

## 高迁移率族蛋白 1 及其受体对大鼠骨髓间充质干细胞增殖及细胞因子水平的影响

刘志江<sup>1</sup>, 石蓓<sup>1</sup>, 束波<sup>2</sup>, 马帅<sup>1</sup>

(遵义医学院 1. 第一附属医院心内科, 2. 生物化学与分子生物学教研室, 贵州省遵义市 563000)

[关键词] 高迁移率族蛋白 1; 骨髓间充质干细胞; 细胞因子

[摘要] **目的** 探讨高迁移率族蛋白 1(HMGB1)及其受体对大鼠骨髓间充质干细胞(MSC)增殖及细胞因子水平的影响。**方法** 体外传代培养大鼠 MSC,以 25.0、50.0 及 100.0  $\mu\text{g/L}$  HMGB1 分别作用细胞 24 h、48 h、72 h 后,MTT 检测 MSC 的增殖情况。25.0、50.0 及 100.0  $\mu\text{g/L}$  HMGB1 作用 MSC 48 h 后,ELISA 测定细胞培养液中血管内皮生长因子(VEGF)和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)水平,Western blot 检测 MSC 中 HMGB1 的晚期糖基化终产物受体(RAGE)和 Toll 样受体 4(TLR4)的表达情况。确定 HMGB1 对 MSC 作用的最佳药物浓度后,siRNA 分别抑制 RAGE 受体和 TLR4 受体,观察 HMGB1 对 MSC 增殖及分泌细胞因子水平的影响。**结果** 25.0  $\mu\text{g/L}$  HMGB1 作用 MSC 24 h、48 h、72 h 后均能有效促细胞增殖( $P<0.05$ );25.0、50.0  $\mu\text{g/L}$  HMGB1 作用细胞 48 h 后,细胞释放 VEGF、bFGF 明显增多,RAGE 及 TLR4 表达也增高( $P<0.05$ )。特异 siRNA 转染靶向干扰 MSC 中 TLR4 的表达后,促细胞增殖及分泌 VEGF、bFGF 作用受到抑制( $P<0.05$ ),而 siRNA 干扰 RAGE 表达对 HMGB1 的细胞效应无明显影响。**结论** HMGB1 可通过结合其受体 TLR4 促进 MSC 增殖以及 VEGF、bFGF 分泌。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Effects of high mobility group box 1 and its receptor on proliferation and cytokine levels of rat marrow mesenchymal stem cells

LIU Zhi-Jiang<sup>1</sup>, SHI Bei<sup>1</sup>, SHU Bo<sup>2</sup>, MA Shuai<sup>1</sup>

(1. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, 2. Department of Biochemistry and Molecular Biology of Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou 563000, China)

[KEY WORDS] High mobility group box 1; Marrow mesenchymal stem cells; Cytokine

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of high mobility group box 1 (HMGB1) and its receptor on survival and cytokine levels of rat marrow mesenchymal stem cells. **Methods** Marrow mesenchymal stem cells were treated with HMGB1 at 25.0, 50.0 and 100.0  $\mu\text{g/L}$  for 24, 48 and 72 hours. Cell proliferations were detected by MTT after different treatment. VEGF and bFGF were detected by ELISA. Expressions of receptor of advanced glycation end products (RAGE) and Toll-like receptor 4 (TLR4) in mesenchymal stem cells were detected by Western blot. Real-time PCR and Western blot were used to examine RAGE and TLR4 expression, which were to verify the efficiency of transfection with siRNA in marrow mesenchymal stem cells. MTT assay and ELISA were used to analyze proliferation and secretions of VEGF and bFGF in si-RAGE or si-TLR4 marrow mesenchymal stem cells. **Results** 25.0  $\mu\text{g/L}$  HMGB1 could increase marrow mesenchymal stem cells proliferation ( $P<0.05$ ). 25.0 and 50.0  $\mu\text{g/L}$  HMGB1 could promote VEGF and bFGF secretion compared with control group ( $P<0.05$ ). The protein levels of RAGE and TLR4 in 25.0  $\mu\text{g/L}$  HMGB1 group were significantly higher than those in other groups ( $P<0.05$ ). Marrow mesenchymal stem cells transfected with si-TLR4 antagonized the cell proliferation and secretion of VEGF, bFGF induced by HMGB1. **Conclusion** HMGB1 promote cell proliferation and secret VEGF, bFGF by binding to its TLR4 receptor.

