

文章编号 1006-8147(2018)05-0409-06

论 著

不同生物活性材料对间充质干细胞功能影响的比较

刘元媛,曹晓沧

(天津医科大学总医院消化内科,天津 300052)

摘要 目的:研究壳聚糖(CS)及壳聚糖负载的一氧化氮(NO)、胰岛素样生长因子-1C(IGF-1C)与人胎盘来源的间充质干细胞(hP-MSCs)共培养后对细胞功能的影响。方法:利用可稳定表达绿色荧光蛋白(GFP)和萤火虫荧光蛋白(Fluc)的hP-MSCs与3种不同的生物活性材料水凝胶共培养,通过MTT、生物发光成像技术以检测水凝胶对细胞增殖的影响,同时利用real time PCR检测水凝胶对细胞增殖、凋亡、抗炎及血管新生相关细胞因子的表达作用。结果:CS-IGF-1C水凝胶可明显促进hP-MSCs的增殖及上调相关基因IGF-1(11.51)、HGF(6.64)、EGF(9.78)的表达($P < 0.05$),抑制hP-MSCs的凋亡并下调相关基因BAX/BAD(1.22/1.12)、FAS/FASLG(1.31/1.70)的表达($P < 0.05$),同时还可显著上调hP-MSCs对TSG-6(11.61)及PGE2(16.04)的表达($P < 0.05$)。而CS-NO可显著促进hP-MSCs对VEGF(13.28)、PDGF(8.49)的表达作用($P < 0.05$)。结论:不同水凝胶对MSCs的影响不同,CS-IGF-1C水凝胶与MSCs共移植可用于治疗组织损伤及炎症性疾病,而CS-NO水凝胶与MSCs共移植可治疗缺血性疾病,为临床及实验室研究提供参考。

关键词 水凝胶;人胎盘来源的间充质干细胞(hP-MSCs);调节;增殖;凋亡

中图分类号 R34

文献标志码 A

Comparison of the effects of different bioactive materials on mesenchymal stem cells

LIU Yuan-yuan, CAO Xiao-cang

(Department of Hepato-Gastroenterology, General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China)

Abstract **Objective:** To investigate the effect of chitosan (CS) and chitosan-supported nitric oxide (NO) and insulin-like growth factor-1C (IGF-1C) on placenta-derived mesenchymal stem cells (hP-MSCs) by co-culturing. **Methods:** HP-MSCs which had stable expression of green fluorescent protein (GFP) and fireflies fluorescent protein (Fluc) were co-cultured with three different bioactive material hydrogels, and the proliferation of hP-MSCs was detected through MTT assay and bioluminescence imaging. Real time PCR was used to detect the relative gene expression of proliferation and apoptosis. **Results:** In the condition of co-culture with hP-MSCs^{GFP-Fluc}, CS-IGF-1C hydrogel significantly promoted the expression of IGF-1 (11.51), HGF (6.64), EGF (9.78) and inhibited the expression of apoptosis-related genes BAX/BAD (1.22/1.12) and FAS/FASLG (1.31/1.70) ($P < 0.05$). At the same time, it significantly promoted the expression of TSG-6 (11.61) and PGE2 (16.04) by hP-MSCs ($P < 0.05$). On the other hand, CS-NO significantly promoted the expression of VEGF (13.28) and PDGF (8.49) from hP-MSCs ($P < 0.05$). **Conclusion:** Different hydrogels have different effect on MSCs. Therefore, CS-IGF-1C hydrogel co-transplanted with MSCs would be used in the treatment of tissue damage and inflammatory diseases, and CS-NO hydrogel co-transplanted with MSCs may also be used in the treatment of tissue ischemic disease.

Key words hydrogel; human placenta-derived mesenchymal stem cells (hP-MSC); regulation; proliferation; apoptosis

MSCs 是一组多能异质性群体,在体外具有多向分化潜能,可分化为脂肪、骨、软骨等组织^[1-4]。而且,间充质干细胞的来源十分广泛,主要来源于骨髓、脂肪、脐带以及胎盘等组织^[5-8]。近几年,人胎盘来源的间充质干细胞由于其提取方便、成本小、易于培养、效果显著等诸多优点逐渐成为众多干细胞研究者的研究热点^[9-14]。间充质干细胞的多能性除了多向分化潜能外还主要体现在免疫调节及抗炎作用。然而,免疫抑制及抗炎作用的发挥依赖于 MSCs 所分泌的细胞因子,其中主要为肿瘤坏死因子诱导蛋白-6

(tumor necrosis factor- α -induced gene/protein 6, TSG-6)及前列腺素 E2(prostaglandin E2, PGE2)^[15-17]。

