

microRNA-223 对糖基化终产物诱导人脂肪间充质干细胞 凋亡和氧化应激影响的体外研究

王哲¹, 张殿宝², 杨向红¹

(中国医科大学 1. 盛京医院病理科, 辽宁省沈阳市 110004; 2. 细胞生物学卫生部重点实验室
干细胞与再生医学研究室, 辽宁省沈阳市 110001)

[关键词] 糖基化终产物; 人脂肪间充质干细胞; microRNA-223; 凋亡; 氧化应激

[摘要] **目的** 观察 microRNA-223(miR-223)对糖基化终产物(AGE)诱导人脂肪间充质干细胞(hADSC)凋亡和氧化应激的影响。**方法** 采用酶消化法分离培养 hADSC, 并应用流式细胞术对表面抗原 CD14、CD34、CD45、CD90、CD105 和人类白细胞抗原 DR(HLA-DR)进行检测。将 hADSC 分为牛血清白蛋白(BSA)对照组、AGE 修饰的牛血清白蛋白(AGE-BSA)作用组、miR-223 模拟物转染组、miR-223 模拟物转染+AGE-BSA 组、miR-223 抑制物转染组和 miR-223 抑制物转染+AGE-BSA 组。应用 CCK-8 法和 TUNEL 染色检测各组细胞存活率和凋亡率, Western blot 检测 Cleaved Caspase3 蛋白表达水平, 应用双氯荧光素(DCFH-DA)试剂盒检测各组细胞活性氧(ROS)含量。**结果** 流式细胞术检测结果表明, 原代培养的 hADSC 高表达 CD14、CD90 和 CD105, 不表达 CD34、CD45 和 HLA-DR。CCK-8 法、TUNEL 染色、Western blot 和 DCFH-DA 法检测结果表明, 与 BSA 对照组相比, AGE-BSA 作用组 hADSC 凋亡率、miR-223 表达水平、Cleaved Caspase3 蛋白表达水平、ROS 生成显著升高, 而细胞存活率下降($P < 0.05$); 与 AGE-BSA 作用组相比, miR-223 模拟物转染能够进一步上调 AGE-BSA 引起的 hADSC 凋亡率、Cleaved Caspase3 蛋白表达水平和 ROS 生成增加, 下调 AGE-BSA 引起的 hADSC 存活率减少($P < 0.05$); 与 AGE-BSA 作用组相比, miR-223 抑制物转染能够抑制 hADSC 凋亡率、Cleaved Caspase3 蛋白表达水平和 ROS 生成增加, 拮抗 AGE-BSA 引起的 hADSC 存活率减少($P < 0.05$)。**结论** miR-223 高表达能够促进 AGE-BSA 引起的 hADSC 细胞凋亡和 ROS 生成, 其可能作为调控 hADSC 促进糖尿病创伤愈合的新靶点。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effect of microRNA-223 on apoptosis and oxidative stress of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cell induced by advanced glycosylation end product in vitro

WANG Zhe¹, ZHANG Dian-Bao², YANG Xiang-Hong¹

(1. Department of Pathology, Affiliated Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang, Liaoning 110004, China; 2. Institute of Stem Cells and Reproductive Medicine & Key Laboratory of Cell Biology, Ministry of Health, China Medical University, Shenyang, Liaoning 110001, China)

[KEY WORDS] Advanced glycosylation end product; Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cell; MicroRNA-223; Apoptosis; Oxidative stress

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of microRNA-223 (miR-223) on apoptosis and oxidative stress of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cell (hADSC) induced by advanced glycosylation end product (AGE).

Methods The hADSCs were isolated and cultured by enzymatic digestion, and flow cytometry was used to detect the surface antigen (CD14, CD34, CD45, CD90, CD105 and HLA-DR) of hADSC. The hADSCs were divided into 6 groups: bovine serum albumin (BSA) group, AGE modified BSA (AGE-BSA) treatment group, miR-223 mimic transfection group, miR-223 mimic transfection+AGE-BSA group, miR-223 inhibitor transfection group, and miR-223 inhibitor transfection+AGE-BSA group. Cell viability and apoptosis rate were evaluated by CCK-8 assay and TUNEL assay respectively.

