها و خوشه‌های کانونی شناسایی شده و منجر به فعال‌سازی پاسخ‌های بیوشیمیایی و تنظیمی ژنتیکی متعددی می‌شود. مطالعه‌هایی نیز نشان داده‌اند که MSCsها بسته به سختی بستر قادر به تمایز به خطوط سلولی مختلف هستند؛ به‌عنوان نمونه، بسترهای نرم

^۵ Yes-Associated Protein^۶ Transcriptional Co-Activator with PdZ-Binding Motif^۷ Elastic Modulus^۱ Mechanosensing^۲ Ecm^۳ Focal Adhesion^۴ Fak

شیرها، نقاط و گودال‌های کوچک هستند که سلول‌ها آن‌ها را از طریق سازوکارهای مکانوسنسینگ شناسایی می‌کنند. مطالعه‌های بسیاری تأییدکننده نقش قابل توجه توپوگرافی در هدایت تمایز سلول‌های بنیادی، به‌ویژه MSCs به سلول‌های تخصصی چون سلول‌های شبه‌بنا است. فناوری Cell Imprinting یکی از رویکردهای نوین در حوزه بیومواد و مهندسی بافت است که با بازسازی دقیق توپوگرافی و مورفولوژی اختصاصی سلول، میکرومحیط فیزیکی مناسبی را همچون نیچ‌ها فراهم می‌کند تا MSCs به متمایز شدن به سلول‌های موردنظر هدایت شوند. یک مطالعه‌ای جدید نشان داده است که این روش امکان تمایز سلول MSCs را به سلول‌های شبه‌بنا پانکراس فراهم می‌کند. در این روش، ابتدا از سلول‌های بتای بالغ یا شبه‌بنا با استفاده از پلیمر سیلیکونی PDMS قالب گرفته می‌شود و به‌طوری که الگوی توپوگرافی و ژئومتری اختصاصی سلول به‌صورت برجستگی‌ها و فرورفتگی‌هایی مشابه سلول طبیعی بر سطح مواد PDMS منتقل می‌گردد. در شکل ۲ مراحل انجام تکنیک Cell Imprinting به‌طور شماتیک نشان داده شده است (۷۳، ۷۷). با قرارگیری سلول بنیادی در این الگوهای سلولی پرنیت‌شده، گیرنده‌های مکانیکی سلول به‌ویژه اینترگرین‌ها تحریک شده و تشکیل خوشه‌های کانونی تسهیل می‌گردد. به‌دنبال آن، مسیرهای سیگنالینگ مکانیکی نظیر FAK، RhoA/ROCK و YAP/TAZ فعال می‌شوند. فعال‌سازی این مسیرها تغییرهای ژنتیکی قابل‌توجهی را در MSCs به‌دنبال داشته و بیان ژن‌های کلیدی تمایز مانند انسولین، *PDX1* و *MAFA* را به‌طور چشمگیری افزایش می‌دهد. علاوه بر این، فناوری Cell Imprinting عملکرد تمایزی MSCs را بهبود می‌بخشد، به‌طوری که سلول‌های تمایز یافته قادر به ترشح انسولین در پاسخ به افزایش سطح گلوکز هستند؛ امری که نشان‌دهنده بلوغ و شباهت عملکردی این سلول‌ها به سلول‌های بتای طبیعی می‌باشد. همچنین، مطالعه‌های متعددی نشان داده‌اند که توپوگرافی سطح نه تنها بر بیان ژن‌های تمایز اثرگذار است، بلکه می‌تواند شکل سلول، سازمان‌دهی اسکلت سلولی و حتی متابولیسم سلولی را تغییر دهد. این تغییرهای فیزیولوژیک در نهایت ظرفیت تمایزی و بلوغ سلول‌ها را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند. از سوی دیگر، فناوری Cell Imprinting این پتانسیل را دارد که در ترکیب با سایر محرک‌های فیزیکی و شیمیایی مانند سختی بستر و عوامل رشد، به‌صورت سینرژیک عمل

با مدول الاستیسیته در محدوده ۰/۱ تا ۱ کیلوپاسکال تمایل به متمایز شدن سلول‌های عصبی را افزایش می‌دهند، درحالی‌که بسترهای با سختی متوسط (حدود ۸ تا ۱۷ کیلوپاسکال) تمایز به سلول‌های عضلانی را تسهیل می‌کنند. علاوه بر این، سختی‌های بالاتر (بین ۲۵ تا ۴۰ کیلوپاسکال) موجب تمایل سلول‌ها به تمایز استخوانی می‌گردند (۷۴). این نتایج تأکید بر اهمیت انتخاب دقیق و کنترل‌شده سختی بستر برای هدایت بهینه تمایز سلولی دارد. در زمینه تمایز MSCs به سلول‌های شبه‌بنا پانکراس، پژوهش‌های اخیر نشان داده‌اند که بسترهایی با سختی نزدیک به بافت طبیعی پانکراس (حدود ۱ تا ۵ کیلوپاسکال) در کنار فاکتورهای شیمیایی باعث افزایش قابل‌توجه بیان ژن‌های کلیدی تمایز مانند *INS*، *PDX1* و *MAFA* می‌شوند. این ژن‌ها نقش مهمی در بلوغ و عملکرد سلول‌های بتا ایفا می‌کنند و افزایش بیان آن‌ها نشان‌دهنده عملکرد بهبودیافته سلول‌های تمایز یافته است (۲۴). از دیدگاه مکانیکی، سختی بستر بر سازمان‌دهی اسکلت سلولی و تشکیل خوشه‌های کانونی تأثیر گذاشته که خود موجب فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ مکانیکی همچون RhoA/ROCK، FAK و YAP/TAZ می‌شود. بنابراین، سختی بستر نه تنها به‌عنوان یک پارامتر فیزیکی بلکه محرکی برای تعدیل مسیرهای بیوشیمیایی و ژنتیکی MSCs عمل می‌کند. در مقابل، سختی‌های بسیار بالا (بیش از ۳۰ کیلوپاسکال) سلول‌ها را به سمت تمایز استخوانی سوق می‌دهند که برای تولید سلول‌های شبه‌بنا مطلوب نیست و سختی‌های بسیار پایین نیز موجب تمایز عصبی می‌شوند که با هدف تولید سلول‌های شبه‌بنا ناسازگار است. کنترل دقیق سختی بستر در فرایندهای کشت و تمایز MSCs، به‌عنوان یک ابزار فیزیکی مؤثر، می‌تواند کیفیت و عملکرد سلول‌های شبه‌بنا تولیدشده را به‌طور چشمگیری بهبود بخشد و نقش کلیدی در توسعه درمان‌های مبتنی بر سلول برای دیابت ایفا کند (۷۵، ۷۶).

