

· 论 著 ·

不同浓度麝香含药血清对骨髓间充质干细胞迁移影响的实验研究

李应福¹ 谢兴文^{1,2*} 李宁³ 侯费祎⁴ 蒋国鹏¹ 潘鑫戌³ 周文杰³

1. 甘肃省中医院, 甘肃 兰州 730050

2. 甘肃省中医药研究院, 甘肃 兰州 730500

3. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730000

4. 兰州军区总医院, 甘肃 兰州 730050

中图分类号: R-332 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 02-0156-07

摘要: **目的** 探讨麝香对外源性骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)增殖和迁移的影响。**方法** 将 60 只 SD 大鼠随机分为麝香高、中、低剂量组及空白对照组, 制备麝香含药血清及生理盐水血清。15 只 SD 大鼠利用全骨髓贴壁法分离 BMSCs, 培养至 P3 代, 通过形态学观察、表型鉴定、成骨成脂诱导鉴定 BMSCs, 鉴定认为培养成功后通过麝香含药血清干预 BMSCs, 检测细胞增殖率, 利用 Transwell 实验检测麝香含药血清对 BMSCs 迁移的影响。**结果** 外源性大鼠 BMSCs 呈梭形贴壁生长, 生长状态良好; 表型鉴定: CD45、CD34 阴性表达, CD44、CD90 阳性表达; 细胞成骨、成脂诱导后可定向成骨、成脂分化; 不同浓度麝香组与对照组比较均能提高 BMSCs 增殖率($P < 0.05$); 与对照组比较, 不同浓度麝香在 24 h、48 h、72 h 均增加 BMSCs 迁移($P < 0.05$), 以低浓度组效果最佳。**结论** 麝香含药血清可以促进 BMSCs 增殖, 促进 BMSCs 的体外迁移。**关键词:** 麝香; 骨髓间充质干细胞; 增殖; 迁移; 大鼠; 动物实验

Experimental study on the effects of different concentrations of musk containing serum on the migration of bone marrow mesenchymal stem cellsLI Yingfu¹, XIE Xingwen^{1,2*}, LI Ning³, HOU Feiyi⁴, JIANG Guopeng¹, PAN Xinwu³, ZHOU Wenjie³

1. Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050

2. Gansu Provincial Institute of TCM, Lanzhou 730050

3. Gansu University of TCM, Lanzhou 730000

4. General Hospital of Lanzhou Military Command, Lanzhou 730050, China

* Corresponding author: Xie XW, Email: 827925272@qq.com

Abstract: **Objective** To investigate the effects of musk on the proliferation and migration of exogenous bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs). **Methods** Sixty SD rats were randomly divided into high, medium and low dose musk group and blank control group, and the control serum and musk containing serum were prepared. BMSCs were isolated from fifteen SD rats by whole bone marrow adherence method, which was then cultured to P3 generation. BMSCs were identified by morphological observation, phenotypic identification, and osteogenic and adipogenic induction. After identifying the success of cell culture, BMSCs were intervened by musk containing serum, then the cell increment rate was detected, and Transwell assay was used to detect the effect of musk serum on the migration of BMSCs. **Results** Exogenous rat BMSCs showed fusiform adherent growth, with good growth state. Phenotypic identification: the expression of CD45 and CD34 were negative, the expression of CD44 and CD90 were positive. After osteogenic and adipogenic induction, the cells could be induced into osteogenic and adipogenic differentiation. Compared with the control group, musk groups of different concentrations could increase the proliferation rate of BMSCs ($P < 0.05$); compared with the control group, different concentrations of musk increased BMSCs migration at 24 h, 48 h, 72 h ($P < 0.05$), with the best effect in the low concentration group. **Conclusion** Musk serum can promote the proliferation of

BMSCs and promote the migration of BMSCs in vitro.

