

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.12.003

人脐带间充质干细胞对脊柱骨折大鼠愈合及神经功能的影响*

卫永鲲¹ 雷涛² 赵利明^{3Δ} 马慧玲⁴ 杨斌辉¹

(1 西安交通大学医学院附属 3201 医院骨科 陕西 汉中 723000; 2 空军军医大学军事生物医学工程学系 陕西 西安 720000;
3 宝鸡高新医院骨科 陕西 宝鸡 721000; 4 陕西省汉中市职业技术学院医学系 陕西 汉中 723000)

摘要 目的:探讨人脐带间充质干细胞(Human umbilical cord mesenchymal stem cells, hUC-MSCs)对脊柱骨折大鼠愈合及神经功能的影响。**方法:**脊柱骨折 Sprague-Dawley 雄性大鼠模型 30 只随机分为 hUC-MSCs 组与对照组,各 15 只。hUC-MSCs 组大鼠在骨折部位移植 0.5 mL 的 hUC-MSCs(细胞浓度为 $2 \times 10^6/\text{mL}$),对照组大鼠移植同体积的生理盐水,记录大鼠愈合及神经功能变化情况。**结果:**两组造模后 15 min、30 min、90 min 的平均动脉压都波动明显,不过组间对比差异无统计学意义($P>0.05$)。与造模后 2 w 对比,两组造模后 4 w 的神经功能 BBB 评分均升高,且 hUC-MSCs 组造模后 2 w、4 w 的神经功能 BBB 评分都高于对照组($P<0.05$)。hUC-MSCs 组造模后 8 w 的骨体积分数高于对照组($P<0.05$)。hUC-MSCs 组骨折部位附近有少量骨痂生长,骨折线逐渐消失;骨痂已明显包裹骨折部位。hUC-MSCs 组造模后 8 w 的脊髓细胞凋亡指数低于对照组($P<0.05$)。**结论:**hUC-MSCs 在脊柱骨折大鼠的应用能促进骨折愈合与改善神经功能,也可以抑制脊髓细胞凋亡,从而发挥很好的治疗作用。

关键词:人脐带间充质干细胞;脊柱骨折;骨折愈合;神经功能;细胞凋亡

中图分类号:R-33;R683.2;R329.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)12-2212-04

Effects of Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells on the Healing and Nerve Function of Spinal Fracture Rats*

WEI Yong-kun¹, LEI Tao², ZHAO Li-ming^{3Δ}, MA Hui-ling⁴, YANG Bin-hui¹

(1 Department of Orthopedics, 3201 Hospital Affiliated to Xi'an Jiaotong University School of Medicine, Hanzhong, Shaanxi, 723000, China;

2 Department of Military Biomedical Engineering, Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 720000, China;

3 Department of Orthopedics, Baoji High-tech Hospital, Baoji, Shaanxi, 721000, China;

4 Department of Medicine, Hanzhong Vocational and Technical College, Hanzhong, Shaanxi, 723000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of human umbilical cord mesenchymal stem cells (hUC-MSCs) on spinal fracture healing and nerve function in rats. **Methods:** 30 cases of Sprague-Dawley male rat models of spinal fracture were randomly divided into hUC-MSCs group and control group with 15 rats in each groups. Rats in the hUC-MSCs group were transplanted with 0.5 mL of hUC-MSCs (cell concentration of $2 \times 10^6/\text{mL}$) at the fracture site, and the rats in the control group were transplanted with the same volume of saline. The healing and nerve function changes of the rats were recorded. **Results:** The mean arterial pressures of the two groups were fluctuated significantly at 15min, 30min, and 90min after modeling, but the difference compared between the groups were not statistically significant ($P>0.05$). Compared with 2 weeks after modeling, the neurological function BBB scores of the two groups increased 4 weeks after modeling, and the neurological function BBB scores of the hUC-MSCs group were higher than those of the control group 2 and 4 weeks after modeling ($P<0.05$). The bone volume fraction of hUC-MSCs group 8 weeks after modeling were higher than that of control group ($P<0.05$). In the hUC-MSCs group, there were small amount of callus growing near the fracture site, and the fracture line gradually disappeared; the callus were obviously wrapped the fracture site. The apoptosis index of spinal cord cells in the hUC-MSCs group were lower than that in the control group at 8 weeks after modeling ($P<0.05$). **Conclusion:** The application of hUC-MSCs in rats with spinal fractures can promote fracture healing and improve nerve function, as well as inhibit spinal cord cell apoptosis, thereby exert good therapeutic effect.

