·论著·

低氧条件下 M2 型巨噬细胞上清液促进骨髓间充质干细胞成骨分化*

吕梦姣[1] 白生宾[1] 田晓寒[1] 廖礼彬[1] 阿不都热西提·库提彼丁[2]
王梦慈[1] 柴冰茹[1] 杨毅[2]
(1. 新疆医科大学基础医学院组织学与胚胎学教研室·新疆地方病分子生物学重点实验室，新疆 乌鲁木齐 830011；
2. 新疆医科大学第一附属医院，新疆 乌鲁木齐 830011)

【摘要】 目的 探究低氧条件下 M2 型巨噬细胞上清液对骨髓间充质干细胞成骨分化的影响。**方法** 培养鼠源性巨噬细胞系 RAW264.7 与鼠骨髓间充质干细胞系 CP-M131，培养至第 3 代，应用 IL-4 诱导巨噬细胞极化为 M2 型巨噬细胞，常氧 37 ℃ 5%CO_2 和低氧37 ℃ 5%N_2 条件下分别培养巨噬细胞，24 h 后提取 M2 型巨噬细胞细胞上清液。骨髓间充质干细胞(CP-M131)分别与常氧 M2 型巨噬细胞上清和低氧 M2 型巨噬细胞上清按 2∶1比例共孵育，记为常氧组和低氧组，共培养 72 h；实时荧光定量(qRT-PCR)检测骨髓间充质干细胞中成骨指标 ALP、BMP-2 的 mRNA 表达情况；蛋白免疫印迹(Western blot)检测骨髓间充质干细胞中成骨指标 ALP、BMP-2、RUNX 的蛋白表达情况；茜素红染色和碱性磷酸酶染色检测骨髓间充质干细胞中钙结节表达情况。**结果** IL-4 可以诱导巨噬细胞向 M2 型巨噬细胞分化($P<0.05$)；qRT-PCR 检测显示，与常氧组相比，低氧组成骨指标 ALP、BMP-2 的 mRNA 有上调趋势($P<0.05$)。Western blot 检测结果显示，与常氧组相比，低氧组成骨指标 ALP、BMP-2、RUNX 的蛋白表达水平有上调趋势($P<0.05$)；茜素红染色和碱性磷酸酶染色结果显示，低氧组可以促进骨髓间充质干细胞成骨分化($P<0.05$)。**结论** 低氧条件下 M2 型巨噬细胞上清液能够促进骨髓间充质干细胞成骨分化。

【关键词】 低氧；M2 型巨噬细胞；骨髓间充质干细胞；ALP；BMP-2；RUNX
【中图分类号】 Q254；R681 **【文献标志码】** A **DOI**：10.3969/j.issn.1672-3511.2025.08.005

Effect of M2-type macrophage supernatant on osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells under hypoxia conditions

LYU Mengjiao[1], BAI Shengbin[1], TIAN Xiaohan[1], LIAO Libin[1], ABUDUREXITI·Kutibiding[2], WANG Mengci[1], CHAI Bingru[1], YANG Yi[2]
(1. *Department of Histology and Embryology, School of Basic Medical Sciences, Xinjiang Medical University, Xinjiang Key Laboratory of Molecular Biology of Endemic Diseases, Urumqi* 830011, *China*;
2. *The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi* 830011, *China*)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of M2-type macrophage supernatant on osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCS) under hypoxia. **Methods** Mouse macrophage line RAW264.7 and mouse mesenchymal stem cell line CP-M131 were cultured to the 3rd generation. Macrophages were induced to become M2 macrophages by interleukin-4 (IL-4). Macrophages were cultured under normal oxygen conditions of 37℃ 5%CO_2 and hypooxygen conditions of 37℃ 5%N_2, respectively. 24h later, M2 macrophage cell supernatant was extracted. Bone marrow mesenchymal stem cells (CP-M131) were divided into normal oxygen group and hypooxygen group, and were co-incubated with M2 macrophage supersera in normal oxygen and M2 macrophage supersera in hypooxygen at the ratio of 2∶1, respectively, for 72h. Real-time fluorescence quantification (qRT-PCR) was used to detect the mRNA expression of

基金项目：国家自然科学基金项目(82160356)；青年科技拔尖人才项目(2022196904)；省部共建中亚高发病成因与预防国家重点实验室(SKL-HIDCA-2024-GX1)

