

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.05.005

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2020.05.005

烟雾提取物暴露对大鼠骨髓间充质干细胞凋亡的影响及其机制

张志宏¹, 李钧², 王丁¹, 庄润涛³

(1. 民航总医院口腔科, 北京 100123; 2. 首都医科大学附属北京口腔医院种植中心, 北京 100050;
3. 北京交通大学社区卫生服务中心口腔科, 北京 100044)

[摘要] **目的:** 探讨烟雾提取物暴露对大鼠牙骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMMSC)凋亡的影响及其相关机制。**方法:** 通过体外分离培养大鼠BMMSC并进行传代和鉴定, 准备不同浓度的香烟烟雾提取物(cigarette smoke extract, CSE), 分为0.5%低浓度CSE组、3.0%高浓度CSE组和空白对照组(无CSE组)。采用TUNEL染色法和流式细胞检测法检测不同组细胞的凋亡情况, 检测氧化损伤指标苯二醛(MDA)及氧自由基(ROS)变化, 并测定细胞线粒体膜电位及细胞内游离Ca²⁺浓度。**结果:** 0.5%低浓度CSE组和3.0%高浓度CSE组大鼠BMMSC细胞凋亡情况较空白对照组明显增多, 且3.0%高浓度CSE组细胞凋亡率也高于0.5%低浓度CSE组。此外, CSE组大鼠BMMSC中MDA含量和ROS水平较空白对照组显著升高, 且两者水平在3.0%高浓度CSE组也都高于0.5%低浓度CSE组, 组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。0.5%低浓度和3.0%高浓度CSE组与空白对照组相比, 大鼠BMMSC游离Ca²⁺浓度明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 与空白对照组相比, 0.5%低浓度CSE组和3.0%高浓度CSE组大鼠BMMSC内线粒体膜电位明显降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:** CSE能够促进大鼠BMMSC产生氧化自由基引起氧化损伤细胞膜和线粒体从而导致细胞凋亡。

[关键词] 烟雾提取物; 牙骨髓间充质干细胞; 凋亡; 氧化损伤

Effects of smoke extract exposure on apoptosis of rat bone mesenchymal stem cells and its mechanism

ZHANG Zhihong¹, LI Jun², WANG Ding¹, ZHUANG Runtao³

(1. Department of Stomatology, Civil Aviation General Hospital, Beijing 100123; 2. Implantology Center, Beijing Stomatology Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100050; 3. Department of Stomatology, Community Health Service Center, Beijing Jiaotong University, Beijing 100044, China)

Abstract **Objective:** To investigate the apoptosis and its related mechanisms of rat dental bone marrow mesenchymal stem cells (BMMSC) exposed to smoke extract. **Methods:** Different concentrations of cigarette smoke extract (CSE) were prepared by isolation and culture of BMMSC in vitro for passage and identification. The experiment was divided into three groups, namely 0.5% low concentration cigarette smoke extract (CSE) group, 3.0% high concentration CSE group and blank control group, and no cigarette smoke extract group as the blank control

收稿日期 (Date of reception): 2019-07-05

通信作者 (Corresponding author): 张志宏, Email: fozhang149970@126.com

group. TUNEL staining and flow cytometry were used to detect the apoptosis of different groups of cells, and then the changes of oxidative damage indicators of phthalaldehyde (MDA) and oxygen free radicals (ROS) were detected, and the mitochondrial membrane potential and intracellular free Ca^{2+} concentration were measured. **Results:** The results of TUNEL and flow cytometry showed that the apoptosis of BMMSC cells in 0.5% low concentration CSE group and 3.0% high concentration CSE group was significantly increased compared with the blank control group, and the apoptosis rate of 3.0% high concentration CSE group was higher than 0.5% low concentration CSE group. In addition, MDA content and ROS levels in BMMSCs exposed to smoke extract were significantly higher than those in the blank control group, and 3.0% high concentration CSE group both levels were higher than 0.5% of low concentration CSE group and group differences were statistically significant ($P < 0.05$). Compared with the blank control group, the concentration of free Ca^{2+} in the BMMSCs of the 0.5% low concentration and 3.0% high concentration smoke extracts were significantly higher than that of the blank control group. There was significant statistical difference between the two groups ($P < 0.05$). Compared with blank control group, the mitochondrial membrane potential of BMMSCs in 0.5% low concentration and 3.0% high concentration smoke extracts were significantly decreased, and there was a statistically significant difference ($P < 0.05$). **Conclusion:** The smoke extract can promote the production of oxidative free radicals in rat BMMSCs, causing oxidative damage to cell membranes and mitochondria leading to apoptosis.

