DOI:10.16016/j.1000-5404.201511126

负载 SDF-1α 的温度敏感性水凝胶预防宫腔粘连及促进子宫内膜再生修复的效果

龙 莹,唐 帅,冯 露,梁志清 (400038 重庆,第三军医大学西南医院妇产科)

[摘要] **目的** 考察负载重组人基质细胞衍生因子-1α(recombinant human stromal cell-derived factor-1 alpha,rhSDF-1α)的温度敏感性水凝胶 PLA/PEG 三嵌段聚合物(PLA-PEG-PLA,PLEL)对预防宫腔粘连、促进子宫内膜再生修复的效果。**方法** 24 只成年新西兰雌兔(48 条子宫)分为 4 组($n=12$):①自然修复组,纵行剪开子宫全长,剪去子宫内膜,止血后缝合子宫切口;②PLEL 治疗组,缝合子宫切口后向宫腔内注射 PLEL 水凝胶;③PLEL-rhSDF-1α 治疗组,缝合子宫切口后向宫腔内注射复合 rhSDF-1α 的 PLEL 水凝胶;④假手术组,仅行开腹手术,不处理子宫。分别于术后 7 d 和 28 d 取子宫标本,免疫荧光染色观察间质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)表面标志 CD44 和 CD90 的表达,组织学染色观察子宫内膜修复情况。**结果** 自然修复组宫腔粘连,无内膜上皮组织再生。与 PLEL 治疗组比较,PLEL-rhSDF-1α 治疗组有大量 MSCs 归巢至再生内膜组织($P<0.05$),再生内膜上皮层周长/基底层周长比值更大($P<0.05$),但均不及假手术组($P<0.05$)。**结论** 温度敏感性 PLEL 水凝胶复合 rhSDF-1α 具有预防子宫宫腔粘连、促进子宫内膜再生修复的作用。

[关键词] 水凝胶;间质干细胞;宫腔粘连;基质细胞衍生因子-1α
[中图法分类号] R318.08;R711.32;R711.74 [文献标志码] A

Effect of thermosensitive hydrogel containing stromal cell-derived factor-1α on intrauterine adhesion and endometrium regeneration in rabbits

Long Ying, Tang Shuai, Feng Lu, Liang Zhiqing (Department of Gynaecology and Obstetrics, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To evaluate the effect of thermosensitive poly(lactic acid)-polyethylene glycol- poly(lactic acid) block polymer (PLEL) hydrogel containing recombinant human stromal cell-derived factor-1α (rhSDF-1α) on preventing intrauterine adhesion and promoting the regeneration of endometrium. **Methods** Twenty-four adult female New Zealand rabbits (48 uteruses) were randomly divided to 4 groups: spontaneous regeneration group ($n=12$) which was treated by cutting the uterus lengthwise, removing the endometrium with scissors, and then suturing the incision after hemostasis, PLEL treatment group ($n=12$) which was treated by injecting PLEL hydrogel after suturing the incision, PLEL-rhSDF-1α treatment group ($n=12$) which was treated by injecting PLEL hydrogel containing rhSDF-1α after suturing the incision, and sham operation group ($n=12$) which just exposed the uterus *via* an abdominal midline incision. All the rabbits underwent euthanasia on postoperative 7 and 28 d to get the uterus samples. The expression levels of CD44 and CD90 were determined by immunofluorescence staining, and the regenerative endometrium was observed by immunohistochemical staining. **Results** Epithelial tissue was not regenerated nearly in the spontaneous regeneration group. There were more MSCs homing to the regenerative endometrium in the PLEL-rhSDF-1α treatment group than in the PLEL treatment group ($P<0.05$), and the ratio of epithelial layer length to basal layer length was larger ($P<0.05$). But the sham operation group was better than all of them

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81300455)
[通信作者] 梁志清,E-mail: zhi.lzliang@gmail.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20160131.1127.020.html(2016-01-31)

($P<0.05$). **Conclusion** Thermosensitive PLEL hydrogel containing rhSDF-1α is effective on preventing intrauterine adhesion and promoting the regeneration of endometrium.

[**Key words**] hydrogel; mesenchymal stem cells; intrauterine adhesion; stromal cell-derived factor-1α

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81300455). Corresponding author: Liang Zhiqing, E-mail: zhi.lzliang@gmail.com

宫腔粘连(intrauterine adhesions, IUA)是一种常见的妇科继发性疾病,多继发于人工流产及子宫内膜切除术后,与不当刮宫以及宫腔内出血、感染等有关,目前多以宫腔粘连分解术治疗,术后于宫腔内放置宫内节育器、球囊导尿管或宫腔形状气囊等支架,能部分阻隔宫腔创面预防再粘连,然而存在分离效果有限[1]、易引起逆行感染[2]等缺点,更重要的是,对于宫内膜基底层严重损伤的宫腔粘连,基底层干细胞的缺损导致内膜功能层修复障碍,常致粘连复发[3]。因此,研究更加安全、有效分隔宫腔创面,兼具诱导干细胞归巢修复内膜损伤的宫腔内缓释材料,是治疗重度IUA的当务之急。

