

刘少斐,许冰冰.骨髓间充质干细胞的分离、培养、鉴定及其在关节软骨损伤修复中的相关应用[J].中国比较医学杂志, 2023, 33(9): 149-154.

Liu SF, Xu BB. Isolation, culture, and identification of bone marrow mesenchymal stem cells and their related applications in the repair of articular cartilage injury [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(9): 149-154.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.09.017

# 骨髓间充质干细胞的分离、培养、鉴定及其在关节软骨损伤修复中的相关应用

刘少斐<sup>1</sup>,许冰冰<sup>2\*</sup>

(1.北京四中国际课程佳莲校区,北京 102202;2.北京大学第三医院运动医学研究所膝关节外科,北京 100083)

**【摘要】** 关节软骨缺乏血管、淋巴和神经,自身修复能力有限,故软骨损伤一般无法自行痊愈,常见的治疗方法分别为姑息治疗、修复治疗以及再生治疗。干细胞治疗为关节软骨损伤恢复提供了一种具有前景的治疗策略。而骨髓间充质干细胞作为传统的干细胞,具有独特的生物学特点,广泛应用于软骨修复治疗进程中。本文拟综合国内外最新文献报道,就近年来对骨髓间充质干细胞提取方法、表型鉴定、多向分化能力及其在关节软骨损伤修复中的应用进行阐述,以期为实现利用骨髓间充质干细胞精准、高效的治疗软骨损伤提供参考。

**【关键词】** 关节软骨;骨髓间充质干细胞;多向分化能力;修复

**【中图分类号】** R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 09-0149-06

## Isolation, culture, and identification of bone marrow mesenchymal stem cells and their related applications in the repair of articular cartilage injury

LIU Shaofei<sup>1</sup>, XU Bingbing<sup>2\*</sup>

(1. Beijing No. 4 High School International Courses, Jialian Campus, Beijing 102202, China.

2. Knee Joint Surgery, Institute of Sports Medicine of Peking University Third Hospital, Beijing 100083)

**【Abstract】** Articular cartilage is devoid of blood vessels, lymphatic vessels, and nerves, making it inherently incapable of self-repair. Consequently, cartilage injuries often fail to heal naturally, necessitating the use of palliative, reparative, and regenerative treatments. Among these approaches, stem cell therapy has a great potential for the treatment of articular cartilage injuries. Notably, bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs), a well-established stem cell type, are extensively employed in cartilage repair therapy because of their unique biological characteristics. The objective of this article was to review the current domestic and international literature on the method of BMSC extraction, phenotype identification, multidirectional differentiation capacity, and their recent application in repairing articular cartilage injuries. The ultimate goal is to provide valuable insights into the precise and efficient treatment of cartilage injuries using BMSCs, thereby serving as a useful reference for medical practitioners in this field.

**【Keywords】** articular cartilage; bone marrow mesenchymal stem cells; multidirectional differentiation capacity; repair

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

[作者简介] 刘少斐(2006—),女,研究方向:骨髓间充质干细胞培养的基础研究。E-mail: alice.liu@bjjlsch.com

[通信作者] 许冰冰(1992—),女,博士,副研究员,研究方向:干细胞再生医学和软骨修复。E-mail: xubingbing@hsc.pku.edu.cn

关节软骨主要由软骨细胞、软骨前体细胞、II 型胶原纤维和蛋白聚糖等组成,是关节腔内覆盖在滑膜上直接接触关节骨端的一种透明软骨<sup>[1]</sup>。关节软骨本身缺乏血管、淋巴和神经,自身修复能力有限,外界创伤、关节损伤或是其他疾病导致的软骨损伤一般无法自行痊愈,因此,需要对损伤的软骨进行及时治疗。常见的治疗方法根据软骨的退变程度可分为三类:姑息治疗、修复治疗和再生治疗<sup>[2-4]</sup>。

近年来,干细胞治疗为软骨损伤的修复提供了一种具有前景的治疗策略,治疗的关键就是要保证软骨细胞的正常分化或诱导分化<sup>[5]</sup>。干细胞是指具有自我复制和多向分化潜能的原始细胞,在一定条件下,它们可以在体内分化成多种成体细胞<sup>[6]</sup>。干细胞治疗主要是指将干细胞输送到身体的特定部位,以期修复病灶或受损的组织。近年来,许多临床实验证明,利用干细胞的自我更新和软骨分化能力,可以有效的治疗软骨损伤<sup>[7-8]</sup>。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)作为传统干细胞的一种,由于其取材简单、增殖能力强、引起免疫应答能力弱、分泌生长因子(如血管内皮生长因子和碱性成纤维细胞生长因子等)以及自我更新能力强等特点,能够通过体外培养、扩增获得足够数量的细胞,从而广泛的应用在软骨修复治疗中<sup>[7-8]</sup>。

