

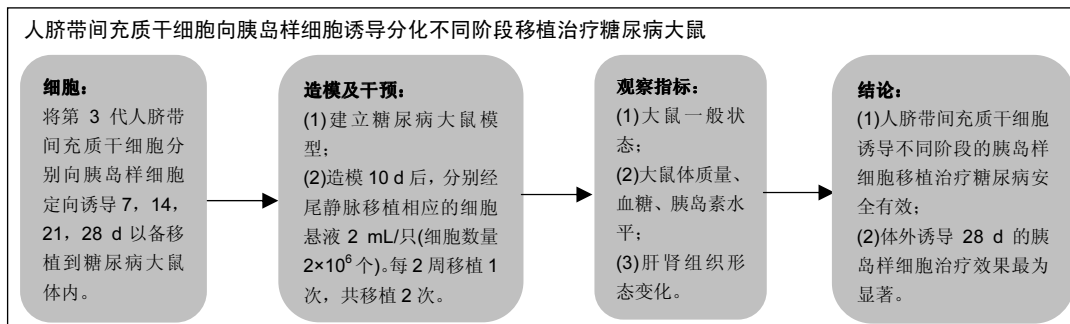
人脐带间充质干细胞诱导分化不同阶段的胰岛样细胞移植治疗糖尿病

山霞¹, 崔晓兰², 时瀚¹, 申义¹, 王嘉¹, 张社毅¹, 郭波¹, 王意忠¹(¹北京大学航天临床医学院血液内分泌科, 北京市 100049; ²中国中医科学院中药研究所药理学室, 北京市 100700)

引用本文: 山霞, 崔晓兰, 时瀚, 申义, 王嘉, 张社毅, 郭波, 王意忠. 人脐带间充质干细胞诱导分化不同阶段的胰岛样细胞移植治疗糖尿病[J]. 中国组织工程研究, 2017, 21(29):4703-4708.

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.2017.29.019 ORCID: 0000-0002-3419-4566(王意忠)

文章快速阅读:



山霞, 女, 1989年生, 山东省日照市人, 汉族, 北京大学医学部在读硕士, 主要从事干细胞治疗糖尿病的基础研究。

通讯作者: 王意忠, 博士, 主任医师, 北京大学航天临床医学院血液内分泌科, 北京市 100049

中图分类号: R394.2

文献标识码: B

文章编号: 2095-4344

(2017)29-04703-06

稿件接受: 2017-05-09

文题释义:

胰岛B细胞: 是胰岛细胞的一种, 属内分泌细胞, 约占胰岛细胞总数的70%, 主要位于胰岛中央部, 能分泌胰岛素, 起调节血糖含量的作用。胰岛B细胞功能受损, 胰岛素分泌绝对或相对不足, 从而引发糖尿病。

胰岛素: 是由胰腺内的胰岛β细胞受内源性或外源性物质如葡萄糖、乳糖、核糖、精氨酸、胰高血糖素等刺激而分泌的一种蛋白质激素。胰岛素是体内惟一降低血糖的激素, 同时促进糖原、脂肪、蛋白质合成。脐带间充质干细胞在一定条件下能够诱导为胰岛样细胞, 分泌胰岛素, 移植后产生降糖作用。

摘要

背景: 实验室前期已对人脐带间充质干细胞进行不同时期的体外定向诱导, 使其成功分化为胰岛样细胞, 并检测到胰岛素表达。

目的: 观察人脐带间充质干细胞诱导分化不同阶段的胰岛样细胞在糖尿病大鼠模型体内的治疗效果, 探索体外诱导的最佳时长。

方法: 将第3代人脐带间充质干细胞在体外定向诱导7, 14, 21, 28 d使其分化为胰岛样细胞。选用清洁级健康Wistar大鼠80只, 取8只做正常对照组, 其余72只造模成功后, 随机分为6组, 分别为模型对照组、未诱导组、诱导7 d组、诱导14 d组、诱导21 d组、诱导28 d组。造模10 d后, 分别经尾静脉移植相应的细胞悬液2 mL/只(细胞数量 2×10^6 个)。正常对照组和模型对照组经尾静脉注射不含任何细胞的培养液2 mL/只。每2周移植1次, 共移植2次。治疗过程中检测各组大鼠的血糖、体质量、血清胰岛素水平, 第2次细胞移植4周后处死大鼠, 观察各脏器组织病理变化。

