DOI:10.16016/j.1000-5404.201510058

聚肌苷酸胞苷酸增强间充质干细胞对脓毒症大鼠肠屏障功能的保护作用

陈晓明,朱 娱,郑丹阳,李 涛,刘良明 (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所第二研究室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室)

[摘要] **目的** 观察间充质干细胞(mesenchymal stem cells,MSCs)及聚肌苷酸胞苷酸 poly(I:C)预刺激 MSCs 对脓毒症大鼠肠屏障功能的保护作用。**方法** 采用盲肠结扎穿孔(cecal ligation puncture,CLP)诱导大鼠脓毒症模型,将 SD 大鼠随机分为 5 个组:正常对照组、脓毒症组、常规治疗组(乳酸林格液体复苏 + 血管活性药多巴胺 + 头孢呋辛钠)、MSCs 治疗组(MSCs 3×10^6/只 + 常规治疗)和 ploy(I:C)预刺激 MSCs 组[poly(I:C)20 μg/mL 预刺激 MSCs 24 h + 常规治疗],观察不同处理组大鼠肠通透性,血中 D 乳酸、细菌内毒素浓度、肠病理组织形态及动物存活时间、存活率的变化。**结果** 与正常对照组相比,脓毒症大鼠肠通透性、血中 D 乳酸、细菌内毒素浓度显著增高($P<0.01$),病理结果显示肠绒毛断裂、减少,上皮细胞坏死脱落,炎细胞、红细胞增多。常规治疗后第 3 天,同脓毒症组相比,大鼠肠通透性有改善,血 D 乳酸、细菌内毒素含量降低,肠绒毛损害及炎症减轻,长度增加;MSCs + 常规治疗后效果明显优于常规治疗组,而 poly(I:C)预刺激 MSC 可增强 MSCs 对肠屏障功能的保护作用,肠通透性及血中 D 乳酸、内毒素浓度显著降低($P<0.05$),病理结果显示肠上皮增生修复,肠绒毛增多,炎症明显减轻。**结论** poly(I:C)可增强 MSC 对脓毒症大鼠肠屏障功能的保护作用。

[关键词] 脓毒症;间充质干细胞;肠通透性; 聚肌苷酸胞苷酸
[中图法分类号] R329.2; R333.3; R631.2 [文献标志码] A

Poly(I:C)-pretreated MSCs protect intestinal barrier function in rats after sepsis

Chen Xiaoming, Zhu Yu, Zheng Danyang, Li Tao, Liu Liangming (State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Department 2, Institute of Surgical Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the protective effects of mesenchymal stem cells (MSCs) and polyriboinosinic:polyribocytidylic acid [poly(I:C)] pre-stimulated MSCs on the intestinal barrier function in sepsis rats. **Methods** The sepsis model of rats was established with cecal ligation and puncture (CLP). SD rats were randomly divided into normal control, sepsis, conventional treatment (conventional fluid resuscitation + dopamine + cefuroxime, CT), MSCs + CT (MSCs 3×10^6 cells/animal) and ploy(I:C) pre-stimulated MSCs + CT groups [MSC was pre-stimulated by poly (I:C) with 20 μg/mL for 24 h]. The intestinal permeability, levels of blood endotoxin and D-lactic acid (D-Lac), intestinal morphology and animal survival time and survival rates were observed. **Results** Compared with normal control group, the levels of intestinal permeability, D-Lac and endotoxin were significantly increased in sepsis rats ($P<0.01$). The pathological observation showed that the intestinal villi were obviously decreased, the inflammatory cells and red blood cells were significantly increased. In 3 d after conventional treatment, the intestinal barrier function were slightly improved, the levels of blood D-Lac and endotoxin were slightly reduced, and the intestinal injury had some extent of alleviation. MSCs treatment was better than the CT treatment. What's more, poly (I:C) pre-stimulation significantly enhanced the protective effect of MSCs along on intestinal barrier function. The concentrations of blood D-Lac and endotoxin were significantly reduced in poly(I:C) pre-stimulated MSCs

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81570441)
[通信作者] 刘良明, E-mail:liangmingliu@yahoo.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20160119.1704.007.html(2016-01-19)

group than in MSCs group ($P < 0.05$). The intestinal glands and villi were obviously increased and the inflammatory cells were significantly decreased in this group. **Conclusion** Poly(I:C) pre-stimulation enhances the protective effects of MSCs on intestinal barrier function in sepsis rats.

