

骨髓间充质干细胞外泌体调控 TLR4/NF- κ B 信号通路缓解小鼠子宫内膜异位症研究

姜海珍 江煜焱 张丹 陈晨晨

【摘要】 目的 探究骨髓间充质干细胞外泌体 (BMSC-exo) 影响小鼠子宫内膜异位症 (EMS) 的功能及机制。**方法** 小鼠子宫内膜上皮细胞 (mEECs) 分为 BMSC-exo 组 (25 μ g/mL BMSC-exo 共孵育) 和磷酸盐缓冲溶液 (PBS) 组 (等体积 PBS 共孵育), EdU 法检测细胞增殖率; 细胞划痕和 Transwell 法检测细胞迁移能力。RT-qPCR 检测 mEECs 白细胞介素 -1 β (IL-1 β)、白细胞介素 -6 (IL-6)、C-C 基序趋化因子配体 2 (Ccl-2) 和肿瘤坏死因子 - α (TNF- α) 相对表达量; BALB/c 小鼠分为假手术组、EMS 模型组和 BMSC-exo 组 ($n = 7$), EMS 组和 BMSC-exo 组小鼠构建 EMS 模型, BMSC-exo 组小鼠以 3 μ g/g 的剂量每周尾静脉注射 1 次 BMSC-exo (治疗 4 周), 苏木精 - 伊红染色法 (HE) 染色观察小鼠 EMS 病灶组织病理变化; 酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测血清和细胞上清中炎症因子 IL-1 β 、IL-6、Ccl-2 和 TNF- α ; Western blot 检测小鼠子宫内膜组织 TLR4 和 NF- κ B p65 表达。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, 组间两两比较采用 Dunnett- t 检验; 不符合正态分布的两组间比较采用 Wilcoxon Signed Rank test 法; 两组间多个时间点同一指标比较采用两因素重复测量方差分析。**结果** 与 PBS 组比较, BMSC-exo 组 mEECs 增殖率 [(41.00 $\pm$ 3.61) % 比 (59.67 $\pm$ 2.52) %]、细胞划痕愈合率 [(22.00 $\pm$ 3.00) % 比 (65.33 $\pm$ 5.51) %]、细胞迁移数 [(82.00 $\pm$ 19.31) 比 (145.00 $\pm$ 9.85) 个] 降低 ($P < 0.05$), IL-1 β (0.18 $\pm$ 0.05 比 1.00 $\pm$ 0.01)、IL-6 (0.30 $\pm$ 0.09 比 0.99 $\pm$ 0.01)、Ccl-2 (0.27 $\pm$ 0.08 比 1.00 $\pm$ 0.02) 和 TNF- α mRNA 相对表达 (0.33 $\pm$ 0.08 比 1.00 $\pm$ 0.06) 均下调 (P 均 < 0.01), 细胞上清液中 IL-1 β [(1 083.00 $\pm$ 67.68) 比 (1 507.00 $\pm$ 131.10) pg/mL]、IL-6 [(878.70 $\pm$ 19.50) 比 (1 127.00 $\pm$ 75.59) pg/mL]、Ccl-2 [(1 046.00 $\pm$ 56.72) 比 (1 298.00 $\pm$ 52.52) pg/mL] 和 TNF- α 浓度 [(1 069.00 $\pm$ 114.80) 比 (1 470.00 $\pm$ 165.90) pg/mL] 降低 (P 均 < 0.05)。与假手术组比较, EMS 组小鼠子宫内膜病理损伤显著, 血清炎症因子 IL-1 β [(2 034.00 $\pm$ 165.50) 比 (1 083.00 $\pm$ 125.80) pg/mL]、IL-6 [(3 292.00 $\pm$ 232.30) 比 (1 505.00 $\pm$ 126.20) pg/mL]、Ccl-2 [(1 300.00 $\pm$ 64.50) 比 (939.30 $\pm$ 56.45) pg/mL] 和 TNF- α 浓度 [(545.00 $\pm$ 34.70) 比 (344.00 $\pm$ 41.33) pg/mL] 增加 (P 均 < 0.01), TLR4 (1.44 $\pm$ 0.06 比 0.38 $\pm$ 0.06) 和 NF- κ B p65 表达 (1.18 $\pm$ 0.03 比 0.29 $\pm$ 0.04) 上调 (P 均 < 0.001)。与 EMS 组比较, BMSC-exo 组小鼠 EMS 组织病灶减少, 血清炎症因子 IL-1 β [(1 488.00 $\pm$ 202.50) 比 (2 034.00 $\pm$ 165.50) pg/mL]、IL-6 [(2 543.00 $\pm$ 317.20) 比 (3 292.00 $\pm$ 232.30) pg/mL]、Ccl-2 [(1 058.00 $\pm$ 57.95) 比 (1 300.00 $\pm$ 64.50) pg/mL] 和 TNF- α 浓度 [(415.00 $\pm$ 13.00) 比 (545.00 $\pm$ 34.70) pg/mL] 降低 (P 均 < 0.05), TLR4 (0.81 $\pm$ 0.03 比 1.44 $\pm$ 0.06) 和 NF- κ B p65 表达 (0.81 $\pm$ 0.06 比 1.18 $\pm$ 0.03) 下调 (P 均 < 0.001)。**结论** BMSC-exo 抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路缓解小鼠 EMS。

【关键词】 骨髓间充质干细胞; 外泌体; 子宫内膜异位症; 小鼠; 炎症; TLR4; NF- κ B

Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes alleviate endometriosis in mice by regulating the TLR4/NF- κ B signaling pathway Jiang Haizhen, Jiang Yuhuan, Zhang Dan, Chen Chenchen. Department of Gynecology, Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining 272000, China

Corresponding author: Chen Chenchen, Email: 539854098@qq.com

【Abstract】 Objective To explore the effects and mechanisms of bone marrow mesenchymal stem cell exosomes (BMSC-exo) on endometriosis (EMS) in mice. **Methods** Mouse endometrial

