缺氧培养调控间充质干细胞的生理活性

https://doi.org/10.12307/2022.344
投稿日期：2020-08-21
送审日期：2020-08-31
采用日期：2020-10-09
修回日期：2021-01-09
在线日期：2021-01-26
中图分类号：
R459.9；R318；R394.2
文章编号：
2095-4344(2022)13-02127-06
文献标识码：A

刘子文，王文波

文章快速阅读：



文题释义：

间充质干细胞分化：间充质干细胞具有多重分化潜能，在特定条件下可以分化为成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、肌细胞、神经细胞等多种细胞，为各类组织形成、器官发育提供基础细胞。

间充质干细胞与再生医学：间充质干细胞的自我更新和分化为组织特异性细胞的能力，使其在再生医学领域具有巨大潜力。间充质干细胞协调组织的发育、维持和修复，并产生多种分泌因子，在骨缺损、心肌梗死、神经系统损伤等疾病中都可以发挥显著治疗作用。

摘要

背景：间充质干细胞是具有自我更新能力和多重分化潜能的多能干细胞，能够分化为成骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞、肌细胞和神经元等。间充质干细胞可以分泌与细胞增殖、细胞活性、免疫调节和募集有关的因子。基于这些潜能和特性，间充质干细胞可为再生医学中的细胞疗法提供理想的细胞来源。由于健康骨髓中的氧体积分数仅在3%–8%的范围内，远低于正常氧体积分数(21%)，并且在受伤组织微环境中氧体积分数会更低，因此在缺氧环境中间充质干细胞的生理活性备受关注。

目的：阐述缺氧状态对间充质干细胞特性以及间充质干细胞移植治疗疗效的影响。

方法：检索知网、万方、PubMed等数据库2006至2020年期间关于缺氧对间充质干细胞影响的相关文献，检索词为“间充质干细胞，缺氧培养，干细胞治疗”“mesenchymal stem cells，hypoxia，regenerative therapy”等。将所查文献进行整理，排除陈旧概念和重复观点，最终选取73篇文献进行分析。

结果与结论：缺氧培养可以促进间充质干细胞增殖、提高迁移能力、调控细胞分化。在临床治疗中通过对间充质干细胞进行缺氧预处理可调节其分化能力，提高细胞存活率，加速组织愈合，改善治疗效果。缺氧培养对于间充质干细胞的调控作用为骨质疏松临床治疗和移植再生治疗探究提供了新思路。

关键词：干细胞；间充质干细胞；低氧；增殖；分化；修复；综述

Regulatory effects of hypoxic culture on physiological activities of mesenchymal stem cells

Liu Ziwen, Wang Wenbo

Third Department of Orthopedics, First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Liu Ziwen, Master candidate, Third Department of Orthopedics, First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Corresponding author: Wang Wenbo, MD, Chief physician, Professor, Doctoral supervisor, Third Department of Orthopedics, First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Abstract

BACKGROUND: Mesenchymal stem cells are multipotent stem cells owing the ability of self-renewal and multiple differentiation potential, which promise mesenchymal stem cells to differentiate into several cell types, including osteoblasts, adipocytes, chondrocytes, myocytes and neurons and so on. Mesenchymal stem cells can secrete factors associated with cell proliferation and survival, immunomodulation, and recruitment. These potentials and characteristics make

哈尔滨医科大学附属第一医院骨三科，黑龙江省哈尔滨市　150001
第一作者：刘子文，男，1995 年生，黑龙江省哈尔滨市人，哈尔滨医科大学在读硕士，主要从事干细胞及骨肉瘤方面研究。
通讯作者：王文波，博士，主任医师，教授，博士生导师，哈尔滨医科大学附属第一医院骨三科，黑龙江省哈尔滨市　150001
https://orcid.org/0000-0002-8896-9099(王文波)
引用本文：刘子文，王文波 . 缺氧培养调控间充质干细胞的生理活性 [J]. 中国组织工程研究，2022，26(13):2127-2132.

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

mesenchymal stem cells an ideal cell source for cell-based treatment of tissues repair in regenerative medicine. Since the oxygen constitution only at range of 3%−8% in healthy bone marrow which is much lower than the normal oxygen concentration of 21%, and this concentration will become lower in the injured tissue microenvironment. Thus, the fate of mesenchymal stem cells in hypoxic environment attracts lots of attention.

OBJECTIVE: To explicate the roles of hypoxic condition in mesenchymal stem cells properties and the therapeutic effect of mesenchymal stem cells transplantation.

METHODS: The articles about effect of hypoxia on mesenchymal stem cell were searched in CNKI, Wanfang, and PubMed from 2006 to 2020. The search key words were “mesenchymal stem cells, hypoxia culture, stem cell therapy” in Chinese, and “mesenchymal stem cells, hypoxia, regenerative therapy” in English. The collected literature was sorted out to eliminate obsolete concepts and repeated views, and 73 articles were finally selected for analysis.

RESULTS AND CONCLUSION: Hypoxic culture could promote cell proliferation, migration ability of mesenchymal stem cells and regulate cell differentiation. In clinical treatment, hypoxic preconditioning could regulate the differentiation ability of mesenchymal stem cells, improve cell survival rate, accelerate tissue healing, and improve the therapeutic effect. Hypoxic culture on the regulation of mesenchymal stem cells provides a new idea for the clinical treatment of osteoporosis and transplantation regenerative therapy.