近年来,为了提高 MSCs 的生物学效应,人们研制出多种生物活性材料以提高 MSCs 的活性及利用率。本课题组将壳聚糖(chitosan, CS)连接到人胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1)的 C 结构域或者连接到一氧化氮(nitric oxide, NO)合成 CS-IGF-1C 或者 CS-NO 水凝胶,其在体外与体内都具有促进 MSCs 生物学效应的功能^[18-19]。然而,本实验重在进一步研究 CS、CS-IGF-1C 以及 CS-NO 水凝胶三者对于 MSCs 的不同影响,以利于日后研究有目的地选择与利用。

作者简介 刘元媛(1990-),女,硕士在读,研究方向:炎症性肠病与干细胞治疗;通信作者:曹晓沧, E-mail: docxcao@163.com。

1 材料与方法

1.1 实验对象和主要试剂

1.1.1 实验材料 人胎盘来源的间充质干细胞(hP-MSCs)由北京干细胞库提供;CS、壳聚糖-胰岛素样生长因子-1C、壳聚糖-一氧化氮(CS-NO)水凝胶由南开大学分子生物研究所合成。

1.1.2 主要试剂 2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS, sigma)购买自上海易佰聚经贸有限公司;MTT试剂盒购买自上海翊圣生物科技有限公司;萤火虫荧光素酶的底物(D-luciferin)购买自美国 Caliperls 公司;引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.2 研究方法

1.2.1 质粒提取及慢病毒包装感染 50 μ L 感受态细胞冰浴融化后加入目的 DNA,混匀后冰浴 30 min, 42 $^{\circ}$ C 水浴热激 45 s, 快速冰浴 2 min, 加入 400 μ L LB 液体培养基, 37 $^{\circ}$ C, 200 r/min 摇床培养 1 h 使菌体复苏, 3 000 r/min 离心 1 min, 弃部分上清, 重悬菌液, 转移至含抗生素的 LB 固体培养基, 37 $^{\circ}$ C 培养 1 h 至液体被吸收, 将平板倒置培养 12~16 h。挑取平板上的单克隆加入 15 mL 含抗生素的 LB 液体培养基, 37 $^{\circ}$ C, 200 r/min 摇床内过夜培养。提取质粒, 检测质粒溶液浓度, -20 $^{\circ}$ C 冻存。Lipofectamine 2000 试剂盒进行慢病毒包装, 于 -80 $^{\circ}$ C 冻存待用。预先将 1×10^5 hP-MSCs 铺于六孔板一孔, 待贴壁后, 吸出原有的培养基, 更换为含有病毒液的培养基(2 mL 不含抗生素的培养液+3 μ L polybrene 溶液(8 μ g/mL)+1 mL 病毒液)。将六孔板于 37 $^{\circ}$ C, 1 600 r/min 离心 1 h, 孵箱培养 3 h 后, 用新鲜培养液更换含有病毒的培养液, 37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱中培养 48 h 后, 于倒置荧光显微镜下观察 GFP 阳性细胞的表达情况, 用生物发光成像仪检测萤火虫荧光蛋白的表达情况。

1.2.2 流式细胞分析 将转染的细胞传代扩增后进行消化计数, 取 1×10^5 个细胞以 1 200 rpm/min, 4 $^{\circ}$ C 离心 3 min, 弃上清, 用 PBS 缓冲液洗脱离心 3 次, 最后一次弃上清后, 用 500 μ L PBS 重悬, 移入流式管中, 用 200 目的筛网过滤成单个细胞到新的流式管中, 插入冰上, 上机, 按照 FL-H1 通道检测 GFP 阳性细胞的百分比。

1.2.3 MTT 实验检测 3 种水凝胶对细胞的增殖效果 MTT 实验可很好的反应细胞的增殖效果, 因此, 我们将 3 种水凝胶按照已报道的最适浓度 200 μ mol/L 涂布于 96 孔板(3 μ L/孔)并将孔板置于 37 $^{\circ}$ C 温箱中孵育 30 min^[18,20]。而后细胞均按照 2×10^3 的细胞浓度铺盘(5 孔/组)。分别于 24、48、72 h 后进行 MTT 实验并用酶标仪检测 OD490 值。

1.2.4 生物发光成像仪检测 3 种水凝胶对 hP-MSCs 的促增殖作用 由于 hP-MSCs^{GFP-Fluc} 可稳定表达 GFP/Fluc, 因此可根据这个特性, 利用生物发光成像仪检测 hP-MSCs^{GFP-Fluc} 的增殖效果。将不同水凝胶分别涂布于 24 孔板(10 μ L/孔), 将孔板置于 37 $^{\circ}$ C 温箱中孵育 30 min 后培养 hP-MSCs, 每孔细胞数为 5×10^4 (3 孔/组)。于 24、48、72 h 分别进行生物发光成像仪检测, D-luciferin 每孔加 10 μ L。

