中国组织工程研究
Chinese Journal of Tissue Engineering Research
ISSN 2095-4344,CN 21-1581/R

《中国组织工程研究》网络首发论文

题目：低氧和氧化应激对不同来源间充质干细胞旁分泌的差异性影响
作者：潘筱颖，许永德，刘志强，邢晓雯，杨勇
网络首发日期：2023-06-26
引用格式：潘筱颖，许永德，刘志强，邢晓雯，杨勇．低氧和氧化应激对不同来源间充质干细胞旁分泌的差异性影响[J/OL]．中国组织工程研究．
https://kns.cnki.net/kcms2/detail/21.1581.R.20230621.1833.011.html

网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

网络首发时间：2023-06-26 09:50:45
网络首发地址：https://kns.cnki.net/kcms2/detail/21.1581.R.20230621.1833.011.html

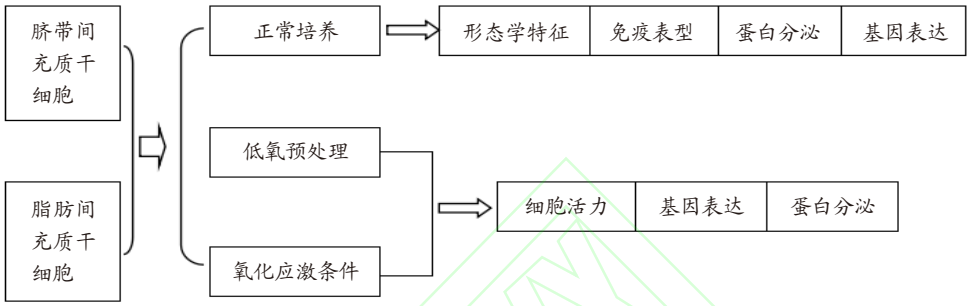
低氧和氧化应激对不同来源间充质干细胞旁分泌的差异性影响

潘筱颖[1, 2]，许永德[3]，刘志强[4]，邢晓雯[4]，杨 勇[2]

https://doi.org/10.12307/2024.140
投稿日期：2023-02-22
采用日期：2023-04-14
修回日期：2023-05-22

中图分类号：
R459.9；R318；Q[291]
文章编号：
2095-4344(2024)00-00000-07
文献标识码：A

文章快速阅读： 氧化应激和低氧条件下脐带间充质干细胞、脂肪间充质干细胞旁分泌功能的差异



文题释义：
氧化应激： 是指体内氧化与抗氧化失衡的一种状态，导致中性粒细胞炎性浸润，蛋白酶分泌增加，产生大量活性氧，直接损伤细胞。
旁分泌功能： 是指干细胞表达、分泌、合成的多种生物活性分子对靶细胞产生的生物学作用，是调节微环境稳态和应答外界不良刺激的重要机制。

摘要
背景： 间充质干细胞的生物学行为受所处生存微环境的影响，微环境条件预处理是调控间充质干细胞功能的重要手段。
目的： 对比氧化应激和低氧条件下脐带间充质干细胞、脂肪间充质干细胞旁分泌功能的差异，为治疗不同疾病选择适当的间充质干细胞预处理方式提供理论依据。
方法： 培养脐带间充质干细胞和脂肪间充质干细胞，分别加入不同浓度的H_2O_2或不同体积分数的O_2干预，检测细胞形态、增殖、活力和旁分泌因子表达。
结果与结论： ①普通培养环境下，脐带间充质干细胞中脑源性神经营养因子和转化生长因子β的表达水平显著高于脂肪间充质干细胞，而脂肪间充质干细胞中基质细胞衍生因子1α和肿瘤坏死因子刺激因子6的表达水平显著高于脐带间充质干细胞；②中低浓度水平(≤100 μmol/L)H_2O_2对2种间充质干细胞活力的影响无显著差异，但H_2O_2浓度从50 μmol/L增至100 μmol/L使脐带间充质干细胞中血管内皮生长因子表达水平显著增高，脂肪间充质干细胞中碱性成纤维细胞生长因子、血管内皮生长因子、基质细胞衍生因子1α和白细胞介素10表达水平均显著升高；③体积分数1% O_2促进2种间充质干细胞增殖；体积分数1% O_2干预24 h后，2种间充质干细胞中基因表达水平均有升高，但脂肪间充质干细胞中血管内皮生长因子、白细胞介素10和肿瘤坏死因子刺激因子6的表达水平显著高于脐带间充质干细胞；④结果提示：低氧和氧化应激预处理可提高间充质干细胞旁分泌功能，但2种间充质干细胞对低氧和氧化应激的响应不同，治疗疾病可选择适合的间充质干细胞预处理方式进一步提升其治疗潜力。
关键词： 脐带间充质干细胞；脂肪间充质干细胞；旁分泌；氧化应激；低氧

Differential effects of hypoxia and oxidative stress on paracrine of mesenchymal stem cells from different sources

Pan Xiaoying[1, 2], Xu Yongde[3], Liu Zhiqiang[4], Xing Xiaowen[4], Yang Yong[2]
[1]Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, Jilin Province, China; [2]Department of Urology, Affiliated Hospital of Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130021, Jilin Province, China; [3]Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100000, China; [4]Institute of Military Medicine, Academy of Military Sciences, Beijing 100000, China
Pan Xiaoying, Attending physician, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, Jilin Province, China; Department of Urology, Affiliated Hospital of Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130021, Jilin Province, China
Corresponding author: Yang Yong, Doctoral candidate, Chief physician, Department of Urology, Affiliated Hospital of Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130021, Jilin Province, China
Co-corresponding author: Xing Xiaowen, Institute of Military Medicine, Academy of Military Sciences, Beijing 100000, China

[1] 长春中医药大学，吉林省长春市 130117；[2] 长春中医药大学附属医院泌尿外科，吉林省长春市 130021；[3] 首都医科大学附属北京友谊医院，北京市 100000；[4] 军事科学院军事医学科学院，北京市 100000
第一作者： 潘筱颖，女，1990 年生，安徽省无为县人，汉族，2013 年北京中医药大学东方学院毕业，主治医师，主要从事干细胞研究、泌尿外科疾病研究。
通讯作者： 杨勇，博士研究生，主任医师，长春中医药大学附属医院泌尿外科，吉林省长春市 130021
共同通讯作者： 邢晓雯，军事科学院军事医学科学院，北京市 100000
https://orcid.org/0009-0003-9786-6715 (潘筱颖)
基金资助： 国家自然科学基金项目 (8197051689)，项目负责人：刘志强
引用本文： 潘筱颖，许永德，刘志强，邢晓雯，杨勇 . 低氧和氧化应激对不同来源间充质干细胞旁分泌的差异性影响 [J]. 中国组织工程研究，2024，28

Abstract

BACKGROUND: The biological behavior of mesenchymal stem cells is influenced by the survival microenvironment. Pre-treatment of the microenvironment is an important means of regulating the function of mesenchymal stem cells.

OBJECTIVE: To compare the differences in paracrine function of umbilical cord mesenchymal stem cells and adipose mesenchymal stem cells under oxidative stress and hypoxia, and to provide a theoretical basis for selecting appropriate pretreatment of mesenchymal stem cells to treat different diseases.