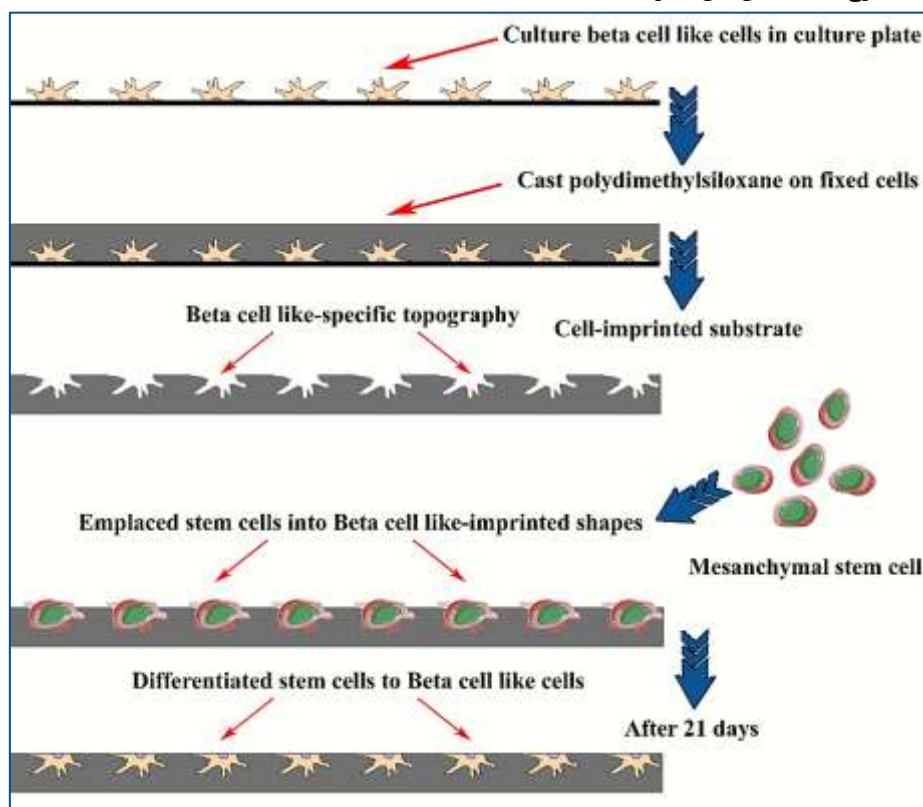
۱۰-۳ نقش توپوگرافی سطح و فناوری Cell

Imprinting در تمایز MSCs به سلول‌های شبه‌بنا

توپوگرافی سطح کشت به ویژگی‌های سه‌بعدی بستر کشت در مقیاس میکرو-نانومتری گفته می‌شود که می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی بر رفتار و سرنوشت سلولی تأثیرگذار باشد. این ساختارهای میکرو-نانومتری شامل الگوهایی از برآمدگی‌ها،

بیشتر جهت استانداردسازی پروتکل‌ها و بهینه‌سازی شرایط کشت برای تحقق کاربرد صنعتی و بالینی این فناوری احساس می‌شود. در شکل ۳ نقش محرک‌های فیزیکی سطح در چگونگی هدایت تمایز MSCs‌ها به سلول‌های شبه‌بتا نشان داده شده است (۷۸، ۷۹).

کرده و بازده تمایز MSCs‌ها به سلول‌های شبه‌بتا را به‌طور چشمگیری افزایش دهد. با توجه به نتایج امیدوارکننده و پتانسیل بالای این فناوری، Cell Imprinting به‌عنوان یک رویکرد پیشرفته در مهندسی بافت و تولید سلول‌های شبه‌بتا برای درمان دیابت مطرح است. بااین‌حال، نیاز به مطالعه‌های



شکل ۲- مراحل انجام تکنیک Cell Imprinting جهت تمایز فیزیکی سلول‌های بنیادی به سلول‌های شبه‌بتای تولیدکننده انسولین. در این روش، ابتدا MSCs تحت شرایط استاندارد کشت داده می‌شوند و پس از رسیدن به تراکم سلولی مناسب، به‌عنوان سلول‌های هدف برای تمایز مورد استفاده قرار می‌گیرند. هم‌زمان، بسترهای قالب‌گیری شده از سلول‌های شبه‌بتای طبیعی پانکراس با استفاده از پلی‌دی‌متیل‌سیکوکسان (PDMS) تهیه می‌شوند تا ویژگی‌های فیزیکی و توپولوژیکی سطح سلول‌های بتا شبه‌سازی گردد. در ادامه، MSCs بر روی این بسترهای زیست‌الگوبرداری شده کشت داده شده و تحت شرایط انکوباسیون مناسب قرار می‌گیرند تا فرایند تمایز القا شده توسط ریزمحیط فیزیکی آغاز شود. پس از سپری شدن مدت زمان مورد نیاز برای تمایز (۲۱ روز)، سلول‌های تمایز یافته از نظر مورفولوژیکی، عملکردی و مولکولی مورد ارزیابی و تحلیل قرار می‌گیرند (۶۹، ۸۰).