1.2.5 H₂O₂ 诱导 hP-MSCs^{GFP-Fluc} 的抗凋亡 再次利用 hP-MSCs 稳定表达 GFP/Fluc 的特性, 预先将 3 种水凝胶涂布于 24 孔板, 再将 5×10^5 个 hP-MSCs/孔铺于孔板中, 然后将 H₂O₂ 按照 50 μ mol/L、100 μ mol/L、200 μ mol/L、400 μ mol/L 的浓度梯度加入孔板, 于 37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱中培养 24 h, 按照上述方法, 利用生物发光成像检测细胞的存活。

1.2.6 RT-PCR 检测不同培养条件下 hP-MSCs 的表达情况 利用 Real time PCR 检测三种不同水凝胶处理的 hP-MSCs 的增殖、凋亡、炎症、血管新生等相关因子的表达。Trizol 法提取结肠组织中总 RNA, 需要测定的基因的引物序列, IGF-1, 上游: 5'-GCTCTTCAGTTCGTGTGTGGA-3', 下游: 5'-GCCTCC TTAGATCACAGCTCC-3'(扩增片段长度: 109 bp); HGF, 上游: 5'-GCTATCGGGGTAAAGACCTACA-3', 下游: 5'-CGTAGCGTACCTCTGGATTGC-3'(扩增片段长度: 116 bp); EGF, 上游: 5'-TGTCCACGCAA TGTGTCTGAA-3', 下游: 5'-CATTATCGGGTGAGGA ACAACC-3'(扩增片段长度: 131 bp); BAX, 上游: 5'-CCCAGAGGTCTTTTCCGAG-3', 下游: 5'-CCAGCCCATGATGCTTCTGAT-3'(扩增片段长度: 155 bp); BAD, 上游: 5'-CCCAGAGTTTGAGCCGAG TG-3', 下游: 5'-CCCATCCCTTCGTCTGCTCCT-3'(扩增片段长度: 249 bp); FAS, 上游: 5'-TCTGGTTCTTA CGTCTGTTGC-3', 下游: 5'-CTGTGCAGTCCCTAGC TTTCC-3'(扩增片段长度: 197 bp)。FASG, 上游: 5'-CTCCGAGAGTCTACCAGCCA-3', 下游: 5'-TGGA CTTGCCTGTTAAATGGG-3'(扩增片段长度: 121 bp); TSG-6, 上游: 5'-TTTCTCT TGCTATGGGAAGACAC-3', 下游: 5'-GAGCTTGAT TTGCCAGACCG-3'(扩增片段长度: 126 bp); PGE2, 上游: 5'-CGATGCTCATGCTCTTCGC-3', 下游: 5'-GGGAGACTGCATAGATGACAGG-3'(扩增片段长度: 126 bp); VEGF, 上游: 5'-AGGGCAGAATCATCAC GAAGT-3', 下游: 5'-AGGGTCTCGATTGGATGGC A-3'(扩增片段长度: 136 bp); PDGF, 上游: 5'-GACT CAGGCGGAATCCAACC-3', 下游: 5'-CTTGGGCTGT

GAATACTTCCATT-3' (扩增片段长度:122 bp); GAPDH, 上游:5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3', 下游:5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3' (扩增片段长度:122 bp)

1.3 统计学方法 本实验数据统计资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组计量资料之间的比较采用独立样本 t 检验, 各组均数运用单因素方差分析 (two-way ANOVA) 进行统计处理。统计学处理采用 graphpad 统计学分析软件。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