METHODS: Umbilical cord mesenchymal stem cells and adipose mesenchymal stem cells were cultured by H_2O_2 or O_2 oxygen, respectively, and cell morphology, proliferation, viability and paracrine factor expression were examined.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) The expression levels of brain-derived neurotrophic factor and transforming growth factor-β were higher in umbilical cord mesenchymal stem cells than in adipose mesenchymal stem cells under a normal culture environment, while the expressions of stromal cell-derived factor-1α and tumor necrosis factor stimulating factor-6 in the adipose mesenchymal stem cells were significantly higher than those in the umbilical cord mesenchymal stem cells. (2) There was no significant difference in the effect of low and moderate levels (≤ 100 μmol/L) of H_2O_2 on the viability of the two mesenchymal stem cells. However, increasing the H_2O_2 concentration from 50 μmol/L to 100 μmol/L resulted in a distinct increase in vascular endothelial growth factor expression in umbilical cord mesenchymal stem cells. The expression of basic fibroblast growth factor, vascular endothelial growth factor, stromal cell-derived factor-1α and interleukin-10 in adipose mesenchymal stem cells was greatly increased by increasing H_2O_2 concentration in this range. (3) 1% O_2 hypoxia promoted mesenchymal stem cell proliferation. After 24 hours of culture in 1% O_2, gene expression levels were elevated in both mesenchymal stem cells, but the expression levels of vascular endothelial growth factor, interleukin-10 and tumor necrosis factor stimulating factor-6 were significantly higher in adipose mesenchymal stem cells than in umbilical cord mesenchymal stem cells. (4) It is concluded that hypoxia and oxidative stress preconditioning enhances the paracrine function of mesenchymal stem cells. However, mesenchymal stem cells respond differently to hypoxia and oxidative stress. Treating diseases can choose suitable mesenchymal stem cells for appropriate pretreatment to further enhance their therapeutic potential.

Key words: umbilical cord mesenchymal stem cell; adipose mesenchymal stem cell; paracrine; oxidative stress; hypoxia

Funding: *National Natural Science Foundation of China, No. 8197051689 (to LZQ)*

How to cite this article: *PAN XY, XU YD, LIU ZQ, XING XW, YANG Y. Differential effects of hypoxia and oxidative stress on paracrine of mesenchymal stem cells from different sources. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2024;28*

0 引言 Introduction

间充质干细胞是一类起源于中胚层的成体干细胞，可以从不同组织中分离得到，如骨髓[1]、脂肪[2]、脐带[3]、牙髓等[4]，都具有自我更新和多向分化潜能，可以分化为脂肪细胞、神经细胞、软骨细胞、肌肉细胞、骨细胞等[5]。由于脐带间充质干细胞来源于新生儿废弃的脐带，脂肪间充质干细胞多数来源于抽脂术后废弃的脂肪，相较于其他组织来源的间充质干细胞，取材容易、增殖迅速、低免疫原性、无严重伦理问题，更有临床前景。早期研究认为间充质干细胞的损伤修复机制可能是移植细胞分化产生的新细胞代替受损细胞，但干细胞在移植后无法长期存活[6-8]。近年越来越多的研究表明干细胞旁分泌功能可能在组织修复再生中起关键作用[9-10]。目前国内外多项动物实验已证明脐带间充质干细胞和脂肪间充质干细胞可以通过分泌多种旁分泌因子治疗糖尿病[11]、阿尔茨海默症[12]、骨性关节炎[13]、脊髓损伤等[14]。脐带间充质干细胞和脂肪间充质干细胞具有强大的旁分泌功能，能够表达、合成、分泌多种生物活性因子，不仅可以通过血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor，VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor，bFGF)、脑源性神经营养因子 (brain derived neurotrophic factor，BDNF)、肝细胞生长因子、胰岛素样生长因子1等调节细胞增殖、迁移、分化[15-16]，还可以通过白细胞介素10(interleukin-10，IL-10)、肿瘤坏死因子、肿瘤坏死因子刺激因子6(tumor necrosis factor α stimulated gene 6，TSG-6) 等免疫因子调节代谢、炎症和细胞凋亡[17-18]，还可以通过干细胞因子、基质细胞衍生因子1α(stromal cell derived factor-1α，SDF-1α) 等因子影响干细胞归巢，调节靶组织的功能与修复[19]。但不同组织来源间充质干细胞的旁分泌功能仍有较大差异[20]。培养微环境对间充质干细胞的旁分泌功能也有显著影响[21]，通过调节培养条件可以获得具有优异功能的间充质干细胞。氧气体积分数是影响间充质干细胞的一个重要因素，正常体外培养间充质干细胞的氧气体积分数远高于体内氧气体积分数。低氧微环境促使间充质干细胞高表达低氧诱导因子，激活抗凋亡基因，上调趋化因子受体，增强间充质干细胞的归巢能力[22]。低氧培养可以减缓间充质干细胞衰老，促进多种生长因子表达[23]。体内移植治疗时受损组织还会伴随炎症、缺血、高糖等复杂病理微环境，产生大量活性氧，使损伤区域处于氧化应激状态，严重影响干细胞移植后的存活率和旁分泌功能。但较低浓度的过氧化氢 (hydrogen peroxide，H_2O_2) 可激活间充质干细胞旁分泌更多细胞因子，参与损伤区域的修复。因此，比较不同来源间充质干细胞在正常培养、低氧培养和氧化应激时旁分泌功能的差异具有重要意义。

该实验将系统比较脐带间充质干细胞和脂肪间充质干细胞在细胞形态学、免疫表型、蛋白和基因表达上的差异，并建立氧化应激模型和低氧模型，比较两种细胞在不同微环境下的细胞活力、基因表达和蛋白表达变化。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 间充质干细胞形态观察和旁分泌功能对比实验。

1.2 时间及地点 2021年10月至2022年9月在军事科学院军事医学研究院实验室完成。

1.3 材料

1.3.1 细胞 脐带间充质干细胞 (货号 HUXUC-01001) 和脂肪间充质干细胞 (货号 HUXMD-01001) 购自赛业 (广州) 生物科技有限公司，由军事科学院军事医学研究院冻存传代培养。

1.3.2 实验试剂 DMEM 低糖培养基、DMEM/F12 培养基 (美国 Gibco)；胎牛血清、青霉素－链霉素双抗溶液、0.25% 胰蛋白酶消化液 (美国 Biological Industries)；bFGF、VEGF、BDNF 的 ELISA 试剂盒 (美国 BioLegend)；CD31-FITC、CD45-APC、CD73-PE、CD90-APC(美国 Bioscience)；CCK-8(北京碧云天)；H_2O_2(中国国药集团)；反转录试剂盒 (北京全式金生物)；qPCR 试剂盒 (北京 GenStar)。

1.3.3 实验仪器 细胞培养箱 (美国 Thermo Scientific)；低氧培养箱 (中国华仪宁创)；倒置荧光显微镜 (日本 Nikon)；台式冷冻离心机 (德国 Eppendorf)；流式细胞仪 (美国 Becton Dickinson)；多功能酶标仪 (瑞士 TECAN)；分光光度计 (德国 IMPLEN)；普通 PCR 仪 (美国 Bio-rad)；荧光定量 PCR 仪 (美国 Angilent Technologies)。

