

•基础研究•

•论著•

叶黄素对大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化的影响分析

郭莎¹, 麦麦提艾力·麦麦提敏², 姚志涛^{1,3}

[1.新疆医科大学第一附属医院(附属口腔医院)口腔颌面创伤正颌外科 新疆 乌鲁木齐 830054; 2.新疆医科大学第一附属医院(附属口腔医院)口腔修复种植科 新疆 乌鲁木齐 830054; 3.新疆维吾尔自治区口腔医学研究所 新疆 乌鲁木齐 830054]

[摘要]目的: 研究叶黄素对大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化的作用。方法: 挑选5周龄SPF级健康雌性SD大鼠, 在体外分离培养大鼠骨髓间充质干细胞传至第三代后进行细胞流式鉴定; 细胞增殖实验观察不同浓度叶黄素(1.25、2.5、5 $\mu\text{mol/L}$)对大鼠骨髓间充质干细胞增殖的影响, 以确定叶黄素的最终使用浓度。后续实验分三组: 对照组(α -MEM培养基)、成骨培养基组和结合组(成骨培养基+叶黄素)。成骨诱导分化第7、21天时, 分别用碱性磷酸酶及茜素红染色法研究成骨细胞矿化过程中不同时间点矿化结节生成; 成骨诱导第5天, 蛋白免疫印迹法观察骨髓间充质干细胞成骨分化相关基因核心结合蛋白因子2(Runt-related transcription factor 2, Runx2)骨形态发生蛋白2(Bone morphogenetic protein, BMP2)、骨桥蛋白(Osteopontin, OPN)和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)蛋白表达水平。结果: 第3代细胞表面抗原中CD29、CD90的阳性表达率为97.7%、74.8%, CD34、CD45阴性表达率为0.03%、1.61%; CCK-8细胞增殖实验发现, 随着叶黄素浓度的增加至5 $\mu\text{mol/L}$, 骨髓间充质干细胞的活力受到抑制, 从而影响其正常的生物学功能。由此确定叶黄素最终使用浓度为2.5 $\mu\text{mol/L}$; 碱性磷酸酶染色及茜素红染色结果显示, 叶黄素能抑制细胞碱性磷酸酶的表达, 降低骨矿化能力; Western blot结果显示, 叶黄素可使RUNX2、BMP2、OPN蛋白表达量下降。结论: 叶黄素对大鼠BMSCs成骨分化有明显的抑制作用。

[关键词]叶黄素; 骨髓间充质干细胞; 成骨分化; 创伤性颞下颌关节强直; 碱性磷酸酶

[中图分类号]TQ461 **[文献标志码]**A **[文章编号]**1008-6455(2025)01-0001-05

Effect of Lutein on Osteogenic Differentiation of Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells

GUO Sha¹, Maimaitiaili · MAIMAITIMIN², YAO Zhitao^{1,3}

(1. Orthognathic Surgery of Oral-maxillofacial Trauma, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang, China; 2. Department of Prosthodontics and Implant, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang, China; 3. Xinjiang Institute of Stomatology, Urumqi 830054, Xinjiang, China)

Abstract: **Objective** To study the effect of lutein on osteogenic differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells. **Methods** 5-week-old SPF-grade healthy female SD rats were isolated and cultured in vitro, and then the mesenchymal stem cells were transferred to the third generation for cell flow identification. The effects of different concentrations of lutein (1.25, 2.5, 5 $\mu\text{mol/L}$) on the proliferation of rat bone marrow mesenchymal stem cells were observed in cell proliferation experiment to determine the final concentration of lutein. The follow-up experiments were divided into 3 groups: control group (α -MEM medium), osteogenic medium group, and combination group (osteogenic medium + lutein). On the 7th and 21st day of osteogenic differentiation, alkaline phosphatase and alizarin red staining were used to study the formation of mineralized nodules at different time points during the mineralization of osteoblasts. On the 5th day of osteogenic induction, runt-related transcription factor 2 of bone marrow mesenchymal stem cells was observed by western blotting. Runx2) bone morphogenetic protein 2 (BMP2), osteopontin (OPN), and glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (glyceraldehyde 3-phosphate) dehydrogenase (GAPDH) protein expression levels. **Results** The third generation cell surface antigen, the positive expression rates of CD29 and CD90 were 97.7% and 74.8%, and the negative expression rates of CD34 and CD45 were 0.03% and 1.61%. CCK-8 cell proliferation experiment showed that with the increase of lutein concentration to 5 $\mu\text{mol/L}$, the activity of

