doi：10.7499/j.issn.1008-8830.2510105

论著·实验研究

间充质干细胞来源外泌体减轻少突胶质细胞损伤的机制研究

孟远翠[1]　王超[1]　朱艳萍[2]

（1.新疆医科大学儿科学院，新疆乌鲁木齐　830054；2.新疆医科大学第一附属医院新生儿科，新疆乌鲁木齐　830054）

［摘要］**目的**　研究间充质干细胞来源外泌体（mesenchymal stem cell-derived exosome, MSC-Exo）是否通过调控JAK2/STAT3信号通路调节铁死亡以减轻缺氧复氧（hypoxia/re-oxygenation, H/R）诱导的少突胶质细胞损伤。**方法**　将少突胶质细胞随机分为对照组、H/R组和MSC-Exo组，除对照组外，其余细胞均进行H/R处理。应用Western blot法检测少突胶质细胞标志物（MAG、Olig2、MOG、MBP）、外泌体标志物（TSG101、CD81、CD63）、内质网蛋白（calnexin）、铁死亡相关蛋白（GPX4、TFR）和JAK2/STAT3信号通路相关蛋白（JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3）的蛋白表达水平；采用CCK-8法检测细胞活力；应用分光光度法检测胱天蛋白酶-3活性、谷胱甘肽（glutathione, GSH）、Fe^{2+}含量和丙二醛（malondialdehyde, MDA）水平；运用流式细胞术检测细胞凋亡水平和活性氧（reactive oxygen species, ROS）活性。为验证MSC-Exo是否通过JAK2/STAT3信号通路抑制铁死亡，应用JAK2抑制剂（JAK2 inhibitor, JAK2i）后，将少突胶质细胞随机分为H/R组、MSC-Exo组、JAK2i组和JAK2i+MSC-Exo组。应用上述检测方法分别检测GPX4、TFR、p-JAK2和p-STAT3的蛋白表达水平，以及细胞活力、GSH、Fe^{2+}含量、MDA水平、细胞凋亡水平和ROS活性情况。**结果**　与对照组相比，H/R组细胞活力和GSH含量降低，ROS活性、MDA含量、Fe^{2+}含量和细胞凋亡升高，H/R组TFR、p-JAK2和p-STAT3蛋白表达水平升高，GPX4蛋白水平降低（$P<0.05$）；与H/R组相比，JAK2i组和MSC-Exo组均可抑制p-JAK2、p-STAT3和TFR蛋白表达水平，上调GPX4蛋白水平，提高细胞活力和GSH含量，降低MDA、Fe^{2+}含量，抑制ROS活性和细胞凋亡的发生（$P<0.05$）。**结论**　MSC-Exo可通过抑制JAK2/STAT3信号通路抑制铁死亡的发生，减轻H/R诱导的少突胶质细胞损伤。　［中国当代儿科杂志，2026，28（6）：744-753］

［关键词］间充质干细胞来源外泌体；铁死亡；JAK2/STAT3；少突胶质细胞

Mechanism of mesenchymal stem cell-derived exosomes in alleviating hypoxia/re-oxygenation-induced injury of oligodendrocytes

MENG Yuan-Cui, WANG Chao, ZHU Yan-Ping. Department of Neonatology, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China (Zhu Y-P, Email: 1119788145@qq.com)

Abstract: Objective　To investigate whether mesenchymal stem cell-derived exosomes (MSC-Exo) regulate ferroptosis by modulating the JAK2/STAT3 signaling pathway to alleviate hypoxia/re-oxygenation (H/R) -induced oligodendrocyte injury. **Methods**　Oligodendrocytes were randomly divided into control, H/R, and MSC-Exo groups. Except for the control group, cells underwent H/R treatment. Western blot analysis was used to detect protein expression of oligodendrocyte markers (MAG, Olig2, MOG, MBP), exosome markers (TSG101, CD81, CD63), endoplasmic reticulum protein (calnexin), ferroptosis-related proteins (GPX4, TFR), and JAK2/STAT3 signaling pathway components (JAK2, p-JAK2, STAT3, p-STAT3). Cell viability was assessed by CCK-8 assay. Spectrophotometric methods were employed to measure caspase-3 activity, glutathione (GSH) content, Fe^{2+} levels, and malondialdehyde (MDA) concentrations. Apoptosis and reactive oxygen species (ROS) production were analyzed by flow cytometry using Annexin-V/PI double staining. To verify the role of JAK2/STAT3 pathway in MSC-Exo-mediated inhibition of

［收稿日期］2025-10-23；［接受日期］2026-04-15
［基金项目］国家自然科学基金地区科学基金（82060288）。
［作者简介］孟远翠，女，博士研究生。
［通信作者］朱艳萍，女，主任医师。Email：1119788145@qq.com。

ferroptosis, a JAK2 inhibitor (JAK2i) was applied, and cells were assigned to H/R, MSC-Exo, JAK2i, and JAK2i + MSC-Exo groups. The protein expression levels of GPX4, TFR, p-JAK2, and p-STAT3, as well as cell viability, GSH, Fe^{2+}, MDA, apoptosis, and ROS production, were determined using the aforementioned methods. **Results** Compared with the control group, the H/R group showed significantly decreased cell viability and GSH content, and increased ROS, MDA, Fe^{2+}, and apoptosis (P<0.05). Protein levels of TFR, p-JAK2, and p-STAT3 were significantly upregulated, while GPX4 was downregulated (P<0.05). Compared with the H/R group, both JAK2i and MSC-Exo treatments significantly inhibited p-JAK2, p-STAT3, and TFR expression, upregulated GPX4 expression, increased cell viability and GSH content, and reduced ROS, MDA, Fe^{2+}, and apoptosis levels (P<0.05). **Conclusions** MSC-Exo inhibit ferroptosis by suppressing the JAK2/STAT3 signaling pathway, thereby alleviating H/R-induced oligodendrocyte injury.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2026, 28(6): 744-753]