1.4 实验方法

1.4.1 细胞培养 脐带间充质干细胞的培养条件为含体积分数 10% 胎牛血清和 1% 双抗的 DMEM/F12 培养基，而脂肪间充质干细胞的培养条件为含体积分数 10% 胎牛血清和 1% 双抗的 DMEM 低糖培养基，置于 37 ℃、体积分数 5%CO_2 饱和湿度的培养箱中培养，两三天更换 1 次培养基，细胞长至 80%–90% 融合时，0.25% 胰酶消化，以 1 ∶ 3 的比例传代培养。

1.4.2 表面标志物检测 收集生长状态良好的第 3–5 代脐带间充质干细胞与脂肪间充质干细胞，0.25% 胰酶消化离心后，PBS 洗 2 次，细胞计数后将细胞悬液移至 EP 管中，每管细胞数为 10^6 个，5%BSA 封闭 15 min，在 EP 管中分别加入 5 μL 的 CD31、CD45、CD90、CD73 抗体，冰上避光孵育 30 min，1 500 r/min 离心 5 min，PBS 重悬后移至流式管中，流式细胞仪上机检测。

1.4.3 酶联免疫吸附实验 将 10 代以内的脐带间充质干细胞与脂肪间充质干细胞正常培养 3 d 后，收集细胞培养液。参照试剂盒说明操作，即用包被缓冲液将抗体稀释至 10 μg/mL，每孔 100 μL，4 ℃过夜后，洗涤液洗 4 次，每孔加 200 μL 检测稀释液 A，500 r/min 摇床孵育 1 h，加洗涤液洗 4 次，每孔加 100 μL 标准品和样品，室温 300 r/min 摇床孵育 2 h，洗涤液洗 5 次，每孔加 100 μL 的 TMB 底物溶液，避光孵育 15 min，每孔加 100 μL 停止液停止反应。酶标仪上机检测 450 nm 处的吸光度值。

1.4.4 氧化应激模型 选取生长状态良好的 10 代以内的脐带间充质干细胞与脂肪间充质干细胞以 2×10^4/ 孔的密度接种于 6 孔板，细胞完全贴壁后，分别加入终浓度为 50，100 μmol/L 的 H_2O_2，在 37 ℃、体积分数 5%CO_2 饱和湿度培养箱中培养 24 h。以不加 H_2O_2 培养的细胞作为对照组。

1.4.5 低氧模型 选取生长状态良好的 10 代以内的脐带间充质干细胞与脂肪间充质干细胞以 2×10^4/ 孔的密度接种于 6 孔板，细胞完全贴壁后，置于 37 ℃、体积分数 1%O_2、体积分数 5%CO_2、体积分数 94%N_2 的饱和湿度培养箱中培养 24 h，以体积分数 21%O_2 培养的细胞作为对照组。

1.4.6 RT-qPCR 检测 收集正常培养、预处理的脐带间充质干细胞与脂肪间充质干细胞，加 1 mL 的 Trizol 裂解细胞 10 min，再加 200 μL 三氯甲烷冰浴 10 min，14 000 r/min 离心 15 min，吸取上清至新 EP 管，加 1.5 倍异丙醇颠倒混匀，室温静置 10 min，14 000 r/min 离心 15 min，弃上清，加 1 mL 的体积分数 75% 乙醇，14 000 r/min 离心 15 min，弃乙醇，14 000 r/min 空离 15 min，晾干，加适量无菌无酶水，用分光光度计测量浓度后，取 1 μg 的 RNA 建立反转录体系，按反转录试剂盒的条件将 RNA 反转录为 cDNA，将得到的 cDNA 用实时荧光定量 PCR 试剂盒检测 mRNA 水平，每个样品设 3 个复孔，反应条件为：95 ℃ 10 min 以活化 DNA 酶，95 ℃ 5 s，60 ℃ 15 s，72 ℃ 10 s，40 个循环为扩增和分析。以 actin 作为内参基因，$2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算目的基因的表达量。基因引物序列见**表 1**。

表 1 | RT-qPCR 引物序列
Table 1 | **Primer sequences for RT-qPCR**

基因	Forward primer(5′-3′)	Reverse primer(3′-5′)
actin	CCT CAC CCT GAA GTA CCC	AGC CTG GAT AGC AAC GTA CAT G
bFGF	GCT GTA CTG CAA AAA CGG GG	AGC CAG GTA ACG GTT AGC AC
VEGF	TGG AGT GTG TGC CCA CTG AG	TGC ATT CAC ATT TGT GCT GTA G
BDNF	TAA CGG CGG CAG ACA AAA AGA	TGC ACT TGG TCT CGT AGA AGT AT
SDF-1α	CAG TCA ACC TGG GCA AAG CC	AGC TTT GGT CCT GAG AGT CC
IL-10	TCA AGG CGC ATG TGA ACT CC	GAT GTC AAA CCT CAC TGG CT
TSG-6	CGG AAT AAA CAT CGG GAA AG	CCA AGT AGA TAC AAA GGC AAC C

表注：actin 为肌动蛋白，bFGF 为碱性成纤维细胞生长因子，VEGF 为血管内皮生长因子，BDNF 为脑源性神经营养因子，SDF-1α 为基质细胞衍生因子 1α，IL-10 为白细胞介素 10，TSG-6 为肿瘤坏死因子刺激因子 6

1.4.7 氧化应激对细胞活力的影响 选取生长状态良好的 10 代以内的脐带间充质干细胞与脂肪间充质干细胞，0.25% 胰酶消化离心后重悬计数，按 1×10^8 L^{-1} 的细胞浓度接种于 96 孔板，每孔 100 μL，设 3 个复孔。待细胞完全贴壁，分别加入 0，25，50，75，100，150，200 μmol/L 的 H_2O_2 继续培养 24 h，PBS 洗 2 遍，更换含 10%CCK-8 试剂的培养基，继续培养 2 h，酶标仪在 450 nm 处测定吸光度值。根据公式计算细胞活力 (%)= 实验组吸光度值 / 对照组吸光度值 ×100%。

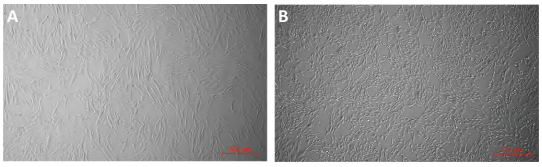
1.4.8 低氧对细胞活力的影响 选取生长状态良好的 10 代以内的脐带间充质干细胞与脂肪间充质干细胞，0.25% 胰酶消化离心后重悬计数，按 1×10^8 L^{-1} 的细胞浓度接种于 96 孔板，每孔 100 μL，设 3 个复孔。待细胞完全贴壁，再将细胞置于 37 ℃、体积分数 1%O_2、5%CO_2、94%N_2 的饱和湿度培养箱中培养 0，12，24，48 h，以正常培养 (37 ℃、体积分数 5%CO_2、21%O_2) 的细胞为对照，分别在相应时间点更换含 10%CCK-8 试剂的培养基，继续培养 2 h，酶标仪在 450 nm 处测定吸光度值，根据 1.4.7 公式计算细胞活力。

1.5 主要观察指标 细胞活力、蛋白分泌量、基因表达量。

1.6 统计学分析 采用 GraphPad Prism 8.0.2 软件对数据进行统计学分析及作图。实验数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示。同一 O_2 或 H_2O_2 浓度下两种细胞比较用 t 检验，同种细胞不同浓度 O_2 或 H_2O_2 多组间比较用 ANOVA 检验，组间两两比较采用 LSD 法。$P<0.05$ 为差异有显著性意义，$P<0.01$ 为差异有非常显著性意义，$P<0.001$ 为差异有极显著性意义。文章统计学方法已经通过中国人民解放军军事科学院军事医学研究院统计学专家审核。

