

间充质干细胞及其外泌体促血管再生的分子机制研究进展

陈俊秋, 黄梁浒*

福州总医院全军器官移植研究所, 福建福州 350025;

厦门大学附属东方医院福建省移植生物学重点实验室, 福建福州 350025

摘要 间充质干细胞具有多向分化潜能,并能招募血管内皮细胞,促进其增殖、迁移和血管形成,改善血流灌注和氧供。间充质干细胞分泌的外泌体含有其来源细胞特异性蛋白质和核酸,能够部分模拟间充质干细胞功能,具有成血管作用,且能透过血脑屏障和肠屏障等,可替代间充质干细胞治疗缺血性疾病的再血管化治疗。本文将对间充质干细胞及其外泌体的生物学特征、缺血性疾病中的促血管再生作用机制,以及低氧条件下低氧诱导因子-1 α 对间充质干细胞及其外泌体在缺血性疾病中的促血管再生作用机制的影响最新研究进展作一综述。

关键词 间充质干细胞; 间充质干细胞外泌体; 促血管再生作用; 低氧诱导因子-1 α

中图分类号 R329.28; R332.12

文献标识码 A

doi: 10.7534/j.issn.1009-2137.2018.06.047

Advances of Researchs on Molecular Mechanisms of Mesenchymal Stem Cells and Their Exosomes in Angiogenesis——Review

CHEN Jun-Qiu, HUANG Liang-Hu*

PLA Organ Transplantation Institute, Fuzhou General Hospital, Fuzhou 350025, Fujian Province, China; Fujian Provincial Key Laboratory of Transplant Biology, Dongfang Hospital Affiliated to Xiamen University, Fuzhou 350025, Fujian Province, China

* Corresponding Author: HUANG Liang-Hu, Associate Professor. E-mail: huanglianghu@xmu.edu

Abstract Mesenchymal stem cells (MSC) have the potential of multi-directional differentiation, and can recruit endothelial cells, promote their proliferation, migration and angiogenesis, improve blood perfusion and oxygen supplement, and repair damaged tissue. Exosome secreted by MSC contain mother cell-specific proteins, lipids and nucleic acids, and acts as signaling molecule, playing an important role in cell communication, thereby altering target cell function. In this review, the biological characteristics of MSC and its exosome, the mechanism of promoting vascular regeneration in patients with ischemic diseases, and the mechanism of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) in the vascular ischemia of ischemic diseases are all summarized briefly.

Key words MSC; exosome; angiogenesis; HIF-1 α

J Exp Hematol 2018; 26(6): 1858 - 1862

血管新生是指血管内皮细胞(vascular endothelial cells, VEC)增殖、迁移至微血管床上出芽生成新毛细血管的过程。缺血性疾病的发病机理是病理损伤导致血管内血流急剧降低或中断,使组织器官出现严重的持久性缺血缺氧损伤,导致组织器官功能丧失、发生坏死甚至危及生命。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)具有成血管作用,对组织损伤等缺血性疾病有较好疗效^[1]。但在某些疾病,如脑损伤性疾病,由于血脑屏障造成到达损伤部位的MSC数量严重不足,限制了细胞治疗效果^[2]。MSC来源的外泌体是MSC分泌的、直径为30-120 nm的微小膜泡,具有脂质双层结构,包含MSC特异性的蛋白质、脂质和核酸,可作为信号分子在细胞通

讯间起重要作用,具有促进血管生成作用^[3]。Lv等^[4]证实在低氧条件下,低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor 1 alpha, HIF-1 α)可以增强MSC的活性和迁移能力,且在低氧条件下HIF-1 α 过表达的MSC分泌外泌体增强了血管生成和血管通透性。本文将对MSC及其外泌体的促进血管再生作用及低氧影响的最新研究进展作一综述。