温度敏感性水凝胶可对环境温度做出智能响应,发生溶胶相与凝胶相的可逆性转变,近年来已受到药物控制释放系统、组织工程应用等领域的广泛关注[4]。由四川大学生物治疗国家重点实验室研制的温度敏感性PLEL水凝胶具有灵敏的温度响应性及持续的蛋白缓释能力,可在体温下迅速由溶胶相转变为凝胶相,并持续释放负载的生物因子,是宫腔内缓释材料的良好选择。

SDF-1为低氧敏感性分子,当组织缺氧时其表达增高。它在骨髓中对骨髓间充质干细胞(bone marrow derived mesenchymal stem cells, BMSCs)的归巢和定植有重要作用[5],研究表明SDF-1通过其受体CXCR4发挥细胞募集作用,且该效应轴参与全身多系统的缺血缺氧性损伤的修复,如心肌梗死、胰腺损伤、缺血缺氧性脑病、肝脏损伤[6]等。子宫内膜组织低氧环境是月经前期的正常生理现象,局部低氧环境是内膜组织血管生成和组织重构的重要调节因素。人类子宫内膜中SDF-1功能的研究表明:SDF-1可能在内膜增殖、胚胎着床中发挥重要作用[7]。此外,组织工程领域相关研究表明,复合SDF-1的活性支架植入体内后,能诱导干细胞归巢并促进诸如神经组织、血管、肌腱组织、骨组织的再生,同时还能抑制炎症反应[8-10]。

因此,我们假设缓释rhSDF-1α的PLEL水凝胶在提供屏障作用的同时,能够动员间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)等细胞归巢,促进受损子宫内膜再生修复,可能成为预防重度IUA的理想方案。本研究观察体外和体内rhSDF-1α对MSCs的趋化作用,并分组考察PLEL水凝胶及rhSDF-1α对新西兰白兔子宫内膜损伤再生修复的影响。

1 材料与方法

1.1 PLEL-rhSDF-1α复合水凝胶的准备和表征

1.1.1 PLEL-rhSDF-1α复合水凝胶 PLEL由四川大学生物治疗国家重点实验室研制提供,10 g PLEL固体(含4.5 g水)中加入17.5 g双蒸水配制成20%(质量分数)的水凝胶,200 μg/mL的rhSDF-1α(R&D Systems Inc.,美国)溶液10 μL与20% PLEL水凝胶300 μL混合,37 ℃孵育6 h后室温放置至均质溶液状。

1.1.2 蛋白缓释实验 10 μL 25 mg/mL牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)(Sigma,美国)或PBS与20% PLEL水凝胶300 μL混合,37 ℃孵育6 h后室温放置至均质溶液状,抽吸至1 mL无针头注射器中,37 ℃孵育30 min充分凝胶化后注入含10 mL PBS的6 cm培养皿中,置于细胞培养箱中(37 ℃,5% CO_2)模拟体内环境,分别于0、1、4、12、24、48、72 h各收集其中1 mL PBS,用微蛋白检测试剂盒(Thermo-Fisher Scientific Inc.,美国)检测收集的PBS中BSA浓度,重复3次。

1.2 体外rhSDF-1α对BMSCs的趋化性实验

1.2.1 细胞分离及培养 取1 500~2 000 g新西兰白兔胫骨骨髓,种入6孔板中置于37 ℃、5% CO_2孵箱内培养BMSCs原代细胞,3 d后以含10%胎牛血清(PAN-Biotech GnbH,德国)的α-MEM全量换液,以后每2.5天换液1次,细胞融合至80%时传代,传至第3代的细胞用于以后实验。

1.2.2 体外趋化性实验 用Transwell系统(Corning Incorporated,美国)研究体外rhSDF-1α对BMSCs趋化作用,上室加入100 μL含1×10^5/mL BMSCs的无血清α-MEM(含0.5% BSA),下室加入600 μL含rhSDF-1α(120 ng/mL)的无血清α-MEM作为处理组,为了进一步研究趋化作用,上室也加入rhSDF-1α作为对照组,此外,空白对照组上下室均不加因子rhSDF-1α,每组设3个培养孔。

在培养箱中孵育24 h后,棉签擦去小室上表面的

细胞,已迁移到下表面的细胞 DAPI 染核,倒置荧光显微镜下随机选择 5 个高倍镜视野(200×)/孔计数。

1.3　凝胶支架植入子宫内膜损伤修复模型

1.3.1　动物模型及分组　　24 只成年雌性新西兰白兔(48 条子宫)分为 4 组,实验动物由第三军医大学实验动物中心提供,体质量 3 000 ~ 3 500 g。手术前以 30 mg/mL 戊巴比妥钠按兔体质量 1 mL/kg 经耳缘静脉注射麻醉,观察呼吸频率降至 15 ~ 20/min、角膜反射消失、肌张力下降为麻醉满意,取下腹部正中切口暴露子宫,沿子宫长轴剪开,用眼科剪剪去子宫内膜凸起部分,生理盐水纱布确切止血,将剪开的子宫切口对合整齐并以 6-0 尼龙线间断缝合。自然修复组(n = 12):缝合子宫切口,关闭宫腔,逐层缝合腹壁,让受损的子宫内膜自然修复;PLEL 治疗组(n = 12):关闭子宫腔后,向腔内注射 PLEL 水凝胶至饱和,2 min 后回抽水凝胶无法吸出,即其已凝胶化,随后逐层缝合腹壁;PLEL-rhSDF-1α 治疗组(n = 12):宫腔内注射的为 PLEL-rhSDF-1α 复合水凝胶;假手术组(n = 12):仅进行下腹壁的切开及缝合,不处理子宫。在术后 7 d 和 28 d 各组分别取 6 条子宫标本进行组织学检测。