结果与结论: ①与模型对照组相比, 各治疗组体质量上升, 血糖下降, 胰岛素水平升高, 差异有显著性意义($P < 0.05$), 且诱导28 d组治疗效果最佳; ②各治疗组病理切片显示, 肝脏和肾脏组织结构清晰, 未发生坏死、纤维化等异常改变; ③实验结果表明, 人脐带间充质干细胞诱导不同阶段的胰岛样细胞移植治疗糖尿病安全有效, 体外诱导28 d的胰岛样细胞治疗效果最为显著。

关键词:

干细胞; 移植; 人脐带间充质干细胞; 诱导分化; 糖尿病; 胰岛样细胞; 胰岛素

主题词:

糖尿病; 脐带; 间质干细胞; 细胞分化; 胰岛素分泌细胞; 组织工程

基金资助:

北京大学航天临床医学院科研基金资助项目(201302)

Shan Xia, Studying for master's degree, Department of Hematology and Endocrinology, Peking University Aerospace School of Clinical Medicine, Beijing 100049, China

Corresponding author: Wang Yi-zhong, M.D., Chief physician, Department of Hematology and Endocrinology, Peking University Aerospace School of Clinical Medicine, Beijing 100049, China

Transplantation of islet-like cells from human umbilical cord mesenchymal stem cells at different induced stages for the treatment of diabetic mellitus

Shan Xia¹, Cui Xiao-lan², Shi Han¹, Shen Yi¹, Wang Jia¹, Zhang She-yi¹, Guo Bo¹, Wang Yi-zhong¹ (¹Department of Hematology and Endocrinology, Peking University Aerospace School of Clinical Medicine, Beijing 100049, China; ²Pharmacology Laboratory, Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical

Sciences, Beijing 100700, China)

Abstract

BACKGROUND: In previous studies, the human umbilical cord mesenchymal stem cells (hUC-MSCs) have been successfully differentiated into islet-like cells *in vitro*, and insulin expressions have been found.

OBJECTIVE: To compare the therapeutic effects of different induced stages of islet-like cells differentiated from hUC-MSCs in a diabetic rat *in vivo*, so as to find the most suitable induced time *in vitro* and provide a theoretical basis for clinical treatment of diabetes mellitus.

METHODS: Passage 3 hUC-MSCs were differentiated into islet-like cells after 7, 14, 21, 28 days of oriented induction. Eighty male healthy Wistar rats, clean grade, were used in the study. Except eight rats in normal control group, all the rats were injected with streptozotocin at a dose of 70 mg/kg to establish diabetic models. The rats at 10 days after successful modeling were randomly divided into model control group, non-induced group, 7-day induction group, 14-day induction group, 21-day induction group and 28-day induction group. Rats in the normal control group and model control group were given 2 mL of culture medium without any cells and rats in the other groups were implanted with corresponding cell suspension (2×10^6 cells) *via* tail vein for two sessions with an interval of 2 weeks. The blood glucose level, body mass and serum insulin level were detected during the treatment process. The rats were executed to observe the structure changes of each organ at 4 weeks after the second cell transplantation.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Compared with the model control group, the body mass and the serum insulin level significantly increased and the blood glucose levels significantly decreased in all the transplantation groups ($P < 0.05$), and the therapeutic effect was best in the 28-day induction group. (2) Compared with the model control group and normal control group, the frozen sections in all the transplantation groups showed that the morphological structures of the liver and kidney were clear with no abnormal changes, such as necrosis and fibrosis, after transplantation. These experimental results show that it is relatively safe and effective to transplant the different induced stages of islet-like cells induced by hUC-MSCs in the treatment of diabetes mellitus, and the therapeutic effect of islet-like cells at 28 days of *in vitro* induction is most obvious.

Subject headings: Diabetes Mellitus; Umbilical Cord; Mesenchymal Stem Cells; Cell Differentiation; Insulin-Secreting Cells; Tissue Engineering

Funding: the Scientific Research Fund of the Aerospace Clinical Medical College of Peking University, No. 201302

Cite this article: Shan X, Cui XL, Shi H, Shen Y, Wang J, Zhang SY, Guo B, Wang YZ. Transplantation of islet-like cells from human umbilical cord mesenchymal stem cells at different induced stages for the treatment of diabetic mellitus. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2017;21(29):4703-4708.

