

网络出版时间: 2021-7-28 11:24 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20210728.1014.009.html>

hUC-MSCs 对缺氧缺血脑损伤新生大鼠脑组织的保护作用研究

陈茂琼^{1,2,3}, 向敏^{1,2,3}, 宋海良⁴, 王岚^{2,3,5}, 匡梦岚^{2,3,6},
张丽娟^{2,3,7}, 熊英⁸, 何志旭^{2,3}, 许键炜^{2,3,6}, 高鸿⁹, 秦臻⁶

摘要 目的 通过移植人脐带来源的间充质干细胞(hUC-MSCs)治疗缺氧缺血诱导的新生大鼠缺氧缺血性脑病(HIE),并探讨hUC-MSCs对神经细胞的保护作用及机制。方法 采集足月健康新生儿脐带约10 cm,运用组织块贴壁法培养hUC-MSCs,通过感染重组携带绿色荧光蛋白的腺病毒标记细胞;取18只新生健康7d龄SD大鼠,随机均分为对照(假手术)、模型、治疗组,其中模型组及治疗组建立新生大鼠缺氧缺血脑损伤模型,建模成功24 h后将标记的hUC-MSCs注入治疗组左侧(损伤侧)侧脑室,各组大鼠hUC-MSCs移植治疗48 h后,检测hUC-MSCs在HIE大鼠大脑内的定植并采用TTC染色观察梗死脑组织,RT-qPCR测定海马组织中Beclin-2、Caspase-3 mRNA水平的变化,Western blot检测海马区细胞Beclin-2、Caspase-3蛋白的表达。结果 对照组大鼠大脑没有形成梗死体积,模型组大鼠大脑梗死体积明显,梗死体积比为(41.67±4.17)%;治疗组大鼠经hUC-MSCs移植治疗48 h后,大脑梗死体积减小[(16.65±3.43)%]与模型组比较,差异有统计学意义;HIE建模48 h后,内源性Beclin-2、Caspase-3的mRNA以及蛋白的表达上调。hUC-MSCs移植治疗48 h后,Beclin-2、Caspase-3的mRNA以及蛋白的表达下降。结论 hUC-MSCs能减小缺

氧缺血损伤大鼠脑梗死体积,对损伤大鼠有保护作用;hUC-MSCs能够减少大鼠脑细胞凋亡,下调缺氧缺血脑损伤大鼠海马区细胞凋亡相关Beclin-2、Caspase-3的mRNA以及蛋白水平。

关键词 缺氧缺血性脑病;人脐带来源的间充质干细胞;凋亡;Beclin-2;Caspase-3

中图分类号 R 22

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)08-1226-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.08.011

围生期多种因素引起的缺氧、脑血流减少而致的新生儿缺氧缺血性脑病(hypoxic ischemic encephalopathy, HIE)是新生儿死亡和婴儿神经系统功能障碍的主要原因,研究^[1-2]表明,HIE通过氧化应激、炎症、凋亡和兴奋性毒性导致延迟的细胞死亡。目前,亚低温等常规治疗对于缺氧缺血性脑病有一定的疗效,但无法逆转神经细胞损伤。近年来,对间充质干细胞(marrow mesenchymal stem cell, MSCs),特别是来源更加原始,分化能力更强的人脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cells, hUC-MSCs)研究的深入,为HIE的治疗带来了新的希望。研究^[3]显示,MSCs因其具有自我更新和多项分化潜能以及分泌、旁分泌等能力,同时还参与信号通路的调节,对受损组织发挥保护作用。该实验旨在通过移植hUC-MSCs治疗缺血缺氧诱导的新生大鼠HIE,并探讨hUC-MSCs对神经细胞的保护作用及机制。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器 新生7日龄健康SD大鼠18只,雌雄不限,体质量(15±2)g[贵州医科大学实验动物中心,动物合格号SYXK(黔)2018-0001];新生儿脐带(贵州医科大学附属医院产科)。相差显微镜(德国Leica公司);CO₂培养箱(美国Thermo Forma公司);台式高速冷冻离心机(Allegra 64R,美国贝克曼库尔特公司);CM1950型冰冻切片机(德国徕卡公司);超净工作台(苏州苏净集团);U-LH100L-3活细胞工作站(日本OLYMPUS公司)。L-DMEM培