基金项目: 新疆维吾尔自治区天山创新团队项目(名称: 颞颌关节髁状骨折形成强直的综合防治研究创新团队; 编号: 2023D14007)

通信作者: 姚志涛, 主任医师; 研究方向为口腔颌面外科学。E-mail: yaozhitaodoctor@163.com

第一作者: 郭莎, 在读研究生; 研究方向为口腔颌面外科学。E-mail: 2603561438@qq.com

bone marrow mesenchymal stem cells was inhibited, thus affecting their normal biological function. The final concentration of lutein was determined to be 2.5 $\mu\text{mol/L}$. The results of alkaline phosphatase staining and alizarin red staining showed that lutein could inhibit the expression of alkaline phosphatase and reduce the mineralization ability of bone. Western blot results showed that lutein decreased the expression levels of RUNX2, BMP2 and OPN proteins. **Conclusion** Lutein can significantly inhibit osteogenic differentiation of BMSCs in rats.

key words: lutein; bone marrow mesenchymal stem cells; osteogenic differentiation; traumatic temporomandibular joint ankylosis; alkaline phosphatase

颞下颌关节强直 (Ankylosis of temporomandibular joint, TMJA) 是指各种原因引起的一侧或双侧关节内发生病变, 造成关节内纤维性或骨性粘连, 导致患者张口受限、咀嚼困难, 创伤是其主要病因^[1-2]。目前, 创伤性TMJA的发生机制阐述仍未统一。近年来, 随着组织工程学理论和技术的不断进步, 以骨髓间充质干细胞 (Bone mesenchymal stem cells, BMSCs) 为种子细胞的组织工程技术为骨损伤修复带来了新的希望。

来源于中胚层的骨髓间充质干细胞 (BMSCs), 能够进行自我更新, 从而可实现多种不同的发育方式。因其易于在体外扩增、易于外源基因导入, 现已成为骨组织修复领域重要的种子细胞^[4]。对于TMJA, 关节损伤后局部微环境改变, 出现局部成骨因子表达增强的“异常骨愈合”现象, 其局部微环境发生改变, 可能促使TMJ间充质干细胞定向迁移至骨断端之间并主要向成骨方向分化, 破坏了关节区正常骨组织损伤后改建修复的稳态平衡^[2]。因此, 改善BMSCs成骨分化能力是防治颞下颌关节强直的关键。

叶黄素是一种含氧类胡萝卜素, 分子式为 $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_2$, 分子量是568.85^[6]。天然来源的叶黄素 (Lutein), 人工合成困难, 只能通过天然植物来提取, 故又有“植物黄体素”之称^[7]。药用叶黄素不溶于水, 易溶于油脂和脂溶性溶剂, 储存在 $2^{\circ}\text{C}\sim 8^{\circ}\text{C}$, 避光防潮密闭干燥。叶黄素的生理功能主要体现在以下几个方面: 延缓动脉粥样硬化^[8]; 通过抑制活性氧自由基来抗氧化, 增强人体免疫力^[9]; 保护视力及预防白内障^[10]。近年来的研究还发现其拥有一定的抗肿瘤^[11-12]及调控破骨细胞代谢^[10], 但目前叶黄素对骨髓间充质干细胞的成骨分化影响尚未见报道。本实验旨在探究叶黄素对大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化的影响。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物: Sprague Dawley (SD) 大鼠 (5周龄) 购自新疆医科大学第一附属医院医学实验动物中心。所有动物实验均按照国家卫生研究院 (NIH) 实验室动物护理原则指南 (NIP出版物85-23, 1996年修订) 进行, 由新疆医科大学第一附属医院实验动物及应用监督委员会审定, 伦理审批号为IACUC-20220442-18。

1.1.2 实验试剂及仪器: 叶黄素 (北京索莱宝); 大鼠

骨髓间充质干细胞成骨诱导分化试剂盒 (Oricell); α -MEM培养基、澳洲胎牛血清 (Gibco); 1%青链霉素、0.25%trypsin-0.02%EDTA消化液、PBS (Hyclone); 流式细胞仪、CD34、45、29、90抗体 (BD); 碱性磷酸酶改良钙钴法染液 (北京索莱宝); 茜素红染色液 (北京索莱宝); CCK-8试剂盒 (北京博奥森); PAGE凝胶快速制备试剂 (Biotides); CO_2 恒温培养箱、酶标仪 (Thermo), 倒置显微镜 (Zeiss公司)。OPN、GAPDH、BMP2、羊抗鼠IgG、羊抗兔IgG抗体 (Proteintech); RUNX2 (Abcam)。

