

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.06.004

长期传代人脐带间充质干细胞的特性及功能

黄丽洁¹, 谢云青¹, 林晓为¹, 陈玮², 郑秋红², 应敏刚² (1. 福建医科大学肿瘤临床医学院 福建省肿瘤医院 福建省肿瘤生物治疗重点实验室, 福建 福州 350014; 2. 福建医科大学附属厦门弘爱医院 细胞治疗中心, 福建 厦门 361015)

[摘要] **目的:** 探讨传至10代(P10)的人脐带来源间充质干细胞(P10-hUC-MSC)的生物学特性及功能。**方法:** 人脐带来源于厦门弘爱医院(伦理批号: HAXM-MEC-20201012-037-01), 分离、收集、培养hUC-MSC并传代培养, 收集P1-、P10-hUC-MSC, FCM检测hUC-MSC表型, 细胞衰老 β -半乳糖苷酶染色法及FCM法检测终末期细胞衰老与凋亡情况, 秋水仙碱处理检测细胞染色体稳定性, 体外成脂、成骨诱导实验检测其多向分化能力, 以不同比例与外周血单个核细胞(PBMC)混合培养后FCM检测T细胞亚群及表型变化。**结果:** 成功分离和培养的P10-hUC-MSC与P1-hUC-MSC的表型相似, 表现为CD45、CD34、HLA-DR表达阴性而CD105、CD90阳性率 $\geq 95\%$ 。终末期的P1-hUC-MSC和P10-hUC-MSC均表现出 β -半乳糖苷酶表达阳性和早期凋亡特征, 细胞染色体核型一致且保持稳定, 未发生转化现象。P1-、P10-hUC-MSC在体外都可被诱导分化成脂肪、成骨细胞。P10-hUC-MSC与PBMC以1:1混合培养7 d后, 可显著上调CD4⁺/CD8⁺ T细胞比值、CD4⁺ Treg细胞比例和PD-1表达(均 $P < 0.01$)。**结论:** 长期传代的P10-hUC-MSC仍然保持其生物学特性和安全性, 并具备多向分化能力及免疫调节能力, 这为最大限度发挥hUC-MSC的临床放疗损伤修复与预防作用提供了前期实验依据和指导。

[关键词] 人脐带来源间充质干细胞; 长期传代; 细胞特性; 多向分化; 免疫调节

[中图分类号] R392.2; Q813.1⁺1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)06-0482-07

Characteristics and functions of long-term passaged human umbilical cord mesenchymal stem cells

HUANG Lijie¹, XIE Yunqing¹, LIN Xiaowei¹, CHEN Wei², ZHENG Qiuhong², YING Mingang² (1. Fujian Provincial Key Laboratory of Tumor Biotherapy, Fujian Cancer Hospital, Clinical Oncology School of Fujian Medical University, Fuzhou 350014, Fujian, China; 2. Center for Cellular Therapies, Xiamen Hongai Hospital Affiliated to Fujian Medical University, Xiamen 361015, Fujian, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the characteristics and functions of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell (hUC-MSC) after 10 passages (P10-hUC-MSC). **Methods:** Human umbilical cord was obtained from Xiamen Hongai Hospital (ethical lot number: HAXM-MEC-20201012-037-01), hUC-MSCs were isolated, collected, cultured and passaged, and P1-, P10- hUC-MSCs were collected. FCM was used to detect cell phenotypes. Senescence-associated β -galactosidase staining method and Annexin-V flow cytometry were adopted to detect end-stage cell senescence and apoptosis, respectively. Colchicine treatment was used to detect chromosomal stability. *In vitro* lipogenesis and osteogenesis induction assay was used to examine the ability of multidirectional differentiation of the cells. After co-culture with peripheral blood mononuclear cells (PBMC) at different ratios, the T-lymphocyte subsets and phenotypes were detected by FCM. **Results:** The phenotypes of P10-hUC-MSCs were similar to that of P1-hUC-MSCs, showing negative expression of CD45, CD34 and HLA-DR, but high positive expression rate (over 95%) of CD105 and CD90. Both groups of P1-hUC-MSCs and P10-hUC-MSCs showed positive β -galactosidase expression and early apoptotic characteristics, with no significant difference ($P > 0.05$), and the cell chromosomes remained stable without transformation. Both P1- and P10-hUC-MSCs could be successfully induced and differentiated into adipocytes and osteoblasts *in vitro* without significant differences ($P > 0.05$). When P10-hUC-MSCs and PBMCs were co-cultured in the ratio of 1:1, the proportion of CD4⁺/CD8⁺ T cells and CD4⁺ Treg cells, and PD-1 expression were all significantly upregulated (all $P < 0.01$). **Conclusion:** The long-term passaged P10-hUC-MSCs still maintain their biological characteristics and safety, and possess multi-differentiation and immunomodulatory ability, which provide preliminary experimental basis and guidance for maximizing its damage repair and prevention effects in radiotherapy.