[收稿日期] 2016-08-23

[修回日期] 2016-10-19

[基金项目] 贵州省科技计划项目[黔科合 SY 字(2012)3109 号];遵义市科技计划项目[遵市科会社字(2014)82 号]

[作者简介] 刘志江,硕士,副主任医师,研究方向为冠心病介入治疗的基础与临床研究,E-mail 为 liuzhijiang348@126.com。通讯作者石蓓,教授,硕士研究生导师,研究方向为冠心病介入治疗的基础与临床研究,E-mail 为 shibei2147@yahoo.com.cn。



骨髓间充质干细胞(marrow mesenchymal stem cells, MSC)具有多向分化潜能, MSC 移植治疗心肌梗死的有效性目前已得到基础和临床研究的证实<sup>[1]</sup>, 但分子机制尚不清楚。研究发现 MSC 的旁分泌效应在梗死心肌的修复中发挥了重要作用。高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1, HMGB1)是真核细胞的一种染色体结合蛋白<sup>[2]</sup>, 通过与晚期糖基化终产物受体(receptor of advanced glycation end products, RAGE)、Toll 样受体 4 (Toll-like receptor, TLR4)等结合激活下游信号分子, 在促进血管生成因子表达、损伤组织修复、心肌细胞分化中起着关键作用<sup>[3]</sup>。本研究旨在探讨 HMGB1 作用 MSC 后能否提高细胞的增殖能力并促进 MSC 分泌血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)以及 HMGB1 发挥此效应的结合受体类型, 从而给心肌梗死后的细胞治疗提供更多的实验支持及新的治疗靶点。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物及试剂

SPF 级雄性 SD 大鼠, 体重  $100 \pm 10$  g, 从第三军医大学实验动物中心购买[SCXK(渝)2012-0006]。动物饲养、处死均遵守“实验动物管理条例”执行。HMGB1(美国 Sigma-Aldrich 公司); L-DMEM 培养基和胎牛血清(美国 Gibco 公司); 胰蛋白酶、二甲基亚砜(北京拜尔迪生物公司); Percoll 分离液(美国 Pharmacia 公司); MTT 试剂盒(武汉博士德公司); Trizol(美国 Invitrogen 公司); RT-PCR 试剂盒、SYBR 荧光探针(大连宝生物工程有限公司); 实验中所有一抗、二抗(美国 Santa Cruz 公司); ELISA 检测试剂盒(上海西塘科技有限公司); siRNA SMART pools、Non-target control、DharmaFECT 2 转染试剂(美国 Thermo Fisher 公司)。

### 1.2 MSC 的分离、培养及传代

将 SD 大鼠颈椎脱臼处死后, 无菌条件下取出双侧股骨, 暴露髓腔。用 PBS 冲洗骨髓腔, 收集冲洗液于离心管,  $1000$  r/min 离心  $5$  min, 弃上清, 用低糖 DMEM(10%胎牛血清、100 U 青霉素、100 U 链霉素)培养液重悬接种于  $25$  cm<sup>2</sup> 培养瓶。置于  $37^{\circ}\text{C}$ 、5%CO<sub>2</sub> 恒温培养箱中培养。每 2~3 天换液 1 次, 去除未贴壁细胞。待贴壁细胞融合至培养瓶 80%~90%时, 用 0.25%胰蛋白酶消化后按 1:2 传代。倒置相差显微镜下观察细胞生长情况及形态特征。

### 1.3 MTT 检测细胞增殖情况

体外传代培养 MSC, 以 25.0、50.0 及 100.0  $\mu\text{g/L}$  HMGB1 分别作用细胞 24 h、48 h、72 h。将细胞沉淀加入到 96 孔板, 每孔 3 mL 细胞沉淀( $1 \times 10^3$  细胞), 重悬细胞于 200 mL 无血清 DMEM 培养基中, 每组 8 孔; 培养 30 min 后每孔加入 MTT (5 g/L) 20 mL, 培养 4 h;  $60$  r/min 离心  $5$  min, 弃上清, 加入 DMSO 振荡 20 min 使蓝色结晶充分溶解; 酶联检测仪上检测其 OD<sub>490</sub> 值。

