

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.06.002

尾静脉注射骨髓间充质干细胞对 1 型糖尿病幼鼠的治疗作用实验研究 *

褚亚男 鲍鹏丽 马士凤 王 静 周 娜 郑荣秀[△]

(天津医科大学总医院儿科 天津 300052)

摘要 目的:比较尾静脉注射骨髓间充质干细胞(BMSCs)治疗 1 型糖尿病(type 1 diabetes,T1D)幼鼠的效果。**方法:**选用 3 周龄 C57bl/c 幼鼠作为受试动物,连续 5 d 腹腔注射 50 mg/kg 的链脲佐菌素(STZ),建立 T1D 模型;采用酶消化法联合骨片法从 2 周龄 C57bl/c 幼鼠的胫骨和股骨中分离出 BMSCs;碱性磷酸酶(ALP)和油红 O 染色检测 P3 代 BMSCs 的诱导分化能力;流式细胞仪鉴定 P3 代 BMSCs 的细胞表型;采用生理盐水和不同剂量的 BMSCs(低剂量 6×10^5 cells/mL、中剂量 1.2×10^6 cells/mL 和高剂量 2.4×10^6 cells/mL)通过尾静脉输注的方式对 T1D 幼鼠进行治疗,定期检测 T1D 幼鼠的体重、血糖变化;T1D 幼鼠治疗 28 d 后,取其胰腺行病理学分析。**结果:**(1)3 周龄 C57bl/c 幼鼠注射 STZ 后 14 d,幼鼠表现为体重增长缓慢、血糖明显升高;(2)分离得到的 BMSCs 细胞呈长梭纤维状;BMSCs 成骨诱导 9 d,碱性磷酸酶(ALP)染色后细胞外基质有大量碱性磷酸酶表达;BMSCs 成脂诱导 14 d,油红 O 染色后细胞内有大量脂滴出现;流式细胞仪检测 BMSCs 细胞表型,BMSCs 不表达 CD31、CD34 和 CD45,高表达 CD29、CD90 和 CD105;(3)T1D 幼鼠经过 BMSCs 治疗后,其体内的血糖下降并保持稳定;H.E.和胰岛素免疫组织化学染色结果显示实验组 T1D 幼鼠的胰腺组织随着治疗时间的延长,其损伤的胰腺组织得到了逐步的恢复,而未经过任何治疗的 T1D 幼鼠,其胰腺组织的损伤在逐步加重。**结论:**尾静脉注射 BMSCs 对于 T1D 幼鼠有治疗效果。

关键词:I 型糖尿病;链脲佐菌素;骨髓间充质干细胞

中图分类号:R-33;R331.2;R587.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)06-1008-06

Experimental Study on the Therapeutic Effect of Tail Vein Injection of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells in Type 1 Diabetic Infant Rats*

CHU Ya-nan, BAO Peng-li, MA Shi-feng, WANG Jing, ZHOU Na, ZHENG Rong-xiu[△]

(Department of Pediatrics, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin, 300052, China)

ABSTRACT Objective: To compare the effect of tail vein injection of bone marrow mesenchymal stem cell on type 1 diabetes(T1D) in immature C56bl/c mice. **Methods:** 3 weeks old C56bl/c mice was injected streptozotocin(STZ) 50 mg/kg by intraperitoneal for 5 days. BMSCs were isolated from Tibia and Femur of C56bl/c mice by enzyme digestion and bone slice method. The induced differentiation ability of the BMSCs was detected by alkaline phosphatase staining and Oil-red-O staining. The flow cytometry was used to detect the phenotypes of BMSCs. The T1D mice were treated with normal saline and different doses of BMSCs by intravenous infusion, and the body weight and blood glucose of T1D mice were detected regularly. The pancreas of the T1D mice was taken for pathological analysis which were treated by BMSCs for 28 days later. **Results:** (1)The 3-weeks-old C56bl/c mice showed slow weight gain and significantly blood glucose 14 days after the STZ injection. (2) The BMSCs were exhibited long spindle like fibers. ALP and Oil-red-O staining showed that BMSCs could be induced to Osteoblast and adipocyte. Flow cytometry analysis showed that BMSCs overexpressed CD29, CD90 and CD105, and rarely expressed CD31, CD34 and CD45. (3) The blood glucose of T1D mice decreased and remained stable which treated with BMSCs. Pathological examinations on pancreas islets by H.E. staining and insulin immunohistochemistry demonstrated that the pancreas islet of T1D mice in MSC treatment groups were recovered with the time of treatment, while the without any treatment group of the pancreas islet was getting worse. **Conclusion:** BMSCs had a significant effect on T1D immature mice.