[Key words] human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell (hUC-MSC); long-term passage; cell property; multi-differentiation; immuno-modulatory

[Chin J Cancer Biother, 2023, 30(6): 482-488. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.06.004]

[基金项目] 福建省自然科学基金(No. 2021J01437); 厦门市科学技术局医疗卫生指导性项目(No. 3502Z20209075)

[作者简介] 黄丽洁(1986—), 女, 硕士, 主管检验师, 主要从事肿瘤免疫学的研究, E-mail: lili1545@126.com

[通信作者] 应敏刚, E-mail: yingmg@haxm.com

放疗是治疗恶性肿瘤的主要手段, 尽管现代放疗剂量已经降到最低, 而且是精确的, 但放射引起的急性或慢性放射损伤仍然存在^[1]。为了减少或预防放射毒性, 需要更先进的预防与再生/修复治疗技术保护放疗患者。干细胞已经成为再生医学、生物工程和其他临床研究的热点。在各种干细胞类型中, 间充质干细胞(MSC)是最常被研究的^[2]。MSC是一种来源于中胚层的成体干细胞, 广泛分布于骨髓、胎肝、脐带、脐带血等组织中, 其中利用人脐带MSC(human umbilical cord MSC, hUC-MSC)的相关技术具有成本低、侵入性小、细胞含量丰富、免疫原性低等优点, 在组织损伤修复中备受关注^[3]。作为一种成体多能干细胞, MSC的生物学特性及其所具有的多向分化及免疫调节功能在促进放疗损伤修复中可能起着重要作用^[4-5]。目前已有研究^[2,6]将MSC治疗应用于减轻皮肤、肠、脑、肺、肝、心脏等放射损伤方面, 但长期传代次数影响MSC的治疗特性, 包括细胞特性、多向分化能力及免疫调节能力。同时, 对于有恶性肿瘤史的放射损伤患者, MSC的安全性也是临床应用前需要考虑的首要问题^[7]。2013年耿洁等^[8]指出, MSC在体外传至15代时其生物学特性仍保持稳定。然而, 不同的实验室对MSC的分离、培养和扩增程序有各自的方案, 造成了MSC的异质性, 从而导致质量的差异^[9]。因此, 本课题将重点对本实验室所分离培养并传至10代(P10)的hUC-MSC(P10-hUNMSC)的细胞表型及安全性进行分析, 并探讨P10-hUC-MSC的分化潜能及免疫调节功能, 为尽可能开发hUC-MSC的临床应用提供有价值的前期基础研究数据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂

人脐带来源于厦门弘爱医院(伦理批号:HAXM-MEC-20201012-037-01), 人外周血来源于健康志愿者, 志愿者已经被充分知情并签署同意书, 并获福建医科大学肿瘤临床医学院伦理委员会批准(批准号:SQ2020-087-01)。外周血单个核细胞(PBMC)分离液购自美国General Electric公司, MSC无血清培养基购自青岛麦迪赛斯生物科技有限公司, 培养皿、培养瓶购自Thermo Fisher Scientific公司, 0.25%胰酶购自Gibco公司, I型胶原酶购自Sigma公司, FGF-2、EGF、BSA均购自ABS公司, FCM荧光抗体CD90-FITC、CD105-PE、HLA-DR-ECD、CD34-PC5、CD45-PC7、CD4、CD8、CD25、CD127、PD-1及Annexin-V细胞凋亡检测试剂盒均购自B&D公司。细胞衰老 β -半乳糖苷酶(senescence-associated β -galactosidase, SA- β -Gal)染色试剂盒购自Beyotime公司, 成脂、成骨诱导

分化培养基试剂盒购自Cyagen Bioscience公司。

1.2 hUC-MSC的分离培养与鉴定

将人脐带放置于100 mm²培养皿中纵向剖开, 0.9%氯化钠溶液中洗2~3次, 剪成1~2 mm³大小, 加入I型胶原酶(0.2 mg/mL)在室温下轻轻摇动, 温和消化3 h后, 细胞滤网去除未消化组织块, 离心收集细胞, 加入含40 ng/mL FGF-2、20 ng/mL EGF、2%BSA的MSC完全培养基, 置于100 mm²培养皿中, 37℃、5% CO₂培养箱中培养至细胞汇合度达约80%, 弃去培养基, 加入0.25%胰酶消化并收集细胞, 135×g离心5 min后弃上清。细胞重悬于MSC完全培养基中, 移入T175培养瓶中进行传代扩增培养; 或将细胞重悬于PBS中, 加入CD34\CD90\CD105\CD45\HLA-DR流式荧光抗体进行标记后, FCM检测所培养的P1-hUC-MSC及P10-hUC-MSC表型变化情况。

1.3 SA- β -Gal染色和FCM检测P1及P10-hUC-MSC的凋亡情况

1.3.1 体外SA- β -Gal活性检测

取体外培养至终末期的P1-hUC-MSC及P10-hUC-MSC, 按照 β -半乳糖苷酶染色试剂盒说明书进行操作: 移除细胞上清液, PBS清洗细胞2次, 固定液室温下处理15 min, PBS洗细胞2次后分别加入2 mL新鲜配制的SA- β -Gal检测液, 37℃下避光处理过夜, 次日吸弃SA- β -Gal检测液并将细胞用PBS清洗2次, 显微镜下观察、拍照。