Key words: stem cells; mesenchymal stem cells; hypoxia; proliferation; differentiation; repair; review

How to cite this article: *LIU ZW, WANG WB. Regulatory effects of hypoxic culture on physiological activities of mesenchymal stem cells. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2022;26(13):2127-2132.*

0 引言 Introduction

间充质干细胞具有较高的自我更新能力和分化为成熟细胞的能力。间充质干细胞首先在骨髓中被发现，随后的研究发现几乎可以从出生后的所有器官和组织中分离得到，如脑、脾、肝、肾、肺等[1]。间充质干细胞具有分化为成骨细胞、脂肪细胞、成软骨细胞和肌细胞等潜能[2]。间充质干细胞的增殖和分化是成骨细胞形成与破骨细胞吸收之间动态平衡的重要调控因素，平衡被破坏会导致骨质疏松症[3]。另一方面，间充质干细胞的成骨能力、扩增潜力和向损伤部位迁移的能力为骨折修复治疗提供了可能[4]。此外，间充质干细胞在一定培养条件下，可以分化成上皮样细胞和神经元样细胞来修复受损组织[5]。由于间充质干细胞在器官中广泛分布并具有多向分化能力，可以替代或再生受损组织并抑制慢性炎症和纤维化[6]。与此同时，间充质干细胞可旁分泌大量细胞因子和营养因子，这些因子为间充质干细胞参与组织再生、炎症和神经血管损伤等多种生理过程提供重要支持[7]。间充质干细胞也被认为是组织稳态的重要维持因子，间充质干细胞通过促血管生成、抗凋亡、抗氧化和激活局部静止干细胞，在器官形成及组织修复等过程中起着至关重要的调控作用[8]。

缺氧是指因供氧不足或氧利用障碍而引起组织的代谢、功能和形态结构发生异常变化的病理过程。目前有证据表明，缺氧可以促进肿瘤细胞存活和耐药[9]，诱导心肌再生并调节脂肪来源干细胞向平滑肌细胞分化[10-11]。低氧诱导因子 1α 不仅是一种低氧环境中广泛存在于哺乳动物和人类中的转录因子，还是低氧应激反应的主要效应器。间充质干细胞在体内处于低氧环境中 (1%–5%O_2)，而细胞体外正常培养环境的氧体积分数 (20%–21%O_2) 远高于其体内生存环境，体外培养氧环境的改变可能会降低细胞增殖、分化、抗炎反应等活性，也会降低细胞修复受损组织的能力[12]。文章将概述缺氧对间充质干细胞活性及生物学功能的调控作用，并深入探讨缺氧培养间充质干细胞在再生治疗领域中的意义及未来应用前景。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

1.1.1 检索数据库 由第一作者检索维普、万方、PubMed 等数据库 2006 年 6 月至 2020 年 4 月期间关于缺氧对间充质干细胞影响的相关文献。

1.1.2 检索词 中文检索词：间充质干细胞、缺氧培养、干细胞治疗。英文检索词：mesenchymal stem cells，hypoxia environment。检索词的逻辑组配：“(间充质干细胞 AND 缺氧)OR(间充质干细胞再生治疗 AND 缺氧)”“(mesenchymal stem cells AND hypoxia environment)”。

1.2 文献入选标准 将文献进行整理，去除重复和老旧文献，选择文章内容新颖，论点可靠，与缺氧培养、间充质干细胞和组织修复相关度高的文献。

1.3 质量评估及数据提取 初检得到 545 篇文献，通过阅读文献题目及摘要，考虑其相关性及有效性进行筛选。选择与缺氧、间充质干细胞和组织修复相关性高的文献，排除重复性实验和不相关的研究，最终选入 73 篇文献进行综述。

2 结果 Results

2.1 缺氧培养对间充质干细胞活性的影响

- 细胞增殖与迁移
- 细胞自我更新和分化
- 细胞凋亡

2.1.1 细胞增殖与迁移 间充质干细胞的增殖和迁移与骨骼健康发育和组织修复密切相关。近年来多位研究者利用不同氧体积分数处理间充质干细胞，结果表明缺氧培养可以调节间充质干细胞增殖能力。将间充质干细胞暴露于缺氧 (体积分数为 1% O_2) 和常氧 (体积分数为 21% O_2) 环境中，与常氧培养相比，在缺氧环境下培养 7 d 后人骨髓源性间充质干细胞和人脂肪源性间充质干细胞的细胞数量显著增加[13-14]，且氧体积分数在 1%–3% 之间促进作用无明显差异[14]。此外，缺氧状态促使间充质干细胞形态变得小而圆，并趋向于增殖中心彼此覆盖，形成细胞克隆，在边缘产生大量增殖和扩散的子代细胞[15]。低氧诱导因子 1α 过表达也可以促进骨髓来源间充质干细胞增殖[16]。然而，小泛素样修饰剂连接酶的抑制剂没食子酸处理可以完全抵消由低氧诱导因子 1α 介导的间充质干细胞增殖，这意味着低氧诱导因子 1α 诱导的间充质干细胞增殖与小泛素样修饰剂途径有关[17-18]。值得注意的是，体积分数为 1%O_2 缺氧环境比体积分数为 5% O_2 缺氧环境培养的间充质干细胞具有更强的增殖能力[19]。

间充质干细胞具有向损伤组织迁移的能力，如缺血的大脑。骨髓间充质干细胞的迁移是由许多不同的趋化因子及其在骨髓间充质干细胞表面的受体介导的。来自局部或邻近干细胞巢中间充质干细胞的募集和迁移可以在损伤组织愈合中发挥修复作用[20-21]。氯化钴 ($CoCl_2$) 是一种缺氧模拟剂，通过诱导低氧诱导因子 1α 和血管内皮生长因子的表达来模拟缺氧环境。越来越多的证据表明，含氧量为 1% 或由氯化钴诱导的低氧培养均对间充质干细胞迁移能力具有显著促进作用[22]。与常氧状态相比，缺氧状态的间充质干细胞对 RhoA 信号激活更为敏感，这有利于细胞迁移并促进间充质干细胞向伤口愈合方向迁移[23]。

近期研究表明，趋化因子基质细胞来源因子 1(SDF-1) 与其

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

趋化因子受体 C-X-C 受体 4 型 (CXCR4) 或 CXCR7 之间的相互作用是干细胞趋化过程的关键调节器[24]。缺氧通过上调基质细胞来源因子 1 及其受体 CXCR4 和 CXCR7 的表达，从而提高间充质干细胞的有丝分裂能力[22]。此外，低氧诱导因子 1α 的过表达可以促进间充质干细胞募集，与缺氧培养作用相似[25]。