Key words: Type 1 Diabetes; Streptozotocin; Bone marrow Mesenchymal Stem Cells

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R331.2; R587.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)06-1008-06

前言

目前糖尿病患者人群逐步趋向低龄化,我国学龄年儿童患有小儿糖尿病的发生率正逐年呈上升趋势^[1,2]。目前治疗糖尿病

的方法主要是皮下注射胰岛素、口服二甲双胍,以及一些中西医结合的疗法,但是这些治疗方式只能减轻或延缓糖尿病及其并发症的发生和发展,不能完全根治糖尿病^[3-5]。此外,相关机构报道的移植胰腺或者β细胞可彻底治愈糖尿病,该方法一度使

* 基金项目:天津市自然科学基金项目(17JCZDJC36400);天津市卫生局科研基金项目(16KG123)

作者简介:褚亚男(1987-),女,硕士,住院医师,从事儿科内分泌方面的研究,E-mail:tianychuyn@126.com

△ 通讯作者:郑荣秀(1964-),女,博士,主任医师,教授,从事儿科内分泌及免疫疾病方面的研究,E-mail:18622815720@163.com

(收稿日期:2020-08-28 接受日期:2020-09-23)

糖尿病患者看到了治愈糖尿病的希望,但是该方法依然存在着供体缺乏及免疫排斥等一系列的问题^[6-8]。近年来,干细胞研究的兴起,使人们重新看到了治愈糖尿病的希望,干细胞是一类低免疫源性的细胞群体,其具备多向分化的潜能,在体外可诱导分化为骨、脂、软骨、心肌、胰岛等组织细胞^[9-12]。骨髓间充质干细胞是由中胚层发育而来,是存在于骨髓中的非造血干细胞,易于分离扩增,具有跨胚层多向分化的能力^[13-15]。自干细胞研究兴起后,有大量的实验研究证实采用骨髓间充质干细胞可以有效治疗 T1D,但是不同的研究人员对于 BMSCs 的使用剂量没有统一的规定,因此,本研究采用不同剂量的 BMSCs 治疗幼龄 T1D 幼鼠,以期找出治疗幼龄 T1D 幼鼠最适的细胞剂量,为临床应用 BMSCs 治疗幼龄 T1D 提供有效的数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 实验动物选用 2 周龄和 3 周龄的 C57bl/c 幼鼠,购自北京维通利华公司 SCXK(京)2016-0011,动物合格证号:11400700213528;饲养于天津医科大学实验动物中心,环境为 SPF 级,定期更换垫料,动物可自行进食及饮水,环境稳定恒定于 25℃,每 12 小时昼夜交替。

1.1.2 试剂、药品及仪器 链脲佐菌素(streptozotocin,STZ)、胰蛋白酶、油红 O、茜素红、II 型胶原酶、地塞米松、抗坏血酸、 β -甘油磷酸、胰岛素、IBMX(sigma 公司);DMEM/Ham'sF-12, H-DMEM 培养液,磷酸缓冲液(PBS)(Hyclone 公司);胎牛血清(Gbico 公司);CD29-PE、CD31-PE、CD34-PE、CD45-PE、CD105-PE 和 Sca-1-PE(BD 公司);苏木素-伊红染液(中杉金桥);OneTouch 血糖仪及试纸(强生公司);倒置相差显微镜、正置显微镜(Nikon 公司)。

1.2 方法

1.2.1 T1D 幼鼠动物模型 3 周龄 C57bl/c 幼鼠经过饲养适应期后,禁食禁水 12 h,称量空腹体重、测量空腹血糖并记录,记为 0 d。100 只幼鼠按照空腹体重计算幼鼠所需 STZ 的剂量,连续 5 d 为幼鼠腹腔注射 50 mg/Kg 的 STZ,注射 7 d 后,每隔 7 d 随机测量幼鼠血糖,以血糖 ≥ 16.7 mmol/L 为建模成功。

1.2.2 BMSCs 分离培养 取 2 周龄 C57bl/c 幼鼠,断颈处死,无菌条件取下四肢,剔除骨组织周围的肌肉组织及关节,眼科剪处理胫骨和股骨后采用 0.075%的 II 型胶原酶对骨组织进行消化处理(37℃,消化 1 h);终止消化,离心清洗骨组织后将其接种至 25 cm² 培养瓶中于二氧化碳培养箱中培养;5 d 后可见骨组织周围有细胞爬出,7 d 后采用 0.25%胰蛋白酶 +0.02%

EDTA 对 BMSCs 进行消化传代,待细胞长满至 80%时再次传代。

1.2.3 BMSCs 表型鉴定 分离培养 BMSCs,细胞传至 P3 代,将其制备成单细胞悬液,胎牛血清封闭 30 min,PBS 洗涤两次(1000 rpm,5 min),重悬后加入相应的抗体(CD29-PE、CD31-PE、CD34-PE、CD45-PE、CD105-PE 和 Sca-1-PE)进行孵育,孵育 45 min,再次用 PBS 洗涤两次,鞘液重悬后上机检测。