2020-09-29 接收

基金项目:中国医学科学院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(编号:2018PT31048);贵州省科技厅计划项目(编号:黔科合支撑[2017]2873);贵州省科技厅计划项目(编号:黔科合LH字[2016]7361)

作者单位:¹ 贵州医科大学附属医院新生儿科,贵阳 550004

贵州医科大学² 细胞工程生物医药技术国家地方联合工程实验室,组织工程与干细胞实验中心,贵州省再生医学重点实验室、⁵ 医学科学研究所、⁶ 基础医学院药理学教研室、⁷ 护理学院、⁸ 基础医学院机能学实验室,贵阳 550000

³ 中国医学科学院成体干细胞转化研究重点实验室,贵阳 550004

⁴ 东莞大朗医院普外科,东莞 523770

⁹ 贵州医科大学第三附属医院麻醉科,都匀 558000

作者简介:陈茂琼,女,副主任医师,硕士生导师;

秦臻,女,博士,副教授,责任作者,E-mail: 75871083@qq.com;

高鸿,男,硕士,教授,责任作者,E-mail: 2169617@qq.com

培养基、10% FBS 及 0.25% 胰酶 (美国 Hyclone 公司); 2,3,5-氯化三苯基四氮唑 (TTC) 染色液 (北京索莱宝科技有限公司); TRIzol、转染试剂 (美国 Am-bion 公司); Q-PCR 引物 (生工生物工程上海股份有限公司合成)。

1.2 方法

1.2.1 hUC-MSCs 的分离、培养及鉴定 采集新生儿脐带约 10 cm (产妇年龄在 20~35 岁之间, 身体健康, 无各种急、慢性疾病。胎儿足月, 出生体质量 > 2 500 g, 健康、无畸形), 提取脐带内保留华尔通胶, 剪碎成约 $1 \times 1 \times 1$ (mm³) 大小颗粒, 接种于 75 cm² 培养瓶, 10% FBS + L-DMEM 液适量, 置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。3 d 后半量换液, 以后每 3 d 全量换液, 倒置相差显微镜观察。待细胞融合至 50% 后去除组织块, 继续培养; 细胞融合至 80% 左右传代。传代纯化至第 4 代, 用流式细胞仪进行细胞膜表面分子 CD44、CD73、CD90 的水平检测分析, 并设立阴性对照。

1.2.2 动物分组及缺氧缺血脑损伤模型的制备、hUC-MSCs 的标记及移植治疗 将大鼠随机均分为对照 (假手术) 组、模型组、治疗组。模型组和治疗组大鼠用丝线对其左侧颈总动脉进行双重结扎, 使其缺血后置于原母鼠笼中 2 h, 再置于 37℃ 常压含 8% O₂ 和 92% N₂ 混合气体的低氧舱内, 以 2 L/min 的速度输入, 持续 1 h, 建立缺氧缺血脑损伤模型^[1]。对照组新生大鼠仅分离左侧颈总动脉, 不予结扎阻断血流和低氧处理。

选取第三代生长融合至 80% 左右的 hUC-MSCs, 通过感染携带绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein, GFP) 的乱序腺病毒 (由课题组前期包装重组腺病毒获得), PBS 洗 2 次, 按浓度为 1×10^{10} pfu/L 的病毒液, 每个培养皿中加入 100 μ l, 37℃ 孵育 1.5~2 h 后 PBS 液洗净, 加入含 10% FBS + L-DMEM 液继续培养 48 h, 活细胞工作站观察 GFP 的表达。如 GFP 表达率达 70% 左右, 消化、离心、PBS 液洗涤后, 制备成细胞密度为 1×10^9 个/L 的细胞悬液, 用微量注射器 1 ml 注射器吸取细胞悬液置于冰上待移植用。