1.3.2　组织冰冻切片及免疫荧光染色　　子宫标本切分为上、中、下 3 段,液氮速冻,OCT 包埋剂包埋,冰冻切片机 -20 ℃连续切片(8 μm),室温晾干 15 min,PBS 浸泡 10 min,山羊血清 37 ℃封闭 30 min,加 anti-CD44 小鼠单克隆抗体(1∶50 稀释,Abcam,英国)或 anti-CD90 小鼠单克隆抗体(1∶500 稀释,Abcam,英国)4 ℃孵育过夜,PBS 洗涤后加 FITC 标记羊抗小鼠 IgG(1∶200 稀释,Abbkine,美国)或 IFKine Red 标记驴抗小鼠 IgG(1∶200 稀释,Abbkine,美国)37 ℃孵育 30 min,PBS 洗涤后封片,荧光显微镜观察 CD44 及 CD90 表达情况并拍照。

1.3.3　HE 染色及免疫组织化学染色　　子宫标本切分为上、中、下 3 段,4% 多聚甲醛固定标本,石蜡包埋,石蜡切片机连续切片(3 μm),用常规方法进行 HE 染色,免疫组织化学染色,切片用枸橼酸钠煮沸修复 20 min,H_2O_2 反应内源性过氧化氢酶,山羊血清 37 ℃封闭 30 min,加小鼠抗兔广谱角蛋白单克隆抗体(1∶50 稀释,Abcam,英国)4 ℃孵育过夜,PBS 洗涤后加生物素标记羊抗小鼠 IgG(中杉金桥生物技术,中国)37 ℃孵育 30 min,辣根过氧化物酶室温孵育 15 min,DAB 显色 1 min,封片后显微镜观察角蛋白阳性细胞的表达并拍照。

1.4　图像分析

使用 Image J 进行体外趋化实验中 BMSCs 计数、免疫荧光染色 MSCs 细胞密度计算,子宫内膜上皮层与基底层周长使用 Photoshop 处理并使用 Image J 计算。

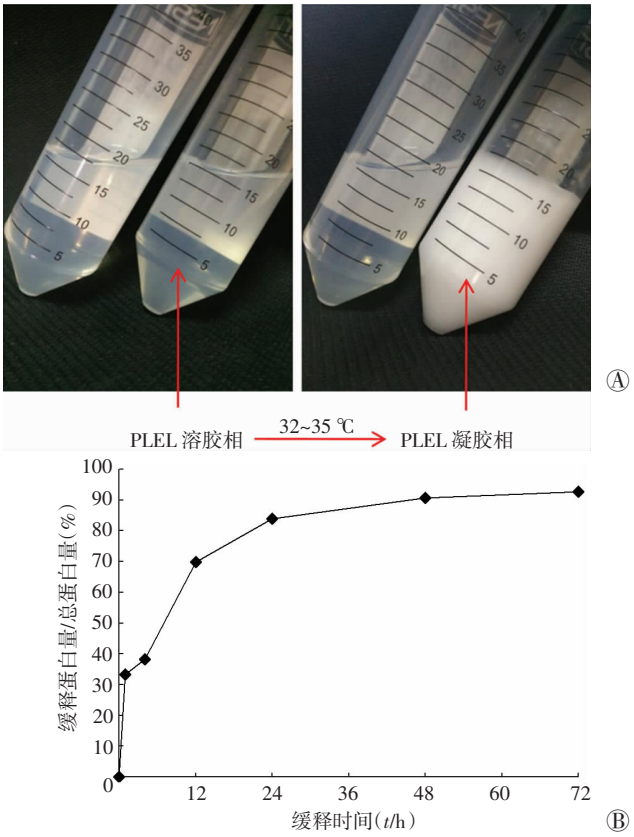
1.5　统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件录入数据并进行分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,术后 7 d,PLEL 治疗组与 PLEL-rhSDF-1α 治疗组 MSCs 细胞密度均数比较用独立样本 t 检验分析,多个样本均数比较用单因素方差分析、组间两两比较采用 LSD-t 检验,检验水准 α = 0.05。

2　结果

2.1　PLEL 水凝胶及体外蛋白缓释结果

PLEL 水凝胶在温度上升至 32 ~ 35 ℃时由溶胶相转变为凝胶相(图 1A)。在体外模拟宫腔环境,将 PLEL-BSA 水凝胶凝胶化后置于 37 ℃ PBS 中可保持形态超过 3 d,3 d 后发生明显溶蚀,其蛋白累积释放曲线显示 BSA 缓释时间超过 3 d(图 1B)。



A:PLEL 水凝胶相转变　温度升至 32 ~ 35 ℃由溶胶相转变为凝胶相;B:负载 BSA 的 PLEL 凝胶体外缓释曲线　在 37 ℃ PBS 中缓慢释放 BSA 至 3 d 以上

