

前列腺素E1对大鼠骨髓间充质干细胞增殖的影响

曾宽¹, 江慧琦¹, 王萌¹, 华平¹, 张洪武², 邓保平¹, 张书铭¹, 杨艳旗¹ (¹中山大学孙逸仙纪念医院心脏外科, 广东省广州市 510120; ²中山大学附属第一医院转化医学中心, 广东省广州市 510080)

文章亮点:

- 1 目前还缺乏前列腺素 E1 对骨髓间充质干细胞增殖影响的研究。实验首次利用临床药物前列腺素 E1 在体外干预骨髓间充质干细胞, 观察增殖生长情况, 为临床应用提供治疗靶点。
- 2 实验结果发现在体外分离培养大鼠骨髓间充质干细胞后, 使用不同浓度的前列腺素 E1 对 P3 代的骨髓间充质干细胞进行干预后, 能显著增加骨髓间充质干细胞的增殖能力, 呈一定的量效关系, 并以质量浓度为 10 $\mu\text{g/L}$ 时最为显著。

关键词:

干细胞; 骨髓干细胞; 骨髓间充质干细胞; 前列腺素 E1; 细胞增殖; 细胞培养; CD29; CD45; CD90

主题词:

干细胞; 间质干细胞; 前列腺素

基金资助:

中山大学百人计划专项基金(F002009011)

摘要

背景: 目前还缺乏前列腺素 E1 对骨髓间充质干细胞增殖影响的研究。

目的: 观察前列腺素 E1 与骨髓间充质干细胞共培养对细胞增殖作用的影响。

方法: 体外培养 SD 大鼠骨髓间充质干细胞。取第 3 代细胞利用流式细胞仪鉴定细胞表面表型。以每孔 1×10^4 数量接种于 96 孔板, 将前列腺素 E1 分别以 0(对照组), 1, 2, 5, 10, 20, 40, 100 $\mu\text{g/L}$ 的浓度作用骨髓间充质干细胞 72 h, 以 CCK-8 法检测细胞增殖情况, 观察最佳增殖浓度 10%的前列腺素 E1 在不同时间(24, 48, 72 h)对骨髓间充质干细胞增殖的影响。

结果与结论: P3 代骨髓间充质干细胞表面阳性率 CD11b/c 为 4.93%, CD29 为 99.93%, CD45 为 0.1%, CD90 为 99.58%, 符合骨髓间充质干细胞特征。质量浓度为 1, 2, 5, 10, 20, 40, 100 $\mu\text{g/L}$ 的前列腺素 E1 均可以促进骨髓间充质干细胞在体外的增殖, 以 10 $\mu\text{g/L}$ 的作用最强。10 $\mu\text{g/L}$ 前列腺素 E1 在作用 48 h 后能显著促进大鼠骨髓间充质干细胞增殖($P < 0.05$), 其作用呈一定程度的时间依赖性, 72 h 达最高。

曾宽, 江慧琦, 王萌, 华平, 张洪武, 邓保平, 张书铭, 杨艳旗. 前列腺素 E1 对大鼠骨髓间充质干细胞增殖的影响[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(14):2161-2166.

Prostaglandin E1 effects on proliferation of rat bone marrow mesenchymal stem cells

Zeng Kuan¹, Jiang Hui-qi¹, Wang Meng¹, Hua Ping¹, Zhang Hong-wu², Deng Bao-ping¹, Zhang Shu-ming¹, Yang Yan-qi¹ (¹Department of Cardiac Surgery, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, Guangdong Province, China; ²Translational Medicine Center, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, Guangdong Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Currently, there are few studies about prostaglandin E1 on the proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells.

OBJECTIVE: To explore the effects of prostaglandin E1 on the proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells.

METHODS: Bone marrow mesenchymal stem cells isolated from Sprague Dawley rats were cultured *in vitro*. Passage 3 cells were selected to identify cell surface phenotypes by flow cytometry. Cells were seeded onto 96-well microtiter plates at a density of 1×10^4 cells/well, and then treated with prostaglandin E1 at concentrations of 0, 1, 2, 5, 10, 20, 40, 100 $\mu\text{g/L}$ for 3 days. Cell counting kit-8 assay was applied to assess cellular proliferation, and detect the optimal proliferative concentration of prostaglandin E1 (10%) effects on the proliferation of bone marrow mesenchymal stem at 24, 48 and 72 hours.

RESULTS AND CONCLUSION: The positive rates of passage 3 cells were 4.93% for CD11b/c, 99.93% for CD29, 0.1% for CD45, 99.58% for CD90. *In vitro* proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells could be promoted by prostaglandin E1 at concentrations of 1, 2, 5, 10, 20, 40 and 100 $\mu\text{g/L}$, and the optimal concentration was 10 $\mu\text{g/L}$. The proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells was promoted dramatically after intervention with 10 $\mu\text{g/L}$ prostaglandin E1 for 48 hours ($P < 0.05$), and peaked at 72 hours in a time-dependent manner.