Keywords smoke extract; dental bone marrow mesenchymal stem cells; apoptosis; oxidative damage

牙种植体一直是牙列缺损的首选治疗方法, 随着手术技术的发展, 钛表面处理和后期维护等可使植入成功率得到提升。牙种植体有一定的失败率, 而吸烟是主要危险因素之一^[1-2]。既往研究^[3]也证实了吸烟能够影响成骨细胞矿物质支架的形成和矿物质的沉积, 使新骨生成的数量和质量都降低, 并降低了成骨细胞细胞外基质的钙化程度, 从而影响种植体的骨结合。

具有多能分化的牙骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMMSC)参与颌骨和牙周组织的修复和再生^[4-5]。最近, 有研究^[6]集中在吸烟对牙种植体的有害影响上, 其中尼古丁被证明对非吸烟者的BMMSC有害, 并提示吸烟不利于种植术后牙槽骨愈合, 主要可危害人牙槽BMMSC的生物功能。但目前并没有关于吸烟对BMMSC的特定有害影响的直接证据。本研究旨在探讨烟雾提取物暴露对大鼠BMMSC凋亡的影响及其凋亡机制。

1 材料与方法

1.1 大鼠 BMMSC 的分离、培养及鉴定

大鼠BMMSC的分离: BMMSC来源于大鼠骨髓, 麻醉处死大鼠, 无菌取出骨髓, 并用胶原酶消化获取原代细胞。大鼠BMMSC的培养: 制备细胞悬液, 采用梯度稀释法将细胞稀释至100~200

个/mL, 接种至6孔板, 继续培养3~4周, 对出现的细胞克隆进行滤纸片法消化转移, 继续扩增单细胞来源细胞至 10^6 数量级, 部分冻存储存。细胞培养采用采用 α -MEM培养基(含有10%胎牛血清、100 U/mL青霉素、100 mg/mL链霉素), PBS清洗2次, 胰酶(0.25%, pH 6.4)消化传代, 使用相差倒置显微镜观察并照相。大鼠BMMSC的鉴定: BMMSC通过在35 mm培养皿中铺板100个细胞来确定菌落形成单位(colony-forming unit, CFU)的数量。培养14 d后, 将细胞在100%甲醇中固定20 min, 用3.0%结晶紫染色, 并计数直径>2 mm的细胞集落。

1.2 大鼠 BMMSC 的细胞表面标志物鉴定

采用以下抗体对大鼠BMMSC细胞进行表型分析: CD14-APC-eFluor780(克隆61D3), CD73-FITC(克隆AD2), CD90-APC(克隆eBio5E10)及CD19-PE-Cy7(克隆J3-119)。所有抗体均为小鼠同种型IgG1, 未染色的细胞用作对照。在前向和侧向散射(FSC对SSC)轮廓上进行选通, 以基于散射去除碎片和双峰。将100 μ L FACS缓冲液(Dulbecco's PBS, Life Technologies, Sigma-Aldrich)中的细胞(3×10^5)在冰上在黑暗中孵育30 min, 同时预定滴定抗体。将细胞在FACS缓冲液中洗涤, 并重悬于200 μ L FACS缓冲液中用于分析。使用BD FACS Aria I流式细胞仪和FACS Diva 6.1.3软件(BD Bioscience, Oxford, UK)在2 h内

分析染色的细胞。在每次运行之前将仪器打开至少1 h以使激光器预热, 并使用Cytometer Setup & Tracking Beads(BD Bioscience)检查仪器性能。记录每种抗体的10 000个细胞事件。电压设置在未染色的样品上。在Kaluza 1.2(Beckman Coulter)中分析经流式细胞术得出的文件, 并且在对数(双指数)轴上显示中值荧光强度(median fluorescence intensity, MFI), 并选择具有可视化异常值的轮廓密度图作为标准图。

1.3 实验分组

按照香烟烟雾提取物(cigarette smoke extract, CSE)的不同浓度, 分为0.5%低浓度CSE组、3.0%高浓度CSE组和空白对照组(无CSE组)。CSE浓度制作见实验方法1.4。

1.4 CSE 准备

每支过滤嘴香烟包含0.1 mg尼古丁和1 mg焦油(KENT香烟, 韩国), 被用来制备CSE。在通风橱中通过将橡皮管连接的支架上的烟雾冒泡到蠕动泵来准备CSE, 通过橡胶管将泵流出道连接到浸没在磷酸盐缓冲盐水(PBS)中的玻璃吸管上。试验过程中10只香烟燃烧的烟雾刚好饱和溶解在20 mL的PBS中, 设定为100% CSE。3% CSE溶液的终浓度配制: 将1 mL的100% CSE的PBS溶液与34 mL的PBS溶液混合而成; 0.5% CSE溶液的终浓度配制: 将1 mL的100% CSE的PBS溶液与199 mL的PBS溶液混合而成。下述研究中采用0.5%和3%的最终溶液浓度。阴性对照提取物采用未点燃的香烟制备。将提取物分成等分试样并储存在-20 °C。

1.5 TUNEL 染色法检测大鼠 BMMSC 凋亡

麻醉后处死大鼠, 无菌条件下获取大鼠牙髓, 并浸泡于CSE溶液或PBS溶液中6 h。随后用PBS溶液冲洗2~3次, 4%多聚甲醛溶液中浸泡48 h, 制作成使用8 μm切片, 采用TUNEL法检测BMMSC的凋亡, 操作步骤严格按照说明书进行。凋亡结果判定: 光学显微镜下TUNEL阳性细胞的细胞核呈棕黄色, 各组每张切片随机选取10个400倍视野对阳性细胞计数, 每组10只大鼠。