شکل ۳- فلوچارت مفهومی نقش محرک‌های فیزیکی سطح در چگونگی هدایت تمایز MSCs‌ها به سلول‌های شبه‌بتا.

کشت سه‌بعدی به‌عنوان رویکردی پیشرفته در مهندسی بافت و زیست‌شناسی سلولی، امکان بازسازی محیط طبیعی و

۱۰-۴ | کشت سه‌بعدی و شبیه‌سازی ساختار طبیعی پانکراس در تمایز MSCs‌ها به سلول‌های شبه‌بتا

نیز فراهم می‌کند که برای استفاده بالینی در درمان دیابت بسیار حیاتی است. با این حال، چالش‌هایی مانند بهینه‌سازی ساختارهای سه‌بعدی، کنترل شرایط میکرومحیطی و استانداردسازی پروتکل‌ها برای مقیاس صنعتی هنوز وجود دارد که نیازمند تحقیقات بیشتری است (۸۲، ۸۳).

۱۱ | چالش‌ها و چشم‌انداز آینده در استفاده از رویکردهای فیزیکی و مکانیکی برای تمایز MSCs ها به سلول‌های شبه‌بتا

با وجود پیشرفت‌های چشمگیر در به‌کارگیری رویکردهای فیزیکی و مکانیکی برای هدایت تمایز MSCs به سلول‌های شبه‌بتای پانکراس، چالش‌ها و محدودیت‌های متعددی هنوز مانع انتقال این دانش از آزمایشگاه به کاربردهای بالینی و صنعتی است. یکی از مهم‌ترین مشکلات، عدم استانداردسازی پارامترهای فیزیکی و مکانیکی مؤثر مانند سختی بستر، توپوگرافی سطح و میزان تحریک مکانیکی است که در مطالعه‌های مختلف متغیر و گاهی ناسازگار گزارش شده‌اند. این موضوع موجب دشواری در تکرارپذیری نتایج و طراحی پروتکل‌های قابل‌اعتماد می‌شود. توسعه فناوری‌ها و دستگاه‌های دقیق و قابل‌تنظیم برای کنترل این پارامترها اهمیت فراوانی دارد. چالش دیگر به پیچیدگی‌های زیستی محیط کشت سه‌بعدی بازمی‌گردد که هنوز نتوانسته است به‌طور کامل شرایط فیزیولوژیک پانکراس را از نظر ترکیب مولکولی، مکانیکی و شیمیایی بازسازی کند. این محدودیت‌ها می‌توانند بلوغ عملکردی و پایداری سلول‌های شبه‌بتا را تحت‌تأثیر قرار دهند. همچنین، انتقال این فناوری‌ها به تولید صنعتی و بالینی نیازمند رعایت استانداردهای GMP و تضمین ایمنی و اثربخشی سلول‌های تولیدشده است که مستلزم توسعه سیستم‌های خودکار، استانداردشده و روش‌های دقیق ارزیابی عملکرد سلول‌ها می‌باشد (۸۲).

چشم‌انداز آینده این حوزه بر تلفیق فناوری‌های فیزیکی با محرک‌های شیمیایی و زیستی تمرکز دارد تا مسیرهای تمایز مختلف بهینه شوند. به‌کارگیری بیومواد هوشمند با پاسخ‌دهی به تحریک‌های محیطی، فناوری‌های نانو برای تحویل هدفمند عوامل تمایزی و استفاده از هوش مصنوعی در طراحی و بهینه‌سازی پروتکل‌ها، از رویکردهای نوین و امیدوارکننده هستند. همچنین، توسعه مدل‌های پیچیده‌تر *in-vitro* با ادغام