[收稿日期] 2016-06-17

[修回日期] 2016-10-18

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81601692); 辽宁省教育厅科学研究项目(LK201602)

[作者简介] 王哲, 博士, 主治医师, 讲师, 研究方向为干细胞与再生医学, E-mail 为 wz_cmu@126.com。通讯作者杨向红, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化发病机制, E-mail 为 yangxh@sj-hospital.com。

Western blot was used to assess the expression of Cleaved Caspase3 protein in hADSC. The content of reactive oxygen species (ROS) in hADSC was determined by 2',7'-dichlorofluorescein-diacetate (DCFH-DA) reagent kit. **Results** The hADSCs were positive for stem cell markers, including CD14, CD90 and CD105, and negative for CD34, CD45 and HLA-DR, as shown by flow cytometry. CCK-8 method, TUNEL staining, Western blot and DCFH-DA test results showed that: Compared with the BSA control group, the hADSC apoptosis rate, miR-223 expression, Cleaved Caspase3 protein expression and ROS production increased significantly in AGE-BSA treatment group, but hADSC survival rate decreased ($P < 0.05$); Compared with AGE-BSA treatment group, miR-223 mimic transfection could further increase the hADSC apoptosis rate, Cleaved Caspase3 protein expression and ROS production induced by AGE-BSA, and could further reduce hADSC survival rate ($P < 0.05$); Compared with AGE-BSA treatment group, miR-223 inhibitor transfection could inhibit the increases of hADSC apoptosis rate, Cleaved Caspase3 protein expression and ROS production, and could prevent the decrease of hADSC survival rate induced by AGE-BSA ($P < 0.05$). **Conclusion** High expression of miR-223 can promote the hADSC apoptosis and ROS production, and miR-223 may serve as a new target for the regulation of hADSC in promoting the healing of diabetic wound.

糖尿病患者体内糖基化终产物(advanced glycosylation end product, AGE)含量明显升高,并伴有间充质干细胞功能的损伤^[1-2]。人脂肪间充质干细胞(human adipose tissue-derived mesenchymal stem cell, hADSC)是一种来源于脂肪组织的间充质干细胞,研究证实, hADSC 能够促进糖尿病患者皮肤溃疡愈合^[3]。尽管自体 hADSC 治疗皮肤溃疡取得了很好的效果,但是一些研究中仍然发现,由于糖尿病可引起 hADSC 凋亡和氧化应激损伤,并导致糖尿病患者皮肤溃疡愈合不良^[4]。前期研究证实,丝裂素活化蛋白激酶信号通路参与调控 AGE 诱导 hADSC 氧化应激和凋亡。最新研究表明, microRNA-223 (miR-223) 能通过靶向作用胰岛素样生长因子受体 1 参与调控 AGE 引起的成骨细胞凋亡。本研究拟观察 miR-223 对 AGE 诱导的 hADSC 氧化应激和凋亡的影响,为阐明 miR-223 参与调控糖尿病皮肤损伤愈合的机制提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

人脂肪组织由中国医科大学附属盛京医院整形外科提供,并与患者签署知情同意书。胎牛血清购自美国 Gibco 公司;荧光标记的抗 CD14、CD34、CD45、CD90、CD105 和人类白细胞抗原 DR (human leukocyte antigen-DR, HLA-DR) 抗体购自美国 BD 公司;CCK-8 试剂盒购自 Dojindo 公司;DMEM 培养液、胰蛋白酶购自美国 Gibco 公司;原位细胞凋亡检测 (transferase-mediated dUTP nick end-labeling, TUNEL) 试剂盒购自美国 Roche 公司;双氯荧光素 (2',7'-dichlorofluorescein-diacetate, DCFH-DA) 检测

试剂盒购自 Sigma-Aldrich 公司;RNA 提取及逆转录试剂盒购自 Promega 公司;Cleaved Caspase3 抗体和 GAPDH 抗体购自 Proteintech 公司。

