

# TNF- $\alpha$ 对骨髓间充质干细胞表达黏附分子及治疗心肌梗死的影响

王春苗<sup>1</sup>, 王爱玲<sup>1</sup>, 程景林<sup>2</sup>, 解杨婧<sup>1</sup>, 郭增<sup>1</sup>, 鲁艳<sup>1</sup>, 郭晓琳<sup>1</sup>

**摘要** 目的 研究肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 预处理对骨髓间充质干细胞(BMSCs)表达血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)以及移植治疗大鼠心肌梗死的影响。方法 第3~5代大鼠BMSCs用TNF- $\alpha$  (10 ng/ml)预处理24 h后,迁移黏附实验检测其体外的迁移黏附能力,Western blot检测VCAM-1的蛋白表达。BMSCs用DAPI标记后移植于心肌梗死大鼠的心肌内,术后4周,二维超声心动图检测大鼠左心室心功能,Masson染色检测心肌梗死区胶原沉积。实验设有未经

TNF- $\alpha$ 刺激的对照组。结果 与对照组比较,TNF- $\alpha$ 处理组BMSCs在炎症因子TNF- $\alpha$ 处理24 h后,体外迁移黏附力明显增强( $P < 0.01$ ),黏附分子的蛋白表达水平显著升高( $P < 0.01$ )。与对照组大鼠比较,TNF- $\alpha$ 处理组的大鼠在移植TNF- $\alpha$ 处理的BMSCs后,左心室射血分数明显提高( $P < 0.01$ ),心肌梗死区胶原沉积明显减小。结论 移植炎症因子预处理的BMSCs明显改善大鼠的心功能及减少心肌梗死区的胶原沉积,可能与炎症因子刺激可提高BMSCs黏附分子的表达水平有关。

**关键词** 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; 骨髓间充质干细胞; 黏附分子; 心肌梗死

中图分类号 R 542.22

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)07-0896-05

2014-02-24 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:11040606M155);安徽省教育厅高等学校教学研究委托重大项目(编号:2012jyzd09w);安徽省教育厅高等教育振兴计划项目(编号:2013zdjy066)

作者单位:<sup>1</sup>安徽医科大学第一附属医院心血管内科,合肥 230022

<sup>2</sup>安徽医科大学第二附属医院急诊科,合肥 230601

作者简介:王春苗,女,硕士研究生;

王爱玲,女,教授,主任医师,博士生导师,责任作者,E-mail: wal@ah.edu.cn

循环中的骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)归巢到缺血组织中是组织修复的第一步,而BMSCs归巢的第一步就是黏附于心脏微血管内皮细胞,因此如何提高移植的

## Study of the inhibitory effects of recombinant human endostatin on hypertrophic scars

Yu Jian, Zhang Xiaoming, Huang Xueying, et al

(Dept of Anatomy, Anhui Medical University, Hefei 230032)

**Abstract Objective** To investigate the therapeutic effects of recombinant human endostatin (rhEndostatin) on hypertrophic scar (HS) and explore the possible mechanism of action involved. **Methods** A rabbit ear model with hypertrophic scars was established. Recombinant human endostatin injections were applied to the scars of the experimental group topically in different concentrations (1.25, 2.5, 5 g/L). The changes of macroscopic characteristics of scars were examined. Light microscopy and transmission electron microscopy were used for histomorphometric analysis. The levels of collagens I and III were detected by immunohistochemistry. **Results** Compared with physiological saline group and model group, group treated with rhEndostatin 2.5 g/L and 5.0 g/L showed significant reduction in height, volume and hardness, it resulted in a statistically significant reduction in the scar elevation index, the microvessel density and the expression of type I and III collagens ( $P < 0.05$ ). An observation under transmission electron microscopy revealed that some fibroblasts nucleus ruptured and disintegrated and apoptotic body were observed in rhEndostatin 5 g/L group, but seldom found in triamcinolone group. **Conclusion** The findings of this study suggest that rhEndostatin has a markedly inhibitive effect on the formation of hypertrophic scar. It suppresses angiogenesis, and subsequently promotes HSFs apoptosis and reduces the overproduction and excessive deposition of collagen may account for this result.