图 1　PLEL 水凝胶相转变及负载 BSA 的 PLEL 凝胶体外缓释曲线

2.2　rhSDF-1α 对 BMSCs 的趋化作用

Transwell 系统中上下室均未加 rhSDF-1α 时,BMSCs 的迁移数量为(26.070 ± 7.285)(图 2A),下室加入 rhSDF-1α 后 BMSCs 迁移数量为(54.330 ± 9.424)

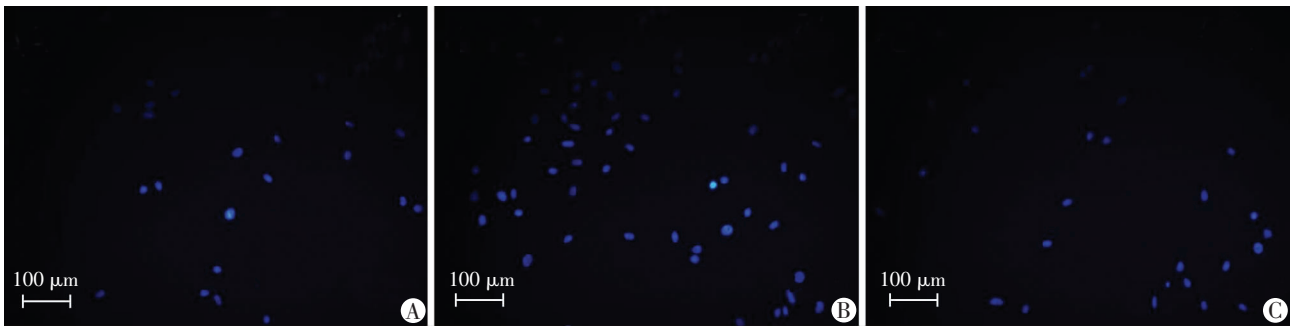
(图2B),然而,在上室也加入相同浓度的 rhSDF-1α 时,BMSCs 迁移数量为(27.730±6.649)(图 2C),可见,下室中 rhSDF-1α 的存在明显增加了 BMSCs 的迁移数量($P<0.05$),而上下室存在相同浓度 rhSDF-1α 时 BMSCs 迁移数量又明显减少($P<0.05$)。

2.3　不同处理对术后子宫内膜再生修复影响

手术剪去大部分子宫内膜,术后内膜菲薄(图3)。术后28 d,从子宫标本大体形态上看,自然修复组由于宫腔粘连闭塞,致子宫输卵管连结部位积水膨大,而 PLEL 治疗组及 PLEL-rhSDF-1α 治疗组未发生积水(图4);组织切片 HE 染色显示自然修复组宫腔内无上皮样细胞出现,宫腔完全闭塞,内壁相互粘连,治疗组有连续的上皮样细胞覆盖宫腔,但 PLEL-rhSDF-1α 治疗组再生内膜层较 PLEL 治疗组更接近假手术组,上皮层褶皱更多,周长更长(图5);覆盖宫腔的上皮样细胞角蛋白免疫组化染色均为阳性(图6),以角蛋白染色结果统计各组内膜上皮层周长与基底层周长之比,如图6I所示:假手术组大于其他各组($P<0.05$),PLEL 治疗组大于自然修复组($P<0.05$),PLEL-rhSDF-1α 治疗组大于 PLEL 治疗组($P<0.05$)。

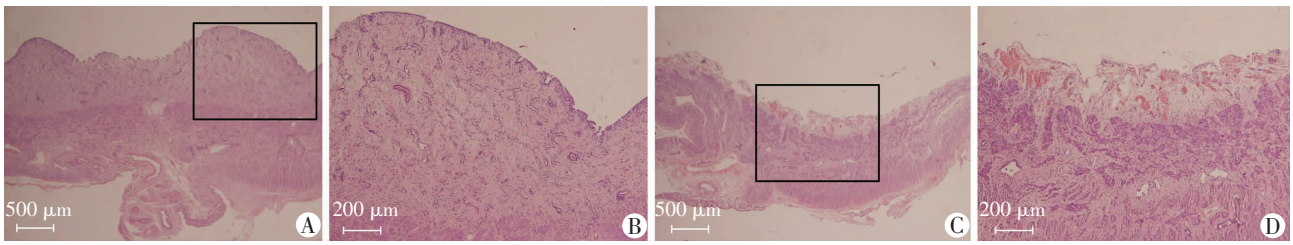
2.4　治疗组 MSCs 归巢情况

术后7 d,治疗组子宫标本 CD44 及 CD90 免疫荧光染色显示有 MSCs 归巢至再生内膜组织(图7),PLEL-rhSDF-1α 治疗组归巢 MSCs 细胞密度为(5 357.7±1 355.5)/mm^2 较 PLEL 治疗组(1 496.5±650.9)/mm^2 约为3.6倍,差异有统计学意义($P<0.05$)。