曾宽, 男, 1981 年生, 广东省韶关市人, 汉族, 博士, 医师, 主要从事干细胞治疗心肌缺血方面的研究。

通讯作者: 杨艳旗, 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师, 中山大学孙逸仙纪念医院心胸外科, 广东省广州市 510120

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2014.14.005
[http://www.crter.org]

中图分类号:R394.2

文献标识码:A

文章编号:2095-4344

(2014)14-02161-06

稿件接受: 2014-02-28

Zeng Kuan, M.D., Ph.D., Physician, Department of Cardiac Surgery, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, Guangdong Province, China

Corresponding author: Yang Yan-qi, M.D., Ph.D., Professor, Chief physician, Doctoral supervisor, Department of Cardiac Surgery, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, Guangdong Province, China

Accepted: 2014-02-28

Subject headings: stem cells; mesenchymal stem cells; prostaglandins

Funding: The Program of "One Hundred Talented Scholars" of Sun Yat-sen University, No. F002009011

Zeng K, Jiang HQ, Wang M, Hua P, Zhang HW, Deng BP, Zhang SM, Yang YQ. Prostaglandin E1 effects on proliferation of rat bone marrow mesenchymal stem cells. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2014;18(14):2161-2166.

0 引言 Introduction

心肌细胞是一种高度分化的终末细胞, 坏死后绝大部分都不能再生。缺血性心脏病传统的治疗原则包括预防和阻止血管病变发展及血运重建等, 但却无法逆转或修复已坏死的心肌。近年来随着干细胞技术的迅速发展, 细胞治疗正在成为一个修复或再生受损心肌的新疗法。

骨髓间充质干细胞是存在于骨髓中的非造血干细胞, 具有分化心血管组织的潜能及其他的横向分化功能, 因获取容易、扩增能力强、避免伦理学争议, 已被广泛的应用在缺血性心脏病及其他再生疾病的治疗中^[1-3]。但是移植后的骨髓间充质干细胞存活率很低, 这可能与移植区域心肌微环境有关^[4]。因此如何改善骨髓间充质干细胞的生存能力, 是目前细胞移植治疗缺血性心脏病研究亟待解决的难题。

间充质干细胞在骨髓中含量极少, 仅占骨髓有核细胞总数的0.001%~0.1%, 单纯分离后进行移植, 效果欠佳。有学者研究发现增加一定数量的细胞, 是提高移植疗效的有效途径之一^[5-6]。由于组织工程研究需要大量的种子细胞, 因此培养出足够数量的骨髓间充质干细胞对细胞在体内、体外实验及改善移植效果显得至关重要。

前列腺素E1是一种血管活性药物, 具有扩张血管, 降低周围血管阻力, 稳定生物膜降低血小板黏附率, 改善血液黏度和红细胞变形能力, 抑制血小板黏附聚集及血栓素A2生成, 抑制炎症反应等作用^[7-9], 有保护缺血性心肌, 缩小心肌梗死面积等作用, 还有排钠、利尿及对肝、肾、肺、胃病变均有治疗、保护作用。

前列腺素E1对不同的组织和细胞产生效应的机制不同, 如对人类胃肠道及皮肤成纤维细胞, 血管内皮细胞增殖呈现抑制作用, 前列腺素E1刺激这些细胞内环磷腺苷的积累作用, 而环磷腺苷的作用是抑制细胞的有丝分裂, 从而使细胞增殖数量降低。对人前脂肪细胞的增殖和分化均有较强的刺激作用, 因为人类前脂肪细胞中存在大量前列腺素受体, 前列腺素E1可以结合这些受体降低细胞内环磷腺苷, 促进前脂肪细胞分化的作用。前列腺素E1还可以促进人类真皮纤维母细胞的增殖作用, 机制是通过调节该细胞白细胞介素6和白细胞介素8的产生, 刺激细胞的增殖^[10]。

目前尚未有前列腺素E1对骨髓间充质干细胞增殖影响的研究。实验研究通过体外细胞培养技术, 以间充质干细胞移植后发挥疗效密切相关的细胞移植数目为研究目的, 选择临床上治疗缺血性心脏病的常用药物前列腺素E1进行干预, 通过增加骨髓间充质干细胞数量, 为干细胞移

植治疗缺血性心脏病提供理论依据和实践经验。

1 材料和方法 Materials and methods

设计: 细胞学水平, 随机分组, 对比观察实验。

时间及地点: 实验于2012年11月至2013年5月在中山大学病理生理实验室和中山大学孙逸仙纪念医院医学研究中心完成。

材料:

实验动物: 2周龄清洁级SD大鼠, 体质量80~120 g, 雌雄不拘, 购自中山大学动物实验中心, 无人畜共患疾病。实验过程中对动物处置符合动物伦理学标准。

前列腺素E1对大鼠骨髓间充质干细胞增殖的影响的主要试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
FITC标记抗大鼠CD29抗体、FITC标记抗大鼠CD45抗体、APC 标记CD45抗体、PE标记CD11b/c抗体	美国BD公司
DMEM培养液, 优质胎牛血清、0.25%胰蛋白酶-EDTA	美国Gibco公司
双抗: 青霉素、链霉素	Solarbio 公司
前列地尔粉剂	德国许瓦兹制药集团
Cell Counting Kit-8试剂盒	Dojindo公司
台式高速离心机	Eppendorf公司
流式细胞仪	美国Becton Dickinson公司
自动拍摄光学显微镜、BX51型光学显微镜、	日本Olympus公司
自动摄影倒置相差显微镜、二氧化碳恒温培养箱、Thermo Multiskan MK3 酶标仪	美国Thermo公司

实验方法:

骨髓间充质干细胞的分离和培养: SD大鼠麻醉后颈椎脱臼处死后, 无菌条件下取其两只股骨, PBS反复冲洗骨髓腔, 然后收集冲洗液收集于10 mL离心管, 1 000 r/min离心5 min, 弃尽上液, 用DMEM/F12(体积分数10%胎牛血清)培养液重新悬浮细胞, 将其接种于25 cm²的塑料培养瓶中, 密度为每瓶2×10⁷个细胞, 放置体积分数5%CO₂、37 °C、饱和湿度中培养。根据细胞生长代谢情况, 两三天半量换液1次, 逐渐去除悬浮细胞。待细胞生长达80%~90%融合后予以传代, 用0.25%胰酶37°C消化贴壁细胞, 1:2接种传代。选用第3代细胞, 按实验室常规做流式表面标志鉴定。

骨髓间充质干细胞的鉴定: 选取P3代间充质干细胞, 将待测的细胞用PBS洗涤3次, 然后使用0.25%胰酶+0.02%EDTA液消化细胞5 min。显微镜下观察细胞变圆后,

终止消化, 转离心管予 $500\times g$ /min, 离心5 min, 收集细胞沉淀, 弃上清, PBS洗涤3次, 调整细胞浓度至 $1\times 10^9 L^{-1}$, 取含 1×10^5 细胞的细胞悬液100 μL 分别加入荧光标记的CD11b/c, CD29, CD45, CD90抗体, 4 $^{\circ}C$ 避光孵育30 min, PBS洗去标记的抗体2遍, 加入500 μL PBS重悬细胞, 流式细胞仪检测样。

实验分组: 实验分为8组, 每组6个孔。对照组使用体积分数10%胎牛血清的DMEM培养基100 μL 培养, 即0 $\mu g/L$ 组; 前列腺素E1处理组分为 1, 2, 5, 10, 20, 40, 100 $\mu g/L$ 含有前列腺素E1的体积分数10%胎牛血清的低糖DMEM培养基100 μL 。

CCK-8实验: Cell Counting Kit简称CCK试剂盒是广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的快速高灵敏度检测试剂盒。CCK-8属于MTT的升级产品, 工作原理为: 在电子耦合试剂存在的情况下, 可以被线粒体内的脱氢酶还原生成高度水溶性的橙黄色的甲臜产物。颜色的深浅与细胞的增殖成正比与细胞毒性成反比。使用酶标仪在450 nm波长处测定A值, 间接反映活细胞数量。CCK-8是目前测定细胞活性的一种较稳定和灵敏的实验方法。

细胞处理: 将P3代骨髓间充质干细胞以 1×10^4 /孔细胞100 μL 接种至96孔板共60孔, 最外一圈36孔加PBS 200 μL 以防止边缘效应。置于37 $^{\circ}C$ 、体积分数5%CO₂细胞培养箱培养, 细胞接种24 h贴壁生长后, 全部培养孔内的细胞换液, PBS洗3遍。按照实验分组分别加入质量浓度0, 1, 2, 5, 10, 20, 40, 100 $\mu g/L$ 的前列腺素E1给予不同处理。根据实验设计24, 48, 72 h后每培养孔加入CCK-8工作液10 μL , 放入37 $^{\circ}C$ 细胞培养箱内孵育2 h, 用酶联免疫检测仪在450 nm波长处测定其吸光度值。每组设6个重复孔, 取平均值, 实验重复3次。各组细胞48, 72 h A值与其24 h对照组A值相比得出48 h、72 h的相对增殖率。各组细胞的相对活力=前列腺素E1组A₄₅₀值/对照组A₄₅₀值 $\times 100\%$ 。

