

间充质干细胞与巨噬细胞的共培养技术

杨小倩^{1, 2, 3, 4}, 宋爱梅^{1, 2, 3, 4}, 宋晖^{1, 2, 3, 4}<https://doi.org/10.12307/2024.706>

投稿日期: 2023-08-14

采用日期: 2023-10-08

修回日期: 2023-10-26

在线日期: 2023-11-09

中图分类号:

R459.9; R363; R364

文章编号:

2095-4344(2024)31-05055-08

文献标识码: A

文章快速阅读: 间充质干细胞与巨噬细胞的共培养



文题释义:

细胞共培养技术: 在体外将2种或2种以上细胞置于同一培养系统环境中培养繁育, 近似模拟细胞在体内生成的微环境。细胞共培养为体外研究不同细胞之间的相互作用提供了重要的技术平台, 目前已形成了多种共培养方法, 共培养技术已经深入到了多个学科领域。

旁分泌效应: 细胞分泌的生物活性物质包括细胞因子、生长因子、microRNAs和细胞外囊泡等, 作用于邻近靶细胞表现出相应的生物学作用, 从而调节微环境稳态及应答外界不良刺激。其中细胞外囊泡包括外泌体、微泡及凋亡体。

摘要

背景: 间充质干细胞与巨噬细胞共培养环境中, 间充质干细胞能够促进巨噬细胞向抗炎型巨噬细胞极化减轻炎症反应, 巨噬细胞能够促进间充质干细胞成骨分化, 两者共培养在调节免疫系统和促进组织再生中发挥重要的作用。

目的: 综述间充质干细胞与巨噬细胞共培养方法、影响因素及相互调控的可能机制, 为间充质干细胞和巨噬细胞共培养在组织工程中的应用提供理论依据以及实验方法参考。

方法: 第一作者在2023年1-9月应用计算机在PubMed和中国知网数据库中检索1970年1月至2023年9月相关文献, 以“mesenchymal stem cells, macrophages, co-culture”为英文检索词, 以“间充质干细胞, 巨噬细胞, 共培养”为中文检索词, 最终纳入63篇文献进行分析。

结果与结论: ①体外间充质干细胞与巨噬细胞共培养体系根据模型可分为直接接触和间接接触共培养, 根据维度可分为二维和三维细胞共培养。②间充质干细胞与巨噬细胞共培养能够促进巨噬细胞向M2型极化, 增强间充质干细胞的成骨作用。③在共培养模型中, 共培养方法、共培养比例与时间、巨噬细胞的表型及细胞来源和条件的不同均影响巨噬细胞的免疫调节和间充质干细胞的成骨作用。④共培养中细胞相互作用可能通过细胞分泌的可溶性因子、细胞外囊泡、细胞-细胞接触和代谢途径调节巨噬细胞的免疫功能, 对间充质干细胞的增殖、迁移和成骨等生物学功能产生一定影响。⑤间充质干细胞和巨噬细胞能改善急性心肌梗死后的心功能、促进上皮创面愈合、减轻肺部炎症、改善肾功能和促进骨修复。⑥间充质干细胞和巨噬细胞共培养仍存在问题: 例如共培养的条件选择、共培养细胞良好细胞状态的保持和相互作用等。⑦间充质干细胞与巨噬细胞共培养改善局部炎症微环境, 促进组织再生修复, 在组织工程中具有广阔的应用前景。

关键词: 间充质干细胞; 巨噬细胞; 细胞共培养; 直接接触; 旁分泌; 三维共培养体系; 组织再生; 组织工程

Co-culture technology of mesenchymal stem cells and macrophages

Yang Xiaoqian^{1, 2, 3, 4}, Song Aimei^{1, 2, 3, 4}, Song Hui^{1, 2, 3, 4}

¹School of Stomatology, Cheeloo College of Medicine, Shandong University, Jinan 250012, Shandong Province, China; ²Shandong Provincial Key Laboratory of Oral Tissue Regeneration, Jinan 250012, Shandong Province, China; ³Shandong Provincial Laboratory of Oral Biomaterials and Tissue Regeneration Engineering, Jinan 250012, Shandong Province, China; ⁴Shandong Provincial Clinical Medical Research Center for Oral Diseases, Jinan 250012, Shandong Province, China
Yang Xiaoqian, Master candidate, School of Stomatology, Cheeloo College of Medicine, Shandong University, Jinan 250012, Shandong Province, China; Shandong Provincial Key Laboratory of Oral Tissue Regeneration, Jinan 250012, Shandong Province, China; Shandong Provincial Laboratory of Oral Biomaterials and Tissue Regeneration Engineering, Jinan 250012, Shandong Province, China; Shandong Provincial Clinical Medical Research Center for Oral Diseases, Jinan 250012, Shandong Province, China

Corresponding author: Song Aimei, MD, Chief physician, School of Stomatology, Cheeloo College of Medicine, Shandong University, Jinan 250012, Shandong Province, China; Shandong Provincial Key Laboratory of Oral Tissue Regeneration, Jinan 250012, Shandong Province, China; Shandong Provincial Laboratory of Oral Biomaterials and Tissue Regeneration Engineering, Jinan 250012, Shandong Province, China; Shandong Provincial Clinical Medical Research Center for Oral Diseases, Jinan 250012, Shandong Province, China

Co-corresponding author: Song Hui, School of Stomatology, Cheeloo College of Medicine, Shandong University, Jinan 250012, Shandong Province, China; Shandong Provincial Key Laboratory of Oral Tissue Regeneration, Jinan 250012, Shandong Province, China; Shandong Provincial Laboratory of Oral Biomaterials and Tissue Regeneration Engineering, Jinan 250012, Shandong Province, China; Shandong Provincial Clinical Medical Research Center for Oral Diseases, Jinan 250012, Shandong Province, China

¹山东大学齐鲁医学院口腔医学院, 山东省济南市 250012; ²山东省口腔组织再生重点实验室, 山东省济南市 250012; ³山东省口腔生物材料与组织再生工程实验室, 山东省济南市 250012; ⁴山东省口腔疾病临床医学研究中心, 山东省济南市 250012

第一作者: 杨小倩, 女, 1996年生, 福建省人, 汉族, 山东大学口腔医学院在读硕士。

通讯作者: 宋爱梅, 博士, 主任医师, 山东大学齐鲁医学院口腔医学院, 山东省济南市 250012; 山东省口腔组织再生重点实验室, 山东省济南市 250012; 山东省口腔生物材料与组织再生工程实验室, 山东省济南市 250012; 山东省口腔疾病临床医学研究中心, 山东省济南市 250012

并列通讯作者: 宋晖, 山东大学齐鲁医学院口腔医学院, 山东省济南市 250012; 山东省口腔组织再生重点实验室, 山东省济南市 250012; 山东省口腔生物材料与组织再生工程实验室, 山东省济南市 250012; 山东省口腔疾病临床医学研究中心, 山东省济南市 250012

<https://orcid.org/0009-0001-9675-7280> (杨小倩); <https://orcid.org/0000-0002-2424-1680> (宋爱梅)

基金资助: 山东省自然科学基金(ZR2020MH184), 项目负责人: 宋爱梅

引用本文: 杨小倩, 宋爱梅, 宋晖. 间充质干细胞与巨噬细胞的共培养技术 [J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(31):5055-5062.



Abstract

BACKGROUND: In the co-culture environment of mesenchymal stem cells and macrophages, mesenchymal stem cells can promote the polarization of macrophages into anti-inflammatory macrophages to reduce inflammation, and macrophages can promote the osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. The co-culture of both plays an important role in regulating the immune system and promoting tissue regeneration.

OBJECTIVE: To summarize the methods, influencing factors and possible mechanisms of co-culture between mesenchymal stem cells and macrophages, and to provide theoretical basis and experimental methods for the application of co-culture of mesenchymal stem cells and macrophages in tissue engineering.

METHODS: The first author searched the relevant articles published from January 1970 to September 2023 in PubMed and CNK by computer from January to September 2023. The Chinese and English key words were "mesenchymal stem cells, macrophages, co-culture". Finally, 63 articles were included and analyzed.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) *In vitro* co-culture of mesenchymal stem cells and macrophages can be divided into direct contact co-culture and indirect contact co-culture according to the model, and two-dimensional cell co-culture and three-dimensional cell co-culture according to the dimension. (2) The co-culture of mesenchymal stem cells and macrophages can promote the polarization of macrophages towards M2 type and enhance the osteogenic effect of mesenchymal stem cells. (3) In the co-culture model, the methods of co-culture, the proportion and time of co-culture, the phenotype of macrophages, and the cell source and conditions all affected the immune regulation of macrophages and the osteogenesis of mesenchymal stem cells. (4) Cell interaction in co-culture may regulate the immune function of macrophages, proliferation, migration and osteogenesis of mesenchymal stem cells through cell-secreted soluble factors, extracellular vesicles, cell-cell contact, and metabolic pathways. (5) Mesenchymal stem cells and macrophages can enhance cardiac function after acute myocardial infarction, promote epithelial wound healing, reduce lung inflammation, improve renal function, and accelerate bone repair. (6) There are still some problems in co-culture of mesenchymal stem cells and macrophages, such as the selection of co-culture conditions, the maintenance of good cell state and interaction of co-cultured cells. (7) The co-culture of mesenchymal stem cells and macrophages can improve the local inflammatory microenvironment and promote tissue regeneration and repair, so it will have a broad application prospect in tissue engineering.

Key words: mesenchymal stem cell; macrophage; cell co-culture; direct contact; paracrine; three-dimensional co-culture system; tissue regeneration; tissue engineering

Funding: Shandong Provincial Natural Science Foundation, No. ZR2020MH184 (to SAM)

How to cite this article: YANG XQ, SONG AM, SONG H. Co-culture technology of mesenchymal stem cells and macrophages. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2024;28(31):5055-5062.