Key words: Human umbilical cord mesenchymal stem cells; Spinal fractures; Fracture healing; Nerve function; Apoptosis

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R683.2; R329.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)12-2212-04

* 基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(51907197);陕西省科技厅基金项目(2019SF-168)

作者简介:卫永鲲(1973-),男,硕士,主任医师,研究方向:骨科方面,电话:13772809549, E-mail: Mahuiling197507@163.com

Δ 通讯作者:赵利明(1980-),男,本科,副主任医师,研究方向:脊柱方面,电话:13891750304, E-mail: zhaoliming52@163.com

(收稿日期:2020-12-04 接受日期:2020-12-27)

前言

脊柱骨折的治疗是世界医学难题,具有骨强度低、愈合慢、抗再骨折能力差等特点^[1]。干细胞移植已成为近年来脊柱骨折后再生修复的研究热点之一,目前研究中用于移植治疗脊柱骨折的干细胞有神经干细胞、骨髓间充质干细胞、胚胎干细胞、人脐带间充质干细胞 (Human umbilical cord mesenchymal stem cells, hUC-MSCs)等^[2,3]。但由于神经干细胞、胚胎干细胞涉及取材困难、免疫排斥及法律道德等方面的问题,其应用受到了限制;骨髓间充质干细胞移植治疗脊柱的疗效有待提高^[4,5]。脐带是连接胎儿和胎盘的管状结构,包括表层上皮、羊膜下基质、裂隙、血管间基质、血管周围基质、血管等^[6]。临床上脐带被视为医疗废物而在产后丢弃,因此 hUC-MSCs 的应用具有安全、无侵入性损伤、无伦理问题等优点^[7,8]。其既不同于胚胎干细胞,又不同于成人干细胞,具有多向性分化潜能,可在分化后维持分化组织的特性^[9,10]。本文具体探讨了 hUC-MSCs 对脊柱骨折大鼠愈合及神经功能的影响,最终达到提高脊柱骨折治疗效果的目的。现总结报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究材料

Sprague-Dawley 雄性大鼠 36 只(体重 220~280 g)购自南通特洛非饲料科技有限公司,动物合格证号:医动字第 2323232 号。hUC-MSCs (P3 代) 由本地区脐带血造血干细胞库提供,CT40 型骨科电钻、骨折模型打击支架购自 viva 公司,低糖 L-DMEM 培养基、胎牛血清购自美国 GIBCO 公司,常规手术器械、动物固定台架等购自保康医疗器械有限公司。

1.2 动物建模与分组

所有大鼠都建立脊柱骨折模型,实验前 12 h 禁食、自由饮水。造模当日用质量分数为 1% 的氯醛糖(50 mg/kg)肌肉注射麻醉,双侧股动脉插管,左侧股静脉插管。左侧股动脉插管接传感器,采用生理记录仪监测平均动脉压。切开后大鼠项背部皮肤,钝性分离皮下组织、肌肉,暴露棘突和椎板。采用牵丝线稍提起

脊髓,动脉瘤夹压迫脊髓 1 min 至完全性脊柱骨折。术毕逐层缝合肌肉、皮下组织和皮肤,采用尾悬吊法防止后肢水肿。

将造模成功的 30 只大鼠(动物大量出血死亡 4 例,动物不明原因死亡 2 例)随机分为 hUC-MSCs 组与对照组各 15 只。

1.3 hUC-MSCs 培养与移植

P3 代 hUC-MSCs 成骨诱导 7 d 后消化,生理盐水重悬,细胞浓度调整为 $2 \times 10^6/\text{mL}$,移植 0.5 mL 细胞于 hUC-MSCs 组大鼠骨折部位,对照组大鼠移植同体积的生理盐水。细胞移植共进行 3 次,时间点选为造模后 1 w、3 w 和 7 w。