epithelial cells (mEECs) were divided into the BMSC-exo group (co-cultured with 25 $\mu\text{g/mL}$) and phosphate buffer saline (PBS) group (co-cultured with equal volume of PBS). The EdU method was used to detect cell proliferation rate. Cell scratch and Transwell assays were employed to assess cell migration ability. RT-qPCR was used to detect the relative expression levels of Interleukin-1 β (*IL-1 β*), interleukin-6 (*IL-6*), chemokine 2 (*Ccl-2*), and tumor necrosis factor alpha (*TNF- α*) in mEECs. BALB/c mice were divided into sham-operated, EMS model, and BMSC-exo groups ($n = 7$). EMS and BMSC-exo groups were used to construct EMS models. Mice in the BMSC-exo group received weekly tail vein injections of BMSC-exo at a dose of 3 $\mu\text{g/g}$ for 4 weeks. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes of EMS lesion tissue in mice. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect inflammatory factors IL-1 β , IL-6, Ccl-2, and TNF- α in serum and cell supernatants. Western blot was used to detect the expression of TLR4 and NF- κB p65 in endometrial tissue. Comparisons between two groups were performed using the independent sample *t*-test. Comparisons among multiple groups were performed using one-way analysis of variance (ANOVA), with post-hoc pairwise comparisons conducted using Dunnett's *t*-test. For data not following a normal distribution, comparisons between two groups were performed using the Wilcoxon signed-rank test. For the analysis of repeated measures factors between two groups, the two-way repeated measures ANOVA was used. **Results** Compared with PBS group, the proliferation rates [(41.00 $\pm$ 3.61) % vs (59.67 $\pm$ 2.52) %], cell scratch healing rates [(22.00 $\pm$ 3.00) % vs (65.33 $\pm$ 5.51) %], the number of migration cells (82.00 $\pm$ 19.31 vs 145.00 $\pm$ 9.85) of mEECs, the expression of *IL-1 β* mRNA (0.18 $\pm$ 0.05 vs 1.00 $\pm$ 0.01), *IL-6* mRNA (0.30 $\pm$ 0.09 vs 0.99 $\pm$ 0.01), *Ccl-2* mRNA (0.27 $\pm$ 0.08 vs 1.00 $\pm$ 0.02), *TNF- α* mRNA (0.33 $\pm$ 0.08 vs 1.00 $\pm$ 0.06) and the concentrations of IL-1 β [(1 083.00 $\pm$ 67.68) vs (1 507.00 $\pm$ 131.10) pg/mL], IL-6 [(878.70 $\pm$ 19.50) vs (1 127.00 $\pm$ 75.59) pg/mL], Ccl-2 [(1 046.00 $\pm$ 56.72) vs (1 298.00 $\pm$ 52.52) pg/mL] and TNF- α [(1 069.00 $\pm$ 114.80) vs (1 470.00 $\pm$ 165.90) pg/mL] in cell supernatants in the BMSC-exo group were significantly decreased ($P < 0.05$), were significantly decreased (all $P < 0.05$). Compared with the sham-operated group, the pathological damage of endometrium in EMS group was significantly, with increased concentrations of serum inflammatory factors IL-1 β [(2 034.00 $\pm$ 165.50) vs (1 083.00 $\pm$ 125.80) pg/mL], IL-6 [(3 292.00 $\pm$ 232.30) vs (1 505.00 $\pm$ 126.20) pg/mL], Ccl-2 [(1 300.00 $\pm$ 64.50) vs (939.30 $\pm$ 56.45) pg/mL] and TNF- α [(545.00 $\pm$ 34.70) vs (344.00 $\pm$ 41.33) pg/mL] (all $P < 0.01$), as well as a significantly upregulated expression of TLR4 (1.44 $\pm$ 0.06 vs 0.38 $\pm$ 0.06) and NF- κB p65 (1.18 $\pm$ 0.03 vs 0.29 $\pm$ 0.04) (all $P < 0.001$). Compared with the EMS group, the BMSC-exo group showed a reduction in EMS tissue lesions, with a decrease in the expression of serum inflammatory factors IL-1 β [(1 488.00 $\pm$ 202.50) vs (2 034.00 $\pm$ 165.50) pg/mL], IL-6 [(2 543.00 $\pm$ 317.20) vs (3 292.00 $\pm$ 232.30) pg/mL], Ccl-2 [(1 058.00 $\pm$ 57.95) vs (1 300.00 $\pm$ 64.50) pg/mL], TNF- α [(415.00 $\pm$ 13.00) vs (545.00 $\pm$ 34.70) pg/mL] (all $P < 0.05$), and TLR4 (0.81 $\pm$ 0.03 vs 1.44 $\pm$ 0.06), NF- κB p65 (0.81 $\pm$ 0.06 vs 1.18 $\pm$ 0.03) expression (all $P < 0.001$).

Conclusion BMSC-exo inhibits TLR4/NF- κB signaling pathway to alleviate EMS in mice.

【Key words】 Bone marrow mesenchymal stem cell; Exosomes; Endometriosis; Mice; Inflammation; TLR4; NF- κB

子宫内膜异位症 (endometriosis, EMS) 是发生于生育期的常见妇科疾病^[1], 是指子宫内膜 (内含腺体和间质) 生长在子宫腔以外部分, 进而引发反复出血, 继而引发疼痛、不孕及结节或包块的雌激素依赖性疾病^[2-3]。EMS 的发病因素复杂, 包括遗传、免疫、环境、饮食以及肠道微生物等因素^[4]。目前 EMS 的主要治疗方法包括激素类药物治疗和手术治疗, 其中激素类药物长期使用会增加不孕的风险, 手术治疗后仍然存在疾病复发^[5-6], 因此, 需

探究新型的 EMS 治疗药物或方法。慢性炎症是 EMS 的主要病理特征之一, 患者体内白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等炎症因子具有较高水平, 研究指出调控炎症可有效缓解 EMS 的发生发展^[7]。间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC) 具有免疫抑制和组织修复^[8], 研究指出, MSC 疗法可作为炎症相关疾病治疗的新策略^[9]。MSC 来源的外泌体 (mesenchymal stem cell-derived exosomes,

MSC-exo) 具有与 MSC 相似的遗传物质与功能, Harrell 等^[10] 研究显示 MSC-exo 可作为炎症性疾病的新疗法。Davoodi Asl 等^[11] 研究发现 MSC-exo 可抑制子宫内膜细胞的异常增殖, 并且有望成为 EMS 治疗的新方法, 但是 MSC-exo 是否可通过介导炎症影响 EMS 的发生发展尚不清楚, 本文探究骨髓 MSC-exo (bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes, BMSC-exo) 对子宫内膜细胞以及 EMS 模型小鼠的影响及机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

30 只雌性 BALB/c 小鼠, 6~8 周龄, 体质量约 20 g, 购自江苏华创信诺医药科技有限公司 [动物质量合格证号: B202405150523; 动物生产许可证号 SCXK (苏) 2020-0009]; 饲养条件为温度 (25 ± 2) °C、湿度为 (55 ± 2) %, 12 h 光暗循环。本研究通过济宁医学院附属医院医学科学研究伦理委员会审批 (2025-12-B004)。

1.1.2 细胞与试剂

小鼠子宫内膜上皮细胞 (endometrial epithelial cells, mEECs) (货号 FHMIC2054, 湖南丰晖生物科技有限公司); HiScript II Q RT SuperMix for qPCR (货号 R222)、Taq Pro Universal SYBR qPCR Master Mix (货号 Q712) (南京诺唯赞生物科技有限公司); CD105-APC (货号 323207)、CD73-APC (货号 127209) 和 CD90-APC (货号 389805)、CD34-APC (货号 378605)、CD45-APC (货号 304011) 以及 Isotype (货号 304001) 流式抗体 (美国 Biolegend 公司); 4',6-二脒基-2-苯基吲哚 (4',6-Diamidino-2-phenylindole, DAPI) 染料 (货号 C1002) 和 EdU-488 细胞增殖检测试剂盒 (货号 C0071S) (上海碧云天生物技术有限公司); IL-1 β (货号 ZWL-R00435)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) (货号 ZWL-M00042)、趋化因子配体 2 (C-C motif ligand 2, Ccl-2) (货号 ZWL-M00030) 和 TNF- α (货号 ZWL-M02292) 酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒 (南京泽维尔生物科技有限公司); TSG101 (货号 ET1701-59)、CD63 (货号 HA722731)、CD9 (货号 HA721533)、Calnexin (货号 ET1611-86)、TLR4 (货号 RT1666)、NF- κ B (货号 HAK21141)、GAPDH (货号 R1210-1) 和山羊抗鼠 IgG (货号 HA1006), (杭州华安生物科

技有限公司); DiR 染料 (货号 40757ES25, 上海翌圣生物科技有限公司)。

1.1.3 主要仪器

流式细胞仪 (型号 BD C6plus, 美国 BD 公司); 纳米颗粒跟踪分析仪 (型号 ViewSizer 3000, 日本 Particle Metrix 公司); 超速离心机 (型号 Optima MAX-XP, 美国 Beckman 公司); 小动物活体成像仪 (型号: IVIS Lumina Series III, 美国 PerkinElmer 公司); 透射电镜 (型号 HT7700, 日本日立公司); 倒置相差显微镜 (型号 AxioObserver5, 德国蔡司公司); 荧光显微镜 (型号 Thunderimage, 德国徕卡公司)。