0 引言 Introduction

糖尿病是一组以高血糖为特征的代谢性疾病,严重影响患者的生活质量^[1]。目前临床上只能用药物控制血糖水平,进行对症治疗。结果是大多数患者血糖控制不理想,并发症难以避免^[2]。因此寻找有效的对因治疗方法,修复胰岛 β 细胞的损伤和再生,是一个重要的研究课题。干细胞独特的生物学特性是治疗糖尿病的希望^[3]。

间充质干细胞是一类具有多向分化潜能的成体干细胞,可诱导分化为成脂细胞、成骨细胞、心肌细胞和胰岛样细胞等^[4-7]。人脐带间充质干细胞(human umbilical mesenchymal stem cells, HuMSCs)因其来源广泛、易于获取、增殖能力强、不涉及伦理问题等优点^[8-10],可作为新型的种子细胞。研究证实,人脐带间充质干细胞及其诱导后的胰岛样细胞均不表达移植排斥相关的细胞表面标记CD80、CD86、CD40、CD40L,表明人脐带间充质干细胞诱导前后均为低免疫原性^[11],细胞移植后不会产生免疫排斥反应,这为人脐带间充质干细胞诱导前后的移植治疗提供理论基础,从而可以作为移植治疗糖尿病的细胞来源。

实验室前期已将人脐带间充质干细胞体外定向诱导分化为胰岛样细胞,流式细胞仪检测结果显示,诱导7, 14, 21, 28 d细胞的胰岛素表达分别为1.72%、3.07%、23.58%、

57.02%,说明随着诱导时间延长,胰岛素表达量增高^[12]。本实验在前期研究的基础上进一步验证人脐带间充质干细胞诱导分化后的胰岛样细胞在体内能否发挥降糖作用,并探索诱导28 d的胰岛样细胞移植治疗糖尿病的降糖作用是否优于其他诱导时间点,为临床治疗糖尿病提供理论依据。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 于2015年12月至2016年9月在北京大学航天临床医学院完成。

1.3 材料

1.3.1 实验动物 8周龄Wistar健康雄性大鼠80只,体重180-200 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号:SCXK(京)2012-0001。实验过程中对动物的处置符合相关伦理学标准。

1.3.2 细胞 人脐带间充质干细胞由北京大学航天临床医学院中心实验室提供。

1.3.3 主要试剂及仪器 β -神经生长因子、活化素A、尼克酰胺、表皮生长因子、碱性成纤维生长因子(Sigma公司);血糖仪及血糖试纸(Roche公司);柠檬酸和柠檬酸钠、链脲佐菌素(Sigma公司);ELISA试剂盒(上海酶联生物公司);

Versa Max酶标仪(Molecular Devices公司); 显微镜(Leica公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 建立糖尿病动物模型^[13-16] 80只大鼠进行适应性饲养3 d后, 随机取8只作为正常对照组, 其余72只建立糖尿病模型。首先用0.1 mol/L柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液(pH 4.2-4.5)将链脲佐菌素配制成0.1%注射液, 避光冰浴, 大鼠空腹18 h后腹腔注射70 mg/kg。注射后3 d检测血糖, 连续3次血糖浓度高于16.7 mol/L表示造模成功。

1.4.2 动物分组 将造模后大鼠随机分为模型对照组、未诱导组、诱导7 d组、诱导14 d组、诱导21 d组、诱导28 d组, 每组12只。

1.4.3 实验室前期细胞诱导方案 取传至第3代的人脐带间充质干细胞, 融合至80%-90%时向培养基中加入100 μg/L β-神经生长因子, 4 nmol/L活化素A, 10 mmol/L尼克酰胺, 25 μg/L表皮生长因子, 诱导14 d。然后培养基换用10 mmol/L尼克酰胺, 10 μg/L碱性成纤维细胞生长因子, 1%胰岛素-转铁蛋白-硒, 继续诱导14 d, 共诱导28 d。根据该方案将人脐带间充质干细胞分别在移植前7, 14, 21, 28 d开始诱导, 以使移植时达到相应的诱导时长。

1.4.4 细胞移植^[17] 造模10 d后, 未诱导组、诱导7 d组、诱导14 d组、诱导21 d组、诱导28 d组分别经尾静脉移植相应的细胞悬液2 mL/只(细胞数量 2×10^6 个)。正常对照组和模型对照组经尾静脉注射不含任何细胞的培养液2 mL/只。每2周移植1次, 共移植2次。第2次移植后继续观察4周, 然后处死所有大鼠, 进行标本采集。

1.4.5 体质量及血糖检测 第1次细胞移植后, 分别于第7, 14, 21, 28, 35, 42天检测各组大鼠的体质量和血糖。血糖检测时先用体积分数为75%乙醇消毒大鼠尾端, 然后使用罗氏血糖仪通过尾静脉采血检测大鼠空腹血糖水平。

