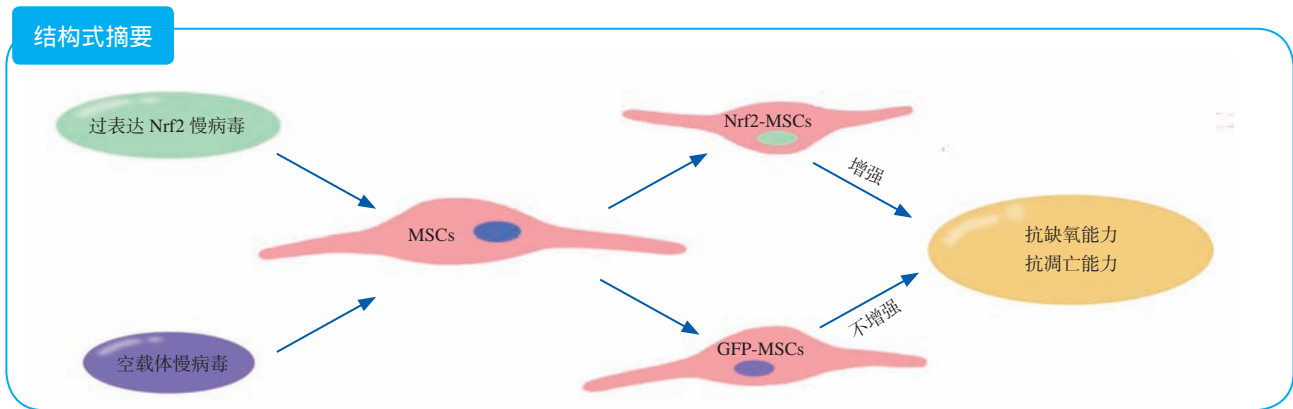


· 实验研究 ·

核因子E2相关因子2过表达对间充质干细胞抗缺氧和抗凋亡能力的影响

刘荣强 袁泽南 吴小材 刘炜 汪国营



【摘要】 目的 研究核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 对间充质干细胞 (MSCs) 的抗缺氧及抗凋亡能力的影响。方法 将过表达 Nrf2 的重组质粒及辅助质粒转染人胚肾细胞 (293FT), 获得过表达 Nrf2 的高滴度慢病毒。MSCs 分别转染过表达 Nrf2 慢病毒以及空载体慢病毒, 构建稳定过表达 Nrf2 的 Nrf2-MSCs (Nrf2 过表达组) 以及绿色荧光蛋白 (GFP)-MSCs (对照组)。采用荧光显微镜观察两组细胞的绿色荧光表达情况。采用蛋白免疫印迹 (Western Blot) 法检测两组细胞中 Nrf2 蛋白的表达水平。采用光学显微镜观察两组细胞的抗缺氧能力, 采用流式细胞术检测两组细胞的抗凋亡能力。结果 成功构建了稳定过表达 Nrf2 的 Nrf2-MSCs, Western Blot 法检测结果显示 Nrf2 过表达组细胞的 Nrf2 蛋白表达水平明显高于对照组 ($P < 0.01$)。缺氧处理 15 h 后, Nrf2 过表达组的细胞活力明显高于对照组。流式细胞术检测表明 Nrf2 过表达组细胞的凋亡率为 $(30.9 \pm 1.4)\%$, 明显低于对照组细胞的 $(61.3 \pm 1.3)\%$ ($P < 0.05$)。结论 稳定过表达 Nrf2 的 Nrf2-MSCs 在低氧环境中具有一定的抗缺氧、抗凋亡能力。

【关键词】 核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2); 间充质干细胞 (MSCs); 慢病毒载体; 转染; 质粒; 凋亡; 缺氧; 流式细胞术; 人胚肾细胞; 缺血-再灌注损伤 (IRI)

【中图分类号】 R617 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445 (2018) 02-0004-06

Effect of Nrf2 overexpression on anti-hypoxia and anti-apoptotic ability of mesenchymal stem cells Liu Rongqiang, Yuan Zenan, Wu Xiaocai, Liu Wei, Wang Guoying. Department of Hepatic Surgery, Liver Transplantation Center, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China

Corresponding author: Wang Guoying, Email: wanggy3@126.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2018.02.004