[**Key words**] sepsis; mesenchymal stem cells; intestinal permeability; poly(I:C)

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81570441). Corresponding author: Liu Liangming, E-mail: liangmingliu@yahoo.com

脓毒症是临床常见的危重病症。据统计全球每年有2 100万脓毒症患者,其发生率和病死率均很高[1]。肠屏障功能受损是脓毒症重要的病理生理过程,会直接导致肠道通透性升高,细菌入血,加重脓毒症,这也是启动多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome,MODS),甚至导致机体死亡的重要因素[2]。因此,保护脓毒症肠屏障功能显得非常重要,是防御MODS和降低脓毒症死亡率的关键之一。间充质干细胞(mesenchymal stem cells,MSCs)是来源于中胚层的一类多能干细胞,可分化成上皮细胞、脂肪细胞、成骨细胞等多种细胞,也可通过旁分泌多种营养趋化因子参与损伤组织的修复,如白细胞介素10(interleukin-10,IL-10)、转化生长因子β(transforming growth factor,TGF-β)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor,FGF)等[3-5]。近年研究发现,MSCs能通过多种因子如抗炎因子IL-10、前列腺素E2等的分泌,调节免疫细胞功能,增加巨噬细胞的杀菌及自身抗炎能力,显著改善脓毒症大鼠存活率[6-7]。此外,在炎症性肠病、放射性肠损伤、缺血再灌注肠损伤等多种疾病中,MSCs不仅可在受损的肠黏膜定植参与修复,还可通过旁分泌TGF-β、FGF等多种细胞因子促进肠上皮的增生,减少肠上皮的损伤凋亡,增加肠上皮紧密连接蛋白ZO-1、claudin的表达,维持肠屏障功能的动态平衡[8-9],但MSCs对脓毒症大鼠肠屏障功能的保护作用有待进一步明确。聚肌苷酸胞苷酸poly(I:C)是双链RNA类似物,Toll样受体激动剂。研究发现,poly(I:C)预刺激可增加MSCs的活性及旁分泌功能,显著提升MSC治疗效能,但它增强MSCs对器官的保护作用尚少见报道。为证实MSC及poly(I:C)预刺激的MSCs对脓毒症肠屏障功能的保护作用,本研究采用盲肠结扎穿孔(cecal ligation puncture,CLP)的方法复制脓毒症模型,观察MSCs及poly(I:C)预刺激MSCs对脓毒症大鼠存活率及生存时间、肠通透性、血中D乳酸、细菌内毒素浓度和小肠病理学的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

SPF级SD大鼠,12~14周龄,体质量(200±20)g(第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供),DMEM/F12培养基、胰蛋白酶购自美国HyClone公司,FBS购自美国Science Cell公司,血D乳酸、LPS ELISA试剂盒购自中国南京建成生物工程研究所,MSC标志物CD90、CD105购自英国Abcam公司,FITC(羊抗兔)、TRITC(羊抗鼠)荧光二抗购自中国中衫金桥公司。poly(I:C)、Evans Blue(EB)购自美国Sigma公司。

1.2 实验方案

将SD大鼠随机分为5组:正常对照组、脓毒症组、常规治疗组、MSCs治疗组、poly(I:C)预刺激MSCs组[poly(I:C)+MSCs],每组16只。常规治疗组大鼠给予乳酸林格尔液体(35 mL/kg)复苏,同时予以血管活性药物多巴胺(1.75 mg/kg)及头孢呋辛钠(100 mg/kg),使平均动脉血压(mean arterial blood pressure,MAP)>70 mmHg,中心静脉压维持在8 mmHg;MSCs治疗组在常规治疗的基础上静脉注射MSCs(3×10^6/只,重悬于0.5 mL PBS,CT组静脉注射0.5 mL PBS作为对照)进行复苏;Poly(I:C)预刺激组将poly(I:C)20 μg/mL预刺激MSCs 24 h后收集MSCs联合常规治疗。观察72 h各组SD大鼠存活率及生存时间、肠通透性、血中D乳酸、细菌内毒素浓度、小肠病理变化。