2 结果 Results

2.1 细胞形态学鉴定结果 正常培养 48 h 后，在倒置荧光显微镜下观察细胞形态，**图 1** 可见脐带间充质干细胞与脂肪间充质干细胞均贴壁生长，成纤维细胞样，大小均一，细胞形态基本相同，多呈纺锤形或不规则三角形，平行排列或漩涡状生长。但脐带间充质干细胞体积明显更大，是脂肪干细胞的 3 倍左右。

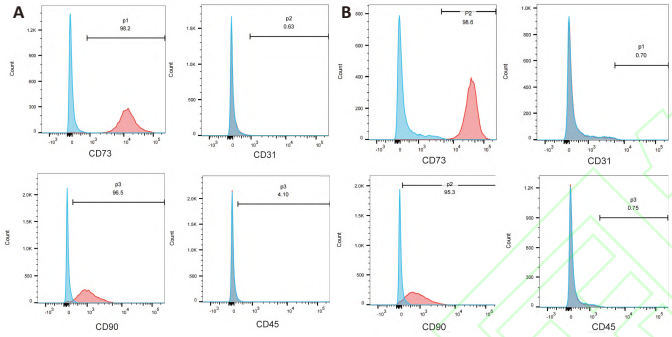


图注：图 A 为脐带间充质干细胞，B 为脂肪间充质干细胞。2 种细胞形态基本相同，多呈纺锤形或不规则三角形，平行排列或漩涡状生长，但脐带间充质干细胞体积明显更大，是脂肪干细胞的 3 倍左右

图 1 | 脐带间充质干细胞和脂肪间充质干细胞的形态 (标尺为 500 μm)

Figure 1 | Morphology of umbilical cord mesenchymal stem cells and adipose mesenchymal stem cells (scale bar: 500 μm)

2.2 表面标志物鉴定结果 流式检测第 3–5 代脐带间充质干细胞与脂肪间充质干细胞的表面标志物，结果显示：脐带间充质干细胞的表面抗原 CD90 和 CD73 阳性率为 96.5%，98.2%，CD31 和 CD45 阳性率仅为 0.63%，4.1%，见**图 2A**；脂肪间充质干细胞的表面抗原 CD90 和 CD73 阳性率为 95.3%，98.6%，CD31 和 CD45 阳性率仅为 0.7%，0.75%，见**图 2B**。2 种间充质干细胞在免疫表型上无明显差异。

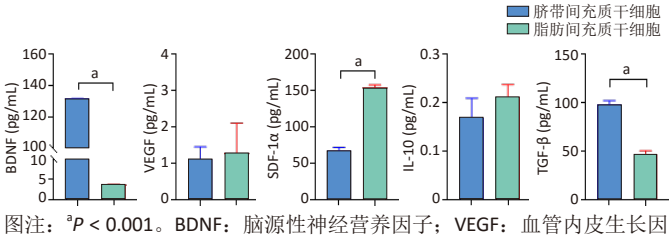


图注：脐带间充质干细胞 (A) 和脂肪间充质干细胞 (B) 均高表达 CD73、CD90，不表达 CD31、CD45

图 2 | 流式细胞术检测干细胞表面标志物

Figure 2 | Detecting the surface markers of stem cells by the flow cytometry

2.3 蛋白分泌量的差异 酶联免疫吸附实验检测正常培养 3 d 的脐带间充质干细胞和脂肪间充质干细胞培养液中 BDNF、VEGF、SDF-1α、IL-10 和 TGF-β 蛋白分泌量。**图 3** 结果显示，VEGF 和 IL-10 的分泌量两组无明显差异 ($P > 0.05$)，BDNF、SDF-1α 和 TGF-β 的分泌量两组差异极为显著 ($P < 0.001$)，脐带间充质干细胞分泌的 BDNF 和 TGF-β 更多，而脂肪间充质干细胞分泌的 SDF-1α 更多。与 IL-10 和 VEGF 相比，脐带间充质干细胞和脂肪间充质干细胞培养液中 BDNF、SDF-1α 和 TGF-β 蛋白分泌量更高。

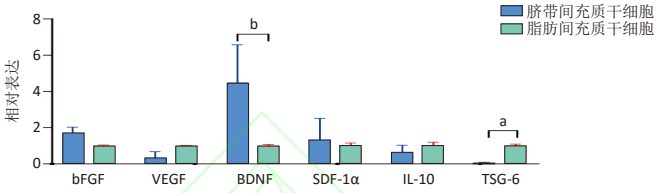


图注：$^aP < 0.001$。BDNF：脑源性神经营养因子；VEGF：血管内皮生长因子；SDF-1α：基质细胞衍生因子 1α；IL-10：白细胞介素 10；TSG-6：肿瘤坏死因子刺激因子 6

图 3 | 脐带间充质干细胞和脂肪间充质干细胞在蛋白分泌方面的差异

Figure 3 | Differences in protein secretion between umbilical cord mesenchymal stem cells and adipose mesenchymal stem cells

2.4 基因表达量的差异 比较正常培养 3 d 的脐带间充质干细胞和脂肪间充质干细胞的基因表达差异，发现两者均表达 bFGF、VEGF、BDNF、SDF-1α、IL-10 和 TSG-6，见**图 4**。脐带间充质干细胞与脂肪间充质干细胞在 bFGF、VEGF、SDF-1α 和 IL-10 表达上均无明显差异 ($P > 0.05$)。脐带间充质干细胞 BDNF 的表达 (4.482±2.093) 是脂肪间充质干细胞 (1.001±0.15) 的 4 倍左右，但 TSG-6 的表达 (0.052±0.039) 仅为脂肪间充质干细胞 (1.008±0.187) 的 1/20。



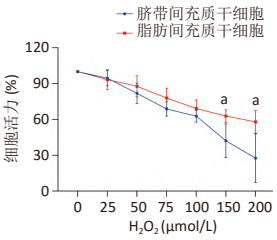
图注：$^aP < 0.05$，$^bP < 0.001$。bFGF：碱性成纤维细胞生长因子；VEGF：血管内皮生长因子；BDNF：脑源性神经营养因子；SDF-1α：基质细胞衍生因子 1α；IL-10：白细胞介素 10；TSG-6：肿瘤坏死因子刺激因子 6

图 4 | 脐带间充质干细胞与脂肪间充质干细胞的基因表达

Figure 4 | Gene expression of umbilical cord mesenchymal stem cells and adipose mesenchymal stem cells

2.5 氧化应激条件对脐带间充质干细胞与脂肪间充质干细胞的影响

2.5.1 不同浓度 H_2O_2 对细胞活力的影响 为了比较 H_2O_2 对间充质干细胞活力的影响，以不加 H_2O_2 的细胞为对照，在细胞内加入不同浓度 H_2O_2 处理 24 h 后，CCK-8 检测细胞活力，发现 H_2O_2 降低了间充质干细胞活力，见**图 5**。但在≤ 100 μmol/L 中低浓度范围内，H_2O_2 对间充质干细胞活力影响较小；50–100 μmol/L 中浓度范围内，2 种间充质干细胞活力均高于 60%，而且中低浓度时，2 种间充质干细胞活力没有明显差异 ($P > 0.05$)。> 100 μmol/L 的高浓度 H_2O_2 对间充质干细胞毒性较大，尤其是对脐带间充质干细胞毒性较大，200 μmol/L 浓度时脐带间充质干细胞活力仅为 27% 左右。