基金项目; 国家十二五科技重大专项 (2012ZX10002017-005、2012ZX10002016-023); 广东省科技计划项目 (2014B020228003、2014A020211015); 广东省自然科学基金 (2015A030312013、2015A030313038); 广州市科技计划项目 (201400000001-3、158100076、2014J4100183)

作者单位: 510630 广州, 中山大学附属第三医院肝脏外科暨肝移植中心

作者简介: 刘荣强, 1990 年生, 硕士研究生, 研究方向为干细胞和肝癌, Email: 425475531@qq.com

通讯作者: 汪国营, 副教授, 博士研究生导师, 研究方向为干细胞和肝癌, Email: wanggy3@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of nuclear factor erythroid-2-related factor 2(Nrf2) on the anti-hypoxia and anti-apoptotic ability of mesenchymal stem cells(MSCs). **Methods** Human embryonic kidney cells(293FT) were transfected with recombinant plasmid which overexpressed Nrf2 and helper plasmid. High-titer lentivirus which overexpressed Nrf2 were obtained. MSCs were transfected with lentivirus with Nrf2 overexpression and empty lentiviral vector to establish Nrf2-MSCs which stably overexpressed Nrf2 (Nrf2 overexpression group) and green fluorescent protein (GFP)-MSCs(control group). The expression of green fluorescent in 2 groups was observed by fluorescence microscope. The expression level of Nrf2 protein in 2 groups was measured by Western Blot. The anti-hypoxia ability of 2 groups was observed by light microscope. The anti-apoptotic ability of 2 groups was measured by flow cytometry. **Results** Nrf2-MSCs which stably overexpressed Nrf2 were successfully established. Western Blot analysis revealed that the expression level of Nrf2 protein in the Nrf2 overexpression group was significantly higher than that in the control group ($P<0.01$). After 15 h hypoxia treatment, the cell activity in the Nrf2 overexpression group was significantly higher than that in the control group. Flow cytometry showed that the apoptosis rate in the Nrf2 overexpression group was $(30.9 \pm 1.4)\%$, significantly lower than $(61.3 \pm 1.3)\%$ in the control group ($P<0.05$). **Conclusions** Nrf2-MSCs which can stably overexpress Nrf2 possess certain anti-hypoxia and anti-apoptotic ability in hypoxia environment.

【Key words】 Nuclear factor erythroid-2-related factor 2(Nrf2); Mesenchymal stem cells(MSCs); Lentiviral vector; Transfection; Plasmid; Apoptosis; Hypoxia; Flow cytometry; Human embryonic kidney cell; Ischemia-reperfusion injury (IRI)

缺血-再灌注损伤 (IRI) 是指组织器官缺血一定时间后恢复血液灌流, 不仅不能恢复其功能, 反而会促使缺血所致的组织器官功能障碍和结构损伤更趋严重的病理过程, 多见于肝脏、肾脏、心脏等实质脏器。目前防治 IRI 主要包括药物预防、缺血预处理、低温预处理和缺血后处理等措施^[1-2], 但其效果并不突出。核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid-2-related factor 2, Nrf2) 作为抗氧化应激因子, 可诱导产生一系列活性酶, 具有明显的抗炎、抗氧化应激和抗凋亡等细胞保护作用^[3-5]。研究发现 Nrf2 激动剂在恢复肝脏 IRI 上作用良好, 且过表达 Nrf2 的小鼠更加耐受肝 IRI^[6]。而间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 可以通过血液到达脏器, 发挥抗缺氧、抗凋亡作用^[7-8], 体外实验及动物实验均表明 MSCs 有助于脏器损伤后恢复^[9-11]。因此, 我们利用慢病毒建立稳定过表达 Nrf2 的 Nrf2-MSCs, 并观察其对 MSCs 抗缺氧和抗凋亡能力的影响, 为进一步研究 Nrf2 抗炎、抗凋亡、抗氧化应激及器官保护作用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