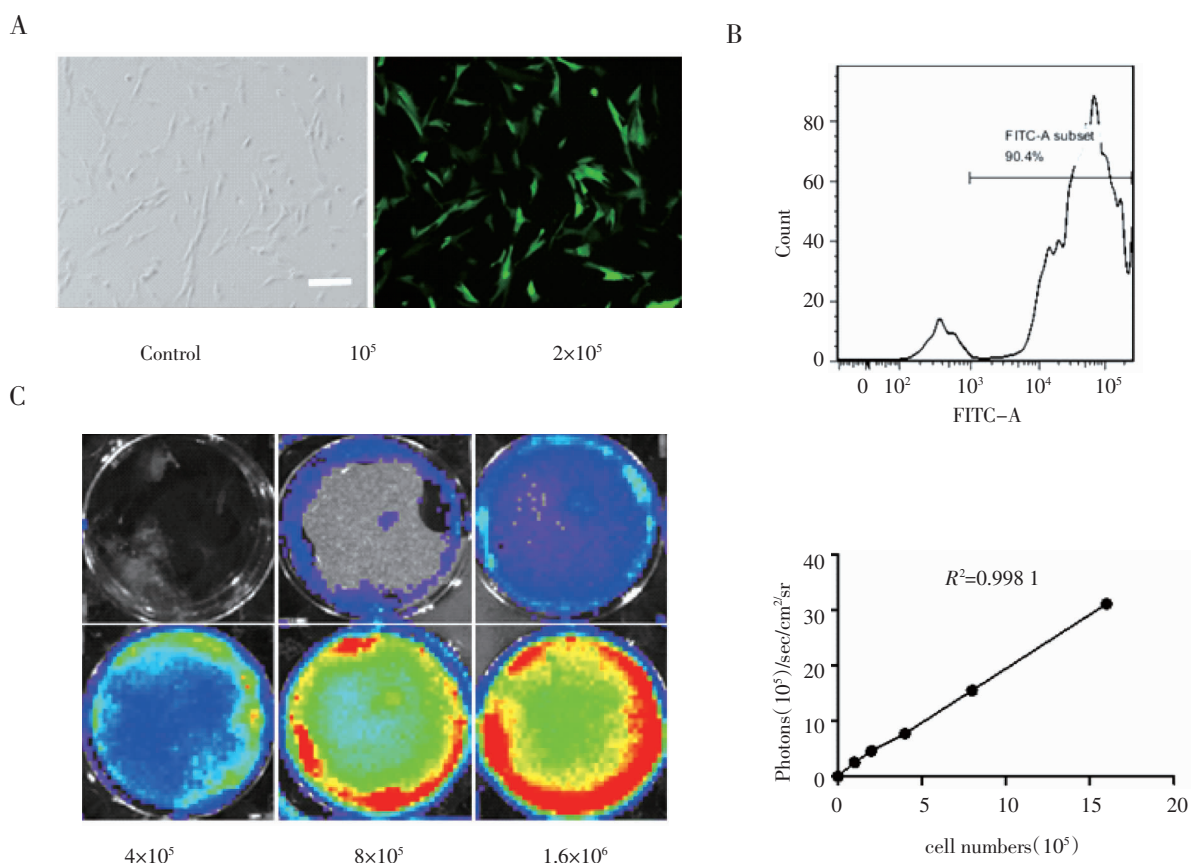
2 结果

2.1 转染后 hP-MSCs 的特性 在显微镜下观察到, 转染后的 hP-MSCs 细胞呈现成纤维细胞样梭形形态, 在倒置荧光显微镜下观察到 90% 的 hP-MSCs 细胞呈 GFP 阳性。流式细胞分析结果也验证了这一结果。生物发光成像仪检测的结果表明, 细胞的荧光强度与细胞数量呈较好的线性关系 ($R^2=0.9981$) (图 1), 因此, 在后续实验中可用荧光强度直接反映细胞数量。

2.2 不同水凝胶对 hP-MSCs 的促增殖作用 为了研究三者对细胞增殖的影响, 首先我们进行了 MTT

细胞增殖实验, 结果表明, CS-IGF-1C 水凝胶与 CS-NO 水凝胶均可显著促进细胞增殖。而 CS 对细胞的增殖并没有明显效果。生物发光成像技术也说明, 随着时间的延长, CS-IGF-1C 水凝胶组细胞信号最强, 细胞增殖最快。与此同时, Real time PCR 结果显示, CS-IGF-1C 水凝胶可显著促进增殖相关基因 IGF-1, HGF 及 EGF 的表达。CS-NO 水凝胶对细胞的增殖也具有一定的促进作用, 由此, 进一步验证了 CS-IGF-1C 与 CS 及 CS-NO 相比能更好地促进细胞的增殖 (图 2)

