

## 化学成分明确的脂肪源性间充质干细胞无血清培养方法的实验研究

汪兆艳, 王倩, 栾佐, 屈素清

(中国人民解放军总医院第六医学中心儿科 北京 100048)

[摘要]目的: 建立一种化学成分明确的、无异源、具有高效扩增能力的人源脂肪源性间充质干细胞体外扩增的无血清培养体系。方法: 人源脂肪源性间充质干细胞分别用含胎牛血清的培养基(C组)和两组化学成分明确的无血清培养基(A组、B组)连续培养三代, 对比不同培养基培养的脂肪源性间充质干细胞形态、细胞增殖及三系分化能力, 通过流式细胞术检测三组培养基培养的第3代脂肪源性间充质干细胞表面标记物CD29、CD73、CD90、CD105、CD34、CD45和HLA-DR的表达情况。结果: 与含胎牛血清的C组培养基比较, 无血清培养基A组和B组培养的脂肪源性间充质干细胞形态更为细长、为典型的纤维状, 细胞增殖能力更强, 其中无血清培养基B组优于无血清培养基A组; 流式检测结果显示, A、B两组无血清培养基培养的间充质干细胞与C组胎牛血清培养基培养的间充质干细胞都能够分化为成脂、成骨和成软骨细胞且高表达间充质干细胞特异性表面标志物CD29、CD73、CD90、CD105, 低表达CD34、CD45和HLA-DR。结论: 无血清培养基B组为最优的脂肪源性间充质干细胞培养基。[关键词]脂肪源性间充质干细胞(ADSCs); 无血清培养基; 细胞增殖; 细胞分化; 成脂分化; 成骨分化; 成软骨分化 [中图分类号]R329.2 [文献标志码]A [文章编号]1008-6455(2025)12-0006-05

## Adipose Mesenchymal Stem Cells with Clear Chemical Composition Experimental Study on Serum-free Culture Method

WANG Zhaoyan, WANG Qian, LUAN Zuo, QU Suqing

(Department of Pediatrics, the Sixth Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100048, China)

**Abstract: Objective** To establish a serum-free culture system for in vitro expansion of human adipogenetic mesenchymal stem cells with clear chemical composition, no heterologous and efficient expansion ability. **Methods** Human adipogenic mesenchymal stem cells were continuously cultured for three generations with fetal bovine serum-containing medium (group C) and two groups of serum-free medium with clear chemical composition (group A and group B), and the morphology, cell proliferation and trilineage differentiation ability of adipose mesenchymal stem cells cultured in different media were compared with the morphology, cell proliferation and trilineage differentiation ability of adipose mesenchymal stem cells cultured in different media, and the surface markers CD29, CD73, CD90, CD105, CD34 cultured in three groups of media were detected by flow cytometry. CD45 and HLA-DR expression. **Results** Compared with the group C medium containing fetal bovine serum, the adipose mesenchymal stem cells cultured in serum-free medium A and B were more slender, typically fibrous, and had stronger cell proliferation capacity, among which serum-free medium group B was better than serum-free medium group A. Osteoblasts and chondrocytes with high expression of mesenchymal stem cell-specific surface markers CD29, CD73, CD90, CD105, and low expression of CD34, CD45 and HLA-DR were not significantly different between the three groups. **Conclusion** Serum-free medium group B is the optimal adipose mesenchymal stem cell medium.

**Key words:** adipose mesenchymal stem cells(ADSCs); serum-free medium; cell proliferation; cell differentiation; adipogenic differentiation; osteogenic differentiation; cartilage differentiation

间充质干细胞(Mesenchymal stem cells, MSCs)是来源于中胚层的一类多能干细胞, 具有强大的增殖能力和多向分化潜能<sup>[1]</sup>。MSCs可以分化为脂肪、骨和软骨<sup>[2]</sup>。目前MSCs主要来源于脐带血、骨髓、毛囊和脂肪组织<sup>[3]</sup>。由

于MSCs具有分化为多种细胞类型和分泌多种细胞因子的能力, 在自身免疫性疾病和抗炎治疗方面发挥重要作用<sup>[4-5]</sup>。脂肪源性间充质干细胞(Adipose-derived mesenchymal stromal cells, ADSCs)具有取材方便、体内储备量大、

基金项目: 国家重点研发计划(编号: 2018YFA0108601)