0 引言 Introduction

间充质干细胞因具有多向分化潜能以及可从多种组织中获得，被广泛应用于组织再生领域^[1-2]。近年来，研究发现间充质干细胞除了具有多向分化潜能，其所具有的免疫调节特性在组织再生中也发挥重要作用，即虽然自身不是免疫系统的一部分，但间充质干细胞会通过与免疫细胞相互作用，分泌抗炎或促炎因子，靶向作用于效应细胞，从而对创区组织修复发挥作用。巨噬细胞 (Macrophage) 是免疫系统重要的组成成分。目前，间充质干细胞与巨噬细胞相互作用是再生领域的研究热点。

巨噬细胞分布在全身组织中，每个组织都有其胚胎来源和骨髓来源的巨噬细胞。巨噬细胞是先天免疫系统的第一道防线，发挥着免疫哨兵的作用。巨噬细胞还具有可极化特性，可在经典激活巨噬细胞 (classically activated macrophages, M1-like) 和替代性活化巨噬细胞 (alternatively activated macrophage, M2-like) 之间相互转换^[3]。M1型巨噬细胞是抵御细胞内病原体的第一道防线，具有高水平的吞噬细菌及抗原呈递能力；M2型巨噬细胞可负向调节促炎因子并诱导产生抗炎递质，具有高水平的内吞作用和较低水平的吞噬作用，并且在修复、稳态及代谢等过程中发挥作用。巨噬细胞的极化在炎症进展和消退过程中发挥着重要的调节作用^[3]，近年来人们成功地通过调节巨噬细胞极化来调节其免疫功能^[4]。

多项研究表明，间充质干细胞可促进巨噬细胞向 M2 型极化，巨噬细胞能促进间充质干细胞成骨分化，两者之间的交叉对话在组织修复中发挥重要作用，也是近年来研究热点^[5-7]。研究表明，单纯移植间充质干细胞进行组织修复存在诸多问题，目前还未见同时移植巨噬细胞和间充质干细胞的研究。究其原因，可能是关于两者相互作用的机制仍有诸多不一致，有学者认为是通过直接接触实现，也有研究认为是通过细胞旁分泌作用实现。因此，体外对两种细胞进行共培养以观察间充质干细胞和巨噬细胞生物学功能特性，是研究两种细胞作用机制的有效方法。体外共培养能在一定程度上模拟体内两种细胞的作用关系，为理解间充质干细胞移植或其旁分泌效应与巨噬细胞的相互作用提供研究模型，将为同时移植两种共培养细胞或者细胞条件培养液促进组织修复提供理论依据，从而改善单一细胞移植的缺点，更好地促进组织修复。

目前已有综述聚焦于间充质干细胞与巨噬细胞相互作用与调控机制的论述分析，对于两种细胞共培养方法的总结相对缺乏。因此，文章将阐述间充质干细胞与巨噬细胞共培养的方法，并多角度探究了共培养相互作用的影响因素，同时整理归纳间充质干细胞与巨噬细胞共培养中相互调控的可能机制以及与疾病治疗的关系，该综述着重于探讨共培养技术的方法和相互调控机制的多样性，同时也探讨目前共培养中面临的问题与挑战，旨在为促进间充质干细胞和巨噬细胞共培养的更广泛应用提供理论依据。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

1.1.1 检索人及检索时间 第一作者于 2023 年 1-9 月应用计算机进行检索。

1.1.2 检索文献时限 1970 年 1 月至 2023 年 9 月。

1.1.3 检索数据库 PubMed 和中国知网数据库。

1.1.4 检索词 英文检索词为“mesenchymal stem cells, macrophages, co-culture”，中文检索词为“间充质干细胞，巨噬细胞，共培养”。

1.1.5 检索文献类型 综述性论文和研究性论文等。

1.1.6 手工检索情况 无。

1.1.7 检索策略 以中国知网数据库为例，见图 1。

#1 间充质干细胞	#6 #3 in 主题词
#2 巨噬细胞	#7 #4 AND #5
#3 共培养	#8 #4 AND #6
#4 #1 in 主题词	#9 #5 AND #6
#5 #2 in 主题词	#10 #3 AND #7

图 1 | 中国知网数据库检索策略图

1.1.8 检索文献量 共检索到文献 701 篇，其中于中国知网数据库检索到 383 篇，PubMed 数据库检索到 318 篇，最后纳入 63 篇，包括中文 3 篇，英文 60 篇。

1.2 入组标准

1.2.1 纳入标准 ① 文章标题及摘要与主题词相关；② 文章内容涉及间充质干细胞和巨噬细胞共培养的方法、比例以及机制等方面的问题；③ 发表于权威专业的杂志且论点论据可靠。

1.2.2 排除标准 ① 与研究目的及内容无关的文献；② 重复性研究。

1.3 文献质量评估和数据提取 共检索到文献 701 篇，通过筛选和整理选择符合标准的文献，最后纳入 63 篇符合标准的文献进行综述。文献筛选流程图见图 2。

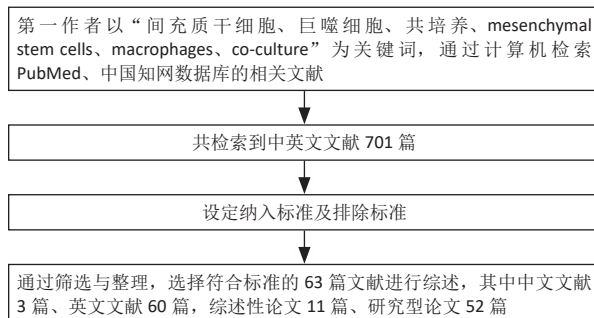
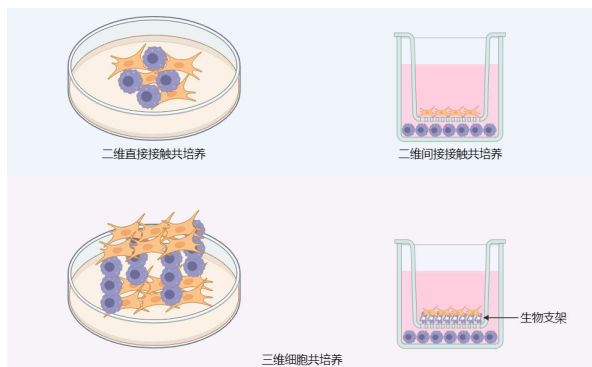


图 2 | 文献筛选流程图

2 结果 Results

2.1 间充质干细胞与巨噬细胞共培养方法 细胞共培养是指在体外将2种或2种以上细胞置于同一培养系统环境中培养繁育，近似模拟体内生成的微环境^[6]。细胞共培养的历史可追溯到20世纪80年代，LAWRENCE等^[9]将大鼠卵巢颗粒细胞和小鼠心肌细胞共培养，发现异体细胞通过缝隙连接的方式进行交流。在单一培养技术中，细胞通常以二维形式生长，而组织中具有高度有序的复杂三维网络且相邻细胞类型之间存在相互作用，共培养技术能够更好地模拟生物实验中的体内细胞生理和相互作用，且共培养系统可用于评估两种不同细胞类型的细胞间通讯和组成^[10]。组织工程的目的是创建有功能的组织，与传统的组织工程培养条件相比，细胞共培养具有通过辅助细胞反馈控制靶细胞的优势，再现体内发生的相互作用，这在工程组织中建立结构-功能关系至关重要。

细胞共培养为体外研究不同细胞之间的相互作用提供了重要的技术平台，目前此技术已经深入到了多个学科领域，而且发展了多种共培养方法。目前体外细胞共培养根据模型可以分为直接接触共培养、间接接触共培养，而根据维度又可以分为二维细胞共培养和三维细胞共培养^[11]，二者可交叉使用，见图3。



图注：间充质干细胞与巨噬细胞二维直接接触共培养（左上）；间充质干细胞与巨噬细胞在 Transwell 小室二维培养体系中共培养（右上）；间充质干细胞与巨噬细胞三维成团（左下）；接种于具有三维结构的生物支架材料上（右下）共培养。

图3 | 间充质干细胞与巨噬细胞共培养方法

2.1.1 直接接触共培养 即将两种细胞按照一定比例接种于同一培养体系中，细胞之间直接接触相互作用^[11]。LU等^[12]采用该方法将巨噬细胞与间充质干细胞以5:1的比例（巨噬细胞： 5×10^4 个/孔；间充质干细胞： 10^4 个/孔）接种于24孔板，在50%的巨噬细胞培养基和50%的成骨培养基中体外共培养4周，发现间充质干细胞骨矿化程度显著增强，且巨噬细胞负调控骨保护素，表明巨噬细胞在促进骨矿化的同时还可能通过骨保护素/核转录因子 κB 受体活化因子配体（receptor activator of nuclear factor- κB ligand, RANKL）信号通路间接影响破骨细胞的活性。间充质干细胞与巨噬细胞之间存在相互促进的交互作用，LI等^[13]将M1型巨噬细胞与间充质干细胞共培养，发现M1型巨噬细胞可以通过直接与间充质干细胞相互作用促进间充质干细胞上CD200的表达，间充质干细胞的CD200与巨噬细胞的CD200R相互作用增强间充质干细胞的免疫抑制能力，从而促进巨噬细胞向M2型极化。

2.1.2 间接接触共培养 即将两种细胞按照一定比例分别接种于不同的载体上，然后将这两种载体置于同一培养环境之中，使不同种类的细胞不直接接触仅有培养液的交换。最常用和最经典的模型是Transwell小室，是一类小室底具有通透性膜的杯状装置，小室和培养板底部接种不同种类的细胞，培养时将小室放入培养板从而建立细胞的共培养^[8]，观察两种细胞的分泌因子相互作用。高弘斐等^[14]将间充质干细胞以 $1 \times 10^5/cm^2$ 浓度接种于Transwell小室中并与M0型巨噬细胞($1 \times 10^5/cm^2$)共培养3d后，观察到棒状、星状及树枝状形态的巨噬细胞明显减少，白细胞介素10和白细胞介素1 β 表达增加，肿瘤坏死因子 α 的表达被抑制，表明间充质干细胞可促进M0型巨噬细胞向M2型巨噬细胞极化。YUAN等^[15]采用0.4mm孔径的Transwell小室将脂肪间充质干细胞与巨噬细胞以1:1的比例共培养24h，上室接种脂肪间充质干细胞，下室

接种巨噬细胞，发现脂肪间充质干细胞分泌的前列腺素E2(Prostaglandin E2, PGE2)能有效促进巨噬细胞从M1表型向M2表型转化。YAO等^[16]将巨噬细胞和脂肪间充质干细胞包裹在明胶/海藻酸钠水凝胶微球中，研究发现所构建的3D旁分泌培养系统中精氨酸1(arginase-1, Arg-1)、白细胞介素6、白细胞介素10、血管内皮细胞生长因子、趋化因子CXC配体13(CXC chemokine ligand 13, CXCL13)等细胞因子对巨噬细胞表型转化和抗炎性能均有正向调节的作用，从而有利于创口的愈合。