因此,本文就近年来对骨髓间充质干细胞提取方法、表面鉴定、多向分化能力及其在软骨修复中的应用进行阐述,并对其未来的应用进行展望。

## 1 骨髓间充质干细胞的提取

骨髓间充质干细胞是一种长梭形的非造血细胞,主要来源于中胚层,在特定的分化条件下,可以分化成不同的组织(如骨骼、软骨、脂肪等)<sup>[9-10]</sup>。骨髓间充质干细胞主要取自骨髓,根据骨髓间充质干细胞的生物特性,可以采用骨髓贴壁培养法、密度梯度离心法和流式细胞仪器进行分选,下面对每种方法进行简要介绍。

### (1) 骨髓贴壁培养法

主要是根据细胞的贴壁性进行区分,通过固定时间间隔更换培养基来去除不贴壁的细胞,主要包括血细胞(如红细胞、白细胞、造血细胞等)。骨髓贴壁培养法具有操作简单、经济实惠等优点,但是该方法获得的骨髓间充质干细胞成分比较复杂、纯

度较低。

### (2) 密度梯度离心法

主要是根据细胞的大小和密度进行分选。该方法先用磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)等体积稀释骨髓血,再将稀释后的骨髓血与等体积的 FicolI 淋巴分离液通过梯度离心(3000 r/min, 15 min)获得不同类型的沉淀液。不同细胞根据其密度的差异分布在不同的高度上,红细胞以及多核细胞位于最底层(1.08 g/mL),淋巴细胞分离液(1.08 g/mL)位于倒数第二层,骨髓间充质干细胞、造血干细胞等单核细胞位于第二层(1.05~1.08 g/mL),而血浆及其溶解物处于最高层(1.05 g/mL)<sup>[11]</sup>。第二层为单核细胞层,该层细胞在颜色和形状上呈现出灰白色云雾状,在实际分离过程中,可根据操作的熟练程度,直接吸取第二层;或先去除第一层,再吸取第二层。将吸取的白色云雾状液体,用 PBS 洗涤后,倒入培养瓶中进行培养。通过骨髓贴壁培养法,进一步分离骨髓间充质干细胞。目前,由于密度离心法为非破坏性分析,且操作简单性、可扩展性强,从而广泛应用于实验室高纯度 BMSCs 的分离。

### (3) 流式细胞仪器分选

主要是根据不同细胞的表面标志物进行分选。利用电场的作用力分离细胞,通过标记多个表面标志物甚至是细胞内标准物对细胞进行识别。尽管这种方法获得的 BMSCs 纯度更高,但分选时间长、效率低,因此,在临床实验中该方法未得到普及。

## 2 骨髓间充质干细胞的多向分化能力

提取纯化后的骨髓间充质干细胞,需要进行细胞分化能力的表征鉴定。常用的方法为利用流式细胞仪对细胞表型进行鉴定以及对细胞进行三系分化诱导。

骨髓间充质干细胞在流式细胞仪中,一般表现为 CD29、CD44、CD71、CD90、CD105 和 CD106 阳性以及 CD3、CD4、CD14、CD34 和 CD45 阴性。其中成软骨潜力与 CD105 有关,该表型为转化生长因子  $\beta 3$ (transforming growth factor- $\beta 3$ , TGF- $\beta 3$ ) 的一个受体<sup>[12]</sup>,这意味着通过与 TGF- $\beta 3$  相互作用,CD105 在软骨组织的再生和修复过程中可能起到重要的调控作用。此外 CD146 作为与成骨潜能密切相关的标记物在 BMSCs 中被广泛表达,即在骨组织的再生和修复过程中, BMSCs 可以分化为骨细胞,参与骨