通信作者: 屈素清, 主任医师; 研究方向为儿童神经再生康复。E-mail: 18600310273@163.com

第一作者: 汪兆艳, 副主任技师; 研究方向为干细胞转化医学研究。E-mail: wangzhaoyan999@126.com

易于扩增、衰亡率低等优点而成为目前研究的热点<sup>[6-7]</sup>。有研究发现, ADSCs比骨髓来源的间充质(Bone marrow-derived MSCs, BM-MSCs)对缺氧、血清剥夺和氧化应激等细胞毒性因子表现出更高的耐受性<sup>[8]</sup>。然而, 临床治疗中往往需要多次大量输注MSCs, 因此, 确定ADSCs的最佳培养扩增条件至关重要。MSCs的常规培养方法是在基础培养基中添加胎牛血清(Fetal bovine serum, FBS)。然而, 胎牛血清的应用存在局限性和安全性问题<sup>[9]</sup>, 例如FBS中含有异种蛋白质会引起免疫反应, 潜在的病毒会通过细胞间接触染给患者<sup>[10-13]</sup>, 并且未明确的成分和批次间的差异会影响研究和治疗结果的准确性<sup>[14]</sup>。因此, 临床应用需要更安全并能保持MSCs特性的无异种动物源培养基替代传统的含FBS培养基。目前研究较多的是用人血清、血小板衍生物等代替FBS<sup>[15-16]</sup>。尽管这些成分避免了由于异种蛋白质输入体内引起的免疫反应, 但其化学成分仍然不够明确, 不利于MSCs的深入研究和大规模培养。目前一些市售无血清培养基价格昂贵而且没有公布培养基的具体成分, 原代和传代使用的培养基不同, 细胞培养过程中需要较高密度接种才能得到良好扩增, 不利于MSCs的临床转化。本研究摸索出化学成分明确的无血清培养基, 不但可以进行ADSCs的原代和传代培养, 而且即使低密度接种间充质干细胞仍能保持高效的扩增能力, 为进一步临床转化研究奠定了基础。

## 1 材料和方法

1.1 实验材料: 二氧化碳培养箱(SANYO, 日本); 倒置显微镜(Olympus, 日本); 六孔板(Corning公司, 美国); CD34、CD45、CD29、CD90、CD73、CD105、HLA-DR抗体(Abcam, 英国); Fc Block (BD, 美国);  $\alpha$ -MEM培养基、DMEM培养基、非必需氨基酸、氯化可的松、抗坏血酸、转铁蛋白、胰岛素、胎牛血清(Gibco公司, 美国); EGF、bFGF、BDNF均购自美国Peprotech公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 人ADSCs的培养: 本研究收集8例笔者医院整形外科吸脂手术获取的腹部皮下脂肪组织。等体积0.9%生理盐水清洗2次离心去除血水和油脂, 按照1:1比例加入浓度为0.1%的I型胶原酶充分混匀, 37℃摇床每分钟150转消化1.5 h, 800 g离心10 min, 弃掉上清, 将细胞沉淀重悬于DMEM/F12培养基中, 混匀后用40  $\mu$ m孔径的细胞筛网过滤去除细胞团块, 400 g离心5 min弃掉上清并混匀细胞沉淀,

加入4 ml红细胞裂解液室温放置4 min后离心, DMEM/F12培养基洗涤1次, 细胞沉淀按照表1的分组方式加入培养基重悬, 分别接种至T75细胞培养瓶静止培养3 d, 更换新鲜的培养基, 当细胞融合率达到80%~90%时, 0.25%胰酶消化细胞进行传代。

1.2.2 人ADSCs增殖能力检测: 培养至第3代的ADSCs消化成单细胞, 计数后分别重悬于各组培养基中, 调整细胞密度为 $1 \times 10^4$ 个/毫升, 接种至96孔板中, 每组设置3个复孔, 每天取出一板, 彻底吸弃原培养基, 每孔加入含10% CCK-8的新鲜培养基, 37℃, 5% CO<sub>2</sub>培养箱中孵育2 h, 酶标仪测定450 nm处的吸光值(OD)。以培养时间为横轴, 吸光度值为纵轴绘制细胞生长曲线。