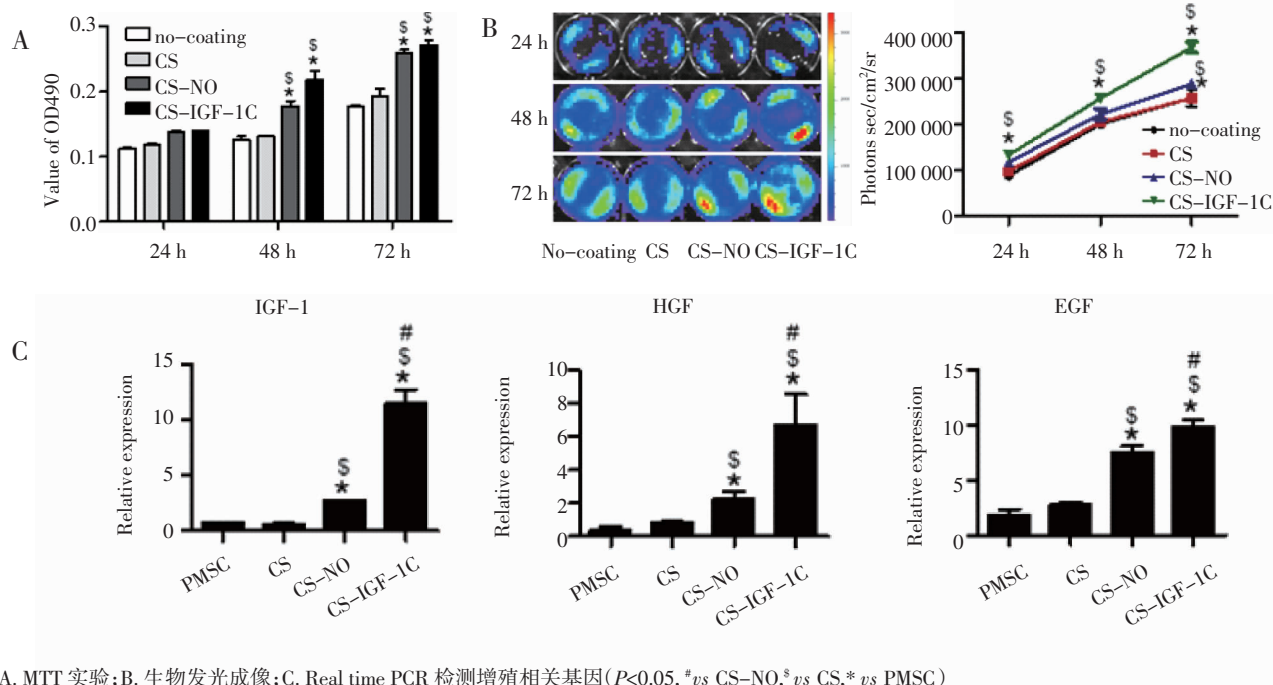
2.3 不同水凝胶抗细胞凋亡的作用 实验结果显示, CS、CS-NO、CS-IGF-1C 水凝胶都具有抗细胞凋亡的能力, 但是 CS-IGF-1C 水凝胶抗细胞凋亡的能力更加显著, CS-NO 水凝胶抗细胞凋亡的能力与 CS 组相比并无显著差别。而对三种水凝胶处理后的 hP-MSCs 表达的凋亡相关基因进行检测, 结果表明, CS-IGF-1C 与 CS-NO 水凝胶能够显著降低 BAX/BAD、FAS/FASLG 等凋亡相关基因的表达, CS 水凝胶可下调 FAS/FASLG 的表达, 其结果与生物发光成像具有相似性 (图 3)。