主要观察指标: CCK-8法检不同前列腺素E1质量浓度(0, 1, 2, 5, 10, 20, 40, 100 $\mu g/L$)和最佳增殖浓度的前列腺素E1在不同时间(24, 48, 72 h)对骨髓间充质干细胞增殖的情况。

统计学分析: 使用SPSS 17.0 for windows统计软件进行统计学处理。计量资料数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 统计方法使用采用方差分析中的Kruskal Wallis检验及秩和检验 u -test分析。

2 结果 Results

2.1 骨髓间充质干细胞形态及鉴定结果 获取的骨髓间充质干细胞在24 h后细胞已大量贴壁, 呈圆球形生长, 培养基表面可见大量的悬浮未贴壁细胞。48 h后首次全换液去除悬浮和沉降瓶底的造血细胞和血细胞。五六天造血细胞成分大量减少, 细胞排列有一定的方向性, 呈“旋涡样”生长, 7-12 d细胞为快速增殖期, 呈放射样增长, 经传代以后黏附在瓶壁上的造血细胞和血细胞即可逐渐被清除, P3代后即可得到较纯化的细胞。经过传代后P3代的间充质干细胞见典型的纺锤形或短梭形生长, 呈放射状排列, 见图1。

2.2 大鼠骨髓间充质干细胞表面标志鉴定 流式细胞仪对间充质干细胞表面抗原鉴定结果示: P3代间充质干细胞表面阳性率CD11b/c 为4.93%、CD29为99.93%、白细胞标志抗原CD45为0.1%、基质细胞抗原CD90为99.58%。结果提示获取的细胞表面抗原与文献报道相符, 可确定实验所鉴定的细胞为骨髓间充质干细胞, 见图2。

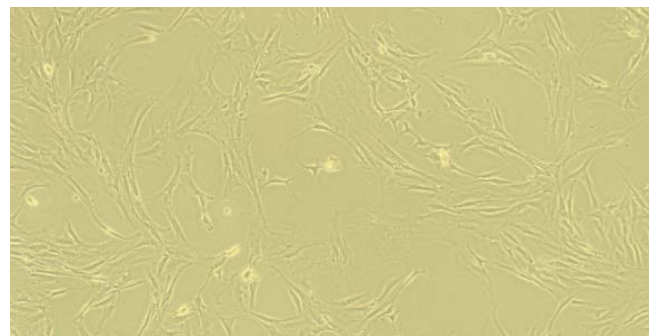


图1 P3代骨髓间充质干细胞的形态(倒置相差显微镜, $\times 100$)

Figure 1 Morphology of passage 3 bone marrow mesenchymal stem cells (inverted phase contrast optical microscopy, $\times 100$)

图注: P3代的间充质干细胞见典型的纺锤形或短梭形生长, 呈放射状排列。

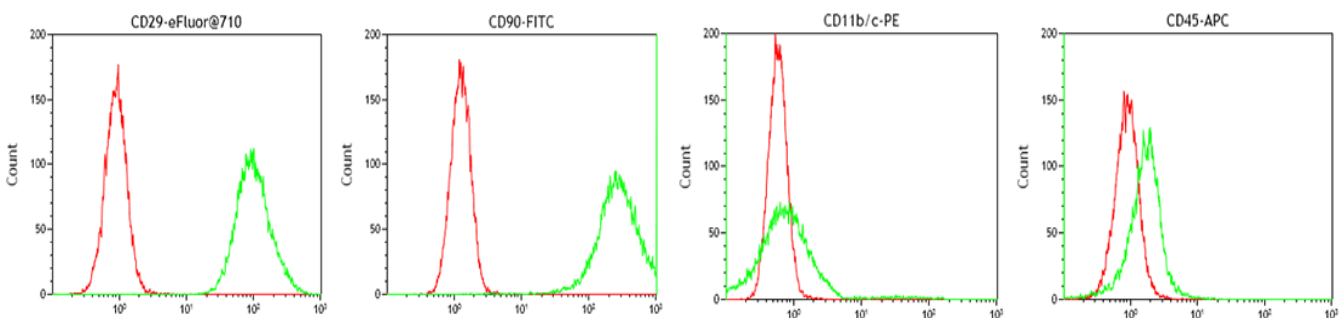


图2 流式细胞仪检测P3代细胞表面抗原表达结果

Figure 2 Flow cytometric analysis of surface antigens in passage 3 bone marrow mesenchymal stem cells

图注: 细胞表面阳性率CD11b/c 为4.93%、CD29为99.93%、白细胞标志抗原CD45为0.1%、基质细胞抗原CD90为99.58%。提示获取的细胞表面抗原与骨髓间充质干细胞相符。