2.1.3 三维共培养体系 人类细胞系在二维模型中不能准确模拟其在体内组织的复杂性，许多研究表明体外的三维培养环境呈现一个更接近体内环境的模型，比二维环境更有利于展现细胞本身的特性。ROMERO-LÓPEZ等^[17]将巨噬细胞接种在由光交联甲基丙烯酸明胶制成的3D水凝胶支架中与间充质干细胞以5:1(1.25×10^6 : 2.5×10^5)的比例在共培养培养基中直接共培养4周，发现间充质干细胞通过抑制M1型和增强M2型巨噬细胞表型表现出免疫调节活性，且无论加入的巨噬细胞极化状态如何都能促进间充质干细胞成骨分化，其中M1型巨噬细胞最有效地促进新骨形成，表明在急性炎症阶段M1型巨噬细胞对早期骨形成具有潜在的促进作用。SALDAÑA等^[18]将间充质干细胞接种于高度多孔的聚苯乙烯支架，上室接种间充质干细胞，下室接种巨噬细胞，将共培养物置于含有体积分数12.5%胎牛血清的等体积RPMI和DMEM的混合物中孵育72h，结果表明巨噬细胞与间充质干细胞共培养的条件培养基对间充质干细胞成骨有抑制作用；然而在1,25-二羟基维生素D3处理的条件培养基中促炎因子减少且间充质干细胞基质成熟和矿化增加。TANG等^[19]研究者将脂肪间充质干细胞和巨噬细胞以1:1(5×10^5 : 5×10^5)通过3D聚乳酸羟基乙酸(poly lactic-co-glycolic acid, PLGA)/聚己内酯(polycaprolactone, PCL)支架在成骨培养基中直接共培养42d发现巨噬细胞抑制了脂肪间充质干细胞的成骨分化，这可能与脂肪间充质干细胞分泌的抑癌素M(oncostatin M, OSM)与骨形态发生蛋白2分泌减少有关，此抑制作用可能来自于巨噬细胞分泌的细胞因子或三维支架、巨噬细胞和脂肪间充质干细胞之间的直接相互作用。以上研究表明细胞与细胞之间的相互作用在2D和3D模型中是有差异的。

2.2 间充质干细胞和巨噬细胞共培养相互作用的影响因素

2.2.1 共培养方法 为了比较不同共培养方法的优劣，LUO等^[20]将骨髓间充质干细胞和巨噬细胞分别用3种方法共培养，分别为巨噬细胞条件培养基、间接培养和直接培养，研究发现直接接触对骨髓间充质干细胞的成骨分化和矿化促进作用最强，细胞-细胞接触似乎增加了培养细胞之间的沟通。间充质干细胞与M1直接共培养和与M1间接共培养相比，直接共培养对抑制促炎因子表达的调节作用更有效^[13]，直接接触似乎发挥了额外的细胞接触交流作用。也有报道表明，巨噬细胞介导的成骨诱导需要直接的细胞接触。有学者发现间充质干细胞接种在三维底物中会减弱体外M1型巨噬细胞的活化，增强其对巨噬细胞的免疫调节作用^[21]。YAO等^[16]通过qRT-PCR和ELISA分析结果显示，与2D旁分泌系统相比，3D旁分泌系统中促炎细胞因子的表达显著下调，抗炎细胞因子的表达显著上调，且应用3D旁分泌系统的创面愈合速度要快得多。也有学者表明与2D培养相比，3D培养后促炎和抗炎基因表达和细胞因子分泌水平都较低^[17]，可能是细胞因子与3D支架的成分相互反应，限制了其对细胞本身的作用。细胞-细胞接触和信号传递可能是直接接触共培养的独特和关键特征，细胞间相互作用更全面且激发其在组织工程中的应用，3D构造模拟了体内复杂的生长环境特点，提示可根据研究目的选择合适的培养方法。由于间充质干细胞和巨噬细胞在体内局部微环境中相互作用的环境是高度复杂、动态和多面性的，体外细胞培养环境并不能反映间充质干细胞与巨噬细胞之间相互的整体影响，因此决定最终细胞共培养命运的关键步骤应采用动物研究建模进行进一步的研究。

2.2.2 两种细胞的共培养条件 细胞在体外培养过程中需要有一定的密度，一般认为细胞培养的密度越高，细胞与细胞之间接触得越多，更有利于信号的传递和功能的调节。共培养中也需要两种细胞有一定的密度比例，细胞共培养的比例是影响细胞间相互作用的关键因素。

LU等^[12]以巨噬细胞与间充质干细胞比例为5:1和1:1分别进行直接共培养，研究发现在巨噬细胞较高的接种密度下，无论巨噬细胞表型如何，所有巨噬细胞与间充质干细胞共培养的骨矿化都有所增加。ZHANG等^[22]研究发现M1型巨噬细胞和间充质干细胞以1:1的比例

直接共培养后矿化增加，而 1 : 4 和 4 : 1 的比例矿化增加不明显，而 M2 巨噬细胞明显促进了间充质干细胞的矿化，且这种作用与巨噬细胞与间充质干细胞的比例成正比，而 M0 型巨噬细胞无论比例如何都会降低间充质干细胞的矿化程度。在 Transwell 共培养系统中以 1 : 1 的比例将接种在上室巨噬细胞和接种在下室的间充质干细胞共培养 3、7、14、28 d，研究发现共培养 14 d 时碱性磷酸酶活性水平达到峰值^[22]。不同的细胞接种比例和共培养时间都会影响细胞之间的相互作用，但目前共培养比例与时间的最佳选择仍难以定论，有待研究。

2.2.3 巨噬细胞的表型 间充质干细胞与巨噬细胞共培养的作用结果与巨噬细胞的表型有关，巨噬细胞可以对间充质干细胞再生过程施加消极或积极的影响，这取决于它们的极化状态^[23]。与 M2 型巨噬细胞相比，M1 型巨噬细胞分泌较多的促炎因子，这种微环境可能更有效地激活间充质干细胞，使 M1 型巨噬细胞与间充质干细胞直接共培养中间充质干细胞的骨矿化程度最为突出，充分发挥其成骨潜能和免疫调节作用^[12]，因而作者认为 M1 型巨噬细胞在间充质干细胞骨形成中起到协同作用。ZHANG 等^[22]以 1 : 1 的比例间接共培养间充质干细胞与不同表型的巨噬细胞，研究发现 M0 和 M1 型巨噬细胞仅在早中期刺激间充质干细胞成骨分化，而 M2 型巨噬细胞对间充质干细胞成骨基因的表达具有延迟的刺激作用，由此可以确定不同表型巨噬细胞与间充质干细胞共培养的最佳时间，以利用巨噬细胞最大限度地促进间充质干细胞的成骨分化。但也有学者研究发现 M1 和 M2 型巨噬细胞均控制了脂肪间充质干细胞的成骨分化^[19]，从而可能影响骨愈合，其中 M2 巨噬细胞的抑制作用强于 M1 巨噬细胞^[24]。

上述研究结果的不同可能是由于细胞种类来源、诱导巨噬细胞极化的方法、共培养比例和培养基种类不同所导致的，且有研究发现 M2 型巨噬细胞比 M1 型巨噬细胞存活时间更长^[25]，说明不同表型巨噬细胞的存活差异也可能影响共培养系统，因此巨噬细胞在间充质干细胞成骨分化中的确切作用仍需要更全面、更准确的研究。

2.2.4 间充质干细胞的来源 所有间充质干细胞亚群不仅具有自我更新能力和多向分化潜力，还具有免疫调节特性，不同来源的间充质干细胞具有不同的治疗潜力。高弘斐等^[14]将外周血间充质干细胞和骨髓间充质干细胞与 M0 型巨噬细胞分别共培养 3 d 后采用 Bio-Plex 免疫微球法检测各组上清液的细胞因子含量，结果表明两种间充质干细胞与 M0 共培养均可促进白细胞介素 10、白细胞介素 1 β 的表达同时抑制肿瘤坏死因子 α 的表达，促进 M0 型巨噬细胞向 M2 型巨噬细胞极化，且骨髓间充质干细胞的调节能力强于外周血间充质干细胞，表明外周血间充质干细胞和骨髓间充质干细胞均具有炎症免疫调节潜力并具有差异性。

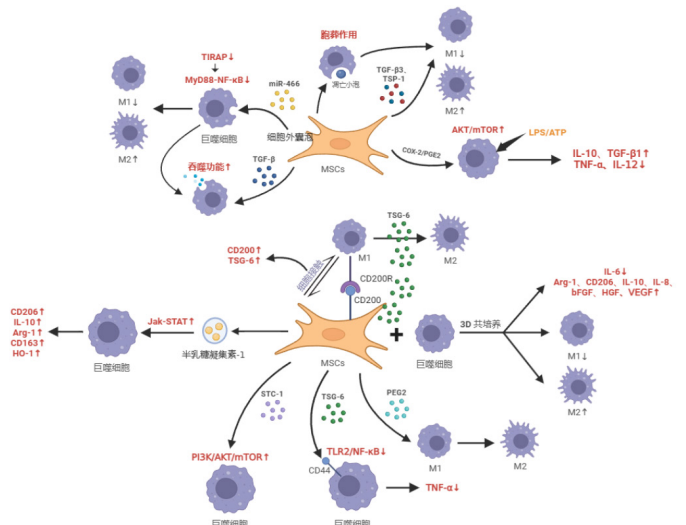
JIN 等^[26]比较了骨髓间充质干细胞、脂肪间充质干细胞和脐血间充质干细胞的抗炎活性，脐血间充质干细胞最能抑制脂多糖刺激的大鼠肺泡巨噬细胞释放的炎症细胞因子（包括白细胞介素 1 α 、白细胞介素 6 和白细胞介素 8）；研究结果表明，与成人来源的脐血间充质干细胞相比，原始脐血间充质干细胞更具有生物学优势，这使脐血间充质干细胞成为临床应用细胞治疗的有用模型。PESHKOVA 等^[27]比较脂肪组织、骨髓、牙龈、胎盘和脐带来源的间充质干细胞在 2D 和 3D 培养条件下细胞因子和生长因子的分泌量，并评估了不同间充质干细胞来源的条件培养基对体外巨噬细胞极化的影响，结果表明脐带来源的间充质干细胞条件培养基中细胞因子和生长因子水平最高，对巨噬细胞有显著的抗炎作用，具有广阔的应用前景。ALANAZI 等^[28]也提出脐带似乎是间充质干细胞的最佳来源，因为与体内其他部位相比，脐带具有易于提取、无创采集、更强的自我更新能力和免疫调节特性。