通信作者：杨毅，E-mail：yangyi1145@163.com

引用本文：吕梦姣，白生宾，田晓寒，等. 低氧条件下 M2 型巨噬细胞上清液促进骨髓间充质干细胞成骨分化[J]. 西部医学，2025，37(8)：1115-1119. DOI：10.3969/j.issn.1672-3511.2025.08.005

ALP and BMP-2 in bone marrow mesenchymal stem cells. Western Blotting was used to detect the protein expressions of ALP, BMP-2 and RUNX in bone marrow mesenchymal stem cells. The expression of calcium nodules in bone marrow mesenchymal stem cells was detected by alizarin red staining and alkaline phosphatase staining. **Results** Compared with PBS group, lL-4 could induce the differentiation of macrophages into M2 macrophages ($P<0.05$). qRT-PCR showed that compared with the normal oxygen group, the mRNA of bone indexes ALP and BMP-2 in hypoxia group was up-regulated ($P<0.05$). WB detection showed that compared with the normal-oxygen group, the protein expression levels of ALP, BMP-2 and RUNX in hypoxic bone components had an up-regulated trend ($P<0.05$). Alizarin red staining and alkaline phosphatase staining showed that hypoxia group could promote osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells($P<0.05$). **Conclusion** M2-type macrophage supernatant can promote osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells under hypoxia condition.

【Key words】 Hypoxia; M2 macrophages; Bone marrow mesenchymal stem cells; ALP; BMP-2; RUNX

骨折是一种常见的临床疾病，包括创伤性骨折、病理性骨折和假体周围骨折。虽然手术可以有效治疗骨折，但骨折愈合受损仍然受到关注。骨折不愈合或延迟愈合仍然是一个严重的公共卫生问题[1]。骨折愈合过程分为四个阶段：炎症期、软愈伤组织期、硬愈伤组织期和重塑期。在骨折过程中，皮质骨、骨膜组织和周围的软组织破裂，破坏血管，从而导致组织出血。因此，血液和骨髓的细胞，如免疫细胞、红细胞和干细胞，进入并受到损伤部位氧气和营养供应的干扰，这一过程导致局部组织缺氧和炎症反应[2]。研究发现，骨折时大量的炎症细胞处于低氧微环境中。由于骨折断端血管的断裂，巨噬细胞及其免疫细胞在组织中停留期间，可能暴露于长时间、持续的缺氧中[3]。然而成功的骨折愈合是基于炎症细胞和骨形成细胞之间精心协调的相互作用。骨髓间充质干细胞（Bone marrow mesenchymal stem cells，BMSCs）是驻留在大多数组织血管周围生态位的干细胞群，并具有向中胚层组织（如骨和软骨）分化的能力，还具有广泛的免疫调节特性，在骨折愈合过程中起着重要作用[4-5]。有研究表明，如果无巨噬细胞的直接参与，骨折不会愈合[6-7]。巨噬细胞是炎症反应的重要参与者与调节者，且巨噬细胞是组织稳态和炎症中的关键细胞。巨噬细胞获得不同的活化表型，大致分为 M1 型和 M2 型[5-6]。M2 型巨噬细胞具有抗炎促进组织修复作用，也已逐渐被认为是骨折愈合过程中骨形成的正调节分子[8-11]。对于低氧条件下 M2 型巨噬细胞对于骨髓间充质干细胞的机制尚不明确。因此，本研究采用低氧条件下 M2 型巨噬细胞上清液与骨髓间充质干细胞共培养，探究其对骨髓间充质干细胞成骨分化的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 鼠源性巨噬细胞系 RAW264.7 与鼠骨髓间充质干细胞系 CP-M131 均购自武汉普诺赛生命科技有限公司；胎牛血清、青链霉素混合液（100 U/mL）购自武汉博士德生物工程有限公司；细胞质染色试剂盒、IL-4 购自上海贝博生物科技有限公司；RIPA 裂解液购自上海索莱宝生物公司；BCA 蛋白定量试剂盒购自赛默飞世尔科技有限公司；Trizol、反转录试剂盒购自北京全式金技术有限公司；兔抗 ALP、BMP-2、RUNX 均购自武汉博士德生物工程有限公司；辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 二抗购自武汉爱博泰克生物科技有限公司；细胞质染色试剂盒购自赛默飞世尔科技有限公司；PCR 引物合成购自上海生工；Dil 染色剂购自赛默飞世尔科技有限公司；茜素红染色试剂、碱性磷酸酶染色试剂盒购自上海索莱宝生物公司。