A. hP-MSCs^{GFP-Fluc} 的正常形态及自发荧光; B. 流式细胞分析; C. 生物发光成像结果 (放大倍数为 100 倍, 标尺=100 μ m)

图 1 hP-MSCs^{GFP-Fluc} 的特性

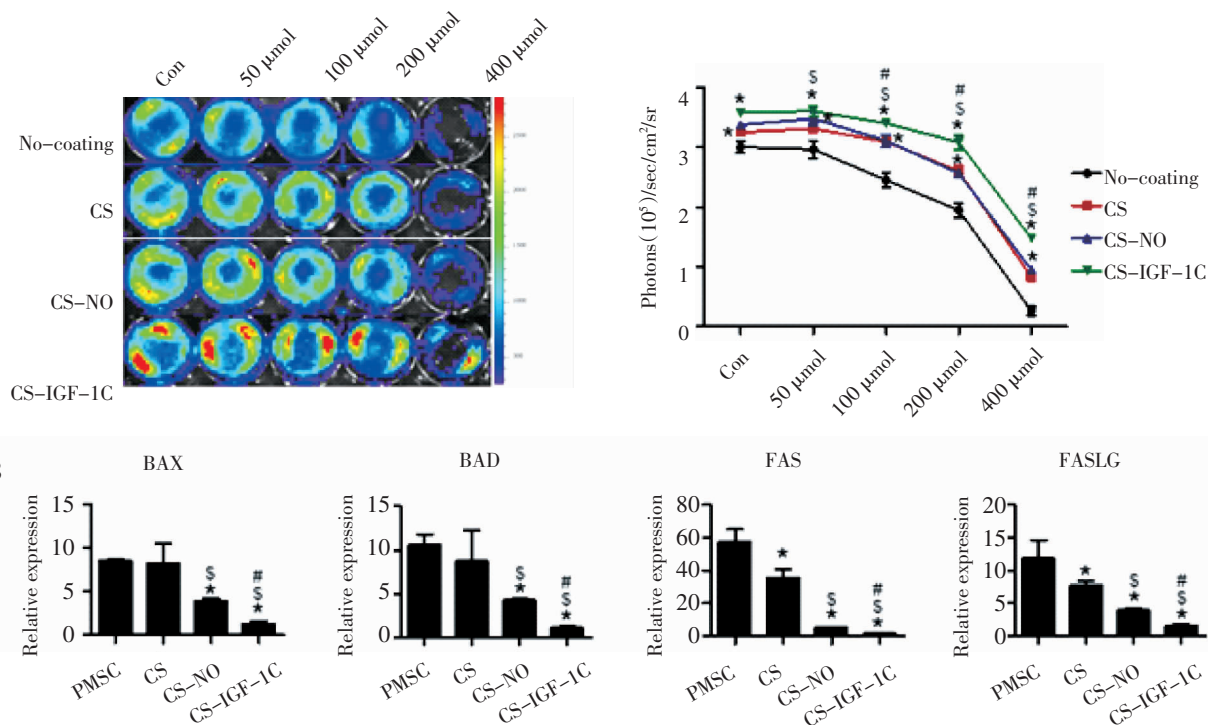
Fig 1 The characteristics of hP-MSCs



A. MTT 实验; B. 生物发光成像; C. Real time PCR 检测增殖相关基因 ($P < 0.05$, # vs CS-NO, \$ vs CS, * vs PMSC)

图2 不同培养条件下细胞的增殖效果

Fig 2 Cell proliferation in different culture conditions



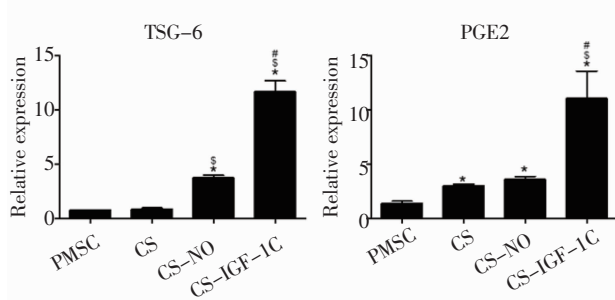
A. H₂O₂ 诱导细胞凋亡; B. Real time PCR 检测凋亡相关基因 ($P < 0.05$, # vs CS-NO, \$ vs CS, * vs PMSC)

图3 不同培养条件下细胞的凋亡情况

Fig 3 Apoptosis of cells in different culture conditions

2.4 不同水凝胶对细胞抗炎因子表达的影响 结果表明,CS-IGF-1C 水凝胶组 TSG-6 与 PGE2 的表达量较高,但 CS-NO 在一定程度上也能促进 hP-MSCs 对抗炎因子表达(图4)。因此 CS-NO 与 CS-IGF-1C 水凝胶均可与 hP-MSCs 共移植用于炎症性疾病的治疗。

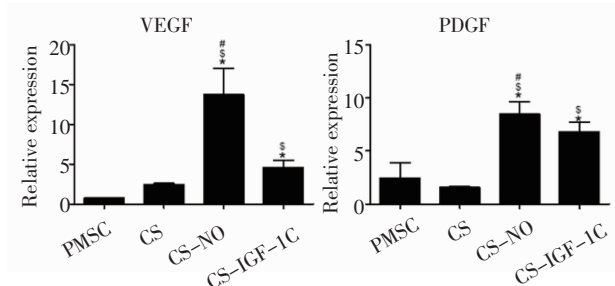
2.5 细胞促血管新生相关因子的表达 结果表明,CS-NO 可显著促进 VEGF 及 PDGF 的表达,同时,CS-IGF-1C 水凝胶对 hP-MSCs 也有较明显的促进血管新生相关因子表达的作用,而 CS 在一定程度上也能促进 VEGF 的表达(图5)。



$P < 0.05$, [#] vs CS-NO, ^{\$} vs CS, ^{*} vs PMSC

图4 Real time PCR 检测炎症相关因子

Fig 4 Real time PCR detected the related inflammatory cytokines



$P < 0.05$, [#] vs CS-IGF-1C, ^{\$} vs CS, ^{*} vs PMSC

图5 Real time PCR 检测促血管新生相关因子

Fig 5 Real time PCR detected the angiogenesis related factors

3 讨论

间充质干细胞最早被认为是来源于中胚层和外胚层的一组多能干细胞群体而被人们所熟知,但是随着再生医学的进步,以及对间充质干细胞研究的不断深入,人们发现间充质干细胞可以跨胚层分化,甚至可以分化为脂肪细胞、骨细胞、软骨细胞、心肌细胞及神经细胞等,因此其具有多向分化潜能,在组织修复与再生的医学领域具有广阔的发展前景^[1-4, 21-23]。此外,间充质干细胞最早是从小鼠骨髓中提取而来,但是由于其数量与分化潜能受年龄的影响,再加上其提取程序复杂,在应用中受到极大限制^[24-25]。随后在脂肪组织、脐带、羊水及胎盘中也提取出了间充质干细胞,但是脂肪及羊水间的间充质干细胞的提取受多种条件的限制^[26],而且获取羊水对胎儿及母体有一定的风险;脐带间充质干细胞虽然提取便利,但是其免疫原性比其他间充质干细胞要高。所以胎盘间充质干细胞的优势显而易见:低免疫原性,获取方便,对人体无害,易于培养,多向分化、免疫调节及抗炎能力强,不涉及伦理问题等^[27-28]。因此,胎盘间充质干细胞成为众多研究领域的一大热点。