1.3.2 细胞凋亡检测

用0.25%的胰酶消化培养至终末期的P1-hUC-MSC及P10-hUC-MSC, 230×g离心5 min, 分别收集细胞。用预冷PBS(4℃)重悬洗涤细胞1次, 230×g离心5 min, 收集细胞, 加入300 μ L结合缓冲液悬浮细胞, 并加入5 μ L的Annexin V-FITC混匀后, 避光室温处理15 min; FCM检测前5 min再加入5 μ L的PI染色液, 并补加200 μ L结合缓冲液, 最后行FCM检测。

1.4 吉姆萨染色检测P1-、P10-hUC-MSC的核型

P1-、P10-hUC-MSC培养至其汇合度约80%时, 分别加入终质量浓度为0.04 mg/L的秋水仙碱, 继续培养4 h, 使细胞停留于有丝分裂中期后, 用细胞刮刀刮下贴壁细胞, 并转移至15 mL离心管中, 168×g离心8 min, 弃上清, 加入4 mL低渗液(0.075% KCl), 37℃水浴处理5 min, 加入2 mL固定液(甲醇:冰乙酸=3:1), 再在37℃水浴处理5 min, 168×g离心8 min, 弃上清液, 加入4 mL固定液重悬细胞后再次离心, 重复2次, 重悬细胞并滴片, 室温下放置48 h后75℃烤片4 h, 吉姆萨染液染色15 min, 进行染色体数目检查和G显带分析, 观察50个分裂相并拍照。

1.5 P1-、P10-hUC-MSC的分化、免疫调节能力的鉴定

1.5.1 体外多向分化能力鉴定

将P1-、P10-hUC-MSC悬液计数后按每孔 5×10^4 个接种于6孔板中,加入MSC完全培养基,37℃、5% CO₂培养过夜,每隔3 d换液1次。直至细胞汇合度达到60%~70%时,按照成脂或成骨诱导分化培养基试剂盒说明书将完全培养基更换为OriCell成脂或成骨诱导分化培养基,每3 d更换1次培养基,诱导4周后,吸弃分化培养液,PBS清洗2次;每孔加入2 mL 4% 甲醛,室温下固定30 min;吸弃固定液,PBS清洗3次。分别采用油红O或茜素红染液处理30 min后,吸弃染液,PBS清洗2~3次。将6孔板置于显微镜下观察成脂或成骨染色效果观察并拍照。

1.5.2 体外免疫调节功能检测

分离健康志愿者PBMC,以 1×10^5 个细胞/mL重悬于GT-T551 H3无血清完全培养基(含1 μg/mL CD3、500 U/mL IL-2)中,2 mL/孔,同时按照hUC-MSC:PBMC为1:1、1:10、1:20的比例混合培养7 d后,收集细胞,重悬于PBS中,加入CD4\CD8\CD127\CD25\PD-1流式荧光抗体进行标记后,FCM检测各组淋巴细胞亚群及Treg细胞、PD-1表达情况,单纯PBMC组为对照组。