* 通讯作者: 黄梁浒, 副教授. E-mail: huanglianghu@xmu.edu
2017-11-14 收稿; 2018-01-02 接受

MSC 的生物学特性

MSC 是成体干细胞之一,由于来源不同,不同实验室采用不同的培养方法,使得 MSC 的体外扩增倍数存在差异。褚建新^[5]等分离 Balb/c、C57BL/6 等 5 种不同品系小鼠的 MSC,结果细胞集落形成单位相差较大。不同的时间和细胞接种密度也会影响 MSC 的生长与增殖,将 FVB/N 骨髓 MSC 分别于 4、24 和 72 h 接种,其细胞集落形成单位呈线性增加;将 Lewis 大鼠骨髓 MSC 以每平方厘米 2 个细胞和 16 个细胞接种 12 h 后,前者的细胞产量是后者的 2.5 倍。MSC 具有多向分化潜能,并能分泌多种细胞因子,招募 VEC,促进 VEC 的增殖、迁移和血管形成,改善血流灌注和氧供,修复损伤组织。因此 MSC 一直是缺血性疾病血管再生治疗的研究热点^[6]。Madrigal 等^[7]研究表明,MSC 都能持续分泌外泌体。外泌体经周围细胞吸收或/和循环也可存在于多种体液,如尿液、血液、脑脊髓液等,同时也可存在于多种类型细胞的培养液中。外泌体在蔗糖梯度浓度液中的沉降系数为 1.10 - 1.21 g/ml,通过超高速离心所获得的外泌体在电子显微镜下呈杯状结构。Nawaz 等^[8]采用蛋白质组学方法分析发现外泌体表面含有相同特征的标记蛋白,如四次跨膜蛋白(CD9、CD63、CD81)、Alix、HSP70、MHC 分子等,因此认为这些分子均可作为外泌体的鉴定指标之一。MSC 的旁分泌在组织修复中起着至关重要的作用^[9],同时因 MSC 外泌体含有其来源细胞特异性蛋白质和核酸,能够部分模拟 MSC 功能,且能透过血脑屏障和肠屏障等^[10]。应用外泌体替代 MSC 治疗缺血性疾病的血管再生治疗是另一研究热点。

MSC 及其外泌体在缺血性疾病中的应用

MSC 在缺血性疾病中的应用

MSC 已初步用于各种疾病和组织再生的细胞和基因治疗^[11],在治疗心血管疾病和组织损伤方面已显示出良好的前景^[12,13]。MSC 表达多个细胞谱系的 mRNA,也表达参与血管生成的多种抗原^[14]。Ikhaph 等^[15]将骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSC)置于血管紧张素 II 和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的条件培养液中进行培养,结果 BMSC 能被诱导分化为 VEC,且表达 VEC 特异标志物 Flk-1、Flt-1 和 vWF;并能在半固体培养基中形

成毛细血管样结构。

MSC 不仅具有分化为 VEC 的能力,且具有促血管生成的潜能。来源于人脐带血、羊水的 MSC 都能够分化为 VEC^[16-17]。Dona 等^[16]将脐带间充质干细胞(Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell, UC-MSC)在 50 ng/ml 的 VEGF 和 3% 的 FBS 条件下孵育 2 周后,细胞开始表达多种内皮谱系表面标志物,同时分化细胞能够摄取低密度脂蛋白并形成管网状结构。Tancharoen 等^[17]在人羊水 MSC(Human amniotic fluid mesenchymal stem cell, hAF-MSC)血管生成实验中,检测到 VEC 的自分化,并且 VEGF 诱导后增强了该过程。MSC 不仅自身分化为 VEC,也可分泌多种生长因子如 VEGF、基质细胞因子-1 等来调节内皮系的干/祖细胞向成熟内皮细胞分化促进血管再生^[18]。

临床前试验已经证实,MSC 有助于修复小鼠缺血性心肌病^[19]、糖尿病足^[20]等缺血性疾病和组织损伤。糖尿病大鼠溃疡中涂抹人 MSC 10 d 后,显著降低糖尿病足大鼠溃疡面积,VEGF 蛋白表达上调;同时人 MSC 治疗组血管密度明显增加。Bian 等^[19]将 MSC 植入心肌梗死大鼠,发现在移植区能形成新生血管,增强了血流恢复。Gong 等^[21]应用大鼠心肌梗死模型比较 BMSC、脂肪 MSC(adipose mesenchymal stem cell, ADMSC)和子宫内膜 MSC(endometrium mesenchymal stem cells, EnMSC)对心肌内注射细胞的疗效,结果显示 EnMSC 具有更强的心脏保护功能,并能增强微血管密度。