1.2.3 人ADSCs成脂、成骨、成软骨诱导分化: 将培养至第3代的ADSCs消化成单细胞并计数, 成脂、成骨诱导。24孔板细胞接种密度为 $1 \times 10^4$ /cm<sup>2</sup>, 细胞贴壁24 h后更换为成脂、成骨诱导培养基。成软骨诱导: 将消化后的单细胞按照每管 $5 \times 10^6$ 密度接种至15 ml离心管中, 400 g离心5 min, 弃掉上清后每管加5 ml成软骨诱导培养基。诱导分化的细胞每隔3 d半量换液, 成脂诱导10 d、成骨诱导14 d、成软骨诱导21 d分别进行鉴定。成脂诱导培养基为: DMEM/F12基础培养基中添加100 ml/L 胎牛血清、100  $\mu$ mol/L吡哆美辛、500  $\mu$ mol/L 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(3-Isobutyl-1-methylxanthine, IBMX)、1  $\mu$ mol/L地塞米松、10  $\mu$ g/ml胰岛素; 成骨诱导培养基: DMEM/F12基础培养液添加100 ml/L胎牛血清、10 mmol/L  $\beta$ 甘油磷酸钠、50 mg/L抗坏血酸、0.1  $\mu$ mol/L地塞米松; 成软骨诱导培养基: DMEM/F12培养基中添加100 ml/L胎牛血清、50  $\mu$ g/ml抗坏血酸、 $10^{-7}$  mol/L地塞米松、6.25  $\mu$ g/ml转铁蛋白、1.25  $\mu$ g/ml牛血清白蛋白、1 mmol/L丙酮酸钠、5.35  $\mu$ g/ml亚油酸, 10 ng/ml TGF- $\beta$ 。

1.2.4 人ADSCs流式检测: 培养至第3代的ADSCs消化成单细胞, 400 g离心5 min弃掉上清, PBS重悬, 台盼兰染色细胞计数, 每个流式管 $5 \times 10^5$ 个细胞, 离心后彻底弃掉上清, 涡旋振荡器充分混匀细胞, 每管加5  $\mu$ l FcR Block, 室温封闭10 min, 按照每个抗体使用说明书分别加入CD34、CD45、CD29、CD73、CD90、CD105流式抗体, 4℃避光孵育30 min。每管加1 ml PBS缓冲液离心洗涤细胞, 0.2 ml PBS缓冲液重悬混匀细胞后上机检测。

1.3 统计学分析: 采用SPSS 17.0软件进行统计分析, 计量

表1 培养基分组

组别	材料
A组	DMEM+NEAA (1%) +EGF (10 ng/ml)、bFGF (10 ng/ml)、BDNF (2 ng/ml)、Hydrocortisone (10 ng/ml)、Vitamin C (5 $\mu$ g/ml)、Transferrin (10 $\mu$ g/ml)、Insulin (5 $\mu$ g/ml)
B组	$\alpha$ -MEM+NEAA (1%) +EGF (10 ng/ml)、bFGF (10 ng/ml)、BDNF (2 ng/ml)、Hydrocortisone (10 ng/ml)、Vitamin C (5 $\mu$ g/ml)、Transferrin (10 $\mu$ g/ml)、Insulin (5 $\mu$ g/ml)
C组	DMEM+10% fetal calf serum

数据采用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 不同培养基ADSCs形态: 采用无血清培养基培养的ADSCs形态为细长的纤维状或多角形, 细胞折光性强, 胞体有较为明显的立体感, 细胞与细胞之间界限清晰, 各组之间形态没有明显差别。而含胎牛血清的培养基培养的ADSCs胞体较宽大、扁平, 细胞没有立体感, 细胞之间界限不清。各组培养基连续传过程中未发现细胞形态发生改变。见图1。

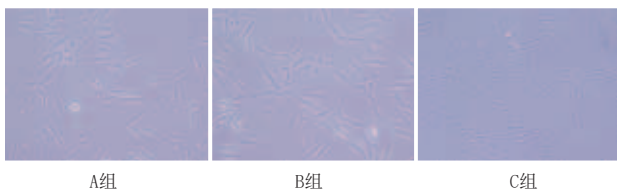


图1 不同培养基培养48 h ADSCs形态 (200×)

2.2 不同培养基ADSCs增殖情况: CCK-8检测结果显示, ADSCs培养第5天, 三组培养基ADSCs生长曲线大致呈“S”形, 细胞接种后24 h内生长较为缓慢, 随后进入快速增殖期, 培养至第4天细胞增殖缓慢进入平台期。从生长曲线可以看出, B组培养基细胞增殖速度明显高于A组和C组, 而A组培养基ADSCs增殖能力要优于C组。见图2。

