

大鼠骨髓间充质干细胞最适培养基的筛选*

王景阁, 俞小琴, 文继锐, 朱光光, 包明月, 何学令, 李良[△]

四川大学华西基础医学与法医学院 生物医学工程教研室(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨不同培养基对大鼠骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)生长的影响, 筛选对大鼠 BMSCs 生长较适宜的培养基。方法 采用全骨髓差速贴壁分离法从 SD 大鼠股骨和胫骨分离 BMSCs, 分别选用 DMEM-LG、 α -MEM、DMEM/F12 三种培养基分离培养大鼠 BMSCs。倒置相差显微镜下观察不同培养基对大鼠 BMSCs 形态均一化程度、克隆形成时间与第 14 天克隆形成数量、第 1 次传代时间、细胞增殖率以及细胞贴壁率等的影响; 流式细胞术鉴定并观察不同培养基对大鼠 BMSCs 表面抗原表达的影响。结果 与其他两组相比, 体外 DMEM-LG 培养基培养的大鼠 BMSCs 形态均一、克隆形成时间和第 1 次传代时间短、克隆形成数量多达 (14 ± 2) 个、细胞贴壁率高达 $(47.0 \pm 2.8)\%$; 同时, BMSCs 进入对数生长期仅需 4 d, 且平均增殖率最高, 单位时间内平均扩增数量最多, 3 d 总扩增数量达 $(2.2 \sim 2.7) \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$; 采用 DMEM-LG、 α -MEM、DMEM/F12 三种培养基分离培养的细胞均为大鼠 BMSCs, 且不同培养基对大鼠 BMSCs 表面抗原表达无明显影响。结论 DMEM-LG 培养基比较适合大鼠 BMSCs 的生长。

【关键词】 大鼠骨髓间充质干细胞 原代培养 培养基筛选

Screening of the Optimum Medium for Rat Mesenchymal Stem Cells WANG Jing-ge, YU Xiao-qin, WEN Ji-rui, ZHU Guang-guang, BAO Ming-yue, HE Xue-ling, LI Liang[△]. Institute of Biomedical Engineering, West China School of Basic Medical Science & Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China

[△] Corresponding author, E-mail: lilianghx@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of three different cell culture mediums, DMEM-LG, α -MEM and DMEM/F12, on the growth of rat bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) *in vitro*, and so that to screen out the most suitable medium for *in vitro* culturing the rat BMSCs. **Methods** BMSCs were isolated from the femur and tibia of SD rats by whole bone marrow differential adherence method. The isolated cells were then cultured with three culture mediums, DMEM-LG, α -MEM and DMEM/F12. The rat BMSCs morphology, adhesion, proliferation, the time of passage and the number the colony at day 14 in three mediums respectively were observed with inverted phase contrast microscopy and compared. Flow cytometry was used to identify and observe the effects of different mediums on the surface antigen expression of rats BMSCs. **Results** Compared with the other two groups of media, BMSCs cultured in DMEM-LG had shorter colony formation time, shorter first passage time, more clone formation (14 ± 2) and showed uniform morphology and the highest attachment efficiency $(47.0 \pm 2.8)\%$. Meanwhile, BMSCs cultured with DMEM-LG entered logarithmic growth phase after only 4 days of culturing and showed the highest average specific growth rate and the largest average number of propagations per unit time. The total number of cells reached about $(2.2 \sim 2.7) \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ within three days. The cells cultured with 3 mediums were all identified as rat BMSCs, and the expression of surface antigen in BMSCs was not significantly affected by different media. **Conclusion** DMEM-LG is more suitable for proliferation of rat BMSCs *in vitro*.