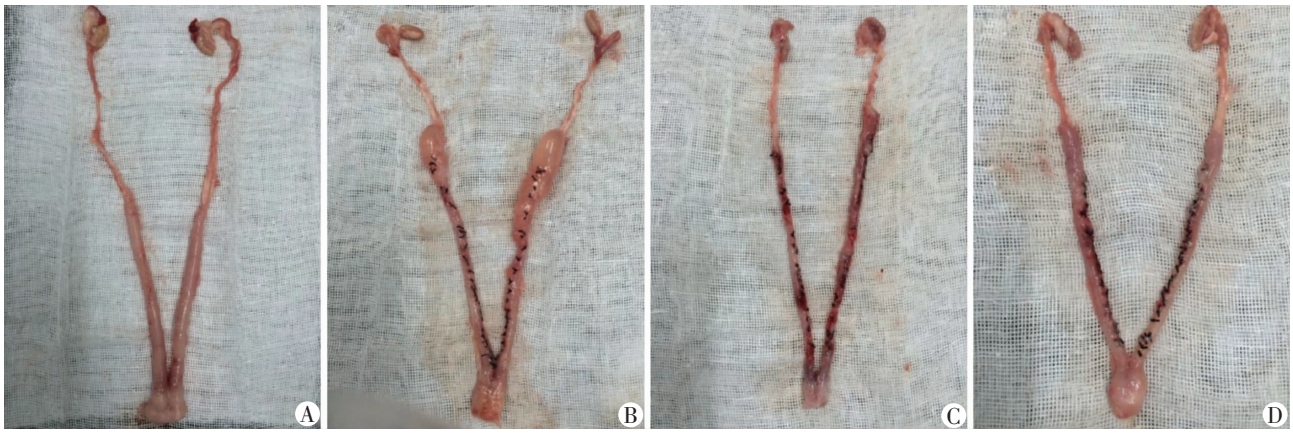
A:上下室均不加 rhSDF-1α;B:上室不加、下室加 rhSDF-1α;C:上、下室均加 rhSDF-1α