Key words: musk; bone marrow mesenchymal stem cells; proliferation; migration; rat; animal experiment

骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)具有较强的多向分化潜力和增殖能力^[1-2],研究发现在损伤部位使用适当的生长因子或细胞因子联合生物相容性良好、无组织刺激、容易塑性、可被机体吸收的生物支架上可刺激 BMSCs 向成骨或软骨方向分化^[3-4]。这充分利用了 BMSCs 易获取、培养时间短、分化潜能高、细胞黏附性好、增殖速度快、免疫耐受性好、低排斥反应、其特征不会随机体的衰老而失去活性等特性,同时也为组织工程学治疗骨缺损、骨折等疾病带来了新的希望。尽管 BMSCs 移植能治疗创伤、心脑血管等疾病,但由于 BMSCs 体内数量有限,能迁移至损伤部位参与修复的 BMSCs 更少,这会影响其修复效果^[5-6]。因此,研究促进 BMSCs 大量增殖并快速迁移的方法具有重要意义。麝香的有效成分是麝香酮,有研究表明麝香酮可促进 BMSCs 在体内的增殖,并诱导其向成骨细胞分化^[7]。本实验通过麝香含药血清干预体外 BMSCs,研究其对大鼠 BMSCs 增殖、迁移的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物:SD 大鼠 60 只,雌雄各半,体重(200±20)g,用于制备含药血清,雄性 SD 大鼠 15 只,体重(170±20)g,用于提取 BMSCs,购于甘肃中医药大学 SPF 实验中心。实验动物质量合格证号:SCXK 甘 2015-0002,动物饲养于甘肃中医药大学 SPF 实验中心。

1.1.2 实验药物、试剂:麝香(兰州安泰堂天顺行药业公司,批号:20151001)由甘肃中医药大学中药鉴定学教研室鉴定,为天然麝香。氯胺酮(西安力邦制药有限公司,国药准字 H20054749);DMEM/F12 培养基(Hyclone 公司,批号:AAL208968),胎牛血清(Gibco 公司,批号:17423078),成骨诱导分化培养基试剂盒(Cyagen 公司,批号:T160608G001),成脂诱导分化培养基试剂盒(Cyagen 公司,批号:T160104G001),FITC 标记兔抗鼠 CD90、CD44、CD45(美国 Bio Legend 公司),FITC 标记兔抗鼠 CD34(美国 Abcam 公司)。

1.1.3 实验设备:二氧化碳培养箱(MCO-5AC 型,日本三洋电机公司),自动摄像倒置相差显微镜

(PW-30 型,日本 OLYMPUS 公司),立式电热压力灭菌器(LMQ 型,山东新华医疗器械有限公司),6、24 孔细胞培养板(CORNING,美国 Corning Costar),流式细胞检测仪(COULTER EPICS XL,美国 Beckman FAScan 公司),超净工作台(SW-CJ-1 FD 型,苏州净化股份有限公司),低速台式离心机(TDZ4-WS 型,长沙平凡仪器有限公司),超纯水系统(NW 型,北京 Heal Force 公司)。

1.2 方法

1.2.1 分组与给药:60 只 SD 大鼠采用随机数字表法分为麝香高剂量组(16.8 mg/100 g)、麝香中剂量组(8.4 mg/100 g)、麝香低剂量组(4.2 mg/100 g)及空白对照组,共 4 组,每组 15 只(高剂量组:雄性 6 只,雌性 9 只;中剂量组:雄性 8 只,雌性 7 只;低剂量组:雄 10 性只,雌性 5 只;空白组:雄性 6 只,雌性 9 只),将麝香充分研磨成细末并利用生理盐水稀释至 2.5 mL,制成麝香混悬液进行灌胃,空白对照组灌服相同体积的生理盐水。

1.2.2 含药血清制备:高、中、低剂量麝香和生理盐水灌胃 SD 大鼠,每日 1 次,连续灌胃 8 d,第 8 天灌胃 2 h 后行腹主动脉采血,4℃离心(3 000 r/min) 10 min,取上层血清,过滤除菌,-20℃保存备用。

1.2.3 体外分离、培养、鉴定 BMSCs:参照 Xie 等^[8]全骨髓贴壁筛选法,SD 大鼠脱颈处死,无菌分离双侧股骨与胫骨,利用无菌纱布块剥离附着于股骨与胫骨的肌肉并将其分离,剪去股骨与胫骨干骺端,显露骨髓腔,用 5 mL 无菌注射器抽取含 10% FBS、100 U/mL 链霉素、100 U/mL 青霉素的 DMEM/F12 培养液反复冲洗骨髓腔,直至骨髓腔变白,制成单细胞悬液,过滤并接种于 60 mm 无菌细胞培养皿中,4 mL/皿,置于 5% CO₂、37℃培养箱中培养。原代细胞隔 1 d 半量换液,换 2 次后每 3 d 换液。待原代细胞融合成单层后,可用含 0.02% EDTA 的 0.25% 胰酶消化细胞,按 1:3 比例接种到新的无菌培养皿中,每 3 d 换液 1 次。当细胞融合成单层或接近单层时可继续传代,传至 P3 代时,用于后续实验。细胞接种后每 3 d 在倒置相差显微镜下观察 BMSCs 形态。P3 代细胞达到 80%~90% 融合时,用含 0.02% EDTA 的 0.25% 胰酶消化细胞,将细胞悬液 1 000 r/min 离心 10 min,吸弃上清,加 PBS 后 1 000 r/min 离心 10 min,弃上清,加 PBS 并制成单细胞悬液,调