1.2.4 BMSCs 成脂成骨诱导后染色鉴定 P3 代 BMSCs 以一定密度接种至 6 孔板中,次日实验组更换成脂诱导液(H-DMEM+10%FBS+ 10^{-7} mol/L 地塞米松 +10 ng/mL 胰岛素 +0.5 μ mol/L IBMX)和成骨诱导液(H-DMEM+10%FBS+10 mmol/L β -甘油磷酸 + 10^{-7} mol/L 地塞米松 +50 μ g/mL 抗坏血酸),对照组更换为 H-DMEM+10%FBS,3 d 更换一次诱导液,成脂诱导 14 d 后,采用油红 O 进行染色鉴定;成骨诱导 9 d 后,采用碱性磷酸酶进行染色鉴定。

1.2.5 BMSCs 治疗 T1D 幼鼠 将建模成功的 C57bl/c 幼鼠随机抽取 40 只,分为 4 组,每组 10 只,实验设置治疗对照组和治疗实验组,治疗实验组根据给予细胞的剂量分为低剂量组、中剂量组和高剂量组;给药方式均为尾静脉给药,治疗对照组每只幼鼠给予 200 μ L 的生理盐水,实验组幼鼠每只给予 200 μ L 的生理盐水重悬的 BMSCs 细胞悬液,其中低剂量组的细胞密度为 6×10^5 cells/mL、中剂量的细胞密度为 1.2×10^6 cells/mL、高剂量的细胞密度为 2.4×10^6 cells/mL;另外随机抽取 10 只同周龄的 C57bl/c 幼鼠作为正常对照组。给予细胞治疗的当天记为 D0,D13 时为各组幼鼠再次进行细胞治疗;并于 D7、D14、D21 和 D28 时间段测量各组幼鼠的体重和血糖,D28 将各组幼鼠断颈处死,解剖取下所需的组织。

1.2.6 病理检测 T1D 幼鼠经过 28d 的 BMSCs 的治疗后,处死取下胰腺组织,多聚甲醛固定-石蜡包埋-病理切片-H.E.染色分析各组幼鼠胰腺组织病理变化。

1.3 统计学处理

统计图制作由 GraphPad5.0 软件完成;病理图片分析使用 Image-Pro-Plus6.0 软件完成;数据分析均采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 t 检验,统计所用软件为 SPSS18.0。

2 结果

2.1 BMSCs 培养

BMSCs 从骨片中爬出后呈放射状生长,并且细胞为长梭形和三角形,随着细胞的传代纯化,P3 代细胞呈漩涡式生长,细胞的形态为长梭形(图 1)。

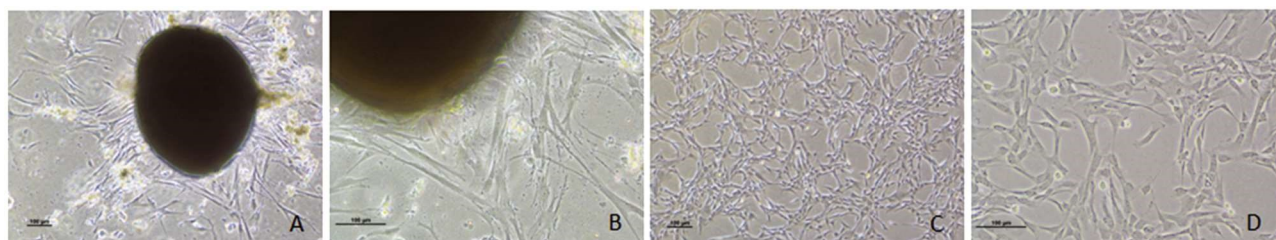


图 1 BMSCs 细胞形态

(A: P0 代 BMSCs 40、B: P0 代 BMSCs 100、C: P3 代 BMSCs 40、D: P3 代 BMSCs 100)

Fig.1 The morphology of BMSCs

(A: P0 BMSCs 40; B: P0 BMSCs 100; C: P3 BMSCs 40; D: P3 BMSCs 100)