1.2 实验方法

1.2.1 大鼠骨髓间充质干细胞的提取和培养: 将5周龄大鼠颈部脱臼处死, 置于75%医用酒精中浸泡60 s, 将大鼠股骨从周围软组织中取出, 置于6 cm的培养皿中, 用基础培养基清洗。转移至无菌超净台, 将骨髓切成小块, 用含有20%胎牛血清 (胎牛血清; Thermo)、1%青霉素、硫酸链霉素的 α -MEM进行培养。去除非贴壁细胞, 培养贴壁的骨髓间充质干细胞并扩增以供进一步实验。当细胞培养融合度超过95%时, 对粘附的骨髓间充质干细胞进行传代。使用1~3代骨髓间充质干细胞进行研究实验。

1.2.2 流式鉴定: 将第3代细胞接种于培养瓶, 在 37°C , 5% CO_2 培养箱内进行培养, 当细胞生长至90%左右时, 0.25%胰蛋白酶消化细胞, 离心 (1 500 rpm, 3 min); 弃上清液, 在含有2%胎牛血清的PBS的离心管中重悬 1×10^7 细胞, 与CD29 (PE, $1\mu\text{l}$), CD34 ($1\mu\text{l}$), CD45 (Alexa 647, $1\mu\text{l}$) 和CD90 (PE, $1\mu\text{l}$) 常温避光孵育30 min。孵育结束后用PBS清洗, 继续300 μl 含有2%胎牛血清的PBS重悬细胞; 200目筛网过滤。将上清液转移到另一个离心管中进行流式细胞仪检测。根据FlowJo7.7对实验结果进行分析。

1.2.3 细胞增殖实验: 以每孔 2×10^3 为密度的第3代BMSCs接种入96孔板, 并在培养基中加入不同浓度 (1.25、2.5、5 $\mu\text{mol/L}$) 的叶黄素, 以检测其对细胞增殖活性的影响。实验中采用CCK-8试剂盒来测定叶黄素对BMSCs细胞增殖的抑制作用。同时取出孔板将原液小心吸出, 用PBS洗涤2次。将10% CCK-8工作溶液加入96孔板中的每一个含100 μl 培养基的小孔中, 培养箱避光孵育2 h, 动态观察工作液颜色变化。孵育结束后, 将已完全反应的工作液转移到新的96板中, 利用全波长酶标仪, 于450 nm处测定吸光度值。所有实验均重复进行三次。

1.2.4 实验分组及成骨诱导

1.2.4.1 实验分组：①对照组（ α -MEM）将第3代细胞接种于含 α -MEM基础培养基的T25培养瓶中；②成骨组将第3代细胞接种于含成骨细胞培养基的T25培养瓶中；③联合组将第3 d细胞接种于含成骨细胞培养基与浓度为2.5 mol/L的叶黄素T25培养瓶中，均置于37℃，5% CO₂培养箱内进行培养。

1.2.4.2 成骨诱导：将第3代BMSCs按 2×10^4 /孔接种于24孔平板上，每孔 5×10^5 接种于6孔板， 1×10^6 /皿接种于6 cm皿。每隔3 d更换一次新鲜专用成骨诱导培养基。

1.2.5 碱性磷酸酶染色：在成骨诱导培养第7天，从培养箱中取出6孔板置于超净工作台，去除孔内原有培养基后用PBS洗3次。每个孔添加40 g/L的多聚甲醛溶液固定，30 min后，将固定液丢弃，使用PBS清洗3次。根据试剂盒说明书，在每一个小孔中加入相应数量的染液，室温孵育30 min，完成后用吸液枪将小孔中的染液吸净，再用PBS冲洗3次，最后一遍保留孔内PBS并在倒置荧光显微镜下拍摄照片。

1.2.6 茜素红染色：茜素红染色在2.5 μ mol/L叶黄素浓度处理BMSCs后的第21天进行茜素红染色测定，评估成骨细胞的骨质矿化情况。将6孔板从培养箱中取出，用吸液枪将原液吸取干净后用PBS冲洗3遍；在每个孔中添加40 g/L的多聚甲醛溶液，固定15 min后弃固定液，PBS清洗3次。PBS清洗可以去除固定液中的有机成分，防止有机成分污染样品，从而使样品的分析结果更加准确可靠。清洗结束后，将500 μ l茜素红染色工作液小心加入每孔内，室温避光孵育30 min；孵育结束后弃染液加PBS洗3次，最后一遍保留孔内PBS并在倒置荧光显微镜下拍摄照片。