2.1.2 细胞自我更新和分化 骨组织的发育和再生是一个动态过程，主要包括骨形成和骨吸收。间充质干细胞的自我更新能力和多重分化之间的平衡是维持骨稳态的基础。间充质干细胞分化而来的成骨细胞通过合成和分泌骨基质、调节钙磷平衡参与骨形成过程，而间充质干细胞分化而来的成脂细胞将导致骨髓脂肪增加和骨质流失，阻碍骨的再生并引起骨质疏松。

Oct4 和 Nanog 等多能性基因通过抑制分化相关基因表达来维持多能性，在自我更新过程中起着至关重要的作用。与常氧培养相比，缺氧条件下间充质干细胞干性基因 Oct4 和 Nanog 的表达水平均有所升高，从而促进间充质干细胞自我更新[15]。此外，缺氧刺激可显著增加白细胞介素 6 的分泌并激活 STAT3 信号传导，进而上调 lncTCF7 表达，诱导 Wnt 信号传导，促进间充质干细胞自我更新[26]。

尽管缺氧培养已被证明具有促进间充质干细胞自我更新的作用，但其在骨髓间充质干细胞分化中的作用仍存在争议。有研究表明，缺氧条件促进干性基因表达，使间充质干细胞保持在未分化状态，骨形成、脂肪形成和软骨形成均减少[27]。短暂缺氧培养 (体积分数为 2%O_2) 并进行成骨诱导 7 d 后，间充质干细胞中的成骨关键调控基因 ALP 及 Runx2/Cbfa1 的表达明显降低，成骨分化减弱，但是在培养 28 d 后 Runx2/Cbfa1 的表达与对照组相比无显著变化。此外，Notch1 可以通过降低 Runx2 的表达和转录活性，在缺氧诱导间充质干细胞成骨抑制中发挥重要作用。另一方面，缺氧可以通过促进 TWIST 的表达从而抑制 type 1 RUNX2 启动子活性介导的间充质干细胞成骨分化信号通路[28]。全氟三丁胺是一种合成的氧气载体，可以通过抑制缺氧相关基因的表达促进成骨作用并促进骨骼形成，从而增加了间充质干细胞对周围氧的利用率[29]。同样，作为脂肪形成关键调控因子，过氧化物酶体增殖激活受体的 mRNA 转录水平在缺氧环境下会受到抑制，而未折叠蛋白反应激活抑制剂 4− 苯基丁酸可以逆转这一过程[30]。

但是也有一些学者报道了缺氧对间充质干细胞分化的积极作用。与常氧 (体积分数为 21%O_2) 相比，低氧预处理 (体积分数为 2% O_2) 后人脂肪间充质干细胞在分化培养基中培养 22 d，其成脂和成骨分化潜能得到增强[31]。使用氯化钴模拟缺氧条件对间充质干细胞进行预处理后诱导成骨分化，与对照组相比，碱性磷酸酶、骨钙素和Ⅰ型胶原表达显著上调，导致矿化积累[32]。VALORANI 等[33]也发现，尽管缺氧预培养抑制缺氧条件下的成脂分化，但是缺氧预培养后使间充质干细胞在常氧条件下具有更高的分化潜能。缺氧诱导 Akt 磷酸化能进一步介导低氧诱导因子 1α 表达，以促进软骨形成分化[34]。缺氧也可以逆转炎症因子白细胞介素 1 诱导的炎症反应对软骨分化的抑制[35]。此外，缺氧模拟剂氯化钴还可以增强聚集蛋白聚糖、sox9 和Ⅱ型胶原蛋白的形成，以促进软骨细胞分化[32]。

然而也有一些研究表明，缺氧只影响间充质干细胞的增殖能力，不影响成骨、脂肪和软骨形成的分化能力[36]。此外，低氧诱导因子 1α 的过表达对细胞外钙沉积没有显著影响[16]。在骨发育和组织修复过程中，缺氧也可以调节间充质干细胞的分化能力，这种现象很可能是由于不同实验室、不同组织来源间充质干细胞、不同氧气体积分数和细胞培养时间的差异以及分化程度检测方法差异所致。因此，研究缺氧对间充质干细胞的作用时必须严格控制实验条件。

2.1.3 细胞凋亡 尽管短暂的低氧预处理对间充质干细胞活性是有利的，但是组织损伤处持续的低氧及缺血环境也是间充质干细胞移植治疗失败的主要原因。在间充质干细胞移植到缺损组织的最初 24 h 之内，大约 99% 的间充质干细胞会发生凋亡[37]。细胞凋亡的主要信号传导途径有 2 种：死亡受体途径和线粒体途径。最近的一项研究表明，血清缺乏和缺氧诱导的间充质干细胞凋亡主要受到线粒体途径影响，而不受死亡受体途径的调控。小分子巨噬细胞迁移抑制因子 (macrophage migration inhibitors，MIF) 可以通过抑制基因间长链非编码 (linc)RNA-p21 来维持 Wnt/β-catenin 信号通路的激活，从而抑制 Caspase 家族活性和细胞凋亡，增强间充质干细胞的抗缺氧诱导细胞凋亡的能力[38]。此外，Ang1/Tie-2 信号传导、C1q 肿瘤坏死因子相关蛋白 3(CTRP3) 及硫化氢 (H2S) 联合内源性胱氨酸内溶酶 (CSE) 等均能通过其下游 PI3K/Akt 信使途径减少间充质干细胞移植治疗过程中低氧环境造成的细胞凋亡[39]。在模拟心肌缺血的低氧环境下，溶血磷脂酸 (LPA) 可以通过与 ERK1/2 和 PI3K 信号通路并行连接的 Gi 偶联 LPA1 受体来保护间充质干细胞线粒体的完整性和功能，从而抑制缺氧引起的细胞线粒体损伤[40]。