2.2 BMSCs 鉴定

P3 代 BMSCs 成脂诱导 14 d, 细胞逐渐变的肥大, 经过油红 O 染色后, 可见细胞质内有脂滴出现, 并且形成的脂滴呈葡萄

萄串状; P3 代 BMSCs 成骨诱导 9 d, 对其进行碱性磷酸酶染色, 可见细胞质中有大量成骨分化蛋白 -ALP 表达(图 2)。

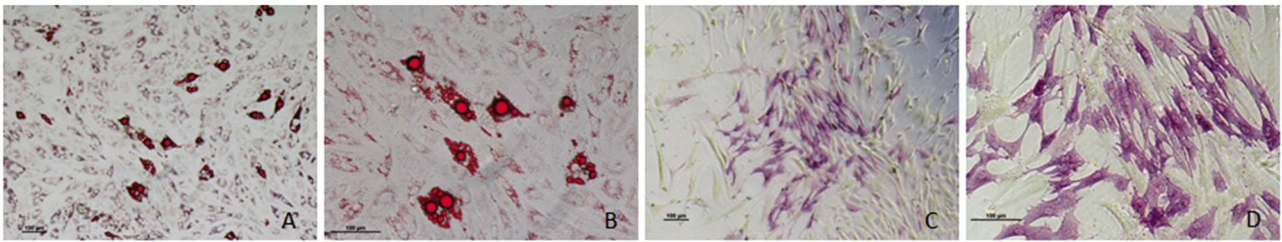


图 2 鉴定 BMSCs 的分化能力

(A 为成脂诱导分化油红 O 染色 40、B 为成脂诱导分化油红 O 染色 100、C 为成骨诱导分化 ALP 染色 40、D 为成骨诱导分化 ALP 染色 100)

Fig.2 Identification of differentiation ability of the BMSCs

(A-B: Adipogenic ability was confirmed by the Oil-red-O staining 40 and 100; C-D: Osteogenic ability was confirmed by the ALP staining 40 and 100)

P3 代 BMSCs 制备成单细胞悬液, 采用流式细胞仪对其进行细胞表面抗体鉴定, 流式检测结果表面, 幼鼠 BMSCs 细胞表

面不表达 CD31、CD34 和 CD45, 高表达 CD29、CD90 和 CD105(图 3)。

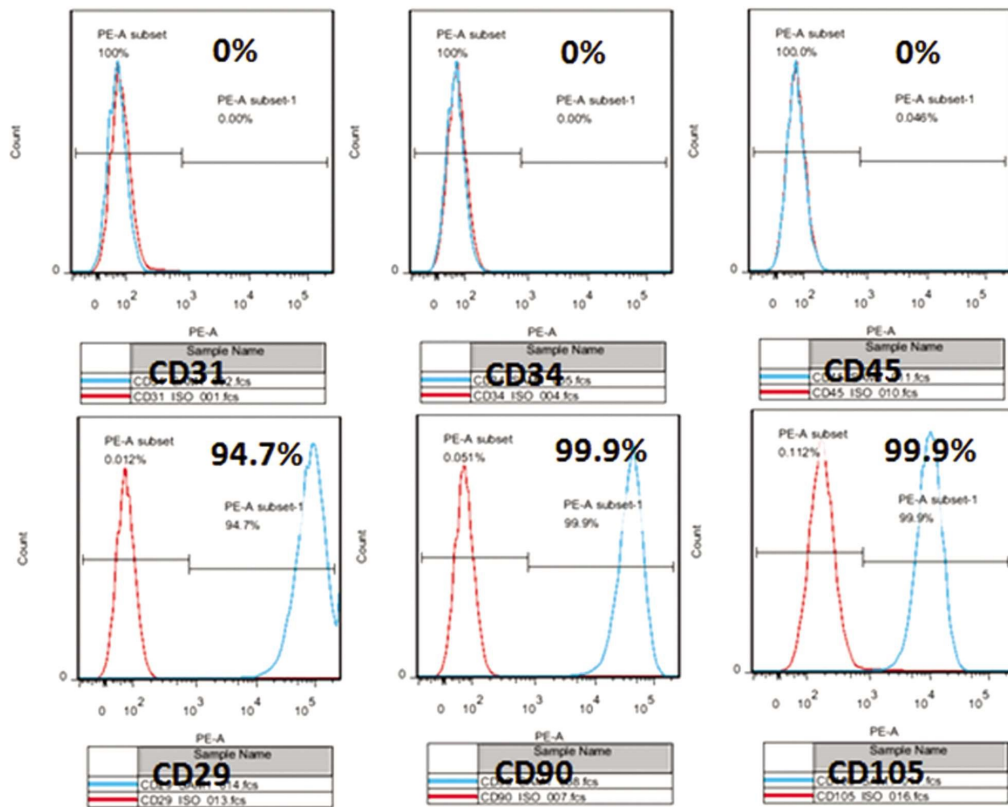


图 3 BMSCs 流式检测结果

Fig.3 BMSCs flow cytometry analysis

2.3 BMSCs 治疗 T1D

3 周龄 C57bl/c 幼鼠腹腔注射链脲佐菌素 2 w 后已建成 T1D 模型鼠, 此时对其进行治疗, 体重监测结果表明, T1D 幼鼠随着时间的延长其体重增长较为缓慢, 而经过 BMSCs 治疗的 T1D 幼鼠其体重增长较为显著 ($P < 0.05$) (表 1、图 4)。