表 1 CCK-8 法检测不同浓度前列腺素 E1 与间充质干细胞共培养 72 h 对细胞增殖的影响

Table 1 Proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells co-cultured with different concentrations of prostaglandin E1 for 72 hours detected by cell counting kit-8 assay ($\bar{x} \pm s$)

前列腺素 E1 质量浓度($\mu\text{g/L}$)	A_{450}	相对活力(%)
0	1.15 \pm 0.16	100.00 \pm 13.63
1	1.75 \pm 0.35 ^b	152.83 \pm 27.60 ^b
2	1.82 \pm 0.21 ^b	158.49 \pm 16.99 ^b
5	1.82 \pm 0.15 ^b	158.89 \pm 11.94 ^b
10	1.96 \pm 0.09 ^b	170.91 \pm 7.45 ^b
20	1.66 \pm 0.42 ^b	144.79 \pm 33.49 ^b
40	1.59 \pm 0.22 ^a	138.98 \pm 17.72 ^a
100	1.41 \pm 0.22 ^a	122.77 \pm 27.93 ^a

表注: 可见 10 $\mu\text{g/L}$ 前列腺素 E1 组增殖的效果高于其他浓度组。与 0 $\mu\text{g/L}$ 比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

2.3 不同质量浓度前列腺素 E1 对大鼠骨髓间充质干细胞增殖的影响 为观察前列腺素 E1 对间充质干细胞增殖影响的量效关系, 应用不同质量浓度(0, 1, 2, 5, 10, 20, 40, 100 $\mu\text{g/L}$)前列腺素 E1 与间充质干细胞共培养 72 h, 使用 CCK-8 法检测其对间充质干细胞增殖的影响。在作用骨髓间充质干细胞 72 h 后, 可不同程度的促进骨髓间充质干细胞的增殖, 各质量浓度前列腺素 E1 作用骨髓间充质干

表 2 CCK-8 法检测 10 $\mu\text{g/L}$ 前列腺素 E1 与骨髓间充质干细胞共培养不同时间对细胞增殖的影响

Table 2 Effects of 10 $\mu\text{g/L}$ prostaglandin E1 on proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells at different time after co-culture using cell counting kit-8 assay ($\bar{x} \pm s$)

时间(h)	前列腺素 E1(A)	对照组(A)	相对活力(%)
24	0.92 \pm 0.17	0.81 \pm 0.11	112.77 \pm 19.07
48	1.31 \pm 0.14 ^a	1.04 \pm 0.18	125.97 \pm 13.38 ^a
72	1.96 \pm 0.09 ^b	1.15 \pm 0.16	170.91 \pm 7.45 ^b

表注: 10 $\mu\text{g/L}$ 前列腺素 E1 在作用 48 h 后能显著促进大鼠骨髓间充质干细胞增殖($P < 0.05$), 其作用呈一定程度的时间依赖性, 72 h 达最高。与 24 h 比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

胞 72 h 较对照组(0 $\mu\text{g/L}$)均有显著促进增殖作用, 组间比较分析可得 10 $\mu\text{g/L}$ 前列腺素 E1 组增殖的效果高于其他浓度组, 见图 3A 及表 1。

2.4 不同时间 10 $\mu\text{g/L}$ 前列腺素 E1 对大鼠骨髓间充质干细胞增殖的影响 为观察 10 $\mu\text{g/L}$ 前列腺素 E1 对大鼠骨髓间充质干细胞增殖影响的时-效关系, 使用前列腺素 E1 与大鼠骨髓间充质干细胞共培养 24, 48, 72 h。CCK-8 法检测结果显示, 10 $\mu\text{g/L}$ 前列腺素 E1 在作用 48 h 后能显著促进大鼠骨髓间充质干细胞增殖($P < 0.05$), 其作用呈一定程度的时间依赖性, 72 h 达最高($P < 0.01$, 图 3B 及表 2)。