2.2 缺氧对间充质干细胞再生治疗的调控

- 骨缺损治疗
- 心肌梗死治疗
- 神经系统损伤
- 肝脏损伤治疗
- 肾脏损伤治疗
- 肺部疾病治疗

由于间充质干细胞具有组织多源性、分化多能性、自我更新能力并能分泌与增殖和存活相关的细胞因子，具有免疫调节和潜在血管生成等优良特性，是组织再生的理想细胞来源[41-42]。此外，抗炎、免疫调节和免疫抑制等特性使间充质干细胞具有用于免疫耐受治疗的潜能。越来越多的证据表明基于间充质干细胞的再生疗法在多种体外动物疾病模型和多项临床试验中均能发挥良好的治疗作用。间充质干细胞在再生医学中的应用主要集中于骨骼[43]、心肌、神经系统[44]、肝脏、肾脏[45]、肺等相关的损伤组织重建[46]。由于缺氧对间充质干细胞活性及分化能力的多重影响，许多研究调查了缺氧与间充质干细胞之间的相互作用，并阐明了其作用机制。

2.2.1 骨缺损治疗 目前，间充质干细胞移植治疗软骨缺损和骨关节炎等多种骨病已取得一定的进展[46-47]。在临床治疗中，间充质干细胞已成功应用于骨缺损部位的骨重建[48]。多项环境因素均可以影响间充质干细胞的治疗效果，而缺氧是最重要的因素之一。普遍认为，健康骨骼中的氧体积分数在 3%−8% 之间，而在一些大骨损伤部位，随着营养利用率的降低，氧体积分数可能小于 1%[49]。间充质干细胞移植至骨缺损部位后，因突然从正常培养环境进入缺氧环境，其局部氧微环境也由常氧 (体积分数 21% O_2) 变为缺氧[50]，移植后很难存活，但是通过对移植前的间充质干细胞进行缺氧预处理，可以显著提高间充质干细胞的存活率[51]，同时缺氧预处理可以通过诱导低氧诱导因子 1α 的表达及增强间充质干细胞旁分泌作用，提高间充质干细胞促进组织损伤部位血管生成的潜能和提高细胞存活率[52]。细胞聚集成球状体是抵抗移植后细胞快速死亡的另一种方法，缺氧预处理可以显著促进间充质干细胞球体形成，细胞球体不仅可以

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

增强细胞活力，还可以促进血管新生并促进严重原位骨缺损的骨形成[50]。据报道旁分泌机制参与了间充质干细胞的移植调控，而外泌体是这种旁分泌作用的关键组成部分。与常氧条件下相比，缺氧条件下间充质干细胞的外泌体通过控制低氧诱导因子1α激活产生miR-126，可促进血管生成、细胞增殖和迁移，在骨折愈合方面具有更大的优势[52]。

2.2.2 心肌梗死治疗 尽管过去几十年来心力衰竭的临床治疗取得了巨大进步，但由心肌梗死引起的心力衰竭仍然是全世界发病率和死亡率较高的疾病之一[53]。近年来，间充质干细胞移植已成为心肌梗死临床治疗的一种全新方法，通过其多能分化潜能、促血管生成以及免疫调节特性来增强心脏再生能力，并通过缩小梗死面积和抑制左心室纤维化来改善心脏功能[54]。目前研究表明，影响间充质干细胞移植后促进心肌再生的主要障碍是受体部位细胞活性低，导致治疗效果不佳，而在移植前通过缺氧预处理可以提高间充质干细胞的治疗效果[54]。与正常状态相比，间充质干细胞用体积分数为0.5%O_2处理24 h后，其核因子κB亚基P65、P50、促存活蛋白p105、抗凋亡蛋白Bcl-2和Bcl-xL显著上调，细胞存活率显著增加。同样，缺氧预处理可以进一步预防心肌梗死后移植到梗死周围区域的间充质干细胞的凋亡。研究表明，在缺氧条件下，间充质干细胞分泌的外泌体可通过miR-125b预防心肌梗死引发的细胞凋亡并促进心脏修复[55]。根据常氧和缺氧条件下间充质干细胞的整体基因表达差异图发现瘦素(leptin)是缺氧条件下最强的诱导基因[56]。瘦素信号传导是维持间充质干细胞活力的重要步骤，通过诱导CXCR4表达促进间充质干细胞的迁移[57]。此外，瘦素对于增强间充质干细胞在心肌梗死中的治疗效果有重要作用，包括血管密度增加、梗死面积缩小、长期收缩功能改善和心肌纤维化抑制[58]。有趣的是，在心肌细胞缺氧或复氧条件下以及低氧诱导因子1α过表达的培养基中，间充质干细胞更倾向于心肌细胞分化[59]。

2.2.3 神经系统损伤 神经系统损伤分为中枢神经系统损伤和周围神经系统损伤。中枢神经系统损伤是不可逆的，其主要包括脊髓损伤、脑外伤和脑卒中[60]。周围神经系统损伤以严重创伤为主，其次是骨折和血管损伤。间充质干细胞移植在中枢神经系统损伤修复中的作用已被明确证实，它对神经系统疾病导致的严重创伤和持续缺血及中枢神经功能障碍具有一定的作用[42]。然而，退化的中枢神经系统损伤毒性环境以缺氧病理为特征，这可能对移植干细胞的存活有影响，但是缺氧条件可以与促红细胞生成素发挥协同作用，通过抑制促红细胞生成素受体的合成来促进神经元标记物(β-微管蛋白Ⅲ、胆碱乙酰转移酶、神经元核抗原、毒蕈碱受体)及其功能标记物(脑啡肽酶、天冬氨酸转运体)的表达。与此同时，缺氧会诱导人源间充质干细胞发生神经元样分化，并与促红细胞生成素一起阻断神经胶质样分化。此外，体外缺氧和体内脑缺血引起的神经元损伤，间充质干细胞可以通过分泌血管内皮生长因子和脑源性神经营养因子促进神经元生长。临床中通过移植间充质干细胞来治疗缺血性脑损伤，间充质干细胞在移植后的缺氧环境下分泌神经营养因子，促进神经干细胞的分化及神经细胞恢复，从而改善患者预后[61-62]。