1.2 hADSC 培养与鉴定

健康成人皮下脂肪组织取自中国医科大学附属盛京医院整形外科患者,标本的收集均经医院伦理委员会许可和患者本人同意。在无菌条件下获取 50 g 脂肪组织,去除血管、筋膜后置于一次性无菌平皿中,PBS 清洗后剪碎,并加入 2 倍脂肪体积的 I 型胶原蛋白,置于 37℃ 水浴箱中消化约 60 min,消化结束后置于细胞筛上过滤,并以 $2 \times 10^8/L$ 的浓度接种于一次性无菌培养瓶中,37℃、5% CO₂、饱和湿度培养箱中培养。按照常规方法进行换液和传代。参照文献[5-6]方法,应用流式细胞术对细胞表面抗原 CD14、CD34、CD45、CD90、CD105 和 HLA-DR 进行鉴定。

1.3 miR-223 模拟物和抑制物转染

将 3~4 代的 hADSC 接种于 6 孔培养板,每孔细胞数约为 2×10^5 个,当细胞生长融合度至 80% 时,向每孔加入 miR-223 模拟物 (mimic)、抑制物 (inhibitor) 或者阴性对照 miRNA,终浓度均为 20 nmol/L,转染 24 h。实验重复 3 次。

1.4 AGE-BSA 的制备与实验分组

糖基化终产物修饰的牛血清白蛋白 (advanced glycation end products-bovine serum albumin, AGE-BSA) 制备的方法参照文献[7]。对照组中不含葡萄糖,其余条件一致。实验前将制备好的 AGE-BSA 置于透析膜中透析以去除未结合的葡萄糖。实验分组:将第 3~4 代贴壁培养的 hADSC 分为 BSA 对照组、AGE-BSA (100 μmol/L) 作用组、miR-223 mimic 转染组、miR-223 mimic 转染+AGE-BSA (100

$\mu\text{mol/L}$) 组、miR-223 inhibitor 转染组、miR-223 inhibitor 转染+AGE-BSA (100 $\mu\text{mol/L}$) 组。具体方法为:将转染 miR-223 mimic 或者 miR-223 inhibitor 的细胞用 AGE-BSA 或者 BSA 处理,转染 24 h 或者 36 h 后,给予 AGE-BSA (浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$),作用 24 h 后收集各组细胞。

1.5 TUNEL 染色检测细胞凋亡

将细胞接种于 24 孔培养板中,给予各实验组不同的处理因素后,弃培养液,用 4% 多聚甲醛于室温下固定各组细胞 15 min,用 PBS 洗去多余的多聚甲醛,然后加新配制的破膜液处理 5 min,每个样本加入混合好的 TUNEL 反应液,封闭液封闭,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 1 h。显微镜下观察并统计凋亡细胞数量。光镜下凋亡细胞呈棕黄色 (TUNEL 阳性),随机选取 40 个非重叠 400 倍高倍视野,计数凋亡细胞数和细胞总数,细胞凋亡率 = 凋亡细胞数/细胞总数 $\times 100\%$ [8]。

1.6 Western blot 检测细胞中 Cleaved Caspase3 蛋白含量

应用细胞裂解液提取各组细胞总蛋白,采用 BCA 法检测蛋白浓度。取 60 μg 蛋白样品,配置 10% 分离胶和 5% 浓缩胶,进行 SDS-PAGE 电泳,半干法转膜 30 min,用 TBST 配置的 5% 封闭液封闭 1 h, TBST 清洗后,加入 Cleaved Caspase3 抗体 (1 : 1000), 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, TBST 洗膜,加入山羊抗兔二抗 (1 : 5000), 室温孵育 2 h, TBST 洗膜,显色,曝光,扫描分析。

1.7 CKK-8 测定细胞存活率

取对数生长期的 hADSC,胰蛋白酶消化后重悬并计数,每孔加入 200 μL 悬液,每组设 6 个复孔。细胞融合至 70% 后,吸出培养液,使用无血清培养基继续培养 24 h。按照细胞分组分别加入药物后,向每孔加入 CKK-8 试剂 20 μL ,轻摇,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2.5 h,用酶标仪检测吸光度 (absorbance, A)。取 5 孔 A