3 周龄 C57bl/c 幼鼠腹腔注射链脲佐菌素 2 w 后, 血糖检测结果显示 C57bl/c 幼鼠体内血糖在 18 mmol/L 左右, 此时对其进行 BMSCs 移植治疗, 治疗 28 d 后, 治疗组 C57bl/c 幼鼠体内血糖均有所降低, 其中低剂量组由 17.93 ± 0.69 降至 $14.48 \pm$

0.57 ; 中剂量组由 18.14 ± 1.15 降至 12.70 ± 1.17 ; 高剂量组由 18.21 ± 1.07 降至 14.19 ± 1.08 ; 中剂量组 C57bl/c 幼鼠体内血糖降幅较大 ($P < 0.05$)。(表 2、图 5)。

T1D 幼鼠经过 28 d 的 BMSCs 细胞治疗后, 对胰腺组织进行病理学染色; H.E. 染色结果表明 T1D 幼鼠体内的胰腺组织遭到了严重的破坏, 无完整的胰岛结构存在; 经过 BMSCs 治疗的 T1D 幼鼠胰腺组织结构清晰可见, 组织结构较为完整; 尤其是 BMSCs 中剂量组的 T1D 幼鼠, 其体内的胰腺组织与正常组无显著性差异(图 6)。

表 1 BMSCs 治疗 T1D 幼鼠体重变化情况(n=10)

Table 1 The body weight of T1D immature mice changed by BMSCs treatment (n=10)

Groups	Body weight(g)				
	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d
NC	13.88± 1.44	15.53± 1.15	16.99± 1.21	18.59± 0.99	20.89± 1.11
T1D	12.57± 0.57	13.59± 0.64	14.89± 0.49	16.20± 0.65	17.31± 0.62
L-BMSCs	12.84± 0.92	14.27± 0.71	16.07± 0.88	17.65± 0.96	19.36± 0.76
M-BMSCs	12.79± 1.13	14.42± 1.04	16.14± 1.12	17.70± 0.95	19.50± 0.77
H-BMSCs	12.85± 1.02	14.40± 1.05	16.16± 1.26	17.77± 1.16	19.40± 1.20

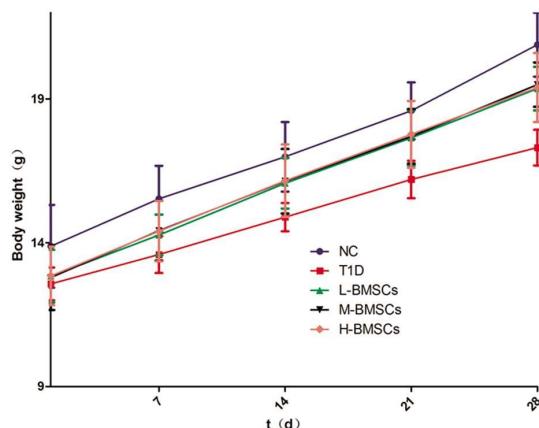


图 4 BMSCs 治疗 T1D 幼鼠体重变化(n=10)

Fig.4 The body weight of T1D immature mice changed by BMSCs treatment (n=10)

表 2 BMSCs 治疗 T1D 幼鼠血糖变化情况(n=10)

Table 2 The blood glucose level of T1D immature mice changed by BMSCs treatment (n=10)

Groups	Blood glucose level(mmol/L)				
	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d
NC	6.81± 0.89	5.96± 0.73	6.37± 0.53	6.54± 0.70	6.57± 0.64
T1D	18.48± 1.38	19.23± 1.50	19.46± 0.98	18.98± 1.69	19.66± 2.01
L-BMSCs	17.93± 1.69	14.71± 0.87	14.32± 1.56	14.15± 2.10	14.48± 1.89
M-BMSCs	18.14± 1.15	14.99± 1.59	14.20± 1.00	13.37± 1.02	12.70± 1.17
H-BMSCs	18.21± 1.07	14.43± 1.12	14.49± 1.07	14.13± 1.32	14.19± 1.08

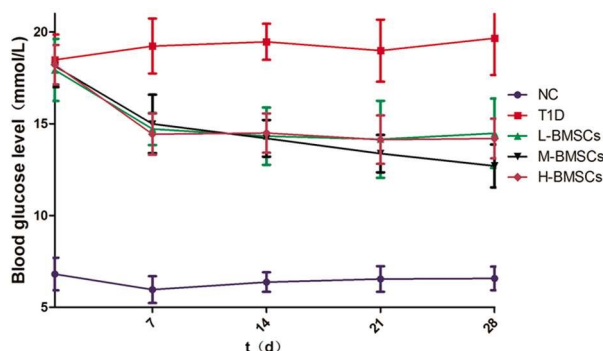


图 5 BMSCs 治疗 T1D 幼鼠血糖变化(n=10)