组织的生成和修复。

骨髓间充质干细胞三系诱导分化是指通过特定的培养条件,将骨髓间充质干细胞诱导分化成骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞。这一过程需要在特定的时间点添加多种刺激和抑制因子,这些因子在特定细胞类型分化的前期和末期发挥着重要的作用<sup>[13]</sup>。成骨诱导主要是将处于生长旺盛期的骨髓间充质干细胞接种于预埋了 0.1% 明胶的 6 孔细胞培养板上,同时加入 2 mL 完全培养基,待细胞融合 60%~70% 后,去除 6 孔细胞培养板中的完全培养基,同时加入 2 mL 成骨诱导分化完全培养基(10% 胎牛血清、0.1 μmol/L 地塞米松、10 mmol/L β-甘油磷酸酯和 50 μmol/L 抗坏血酸)。定时换液,在诱导 3 周后,使用茜素红进行染色,并利用显微镜观察染色情况。研究报告,Runt 相关转录因子 2 (Runt-related transcription factor 2, Runx2)、成骨细胞特异性转录因子(Osterix)和 β-连环蛋白(β-catenin)在成骨诱导分化中发挥举足轻重的作用<sup>[14-17]</sup>。成脂诱导是将处于生长旺盛期的骨髓间充质干细胞接种到 6 孔板中,每孔加入 2 mL 完全培养基并且定时换液,等到细胞融合度达到 100% 或者过融合时,去除孔内的培养基,并向每孔加入 2 mL 成脂诱导分化培养基 A 液(1 μmol/L 地塞米松、0.5 mmol/L 甲基异丁基黄嘌呤、10 μg/mL 胰岛素、100 mmol/L 吡啶美辛和 10% 胎牛血清)。诱导 3 d 后,吸走 6 孔板中的 A 液,加入 2 mL 带 10 μg/mL 胰岛素和 10% 胎牛血清的成脂诱导分化培养基 B 液。B 液作用 24 h 后,吸走 B 液,换回 A 液进行诱导。如此循环 3~5 次,继续用 B 液维持培养 4~7 d 直到脂滴变得足够大、足够圆。B 液维持培养期间,每隔 2~3 d 需要更换新鲜的 B 液,21 d 后,通过油红 O 染色评估细胞质内脂质空泡的形成情况。在成脂分化过程中,主要参与的转录因子有 miR-17、miR-21 和 miR-143<sup>[18]</sup>。成软骨诱导分化与上述两种分化的主要差异在于对细胞的悬浮培养。取生长旺盛的细胞置于离心管中,用 0.5 mL 间充质干细胞成软骨诱导完全培养基重悬,室温下 150 r/min 离心 5 min(拧松离心管管盖以便于气体交换),后将其放置于 37℃,5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养。当细胞团出现聚拢现象时,轻弹离心管底部使软骨球脱离管底,悬浮在液体中。定时更换培养基,诱导 21~28 d 后,对软骨球进行福尔马林固定和石蜡包埋切片,最后进行阿利辛蓝染色。成软骨分化中,性别决定 Y 染色体区

域(SRY)相关的高迁移率族盒基因 9 (Sox9)<sup>[19-20]</sup>以及锌指蛋白 145 (ZNF145)<sup>[21]</sup>等都是起到关键作用的主要转录因子。

### 3 骨髓间充质干细胞在关节软骨缺损修复中的应用

基于骨髓间充质干细胞的软骨缺损修复应用,主要分为两类:一类是直接将骨髓间充质干细胞注射到软骨损伤中,通过注射,干细胞可以促进软骨细胞的增殖和分化,并为损伤区提供细胞修复所需的生物因子和生长因子。该方法可以将干细胞通过局部注射的方式,直接输送到软骨缺损处,具有简单、非侵入性的特点,在临床应用中较为方便。另外一类则是通过组织工程软骨的递送系统,利用水凝胶等生物材料包裹干细胞,将材料移植到软骨缺损处。递送系统具有良好的生物相容性和可塑性,可以提供支架结构和细胞定位,在移植后,骨髓间充质干细胞可以逐渐分化为软骨细胞,并与材料共同促进软骨组织的再生和修复。这种方法可以根据缺损的大小和形状,精确定位和定制支架,为软骨修复提供更好的结构和功能重建。