图2　不同处理组 Transwell 小室下室表面 BMSCs 的 DAPI 染色比较细胞迁移数量



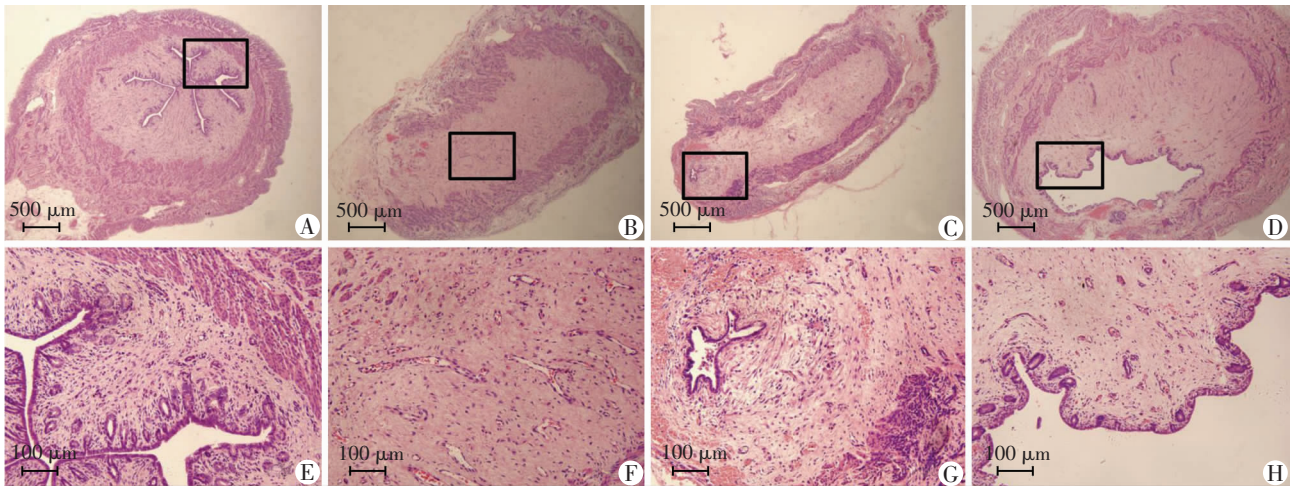
A:手术前;C:手术后;B、D:分别为 A、C 图黑框内放大图像

图3　HE 染色对比手术前后子宫内膜厚度



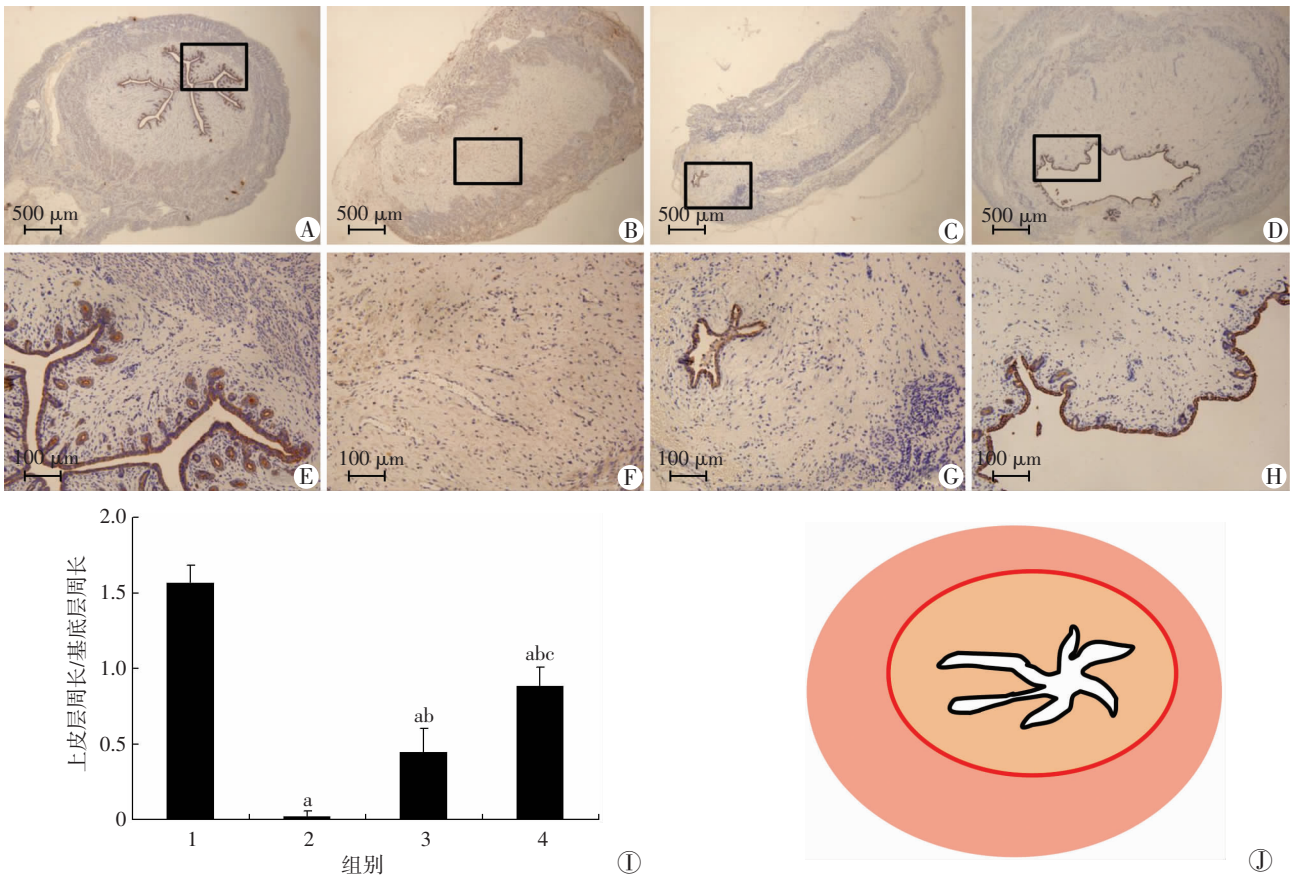
A:假手术组;B:自然修复组;C:PLEL 治疗组;D:PLEL-rhSDF-1α 治疗组

图4　术后 28 d 各处理组子宫标本大体形态观察



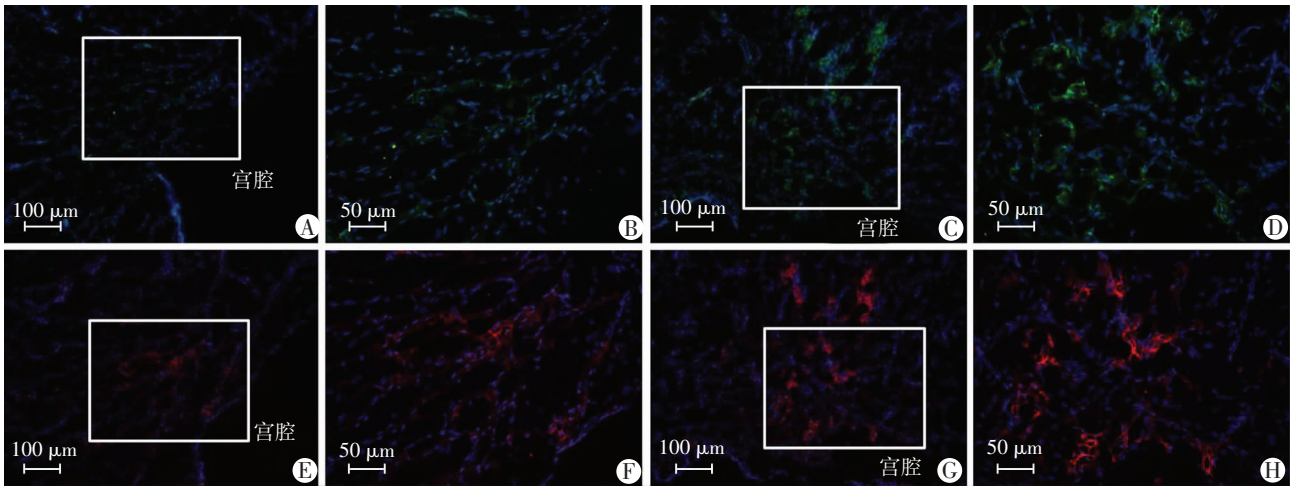
A:假手术组;B:自然修复组;C:PLEL 治疗组;D:PLEL- rhSDF-1α 治疗组;E、F、G、H:分别为 A、B、C、D 黑框内放大图像