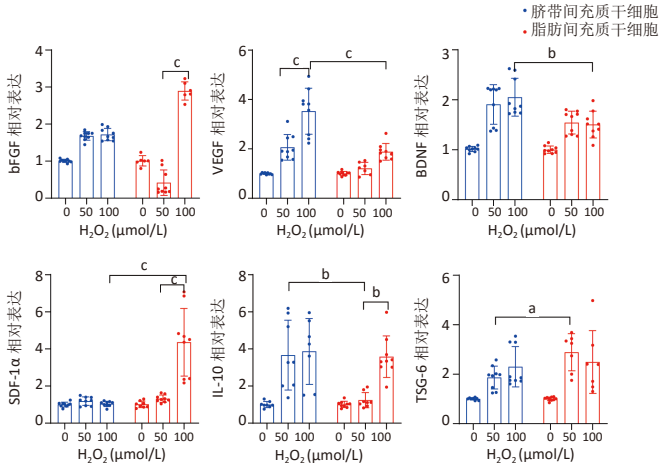
图注：与脐带间充质干细胞比较，$^aP < 0.001$

图 5 | 不同浓度 H_2O_2 对脐带间充质干细胞和脂肪间充质干细胞活力的影响

Figure 5 | Effects of different concentrations of H_2O_2 on the viability of umbilical cord mesenchymal stem cells and adipose mesenchymal stem cells

2.5.2 不同浓度 H_2O_2 对基因表达的影响 H_2O_2 可以提高间充质干细胞中 bFGF、VEGF、BDNF、SDF-1α、IL-10 和 TSG-6 的表达水平，见**图 6**。但 H_2O_2 浓度由 50 μmol/L 升高至 100 μmol/L，脐带间充质干细胞中 bFGF、BDNF、SDF-1α、IL-10 和 TSG-6 的表达都没有明显变化 ($P > 0.05$)，只有 VEGF 的表达升高 ($P < 0.001$)，脂肪间充质干细胞中 BDNF、VEGF、TSG-6 的表达都没有明显变化 ($P > 0.05$)，脂肪间充质干细胞中 bFGF、IL-10 和 SDF-1α 的表达升高 ($P < 0.01$)。当 H_2O_2 浓度为 50 μmol/L 时，脐带间充质干细胞中 bFGF 升高约 1.7 倍，但脂肪间充质干细胞中 bFGF 表达降低；而且脐带间充质干细

胞中 IL-10 表达升高约 4 倍，但脂肪间充质干细胞中 IL-10 表达仅升高约 1.3 倍。当 H_2O_2 浓度为 100 μmol/L 时，脐带间充质干细胞中 bFGF 和 SDF-1α 的表达与 50 μmol/L 浓度时基本一致，但脂肪间充质干细胞中 bFGF 升高约 3 倍，SDF-1α 升高 4 倍多。



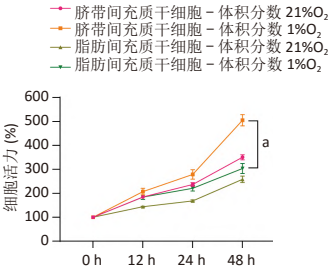
图注：[a]$P < 0.05$，[b]$P < 0.01$，[c]$P < 0.001$。bFGF：碱性成纤维细胞生长因子；VEGF：血管内皮生长因子；BDNF：脑源性神经营养因子；SDF-1α：基质细胞衍生因子 1α；IL-10：白细胞介素 10；TSG-6：肿瘤坏死因子刺激因子 6

图 6 | 不同浓度 H_2O_2 对脐带间充质干细胞和脂肪间充质干细胞相关基因表达的影响

Figure 6 | Effects of different concentrations of H_2O_2 on gene expression of umbilical cord mesenchymal stem cells and adipose mesenchymal stem cells

2.6 低氧对脐带间充质干细胞与脂肪间充质干细胞的影响

2.6.1 低氧对 2 种间充质干细胞增殖的影响 **图 7** 结果显示，与体积分数 21%O_2 培养相比，体积分数 1%O_2 培养促进 2 种间充质干细胞增殖。脂肪间充质干细胞在培养 12 h 后增殖水平显著提升 ($P < 0.001$)，但脐带间充质干细胞在培养 24 h 后差异明显 ($P < 0.001$)。在低氧培养 48 h 后，脐带间充质干细胞的增殖速度显著高于脂肪间充质干细胞 ($P < 0.001$)。

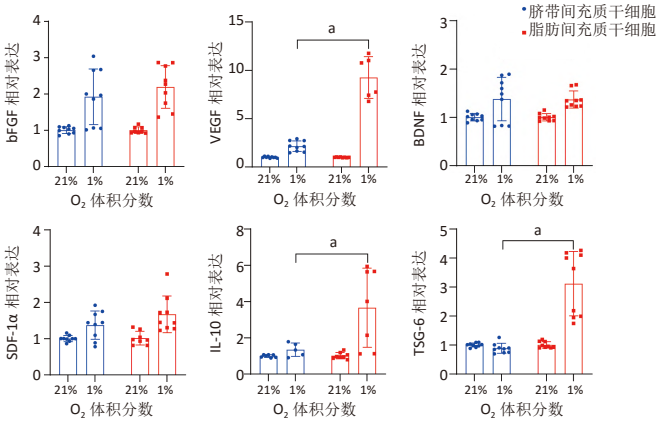


图注：[a]$P < 0.001$

图 7 | 低氧对脐带间充质干细胞与脂肪间充质干细胞增殖的影响

Figure 7 | Effects of hypoxia on proliferation of umbilical cord mesenchymal stem cells and adipose mesenchymal stem cells

2.6.2 低氧对 2 种间充质干细胞基因表达的影响 与体积分数 21%O_2 培养 24 h 相比较，体积分数 1%O_2 培养 24 h 后，2 种间充质干细胞中 bFGF、VEGF、BDNG、SDF-1α、IL-10 和 TSG-6 的基因表达水平均有升高，见**图 8**，其中 bFGF 的表达均提高 2 倍左右，BDNF 和 SDF-1α 的表达均提高 1.5 倍左右。但脂肪间充质干细胞中 VEGF、IL-10 和 TSG-6 的表达升高更显著 ($P < 0.001$)，分别升高约 9 倍、4 倍和 3 倍。



图注：[a]$P < 0.001$。bFGF：碱性成纤维细胞生长因子；VEGF：血管内皮生长因子；BDNF：脑源性神经营养因子；SDF-1α：基质细胞衍生因子 1α；IL-10：白细胞介素 10；TSG-6：肿瘤坏死因子刺激因子 6

图 8 | 低氧对脐带间充质干细胞与脂肪间充质干细胞相关基因表达的影响

Figure 8 | Effect of hypoxia on gene expression of umbilical cord mesenchymal stem cells and adipose mesenchymal stem cells