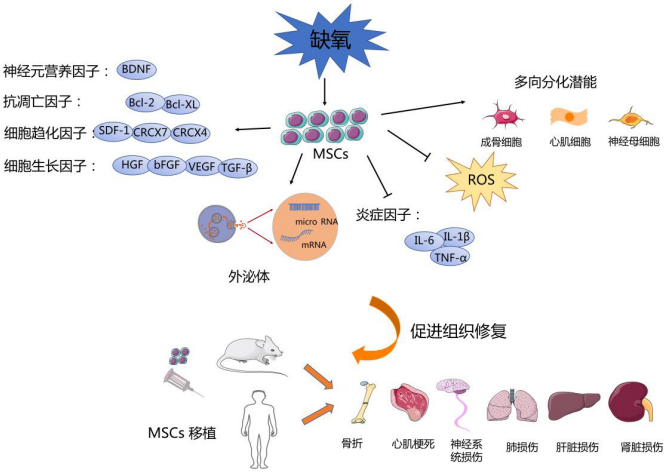
2.2.4 肝脏损伤治疗 近年来，大量基础和临床研究表明，基于间充质干细胞的再生疗法具有免疫抑制和修复肝脏损伤的能力，因此在免疫介导的肝损伤中具有显著的优势[63]。间充质干细胞移植还可以通过抑制纤维化和促进肝再生来减少肝损伤[64]。高氧浓度可以通过产生活性氧而引起氧化应激，从而破坏DNA和蛋白质[65]。在体外，通过缺氧预处理可以抑制间充质干细胞内活性氧活性，抑制肿瘤坏死因子α表达并增强转化生长因子β1分泌，促进细胞内和细胞外胶原生成以及降低促凋亡mRNA表达，从而增强间充质干细胞对肝细胞的营养供给和抗凋亡作用[66]。在大鼠广泛肝切除模型中，缺氧预处理的间充质干细胞移植后通过上调肝细胞生长因子表达[64]，可显著减轻肝损伤，促进肝存活和再生。

2.2.5 肾脏损伤治疗 肾脏损伤包括急性肾损伤和慢性肾病[41]。多项研究表明，间充质干细胞具有肾小管上皮分化潜能，可抑制过度炎症反应，有助于肌成纤维细胞池的形成[67]，在肾损伤修复中有重要作用，并且具有较高的安全性。缺血再灌注损伤是急性肾损伤的主要原因之一。在氯化钴模拟的缺氧条件下预处理间充质干细胞，可以激活低氧诱导因子1α并上调其靶基因CXCR4，使细胞更有效地迁移到缺血再灌注损伤部位并维持更长的时间[68]。缺氧预处理也显著促进间充质干细胞分泌血管生成因子(血管内皮生长因子、碱性成纤维细胞生长因子、肝细胞生长因子)，增强间充质干细胞在缺血再灌注损伤部位的超氧化物清除和血管生成能力，抑制间充质干细胞的凋亡[69]。

2.2.6 肺部疾病治疗 肺是呼吸系统的主要器官，肺疾病属于呼吸系统疾病，主要包括慢性阻塞性肺疾病、支气管肺发育不良、急性肺损伤、哮喘和肺癌。由于童年后肺再生受到很多限制，肺干细胞的表型畸变和稀疏是肺病理学的关键特征和肺损伤的主要驱动力，干细胞疗法已成为治疗肺损伤具有前景的方法[70]。最新研究表明，将缺氧预处理的间充质干细胞移植到博来霉素诱导的肺纤维化小鼠模型中，可通过下调炎性因子(白细胞介素6和白细胞介素1β)的表达、减少肺胶原沉积和纤维化相关基因的表达，以减弱博来霉素诱导的气道收缩并减少肺水肿和纤维化组织病理学改变[71]。此外，缺氧培养还能通过低氧诱导因子1α调节细胞增殖和抗氧化能力，增强间充质干细胞对辐射诱导的小鼠肺损伤的治疗作用[72]。

3 总结与展望 Summary and prospects

间充质干细胞作为一种具有多功能分化能力的细胞，在临床治疗中具有广泛用途，见**图1**。



图注：MSCs为间充质干细胞；BDNF为脑源性神经营养因子；SDF-1为基质细胞衍生因子1；CRCX7为趋化因子受体7；CRCX4为趋化因子受体4；HGF为肝细胞生长因子；bFGF为碱性成纤维细胞生长因子；VEGF为血管内皮生长因子；TGF-β为转化生长因子β；IL-6为白细胞介素6；IL-1β为白细胞介素1β；TNF-α为肿瘤坏死因子α；ROS为活性氧

图1 | 缺氧培养对间充质干细胞增殖、分化、迁移及再生治疗疗效的调控作用

间充质干细胞的生理活性受各种环境因素调控，缺氧是其中的关键影响因素。已有研究表明，缺氧培养对间充质干细胞的增殖、迁移、自我更新和分化等生理过程具有深刻的影响。缺氧培养(体积分数为1%-3%O_2)通过介导低氧诱导因子1α可以促

(C)1994-2025 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

进间充质干细胞的增殖。同时，缺氧也可以通过调节基质细胞来源因子 1、CRCX4 和 CRCX7 等细胞趋化因子来增强间充质干细胞迁移能力。缺氧预处理可以通过调控分化相关基因的表达从而调控间充质干细胞的分化能力，而在不同的低氧体积分数及不同的处理时间下，间充质干细胞表现出不同的分化能力。此外，低氧预处理对于不同组织来源间充质干细胞的分化能力作用也不尽相同。缺氧培养对于间充质干细胞增殖、迁移、分化的调控作用为低氧疗法应用于骨质疏松、骨折、组织损伤等治疗提供了可行的理论依据。