1.2 方法

1.2.1 BMSC 的提取与鉴定

解剖取 4 只 BALB/c 小鼠股骨和胫骨, 使用无菌的剪刀剪开股骨和胫骨两端, 使用无菌生理盐水冲洗出股骨和胫骨髓, 裂解红细胞后, 收集细胞, 并接种于培养皿, 每 2 天更换 1 次培养基, 收集贴壁的梭形细胞即为 BMSC。收集 1×10^5 个 BMSC 于流式管中, 并用 200 μ L 磷酸盐缓冲溶液 (phosphate buffer saline, PBS) 重悬, 分别加入 2 μ L CD105-APC 或 CD73-APC 或 CD90-APC 或 CD34-APC 或 CD45-APC 或 Isotype 流式抗体, 4 °C 孵育 15 min, PBS 清洗后, 用 500 μ L PBS 重悬, 使用流式细胞仪鉴定 CD105、CD73、CD90、CD34 和 CD45 表达。

1.2.2 BMSC-exo 的提取与鉴定

收集 BMSC 的培养上清, 过 0.22 μ m 滤膜后, 滤液 $10\,000 \times g$ 离心 1 h; 收集上清液, $100\,000 \times g$ 离心 1 h, 白色沉淀即为 BMSC-exo。取 20 μ L BMSC-exo 滴加至透射电镜铜网, 滴加 1 滴磷钨酸染色 10 min, 红外灯下烘烤 10 min, 于透射电镜观察 BMSC-exo 的结构, 实验重复 3 次; BMSC-exo 稀释 10 倍后使用纳米颗粒跟踪分析仪检测 BMSC-exo 粒径分布, 实验重复 3 次。

1.2.3 mEECs 培养与分组

mEECs 培养于含 10 % 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 的 DMEM 培养基中, 细胞生长至汇合度达 80 % 时进行细胞传代。

mEECs 分为 PBS 组和 BMSC-exo 组, 根据参考文献 [12], BMSC-exo 组 mEECs 与 25 μ g/mL BMSC-exo 共孵育 24 h, PBS 组 mEECs 则与等体积的 PBS 共孵育 24 h。

1.2.4 CCK-8 检测细胞增殖能力

将 mEECs 稀释至 2×10^4 个 /mL, 96 孔板每

孔接种 100 μ L 的 mEECs 稀释液,细胞贴壁后, BMSC-exo 组 mEECs 更换为含 25 μ g/mL 的新鲜培养基, PBS 组则加入等体积 PBS 溶液, 每组 3 个复孔, 培养 0、24、48、72 h, 取出 96 孔板, 每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液, 37 $^{\circ}$ C 孵育 4 h, 酶标仪检测 450 nm 处各孔的吸光度 (*A*) 值, 实验重复 3 次。

1. 2. 5 EdU 法检测细胞增殖能力

mEECs 接种至 6 孔板中, 细胞生长至汇合度达 60 % 时, BMSC-exo 组 mEECs 与 25 μ g/mL BMSC-exo 共孵育 24 h, PBS 组 mEECs 与等体积 PBS 共孵育 24 h, 每组 3 个复孔。然后将 6 孔板内培养基更换为含 10 μ mol/L 的 Edu 溶液染色 2 h, 然后使用 4 % 多聚甲醛固定 10 min, PBS 清洗后, 使用 DAPI 试剂染细胞核, 显微镜下观察 Edu 阳性细胞数, 实验重复 3 次。细胞增殖率 (Edu 阳性率) = (Edu 阳性细胞数 / 总细胞数) $\times$ 100 %。

1. 2. 6 细胞划痕检测细胞迁移能力

mEECs 接种至 96 孔板中, 每组 3 个复孔, 细胞生长至汇合度达 80 % 时, 在 96 孔板底部进行划痕, 并拍照记录, BMSC-exo 组 mEECs 更换为含 25 μ g/mL 的新鲜培养基, PBS 组加入等体积的 PBS, 96 孔板在细胞培养箱中培养 24 h 后, 取出 96 孔板并拍照, 实验重复 3 次。细胞划痕愈合率 = ($S_{0h} - S_{24h}$) / $S_{0h} \times 100$ %。 S_{0h} 为 0 h 时划痕面积, S_{24h} 为培养 24 h 时划痕面积。

1. 2. 7 Transwell 法检测细胞迁移能力

将 mEECs 用不含 FBS 的 DMEM 培养基稀释至 5×10^4 个/mL, Transwell 小室每孔接种 100 μ L 的 mEECs 稀释液, BMSC-exo 组的 Transwell 中加入 25 μ g/mL 的 BMSC-exo, PBS 组加入等体积的 PBS, 每组 3 个复孔, Transwell 置于 24 孔板中, 每孔加入 600 μ L 含 10 % FBS 的 DMEM 培养基, 置于培养箱中孵育, 24 h 后取出 Transwell, 底部清洗并固定后, 结晶紫染色 10 min, 清洗并晾干后, 显微镜下观察并拍照, 比较细胞迁移数, 实验重复 3 次。

1. 2. 8 RT-qPCR 检测细胞炎症因子 *IL-1 β* 、*IL-6*、*Ccl-2* 和 *TNF- α* 表达

使用 Trizol 试剂提取 PBS 组和 BMSC-exo 组 mEECs 总 mRNA, 所得 mRNA 根据 HiScript II Q RT SuperMix for qPCR 试剂盒逆转录合成 cDNA, 根据 Taq Pro Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒进行 qPCR 反应, 反应程序为: 95 $^{\circ}$ C 30 s; 95 $^{\circ}$ C 10 s, 60 $^{\circ}$ C 20 s, 40 次循环; 反应结束后记录各孔 C_T

值, 每组 3 个复孔, 实验重复 3 次。使用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法计算 *IL-1 β* 、*IL-6*、*Ccl-2* 和 *TNF- α* 的相对表达量, 引物序列见表 1。

表 1 引物序列信息

基因	引物序列 (5' $\rightarrow$ 3')	预期扩增长度
<i>IL-1β</i>	上游 GCAACTGTTCTCTGAAGTCAACT	89 bp
	下游 ATCTTTTGGGGTCCGTCAGT	
<i>IL-6</i>	上游 TACCACTCCCAACAGACCTG	135 bp
	下游 CAAGTCATCATCGTTGTTCA	
<i>Ccl-2</i>	上游 GCTACAAGAGGATCACCAGCAG	146 bp
	下游 GTCTGGACCCATTCTCTTGG	
<i>TNF-α</i>	上游 AGGCACTCCCCAAAAGATG	145 bp
	下游 CAAAGCCATCAGTGACCTAATCA	
<i>GAPDH</i>	上游 TCTCTGTCCTTGAACATAGTCT	142 bp
	下游 CAAAGCCATCAGTGACCTAATCA	

1. 2. 9 EMS 小鼠造模、分组及给药

根据参考文献 [13], 采用异体移植法建立 BALB/c 小鼠 EMS 模型, 5 只动情期雌性小鼠腹腔注射 1 % 戊巴比妥钠麻醉后, 取出小鼠子宫作为供体子宫, 将供体子宫置于无菌生理盐水中, 并剪成 5 mm³ 大小的组织块。21 只 BALB/c 小鼠分为 3 组 ($n = 7$), 设为假手术组、EMS 组和 BMSC-exo 组, EMS 组和 BMSC-exo 组小鼠麻醉并且腹侧中线切 5 mm 的切口, 将上述供体子宫组织块植入肠系膜动脉旁, 距离肠道约 0.5 mm 处, 并缝合皮肤, 假手术组小鼠假手术不移植, 约 7 d 后形成 EMS 病灶。BMSC-exo 组小鼠以 3 μ g/g 的剂量每周尾静脉注射 1 次 BMSC-exo^[14], 假手术组和 EMS 组尾静脉注射等体积的生理盐水, 连续治疗 4 周后, 解剖取小鼠的 EMS 病灶组织并称重。