MSC 外泌体在缺血性疾病中应用

外泌体表现出其来源细胞的免疫调节和细胞保护活性^[22]。MSC 外泌体在心肌缺血/再灌注损伤^[21]、脑损伤模型中表现出保护性作用^[10]。MSC 分泌的外泌体会被 VEC 高效吸收,实验证实外泌体通过 ERK/Akt 信号刺激 VEC 迁移和血管形成。对促血管生成因子进行分析,发现细胞外基质金属蛋白酶诱导因子(extracellular matrix metalloproteinase inducer, EMMPRIN)的水平较高,敲除 EMMPRIN 基因后 VEC 的促血管生成作用明显减弱。因此,MSC 外泌体强大的促血管生成作用主要是通过外泌体的 MMPIN 实现的^[23]。

MSC 介导的血管生成以及干细胞与内皮细胞间的通讯中,外泌体携带的 microRNA 起着重要作用。Saif 等^[24]研究表明, microRNA 是内皮细胞功能和血管生成的重要调控因子,如 miRNA-424 通过靶向 cullin 2 促进血管新生。ADMSC 外泌体可以被

VEC 摄取,并在体外和体内显著促进血管生成。miR-125a 富集于 ADMSC 外泌体中,并通过靶向其 3 非翻译区抑制血管生成抑制剂(Delta-like ligand 4, DLL4) 的表达。此外,miR-125a 可以通过促进 VEC 的形成来抑制 DLL4 表达并调节 VEC^[25]。将诱导多能干细胞来源的 MSC (Induced pluripotent stem cell derived MSC, iPS-MSC) 分泌的外泌体静脉注射类固醇诱导的大鼠股骨头坏死模型,3 周后评估外泌体对 VEC 的影响,以及 VEC 血管生成相关 PI3K/Akt 信号通路的表达水平。结果显示,与对照组相比,iPS-MSC 外泌体显著阻止了骨丢失,并增加了股骨头微血管密度。该外泌体显著增强了 VEC 的增殖、迁移和血管形成能力;同时激活 VEC 的 PI3K/Akt 信号通路。由此可见,iPS-MSC 外泌体通过促进局部血管生成和预防骨质流失对大鼠股骨头坏死起到预防作用,其机制可能归因于 PI3K/Akt 信号通路在 VEC 上的活化^[26]。

HIF-1 α 影响 MSC 及其外泌体在缺血性疾病中的作用

HIF-1 α 是一种适应细胞内氧浓度的核转录因子^[27]。正常生理条件下,HIF-1 α 处于表达和降解的动态平衡。当氧浓度增加时,HIF-1 α 被羟基化并与肿瘤抑制因子相互作用,导致 HIF-1 α 的泛素化和降解。当组织细胞缺氧时,羟基化被抑制,HIF-1 α 蛋白水平提高^[28]。研究证明,接触模拟缺血微环境不仅可以提高一些促血管发生蛋白和功能性微小 RNA 在 MSC 中的表达,而且也提高了它们在外泌体中的表达。这些 MSC 及其外泌体含有较多强大的促血管再生成分,能够诱导血管再生^[29]。

HIF-1 α 影响 MSC 在缺血性疾病中的作用

尽管 MSC 移植在组织损伤等缺血性疾病中疗效显著,但损伤部位移植细胞的数量不足一直是亟待解决的问题。HIF-1 α 能够介导缺血缺氧的适应性反应。Konig 等^[30] 研究报道,血管内皮细胞能够通过细胞直接接触诱导共培养的 MSC 向 VEC 和血管平滑肌细胞分化,而在缺氧条件下共培养的 MSC 能更高效向内皮分化,其机制可能与 VEC 分泌的细胞外基质和促血管生成的细胞因子有关。HIF-1 α 是 VEGF 表达密切相关的转录因子,缺氧条件下激活,在血管形成中起重要作用^[31]。低氧通过 HIF-1 α 增强了胎盘 MSC (placenta-derived mesenchymal stem cell, PMSC) 的保护作用。PMSC 用于创伤治疗时,

能加速上皮形成,促进肉芽组织生成和促进血管生成^[4];同时 PMSC 也可以提高创伤愈合和新毛细血管的形成。

Lin 等^[2] 实验证实,HIF-1 α 过表达的 MSC 促进了 MSC 的细胞活力和迁移能力,且在低氧缺血性脑损伤治疗具有更好的疗效。导入 HIF-1 α 基因的过表达载体或干扰 RNA 后,缺氧提高了 MSC 的活力和上调 HIF-1 α 的表达;HIF-1 α 过表达促进细胞存活,抑制细胞凋亡。相反,HIF-1 α 基因干涉后抑制了细胞存活,促进了细胞凋亡。这些结果表明,HIF-1 α 可以提高 MSC 的生存、抑制凋亡,HIF-1 α 对缺氧条件下 MSC 存活有保护作用^[6, 32]。