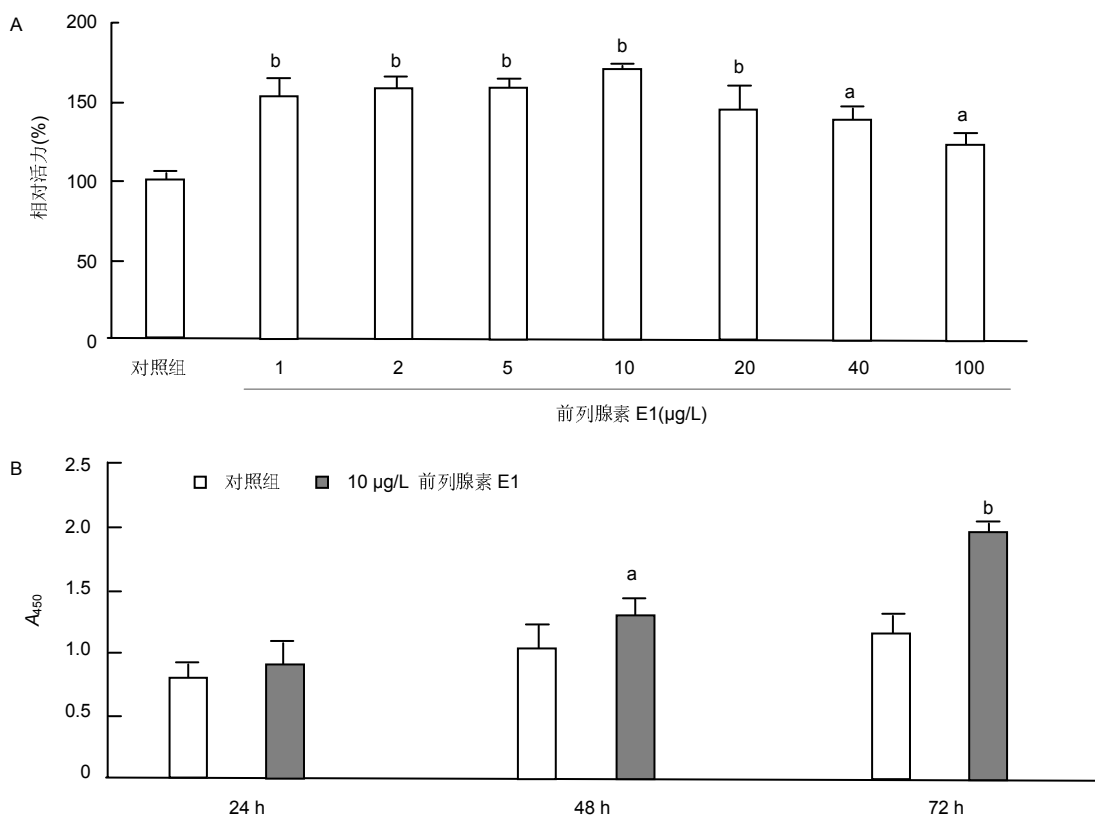


图 3 前列腺素 E1 与间充质干细胞共培养 72 h 对细胞增殖作用的量效关系及 10 $\mu\text{g/L}$ 前列腺素 E1 对细胞增殖作用的时效关系

Figure 3 Dose-dependent effect of prostaglandin E1 on the proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells after co-culture for 72 hours as well as time-effect relationship of 10 $\mu\text{g/L}$ prostaglandin E1 with cell proliferation

图注: ①图中 A 为细胞体外增殖作用的量效关系; B 为细胞体外增殖作用的时效关系。②各质量浓度前列腺素 E1 作用骨髓间充质干细胞 72 h 较对照组均有显著促进增殖作用, 10 $\mu\text{g/L}$ 前列腺素 E1 组增殖的效果高于其他浓度组。③10 $\mu\text{g/L}$ 前列腺素 E1 作用 48 h 后能显著促进大鼠骨髓间充质干细胞增殖($P < 0.05$), 其作用呈一定程度的时间依赖性, 72 h 达最高。与对照组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

3 讨论 Discussion

骨髓间充质干细胞是存在于骨髓中的非造血干细胞, 具有横向分化功能, 在一定诱导因子作用下能够分化为骨、软骨、肌肉和脂肪等各种间质组织^[11-14], 在某些诱导因子作用下能在体内外分化为心肌细胞^[15-16], 在再生医学领域里的应用倍受关注^[14]。

目前分离纯化间充质干细胞的方法主要有贴壁分离法、密度梯度离心法、流式细胞仪分选法和免疫磁珠分选法^[17-18]。这些方法既可独立应用, 又可联合使用提取更纯化的间充质干细胞, 各有优势。

实验采用贴壁分离法, 结合胰酶消化细胞后离心传代, 去除造血细胞, 短期内获得大量形态均一成纤维样生长的间充质干细胞, 传代后纯度高达95%以上, 方法简单、高效, 为进一步实验提供良好的种子细胞。目前仍未发现间充质干细胞的特有表面标记, 它表达间质细胞、内皮细胞、表皮细胞的等多种表面标志, 主要包括: CD102, CD73, CD29, CD44, CD54, CD90, CD106, CD120a, CD124, CD106。不表达造血前体细胞标志CD34、白细胞标记抗原CD45、淋巴细胞标记CD11a等^[19]。虽然目前仍未有单一方法进行骨髓间充质干细胞的鉴定, 但常使用显微镜下观察大体细胞形态, 然后使用流式细胞仪进行细胞表面抗原测定^[20]。

实验使用流式细胞仪对P3代的间充质干细胞进行表面抗原测定, 结果提示: CD11b/c表达(-)、CD29表达(+)、白细胞标志抗原CD45表达(-)、基质细胞抗原CD90表达(+), CD90表达率应大于95%, CD11b、CD45的表达率应低于2%, 结果与文献报道相符, 因此可证实所获得的细胞即为骨髓间充质干细胞^[21-24]。