1. 2. 10 活体成像观察 BMSC-exo 体内分布

使用无菌的 PBS 溶液稀释 BMSC-exo 至 1 μ g/ μ L, 使用无菌 PBS 溶液将 DiR 染料稀释至 200 μ mol/L, 将 BMSC-exo 稀释液与 DiR 染料稀释液按 1 : 1 的比例混合, 室温孵育 60 min, 将混合液 $100\,000 \times g$ 离心 1 h, 收集白色沉淀, 使用无菌 PBS 重悬, 3 只 EMS 模型小鼠以 3 μ g/g 的剂量静脉注射 DiR 标记的 BMSC-exo, 12 h 后使用小动物活体成像仪观察 BMSC-exo 在小鼠体内的分布。

1. 2. 11 苏木精 - 伊红染色法 (hematoxylin-eosin, HE) 染色

解剖取假手术组小鼠的子宫内膜组织, EMS

组和 BMSC-exo 组小鼠的 EMS 病灶组织,并固定于 4 % 的多聚甲醛中 12 h,包埋于石蜡中,并使用石蜡切片机切片,所得切片依次浸入二甲苯 I 10 min; 二甲苯 II 10 min; 无水乙醇 I 5 min; 无水乙醇 II 5 min; 95 % 乙醇 5 min; 90 % 乙醇 5 min; 80 % 乙醇 5 min; 70 % 乙醇 5 min; 水洗 1 次。切片依次 HE 染色 10 min,脱水后,使用中性树脂封片,显微镜下观察并拍照,实验重复 3 次。

1.2.12 ELISA 检测血清炎症因子和细胞上清 IL-1 β 、IL-6、Ccl-2 和 TNF- α 浓度

给药结束后,各组 BALB/c 小鼠腹主动脉取血,3 000 $\times$ g 离心 15 min,分离出 200 μ L 血清。取 PBS 组和 BMSC-exo 组细胞上清液。所取的血清和细胞上清液用于检测炎症因子 IL-1 β 、IL-6、Ccl-2 和 TNF- α 浓度。主要步骤为:样本孔加入 100 μ L 待测小鼠血清或细胞上清液,37 $^{\circ}$ C 孵育 90 min,甩尽孔内液体,每孔加入生物素化抗体工作液 100 μ L,37 $^{\circ}$ C 温育 1 h,甩干后,每孔加结合物工作液 100 μ L,37 $^{\circ}$ C 温育 30 min,每孔加底物溶液 90 μ L 显色 15 min,每孔加终止液 50 μ L,即用酶标仪测定在 450 nm 波长的吸光度 (A) 值,实验重复 3 次。

1.2.13 Western blot 检测 BMSC-exo 中 TSG101、CD63、CD9 和 Calnexin 蛋白表达以及细胞和小鼠组织 TLR4 和 NF- κ B 表达

RIPA 蛋白裂解液提取 BMSC-exo 总蛋白、PBS 组和 BMSC-exo 组 mEEC 总蛋白,以及假手术组、EMS 组和 BMSC-exo 组小鼠子宫内膜组织总蛋白,各组蛋白取 10 μ g 进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,然后将分离的蛋白湿法转至 PVDF 膜,PVDF 膜与 TSG101 (1:1 000 稀释)、CD63 (1:1 000 稀释)、CD9 (1:1 000 稀释)、Calnexin (1:1 000 稀释)、TLR4 (1:1 000 稀释)、NF- κ B (1:1 000 稀释) 和 GAPDH (1:2 000 稀释) 抗体 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,洗膜后与山羊抗鼠 IgG (1:2 000 稀释) 室温孵育 1 h,洗膜后,使用 ECL 发光液曝光,拍照并比较 TLR4 和

NF- κ B 相对表达量,实验重复 3 次。

1.3 统计学分析方法

采用 GraphPad Prism 10.0 软件进行统计学分析,吸光度 (A) 值、细胞增殖率、迁移数、侵袭数、IL-1 β 、IL-6、Ccl-2 和 TNF- α 相对表达量及血清浓度、TLR4 和 NF- κ B 表达量均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。细胞培养 24、48、72 h 后两组间吸光度 (A) 值采用两因素重复测量方差分析;病灶重量差异使用 Wilcoxon Signed Rank test 法;对于细胞增殖率、迁移和侵袭数、IL-1 β 、IL-6、Ccl-2 和 TNF- α 相对表达量及血清浓度、TLR4 和 NF- κ B 表达量,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,组间两两比较采用 Dunnett- t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BMSC 鉴定结果

显微镜下观察显示,提取的 BMSC 形态呈长梭形(图 1)。流式细胞术检测结果显示,提取的 BMSC 表达 MSC 标志物 CD105、CD73 和 CD90,不表达阴性标志物 CD34 和 CD45(图 2),说明 BMSC 提取成功。

2.2 BMSC-exo 鉴定结果

外泌体鉴定结果显示,BMSC-exo 具有双层膜

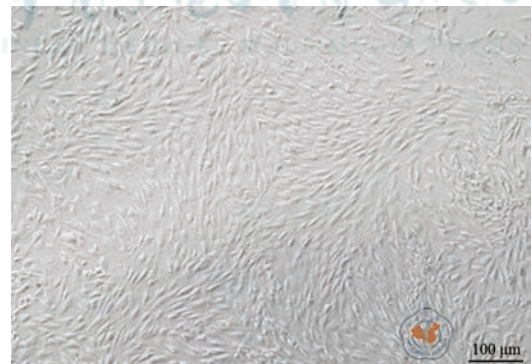
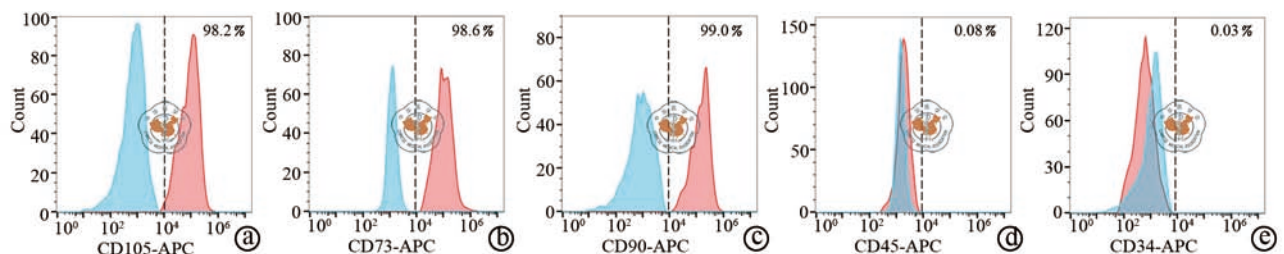


图 1 倒置相差显微镜下观察 BMSC ($\times 100$)



注: a~e 图分别为 CD105、CD73、CD90、CD45 和 CD34 表达

图 2 流式细胞术检测 BMSC

结构,“杯托”样,粒径在 100~200 nm 之间,并且表达外泌体标志物 TSG101、CD63、CD9,不表达内质网蛋白 Calnexin,说明 BMSC-exo 提取成功。(图 3)