由于提取骨髓间充质干细胞的治疗侵入性小,且能够降低发病率和手术成本,因此骨髓间充质干细胞的临床前验证得到了众多学者的广泛关注。Maeda 等<sup>[22]</sup>通过体外细胞实验验证 BMSCs 制造的圆盘形细胞薄片具有较好的成软骨性能。Al Faqeh 等<sup>[23]</sup>和 Ude 等<sup>[24]</sup>通过山羊的骨关节炎动物模型,发现在关节腔内注射干细胞可以促进软骨再生。此外,比格犬、猪等大型动物<sup>[25-26]</sup>以及兔子、小鼠<sup>[27-28]</sup>等小型动物的关节腔注射动物实验结果也表明,骨髓间充质干细胞有利于软骨修复。Li 等<sup>[29]</sup>将不同来源的间充质干细胞负载到脱钙骨支架并研究其软骨分化潜力,结果发现利用 BMSCs 修复软骨缺损,其修复组织在细胞形态和染色特性方面的表现超过了其他来源(如骨膜、脂肪、滑膜和肌肉等)的干细胞( $P < 0.05$ )。Nejadnik 等<sup>[30]</sup>将 72 名病情类似的患者随机分成两组,对两组患者分别使用软骨细胞和骨髓间充质干细胞进行修复,结果发现 BMSCs 移植在缓解疼痛和提高患者生活质量方面与软骨细胞同样有效,且与患者的年龄无关。尽管目前 BMSCs 的采集相对简单且具有低免疫原性,但直接注射 BMSCs 仍存在一定的问題,例如注射过程剪切力和局部缺氧等问题导致注射过程细胞死亡率较高、细胞在病灶区粘附力弱和细胞扩散等问题

导致干细胞无法在病灶区长时间停留等。

软骨组织工程是利用生物材料作为递送系统进行修复,以水凝胶等生物材料作为支架,通过支架模仿细胞外基质,利用支架复合细胞,将支架-细胞复合物移植到软骨损伤区。自体软骨替代物的产生和软骨缺陷新治疗策略的开发是组织工程软骨领域的重大挑战。通过使用支架为细胞生长提供一个三维空间,有利于种子细胞的存活,同时避免有害微环境的影响。目前,常见的支架材料主要分成两类:一类是自然材料,另外一类是合成材料。自然材料(如去细胞基质、胶原蛋白、壳聚糖、丝素蛋白、海藻酸盐等)生物相容性好,可降解,但强度偏低。合成材料(高分子材料(聚乳酸、聚乙二醇)、水凝胶材料(甲基丙烯酸酐化明胶、甲基丙烯酸酯化透明质酸明胶)等)来源广、强度高,但可能存在潜在的排异反应。

目前,软骨组织工程中常用 BMSCs 和水凝胶相结合的治疗方法,基于免疫调节和抗炎作用相关的“医学信号细胞”特性,在受伤组织中诱导再生微环境的建立。Feng 等<sup>[31]</sup>首先合成了巯基明胶和乙烯基磺化透明质酸,并通过微流道法将其与骨髓间充质干细胞混合后注射至软骨损伤部位,结果发现,细胞在水凝胶材料中具有较高的活性、增殖能力和分化能力,这种可注射的自组装负载干细胞的水凝胶能够实现简单有效的软骨修复。Abdul Rahman 等<sup>[32]</sup>以聚乳酸-羟基乙酸共聚物(poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA)/纤维蛋白构建了一个三维支架,将细胞接种于三维支架上有利于细胞成软骨分化。Liu 等<sup>[33]</sup>通过 3D 打印技术,利用甲基丙烯酸透明质酸(methacrylated hyaluronic acid, MeHA)/聚己酸内酯打印了复合 BMSCs 的多层支架,其中 MeHA 用于负载干细胞,双氯芬酸钠用于抑制炎症反应,结果显示,负载 BMSCs 的支架有利于促进 II 型胶原表达和抑制白细胞介素 1 表达,进一步说明利用 BMSCs 复合支架能够有效的避免关节内炎症反应并促进软骨修复。Erickson 等<sup>[34]</sup>研究表明,在体外植入 BMSCs 的透明质酸水凝胶可以改善软骨修复。Ansboro 等<sup>[35]</sup>将拟软骨的透明质酸微球用作诱导 BMSCs 软骨形成的生长因子传递源,负载 TGF- $\beta$ 3 的微球孵育生长的 BMSCs 增强了软骨相关糖胺聚糖的积累,并且 II 型胶原蛋白和蛋白聚糖的阳性染色证实了体外软骨的形成;体内植入实验同时也发现组织中蛋白聚糖表达的增加。Meng 等<sup>[36]</sup>