整为 1×10^6 cells/cm², 1 500 r/min 离心 10 min, 弃上清, 先加入 90 μ L PBS, 吹打为细胞悬液, 再加入一抗 (CD34、CD45、CD90、CD44) 及其同型对照各 10 μ L, 37 $^{\circ}$ C 避光 30 min 后加 400 μ L PBS, 上流式细胞仪检测。

1.2.4 细胞成骨、成脂诱导:用胰酶消化 P3 代细胞, 调整细胞为 2×10^4 cells/cm² 接种在包被 0.1% 明胶的六孔板中, 每孔加入 2 mL 完全培养基, 置入 37 $^{\circ}$ C、含 5% CO₂ 培养箱内培养, 当细胞达 60% ~ 70% 融合度时, 加入 2 mL 成骨诱导完全培养基, 每 3 d 换液 1 次。诱导 17 d 后, 用茜素红染色法对钙化结节染色; 当细胞融合度达 90% ~ 100% 时, 加入 2 mL 成脂诱导完全培养基 A 液, 诱导 3 d 后, 吸弃 A 液, 加入 2 mL 成脂诱导完全培养基 B 液, 24 h 后吸弃 B 液, 换 A 液诱导, A 液和 B 液交替作用 18 d 后, 继续用 B 液培养 7 d, 共诱导 25 d 后进行油红 O 染色。

1.2.5 MTT 法检测麝香含药血清对 BMSCs 增殖的影响:P3 代 BMSCs 加入含 0.02% EDTA 的 0.25% 胰酶消化细胞, 制备单细胞悬液, 1 000 r/min 离心 5 min, 弃上清加入完全培养基重悬细胞, 调整细胞浓度为 1×10^5 个/mL, 按每孔 2×10^4 个接种至 96 孔板, 分为空白组血清、麝香低、中、高剂量组血清, 浓度均为 5% 完全培养液, 各组培养液中均含有 5% FBS, 每组 10 个孔。每孔依次加入不同组别的完全培养液 200 μ L, 24 h 后加入 20 μ L MTT, 4 h 后加入 150 μ L DMSO, 摇床震荡 10 min, 490 nm 波长检测各孔 OD 值。每 24 h 换液一次, 连续检测 7 d 样品 OD 值, 重复 3 次。

1.2.6 Transwell 小室检测麝香含药血清对 BMSCs 迁移的影响:P3 代 BMSCs 融合度达 80% ~ 90% 时, 用含 0.02% EDTA 的 0.25% 胰酶消化细胞加入无血清培养基, 按 1×10^5 cells/cm² 的细胞密度接种在 24 孔 Transwell 孔板上层培养小室中, 分为不同浓度麝香含药血清组、空白对照组共 4 组, 每组 6 个复孔, 每孔 200 μ L, 实验重复 2 次。在 Transwell 孔板下层培养小室中分别加入含 5% 的含药血清、5% 空白组血清完全培养液, 置于 37 $^{\circ}$ C、含 5% CO₂ 培养箱内培养, 分别在 24 h、48 h、72 h 测细胞迁移。检测步骤: (1) 取出 24 孔培养板, 吸弃小室上层培养基, 将小室转移至新孔中; (2) PBS 冲洗小室 2 次, 弃 PBS; (3) 4% 多聚甲醛固定 15 min, PBS 冲洗小室 2 次, 弃 PBS; (4) 超净工作台内适当风干后, 加 1% 结晶紫溶液, 避光染色 15 min, 吸弃染液; (5) PBS 冲洗小室 2

次, 弃 PBS; (6) 用棉球擦去小室上室的细胞, PBS 冲洗小室 2 次, 弃 PBS; (7) 每个小室随机选取 6 个视野, 拍照计数, 紫色细胞为迁移的细胞。倒置相差显微镜下 ($\times 20$) 拍照, 细胞计数后取其平均值。