与来自正常宫颈 (normal cervix, NCx) 的间充质干细胞相比，来自宫颈癌 (cervical cancer, CeCa) 的间充质干细胞有更大的潜力促进 M2 型巨噬细胞极化，并增加吞噬型巨噬细胞的百分比；M2 型巨噬细胞内白细胞介素 10 和吲哚胺 2-3 双加氧酶 (indoleamine 2-3 dioxygenase, IDO) 表达增加，且具有降低 T 细胞增殖的能力^[29]，这提示了 CeCa- 间充质干细胞在体外抗肿瘤免疫中的作用，但有必要在动物模型中评估这些能力，以分析肿瘤环境中 M2 巨噬细胞亚群的变化。

尽管这些间充质干细胞具有相似的分化能力，但当用于治疗目的时，它们可能发展出不同的抗炎或修复潜能。评估不同来源间充质干细胞的潜力，以选择最佳来源进行细胞治疗，这些信息为间充质干细胞在不同

疾病状态下的治疗应用提供了新的实验依据，但目前不同来源间充质干细胞与巨噬细胞共培养的比较研究还较为缺乏。

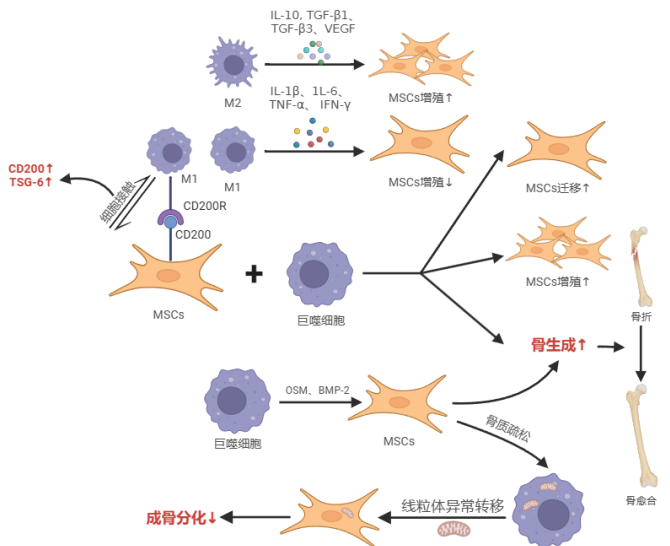
2.3 间充质干细胞与巨噬细胞共培养中相互调控的可能机制 目前发现间充质干细胞与巨噬细胞共培养可能通过可溶性因子、细胞外囊泡，细胞间接触及代谢途径进行相互调控，间充质干细胞通过磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/ 蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)，髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88)- 核转录生长因子 κ B 及 Janus 激酶 (Janus kinase, JAK)/ 信号转导子和转录活化子 (signal transducer and activator of transcription, STAT) 等信号通路调节巨噬细胞的免疫功能，巨噬细胞也通过上述途径对间充质干细胞的增殖、迁移及成骨能力产生一定影响，间充质干细胞与巨噬细胞的相互作用的调控机制的重要性越来越不可忽视，见图 4、5。



图注：MSCs 分泌的 miR-466 通过下调 TIRAP-MyD88-NF- κ B 信号通路促进巨噬细胞向 M2 型极化，增加了巨噬细胞的吞噬能力；MSCs 分泌的 TGF- β 增加了巨噬细胞的吞噬能力；MSCs 通过 COX-2/PGE2 上调 AKT/mTOR 信号通路，控制 LPS/ATP 刺激的巨噬细胞中促炎或抗炎细胞因子的产生；TGF- β 3 和 TSP-1 诱导的旁分泌效应使 M1 型巨噬细胞极化为 M2 型巨噬细胞；MSCs 来源凋亡小泡的胞葬作用使巨噬细胞向抗炎表型 M2 型极化；MSCs 与巨噬细胞的直接接触促进 MSCs 产生 TSG-6，上调了 CD200 的表达，促进巨噬细胞向 M2 型极化；MSCs 分泌的半乳糖凝集素 1 主要通过上调 JAK-STAT 信号通路促进 M2 型巨噬细胞极化，上调了 CD206, IL-10, Arg-1, CD163 和 HO-1 的表达；MSCs 分泌的 STC-1 通过激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路增加 IL-10 的分泌，促进 M2 巨噬细胞极化；MSCs 分泌的 TSG-6 与巨噬细胞上的 CD44 受体相互作用，通过降低 TLR2/NF- κ B 信号通路降低 TNF- α 的分泌；MSCs 分泌的 PGE2 促进巨噬细胞从 M1 表型向 M2 表型转化；MSCs 与巨噬细胞 3D 共培养降低了 IL-6 的分泌，上调了 Arg-1, CD206, IL-10, IL-8, bFGF, HGF 及 VEGF 的表达，促进 M2 型巨噬细胞极化。MSCs 为间充质干细胞；IL-1 β 为白细胞介素 1 β ；1L-6 为白细胞介素 6；IFN- γ 为 γ 干扰素；OSM 为抑瘤素 M；BMP-2 为骨形态发生蛋白 2；TGF- β 为转化生长因子 β ；LPS 为脂多糖；IL-10 为白细胞介素 10；TNF- α 为肿瘤坏死因子 α ；IL-12 为白细胞介素 12；TSP-1 为血小板反应蛋白 1；TSG-6 为肿瘤坏死因子刺激蛋白 6；Arg-1 为精氨酸 1；HO-1 为血红素加氧酶 1；STC-1 为斯钙素 1；PGE2 为前列腺素 E2；IL-8 为白细胞介素 8；bFGF 为碱性成纤维细胞生长因子；HGF 为肝细胞生长因子；VEGF 为血管内皮细胞生长因子。

图 4 | 间充质干细胞对巨噬细胞的调控机制图

2.3.1 共培养中巨噬细胞和间充质干细胞分泌的可溶性因子促进生物学功能的改变——旁分泌效应 无论是直接接触共培养还是间接接触共培养，细胞在培养过程中会释放一些可溶性分子至培养液中，从而作用于周围细胞，发生功能改变。环氧合酶 2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 在炎症过程中负责将花生四烯酸转化为 PGE2 等类型前列腺素，有报道间充质干细胞与巨噬细胞直接共培养通过 COX-2-PGE2 途径促进间充质干细胞早期骨形成^[12]，间充质干细胞亦通过此途径增加 M2 型巨噬细胞来改善心脏损伤^[30]。XIA 等^[31]通过实验证明经 Transwell 系统将人脐



图注: M1型巨噬细胞分泌的细胞因子IL-1 β , 1L-6, TNF- α , IFN- γ 对MSCs的增殖有抑制作用, M2型巨噬细胞分泌的细胞因子IL-10, TGF- β 1, TGF- β 3, VEGF等则可促进MSCs增殖; MSCs与巨噬细胞的直接接触促进MSCs产生TSG-6, 上调了CD200的表达; MSCs与巨噬细胞共培养促进MSCs迁移和增殖及骨折愈合; 巨噬细胞分泌的BMP-2和OSM介导了MSCs的成骨分化; 在骨质疏松的情况下, 巨噬细胞发生氧化异常并转化为M1型, 导致线粒体从巨噬细胞向MSCs转移增加, 影响了MSCs的成骨分化。MSCs为间充质干细胞; IL-1 β 为白细胞介素1 β ; 1L-6为白细胞介素6; IFN- γ 为 γ 干扰素; OSM为抑瘤素M; BMP-2为骨形态发生蛋白2; TGF- β 为转化生长因子 β ; LPS为脂多糖; IL-10为白细胞介素10; TNF- α 为肿瘤坏死因子 α ; IL-12为白细胞介素12; TSP-1为血小板反应蛋白1; TSG-6为肿瘤坏死因子刺激蛋白6; Arg-1为精氨酸1; HO-1为血红素加氧酶1; STC-1为斯钙素1; PGE2为前列腺素E2; IL-8为白细胞介素8; bFGF为碱性成纤维细胞生长因子; HGF为肝细胞生长因子; VEGF为血管内皮细胞生长因子。

图5 | 巨噬细胞对间充质干细胞的调控机制图

带间充质干细胞与小鼠肺泡巨噬细胞NR8383以5:1的比例共培养, 人脐带间充质干细胞分泌的斯钙素1(stanniocalcin-1, STC-1)通过激活NR8383 PI3K/Akt/哺乳动物雷帕霉素(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路增加白细胞介素10的分泌, 促进M2巨噬细胞极化。也有学者提出间充质干细胞衍生的COX-2/PGE2在THP-1分化的人巨噬细胞中负责Akt/mTORC1/磷酸化4E结合蛋白1[phospho-4E(eIF4E)-binding protein 1, 4E-BP1]的激活和抗炎极化^[32]。ZHOU等^[33]也提出经Transwell系统共培养(巨噬细胞:间充质干细胞=5:1), 巨噬细胞白细胞介素10和白细胞介素37表达的增加部分与PI3K/Akt通路的调节有关。LIU等^[34]发现间充质干细胞通过旁分泌作用抑制促炎型巨噬细胞的极化可能是通过影响肿瘤坏死因子 α /核转录因子 κ B信号通路重塑M1型巨噬细胞功能实现的。另外当巨噬细胞在牙囊干细胞条件培养基共培养时转化生长因子 β 3(transforming growth factor- β 3, TGF- β 3)和血小板反应蛋白1(Thrombospondin-1, TSP-1)介导的旁分泌效应也能够使M1型巨噬细胞极化为M2型巨噬细胞^[35]。通过收集检测间接共培养的培养基和极化巨噬细胞的培养条件培养基发现骨形态发生蛋白2和OSM成骨因子的分泌介导了间充质干细胞的成骨分化^[22]。提取巨噬细胞接种于骨诱导双相磷酸钙陶瓷培养后的上清液, 并将其与间充质干细胞共培养, 结果发现巨噬细胞趋化因子可促进间充质干细胞迁移和骨形成^[36]。不同极化状态来源巨噬细胞分泌的细胞因子对间充质干细胞的作用不一, 经Transwell系统共培养M1型巨噬细胞分泌的细胞因子白细胞介素1 β 、白细胞介素6、肿瘤坏死因子 α 及 γ 干扰素等对间充质干细胞的增殖有抑制作用, M2型巨噬细胞分泌的细胞因子白细胞介素10、转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)、TGF- β 3及血管内皮生长因子等则可促进间充质干细胞增殖^[37]。通过间接共培养间充质干细胞分泌的TGF- β 可通过Akt/叉头框转录因子O亚族1(forkhead box transcription factor O1, FoxO1)信号通路使脂多糖刺激的巨噬细胞向M2型极化, 减