**Key words** recombinant human endostatin; hypertrophic scar

干细胞向受损的组织迁移及定植对提高干细胞治疗效果具有重要价值<sup>[1]</sup>。黏附分子广泛存在于细胞表面及细胞外基质中,通过与受体结合,介导细胞与细胞或细胞与细胞外基质的接触,并参与细胞的活化与迁移。在炎症、缺血性损伤及伤口愈合等过程中发挥重要作用<sup>[2]</sup>。生理状态下 BMMSCs 少量表达血管细胞黏附分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1), 而明显表达细胞间黏附分子 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM)。Segers et al<sup>[3]</sup> 研究发现, VCAM-1 对 BMMSCs 黏附于心肌微血管内皮细胞具有重要作用, 在加入抗 VCAM-1 抗体后可完全消除由肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 预处理增强的 BMMSCs 的对内皮细胞黏附性, 而加入 ICAM-1 抗体则 BMMSCs 对内皮细胞的黏附能力却没有明显变化。Hyun et al<sup>[4]</sup> 研究发现 VCAM-1 在介导白细胞通过大脑微血管内皮细胞的黏附与迁移过程中发挥重要作用。该研究用 TNF- $\alpha$  预处理 BMMSCs, 利用体外迁移黏附实验及蛋白印迹实验等检测 BMMSCs 的迁移黏附能力及 VCAM-1 的表达, 并探讨其对心肌梗死大鼠左室心功能及梗死区胶原形成的影响。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 雄性 SD 大鼠, 清洁级, 80 ~ 100 g 用于分离 BMMSCs, 200 ~ 220 g 用于心肌梗死造模, 购自安徽省实验动物中心, 实验中对动物的处置符合动物伦理学要求。

**1.2 主要试剂和仪器** L-DMEM、胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 购自美国 Hyclone 公司; 0.25% 胰酶、SDS-PAGE 凝胶试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司; transwell 小室、细胞培养瓶购自美国 Corning 公司; TNF- $\alpha$  购自美国 Peprotech 公司; 4', 6-二脒基-2-苯基吲哚 (4', 6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)、PVDF 膜购自美国 Sigma 公司; VCAM-1 一抗购自美国 Bioworld 公司;  $\beta$ -actin、二抗购自北京中杉金桥生物技术有限公司; ECL、CO<sub>2</sub> 培养箱 HEPA cell 150 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; Masson 染色试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司; 倒置显微镜 Olympus BX41 购自日本 Olympus 公司; 小动物呼吸机及生物机能系统 BL-420S 购自成都太盟科技有限公司; 二维多普勒超声仪购自美国 Phillips 公司。

**1.3 BMMSCs 的分离与培养** 雄性 SD 大鼠脱颈处死后, 无菌条件下分离胫骨及股骨, 去除干骺端,

用含有 100 U/ml 肝素的 L-DMEM 冲洗液冲洗骨髓腔, 收集冲洗液于 15 ml 离心管, 1 500 r/min 离心 10 min 后弃上清液, 用 5 ml 含 10% FBS 的培养基重悬后接种于 25 cm<sup>2</sup> 培养瓶后置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱培养。3 d 后首次换液, 以后每 3 d 换液一次, 至细胞 80% ~ 90% 融合, 用 0.25% 胰酶消化细胞, 按 1 : 3 的比例传代。第 3 ~ 5 代细胞用于后续实验。