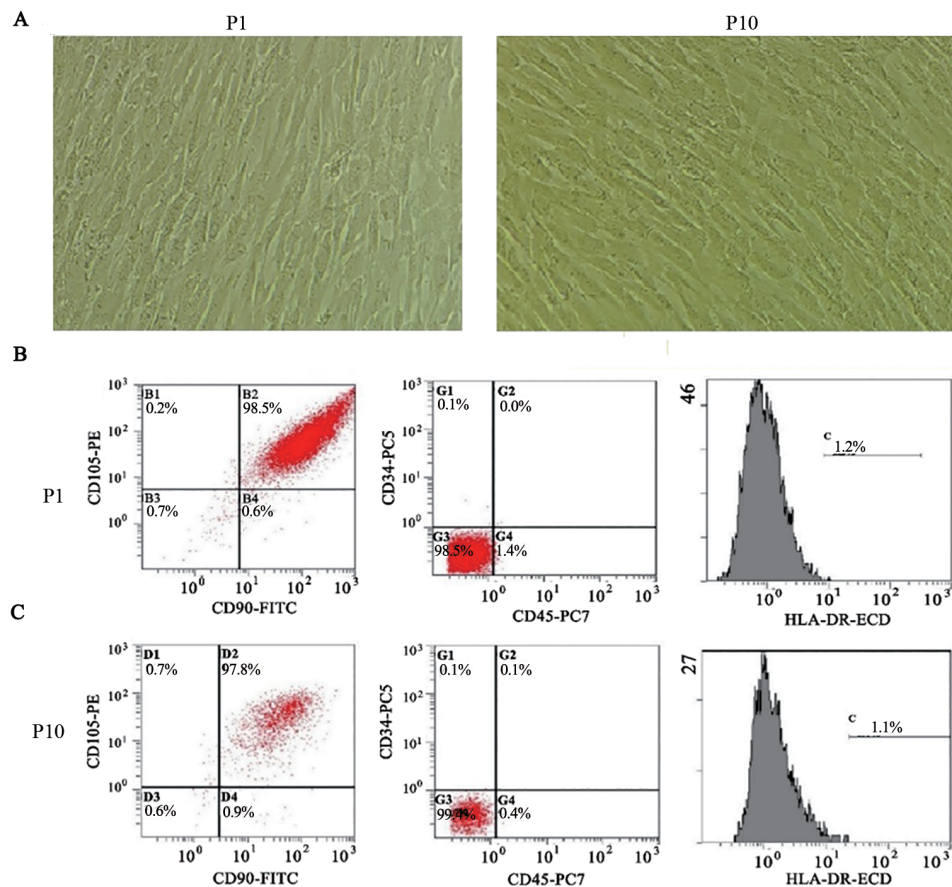
1.6 统计学处理

采用SPSS 19.0统计软件进行数据处理。所有实验均独立重复3次。符合正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 成功分离培养hUC-MSC

成功地从不同个体的脐带组织中分离得到了hUC-MSC,显微镜下观察形状为长梭形贴壁生长,发现长期传代培养的P10-hUC-MSC形状与P1-hUC-MSC的相似(图1A)。FCM检测其表型的结果显示,P10-hUC-MSC与P1-hUC-MSC表型均具有CD45、CD34、HLA-DR表达为阴性(表达率 $\leq 2\%$),而CD105、CD90阳性率高达 $\geq 95\%$ 的特性,P10-hUC-MSC中CD105⁺CD90⁺细胞比例与P1-hUC-MSC的相比无显著性差异[(97.8 $\pm$ 1.3)% vs (97.1 $\pm$ 2.1)%, $P=0.68$](图1B、C)。这一结果与国际细胞治疗协会(International Society for Cellular Therapy, ISCT)对hUC-MSC的质控要求一致。长期传代至P10-hUC-MSC仍然是低免疫原性(HLA-DR表达阴性)的,同时维持CD105、CD90干细胞标志高表达特征。



A: 相差显微镜下hUC-MSC细胞的形态($\times 100$); B、C: FCM检测P1-hUC-MSC(B)、P10-hUC-MSC(C)的表型。

图1 显微镜和FCM分别观察与鉴定hUC-MSC的形态及表型

2.2 P1-、P10-hUC-MSC 中绝大多数细胞出现早期凋亡特征

SA-β-Gal 活性检测结果(图 2A)显示,终末期大部分 P1-、P10-hUC-MSC 被 SA-β-Gal 检测液染成蓝色,说明不论是 P1-hUC-MSC,或者是经长期传代至 P10-hUC-MSC,均与正常体细胞一样,培养至终末期后逐渐出现衰老的迹象,停止了分裂增殖,具有 SA-β-Gal 活性,而并无无限增殖的特征。

FCM 检测细胞凋亡的结果(图 2B)显示,终末期的大部分 P1-、P10-hUC-MSC 表现为 Annexin-V 染色阳性,而 PI 染色阴性,出现早期凋亡现象。P10-hUC-MSC 与 P1-hUC-MSC 相比,PI⁺Annexin-V⁺细胞的比例其差异无统计学意义,此实验结果与 2.2 中的结果相符,说明长期传代的 P10-hUC-MSC 和 P1-hUC-MSC 相似,培养至终末期均会出现凋亡现象,并未出现无限增殖的特征。