轻炎症反应, 提高吞噬能力^[38]。间充质干细胞分泌的肿瘤坏死因子刺激蛋白6(tumor necrosis factor-stimulated protein 6, TSG-6)与巨噬细胞上的CD44受体相互作用, 通过降低TLR2/核转录因子 κ B信号通路降低促炎因子的分泌^[39]。

2.3.2 细胞外囊泡 近年来越来越多的研究表明, 间充质干细胞通过释放细胞外囊泡的方式来发挥旁分泌功能, 从而对巨噬细胞功能发挥影响。SHI等^[40]通过Transwell系统共培养证明间充质干细胞分泌的细胞外囊泡中含有的miR-466抑制了Toll/白细胞介素1受体衔接蛋白(Toll/interleukin-1 receptor domain-containing adaptor protein, TIRAP)表达, 导致MyD88-核转录因子 κ B信号通路下调, 从而使表型平衡向M2极化倾斜, 发挥免疫调节作用并增强吞噬作用, 进一步减轻肺炎的严重程度。间充质干细胞分泌的细胞外囊泡也可以通过直接与巨噬细胞培养把miR-223-3p转移到巨噬细胞中, 改变基因表达和生物活性, 降低巨噬细胞的炎症反应^[41]。XU等^[42]则是使用生物活性玻璃(bioactive glasses, BG)预处理间充质干细胞分泌的细胞外囊泡, 使其miR-125a-5p表达上调, 与巨噬细胞直接培养促进巨噬细胞向抗炎型和血管生成表型的极化。

目前, 间充质干细胞外泌体已经成为治疗炎症性疾病的一种新的无细胞替代方法。间充质干细胞来源的凋亡小泡(apoptotic vesicles, APOVs)的胞葬作用使巨噬细胞在2型糖尿病肝中向抗炎表型转化, 恢复肝巨噬细胞的稳态, 改善2型糖尿病病情^[43]。与巨噬细胞培养的脂肪间充质干细胞来源的外泌体主要通过线粒体DNA的转移, 有效改善巨噬细胞的线粒体完整性和氧化磷酸化水平, 从而恢复气道巨噬细胞的代谢和免疫稳态, 减轻肺部炎症病理反应^[44]。TEO等^[45]发现间充质干细胞外泌体通过催化腺苷的产生, 进而与腺苷受体A2A和A2B结合, 激活AKT/细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)依赖的信号通路, 从而促进巨噬细胞向M2型极化。通过Transwell系统共培养发现肿瘤坏死因子 α 诱导的间充质干细胞(T-MSCs)外泌体中的半乳糖凝集素1主要通过JAK/STAT信号通路促进子宫内巨噬细胞向M2表型极化, 从而减轻子宫内膜的纤维化^[46]。

关于巨噬细胞外泌体对间充质干细胞作用的研究则比较少, 有研究表明, 极化状态不同的巨噬细胞来源的细胞外囊泡中的miRNA也参与了骨再生正向或负向的调节, 采用Transwell系统间接共培养研究表明M1-EVs抑制骨再生, 而M2-EVs对骨再生具有诱导作用^[47]。

2.3.3 细胞-细胞接触 虽然大多数报道认为间充质干细胞的免疫调节特性依赖于其可溶性因子的分泌, 但细胞间直接接触对其功能也起着重要作用。NICOLAIDOU等^[48]研究表明间充质干细胞与巨噬细胞是通过细胞间直接接触激活了STAT3信号通路, 促进了OSM分泌, 联合其他可溶性因子, 促进了间充质干细胞成骨分化。LI等^[13]也发现间充质干细胞来源TSG-6介导的旁分泌效应的增强依赖于间充质干细胞与巨噬细胞直接接触作用, 促使M1型巨噬细胞极化为M2型巨噬细胞; 细胞间接触作用还上调了间充质干细胞CD200的表达, 而上调的CD200介导了两细胞之间的直接相互作用, 由此证实间充质干细胞是免疫调节器和免疫传感器, 可感知可溶性因子和细胞接触介导的信号引起的动态微环境。

2.3.4 代谢途径 除了通过可溶性因子和细胞接触靶向作用于巨噬细胞外, 代谢途径的调节在间充质干细胞与巨噬细胞相互调控中占有重要地位。

最近的研究证明, 糖酵解通过代谢重编程在调节巨噬细胞极化过程中起着重要作用。YUAN等^[15]通过Transwell系统共培养研究发现脂肪间充质干细胞通过防止M1型巨噬细胞过度表达缺氧诱导因子1 α (Hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)来重新编程M1型巨噬细胞的糖酵解途径, 从而抑制巨噬细胞的M1型极化; 同时, M1型巨噬细胞分泌的琥珀酸促使脂肪间充质干细胞分泌PGE2, 促进巨噬细胞从M1表型转变为M2表型, 从而减轻结肠炎症。DENG等^[49]的进一步实验也表明骨髓间充质干细胞分泌的外泌体是通过抑制细胞糖酵解来调节小鼠肺泡巨噬细胞系MH-S细胞的极化。氧化应激在巨噬细胞对间充质干细胞的调控中也起到重要作用, 巨噬细胞以类似于使用抗氧化剂N-乙酰半胱氨酸(N-acetyl cysteine, NAC)的方式降低骨髓间充质干细胞产生的细胞内活性氧的增加水平进而调控成骨分化^[20], 但若巨噬细胞转移异常线粒体则会改变了间充质干细胞的代谢状态, 进而导致成骨分化障碍^[50]。TEISSIER等^[51]也发现M0型巨噬细胞与线粒体代谢受损的间充质干细胞共培养可纠正氧化还原失衡, 恢复稳态代谢。在慢性炎症中, 将间充质

干细胞与巨噬细胞共培养来重新编程糖酵解途径及线粒体生物能以调节炎症优化骨稳态。

综上所述, 间充质干细胞与巨噬细胞共培养中相互调控的可能机制具有复杂性和多样性, 细胞外微环境对共培养细胞的功能发挥具有重要作用, 间充质干细胞与巨噬细胞的相互靶向作用是调节炎症反应和促进骨再生的有效策略。了解间充质干细胞和巨噬细胞之间的协同串扰, 根据临床需求精准调控两种细胞的共培养结果使治疗水平达到最优, 对于实现有益的生物学功能和改善再生结果的应用具有重要意义, 见表 1。

表 1 | 间充质干细胞与巨噬细胞相互调控的生物学相关研究汇总

第一作者	发表年份	细胞因子及相关调控信号通路	研究结果	意义
CHOI ^[39]	2011	TLR2/NF-κB	TSG-6 降低 TLR2/NF-κB 信号通路表达, 减少促炎因子的分泌	使用 hMSCs 或 rhTSG-6 可能比目前的抗炎疗法更有优势
FREYTES ^[37]	2013	IL-1β, IL-6, TNF-α, IFN-γ	促进 MSCs 增殖	抗炎环境比促炎环境更适合治疗性的 MSCs
LU ^[12]	2017	COX-2-PGE2	促进 MSCs 成骨分化	通过调节炎症反应优化骨愈合和其他再生过程
ZHANG ^[22]	2017	BMP-2, OSM	促进 MSCs 成骨分化	巨噬细胞在间充质干细胞成骨分化过程中起到关键作用, 为其在骨再生治疗提供重要的参考
CHEN ^[35]	2018	TGF-β3, TSP-1	促进 M2 型巨噬细胞极化	牙囊干细胞有望作为以 MSCs 为基础免疫治疗的细胞来源
WANG ^[36]	2018	CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CXCL2, CXCL10, CXCL16	促进 MSCs 迁移和骨形成	设计具有免疫调节能力的骨替代材料, 以内源性招募宿主干细胞进行骨再生
JIN ^[30]	2019	COX-2-PGE2	促进 M2 型巨噬细胞极化, 改善糖尿病性心肌病	为糖尿病性心肌病的治疗提供新的有效措施
LIU ^[38]	2019	Akt/FoxO1	促进了 TGF-β 在脂多糖刺激的巨噬细胞向 M2 型极化, 提高吞噬能力	为败血症提供潜在的治疗策略
SHI ^[40]	2021	TIRAP-MyD88-NF-κB	miR-466 下调 TIRAP-MyD88-NFκB 表达, 促进巨噬细胞向 M2 型极化, 增强吞噬作用, MSCs 可显著降低耐药铜绿假单胞菌引起的肺炎的死亡率	为治疗耐多药的医院获得性肺炎和呼吸机相关性肺炎开辟了一个新的治疗领域
LIU ^[34]	2022	NF-κB	重塑 M1 型巨噬细胞功能	负载来自牛皮肤的胶原蛋白支架的 MSCs 在促进慢性糖尿病创面愈合、预防溃疡复发方面具有潜在的临床应用价值
LI ^[46]	2022	TNF-α, IL-10, TGF-β1, VEGF	抑制 MSCs 增殖	有助于子宫粘连的病理机制和治疗策略的研究
XIA ^[31]	2023	JAK/STAT	半乳糖凝集素 1 通过 JAK/STAT 促进巨噬细胞向 M2 型极化	为 STC-1 刺激 PI3K/AKT/mTOR 通路的机制奠定基础
TEO ^[45]	2023	PI3K/AKT/mTOR	增加 IL-10 的分泌, 促进 M2 型巨噬细胞极化	对预测 MSCs 外泌体制剂的免疫调节能力有重要意义