### 1.4 ELISA 检测 VEGF 和 bFGF 水平

体外传代培养 MSC, 将细胞按  $1 \times 10^5$ /孔密度接种于 6 孔板内, 每孔接种 1 mL。将培养板放入 CO<sub>2</sub> 培养箱 ( $37^{\circ}\text{C}$ 、5%CO<sub>2</sub>) 内培养 24 h 后, 弃培养液。以 25.0、50.0 及 100.0  $\mu\text{g/L}$  HMGB1 分别作用细胞 48 h。取出培养板, 将培养上清分别吸至不同的 EP 管内,  $1500$  r/min 离心 10 min 后收集上清,  $-80^{\circ}\text{C}$  冻存以备检测。每孔样品设 2 个复孔, 共进行 3 次检测。操作按照试剂盒说明书进行。全自动酶标仪检测板上测定各孔光吸收值, 扫描波长 450 nm, 参考波长 630 nm。

### 1.5 Western blot 检测 RAGE 和 TLR4 蛋白表达

细胞按  $1 \times 10^5$ /孔密度接种于 6 孔板, 以 25.0、50.0 及 100.0  $\mu\text{g/L}$  HMGB1 分别作用细胞 48 h 后收获细胞, RIPA 裂解液(含蛋白酶和磷酸酶抑制剂)裂解, 提取细胞总蛋白。BCA 法测定蛋白浓度。蛋白上样量为 40  $\mu\text{g}$ 。  $95^{\circ}\text{C}$  煮沸 10 min, 经 5% 浓缩胶和 12% 分离胶电泳后, 0.2 mA 1 h 转印至 PVDF 膜上, 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h, 分别加入 RAGE (1:1 000)、GADPH (1:1 000)、TLR4 (1:1 000) 一抗于  $4^{\circ}\text{C}$  孵育过夜。TBST 洗涤 3 次, 将 PVDF 膜浸入含有辣根过氧化酶酶标的二级抗体 (1:4000) 在室温下摇晃孵育 2 h, TBST 洗膜。ECL 化学发光法显色, 经凝胶成像系统采集图像, 用软件 Quantity One 2.0 进行灰度分析处理, 以 GADPH 为内参进行蛋白半定量分析。

### 1.6 siRNA 转染 MSC 及分泌因子检测

MSC 以  $1 \times 10^5$ /孔细胞密度接种于 6 孔板, 当细胞密度达 60%~70% 进行转染。缓冲液溶解 siRNA, 使其浓度为 5  $\mu\text{mol/L}$ 。siRNA 与 DMEM(不含血清)混合, 阴性对照操作相同, 室温放置 5 min; 取等量转染试剂与 siRNA 混合于不加 FBS 的 DMEM 形成转染混合物, siRNA 终浓度为 25 nmol/L。室温放置 20 min 将转染混合物加入相应培养孔, 培养箱继续培养 6 h 后换液。提取 RNA 进行 RT-PCR 检测、提取蛋白进



行 Western blot 检测及 25.0 μg/L HMGB1 刺激细胞 48 h 后进行分泌因子检测。

1.7 real-time PCR 检测 RAGE 和 TLR4 mRNA 表达

Trizol 法提取 siRNA 干扰各组细胞 RNA, 检测其浓度并反转录成 cDNA, 以此为模板行扩增反应。RAGE 正义链为 5'-GCT GGT TCT TGC TCT ATG GG-3', 反义链为 5'-GGA CTC GGT AGT TGG ACT TGA C-3'; TLR-4 正义链为 5'-TGC TGC CAA CAT CAT CCA-3', 反义链为 5'-GGT CCA AGT TGC CGT TTC-3'。GAPDH 正义链为 5'-AAC GAC CCC TTC ATT GAC-3', 反义链为 5'-TCC ACG ACA TAC TCA GCA C-3。反应条件: 95℃ 30 s, 95℃ 5 s, 58℃ 30 s、55℃ 10 s, 共 40 循环。设两个复孔, 实验重复 3 次。mRNA 的表达量经过 real-time PCR 仪器检测, PCR 产物作熔解曲线分析。根据  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  进行相对定量分析, 可得目的基因相对表达量。

