

· 基础研究 ·

健脾补肾、清肠化湿方对骨髓间充质干细胞增殖迁移的影响

朱磊^{1,2} 沈洪¹ 刘丽¹ 顾培青¹ 成家飞¹ 张露¹

摘要 **目的** 观察健脾补肾、清肠化湿方对骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)增殖迁移的影响。**方法** 贴壁筛选法体外分离培养 BMSCs, 制备细胞悬液, 空白对照组不予任何药物干预, 健脾补肾、清肠化湿方低、中、高剂量组(简称复方低、中、高剂量组)分别加入含有 0.39、0.78、1.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 复方共同孵育。采用 CCK-8 法检测 BMSCs 增殖能力; 采用 Transwell 法检测 BMSCs 迁移趋化能力。另设复方各剂量组联合细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinase, ERK) 激酶抑制剂 U0126 作为对照, 采用 Western blot 法检测 ERK 和 环磷腺苷效应元件结合蛋白(CAMP responsive element-binding protein, CREB) 蛋白磷酸化水平。**结果** 与空白对照组比较, 复方低、中、高剂量组均能促进 BMSCs 增殖和 BMSCs 迁移数目增多($P < 0.05$), 且复方中、高剂量组促 BMSCs 增殖作用优于复方低剂量组($P < 0.05$)。与空白对照组比较, 复方各剂量组 ERK 和 CREB 蛋白磷酸化水平升高($P < 0.05$), 且能被 U0126 抑制($P < 0.01$); 与复方低剂量组比较, 复方中、高剂量组 ERK 磷酸化水平升高($P < 0.05$)。**结论** 健脾补肾、清肠化湿方能促进 BMSCs 的增殖迁移, 其机制可能与 ERK/CREB 信号通路有关。

关键词 健脾补肾、清肠化湿方; 骨髓间充质干细胞; 增殖; 迁移

Effect of Jianpi Bushen Qingchang Huashi Recipe on Proliferation and Migration of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells ZHU Lei^{1,2}, SHEN Hong¹, LIU Li¹, GU Pei-qing¹, CHENG Jia-fei¹, and ZHANG Lu¹ 1 Department of Gastroenterology, Jiangsu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing (210029); 2 Graduate School, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing (210029)

ABSTRACT **Objective** To observe the effect of Jianpi Bushen Qingchang Huashi Recipe (JBQHR) on proliferation and migration of bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs). **Methods** BMSCs were isolated and cultured *in vitro* with adherence screening method to prepare cell suspension. No drug intervention was given to BMSCs in the vehicle control group. JBQHR at 0.39, 0.78, 1.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ was added in BMSCs of low, mid, and high dose JBQHR groups for co-incubation. Its effect on the proliferation of BMSCs was detected by CCK-8. BMSCs migration and chemotactic ability was detected using Transwell method. Each dose JBQHR combined ERK kinase inhibitor U0126 was set up as control. The phosphorylation of extracellular regulated protein kinase (ERK) and CAMP responsive element-binding protein (CREB) were detected by Western blot. **Results** Compared with the vehicle control group, the proliferation of BMSCs and BMSCs migration number could be promoted in the 3 JBQHR groups ($P < 0.05$). Besides, the proliferation of BMSCs was better in mid and high dose JBQHR groups than in the low dose JBQHR group ($P < 0.05$). Compared with the vehicle control group, the phosphorylation of ERK and CREB could be elevated in the 3 JBQHR groups ($P < 0.05$), and could be inhibited by U0126 ($P <$

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81403344, No. 81373606); 国家中医药行业科研专项资助项目(No. 201407001); 国家中医药管理局项目(No. JDXZ2012079); 江苏省临床医学科技专项(No. BL2014100); 江苏高校优势学科建设工程资助项目(No. PAPD); 国家中医临床研究基地(脾胃)资助项目

作者单位:1. 南京中医药大学附属医院(江苏省中医院)脾胃病科(南京 210029); 2. 南京中医药大学研究生院(南京 210029)

通讯作者:沈洪, Tel: 025-86617141 转 91601, E-mail: shenhong999@163.com

DOI: 10.7661/CJIM.2016.02.0191

0.01)。Compared with the low dose JBQHR group, the phosphorylation of ERK increased in mid and high dose JBQHR groups with statistical difference ($P < 0.05$). Conclusion JBQHR could promote the proliferation and migration of BMSCs, and its mechanism might be related to ERK/CREB signaling pathway.