1.4.6 血清胰岛素检测 第1次细胞移植42 d后, 各组大鼠禁食8 h, 经眼眶进行空腹取血后, 以20%葡萄糖行腹腔注射2 g/kg, 2 h后再次眼眶取血, 离心取上清液, 使用胰岛素ELISA试剂盒检测各组大鼠血清胰岛素水平。

1.4.7 组织病理学观察 动物处死后, 取出各组大鼠肝脏和肾脏, 用组织液固定, 经梯度乙醇脱水, 二甲苯透明处理, 石蜡包埋后切片, 苏木精-伊红染色后于光学显微镜下观察细胞移植后各组大鼠肝肾组织是否发生病理形态学变化。

1.5 主要观察指标 ①大鼠血糖及体质量变化; ②血清胰岛素水平; ③肝肾组织形态变化。

1.6 统计学分析 所得数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用SPSS 19.0软件进行统计学分析, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 除模型对照组在后期死亡3只大

鼠, 其他各组大鼠的生命体征较好, 无脱失, 均进入结果分析。

2.2 一般状态 所有大鼠移植前后生命体征平稳。正常对照组大鼠精神状态良好, 动作自如, 反应灵敏, 毛发平伏有光泽。而模型对照组大鼠精神萎靡, 反应迟钝, 毛发无光泽, 动作迟缓, 弓背蜷体, 多饮多食多尿等症状明显。各治疗组大鼠精神状态、毛发光泽度较模型对照组好, 多饮多食多尿等症状有所缓解。

2.3 大鼠体质量变化 细胞移植治疗前, 正常对照组大鼠体质量明显大于模型对照组和各治疗组, 差异有非常显著性意义($P < 0.01$), 模型对照组和各治疗组大鼠体质量差异均无显著性意义($P > 0.05$)。

细胞移植治疗后, 随治疗时间延长, 模型对照组糖尿病大鼠体质量逐渐下降, 各治疗组大鼠体质量出现不同程度升高, 与同期模型对照组相比, 细胞移植7 d后, 诱导28 d组的大鼠体质量显著升高($P < 0.01$), 其他各治疗组大鼠体质量从第14天起显著升高($P < 0.01$), 但均未恢复正常, 与正常对照组相比差异有非常显著性意义($P < 0.01$); 治疗后第35天起, 诱导28 d组大鼠体质量显著高于其他各治疗组, 差异有非常显著性意义($P < 0.01$), 见图1。由此可见, 各治疗组均可不同程度的升高大鼠体质量水平, 而诱导28 d组体质量上升比其他各组明显。

2.4 血糖水平 造模前大鼠空腹血糖水平均处于正常范围(2.80-7.56 mmol/L^[18]); 造模后, 正常对照组大鼠血糖水平处于正常范围, 而模型对照组和各治疗组大鼠血糖水平大于16.7 mmol/L, 与正常对照组相比差异有非常显著性意义($P < 0.01$), 模型对照组与各治疗组之间大鼠血糖水平差异无显著性意义($P > 0.05$)。

细胞移植治疗后, 与模型对照组相比, 各治疗组大鼠血糖从治疗第14天起显著降低, 其中诱导21 d组和诱导28 d组从治疗第7天起显著降低, 差异有非常显著性意义($P < 0.01$), 但均未恢复正常, 与正常对照组相比差异有非常显著性意义($P < 0.01$); 治疗21 d以后, 诱导28 d组大鼠血糖水平显著低于其他各治疗组, 差异有非常显著性意义($P < 0.01$), 见图2。由此可见, 各治疗组细胞移植后均可不同程度的降低大鼠血糖, 而诱导28 d组降糖效果优于其他各组。

2.5 大鼠血清胰岛素水平 治疗42 d后, 与正常对照组相比, 模型对照组空腹及经葡萄糖刺激后血清胰岛素水平明显下降($P < 0.01$), 处于低分泌状态; 与模型对照组相比, 各治疗组大鼠空腹及腹腔注射葡萄糖2 h后血清胰岛素水平明显升高($P < 0.01$), 其中腹腔注射葡萄糖2 h后, 诱导28 d组血清胰岛素水平明显高于其他各治疗组, 差异有显著性意义($P < 0.05$), 见图3。由此可见, 细胞移植治疗均可不同程度地提高糖尿病大鼠的血清胰岛素水平, 提高葡萄糖刺激的反应性, 一定程度上改善胰岛功能, 而且诱导28 d组胰岛素升高水平较其他各组明显。