3 讨论 Discussion

人脐带来源间充质干细胞和人脂肪来源间充质干细胞有相似的形态学特征、免疫表型以及基因和蛋白表达，但二者存在差异。在细胞形态方面，2 种间充质干细胞虽然都呈纤维样贴壁生长，但人脐带间充质干细胞明显体积更大。细胞体积大小决定细胞器和细胞内的运输空间，影响细胞增殖、分化、凋亡等，一般来说，体积越大，细胞生物合成能力越强大，新陈代谢效率越高，分子运输效率也越高 [24]。脐带间充质干细胞体积更大可能与其来源于脐带有关，它需要更高的运输效率来维持胎儿的生长发育。还有研究表明铺展面积较大的间充质干细胞成骨分化能力更强 [25]，而体积更小的间充质干细胞更易保持干细胞的干性 [26]，间充质干细胞在体外长期培养时体积增大代表细胞逐渐衰老 [27]。

按国际细胞治疗学会的标准，间充质干细胞表达特征性表面抗原 CD105、CD73、CD90，不表达 CD45、CD31[28]，这与实验结果一致。但目前缺乏特征性的表面标志物区分来源不同的间充质干细胞 [29]。

体外普通培养的脐带间充质干细胞和脂肪间充质干细胞在旁分泌因子表达上存在差异。ELISA 和 RT-qPCR 检测结果都显示脐带间充质干细胞分泌 BDNF 水平显著高于脂肪间充质干细胞。BDNF 作为一种重要的神经营养因子，调节神经元增殖和分化 [30]。高表达 BDNF 的脐带间充质干细胞可以治疗多种神经损伤性疾病 [31-33]。脐带间充质干细胞和脂肪间充质干细胞的 VEGF、IL-10 蛋白分泌量无明显差异，但脐带间充质干细胞分泌的 TGF-β 更多，脂肪间充质干细胞分泌的 SDF-1α 更多。TGF-β 可以通过激活 TGF-β/Smad 通路加速间充质干细胞成骨分化 [34]，促进骨组织再生 [35]。TGF-β 抑制或者促进炎症，这取决于是否存在白细胞介素 6 这样的促炎因子 [36]。SDF-1/CXCR4 轴可以将干细胞按 SDF-1 浓度梯度募集至损伤区域 [37-38]。因此，初步认为脂肪间充质干细胞更适合靶向治疗局部损伤，脐带间充质干细胞更适合局部给药治疗神经损伤或骨损伤。尾静脉注射近红外荧光探针标记的脂肪间充质

干细胞移植治疗急性肝衰竭疗效显著，体内追踪发现脂肪间充质干细胞向损伤的肝脏归巢[39]。局部注射脐带间充质干细胞修复脊髓损伤的效果显著高于静脉注射[40]。

体外培养环境和体内微环境存在巨大差异，且间充质干细胞的生物学行为受所处生存微环境的影响较大。体内组织中的氧气体积分数在3%–11%之间，显著低于传统体外培养时的氧气体积分数，且损伤组织的氧气体积分数比正常组织更低[41]。低氧会促使间充质干细胞激活HIF-1α，诱导SDF-1受体CXCR4和CXCR7高表达，从而提高体外靶向能力[42-43]。低氧刺激间充质干细胞旁分泌更多生长因子，增强组织修复能力[44]。因此该研究用体积分数1%O_2模拟间充质干细胞在体内的低氧微环境，同样发现低氧不仅促进间充质干细胞增殖，还促使间充质干细胞中多种细胞因子表达上调，但不同间充质干细胞对低氧环境的响应并不相同。脂肪间充质干细胞中抗炎因子IL-10、TSG-6和生长因子VEGF的表达上调更显著。IL-10作为一种具有抗细胞凋亡特性的抗炎因子，提高间充质干细胞移植后的存活率[45]。TSG-6通过与趋化因子CXCL8直接作用抑制中性粒细胞迁移[46]，是影响间充质干细胞免疫调节特性的关键因素[47]。因此，低氧环境显著提升间充质干细胞的治疗潜力，低氧预处理脂肪间充质干细胞可以用来治疗各种炎性疾病和缺血性疾病。

氧化应激是指体内氧化和抗氧化失衡的状态。损伤区域炎症、缺血、缺氧等因素都会导致氧化应激状态[48]，释放过量活性氧，直接损伤蛋白质、核酸、脂质，致使细胞凋亡[49]。该研究用H_2O_2模拟氧化应激状态，发现H_2O_2浓度与间充质干细胞活性直接相关：中低浓度H_2O_2对间充质干细胞毒性较小，但高浓度H_2O_2对间充质干细胞毒性较大。利用低浓度H_2O_2预处理可以增强间充质干细胞抗氧化应激能力，提升移植后干细胞存活率[50-51]。但这种适应性保护的具体机制尚不清楚，可能是由于H_2O_2浓度低时，低量活性氧激活细胞自身抗氧化机制；H_2O_2浓度高时，过量的活性氧激活细胞凋亡的信号通路[52]。该研究发现H_2O_2可以提高间充质干细胞旁分泌因子表达，但2种间充质干细胞对50，100 μmol/L H_2O_2的响应不一致。随着H_2O_2浓度升高，脂肪间充质干细胞中的生长因子bFGF、炎症因子IL-10和趋化因子SDF-1α表达也升高，但脐带间充质干细胞中仅有VEGF表达升高。bFGF是一种具有血管生成和神经营养作用的多效因子[53-54]，过表达bFGF的脂肪间充质干细胞可以激活PI3K/Akt通路，促进微血管生成，减少内皮细胞凋亡[55]。VEGF作为一种促血管生成因子，是运动神经元必需的营养因子[56]，还可与bFGF协同作用[57]，促进微血管生成和伤口愈合[58]。因此，体外50 μmol/L H_2O_2预处理脐带间充质干细胞或100 μmol/L H_2O_2预处理脂肪间充质干细胞都能更好地发挥旁分泌功能，治疗长期氧化应激引起的多种疾病，如心血管疾病、糖尿病、慢性炎症等。

正常培养时，脐带间充质干细胞中BDNF相对表达量显著高于脂肪间充质干细胞，而脂肪间充质干细胞中TSG-6相对表达量显著高于脐带间充质干细胞。50 μmol/L H_2O_2处理后，2种间充质干细胞中BDNF的上调倍数差异不明显，但H_2O_2处理后的脐带间充质干细胞中BDNF绝对表达量仍显著高于脂肪间充质干细胞；100 μmol/L H_2O_2处理后，2种间充质干细胞中TSG-6的上调倍数差异不明显，但H_2O_2处理后脂肪间充质干细胞中TSG-6绝对表达量仍显著高于脐带间充质干细胞。同样，体积分数1%O_2处理后，脐带间充质干细胞中BDNF绝对表达量仍显著高于脂肪间充质干细胞。因此，脐带间充质干细胞可能更适合用于神经损伤修复或神经退行性疾病，脂肪间充质干细胞可能更适合用于炎性疾病或免疫性疾病。