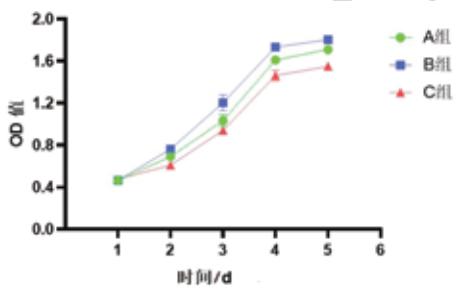


图2 不同培养基ADSCs增殖能力比较

2.3 不同培养基ADSCs分化能力: 取第3代ADSCs成脂诱导分化5 d, 细胞表面可见大小不等的脂滴, 继续诱导至第10天, 脂滴逐渐增多变大, 油红“O”染色可见大小不等的红色脂滴; 成骨诱导分化1周, 细胞表面出现颗粒样物质, 随着诱导时间的延长并逐渐增多, 成骨分化2周, 冯库萨染色观察细胞成骨钙结节形成情况, 各组均可见到黑色矿化结节覆盖在细胞表面, 见图3; 成软骨诱导分化3周, 培养管中可见较为致密的细胞团, 外观呈白色球状。冰冻切片后的软骨细胞经阿尔法兰染色, 细胞外基质呈蓝色, 表明细胞分泌较多的糖胺聚糖。各组培养基培养的ADSCs分化细胞染色后, 经Image J软件计算着色面积, 统计分析发现各培

养体系ADSCs分化能力没有明显差别。

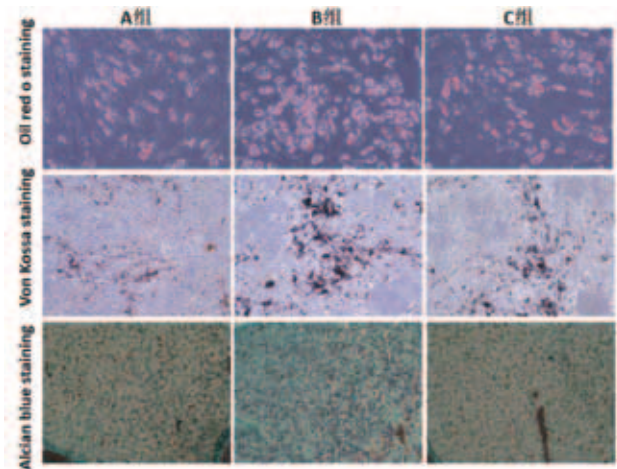


图3 不同培养基第3代ADSCs成脂、成骨、成软骨分化结果 (200×)

2.4 ADSCs表面标记物的表达: 三组培养基培养的第3代脂肪源性间充质干细胞进行表面标记物流式检测, 结果显示, 与含血清培养基培养的间充质干细胞比较, 两组无血清培养基培养的ADSCs高表达CD29、CD73、CD90、CD105, 阳性率均高于95%, 低表达CD34、CD45、HLR-DR, 阳性率低于1% (见图4), 各组之间差异无统计学意义。

## 3 讨论

间充质干细胞可以从人体的不同组织中获得, 因其具有自我更新、多向分化能力以及旁分泌效应<sup>[17]</sup>使其成为再生医学领域重要的细胞来源。由于骨髓来源MSCs可获取细胞数量有限, 随着年龄的增长, 骨髓MSC的数量和增殖能力出现明显的下降<sup>[18-19]</sup>, 使骨髓不再是MSCs的首选来源。目前, 人们正在关注其他来源的MSCs, 这些来源的MSCs具有易获得、侵入性操作少, 并且具有较高的增殖和分化潜能, 例如脂肪组织来源的MSCs<sup>[20]</sup>。

培养基中添加的血清成分, 无论是来源于动物还是人类, 都是异质性的, 并且存在未知病毒感染、免疫反应和批次间差异等潜在问题, 这会导致培养的细胞重复性较差, 从而引起细胞群体的异质性<sup>[21]</sup>, 影响临床治疗效果。有研究证明, 细胞培养过程中血清的使用增加移植后的免疫反应<sup>[22-23]</sup>, 因此无血清培养体系可能会减少移植后免疫抑制剂的使用。Lee JY等<sup>[24]</sup>在研究过程中发现, 培养细胞的基因和蛋白质表达可能因所用培养基而不同, 含FBS的培养基培养的MSCs更容易衰老。Nagasaki K等<sup>[25]</sup>研究结果表明, 与含10%胎牛血清培养基比较, 无血清培养条件下的MSCs可通过抑制炎症反应增强抗纤维化能力。目前市面已有供应商提供的专门用于MSCs培养无血清培养基, 这些培养基经过生产商的严格测试, 符合GMP生产要求。但是, 商品化培养基并没有公布其具体成分和使用浓度, 不能对特定的细胞源或预期应用进行调整和优化, 而化学成分限