2.3 BMSC-exo 抑制 mEECs 增殖和迁移能力

CCK-8 检测显示,与 PBS 组比较, BMSC-exo 组 mEECs 的吸光度(A)值(24 h: 0.76 ± 0.40 比 0.91 ± 0.03 , $P = 0.435$; 48 h: 0.99 ± 0.04 比 1.26 ± 0.08 , $P = 0.004$; 72 h: 1.06 ± 0.05 比 1.60 ± 0.14 , $P = 0.001$)降低; EdU 实验显示,与 PBS 组比较, BMSC-exo 组 mEECs 增殖率降低 [$(41.00 \pm 3.61)\%$ 比 $(59.67 \pm 2.52)\%$, $t = 7.361$, $P = 0.002$]; 细胞划痕结果显示,与 PBS 组比较, BMSC-exo 组 mEEC 划痕愈合率降低 [$(22.00 \pm 3.00)\%$ 比 $(65.33 \pm 5.51)\%$, $t = 11.970$, $P = 0.001$]。Transwell 结果显示,与 PBS 组比较,

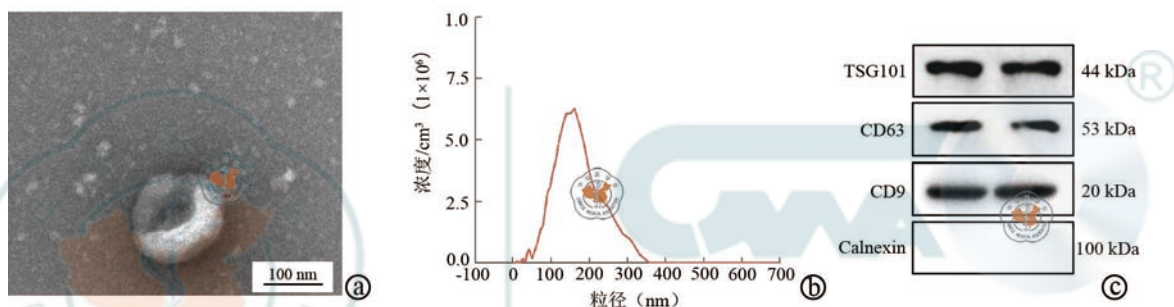
BMSC-exo 组 mEECs 迁移数降低 [(82.00 ± 19.31) 比 (145.00 ± 9.85) 个, $t = 5.030$, $P = 0.015$]。(图 4)

2.4 BMSC-exo 抑制 mEECs *IL-1 β* 、*IL-6*、*Ccl-2* 和 *TNF- α* 表达

qRT-PCR 检测结果显示,与 PBS 组比较, BMSC-exo 组 mEECs *IL-1 β* 、*IL-6*、*Ccl-2* 和 *TNF- α* 表达下调 (P 均 < 0.05)。ELISA 检测结果显示,与 PBS 组比较, BMSC-exo 组 mEECs *IL-1 β* 、*IL-6*、*Ccl-2* 和 *TNF- α* 浓度降低 (P 均 < 0.05)。(表 2~3)

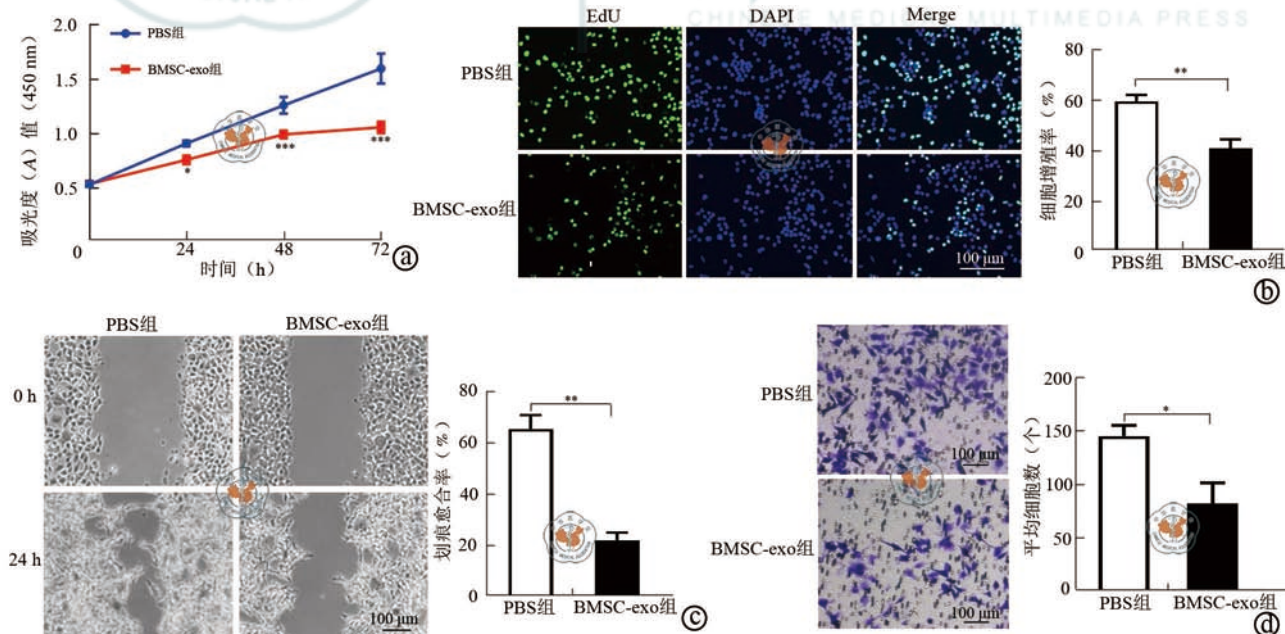
2.5 BMSC-exo 抑制 mEECs TLR4 和 NF- κ B 表达

Western blot 检测显示,与 PBS 组比较, BMSC-exo 组 mEECs 中 TLR4 表达 (0.24 ± 0.04 比 0.75 ± 0.06 , $t = 12.021$, $P = 0.002$), NF- κ B p65 表达 (0.26 ± 0.05 比 0.73 ± 0.04 , $t = 12.324$, $P = 0.001$)降低。(图 5)



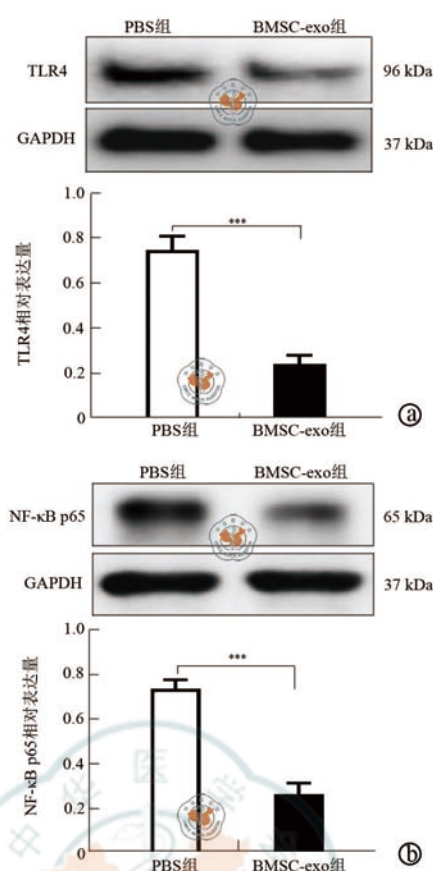
注: a 图为透射电镜观察 BMSC-exo 结构 ($\times 10\,000$); b 图为 NTA 检测 BMSC-exo 粒径结果; c 图为 Western blot 鉴定 BMSC-exo 标志蛋白

图 3 BMSC-exo 鉴定结果



注: a 图为 CCK8 法检测 mEECs 增殖能力; b 图为荧光显微镜下观察各组细胞增殖率(绿色为 EdU 染色,蓝色为 DAPI 染色, $\times 200$)及定量比较; c 图为倒置相差显微镜下观察各组细胞划痕愈合率($\times 200$)及定量比较; d 图为光学显微镜下观察各组细胞迁移数(结晶紫染色, $\times 200$)及定量比较; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; $n = 3$