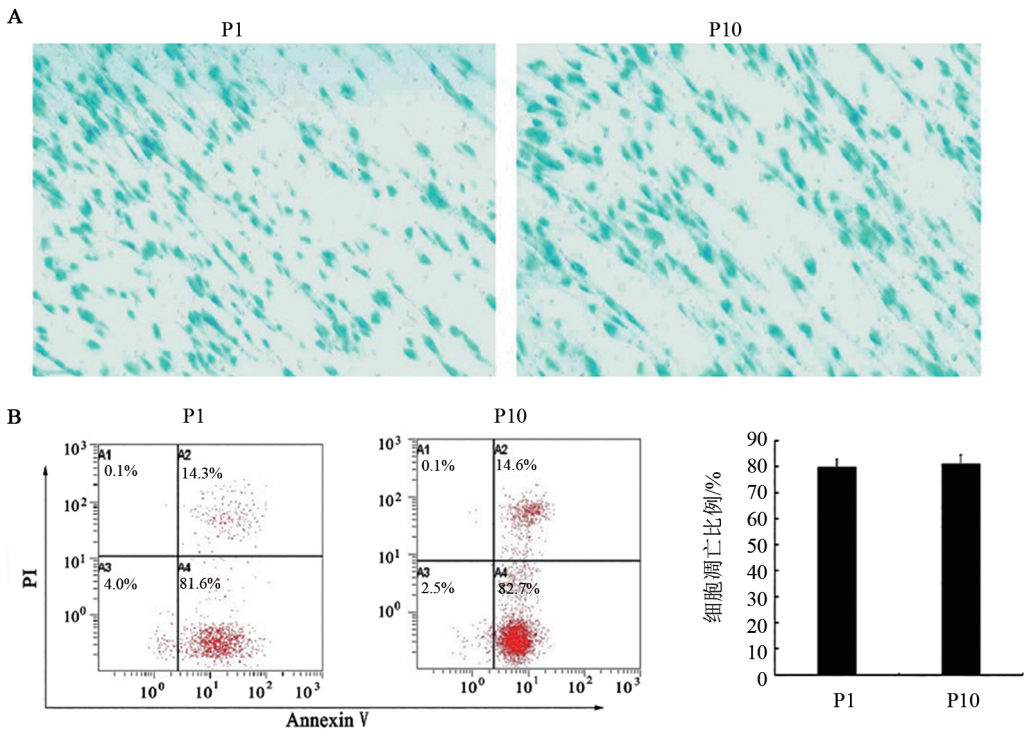


图 2 P1-、P10-hUC-MSC 的 SA-β-Gal 活性(A,×100)及凋亡(B)情况

2.3 P1-、P10-hUC-MSC 的核型稳定一致

P1-、P10-hUC-MSC 核型检测结果(图 4)显示,经长期传代的 P10 细胞与 P1 细胞的核型基本一致,说明其染色体保持稳定,未出现染色体畸变现象。

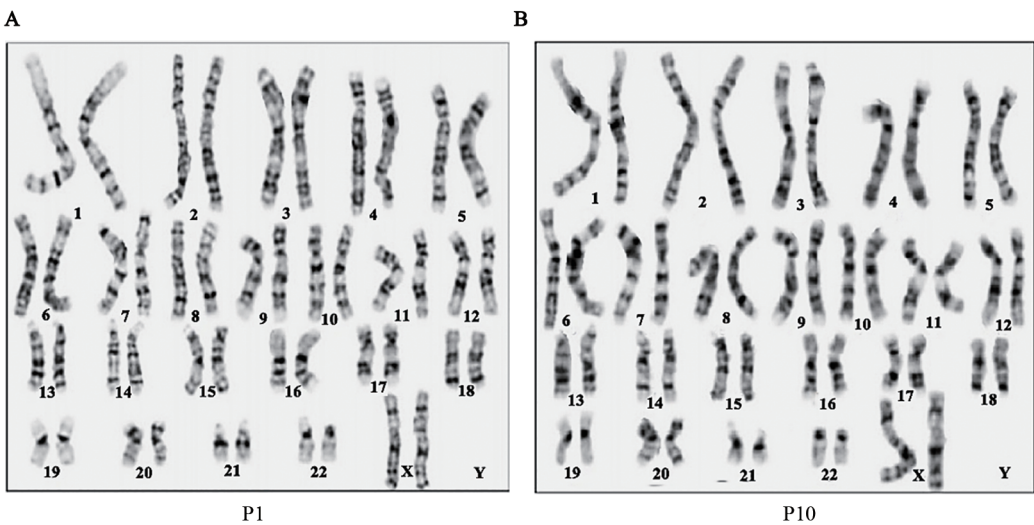
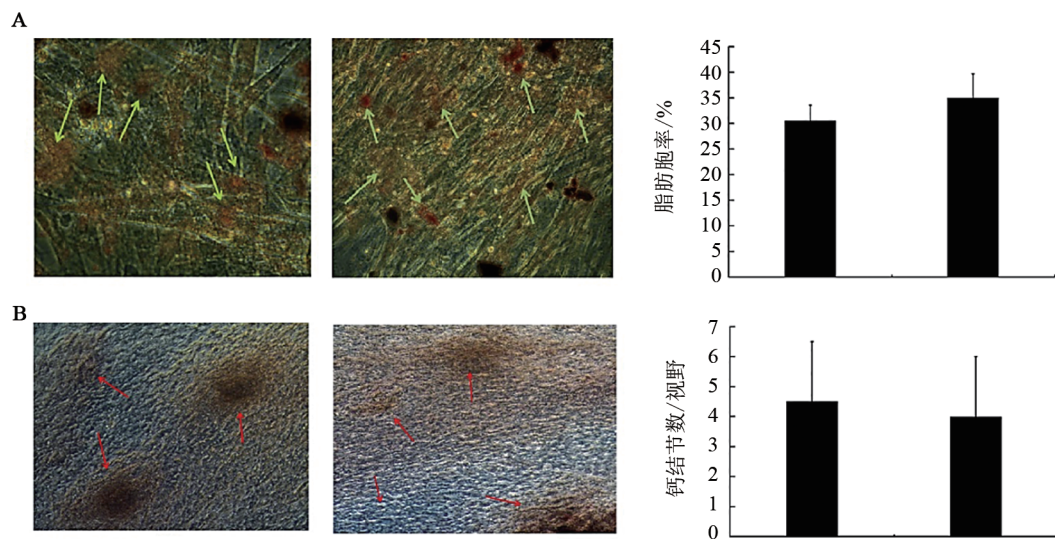


图 3 吉姆萨染色显示 P1-(A,×500)、P10-hUC-MSC(B,×500)的核型

2.4 P1-、P10-hUC-MSC 在体外向脂肪细胞和成骨细胞分化能力相似

对诱导4周后的P1-、P10-hUC-MSC进行油红O染色,显微镜下呈现红色油滴的细胞即为脂肪细胞,每100个细胞中脂肪细胞的比例在两组间无明显差异 $[(30.5\pm 3.1)\% \text{ vs } (35.0\pm 4.7)\%, P=0.24, n=7]$;图4A)。同样,成骨细胞染色结果(图4B)显示,P10-、P1-hUC-