1.6 流式细胞术检测大鼠 BMMSC 凋亡

取对数生长期BMMSC, 收集并调整细胞密度至 1×10^5 个/孔接种于6孔板; 待细胞贴壁后加入不同浓度CSE的终浓度(0, 0.5%及3.0%)处理48 h, 收集3组BMMSC, 采用Annexin-V/PI凋亡试剂盒染色

后使用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.7 大鼠 BMMSC 的 ROS 水平检测和 MDA 含量检测

大鼠BMMSC ROS检测: 本研究通过采用ROS试剂盒在荧光酶标仪检测低浓度香烟CSE组、高浓度CSE组和空白对照组细胞内ROS的水平。具体步骤为: 收集对数生长期细胞并调整细胞密度至每孔 1.5×10^4 个细胞接种于96孔板, 并按照ROS检测试剂盒说明书进行相关检测。

大鼠BMMSC MDA检测: 取待检样本, 加入3 mL 20%三氯乙酸, 再加入0.67%硫代巴比妥酸漩涡混合器混匀30 s, 试管口用保鲜膜扎紧, 用针头刺一小口, 95 °C水浴40 min, 取出后流水冷却, 3 500~4 000 r/min, 离心10 min, 取上清液, 采用分光光度计检测各样品在532 nm和600 nm的吸光度, 1 cm光径, 蒸馏水调零。

1.8 大鼠 BMMSC 的 Ca^{2+} 测定和线粒体膜电位测定

大鼠BMMSC Ca^{2+} 测定: 按照 Ca^{2+} 荧光酶标检测试剂盒操作规范检测, 主要操作步骤如下: 配制成B-cell Probe™ F3染色工作液并分别加至0.5%低浓度CSE组、3.0%高浓度CSE组和空白对照组中, 在37 °C, 5%CO₂细胞培养箱中避光孵育30 min, 而后加入3倍体积的含有1%胎牛血清的HBSS, 再继续孵育60 min。HBSS洗涤细胞2~3次, 在激发波长为550 nm, 发射波长为590 nm的酶标仪检测荧光值。

大鼠BMMSC线粒体膜电位测定: 收集对数生长期细胞并调整密度至每孔 1.5×10^4 个细胞接种于96孔板, 并按照线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1)操作说明检测各组细胞的膜电位。

1.9 统计学处理

采用SPSS 13.0统计软件进行数据分析。两组独立数据采用t检验; 两样本方差是否相同进行方差齐性检验, 定量实验数据均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠 BMMSC 的形态学鉴定

倒置相差显微镜镜下观: 大鼠BMMSC呈圆形, 大小不一, 细胞体透亮, 折光率强。将细胞传代培养至5代后, 细胞体积较大, 细胞呈梭形或纺锤形, 此时细胞的核浆比例较小(图1)。

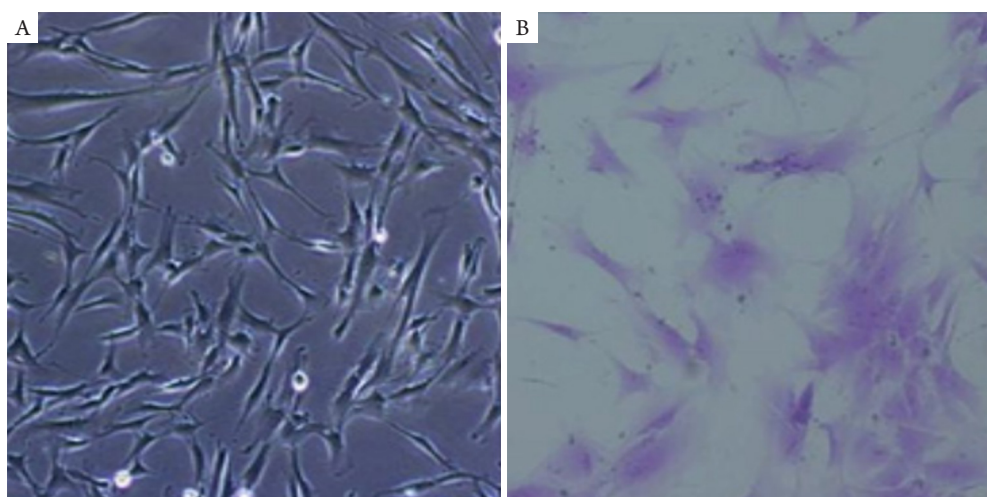


图1 大鼠BMMSC的形态学($\times 400$)

Figure 1 Morphology of BMMSC in rats ($\times 400$)

(A)倒置相差显微镜下第5代BMMSC的形态学; (B)第5代的BMMSC的细胞集落。

(A) Morphology of BMMSC of the 5th generation under inverted phase contrast microscope; (B) The 5th generation BMMSC cell colonies.