生物发光成像是基于分子影像学的一门技术,早在1999年美国哈佛大学维斯里德教授提出这一

概念,并用以检测活体状态下动物体内的细胞及分子水平^[29]。而近年来小动物活体成像技术大多被应用于对肿瘤细胞的检测,应用生物发光成像的原理将肿瘤细胞进行荧光素酶的标记,在体外加入荧光素时,荧光素酶与荧光素发生反应释放光子,这种光子在一定的波长内可被小动物活体成像系统捕捉到,从而监测瘤性细胞在体内的转移以及肿瘤的大小^[30-32]。与此同时,将小动物体内转入荧光素酶的报告基因,在体外给予荧光素后仍然能够检测目的基因的表达水平^[18-19]。而将细胞标记荧光素酶再置于外源的生物凝胶中仍然不影响发光强度^[19, 33]。在本研究中,我们应用同样的原理,将绿色荧光素酶与萤火虫荧光素酶的报告基因转入hP-MSCs内,使其在正常情况下自发绿色荧光,并且与萤火虫荧光素结合时发生反应释放光子,再利用小动物活体成像系统便可以监测到细胞移植后的分布及活细胞的数量。

据研究表明,传统的基质胶matrigel3D培养条件下的MSCs具有较明显的促进细胞存活与促血管新生的作用,成功应用在心肌缺血的动物模型中^[34]。另外,人血小板裂解液合成的水凝胶在一定条件下也具有促进MSCs增殖与促血管新生的作用,其表征结果也证明了这种水凝胶的安全性^[35]。但是,在以往的研究中得知,CS-IGF-1C水凝胶与小鼠脂肪来源的间充质干细胞(adipose mesenchymal stem cells, ADSCs)共培养可促进ADSCs的增殖,拮抗H₂O₂诱导的细胞凋亡,同时具有促进血管新生的作用^[19, 36]。而CS-NO水凝胶可促进hP-MSCs来源的外泌体对促血管新生的作用,上调VEGF及PDGF的表达^[18]。而在本研究中CS-IGF-1C除了具有促进MSCs增殖及抑制凋亡的作用外,还具有促进MSCs的促进血管新生相关因子表达及抗炎相关因子表达的作用。而CS-NO水凝胶促进MSCs的血管新生相关因子表达的作用依然很稳定。因此,本课题组所研制的CS负载的生物活性材料与其他各类已报道的生物材料相比其生物效应可能更加广泛。

综上所述,在以后的研究中可将CS-IGF-1C水凝胶与CS-NO水凝胶应用于MSCs对缺血性疾病的移植治疗,而CS-IGF-1C水凝胶还可应用于炎症性疾病的治疗,这两种水凝胶具有较广的临床应用前景。

参考文献:

- [1] Bianco P, Sacchetti B, Riminucci M. Osteoprogenitors and the hematopoietic microenvironment[J]. Best Pract Res Clin Haematol, 2011,24(1): 37
- [2] Phinney D G, Kopen G, Isaacson R L, et al. Plastic adherent stromal cells from the bone marrow of commonly used strains of inbred mice:

- variations in yield, growth, and differentiation[J]. *J Cell Biochem*, 1999,72(4): 570
- [3] Caplan A I, Dennis J E. Mesenchymal stem cells as trophic mediators[J]. *J Cell Biochem*, 2006,98(5): 1076
- [4] Levi B, Longaker M T. Concise review: adipose -derived stromal cells for skeletal regenerative medicine[J]. *Stem Cells*, 2011,29(4): 576
- [5] Wexler S A, Donaldson C, Denning-Kendall P, et al. Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal 'stem' cells but umbilical cord and mobilized adult blood are not [J]. *Br J Haematol*, 2003,121(2): 368
- [6] Grisendi G, Bussolari R, Cafarelli L, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells as stable source of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand delivery for cancer therapy[J]. *Cancer Res*, 2010,70(9): 3718
- [7] Lu L L, Liu Y J, Yang S G, et al. Isolation and characterization of human umbilical cord mesenchymal stem cells with hematopoiesis-supportive function and other potentials[J]. *Haematologica*, 2006, 91(8): 1017
- [8] Irvine E J. Usual therapy improves perianal Crohn's disease as measured by a new disease activity index. McMaster IBD Study Group[J]. *J Clin Gastroenterol*, 1995,20(1): 27
- [9] Li C D, Zhang W Y, Li H L, et al. Mesenchymal stem cells derived from human placenta suppress allogeneic umbilical cord blood lymphocyte proliferation[J]. *Cell Res*, 2005,15(7): 539
- [10] Kim P J, Mahmoudi M, Ge X, et al. Direct evaluation of myocardial viability and stem cell engraftment demonstrates salvage of the injured myocardium[J]. *Circ Res*, 2015,116(7): e40
- [11] He S, Gleason J, Fik-Rymarkiewicz E, et al. Human placenta-derived mesenchymalstromal-like cells enhance angiogenesis via T cell-dependent reprogramming of macrophage differentiation[J]. *Stem Cells*, 2017,35(6): 1603
- [12] Solis M A, Wei Y H, Chang C H, et al. Hyaluronan upregulates mitochondrial biogenesis and reduces adenosine triphosphate production for efficient mitochondrial function in slow-proliferating human mesenchymal stem cells[J]. *Stem Cells*, 2016,34(10): 2512
- [13] In T Anker P S, Scherjon S A, Kleijburg-Van Der Keur C, et al. Isolation of mesenchymal stem cells of fetal or maternal origin from human placenta[J]. *Stem Cells*, 2004,22(7): 1338
- [14] Lankford L, Chen Y J, Saenz Z, et al. Manufacture and preparation of human placenta-derived mesenchymal stromal cells for local tissue delivery[J]. *Cytotherapy*, 2017,19(6): 680
- [15] Song W J, Li Q, Ryu M O, et al. TSG-6 Secreted by human adipose tissue -derived mesenchymalstem cells ameliorates DSS -induced colitis by inducing M2 macrophage polarization in Mice[J]. *Sci Rep*, 2017,7(1): 5187
- [16] Sala E, Genua M, Petti L, et al. Mesenchymal stem cells reduce colitis in mice via release of TSG6, independently of their localization to the intestine[J]. *Gastroenterology*, 2015,149(1): 163
- [17] Nemeth K, Leelahavanichkul A, Yuen P S, et al. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E(2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production[J]. *Nat Med*, 2009,15(1): 42
- [18] Du W, Zhang K, Zhang S, et al. Enhanced proangiogenic potential of mesenchymal stem cell-derived exosomes stimulated by a nitric oxide releasing polymer[J]. *Biomaterials*, 2017,133: 70
- [19] Feng G, Zhang J, Li Y, et al. IGF-1 C domain-modified hydrogel enhances cell therapy for AKI[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2016,27(8): 2357
- [20] Yang W, Zheng H, Wang Y, et al. Nesprin-1 has key roles in the process of mesenchymal stem cell differentiation into cardiomyocyte-like cells in vivo and in vitro[J]. *Mol Med Rep*, 2015,11(1): 133
- [21] Ulrich H, Do Nascimento I C, Bocsi J, et al. Immunomodulation in stem cell differentiation into neurons and brain repair[J]. *Stem Cell Rev*, 2015, 11(3): 474
- [22] Li X, Bai J, Ji X, et al. Comprehensive characterization of four different populations of human mesenchymal stem cells as regards their immune properties, proliferation and differentiation [J]. *Int J Mol Med*, 2014, 34(3): 695
- [23] Zhang T, Lee Y W, Rui Y F, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote growth and angiogenesis of breast and prostate tumors[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2013, 4(3): 70
- [24] Baustian C, Hanley S, Ceredig R. Isolation, selection and culture methods to enhance clonogenicity of mouse bone marrow derived mesenchymal stromal cell precursors [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2015, 6: 151
- [25] Li J, Chen Y, Chen Z, et al. Therapeutic effects of human adipose tissue-derived stem cell (hADSC) transplantation on experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) mice[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42695
- [26] Lee J M, Jung J, Lee H J, et al. Comparison of immunomodulatory effects of placenta mesenchymal stem cells with bone marrow and adipose mesenchymal stem cells[J]. *Int Immunopharmacol*, 2012, 13(2): 219
- [27] Antoniadou E, David A L. Placental stem cells[J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2016,31: 13
- [28] Weissleder R. Molecular imaging: exploring the next frontier[J]. *Radiology*, 1999, 212(3): 609
- [29] Wang R, Zhang K, Tao H, et al. Molecular imaging of tumor angiogenesis and therapeutic effects with dual bioluminescence[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2017, 18(5): 422
- [30] Leng L, Wang Y, He N, et al. Molecular imaging for assessment of mesenchymal stem cells mediated breast cancer therapy[J]. *Biomaterials*, 2014,35(19): 5162
- [31] Iochmann S, Lerondel S, Blechet C, et al. Monitoring of tumour progression using bioluminescence imaging and computed tomography scanning in a nude mouse orthotopic model of human small cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2012,77(1): 70
- [32] Tiernan A R, Sambanis A. Bioluminescence tracking of alginate micro-encapsulated cell transplants[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2017, 11(2): 501
- [33] Huang C C, Wei H J, Lin K J, et al. Multimodality noninvasive imaging for assessing therapeutic effects of exogenously transplanted cell aggregates capable of angiogenesis on acute myocardial infarction[J]. *Biomaterials*, 2015,73: 12
- [34] Robinson S T, Douglas A M, Chadid T, et al. A novel platelet lysate hydrogel for endothelial cell and mesenchymal stem cell-directed neovascularization[J]. *Acta Biomater*, 2016,36: 86
- [35] Wang X, Zhang J, Cui W, et al. Composite hydrogel modified by IGF-1C domain improves stem cell therapy for limb ischemia[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018,10(5): 4481

(2018-03-27 收稿)