MSC都具有相似的成骨细胞分化能力,出现大量被茜素红染成红色的钙结节,每个视野中所形成的钙结节数量在两组间并无明显差异 $[(4.5\pm 2.0) \text{ vs } (4.0\pm 2.0) \text{ 个}, P=0.57, n=7]$ 。实验结果说明,经过长期传代后的P10与P1的hUC-MSC向脂肪细胞和成骨细胞分化的能力相似。



A、B:P1-、P10-hUC-MSC诱导后的油红O染色(A)和茜素红染色(B)情况(图4A、B左图放大倍数: $\times 50$)。图A中绿色箭头指标被油红O染色的脂肪细胞,图B中红色箭头指示被茜素红染色的钙结节。

图4 P1-、P10-hUC-MSC体外诱导分化为脂肪细胞和成骨细胞

2.5 P10-hUC-MSC具有明显的免疫调节能力

收集按照不同比例PBMC和P10-hUC-MSC混合培养7d后的细胞,FCM检测T细胞亚群及 $CD8^+$ T细胞表面抑制性分子PD-1的表达,结果(图5)显示,与PBMC组相比,当P10-hUC-MSC与PBMC以1:1、1:10、1:20比例混合培养时, $CD4^+$ T细胞中Treg细胞的比例均显著升高(图5A、B、C, $P<0.05$ 或 $P<0.01$)。P10-hUC-MSC与PBMC的比例为1:1时, $CD4^+/CD8^+$ T细胞比值与单纯PBMC组的相比显著升高(图5A、D, $P<0.01$),且其中PD-1阳性细胞比例明显高于PBMC组(图5A、E, $P<0.01$),其余各组与单纯PBMC相比没有明显差异($P>0.05$)。研究结果显示,P10-hUC-MSC与PBMC 1:1混合后7d仍具有显著的免疫调节能力。

3 讨论

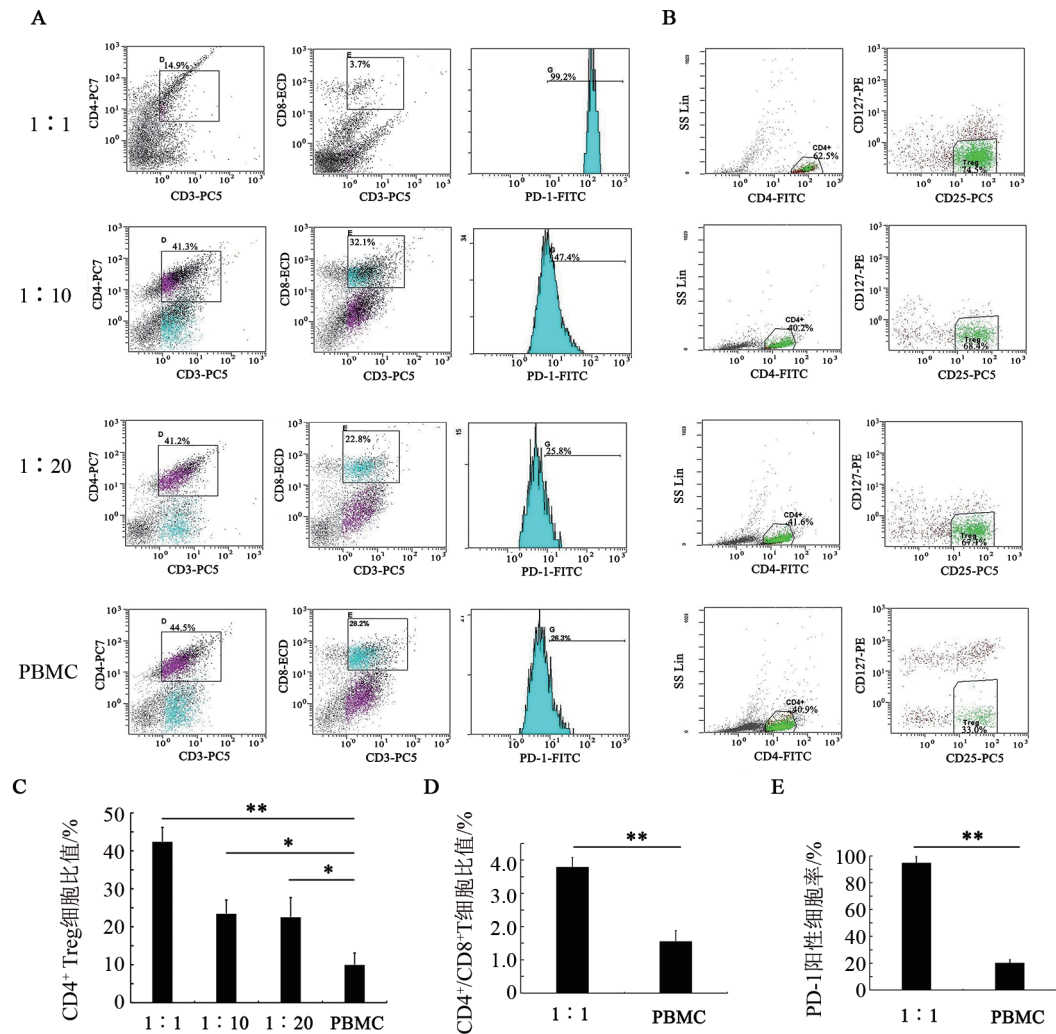
肿瘤放射治疗根据剂量和照射区域的不同,对各种组织或器官,特别是皮肤、肠、脑、肺、肝和心脏造成严重和不可逆的损伤^[10]。hUC-MSC由于其取材方便、不涉及伦理学问题及增殖能力强等优势,已经