Nrf2 基因片段来源于人胚肾细胞 (293FT 细胞), 293FT 细胞购自中国科学院上海生命科学研究院细

胞资源中心, 辅助质粒 pCMSCV、PMDG、PMO II 及含绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein, GFP) 的 pLV-CMV-XbaI-BamHI 慢病毒包装系统购自广州永诺生物科技有限公司, MSCs 来自中山大学附属第三医院生物治疗中心。Trizol 液购自美国赛默飞世尔科技公司, 逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 试剂盒购自德国 DBI 公司, 胎牛血清、Opti-MEM 和 DMEM 培养基均购自美国 GIBCO 公司, DNA 连接酶购自美国 NEB 公司, 脂质体 2000 (Lipofectamine™ 2000) 购自美国 Invitrogen 公司, 感染增敏剂 Polybrene 购自美国 Sigma 公司, Annexin V-APC 凋亡试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 构建过表达 Nrf2 的重组质粒 以 293FT 细胞为原料, Trizol 法提取 RNA 后用反转录试剂盒反转录得互补脱氧核糖核酸 (cDNA), 以正向引物 5'-CGATTTCTAGATTCCTGCTTTATAGCGTGCAA-3', 反向引物 3'-ATATGGATCCTCACATCACAGTAGGAGCTT-5' 作为一对引物, 行聚合酶链反应 (PCR) 操作, 获得目的片段 Nrf2 开放阅读框。回收并纯化 PCR 产物, 利用 Xba I 和 BamH I 分别双酶切 Nrf2 片段及骨架结构 pLV-CMV-XbaI-BamHI-GFP, 回收并纯化酶切后产物, 以 T4 DNA 连接酶将 Nrf2 片段与 pLV-CMV-XbaI-BamHI-GFP 连接为 Nrf2-

pLV-CMV-XbaI-BamHI-GFP 载体, 转化后涂布卡那霉素抗性平板, 挑选细菌单克隆, 在 LB 培养基中培养后行菌液 PCR, 取测序正确的阳性克隆进行扩增获得 Nrf2-pLV-CMV-XbaI-BamHI-GFP 重组质粒。

1.2.2 构建稳定过表达 Nrf2 的 Nrf2-MSCs 取对数生长期的 293FT 细胞接种于细胞培养皿, 10% 胎牛血清 DMEM 培养基常规培养于 37 °C、5%CO₂ 饱和湿度的细胞培养箱中。24 h 后 293FT 细胞密度约为 70% 时, 将 Nrf2-pLV-CMV-XbaI-BamHI-GFP 重组质粒与辅助质粒 pCMSCV、PMDG、PMO II 按质量比 10 μg : 5 μg : 5 μg : 5 μg 稀释于 1 mL Opti-MEM 培养基中, 另吸取 25 μL Lipofectamine™ 2000 于 1 mL Opti-MEM, 室温静置 5 min 后将两者混合, 轻轻混匀, 静置 15 min 后加入 293FT 细胞培养皿。转染 6 h 后换成含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基, 分别在 24 h 及 48 h 后收获 293FT 细胞培养上清, 将两次获得的上清混合, 0.45 μm 过滤器过滤上清, 即为 Nrf2 过表达慢病毒, -80 °C 保存。同法包装 pLV-CMV-XbaI-BamHI-GFP 质粒, 获得空载体慢病毒, 设立为对照组。

MSCs 取自第 3~5 代人脐带间充质干细胞 (human umbilical cord mesenchymal stem cells, HUC-MSCs)。将 MSCs 接种于培养瓶, 10% 胎牛血清 DMEM 培养基常规培养于 37 °C、5%CO₂ 饱和湿度的细胞培养箱中。24 h 后细胞密度约为 30% 时, 将培养基换成含有 2 mL Nrf2 过表达慢病毒的 10% 胎牛血清 DMEM 培养基, 并加入相应量感染增敏剂 Polybrene (含量为 6 mg/mL), 培养 2 d 后用嘌呤霉素 (含量为 10 μg/mL) 筛选, 得到稳定过表达 Nrf2 的 Nrf2-MSCs 细胞 (Nrf2 过表达组)。空载体慢病毒感染 MSCs 获得的 GFP-MSCs 细胞为对照组。

1.2.3 鉴定 Nrf2-MSCs 采用荧光显微镜观察 Nrf2 过表达组和对照组细胞内绿色荧光的表达情况。另外, 用全蛋白提取试剂盒分别提取在细胞培养瓶中的 Nrf2 过表达组和对照组细胞, 采用 BCA 法测蛋白水平。进行蛋白免疫印迹 (Western Blot) 法检测, 分析 Nrf2 过表达组和对照组中 Nrf2、内参 β-肌动蛋白 (β-actin) 的表达水平。