1.3 方法

1.3.1 大鼠MSCs的培养及鉴定 MSCs的提取及培养按文献[10]方法进行,取4周SD大鼠,体质量(90±20)g,予以戊巴比妥钠30 mg/kg麻醉后,消毒手术区皮肤,无菌环境下分离股骨和胫骨,切开长骨干两端后,用含血清的DMEM培养基冲出骨髓细胞,用5 mL空针将其吹打均匀,加入25 cm^2培养瓶中用含15%血清的DMEM/F12培养基培养,2~3 d消化换液,收集第3~5代细胞3×10^6个用于后续实验。MSCs的鉴定:取第3代细胞传于激光共聚焦培养皿,待其成长覆盖率70%~80%时检测MSC标志蛋白。细胞免疫荧光技术对MSC进行双标。常规多聚甲醛固定和Triton破膜,3% BSA封闭1 h,滴加一抗CD90(1∶100)和CD105(1∶100)37 ℃ 2 h,漂洗后孵绿色(羊抗兔IgG)和红色荧光(山羊抗鼠IgG)二抗,DAPI染核后激光共聚焦下观察。

1.3.2　脓毒症模型建立　　SD 大鼠常规消毒腹部,暴露盲肠,将盲肠内的粪便向盲肠末端充实,在距末端 0.6 cm 处用无菌丝线结扎,采用无菌的锥形针在已结扎盲肠远端中央处贯通穿刺后,将盲肠按原位送回腹腔,逐层缝合肌肉皮肤,放回笼中饲养。观察大鼠平均动脉血压(mean arterial blood pressure,MAP),当 MAP 下降 30% 或以上,建模成功,本实验模型成功率 70% 以上。

1.3.3　肠通透性、D 乳酸、内毒素、肠病理的观察　大鼠取全血用于测定 D 乳酸及细菌内毒素浓度(根据试剂盒说明书操作)。肠通透性采用 Evans Blue(EB)测定[11],取大鼠小肠 6 cm,生理盐水将肠腔冲净并制备肠囊。肠囊注入 0.2 mL 1.5% EB 溶液并置于 Krebs 液中 37 ℃水浴 30 min 后冲洗,至冲洗液澄清后 37 ℃干燥 24 h,加入甲酰胺溶液 50 ℃孵育 24 h,离心取上清液用紫外分光光度计检测,波长为 655 nm,根据标准曲线计算肠组织中 EB 含量。同时取一段小肠进行常规病理(HE 染色)观察,400 倍镜下统计每组 3 个视野肠绒毛长度,并对红细胞、炎性细胞进行计数。

1.4　统计学方法

存活时间和存活率用中位数及四分位数间距分析,其他计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件,进行重复测量单因素方差分析。