在临床放疗损伤修复中显示出较高的应用价值^[11]。然而,原代培养的hUC-MSC数量不足以满足临床需求。为了使MSC尽最大可能发挥临床作用,本研究对经过长期传代的P10-hUC-MSC进行了细胞特性及功能鉴定,为hUC-MSC最大限度地发挥辐射修复的临床治疗应用提供前期研究数据。

不同实验室有各自的MSC分离、培养、扩增程序,导致MSC异质性和质量差异,这种异质性会导致实际结果与预期的偏差,成为临床应用MSC的巨大障碍^[12]。ISCT已对MSC进行定义,把CD73、CD90和CD105作为MSC的标志性表面抗原^[13]。利用本研究分离培养程序所扩增的P1及长期传代至P10的细胞流式鉴定结果显示,二者细胞表型与ISCT定义的MSC表型均保持一致。

MSC的基因组不稳定性是临床使用MSC的重要问题之一,因为它使细胞获得肿瘤细胞特征^[14]。因此,细胞遗传学分析对于验证MSC的安全性至关重要,因为维持正常的核型是MSC遗传稳定性的可靠指标^[15]。本研究通过对P1-、P10-hUC-MSC致瘤性及染色体稳定性进行比较,结果显示,培养至终末期的

P10-hUC-MSC 与 P1-hUC-MSC 相似,均表现出衰老性转化特征。这与耿洁等^[8]的实验结果基本一致。及早期凋亡特征,但染色体均保持稳定而未出现恶



P10-hUC-MSC和PBMC不同比例混合培养7 d后的CD4⁺、CD8⁺ T细胞亚群及PD-1表达(A、D、E)和Treg细胞数量(B、C)。**P*<0.05,***P*<0.01。

图5 P10-hUC-MSC与PBMC以不同比例混合培养后的T细胞亚群的分析

MSC的多向分化潜能和免疫调节能力对于缓解放疗引起的炎症损伤至关重要^[16]。有研究^[17-18]发现,经尾静脉注射入辐照小鼠的骨髓MSC可分化为肺上皮细胞和内皮细胞。同时基于MSC的治疗被证明可通过增加Th1免疫反应向Th2免疫反应的转化,抑制CD4⁺T细胞的活化,增加Treg细胞数量^[19]。然而MSC功能似乎随着培养代数的增加而下降^[5]。本研究通过对长期传代后的P10-hUC-MSC进行诱导分化,结果显示其仍具备成脂、成骨细胞分化能力,与P1-hUC-MSC无显著性差异。同时还发现,P10-hUC-MSC与PBMC以1:1混合培养7 d后仍具有显著的免疫抑制效应,表现为CD4⁺T/CD8⁺T细胞比值显著升高,并诱导促进CD4⁺Treg细胞产生及CD8⁺T细胞中PD-1表达的增高。该结果与

HUANG等^[20]报道的“从P3到P25,hUC-MSC的三个生物学特性(黏附可塑性、特异性表面抗原表达、多能分化潜力)符合ISCT的标准”的结果相符。

MSC作为再生/修复剂或在放疗后直接作为预防药物使用已经显示了广阔的应用前景。本研究通过一系列生物学特性的研究验证了长期传代的P10-hUC-MSC保持了MSC细胞的特性,这为在保持其有效性及安全性的基础上尽可能开发MSC应用于放疗损伤修复治疗奠定了坚实的前期研究基础。然而,长期传代的细胞可能涉及多种分子机制的变化,如其多向分化潜能可能涉及到HOX基因表达、DNA甲基化等表观遗传修饰变化的影响^[21],仅通过生物学表征的研究还远远不够,其具体的分子机制还有待后期进一步的研究探索。

[参考文献]