1.3 统计学处理

所有数据均输入计算机, 采用 SPSS 19.0 统计软件处理, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组数据间的比较采用 one way-ANOVA 分析, 两两比较, 若方差齐, 采用 LSD 法, 方差不齐, 则采用 Dunnett T3 法, 不同时间段比较采用重复测量双因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞形态学观察

倒置相差显微镜下观察, 原代 BMSCs 第 2 次换液后细胞贴壁清晰可见, 集落性分布, 分离间距大, 同时可见大量圆形杂细胞, 多呈短棒状 (图 1), P1 代 BMSCs 培养 3 d 时细胞大量贴壁, 形态以圆形和短梭形多见 (图 2); P2 代 BMSCs 2 h 内迅速贴壁, 培养 3 d 时梭形状增殖, 体积变大, 具有细胞突起 (图 3); P3 代 BMSCs 贴壁快、生长速度快, 培养 3 d 时细胞集落快速增殖, 体积明显增大 (图 4)。

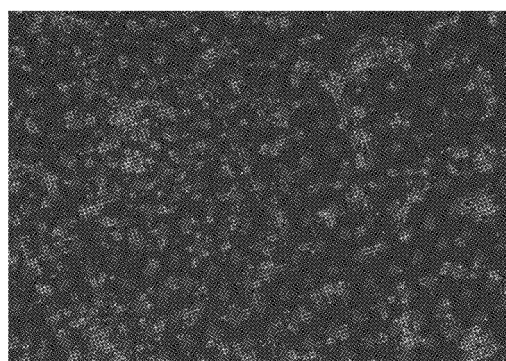


图 1 P0 代 BMSCs 培养 4 d (20 $\times$)

Fig.1 P0 generation BMSCs culture 4 d (20 $\times$)

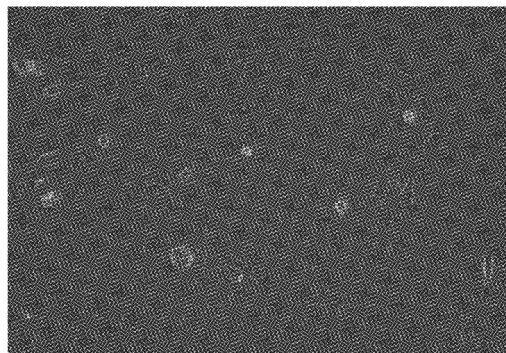


图 2 P1 代 BMSCs 培养 3 d (20 $\times$)

Fig.2 P1 generation BMSCs culture 3 d (20 $\times$)

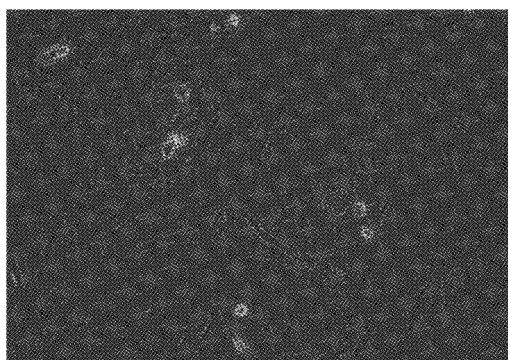


图 3 P2 代 BMSCs 培养 3 d (20×)

Fig.3 P2 generation BMSCs culture 3 d (20×)

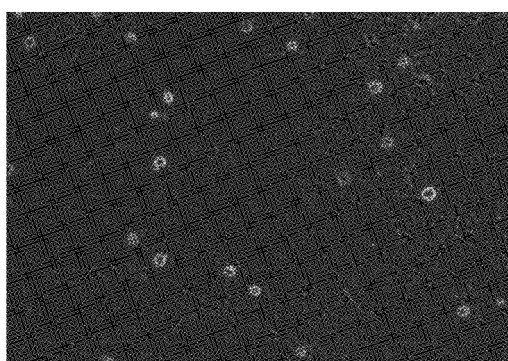


图 4 P3 代 BMSCs 培养 3 d (20×)

Fig.4 P3 generation BMSCs culture 3 d (20×)

2.2 细胞表型鉴定结果

CD90、CD44 在干细胞表面的表达阳性率分别为 93.8%、95.7%，CD45、CD34 在干细胞表面的表达阳性率分别为 0.4%、0.0%，说明 CD90、CD44 是阳性表达(图 5、6)，CD45、CD34 是阴性表达(图 7、8)。