2　结果

2.1　分离 MSCs 的鉴定

镜下 MSCs 呈多边形,较小,有多个嵴,放射状集落生长。细胞免疫荧光显示 MSCs 的表面抗原标记物 CD105(绿色)和 CD90(红色)阳性(图 1)。

2.2　MSCs 及 poly(I:C)预处理 MSCs 对脓毒症大鼠肠通透性的影响

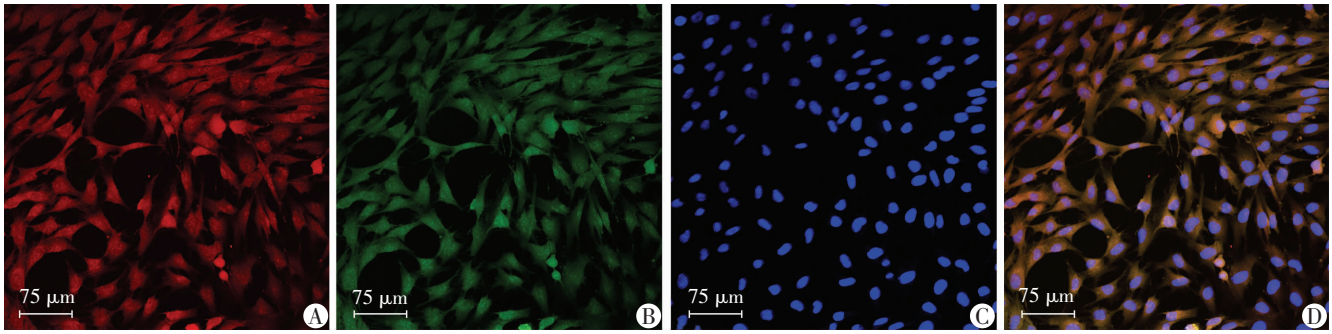
与正常对照组比较,脓毒症组大鼠小肠通透性明显增高,表现为肠道对 EB 的通透率和血中 D-lac 含量明显增加($P<0.05$)。正常对照组肠 EB 含量为(1.16 ± 0.08)mg/g,血 D-Lac 含量为(1.99 ± 0.31)μmol/mL;脓毒症组肠 EB 值和 D-lac 分别为(2.22 ± 0.22)mg/g、(4.67 ± 0.31)μmol/mL。常规治疗可部分改善肠屏障功能,3 d 后肠 EB 含量和血 D-Lac 降低为(1.63 ± 0.12)mg/g、(3.43 ± 0.35)μmol/mL。与常规治疗组相比,MSCs 治疗可显著改善肠屏障功能,表现为肠 EB 和血 D-Lac 水平进一步下降($P<0.05$),两指标降为(1.43 ± 0.11)mg/g 和(3.01 ± 0.24)μmol/mL;poly(I:C)可明显增加 MSCs 对肠屏障功能的保护作用($P<0.05$),其含量仅为(1.30 ± 0.06)mg/g 和(2.73 ± 0.28)μmol/mL。

2.3　MSCs 及 poly(I:C)预处理 MSCs 对脓毒症大鼠血细菌内毒素浓度的影响

与正常对照组相比,脓毒症组中细菌内毒素浓度显著增高,增加 156%,为(200.00 ± 12.86)EU/L;常规治疗后血中内毒素浓度有所降低,有一定效果;MSCs + 常规治疗后血中内毒素浓度显著减少,降低 29.10%;poly(I:C)预刺激 MSCs 可显著增强 MSCs 的保护作用,内毒素浓度降低 41%,为(118.60 ± 6.87)EU/L。

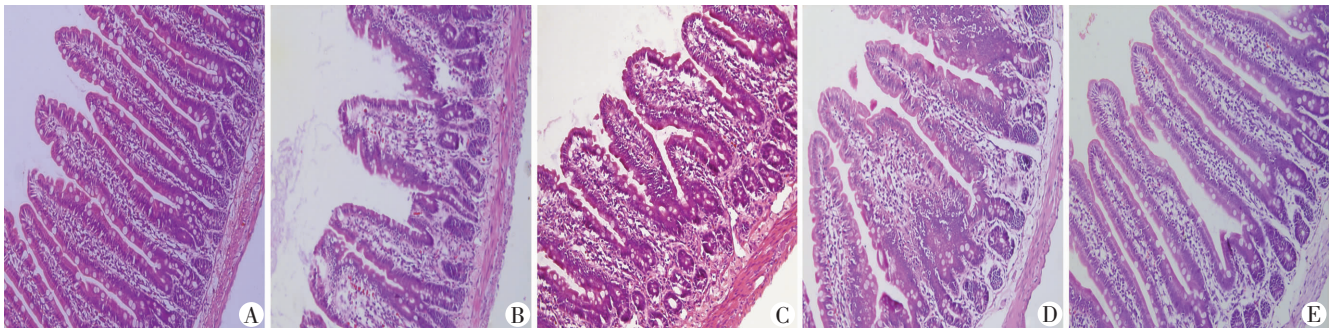
2.4　MSCs 及 poly(I:C)预处理 MSCs 对脓毒症大鼠小肠病理结构的影响