于缺氧缺血脑损伤后 1 d 采用侧脑室穿刺方法进行细胞移植。移植部位为左侧 (损伤侧) 侧脑室, 注射位点: 冠状缝后 1.5 mm, 颅骨矢状缝左 1.5 mm, 颅骨下 -3 mm。使用微量注射器均匀缓慢注射 hUC-MSCs 细胞悬液 5 μ l, 停针 5 min, 然后缓慢退出, 缝合消毒。待新生鼠苏醒后继续置于原母鼠

笼中喂养。

1.2.3 检测 hUC-MSCs 在 HIE 大鼠大脑内的定植及 TTC 染色观察梗死脑组织 各组大鼠 hUC-MSCs 移植治疗 48 h 后, 乙醚深度麻醉处死后经心腔内灌注 PBS。取部分大脑组织, 冰冻切片成 8 μ m 厚度, 荧光显微镜下观察切片中绿色荧光阳性细胞在大鼠大脑内定植分布情况, 追踪移植细胞的定位、数量。另取部分大脑组织切成 2 mm 厚的切片, 浸泡在 37℃、2% TTC 溶液中 5 min, 然后用 10% 甲醛溶液固定。用 Image J 软件追踪和分析梗死体积。其余大脑组织置于液氮备用。

1.2.4 RT-qPCR 法测定海马组织中 Beclin-2、Caspase-3 mRNA 水平的变化 根据 RT-qPCR 试剂盒说明书, 液氮中取出大鼠组织, 称取 50 mg, PBS 清洗后加 1 ml Buffer Rlysis A, 室温裂解 5 min, 转移至玻璃研磨器中, 充分研磨。加 0.2 ml 氯仿, 12 000 r/min 离心 15 min。取 500 μ l 上清液加入 1/3 体积无水乙醇混匀, 12 000 r/min 离心 10 min。弃上清液再加入预冷的无 RNase 75% 乙醇, 12 000 r/min 离心 10 min。再次弃上清液, 干燥后加入无 RNase 水 50 μ l, -80℃ 冻存储用。根据生工 M-MuLV 合成试剂盒说明书操作, 建立 20 μ l PCR 反应体系 (各基因 RT-qPCR 引物序列见表 1)。

表 1 各基因 RT-qPCR 引物一览表

目的基因	引物序列 (5'-3')
Beclin-2	F: CTGAGGAGCAACAGGACGGT
	R: GCTGCCTTCTGGATGCTACT
Caspase-3	F: CTCGCTCTGGTACGGATGTG
	R: TCCCATAAATGACCCCTTCATCA
GAPDH	F: GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT
	R: GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG

1.2.5 Western blot 检测海马组织中 Beclin-2、Caspase-3 蛋白的表达 按照生工生物工程上海股份有限公司提供的全蛋白提取试剂盒说明书, 将海马固体组织置于培养皿中, 剪碎成 3 mm × 3 mm 左右的小块, PBS 液洗涤 2 次, 离心取沉淀, 4℃ 玻璃匀浆器匀浆 20 次。取组织匀浆液剧烈震荡 2~3 次, 3 000 r/min、4℃ 离心 10 min, 取上清液即全蛋白提取物, 用 BCA 试剂盒检测所提蛋白的浓度。后续蛋白提取实验参照说明书进行。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行分析。数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验, 多组之间比较用单因素方差分析, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 hUC-MSCs 培养、扩增及鉴定结果 接种 1 周可见细胞从组织块中爬出,贴壁生长。接种 14 d 细胞融合至 50% 左右。去除组织块并换液后,细胞生长迅速,再培养 3~5 d 细胞融合可达 80% 以上。传代后生长更加迅速,细胞呈长梭形或多角形、旋涡状或流水样分布。1 传 2,3~5 d 可融合至 70%~80%,传下一代。利用机械法可从脐带华尔通胶获得贴壁生长的 hUC-MSCs,并经培养、传代,可纯化、扩增得到大量满足实验需要的 hUC-MSCs(图 1)。课题组前期用同样方法培养出 CD44、CD73、CD90 阳性表达的细胞,而 NOT-hUC-MSCs 呈阴性,符合 MSCs 的生物学特征。