1.2.4 检测 Nrf2-MSCs 抗缺氧能力的变化 将 Nrf2 过表达组和对照组细胞接种于 6 孔板, 10% 胎牛血清 DMEM 培养基常规培养于 37 °C、5%CO₂ 饱和湿度的细胞培养箱中。待细胞长至 90% 左右放置于低氧培养箱 (1%) 中, 15 h 后拿出 6 孔板在光学显微镜下

观察并比较两组细胞形态变化情况。

1.2.5 检测 Nrf2-MSCs 的抗凋亡能力的变化 将 Nrf2 过表达组和对照组细胞接种于 6 孔板, 10% 胎牛血清 DMEM 培养基常规培养于 37 °C、5%CO₂ 饱和湿度的细胞培养箱中。待细胞密度长至 70% 左右放置于低氧培养箱 (1%) 诱导凋亡, 24 h 后取出 6 孔板吸净上清, PBS 洗涤细胞 2 次, 用胰酶消化细胞, 离心后用 PBS 洗涤 2 次, 各加入 500 μL Binding Buffer 以及 5 μL Annexin V-APC 和 5 μL PI 染液, 室温避光静置 15 min 后上流式机检测。流式图左下象限显示活细胞, 右上象限是非活细胞, 即晚期凋亡细胞, 而右下象限为早期凋亡细胞。早期凋亡细胞及晚期凋亡细胞之和占细胞总数的百分比为凋亡率。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析。两组间计量资料以均数 ± 标准差表示, 比较采用 *t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Nrf2-MSCs 的构建及鉴定结果

Nrf2-pLV-CMV-XbaI-BamHI-GFP 阳性克隆菌液 PCR 产物如图 1 所示, 经测序验证正确, 未发生突变。荧光显微镜下 Nrf2 过表达组和对照组细胞均成功表达大量绿色荧光 (图 2)。Western Blot 检测结果表明, 与对照组细胞相比, Nrf2 过表达组细胞内 Nrf2 蛋白表达量明显升高 (*P* < 0.01, 图 3)。荧光显微镜下观察结果和 Western Blot 结果均证实已成功构建 Nrf2 过表达组细胞和对照组细胞。

2.2 Nrf2 过表达对 MSCs 抗缺氧能力的影响

经过 15 h 缺氧处理后, Nrf2 过表达组和对照组细胞的活力情况如图 4 所示。对照组细胞胞膜模糊、细胞形态不一; Nrf2 过表达组细胞的胞膜清晰、细

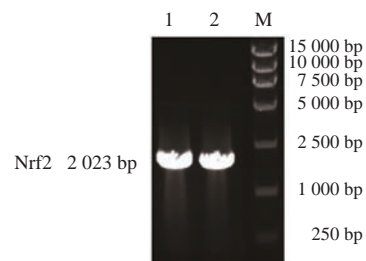


图 1 重组质粒阳性克隆菌液的 PCR 产物
Figure 1 PCR products of recombinant plasmid positive clone bacteria solution

胞形态相对均一且呈现梭形，表明 Nrf2 可明显提高 MSCs 的抗缺氧能力。

2.3 Nrf2 过表达对 MSCs 抗凋亡能力的影响

流式细胞术检测细胞凋亡结果显示，Nrf2 过表达组细胞的凋亡率为 (30.9 ± 1.4) %，明显低于对照组的 (61.3 ± 1.3) % (P<0.05, 图 5)。这说明 Nrf2 可促进 MSCs 的抗凋亡能力。

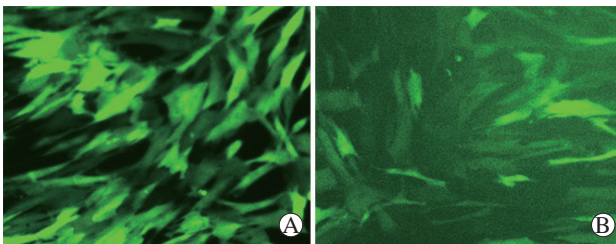
3 讨 论

慢病毒载体是由人类免疫缺陷 1 型病毒为基础发展起来的基因治疗工具，属于反转录病毒家族成员之一。慢病毒载体目前已经发展至第 4 代，相比其他基因载体，其具有承载较大基因片段、目的基因表达时间长、免疫原性低、感染效率高等优点，可以感染分裂细胞和非分裂细胞并能稳定整合至宿主染色体上持续表达 [12-15]。目前，慢病毒载体可用于制备嵌入特殊基因的干细胞或转基因实验动物 [16]。