【Key words】 Rat BMSCs Primary culture Screening of the medium

骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)是一类具有多向分化潜能的成体干细胞, 常被用作组织工程种子细胞^[1-2]。但由于其在机体内的数量极少, 不能满足

临床组织工程的需要。因此, 如何建立高效快捷的体外大规模扩增技术已成为 BMSCs 应用中需要解决的重要问题。BMSCs 体外扩增受到诸多因素的影响, 其中最直接也是最重要的影响因素就是细胞所处的细胞外环境——培养基。培养基是细胞最直接的生存环境, 不同的培养基成分组成存在差异, 对细胞的生长分化能力存在一定影响。目前, 用于大鼠 BMSCs 体外培养的培养基并不统一, 主要有

* 国家自然科学基金项目(No. 11572209, No. 11872260, No. 51573112)资助

[△] 通信作者, E-mail: lilianghx@163.com

DMEM-LG、 α -MEM、DMEM/F12。但关于不同培养基对大鼠 BMSCs 生长及形态影响的文献报道较少。本研究旨在探讨 DMEM-LG、 α -MEM、DMEM/F12 三种不同培养基对大鼠 BMSCs 体外培养的影响,为满足临床和组织工程对 BMSCs 的需要提供实验数据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 1 月龄 SPF 级 SD 大鼠(雌雄不限),由四川大学实验动物中心提供。

1.1.2 主要试剂 胎牛血清(FBS)、DMEM-LG、 α -MEM、DMEM/F12 培养基干粉购自 HyClone 公司,噻唑蓝(MTT)购自 MCE 公司,青霉素、链霉素购自索来宝公司,抗 IgG、CD11b、CD45、CD90、CD29 抗体购自 BioLegend 公司。完全培养基:分别在 DMEM-LG、 α -MEM 和 DMEM/F 基础培养基中加 15% FBS+100 U/mL 青霉素+100 μ g/mL 链霉素,制备成 DMEM-LG 完全培养基、 α -MEM 完全培养基和 DMEM/F 完全培养基。

1.1.3 实验仪器 酶标分析仪(Thermo Fisher Scientific),CO₂ 培养箱(SANYO),低温离心机(Thermo Fisher Scientific),纯水仪(Milipore),倒置显微镜(OLYMPUS),血球计数板(上海求精),流式细胞仪(Thermo Fisher Scientific)。

1.2 方法

1.2.1 大鼠 BMSCs 的分离培养 采用颈椎脱臼法处死大鼠,无菌条件下分离股骨、胫骨,刮除肌肉、筋膜和骨膜,切除两端骨髓。用针筒吸取 10 mL 无血清培养液冲出骨髓,吹散细胞,2 000 r/min,离心 10 min,用相应的完全培养基分别收集细胞,以 2×10^6 mL⁻¹ 的密度接种 4 mL 细胞悬液于 25 cm² 的培养瓶,置于 37 ℃、体积分数 5% CO₂、饱和湿度的 CO₂ 孵箱,3 h 后首次换液,以后每 8 h 换 1 次液。72 h 后,每 3~4 d 换 1 次液,待原代细胞生长至 65%~70% 融合状态,用 2.5 mg/mL 胰蛋白酶消化传代。此后待细胞生长至 80%~90% 融合状态传代。

用 DMEM-LG、 α -MEM、DMEM/F12 三种完全培养基分别培养大鼠 BMSCs,在倒置显微镜下观察细胞在第一代(P1)、第三代(P3)和第五代(P5)的形态。

1.2.2 不同培养基对大鼠 BMSCs 克隆形成的影响 分别用 DMEM-LG、 α -MEM、DMEM/F12 三

种完全培养基分离培养原代大鼠 BMSCs,在倒置显微镜下观察细胞克隆形成的时间和数量。

1.2.3 不同培养基对大鼠 BMSCs 第一次传代时间的影响 分别用 DMEM-LG、 α -MEM、DMEM/F12 三种完全培养基分离培养原代大鼠 BMSCs,观察 BMSCs 达到第一次传代条件所需(即达 65%~70% 融合状态)的时间。

1.2.4 不同培养基对大鼠 BMSCs 增殖的影响 分别取用 DMEM-LG、 α -MEM、DMEM/F12 三种完全培养基分离培养的 P3 代生长良好的 BMSCs,2.5 mg/mL 胰蛋白酶消化后,以 6×10^3 mL⁻¹ 接种于 96 孔板,每孔 200 μ L,每天用 MTT 法测定细胞增殖情况,连续 9 d,以培养时间为横坐标,以光密度(OD)值为纵坐标,绘制细胞生长曲线。另取一批细胞,以 3×10^4 mL⁻¹ 接种于 12 孔板,每种培养基 3 孔,72 h 取样,用血球计数板计数细胞数量,计算 P3 代 BMSCs 扩增倍数。