○ 正常对照组 ● 模型对照组 □ 未诱导组 ■ 诱导 7 d 组
 △ 诱导 14 d 组 ▲ 诱导 21 d 组 ◇ 诱导 28 d 组

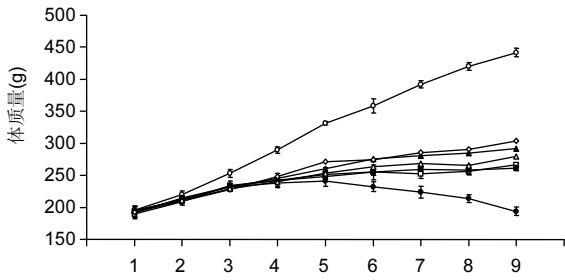


图 1 各组大鼠体重质量变化

Figure 1 Body mass changes of rats in each group

图注: 1: -10 d(注射链脲佐菌素溶液); 2: -7 d; 3: 0 d(第 1 次细胞移植); 4: 7 d; 5: 14 d(第 2 次细胞移植); 6: 21 d; 7: 28 d; 8: 35 d; 9: 42 d.

○ 正常对照组 ● 模型对照组 □ 未诱导组 ■ 诱导 7 d 组
 △ 诱导 14 d 组 ▲ 诱导 21 d 组 ◇ 诱导 28 d 组

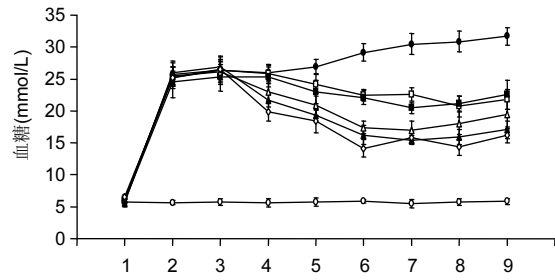


图 2 各组大鼠血糖水平变化

Figure 2 Blood glucose level changes of rats in each group

图注: 1: -10 d(注射链脲佐菌素溶液); 2: -7 d; 3: 0 d(第 1 次细胞移植); 4: 7 d; 5: 14 d(第 2 次细胞移植); 6: 21 d; 7: 28 d; 8: 35 d; 9: 42 d.

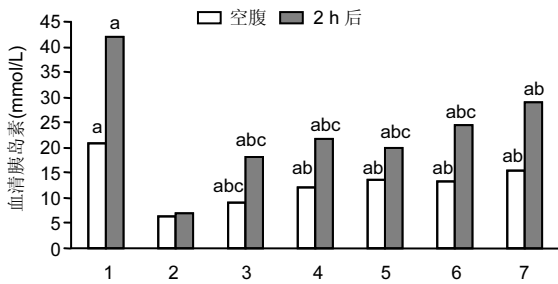


图 3 各组大鼠血清胰岛素水平

Figure 3 Serum insulin levels of rats in each group

图注: 1: 正常对照组; 2: 模型对照组; 3: 未诱导组; 4: 诱导 7 d 组; 5: 诱导 14 d 组; 6: 诱导 21 d 组; 7: 诱导 28 d 组。与模型对照组相比, ^a $P < 0.01$; 与正常对照组相比, ^b $P < 0.01$; 与同期诱导 28 d 组相比, ^c $P < 0.05$ 。

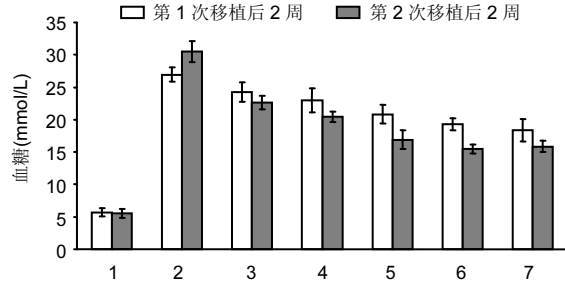


图 6 第 1 次移植 2 周后和第 2 次移植 2 周后血糖水平

Figure 6 Blood glucose levels of rats at 2 weeks after first and second cell transplantations

图注: 1: 正常对照组; 2: 模型对照组; 3: 未诱导组; 4: 诱导 7 d 组; 5: 诱导 14 d 组; 6: 诱导 21 d 组; 7: 诱导 28 d 组。