正常对照组小肠绒毛及腺体结构清晰,柱状上皮排列整齐,边缘为微绒毛组成的纹状缘,绒毛长度为(560 ± 28)μm,炎性细胞、红细胞分别为(24 ± 5)、(4 ± 2)个;脓毒症后小肠腺体萎缩,绒毛减少变短并断裂,为(435 ± 35)μm,杯状细胞、炎性细胞增多[(56 ± 6)个],红细胞渗出明显[(27 ± 6)个]。常规治疗小肠绒毛及腺体增多,柱状上皮细胞开始增生修复,炎症仍明显;MSCs 治疗后受损肠组织得到进一步修复,肠绒毛增多且长度增加为(510 ± 22)μm,炎症减轻明显;poly(I:C)预刺激能更好地发挥 MSCs 对肠道的保护作用,炎症明显减轻,肠绒毛长度为(535 ± 18)μm,红细胞渗出减少仅为(12 ± 4)个(图 2)。



A: CD90; B: CD105; C: DAPI; D: A、B、C 融合图像

图 1　荧光显微镜下观察 CD105(绿色)和 CD90(红色)标记 MSCs



A:正常对照组; B:脓毒症组; C:常规治疗组; D:MSCs 治疗组; E:poly(I:C)+MSCs 组

图 2 各组大鼠小肠组织病理学变化 (HE ×200)

2.5 MSCs 及 poly(I:C)预刺激 MSCs 对脓毒症大鼠存活率、存活时间的影响

脓毒症组大鼠存活率、存活时间很低,24 h 存活率仅为 18.75%(3/16),72 h 存活率、存活时间分别为 6.25%(1/16)和 9.2 h;常规治疗后可部分改善脓毒症大鼠存活时间、存活率;MSCs + 常规治疗后,显著提升脓毒症大鼠存活率、存活时间,其中 MSCs 组 24 h 存活率为 50%(8/16),72 h 存活率增至 37.50%(6/16),平均生存时间增加了 16 h;poly(I:C)预刺激可明显增加 MSCs 的保护作用,其平均存活时间增至 50 h,72 h 存活率上升至 50.00%(8/16)。

3 讨论

脓毒症发生率和病死率一直居高不下,肠道通透性增高在脓毒症病程进展中发挥了重要作用。目前常用的保护脓毒症肠屏障功能的措施有肠内营养、益生菌和肠黏膜保护剂等[12-13],虽有一定效用,但仍没完全解决此问题。近年,MSCs 在多种疾病的肠屏障功能保护中发挥了重要作用。Zhang 等[14]发现 MSCs 在治疗炎症性肠病时,可减轻血中 D-lac 浓度,上调紧密连接蛋白 ZO-1 表达。Chen 等[15]在 MSCs 治疗放射性肠损伤时,发现经肿瘤坏死因子 α 及白介素 1-β 预刺激的 MSCs 能增强旁分泌功能从而达到更好的治疗效果。同时研究[3,16-18]证实,MSCs 能显著改善脓毒症大鼠存活率,对脓毒症心、肝、肾、肺器官均有保护作用,其治疗脓毒症的主要机制为:①MSCs 的免疫调节作用,通过调节机体免疫细胞,如巨噬细胞、淋巴细胞、树突状细胞等,增强机体消炎杀菌能力;②MSCs 的旁分泌作用,分泌多种生长因子如 FGF、TGF 等参与受损组织的修复;③MSCs 的多向分化潜能,通过直接分化为受损组织细胞参与修复。目前尚少见 MSCs 保护脓毒症肠屏障功能的相关报道。本研究采用 CLP 建立脓毒症模型显示,与常规治疗相比,MSCs 联合常规治疗 3 d 后能较好地改善脓毒症大鼠的肠屏障功能,减轻血中 D 乳酸、内毒素浓度,并对肠组织有修复作用。Chen 等在 MSCs 治疗放射性肠损伤时也发现 3 d 后开始有效果,同时 Li 等通过共聚焦激光内镜发现经绿色荧光蛋白标记的 MSCs 在第 2 天和第 4 天在结肠黏膜固有层定植[19]:这些结果均验证了本研究的结论。但对于 MSCs 发挥保护作用的具体机制,尚需进一步研究。