**1.4 体外迁移实验** 消化收集第 3 代未刺激的 BMMSCs, 调整细胞浓度为  $5 \times 10^5$  /ml, 取 100  $\mu$ l 细胞悬液接种于 8  $\mu$ m 孔径 24 孔的 transwell 小室的上层, 下层加入 600  $\mu$ l 的含 2% FBS 的 L-DMEM 培养基, TNF- $\alpha$  处理组的下层培养液中再加入 TNF- $\alpha$  使得其终浓度为 10 ng/ml, 对照组加入等体积的 PBS, 置于细胞培养箱中继续培养。12 h 后, 取出小室, 用棉签轻轻拭去残留在膜上表面的未迁移的细胞, PBS 轻轻洗涤后, 迁移至膜下表面的细胞用 DAPI 染色 5 min, 荧光倒置显微镜下观察并随即选取 6 个视野拍照后计数迁移至膜下表面的细胞数目 ( $\times 200$ )。

**1.5 TNF- $\alpha$  预处理细胞** 待细胞长至 70% ~ 80% 融合时, 加入 TNF- $\alpha$  (10 ng/ml), 继续培养 24 h 后, 用于后续实验, 对照组细胞不加 TNF- $\alpha$  处理。

**1.6 黏附实验** 消化离心 (1 000 r/min, 5 min) TNF- $\alpha$  处理组及对照组细胞, 调整细胞浓度为  $1 \times 10^5$  /ml, 取 1 ml 细胞悬液经 1 000 r/min 离心 5 min 后重悬于 250  $\mu$ l 的 L-DMEM 中, 然后接种于胶原包被的 24 孔板中, 静置 20 min 后, 用 PBS 轻轻洗两遍去除未贴壁的干细胞。显微镜下随机选取 6 个视野拍照后计数 (100  $\times$ )。

**1.7 Western blot 检测黏附分子的蛋白表达** 将细胞加入上样缓冲液后 100 °C 水浴变性 5 min, 10% SDS-PAGE 电泳, 恒流 200 mA 2 h, 转移至 PVDF 膜上。用含 5% 脱脂奶粉的 PBST 封闭液封闭 2 h, 加一抗 VCAM-1 (1 : 1 000) 或  $\beta$ -actin (1 : 1 000) 于 4 °C 过夜, HRP 标记的二抗 (1 : 3 000) 室温孵育 2 h。洗膜后将增强化学发光液 (ECL) 涂于 PVDF 膜上, 曝光并采集图像。Gel-Pro analyzer 4 软件分析蛋白条带, 以  $\beta$ -actin 的表达量作为参照。

**1.8 大鼠心肌梗死模型的制备及细胞移植** 移植前消化收集细胞, DAPI 染色 5 min, PBS 洗 3 遍, 洗去多余的染液, 调整细胞浓度为  $1 \times 10^6$  /ml, 重悬于 100  $\mu$ l PBS 中, 置于冰上备用。采用结扎冠状动脉左前降支的方法建立大鼠心肌梗死模型 ( $n = 10$ )。大鼠麻醉成功后, 气管插管并连接呼吸机及生物机

能系统。常规消毒铺巾后,于胸骨左侧第三、四肋间开胸,暴露左心耳,于左心耳下方约 2 mm 处用 6/0 带线缝针进行结扎(左冠状动脉前降支),并标记即刻心电图,心电图上出现典型的 ST 段抬高作为确定心肌梗死模型制备成功的标志。结扎 40 min 后,于左前降支血管支配区域用胰岛素针分四点注射 DAPI 标记的干细胞。术后腹腔内注射青霉素 40 万 U/d,连续 3 d,预防术后感染,造模后大鼠单只单笼饲养 1 周。

**1.9 超声心动图检测大鼠心功能** 移植后第 4 周末,大鼠麻醉后剪毛,固定于鼠板上,二维多普勒超声仪检测大鼠左心室舒张末内径(left ventricular end diastolic dimension, LVDd)、左心室收缩末内径(left ventricular end-systolic dimension, LVDs),按照公式:  $LVEF\% = [(LVDd)^3 - (LVDs)^3] / (LVDd)^3 \times 100$  计算左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)。