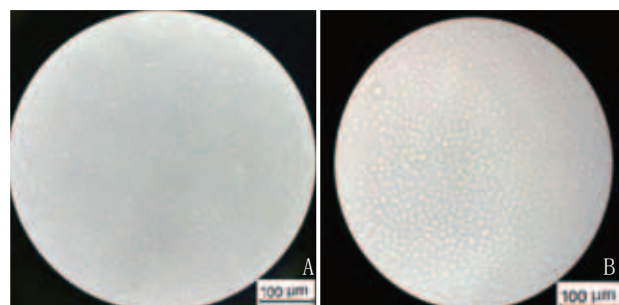
1.2.7 Western Blot印迹法检测：将 1×10^6 个细胞接种于6 cm皿中进行成骨诱导并用2.5 μ mol/L叶黄素处理后置于培养箱中培养5 d。随后收集细胞，加入RIPA裂解液进行细胞裂解并在冰上静置15 min后提取蛋白质。使用BCA蛋白检测试剂盒（赛默费世尔科学公司）定量蛋白质浓度。用10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶胶完成后，每孔加入等量蛋白质进行电泳，然后转移到聚偏氟乙烯（PVDF）膜（Merch公司），用5%脱脂奶粉常温下阻断2 h；清洗，采用一抗RUNX2、BMP2、OPN、GAPDH在4℃冰箱中孵育过夜，二抗孵育1 h，冲洗曝光。

1.3 统计学分析：所有的实验都至少进行了3次。实验数据的处理采用SPSS 26.0软件。计量数据用均值 \pm 标准差表示，用单因素方差分析多组间的差异，用最小显著性差异进行成对比较，以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

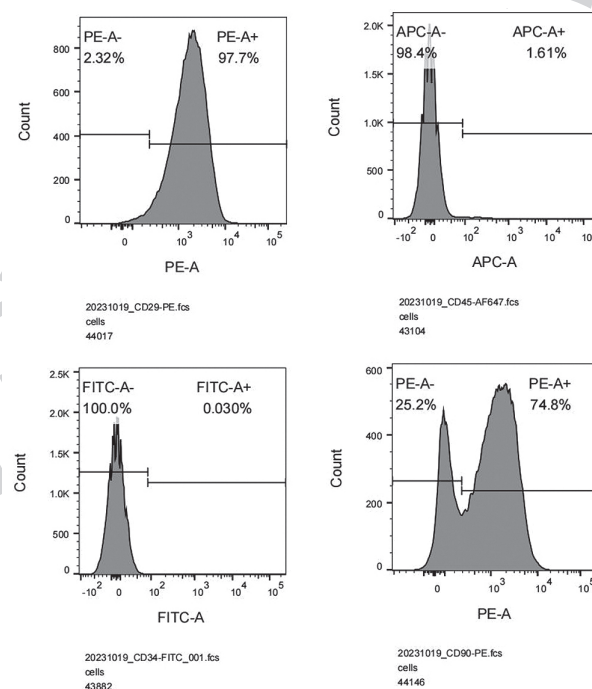
2.1 骨髓间充质干细胞形态及鉴定：分离提取得到的原代BMSCs正常培养状态下，原代培养首次换液后，可见细胞呈圆形均匀铺满瓶底，培养72 h后的大鼠BMSCs细胞伸出伪

足，多数细胞为梭形，有少量细胞呈多角形集落生长，并相互融合成单细胞层（见图1）。第3代细胞表面抗原中CD29、CD90的阳性表达率为97.7%、74.8%，CD34、CD45阴性表达率为0.03%、1.61%（见图2）。该流式鉴定结果表明所提取的细胞是大鼠骨髓间充质干细胞。



注：A. 原代（P0）可见不完整的杂抱团；B. 第3代（P3）的杂细胞数较少，其形状一致，为梭形，生长密集，螺旋状排布

图1 大鼠P0、P3 骨髓间充质干细胞形态（20 \times ）

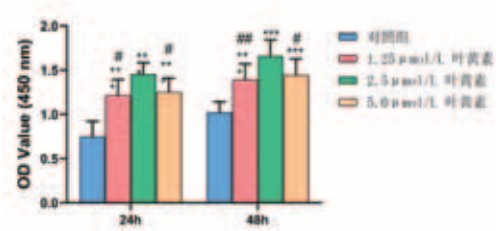


注：大鼠骨髓间充质干细胞表面标志分子CD29、CD45、CD34、CD90的表达

图2 流式细胞技术检测骨髓间充质干细胞表面抗原表达

2.2 叶黄素对BMSCs增殖活性的影响：研究叶黄素对BMSCs增殖活性的影响，设定不同浓度的叶黄素（1.25、2.5、5 μ mol/L）干预BMSCs，采用CCK-8法测定24 h和48 h BMSCs的增殖情况，从而选定应用叶黄素的浓度。结果表明，与对照组相比，不同浓度叶黄素对BMSCs的增殖有明显的促进作用。当叶黄素浓度大于2.5 μ mol/L时，随着叶黄素浓度的升高，细胞的生长速度逐渐减慢。当叶黄素浓度为2.5 μ mol/L时BMSCs的增殖活性最高。由此，选择叶黄素浓