由于干细胞大都属于异体移植,有一定免疫原性,这使得进入机体的干细胞容易遭受免疫攻击而凋亡,导致 MSCs 治疗效能较为低下。干细胞进入机体后的存活及其功能的保护成为关注的热点之一。如何保护干细胞进入机体后发挥更大的促组织修复效能,国内外学者做了大量研究。近年研究发现,poly(I:C)作为 Toll 样 3 受体的激动剂,可增强 MSCs 的治疗效果。Zhao 等[20]发现 poly(I:C)可通过降低 MSCs 的免疫原性,增强 MSCs 对脓毒症小鼠的治疗效果,提升脓毒症小鼠存活率及存活时间;Tomchuck 等[21]发现经 poly(I:C)能增强 MSCs 的迁移及免疫调节能力,提升 MSCs 活性。Mastri 等[22]研究发现,poly(I:C)可增强 MSCs 旁分泌多种营养因子的能力,如 TGF-β、基质衍生因子-1α、FGF 等,从而提升 MSCs 对受损组织的修复效能,但它能否增强 MSCs 对脓毒症大鼠肠屏障功能的保护作用少见相关报道。本研究发现,poly(I:C)增加了 MSCs 对脓毒症大鼠肠屏障功能的保护作用,显著降低了脓毒症大鼠血中 D-Lac 及内毒素浓度,其机制可能主要与增加 MSCs 的存活数量及增强 MSCs 旁分泌营养因子能力相关。本研究尚未对 poly(I:C)预刺激的后 MSC 进行相应细胞因子的体外检测,亦尚未对 MSC 进行荧光示踪定位,这将是我们下一步研究的重点。

参考文献:

[1] Jawad I, Luksic I, Rafnsson S B. Assessing available infor-

mation on the burden of sepsis: global estimates of incidence, prevalence and mortality[J]. J Glob Health, 2012, 2(1): 010404. DOI: 10.7189/jogh.02.010404

[2] Nieuwenhuijzen G A, Deitch E A, Goris R J. The relationship between gut-derived bacteria and the development of the multiple organ dysfunction syndrome[J]. J Anat, 1996, 189 (Pt 3): 537 - 548.

[3] Jiang Y, Jahagirdar B N, Reinhardt R L, *et al*. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow[J]. Nature, 2002, 418(6893): 41 - 49. DOI: 10.1038/nature00870

[4] Guo Z, Zhou X, Li J, *et al*. Mesenchymal stem cells reprogram host macrophages to attenuate obliterative bronchiolitis in murine orthotopic tracheal transplantation[J]. Int Immunopharmacol, 2013, 15(4): 726 - 734. DOI: 10.1016/j.intimp.2013.03.002

[5] Shi Y, Hu G, Su J, *et al*. Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression and tissue repair[J]. Cell Res, 2010, 20(5): 510 - 518. DOI: 10.1038/cr.2010.44

[6] Nemeth K, Leelahavanichkul A, Yuen P S, *et al*. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis *via* prostaglandin E(2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production[J]. Nat Med, 2009, 15(1): 42 - 49. DOI: 10.1038/nm.1905

[7] Hegyi B, Kudlik G, Monostori E, *et al*. Activated T-cells and pro-inflammatory cytokines differentially regulate prostaglandin E2 secretion by mesenchymal stem cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 419(2): 215 - 220. DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.01.150

[8] Brittan M, Hunt T, Jeffery R, *et al*. Bone marrow derivation of pericryptal myofibroblasts in the mouse and human small intestine and colon[J]. Gut, 2002, 50(6): 752 - 757.