1.8 统计学分析

SPSS 18.0 软件包进行分析, 结果以  $\bar{x}\pm s$  表示。主要统计指标均行正态性分布、方差齐性检验, 多组间比较采用单因素方差分析,  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 MSC 的培养及传代

倒置显微镜下, 培养的大鼠原代 MSC 最初为圆形或椭圆形贴壁生长(图 1A), 贴壁细胞展开生长约 7 天, 单层铺满培养瓶底部进行传代培养。传代后培养的细胞呈长梭型, 并呈现漩涡状、平行排列生长(图 1B 和 1C)。

2.2 HMGB1 对 MSC 增殖的影响

25.0 μg/L HMGB1 作用 MSC 24 h、48 h 及 72 h 后均可促进细胞增殖 ( $P<0.05$ ); 50.0、100.0 μg/L HMGB1 也可轻度促进 MSC 增殖, 但差异并没有统计学意义(表 1)。HMGB1 作用 MSC 的增殖曲线见图 2。

表 1. HMGB1 对 MSC 增殖的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )  
Table 1. Effect of HMGB1 on proliferation of MSC( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

HMGB1 浓度	0 h	24 h	48 h	72 h
0 μg/L	0.237±0.021	0.265±0.010	0.424±0.039	0.880±0.051
25.0 μg/L	0.218±0.011	0.316±0.02 <sup>a</sup>	0.506±0.026 <sup>b</sup>	1.038±0.053 <sup>c</sup>
50.0 μg/L	0.231±0.022	0.279±0.027	0.464±0.051	0.943±0.040
100.0 μg/L	0.219±0.030	0.264±0.015	0.438±0.055	0.908±0.039

a 为  $P<0.05$ , 与 0 μg/L、24 h 组比较; b 为  $P<0.05$ , 与 0 μg/L、48 h 组比较; c 为  $P<0.05$ , 与 0 μg/L、72 h 组比较。

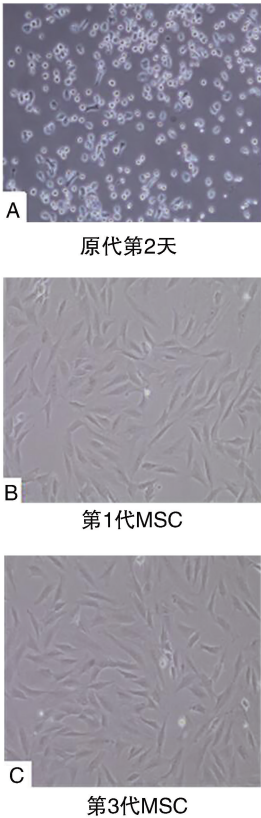


图 1. MSC 的培养及传代 (×100)  
Figure 1. Culture and passage of MSC(×100)

2.3 HMGB1 对 MSC 分泌 VEGF 和 bFGF 的影响

25.0、50.0 μg/L HMGB1 作用 MSC 48 h 均可促进细胞分泌 VEGF 和 bFGF ( $P<0.05$ ), 以 25.0 μg/L 作用最为明显, 而 100.0 μg/L HMGB1 无此作用(图 3)。

2.4 HMGB1 对 MSC 中 RAGE、TLR4 表达的影响

25、50.0 μg/L HMGB1 可明显促进 MSC 中 RAGE、TLR4 蛋白表达水平 ( $P<0.05$ ), 而 100.0 μg/L HMGB1 则无此作用(图 4)。鉴于 25.0 μg/L HMGB1 作用 48 h 最能有效促进 MSC 增殖、分泌细胞因子以及表达受体蛋白最为明显, 后续实验 HMGB1 浓度均选择 25.0 μg/L。



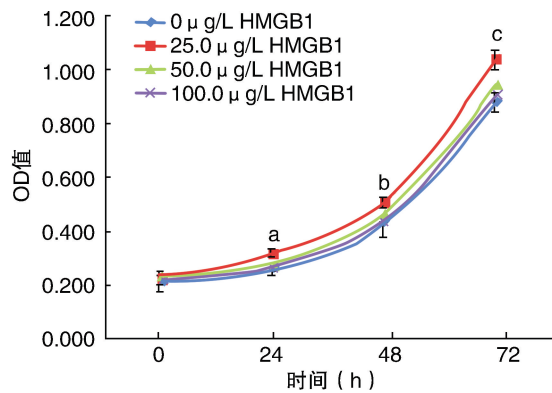


图 2. HMGB1 作用 MSC 的增殖曲线图 a 为  $P < 0.05$ , 与 0  $\mu\text{g/L}$ 、24 h 组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与 0  $\mu\text{g/L}$ 、48 h 组比较; c 为  $P < 0.05$ , 与 0  $\mu\text{g/L}$ 、72 h 组比较。