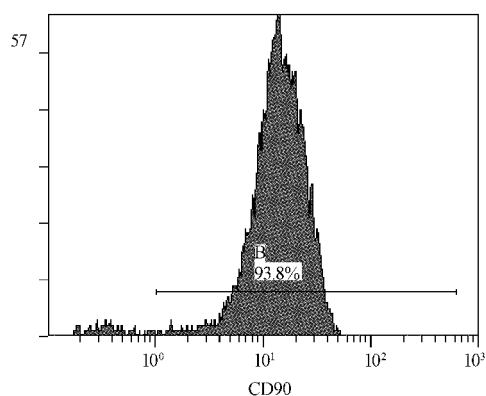


图 5 CD90 表达

Fig.5 Expression of CD90

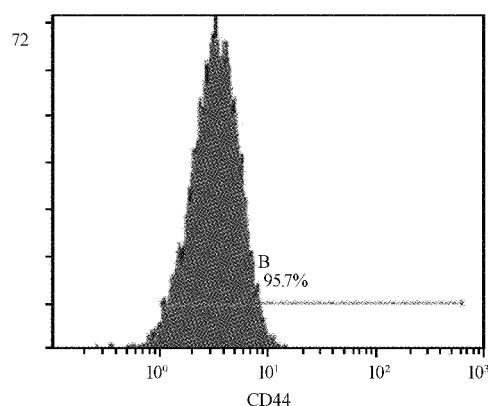


图 6 CD44 表达

Fig.6 Expression of CD44

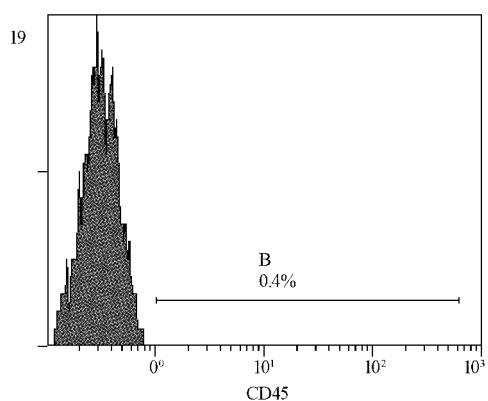


图 7 CD45 表达

Fig.7 Expression of CD45

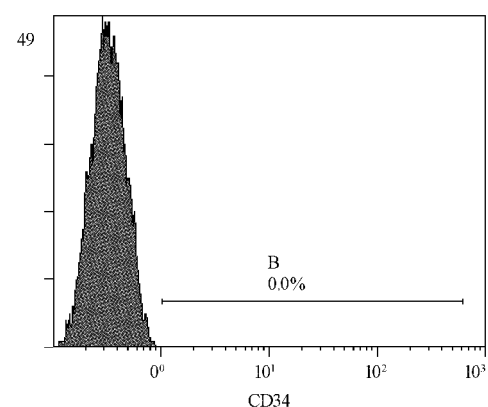


图 8 CD34 表达

Fig.8 Expression of CD34

2.3 BMSCs 成骨、成脂分化

经茜素红染色后,倒置相差显微镜下可见圆形、

梭形、多边形矿化不透明结节,呈橘红色的钙化结节(图 9)。经油红 O 染色后,倒置相差显微镜下可见细胞浆内呈大小不等的圆形或椭圆形、排列整齐规则的红色脂肪滴颗粒(图 10)。

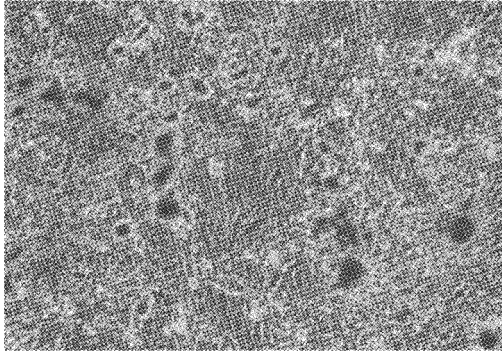


图9 BMSCs 成骨诱导 (20×)

Fig.9 BMSCs osteogenic induction (20×)