1.2 细胞培养 常规复苏鼠骨髓间充质干细胞 CP-M131 和鼠源性巨噬细胞系 RAW264.7 细胞后分别培养于含有 10％胎牛血清、1％青链霉素的 DMEM 培养基，置于 37 ℃、5％ CO_2 恒温培养箱中。待细胞生长至 75％～85％融合度时进行传代。取第 3 代处于对数生长期的 CP-M131 和 RAW264.7 细胞，分别接种于细胞培养瓶中，调整细胞密度至 3×10^5/瓶，进行后续实验。向培养好的 RAW264.7 细胞培养瓶中加入质量浓度为 10 ng/mL IL-4，培养 12 h，可诱导为 M2 型巨噬细胞。

1.3 细胞染色 取 1×10^6 个鼠骨髓间充质干细胞 CP-M131 及鼠源性巨噬细胞系 RAW264.7 分别放入激光共聚焦专用皿中，置于 37 ℃、5％ CO_2 恒温培养箱培养 12 h，4％多聚甲醛固定，PBS 清洗细胞 3 次，加入鬼笔环肽 100 μL 避光孵育 1 h，PBS 清洗 2 次，加入 DAPI 染色试剂避光孵育 5 min，PBS 清洗 3 次，激光共聚焦显微镜进行观察。

1.4 细胞分组及干预 将培养的 CP-M131 细胞分为常氧 M2 型巨噬细胞上清液组（常氧组）和低氧 M2 型巨噬细胞上清液组（低氧组）。常氧组将骨髓间充质干细胞专用培养基全部替换为常氧 M2 型巨噬细胞上清液；低氧组将骨髓间充质干细胞专用培养基全部替换为常氧 M2 型巨噬细胞上清液。按照 2∶1比例培

养 CP-M131，共培养 72 h。常氧组细胞均常规培养条件下（37 ℃、体积分数 5%CO_2）进行检测，低氧组细胞暴露于缺氧（约 95% N2 和 5% CO_2）在 37 ℃的厌氧系统中培养。

1.5 实时荧光定量 PCR（qRT-PCR）检测 按照 Trizol 法提取 M2 型巨噬细胞中的总 RNA，分光光度计检测 RNA 纯度与浓度。利用反转录试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA。根据 SYBR Green Real time PCR 试剂说明书及预实验确定的反应时间与温度进行实时定量 PCR。qRT-PCR 引物序列见表 1。以 GAPDH 为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法分析待测基因的 mRNA 相对表达水平。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 PCR primer sequences

基因名称	正向引物序列（5′-3′）	反向引物序列（5′-3′）
CD206	GTTCACCTGGAGTGA TGGTTTC	AGGACATGCCAGGGT CACCTTT
Arg-1	CAAGACAGGGCTCCT TTCAG	GTAGTCAGTCCCTGGC TTATGG
ALP	TGACTACCACTCGGGT GAACC	TGATATGCGATGTCC TTGCAG
BMP-2	AGTAGTTTCCAGCAC CGAATTA	CACTAACCTGGTGTC CAATAGT
GAPDH	CAACTGGGACGATAT GGAGAAG	CTCGAAGTCTAGGGC AAC ATA G

1.6 蛋白免疫印迹（Western blot）检测 向分组培养后的骨髓间充质干细胞 CP-M131 中加入 1 200 μL 冷的蛋白提取液，吹打混匀，4 ℃振荡 30 min，结束后 4 ℃ 12 000×g 离心 10 min，取细胞上清即为细胞总蛋白，十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE）分离蛋白，电转移至 PVD 膜，5%脱脂牛奶室温封闭 1 h，加入 ALP、BMP-2、RUNX 一抗，4 ℃孵育过夜，洗膜后，加辣根过氧化酶标记的二抗室温孵育1 h，ECL 发光试剂显影，凝胶成像系统曝光拍照。

1.7 茜素红染色 将分组培养的 CP-M131 细胞按 1×10^4 接种于细胞培养皿中，培养 21 d，每 2 天进行换液处理。弃掉旧培养基，PBS 清洗 2 遍，4%多聚甲醛固定 30 min，PBS 清洗 2 遍，每孔 1 mL 茜素红 S 染色液，显微镜下观察，拍照采图。