MSCs 广泛存在于人体组织中，是一类具有自我更新能力的多能前体细胞，发挥多向分化潜能、促进

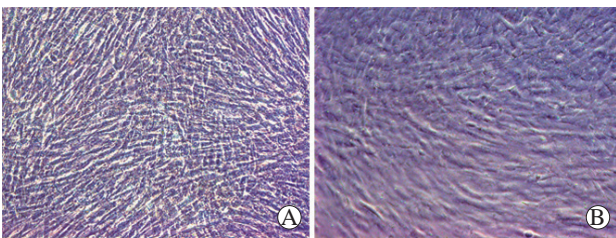
组织修复、抗炎治疗、免疫调控等功能 [17]。MSCs 具有多向分化潜能，且具有取材相对简单、体外扩增容易、免疫原性弱等优点 [18]。因此 MSCs 作为理想的基因转移运载平台非常适合应用于生物医学领域 [19]。应用 MSCs 治疗器官 IRI 已成为一种可行的方式，然而 MSCs 输注体内后作用时间短，在氧化应激环境下存活数天后即会死亡，需反复多次输注才能提高疗效，这也是目前 MSCs 治疗的瓶颈 [19]。抑制 MSCs 凋亡并延长 MSCs 在体内的作用是提高其疗效的关键。

Nrf2 是参与机体氧化应激防护的重要的转录因子，它与抗氧化反应元件 (antioxidant responsive element, ARE) 组成 Nrf2-ARE 通路，并启动下游多个抗氧化、抗炎蛋白及解毒酶等的表达，发挥抗细胞凋亡、抗氧化应激、减轻炎症等作用 [3]。研究表明当细胞处于缺氧等不利条件下，Nrf2 表达量可上调保护细胞活性 [20]。Nrf2 具有较为明显的抗凋亡作用，可以上调抗凋亡因子 Bcl-2 表达，并减少凋亡因子 Bax、半胱氨酸蛋白酶 (Caspase-3) 表达 [20]。此外，Nrf2 表达可促进下游抗炎因子的表达 [21]。近年来相关研究表明过表达 Nrf2 的人羊膜 MSCs 可以保护脂多糖诱导的小鼠肺



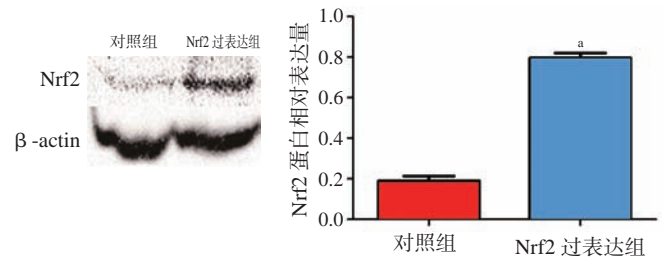
A 图为 Nrf2 过表达组细胞；B 图为对照组细胞
图 2 荧光显微镜下两组细胞的绿色荧光表达 (×200)

Figure 2 The green fluorescent expression of cells in two groups by fluorescence microscope



A 图为 Nrf2 过表达组细胞；B 图为对照组细胞
图 4 两组细胞抗缺氧能力的比较 (×100)

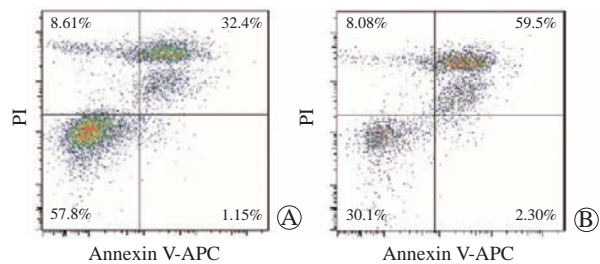
Figure 4 Comparison of the anti-hypoxia ability of cells between two groups



与对照组比较，^aP<0.05

图 3 两组细胞 Nrf2 蛋白的表达水平比较

Figure 3 Comparison of the expression level of Nrf2 protein of cells between two groups