KEYWORDS Jianpi Bushen Qingchang Huashi Recipe; bone marrow mesenchymal stem cell; proliferation; migration

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种主要累及直肠、结肠黏膜的慢性非特异性炎症,患病率逐年升高。近年来,干细胞移植已成为治疗 UC 的新手段。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)是一种具有多向分化潜能的细胞。研究表明, BMSCs 通过对损伤部位的免疫调节或间质细胞分化,从而促进 UC 肠黏膜屏障的重建。BMSCs 治疗 UC 的前提是外周血循环中要有足够量的骨髓干细胞,才能保证 BMSCs 到达病变结肠黏膜并在结肠微环境中转化。文献报道在炎症性肠病模型大鼠损伤肠黏膜组织中发现有外源的骨髓细胞定植,定植的 BMSCs 可以促进肠上皮增殖,调节免疫功能^[1-4]。中医学认为 UC 迁延难愈的病机主要为脾肾两虚,湿浊留恋不化,主要治法为健脾补肾,清肠化湿。健脾补肾、清肠化湿方为沈洪教授多年治疗 UC 总结出的方剂,治疗 UC 在临床上有着较好的疗效优势^[5]。故本实验拟从体外观察健脾补肾方、清肠化湿方体外对 BMSCs 增殖迁移的影响,为进一步研究其治疗 UC 提供实验依据。

材料与方法

1 动物 5 只雄性 SD 大鼠, SPF 级, 4~5 周龄, 体重 150 g, 由扬州大学动物中心提供, 合格证号: SCXK(苏) 2013-0026。

2 药物 健脾补肾、清肠化湿方(生黄芪、炒白术、益智仁、黄芩、黄连、地榆等共 9 味药), 批号分别为 140401、140401、140402、140301、140402、140302、140402、140415、140301)。以上药物均在南京市药品检验所进行质量检验鉴定为合格中药饮片。

3 试剂及仪器 大鼠 BMSCs 培养基(DMEM 低糖培养基加 10% 胎牛血清加双抗, 江阴齐氏生物科技有限公司, 批号: 20140405); PBS 缓冲液(gibco 公司, 批号: 8112286); CCK-8 试剂盒(碧云天生物科技公司, 批号: GZ700); Transwell 小室(Corning, 批号: 11514021); 磷酸酶抑制剂(博士德公司, 批号: 09G14B21); 蛋白酶抑制剂(博士德公司, 批号: 09I09A60)。主要仪器: Thermo Scientific HERAcell 150i 二氧化碳细胞培养箱(Thermo Scientific, USA), SW-CJ-1F 超净工作台(苏州净化设备有限公

司), IX71 研究级倒置显微镜(Olympus, Japan), TDL-50B 低速台式离心机(上海安亭科学仪器厂), Mini-Protean Tetra 小型垂直电泳系统(Bio-Rad, USA), CL17R 台式高速离心机(Thermo Scientific, USA), Tanon-5200 全自动化学发光图像分析系统(上海天能科技有限公司), HYC-360 医用冷藏箱(海尔集团有限公司), DW-25L262-25℃ 低温保存箱(海尔集团有限公司), RT-6000 酶标仪(深圳雷杜公司)。