图 4 BMSC-exo 对 mEECs 增殖和迁移能力的影响



注: a 图为各组细胞 TLR4 相对表达量比较; b 图为各组细胞 NF-κB p65 相对表达量比较; *** $P < 0.001$; $n = 3$

图 5 BMSC-exo 对 mEECs 的 TLR4 和 NF-κB p65 表达的影响

表 2 BMSC-exo 对 mEECs IL-1β、IL-6、Ccl-2 和 TNF-α mRNA 相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

分组	实验重复次数	IL-1β	IL-6	Ccl-2	TNF-α
PBS 组	3	1.00 ± 0.01	0.99 ± 0.01	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.06
BMSC-exo 组	3	0.18 ± 0.05	0.30 ± 0.09	0.27 ± 0.08	0.33 ± 0.08
<i>t</i> 值		26.371	14.062	14.800	10.792
<i>P</i> 值		0.001	0.004	0.003	0.006

表 3 BMSC-exo 对 mEECs 上清 IL-1β、IL-6、Ccl-2 和 TNF-α 分泌的影响 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

分组	实验重复次数	IL-1β	IL-6	Ccl-2	TNF-α
PBS 组	3	1 507.00 ± 131.10	1 127.00 ± 75.59	1 298.00 ± 52.52	1 470.00 ± 165.90
BMSC-exo 组	3	1 083.00 ± 67.68	878.70 ± 19.50	1 046.00 ± 56.72	1 069.00 ± 114.80
<i>t</i> 值		4.970	5.517	5.646	3.446
<i>P</i> 值		0.025	0.015	0.012	0.032

表 4 各组小鼠血清 IL-1β、IL-6、Ccl-2 和 TNF-α 浓度比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

分组	实验重复次数	IL-1β	IL-6	Ccl-2	TNF-α
假手术组	3	1 083.00 ± 125.80	1 505.00 ± 126.20	939.30 ± 56.45	344.00 ± 41.33
EMS 组	3	2 034.00 ± 165.50 ^a	3 292.00 ± 232.30 ^a	1 300.00 ± 64.50 ^a	545.00 ± 34.70 ^a
BMSC-exo 组	3	1 488.00 ± 202.50 ^b	2 543.00 ± 317.20 ^b	1 058.00 ± 57.95 ^b	415.00 ± 13.00 ^b
<i>F</i> 值		24.333	42.491	28.454	30.350
<i>P</i> 值		0.001	0.000 3	0.000 9	0.000 7

注: 与假手术组比较, ^a $P < 0.05$; 与 EMS 组比较, ^b $P < 0.05$

2.6 BMSC-exo 分布于小鼠 EMS 病灶部位

小鼠活体成像观察结果显示, DiR 标记的 BMSC-exo 在 EMS 小鼠体内主要分布于病灶部位, 显示 BMSC-exo 聚集于 EMS 病灶。(图 6)

2.7 BMSC-exo 缓解小鼠 EMS

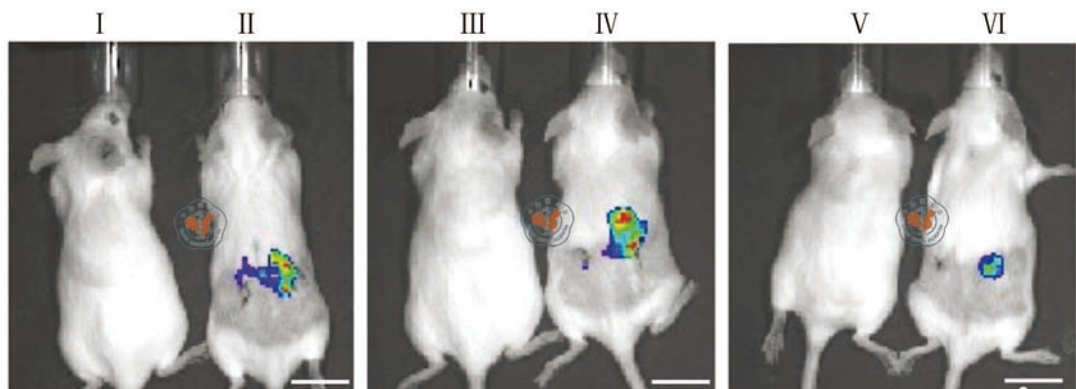
HE 染色结果显示, 假手术组小鼠子宫内膜上皮细胞完整, 子宫内膜排列整齐, 腺腔小, 间质细胞大小均匀; EMS 模型组小鼠子宫内膜组织增厚, 子宫内腺体坏死, 出现炎症细胞浸润, 间质细胞排列紊乱; BMSC-exo 组小鼠子宫内膜组织坏死缓解, 病理症状减轻(图 7)。与 EMS 组小鼠比较, BMSC-exo 组小鼠病灶组织重量 [(0.04 ± 0.03) 比 (0.10 ± 0.03)g] 降低, 差异有统计学意义 ($P = 0.016$, 图 8)。

2.8 BMSC-exo 降低 EMS 模型小鼠血清炎症因子 IL-1β、IL-6、Ccl-2 和 TNF-α

ELISA 检测结果显示, 与假手术组比较, EMS 组小鼠血清炎症因子 IL-1β、IL-6、Ccl-2 和 TNF-α 浓度升高 ($P < 0.05$)。与 EMS 组比较, BMSC-exo 组小鼠血清炎症因子 IL-1β、IL-6、Ccl-2 和 TNF-α 浓度降低 ($P < 0.05$)。(表 4)

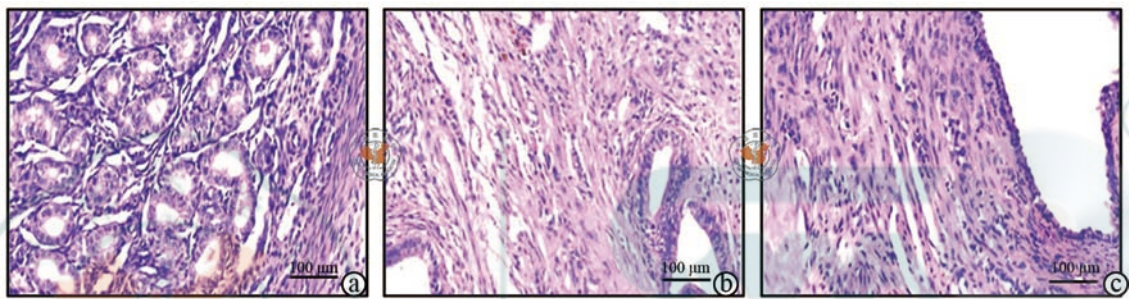
2.9 BMSC-exo 下调 EMS 模型小鼠子宫内膜组织 TLR4 和 NF-κB

Western blot 检测结果显示, 假手术组、EMS 组和 BMSC-exo 组小鼠子宫内膜组织 TLR4 和 NF-κB



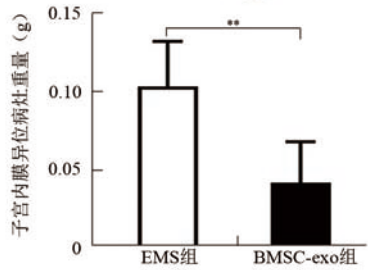
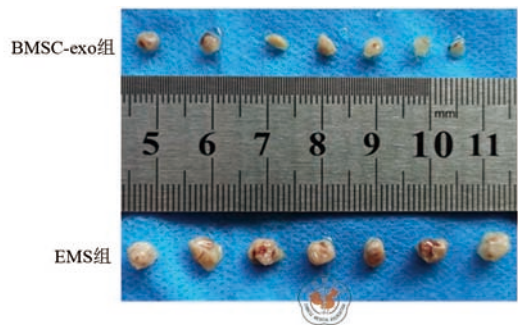
注：I、III、V为不接受DiR标记的BMSC-exo回输的EMS小鼠，作为对照调仪器背景；II、IV、VI为3只接受DiR标记的BMSC-exo回输的EMS小鼠，观察BMSC-exo在病灶分布