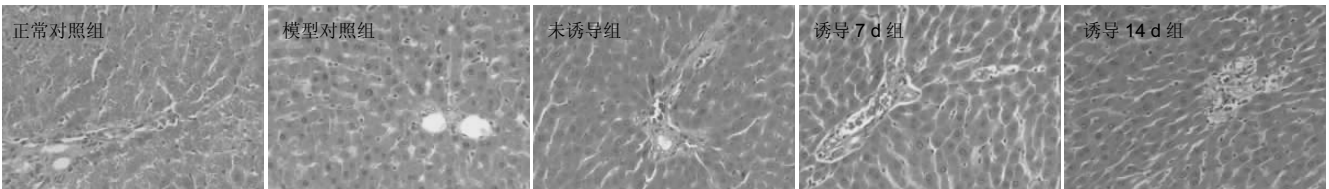


图 4 治疗 42 d 后各组大鼠肝组织形态(苏木精-伊红染色, ×200)

Figure 4 Morphology of the rat liver at 42 days after first transplantation in each group (hematoxylin-eosin staining, ×200)

图注: 脐带间充质干细胞治疗 42 d 后, 与正常对照组和模型对照组相比, 未诱导组、诱导 7 d 组、诱导 14 d 组、诱导 21 d 组和诱导 28 d 组大鼠肝脏组织结构尚清晰, 未见明显坏死、纤维化。

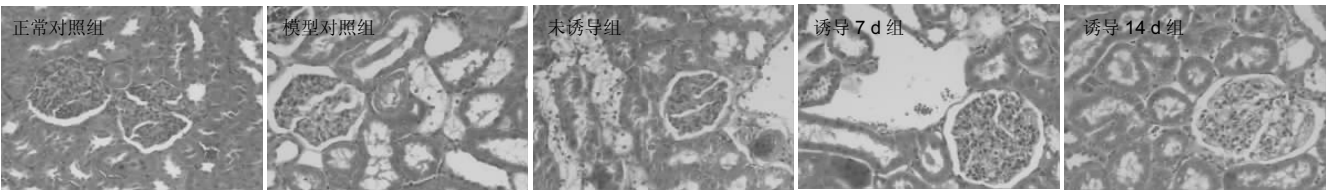


图 5 治疗 42 d 后各组大鼠肾组织形态(苏木精-伊红染色, ×200)

Figure 5 Morphology of the kidney at 42 days after first transplantation in each group (hematoxylin-eosin staining, ×200)

图注: 脐带间充质干细胞治疗 42 d 后, 与正常对照组和模型对照组相比, 未诱导组、诱导 7 d 组、诱导 14 d 组、诱导 21 d 组和诱导 28 d 组大鼠肾脏组织结构尚清晰, 未见明显坏死、纤维化。

2.6 大鼠肝肾组织病理形态 人脐带间充质干细胞治疗后42 d病理切片显示, 未诱导组、诱导7 d组、诱导14 d组、诱导21 d组和诱导28 d组的大鼠肝肾组织结构清晰可见, 均未发生坏死, 纤维化, 尚未发现肿瘤组织形成。

与正常对照组和模型对照组比较, 移植后各组大鼠肝肾组织形态无显著性异常改变, 见图4和图5。

3 讨论 Discussion

干细胞治疗糖尿病是一项前景广阔的胰岛素替代疗法^[19]。骨髓、脐带、胚胎等来源的干细胞已经用于糖尿病再生疗法的研究^[20-22]。鉴于人脐带间充质干细胞来源广泛、易于获取、增殖能力强、不涉及伦理问题等优点, 实验采用人脐带间充质干细胞治疗糖尿病大鼠。以下从安全性和治疗效果两方面进行分析。

3.1 安全性 以往很多研究将干细胞经门静脉、肾被膜下等方式移植到大鼠体内^[23-24], 虽然有一定治疗效果, 但这种移植方式手术创伤大、风险高, 应用困难。实验选择尾静脉进行移植, 可以避免手术风险, 具有操作简单、安全、创伤小等优点。

Zhang等^[25-26]实验发现经干细胞治疗是安全的, 且经静脉将人脐带间充质干细胞植入大鼠体内, 检测血常规、血生化、各脏器病理等指标, 证明该移植方式对动物模型无不良影响。本实验组织病理切片显示细胞治疗各组肝肾组织脏器结构清晰, 无明显坏死、纤维化, 表明诱导不同阶段的各组细胞经尾静脉移植治疗糖尿病大鼠是安全可靠的。因此, 随着未来研究的不断深入, 静脉注射或将成为临床上干细胞治疗糖尿病安全有效的移植方式。

3.2 治疗效果 很多研究将未诱导的干细胞直接移植到糖尿病动物体内^[27-28], 移植后高血糖状态得到一定程度的纠正, 同时体质量及血清胰岛素等也出现不同程度的升高。相对于干细胞直接移植, 干细胞经体外诱导后, 可以提高胰岛素和C肽的总体表达率。