图 5 术后 28 d 各处理组子宫标本横截面 HE 染色观察



A:假手术组;B:自然修复组;C:PLEL 治疗组;D:PLEL-rhSDF-1α 治疗组;E、F、G、H:分别为 A、B、C、D 黑框内放大图像;I:各组再生内膜上皮层周长与基底层周长比值 1:假手术组;2:自然修复组;3:PLEL 治疗组;4:PLEL-rhSDF-1α 治疗组;a:$P<0.05$,与假手术组比较;b:$P<0.05$,与自然修复组比较;c:$P<0.05$,与 PLEL 治疗组比较;J:兔子宫横截面示意图 黑色线条:内膜上皮层周长;红色线条:内膜基底层周长

图 6 术后 28 d 各处理组子宫内膜上皮组织角蛋白免疫组化染色观察



A~D:CD44;E~H:CD90;A、E:PLEL 治疗组;B、F:分别为 A、E 白框内放大图像;C、G:PLEL-rhSDF-1α 治疗组;D、H:分别为 C、G 白框内放大图像;绿色荧光标记 CD44;红色荧光标记 CD90

图 7 术后 7 d 再生内膜层 CD44 及 CD90 免疫荧光染色比较归巢 MSCs 细胞密度

3 讨论

本研究结果证明:温度敏感性 PLEL 水凝胶复合 rhSDF-1α 具有预防子宫宫腔粘连、促进子宫内膜再生修复的作用。PLEL 水凝胶在宫腔内转变为凝胶相,在受损的子宫内膜间起到了物理阻隔作用,载入的外源性 rhSDF-1α 在宫腔内缓慢释放,吸引 MSCs 定植于受损子宫内膜层,减轻内膜组织纤维化,促进再生修复。

温度敏感性 PLEL 水凝胶具有生物可降解、无细胞毒性、维持生物因子活性等特点[11],并可通过宫颈口以无创注射方式填充于子宫腔内,具有良好的临床应用前景,相较于目前临床用于宫腔粘连分粘术后预防再粘连的宫内节育器、球囊导尿管和宫腔形状气囊支架等,具有对宫腔形状的适应性强,可自然降解,感染风险低等优点。本研究体内实验中,PLEL 水凝胶能有效地填充新西兰白兔子宫宫腔,迅速发生相转变,形成有效的物理阻隔,有明显预防宫腔粘连的效果。

文献[12-13]报道,rhSDF-1α 复合材料可促进肌腱、软骨等组织再生修复,但目前尚未发现其对子宫内膜修复效果的相关报道。本研究体内实验中,与 PLEL 治疗组相比,PLEL-rhSDF-1α 治疗组在术后 28 d 的组织学表现上有更好的结果,提示 rhSDF-1α 也可促进子宫内膜再生修复。SDF-1α 可促进血管生成[8],还能促进如 MSCs 等CXCR-4 阳性细胞归巢至受损部位,与本研究体内实验中术后 7 d 再生内膜层的 MSCs 定植情况一致。MSCs 可以通过分泌广谱的生长因子、趋化因子、细胞因子等来促进血管生成[14]和新生血管化[15-16],也可能产生外泌体来维护组织微环境的动态平衡[17],同时通过多种途径起到免疫调节作用[18]。这些作用均有利于受损组织再生修复。当然,这需要 rhSDF-1α 在宫腔内保持较高浓度,而我们在体外 PLEL 水凝胶的 BSA 缓释实验中观察到 PLEL 负载的 BSA 可缓慢释放达 3 d 以上,证明了其维持所载蛋白在局部持续保持较高浓度的能力。

本研究体外趋化性实验中,加入外源性 rhSDF-1α 促进了 BMSCs 的迁移,提示了在 PLEL-rhSDF-1α 治疗组中,出现的大量 MSCs 可能为循环血液中的 BMSCs。文献[19-20]报道,向三氯乙酸化学损伤后的子宫内膜注射 BMSCs 治疗,可减轻内膜纤维化、促进血管形成及内膜再生;用种植 BMSCs 的胶原膜修补大鼠缺损子宫壁可促进其再生甚至恢复妊娠功能。然而在临床应用中存在 BMSCs 的分离、提纯困难等问题,本研究利用 rhSDF-1α 趋化自身 BMSCs 巧妙地避免了这些问题。

综上所述,PLEL-rhSDF-1α 复合凝胶能通过 PLEL 水凝胶的物理阻隔作用以及缓释 rhSDF-1α 诱导 MSCs 归巢促进子宫内膜修复,达到预防宫腔粘连的目的。当然,本研究也存在一些不足:目前尚无公认的宫腔粘连模型构建方法,而在我们前期构建动物模型的尝试中,采用剪去内膜凸起的方法可使术后宫腔粘连率达 90% 以上,有较好的稳定性,但此法不能精确地控制残余内膜的厚度;此外,本研究尚未对 PLEL 水凝胶及 rhSDF-1α 的具体作用机制进行深入揭示,参与促进内膜再生修复的细胞及生化成分也并不十分清楚,然而,治疗组最终的组织学修复表现较自然修复组有明显提高,预示温度敏感性 PLEL 水凝胶复合 rhSDF-1α 在防治重度 IUA 等疾病中可能有良好的应用前景。

参考文献:

[1] Tonguc E A, Var T, Yilmaz N, *et al*. Intrauterine device or estrogen treatment after hysteroscopic uterine septum resection

[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2010, 109(3): 226 – 229. DOI: 10.1016/j.ijgo.2009.12.015

[2] Myers E M, Hurst B S. Comprehensive management of severe Asherman syndrome and amenorrhea[J] Fertil Steril, 2012, 97(1): 160 – 164. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2011.10.036

[3] Gargett C E, Ye L. Endometrial reconstruction from stem cells[J]. Fertil Steril, 2012, 98(1): 11 – 20. DOI: 10.1016/ j.fertnstert.2012.05.004

[4] Jeong B, Kim S W, Bae Y H. Thermosensitive sol-gel reversible hydrogels[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2002, 54(1): 37 – 51.