图6 BMSC-exo在EMS小鼠体内分布结果



注：a~c分别为假手术组、EMS组、BMSC-exo组；假手术组小鼠子宫内膜上皮细胞完整；EMS模型组小鼠子宫内腺体坏死，出现炎症细胞浸润；BMSC-exo组小鼠子宫内膜组织坏死缓解，病理症状减轻

图7 倒置相差显微镜下观察小鼠子宫内膜组织(HE染色, $\times 200$)



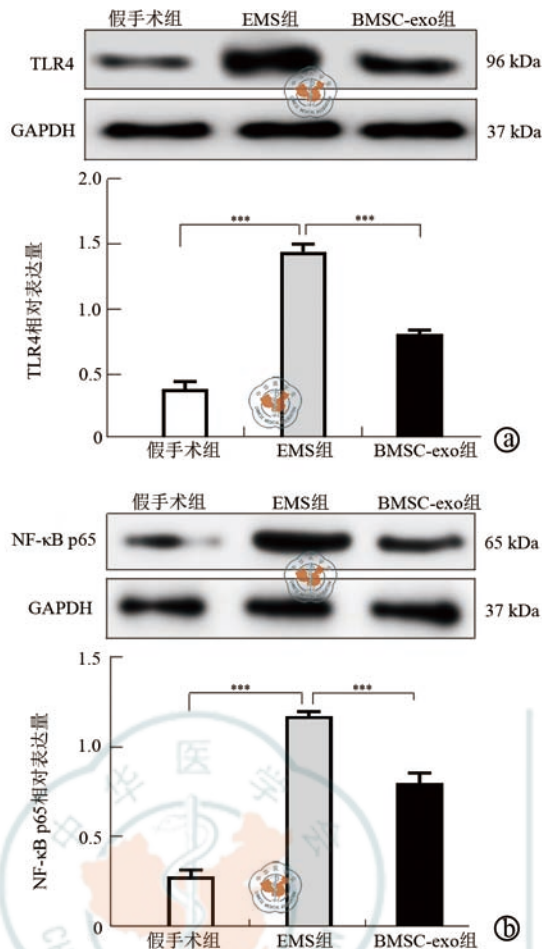
注：** $P < 0.01$, $n = 7$

图8 EMS组和BMSC-exo组小鼠EMS病变组织重量比较

p65 相对表达量差异具有统计学意义 (TLR4: 0.38 ± 0.06 、 1.44 ± 0.06 和 0.81 ± 0.03 ; NF- κ B p65: 0.29 ± 0.04 、 1.18 ± 0.03 和 0.81 ± 0.06 ; $F = 322.300$ 、 359.900 , P 均 < 0.001)。与假手术组比较, EMS 组小鼠子宫内膜组织 TLR4 和 NF- κ B p65 相对表达量升高; 与 EMS 组比较, BMSC-exo 组小鼠子宫内膜组织 TLR4 和 NF- κ B p65 相对表达量降低 (P 均 < 0.001)。(图 9)

3 讨论

MSC-exo 是由 MSC 分泌的胞外纳米级囊泡, 可携带与 MSC 相似的遗传物质, 并且与 MSC 具有相同的生物学功能^[15]。MSC 疗法是一种被广泛关注的干细胞疗法, 但是 MSC 本身为活细胞, 体积较大, 免疫原性较高, 回输 MSC 至患者体内不仅容易引起机体免疫反应, 而且容易出现血管栓塞的风险^[16-17]。由于 MSC-exo 与 MSC 具有相似的功能, 且容易制备和运输, 免疫原性低, 体积小,



注: a 图为各组细胞 TLR4 相对表达量比较; b 图为各组细胞 NF-κB p65 相对表达量比较; *** $P < 0.001$, $n = 3$

图9 各组小鼠子宫内膜组织 TLR4 和 NF-κB 相对表达量比较

被认为是 MSC 疗法的替代疗法,并且有研究指出 MSC-exo 的治疗具有用于损伤、炎症、免疫以及自噬等相关疾病治疗的潜力^[18]。

EMS 是一类与慢性炎症密切相关的妇科疾病,研究指出,EMS 患者的血清、腹膜液和子宫内膜均存在炎症因子的大量积累,并且炎症因子的刺激诱导子宫内膜异位细胞的异常增殖,进而促进 EMS 的病理进程^[19-20]。MSC-exo 可调控体内炎症反应,Wang 等^[21]研究发现, MSC-exo 可抑制炎症小体和炎症因子治疗糖尿病肾病。本文主要探究 MSC-exo 对 EMS 及炎症的影响。首先,本研究提取并鉴定小鼠 BMSC-exo,然后将 BMSC-exo 与小鼠子宫内膜细胞 mEECs 共孵育,并发现 BMSC-exo 可抑制 mEECs 的增殖和迁移能力, mEECs 内炎症因子 *IL-1β*、*IL-6*、*Ccl-2* 和 *TNF-α* mRNA 表达均下调。研究指出,EMS 病灶周围出现 *IL-1β*、*IL-6*、

Ccl-2 和 *TNF-α* 等炎症因子聚积, *Ccl-2* 由皮肤角质形成细胞产生,通过 *TNF-α* 和干扰素 γ 协同放大,炎症介导组织慢性纤维化、组织粘连等,引起机体月经疼痛或不孕等^[22-23]。上述结果提示 BMSC-exo 或可抑制炎症因子的生成而影响 EMS 的发生发展。

TLR4/NF-κB 信号通路是调控趋化因子、炎症因子和黏附因子的经典免疫相关信号通路^[24]。Ahmed 等^[25]研究指出,抑制 TLR4/NF-κB/MAPK 信号通路可缓解脂多糖诱导的炎症。Lu 等^[26]研究发现,抑制 TLR4/NF-κB 信号通路可减少 M1 型巨噬细胞极化进而预防 EMS 术后复发。本研究发现,与 BMSC-exo 共孵育后 mEECs TLR4 表达及 NF-κB p65 表达均下调,提示 BMSC-exo 可抑制 TLR4/NF-κB 信号通路。

本研究进一步在小鼠体内验证,首先通过异体移植的方法构建 EMS 小鼠模型,然后给予 BMSC-exo 治疗,并且发现治疗 4 周后, BMSC-exo 组小鼠子宫内膜损伤较 EMS 模型组有显著缓解,EMS 病灶减小,体内炎症因子 *IL-1β*、*IL-6*、*Ccl-2* 和 *TNF-α* 浓度均降低,提示 BMSC-exo 可治疗 EMS 模型小鼠。并且 BMSC-exo 组子宫内膜组织 TLR4 表达及 NF-κB p65 表达均下调,提示 BMSC-exo 可在体内抑制 TLR4/NF-κB 信号通路。