1.4 观察指标

(1) 在造模后 15 min、30 min、90 min 测定与记录大鼠的左侧股动脉平均动脉压。(2) 造模后 2 w、4 w 时将大鼠置于开阔地,参考胸段脊柱骨折后功能评判标准(简称 BBB 评分法)进行神经功能评定。(3) 在造模后 8 w 处死所有大鼠,使用 Micro CT 观察骨折愈合情况,计算骨体积分数 (Bone volume/Total volume, BV/TV),同时进行病理特征观察。(4) 取处死大鼠的脊髓,迅速放在液氮中冷冻保存备用,从液氮中取出脊髓标本组织,用组织均浆器制成 100 g/L 的组织均浆,在 -10°C 3500 r/min 的条件下离心 20 min,存于 -20°C 冰箱中待测,采用 TUNEL 法检测脊髓细胞凋亡情况。

1.5 统计学分析

选择 Excel2010 软件整理原始数据结果,分析时应用软件 SPSS 23.00,计量资料用均数 $\pm$ 标准差表示,两两对比为 t 检验,多时间点对比为方差分析,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 平均动脉压对比

对照组:大鼠双下肢、躯干部刺痛反应、自主活动能力消失。hUC-MSCs 组:大鼠外界刺激反应敏感,胡须牵拉反应、针刺头面部疼痛反应明显。两组造模后 15 min、30 min、90 min 的平均动脉压都波动明显,不过组间对比差异无统计学意义 ($P>0.05$),见表 1。

表 1 两组造模后不同时间点的平均动脉压变化对比(mmHg, $\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of mean arterial pressure changes at different time points after the two groups were modeled (mmHg, $\bar{x} \pm s$)

Groups	n	15 min after molding	30 min after molding	90 min after molding	F	P
Control group	15	65.33 $\pm$ 4.20	58.67 $\pm$ 2.48	72.10 $\pm$ 4.18	12.844	0.000
hUC-MSCs group	15	65.98 $\pm$ 3.57	58.01 $\pm$ 3.15	72.87 $\pm$ 3.76	13.013	0.000

2.2 神经功能评分对比

与造模后 2 w 对比,两组造模后 4 w 的神经功能 BBB 评

分均升高,且 hUC-MSCs 组造模后 2 w、4 w 的神经功能 BBB 评分都高于对照组,对比具有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 两组造模后不同时间点的神经功能评分对比(分, $\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of neurological function scores between the two groups at different time points after modeling (scores, $\bar{x} \pm s$)

Groups	n	2 w after molding	4 w after molding
Control group	15	4.53 $\pm$ 0.26	6.82 $\pm$ 0.66 [#]
hUC-MSCs group	15	1.87 $\pm$ 0.15*	2.87 $\pm$ 0.44**

Note: compare with the hUC-MSCs group, * $P<0.05$; compare with the 2w after molding, [#] $P<0.05$.

2.3 骨折愈合情况对比

hUC-MSCs 组造模后 8 w 的骨体积分数为 $(0.28 \pm 0.03)\%$,

显著高于对照组的 $(0.15 \pm 0.04)\%$, 两组对比差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3。

表 3 两组造模后 8 w 的骨体积分数对比 ($\bar{x} \pm s, \%$)

Table 3 Comparison of bone volume fractions between the two groups at 8 weeks after modeling ($\bar{x} \pm s, \%$)

Groups	n	Bone body integral
Control group	15	0.15 ± 0.04
hUC-MSCs group	15	$0.28 \pm 0.03^*$

Note: compare with the hUC-MSCs group, $*P < 0.05$.

病理特征: 对照组: 骨痂未对骨折端形成有效包裹, 存在明显骨折线。hUC-MSCs 组: 骨折部位附近有少量骨痂生长, 骨折线逐渐消失; 骨痂已明显包裹骨折部位。

hUC-MSCs 组造模后 8 周的脊髓细胞凋亡指数 $(12.84 \pm 2.41)\%$, 低于对照组的 $(18.29 \pm 1.83)\%$, 两组对比差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 4。

2.4 脊髓细胞凋亡对比

表 4 两组造模后 8 w 的脊髓细胞凋亡指数对比 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of apoptosis index of spinal cord cells between the two groups at 8 weeks after modeling ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Apoptotic index
Control group	15	18.29 ± 1.83
hUC-MSCs group	15	$12.84 \pm 2.41^*$

Note: compare with the hUC-MSCs group, $*P < 0.05$.