设计了一种由亲和肽修饰的脱矿质骨基质颗粒与壳聚糖水凝胶结合的复合支架用于软骨工程,这种支架具有适当的孔隙率,并为细胞粘附和增殖提供了微环境,能够改善 BMSCs 体外软骨分化的能力,可用于不规则形状软骨缺陷的修复。在临床软骨修复中使用 BMSCs 可以避免自体软骨细胞植入(autologous chondrocyte implantation, ACI)的局限性。在过去的 10 年中, BMSCs 用于治疗软骨缺损的植入方法取得了与第一代 ACI 相当的临床结果。此外,这种治疗方法并没有显著增加肿瘤形成的风险<sup>[37]</sup>。

#### 4 小结与展望

目前,大量的研究人员就骨髓间充质干细胞在软骨修复中的应用进行了丰富的研究。动物实验和临床试验研究结果表明,利用骨髓间充质干细胞能够较好的实现对软骨的修复,干细胞软骨治疗具有较好的发展前景。

尽管干细胞疗法为软骨损伤修复应用开辟了新途径,但移植后干细胞的存活率普遍较低。因此,研究如何支持干细胞的存活、促进细胞生物活性以及增强细胞与周围环境的结合,对于提高治疗效果具有重要的意义。另外,与细胞外基质类似的水凝胶材料作为递送干细胞的载体已经得到了广泛的研究。目前,实现软骨完全恢复到其原始的组成、结构、力学性能和生物功能仍然是一个重大的挑战。例如,同时实现整合软骨和软骨下骨再生已成为组织工程学中的关键挑战。同时,在考虑软骨修复过程中,还需要考虑软骨下骨修复,在组织工程支架设计上应仔细考虑两种不同类型组织的结构和模量差异。对于软骨修复部分,需要支架表现出高弹性模量以承受压力并抵抗摩擦,同时增强 BMSCs 的软骨形成,抑制肥大分化。软骨下骨修复部分,则需考虑促进水凝胶内血管网络的形成能力,以促进营养物质的运输,刺激成骨细胞的增殖并为再生软骨提供强大的支持。另外还需考虑,植人物与周围软骨界面粘附力,提高组织工程软骨的植入成功率。