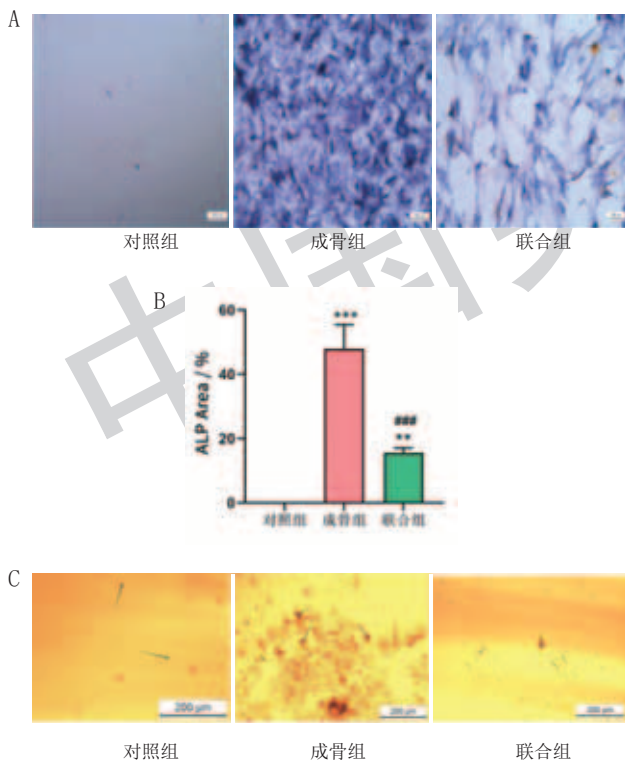
度 $2.5 \mu\text{mol/L}$ 进行下一步实验。见图3。



注：与对照组比较，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$ ；与 $2.5 \mu\text{mol/L}$ 叶黄素组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$

图3 不同浓度叶黄素组及对照组BMSCs细胞增殖实验结果比较

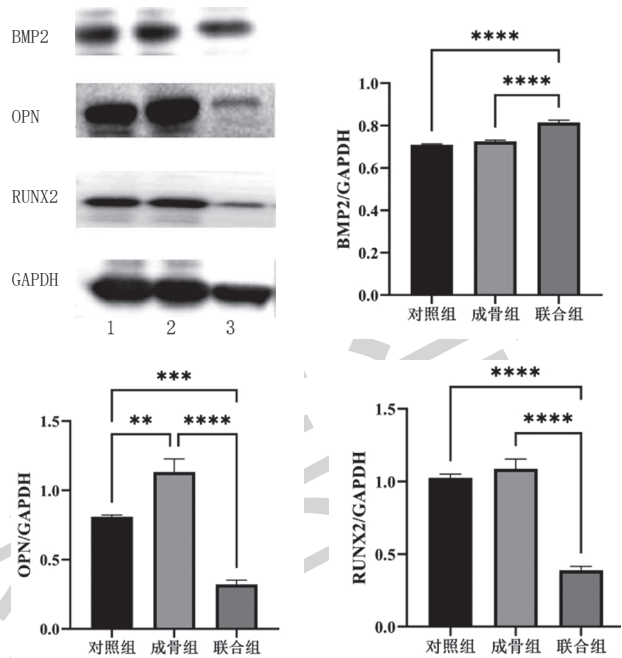
2.3 叶黄素对BMSCs成骨分化的作用：从CCK-8试验的结果看，选 $2.5 \mu\text{mol/L}$ 叶黄素对骨髓间充质干细胞进行诱导成骨分化。结果显示。成骨诱导第7天，通过碱性磷酸酶染色及碱性磷酸酶染色阳性区域的定量分析，与成骨组相比，联合组骨髓间充质干细胞中的碱性磷酸酶表达及活性降低，差异具有统计学意义（ $P < 0.001$ ），见图4A~B。成骨诱导第21天，通过茜素红染色结果显示，成骨组茜素红特异性红染的钙化结节较多，染色最深，红染斑块面积最大，钙化结节形成能力较强，见图4C。



注：A. 成骨诱导第7天时碱性磷酸酶染色的镜下图像（ $10\times$ ）；B. 碱性磷酸酶染色阳性区域定量分析，与对照组比较，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$ ；与成骨组比较，*** $P < 0.001$ ；C. 成骨诱导第21天时茜素红染色的镜下图像（ $10\times$ ），黑色箭头表示矿化结节