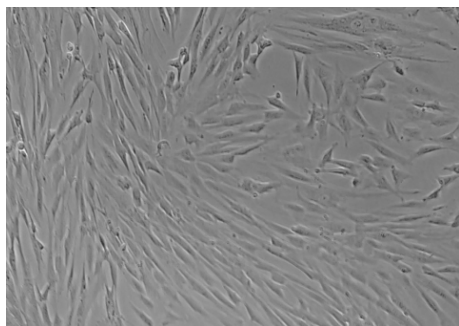


图1 第三代 hUC-MSCs ×200

2.2 hUC-MSCs 的荧光标记 上述 hUC-MSCs 通过感染重组携带 GFP 的腺病毒 48 h 后,在荧光显微

镜下可观察到超过 70% 的细胞 GFP 呈阳性表达(图 2),可以用于后续实验示踪。

2.3 hUC-MSCs 在 HIE 大鼠大脑内的定植及 TTC 染色观察梗死脑组织情况 治疗组大鼠 hUC-MSCs 移植治疗 48 h 后,大脑组织冰冻切片在荧光显微镜下显示移植侧(左侧)侧脑室周围散在分布的发绿色荧光的 hUC-MSCs,提示 hUC-MSCs 迁移并定植于脑组织中(图 3)。TTC 染色实验结果表明,对照组大鼠没有形成梗死体积;模型组大鼠脑梗死体积明显,其梗死体积比为 $(41.67 \pm 4.17)\%$;治疗组大鼠经 hUC-MSCs 移植治疗 48 h 后,梗死体积减小,梗死体积比为 $(16.65 \pm 3.43)\%$,与模型组比较,差异有统计学意义(图 4,白色为梗死灶),表明 hUC-MSCs 可减小缺氧缺血损伤大鼠脑梗死体积,对损伤大鼠具有保护作用(图 4)。

2.4 大鼠海马组织中 Beclin-2、Caspase-3 的变化

HIE 建模后 48 h,内源性 Beclin-2、Caspase-3 的 mRNA 以及蛋白的表达明显上调(图 5 A)。hUC-MSCs 移植治疗 48 h 后,Beclin-2、caspase-3 的 mRNA 以及蛋白的表达下降(图 5 B、C)。

3 讨论

hUC-MSCs 来源丰富,采集方便,通过机械法分离、培养、扩增技术成熟,经流式细胞术鉴定,为实验用目的细胞,可大量制备。hUC-MSCs 对产妇和新生儿不会带来任何创伤和不良反应,且较其他来源的 MSCs 更原始,增殖能力强,长期传代不易分化,