[9] Andoh A, Bamba S, Brittan M, *et al*. Role of intestinal subepithelial myofibroblasts in inflammation and regenerative response in the gut[J]. Pharmacol Ther, 2007, 114(1): 94 - 106. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2006.12.004

[10] Neuhuber B, Swanger S A, Howard L, *et al*. Effects of plating density and culture time on bone marrow stromal cell characteristics[J]. Exp Hematol, 2008, 36(9): 1176 - 1185. DOI: 10.1016/j.exphem.2008.03.019

[11] Kitajima S, Takuma S, Morimoto M. Changes in colonic mucosal permeability in mouse colitis induced with dextran sulfate sodium[J]. Exp Anim, 1999, 48(3): 137 - 143.

[12] 王凤君, 汪仕良, 赵云, 等. 营养支持途径对严重烧伤早期肠黏膜修复的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2002, 10(12): 1385 - 1388. DOI: 10.3969/j.issn.1009-3079.2002.12.006.

[13] 邓志云, 郭光华, 杨毅. 早期肠内谷氨酰胺补给对烫伤大鼠肠黏膜细胞紧密连接的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(20): 2031 - 2036. DOI: 10.3969/j.issn.1009-3079.2009.20.004.

[14] Zhang W, Shen Z Y, Song H L, *et al*. Protective effect of bone marrow mesenchymal stem cells in intestinal barrier permeability after heterotopic intestinal transplantation[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(23): 7442 - 7451. DOI: 10.3748/wjg.v20.i23.7442

[15] Chen H, Min X H, Wang Q Y, *et al*. Pre-activation of mesenchymal stem cells with TNF-α, IL-1β and nitric oxide enhances its paracrine effects on radiation-induced intestinal injury[J]. Sci Rep, 2015, 5: 8718. DOI: 10.1038/srep08718

[16] Weil B R, Manukyan M C, Herrmann J L, *et al*. Mesenchymal stem cells attenuate myocardial functional depression and reduce systemic and myocardial inflammation during endotoxemia[J]. Surgery, 2010, 148(2): 444 - 452. DOI: 10.1016/j.surg.2010.03.010

[17] Luo C J, Zhang F J, Zhang L, *et al*. Mesenchymal stem cells ameliorate sepsis-associated acute kidney injury in mice[J]. Shock, 2014, 41(2): 123 - 129. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000080

[18] Lombardo E, van-der-Poll T, DelaRosa O, *et al*. Mesenchymal stem cells as a therapeutic tool to treat sepsis[J]. World J Stem Cells, 2015, 7(2): 368 - 379. DOI: 10.4252/wjsc.v7.i2.368

[19] Li M, Zhang Y X, Zhang Z, *et al*. Endomicroscopy Will Track Injected Mesenchymal Stem Cells in Rat Colitis Models[J]. Inflamm Bowel Dis, 2015, 21(9): 2068 - 2077. DOI: 10.1097/MIB.0000000000000458

[20] Zhao X, Liu D, Gong W, *et al*. The toll-like receptor 3 ligand, poly(I: C), improves immunosuppressive function and therapeutic effect of mesenchymal stem cells on sepsis *via* inhibiting MiR-143[J]. Stem Cells, 2014, 32(2): 521 - 533. DOI: 10.1002/stem.1543

[21] Tomchuck S L, Zwezdaryk K J, Coffelt S B, *et al*. Toll-like receptors on human mesenchymal stem cells drive their migration and immunomodulating responses[J]. Stem Cells, 2008, 26(1): 99 - 107. DOI: 10.1634/stemcells.2007-0563

[22] Mastri M, Shah Z, McLaughlin T, *et al*. Activation of Toll-like receptor 3 amplifies mesenchymal stem cell trophic factors and enhances therapeutic potency[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2012, 303(10): C1021 - C1033. DOI: 10.1152/ajpcell.00191.2012

(**收稿**:2015-10-15;**修回**:2015-10-26)

(编辑 龙 亮)