值的平均数,按下列公式计算细胞存活率:细胞存活率 (%) = 处理组 A / 对照组 A $\times 100\%$;重复 5 次。

1.8 DCFH-DA 试剂盒检测细胞活性氧生成情况

细胞内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平测定:采用 DCFH-DA 染色检测细胞内活性氧含量。将细胞接种于 24 孔培养板中,给予各实验组不同的处理因素后,弃培养液,细胞与 10 $\mu\text{mol/L}$ DCFH-DA 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min,弃液,用 PBS 冲洗 3 次,风干。采用荧光显微镜 (激发波长为 488 nm) 检测绿色荧光强度并拍照,采用 ImageJ 1.41 软件分析荧光强度。细胞内活性氧的相对含量 (%) = 处理组的荧光值 / 对照组的荧光值 $\times 100\%$ [9]。

1.9 实时定量 PCR 检测

采用 Trizol 试剂提取各组细胞中总 RNA。采用 SYBR Premix ExTaq 荧光定量 PCR 试剂盒和 Light-Cycler 仪器进行操作和分析。反应条件如下:94 $^{\circ}\text{C}$ 15 s; 94 $^{\circ}\text{C}$ 20 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 10 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 s, 40 次循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min。各组细胞中目的基因 mRNA 的相对表达水平采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 计算公式。实验重复 3 次。

1.10 统计学分析

所有实验均重复 3 次以上,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,利用 SPSS 17.0 软件进行 *t* 检验和 SNK 方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 hADSC 培养与鉴定

原代培养的 hADSC 呈纺锤形,细胞生长至 10 天后, hADSC 即可达 80% ~ 90% 融合状态。传代后细胞生长迅速, 3~4 天即可传 1 代。传至第 3 代时,细胞形态均一。经流式细胞术检测后,大部分细胞表达 CD90、CD105 和 CD14,不表达 CD34、CD45 和 HLA-DR (图 1),符合间充质干细胞的免疫表型特征。

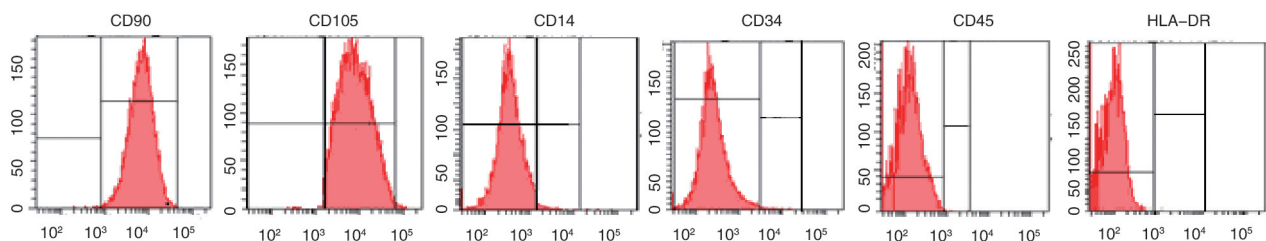


图 1. 流式细胞术检测 hADSC 的免疫表型

Figure 1. Immunophenotype of hADSC detected by flow cytometry

2.2 AGE-BSA 对 hADSC 存活率和凋亡率的影响

与 BSA 对照组相比, AGE-BSA 作用组 hADSC 细胞存活率明显下降($P<0.05$), 而细胞凋亡率明显增加($P<0.05$; 图 2)。

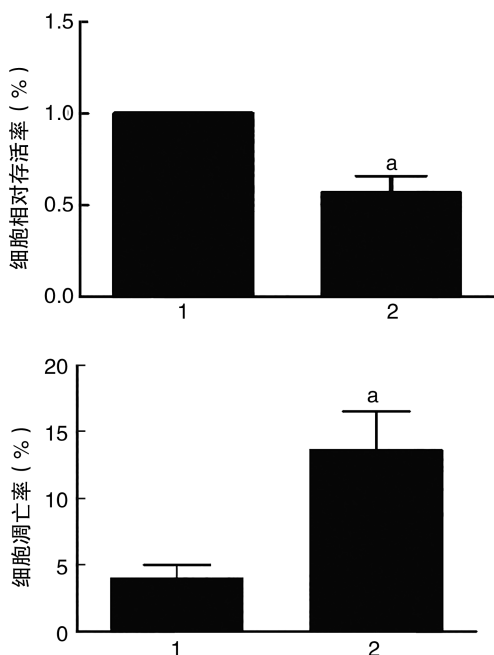


图 2. AGE-BSA 对 hADSC 存活率和凋亡率的影响 上图为 CCK-8 法检测 hADSC 相对存活率, 下图为 TUNEL 染色检测 hADSC 凋亡率。1 为 BSA 对照组, 2 为 AGE-BSA 作用组。a 为 $P<0.05$, 与 BSA 对照组比较。