Figure 2. MSC proliferation curve with HMGB1 treatment

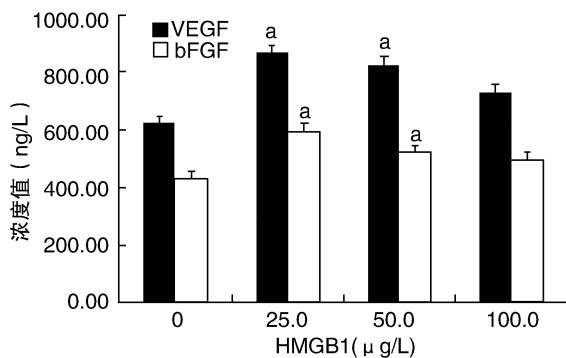


图 3. HMGB1 对 MSC 分泌 VEGF、bFGF 的影响 a 为  $P < 0.05$ , 与相应 0  $\mu\text{g/L}$  HMGB1 组比较。

Figure 3. Effects of HMGB1 on the secretion of VEGF and bFGF in MSC

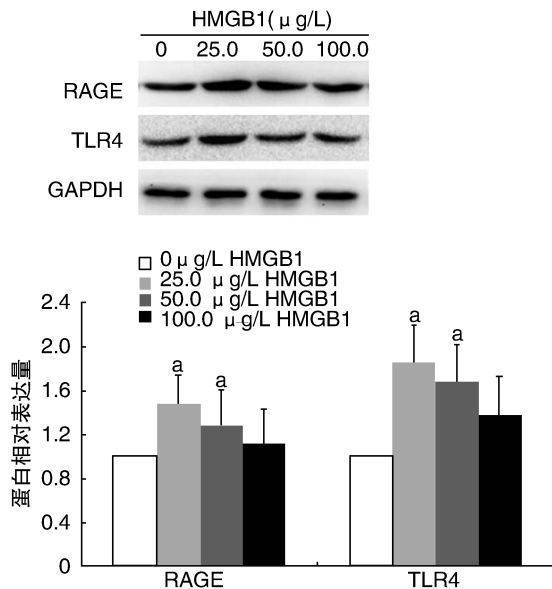


图 4. HMGB1 对 MSC 中 RAGE、TLR4 蛋白表达的影响 a 为  $P < 0.05$ , 与相应 0  $\mu\text{g/L}$  HMGB1 组比较。

Figure 4. Effects of HMGB1 on protein expression of RAGE and TLR4 in MSC

## 2.5 MSC 中 siRNA 干扰 RAGE、TLR4 表达效率

与正常对照组及阴性对照组相比,转染 siRNA 组细胞靶基因 mRNA 水平明显下降,RAGE mRNA 水平沉默效率约为 64%,TLR mRNA 水平沉默效率约为 61% ( $P < 0.05$ ;图 5A)。转染 siRNA 48 h 后,细胞中 RAGE 蛋白沉默效率约为 59%,TLR 蛋白沉默效率约为 53% ( $P < 0.05$ ;图 5B)。而正常对照组与各自阴性对照组的靶基因及蛋白表达均无差异,说明转染特异 siRNA 的沉默有效可用。