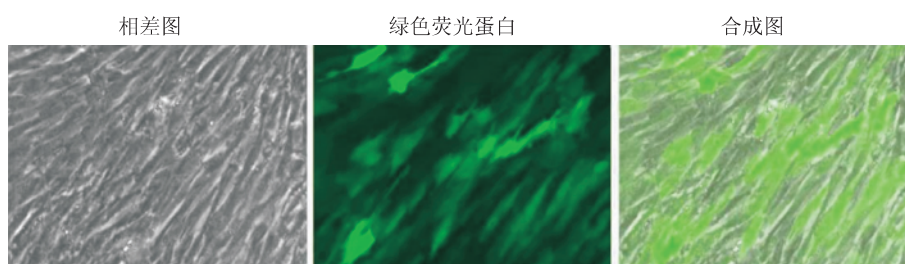


图2 hUC-MSCs 荧光表达 ×200

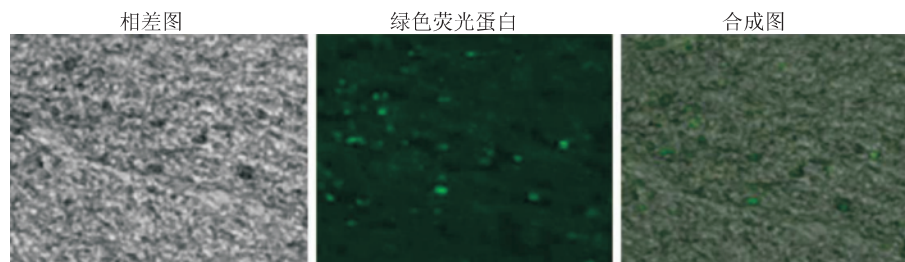


图3 hUC-MSCs 在 HIE 大鼠大脑内的定植 ×50

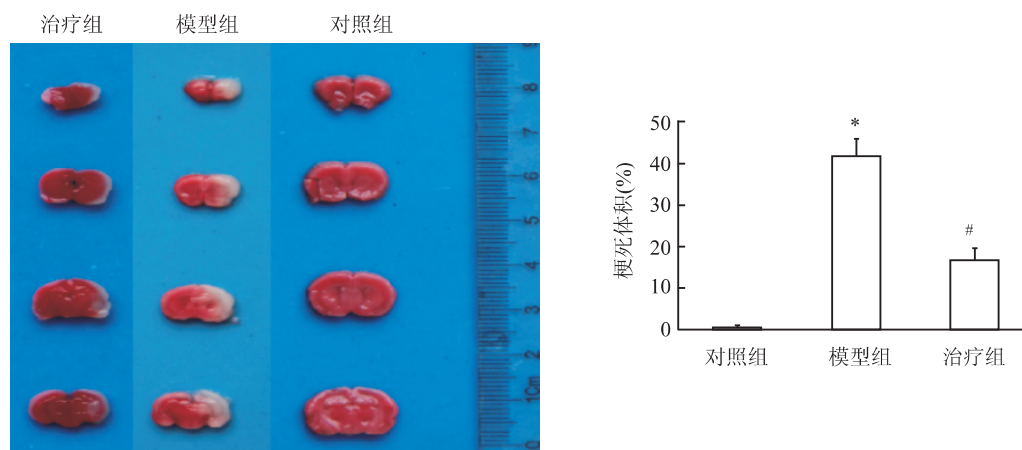


图4 各组大鼠大脑 TTC 染色
与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$

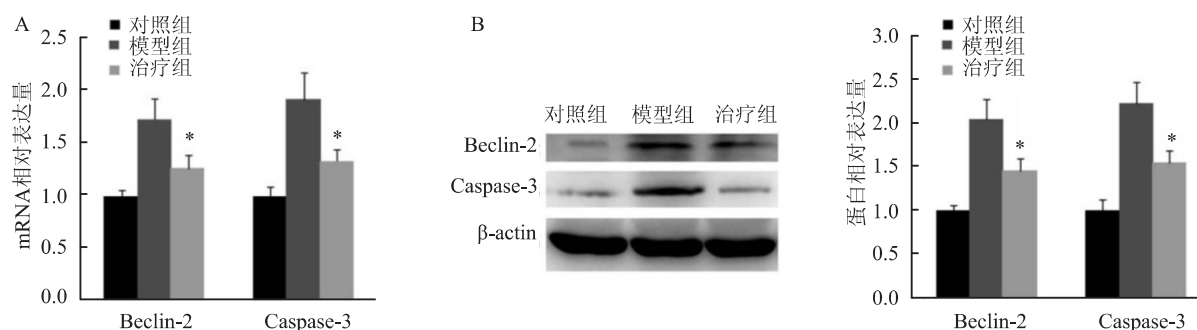


图5 Beclin-2 和 Caspase-3 的 mRNA 以及蛋白的表达情况
A: mRNA; B: 蛋白; 与模型组比较: * $P < 0.05$

不会有肿瘤细胞,被病原微生物感染几率低,亦不涉及伦理争议,是再生医学领域理想的种子细胞^[4-5]。hUC-MSCs 独特的生物学特征,特别是其跨胚层的分化潜能,展现出诱人的应用前景,成为再生医学与转化医学研究的热点。本研究结果显示,将体外培养的 hUC-MSCs 通过侧脑室植入 HIE 新生大鼠实验,利用荧光示踪、TTC 染色、海马细胞 Beclin-2、caspase-3 的 mRNA 和蛋白检测,显示 hUC-MSCs 移植后,能向脑室周围组织间隙迁移,定植于 HIE 大鼠大脑病灶部位,并有效地减小了缺氧缺血损伤大鼠大脑梗死体积,减轻缺氧缺血损伤所致的大鼠神经元病变,对损伤大鼠大脑具有保护作用。同时, hUC-MSCs 能够明显减少大鼠脑细胞凋亡,显著下调缺氧缺血脑损伤大鼠海马区细胞凋亡相关 Beclin-2 与 Caspase-3 的 mRNA 以及蛋白水平。