体外细胞培养中的氧气含量通常是指大气中的氧气体积分数 (21%O_2)，但是在组织微环境中，氧气体积分数较低，介于 1%–13% 之间，骨髓中的氧体积分数只有 3%–8%，不同组织的氧体积分数有所差异。此外受伤部位的氧体积分数更低，在严重缺氧条件下，氧体积分数仅在 0.4–2.3% 之间[73]。间充质干细胞移植到损伤组织后，将面临严重的缺氧环境，通常会导致细胞凋亡，治疗效果降低。然而在移植前对间充质干细胞进行缺氧预处理后可以增强移植治疗中抗凋亡因子的表达，维持间充质干细胞的多向分化能力，显著提高细胞存活率，见图 1。此外缺氧预处理后的间充质干细胞通过上调细胞趋化因子表达，能更好地迁移到损伤处，并且在缺氧条件下分泌的间充质干细胞外泌体可以将 mRNA 和 lncRNA 等小分子呈递至损伤部位，加速组织愈合，同时经过缺氧预处理的间充质干细胞可以促进血管生成因子的表达，减少细胞内活性氧的产生，从而增强移植的治疗效果。因此，体外缺氧预处理是提高间充质干细胞存活率和治疗效果的可行方法。

综上所述，文章概述了缺氧培养可以通过介导低氧诱导因子 1α 的表达调控间充质干细胞的增殖、迁移及分化。此外，在再生治疗中，缺氧预处理可以提高移植细胞生存率并促进间充质干细胞分泌相关细胞因子，提高治疗疗效，为骨质疏松临床治疗和干细胞移植再生治疗探究提供了新思路。

作者贡献：刘子文负责综述构思设计、文章写作校对，王文波负责项目指导。全体作者都阅读并同意最终的文本。
经费支持：该文章没有接受任何经费支持。
利益冲突：文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。
写作指南：该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南)。
文章查重：文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。
文章外审：文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。
文章版权：文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。
开放获取声明：这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名－非商业性使用－相同方式共享 4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

[1] DA SILVA MEIRELLES L, CHAGASTELLES PC, NARDI NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. J Cell Sci. 2006;119(Pt 11):2204-2213.
[2] PITTENGER MF, MACKAY AM, BECK SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science. 1999;284(5411):143-147.
[3] KIERNAN J, DAVIES JE, STANFORD WL. Concise Review: Musculoskeletal Stem Cells to Treat Age-Related Osteoporosis. Stem Cells Transl Med. 2017;6(10):1930-1939.
[4] WATSON L, ELLIMAN SJ, COLEMAN CM. From isolation to implantation: a concise review of mesenchymal stem cell therapy in bone fracture repair. Stem Cell Res Ther. 2014;5(2):51.
[5] MOON MY, KIM HJ, CHOI BY, et al. Zinc Promotes Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cell Proliferation and Differentiation towards a Neuronal Fate. Stem Cells Int. 2018;2018:5736535.
[6] WONG SP, ROWLEY JE, REDPATH AN, et al. Pericytes, mesenchymal stem cells and their contributions to tissue repair. Pharmacol Ther. 2015;151:107-120.
[7] HARRELL CR, JOVICIC N, DJONOV V, et al. Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes and Other Extracellular Vesicles as New Remedies in the Therapy of Inflammatory Diseases. Cells. 2019;8(12):1605.
[8] HU C, LI L. Preconditioning influences mesenchymal stem cell properties in vitro and in vivo. J Cell Mol Med. 2018;22(3):1428-1442.
[9] HE C, WANG L, ZHANG J, et al. Hypoxia-inducible microRNA-224 promotes the cell growth, migration and invasion by directly targeting RASSF8 in gastric cancer. Mol Cancer. 2017;16(1):35.
[10] KIMURA W, NAKADA Y, SADEK HA. Hypoxia-induced myocardial regeneration. J Appl Physiol (1985). 2017;123(6):1676-1681.
[11] WANG F, ZACHAR V, PENNISI CP, et al. Hypoxia Enhances Differentiation of Adipose Tissue-Derived Stem Cells toward the Smooth Muscle Phenotype. Int J Mol Sci. 2018;19(2):517.
[12] CHOI JR, PINGGUAN-MURPHY B, WAN ABAS WA, et al. Impact of low oxygen tension on stemness, proliferation and differentiation potential of human adipose-derived stem cells. Biochem Biophys Res Commun. 2014;448(2):218-224.
[13] HUNG SP, HO JH, SHIH YR, et al. Hypoxia promotes proliferation and osteogenic differentiation potentials of human mesenchymal stem cells. J Orthop Res. 2012;30(2):260-266.
[14] FOTIA C, MASSA A, BORIANI F, et al. Hypoxia enhances proliferation and stemness of human adipose-derived mesenchymal stem cells. Cytotechnology. 2015;67(6):1073-1084.
[15] DRELA K, SARNOWSKA A, SIEDLECKA P, et al. Low oxygen atmosphere facilitates proliferation and maintains undifferentiated state of umbilical cord mesenchymal stem cells in an hypoxia inducible factor-dependent manner. Cytotherapy. 2014;16(7):881-892.
[16] LAMPERT FM, KÜTSCHER C, STARK GB, et al. Overexpression of Hif-1α in Mesenchymal Stem Cells Affects Cell-Autonomous Angiogenic and Osteogenic Parameters. J Cell Biochem. 2016;117(3):760-768.
[17] PARK IH, KIM KH, CHOI HK, et al. Constitutive stabilization of hypoxia-inducible factor alpha selectively promotes the self-renewal of mesenchymal progenitors and maintains mesenchymal stromal cells in an undifferentiated state. Exp Mol Med. 2013;45(9):e44.
[18] ZHU Y, ZHANG X, GU R, et al. LAMA2 regulates the fate commitment of mesenchymal stem cells via hedgehog signaling. Stem Cell Res Ther. 2020;11(1):135.
[19] JUN EK, ZHANG Q, YOON BS, et al. Hypoxic conditioned medium from human amniotic fluid-derived mesenchymal stem cells accelerates skin wound healing through TGF-β/SMAD2 and PI3K/Akt pathways. Int J Mol Sci. 2014;15(1):605-628.
[20] ZHANG S, HU B, LIU W, et al. Articular cartilage regeneration: The role of endogenous mesenchymal stem/progenitor cell recruitment and migration. Semin Arthritis Rheum. 2020;50(2):198-208.
[21] OH SY, LEE SJ, JUNG YH, et al. Arachidonic acid promotes skin wound healing through induction of human MSC migration by MT3-MMP-mediated fibronectin degradation. Cell Death Dis. 2015;6(5):e1750.
[22] LI L, JAISWAL PK, MAKHOUL G, et al. Hypoxia modulates cell migration and proliferation in placenta-derived mesenchymal stem cells. J Thorac Cardiovasc Surg. 2017;154(2):543-552.e3.
[23] VERTELOV G, KHARAZI L, MURALIDHAR MG, et al. High targeted migration of human mesenchymal stem cells grown in hypoxia is associated with enhanced activation of RhoA. Stem Cell Res Ther. 2013;4(1):5.
[24] LIU X, DUAN B, CHENG Z, et al. SDF-1/CXCR4 axis modulates bone marrow mesenchymal stem cell apoptosis, migration and cytokine secretion. Protein Cell. 2011;2(10):845-854.
[25] MARTINEZ VG, ONTORIA-OVIEDO I, RICARDO CP, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 alpha improves immunomodulation by dental mesenchymal stem cells. Stem Cell Res Ther. 2017;8(1):208.
[26] MAO Q, LIANG XL, WU YF, et al. ILK promotes survival and self-renewal of hypoxic MSCs via the activation of lncTCF7-Wnt pathway induced by IL-6/STAT3 signaling. Gene Ther. 2019;26(5):165-176.
[27] BOYETTE LB, CREASEY OA, GUZIK L, et al. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells display enhanced clonogenicity but impaired differentiation with hypoxic preconditioning. Stem Cells Transl Med. 2014;3(2):241-254.
[28] YANG DC, YANG MH, TSAI CC, et al. Hypoxia inhibits osteogenesis in human mesenchymal stem cells through direct regulation of RUNX2 by TWIST. PLoS One. 2011;6(9):e23965.