扩增倍数 = n 代收获的细胞数/ n 代接种的细胞数

1.2.5 不同培养基对大鼠 BMSCs 贴壁的影响 分别取用 DMEM-LG、 α -MEM、DMEM/F12 三种完全培养基分离培养的 P3 代 BMSCs (在细胞培养瓶中长至 70%~80% 的融合状态),用 2.5 mg/mL 胰蛋白酶消化,以 1×10^5 mL⁻¹ 浓度接种于 6 孔板中,每孔 2 mL,置于 37 ℃、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中;2 h 后,用 2.5 mg/mL 胰蛋白酶消化细胞并计算贴壁率[贴壁率(%) = 贴壁细胞数/接种细胞数 $\times$ 100%],并以时间为横坐标,以贴壁率为纵坐标绘制贴壁率曲线。

1.2.6 大鼠 BMSCs 的表面抗原鉴定 分别取用 DMEM-LG、 α -MEM、DMEM/F12 三种完全培养基分离培养的 P3 代 BMSCs,用 2.5 mg/mL 胰酶消化,收集所有细胞,每管细胞数量 $\geq 5 \times 10^5$ 个,用常温 PBS 洗涤 2 次,分别加入 IgG、CD11b、CD45、CD90、CD29 抗体孵育 30 min,常温 PBS 洗涤 2 次,上流式细胞仪检测。

1.2.7 统计学方法 所有数据计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。各组组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同培养基对大鼠 BMSCs 形态的影响

如图 1 所示,观察用 DMEM-LG、 α -MEM、DMEM/F12 完全培养基分别培养的 P1、P3 和 P5

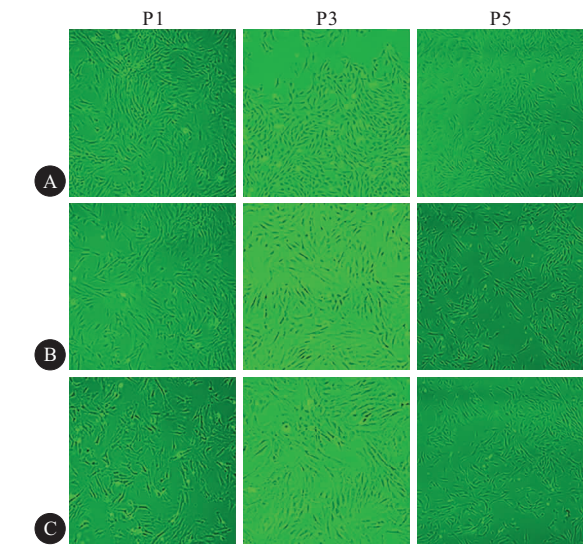


图 1 不同培养基对大鼠 BMSCs 形态的影响。×40
Fig 1 The effect of different media on morphology of rat BMSCs. ×40
A: DMEM-LG; B: α-MEM; C: DMEM/F12

大鼠 BMSCs 发现,P1 大鼠 BMSCs 均表现出形态不均一;当培养至 P3 时,大鼠 BMSCs 的形态均一化程度均有所提高,但 DMEM-LG 完全培养基培养的大鼠 BMSCs 的形态均一化程度高于 α-MEM、DMEM/F12 完全培养基培养的 BMSCs;而 α-MEM、DMEM/F12 完全培养基培养的细胞至第 5 代时,细胞形态才比较均一。提示,DMEM-LG 完全培养基更有利于大鼠 BMSCs 形态的均一化程度。

2.2 不同培养基对大鼠 BMSCs 克隆形成的影响

见图 2。用 DMEM-LG、α-MEM、DMEM/F12 完全培养基分别培养原代大鼠 BMSCs,观察细胞克隆形成的时间和数量。结果显示,DMEM-LG 完全培养基分离培养的大鼠 BMSCs 形成细胞克隆的平均时间为(7.7±1.5) d,短于用 α-MEM、DMEM/F12 完全培养基分离培养者[(10.7±2.1) d 和