پیچیده بافت‌ها را فراهم می‌کند؛ محیطی که کشت‌های دوبعدی معمول قادر به شبیه‌سازی آن نیستند. در زمینه تمایز MSCs به سلول‌های شبه‌بتای پانکراس، استفاده از کشت سه‌بعدی برای بازسازی ساختار سه‌بعدی جزایر لانگرهانس و فراهم کردن تعامل‌های سلولی و ماتریکسی مشابه شرایط *in-vivo* اهمیت فراوانی دارد. در این روش، سلول‌ها در ساختارهایی مانند اسفنج‌ها، هیدروژل‌ها یا اسکافولد‌های زیست‌سازگار قرار می‌گیرند که امکان تعامل فضایی، چسبندگی چندجانبه و تبادل سیگنال‌های شیمیایی و مکانیکی را فراهم می‌کنند. این ویژگی‌ها منجر به بهبود بقا، تکثیر و تمایز سلولی شده و بلوغ عملکردی سلول‌های شبه‌بتا را تسهیل می‌کند (۸۱، ۸۲). یکی از مهم‌ترین مزایای کشت سه‌بعدی، شبیه‌سازی شرایط فیزیولوژیک مانند ساختار فضایی، توزیع مواد مغذی، اکسیژن و حذف مواد زائد است که در مدل‌های دوبعدی به‌خوبی قابل‌انجام نیست؛ امری که بسیار حیاتی است برای سلول‌های شبه‌بتا که به محیط‌های متغیر حساس هستند. فناوری‌های پیشرفته‌تر، مانند سیستم‌های میکروفلوئیدیک، فشار هیدرودینامیکی و جریان مایع کنترل‌شده، تحریک مکانیکی دینامیک را افزایش داده و سیگنالینگ داخل سلولی را بهبود می‌بخشند (۸۴-۸۲). این تحریک مکانیکی موجب فعال‌سازی مسیرهای مکانوسنسینگ مانند YAP/TAZ می‌شود که به نوبه خود بیان‌ژن‌های کلیدی تمایز و عملکرد انسولین ترشحی را افزایش می‌دهند (۸۱). استفاده از هیدروژل‌های زیست‌سازگار مانند آلژینات، ژلاتین متاکریلات و پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) به‌عنوان بستر کشت سه‌بعدی، به‌دلیل قابلیت تنظیم خواص فیزیکی و شیمیایی، شرایط تمایز را بهینه می‌کند. این هیدروژل‌ها با افزودن عوامل زیستی و ساختارهای میکروسکوپی، محیطی مشابه ماتریکس خارج سلولی طبیعی پانکراس را شبیه‌سازی می‌کنند. مطالعه‌های متعددی نشان داده‌اند که MSCs های کشت یافته در محیط‌های سه‌بعدی، نسبت به کشت‌های دوبعدی بیان‌ژن‌های کلیدی تمایز به سلول‌های شبه‌بتا مانند *PDX1*، *NKX6.1* و *INS* را افزایش داده و ترشح انسولین وابسته به گلوکز آن‌ها را بهبود می‌بخشند. در نهایت، کشت سه‌بعدی نه‌تنها بلوغ عملکردی سلول‌های شبه‌بتا را بهبود می‌دهد، بلکه امکان تولید انبوه این سلول‌ها با کیفیت بالا را

¹ Polyethylene Glycol

ملاحظات اخلاقی، موردی برای ارجاع به کمیته اخلاق گزارش نمی‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بدین وسیله مراتب سپاس و قدردانی خود را از افرادی که با حمایت‌ها و همراهی‌های علمی و اجرایی خود در دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) و دانشگاه آزاد واحد علوم پزشکی به صورت مستقیم یا غیرمستقیم در تدوین این مقاله نقش داشته‌اند، اعلام می‌دارند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که در ارتباط با این مقاله، هیچ گونه تعارض منافع وجود ندارد.

سهم نویسندگان

سیده فاطمه حیدری مسئولیت نگارش اولیه متن، تدوین بخش‌های مختلف مقاله و پیگیری امور مرتبط با آماده‌سازی نسخه اولیه را برعهده داشت.

دکتر مهرداد موسی‌زاده مقدم به عنوان نویسنده مسئول در ایده پردازی، هدایت علمی پژوهش، نظارت بر روند انجام مطالعه، جمع‌آوری و مرتب‌سازی مطالب و تأیید نهایی محتوای علمی مشارکت داشته‌اند.

دکتر سویار ساری در بازبینی علمی، ویرایش محتوایی و اصلاح‌های نهایی متن نقش مؤثری ایفا نمودند.

دکتر محمد هیات در تهیه، تنظیم و آماده‌سازی تصاویر و اشکال مقاله مشارکت داشته‌اند.

و در آخر کلیه نویسندگان نسخه نهایی مقاله را تأیید می‌نمایند.

کد اخلاق

ندارد.

سیستم‌های میکروفلوئیدیک، مهندسی بافت و بیوانفورماتیک می‌تواند بازده تمایز و بلوغ عملکردی سلول‌های شبه‌بنا را بهبود بخشد. در نهایت، انتظار می‌رود که با پیشرفت‌های مداوم، MSCs‌های تمایز یافته به سلول‌های شبه‌بنا بالغ و کارآمد تبدیل شوند و بتوانند به عنوان جایگزینی مؤثر برای سلول‌های طبیعی در درمان دیابت نوع یک به کار روند که این امر کیفیت زندگی بیماران را ارتقا داده و بار اقتصادی بیماری را کاهش می‌دهد (۸۵، ۸۶).

نتیجه‌گیری

استفاده از MSCs و هدایت آن‌ها به سمت سلول‌های شبه‌بنا، رویکردی نویدبخش در درمان دیابت محسوب می‌شود. شواهد نشان می‌دهند که تکنیک‌های مبتنی بر تمایز فیزیکی و بیومیمتیک نقش مؤثری در بهبود بازده و عملکرد این سلول‌ها دارند و تولید سلول‌هایی با ویژگی‌های عملکردی مشابه سلول‌های بتای طبیعی را تسهیل می‌کنند. با این حال، چالش‌هایی مانند بلوغ ناکامل سلول‌های تمایز شده، پاسخ‌دهی محدود به گلوکز و مسائل مربوط به پایداری و ایمنی همچنان نیازمند تحقیق و توسعه بیشتر است. بهبود فناوری‌های Cell Imprinting، کنترل دقیق تر خواص مکانیکی بستر، استفاده از کشت‌های سه‌بعدی پیشرفته و بهره‌گیری از ترکیب محرک‌های فیزیکی و شیمیایی در کنار یکدیگر می‌تواند از مهم‌ترین راه‌کارهای قابل توجه در مطالعه‌های آینده به شمار آیند. افق پیش‌رو شامل توسعه سیستم‌های استاندارد شده، قابل تکرار و سازگار با مقررات بالینی بر مبنای استفاده توانمند از دو روش شیمیایی و فیزیکی است که بتواند سلول‌های شبه‌بنا بالغ و عملکردی را به صورت انبوه تولید کند. در نهایت، پژوهش‌های میان‌رشته‌ای و نوآوری‌های فناورانه بر مبنای تمایز فیزیکی، می‌تواند مسیر دستیابی به سلول‌های بتای مصنوعی با کیفیت و عملکرد نزدیک به سلول‌های طبیعی را هموار کرده و گامی بزرگ در جهت رفع نیاز بیماران دیابتی و کاهش بار بیماری‌های متابولیک محسوب شود.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه هیچ گونه پژوهش مستقیم بر روی انسان یا حیوان را شامل نمی‌شود. با توجه به ماهیت پژوهش و عدم انجام مداخله‌ها یا جمع‌آوری داده از افراد/حیوانات، اخذ کد اخلاق و رضایت‌نامه آگاهانه موضوعیت نداشته و در چارچوب