尽管骨髓间充质干细胞的生物治疗取得了举目的成就, 然而移植到心肌梗死区后的细胞数量少, 低存活率仍然是待需解决的问题。因此实验从骨髓间充质干细胞治疗缺血性心脏病有关机制进行探讨, 研究前列腺素E1对细胞增殖的影响。

前列腺素E1是广泛存在于体内的生物活性物质, 1960年由Bergsroem等首先分离出并详细研究其分子结构。临床上常用的前列腺素E1药物又名前列地尔, 具有保护冠状动脉血管内皮, 防止损伤, 促进动脉粥样硬化斑块稳定, 促进再灌注缺血心肌微血管的开放, 改善微循环作用^[25-26]。在动物实验中观察到可以减轻急性心肌梗死后的炎症反应, 减少心肌无复流面积等心肌保护作用^[27]。前列腺素E1在心血管疾病、缺血性心脏病、血管重塑中得到广泛应用。

有研究证实前列腺素E1可促进不同细胞的增殖效应。有学者将人正常脂肪组织分离培养脂肪源性基质细胞, 用的前列腺素E1处理培养的细胞24 h后, 观察到促进脂肪源性基质细胞的增殖作用^[10]。Jia等^[28]发现前列腺素E1通过cAMP/PKA信号通路, 激活细胞内转录因子CREB1, 上调

CyclinD1/CDK4和CyclinE/CDK2 mRNA的表达, 促进了鸡卵泡外膜层细胞的增殖。前列腺素E1可通过血管内皮生长因子促进血管内皮细胞增生^[29]。

实验发现在1, 2, 5, 10, 20, 40, 100 $\mu\text{g/L}$ 质量浓度范围内前列腺素E1作用骨髓间充质干细胞72 h后可明显促进增殖($P < 0.05$), 并以10 $\mu\text{g/L}$ 浓度效果较为明显。因此作者对最佳增殖浓度的前列腺素E1进行药物时效的研究, 结果提示前列腺素E1在作用骨髓间充质干细胞24 h后细胞活力开始升高, 并在48 h明显升高($P < 0.05$), 72 h显著升高($P < 0.01$)。根据2次实验结果可明确前列腺素E1促增殖效果有一定浓度依赖性及时效性, 但是前列腺素E1究竟通过那些信号通路影响间充质干细胞的增殖还需进一步的研究, 另外药物的浓度范围药效时间, 及对骨髓间充质干细胞远期的增殖影响依然具有研究潜力, 结果提示若在临床移植骨髓间充质干细胞时联合使用前列腺素E1治疗, 不仅可以改善移植的宿主微环境, 且可促进骨髓间充质干细胞增殖, 有望提高移植疗效的作用, 具有可观的临床应用前景。

作者贡献: 实验设计及评估为通讯作者, 实施为第一、二、三作者, 均经过正规科研培训。

利益冲突: 文章及内容不涉及相关利益冲突。

伦理要求: 实验过程中对动物的处置符合2009年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

学术术语: 前列腺素E1是广泛存在于体内的生物活性物质, 具有抑制血小板聚集、血栓素A2生成、动脉粥样硬化、脂质斑块形成及免疫复合物的作用, 能扩张外周血管和冠状血管, 降低外周阻力和血压, 有保护缺血性心肌, 缩小心肌梗死面积等作用, 还有排钠、利尿及对肝、肾、肺、胃病均有治疗、保护作用。

作者声明: 文章为原创作品, 无抄袭剽窃, 无泄密及署名和专利争议, 内容及数据真实, 文责自负。

4 参考文献 References

- [1] Minguell JJ, Erices A. Mesenchymal stem cells and the treatment of cardiac disease. *Exp Biol Med (Maywood)*.2006; 231(1):39-49.
- [2] Devine SM. Mesenchymal stem cells: will they have a role in the clinic?. *J Cell Biochem Suppl*.2002;38:73-79.
- [3] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 1999;284(5411):143-147.
- [4] Menasche P. Current status and future prospects for cell transplantation to prevent congestive heart failure. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*.2008;20(2):131-137.
- [5] Lazarus HM, Koc ON, Devine SM, et al. Cotransplantation of HLA-identical sibling culture-expanded mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells in hematologic malignancy patients. *Biol Blood Marrow Transplant*.2005; 11(5):389-398.