1.8 碱性磷酸酶染色 将分组培养的 CP-M131 按 1×10^4 接种于细胞培养皿中，培养7 d，每 2 天进行换液处理。弃掉旧培养基，PBS 清洗 2 遍，4%多聚甲醛固定 30 min，蒸馏水清洗 2 遍，每孔 1 mL ALP 孵育液 6 h，37 ℃，蒸馏水清洗 2 min，每孔 1 mL 试剂 B，37 ℃孵育 5 min，蒸馏水清洗 2 遍，每孔加入硫化工作液，孵育 2 min，蒸馏水清洗 2 遍。显微镜下观察，拍照采图。

1.9 统计学分析 采用 Graphpad prism 8.0 软件进行统计分析，计量资料采用（$\bar{x}\pm s$）表示，多组样本比较采用单因素方差分析，$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 RAW264.7 及 CP-M131 细胞形态 复苏后的 RAW264.7 及 CP-M131 细胞培养 12 h 后转为贴壁细胞，绿色为细胞骨架，蓝色为细胞核，见图 1。

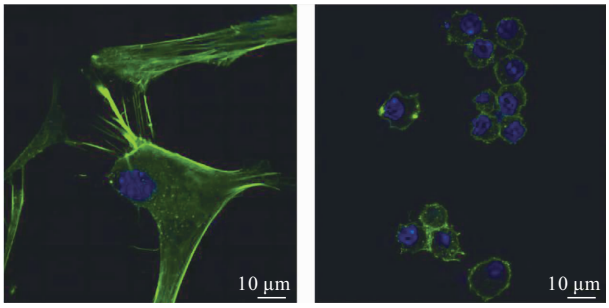

图 1 复苏后的 RAW264.7 与 CPM131 细胞形态

Figure 1 Morphology of RAW264.7 and CP-M131 after resuscitation

2.2 IL-4 诱导 RAW264.7 细胞向 M2 型巨噬细胞分化 采用 10 ng/mL IL-4 诱导后的巨噬细胞，qRT-PCR 结果表明，与 PBS 组相比，加入 10 ng/mL IL-4 组巨噬细胞中 Arg-1、CD206 mRNA 表达水平上调（$P<0.01$），见图 2。以上结果提示 IL-4 可以促进 RAW264.7 细胞成功向 M2 型巨噬细胞极化。

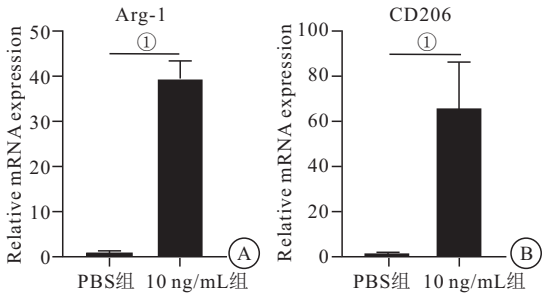

图 2 IL-4 诱导 RAW264.7 细胞向 M2 型巨噬细胞分化

Figure 2 IL-4 induces the differentiation RAW 264.7 cells into M2-type macrophages

注：A. qRT-PCR 检测 M2 型巨噬细胞标志物 Arg-1 的表达；B. qRT-PCR 检测 M2 型巨噬细胞标志物 CD206 的表达。两组比较，① $P<0.05$。

2.3 低氧条件下 M2 型巨噬细胞上清液促进骨髓间充质干细胞成骨分化能力 Western blot 和 qRT-PCR 结果显示，与常氧组比较，低氧组骨髓间充质干细胞中 ALP、BMP-2、RUNX 蛋白表达水平上调且低氧组骨髓间充质干细胞中 *ALP*、*BMP-2* 基因表达水平上调，提示低氧 M2 型巨噬细胞上清可促进 CP-M131 细胞成骨能力（$P<0.05$），见图 3。