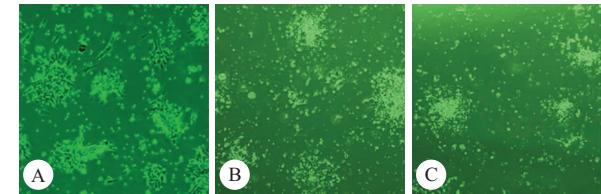


图 2 不同培养基对大鼠 BMSCs 克隆形成数量的影响。×40
Fig 2 The effect of different media on the number of clone formation of rat BMSCs. ×40
Primary rat BMSCs were cultured in DMEM-LG (A), α-MEM (B) and DMEM/F12 (C)

(13.7±2.1) d],差异有统计学意义($P<0.01$),而后两者的比较,差异也有统计学意义($P<0.05$)。同时,在培养 14 d 时,对细胞克隆计数发现,DMEM-LG 完全培养基分离培养的大鼠 BMSCs 形成的细胞克隆数为(14±2)个,高于用 α-MEM、DMEM/F12 完全培养基分离培养者[(10±1)个和(6±1)个],差异有统计学意义($P<0.01$),而后两者的比较,差异也有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 不同培养基对大鼠 BMSCs 第一次传代时间和增殖的影响

分别用 DMEM-LG、α-MEM、DMEM/F12 三种完全培养基分离大鼠 BMSCs,结果显示,DMEM-LG 完全培养基分离培养的大鼠 BMSCs 在(11.00±1.11) d 达到首次传代的融合状态(65%~70%),可进行传代。而用 α-MEM、DMEM/F12 完全培养基分离培养的大鼠 BMSCs 分别在(14.00±1.25) d 和(17.00±1.67) d 才达到首次传代的融合状态。而对 DMEM-LG、α-MEM、DMEM/F12 三种完全培养基分别培养的 P3 代生长良好的 BMSCs 进行细胞生长曲线观察发现(图 3),大鼠 BMSCs 的生长曲线基本为 S 型,细胞接种后 1~3 d 内,OD 值逐渐上升,细胞缓慢增殖;3 d 后,OD 值快速升高,细胞增殖加速。DMEM-LG 完全培养基分离培养的 BMSCs 在第 4 天进入对数生长期,第 6 天达到峰值,此时细胞铺满整个培养孔底面的大部分区域,细胞生长曲线显示 BMSCs 生长进入一个平台期;到第 9 天时,OD 值开始降低,细胞生长曲线显示细胞正在退化衰亡。而用 α-MEM、DMEM/F12 完全培养基分离培养的大鼠 BMSCs 至第 6 天进入对数生长期,第 7 天和第 8 天达到峰值。同时,对 DMEM-LG、α-MEM、DMEM/F12 三种完全培养基分别培养的 P3 代生长良好的 BMSCs 进行 3 d 扩增计数发现,DMEM-LG 完全培养基分离培养的 BMSCs 平均扩增倍数为 6.67 ± 1.60 ,细胞计数达 $(2.5 \sim 3.0) \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$,3 d 总扩增数量达 $(2.2 \sim 2.7) \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$,而 α-MEM、DMEM/F12 完全培养基分离培养的大鼠 BMSCs 扩增倍数分别为 5.67 ± 1.46 、 5.20 ± 1.43 ,细胞计数分别为 $(1.5 \sim 1.7) \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ 、 $(1.5 \sim 1.6) \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$,3 d 总扩增数量分别为 $(1.2 \sim 1.4) \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ 、 $(1.2 \sim 1.3) \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ 。以上结果表明,DMEM-LG 完全培养基培养的大鼠 BMSCs 进入对数生长期时间短,细胞扩增倍数大,单位时间内细胞扩增数量多,DMEM-LG 完全培养基更有利于

大鼠 BMSCs 的增殖。

2.4 不同培养基对大鼠 BMSCs 贴壁的影响

分别用 DMEM-LG、 α -MEM、DMEM/F12 三种完全培养基分离培养大鼠 BMSCs, 观察大鼠 BMSCs 贴壁情况。DMEM-LG 完全培养基分离培养的大鼠 BMSCs, 2 h 后贴壁率达 $(47.0 \pm 2.8)\%$, 而用 α -MEM、DMEM/F12 完全培养基分离培养的大鼠 BMSCs 2 h 后贴壁率分别为 $(27.6 \pm 2.0)\%$ 和 $(17.3 \pm 1.4)\%$, 该结果表明, DMEM-LG 完全培养基促进大鼠 BMSCs 贴壁的能力强于 α -MEM ($P < 0.05$)、DMEM/F12 完全培养基 ($P < 0.05$)。