实验将人脐带间充质干细胞诱导到不同阶段后植入糖尿病大鼠体内, 比较不同诱导阶段细胞治疗糖尿病大鼠的效果。图1-3显示细胞移植治疗后各组大鼠血糖水平降低, 同时血清胰岛素水平升高, 各组大鼠体质量呈现上升趋势, 而模型对照组糖尿病大鼠血糖逐渐升高, 血清胰岛素水平相对较低, 体质量逐渐下降; 与模型对照组相比, 细胞移植后的各组大鼠血糖水平明显降低, 且体外诱导28 d后治疗效果最好, 血糖由平均值25.2 mmol/L下降到平均值14.8 mmol/L, 约降为模型对照组的1/2。实验表明移植入糖尿病大鼠体内的各组细胞可以迅速与体内环境相容并分泌胰岛素, 短期内可以有效缓解大鼠高血糖症状, 修复胰岛功能, 并且人脐带间充质干细胞经诱导后移植治疗效果更好, 随着诱导时间延长, 移植后治疗效果更加显著。

图6将图2中第1次移植2周后和第2次移植2周后2个时

间节点的血糖值作图, 可以得到2个结论: 第一, 不同治疗组组间比较显示, 随着诱导时间延长, 血糖下降趋势更加明显; 第二, 同一治疗组内比较显示, 第2次移植后血糖下降趋势更加明显。

经过以上分析可见, 人脐带间充质干细胞在体外向胰岛样细胞定向诱导28 d后, 经尾静脉移植到糖尿病大鼠体内后治疗效果最为显著, 这为临床治疗糖尿病选择体外最佳诱导阶段提供了理论支持。该方法不仅安全、创伤小, 而且能够较好地缓解大鼠糖尿病症状。后续实验可以使用犬、猴等体型相对较大的动物作为实验对象, 进一步探讨人脐带间充质干细胞诱导的胰岛样细胞对糖尿病动物的治疗效果。

综上所述, 人脐带间充质干细胞定向诱导后治疗糖尿病效果明显, 前景广阔, 为临床治疗糖尿病提供理论基础, 对糖尿病细胞治疗产生了积极的影响。当然, 实验还有优化的空间, 下一步课题组将会继续深入研究。

致谢: 感谢北京大学航天临床医学院中心实验室老师给予细胞培养方面的帮助; 感谢中国中医科学院中药研究所药理研究室老师及病理科老师在动物取材标本制作等方面给予的帮助。

作者贡献: 实验设计为通讯作者和第一作者, 实验主要实施为第一作者, 协助实施为第四、五、六、七作者。实验评估为第二、三作者, 第一作者负责资料收集、数据统计学处理及成文。通讯作者审核, 第一作者对文章负责, 通讯作者为课题负责人。

利益冲突: 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题: 实验方案经北京大学航天临床医学院动物实验伦理委员会批准, 批准号为 20151111-BY-04。实验过程遵循了国际兽医学编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》和本地及国家法规。实验动物在戊巴比妥钠麻醉下进行所有的手术, 并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。文章的撰写与编辑修改后文章遵守了《动物实验体内实验研究报告规范指南》(ARRIVE 指南)。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享3.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] Kharroubi AT, Darwish HM. Diabetes mellitus: The epidemic of the century. World J Diabetes. 2015;6(6):850-867.
- [2] van Dieren S, Beulens JW, van der Schouw YT, et al. The global burden of diabetes and its complications: an emerging pandemic. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil. 2010;17 Suppl 1: S3-8.