正常培养的脐带间充质干细胞和脂肪间充质干细胞旁分泌功能相似，但仍存在差异。脐带间充质干细胞神经修复能力更强，而脂肪间充质干细胞靶向能力和免疫调节作用更强。这2种间充质干细胞进行H_2O_2和低氧预处理后，旁分泌因子表达均升高，但它们对H_2O_2和低氧2种微环境的响应有明显差异。脐带间充质干细胞对H_2O_2更敏感，50 μmol/L H_2O_2即可提升旁分泌因子表达，脂肪间充质干细胞则需要100 μmol/L H_2O_2预处理。因此，初步认为在治疗长期氧化应激引起的疾病时可以选择较低浓度的H_2O_2预处理脐带间充质干细胞或较高浓度的H_2O_2预处理脂肪间充质干细胞，增强间充质干细胞在损伤区域的治疗作用。脂肪间充质干细胞对低氧变化更敏感，可显著提升生长因子和抗炎因子的表达，初步认为低氧预处理的脂肪间充质干细胞可以用来治疗各种缺血性疾病和炎性疾病。

预处理可以进一步增强间充质干细胞的治疗潜力，因此，在应用2种间充质干细胞之前，可以针对性选择不同间充质干细胞进行H_2O_2或低氧预处理。

致谢：感谢军事科学院军事医学研究院实验室提供实验平台，感谢刘志强老师及许永德主任的指导和意见。

作者贡献：实验设计为杨勇、邢晓雯、刘志强，实验实施和资料收集为潘筱颖，实验评估为潘筱颖、许永德、邢晓雯、刘志强，文章审核为许永德、刘志强、杨勇，邢晓雯为共同通讯作者。

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。

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。

版权转让：文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范：该文章撰写遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》；文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次文字和图表查重；文章经小同行外审专家双盲审稿，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

[1] LI Y, CHEN S, TAN J, et al. Combination therapy with DHA and BMSCs suppressed podocyte injury and attenuated renal fibrosis by modulating the TGF-β1/Smad pathway in MN mice. Ren Fail. 2023;45(1):2120821.

[2] CHENG X, MAO GP, HU WJ, et al. Exercise combined with administration of adipose-derived stem cells ameliorates neuropathic pain after spinal cord injury. Neural Regen Res. 2023;18(8):1841-1846.

[3] WANG X, ZHAO Y, LI S, et al. Activation of the kynurenine-aryl hydrocarbon receptor axis impairs the chondrogenic and chondroprotective effects of human umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells in osteoarthritis rats. Hum Cell. 2023;36(1):163-177.

[4] TIAN J, CHEN W, XIONG Y, et al. Small extracellular vesicles derived from hypoxic preconditioned dental pulp stem cells ameliorate inflammatory osteolysis by modulating macrophage polarization and osteoclastogenesis. Bioact Mater. 2022;22:326-342.