2.5 不同培养基对大鼠 BMSCs 的表面抗原的影响

DMEM-LG、 α -MEM、DMEM/F12 培养基培养的 P3 代大鼠 BMSCs 均高表达 CD90、CD29, 其中 CD90 表达阳性率分别为 97.5%、97.3% 和 97.0%, CD29 表达阳性率分别为 96.8%、96.6% 和 95.9%, 并低表达 CD11b/c、CD45, 其中 CD11b/c 表达阳性

率分别为 1.5%、1.9% 和 2.9%, CD45 表达阳性率分别为 4.6%、7.2% 和 8.6% (图 4)。结果显示, DMEM-LG、 α -MEM、DMEM/F12 培养基对大鼠 BMSCs 表面抗原的表达无明显影响。

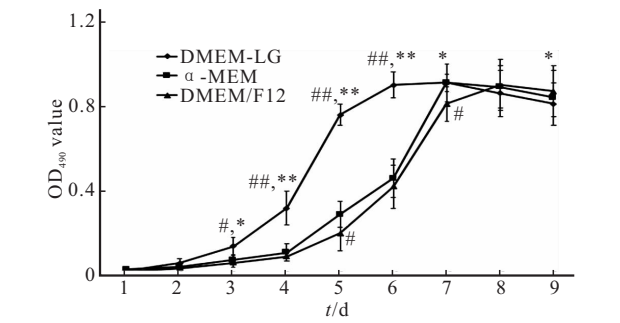


图 3 不同培养基对大鼠 BMSCs 增殖的影响
Fig 3 The effect of different media on the proliferation of rat BMSCs
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, vs. DMEM/F12 at the same time point; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, vs. α -MEM at the same time point

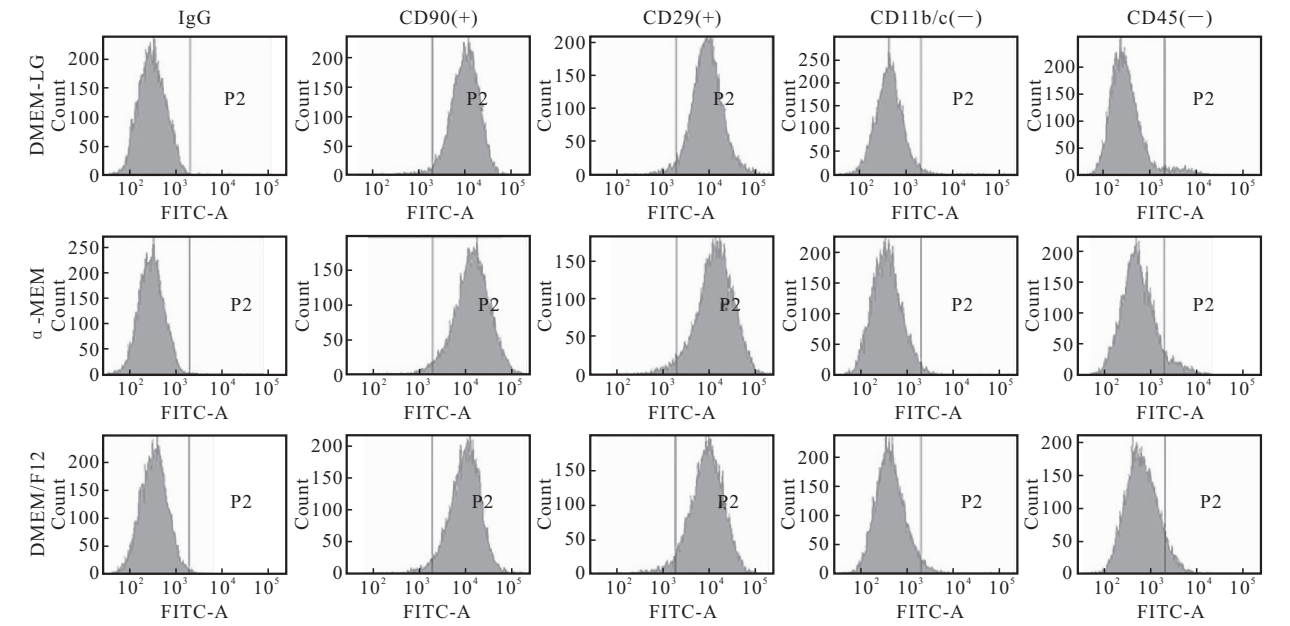


图 4 DMEM-LG、 α -MEM 和 DMEM/F12 分别培养的 BMSCs 表面抗原测定
Fig 4 The immunophenotypes of BMSCs cultured in DMEM-LG, α -MEM and DMEM/F12 were analyzed by flow cytometry
Cells were positive for CD90, CD44, but negative for CD11b/c, CD45