4 中药及实验溶液配制 中药清膏制备: 按成人用量, 称取健脾补肾、清肠化湿方 1 剂, 共 82 g, 加水煎煮 2 次, 第 1 次加 10 倍量水, 浸泡 1 h, 加热煎煮 60 min, 滤过(过 100 目筛网); 第 2 次加 10 倍量水, 加热煎煮 40 min, 滤过(过 100 目筛网); 合并 2 次滤液, 浓缩至相对密度为 1.25(60℃)的清膏备用。胎牛血清: 56℃ 水浴 30 min 灭活血清中的补体等成份, 冷却后分装, -20℃ 贮存备用。PBS(磷酸盐缓冲液): NaCl 8.00 g、KCl 0.20 g、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 3.628 g、 KH_2PO_4 0.24 g 溶于 800 mL 去离子水中, 搅拌溶解后, 以浓盐酸调 pH 值至 7.2, 定溶 1 L, 高压灭菌后存于 4℃ 备用。胰酶溶液: 胰蛋白酶 0.25 g、NaCl 8.00 g、KCl 0.20 g、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 0.184 g、 KH_2PO_4 0.02 g、葡萄糖 2.0 g, 定溶于 1 L 去离子水中, 充分搅拌溶解后, 过滤除菌, 分装后 4℃ 避光保存备用。

5 实验分组 BMSCs 悬液随机分为 4 组: 空白对照组加入超纯水, 即母液体积的千分之一, 实验过程中不予以任何药物干预; 复方各剂量组根据前期预实验结果, 加健脾补肾、清肠化湿方低剂量(0.39 μg/mL)、中剂量(0.78 μg/mL)和高剂量(1.56 μg/mL)共同孵育。采用 Western blot 法检测细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinase, ERK)和环磷腺苷效应元件结合蛋白(cAMP responsive element-binding protein, CREB)蛋白磷酸化水平时, 复方各剂量组联合 ERK 激酶抑制剂 U0126 作为对照。

6 方法

6.1 BMSCs 的分离培养与鉴定 BMSCs 传代培养, 采用贴壁筛选法培养原代细胞^[6]。于 50 mL 离心管中倒入 25~35 mL 的 75% 乙醇。大鼠腹腔注

射戊巴比妥钠(100 mg/kg),无菌条件下取股骨及胫骨,于 75%乙醇中浸泡 10 min。用无菌的眼科直镊从乙醇中取骨,放至含有 HEPES 缓冲液的无菌平皿中。用 PBS 缓冲液冲洗,然后将骨移至含有基础培养基的无菌平皿中。显露骨髓腔,用 10 mL 注射器吸取基础培养基,冲洗骨髓腔,冲出骨髓。用一次性吸管收集液体于 50 mL 离心管中,并反复吹打制成骨髓单细胞悬液,1 500 r/min 离心 5 min。弃上清,用含 10% FBS 和 1% 双抗的 M199 培养液重悬细胞沉淀,接种于培养瓶中。37 ℃,5% CO₂ 条件下培养 24 h 后,换用新鲜 M199 培养液继续培养。以后每 3 ~4 天换液 1 次。

当原代培养的细胞生长到培养瓶底面积约 90% 时,进行细胞传代。室温下,用吸管吸弃培养液后,加入 0.25% 胰蛋白酶消化。显微镜镜下观察细胞消化情况,当细胞变圆并有少部分脱落时,加入完全培养基终止消化;用吸管轻轻吹打贴壁细胞,吹打时吸管头浸在培养液下,直到贴壁细胞悬浮,计数细胞总数。按 1:2 进行传代培养,按 2×10^6 细胞/cm² 接种于培养瓶,并记为 P1 代。接种后每 3 日换液,每日观察细胞形态及生长情况,当细胞融合达到 80% ~ 90% 时,重复传代操作,并记为 P2,余类推。

6.2 BMSCs 免疫荧光鉴定 参照文献[7]。将细胞融合了 80% 的培养板取出,吸出培养基,用温育的 PBS 冲洗细胞 2 次,每次 2 min,然后用 4% 多聚甲醛在室温条件下固定细胞 30 min。PBS 冲洗细胞 2 次,每次 5 min,然后在 4 ℃ 条件下,用 0.1% TritonX-100 透膜 15 min。PBS 冲洗细胞 2 次,每次 5 min,然后在室温条件下,用 3% BSA 封闭细胞 2 h。按 1:200 的比例稀释一抗(3% BSA 稀释),然后将其放在 4 ℃ 冰箱中孵育过夜。PBS 冲洗细胞 3 次,每次 5 min。按 1:200 的比例稀释二抗,室温条件下放置 2 h。PBS 冲洗细胞 3 次,每次 5 min,最后在倒置显微镜下观察图像,检出明亮绿色荧光为阳性。