表注: MSCs 为间充质干细胞; IL-1β 为白细胞介素 1β; IL-6 为白细胞介素 6; TNF-α 为肿瘤坏死因子 α; IFN-γ 为 γ 干扰素; BMP-2 为骨形态发生蛋白 2; OSM 为抑瘤素 M; TGF-β 为转化生长因子 β; NF-κB 为核转录因子 κB; TSP-1 为血小板反应蛋白 1; CCL 为趋化因子 (C-C 基元) 配体; CXCL 为血清趋化因子配体; TSG-6 为肿瘤坏死因子刺激蛋白 6; IL-10 为白细胞介素 10; VEGF 为血管内皮细胞生长因子; STC-1 为斯钙素 1。

2.4 间充质干细胞与巨噬细胞共培养与疾病治疗的关系 近年来研究发现, 间充质干细胞和巨噬细胞在治疗缺血性心脏病中有着密切联系。DAYAN 等^[52] 将间充质干细胞注入小鼠急性心肌梗死模型中, 实验发现 M2 型巨噬细胞在心脏中的比例增加, 其心脏功能显著改善。LIAO 等^[53] 发现心肌内注射的间充质干细胞可通过分泌血清清膜蛋白诱导 M2 型巨噬细胞的极化, 减少梗死面积且显著改善急性心肌梗死后的心功能。预处理脂肪间充质干细胞可通过 PI3K/STAT3 通路调节心肌梗死大鼠的巨

噬细胞极化, 减少心肌的纤维化从而改善心功能^[54]。

对于皮肤损伤的修复, YANG 等^[55] 通过姜黄素促进骨髓间充质干细胞增殖, 诱导 M2 型巨噬细胞极化, 为皮肤创面愈合创造了再生免疫微环境。DI 等^[56] 研究发现局部移植的间充质干细胞分泌的 TSG-6 使角膜上皮细胞增殖增加, 促进 M2 型巨噬细胞极化, 增强其吞噬能力, 进而促进糖尿病小鼠角膜上皮创面愈合。

鼻内给予间充质干细胞可导致新生小鼠缺氧缺血脑损伤模型中反应性星形胶质细胞和小胶质细胞减少, 小胶质细胞向 M2 表型极化, 病变周围瘢痕的消除^[57]。LI 等^[58] 研究发现间充质干细胞的早期干预可通过免疫调节和旁分泌作用有效抑制糖尿病大鼠肾巨噬细胞的浸润和炎症细胞因子的表达, 恢复了免疫微环境的稳态, 改善了肾功能和肾小球硬化。ASAMI 等^[59] 将鼻内接种肺炎链球菌的小鼠静脉注射间充质干细胞, 促炎因子和肺炎链球菌感染后肺部的细菌负荷均显著降低。巨噬细胞在肺损伤早期分泌白细胞介素 1β, 于急性呼吸窘迫综合征模型 Wistar 大鼠中注射骨髓和脂肪来源的间充质干细胞后肿瘤坏死因子 α 及白细胞介素 1β 水平降低, 促进炎症修复改善肺功能^[60]。

提高间充质干细胞的成骨性能从而促进其成骨分化是治疗骨缺损性疾病的關鍵。而不同状态下的巨噬细胞所形成的微环境也会影响到间充质干细胞的成骨性能。VI 等^[61] 建立巨噬细胞耗竭转基因小鼠模型, 研究发现巨噬细胞的耗竭会导致间充质干细胞的减少, 降低其向成骨细胞分化的能力, 延缓骨愈合。在截骨模型中加入白细胞介素 4 和白细胞介素 13 诱导骨折区域的 M2 表型, 干预第 21 天后相较于对照组有更多的骨形成^[62], 证明了诱导增加 M2 型巨噬细胞数量对骨修复的促进作用。

巨噬细胞和间充质干细胞的相互作用似乎是从调节局部巨噬细胞的数量及极化状态来维持骨稳态和促进骨折修复。而改善组织微环境炎症状态是组织修复保护的前提和基础, 巨噬细胞具有高度可塑性, 间充质干细胞可调控巨噬细胞极化, 进而对组织炎症反应进行调节, 治疗炎症性疾病, 促进局部损伤修复。未来可通过将特定状态下的间充质干细胞和巨噬细胞共培养来构建促进间充质干细胞成骨分化或促进组织修复的模型, 为临床骨缺损、肺炎、心血管疾病等的治疗和组织再生提供新的方法和策略, 见表 2。

表 2 | 间充质干细胞与巨噬细胞治疗多种疾病的相关研究汇总

第一作者	发表年份	实验模型	主要结论	意义
DAYAN ^[52]	2011	免疫缺陷的急性心肌梗死小鼠模型	间充质干细胞的注射能够增加 M2 型巨噬细胞极化, IL-10 表达增加, 凋亡的心肌细胞减少, 改善心脏功能	为间充质干细胞新的作用机制提供了证据, 并提示进一步研究 IL-10 分泌在心肌梗死后心脏再生中作用的必要性
DONEGA ^[57]	2014	缺氧缺血性脑损伤新生小鼠模型	骨髓间充质干细胞治疗使小胶质细胞向 M2 表型极化, 病变周围胶质瘢痕的消除	进一步描述了骨髓间充质干细胞作为未来新生儿缺氧缺血性脑损伤治疗策略的作用
VI ^[61]	2015	巨噬细胞耗竭转基因小鼠模型	巨噬细胞的耗竭会导致间充质干细胞的减少, 降低其向成骨细胞分化的能力, 延缓骨愈合	可能为骨骼健康有治疗价值
YANG ^[55]	2018	皮肤创伤转基因 C57BL/6 小鼠模型	姜黄素预处理的间充质干细胞诱导 M2 型巨噬细胞极化, 促进皮肤创面愈合	为未来皮肤创面修复的治疗提供了新的策略
SILVA ^[60]	2018	急性呼吸窘迫综合征 Wistar 大鼠模型	间充质干细胞的移植降低 TNF-α 和 IL-1β 的表达, 促进炎症修复改善肺功能	间充质干细胞疗法在实验性急性呼吸窘迫综合征中有一定前景
SCHLUNDT ^[62]	2018	股骨骨折小鼠模型	诱导增加 M2 型巨噬细胞数量对骨修复的促进作用	巨噬细胞在骨再生过程中的重要性和必要性
LEE ^[54]	2019	心肌梗死 Wistar 大鼠模型	正丁烯基苯酚预处理的脂肪间充质干细胞通过 PI3K/STAT3 通路使巨噬细胞极化为 M2 细胞	探讨了正丁烯基苯酚对心肌梗死后心肌纤维细胞浸润减弱的脂肪来源的干细胞所致心律失常的临床疗效的可能性
LIAO ^[53]	2020	急性心肌梗死转基因 C57BL/6 小鼠模型	间充质干细胞诱导巨噬细胞向抗炎表型极化	Nes ⁺ 骨髓间充质干细胞比 Nes ⁻ 骨髓间充质干细胞对急性心肌梗死后心脏愈合有更大的疗效

表注: IL-10 为白细胞介素 10; TNF-α 为肿瘤坏死因子 α; IL-1β 为白细胞介素 1β。

2.5 长期的影响 细胞与细胞之间的相互作用在组织和器官发育中很重要，在组织工程中，引入共培养来研究间充质干细胞和巨噬细胞之间相互调控作用仍存在问题：①细胞共培养的条件如共培养液、共培养的比例、共培养的时间需要进一步的摸索；②保证处于共培养系统的间充质干细胞和巨噬细胞保持良好的细胞状态；③共培养细胞能够相互作用，且互相支持彼此的生理或分化功能；④细胞在体外共培养的生长情况与体内的生长情况存在一定差异，不能准确模拟体内的真实情况。

3 小结与展望 Summary and prospects

3.1 既往他人在该领域研究的贡献和存在的问题 间充质干细胞是一种新兴的治疗炎症和促进组织再生的方法，正进入早期临床试验阶段。巨噬细胞是一种重要的天然免疫细胞，几乎存在于所有炎症组织，发挥着关键作用。目前发现间充质干细胞与巨噬细胞通过可溶性因子、细胞外囊泡、细胞间接触及代谢途径进行相互调控，间充质干细胞通过 PI3K/Akt, MyD88-核转录因子 κ B 及 JAK-STAT 等信号通路调节巨噬细胞，巨噬细胞也通过上述途径对间充质干细胞的增殖、迁移及成骨能力产生一定影响，间充质干细胞与巨噬细胞的相互作用越来越不可忽视^[63]。

表 3 是间充质干细胞与巨噬细胞共培养方法研究时间脉络表。

细胞共培养理论和技术仍需成熟完善，且间充质干细胞和巨噬细胞在体内局部微环境中相互作用是高度复杂、动态和多方面的，相互调控的具体作用机制仍有许多不明确之处，相互作用的最终结果取决于多种因素，而最终结果并非总是有益的，且目前多数研究均仅停留在基础研究阶段，尚未进入早期临床试验阶段，其中仍存在一些有待研究。显然需要更多的研究来确定特定疾病和疾病阶段中的这些因素对两种细胞相互作用的影响，并使这种相互作用可以预测和改变，确保有利的结果，优化间充质干细胞与巨噬细胞临床运用方式，对于其治疗的发展具有重要意义。

3.2 作者综述区别于他人他篇的特点 间充质干细胞因其多向分化潜能被广泛应用于再生领域，而巨噬细胞是免疫系统的重要组成部分，目前间充质干细胞和巨噬细胞的相互作用是再生领域的研究热点。现已有大

量关于间充质干细胞与巨噬细胞相互作用的相关综述，而该综述与其他相关综述的区别在于较为全面地阐述了间充质干细胞与巨噬细胞共培养的方法，并多角度探究了共培养相互作用的影响因素，同时整理归纳了间充质干细胞与巨噬细胞共培养中相互调控的可能机制以及与疾病治疗的关系，该综述着重于探讨共培养技术的方法和相互调控机制的多样性，同时也探讨目前共培养中面临的问题与挑战。

3.3 综述的局限性 该综述主要探讨了间充质干细胞和巨噬细胞之间的相互作用，缺乏细胞与微环境之间的相互作用的分析总结。间充质干细胞与巨噬细胞共培养促进间充质干细胞的增殖和成骨分化，同时诱导巨噬细胞向 M2 型极化，分化及极化均为复杂的动态过程，二者相互的调控机制较为复杂，目前的研究讨论可能不够全面。且随着相关研究的深入研究，间充质干细胞和巨噬细胞共培养方法和相互调控的机制可能会出现新的突破和发现，使得该综述在时效性方面存在一定的局限性。