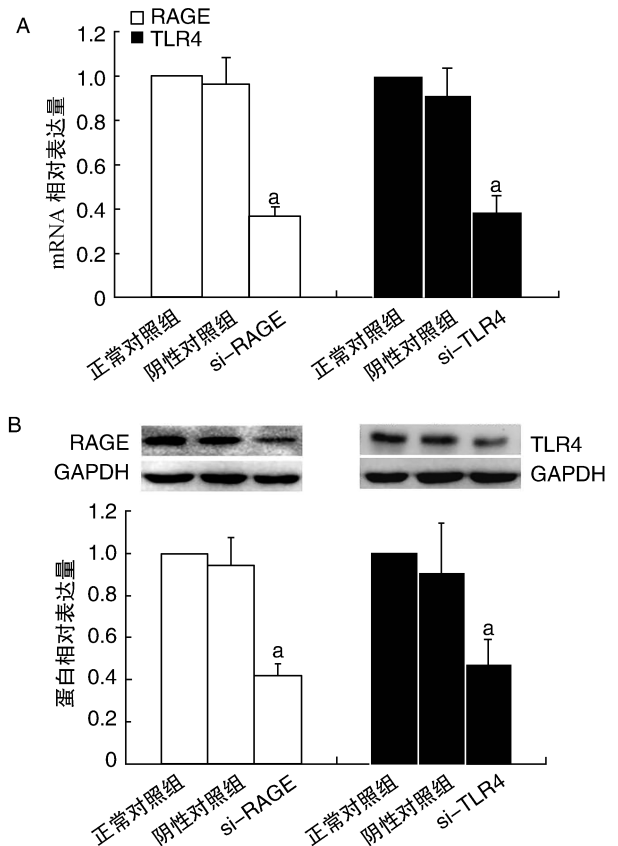


图 5. MSC 中 si-RAGE、si-TLR4 沉默效率的检测 a 为  $P < 0.05$ , 与相应正常对照组比较。

Figure 5. Detection of RAGE and TLR4 silencing efficiency by siRNA in MSC

## 2.6 HMGB1 对 si-RAGE 或 si-TLR4 MSC 增殖的影响

25.0  $\mu\text{g/L}$  HMGB1 作用 MSC 48 h 后可促进细胞增殖,本结果在此基础上发现,si-RAGE 组细胞增殖无明显改变,而 si-TLR4 组细胞增殖有所降低 ( $P < 0.05$ ;表 2)。表明沉默 TLR4 受体可抑制 HMGB1 的促细胞增殖作用,而沉默 RAGE 受体无此作用。



表 2. HMGB1 对 si-RAGE 及 si-TLR4 MSC 增殖的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 2. The proliferation of si-RAGE or si-TLR4 MSC induced by HMGB1( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

分组	OD 值
25.0 $\mu\text{g/L}$ HMGB1 组	0.508 $\pm$ 0.011
HMGB1+si-RAGE 组	0.485 $\pm$ 0.015
HMGB1+NC RAGE 组	0.498 $\pm$ 0.016
HMGB1+si-TLR4 组	0.428 $\pm$ 0.014 <sup>a</sup>
HMGB1+NC TLR4 组	0.501 $\pm$ 0.012

a 为  $P<0.05$ , 与 HMGB+NC TLR4 组比较。

2.7 HMGB1 对 si-RAGE 或 si-TLR4 MSC 中 VEGF 和 bFGF 分泌的影响

25.0  $\mu\text{g/L}$  HMGB1 作用后, si-RAGE 组 VEGF 和 bFGF 的分泌无明显改变(图 6), 而 si-TLR4 组 VEGF 和 bFGF 的分泌均有所降低( $P<0.05$ ; 图 7)。表明沉默 TLR4 受体可抑制 HMGB1 的促细胞因子分泌作用, 而沉默 RAGE 受体无此作用。

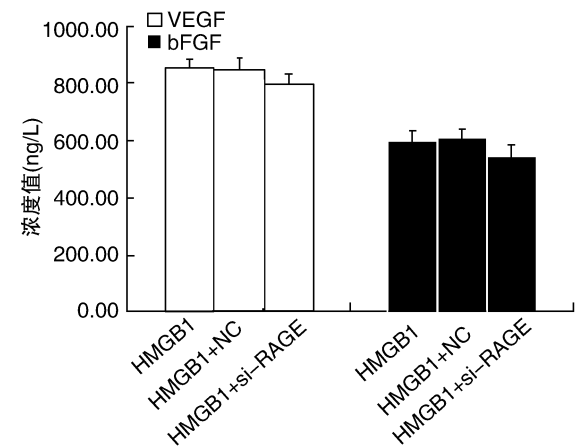


图 6. si-RAGE 对 MSC 中 VEGF、bFGF 分泌的影响  
Figure 6. Effects of si-RAGE on the secretion of VEGF and bFGF in MSC