低氧预处理有效提高了移植后骨髓基质干细胞的存活率,增加了对损伤组织的保护作用。将缺氧和非缺氧预处理的 BMMSC 注射到脊髓缺血/再灌注损伤 SCIRI 大鼠的脊髓组织中,低氧预处理促进了 BMMSC 对 SCIRI 大鼠的保护作用。Jun 等^[33] 发现,在缺氧条件下,hAF-MSC 可以加速皮肤创面愈合。低氧不仅增加了 hAF-MSC 的增殖速度,而且能分泌更多的 VEGF 和 TGF- β 1。此外,低氧产生的外泌体能增强人皮肤成纤维细胞的增殖和迁移,并在皮肤损伤模型中加速创面愈合。该创面愈合增强作用是由激活 TGF- β /SMAD2 和 PI3K/AKT 介导的。由此可见,低氧通过各种因子,特别是 HIF-1 α 增强了 MSC 的保护效应,并且通过促进血管生成等作用促进创面的修复。

HIF-1 α 影响 MSC 外泌体在缺血性疾病中的作用

MSC 通过缺氧诱导 HIF-1 α 的机制促进血管生成。HIF-1 α 在 MSC 中的过表达通过在移植组织中诱导血管生成来改善其治疗潜力。HIF-1 α 过表达供体 MSC (HIF-1 α -MSC) 外泌体分泌能力增强。并且发现 Jagged1 是包裹在 MSC 外泌体中的唯一 Notch 配体,在 HIF-1 α -MSC 中比在 MSC 对照中更丰富。源自稳定过表达 HIF-1 α 的 MSC 的外泌体通过 Jagged1 的包装,部分地提高血管生成能力,说明其具有治疗缺血相关疾病的潜在应用能力^[34]。

在低氧条件下,MSC 外泌体作用于 VEC,促进 VEC 生长、刺激血管生成,这与外泌体增强 EGFR 的表达和激活 ERK1/2 信号通路有关,使 VEC 迁移、小管形成及血管新生。NO 释放聚合物可以促进外泌体的促血管生成成分,并增强其促血管生成能力。研究表明,通过 NO 刺激从 PMSC 释放的外泌体增强了人脐静脉血管内皮细胞的血管生成作用。此外,通过从 NO 刺激的 PMSC 释放的外泌体

在后肢缺血的鼠模型中显示出优异的血管生成作用和改善肢体功能。进一步分析表明,从 NO 刺激 PMSC 释放的外泌体是促进血管生成过程的新机制^[35]。

miRNA-210 是一种由 HIF-1 α 调节的 microRNA, MSC 在缺氧的条件下, microRNA-210 的表达量上调约 10 倍左右,其分泌的外泌体上升约 25 倍,且外泌体中 microRNA-210 的表达也上调了。同时用 miRNA-210 mimic 分别转染 HUVEC 和 H9C2,与低氧条件下 MSC 外泌体有相似的血管形成和抗凋亡的生物学作用。Jun 等^[33] 研究发现鼠胚胎干细胞来源的外泌体可以减缓 H9C2 细胞的死亡,并增加 HUVEC 的成血管作用。基因芯片证实外泌体中含有差异表达 miRNA290,可能和 Akt 磷酸化相关。

结语

组织损伤修复的关键因素之一就是血管新生。MSC 具有多向分化潜能,并招募 VEC,促进 VEC 的增殖、迁移和血管形成,改善血流灌注和氧供,修复损伤组织。但是在某些疾病治疗中 MSC 能到达靶组织的数量较少,限制了细胞治疗效果。另外,尽管 MSC 被认为是安全可行的治疗策略,但仍有可能出现潜在的风险和并发症,如诱导衰老、免疫介导排斥、遗传不稳定性、功能特性丧失以及随之而来的恶性转化。MSC 外泌体具备其来源细胞特异性蛋白质和核酸,具有成血管作用,且能透过血脑屏障和肠屏障等。同时外泌体也具有大规模获取、活性高、使用安全、不能增殖、更容易保存和转移、更适合体内环境等优势。从这个角度来看, MSC 外泌体可能克服这些局限性,提供新的安全的无细胞治疗方案。然而,用于临床治疗的外泌体数量无法标准化,加上外泌体制剂的蛋白质污染,造成外泌体蛋白含量可能不准确,但 MSC 外泌体的促血管作用,有望弥补 MSC 的不足,成为缺血性疾病有效治疗策略之一。