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[29] BENJAMIN S, SHEYN D, BEN-DAVID S, et al. Oxygenated environment enhances both stem cell survival and osteogenic differentiation. Tissue Eng Part A. 2013;19(5-6):748-758.
[30] WAGEGG M, GABER T, LOHANATHA FL, et al. Hypoxia promotes osteogenesis but suppresses adipogenesis of human mesenchymal stromal cells in a hypoxia-inducible factor-1 dependent manner. PLoS One. 2012;7(9):e46483.
[31] VALORANI MG, MONTELATICI E, GERMANI A, et al. Pre-culturing human adipose tissue mesenchymal stem cells under hypoxia increases their adipogenic and osteogenic differentiation potentials. Cell Prolif. 2012;45(3):225-238.
[32] YOO HI, MOON YH, KIM MS. Effects of CoCl2 on multi-lineage differentiation of C3H/10T1/2 mesenchymal stem cells. Korean J Physiol Pharmacol. 2016;20(1):53-62.
[33] VALORANI MG, GERMANI A, OTTO WR, et al. Hypoxia increases Sca-1/CD44 co-expression in murine mesenchymal stem cells and enhances their adipogenic differentiation potential. Cell Tissue Res. 2010;341(1):111-120.
[34] KANICHAI M, FERGUSON D, PRENDERGAST PJ, et al. Hypoxia promotes chondrogenesis in rat mesenchymal stem cells: a role for AKT and hypoxia-inducible factor (HIF)-1alpha. J Cell Physiol. 2008;216(3):708-715.
[35] FELKA T, SCHÄFER R, SCHEWE B, et al. Hypoxia reduces the inhibitory effect of IL-1beta on chondrogenic differentiation of FCS-free expanded MSC. Osteoarthritis Cartilage. 2009;17(10):1368-1376.
[36] HAN YS, LEE JH, YOON YM, et al. Hypoxia-induced expression of cellular prion protein improves the therapeutic potential of mesenchymal stem cells. Cell Death Dis. 2016;7(10):e2395.
[37] TOMA C, PITTENGER MF, CAHILL KS, et al. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. Circulation. 2002;105(1):93-98.
[38] XIA W, ZHUANG L, HOU M. Role of lincRNA-p21 in the protective effect of macrophage inhibition factor against hypoxia/serum deprivation-induced apoptosis in mesenchymal stem cells. Int J Mol Med. 2018;42(4):2175-2184.
[39] HOU M, LIU J, LIU F, et al. C1q tumor necrosis factor-related protein-3 protects mesenchymal stem cells against hypoxia- and serum deprivation-induced apoptosis through the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway. Int J Mol Med. 2014;33(1):97-104.
[40] WANG XY, FAN XS, CAI L, et al. Lysophosphatidic acid rescues bone mesenchymal stem cells from hydrogen peroxide-induced apoptosis. Apoptosis. 2015;20(3):273-284.
[41] YUN CW, LEE SH. Potential and Therapeutic Efficacy of Cell-based Therapy Using Mesenchymal Stem Cells for Acute/chronic Kidney Disease. Int J Mol Sci. 2019;20(7):1619.
[42] HAN Y, LI X, ZHANG Y, et al. Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Medicine. Cells. 2019;8(8):886.
[43] LIEBERGALL M, SCHROEDER J, MOSHEIFF R, et al. Stem cell-based therapy for prevention of delayed fracture union: a randomized and prospective preliminary study. Mol Ther. 2013;21(8):1631-1638.
[44] GORABI AM, KIAIE N, BARRETO GE, et al. The Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes in Treatment of Neurodegenerative Diseases. Mol Neurobiol. 2019;56(12):8157-8167.
[45] CHEN C, HOU J. Mesenchymal stem cell-based therapy in kidney transplantation. Stem Cell Res Ther. 2016;7:16.
[46] XU T, ZHANG Y, CHANG P, et al. Mesenchymal stem cell-based therapy for radiation-induced lung injury. Stem Cell Res Ther. 2018;9(1):18.
[47] LIN W, XU L, PAN Q, et al. Lgr5-overexpressing mesenchymal stem cells augment fracture healing through regulation of Wnt/ERK signaling pathways and mitochondrial dynamics. FASEB J. 2019;33(7):8565-8577.
[48] KATAGIRI W, WATANABE J, TOYAMA N, et al. Clinical Study of Bone Regeneration by Conditioned Medium From Mesenchymal Stem Cells After Maxillary Sinus Floor Elevation. Implant Dent. 2017;26(4):607-612.
[49] MOHYELDIN A, GARZÓN-MUVDI T, QUIÑONES-HINOJOSA A. Oxygen in stem cell biology: a critical component of the stem cell niche. Cell Stem Cell. 2010;7(2):150-161.
[50] HO SS, HUNG BP, HEYRANI N, et al. Hypoxic Preconditioning of Mesenchymal Stem Cells with Subsequent Spheroid Formation Accelerates Repair of Segmental Bone Defects. Stem Cells. 2018;36(9):1393-1403.
[51] BEEGLE J, LAKATOS K, KALOMOIRIS S, et al. Hypoxic preconditioning of mesenchymal stromal cells induces metabolic changes, enhances survival, and promotes cell retention in vivo. Stem Cells. 2015;33(6):1818-1828.