Fig.5 The blood glucose level of T1D immature mice changed by BMSCs treatment (n=10)

但是,这种治疗方式只能起到缓解症状的作用,不能彻底治愈。

T1D 幼鼠经过细胞治疗后 D28,取下幼鼠的胰腺,免疫组织化学染色结果表明 T1D 幼鼠体内的胰腺组织表达胰岛素的量较少,而经过 BMSCs 治疗后的幼鼠其胰腺组织中依然表达胰岛素;中剂量 BMSCs 治疗组幼鼠体内胰腺组织表达的胰岛素与正常组无显著性差异(图 7)。

3 讨论

研究表明目前糖尿病患者呈年轻化,尤其是现在儿童患有糖尿病的概率越来越高,就小儿糖尿病而言,大多数都为 1 型糖尿病,患儿发病时如果不能及时治疗,可能会引起患儿酮症酸中毒等情况,情节严重时可能会引起严重后果^[2,17,18]。目前,主要治疗糖尿病的方式是控制患者的饮食以及结合服用二甲双胍,或者皮下注射胰岛素的方式从而达到降低血糖的目的^[19-21]。

随着遗传发育学、再生医学的进步,近年来,科研人员应用干细胞治疗糖尿病及其并发症,并且在众多动物实验研究中,取得了卓越的成效^[22-24]。但是就目前而言,各个科研院所将干细胞应用于临床治疗各类疾病所采用的细胞剂量均有所不同。

本研究选用 C57bl/c 幼鼠作为受试动物,采用 STZ 作为建模剂,建立出稳定的幼鼠 T1D 模型,并采用幼鼠骨髓间充质干细胞作为种子细胞用于治疗 T1D 幼鼠。应用 BMSCs 治疗 T1D 幼鼠,通过体重和血糖监测结果可以直观的看到,T1D 幼鼠经过 BMSCs 治疗后其体重在逐步的上升,体重增重的比率显著性高于模型组;并且 T1D 幼鼠经过 BMSCs 治疗后其血糖得到了有效的控制,表现尤为突出的是中剂量 BMSCs 治疗组,T1D 幼鼠血糖从建模后的 18.14 ± 1.15 mmol/L 下降至 12.70 ± 1.17 mmol/L,低剂量 BMSCs 治疗组和高剂量 BMSCs 治疗组的幼