近年来,有研究^[6-8]报道细胞凋亡与 Beclin-2 和 Caspase-3 关系密切。Beclin-2 通过与 III 类 PI3K 复合物和 Bcl-2 相互作用调节细胞凋亡和自噬。Beclin-2 在作为融合调节因子的同时,还可以增强溶酶体的转运和代谢多样性,增强 Beclin 家族在细

胞凋亡及自噬中的作用,以及在受损组织中的表达。作为 Caspase 级联下游最关键的凋亡执行者, Caspase-3 在疾病的发生发展中起着重要作用。Caspase-3 参与多种神经细胞的凋亡过程,可被一系列因子激活。凋亡过程中, Caspase-9 首先被激活,进而切割和激活 Caspase-3,裂解其蛋白底物,最终导致凋亡的发生^[9]。本实验中, Beclin-2 和 Caspase-3 在 HIE 模型建立后 48 h 内均有高表达。经 hUC-MSCs 处理后, Beclin-2 和 Caspase-3 的表达均降低。提示 hUC-MSCs 在 HIE 新生大鼠脑损伤修复中起调节作用,调节凋亡相关蛋白 Beclin-2 和 Caspase-3,抑制 HIE 大鼠脑细胞凋亡。hUC-MSCs 移植可促进 HIE 大鼠神经功能恢复,缩小梗死体积和缺氧缺血性损伤,抑制神经元凋亡。另外, hUC-MSCs 定植后通过分泌多种因子^[10]抑制炎症反应和宿主神经细胞凋亡,并促进血管和轴突再生^[11-12]。hUC-MSCs 可通过自身分化、转分化以及旁分泌功能发挥再生修复以及神经保护作用^[13]。其疗效稳定,且无明显不良反应。hUC-MSCs 作为一类免疫缺陷细胞,异体移植无免疫排斥反应或反应较弱^[14-15],不需严格

配型 适宜于不同个体之间的移植。hUC-MSCs 治疗 HIE 安全有效,并具有一定的优势,为未来临床进一步扩大应用提供依据。相信随着对 hUC-MSCs 研究的不断深入,其必将广泛应用于临床 HIE 的治疗以及其他疾病或亚健康、抗衰老等领域,为人类健康和生活质量的提高发挥巨大作用。