Figure 2. Effect of AGE-BSA on the survival rate and apoptosis rate of hADSC

2.3 AGE-BSA 对 hADSC 中 miR-223 表达水平的影响

与 BSA 对照组比较, AGE-BSA 作用组 hADSC 中 miR-223 表达水平明显增加($P<0.05$; 图 3)。

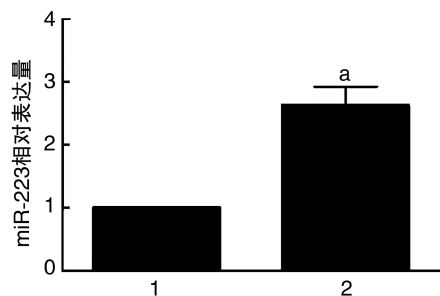


图 3. AGE-BSA 对 hADSC 中 miR-223 表达水平的影响 1 为 BSA 对照组, 2 为 AGE-BSA 作用组。a 为 $P<0.05$, 与 BSA 对照组比较。

Figure 3. Effect of AGE-BSA on the expression level of miR-223 in hADSC

2.4 miR-223 和 AGE-BSA 对 hADSC 存活率和凋亡率的影响

与 BSA 对照组相比, miR-223 mimic 转染组 hADSC 细胞存活率明显下降($P<0.05$), 而细胞凋亡率明显增加($P<0.05$); 与 AGE-BSA 作用组相比, miR-223 mimic 转染+AGE-BSA 组 hADSC 细胞存活率明显下降, 细胞凋亡率明显增加($P<0.05$); 与 AGE-BSA 作用组相比, miR-223 inhibitor 转染+AGE-BSA 组 hADSC 细胞存活率明显增加, 细胞凋亡率明显下降($P<0.05$; 图 4)。

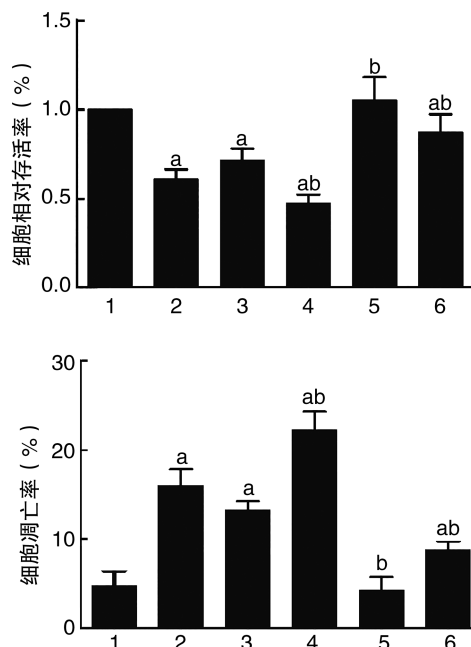


图 4. miR-223 和 AGE-BSA 对 hADSC 存活率和凋亡率的影响 1 为 BSA 对照组, 2 为 AGE-BSA 作用组, 3 为 miR-223 mimic 转染组, 4 为 miR-223 mimic 转染+AGE-BSA 组, 5 为 miR-223 inhibitor 转染组, 6 为 miR-223 inhibitor 转染+AGE-BSA 组。a 为 $P<0.05$, 与 BSA 对照组比较; b 为 $P<0.05$, 与 AGE-BSA 作用组比较。

Figure 4. Effects of miR-223 and AGE-BSA on the survival rate and apoptosis rate of hADSC