**1.10 心肌组织学检查** 大鼠麻醉后取出心脏,将大鼠心脏从梗死区切开,用 OCT 包埋置于 -20 °C 数分钟,切片机切 5 μm 厚度的冰冻切片于玻片上,荧光显微镜下检测移植于心肌内的干细胞并拍照。石蜡包埋心脏并切片 3 μm 的切片经二甲苯乙醇脱蜡水化后 Masson 染色检测心肌内胶原沉积并拍照。

**1.11 统计学处理** 采用 GraphPad Prism 5.0 统计软件进行分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较用非配对 *t* 检验进行分析。

**2 结果**

**2.1 TNF-α 增加干细胞的体外迁移能力** 结果表明,与 TNF-α 共培养的干细胞的迁移能力明显增强。与 TNF-α 共培养 24 h 后, TNF-α 处理组从小室上表面迁移至小室下表面的细胞数目(25.3 ± 3.1)明显多于对照组(5.2 ± 1.2),差异有统计学意义(*P* < 0.01),见图 1A1、B1。

**2.2 TNF-α 对细胞黏附能力的影响** 细胞因子明显增加了黏附于培养板的细胞数量。TNF-α 处理组细胞黏附于培养板的细胞数目为 40.8 ± 3.4,明显多于对照组 8.3 ± 1.2,差异有统计学意义(*P* < 0.01),见图 1A2、B2。

**2.3 炎症因子预处理对 BMMSCs 表达 VCAM-1 的影响** 为了进一步验证炎症因子对 BMMSCs 表达 VCAM-1 的影响,用 Western blot 法检测转移到膜上的蛋白含量。结果表明,对照组的黏附分子表达量较低,加入 TNF-α 后显著诱导 VCAM-1 的蛋白合

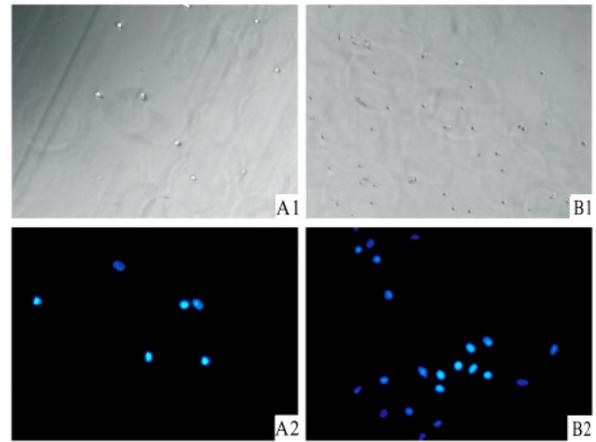


图 1 对照组与 TNF-α 处理组细胞体外迁移及黏附能力  
A: 细胞体外黏附实验 SP × 100; B: 细胞迁移实验 SP × 200; 1: 对照组; 2: TNF-α 处理组