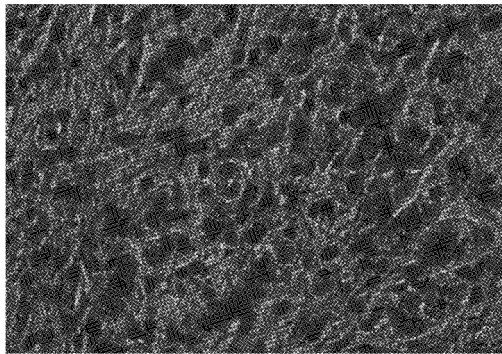


图10 BMSCs 成脂诱导 (20×)

Fig.10 BMSCs induced adipogenesis (20×)

2.4 麝香含药血清对 BMSCs 增殖、迁移的影响结果

2.4.1 MTT 结果: MTT 结果显示 (图 11, 表 1), 不同组间比较, 各个时间段差异均有统计学意义 ($P <$

0.05)。与对照组相比, 第 1 天麝香高、中、低剂量组差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 低剂量组更显著 ($P < 0.01$); 第 2 天麝香低剂量组差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 第 3 天麝香中、低剂量组差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 低剂量组更显著 ($P < 0.01$); 第 4、5 天麝香低剂量组差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 第 6 天麝香中、低剂量组差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 第 7 天麝香低剂量组差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 说明麝香低剂量对 BMSCs 增殖影响最大。

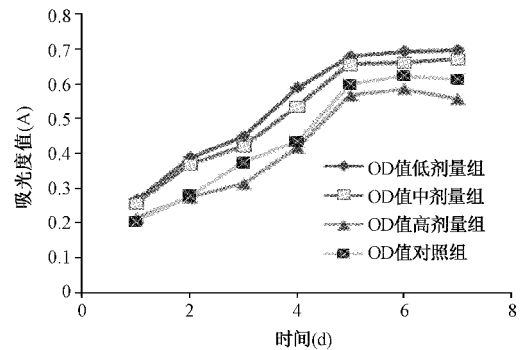


图11 不同组别 BMSCs 生长曲线

Fig.11 Growth curves of BMSCs in different groups

2.4.2 Transwell 细胞迁移实验: 结果显示 (表 2), 不同组间比较, 24 h、48 h、72 h 的差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与对照组比较, 孵育 BMSCs 24 h 时, 麝香高、中、低剂量组差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 中剂量组更显著 ($P < 0.01$); 孵育 BMSCs 48 h 时, 麝香中、低剂量组差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 低剂量组更显著 ($P < 0.01$); 孵育 BMSCs 72

表1 不同浓度麝香含药血清对 BMSCs 增殖率的影响 ($\bar{x} \pm s$)Table 1 Effects of different concentrations of musk containing serum on the proliferation rate of BMSCs ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
麝香高剂量组	10	0.21±0.03*	0.27±0.02	0.33±0.05	0.44±0.10	0.57±0.06	0.56±0.13	0.58±0.17
麝香中剂量组	10	0.25±0.03*	0.34±0.02	0.42±0.04*	0.52±0.13	0.63±0.08	0.65±0.14*	0.67±0.06
麝香低剂量组	10	0.26±0.08**	0.36±0.10*	0.44±0.03**	0.57±0.11*	0.66±0.17*	0.69±0.12*	0.71±0.15**
对照组	10	0.21±0.01	0.27±0.06	0.36±0.05	0.45±0.06	0.58±0.07	0.61±0.05	0.60±0.16

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

表2 不同浓度麝香对 BMSCs 迁移的比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 2 Comparison of migration of BMSCs at different concentrations of musk ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	细胞迁移数 (个)		
		24 h	48 h	72 h
麝香高剂量组	6	68.47±8.42* ^Δ	86.03±11.76	107.28±12.86
麝香中剂量组	6	75.21±7.14**	95.73±9.36* ^Δ	115.28±13.04 ^Δ
麝香低剂量组	6	71.09±9.12*	101.14±13.37**	122.72±14.82**
对照组	6	46.90±10.35	59.47±11.07	75.19±12.57

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与低剂量组比较, ^Δ $P < 0.05$ 。

h 时,麝香低剂量组差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 与麝香低剂量组比较,麝香高剂量组孵育 BMSCs 24 h 时差异有统计学意义 ($P < 0.05$),麝香中剂量组孵育 BMSCs 48 h、72 h 时差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。不同时间段组内比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。提示不同浓度麝香均能促 BMSCs 迁