在未来,随着科技的进一步发展,随着问题的逐一解决,将能够实现利用骨髓间充质干细胞精准、高效地修复软骨损伤。

#### 参考文献:

[1] Carballo CB, Nakagawa Y, Sekiya I, et al. Basic science of

- articular cartilage [J]. Clin Sports Med, 2017, 36(3): 413-425.
- [2] Wei W, Dai H. Articular cartilage and osteochondral tissue engineering techniques: recent advances and challenges [J]. Bioact Mater, 2021, 6(12): 4830-4855.
- [3] Koller U, Springer B, Rentenberger C, et al. Radiofrequency chondroplasty may not have a long-lasting effect in the treatment of concomitant grade II patellar cartilage defects in humans [J]. J Clin Med, 2020, 9(4): 1202.
- [4] Peng JL, Wang Q, Xu Y. Platelet-rich plasma treatment for talar cartilage repair: a systematic review and meta-analysis [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2023, 24(1): 366.
- [5] 吴梢. 诱导骨髓间充质干细胞定向分化成软骨细胞和成骨细胞的影响因素 [J]. 福建轻纺, 2022, 29(11): 11-14.
- [6] 王莹, 李丽丽. 骨髓间充质干细胞外泌体在治疗心衰中的作用 [J]. 心血管康复医学杂志, 2023, 32(2): 218-220.
- [7] Kim SH, Ha CW, Park YB, et al. Intra-articular injection of mesenchymal stem cells for clinical outcomes and cartilage repair in osteoarthritis of the knee: a meta-analysis of randomized controlled trials [J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2019, 139(7): 971-980.
- [8] Matheus HR, Özdemir SD, Guastaldi FPS. Stem cell-based therapies for temporomandibular joint osteoarthritis and regeneration of cartilage/osteochondral defects: a systematic review of preclinical experiments [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2022, 30(9): 1174-1185.
- [9] 杨榕羽, 宋飞, 黄浩, 等. 骨髓间充质干细胞在口腔医学中的应用 [J]. 昆明医科大学学报, 2023, 44(3): 155-159.
- [10] Ren X, Zhong W, Li W, et al. Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells alleviate psoriasis through TNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B/MMP13 pathway [J]. Inflammation, 2023, 46(3): 987-1001.
- [11] 段长伟, 柴彦杰, 赵疆东, 等. 骨髓间充质干细胞分离与培养技术 [J]. 宁夏医学杂志, 2021, 43(6): 573-576.
- [12] Perera JR, Jaiswal PK, Khan WS. The potential therapeutic use of stem cells in cartilage repair [J]. Curr Stem Cell Res Ther, 2012, 7(2): 149-156.
- [13] Almalki SG, Agrawal DK. Key transcription factors in the differentiation of mesenchymal stem cells [J]. Differentiation, 2016, 92(1-2): 41-51.
- [14] Komori T. Regulation of osteoblast differentiation by transcription factors [J]. J Cell Biochem, 2006, 99(5): 1233-1239.
- [15] Zhao Z, Zhao M, Xiao G, et al. Gene transfer of the Runx2 transcription factor enhances osteogenic activity of bone marrow stromal cells *in vitro* and *in vivo* [J]. Mol Ther, 2005, 12(2): 247-253.
- [16] Nakashima K, Zhou X, Kunkel G, et al. The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation [J]. Cell, 2002, 108(1): 17-29.
- [17] Day TF, Guo X, Garrett-Beal L, et al. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in mesenchymal progenitors controls osteoblast and chondrocyte differentiation during vertebrate skeletogenesis [J]. Dev Cell, 2005, 8(5): 739-750.
- [18] An X, Ma K, Zhang Z, et al. miR-17, miR-21, and miR-143 enhance adipogenic differentiation from porcine bone marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. DNA Cell Biol, 2016, 35(8): 410-416.
- [19] Augello A, de Bari C. The regulation of differentiation in mesenchymal stem cells [J]. Hum Gene Ther, 2010, 21(10): 1226-1238.
- [20] 廖军义, 周年, 林良波, 等. 联合表达 BMP2 和 Sox9 促进体外培养间充质干细胞成软骨分化 [J]. 南方医科大学学报, 2014, 34(3): 317-322.
- [21] Liu TM, Guo XM, Tan HS, et al. Zinc-finger protein 145, acting as an upstream regulator of SOX9, improves the differentiation potential of human mesenchymal stem cells for cartilage regeneration and repair [J]. Arthritis Rheum, 2011, 63(9): 2711-2720.
- [22] Maeda S, Fujitomo T, Okabe T, et al. Shrinkage-free preparation of scaffold-free cartilage-like disk-shaped cell sheet using human bone marrow mesenchymal stem cells [J]. J Biosci Bioeng, 2011, 111(4): 489-492.
- [23] Al Faqeh H, Nor Hamdan BM, Chen HC, et al. The potential of intra-articular injection of chondrogenic-induced bone marrow stem cells to retard the progression of osteoarthritis in a sheep model [J]. Exp Gerontol, 2012, 47(6): 458-464.
- [24] Ude CC, Sulaiman SB, Min-Hwei N, et al. Cartilage regeneration by chondrogenic induced adult stem cells in osteoarthritic sheep model [J]. PLoS One, 2014, 9(6): e98770.
- [25] Guo X, Wang C, Zhang Y, et al. Repair of large articular cartilage defects with implants of autologous mesenchymal stem cells seeded into beta-tricalcium phosphate in a sheep model [J]. Tissue Eng, 2004, 10(11-12): 1818-1829.
- [26] Yun S, Ku SK, Kwon YS. Adipose-derived mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma synergistically ameliorate the surgical-induced osteoarthritis in Beagle dogs [J]. J Orthop Surg Res, 2016, 11: 9.
- [27] Chiang ER, Ma HL, Wang JP, et al. Allogeneic mesenchymal stem cells in combination with hyaluronic acid for the treatment of osteoarthritis in rabbits [J]. PLoS One, 2016, 11(2): e0149835.
- [28] Kim JE, Lee SM, Kim SH, et al. Effect of self-assembled peptide-mesenchymal stem cell complex on the progression of osteoarthritis in a rat model [J]. Int J Nanomedicine, 2014, 9(Suppl 1): 141-157.
- [29] Li Q, Tang J, Wang R, et al. Comparing the chondrogenic potential *in vivo* of autogeneic mesenchymal stem cells derived from different tissues [J]. Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol, 2011, 39(1): 31-38.
- [30] Nejadnik H, Hui JH, Feng Choong EP, et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells versus autologous chondrocyte implantation: an observational cohort study [J]. Am