3.4 综述的重要意义 该综述探讨了间充质干细胞与巨噬细胞共培养方法、影响因素、相互调控的可能机制和与疾病治疗的关系。通过将间充质干细胞与巨噬细胞共培养改善局部炎症微环境，促进组织再生修复，为间充质干细胞和巨噬细胞共培养在组织工程中的应用提供理论依据以及实验方法。同时该综述阐述了目前面临的问题和挑战，目前大部分研究仍停留在基础研究阶段，如共培养条件的选择、共培养细胞状态的调整，动物模型与人之间的差异及细胞移植后的安全性等。这些问题的深入分析使得科研工作者能够更好地认识到该方法的局限性和现实难题，从而引导未来研究的重点和方向。

3.5 课题专家组对未来的建议 该综述发现既往研究主要聚焦于间充质干细胞和巨噬细胞之间的相互作用，大部分是体外实验研究，因此，未来建议有更多的研究聚焦于体内两种细胞的相互作用研究，以更好地理解体内环境下细胞之间的相互影响，为两种细胞同时移植提供更好地理论依据。目前，细胞条件培养液因含有丰富的生长因子和细胞因子，因无细胞而没有免疫排斥，从而在临床有更广泛的应用前景。那么，间充质干细胞和巨噬细胞两种细胞相互作用后，其共培养条件培养液有哪些变化，是否有更多生长因子或者细胞因子有利于组织再生或者修复，也

表 3 | 间充质干细胞 (MSCs) 与巨噬细胞共培养方法研究时间脉络表

第一作者	发表年份	MSCs 来源	巨噬细胞类型	共培养方法			研究结果	应用意义
				直接接触共培养 (M ϕ : MSCs)	间接接触共培养 (M ϕ : MSCs)	3D 接触共培养 (M ϕ : MSCs)		
FREYTES ^[87]	2013	人骨髓间充质干细胞	THP-1 细胞	1 : 1 于新鲜的 RPMI-1640 培养基中共培养 3 d	1 : 1, 2 : 1, 4 : 1, 6 : 1 于 Transwell 系统共培养 2 d	未描述	M2 巨噬细胞及其相关细胞因子促进 MSCs 的增殖	抗炎环境比促炎环境更适合治疗性的 MSCs
ZHANG ^[22]	2017	人脂肪组织间充质干细胞	THP-1 细胞	4 : 1, 1 : 1 和 1 : 4 的比例于混合培养基共培养 4 周	4 : 1 Transwell 系统共培养于混合培养基共培养 3, 7, 14, 28 d	未描述	M2 型巨噬细胞通过分泌可溶性因子促进 MSCs 的增殖和成骨分化	巨噬细胞在间充质干细胞成骨分化过程中的起到关键作用，为其在骨再生治疗提供重要的参考
LU ^[12]	2017	小鼠骨髓间充质干细胞	小鼠骨髓巨噬细胞	1 : 1 和 5 : 1 于混合成骨 - 巨噬细胞培养基共培养 4 周	未描述	未描述	M1 型巨噬细胞通过 COX-2-PGE2 途径促进 MSCs 的成骨	通过调节炎症反应优化骨愈合和其他再生过程
SALDAÑA ^[88]	2017	人骨髓间充质干细胞	THP-1 细胞	未描述	未描述	将 MSC 接种于高度多孔的聚苯乙烯支架，以 dTHP-1 以 1 : 5 于 Transwell 共培养 24 h	多，25-二羟维生素 D3 减少了间充质干细胞和巨噬细胞共培养中促炎细胞因子的产生，并促进炎症环境中的间充质干细胞成骨分化	三维基质和 1, 25-二羟维生素 D3 的局部作用可能促进可溶性介质的平衡，以修复功能性骨
TANG ^[19]	2019	人脂肪组织间充质干细胞	THP-1 细胞	未描述	未描述	以 1 : 1 的比例在 3D MSCs 和巨噬细胞在三维支架的相互作用对 MSCs 成骨分化有抑制作用，从而可能影响骨愈合能力	MSCs 和巨噬细胞在三维支架的相互作用对 MSCs 成骨分化有抑制作用，从而可能影响骨愈合能力	炎症可能调节骨微环境中 MSCs 基础骨构建的成骨细胞活性，骨再生治疗前控制炎症可能是必要的
NATHAN ^[63]	2019	小鼠骨髓间充质干细胞	小鼠骨髓巨噬细胞	5 : 1 于混合成骨 - 巨噬细胞培养基共培养 0, 24, 48, 72, 96 h	未描述	未描述	M1 型巨噬细胞向 M2 巨噬细胞的转化对促进 MSCs 成骨至关重要	优化免疫调节可以增强和加速骨再生反应
LUO ^[20]	2020	小鼠骨髓间充质干细胞	RAW 264.7 细胞	1 : 1 于双倍体积成骨培养基共培养 24 h	1 : 1 于 Transwell 系统共培养 24 h	未描述	巨噬细胞通过下调活性氧促进骨髓间充质干细胞成骨，且直接接触共培养成骨作用最强	靶向 MSCs- 巨噬细胞的相互作用是调节干细胞命运和促进骨再生的有效策略
ROMERO-LÓPEZ ^[17]	2020	人骨髓间充质干细胞	人外周血单核细胞	未描述	未描述	将巨噬细胞接种在 3D 水凝胶支架中，以 5 : 1 于共培养液共培养 4 周	巨噬细胞会增加 MSCs 的成骨分化，其中以促炎 M1 型巨噬细胞促进新骨形成最为有效	三维共培养模型为体外骨模型的设计奠定了基础
YUAN ^[15]	2022	脂肪来源间充质干细胞	小鼠骨髓巨噬细胞	未描述	1 : 1 于 Transwell 系统共培养 24 h	未描述	M1 型巨噬细胞分泌的代谢产物促进 MSCs 分泌抗炎细胞因子，抑制巨噬细胞向 M1 型极化	通过 MSCs 与巨噬细胞相互作用为溃疡性结肠炎的治疗提供了一个新的视角

是很值得进一步探讨的问题。间充质干细胞外泌体逐渐受到关注，那么间充质干细胞和巨噬细胞两者共培养后，外泌体分泌是否会发生改变，是否影响组织修复等，这些问题的解决将会有利于进一步发挥其培养的优势，使得间充质干细胞和巨噬细胞共培养更有意义。

作者贡献: 文章设计者和文章撰写者为杨小倩。资料收集者为杨小倩和宋爱梅。通讯作者宋爱梅和宋晖审核。

利益冲突: 文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让: 文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范: 文章撰写遵守了《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 声明)。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

[1] SHARIATI A, NEMATI R, SADEGHPOUR Y, et al. Mesenchymal stromal cells (MSCs) for neurodegenerative disease: a promising frontier. *Eur J Cell Biol.* 2020;99(6):151097.

[2] MAQSOOD M, KANG M, WU X, et al. Adult mesenchymal stem cells and their exosomes: Sources, characteristics, and application in regenerative medicine. *Life Sci.* 2020;256:118002.

[3] ATRI C, GUERFALI FZ, LAOUINI D. Role of human macrophage polarization in inflammation during infectious diseases. *Int J Mol Sci.* 2018;19(6):1801.

[4] YUNNA C, MENGROU H, LEI W, et al. Macrophage M1/M2 polarization. *Eur J Pharmacol.* 2020; 877:173090.

[5] HE X, DONG Z, CAO Y, et al. MSC-derived exosome promotes M2 polarization and enhances cutaneous wound healing. *Stem Cells Int.* 2019;2019:7132708.

[6] PAJARINEN J, LIN T, GIBON E, et al. Mesenchymal stem cell-macrophage crosstalk and bone healing. *Biomaterials.* 2019;196:80-89.

[7] LU D, XU Y, LIU Q, et al. Mesenchymal stem cell-macrophage crosstalk and maintenance of inflammatory microenvironment homeostasis. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:681171.

[8] 谢丽, 孟卉, 商澎. 细胞共培养技术在骨组织生物学中的应用 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2013,35(2):216-223.

[9] LAWRENCE TS, BEERS WH, GILULA NB. Transmission of hormonal stimulation by cell-to-cell communication. *Nature.* 1978;272(5653):501-506.

[10] PANDURANGAN M, HWANG I. Application of cell co-culture system to study fat and muscle cells. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2014;98(17):7359-7364.

[11] 张楚晗, 张东敏, 徐稳安. 牙髓再生组织工程中的细胞共培养体系 [J]. *中国组织工程研究*, 2023,27(15):2379-2384.

[12] LU LY, LOI F, NATHAN K, et al. Pro-inflammatory M1 macrophages promote osteogenesis by mesenchymal stem cells via the COX-2-prostaglandin E2 pathway. *J Orthop Res.* 2017;35(11): 2378-2385.

[13] LI Y, ZHANG D, XU L, et al. Cell-cell contact with proinflammatory macrophages enhances the immunotherapeutic effect of mesenchymal stem cells in two abortion models. *Cell Mol Immunol.* 2019;16(12):908-920.

[14] 高弘斐, 张潜, 陈龙, 等. 间充质干细胞与巨噬细胞共培养体系的细胞因子表达模式研究 [J]. *免疫学杂志*, 2017,33(11):930-936.

[15] YUAN Y, NI S, ZHUGE A, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells reprogram M1 macrophage metabolism via PHD2/HIF-1 α pathway in colitis mice. *Front Immunol.* 2022;13:859806.

[16] YAO H, YUAN X, WU Z, et al. Fabrication and performance evaluation of gelatin/sodium alginate hydrogel-based macrophage and MSC cell-encapsulated paracrine system with potential application in wound healing. *Int J Mol Sci.* 2023;24(2):1240.

[17] ROMERO-LÓPEZ M, LI Z, RHEE C, et al. Macrophage effects on mesenchymal stem cell osteogenesis in a three-dimensional in vitro bone model. *Tissue Eng Part A.* 2020;26(19-20):1099-1111.

[18] SALDAÑA L, VALLÉS G, BENSIAMAR F, et al. Paracrine interactions between mesenchymal stem cells and macrophages are regulated by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Sci Rep.* 2017;7(1):14618.