3 讨论

干细胞移植治疗冠心病心肌梗死是近年来基础和临床研究的热点, MSC 拥有比其它干细胞更适用于心肌、血管生成治疗<sup>[4]</sup>的特性, 是临床上细胞移植改善心肌梗死后心功能最常用的种子细胞之一。MSC 移植治疗心肌梗死的机制目前还不清楚, 已有报道证实了移植干细胞旁分泌功能是改善梗死心功能的主要机制之一, 但移植的 MSC 在梗死心肌存活率低, 以及分泌细胞因子的能力影响了

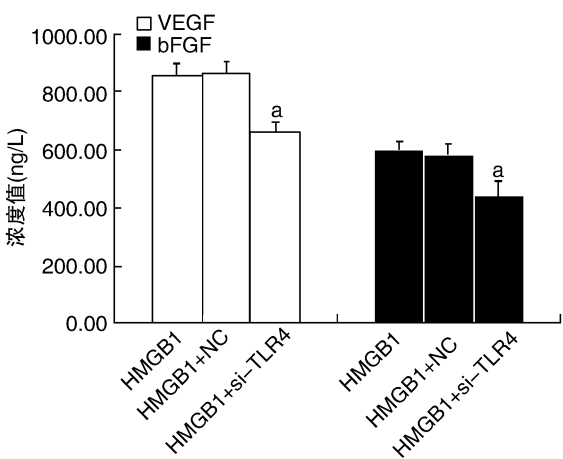


图 7. si-TLR4 对 MSC 中 VEGF、bFGF 分泌的影响 a 为  $P<0.05$ , 与相应 HMGB1 组比较。

Figure 7. Effect of si-TLR4 on the secretion of VEGF and bFGF in MSC

MSC 旁分泌效应的发挥<sup>[5]</sup>。因此, 进一步研究 MSC 发挥促相关细胞因子分泌的具体机制, 对促进移植细胞更有效地发挥修复损伤组织的作用具有重要意义。

HMGB1 是维持染色质结构所必需的非组织核蛋白, HMGB1 可通过受体在促进细胞分泌促血管生长因子和炎症因子中发挥重要作用<sup>[6-7]</sup>。已有报道 MSC 内具有 HMGB1 的受体<sup>[8]</sup>, 本研究主要观察 HMGB1 对 MSC 增殖及细胞因子分泌的影响及 HMGB1 作用的受体类型, 以此探索 MSC 发挥该效应的分子机制。结果表明, 25.0  $\mu\text{g/L}$  HMGB1 作用 MSC 24 h、48 h 及 72 h 均可促进细胞增殖, 而 50.0、100.0  $\mu\text{g/L}$  HMGB1 与对照组相比差异并没有统计学意义。说明中浓度的 HMGB1 对 MSC 具有促增殖效应, 而高浓度也无此作用。这也与不同浓度 HMGB1 作用不同的研究报道结果一致<sup>[9-10]</sup>。

VEGF 和 bFGF 是促血管形成的关键的旁分泌介质, 并且在干细胞治疗过程中扮演重要角色<sup>[11-12]</sup>。MSC 移植后在梗死组织能通过旁分泌大量分泌这两种细胞因子, 增加局部血管密度, 促进内皮修复, 改善心脏功能<sup>[13]</sup>。因此, MSC 分泌这两种细胞因子的水平高低也决定了其移植后的效应。本研究结果发现, 25.0、50.0  $\mu\text{g/L}$  HMGB1 作用 MSC 48 h 后均能有效提高细胞分泌 VEGF 和 bFGF 水平。这对于后期 MSC 移植到梗死心肌中发挥效应具有积极的作用。研究进一步检测了 HMGB1 作用 MSC 后细胞相关受体蛋白表达水平, 发现 RAGE 及 TLR4 受体蛋白表达水平均增高。