| **Extended Abstract**

Diabetes mellitus is a growing global health crisis, with a prevalence exceeding 537 million people in 2023 and projections of over 700 million by 2045, urgently demanding innovative therapeutic strategies. Current treatments, such as insulin therapy, oral hypoglycemic agents, and pancreas or islet transplantation, despite providing partial glycemic control, fail to restore the physiological function of pancreatic β -cells. However, these approaches are limited by high costs, lifelong dependency, immunosuppression-related complications, severe donor shortages, and inability to prevent progressive beta-cell destruction. In this context, cell therapy aimed at replacing damaged beta cells and restoring glucose-dependent insulin secretion represents a promising approach. Among various cell sources, mesenchymal stem cells (MSCs) have attracted special attention due to their easy accessibility (from adipose tissue, bone marrow, and umbilical cord), high proliferation capacity, potent immunomodulatory properties (via inhibition of T lymphocytes and induction of the M2 macrophage phenotype), and multilineage differentiation potential. However, conventional chemical differentiation protocols relying on expensive and unstable growth factors (e.g., Activin A, FGF10, Retinoic Acid, Exendin-4) often lead to heterogeneous cell populations with incomplete functional maturation and poor glucose responsiveness. In response to these challenges, novel approaches based on physical and mechanical signals have been developed recently. Parameters such as substrate stiffness in the range of 1–5 kPa (similar to native pancreatic tissue), surface nanotopography, three-dimensional culture in biocompatible hydrogels, and advanced cell imprinting technology can activate mechanosensing and mechanotransduction pathways. These stimuli, via integrins, focal adhesion kinase (FAK), RhoA/ROCK pathways, and nuclear translocation of YAP/TAZ transcription factors, dramatically increase the expression of key genes such as PDX1, NKX6.1, and MAFA, and improve glucose-stimulated insulin secretion (GSIS). Studies have shown that physical differentiation produces more mature, stable, and functional β -like cells that closely resemble native β cells, compared to chemical methods. Accordingly, the synergistic combination of chemical and physical stimuli, together with smart biomaterials and microfluidic technologies, can provide an optimal, safe, and industrially scalable (under GMP conditions) strategy for generating functional beta cells. Such an approach would revolutionize the treatment of type 1 diabetes, bringing hope of a life free from insulin injections and chronic complications to millions of patients worldwide.

| **Keywords**

Diabetes; Cell therapy; Mesenchymal stem cells; Chemical differentiation; Physical differentiation; Physical factors; Cell imprinting.