2.2 大鼠 BMMSC 的细胞表面标志物鉴定

大鼠BMMSC细胞标志物CD73和CD90表达阳性, 而造血标志物CD14和CD19表达阴性(图2)。

2.3 烟雾提取物暴露对大鼠 BMMSC 凋亡的影响

通过TUNEL染色法检测3组大鼠BMMSC细胞凋亡情况, 结果显示: 与空白对照组相比, 3.0%和0.5%浓度的CSE组BMMSC经TUNEL染色后, 细胞核被染成黄褐色明显增多, 且3.0%高浓度CSE组细胞凋亡高于0.5%低浓度CSE组(图2)。

为进一步定量的探究CSE对大鼠BMMSC凋亡的情况, 我们通过流式细胞仪检测了3组大鼠BMMSC(0.5%低浓度CSE组、3.0%高浓度CSE组和空白对照组)的细胞凋亡率, 结果显示: CSE组大鼠BMMSC细胞发生凋亡的数量较空白对照组明显增多, 且3.0%高浓度CSE组细胞凋亡率高于0.5%低浓度CSE组, 其中3.0%高浓度CSE组、0.5%低浓度CSE组和空白对照组凋亡率分别为34.01%, 25.65%和1.06%, 与TUNEL法检测的结果一致。CSE组的凋亡率与空白对照组相比, 差异有统计学意义($P=0.0044$)(图3)。

2.4 烟雾提取物暴露对大鼠 BMMSC 氧化损伤的影响

为进一步探究烟雾提取物暴露对BMMSC氧化损伤的影响, 我们检测了大鼠BMMSC中过氧化物MDA含量和BMMSC内ROS水平, 结果显示: CSE组大鼠BMMSC中MDA含量和ROS水平较空白对照组显著升高, 且3.0%高浓度CSE组高于0.5%低浓度CSE组, 组间差异有统计学意义($P<0.01$, 表1)。

2.5 烟雾提取物暴露对 BMMSC Ca^{2+} 浓度和线粒体膜电位的影响

进一步研究烟雾提取物暴露对大鼠BMMSC内游离 Ca^{2+} 浓度和线粒体膜电位影响, 结果显示: 0.5%低浓度和3.0%高浓度CSE组与空白对照组相比, 大鼠BMMSC游离 Ca^{2+} 浓度明显升高, 组间差异有统计学意义($P<0.05$), 但0.5%低浓度CSE组和3.0%高浓度CSE组差异无统计学意义($P>0.05$); 与空白对照组相比, 0.5%低浓度CSE组和3.0%高浓度CSE组大鼠BMMSC内线粒体膜电位明显降低, 两组间差异有统计学意义($P<0.05$, 表2)。