3 讨论

脊柱骨折是一种严重的中枢神经系统损伤, 常导致不可逆的运动功能障碍和排便功能障碍, 具有很高的致残率与死亡率。因此寻求一种更为之有效的治疗方法是当前临床工作的迫切目标。

hUC-MSCs 可在个体发育的早期形成, 具有很强的克隆形成能力更强, 平均倍增时间为 24 h^[11]。地塞米松和 μ -甘油磷酸酯可以诱导 hUC-MSCs 单层细胞的成骨分化, 使得骨钙素和骨桥蛋白基因表达上调, 也可增加碱性磷酸酶^[12,13]。有学者将成骨诱导分化后的 hUC-MSCs 接种于聚左旋乳酸多孔支架后移植入大鼠大腿肌袋, 发现新形成的组织有成骨细胞及其周围有血管长入^[14,15]。本研究显示两组造模后 15 min、30 min、90 min 的平均动脉压都波动明显, 不过组间对比无差异; hUC-MSCs 组造模后 8 w 的骨体积分数高于对照组; hUC-MSCs 组骨折部位附近有少量骨痂生长, 骨折线逐渐消失; 骨痂已明显包裹骨折部位, 表明 hUC-MSCs 在脊柱骨折大鼠的应用能促进骨折愈合。与楚佳奇^[16]的研究类似, 探讨 PRP 联合 hUC-MSCs 移植对大鼠骨质疏松性骨折愈合的影响, 显示 PRP 联合 hUC-MSCs 移植可促进大鼠骨质疏松性骨折愈合。特别是 hUC-MSCs 可在体外诱导条件下具有向成骨细胞定向分化的潜能, 具有取材方便、免疫原性较低、来源更丰富、分离纯度高等特点^[17]。在基础研究中发现 hUC-MSCs 具有很好的增殖与自我更新能力, 具有定向成骨分化能力^[18,19]。

脊柱骨折后主要病理变化包括大量的神经细胞死亡, 轴突退变、脱髓鞘等^[20,21]。由于脊髓原发损伤和继发的神经细胞坏死和 / 或凋亡存在, 可使得脊髓局部形成囊肿、空洞和瘢痕组织, 影响再生神经纤维, 为此对于治疗的要求比较高^[22,23]。种

子细胞是研究人工植骨材料的基础, hUC-MSCs 可在胚胎发育的第 4~12 d 进入血管间基质并存活于整个妊娠期, 可在新生儿出生后大量获得^[24,25]。本研究显示 hUC-MSCs 组造模后 2 w、4 w 的神经功能 BBB 评分都高于对照组, 表明 hUC-MSCs 在脊柱骨折大鼠的应用能改善神经功能。当前有研究显示 hUC-MSCs 在脊柱骨折中通过改善微循环、清除氧自由基等作用减轻脊髓继发性损伤, 促进神经轴突的生长, 补充受损缺失的神经细胞, 促进脊髓神经功能的恢复^[26-28]。杨亭^[29]等人的研究对 hUC-MSCs 促进缺氧缺血性脑损伤 (Hypoxic-ischemic brain damage, HIBD) 神经功能修复的作用及机制显示, hUC-MSCs 移植后, 促进氧糖剥夺损伤神经干细胞增殖及 hSDF-1 α 分泌, 改善大鼠神经功能。本研究也显示 hUC-MSCs 组造模后 8 w 的脊髓细胞凋亡指数低于对照组, 与杨超华^[30]的研究类似, 该学者等探究 hUC-MSCs 对双节段非相邻脊髓压迫损伤的治疗作用及多次重复移植是否更有利于脊髓功能恢复, 显示 hUC-MSCs 移植组新西兰大白兔脊髓凋亡阳性细胞数低于对照组, 说明人脐带间充质干细胞移植可通过保护神经元, 抑制凋亡作用有效提高兔双节段脊髓压迫损伤功能。从机制上分析, 骨骼的稳态主要是通过成骨细胞和破骨细胞之间的平衡来实现的, 而 hUC-MSCs 可以通过生成成骨细胞有利于维持这种平衡状态, 可使得成骨细胞活跃程度提高, 使得骨形成占优势, 从而降低脊髓细胞凋亡, 促进神经功能的恢复^[31-33]。本研究也存在一定不足, 观察的大鼠数量比较少, 且没有纳入其他充间质干细胞进行比较, 将在后续研究中进行探讨。