3 讨论

BMSCs 在体外培养和扩增是其在临床和组织工程中应用的基础。通过寻求 BMSCs 体外培养的合适的环境, 能使 BMSCs 在短时间内得到较高的扩增倍数, 得到较多数量的细胞; 从而满足临床和组织工程的需要。在诸多影响因素中, 培养基是构成细胞体外生存环境最直接的因素。因此, 寻求最适

合 BMSCs 生长的培养基的重要性不言而喻。目前用于 BMSCs 体外培养的培养基主要有以下 3 种: DMEM-LG、 α -MEM 和 DMEM/F12 培养基。不同的培养基其成分组成存在差异。近年来, 有研究报道了不同的培养基对 BMSCs 的影响, 但结果并不十分统一^[3-5]。本研究主要探讨 DMEM-LG、 α -MEM、DMEM/F12 培养基对大鼠 BMSCs 生长和增殖的影响差异, 结果显示, 以 DMEM-LG、 α -

MEM、DMEM/F12 分别培养大鼠 BMSCs,其细胞形态、克隆形成时间、克隆形成数量、第1次传代的时间、以及相同条件下贴壁率以及生长曲线和扩增倍数、单位时间内扩增数量都存在差异。其中,DMEM-LG 培养基培养的大鼠 BMSCs 形态比较均一,在 P3、P5 代均一程度均优于其它两组;克隆形成时间最短,14 d 克隆形成数量最多,第1次传代的时间也最短。在相同培养条件下,DMEM-LG 培养基培养的大鼠 BMSCs 贴壁率最高,进入对数生长期耗时最短,扩增倍数和 3 d 总扩增数量最高。有研究表明,进行体外细胞培养时,血清(包括各类蛋白和贴附因子)^[5-6]、二价阳离子^[7-8]、贴壁介质表面特性^[9-11]和培养基 pH 值^[12]等构成影响细胞贴壁的重要因素。其中,培养基 pH 在诸多因素中显得尤为重要,其对大鼠 BMSCs 的扩增、分化、成熟以及功能特性的影响较为明显。研究发现 DMEM-LG 和 DMEM/F12 的 pH 值相差 0.2~0.3,在加入相同碳酸氢钠情况下,DMEM/F12 的 pH 值明显偏碱,对体外培养大鼠 BMSCs 的增殖造成不利影响^[13-14]。同时,高浓度葡萄糖对细胞的生长也产生不利影响,因为高浓度葡萄糖代谢产生的乳酸较多,从而令干细胞增殖所需的微环境受到较高酸性代谢产物的影响,破坏细胞的生长环境,最终抑制细胞的生长^[15]。TENNANT 等^[16]研究也发现较低浓度的葡萄糖能减少细胞的凋亡,有利于细胞的增殖和集落形成。本研究中 DMEM-LG、 α -MEM、DMEM/F12 培养基中葡萄糖质量浓度分别为 1 000、1 000、3 151 mg/L,这可能是造成细胞集落形成和生长速度差异的原因之一。此外,培养基中谷氨酰胺对细胞的生长也至关重要,谷氨酰胺缺乏会导致细胞营养不良,甚至死亡^[17-18]。在 DMEM-LG、 α -MEM、DMEM/F12 三种培养基中,DMEM-LG 培养基中谷氨酰胺浓度(584 mg/L)高于 α -MEM(292 mg/L)以及 DMEM/F12(365 mg/L)培养基,从而有利于细胞的生长和增殖。本研究结果表明,在 DMEM-LG、 α -MEM、DMEM/F12 三种培养基中,DMEM-LG 是较适合大鼠 BMSCs 生长的培养基。