图4 叶黄素对骨髓间充质干细胞成骨诱导的镜下图像

2.4 叶黄素对骨髓间充质干细胞成骨诱导后成骨相关蛋白表达的影响：成骨诱导5 d后，用免疫印迹法检测成骨相关基因BMP2、OPN、RUNX2的蛋白表达量。根据WB实验的条带结果显示，对照组与成骨组中BMP2、RUNX2的蛋白表达量比较差异均无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。联合组与成骨组相比，联合组BMP2、OPN、RUNX2的蛋白表达量均低于成骨组，差异有统计意义（ $P < 0.001$ ），见图5。以上结果证实，叶黄素可以通过某通路抑制骨髓间充质干细胞的成骨分化。



注：1~3分别是对照组、成骨组、联合组。** $P < 0.05$ ；*** $P < 0.001$

图5 各组处理后BMP2、OPN、RUNX2的表达

3 讨论

创伤性颞下颌关节（TMJ）强直（TMJA）是指创伤性诱导的髁突和TMJ窝之间的纤维或骨融合，骨损伤必然伴随骨量缺失。一般情况下，正常骨组织具备强大的自我修复能力，可通过自体分泌骨生长因子与其他细胞因子、激素的协同作用下形成新骨，同时刺激破骨细胞，使新骨不断塑形改建，从而使受损骨组织的结构和功能都得到恢复。而TMJA则是骨组织过度修复的表现^[13]。这种情况可能导致慢性、持续性和进行性无法张开颌骨、面部畸形和阻塞性睡眠呼吸暂停-低通气综合征^[14-15]。目前，间隙关节置换术截骨是缓解融合TMJ、缓解TMJA临床症状的唯一有效治疗方法。然而，由于该区域的神经、血管和颅底非常接近，这种手术具有挑战性，技术要求很高^[16]。但TMJA的确切分子机制尚不完全清楚。骨髓间充质干细胞在骨形成和骨折愈合中至关重要^[17]。在修复过程中，这些细胞通过细胞因子和趋化因子，如骨形态发生蛋白（BMP2），从邻近的骨、骨髓或其他组织被招募到损伤部位形成骨性强直^[18-19]。Imai Y等^[19]和Hofmann A等^[21]发现参与肥厚性骨折不愈合的组织

中含有可分化为成骨细胞的间充质干细胞,这进一步表明这些组织可能是骨形成的有效间充质干细胞。在建立TMJA动物模型时,Porto GG等^[22]报道,与应用骨移植相比,应用BMSCs在TMJ损伤区域诱导了更多的骨形成和更严重的强直症状。目前,针对TMJA的防治方法包括切开复位内固定术、复位关节盘、开口殆垫的使用及药物干预。而在既往的研究中主要药物为地塞米松,地塞米松属于激素类药物,长期服用可引起许多不良反应,如免疫系统下降、糖尿病、骨质疏松等。

叶黄素是一种含氧类胡萝卜素,存在于各种瓜果蔬菜中,在万寿菊中含量非常丰富^[5]。近年来的研究还发现其拥有一定的抗肿瘤^[11-12]及调控破骨细胞代谢作用^[10]。但目前叶黄素对骨髓间充质干细胞的成骨分化影响国内外均未见报道。因此,利用叶黄素改善BMSCs向成骨分化的水平,对于有效预防TMJA的发生有重要的意义。

在本研究中,BMSCs在成骨诱导培养基中分别分化为成骨细胞且第三代细胞表达间充质表面标记物CD29、CD90,而细胞标志物CD34、CD45很少。这些结果表明,所提取的细胞均为骨髓间充质干细胞。BMSCs的成骨过程受到药物、激素、细胞因子等多种因素的影响,因此相关因子来调控BMSCs的成骨分化可以为临床上有效预防TMJA提供新策略。碱性磷酸酶是成骨细胞功能性酶,细胞碱性磷酸酶的活性和矿化结节形成是成骨细胞早期和中期成骨细胞分化的标志,也是BMSCs成骨分化的重要指征^[23]。通过碱性磷酸酶染色来检测骨髓间充质干细胞的成骨活性,从而确定其成骨能力。茜素红染色法测定成骨组织中钙质结节的数量。两种染色方法提示,叶黄素可影响BMSCs成骨向分化,可减少ALP的表达,并抑制其骨矿化,因此可推测叶黄素对BMSCs成骨分化具有一定的抑制作用。此外,RUNX2在调节成骨细胞分化中起关键作用^[24],RUNX-2、OPN、BMP2是调控成骨分化的重要因子,是成骨细胞分化的生物标志物。既往研究表明应用BMSCs在TMJ损伤区域诱导了更多的骨形成和更严重的强直症状^[22]且叶黄素具有调控骨质代谢作用^[10],在本实验中发现成骨培养第5天后,RUNX-2、OPN、BMP2的蛋白表达明显减少,进一步提示叶黄素影响了间充质干细胞的成骨分化,因此可推测叶黄素可能是防治颞下颌关节强直的有效试剂。