总之, hUC-MSCs 在脊柱骨折大鼠的应用能促进骨折愈合与改善神经功能, 也可以抑制脊髓细胞凋亡, 从而发挥很好的治疗作用。

参 考 文 献(References)

- [1] Pham PV, Vu NB. Off-the-shelf mesenchymal stem cells from human umbilical cord tissue can significantly improve symptoms in COVID-19 patients: An analysis of evidential relations [J]. *World J Stem Cells*, 2020, 12(8): 721-730
- [2] Qu Q, Pang Y, Zhang C, et al. Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells inhibit vein graft intimal hyperplasia and accelerate reendothelialization by enhancing endothelial function [J]. *Transl Psychiatry*, 2020, 11(1): e133
- [3] Rahmani MR, Tayebi L, Yu Y, et al. Overexpression of long noncoding RNA CUDR promotes hepatic differentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells [J]. *Adv Pharm Bull*, 2020, 21 (3): 1051-1058
- [4] Bak DH, Lee E, Choi MJ, et al. Protective effects of human umbilical cord blood derived mesenchymal stem cells against dexamethasone induced apoptotic cell death in hair follicles [J]. *Int J Mol Med*, 2020, 45(2): 556-568
- [5] Shao M, Xu Q, Wu Z, et al. Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells ameliorate IL-6-induced acute liver injury through miR-455-3p[J]. *Innate Immun*, 2020, 11(1): e37
- [6] 邓长卿,葛来安,杨裕珍,等.高表达趋化因子受体4的脐带间充质干细胞移植治疗急性肝衰竭大鼠的实验研究[J].*实用临床医药杂志*, 2020, 24(14): 6-10
- [7] 李培,刘伟江,周斌,等.TGFBI 基因调控人脐带间充质干细胞向成骨细胞的分化[J].*军事医学*, 2020, 44(1): 21-28
- [8] 曲志国,野向阳,林辉,等.人脐带间充质干细胞诱导成骨及治疗骨缺损[J].*中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(45): 8503-8507
- [9] Chen HX, Liang FC, Gu P, et al. Exosomes derived from mesenchymal stem cells repair a Parkinson's disease model by inducing autophagy [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(4): e288
- [10] Deng WS, Ma K, Liang B, et al. Collagen scaffold combined with human umbilical cord-mesenchymal stem cells transplantation for acute complete spinal cord injury [J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15 (9): 1686-1700
- [11] El-Sherbiny M, Eladl MA, Ranade AV, et al. Functional beta-cells derived from umbilical cord blood mesenchymal stem cells for curing rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus [J]. *Singapore Med J*, 2020, 61(1): 39-45
- [12] Feng Y, Zhan F, Zhong Y, et al. Effects of human umbilical cord mesenchymal stem cells derived from exosomes on migration ability of endometrial glandular epithelial cells [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22 (2): 715-722
- [13] Guo Z, Chen Y, Luo X, et al. Administration of umbilical cord mesenchymal stem cells in patients with severe COVID-19 pneumonia[J]. *Crit Care*, 2020, 24(1): e420
- [14] Jerkic M, Gagnon S, Rabani R, et al. Human Umbilical Cord Mesenchymal Stromal Cells Attenuate Systemic Sepsis in Part by Enhancing Peritoneal Macrophage Bacterial Killing via Heme Oxygenase-1 Induction in Rats[J]. *Anesthesiology*, 2020, 132(1): 140-154
- [15] Jia Z. Identification of differentially expressed genes by single-cell transcriptional profiling of umbilical cord and synovial fluid mesenchymal stem cells[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 24(2): 1945-1957
- [16] 楚佳奇,孙杰聪,李鹏,等.富血小板血浆联合人脐带间充质干细胞移植对大鼠骨质疏松骨折愈合的影响 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2016, 22(3): 283-287