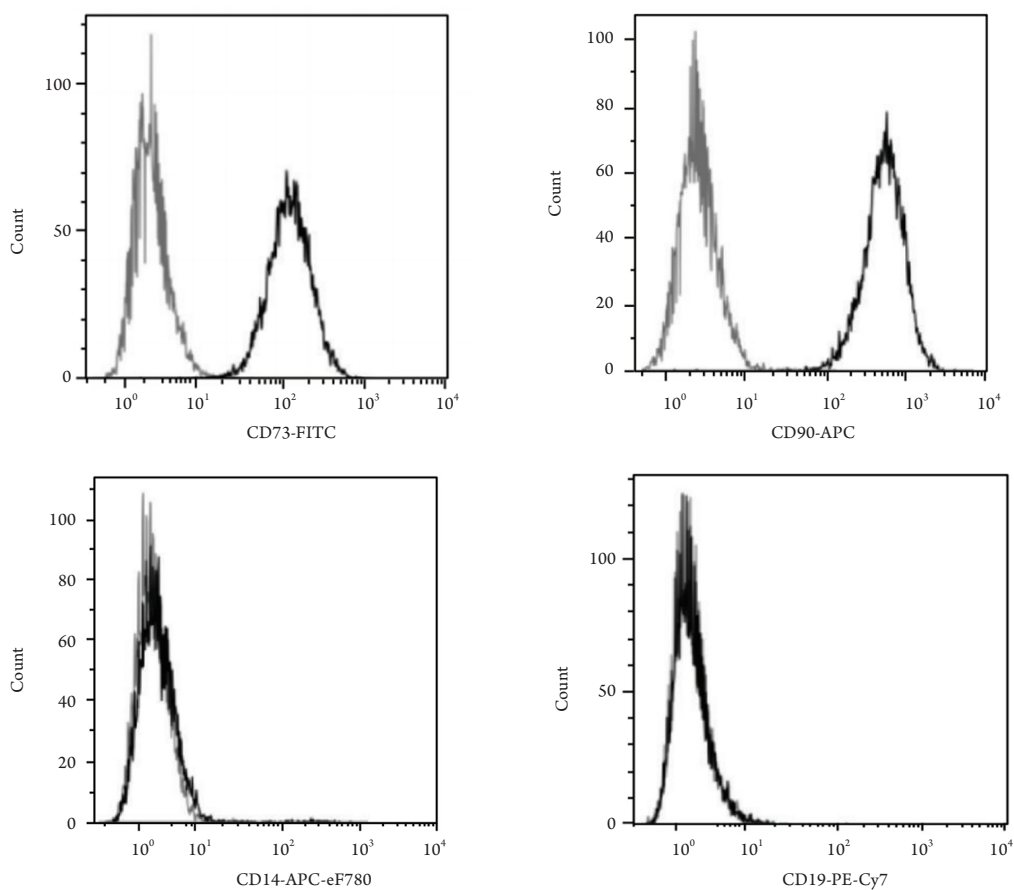


图2 大鼠BMMSC细胞表面标志物鉴定

Figure 2 Identification of BMMSC surface markers in rats

BMMSC中CD14⁻CD19⁻CD73⁺和CD90⁺表达。灰色：未染色；黑色：染色。

CD14⁻CD19⁻CD73⁺ and CD90⁺ are expressed in BMMSC. Gray: unstained; black: dyed.

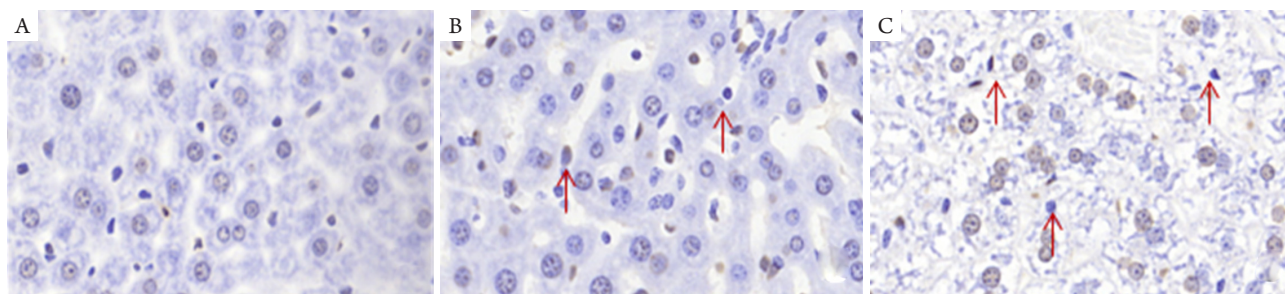


图3 TUNEL染色法检测大鼠BMMSC凋亡($\times 100$)

Figure 3 Detect apoptosis of BMMSC in rats via TUNEL staining ($\times 100$)

(A)健康对照组；(B)0.5% CSE组；(C)3.0% CSE组。箭头提示为TUNEL检测的阳性细胞。

(A) Healthy control group; (B) 0.5% CSE group; (C) 3.0% CSE group. The arrows indicate TUNEL positive cells.