参考文献

- 1 Wong SP, Rowley JE, Redpath AN, *et al.* Pericytes, mesenchymal stem cells and their contributions to tissue repair. *Pharmacol Ther*, 2015; 151: 107 - 120.
- 2 Lin D, Zhou L, Wang B, *et al.* Overexpression of HIF-1 α in mesenchymal stem cells contributes to repairing hypoxic - ischemic brain damage in rats. *C R Biol*, 2017; 340(1): 18 - 24.
- 3 Chen J, Liu Z, Hong MM, *et al.* Proangiogenic compositions of microvesicles derived from human umbilical cord mesenchymal stem

cells. *PLoS One*, 2014; 9(12): e115316.

- 4 Lv BK, Li F, Fang J, *et al.* Hypoxia inducible factor 1 α promotes survival of mesenchymal stem cells under hypoxia. *Am J Transl Res*, 2017; 9(3): 1521 - 1529.
- 5 褚建新, 王杨. 骨髓间充质干细胞的生物学特征及应用. *现代神经疾病杂志*, 2003; 3(3): 174 - 177.
- 6 Kong P, Xie X, Li F, *et al.* Placenta mesenchymal stem cell accelerates wound healing by enhancing angiogenesis in diabetic Goto - Kakizaki (GK) rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013; 438(2): 410 - 419.
- 7 Madrigal M, Rao KS, Riordan NH. A review of therapeutic effects of mesenchymal stem cell secretions and induction of secretory modification by different culture methods. *J Transl Med*, 2014; 12(1): 260.
- 8 Nawaz M, Fatima F, Vallabhaneni KC, *et al.* Extracellular vesicles: evolving factors in stem cell biology. *Stem Cells INT*, 2016; 2016(1): 1 - 17.
- 9 Zhang B, Luo Q, Halim A, *et al.* Directed differentiation and paracrine mechanisms of mesenchymal stem cells: potential implications for endon repair and regeneration. *Curr Stem Cell Res T*, 2017; 12(6): 447 - 454.
- 10 Zhang Y, Chopp M, Meng Y, *et al.* Effect of exosomes derived from multipotential mesenchymal stromal cells on functional recovery and neurovascular plasticity in rats after traumatic brain injury. *J Neurosurg*, 2015; 122(4): 856 - 867.
- 11 Zhao Y, Wang X, Dong P, *et al.* Bone marrow derived mesenchymal stem cells alleviated brain injury *via* down - regulation of interleukin - 1 β in focal cerebral ischemic rats. *Am J Transl Res*, 2016; 8(3): 1541 - 1550.
- 12 Chou SH, Lin SZ, Kuo WW, *et al.* Mesenchymal stem cell insights: prospects in cardiovascular therapy. *Cell Transplant*, 2014; 23(4 - 5): 513 - 529.
- 13 Burgos Silva M, Semedo Kuriki P, Donizetti Oliveira C, *et al.* Adipose tissue - derived stem cells reduce acute and chronic kidney damage in mice. *PLoS One*, 2015; 10(11): e0142183.
- 14 Pankajakshan D, Kansal V, Agrawal DK. *In vitro* differentiation of bone marrow derived porcine mesenchymal stem cells to endothelial cells. *J Tissue Eng Regen Med*, 2013; 7(11): 911 - 920.
- 15 Ikhaphoh IA, Pelham CJ, Agrawal DK. Synergistic effect of angiotensin II on vascular endothelial growth factor - A - mediated differentiation of bone marrow - derived mesenchymal stem cells into endothelial cells. *Stem Cell Res Ther*, 2015; 6(1): 4.
- 16 Dona CC, Le TL, Hoang NS, *et al.* Differentiation of umbilical cord lining membrane - derived mesenchymal stem cells into endothelial - like cells. *Iran Biomed J*, 2013; 18(2): 67 - 75.
- 17 Tancharoen W, Aungsuchawan S, Pothacharoen P, *et al.* Differentiation of mesenchymal stem cells from human amniotic fluid to vascular endothelial cells. *Acta Histochem*, 2017; 119(2): 113 - 121.
- 18 Liang XT, Ding Y, Zhang YL, *et al.* Paracrine mechanisms of mesenchymal stem cell - based therapy: current status and perspectives. *Cell Transplant*, 2014; 23(9): 1045 - 1059.
- 19 Bian S, Zhang L, Duan L, *et al.* Extracellular vesicles derived from human bone marrow mesenchymal stem cells promote angiogenesis in a rat myocardial infarction model. *J Mol Med*, 2013; 92(4): 387 -