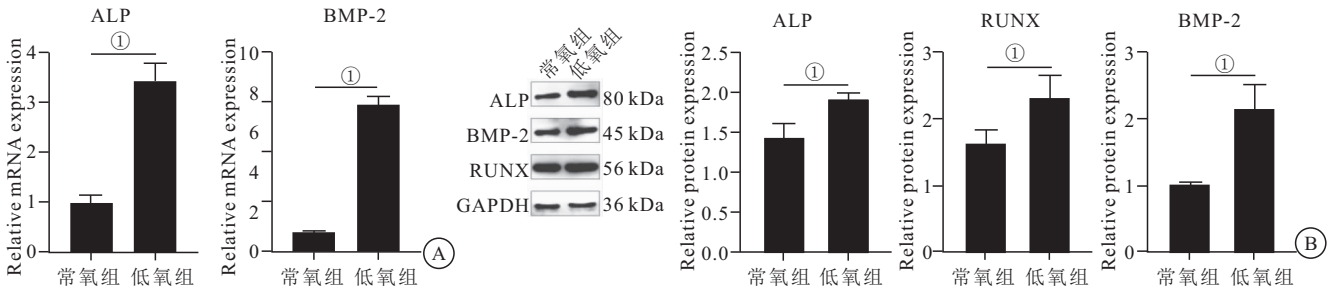

图 3　低氧条件下 M2 型巨噬细胞上清液促进骨髓间充质干细胞成骨分化能力

Figure 3　The supernatant of M2-type macrophages under hypoxic conditions enhances the osteogenic differentiation ability of bone marrow mesenchymal stem cells

注：A. qRT-PCR 结果为不同条件下的 M2 型巨噬细胞上清液对骨髓间充质干细胞成骨能力影响；B. Western blot 结果为不同条件下 M2 型巨噬细胞上清液对骨髓间充质干细胞成骨能力的影响。组间相比，①$P<0.05$。

2.4　低氧条件下 M2 型巨噬细胞上清液促进骨髓间充质干细胞钙化能力　茜素红染色结果，经过 21 d 干预后，与常氧组相比，低氧组钙结节多余常氧组，钙结节相对沉积量多余常氧组（$P<0.05$），见图 4A；碱性磷酸酶染色结果，经过 7 d 干预后，与常氧组相比，低氧组钙结节多余常氧组，钙结节相对沉积量多余常氧组（$P<0.05$），见图 4B。

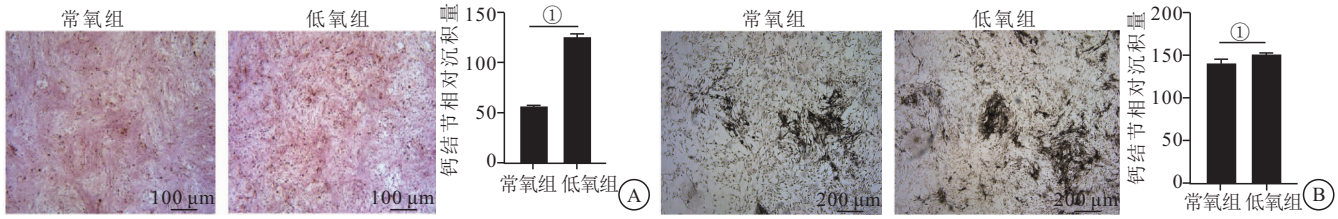

图 4　低氧条件下 M2 型巨噬细胞上清液促进骨髓间充质干细胞钙化能力

Figure 4　The supernatant of M2 macrophages under hypoxic conditions enhances the calcification ability of bone marrow mesenchymal stem cells

注：A. 茜素红染色结果；B. 碱性磷酸酶染色结果。与组间相比，①$P<0.05$。

3　讨论

骨折是最常见的临床损伤之一，也是人类残疾的原因之一[12]。骨折愈合和骨骼组织修复涉及一个初始的合成代谢阶段，其特征是组织体积的增加，这与骨骼和血管组织中干细胞的新生募集和分化有关[13]。其中 BMSCs 是源自骨髓的具有自我复制和多分化潜力的成体干细胞，并且表现出更强的自我更新能力和多谱系分化潜力，可以修复受损组织，被认为是再生医学和组织工程最有前途的候选细胞[14]。然而 BMSCs 通过分化成成骨细胞，在骨再生中发挥重要作用，成骨细胞进一步转化为骨细胞，产生骨基质，并导致骨量增加，因此 BMSCs 成为骨组织工程的种子细胞之一[15-17]。