参考文献

- [1] Ye L, Feng Z, Doycheva D, et al. CpG-ODN exerts a neuroprotective effect via the TLR9/pAMPK signaling pathway by activation of autophagy in a neonatal HIE rat model[J]. *Exp Neurol*, 2018, 301(Pt A): 70–80.
- [2] Doycheva D, Shih G, Chen H, et al. Granulocyte-colony stimulating factor in combination with stem cell factor confers greater neuroprotection after hypoxic-ischemic brain damage in the neonatal rats than a solitary treatment[J]. *Transl Stroke Res*, 2013, 4(2): 171–8.
- [3] Yin Z, Jiang K, Li R, et al. Multipotent mesenchymal stromal cells play critical roles in hepatocellular carcinoma initiation, progression and therapy[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 178.
- [4] 彭雅南, 赵振强. 人诱导性多能干细胞源神经移植治疗帕金森病的现状与未来[J]. *中国组织工程研究*, 2016, 20(36): 5458–65.
- [5] 陈旭东, 范文娟, 袁科理, 等. 不同培养条件对小鼠诱导性多能干细胞分化为神经元样细胞的影响[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2015, 31(9): 1216–9, 1223.
- [6] Majdoul S, Cosette J, Seye A K, et al. Peptides derived from evolutionarily conserved domains in Beclin-1 and Beclin-2 enhance the entry of lentiviral vectors into human cells[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(45): 18672–81.
- [7] Galluzzi L, Kroemer G. Common and divergent functions of Beclin 1 and Beclin 2[J]. *Cell Res*, 2013, 23(12): 1341–2.
- [8] Chen H, Zhang J, Gao Y, et al. Sensitive cell apoptosis assay based on caspase-3 activity detection with graphene oxide-assisted electrochemical signal amplification[J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, 68: 777–82.
- [9] 吉杨丹, 罗红阳, 王丹, 等. miR-26b 调控 Wnt/ β -catenin 信号通路促进成肝样分化 MSCs 迁移研究[J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(12): 1850–7.
- [10] Moodley Y, Ilancheran S, Samuel C, et al. Human amnion epithelial cell transplantation abrogates lung fibrosis and augments repair[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, 182(5): 643–51.
- [11] He C, Wei Y, Sun K, et al. Beclin 2 functions in autophagy, degradation of G protein-coupled receptors, and metabolism[J]. *Cell*, 2013, 154(5): 1085–99.
- [12] Zhang R, Liu Y, Yan K, et al. Anti-inflammatory and immunomodulatory mechanisms of mesenchymal stem cell transplantation in experimental traumatic brain injury[J]. *J Neuroinflammation*, 2013, 10: 106.
- [13] Li T, Xia M, Gao Y, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells: an overview of their potential in cell-based therapy[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2015, 15(9): 1293–306.
- [14] Perea-Gil I, Monguió-Tortajada M, Gálvez-Montón C, et al. Pre-clinical evaluation of the immunomodulatory properties of cardiac adipose tissue progenitor cells using umbilical cord blood mesenchymal stem cells: a direct comparative study[J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 439808.
- [15] Wang H, Qiu X, Ni P, et al. Immunological characteristics of human umbilical cord mesenchymal stem cells and the therapeutic effects of their transplantation on hyperglycemia in diabetic rats[J]. *Int J Mol Med*, 2014, 33(2): 263–70.

Protective effect of hUC-MSCs on brain tissue of neonatal rats with hypoxic-ischemic brain injury

Chen Maoqiong^{1 2 3}, Xiang Min^{1 2 3}, Song Hailiang⁴, et al

(¹Dept of Neonatal Pediatrics, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004;

²National Local Joint Engineering Laboratory of Cell Engineering Biopharmaceutical Technology,

Tissue Engineering and Stem Cell Experimental Center, Guizhou Medical University, Guizhou Key Laboratory of

Regenerative Medicine, Guiyang 550000; ³Key Experiment on The Transformation of Adult Stem Cells of

The Chinese Academy of Medical Sciences, Guiyang 550004; ⁴Dept of General Surgery,

Dalang Hospital, Dongguan City, Dongguan 523770)

Abstract Objective To explore the protective effect and mechanism of human umbilical cord derived mesenchymal stem cells (hUC-MSCs) on neurons by transplanting hUC-MSCs and treating hypoxic ischemic encephalopathy (HIE) in neonatal rats induced by hypoxia and ischemia. **Methods** About 10 cm umbilical cord of normal full-term healthy newborns born was collected under sterile conditions, and hUC-MSCs were cultured by tissue block adherent method, and then infected with recombinant adenovirus carrying green fluorescent protein. 18 healthy

网络出版时间: 2021-7-28 11:24 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20210728.1014.010.html>