鼠血糖也有所降低,但与中剂量治疗组相比较,其 T1D 幼鼠体内血糖值依然高于中剂量治疗组。

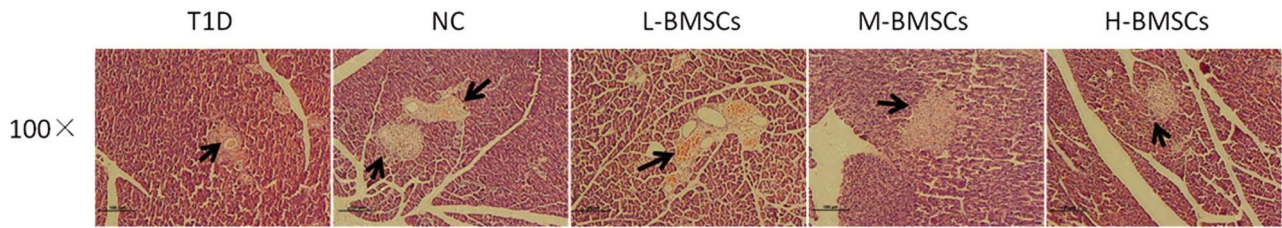


图 6 T1D 幼鼠胰腺 H.E.染色

Fig.6 Hematoxylin-eosin staining of the pancreas

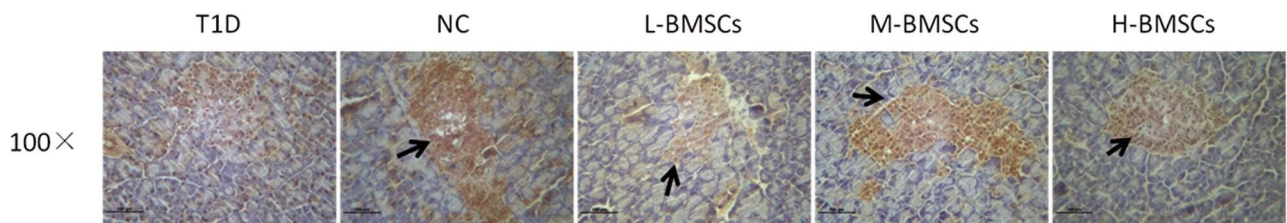


图 7 T1D 幼鼠胰腺组织 Insulin 免疫组织化学染色

Fig.7 Immunohistochemistry analysis of insulin on the pancreas

T1D 幼鼠经过 BMSCs 治疗,28 d 后取下各组幼鼠体内的胰腺组织,对其进行病理学染色分析,比较各组 T1D 幼鼠胰腺组织的结构和功能情况。通过 H.E.染色分析可以看出,未经过任何治疗的 T1D 幼鼠,其体内的胰腺组织较松散,无完整成形的胰岛结构,并且其胰岛中有炎症因子的浸润,而经过 BMSCs 治疗的 T1D 幼鼠其具备完整的胰腺组织,只有低剂量治疗组幼鼠体内的胰岛中有少量炎症因子的浸润,中剂量治疗组和高剂量治疗组幼鼠体内的胰岛无任何炎症因子的浸润。通过对胰腺组织的免疫组织化学染色分析可以看出,未经任何治疗的 T1D 幼鼠其体内的胰腺组织基本丧失了分泌表达胰岛素的功能,而经过 BMSCs 治疗的 T1D 幼鼠,其胰腺组织仍具备分泌胰岛素的功能。

从血糖的检测数值以及病理分析不同组别 T1D 小鼠胰腺组织的结果我们得到,T1D 小鼠经尾静脉移植 BMSCs 可有效降低小鼠体内的血糖,并且可修复受损的胰腺组织,促进胰腺组织分泌胰岛素从而发挥其降糖的作用。而各个实验组 T1D 小鼠在第一次移植 BMSCs 后,其血糖下降较为明显,这可能是因为 BMSCs 通过尾静脉进入 T1D 幼鼠体内,因归巢作用而迁移至胰岛部位,参与胰腺组织的修复,也有学者认为 BMSCs 分泌的细胞因子参与了胰腺组织的修复,从而降低了 T1D 幼鼠体内的血糖;而我们在第二次将 BMSCs 移植到 T1D 幼鼠体内后,各个实验组 T1D 幼鼠血糖未出现显著性降低的趋势,这可能是因为间充质干细胞第一次进入幼鼠体内后发挥了其修复胰腺组织的作用,从而降低了幼鼠体内的血糖,当再次移植 BMSCs 时,幼鼠体内可能还存在部分的 BMSCs,新移植的 BMSCs 经过血液循环,当其到达受损组织后,因为组织微环境受损严重,致使维持细胞生产的营养物质、氧气数量大大降低,只能维持一定数量的 BMSCs,因此当受损的组织达到维持 BMSCs 的数量时,移植的 BMSCs 发挥的作用就达到了瓶颈,因此 T1D 幼鼠体内的血糖值也就基本维持在了某一个数值^[25-30]。同时,我们的实验也存在一些不足,主要表现在用于治疗 T1D

幼鼠的 BMSCs 剂量选择方面存有一定的局限性,但是结合前人的研究基础,我们采用的 BMSCs 通过尾静脉输注的方式在治疗 T1D 幼鼠方面具备一定的疗效。

综上所述,本研究采用不同剂量的幼鼠 BMSCs 对 T1D 幼鼠进行治疗,通过对各组幼鼠的体重、血糖以及胰腺组织病理染色分析的比较,试图找出治疗 T1D 幼鼠的最适细胞剂量,希望通过动物实验研究所得出的数据为以后临床应用 BMSCs 治疗 T1D 小儿提供有效的数据支持。

参考文献 (References)

- [1] 顾俊菲,叶山东.二甲双胍对糖尿病相关肿瘤的作用 [J].安徽医科大学学报,2014,49(4): 557-560
- [2] 严莉莉,方朝晖.儿童青少年 1 型糖尿病患者营养管理的研究进展 [J].中医药临床杂志,2019,12: 2377-2380
- [3] Zhu Y, Jia YC, Wang YM, et al. Impaired bone regenerative effect of exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells in type 1 diabetes[J]. Stem Cells Transl Med, 2019, 8(6): 593-605
- [4] Danielle JB, Marc W, Carmen W, et al. Mesenchymal stromal cells improve transplanted islet survival and islet function in a syngeneic mouse model[J]. Diabetologia, 2014, 57: 522-531
- [5] 李冉冉,陈亚斌,仓顺东.骨髓间充质干细胞移植治疗糖尿病及其并发症的现状与研究进展 [J].中国糖尿病杂志,2018,26(2): 166-169
- [6] Dario G, Rosetta MW, Rosaline H, et al. Ex vivo expansion of murine MSC impairs transcription factor-induced differentiation into pancreatic β -cells[J]. Stem Cells International, 2019, 2019: 1395301
- [7] Xue J, Cheng Y, Hao HY, et al. Low-dose decitabine assists human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in protecting β -cells via the modulation of macrophage phenotype in type 2 diabetic mice [J]. Stem Cells International, 2020, 2020: 4689798
- [8] Wang L, Liu TL, Liang R, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate β cell dysfunction of human type 2 diabetic islets by reversing β cell dedifferentiation[J]. EbioMedicine, 2020, 51: 102615