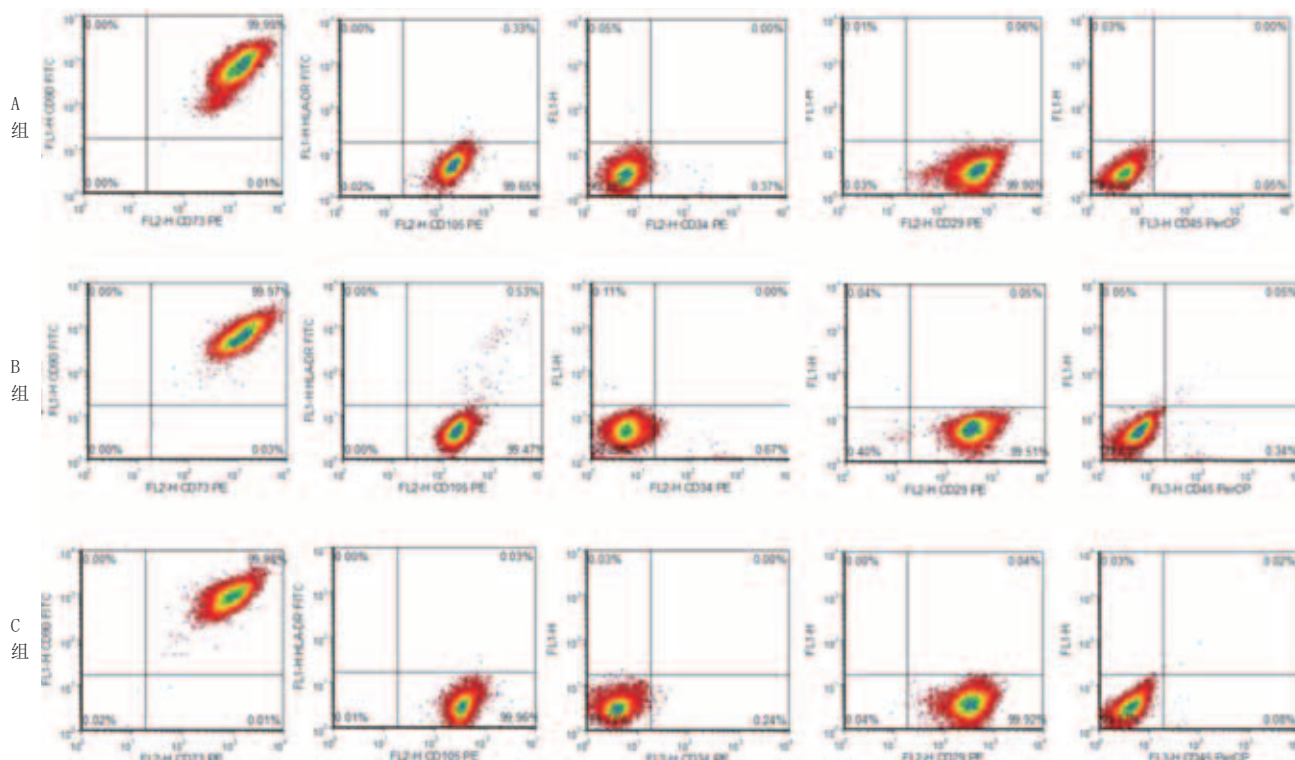


图4 流式细胞仪检测第3代ADSCs表面标记物的表达

定的无血清培养基，因其含有精确浓度的细胞生长因子和其它营养成分，更有利于MSCs的临床转化和研究。

MSCs培养所用基础培养基主要为DMEM和 $\alpha$ -MEM。有研究通过对比不同的基础培养基，结果显示 $\alpha$ -MEM和低糖DMEM作为基础培养基时，能够显著提升脂肪源性间充质干细胞的扩增能力，并且在后续传代过程中，细胞形态和活力保持稳定不变<sup>[26]</sup>。本研究发现，生长因子和其他添加组分不变， $\alpha$ -MEM作为基础培养基比低糖DMEM更有利于ADSCs的扩增。