2.5 miR-223 和 AGE-BSA 对 hADSC 中 Cleaved Caspase3 蛋白表达水平的影响

与 BSA 对照组相比, miR-223 mimic 转染组 hADSC 细胞中 Cleaved Caspase3 蛋白的表达水平明显升高($P<0.05$); 与 AGE-BSA 作用组相比, miR-223 mimic 转染+AGE-BSA 组 hADSC 中 Cleaved Caspase3 蛋白的表达水平明显增加($P<0.05$); 与 AGE-BSA 作用组相比, miR-223 inhibitor 转染+AGE-BSA 组 hADSC 中 Cleaved Caspase3 蛋白的表达水平明显降低($P<0.05$; 图 5)。

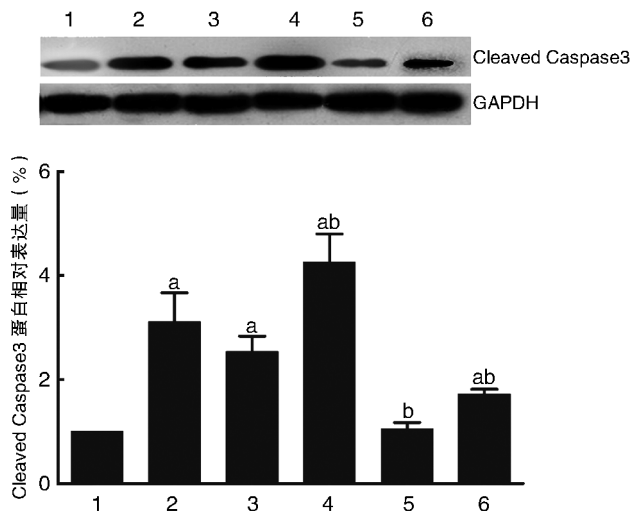


图 5. miR-223 和 AGE-BSA 对 hADSC 中 Cleaved Caspase3 蛋白表达水平的影响 1 为 BSA 对照组, 2 为 AGE-BSA 作用组, 3 为 miR-223 mimic 转染组, 4 为 miR-223 mimic 转染+AGE-BSA 组, 5 为 miR-223 inhibitor 转染组, 6 为 miR-223 inhibitor 转染+AGE-BSA 组。a 为 $P < 0.05$, 与 BSA 对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 AGE-BSA 作用组比较。

Figure 5. Effects of miR-223 and AGE-BSA on the expression of Cleaved Caspase3 protein in hADSC

2.6 miR-223 和 AGE-BSA 对 hADSC 中 ROS 含量的影响

与 BSA 对照组相比, AGE-BSA 作用组, miR-223 mimic 转染组 hADSC 细胞中 ROS 含量均明显升高 ($P < 0.05$); 与 AGE-BSA 作用组相比, miR-223 mimic 转染+AGE-BSA 组 hADSC 细胞中 ROS 含量明显增加 ($P < 0.05$); 与 AGE-BSA 作用组相比, miR-223 inhibitor 转染+AGE-BSA 组 hADSC 细胞中 ROS 含量明显降低 ($P < 0.05$; 图 6)。

3 讨论

糖尿病患者皮肤易受损伤, 损伤后创面迁延不愈, 常形成难愈性溃疡。糖尿病创面难愈的机制十分复杂, 至今对糖尿病创面的临床治疗效果不甚理想, 因此阐明糖尿病创面愈合的机制成为亟待发展的治疗问题。

随着近年来分子生物学等学科的发展, 对糖尿病创面愈合机制的研究也日趋深入, 围绕信号通路、血管生成、神经肽、AGE、细胞凋亡及基质金属蛋白酶等方面的研究逐渐成为热点。研究表明, 除了本身的血糖控制外, 创面周围干细胞功能的保护对于创面愈合至关重要。尽管自体 hADSC 治疗糖尿病皮肤溃疡取得了很好的效果, 但是一些研究中发