- J Sports Med, 2010, 38(6): 1110–1116.
- [31] Feng Q, Li Q, Wen H, et al. Injection and self-assembly of bioinspired stem cell-laden gelatin/hyaluronic acid hybrid microgels promote cartilage repair *in vivo* [J]. Adv Funct Mater, 2019, 29(50): 1906690.
- [32] Abdul Rahman R, Mohamad Sukri N, Nazir NM, et al. The potential of 3-dimensional construct engineered from poly(lactic-co-glycolic acid)/fibrin hybrid scaffold seeded with bone marrow mesenchymal stem cells for *in vitro* cartilage tissue engineering [J]. Tissue Cell, 2015, 47(4): 420–430.
- [33] Liu Y, Peng L, Li L, et al. 3D-bioprinted BMSC-laden biomimetic Multiphasic scaffolds for efficient repair of osteochondral defects in an osteoarthritic rat model [J]. Biomaterials, 2021, 279: 121216.
- [34] Erickson IE, Kestle SR, Zellars KH, et al. Improved cartilage repair via *in vitro* pre-maturation of MSC-seeded hyaluronic acid hydrogels [J]. Biomed Mater, 2012, 7(2): 24110.
- [35] Ansboro S, Hayes JS, Barron V, et al. A chondromimetic microsphere for *in situ* spatially controlled chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells [J]. J Control Release, 2014, 179: 42–51.
- [36] Meng Q, Man Z, Dai L, et al. A composite scaffold of MSC affinity peptide-modified demineralized bone matrix particles and chitosan hydrogel for cartilage regeneration [J]. Sci Rep, 2015, 5: 17802.
- [37] Teo AQA, Wong KL, Shen L, et al. Equivalent 10-year outcomes after implantation of autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells versus autologous chondrocyte implantation for chondral defects of the knee [J]. Am J Sports Med, 2019, 47(12): 2881–2887.

〔收稿日期〕2023-06-08

## (上接第 131 页)

- [104] Lu H, Xiao H, Dai M, et al. Britanin relieves ferroptosis-mediated myocardial ischaemia/reperfusion damage by upregulating GPX4 through activation of AMPK/GSK3 $\beta$ /Nrf2 signalling [J]. Pharm Biol, 2022, 60(1): 38–45.
- [105] Liu B, Zhao C, Li H, et al. Puerarin protects against heart failure induced by pressure overload through mitigation of ferroptosis [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 497(1): 233–240.
- [106] Liu J, Zhang M, Qin C, et al. Resveratrol attenuate myocardial injury by inhibiting ferroptosis *via* inducing KAT5/GPX4 in myocardial infarction [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 906073.
- [107] Shen Y, Shen X, Wang S, et al. Protective effects of Salvianolic acid B on rat ferroptosis in myocardial infarction through upregulating the Nrf2 signaling pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2022, 112: 109257.
- [108] Xu Y, Lin H, Wang H, et al. Fraxetin attenuates ferroptosis in myocardial infarction via AKT/Nrf2/HO-1 signaling [J]. Am J Transl Res, 2021, 13(9): 10315–10327.
- [109] Li D, Liu X, Pi W, et al. Fisetin attenuates doxorubicin-induced cardiomyopathy *in vivo* and *in vitro* by inhibiting ferroptosis through SIRT1/Nrf2 signaling pathway activation [J]. Front Pharmacol, 2022, 12: 808480.
- [110] Chen H, Zhu J, Le Y, et al. Salidroside inhibits doxorubicin-induced cardiomyopathy by modulating a ferroptosis-dependent pathway [J]. Phytomedicine, 2022, 99: 153964.
- [111] Zhao YY, Yang YQ, Sheng HH, et al. GPX4 plays a crucial role in fuzheng kang' ai decoction-induced non-small cell lung cancer cell ferroptosis [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 851680.
- [112] Mei SL, Xia ZY, Qiu Z, et al. Shenmai injection attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury by targeting Nrf2/GPX4 signalling-mediated ferroptosis [J]. Chin J Integr Med, 2022, 28(11): 983–991.
- [113] Zhang J, Wang X, Guan B, et al. Qing-Xin-Jie-Yu Granule inhibits ferroptosis and stabilizes atherosclerotic plaques by regulating the GPX4/xCT signaling pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 301: 115852.

〔收稿日期〕2023-03-01