A 图为 Nrf2 过表达组细胞；B 图为对照组细胞

图 5 两组细胞抗凋亡能力的比较

Figure 5 Comparison of the anti-apoptotic ability of cells between two groups

损伤, 过表达 Nrf2 的小鼠骨髓 MSCs 可明显减轻急性肾损伤大鼠的肾损伤并促使肾功能恢复^[5, 22]。因此我们假设过表达 Nrf2 可以抑制 MSCs 凋亡, 并促进 MSCs 分泌抗炎因子, 从而增强对 MSCs 的细胞保护作用。

为验证 Nrf2 对 MSCs 的保护作用, 本研究中我们成功构建了过表达 Nrf2 的重组质粒, 将其与辅助质粒 pCMSCV、PMDG 和 PMO II 转入 293FT 细胞内重组进行病毒包装获得 Nrf2 过表达慢病毒, 用 Nrf2 过表达慢病毒感染 MSCs 细胞后成功筛选出稳定过表达 Nrf2 的 Nrf2-MSCs 细胞 (Nrf2 过表达组)。Western Blot 结果显示, Nrf2 过表达组中 Nrf2 蛋白的表达量明显高于对照组。随后, 我们对 Nrf2 过表达组和对照组细胞进行 15 h 缺氧处理, 结果显示 Nrf2 过表达组细胞的细胞活力明显强于对照组细胞, 表明 Nrf2 能提高 MSCs 的抗缺氧能力。此前有学者研究也证明 Nrf2 对 MSCs 具有较明显抗氧化能力, 这与我们的研究结果一致^[23]。Mohammadzadeh 等^[24]发现在缺氧环境中, 过表达 Nrf2 的 MSCs 细胞凋亡率明显降低。我们通过流式细胞术同时检测对 Nrf2 过表达组、对照组细胞进行凋亡诱导后的凋亡情况, 结果表明 Nrf2 能促进 MSCs 的抗凋亡能力, 与文献报道结果一致^[24]。

综上所述, Nrf2 可促进 MSCs 细胞的抗缺氧能力和抗凋亡能力。本文为进一步研究 Nrf2 对器官保护作用机制及制备方便可行的工具化 MSCs 应用于临床试验提供了可行的方法及材料。

参考文献:

- [1] LEAL AJ, TANNURI AC, BELON AR, et al. Effects of ischemic preconditioning in a pig model of large-for-size liver transplantation[J]. *Clinics (Sao Paulo)*, 2015, 70(2): 126-135. DOI: 10.6061/clinics/2015(02)10.
- [2] BEHRENDIS M, HIROSE R, SERKOVA NJ, et al. Mild hypothermia reduces the inflammatory response and hepatic ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *Liver Int*, 2006, 26(6): 734-741.
- [3] ICHIHARA S, YAMADA Y, LIU F, et al. Ablation of the transcription factor Nrf2 promotes ischemia-induced neovascularization by enhancing the inflammatory response[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(8):1553-1561. DOI: 10.1161/ATVBAHA.110.204123.
- [4] KODE A, RAJENDRASOZHAN S, CAITO S, et al. Resveratrol induces glutathione synthesis by activation of Nrf2 and protects against cigarette smoke-mediated oxidative stress in human lung epithelial cells[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 294(3): L478-L488.
- [5] MORITO N, YOH K, ITOH K, et al. Nrf2 regulates the sensitivity of death receptor signals by affecting intracellular glutathione levels[J]. *Oncogene*, 2003, 22(58): 9275-9281.
- [6] KUDOH K, UCHINAMI H, YOSHIOKA M, et al. Nrf2 activation protects the liver from ischemia/reperfusion injury in mice[J]. *Ann Surg*, 2014, 260(1): 118-127. DOI: 10.1097/SLA.0000000000000287.
- [7] HORWITZ EM, DOMINICI M. How do mesenchymal stromal cells exert their therapeutic benefit?[J]. *Cytotherapy*, 2008, 10(8): 771-774. DOI: 10.1080/14653240802618085.
- [8] MURPHY MB, MONCIVAIS K, CAPLAN AI. Mesenchymal stem cells: environmentally responsive therapeutics for regenerative medicine[J]. *Exp Mol Med*, 2013, 45:e54. DOI: 10.1038/emm.2013.94.
- [9] BIANCHI F, SALA E, DONADEI C, et al. Potential advantages of acute kidney injury management by mesenchymal stem cells[J]. *World J Stem Cells*, 2014, 6(5): 644-650. DOI: 10.4252/wjsc.v6.i5.644.
- [10] MORIGI M, INTRONA M, IMBERTI B, et al. Human bone marrow mesenchymal stem cells accelerate recovery of acute renal injury and prolong survival in mice[J]. *Stem Cells*, 2008, 26(8): 2075-2082. DOI: 10.1634/stemcells.2007-0795.
- [11] JIANG MH, LI G, LIU J, et al. Nestin(+) kidney resident mesenchymal stem cells for the treatment of acute kidney ischemia injury[J]. *Biomaterials*, 2015, 50: 56-66. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2015.01.029.
- [12] LINTERMAN KS, PALMER DN, KAY GW, et al. Lentiviral-mediated gene transfer to the sheep brain: implications for gene therapy in batten disease[J]. *Hum Gene Ther*, 2011, 22(8): 1011-1020. DOI:10.1089/hum.2011.026.
- [13] KAFRI T, VAN PRAAG H, GAGE FH, et al. Lentiviral vectors: regulated gene expression[J]. *Mol Ther*, 2000, 1(6): 516-521.
- [14] DREYER JL. Lentiviral vector-mediated gene transfer and RNA silencing technology in neuronal dysfunctions[J]. *Mol Biotechnol*, 2011, 47(2): 169-187. DOI: 10.1007/s12033-010-9334-x.
- [15] LASEK AW, AZOUAOU N. Virus-delivered RNA interference in mouse brain to study addiction-related behaviors[J]. *Methods Mol Biol*, 2010, 602: 283-298. DOI: 10.1007/978-1-60761-058-8_17.
- [16] RUBINSON DA, DILLON CP, KWIATKOWSKI AV, et al. A lentivirus-based system to functionally silence genes in primary mammalian cells, stem cells and transgenic