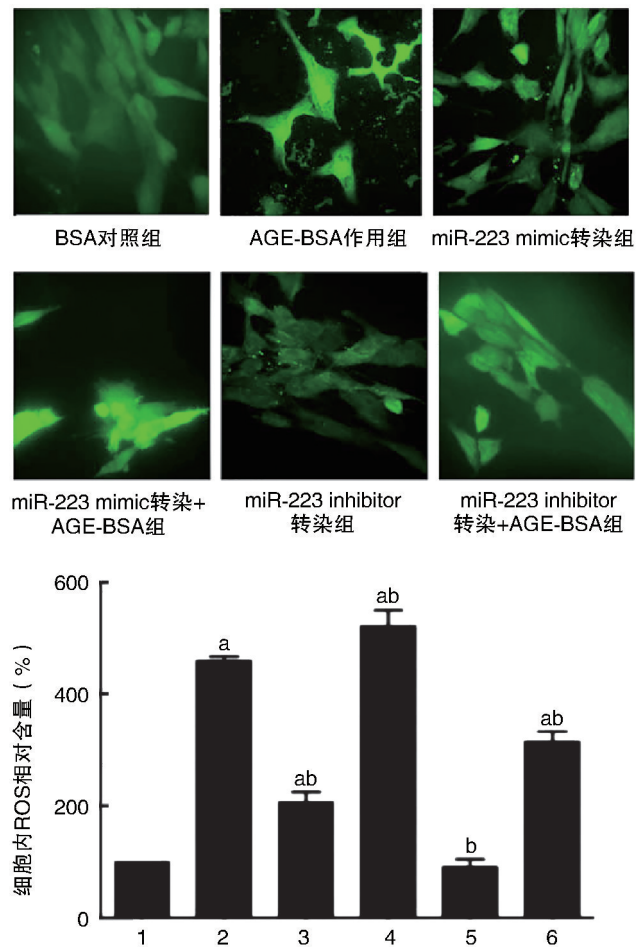


图 6. miR-223 和 AGE-BSA 对 hADSC 中 ROS 含量的影响 显微镜图放大倍数为 400。1 为 BSA 对照组, 2 为 AGE-BSA 作用组, 3 为 miR-223 mimic 转染组, 4 为 miR-223 mimic 转染+AGE-BSA 组, 5 为 miR-223 inhibitor 转染组, 6 为 miR-223 inhibitor 转染+AGE-BSA 组。a 为 $P < 0.05$, 与 BSA 对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 AGE-BSA 作用组比较。

Figure 6. Effects of miR-223 and AGE-BSA on content of ROS in hADSC

现, 由于 hADSC 功能损伤从而导致糖尿病患者皮肤溃疡愈合不良。血清 AGE 水平在老龄、动脉粥样硬化、糖尿病患者中显著升高^[2]。研究表明, 患者体内高浓度 AGE 引起的 hADSC 氧化应激和凋亡增加在糖尿病皮肤溃疡发病中起到了一定的作用^[4,10]。然而, AGE 对 hADSC 氧化应激和凋亡的影响及机制研究较少。前期的实验发现 AGE 能促进内皮细胞和脐血间充质干细胞 ROS 生成, 减少抗氧化酶生成, 增强氧化应激, 破坏细胞内环境稳定性, 从而影响内皮细胞和脐血间充质干细胞功能^[11-12]。最近的研究发现 AGE 对内皮祖细胞数量和功能也一定有影响^[13]。本研究中我们通过对 AGE-BSA 刺激后的 hADSC 细胞凋亡率、细胞存活率、Cleaved

Caspase3 蛋白表达以及 ROS 含量进行检测,结果发现 AGE-BSA 能增加 hADSC 细胞凋亡率、Cleaved Caspase3 蛋白表达以及 ROS 含量,降低细胞存活率。上述结果提示,糖尿病患者体内的 AGE-BSA 能够引起 hADSC 氧化应激损伤,促进细胞凋亡,抑制细胞存活,从而影响 hADSC 促进创面愈合功能。

近年来对 miRNA 的研究结果表明,miRNA 在细胞发育、代谢、衰老及死亡等重大事件中有着重要的作用。研究发现,miR-223 在糖尿病患者血清中特异性高表达^[14]。本研究结果表明,AGE-BSA 增加 hADSC 氧化应激和细胞凋亡的同时伴随着 miR-223 表达的上调。为了进一步探讨 miR-223 在 AGE-BSA 促进 hADSC 氧化应激和细胞凋亡中的作用,我们通过构建差异表达 miR-223 的 hADSC,结果表明,高表达 miR-223 能进一步上调 AGE-BSA 引起的 hADSC 凋亡和 ROS 含量增加;低表达 miR-223 能抑制 AGE-BSA 引起的 hADSC 凋亡和 ROS 含量增加。由此推断,糖尿病创面愈合的机制可能为糖尿病患者体内高浓度 AGE 上调了 hADSC 中 miR-223 表达,异常表达的 miR-223 进一步促进 hADSC 氧化应激和凋亡,从而影响了 hADSC 修复功能。