笔者团队在无血清培养基前期研究过程中发现，培养基中添加bFGF和EGF可促进人ADSCs的增殖，这与文献报道结果一致<sup>[27]</sup>。在此基础上尝试分别添加LIF、BDNF、NGF等细胞因子，结果发现EGF、bFGF和BDNF细胞因子组合促进细胞增殖效果最好（未在文中展示），推测可能是此三种因子对细胞增殖产生了协同刺激作用，这与其他研究报道的因子组合并不相同<sup>[28]</sup>，由此推测影响细胞增殖、活率、分化能力等生物学特性的因素可能是生长因子与其他添加成分，如胰岛素、转铁蛋白等协同作用的结果。无血清培养基中胰岛素的作用是帮助细胞利用葡萄糖和氨基酸，转铁蛋白是铁转运蛋白，因为游离铁对细胞有毒性作用<sup>[29]</sup>。

本研究对比了两种无血清培养基与含胎牛血清培养基对MSCs增殖、分化及免疫表型的影响，结果表明，两组无血清培养基与含胎牛血清的培养基比较，ADSCs特异性标记物CD29、CD73、CD90、CD105没有显著差异，两组无血清培养基均显示比含胎牛血清组培养基具有更高的扩增能力；两组无血清培养基比较， $\alpha$ -MEM作为基础培养基时细胞增殖能

力更强。影响培养基生物学特性的因素除了基础培养基、细胞因子和蛋白外，培养基的渗透压，pH值、光照条件等物理性质的改变对细胞的影响同样非常重要<sup>[30-31]</sup>。对比不同培养体系对细胞生物学特性的影响，除了检测细胞增殖、表面标志物以及定向分化等基本特性外，还应该考虑细胞在基因、蛋白表达方面的差异以及对疾病的治疗效果，鉴于此，在后续研究过程中笔者团队会进一步对无血清培养基获得的MSCs生物学特性包括基因、蛋白质组学等方面进行更为全面的检测与验证，同时与市售商品化培养基比较对疾病的治疗效果，为干细胞临床转化提供高品质的MSCs产品。

#### [参考文献]

- [1]Naji A, Eitoku M, Favier B, et al. Biological functions of mesenchymal stem cells and clinical implications[J]. Cell Mol Life Sci, 2019,76(17):3323-3348.
- [2]Pharoun J, Berro J, Sobh J, et al. Mesenchymal stem cells biological and biotechnological advances: Implications for clinical applications[J]. Eur J Pharmacol, 2024,977:176719.
- [3]Ma S, Xie N, Li W, et al. Immunobiology of mesenchymal stem cells[J]. Cell Death Differ, 2014,21(2):216-225.
- [4]Zaripova L N, Midgley A, Christmas S E, et al. Mesenchymal stem cells in the pathogenesis and therapy of autoimmune and autoinflammatory diseases[J]. Int J Mol Sci, 2023,24(22):16040.
- [5]Huang Y, Wu Q, Tam P K H. Immunomodulatory mechanisms of