移,以麝香低剂量组效果最好。

研究结果显示(图 12~14),组间比较,孵育 24 h、48 h、72 h 时 BMSCs 迁移数均随着麝香浓度的降低而逐渐增加,空白组其迁移数最少;组内比较,不同时间段各组 BMSCs 迁移数均增加。

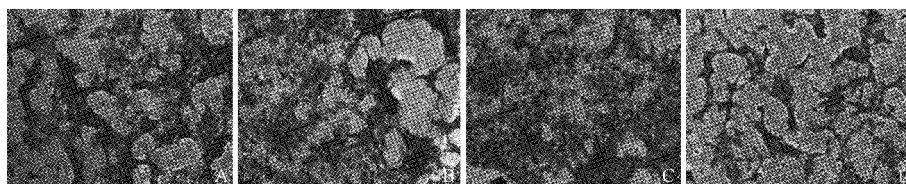


图 12 孵育 24 h 对 BMSCs 的迁移情况 (A~D 依次为麝香高剂量组、中剂量组、低剂量组、对照组)

Fig.12 Incubation for 24 h affects the migration of BMSCs (A-D were high, medium, low dose musk group and control group)

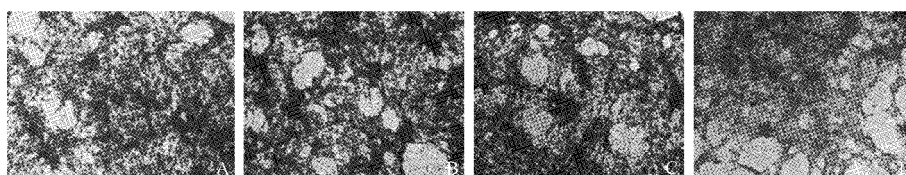


图 13 孵育 48 h 对 BMSCs 的迁移情况 (A~D 依次为麝香高剂量组、中剂量组、低剂量组、对照组)

Fig.13 Incubation for 48 h affects the migration of BMSCs (A-D were high, medium, low dose musk group and control group)

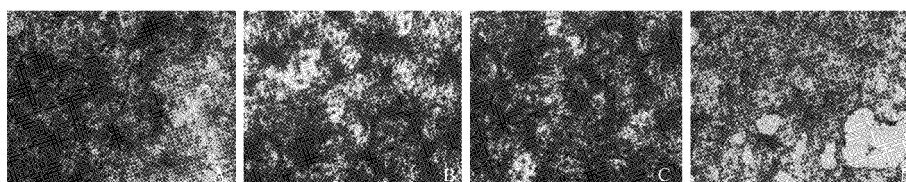


图 14 孵育 72 h 对 BMSCs 的迁移情况 (A~D 依次为麝香高剂量组、中剂量组、低剂量组、对照组)

Fig.14 Incubation for 72 h affects the migration of BMSCs (A-D were high, medium, low dose musk group and control group)

3 讨论

由于 BMSCs 具有取材简便、扩增迅速、低免疫原性、多向分化潜能等优点,被认为是移植领域或联合生物材料方面应用前景广阔的种子细胞^[9],越来越多地用于骨科和内科临床难治性疾病的治疗。虽然 BMSCs 在全骨髓中含量为 0.0001%~0.0010%,但一方面选择纯化度高的体外培养 BMSCs 方法时其具有很强的增殖分化、迁移潜能,另一方面选择一种载体或药物干预时其具有迅速增殖、定向分化并迁移至损伤部位的作用^[10],目前后者是研究的热点之一。近年来,众多学者应用现代科技手段多方位、多角度、多层次对中药促进 BMSCs 增殖、分化、迁移方面做了大量实验研究并取得了满意的效果。熊云谱等^[11]通过补肾活血汤含药血清的干预观察对

BMSCs 迁移的影响,发现补肾活血汤可促进 BMSCs 的增殖和迁移,而这种迁移机制与活化 SDF-1/CXCR4 轴具有相关性,这为临床治疗加快骨折愈合、缩短骨折愈合时间及防止骨折延迟愈合等疾病提供了基础依据。王俊等^[12]观察中药川芎嗪对 BMSCs 迁移的影响,通过采用 Transwell 细胞迁移、细胞划痕、Western blot 实验发现川芎嗪在体外能促进 BMSCs 迁移,其机制与上调基质金属蛋白酶-2、9 表达有关。黄小兵等^[13]通过龟板含药血清对 BMSCs 的干预,发现龟板含药血清明显增强 BMSCs 的迁移能力,且与浓度呈正相关。以上从另一方面验证了中药单体或复方具有促进干细胞迁移的作用,具有很大的研究价值。