成, TNF-α 处理组约为对照组的 3.2 倍(*P* < 0.01),见图 2。

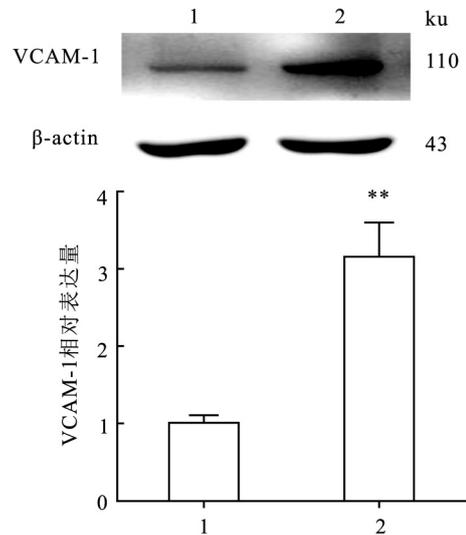


图 2 Western blot 法检测对照组与 TNF-α 处理组 BMMSCs 的 VCAM-1 的表达

1: 对照组; 2: TNF-α 处理组; 与对照组比较: \*\* *P* < 0.01

**2.4 移植 TNF-α 预处理的 BMMSCs 对大鼠心功能的影响** 移植后第 4 周末,对照组有 3 只大鼠死亡, TNF-α 处理组有 2 只大鼠死亡。LVDd、LVDs、LVEF 的结果见表 1。心脏多普勒超声心动图结果显示,移植 TNF-α 处理组 BMMSCs 的大鼠, LVEF 明显高于对照组大鼠(*P* < 0.01)。

**2.5 DAPI 标记的 BMMSCs 的检测与心肌梗死区胶原沉积** 移植前 DAPI 标记的 BMMSCs 细胞核与移植 4 周后心肌内检测到的标记的细胞见图 3A1、

表1 TNF- $\alpha$  预处理 BMMSCs 对大鼠心功能的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	LVDd( mm)	LVDs( mm)	LVEF( %)
对照	7	10.1 $\pm$ 1.3	9.1 $\pm$ 0.7	29.6 $\pm$ 1.5
TNF- $\alpha$ 处理	8	8.5 $\pm$ 0.9	7.0 $\pm$ 0.8	41.7 $\pm$ 2.0**

与对照组比较: \*\*  $P < 0.01$ 

B1。Masson 染色结果显示,正常的心肌显示为红色,而梗死心肌由于被胶原代替呈蓝色;与移植对照组细胞比较,移植 TNF- $\alpha$  处理组的 BMMSCs,心肌内胶原沉积明显减少,见图 3C2、D2。

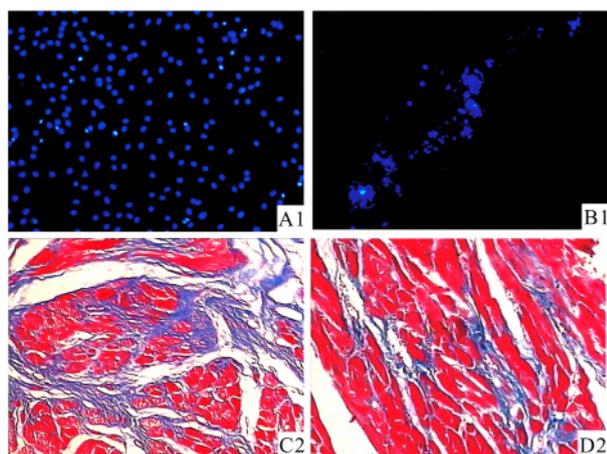


图3 DAPI 标记的干细胞的细胞核及移植后 4 周心肌胶原沉积 SP  $\times$  100

1: 移植前后 DAPI 标记的干细胞的细胞核; 2: 移植对照组及 TNF- $\alpha$  处理组细胞 4 周后梗死心肌内胶原沉积; A: 移植前; B: 移植后 4 周; C: 对照组; D: TNF- $\alpha$  处理组

### 3 讨论

由于 BMMSCs 的多向分化潜能及低免疫原性,和基因治疗一样在心、脑、促进伤口愈合等方面应用广泛。BMMSCs 移植对缺血心肌的心功能恢复发挥有益作用,并为终末期心血管疾病提供了一个可行的治疗方法<sup>[5]</sup>。成功的移植取决于多方面的因素,包括干细胞归巢、植入、迁移和增殖<sup>[6]</sup>。干细胞治疗的主要障碍之一是移植的干细胞中只有很小一部分存活和植入心肌中<sup>[7]</sup>。因此如何提高干细胞的移植效率成了亟待解决的问题。研究<sup>[8]</sup>表明,干细胞对心肌的保护作用可能是通过干细胞旁分泌作用产生的介质来刺激组织修复或产生其他有益的作用介导的,而不仅仅是通过干细胞分化为心肌细胞来修复组织。Luo et al<sup>[9]</sup>研究发现在梗死边缘区注射高表达血管内皮生长因子(vascular endothelial

growth factor, VEGF) 的干细胞,可以减少梗死面积,增加梗死周围心肌的血管生成,促进冠脉结扎实验中心脏功能的恢复。Ries et al<sup>[10]</sup>研究发现提高人间充质干细胞的基质金属酶的表达,可以促进细胞趋化迁移通过细胞外基质。