- mesenchymal stem cells and their potential clinical applications[J]. *Int J Mol Sci*, 2022,23(17):10023.
- [6]Tobita M, Orbay H, Mizuno H. Adipose-derived stem cells: current findings and future perspectives[J]. *Discov Med*, 2011,11(57):160-170.
- [7]Si Z, Wang X, Sun C, et al. Adipose-derived stem cells: Sources, potency, and implications for regenerative therapies[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019,114:108765.
- [8]Takahashi A, Nakajima H, Uchida K, et al. Comparison of mesenchymal stromal cells isolated from murine adipose tissue and bone marrow in the treatment of spinal cord injury[J]. *Cell Transplant*, 2018,27(7):1126-1139.
- [9]Halme D G, Kessler D A. FDA regulation of stem-cell-based therapies[J]. *N Engl J Med*, 2006,355(16):1730-1735.
- [10]Fitzgerald J C, Shaw G, Murphy J M, et al. Media matters: culture medium-dependent hypervariable phenotype of mesenchymal stromal cells[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2023,14(1):363.
- [11]Wu X, Ma Z, Yang Y, et al. Umbilical cord mesenchymal stromal cells in serum-free defined medium display an improved safety profile[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2023,14(1):360.
- [12]Korntner S H, Di Nubila A, Gaspar D, et al. Macromolecular crowding in animal component-free, xeno-free and foetal bovine serum media for human bone marrow mesenchymal stromal cell expansion and differentiation[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2023,11:1136827.
- [13]Urzi O, Olofsson Bagge R, Crescitelli R. The dark side of foetal bovine serum in extracellular vesicle studies[J]. *J Extracell Vesicles*, 2022,11(10):e12271.
- [14]Shih D T, Burnouf T. Preparation, quality criteria, and properties of human blood platelet lysate supplements for ex vivo stem cell expansion[J]. *N Biotechnol*, 2015,32(1):199-211.
- [15]Jonsdottir-Buch S M, Lieder R, Sigurjonsson O E. Platelet lysates produced from expired platelet concentrates support growth and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells[J]. *PLoS One*, 2013,8(7):e68984.
- [16]Burnouf T, Strunk D, Koh M B, et al. Human platelet lysate: Replacing fetal bovine serum as a gold standard for human cell propagation?[J]. *Biomaterials*, 2016,76:371-387.
- [17]郑舒丹, 吴金燕, 张利平, 等. 间充质干细胞源性外泌体在皮肤创伤修复和再生中的研究进展[J]. *中国美容医学*, 2023,32(4):189-193.
- [18]Chen Y, Xu X, Tan Z, et al. Age-related BMAL1 change affects mouse bone marrow stromal cell proliferation and osteo-differentiation potential[J]. *Arch Med Sci*, 2012,8(1):30-38.
- [19]Kretlow J D, Jin Y Q, Liu W, et al. Donor age and cell passage affects differentiation potential of murine bone marrow-derived stem cells[J]. *BMC Cell Biol*, 2008,9:60.
- [20]Bunnell B A. Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells[J]. *Cells*, 2021,10(12):3433.
- [21]Gottipamula S, Ashwin K M, Muttigi M S, et al. Isolation, expansion and characterization of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in serum-free conditions[J]. *Cell Tissue Res*, 2014,356(1):123-135.
- [22]Kadri N, Potiron N, Ouary M, et al. Fetal calf serum-primed dendritic cells induce a strong anti-fetal calf serum immune response and diabetes protection in the non-obese diabetic mouse[J]. *Immunol Lett*, 2007,108(2):129-136.
- [23]Haase C, Ejrnaes M, Juedes A E, et al. Immunomodulatory dendritic cells require autologous serum to circumvent nonspecific immunosuppressive activity in vivo[J]. *Blood*, 2005,106(13):4225-4233.
- [24]Lee J Y, Kang M H, Jang J E, et al. Comparative analysis of mesenchymal stem cells cultivated in serum free media[J]. *Sci Rep*, 2022,12(1):8620.
- [25]Nagasaki K, Nakashima A, Tamura R, et al. Mesenchymal stem cells cultured in serum-free medium ameliorate experimental peritoneal fibrosis[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021;12(1):203.
- [26]Dhanasekaran M, Indumathi S, Rashmi M, et al. Unravelling the retention of proliferation and differentiation potency in extensive culture of human subcutaneous fat-derived mesenchymal stem cells in different media[J]. *Cell Prolif*, 2012,45(6):516-526.
- [27]Mimura S, Kimura N, Hirata M, et al. Growth factor-defined culture medium for human mesenchymal stem cells[J]. *Int J Dev Biol*, 2011,55(2):181-187.
- [28]Rodrigues M, Griffith L G, Wells A. Growth factor regulation of proliferation and survival of multipotential stromal cells[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2010,1(4):32.
- [29]Nikolits I, Nebel S, Egger D, et al. Towards physiologic culture approaches to improve standard cultivation of mesenchymal stem cells[J]. *Cells*, 2021,10(4):886.
- [30]Fekrazad R, Asefi S, Allahdadi M, et al. Effect of Photobiomodulation on Mesenchymal Stem Cells[J]. *Photomed Laser Surg*, 2016,34(11):533-542.
- [31]Fan Y L, Zhao H C, Feng X Q. Hypertonic pressure affects the pluripotency and self-renewal of mouse embryonic stem cells[J]. *Stem Cell Res*, 2021,56:102537.

[收稿日期]2024-06-21

本文引用格式：汪兆艳, 王倩, 栾佐, 等. 化学成分明确的脂肪源性间充质干细胞无血清培养方法的实验研究[J]. *中国美容医学*, 2025,34(12):6-10.