[19] TANG H, HUSCH JFA, ZHANG Y, et al. Coculture with monocytes/macrophages modulates osteogenic differentiation of adipose-derived mesenchymal stromal cells on poly(lactic-co-glycolic acid)/polycaprolactone scaffolds. *J Tissue Eng Regen Med.* 2019;13(5):785-798.

[20] LUO ML, JIAO Y, GONG WP, et al. Macrophages enhance mesenchymal stem cell osteogenesis via down-regulation of reactive oxygen species. *J Dent.* 2020;94:103297.

[21] SWARTZLANDER MD, BLAKNEY AK, AMER LD, et al. Immunomodulation by mesenchymal stem cells combats the foreign body response to cell-laden synthetic hydrogels. *Biomaterials.* 2015;41:79-88.

[22] ZHANG Y, BÖSE T, UNGER RE, et al. Macrophage type modulates osteogenic differentiation of adipose tissue MSCs. *Cell Tissue Res.* 2017;369(2):273-286.

[23] SPILLER KL, KOH TJ. Macrophage-based therapeutic strategies in regenerative medicine. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017;122:74-83.

[24] TANG H, ZHANG Y, JANSEN JA, et al. Effect of monocytes/macrophages on the osteogenic differentiation of adipose-derived mesenchymal stromal cells in 3D co-culture spheroids. *Tissue Cell.* 2017;49(4):461-469.

[25] HUANG SC, EVERTS B, IVANOVA Y, et al. Cell-intrinsic lysosomal lipolysis is essential for alternative activation of macrophages. *Nat Immunol.* 2014;15(9):846-855.

[26] JIN HJ, BAE YK, KIM M, et al. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood as sources of cell therapy. *Int J Mol Sci.* 2013;14(9):17986-18001.

[27] PESHKOVA M, KORNEEV A, SULEIMANOV S, et al. MSCs' conditioned media cytokine and growth factor profiles and their impact on macrophage polarization. *Stem Cell Res Ther.* 2023; 14(1):142.

[28] ALANAZI A, ALASSIRI M, JAWDAT D, et al. Mesenchymal stem cell therapy: a review of clinical trials for multiple sclerosis. *Regen Ther.* 2022;21:201-209.

[29] CORTÉS-MORALES VA, CHÁVEZ-SÁNCHEZ L, ROCHA-ZAVALETA L, et al. Mesenchymal stem/stromal cells derived from cervical cancer promote M2 macrophage polarization. *Cells.* 2023; 12(7):1047.

[30] JIN L, DENG Z, ZHANG J, et al. Mesenchymal stem cells promote type 2 macrophage polarization to ameliorate the myocardial injury caused by diabetic cardiomyopathy. *J Transl Med.* 2019;17(1):251.

[31] XIA TT, HU R, SHAO CJ, et al. Stanniocalcin-1 secreted by human umbilical mesenchymal stem cells regulates interleukin-10 expression via the PI3K/AKT/mTOR pathway in alveolar macrophages. *Cytokine.* 2023;162:156114.

[32] KO JH, OH JY. Mesenchymal stromal cells regulate THP-1-differentiated macrophage cytokine production by activating Akt/mammalian target of rapamycin complex 1 pathway. *Cytotherapy.* 2023;25(8):858-865.

[33] ZHOU T, SUN Y, WANG Y, et al. Umbilical cord blood mesenchymal stem cells enhance lipopolysaccharide-induced IL-10 and IL-37 production in THP-1 cells. *Inflammation.* 2019; 42(3):987-993.

[34] LIU H, YANG R, ZHAO S, et al. Collagen scaffolds derived from bovine skin loaded with MSC optimized M1 macrophages remodeling and chronic diabetic wounds healing. *Bioeng Transl Med.* 2022;8(3):e10467.

[35] CHEN X, YANG B, TIAN J, et al. Dental follicle stem cells ameliorate lipopolysaccharide-induced inflammation by secreting TGF- β 3 and TSP-1 to elicit macrophage M2 polarization. *Cell Physiol Biochem.* 2018;51(5):2290-2308.

[36] WANG M, CHEN F, WANG J, et al. Calcium phosphate altered the cytokine secretion of macrophages and influenced the homing of mesenchymal stem cells. *J Mater Chem B.* 2018; 6(29):4765-4774.

[37] FREYTES DO, KANG JW, MARCOS-CAMPOS I, et al. Macrophages modulate the viability and growth of human mesenchymal stem cells. *J Cell Biochem.* 2013;114(1):220-229.

[38] LIU F, QIU H, XUE M, et al. MSC-secreted TGF- β regulates lipopolysaccharide-stimulated macrophage M2-like polarization via the Akt/FoxO1 pathway. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):345.

[39] CHOI H, LEE RH, BAZHANOV N, et al. Anti-inflammatory protein TSG-6 secreted by activated MSCs attenuates zymosan-induced mouse peritonitis by decreasing TLR2/NF- κ B signaling in resident macrophages. *Blood.* 2011;118(2):330-338.

[40] SHI MM, ZHU YG, YAN JY, et al. Role of miR-466 in mesenchymal stromal cell derived extracellular vesicles treating inoculation pneumonia caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Transl Med.* 2021;11(1):e287.

[41] HOU L, ZHU Z, JIANG F, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles alleviated silica induced lung inflammation and fibrosis in mice via circPWWP2A/miR-223-3p/NLRP3 axis. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2023;251:114537.

[42] XU H, ZHU Y, HSIAO AW, et al. Bioactive glass-elicited stem cell-derived extracellular vesicles regulate M2 macrophage polarization and angiogenesis to improve tendon regeneration and functional recovery. *Biomaterials.* 2023;294:121998.

[43] ZHENG C, SUI B, ZHANG X, et al. Apoptotic vesicles restore liver macrophage homeostasis to counteract type 2 diabetes. *J Extracell Vesicles.* 2021;10(7):e12109.

[44] XIA L, ZHANG C, LV N, et al. AdMSC-derived exosomes alleviate acute lung injury via transferring mitochondrial component to improve homeostasis of alveolar macrophages. *Theranostics.* 2022;12(6):2928-2947.

[45] TEO KYW, ZHANG S, LOH JT, et al. Mesenchymal stromal cell exosomes mediate M2-like macrophage polarization through CD73/Ecto-5'-nucleotidase activity. *Pharmaceutics.* 2023;15(5):1489.

[46] LI J, PAN Y, YANG J, et al. Tumor necrosis factor- α -primed mesenchymal stem cell-derived exosomes promote M2 macrophage polarization via Galectin-1 and modify intrauterine adhesion on a novel murine model. *Front Immunol.* 2022;13:945234.

[47] KANG M, HUANG CC, LU Y, et al. Bone regeneration is mediated by macrophage extracellular vesicles. *Bone.* 2020;141:115627.

[48] NICOLAIDOU V, WONG MM, REDPATH AN, et al. Monocytes induce STAT3 activation in human mesenchymal stem cells to promote osteoblast formation. *PLoS One.* 2012;7(7):e39871.

[49] DENG H, WU L, LIU M, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes attenuate LPS-induced ARDS by modulating macrophage polarization through inhibiting glycolysis in macrophages. *Shock.* 2020;54(6):828-843.

[50] CAI W, ZHANG J, YU Y, et al. Mitochondrial transfer regulates cell fate through metabolic remodeling in osteoporosis. *Adv Sci (Weinh).* 2023;10(4):e2204871.

[51] TEISSIER V, GAO Q, SHEN H, et al. Metabolic profile of mesenchymal stromal cells and macrophages in the presence of polyethylene particles in a 3D model. *Stem Cell Res Ther.* 2023;14(1):99.

[52] DAYAN V, YANNARELLI G, BILLIA F, et al. Mesenchymal stromal cells mediate a switch to alternatively activated monocytes/macrophages after acute myocardial infarction. *Basic Res Cardiol.* 2011;106(6):1299-1310.

[53] LIAO Y, LI G, ZHANG X, et al. Cardiac nestin+ mesenchymal stromal cells enhance healing of ischemic heart through periostin-mediated M2 macrophage polarization. *Mol Ther.* 2020; 28(3):855-873.

[54] LEE TM, HARN HJ, CHIOW TW, et al. Preconditioned adipose-derived stem cells ameliorate cardiac fibrosis by regulating macrophage polarization in infarcted rat hearts through the PI3K/STAT3 pathway. *Lab Invest.* 2019;99(5):634-647.

[55] YANG Z, HE C, HE J, et al. Curcumin-mediated bone marrow mesenchymal stem cell sheets create a favorable immune microenvironment for adult full-thickness cutaneous wound healing. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):21.

[56] DI G, DU X, QI X, et al. Mesenchymal stem cells promote diabetic corneal epithelial wound healing through TSG-6-dependent stem cell activation and macrophage switch. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017;58(10):4344-4354.

[57] DONEGA V, NUBOER CH, VAN TILBORG G, et al. Intranasally administered mesenchymal stem cells promote a regenerative niche for repair of neonatal ischemic brain injury. *Exp Neurol.* 2014;261:53-64.

[58] LI Y, LIU J, LIAO G, et al. Early intervention with mesenchymal stem cells prevents nephropathy in diabetic rats by ameliorating the inflammatory microenvironment. *Int J Mol Med.* 2018; 41(5):2629-2639.

[59] ASAMI T, ISHII M, NAMKOONG H, et al. Anti-inflammatory roles of mesenchymal stromal cells during acute *Streptococcus pneumoniae* pulmonary infection in mice. *Cytotherapy.* 2018;20(3):302-313.

[60] SILVA JD, LOPES-PACHECO M, PAZ AHR, et al. Mesenchymal stem cells from bone marrow, adipose tissue, and lung tissue differentially mitigate lung and distal organ damage in experimental acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 2018;46(2):e132-e140.

[61] VI L, BAHT GS, WHETSTONE H, et al. Macrophages promote osteoblastic differentiation in-vivo: implications in fracture repair and bone homeostasis. *J Bone Miner Res.* 2015;30(6):1090-102.

[62] SCHLUNDT C, EL KHASSAWNA T, SERRA A, et al. Macrophages in bone fracture healing: their essential role in endochondral ossification. *Bone.* 2018;106:78-89.

[63] NATHAN K, LU LY, LIN T, et al. Precise immunomodulation of the M1 to M2 macrophage transition enhances mesenchymal stem cell osteogenesis and differs by sex. *Bone Joint Res.* 2019;8(10):481-488.

(责任编辑: WJ, ZN, QY, ZM)