- [1] HUANG C M, HUANG M Y, TSAI H L, *et al.* A retrospective comparison of outcome and toxicity of preoperative image-guided intensity-modulated radiotherapy versus conventional pelvic radiotherapy for locally advanced rectal carcinoma[J]. *J Radiat Res*, 2017, 58(2): 247-259. DOI: 10.1093/jrr/rrw098.
- [2] WANG K X, CUI W W, YANG X, *et al.* Mesenchymal stem cells for mitigating radiotherapy side effects[J/OL]. *Cells*, 2021, 10(2): 294 [2023-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33535574/>. DOI: 10.3390/cells10020294.
- [3] RODRÍGUEZ-EGUREN A, GÓMEZ-ÁLVAREZ M, FRANCÉS-HERRERO E, *et al.* Human umbilical cord-based therapeutics: stem cells and blood derivatives for female reproductive medicine [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24): 15942[2023-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36555583/>. DOI: 10.3390/ijms232415942.
- [4] HONG S Y, TENG S W, LIN W, *et al.* Allogeneic human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells reduce lipopolysaccharide-induced inflammation and acute lung injury[J/OL]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(10): 6740-6750[2023-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33194069/>.
- [5] LI F J, ZHANG R, HU C P, *et al.* Irradiation haematopoiesis recovery orchestrated by IL-12/IL-12Rβ1/TYK2/STAT3-initiated osteogenic differentiation of mouse bone marrow-derived mesenchymal stem cells [J/OL]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 729293[2023-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34540843/>. DOI: 10.3389/fcell.2021.729293.
- [6] AIERKEN A, LI B L, LIU P, *et al.* Melatonin treatment improves human umbilical cord mesenchymal stem cell therapy in a mouse model of type II diabetes mellitus *via* the PI3K/AKT signaling pathway[J/OL]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 164[2023-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35414044/>. DOI: 10.1186/s13287-022-02832-0.
- [7] LAN T X, LUO M, WEI X W. Mesenchymal stem/stromal cells in cancer therapy[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 195[2023-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34789315/>. DOI: 10.1186/s13045-021-01208-w.
- [8] 耿洁, 张磊, 韩之波, 等. 临床用间充质干细胞的质量控制研究[J]. *中国医药生物技术*, 2013, 8(3): 225-230. DOI: 10.3969/cmbsa.j.issn.1673-713X.2013.03.014
- [9] RENESME L, PIERRO M, COBEY K D, *et al.* Definition and characteristics of mesenchymal stromal cells in preclinical and clinical studies: a scoping review[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2022, 11(1): 44-54. DOI: 10.1093/stcltm/szab009.
- [10] VAN NIMWEGEN F A, SCHAAPVELD M, CUTTER D J, *et al.* Radiation dose-response relationship for risk of coronary heart disease in survivors of Hodgkin lymphoma[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(3): 235-243. DOI: 10.1200/JCO.2015.63.4444.
- [11] XIE Q X, LIU R, JIANG J, *et al.* What is the impact of human umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation on clinical treatment? [J/OL]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 519[2023-02-10]. DOI: 10.1186/s13287-020-02011-z.
- [12] ULLAH I, SUBBARAO R B, RHO G J. Human mesenchymal stem cells - current trends and future prospective[J/OL]. *Biosci Rep*, 2015, 35(2): e00191[2023-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25797907/>. DOI: 10.1042/BSR20150025.
- [13] NAJI A, EITOKU M, FAVIER B, *et al.* Biological functions of mesenchymal stem cells and clinical implications[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(17): 3323-3348. DOI: 10.1007/s00018-019-03125-1.
- [14] KUNDROTAS G, GASPERSKAJA E, SLAPSYTE G, *et al.* Identity, proliferation capacity, genomic stability and novel senescence markers of mesenchymal stem cells isolated from low volume of human bone marrow[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(10): 10788-10802. DOI: 10.18632/oncotarget.7456.
- [15] BORGONOVO T, VAZ I M, SENEGAGLIA A C, *et al.* Genetic evaluation of mesenchymal stem cells by G-banded karyotyping in a Cell Technology Center[J]. *Rev Bras Hematol Hemoter*, 2014, 36(3): 202-207. DOI: 10.1016/j.bjhh.2014.03.006.
- [16] KIANG J G. Adult mesenchymal stem cells and radiation injury [J]. *Health Phys*. 2016, 111(2): 198-203. DOI: 10.1097/HP.0000000000000459.
- [17] HU C X, LI L J. Preconditioning influences mesenchymal stem cell properties *in vitro* and *in vivo*[J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(3): 1428-1442. DOI: 10.1111/jcmm.13492.
- [18] SINGH V K, SEED T M. An update on romiplostim for treatment of acute radiation syndrome[J]. *Drugs Today (Barc)*, 2022, 58(3): 133-145. DOI: 10.1358/dot.2022.58.3.3367994.
- [19] KIM W H, YOO J H, YOO I K, *et al.* Effects of mesenchymal stem cells treatment on radiation-induced proctitis in rats[J]. *Yonsei Med J*, 2023, 64(3): 167-174. DOI: 10.3349/ymj.2022.0342.
- [20] HUANG T L, LIU R Z, FU X K, *et al.* Aging reduces an ERRα-directed mitochondrial glutaminase expression suppressing glutamine anaplerosis and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells [J]. *Stem Cells*, 2017, 35(2): 411-424. DOI: 10.1002/stem.2470.
- [21] STEENS J, KLEIN D. HOX genes in stem cells: maintaining cellular identity and regulation of differentiation[J/OL]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 1002909[2023-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36176275/>. DOI: 10.3389/fcell.2022.1002909.

[收稿日期] 2023-02-11

[修回日期] 2023-03-26

[本文编辑] 向正华, 沈志超