为进一步探讨 HMGB1 是通过何种类型受体发



挥作用,本研究对 MSC 中的 RAGE 及 TLR4 受体分别进行沉默,再用 HMGB1 刺激观察细胞效应。结果发现,TLR4 受体沉默后, HMGB1 的促 MSC 增殖及分泌 VEGF、bFGF 效应被降低,而 RAGE 受体沉默后, HMGB1 仍可发挥以上刺激细胞效应。结果提示, HMGB1 对 MSC 的促增殖及促细胞因子分泌效应可能是通过与 TLR4 受体结合后激活下游信号通路来实现的,而与 RAGE 受体关系则不大。已有研究报道激活 TLR4 受体可增强 MSC 在大鼠急性心肌梗死模型中的移植效率并促进 VEGF 等促血管生成因子的分泌<sup>[14]</sup>。小鼠角膜损伤修复动物实验发现, HMGB1 作用于 TLR4 基因敲除的小鼠后,促血管生成因子减少,角膜新生血管形成也减少<sup>[15]</sup>。这些报道与本研究结果一致,说明 HMGB1 与其 TLR4 受体在促进细胞分泌细胞因子中发挥重要作用,但具体机制有待进一步研究。

综上所述, HMGB1 能促进 MSC 的增殖及分泌细胞因子效应,并且这种作用可能是与 TLR4 受体结合来实现的。研究结果为进一步将 HMGB1 预处理的 MSC 移植到梗死心肌发挥作用提供了有效的实验基础。

#### [参考文献]

- [1] Hua P, Liu JY, Tao J, et al. Application and progress of combined mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of ischemic cardiomyopathy[J]. Biomed Res Int, 2015, 10(11): 1 155-161.
- [2] Goodwin GH, Sanders C, Johns EW. A new group of chromatin-associated proteins with a high content of acids and basic amino acids [J]. Eur Biochem, 1973, 38 (1): 14-19.
- [3] Hairuo Lin, Liang Shen, Xiajun Zhang, et al. HMGB1-RAGEaxis makes no contribution to cardiac remodeling induced by pressure-overload[J]. PLoS One, 2016, 11(6): 1 371-384.
- [4] 刘志江, 石 蓓, 许官学, 等. MSC 移植对兔颈动脉球囊损伤后再狭窄的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2013, 21(1): 22-27.
- [5] Zhao L, Liu X, Zhang Y, et al. Enhanced cell survival and paracrine effects of mesenchymal stem cells overexpressing hepatocyte growth factor promote cardioprotection in myocardial infarction [J]. Exp Cell Res, 2016, 344(1): 30-39.
- [6] Chen C, Lin X, Wang J, et al. Effect of HMGB1 on the paracrine action of EPC promotes post-ischemic neovascularization in mice [J]. Stem Cells, 2014, 32 (10): 2 679-689.
- [7] 孙丰兵, 李世亨, 万 亮. 高迁移率族蛋白 B1 与自发性蛛网膜下腔出血相关性的研究进展 [J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2015, 42(1): 59-62.
- [8] Wang J, Wang H, Shi J, et al. Effects of bone marrow MSC transfected with sRAGE on the intervention of HMGB1 induced immuno-inflammatory reaction [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(10): 12 028-040.
- [9] Lotze MT, Tracey KJ. High mobility group box 1 protein (HMGB1) nuclear weapon in the immune arsenal [J]. Nat Rev Immunol, 2005, 5(4): 331-342.
- [10] Yang H, Ochani M, Li J, et al. Reversing established sepsis with antagonists of endogenous high mobility group-box 1 [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(1): 296-301.
- [11] Li Z, Guo X, Guan J. A thermosensitive hydrogel capable of releasing bFGF for enhanced differentiation of mesenchymal stem cell into cardiomyocyte-like cells under ischemic conditions [J]. Biomacromolecules, 2012, 13 (6): 1 956-964.
- [12] 曾维军. 神经营养因子和生长因子在神经干细胞中的研究进展 [J]. 临床与病理杂志, 2015, 35 (3): 484-489.
- [13] Li Z, Guo J, Chang Q, et al. Paracrine role for mesenchymal stem cells in acute myocardial infarction [J]. Biol Pharm Bull, 2009, 32(8): 1 343-346.
- [14] Yao Y, Zhang F, Wang L, et al. Lipopolysaccharide preconditioning enhances the efficacy of mesenchymal stem cells transplantation in a rat model of acute myocardial infarction [J]. J Biomed Sci, 2009, 16: 74-82.
- [15] Lin Q, Yang XP, Fang D. High-mobility group box-1 mediates Toll-like receptor 4-dependent angiogenesis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31 (5): 1 024-032.

(此文编辑 文玉珊)