参 考 文 献

- [1] PATEL D, SHAH J, SRIVASTAVA A. Therapeutic potential of mesenchymal stem cells in regenerative medicine. *Stem Cells Int*, 2013, 2013: 496218 [2019-09-07]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3615627/pdf/SCI2013-496218.pdf>. doi:10.1155/2013/496218.
- [2] 李深,白玉萌,蓝晓艳,等.大鼠骨髓间充质干细胞培养方法的比较.大连医科大学学报,2014,36(2):132-136.
- [3] ZHANG L, PENG L, WU N, *et al.* Development of bone marrow mesenchymal stem cell culture *in vitro*. *Chin Med J*, 2012, 125(9):1650-1655.
- [4] 李倩晓,那荣妹,刘百亨,等. SD 大鼠骨髓间充质干细胞原代培养条件的选择. *中国老年学杂志*, 2017, 37(5):1084-1087.
- [5] HOCH A, LEACH J. Concise review: optimizing expansion of bone marrow mesenchymal stem/stromal cells for clinical applications. *Stem Cells Transl Med*, 2014, 3(5):643-652.
- [6] 王娟,马桂兰,王家敏.培养基对 MDCK 细胞贴壁率的影响. *甘肃畜牧兽医*, 2018, 48(10):75-77.
- [7] PRIEST A, SHAFRAZ O, SIVASANKAR S. Biophysical basis of cadherin mediated cell-cell adhesion. *Exp Cell Res*, 2017, 358(1):10-13.
- [8] BRASCH J, KATSAMBA P, HARRISON O, *et al.* Homophilic and heterophilic interactions of type II cadherins identify specificity groups underlying cell-adhesive behavior. *Cell Rep*, 2018, 23(6):1840-1852.
- [9] SHOTORBANI B, ALIZADEH E, SALEHI R, *et al.* Adhesion of mesenchymal stem cells to biomimetic polymers: a review. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017, 71:1192-1200.
- [10] 刘洋,韩东,华闻达,等.基底硬度与形貌协同对大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化的影响. *医用生物力学*, 2016, 31(3):218-226.
- [11] JIANG J, PAPOUTSAKIS E. Stem-cell niche based comparative analysis of chemical and nano-mechanical material properties impacting *ex vivo* expansion and differentiation of hematopoietic and mesenchymal stem cells. *Adv Healthc Mater*, 2013, 2(1):25-42.
- [12] COSTA D, SAVIO L, PRADIER C. Adsorption of amino acids and peptides on metal and oxide surfaces in water environment: a synthetic and prospective review. *J Phys Chem B*, 2016, 120(29):7039-7052.
- [13] KAGAMI H, AGATA H, INOUE M, *et al.* The use of bone marrow stromal cells (bone marrow-derived multipotent mesenchymal stromal cells) for alveolar bone tissue engineering: basic science to clinical translation. *Tissue Eng Part B Rev*, 2014, 20(3):229-232.
- [14] HEVEHAN D, WENNING L, MILLER W, *et al.* Dynamic model of *ex vivo* granulocytic kinetics to examine the effects of oxygen tension, pH, and interleukin-3. *Exp Hematol*, 2000, 28(9):1016-1028.
- [15] ZHOU Y, TSAI T, LI W. Strategies to retain properties of bone marrow-derived mesenchymal stem cells *ex vivo*. *Ann N Y Acad Sci*, 2017, 1409(1):3-17.
- [16] TENNANT G, TRURAN L, BAILRY-WOOD R, *et al.* Control of pH in human long-term bone marrow cultures with low-glucose medium containing zwitterion buffer lengthens the period of haemopoietic activity. *Br J Haematol*, 2000, 109(4):785-787.
- [17] DOS SANTOS G, HASTREITER A, SARTORI T, *et al.* L-glutamine *in vitro* modulates some immunomodulatory properties of bone marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cell Rev Rep*, 2017, 13(4):482-490.
- [18] TANG K, HU L, MA J, *et al.* Brief report: human mesenchymal stem-like cells facilitate floating tumorigenic cell growth via glutamine-ammonium cycle. *Stem Cells*, 2015, 33(9):2877-2884.

(2019-06-05 收稿, 2019-10-08 修回)

编辑 吕 熙