综上所述,本研究结果为 miR-223 应用于糖尿病、动脉粥样硬化等与氧化应激密切相关疾病的治疗提供了进一步的理论基础,提示抗 AGE 生成或者下调 miR-223 表达有可能抑制氧化应激和凋亡,成为改善 hADSC 功能和促进糖尿病患者皮肤创伤愈合的有效方法。

[参考文献]

- [1] Stolzing A, Sellers D, Llewelyn O. Diabetes induced changes in rat mesenchymal stem cells [J]. *Cells Tissues Organs*, 2010, 191(6): 453-465.
- [2] Prasad A, Bekker P, Tsimikas S, et al. Advanced glycation end products and diabetic cardiovascular disease[J]. *Cardiol Rev*, 2012, 20(4): 177-183.
- [3] Kovanecz I, Vernet D, Masouminia M. Implanted muscle-derived stem cells ameliorate erectile dysfunction in a rat model of type 2 diabetes, but their repair capacity is impaired by their prior exposure to the diabetic milieu[J]. *J Sex Med*, 2016, 13(5): 786-797.
- [4] Fiorina P, Pietramaggiore G, Scherer SS, et al. The mobilization and effect of endogenous bone marrow progenitor cells in diabetic wound healing[J]. *Cell Transplant*, 2010, 19(11): 1 369-381.
- [5] Liu X, Wang Z, Wang R, et al. Direct comparison of the potency of human mesenchymal stem cells derived from amnion tissue, bone marrow and adipose tissue at inducing dermal fibroblast responses to cutaneous wounds[J]. *Int J Mol Med*, 2013, 31(2): 407-415.
- [6] 刘晓玉, 王瑞, 张涛, 等. 人脂肪间充质干细胞对皮肤创伤修复的作用[J]. *基础医学与临床*, 2013, 33(11): 1 377-381.
- [7] 林雪松, 汪乐, 乔亮. 高糖及晚期糖基化终产物环境对血管内皮细胞血管样结构形成的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 34(5): 596-602.
- [8] 刘春阳, 李浪, 苏强, 等. 曲美他嗪影响巴马小型猪冠状动脉微栓塞后心肌细胞凋亡的机制[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2015, 23(7): 657-662.
- [9] 陈雨, 侯卫平, 袁发焕. 动力相关蛋白-1 在缺氧/复氧诱导人肾小管上皮细胞凋亡机制中的作用[J]. *第三军医大学学报*, 2016, 38(11): 1 251-256.
- [10] Nie C, Yang D, Xu J, et al. Locally administered adipose-derived stem cells accelerate wound healing through differentiation and vasculogenesis[J]. *Cell Transplant*, 2011, 20(2): 205-216.
- [11] 王哲, 刘晓玉, 张殿宝, 等. 普罗布考对糖尿病小鼠脂肪间充质干细胞功能的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(12): 1 207-212.
- [12] 王哲, 刘晓玉, 张殿宝, 等. 晚期糖基化终产物对人脂肪间充质干细胞功能影响的体外研究[J]. *中国病理生理杂志*, 2014, 30(5): 897-901.
- [13] Chen J, Song M, Yu S, et al. Advanced glycation endproducts alter functions and promote apoptosis in endothelial progenitor cells through receptor for advanced glycation endproducts mediate overexpression of cell oxidant stress [J]. *Mol Cell Biochem*, 2010, 335(1-2): 137-146.
- [14] Zhu H, Leung SW. Identification of microRNA biomarkers in type 2 diabetes: a meta-analysis of controlled profiling studies[J]. *Diabetologia*, 2015, 58(5): 1-12.

(此文编辑 曾学清)