心肌梗死后,受损的心肌组织释放大炎症介质,对梗死后心肌的修复存在正反两方面的作用,一方面可以促进组织修复和增加心肌对缺血的适应性,另一方面这些炎症介质也可以通过促进心肌细胞凋亡和增强基质降解的机制导致组织损伤和心力衰竭<sup>[11]</sup>。以往的研究及干细胞移植着重于如何降低心肌梗死后炎症因子的表达,而近几年研究<sup>[12-13]</sup>表明用炎症因子预处理干细胞可对梗死后心肌功能的改善起到积极作用。Herrmann et al<sup>[13]</sup>研究发现干细胞移植治疗前用 TGF- $\alpha$  处理干细胞 24 h,可以增加 VEGF 的表达,进一步保护大鼠的心功能及减小梗死面积。

本研究结果显示,TNF- $\alpha$  预处理明显提高了 BMMSCs 的 VCAM-1 的表达及其迁移黏附能力,在大鼠心肌梗死模型的心肌内注射 TNF- $\alpha$  预处理的 BMMSCs 明显增加了大鼠左心室心功能并减少了梗死区的胶原沉积。本研究选择 10 ng/ml 作为刺激浓度是因为这一浓度的刺激可以激活干细胞的旁分泌而不改变其活性或表面标志物<sup>[14]</sup>。有研究<sup>[15]</sup>显示,心肌内移植间充质干细胞可以募集一系列对心肌重构有重要作用的炎症介质。TNF- $\alpha$ 、白介素-6 以及转化生长因子等在心肌缺血损伤后的急性期释放,强烈调控细胞的存活与凋亡,并引发后续的炎症反应。慢性期时,细胞因子通过激活基质金属酶与胶原形成介导修复与重构。由于移植于缺血区的干细胞持续暴露于炎症环境中,而这些炎症因子又对干细胞的旁分泌起重要作用,因此研究干细胞对炎症环境及炎症因子的应答对提高干细胞的移植效率具有重要的价值。

### 参考文献

- [1] Kim Y S, Park H J, Hong M H, et al. TNF-alpha enhances engraftment of mesenchymal stem cells into infarcted myocardium [J]. Front Biosci, 2009, 14: 2845-56.
- [2] Ren G, Roberts A I, Shi Y. Adhesion molecules: key players in Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression [J]. Cell Adh Migr, 2011, 5(1): 20-2.
- [3] Segers V F, Van-Riet I, Andries L J, et al. Mesenchymal stem cell adhesion to cardiac microvascular endothelium: activators and