- mice by RNA interference[J]. *Nat Genet*, 2003, 33(3): 401-406.
- [17] SOHNI A, VERFAILLIE CM. Mesenchymal stem cells migration homing and tracking[J]. *Stem Cells Int*, 2013: 130763. DOI: 10.1155/2013/130763.
- [18] MOUSA HSE, SHALABY SM, GOUDA ZA, et al. Efficacy of human umbilical cord derived-mesenchymal stem cells in treatment of rat bone marrow exposed to gamma irradiation[J]. *Ann Anat*, 2017, 210: 64-75. DOI: 10.1016/j.aanat.2016.12.002.
- [19] ZHANG B, SHEN L, SHI H, et al. Exosomes from human umbilical cord mesenchymal stem cells: identification, purification, and biological characteristics[J]. *Stem Cells Int*, 2016: 1929536. DOI: 10.1155/2016/1929536.
- [20] MA S, XIE N, LI W, et al. Immunobiology of mesenchymal stem cells[J]. *Cell Death Differ*, 2014, 21(2): 216-225. DOI: 10.1038/cdd.2013.158.
- [21] HOOGDUIJN MJ. Are mesenchymal stromal cells immune cells?[J]. *Arthritis Res Ther*, 2015, 17:88. DOI: 10.1186/s13075-015-0596-3.
- [22] D'SOUZA N, ROSSIGNOLI F, GOLINELLI G, et al. Mesenchymal stem/stromal cells as a delivery platform in cell and gene therapies[J]. *BMC Med*, 2015, 13:186. DOI: 10.1186/s12916-015-0426-0.
- [23] ZHALEH F, AMIRI F, MOHAMMADZADEH-VARDIN M, et al. Nuclear factor erythroid-2 related factor 2 overexpressed mesenchymal stem cells transplantation, improves renal function, decreases injuries markers and increases repair markers in glycerol-induced acute kidney injury rats[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2016, 19(3): 323-329.
- [24] MOHAMMADZADEH M, HALABIAN R, GHAREHBAGHIAN A, et al. Nrf-2 overexpression in mesenchymal stem cells reduces oxidative stress-induced apoptosis and cytotoxicity[J]. *Cell Stress Chaperones*, 2012, 17(5): 553-565. DOI: 10.1007/s12192-012-0331-9.

(收稿日期: 2017-12-14)
(本文编辑: 石梦辰 朱佩玲)