1. Sun H, Saeedi P, Karuranga S, Pinkepank M, Ogurtsova K, Duncan BB, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes research and clinical practice*. 2022;183:109119.
2. Association AD. Standards of care in diabetes—2023 abridged for primary care providers. *Clinical Diabetes*. 2023;41(1):4-31.
3. Inam A, Alam Z, Shah OU, Shi F. Cell Transplantation Therapies to Reverse Type 1 Diabetes: A review. *Abasyn Journal of Life Sciences*. 2021;4(1):95-111.
4. Mendiratta M, Mendiratta M, Garg D, Mohanty S, Sahoo RK. The Integral Role of Mesenchymal Stem Cells in Stem Cell Transplantation from Promotion of Stem Cell Engraftment to Immunomodulation. *Stem Cell Transplantation: IntechOpen*; 2024.
5. Hogrebe NJ, Maxwell KG, Augsornworawat P, Millman JR. Generation of insulin-producing pancreatic β cells from multiple human stem cell lines. *Nature protocols*. 2021;16(9):4109-43.
6. Li J, Liu Y, Zhang Y, Yao B, Enhejirigala, Li Z, et al. Biophysical and biochemical cues of biomaterials guide mesenchymal stem cell behaviors. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2021;9:640388.
7. Khamseh ME, Sepanlou SG, Hashemi-Madani N, Joukar F, Mehrparvar AH, Faramarzi E, et al. Nationwide prevalence of diabetes and prediabetes and associated risk factors among Iranian adults: analysis of data from PERSIAN cohort study. *Diabetes Therapy*. 2021;12(11):2921-38.
8. Davies MJ, Aroda VR, Collins BS, Gabbay RA, Green J, Maruthur NM, et al. Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes, 2022. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetologia*. 2022;65(12):1925-66.
9. Ross C, Ward ZJ, Gomber A, Owais M, Yeh JM, Reddy C-L, et al. The prevalence of islet autoantibodies in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: a global scoping review. *Frontiers in Endocrinology*. 2022;13:815703.
10. Piemonti L. Islet transplantation. *Endotext* [Internet]. 2022.
11. Rayman G, Vas P, Dhatariya K, Driver V, Hartemann A, Londahl M, et al. Guidelines on use of interventions to enhance healing of chronic foot ulcers in diabetes (IWGDF 2019 update). *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2020;36:e3283.
12. Bruni A, Gala-Lopez B, Pepper AR, Abualhassan NS, Shapiro AJ. Islet cell transplantation for the treatment of type 1 diabetes: recent advances and future challenges. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*. 2014:211-23.
13. Rendell M. Pharmacotherapy of type 1 diabetes-part 1: yesterday. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 2025;26(3):313-24.
14. Oluchi SE, Manaf RA, Ismail S, Kadir Shahar H, Mahmud A, Udeani TK. Health related quality of life measurements for diabetes: a systematic review. *International journal of environmental research and public health*. 2021;18(17):9245.
15. Fantuzzi F, Toivonen S, Schiavo AA, Chae H, Tariq M, Sawatani T, et al. In depth functional characterization of human induced pluripotent stem cell-derived beta cells in vitro and in vivo. *Frontiers in cell and developmental biology*. 2022;10:967765.
16. Marinac M, Rickels MR, Gaglia JL, O'Connell PJ, Johnson PR, Piemonti L, et al. Future directions and clinical trial considerations for novel islet β -cell replacement therapies for type 1 diabetes. *Diabetes*. 2025;74(9):1452-63.
17. Banting FG, Best CH, Collip JB, Campbell WR, Fletcher AA. Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus. *Canadian Medical Association Journal*. 1922;12(3):141.
18. Casanova D. Pancreas transplantation: 50 years of experience. *Cirugía Española (English Edition)*. 2017;95(5):254-60.
19. Oh JY, Kim YH, Lee S, Lee YN, Go HS, Hwang DW, et al. The outcomes and quality of pancreatic islet cells isolated from surgical specimens for research on diabetes mellitus. *Cells*. 2022;11(15):2335.
20. Shapiro AJ, Lakey JR, Ryan EA, Korbitt GS, Toth E, Warnock GL, et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *New England Journal of Medicine*. 2000;343(4):230-8.
21. Ryan EA, Paty BW, Senior PA, Bigam D, Alfadhli E, Kneteman NM, et al. Five-year follow-up after clinical islet transplantation. *Diabetes*. 2005;54(7):2060-9.
22. Rezaei A, Bruin JE, Arora P, Rubin A, Batushansky I, Asadi A, et al. Reversal of diabetes with insulin-producing cells derived in vitro from human pluripotent stem cells. *Nature biotechnology*. 2014;32(11):1121-33.
23. Lei J, Markmann JF. Clinical trials with stem cell-derived insulin-producing cells. *Pluripotent Stem Cell Therapy for Diabetes: Springer*; 2024. p. 547-71.
24. Liu X. Engineering beta-cell spheroids for type 1 diabetes treatment: Clemson University; 2013.
25. Karaoğlu İC, Duymaz D, Rashid MM, Kizilel S. Immune-evasive beta cells in type 1 diabetes: innovations in genetic engineering, biomaterials, and computational modeling. *Frontiers in Immunology*. 2025;16:1618086.

26. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *science*. 1998;282(5391):1145-7.
27. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *cell*. 2006;126(4):663-76.
28. Pagliuca FW, Millman JR, Gürtler M, Segel M, Van Dervort A, Ryu JH, et al. Generation of functional human pancreatic β cells in vitro. *Cell*. 2014;159(2):428-39.
29. Goswami D, Domingo-Lopez DA, Ward NA, Millman JR, Duffy GP, Dolan EB, et al. Design considerations for macroencapsulation devices for stem cell derived islets for the treatment of type 1 diabetes. *Advanced science*. 2021;8(16):2100820.
30. Reichman TW, Ricordi C, Naji A, Markmann JF, Perkins BA, Wijkstrom M, et al. 836-P: glucose-dependent insulin production and insulin-independence in type 1 diabetes from stem cell-derived, fully differentiated islet cells—Updated data from the VX-880 clinical trial. *Diabetes*. 2023;72(Supplement_1):836-P.
31. Jin M, Liu L, Fu J, Jiang Z, Ma X, Gao Z, et al. Improvement of islet transplantation in prevascularized muscle sinus tracts. *iScience*. 2025.
32. Fujikura J, Anazawa T, Toyoda T, Ito R, Kimura Y, Yabe D. Toward a cure for diabetes: iPSC and ESC-derived islet cell transplantation trials. *Journal of Diabetes Investigation*. 2025;16(3):384-8.
33. Fernández-Garza LE, Barrera-Barrera SA, Barrera-Saldaña HA. Mesenchymal stem cell therapies approved by regulatory agencies around the world. *Pharmaceuticals*. 2023;16(9):1334.
34. Aguirre M, Escobar M, Forero Amézquita S, Cubillos D, Rincón C, Vanegas P, et al. Application of the Yamanaka transcription factors Oct4, Sox2, Klf4, and c-Myc from the laboratory to the clinic. *Genes*. 2023;14(9):1697.
35. Migliorini A, Bader E, Lickert H. Islet cell plasticity and regeneration. *Molecular metabolism*. 2014;3(3):268-74.
36. Carlsson P-O, Schwarcz E, Korsgren O, Le Blanc K. Preserved β -cell function in type 1 diabetes by mesenchymal stromal cells. *Diabetes*. 2015;64(2):587-92.
37. Ebrahimi F, Pirouzmand F, Cosme Pecho RD, Alwan M, Yassen Mohamed M, Ali MS, et al. Application of mesenchymal stem cells in regenerative medicine: A new approach in modern medical science. *Biotechnology Progress*. 2023;39(6):e3374.
38. da Silva JS, Gonçalves RG, Vasques JF, Rocha BS, Nascimento-Carlos B, Montagnoli TL, et al. Mesenchymal stem cell therapy in diabetic cardiomyopathy. *Cells*. 2022;11(2):240.
39. Parivar K, Alejafar R, Asadi A, Maleki M. Differentiation of Human Umbilicus Cord Wharton's Jelly Stem Cells to Hematopoietic Cells. 2012.
40. Barachini S, Biso L, Kolachalam S, Petrini I, Maggio R, Scarselli M, et al. Mesenchymal stem cell in pancreatic islet transplantation. *Biomedicines*. 2023;11(5):1426.
41. Wang C, Wu Y, Jiang J. The role and mechanism of mesenchymal stem cells in immunomodulation of type 1 diabetes mellitus and its complications: recent research progress and challenges: a review. *Stem Cell Research & Therapy*. 2025;16(1):308.
42. Tootee A, Nikbin B, Ghahary A, Esfahani EN, Arjmand B, Aghayan H, et al. Immunopathology of type 1 diabetes and immunomodulatory effects of stem cells: A narrative review of the literature. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*. 2022;22(2):169-97.
43. Roszkowski S. Therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived exosomes for regenerative medicine applications. *Clinical and Experimental Medicine*. 2024;24(1):46.
44. Huang Q, Huang Y, Liu J. Mesenchymal stem cells: an excellent candidate for the treatment of diabetes mellitus. *International Journal of Endocrinology*. 2021;2021(1):9938658.
45. Kotikalapudi N, Sampath SJP, Sukesh Narayan S, R B, Nemani H, Mungamuri SK, et al. The promise (s) of mesenchymal stem cell therapy in averting preclinical diabetes: lessons from in vivo and in vitro model systems. *Scientific Reports*. 2021;11(1):16983.
46. Zhu L, Wang S, Qu J, Hui Z, Kan C, Hou N, et al. The therapeutic potential of mesenchymal stem cells in the treatment of diabetes mellitus. *Cellular Reprogramming*. 2022;24(6):329-42.
47. Sarang S, Viswanathan C. Umbilical cord derived mesenchymal stem cells useful in insulin production-another opportunity in cell therapy. *International journal of stem cells*. 2016;9(1):60-9.
48. Pavathuparambil Abdul Manaph N, Sivanathan KN, Nitschke J, Zhou X-F, Coates PT, Drogemuller CJ. An overview on small molecule-induced differentiation of mesenchymal stem cells into beta cells for diabetic therapy. *Stem cell research & therapy*. 2019;10(1):293.
49. Janardhana Kurup A, Mikdache A, Diabangouaya P, Gros G, Garcia-Baudino C, Undurraga CA, et al. Sox2 Regulates Lateral Line Morphogenesis via Yap/Taz-Mediated Mechanotransduction. *bioRxiv*. 2025:2025.09.18.677037.
50. Ong HT, Sriram M, Susapto HH, Li Y, Jiang Y, Voelcker NH, et al. The Rise of Mechanobiology for Advanced Cell Engineering and Manufacturing. *Advanced Materials*. 2025:2501640.
51. Silva IBB, Kimura CH, Colantoni VP, Sogayar MC. Stem cells differentiation into insulin-