6.3 BMSCs 增殖能力测定 采用 CCK-8 法。制备细胞悬液,接种到 96 孔板中,每孔约 100 μ L 细胞悬液,贴壁过夜。弃去培养基,复方各剂量组分别加入含有 0.39、0.78、1.56 μ g/mL 药物的培养基,终体积为 100 μ L,以只加培养液的孔为空白调零孔;每个浓度设 5 个复孔;药物作用 24 h 后每孔中加入 5 mg/mL 的 CCK-8 溶液 10 μ L;细胞于细胞培养箱中孵育 2 h,在 450 nm 测定透光值,计算光密度值。

6.4 BMSCs 迁移趋化能力测定 采取 Transwell 法。取第 4 代 BMSCs 细胞,铺满培养瓶底约 80% 时,分别加入中药复方至终浓度为 0、0.39、0.78、

1.56 μ g/mL 培养 12 h,换无血清培养基(含有相同浓度的中药复方),饥饿处理 12 h。胰酶消化细胞,用无血清培养基(含 0.5% BSA)中止消化并稀释得细胞悬液(10^6 /mL)。100 μ L 细胞悬液接种至 5 μ m 孔径的 Transwell 小室的上室,600 μ L 10% FBS 的大鼠间充质干细胞培养基加入下室,细胞培养箱中继续培养 24 h。取出 Transwell 小室用 PBS 洗涤 2 次,4% 多聚甲醛室温下固定 30 min,PBS 洗涤 3 次,用棉签小心地擦去上室细胞,于 0.1% 结晶紫中 37 ℃ 浸泡 30 min,PBS 漂净,每个小室选取 3 个视野显微镜下人工计数。

6.5 ERK 和 CREB 蛋白磷酸化水平测定 采用 Western blot 法检测。6 孔板中培养细胞,细胞分组(每组 3 个复孔);处理 24 h(其中 U0126 组在加入中药前 30 min 先加入 U0126)后收集各组细胞,PBS 洗涤两次,加入细胞裂解液 200 μ L 冰上摇晃裂解 5 min,吸取细胞裂解液 10 000 r/min 离心 10 min,采用 BCA 蛋白测定试剂盒对蛋白进行定量,加入上样 Buffer 100 ℃ 保持 8 min。制备 12% 聚丙烯酰胺 SDS 凝胶,每条泳道加约 20 μ g 蛋白,电泳后 300 mA 湿转 90 min 至 NC 膜(Bio-Rad 0.2 μ m)上,5% 脱脂牛奶封闭,一抗 4 ℃ 孵育过夜,PBST 洗涤 6 次,辣根过氧化物酶标记二抗 30 ℃ 孵育 1 h,PBST 洗涤 6 次,加入 ECL 发光液孵育,天能 5 200 全自动化学发光图像分析系统检测各蛋白条带亮度。

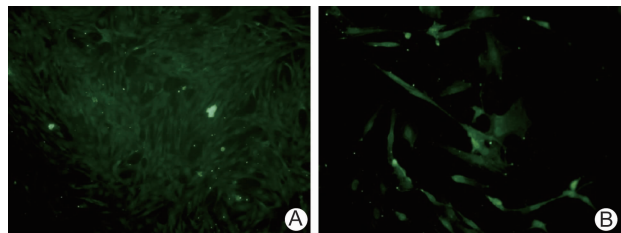
7 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 细胞培养形态及鉴定(图 1) 倒置显微镜下可见:BMSCs 接种后,原代培养的 BMSCs 在悬液中呈圆形,24 h 后即可见细胞开始贴壁,细胞呈现出成纤维状或短梭形。2 ~3 天后出现散在细胞集落,贴壁生长,增殖较慢,细胞相互紧密贴附生长,逐渐融合成片,沿胞体长轴有序排列。经传代纯化,第 3 代(P3)BMSCs 形态单一均匀,融合后呈典型的极性,漩涡状生长。