传统名贵稀有中药麝香,味辛、性温,具有引药达损伤部位,预防和治疗疾病的作用,是引经药物代

表之一。笔者通过制备不同浓度麝香含药血清,体外干预大鼠 BMSCs,观察麝香对其增殖、迁移的影响。在促 BMSCs 迁移实验中,Transwell 孔板下层培养小室中分别加入含 5% 的含药血清、5% 空白组血清完全培养液,这样不仅能充分发挥细胞的生物学活性,而且最大程度地避免血清中含有的其他成分影响 BMSCs 的迁移作用。实验结果表明,体外 BMSCs 自身可能具有迁移能力,不同浓度麝香在 24 h、48 h、72 h 更能促进 BMSCs 的迁移能力,并且其迁移数量随着麝香浓度的递减及时间延长而增加,这与细胞增殖率的结果相一致。说明麝香促 BMSCs 迁移效应与浓度呈负相关、与时间呈正相关,因此促 BMSCs 迁移能力最强的是低浓度麝香。

总之,本研究结果表明,麝香在体外能促进 BMSCs 迁移,与浓度呈负相关。这对探讨外源性 BMSCs 输入体内,使其迁移至骨折、骨缺损处,从而加快修复速度具有极其重要的意义,也为治疗内科、骨科等疾病提供新的思路。但麝香中剂量组和高剂量组为何促增殖及迁移作用小?具体通过调控哪些细胞因子、生长因子以及活化哪条或哪些信号通路的开放促进 BMSCs 迁移?还需要不懈的研究与探索。

【参 考 文 献】

- [1] 赖满香,廖利平,谭玮璐,等.“肾精-骨质疏松-骨髓间充质干细胞”理论探讨[J].中医杂志,2018,59(2):100-103.
- [2] 宋囡,何文智,王智民,等.骨髓间充质干细胞在骨向分化的作用及中医药研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2014,20(1):95-99.
- [3] Nukavarapu SP, Doremus DL. Osteochondral tissue engineering: current strategies and challenges[J]. Biotechnol Adv, 2013, 31(5):706-721.
- [4] Panseri S, Russo A, Cunha C, et al. Osteochondral tissue engineering approaches for articular cartilage and subchondral bone regeneration[J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2012, 20(6):1182-1191.
- [5] Xie C, Yang Z, Suo Y, et al. Systemically infused mesenchymal stem cells show different homing profiles in healthy and tumor mouse models[J]. Stem Cells Transl Med, 2017, 6(4):1120-1131.
- [6] Li R, Liang L, Dou Y, et al. Mechanical strain regulates osteogenic and adipogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells[J]. Biomed Res Int, 2015, 4(2):155-1165.
- [7] 侯费祎,谢兴文,席芳琴,等.麝香酮含药血清对大鼠骨髓间充质干细胞的增殖、分化的影响[J].西安交通大学学报(医学版),2013,34(1):110-114.
- [8] Xie XW, Xu W, Li N. Effects of Bing's giant salamander containing serum on the proliferation and osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells[J]. Chin J Tissue Engineering Research, 2011, 15(36):6767-6771.
- [9] 杨君君,陈诚,杨柳,等.人脐下脂肪垫干细胞与骨关节炎软骨细胞间接共培养可促进其向软骨细胞分化[J].细胞与分子免疫学杂志,2017,33(2):196-201.
- [10] Zhao K, Liu Q. The clinical application of mesenchymal stromal cells in hematopoietic stem cell transplantation[J]. J Hematol Oncol, 2016, 9(1):46-48.
- [11] 熊云谱,王斌,刘亚梅,等.补肾活血汤含药血清对骨髓间充质干细胞迁移及 CXCR4 表达的影响[J].广州中医药大学学报,2017,34(1):76-91.
- [12] 王俊,曲铁兵,储利胜,等.川芎嗪上调 MMP-2、MMP-9 表达促进骨髓间充质干细胞迁移[J].中国中西医结合杂志,2016,36(6):718-723.
- [13] 黄小兵,李靖,梁平,等.龟板含药血清对骨髓间充质干细胞 c-met 表达及迁移的影响[J].中国中西医结合消化杂志,2013,21(11):569-571.

(收稿日期:2018-03-15;修回日期:2018-05-15)