CXCL5、MMP-9 在宫腔粘连子宫内膜组织表达及其临床意义

李从青¹, 王文艳¹, 许有江¹, 方子昂², 孙士莹¹, 卫兵¹

摘要 目的 研究细胞趋化因子配体-5(CXCL5)和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)在宫腔粘连(IUA)子宫内膜组织中的表达及临床意义。方法 收集48例IUA患者,予以实施宫腔粘连分离术(TCRA),术中获取子宫内膜组织,术后一个月复查宫腔镜,评估手术效果的同时再次获取子宫内膜组织。同期行宫腔镜检查排除子宫内膜病变的48例女性为对照组。免疫组化测定CXCL5、MMP-9在子宫内膜组织的相对表达,使用Western blot检测其蛋白相对表达,RT-PCR检测mRNA表达情况。结果 48例IUA在TCRA术后宫腔形态恢复较好,1例粘连较重,再次TCRA手术。免疫组化结果显示: CXCL5、MMP-9在IUA组相对表达低,在IUA术后组表达增加,但两组的表达量均低于对照组。3组之间的差异有统计学意义($P < 0.01$); Western blot及RT-PCR检测结果显示, IUA组子宫内膜CXCL5、MMP-9蛋白及mRNA表达

量均低于IUA术后组,并且两组都低于对照组。3组之间的差异有统计学意义($P < 0.05$); CXCL5与MMP-9表达存在相关性,且呈一致性变化。结论 CXCL5、MMP-9在IUA子宫内膜中呈低表达,在IUA患者术后子宫内膜中增加, CXCL5影响MMP-9水平, CXCL5和MMP-9可能参与了IUA发生。

关键词 宫腔粘连; 子宫内膜; 细胞趋化因子配体-5; 基质金属蛋白酶-9

中图分类号 R 711.4

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)08-1231-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.08.012

宫腔粘连(intrauterine adhesion, IUA)是指子宫内膜基底层遭到破坏后子宫壁之间的粘连,主要发生于人工流产后^[1],涉及炎症趋化因子招募、炎症反应及子宫内膜细胞外基质降解等过程^[2]。CXC细胞趋化因子配体-5(CXC cell chemokine ligand-5, CXCL5)是有强烈炎症趋化作用的因子之一,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)与细胞外基质降解相关,其中MMP-9尤为突出^[3],目前关于

2021-03-23 接收

基金项目: 中国博士后科学基金资助项目(编号: 2016M592038)

作者单位: ¹ 安徽医科大学第二附属医院妇产科, 合肥 230601

² 安徽省黄山市人民医院妇产科, 黄山 245000

作者简介: 李从青, 男, 博士, 主治医师;

王文艳, 女, 博士, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 责任作者,

E-mail: wenyan.wang@outlook.com

7-day-old SD rats were randomly divided into normal control (sham operation) group, model group and hUC-MSCs treatment group, 6 in each group. After 24 h of modeling, hUC-MSCs were injected into the left ventricle of the treatment group. After 48 h of hUC-MSCs transplantation, hUC-MSCs were detected in the brain of HIE rats and TTC staining was used to observe the infarcted brain tissue. The mRNA levels of Beclin-2 and Caspase-3 in hippocampus were detected by RT-qPCR. Western blot was used to detect the expression of Beclin-2 and Caspase-3. **Results** 48 h after hUC-MSCs transplantation in HIE group, there was no infarct volume in normal control group, and the infarct volume ratio was $(41.67 \pm 4.17) \%$; in hUC-MSCs treatment group, the infarct volume ratio was $(16.65 \pm 3.43) \%$, which was significantly lower than that in hypoxic-ischemic brain injury group. 48 h after HIE modeling, the expression of endogenous beclin-2 mRNA and caspase-3 mRNA, beclin-2 protein and caspase-3 protein were significantly up-regulated. 48 h after hUC-MSCs transplantation, the expression of beclin-2 mRNA, caspase-3 mRNA, beclin-2 protein and caspase-3 protein decreased. **Conclusion** hUC-MSCs can effectively reduce the infarct volume of rats with hypoxic-ischemic injury, which has a protective effect on the injured rats; at the same time, hUC-MSCs can significantly reduce the apoptosis of rat brain cells, and significantly down regulate the levels of beclin-2 mRNA, caspase-3 mRNA, beclin-2 protein and caspase-3 protein in hippocampus of rats with hypoxic-ischemic brain injury.

Key words hypoxic ischemic encephalopathy; human umbilical cord mesenchymal stem cells; apoptosis; Beclin-2; Caspase-3