[52] LIU W, LI L, RONG Y, et al. Hypoxic mesenchymal stem cell-derived exosomes promote bone fracture healing by the transfer of miR-126. Acta Biomater. 2020;103:196-212.
[53] HUANG B, QIAN J, MA J, et al. Myocardial transfection of hypoxia-inducible factor-1α and co-transplantation of mesenchymal stem cells enhance cardiac repair in rats with experimental myocardial infarction. Stem Cell Res Ther. 2014;5(1):22.
[54] CHENG J, ZHANG P, JIANG H. Let-7b-mediated pro-survival of transplanted mesenchymal stem cells for cardiac regeneration. Stem Cell Res Ther. 2015;6:216.
[55] ZHU LP, TIAN T, WANG JY, et al. Hypoxia-elicited mesenchymal stem cell-derived exosomes facilitates cardiac repair through miR-125b-mediated prevention of cell death in myocardial infarction. Theranostics. 2018;8(22):6163-6177.
[56] HU X, WU R, SHEHADEH LA, et al. Severe hypoxia exerts parallel and cell-specific regulation of gene expression and alternative splicing in human mesenchymal stem cells. BMC Genomics. 2014;15:303.
[57] HU X, WU R, JIANG Z, et al. Leptin signaling is required for augmented therapeutic properties of mesenchymal stem cells conferred by hypoxia preconditioning. Stem Cells. 2014;32(10):2702-2713.
[58] CHEN P, WU R, ZHU W, et al. Hypoxia preconditioned mesenchymal stem cells prevent cardiac fibroblast activation and collagen production via leptin. PLoS One. 2014;9(8):e103587.
[59] WANG Y, FENG C, XUE J, et al. Adenovirus-mediated hypoxia-inducible factor 1alpha double-mutant promotes differentiation of bone marrow stem cells to cardiomyocytes. J Physiol Sci. 2009;59(6):413-420.
[60] ZHOU J, NOORI H, BURKOVSKIY I, et al. Modulation of the Endocannabinoid System Following Central Nervous System Injury. Int J Mol Sci. 2019;20(2):388.
[61] OPPLIGER B, JOERGER-MESSERLI M, MUELLER M, et al. Intranasal Delivery of Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cells Preserves Myelination in Perinatal Brain Damage. Stem Cells Dev. 2016;25(16): 1234-1242.
[62] VAN VELTHOVEN CT, VAN DE LOOIJ Y, KAVELAARS A, et al. Mesenchymal stem cells restore cortical rewiring after neonatal ischemia in mice. Ann Neurol. 2012;71(6):785-796.
[63] GAZDIC M, ARSENIJEVIC A, MARKOVIC BS, et al. Mesenchymal Stem Cell-Dependent Modulation of Liver Diseases. Int J Biol Sci. 2017;13(9): 1109-1117.
[64] DU Z, WEI C, CHENG K, et al. Mesenchymal stem cell-conditioned medium reduces liver injury and enhances regeneration in reduced-size rat liver transplantation. J Surg Res. 2013;183(2):907-915.
[65] LAVRENTIEVA A, MAJORE I, KASPER C, et al. Effects of hypoxic culture conditions on umbilical cord-derived human mesenchymal stem cells. Cell Commun Signal. 2010;8:18.
[66] QIN HH, FILIPPI C, SUN S, et al. Hypoxic preconditioning potentiates the trophic effects of mesenchymal stem cells on co-cultured human primary hepatocytes. Stem Cell Res Ther. 2015;6:237.
[67] KUPPE C, KRAMANN R. Role of mesenchymal stem cells in kidney injury and fibrosis. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2016;25(4):372-377.
[68] YU X, LU C, LIU H, et al. Hypoxic preconditioning with cobalt of bone marrow mesenchymal stem cells improves cell migration and enhances therapy for treatment of ischemic acute kidney injury. PLoS One. 2013; 8(5):e62703.
[69] ZHANG W, LIU L, HUO Y, et al. Hypoxia-pretreated human MSCs attenuate acute kidney injury through enhanced angiogenic and antioxidative capacities. Biomed Res Int. 2014;2014:462472.
[70] BEHNKE J, KREMER S, SHAHZAD T, et al. MSC Based Therapies-New Perspectives for the Injured Lung. J Clin Med. 2020;9(3):682.
[71] LAN YW, CHOO KB, CHEN CM, et al. Hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells attenuate bleomycin-induced pulmonary fibrosis. Stem Cell Res Ther. 2015;6(1):97.
[72] LI B, LI C, ZHU M, et al. Hypoxia-Induced Mesenchymal Stromal Cells Exhibit an Enhanced Therapeutic Effect on Radiation-Induced Lung Injury in Mice due to an Increased Proliferation Potential and Enhanced Antioxidant Ability. Cell Physiol Biochem. 2017;44(4):1295-1310.
[73] DAS R, JAHR H, VAN OSCH GJ, et al. The role of hypoxia in bone marrow-derived mesenchymal stem cells: considerations for regenerative medicine approaches. Tissue Eng Part B Rev. 2010;16(2):159-168.

(责任编辑：MZH，ZN，JY)

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net