- [17] 王人楷,崔浩诚,万冬灵,等.人脐带间充质干细胞来源外泌体促进大鼠骨折愈合[J].*第二军医大学学报*, 2018, 39(7): 735-739
- [18] 荆宇澄,王乐,王宪云,等.脐带间充质干细胞移植治疗缺血性心脏病患者3年随访[J].*中国组织工程研究*, 2021, 25(1): 6-12
- [19] 朱兵兵,何海斌,邓江华,等.人脐带间充质干细胞过表达白细胞介素8受体可抑制炎症反应和促进血管修复[J].*中国组织工程研究*, 2021, 25(1): 61-66
- [20] Lelek J, Zuba-Surma EK. Perspectives for Future Use of Extracellular Vesicles from Umbilical Cord- and Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem/Stromal Cells in Regenerative Therapies-Synthetic Review[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3): e799
- [21] Li Z, Cao S. Pre-incubation with human umbilical cord derived mesenchymal stem cells-exosomes prevents cisplatin-induced renal tubular epithelial cell injury [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12 (18): 18008-18018
- [22] Bojanic C, To K, Zhang B, et al. Human umbilical cord derived mesenchymal stem cells in peripheral nerve regeneration [J]. *World J Stem Cells*, 2020, 12(4): 288-302
- [23] Bu H, Ivaréz-Viejo M. Mesenchymal stem cells from different sources and their derived exosomes: A pre-clinical perspective [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 12(2): 100-109
- [24] Lin M J, Li S, Yang LJ, et al. Plasma membrane vesicles of human umbilical cord mesenchymal stem cells ameliorate acetaminophen-induced damage in HepG2 cells: a novel stem cell therapy[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): e225
- [25] Liu AM, Chen BL, Yu LT, et al. Human adipose tissue- and umbilical cord-derived stem cells: which is a better alternative to treat spinal cord injury?[J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15(12): 2306-2317
- [26] Liu B, Hu D, Zhou Y, et al. Exosomes released by human umbilical cord mesenchymal stem cells protect against renal interstitial fibrosis through ROS-mediated P38MAPK/ERK signaling pathway [J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(9): 4998-5014
- [27] Liu J, Shi Y, Han J, et al. Quantitative Tracking Tumor Suppression Efficiency of Human Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cells by Bioluminescence Imaging in Mice Hepatoma Model[J]. *Int J Stem Cells*, 2020, 13(1): 104-115
- [28] Moreira A. Intranasal delivery of human umbilical cord Wharton's jelly mesenchymal stromal cells restores lung alveolarization and vascularization in experimental bronchopulmonary dysplasia [J]. *Turk J Haematol*, 2020, 9(2): 221-234
- [29] 杨亭,古佳露,周小勤,等.人脐带间充质干细胞内源性 SDF-1 α 促进 HIBD 大鼠神经功能修复的实验研究[J].*中国细胞生物学学报*, 2019, 41(5): 124-132
- [30] 杨超华,禹宝庆,游庆华,等.人脐带间充质干细胞移植治疗兔双节段脊髓压迫损伤[J].*中华医学杂志*, 2017, 97(30): 2366-2371
- [31] Shen J, Cao D, Sun JL. Ability of human umbilical cord mesenchymal stem cells to repair chemotherapy-induced premature ovarian failure[J]. *World J Stem Cells*, 2020, 12(4): 277-287
- [32] Shu L, Niu C, Li R, et al. Treatment of severe COVID-19 with human umbilical cord mesenchymal stem cells[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): e361
- [33] Song JS, Hong KT, Kim NM, et al. Implantation of allogenic umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells improves knee osteoarthritis outcomes: Two-year follow-up [J]. *Regen Ther*, 2020, 14 (9): 32-39