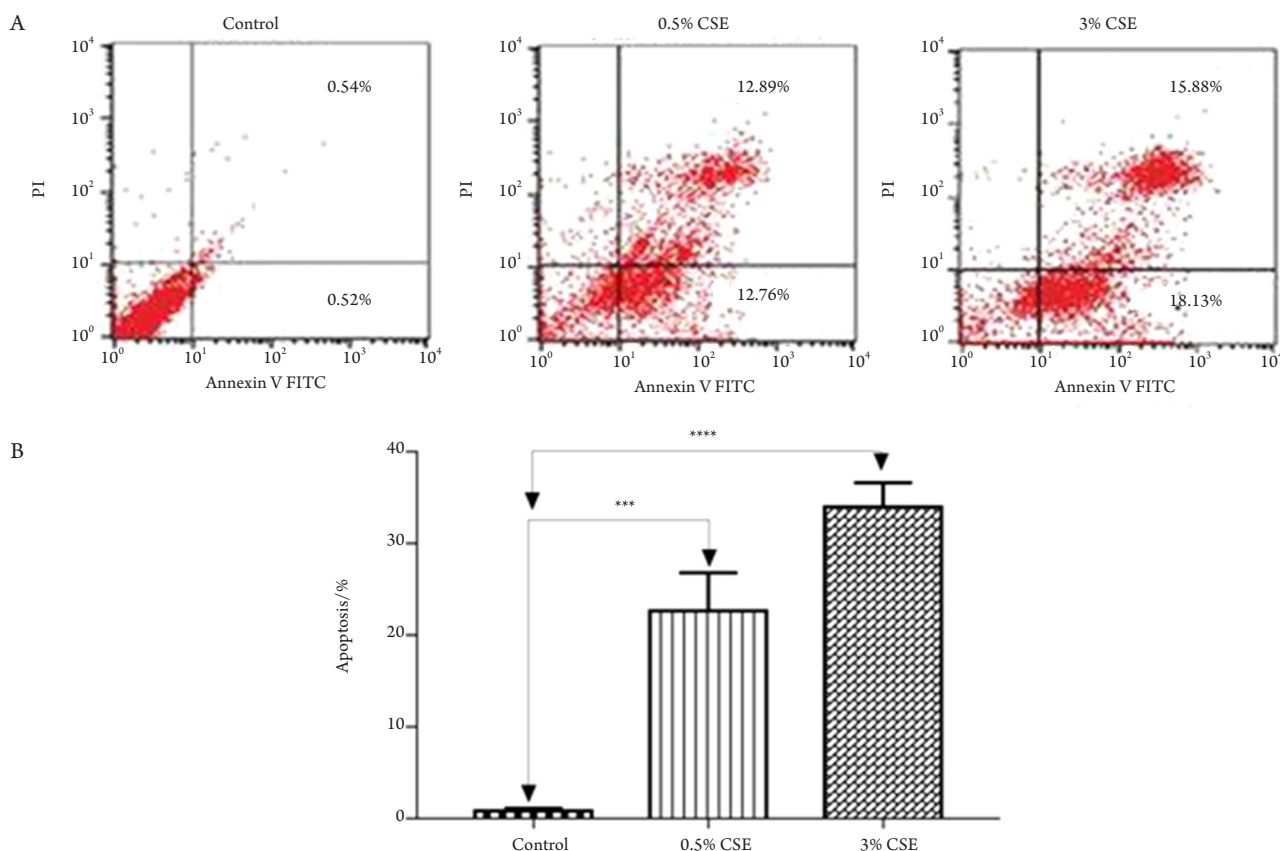


图4 流式细胞式检测3组大鼠BMMSC的细胞凋亡

Figure 4 Apoptosis of BMMSC cells in 3 groups of rats by flow cytometry

(A) 3.0%高浓度CSE组、0.5%低浓度CSE组和空白对照组的流式检测凋亡情况；(B) 3组大鼠BMMSC的凋亡百分比(%)的结果。*** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ 。

(A) Flow detection of apoptosis in 3.0% CSE group, 0.5% CSE group and the blank control group; (B) the percentage of BMMSC apoptosis (%) in the 3 groups of rats. *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$.

表1 3组大鼠BMMSC的中MDA和ROS水平(n=10)

Table 1 MDA and ROS levels in BMMSC of rats in 3 groups (n=10)

组别	MDA/(nmol·L ⁻¹)	ROS/(nmol·L ⁻¹)
空白对照组	4.53 ± 0.06* [#]	13.60 ± 2.36* [#]
0.5% CSE组	6.59 ± 0.09	16.46 ± 2.69
3.0% CSE组	11.31 ± 0.27	35.77 ± 5.97
P	0.029	0.036

空白对照组与0.5% CSE组比较, * $P < 0.01$; 空白对照组与3.0% CSE组比较, [#] $P < 0.01$ 。

The blank control group was compared with the 0.5% CSE group, * $P < 0.01$; The blank control group was compared with 3.0% CSE group, [#] $P < 0.01$.

表2 3组大鼠 BMMSC 的线粒体膜电位和 Ca²⁺ 浓度变化 (n=10)

Table 2 Changes in mitochondrial membrane potential and Ca²⁺ concentration of BMMSC in rats in the 3 groups (n=10)

组别	线粒体膜电位	Ca ²⁺ 浓度 / (nmol·L ⁻¹)
空白对照组	92.4 ± 8.06* [#]	24.58 ± 4.48* [#]
0.5% CSE组	81.30 ± 10.37	29.52 ± 5.07
3.0% CSE组	73.57 ± 10.06	36.67 ± 4.19
P	<0.01	<0.01

空白对照组与0.5% CSE组比较, * $P < 0.01$; 空白对照组与3.0% CSE组比较, [#] $P < 0.01$ 。

The blank control group was compared with the 0.5% CSE group, * $P < 0.01$; The blank control group was compared with 3.0% CSE group, [#] $P < 0.01$.

3 讨论

香烟通常含有1.2~2.0 mg尼古丁, 这取决于香烟的品牌以及是否存在过滤嘴。尼古丁是香烟烟雾的主要成分, 吸烟已被证实与骨间充质干细胞的影响有关。但是, 尼古丁对培养的骨间充质干细胞的是否存在影响仍有争议^[7-9]。Abbasi等^[7]将骨间充质干细胞(脂多糖预处理1 h)与不同浓度的尼古丁(0.1, 0.5和1.0 $\mu\text{mol/L}$)一起孵育48 h, 然后吸出培养基并将这些细胞用于与中性粒细胞的共培养, 结果显示: 尼古丁能够逆转中性粒细胞呼吸爆发率, 具有显著的抗炎作用。这与Pourtayeb等^[8]的结论一致。Yang等^[9]也发现尼古丁对骨间充质干细胞的增殖和软骨形成分化具有不利影响, 其可能通过 $\alpha 7$ nAChR途径介导而使细胞受损。本研究通过TUNEL法和流式检测法对3.0%高浓度CSE组、0.5%高浓度CSE组和空白对照组的细胞凋亡情况进行检测, 结果发现, CSE能够诱导细胞的凋亡, 而且浓度越高, 凋亡率越大。