- [9] Gao JQ, Cheng Y, Hao HJ, et al. Decitabine assists umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in improving glucose homeostasis by modulating macrophage polarization in type 2 diabetic mice[J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2019, 10: 259
- [10] Li B, Cheng Y, Yu SY, et al. Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell therapy ameliorates nonalcoholic fatty liver disease in obese type 2 diabetic mice [J]. *Stem Cells International*, 2019, 2019: 8628027
- [11] Suzy VM, Magdalena JL. Mesenchymal stromal/stem cell-derived extracellular vesicles in tissue repair: challenges and opportunities[J]. *Theranostics*, 2020, 10(13): 5979-5997
- [12] Qi YC, Ma J, Li AX, et al. Applicability of adipose-derived mesenchymal stem cells in treatment of patients with type 2 diabetes[J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2019, 10: 274
- [13] 郭波, 刘佳, 崔晓兰, 等. 人脐带间充质干细胞联合免疫干预治疗 1 型糖尿病小鼠的实验研究 [J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(13): 2016-2021
- [14] Domouky AM, Heqab AS, AI-Shahat A, et al. Mesenchymal stem cells and differentiated insulin producing cells are new horizons for pancreatic regeneration in type 1 diabetes mellitus [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2017, 87: 77-85
- [15] Li LR, Hui H, Jia XL, et al. Infusion with human bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves β -cell function in patients and non-obese mice with severe diabetes[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 37894
- [16] Sae WK, Zhu GQ, Bae WJ. Mesenchymal stem cells Treatment for Erectile Dysfunction in Diabetic Rats [J]. *Sexl Med Rev*, 2020, 8(1): 114-121
- [17] 王素妍, 蔡填, 李桂平, 等. 1 型糖尿病的青少年患者睾酮水平测定的临床意义[J]. *医学理论与实践*, 2019, 23: 3771-3773
- [18] Kakkar A, Sorout A, Tiwari M, et al. Current status of stem cell treatment for type 1 diabetes mellitus[J]. *Tissue Eng Regen Med*, 2018, 15(6): 699-709
- [19] Sokolova IB. Cell therapy for type 1 diabetes [J]. *Cell and Tissue Biology*, 2009, 3(6): 511-518
- [20] Perez KM, Hamburger ER, Lyttle M, et al. Sleep in type 1 diabetes: implications for glycemic control and diabetes management[J]. *Curr Diab Rep*, 2018, 18(2): 5
- [21] Mohsen KM, Mansoor B, Zhabiz S, et al. Adipose tissue derived mesenchymal stem cell (AD-MSC) promotes skin wound healing in diabetic rats[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2011, 93(2): 228-234
- [22] Black L, Zorina T. Cell-based immunomodulatory therapy approaches type 1 diabetes mellitus[J]. *Drug Discov Today*, 2020, 25(2): 380-391
- [23] Jang C, Matthew DA, Michael G, et al. A review of clinical trials: mesenchymal stem cell transplant therapy in type 1 and type 2 diabetes mellitus[J]. *Am J Stem Cells*, 2018, 7(4): 82-93
- [24] Kayleigh M, Ernst JT, Julia LM, et al. Activated mesenchymal stromal cells process and present antigens regulating adaptive immunity [J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10: 694
- [25] Zaazzeroni L, Lanzoni G, Pasquinelli G, et al. Considerations on the harvesting site and donor derivation for mesenchymal stem cells-based strategies for diabetes [J]. *CellR4 Repari Replace Regen Reprogram*, 2017, 5(5): e2345
- [26] Anupama K, Ashima S, Mahak T, et al. Current status of stem cell treatment for type I diabetes mellitus [J]. *Tissue Eng Regen Med*, 2018, 15(6): 699-709
- [27] Taeko SK, Joo YO, Kim DK, et al. MSC-derived extracellular vesicles attenuate immune responses in two autoimmune murine models: type I diabetes and uveoretinitis [J]. *Stem Cell Reports*, 2017, 8: 1214-1225
- [28] Fatemeh SS, Mohammad AZ, Forough S, et al. The effect of human wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells on MC4R, NPY, and LEPR gene expression levels in rats with streptozotocin-induced diabetes[J]. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 2020, 23: 214-223
- [29] Yu SY, Cheng Y, Zhang LX, et al. Treatment with adipose tissue-derived mesenchymal stem cells exerts antidiabetic effects, improves long-term complications, and attenuates inflammation in type 2 diabetic rats[J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2019, 10: 333
- [30] Lindsay CD, Jessica JA, Nina H, et al. Type 1 diabetes mellitus donor mesenchymal stromal cells exhibit comparable potency to healthy controls in vitro [J]. *Stem Cells Translational Medicine*, 2016, 5: 1485-1495