- mechanisms[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 290(4): 1370–7.
- [4] Hyun Y M, Chung H L, McGrath J L, et al. Activated integrin VLA-4 localizes to the lamellipodia and mediates T cell migration on VCAM-1[J]. *J Immunol*, 2009, 183(1): 359–69.
- [5] Koh S H, Kim K S, Choi M R, et al. Implantation of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells as a neuroprotective therapy for ischemic stroke in rats[J]. *Brain Res*, 2008, 1229: 233–48.
- [6] Wu K H, Zhou B, Yu C T, et al. Therapeutic potential of human umbilical cord derived stem cells in a rat myocardial infarction model[J]. *Ann Thorac Surg*, 2007, 83(4): 1491–8.
- [7] Bakhtiary M, Marzban M, Mehdizadeh M, et al. Comparison of transplantation of bone marrow stromal cells (BMMSCs) and stem cell mobilization by granulocyte colony stimulating factor after traumatic brain injury in rat[J]. *Iran Biomed J*, 2010, 14(4): 142–9.
- [8] Horwitz E M, Prather W R. Cytokines as the major mechanism of mesenchymal stem cell clinical activity: expanding the spectrum of cell therapy[J]. *Isr Med Assoc J*, 2009, 11(4): 209–11.
- [9] Luo Y, Wang Y, Poynter J A, et al. Pretreating mesenchymal stem cells with interleukin-1 $\beta$  and transforming growth factor- $\beta$  synergistically increases vascular endothelial growth factor production and improves mesenchymal stem cell-mediated myocardial protection after acute ischemia[J]. *Surgery*, 2012, 151(3): 353–63.
- [10] Ries C, Egea V, Karow M, et al. MMP-2, MT1-MMP, and TIMP-2 are essential for the invasive capacity of human mesenchymal stem cells: differential regulation by inflammatory cytokines[J]. *Blood*, 2007, 109(9): 4055–63.
- [11] Nian M, Lee P, Khaper N, et al. Inflammatory cytokines and postmyocardial infarction remodeling[J]. *Circ Res*, 2004, 94(12): 1543–53.
- [12] Egea V, von Baumgarten L, Schichor C, et al. TNF- $\alpha$  respecifies human mesenchymal stem cells to a neural fate and promotes migration toward experimental glioma[J]. *Cell Death Differ*, 2011, 18(5): 853–63.
- [13] Herrmann J L, Abarbanell A M, Wang Y, et al. Transforming growth factor- $\alpha$  enhances stem cell-mediated postischemic myocardial protection[J]. *Ann Thorac Surg*, 2011, 92(5): 1719–25.
- [14] Xiao Q, Wang S K, Tian H, et al. TNF- $\alpha$  increases bone marrow mesenchymal stem cell migration to ischemic tissues[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2012, 62(3): 409–14.
- [15] Armiñón A, Gandía C, García-Verdugo J M, et al. Mesenchymal stem cells provide better results than hematopoietic precursors for the treatment of myocardial infarction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 55(20): 2244–53.

## TNF- $\alpha$ increases bone marrow mesenchymal stem cells VCAM-1 expression and improves post-ischemic myocardial function

Wang Chunmiao<sup>1</sup>, Wang Ailing<sup>1</sup>, Cheng Jinglin<sup>2</sup>, et al

<sup>1</sup>Dept of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022;

<sup>2</sup>Dept of Emergency, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601)

**Abstract Objective** To investigate whether tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) treatment could increase bone marrow mesenchymal stem cells (BMMSCs) vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) expression and improve post-ischemic myocardial function. **Methods** BMMSCs at passages 3 to 5 were treated with TNF- $\alpha$  for 24 h, the migration and adhesion ability of BMMSCs was measured by migration and adhesion assays *in vitro*, the expression of VCAM-1 was assessed by Western blot. Cells were stained with DAPI for 5 min before transplantation, at the end of the fourth week, cardiac function was examined by two-dimensional echocardiography, and collagen deposition was detected by Masson stain. Cells without treated were set as control. **Results** We found that compared with control group, TNF- $\alpha$  group significantly up-regulated the secretion of VCAM-1 after TNF- $\alpha$  stimulation as well as migration and adhesion ability of BMMSCs ( $P < 0.01$ ), thus greatly improved post-ischemic myocardial function in rat model and decreased collagen deposition after ischemia ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Treating BMMSCs with TNF- $\alpha$  could increase VCAM-1 expression, and improve cell-based therapies for ischemic tissue.

**Key words** tumor necrosis factor- $\alpha$ ; bone marrow mesenchymal stem cells; vascular cell adhesion molecule-1; myocardial infarction