本研究结果显示: 烟雾提取物暴露对大鼠BMMSC具有显著的细胞损伤, 主要表现为BMMSC凋亡^[10-13]。目前有很多探讨药物或其他因素对大鼠BMMSC的凋亡影响以及促凋亡机制的相关研究。Pourgonabadi等^[14]研究发现: 唑来膦酸盐对BMMSC和牙龈成纤维细胞具有显著的凋亡促进作用, 同时伴随着促凋亡蛋白质caspase-3和Bax水平的增加, 并抑制了抗凋亡蛋白质Bcl-2的水平。进一步的研究^[15]发现活化的caspase-9和caspase-3主要调节乳牙中BMMSC的细胞凋亡。Pourgonabadi等^[16]通过免疫分型法分离出第3磨牙BMMSC, 并通过阿仑膦酸钠作用于BMMSC, 一段时间后, 骨髓干细胞呈现凋亡状态, 伴有抗凋亡蛋白质的Bcl-2蛋白减少。本研究通过探讨3.0%高浓度CSE组、0.5%低浓度CSE组和空白对照组大鼠BMMSC的MDA含量和ROS水平, 结果表明: 与空白对照组相比, 给予烟雾提取物的组别的MDA含量和ROS水平明显增加, 且差异有统计学意义; 另外, 随着浓度的增加, MDA含量和ROS水平增加更明显, 表明烟雾提取物通过氧化损伤细胞, 进而诱导细胞凋亡。

相关药物和因子也具有对人BMMSC增殖和分化有积极作用。与此相反, Salkin等^[17]发现转化生长因子 β -1(TGF- β 1)基因治疗对人BMMSC的细胞增殖和细胞周期有积极作用, 并可防止细胞衰老和凋亡。Xie等^[18]发现miR-139-5p通过Wnt/ β -连环蛋白信号转导途径对成人BMMSC具有促分

化作用。Sun等^[11]研究发现miR-140-5p的过表达对人BMMSC具有显著的增殖作用, 其中Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR-4)的表达与miR-140-5p的水平呈负相关; 并发现通过用TLR-4抑制剂CLI-095处理干细胞来抑制TLR-4表达, 证明miR-140-5p抑制剂对人BMMSC增殖和分化的作用可通过阻断TLR-4而部分逆转。Xue等^[10]的研究显示: 低剂量辛伐他汀能够加速骨髓干细胞增殖, 而其高剂量(>15 $\mu\text{g/mL}$)抑制了骨髓干细胞增殖; 此外, 辛伐他汀具有显著的抗炎作用, 具有抑制多种炎症因子包括白细胞介素(IL)-1, IL-4, IL-1 β , 干扰素- γ (IFN- γ)及TNF- α 等的作用。综上, 辛伐他汀可能通过增强干细胞增殖, 缓解炎症反应和调节牙髓炎血管发生。Ginani等^[12]研究发现: 低强度激光照射对人脱落乳牙干细胞增殖和活力具有积极的影响, 并伴随着Ki-67的表达。Chen等^[13]发现氯化钴以剂量依赖性方式显著增加骨髓干细胞标志物(OCT4, NANOG, SOX2和c-Myc)的表达, 氯化钴处理后的骨髓干细胞的迁移能力也随之增强; 此外, 在含有氯化钴的成骨培养基中培养的骨髓干细胞显示出碱性磷酸酶(ALP)活性和钙沉积, 并呈剂量依赖性降低。成骨相关基因的表达也被氯化钴抑制, 因此推测氯化钴能够增加干细胞标志物的表达并抑制骨髓干细胞的成骨分化。为进一步探究损伤的机制, 本研究考察了游离 Ca^{2+} 浓度和线粒体膜电位的变化, 结果表明: 0.5%低浓度和3.0%高浓度CSE组与空白对照组相比, 大鼠BMMSC游离 Ca^{2+} 浓度明显升高, 且线粒体膜电位明显降低。

本研究同时也存在一定的局限性, 如实验组中CSE浓度梯度较少, 缺少动物实验的机制探讨。综上, 本研究通过考察给予不同浓度的烟雾提取物组和空白对照组的大鼠BMMSC凋亡情况, 结果表明烟雾提取物对大鼠BMMSC具有诱导凋亡作用, 且与烟雾提取物的浓度呈正相关, 其机制为烟雾提取物产生氧化自由基氧化损伤细胞膜和线粒体从而导致细胞凋亡。今后我们将在体内实验中进一步的研究并寻找可靠的干预机制, 为临床提供一定的理论依据。

参考文献

1. Gürlek Ö, Gümüş P, Nile CJ, et al. Biomarkers and bacteria around implants and natural teeth in the same individuals[J]. J Periodontol, 2017, 88(8): 752-761.
2. 姜涵, 葛菲, 姬晓炜, 等. 吸烟对种植体周围炎患者龈沟液中白细