采用免疫荧光法对 BMSCs 表面分子进行鉴定,显微镜下可检出荧光素发出的明亮的绿色荧光,CD44、CD133 为阳性,符合 BMSCs 细胞表面抗原特征。连续传代后 BMSCs 表面分子表达无明显改变。

2 各组 BMSCs 增殖情况比较(表 1) 与空白对照组比较,复方低、中、高剂量组 OD 值和 BMSCs 增殖率均增高,差异有统计学意义(*P* < 0.05);与复方低剂量组比较,复方中、高剂量组升高更明显,差异有



注:A 为 CD44;B 为 CD133

图 1 BMSCs 表面分子 CD44、CD133 表达情况

表 1 各组 BMSCs 增殖情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	OD 值	增值率 (%)
空白对照	6	0.387 ± 0.010	1
复方低剂量	6	0.406 ± 0.013 *	104.75 *
复方中剂量	6	0.478 ± 0.021 *△	123.34 *△
复方高剂量	6	0.471 ± 0.014 *△	121.66 *△

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$;与复方低剂量组比较,△ $P < 0.05$

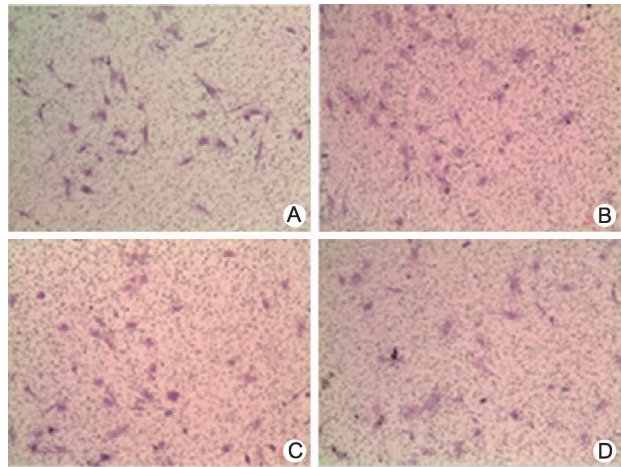
统计学意义($P < 0.05$)。

3 各组 BMSCs 迁移趋化能力比较(表 2,图 2)
与空白对照组比较,复方各剂量组治疗后 BMSCs 迁移数目增多,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 2 各组 BMSCs 迁移趋化能力比较 (个, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	迁移数目
空白对照	3	48.00 ± 6.98
复方低剂量	3	70.78 ± 2.50 *
复方中剂量	3	67.78 ± 8.55 *
复方高剂量	3	65.56 ± 4.52 *

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$



注:A 为空白对照组;B 为复方低剂量组;C 为复方中剂量组;D 为复方高剂量组

图 2 各组 BMSCs 迁移趋化能力比较
(结晶紫染色,×200)

4 各组 BMSCs ERK、CREB 蛋白磷酸化水平比较(表 3,图 3)
与空白对照组比较,复方各剂量组 ERK

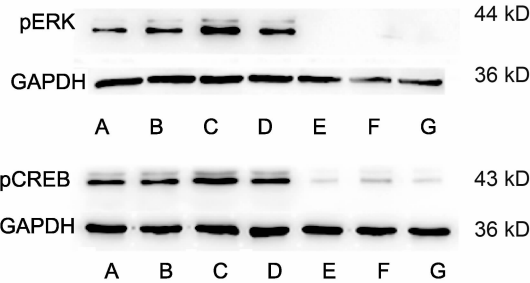
磷酸化水平升高($P < 0.05$);与复方低剂量组比较,复方中、高剂量组升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。加入 ERK 激酶抑制剂 U0126 后,U0126 各组与未联合 U0126 复方各组比较,ERK 磷酸化水平明显下降($P < 0.01$)。

与空白对照组比较,复方各剂量组 CREB 磷酸化表达升高($P < 0.05$);加入 ERK 激酶抑制剂 U0126 后,U0126 各组与未联合 U0126 复方各组比较,CREB 磷酸化水平明显下降($P < 0.01$)。