- [6] Tambara K, Sakakibara Y, Sakaguchi G, et al. Transplanted skeletal myoblasts can fully replace the infarcted myocardium when they survive in the host in large numbers. *Circulation*. 2003;108(Suppl 1):I259-I263.
- [7] Gao Y, Xu P, Chen L, et al. Prostaglandin E1 encapsulated into lipid nanoparticles improves its anti-inflammatory effect with low side-effect. *Int J Pharm*. 2010;387(1-2):263-271.
- [8] Wu CC, Wu CI, Wang WY, et al. Low concentrations of resveratrol potentiate the antiplatelet effect of prostaglandins. *Planta Med*. 2007;73(5):439-443.
- [9] Zhao XS, Pan W, Bekeredjian R, et al. Endogenous endothelin-1 is required for cardiomyocyte survival in vivo. *Circulation*. 2006;114(8):830-837.
- [10] 杨焕纳, 崔正军, Han Seung-Kyu, 等. 前列腺素E1对人类脂肪源性基质细胞体外增殖的影响[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(14):2517-2520.
- [11] Grassel S, Anders S. Cell-based therapy options for osteochondral defects. Autologous mesenchymal stem cells compared to autologous chondrocytes. *Orthopade*. 2012; 41(5):415-428, 429-430.
- [12] Xu N, Liu H, Qu F, et al. Hypoxia inhibits the differentiation of mesenchymal stem cells into osteoblasts by activation of Notch signaling. *Exp Mol Pathol*. 2013;94(1):33-39.
- [13] Fink T, Zachar V. Adipogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Methods Mol Biol*. 2011;698: 243-251.
- [14] Law S, Chaudhuri S. Mesenchymal stem cell and regenerative medicine: regeneration versus immunomodulatory challenges. *Am J Stem Cells*. 2013;2(1):22-38.
- [15] Cai B, Li J, Wang J, et al. microRNA-124 regulates cardiomyocyte differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells via targeting STAT3 signaling. *Stem Cells*. 2012;30(8):1746-1755.
- [16] Zhang Y, Chu Y, Shen W, et al. Effect of 5-azacytidine induction duration on differentiation of human first-trimester fetal mesenchymal stem cells towards cardiomyocyte-like cells. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2009;9(6):943-946.
- [17] Soma T, Kishimoto J, Fisher D. Isolation of mesenchymal stem cells from human dermis. *Methods Mol Biol*. 2013; 989:265-274.
- [18] Lubis A M, Sandhow L, Lubis VK, et al. Isolation and cultivation of mesenchymal stem cells from iliac crest bone marrow for further cartilage defect management. *Acta Med Indones*, 2011, 43(3):178-184.
- [19] Conget PA, Minguell JJ. Phenotypical and functional properties of human bone marrow mesenchymal progenitor cells. *J Cell Physiol*. 1999;181(1):67-73.
- [20] Gao X, Zhang J, Zhang J, et al. Identification of Rat Respiratory Mucosa Stem cells and comparison of the early neural differentiation potential with the bone marrow mesenchymal stem cells in vitro. *Cell Mol Neurobiol*. 2014; 34(2):257-268.
- [21] 李晓峰, 赵劲民, 苏伟, 等. 大鼠骨髓间充质干细胞的培养与鉴定[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(10):1721-1725.
- [22] 杨宇辉, 吴继雄. 大鼠骨髓间充质干细胞和内皮祖细胞的分离培养及鉴定[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13(40):7876-7880.
- [23] Liu Y, Wang L, Fatahi R, et al. Isolation of murine bone marrow derived mesenchymal stem cells using Twist2 Cre transgenic mice. *Bone*. 2010;47(5):916-925.
- [24] Kitazawa Y, Li X K, Xie L, et al. Bone marrow-derived conventional, but not cloned, mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation and prevent graft-versus-host disease in rats. *Cell Transplant*. 2012; 21(2-3): 581-590.
- [25] Feng J, Wu G, Liu R, et al. Prostaglandin E1 (PGE1) reduces cardiac-derived TXA2 release in ischaemic arrest in isolated working rat heart. *Int J Cardiol*. 1996;55(3):265-270.
- [26] Bai W, Zheng X, Zhou L, et al. Prostaglandin E1 dose-dependently promotes stability of atherosclerotic plaque in a rabbit model. *Can J Physiol Pharmacol*. 2012;90(2): 131-139.
- [27] Li J, Yang P, Li A, et al. Cardioprotective effect of liposomal prostaglandin E1 on a porcine model of myocardial infarction reperfusion no-reflow. *Journal of Zhejiang University Science B*. 2011;12(8):638-643.
- [28] Jia Y, Lin J, Zeng W, et al. Effect of prostaglandin on luteinizing hormone-stimulated proliferation of theca externa cells from chicken prehierarchical follicles. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2010;92(1-4):77-84.
- [29] 符晓阳, 蔡传奇, 郑鸿, 等. 前列腺素E1促进血管内皮细胞增生和迁移及其机制[J]. *中华医学杂志*, 2013, 93(3):222-225.