[5] Honczarenko M, Le Y, Swierkowski M, *et al*. Human bone marrow stromal cells express a distinct set of biologically functional chemokine receptors[J]. Stem Cells, 2006, 24(4): 1030 – 1041. DOI: 10.1634/stemcells.2005-0319

[6] Vagima Y, Lapid K, Kollet O, *et al*. Pathways implicated in stem cell migration: the SDF-1/CXCR4 axis[J]. Methods Mol Biol, 2011, 750: 277 – 289. DOI: 10.1007/978-1-61779-145-1_19

[7] Tsuzuki T, Okada H, Cho H, *et al*. Hypoxic stress simultaneously stimulates vascular endothelial growth factor via hypoxia-inducible factor-1α and inhibits stromal cell-derived factor-1 in human endometrial stromal cells[J]. Hum Reprod, 2012, 27(2): 523 – 530. DOI: 10.1093/ humrep/der405

[8] Thevenot P T, Nair A M, Shen J, *et al*. The effect of incorporation of SDF-1alpha into PLGA scaffolds on stem cell recruitment and the inflammatory response[J]. Biomaterials, 2010, 31(14): 3997 – 4008. DOI: 10.1016/ j.biomaterials.2010.01.144

[9] Lau T T, Wang D A. Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1): homing factor for engineered regenerative medicine[J]. Expert Opin Biol Ther, 2011, 11(2): 189 – 197. DOI: 10.1517/14712598.2011.546338

[10] Ji W, Yang F, Ma J, *et al*. Incorporation of stromal cell-derived factor-1α in PCL/gelatin electrospun membranes for guided bone regeneration[J]. Biomaterials, 2013, 34(3): 735 – 745. DOI: 10.1016/j.biomaterials. 2012.10.016

[11] Gong C Y, Dong P W, Shi S, *et al*. Thermosensitive PEG-PCL-PEG hydrogel controlled drug delivery system: sol-gel-sol transition and *in vitro* drug release study[J]. J Pharm Sci, 2009, 98(10): 3707 – 3717. DOI: 10.1002/jps.21694

[12] Shen W, Chen X, Chen J, *et al*. The effect of incorporation of exogenous stromal cell-derived factor-1 alpha within a knitted silk-collagen sponge scaffold on tendon regeneration [J]. Biomaterials, 2010, 31(28): 7239 – 7249. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.05.040

[13] Zhang W, Chen J, Tao J, *et al*. The use of type 1 collagen scaffold containing stromal cell-derived factor-1 to create a matrix environment conducive to partial-thickness cartilage defects repair[J]. Biomaterials, 2013, 34(3): 713 – 723. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.10.027

[14] Miyahara Y, Nagaya N, Kataoka M, *et al*. Monolayered mesenchymal stem cells repair scarred myocardium after myocardial infarction[J]. Nat Med, 2006, 12(4): 459 – 465. DOI: 10.1038/nm1391

[15] Min J Y, Sullivan M F, Yang Y, *et al*. Significant improvement of heart function by cotransplantation of human mesenchymal stem cells and fetal cardiomyocytes in postinfarcted pigs[J]. Ann Thorac Surg, 2002, 74(5): 1568 – 1575.

[16] Kinnaird T, Stabile E, Burnett M S, *et al*. Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote *in vitro* and *in vivo* arteriogenesis through paracrine mechanisms[J]. Circ Res, 2004, 94(5): 678 – 685. DOI: 10.1161/01.RES.0000118601.37875.AC

[17] Lai R C, Yeo R W, Lim S K. Mesenchymal stem cell exosomes[J]. Semin Cell Dev Biol, 2015, 40: 82 – 88. DOI: 10.1016/j.semcdb.2015.03.001

[18] Glenn J D, Whartenby K A. Mesenchymal stem cells: Emerging mechanisms of immunomodulation and therapy[J]. World J Stem Cells, 2014, 6(5): 526 – 539. DOI: 10.4252/wjsc.v6.i5.526

[19] Kilic S, Yuksel B, Pinarli F, *et al*. Effect of stem cell application on Asherman syndrome, an experimental rat model [J]. J Assist Reprod Genet, 2014, 31(8): 975 – 982. DOI: 10.1007/s10815-014-0268-2

[20] Ding L, Li X, Sun H, *et al*. Transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells on collagen scaffolds for the functional regeneration of injured rat uterus[J]. Biomaterials, 2014, 35(18): 4888 – 4900. DOI: 10.1016/ j.biomaterials.2014.02.046

(收稿:2015-11-18;修回:2015-12-14)

(编辑 吴培红)