巨噬细胞是最早到达骨折部位的细胞之一，能分泌多种物质来调节炎症反应和免疫平衡[12]。巨噬细胞可分化成不同的巨噬细胞亚群，包括促炎和抗炎巨噬细胞[18-19]，在骨折修复中发挥重要作用。其中，M2 型巨噬细胞（也称为交替活化的巨噬细胞）具有抗炎表型，参与炎症过程的消退，细胞碎片的消除，促进受损组织的血管生成，再生和伤口愈合。M2 型巨噬细胞的特征是表达 CD206、CD204、CD163 等[20-21]。然而在使用替代激活（IL-4 或 IL-13）刺激时，巨噬细胞会经历代谢重编程，对于炎症消退期间成功抵抗感染至关重要。巨噬细胞对成骨分化的各阶段都至关重要，可促进膜内骨愈合[18]。有研究结果显示，受机械力作用的巨噬细胞向 M2 巨噬细胞极化并分泌 TGF-β1 促进骨髓间充质干细胞迁移、增殖和成骨分化[19]。因此，本研究探究 IL-4 促进巨噬细胞向 M2 型巨噬细胞极化，从而发挥 M2 型巨噬细胞抗炎、抗感染作用并促进 BMSCs 向成骨分化，促进骨折愈合。

研究表明，组织氧水平可能调节骨折后干细胞的反应，且氧参与了干细胞的维持、动员和向损伤部位的招募[22-24]。有研究表明，低氧环境会促发巨噬细胞向 M2 型巨噬细胞极化，从而使 M2 型巨噬细胞衍生外泌体通过 miR-26b-5p 通过 PTEN 靶向灭活 PI3K/AKT 通路，促进瘢痕疙瘩的发展[25]。且缺氧条件下 M2 巨噬细胞上清液促进了肺动脉平滑肌细胞的增殖，而一氧化碳处理消除该种作用，抑制平滑肌细胞的增殖[26]。然而，低氧肿瘤来源上清液通过 PKC-CK2α 信号轴促进 M2 型巨噬细胞极化调节肿瘤免疫环境[27]。因此，本研究选择在骨折早期，低氧条件下进行探究 M2 型巨噬细胞对骨髓间充质干细胞的影响

作用。本研究通过茜素红染色和碱性磷酸酶染色结果显示，低氧组钙结节沉积量增多，表明低氧组更容易促进骨髓间充质干细胞成骨分化。以上研究结果表明，低氧条件下 M2 型巨噬细胞上清液对骨髓间充质干细胞成骨具有促进作用，在骨缺损时期对骨修复具有一定作用。

4 结论

低氧条件下 M2 型巨噬细胞上清液可以促进骨髓间充质干细胞成骨分化，可能通过 BMP-2 信号通路促进骨髓间充质干细胞成骨分化。然而上清液中成分复杂，具体信号机制及其分子靶向位点需进一步实验研究，从而为临床提供有效参考。

【参考文献】

[1] ZHANG L, JIN L, GUO J, *et al*. Chronic intermittent hypobaric hypoxia enhances bone fracture healing[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2020, 11: 582670.

[2] KOLAR P, GABER T, PERKA C, *et al*. Human early fracture hematoma is characterized by inflammation and hypoxia[J]. Clin Orthop Relat Res, 2011, 469(11): 3118-3126.

[3] STAPLES K J, SOTOODEHNEJADNEMATALAHI F, PEARSON H, *et al*. Monocyte-derived macrophages matured under prolonged hypoxia transcriptionally up-regulate HIF-1α mRNA [J]. Immunobiology, 2011, 216(7): 832-839.

[4] 苏英，李富娟，王洋. 低氧条件下 M2 型巨噬细胞外泌体对卵巢癌细胞恶性生物学行为的影响及机制[J]. 山西医科大学学报，2023, 54(4): 440-445.

[5] 张文博，张贤. 缺氧培养下 M2 型巨噬细胞上清液及杜仲总黄酮对成骨细胞生物行为学的影响[J]. 中国组织工程研究，2017, 21(12): 1819-1825.

[6] LOI F, CÓRDOVA L A, PAJARINEN J, *et al*. Inflammation, fracture and bone repair[J]. Bone, 2016, 86: 119-130.

[7] PAJARINEN J, LIN T, GIBON E, *et al*. Mesenchymal stem cell-macrophage crosstalk and bone healing[J]. Biomaterials, 2019, 196: 80-89.

[8] LI Z Y, LI Q X, TONG K, *et al*. BMSC-derived exosomes promote tendon-bone healing after anterior cruciate ligament reconstruction by regulating M1/M2 macrophage polarization in rats [J]. Stem Cell Res Ther, 2022, 13(1): 295.