- [3] Vanikar AV, Trivedi HL, Thakkar UG. Stem cell therapy emerging as the key player in treating type 1 diabetes mellitus. *Cytotherapy*. 2016;18(9):1077-1086.
- [4] Friedenstein AJ, Piatetzky-Shapiro II, Petrakova KV. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. *J Embryol Exp Morphol*. 1966;16(3):381-390.
- [5] Tsai PJ, Wang HS, Shyr YM, et al. Transplantation of insulin-producing cells from umbilical cord mesenchymal stem cells for the treatment of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Biomed Sci*. 2012;19:47.
- [6] Tsai PJ, Wang HS, Lin CH, et al. Intraportal injection of insulin-producing cells generated from human bone marrow mesenchymal stem cells decreases blood glucose level in diabetic rats. *Endocr Res*. 2014;39(1):26-33.
- [7] Wang HS, Hung SC, Peng ST, et al. Mesenchymal stem cells in the Wharton's jelly of the human umbilical cord. *Stem Cells*. 2004;22(7):1330-1337.
- [8] Wang HS, Shyu JF, Shen WS, et al. Transplantation of insulin-producing cells derived from umbilical cord stromal mesenchymal stem cells to treat NOD mice. *Cell Transplant*. 2011;20(3):455-466.
- [9] Li T, Xia M, Gao Y, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells: an overview of their potential in cell-based therapy. *Expert Opin Biol Ther*. 2015;15(9):1293-1306.
- [10] Tsai PJ, Wang HS, Lin GJ, et al. Undifferentiated Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cell Transplantation Induces Insulin-Producing Cell Differentiation and Suppression of T-Cell-Mediated Autoimmunity in Nonobese Diabetic Mice. *Cell Transplant*. 2015;24(8):1555-1570.
- [11] 林丽敏,邱学荣,邱晓燕,等.人脐带间充质干细胞、人脐带间充质干细胞源男性生殖细胞样细胞的免疫学特性[J].实用儿科临床杂志,2011,26(17):1343-1346.
- [12] 李伟中,邱晓燕,邱学荣,等.人脐带间充质干细胞向胰岛素分泌细胞分化过程免疫特性的研究[J].中国小儿血液与肿瘤杂志,2011,16(4):173-177.
- [13] El-Hossary N, Hassanein H, El-Ghareeb AW, et al. Intravenous vs intraperitoneal transplantation of umbilical cord mesenchymal stem cells from Wharton's jelly in the treatment of streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract*. 2016;121:102-111.
- [14] Xin Y, Jiang X, Wang Y, et al. Insulin-Producing Cells Differentiated from Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells In Vitro Ameliorate Streptozotocin-Induced Diabetic Hyperglycemia. *PLoS One*. 2016;11(1):e0145838.
- [15] 臧丽,谢宗燕,刘杰杰,等.骨髓和脂肪来源的间充质干细胞治疗2型糖尿病的疗效比较[J].解放军医学杂志,2016,41(7):534-538.
- [16] Vivatbutsiri P, Nowwarote N, Sawangmake C, et al. Characterization of femur, mandible and bone marrow-derived mesenchymal stromal cells from streptozotocin-injected mice. *Thai Veterinary Medicine*. 2014;44(4):477-486.
- [17] Banerjee M, Kumar A, Bhonde RR. Reversal of experimental diabetes by multiple bone marrow transplantation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;328(1):318-325.
- [18] 方厚华.医学实验模型动物[M].北京:军事医学出版社,2002:28-50.
- [19] Borisov MA, Petrakova OS, Gvazava IG, et al. Stem Cells in the Treatment of Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Acta Naturae*. 2016;8(3):31-43.
- [20] Banerjee M, Kumar A, Bhonde RR. Reversal of experimental diabetes by multiple bone marrow transplantation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;328(1):318-325.
- [21] Parekh VS, Joglekar MV, Hardikar AA. Differentiation of human umbilical cord blood-derived mononuclear cells to endocrine pancreatic lineage. *Differentiation*. 2009;78(4):232-240.
- [22] Shah R, Jindal RM. Reversal of diabetes in the rat by injection of hematopoietic stem cells infected with recombinant adeno-associated virus containing the preproinsulin II gene. *Pancreatology*. 2003;3(5):422-428.
- [23] Li T, Zhu J, Ma K, et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation promotes liver regeneration after portal vein embolization in cirrhotic rats. *J Surg Res*. 2013;184(2):1161-1173.
- [24] Nam JS, Kang HM, Kim J, et al. Transplantation of insulin-secreting cells differentiated from human adipose tissue-derived stem cells into type 2 diabetes mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014;443(2):775-781.
- [25] Zhang Z, Fu J, Xu X, et al. Safety and immunological responses to human mesenchymal stem cell therapy in difficult-to-treat HIV-1-infected patients. *AIDS*. 2013;27(8):1283-1293.
- [26] Xie B, Gu P, Wang W, et al. Therapeutic effects of human umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation on hypoxic ischemic encephalopathy. *Am J Transl Res*. 2016;8(7):3241-3250.
- [27] Shao CH, Chen SL, Dong TF, et al. Transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells after regional hepatic irradiation ameliorates thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. *J Surg Res*. 2014;186(1):408-416.
- [28] Yu F, Ji S, Su L, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells inhibit activation of hepatic stellate cells in vitro and ameliorate rat liver fibrosis in vivo. *J Formos Med Assoc*. 2015;114(2):130-138.