但是本研究也有一些局限性。首先,仅使用骨髓间充质干细胞作为体外成骨细胞分化后叶黄素的作用靶点,具体机制尚未明确,且缺乏破骨细胞和成软骨细胞的分化。第二,需要进行后续动物实验进一步了解叶黄素在预防颞下颌关节强直中起到的不同作用,并找到影响关节强直形成的分子机制,以期更好地指导临床治疗,这对于有效预防TMJA的发生有重要的意义。

[参考文献]

[1]Bello S A, Aluko Olokun B, Olaitan A A, et al. Aetiology and

presentation of ankylosis of the temporomandibular joint:report of 23 cases from Abuja,Nigeria[J]. Br J Oral Maxillofac Surg, 2012,50(1):80-84.

[2]Zhao Y P, Zhang Z Y, Wu Y T, et al. Investigation of the clinical and radiographic features of osteoarthritis of the temporomandibular joints in adolescents and young adults[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2011,111(2):e27-e34.

[3]Casado -Diaz A, Santiago -Mora R, Jiménez R, et al. Cryopreserved human bone marrow mononuclear cells as a source of mesenchymal stromal cells: application in osteoporosis research[J]. Cytotherapy, 2008,10(5):460-468.

[4]Friedenstein A J, Petrakova K V, Kurolesova A I, et al. Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues[J]. Transplantation, 1968,6(2):230-247.

[5]宋幼良,吴殿星,钱国壬,等. 叶黄素研究进展[J].农业科技通讯, 2013,11:138-140,198.

[6]杨文文,邱静,高贵,等.HPLC法测定加工食品中叶黄素的含量[J].安徽农业科学,2013,24:10108-10109,10214.

[7]Johra F T, Bepari A K, Bristy A T, et al. A mechanistic review of β -Carotene, Lutein, and Zeaxanthin in eye health and disease[J]. Antioxidants (Basel), 2020,9(11):1046.

[8]王彦博,唐慧安,朱元成. 紫花苜蓿中叶黄素的提取及纯化[J].江苏农业科学,2013,41(2):229-231.

[9]黄远英. 越橘叶黄素酯软胶囊缓解视疲劳的保健作用[J].四川生理科学杂志,2013,35(4):164-167.

[10]郎朗,刁磊,陈惠杰. 叶黄素口服脂质体的制备[J].黑龙江畜牧兽医,2013,56(21):150-152.

[11]韦丽娇,谢祥勇,何碧华. 口服叶黄素联合中药离子导入治疗大龄儿童弱视的疗效观察[J].医学理论与实践,2013,26(7):905-906.

[12]王丽,王新雨,胡明月. 万寿菊花中叶黄素的提取方法及其药理作用研究进展[J].中国民族民间医药,2013,22(6):28,30.

[13]罗卓彬,毕龙. 我国骨缺损修复的成就与展望[J].空军军医大学学报,2022,43(3):263-267.

[14]He D, Yang C, Chen M, et al. Traumatic temporomandibular joint ankylosis: our classification and treatment experience[J]. J Oral Maxillofac Surg, 2011,69(6):1600-1607.

[15]Zhang Y, He D M. Clinical investigation of early post-traumatic temporomandibular joint ankylosis and the role of repositioning discs in treatment[J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 2006,35(12):1096-1101.

[16]Vasconcelos B C, Bessa-Nogueira R V, Cypriano R V. Treatment ofttemporomandibular joint ankylosis by gap arthroplasty[J]. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2006,11(1):E66-E69.

[17]Spagnoli A. Mesenchymal stem cells and fracture healing[J]. Orthopedics, 2008, 31(9):855-856;discussion 856.

[18]Einhorn T A. The cell and molecular biology of fracture healing[J]. Clin Orthop Relat Res, 1998,(355 Suppl):S7-21.

[19]Imai Y, Takaoka K. [Bone fracture and the healing mechanisms. The role of BMP signaling in fracture healing][J]. Clinical Calcium, 2009,19(5):667-672.