[9] LI Z Y, WANG Y F, LI S L, *et al*. Exosomes derived from M2 macrophages facilitate osteogenesis and reduce adipogenesis of BMSCs[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2021, 12: 680328.

[10] ZHAO S J, KONG F Q, JIE J, *et al*. Macrophage MSR1 promotes BMSC osteogenic differentiation and M2-like polarization by activating PI3K/AKT/GSK3β/β-catenin pathway[J]. Theranostics, 2020, 10(1): 17-35.

[11] YANG Y, ZHAO N, WANG R B, *et al*. Macrophage MVP regulates fracture repair by promoting M2 polarization via JAK2-STAT 6 pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2023, 120: 110313.

[12] WANG D, LIU Y, DIAO S, *et al*. Long non-coding RNAs within macrophage-derived exosomes promote BMSC osteogenesis in a bone fracture rat model[J]. Int J Nanomedicine, 2023, 18: 1063-1083.

[13] EINHORN T A, GERSTENFELD L C. Fracture healing: mechanisms and interventions[J]. Nat Rev Rheumatol, 2015, 11(1): 45-54.

[14] ARTHUR A, GRONTHOS S. Clinical application of bone marrow mesenchymal stem/stromal cells to repair skeletal tissue [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(24): 9759.

[15] LIN Z Y, HE H B, WANG M, *et al*. microRNA-130a controls bone marrow mesenchymal stem cell differentiation towards the osteoblastic and adipogenic fate[J]. Cell Prolif, 2019, 52 (6): e12688.

[16] NING K T, LIU S Q, YANG B Q, *et al*. Update on the effects of energy metabolism in bone marrow mesenchymal stem cells differentiation[J]. Mol Metab, 2022, 58: 101450.

[17] WANG Y P, WANG J R, GAO R, *et al*. Biomimetic glycopeptide hydrogel coated PCL/nHA scaffold for enhanced cranial bone regeneration via macrophage M2 polarization-induced osteoimmunomodulation[J]. Biomaterials, 2022, 285: 121538.

[18] CAI G H, LU Y H, ZHONG W J, *et al*. Piezo1-mediated M2 macrophage mechanotransduction enhances bone formation through secretion and activation of transforming growth factor-β1[J]. Cell Prolif, 2023, 56(9): e13440.

[19] 苏晓莲，苏兆亮. 巨噬细胞的分类、再编程以及与疾病关系的研究进展[J]. 国际免疫学杂志，2016, 39(4): 378-382.

[20] 李丹，任亚娜，范华骅. 巨噬细胞的分类及其调节性功能的差异[J]. 生命科学，2011, 23(3): 249-254.

[21] BATOON L, MILLARD S M, WULLSCHLEGER M E, *et al*. CD169+ macrophages are critical for osteoblast maintenance and promote intramembranous and endochondral ossification during bone repair[J]. Biomaterials, 2019, 196: 51-66.

[22] GUO W D, SPILLER K V, TANG J, *et al*. Hypoxia depletes contaminating CD45 + hematopoietic cells from murine bone marrow stromal cell (BMSC) cultures: methods for BMSC culture purification[J]. Stem Cell Res, 2021, 53: 102317.

[23] ZHANG X N, SAI B Q, WANG F, *et al*. Hypoxic BMSC-derived exosomal miRNAs promote metastasis of lung cancer cells via STAT3-induced EMT[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 40.

[24] SU Y, SONG X X, TENG J L, *et al*. Mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles carrying microRNA-17 inhibits macrophage apoptosis in lipopolysaccharide-induced sepsis[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 95: 107408.

[25] DAI S Y, XU M Y, PANG Q Q, *et al*. Hypoxia macrophage-derived exosomal miR-26b-5p targeting PTEN promotes the development of keloids[J]. Burns Trauma, 2024, 12: tkad036.

[26] VERGADI E, CHANG M S, LEE C J, *et al*. Early macrophage recruitment and alternative activation are critical for the later development of hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. Circulation, 2011, 123(18): 1986-1995.

[27] ZHANG S L, ZHOU J P, SHANG P Z, *et al*. SET/PP2A signaling regulates macrophage positioning in hypoxic tumor regions by amplifying chemotactic responses[J]. Exp Mol Med, 2022, 54(10): 1741-1755.

（收稿日期：2024-09-22；修回日期：2025-01-09；编辑：黎仕娟）