表 3 各组 BMSCs pERK 及 pCREB 蛋白
相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	pERK 蛋白	pCREB 蛋白
空白对照	3	0.29 ± 0.03	1.12 ± 0.11
复方低剂量	3	0.45 ± 0.05 *	1.17 ± 0.12 *
复方中剂量	3	1.60 ± 0.19 *△	1.39 ± 0.14 *
复方高剂量	3	1.05 ± 0.12 *△	1.10 ± 0.11 *
低剂量 + U0126	3	0.00 ± 0.00 ▲	0.13 ± 0.01 ▲
中剂量 + U0126	3	0.00 ± 0.00 ▲	0.31 ± 0.03 ▲
高剂量 + U0126	3	0.00 ± 0.00 ▲	0.17 ± 0.02 ▲

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与复方低剂量组比较,△ $P < 0.05$;与复方对应各剂量组比较,▲ $P < 0.01$



注:A 为空白对照组;B 为复方低剂量组;C 为复方中剂量组;D 为复方高剂量组;E 为低剂量 + U0126 组;F 为中剂量 + U0126 组;G 为高剂量 + U0126 组

图 3 各组 BMSCs pERK 和 pCREB 蛋白电泳图

讨 论

干细胞治疗 UC 日益成为研究的热点,经实验证明可以分化成多种细胞类型,产生生长因子和细胞因子参与组织修复和重建^[8],但是 BMSCs 在骨髓中含量很低,需进行体外分离纯化和大量增殖。

目前对于 BMSCs 为何会在病损结肠中定居还不清楚,但推测可能与病损结肠微环境的影响有密切关系。与 BMSCs 有趋向于损伤部位的能力有关^[9],BMSCs 向隐窝基底部(即肠道干细胞所在部位)迁移、定植,迁移至受损部位。UC 发生后,在受损肠组织的招募下,体内病损组织存在某种趋化因子或炎症细胞的诱导作用,使骨髓干细胞向病损组织定向移动

并分化^[10];或病损结肠局部血管损伤或炎症反应导致血管通透性增加,有利于循环的 BMSCs 进入损伤部位。

BMSCs 能够迁移定植与受损肠道,但是效率低。研究报道静脉注射人干细胞到亚致死量照射的小鼠中,3 天后检测到肠道只有 0.13% 供体来源的干细胞^[11]。静脉注射 10^6 BMSCs 至葡聚糖硫酸诱导的结肠炎小鼠,注射后第 6 天只检测到少数细胞^[12]。ERK 通路是影响 BMSCs 迁移的诸多信号途径中最关键的信号通路。ERK 通路的激活是一个链式的磷酸化过程,可由 Raf 丝氨酸/苏氨酸激酶激活,Raf 激活 Mek1/2 后激活 ERK1/2,ERK 被激活后可通过激活糖核体 S6 激酶激活 CREB,也可以直接磷酸化转录因子 CREB,在促进上皮细胞增生、分化和抑制凋亡中发挥重要作用。有研究表明,在小鼠缺血/再灌注损伤后,肠上皮细胞中则有可能激活 MAPK/ERK/CREB 信号系统实现其修复,如果用 ERK 激酶抑制剂 U0126 预处理后将阻止 BMSCs 迁移^[13]。

中医学认为 UC 多为素体脾胃虚弱或脾肾两虚,加之感受湿邪,或饮食不节,或情志失调,致脾胃受损,运化失常,湿邪蕴结大肠,传导失司,气血凝滞,腐败成疡,出现腹泻、脓血便等症状;日久不愈,久则及肾,脾肾两虚,寒热错杂,虚实并见。虚责之于脾、肾气(阳)虚,实责之于湿邪壅滞。故治疗以健脾补肾、清肠化湿为主。代表药如生黄芪、炒白术、益智仁、黄芩、黄连等。黄芪益气健脾,生肌愈疡,白术运脾又可化湿,与黄芪、白术合用,健脾益气以复运化之职,杜生湿之源。益智仁温脾,暖肾,固气,涩精,王好古曰其可“益脾胃,理元气,补肾虚”。以入大肠经之黄连、黄芩清肠化湿,以祛除病理因素。诸药寒温并用,使下利止而不致恋邪,祛邪而不伤正。