[5] STEENS J, KLEIN D. HOX genes in stem cells: Maintaining cellular identity and regulation of differentiation. Front Cell Dev Biol. 2022;10:1002909.
[6] LEIKER M, SUZUKI G, IYER VS, et al. Assessment of a nuclear affinity labeling method for tracking implanted mesenchymal stem cells. Cell Transplant. 2008; 17(8):911-922.
[7] CHEN D, FU W, ZHUANG W, et al. Therapeutic effects of intranigral transplantation of mesenchymal stem cells in rat models of Parkinson's disease. J Neurosci Res. 2017;95(3):907-917.
[8] JOYCE N, ANNETT G, WIRTHLIN L, et al. Mesenchymal stem cells for the treatment of neurodegenerative disease. Regen Med. 2010;5(6):933-946.
[9] YAO H, YUAN X, WU Z, et al. Fabrication and Performance Evaluation of Gelatin/ Sodium Alginate Hydrogel-Based Macrophage and MSC Cell-Encapsulated Paracrine System with Potential Application in Wound Healing. Int J Mol Sci. 2023;24(2):1240.
[10] PITTENGER MF, DISCHER DE, PÉAULT BM, et al. Mesenchymal stem cell perspective: cell biology to clinical progress. NPJ Regen Med. 2019;4:22.
[11] TERATANI T, KASAHARA N, FUJIMOTO Y, et al. Mesenchymal Stem Cells Secretions Enhanced ATP Generation on Isolated Islets during Transplantation. Islets. 2022; 14(1):69-81.
[12] VATSA P, NEGI R, ANSARI UA, et al. Insights of Extracellular Vesicles of Mesenchymal Stem Cells: a Prospective Cell-Free Regenerative Medicine for Neurodegenerative Disorders. Mol Neurobiol. 2022;59(1):459-474.
[13] XU L, ZHANG F, CHENG G, et al. Attenuation of experimental osteoarthritis with human adipose-derived mesenchymal stem cell therapy: inhibition of the pyroptosis in chondrocytes. Inflamm Res. 2023;72(1):89-105.
[14] XIAO X, LI W, XU Z, et al. Extracellular vesicles from human umbilical cord mesenchymal stem cells reduce lipopolysaccharide-induced spinal cord injury neuronal apoptosis by mediating miR-29b-3p/PTEN. Connect Tissue Res. 2022; 63(6):634-649.
[15] LIN J, ZHU Q, HUANG J, et al. Hypoxia Promotes Vascular Smooth Muscle Cell (VSMC) Differentiation of Adipose-Derived Stem Cell (ADSC) by Regulating Mettl3 and Paracrine Factors. Stem Cells Int. 2020;2020:2830565.
[16] WANG L, YAO S, HUANG F, et al. The UCMSC-bFGF/Scaffold System Accelerates the Healing of the Uterine Full-Thickness Injury. Tissue Eng Part A. 2023;29(3-4): 112-125.
[17] VOLAREVIC V, GAZDIC M, SIMOVIC MARKOVIC B, et al. Mesenchymal stem cell-derived factors: Immuno-modulatory effects and therapeutic potential. Biofactors. 2017;43(5):633-644.
[18] SU Y, XU C, CHENG W, et al. Pretreated Mesenchymal Stem Cells and Their Secretome: Enhanced Immunotherapeutic Strategies. Int J Mol Sci. 2023;24(2): 1277.
[19] ISLAMI M, SOLEIMANIFAR F. A Review of Evaluating Hematopoietic Stem Cells Derived from Umbilical Cord Blood's Expansion and Homing. Curr Stem Cell Res Ther. 2020;15(3):250-262.
[20] SANGEETHA KN, VENNILA R, SECUNDA R, et al. Functional variations between Mesenchymal Stem Cells of different tissue origins: A comparative gene expression profiling. Biotechnol Lett. 2020;42(7):1287-1304.
[21] SAGARADZE GD, BASALOVA NA, EFIMENKO AY, et al. Mesenchymal Stromal Cells as Critical Contributors to Tissue Regeneration. Front Cell Dev Biol. 2020;8: 576176.
[22] 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.
[23] XU CM, KARBASIAFSHAR C, BRINCK TEIXEIRA R, et al. Proteomic Assessment of Hypoxia-Pre-Conditioned Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles Demonstrates Promise in the Treatment of Cardiovascular Disease. Int J Mol Sci. 2023;24(2):1674.
[24] WANG M, YANG Y, HAN L, et al. Cell mechanical microenvironment for cell volume regulation. J Cell Physiol. 2020;235(5):4070-4081.
[25] YANG Y, WANG X, WANG Y, et al. Influence of Cell Spreading Area on the Osteogenic Commitment and Phenotype Maintenance of Mesenchymal Stem Cells. Sci Rep. 2019;9(1):6891.
[26] SONG L, TUAN RS. Transdifferentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow. FASEB J. 2004;18(9):980-982.
[27] OJA S, KOMULAINEN P, PENTTILÄ A, et al. Automated image analysis detects aging in clinical-grade mesenchymal stromal cell cultures. Stem Cell Res Ther. 2018;9(1):6.
[28] DOMINICI M, LE BLANC K, MUELLER I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy. 2006;8(4):315-317.
[29] AL-NBAHEEN M, VISHNUBALAJI R, ALI D, et al. Human stromal (mesenchymal) stem cells from bone marrow, adipose tissue and skin exhibit differences in molecular phenotype and differentiation potential. Stem Cell Rev Rep. 2013; 9(1):32-43.
[30] ALFONSETTI M, D'ANGELO M, CASTELLI V. Neurotrophic factor-based pharmacological approaches in neurological disorders. Neural Regen Res. 2023; 18(6):1220-1228.
[31] YUAN X, BALOG BM, LIN DL, et al. Brain-Derived Neurotrophic Factor Is an Important Therapeutic Factor in Mesenchymal Stem Cell Secretions for Treatment of Traumatic Peripheral Pelvic Injuries. Front Cell Neurosci. 2022;16: 866094.
[32] LIU X, ZHANG J, CHENG X, et al. Integrated printed BDNF-stimulated HUCMSCs-derived exosomes/collagen/chitosan biological scaffolds with 3D printing technology promoted the remodelling of neural networks after traumatic brain injury. Regen Biomater. 2022;10:rbac085.
[33] WANG J, HU W, FENG Z, et al. BDNF-overexpressing human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived motor neurons improve motor function and prolong survival in amyotrophic lateral sclerosis mice. Neurol Res. 2021;43(3): 199-209.
[34] HUANG Y, LIAO L, SU H, et al. Psoralen accelerates osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells by activating the TGF-β/Smad3 pathway. Exp Ther Med. 2021;22(3):940.
[35] ZHANG X, WANG G, WANG W, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells paracrine TGF-β1 to mediate the biological activity of osteoblasts in bone repair. Cytokine. 2023;164:156139.
[36] TIE Y, TANG F, PENG D, et al. TGF-beta signal transduction: biology, function and therapy for diseases. Mol Biomed. 2022;3(1):45.
[37] LIU Y, LIU N, LI X, et al. Ginsenoside Rb1 Modulates the Migration of Bone-Derived Mesenchymal Stem Cells through the SDF-1/CXCR4 Axis and PI3K/Akt Pathway. Dis Markers. 2022;2022:5196682.
[38] MA J, LIU N, YI B, et al. Transplanted hUCB-MSCs migrated to the damaged area by SDF-1/CXCR4 signaling to promote functional recovery after traumatic brain injury in rats. Neurol Res. 2015;37(1):50-56.
[39] LIAO N, ZHANG D, WU M, et al. Enhancing therapeutic effects and in vivo tracking of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells for liver injury using bioorthogonal click chemistry. Nanoscale. 2021;13(3):1813-1822.
[40] LU Y, ZHANG W, TIAN Z, et al. The optimal transplantation strategy of umbilical cord mesenchymal stem cells in spinal cord injury: a systematic review and network meta-analysis based on animal studies. Stem Cell Res Ther. 2022;13(1): 441.
[41] SHIFA UL HAQ HM, ASHFAQ R, MEHMOOD A, et al. Priming with caffeic acid enhances the potential and survival ability of human adipose-derived stem cells to counteract hypoxia. Regen Ther. 2023;22:115-127.
[42] LIU H, XUE W, GE G, et al. Hypoxic preconditioning advances CXCR4 and CXCR7 expression by activating HIF-1α in MSCs. Biochem Biophys Res Commun. 2010; 401(4):509-515.
[43] LIU H, LIU S, LI Y, et al. The role of SDF-1-CXCR4/CXCR7 axis in the therapeutic effects of hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells for renal ischemia/ reperfusion injury. PLoS One. 2012;7(4):e34608.
[44] MERKHAN MM, SHEPHARD MT, FORSYTH NR. Physoxia alters human mesenchymal stem cell secretome. J Tissue Eng. 2021;12:20417314211056132.
[45] NITAHARA-KASAHARA Y, KURAOKA M, ODA Y, et al. Enhanced cell survival and therapeutic benefits of IL-10-expressing multipotent mesenchymal stromal cells for muscular dystrophy. Stem Cell Res Ther. 2021;12(1):105.
[46] DYER DP, THOMSON JM, HERMANT A, et al. TSG-6 inhibits neutrophil migration via direct interaction with the chemokine CXCL8. J Immunol. 2014;192(5):2177-2185.
[47] LIU Y, ZENG R, WANG Y, et al. Mesenchymal stem cells enhance microglia M2 polarization and attenuate neuroinflammation through TSG-6. Brain Res. 2019; 1724:146422.
[48] SALEEM U, SABIR S, NIAZI SG, et al. Role of Oxidative Stress and Antioxidant Defense Biomarkers in Neurodegenerative Diseases. Crit Rev Eukaryot Gene Expr. 2020;30(4):311-322.
[49] DEMIRCI-ÇEKIÇ S, ÖZKAN G, AVAN AN, et al. Biomarkers of Oxidative Stress and Antioxidant Defense. J Pharm Biomed Anal. 2022;209:114477.
[50] MAHMOUDI T, ABDOLMOHAMMADI K, BASHIRI H, et al. Hydrogen Peroxide Preconditioning Promotes Protective Effects of Umbilical Cord Vein Mesenchymal Stem Cells in Experimental Pulmonary Fibrosis. Adv Pharm Bull. 2020;10(1):72-80.
[51] RAHIMI B, PANAHI M, SARAYGORD-AFSHARI N, et al. The secretome of mesenchymal stem cells and oxidative stress: challenges and opportunities in cell-free regenerative medicine. Mol Biol Rep. 2021;48(7):5607-5619.
[52] REDZA-DUTORDOIR M, AVERILL-BATES DA. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. Biochim Biophys Acta. 2016;1863(12): 2977-2992.
[53] LI L, MA Q, MOU J, et al. Basic fibroblast growth factor gel preparation induces angiogenesis during wound healing. Int J Artif Organs. 2023;46(3):171-181.
[54] DENG J, ZHANG X, YIN M, et al. Modified CFBP-bFGF targeting to ischemic brain promoted the functional recovery of cerebral ischemia. J Control Release. 2023;353:462-474.
[55] WANG P, LI J, ZHANG C, et al. bFGF overexpression adipose derived mesenchymal stem cells improved the survival of pulmonary arterial endothelial cells via PI3k/ Akt signaling pathway. Int J Biochem Cell Biol. 2019;113:87-94.
[56] CALVO PM, HERNÁNDEZ RG, DE LA CRUZ RR, et al. Role of vascular endothelial growth factor as a critical neurotrophic factor for the survival and physiology of motoneurons. Neural Regen Res. 2023;18(8):1691-1696.
[57] PARK JS, KIM D, HONG HS. Priming with a Combination of FGF2 and HGF Restores the Impaired Osteogenic Differentiation of Adipose-Derived Stem Cells. Cells. 2022;11(13):2042.
[58] XU Z, CAO J, ZHAO Z, et al. A functional extracellular matrix biomaterial enriched with VEGFA and bFGF as vehicle of human umbilical cord mesenchymal stem cells in skin wound healing. Biomed Mater. 2021;17(1).

(责任编辑：MZH，ZN，ZH)