综上所述,本研究发现 BMSC-exo 可在体外抑制 mEECs 的增殖和迁移能力,并且可在小鼠体内治疗 EMS 并抑制体内炎症因子及 TLR4/NF-κB 信号通路。但本研究的不足之处在于并未深入探究是 BMSC-exo 中的何种遗传物质发挥调控功能,但有研究指出, BMSC-exo 内含 miRNA 可直接靶向结合于 TLR4, Li 等^[27]研究发现, BMSC-exo 内含的 miR-26a 可靶向抑制 TLR4 进而抑制 NF-κB 信号轴; Sun 等^[28]研究指出, BMSC-exo miR-182-5p 可靶向抑制 TLR4 而抑制小鼠体内炎症;所以笔者推测 BMSC-exo 内含的多种 miRNA 可能通过调控 TLR4 表达而治疗 EMS,在后续的研究中本团队会结合基因测序技术挖掘 BMSC-exo 中具有治疗功能的 miRNA。另外,在调控机制上, MSC-exo 可抑制 PI3K/AKT 信号通路的激活^[29],而 PI3K/AKT 信号通路可介导 EMS 患者体内的炎症反应^[30],因此笔者推测 BMSC-exo 也可能通过调控 PI3K/AKT 信号通路影响 EMS 的发生发展,在后续的研究中,本团队会基于 PI3K/AKT 信号通路进一步探究 BMSC-exo 的调控机制。

参 考 文 献

- 1 Bogani G, Chiappa V, Raspagliesi F, et al. Endometriosis and cancer risk[J]. *Eur J Cancer Prev*, 2025, 34(3):276-278.
- 2 Elizur SE, Mostafa J, Berkowitz E, et al. Endometriosis and infertility: pathophysiology, treatment strategies, and reproductive outcomes[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2025, 312(4):1037-1048.
- 3 Causa Andrieu P, Stewart K, Chun R, et al. Endometriosis: a journey from infertility to fertility[J]. *Abdom Radiol (NY)*, 2025, 50(11):5405-5421.
- 4 Mariadas H, Chen JH, Chen KH. The molecular and cellular mechanisms of endometriosis: from basic pathophysiology to clinical implications[J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(6):2458-2473.
- 5 Oliveira IJ, Pinto PV, Bernardes J. Noninvasive diagnosis of endometriosis in adolescents and young female adults: a systematic review[J]. *J Pediatr Adolesc Gynecol*, 2025, 38(2):124-138.
- 6 Shi J, Xu Q, Yu S, et al. Perturbations of the endometrial immune microenvironment in endometriosis and adenomyosis: their impact on reproduction and pregnancy[J]. *Semin Immunopathol*, 2025, 47(1):16.
- 7 Park W, Lim W, Kim M, et al. Female reproductive disease, endometriosis: From inflammation to infertility[J]. *Mol Cells*, 2025, 48(1):100164.
- 8 Varela-Pombo C, López-Viñas B, Tustain SQ, et al. Therapeutic application of mesenchymal stem cells in endometriosis[J]. *Life Sci*, 2025, 15(79):123851.
- 9 Abdolmohammadi K, Mahmoudi T, Alimohammadi M, et al. Mesenchymal stem cell-based therapy as a new therapeutic approach for acute inflammation[J]. *Life Sci*, 2023, 13(12):121206.
- 10 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[J]. *Cells*, 2019, 8(12):1605.
- 11 Davoodi Asl F, Sahraei SS, Kalhor N, et al. Promising effects of exosomes from menstrual blood-derived mesenchymal stem cells on endometriosis[J]. *Reprod Biol*, 2023, 23(3):100788.
- 12 Yao Y, Chen R, Wang G, et al. Exosomes derived from mesenchymal stem cells reverse EMT via TGF- β 1/Smad pathway and promote repair of damaged endometrium[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1):225.
- 13 Liu M, Wang X, Zhu J. PDLIM3 knockdown promotes ferroptosis in endometriosis progression via inducing Gli1 degradation and blocking Hedgehog signaling pathway[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2024, 41(8):2117-2128.
- 14 Zong R, Zheng Y, Yan Y, et al. Mesenchymal stem cells-derived exosomes alleviate liver fibrosis by targeting Hedgehog/SMO signaling[J]. *Hepatol Int*, 2024, 18(6):1781-1791.
- 15 Li H, Bai L. Advances in mesenchymal stem cell and exosome-based therapies for aging and age-related diseases[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2025, 16(1):401.
- 16 Gopalarethnam J, Nair AP, Iyer M, et al. Advantages of mesenchymal stem cell over the other stem cells[J]. *Acta Histochem*, 2023, 125(4):152041.
- 17 Mei R, Wan Z, Yang C, et al. Advances and clinical challenges of mesenchymal stem cell therapy[J]. *Front Immunol*, 2024, 15:142-154.
- 18 Dairov A, Skenova A, Alimbek S, et al. Psoriasis: the versatility of mesenchymal stem cell and exosome therapies[J]. *Biomolecules*, 2024, 14(11):1351.
- 19 Chen S, Jiang Y, Chai X, et al. Uterine-derived exosomes induce the M2 polarization of macrophages via miR-210-3p/ATP5D to promote endometriosis progression[J]. *Life Sci*, 2025, 363:123383-123393.
- 20 Liu T, Liu M, Zheng C, et al. Exosomal lncRNA CHL1-AS1 derived from peritoneal macrophages promotes the progression of endometriosis via the miR-610/MDM2 Axis[J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16:5451-5464.
- 21 Wang Y, Liu J, Wang H, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes ameliorate diabetic kidney disease through the NLRP3 signaling pathway[J]. *Stem Cells*, 2023, 41(4):368-383.
- 22 Yu J, Berga SL, Zou E, et al. Neurotrophins and their receptors, novel therapeutic targets for pelvic pain in endometriosis, are coordinately regulated by IL-1 β via the JNK signaling pathway[J]. *Am J Pathol*, 2023, 193(8):1046-1058.
- 23 Rostami S, Alyasin A, Saedi M, et al. Astaxanthin ameliorates inflammation, oxidative stress, and reproductive outcomes in endometriosis patients undergoing assisted reproduction: a randomized, triple-blind placebo-controlled clinical trial[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14:1144323.
- 24 Li Y, Meng X, Fu X, et al. Bushen wenyang huayu decoction targets TLR4/NF- κ B mediated autophagy to treat endometriosis effectively[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022:4417-4437.
- 25 Ahmed M, Riaz U, Lv H, et al. Nicotinamide mononucleotide restores NAD $^{+}$ levels to alleviate LPS-induced inflammation via the TLR4/NF- κ B/MAPK signaling pathway in mice granulosa cells[J]. *Antioxidants*, 2024, 14(1):39.
- 26 Lu L, Zeng W, Wang J, et al. Mechanisms of neiyiting decoction in preventing postoperative recurrence of endometriosis by inhibiting macrophage M1 polarization through the TREM1/TLR4/NF- κ B signaling pathway[J]. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2025, 56(2):371-381.
- 27 Li Q, Huang P, Chen W, et al. Mechanism of bone marrow mesenchymal stem cells secreting miR-26a exosomes affecting high glucose-induced skin fibroblasts function by regulating TLR4/NF- κ B signaling[J]. *Inflamm Res*, 2021, 70(7):811-821.
- 28 Sun C, Li W, Li Y, et al. MiR-182-5p mediated by exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cell attenuates inflammatory responses by targeting TLR4 in a mouse model of myocardial infarction[J]. *Immune Netw*, 2022, 22(6):e49-e63.
- 29 Li N, Zhao L, Geng X, et al. Stimulation by exosomes from hypoxia-preconditioned hair follicle mesenchymal stem cells facilitates mitophagy by inhibiting the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway to alleviate ulcerative colitis[J]. *Theranostics*, 2024, 14(11):4278-4296.
- 30 An M, Fu X, Meng X, et al. PI3K/AKT signaling pathway associates with pyroptosis and inflammation in patients with endometriosis[J]. *J Reprod Immunol*, 2024, 162:104213.

(收稿日期: 2026-01-19)

(本文编辑: 蔡晓珍)

姜海珍, 江煜焱, 张丹, 等. 骨髓间充质干细胞外泌体调控 TLR4/NF- κ B 信号通路缓解小鼠子宫内膜异位症研究 [J/OL]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2026, 16 (3):140-149.