[20]Iwakura T, Miwa M, Sakai Y, et al. Human hypertrophic nonunion tissue contains mesenchymal progenitor cells with multilineage

- capacity in vitro[J]. J Orthop Res, 2009,27(2):208-215.
- [21] Hofmann A, Ritz U, Hessmann M H, et al. Cell viability, osteoblast differentiation, and gene expression are altered in human osteoblasts from hypertrophic fracture non-unions[J]. Bone, 2008,42(5):894-906.
- [22] Porto G G, Vasconcelos B C, Fraga S N, et al. Development of temporomandibular joint ankylosis in rats using stem cells and bone graft[J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 2011,40: 1414-1420.
- [23] 崔国胜, 曾剑玉, 张婧, 等. 神经生长因子对2型糖尿病小鼠骨髓基质细胞体外成骨能力的影响[J]. 中华口腔医学杂志, 2018,53(2):97-102.

- [24] Franceschi R T, Xiao G. Regulation of the osteoblast-specific transcription factor, Runx2: responsiveness to multiple signal transduction pathways[J]. J Cell Biochem, 2003,88(3):446-454.

[收稿日期] 2024-03-04

本文引用格式: 郭莎, 麦麦提艾力·麦麦提敏, 姚志涛, 叶黄素. 对大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化的影响分析[J]. 中国美容医学, 2025,34(1):1-6.

· 论 著 ·

CXXC5对高糖环境下人脐静脉内皮细胞功能的影响研究

陈雨彤¹, 马周吉², 黄何艳³, 吴相依¹, 邵帅¹, 谭谦¹

(1. 南京大学医学院附属鼓楼医院整形外科 江苏 南京 210000; 2. 南京医科大学鼓楼临床医学院烧伤整形外科 江苏 南京 210000; 3. 南京中医药大学鼓楼临床医学院烧伤整形外科 江苏 南京 210000)

[摘要] 目的: 研究CXXC5对高糖环境下人脐静脉内皮细胞功能的影响及其机制。方法: 采用慢病毒转染技术敲低人脐静脉内皮细胞 (Human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) 中CXXC5的表达, 通过划痕实验和Western blot分析CXXC5对HUVEC迁移和分化能力的影响, 以及Wnt/ β -catenin信号通路在其中的作用。结果: 慢病毒转染敲低CXXC5延缓高糖诱导下HUVEC的迁移并阻碍血管内皮分化, Wnt/ β -catenin信号通路抑制剂可以增强这一阻断作用。结论: 敲低CXXC5在高糖环境下可显著降低HUVEC的迁移、分化功能, Wnt/ β -catenin信号通路在这一过程中发挥着重要作用。

[关键词] 高糖; CXXC5; 人脐静脉内皮细胞; CD31; Wnt/ β -catenin信号通路

[中图分类号] R541.4 [文献标志码] A [文章编号] 1008-6455 (2025) 01-0006-04

Effects of CXXC5 on Human Umbilical Vein Endothelial Cells Function in High Glucose Environment

CHEN Yutong¹, MA Zhouji², HUANG Heyan³, WU Xiangyi¹, SHAO Shuai¹, TAN Qian¹

(1. Department of Burn and Plastic Surgery, Nanjing Drum Tower Hospital, the Affiliated Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210000, Jiangsu, China; 2. Department of Burn and Plastic Surgery, Gulou Clinical Medical College of Nanjing Medical University, Nanjing 210000, Jiangsu, China; 3. Department of Burn and Plastic Surgery, Gulou Clinical Medical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, Jiangsu, China)

Abstract: Objective To study the effects of CXXC5 on human umbilical vein endothelial cell function in high glucose environment and its mechanism. **Methods** Scratch test and Western blot were used to detect the effect of CXXC5 on the migration and differentiation ability of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC), as well as the role of Wnt/ β -catenin signaling pathway in it. **Results** Knockdown of CXXC5 by lentiviral transfection delays the migration of HUVEC induced by high glucose and impedes vascular endothelial differentiation. Wnt/ β -catenin signaling pathway inhibitors could enhance this blocking effect. **Conclusion** Knockdown of CXXC5 can significantly reduce the migration and differentiation of HUVEC in high glucose environment. Wnt/ β -catenin signaling pathway plays an important role in this process.

Key words: high glucose; CXXC5 Human umbilical vein endothelial cells; CD31; Wnt/ β -catenin signaling pathway

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81671922; 编号: 81974288)

通讯作者: 谭谦, 科主任、主任医师; 研究方向为糖尿病慢性创面。E-mail: smmutanqian@sina.com

第一作者: 陈雨彤, 住院医师、博士在读; 研究方向为糖尿病慢性创面。E-mail: sunny199508@foxmail.com