本实验从体外观察健脾补肾、清肠化湿方能否促进 BMSCs 的增殖迁移,采用 CCK-8 法检测其对 BMSCs 增殖的影响,Transwell 法检测对 BMSCs 迁移趋化能力的影响,采用 Western blot 法检测 ERK 和 CREB 蛋白磷酸化水平。结果表明和空白对照组比较,健脾补肾、清肠化湿方作用大鼠 BMSCs 细胞 24 h 后,0.39 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度组对细胞已产生增殖作用,且 3 个浓度组均能促进 BMSCs 的增殖和迁移($P < 0.05$),并能升高 ERK 和 CREB 蛋白磷酸化水平($P < 0.05$),且能被 U0126 抑制。这为健脾补肾、清肠化湿方治疗 UC 提供了一定的实验依据,为后续研究其向动物模型迁移分化奠定了基础,但影响 BMSCs 增殖迁移的因素很多,

怎样使 BMSCs 更好地归巢,更好地发挥治疗作用,仍然是个任重而道远的课题。

参 考 文 献

- [1] Nemoto Y, Kanai T, Takahara M. Bone marrow mesenchymal stem cells are a major source of interleukin-7 and sustain colitis by forming the niche for colitogenic CD4 memory T cells [J]. Gut, 2012, 62: 1142–1152.
- [2] Qu B, Xin GR, Zhao LX, et al. Testing stem cell therapy in a rat model of inflammatory bowel disease: Role of bone marrow stem cells and stem cell factor in mucosal regeneration [J]. PLoS One, 2014, 9(10): e107891.
- [3] Chen QQ, Yan L, Wang CZ, et al. Mesenchymal stem cells alleviate TNBS-induced colitis by modulating inflammatory and autoimmune responses [J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(29): 4702–4717.
- [4] Kaplan JM, Youd ME, Lodie TA. Immunomodulatory activity of mesenchymal stem cells [J]. Curr Stem Cell Res Ther, 2011, 6(4): 297–316.
- [5] 朱磊,沈洪,顾培青,等.沈洪教授治疗溃疡性结肠炎的经验探析[J].中华中医药杂志,2015,30(7): 2381–2383.
- [6] Anokhina EB, Buravkova LB. Heterogeneity of stromal precursor cells isolated from rat bone marrow [J]. Tsitologia, 2007, 49(1): 40–47.
- [7] 蔡文琴,王伯云主编.实用免疫细胞化学[M].成都:四川科技出版社,1990:968–977.
- [8] Caplan AI. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine [J]. J Cell Physiol, 2007, 213(2): 341–347.
- [9] Komori M, Tsuji S, Murata H, et al. Efficiency of bone marrow-derived cells in regeneration of the stomach after induction of ethanol-induced ulcers in rats [J]. Gastroenterology, 2005, 128(6): 591–599.
- [10] Komori M, Tsuji S, Murata H, et al. Involvement of bone marrow-derived cells in healing of experimental colitis in rats [J]. Wound Repair Regen, 2005, 13(1): 109–118.
- [11] Semont A, Mouisseddine M, Francois A, et al. Mesenchymal stem cells improve small intestinal integrity through regulation of endogenous epithelial cell homeostasis [J]. Cell Death Differ, 2010, 17(6): 952–961.
- [12] Gonzalez-Rey E, Anderson P, Gonzalez MA, et al. Human adult stem cells derived from adipose tissue protect against experimental colitis and sepsis [J]. Gut, 2009, 58(7): 929–939.
- [13] Yun DH, Song HY, Lee MJ, et al. Thromboxane A_2 modulates migration, proliferation, and differentiation of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells [J]. Exp Mol Med, 2009, 41(1): 17–24.

(收稿:2015-03-26 修回:2015-12-07)