- 397.
- 20 Wang Y , Dan QQ , Wang QP , *et al.* Human umbilic mesenchymal stromal cells repairs diabetic foot in rats associated with VEGF expressional change. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* ,2014; 45 (1) : 29 – 33.
- 21 Gong M , Yu M , Wang JC , *et al.* Mesenchymal stem cells release exosomes that transfer miRNAs to endothelial cells and promote angiogenesis. *Oncotarget* ,2017; 8(28) : 45200 – 45212.
- 22 Yu B , Zhang X , Li X. Exosomes derived from mesenchymal stem cells. *INT J Mol Sci* ,2014; 15(3) : 4142 – 4157.
- 23 Vrijssen KR , Maring JA , Chamuleau SA *et al.* Exosomes from cardiomyocyte progenitor cells and mesenchymal stem cells stimulate angiogenesis *via* EMMPRIN. *Adv Healthc Mater* ,2016; 5(19) : 2555 – 2565.
- 24 Saif J , Emanueli C. miRNAs in post – ischaemic angiogenesis and vascular remodelling. *Biochem Soc T* ,2014; 42(6) : 1629 – 1636.
- 25 Liang X , Zhang L , Wang S , *et al.* Exosomes secreted by mesenchymal stem cells promote endothelial cell angiogenesis by transferring miR – 125a. *J Cell Sci* ,2016; 129(11) : 2182 – 2189.
- 26 Liu X , Li Q , Niu X , *et al.* Exosomes secreted from human – induced pluripotent stem cell – derived mesenchymal stem cells prevent osteonecrosis of the femoral head by promoting angiogenesis. *Int J Biol Sci* ,2017; 13(2) : 232 – 244.
- 27 Zimna A , Kurpisz M. Hypoxia – inducible factor – 1 in physiological and pathophysiological angiogenesis: applications and therapies. *BioMed Res Int* ,2015; 2015: 549412.
- 28 Pagoulatos D , Pharmakakis N , Lakoumentas J , *et al.* Hypoxia – inducible factor – 1 α , von Hippel – Lindau protein , and heat shock protein expression in ophthalmic pterygium and normal conjunctiva. *Mol Vis* ,2014; 20(16) : 441 – 457.
- 29 Agarwal U , George A , Bhutani S *et al.* Experimental , systems , and computational approaches to understanding the microRNA – mediated reparative potential of cardiac progenitor cell – derived exosomes from pediatric patients. *Circ Res* ,2017; 120(4) : 701 – 712.
- 30 Konig J , Weiss G , Rossi D , *et al.* Placental mesenchymal stromal cells derived from blood vessels or avascular tissues: what is the better choice to support endothelial cell function? *Stem Cells Dev* , 2015; 24(1) : 115 – 131.
- 31 Ahna GO , Seitac J , Hong BJ , *et al.* Transcriptional activation of hypoxia – inducible factor – 1 (HIF – 1) in myeloid cells promotes angiogenesis through VEGF and S100A8. *PNAS* , 2014; 111 (7) : 2698 – 2703.
- 32 Kakudo N , Morimoto N , Ogawa T , *et al.* Hypoxia enhances proliferation of human adipose – derived stem cells *via* HIF – 1 α activation. *PLoS One* ,2015; 10(10) : e0139890.
- 33 Jun EK , Zhang Q , Yoon BS , *et al.* Hypoxic conditioned medium from human amniotic fluid – derived mesenchymal stem cells accelerates skin wound healing through TGF – beta/SMAD2 and PI3K/Akt pathways. *Int J Mol Sci* ,2014; 15(1) : 605 – 628.
- 34 Gonzalez King H , Garcia NA , Ontoria Oviedo I , *et al.* Hypoxia inducible factor – 1 α potentiates Jagged 1 – mediated angiogenesis by mesenchymal stem cell – derived exosomes. *Stem Cells* ,2017; 35 (7) : 1747 – 1759.
- 35 Du W , Zhang K , Zhang S , *et al.* Enhanced proangiogenic potential of mesenchymal stem cell – derived exosomes stimulated by a nitric oxide releasing polymer. *Biomaterials* ,2017; 133(8) : 70 – 81.