- 胞介素-1 β 表达的影响[J]. 中华老年口腔医学杂志, 2016, 14(6): 339-342.
- JIANG Han, GE Fei, JI Xiaowei, et al. Effects of smoking on interleukin-1 beta expression in gingival crevicular fluid in patients with preimplant inflammation[J]. Chinese Journal of Geriatric Dentistry, 2016, 14(6): 339-342.
3. 张志宏, 李钧, 王丁, 等. 香烟烟雾提取物对人颌骨来源成骨细胞矿化能力的影响[J]. 山西医科大学学报, 2019, 50(4): 468-472.
- ZHANG Zhihong, LI Jun, WANG Ding, et al. Effects of cigarette smoke extract on mineralization of human jaw-derived osteoblasts[J]. Journal of Shanxi Medical University, 2019, 50(4): 468-472.
4. Zhao X, Zhu B, Duan Y, et al. The effect of smoking behavior on alveolar bone marrow mesenchymal stem cells of clinical implant patient[J]. Biomed Res Int, 2018, 2018: 7672695.
5. Sonoyama W, Seo BM, Yamaza T, et al. Human Hertwig's epithelial root sheath cells play crucial roles in cementum formation[J]. J Dent Res, 2007, 86(7): 594-599.
6. Zhou S, Cecere R, Philip A. CD109 released from human bone marrow mesenchymal stem cells attenuates TGF- β -induced epithelial to mesenchymal transition and stemness of squamous cell carcinoma[J]. Oncotarget, 2017, 8(56): 95632-95647.
7. Abbasi A, Kukia NR, Froushani SMA, et al. Nicotine and caffeine alter the effects of the LPS-primed mesenchymal stem cells on the co-cultured neutrophils[J]. Life Sci, 2018, 199: 41-47.
8. Pourtayeb S, Abtahi Froushani SM. Nicotine can modulate the effects of the mesenchymal stem cells on neutrophils[J]. Adv Med Sci, 2017, 62(1): 165-170.
9. Yang X, Qi Y, Avercenc-Leger L, et al. Effect of nicotine on the proliferation and chondrogenic differentiation of the human Wharton's jelly mesenchymal stem cells[J]. Biomed Mater Eng, 2017, 28(S1): S217-S228.
10. Xue D, Gong Z, Zhu F, et al. Simvastatin increases cell viability and suppresses the expression of cytokines and vascular endothelial growth factor in inflamed human dental pulp stem cells in vitro[J]. Adv Clin Exp Med, 2018, 27(12): 1615-1623.
11. Sun DG, Xin BC, Wu D, et al. miR-140-5p-mediated regulation of the proliferation and differentiation of human dental pulp stem cells occurs through the lipopolysaccharide/toll-like receptor 4 signaling pathway[J]. Eur J Oral Sci, 2017, 125(6): 419-425.
12. Ginani F, Soares DM, de Oliveira Rocha HA, et al. Low-level laser irradiation induces in vitro proliferation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth[J]. Lasers Med Sci, 2018, 33(1): 95-102.
13. Chen Y, Zhao Q, Yang X, et al. Effects of cobalt chloride on the stem cell marker expression and osteogenic differentiation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth[J]. Cell Stress Chaperones, 2019, 24(3): 527-538.
14. Pourgonabadi S, Mousavi SH, Tayarani-Najaran Z, et al. Effect of zoledronate, a third-generation bisphosphonate, on proliferation and apoptosis of human dental pulp stem cells[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2018, 96(2): 137-144.
15. Qian H, Huang Q, Chen YX, et al. Caspase-9 was involved in cell apoptosis in human dental pulp stem cells from deciduous teeth[J]. Mol Med Rep, 2018, 18(1): 1067-1073.
16. Pourgonabadi S, Ghorbani A, Tayarani Najarn Z, et al. In vitro assessment of alendronate toxic and apoptotic effects on human dental pulp stem cells[J]. Iran J Basic Med Sci, 2018, 21(9): 905-910.
17. Salkin H, Gönen ZB, Ergen E, et al. Effects of TGF- β 1 overexpression on biological characteristics of human dental pulp-derived mesenchymal stromal cells[J]. Int J Stem Cells, 2019, 12(1): 170-182.
18. Xie Y, Shen G. MicroRNA-139-5p elevates skeletal myogenic differentiation of human adult dental pulp stem cells through Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. Exp Ther Med, 2018, 16(4): 2835-2842.

本文引用: 张志宏, 李钧, 王丁, 庄润涛. 烟雾提取物暴露对大鼠骨髓间充质干细胞凋亡的影响及其机制[J]. 临床与病理杂志, 2020, 40(5): 1100-1107. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.05.005

Cite this article as: ZHANG Zhihong, LI Jun, WANG Ding, ZHUANG Runtao. Effects of smoke extract exposure on apoptosis of rat bone mesenchymal stem cells and its mechanism[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2020, 40(5): 1100-1107. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.05.005