- producing cells (IPCs): recent advances and current challenges. *Stem cell research & therapy*. 2022;13(1):309.
52. Zhang Y, Yi Y, Xiao X, Hu L, Xu J, Zheng D, et al. Definitive endodermal cells supply an in vitro source of mesenchymal stem/stromal cells. *Communications Biology*. 2023;6(1):476.
53. Nemati M, Ranjbar Omrani G, Ebrahimi B, Alizadeh A. Efficiency of stem cell (SC) differentiation into insulin-producing cells for treating diabetes: a systematic review. *Stem cells international*. 2021;2021(1):6652915.
54. Lee DH, Choo H, Choi HY, Lee SH. Developments in endoderm and pancreatic β -cell differentiation from human pluripotent stem cells. *Organoid*. 2024;4.
55. Jiang Y, Chen C, Randolph LN, Ye S, Zhang X, Bao X, et al. Generation of pancreatic progenitors from human pluripotent stem cells by small molecules. *Stem Cell Reports*. 2021;16(9):2395-409.
56. Zabransky DJ, Chhabra Y, Fane ME, Kartalia E, Leatherman JM, Hüser L, et al. Fibroblasts in the aged pancreas drive pancreatic cancer progression. *Cancer research*. 2024;84(8):1221-36.
57. Arkenberg MR, Ueda Y, Hashino E, Lin C-C. Photo-click hydrogels for 3D in situ differentiation of pancreatic progenitors from induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Research & Therapy*. 2023;14(1):223.
58. Gheibi S, Singh T, da Cunha JPM, Fex M, Mulder H. Insulin/glucose-responsive cells derived from induced pluripotent stem cells: disease modeling and treatment of diabetes. *Cells*. 2020;9(11):2465.
59. Wang X, Wu J, Wang W, Zhang Y, He D, Xiao B, et al. Reprogramming of rat fibroblasts into induced neurons by small-molecule compounds in vitro and in vivo. *ACS Chemical Neuroscience*. 2022;13(14):2099-109.
60. Nair GG, Liu JS, Russ HA, Tran S, Saxton MS, Chen R, et al. Recapitulating endocrine cell clustering in culture promotes maturation of human stem-cell-derived β cells. *Nature cell biology*. 2019;21(2):263-74.
61. Paradiž Leitgeb E, Kerčmar J, Križančić Bombek L, Pohorec V, Skelin Klemen M, Slak Rupnik M, et al. Exendin-4 affects calcium signalling predominantly during activation and activity of beta cell networks in acute mouse pancreas tissue slices. *Frontiers in Endocrinology*. 2024;14:1315520.
62. Yu X-X, Wang X, Yang L, He M-Y, Wang X, Wang Y-N, et al. Reconstructing human pancreatic gene networks enhances stem cell-derived β cell induction. *Developmental Cell*. 2025.
63. Zacharjusz J, Sztachera M, Smuszkiewicz M, Piwecka M. Micromanaging the neuroendocrine system—A review on miR-7 and the other physiologically relevant miRNAs in the hypothalamic–pituitary axis. *FEBS letters*. 2024;598(13):1557-75.
64. Karagiannopoulos A, Cowan E, Eliasson L. MiRNAs in the beta cell—friends or foes? *Endocrinology*. 2023;164(5):bqad040.
65. Khin P-P, Lee J-H, Jun H-S. A brief review of the mechanisms of β -cell dedifferentiation in type 2 diabetes. *Nutrients*. 2021;13(5):1593.
66. Tran R. Biomimetic mechanical control of pluripotent stem cell differentiation into pancreatic endocrine cells: McGill University (Canada); 2021.
67. Abdalla MMI. Advancing diabetes management: Exploring pancreatic beta-cell restoration's potential and challenges. *World Journal of Gastroenterology*. 2024;30(40):4339.
68. Janmey PA, Fletcher DA, Reinhart-King CA. Stiffness sensing by cells. *Physiological reviews*. 2020;100(2):695-724.
69. Moosazadeh Moghaddam M, Bonakdar S, Shokrgozar MA, Zaminy A, Vali H, Faghihi S. Engineered substrates with imprinted cell-like topographies induce direct differentiation of adipose-derived mesenchymal stem cells into Schwann cells. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*. 2019;47(1):1022-35.
70. Badr-Eldin SM, Aldawsari HM, Kotta S, Deb PK, Venugopala KN. Three-dimensional in vitro cell culture models for efficient drug discovery: Progress so far and future prospects. *Pharmaceuticals*. 2022;15(8):926.
71. Saraswathibhatla A, Indana D, Chaudhuri O. Cell–extracellular matrix mechanotransduction in 3D. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2023;24(7):495-516.
72. Haller SJ, Dudley AT. Extracellular mechanotransduction. *The Journal of general physiology*. 2022;154(3):e202113026.
73. Mosaddad SA, Salari Y, Amookhteh S, Soufdoost RS, Seifalian A, Bonakdar S, et al. Response to mechanical cues by interplay of YAP/TAZ transcription factors and key mechanical checkpoints of the cell: a comprehensive review. *Cell Physiol Biochem*. 2021;55(1):33-60.
74. Baek J, Lopez PA, Lee S, Kim T-S, Kumar S, Schaffer DV. Egr1 is a 3D matrix–specific mediator of mechanosensitive stem cell lineage commitment. *Science Advances*. 2022;8(15):eabm4646.
75. Hunckler MD, García AJ. Engineered biomaterials for enhanced function of insulin-secreting β -cell organoids. *Advanced Functional Materials*. 2020;30(48):2000134.
76. Qiao E, Schaffer D, Kumar S. Substrate stress relaxation regulates neural stem cell fate commitment. *Biophysical Journal*. 2022;121(3):420a.
77. Nosrati H, Fallah Tafti M, Aghamollaei H, Bonakdar S, Moosazadeh Moghaddam M. Directed differentiation of adipose-derived stem cells using imprinted cell-like topographies as a growth factor-

- free approach. *Stem Cell Reviews and Reports*. 2024;20(7):1752-81.
78. Abadpour S, Wang C, Niemi EM, Scholz H. Tissue engineering strategies for improving beta cell transplantation outcome. *Current Transplantation Reports*. 2021;8(3):205-19.
79. Hasannejad F, Montazeri L, Mano JF, Bonakdar S. Regulation of cell fate by cell imprinting approach in vitro. *BioImpacts: BI*. 2023;14(3):29945.
80. Pouladzadeh F, Bonakdar S, Haghighipour N, Katbab A, Bagheri-Khoulenjani S. Bioinspired osteoblast-imprinted piezoelectric PDMS/BaTiO₃ nanocomposites accelerate the osteogenic differentiation of adipose-derived stem cells under mechanical stimulation. *Journal of Materials Chemistry B*. 2025.
81. Miller J, Perrier Q, Rengaraj A, Bowlby J, Byers L, Peveri E, et al. State of the Art of Bioengineering Approaches in Beta-Cell Replacement. *Current transplantation reports*. 2025;12(1):17.
82. Berger C, Glaser M, Ziegler A-L, Neukel V, Walz F, Zdziebło D. Generation of a pancreas derived hydrogel for the culture of hiPSC derived pancreatic endocrine cells. *Scientific Reports*. 2024;14(1):20653.
83. Xu B, Fan D, Zhao Y, Li J, Wang Z, Wang J, et al. Three-dimensional culture promotes the differentiation of human dental pulp mesenchymal stem cells into insulin-producing cells for improving the diabetes therapy. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;10:1576.
84. Boucenna S. β -Cell-Derived Extracellular Vesicles: Isolation, Characterization and Their Effect on Improving β -Cell Spheroids and Langerhans Islets Functionality: McGill University (Canada); 2025.
85. Urzi O, Gasparro R, Costanzo E, De Luca A, Giavaresi G, Fontana S, et al. Three-dimensional cell cultures: the bridge between in vitro and in vivo models. *International journal of molecular sciences*. 2023;24(15):12046.
86. Zhao X, Li N, Zhang Z, Hong J, Zhang X, Hao Y, et al. Beyond hype: unveiling the Real challenges in clinical translation of 3D printed bone scaffolds and the fresh prospects of bioprinted organoids. *Journal of nanobiotechnology*. 2024;22(1):500.