Key words: Mesenchymal stem cell-derived exosome; Ferroptosis; JAK2/STAT3; Oligodendrocyte

全球每年约有1 500万早产儿出生[1]，其中7%会出现认知障碍、视听缺陷及脑性瘫痪等不良神经结局，每年受累早产儿约91万[2]。早产儿神经细胞与脑血管发育尚未成熟，在缺血缺氧、宫内炎症等多种损伤因素作用下极易发生脑损伤，其病理核心改变为脑白质损伤（white matter injury, WMI），主要表现为少突胶质细胞成熟障碍、小胶质细胞浸润及髓鞘结构损伤等。少突胶质细胞是中枢神经系统中数量最丰富的神经胶质细胞[3]，也是早产儿WMI中最主要、最关键的受损靶细胞[4]。目前，临床针对早产儿WMI仍以对症支持治疗为主，尚缺乏能够有效促进脑白质修复与髓鞘再生的特异性干预策略，亟需探索新的治疗靶点与干预途径。

间充质干细胞（mesenchymal stem cell, MSC）具有自我更新与多向分化潜能，已被广泛应用于脑血管疾病、神经退行性疾病、脊髓损伤等多种神经系统疾病的临床前研究与临床试验[5-6]。研究证实，在新生儿缺氧缺血性脑病动物模型中，MSC干预可有效促进神经功能恢复并改善脑损伤[7]。此外，也有证据表明，MSC主要通过旁分泌途径释放微泡、外泌体（exosome, Exo）等细胞外囊泡发挥神经保护作用，其中Exo是介导其生物学效应的核心活性物质[8]，近年来已成为神经修复领域的研究热点。多项研究显示，MSC-Exo可通过抑制细胞凋亡与炎症反应，减轻创伤性脑损伤等中枢神经系统损伤[9]，与MSC直接移植相比，MSC-Exo具有无致瘤性、无致畸风险等显著优势，具备更高的临床转化安全性[10]。尽管MSC-Exo改善神经功能障碍的重要作用已被多项研究证实[11-12]，但其在早产儿WMI修复中的具体作用及潜在分子机制仍未完全阐明。

Janus激酶2/信号转导及转录激活因子3（janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3, JAK2/STAT3）通路的异常激活亦被证实参与胶质瘤细胞存活、增殖与侵袭等过程[13]。此外，MSC-Exo可通过调控STAT3促进脊髓损伤修复[14]。铁死亡作为一种铁离子依赖性的程序性细胞死亡方式，已被证实在脑卒中、创伤性脑损伤及神经退行性疾病等多种神经系统损伤中扮演关键角色[15-17]，亦有研究显示钙结合蛋白S100A8可通过JAK2/STAT3通路介导血管性痴呆中的铁死亡[18]，进一步提示JAK2/STAT3在铁死亡调控中的关键作用，但其在MSC-Exo神经保护中的作用尚不明确。为此，本研究拟探讨MSC-Exo是否通过调控JAK2/STAT3信号通路抑制少突胶质细胞铁死亡发挥保护作用，以期为临床防治早产儿WMI提供实验基础与理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料和仪器

少突胶质细胞（MO3.13）、MSC（iCell-e009-002h）购自上海赛百慷生物技术股份有限公司。DMEM培养基（C11995500BT）、胰蛋白酶及双抗溶液购自美国Gibco公司。CCK-8（C0037）、RIPA裂解液（P0038）、胱天蛋白酶-3（cysteine-aspartic acid protease 3, caspase-3; C1077S）、Fe^{2+}（C1190S）及丙二醛（malondialdehyde, MDA; s0131s）检测试剂盒购自碧云天生物技术有限公司。β-Tubulin抗体购自武汉赛维尔生物科技有限公司。谷胱甘肽过氧化物酶4（glutathione peroxidase 4, GPX4）、转铁蛋白受体（transferrin receptor, TFR）、TSG101、内质网蛋白calnexin、CD81、JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3、髓鞘少突胶质细胞糖蛋白（myelin oligodendrocyte glycoprotein, MOG）、髓鞘碱性蛋白（myelin basic protein, MBP）、少突胶质细胞转录因子2（oligodendrocyte transcription factor 2, Olig2）购

自武汉三鹰生物技术有限公司。髓鞘相关糖蛋白（myelin-associated glycoprotein, MAG）购自浙江欧赛思生物科技有限公司。JAK2 抑制剂（JAK2 inhibitor, JAK2i; NSC42834）购自美国 MedChemExpress 公司。主要仪器包括 Western blot 发光仪（美国 Bio-Rad 公司）、流式细胞仪（美国 BD Biosciences 公司）、高速离心机（德国 Beckman 公司）、低温离心机（德国 Eppendorf 公司）、CO_2 细胞培养箱（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）。

1.2 MSC 提取和培养

MSC 采用 α-MEM 培养基培养，置于含 37 ℃、5% CO_2、95% 空气的培养箱中培养，每 2 d 换液 1 次，显微镜下观察细胞形态和生长情况，按照细胞生长情况进行传代，采用第 3 代 MSC 进行实验。

1.3 MSC-Exo 获取与鉴定

第 3 代 MSC 接种于 10 cm 培养皿中，待细胞贴壁后，更换为无血清培养基继续培养 48 h。收集细胞培养上清液，首先在 4℃ 条件下，离心 3 次（4 240 r/min 离心 30 min、9 460 r/min 离心 50 min、29 900 r/min 超速离心 90 min）以去除细胞碎片及凋亡小体，用预冷的 20 mL PBS 轻柔重悬沉淀，4℃、29 900 r/min 离心 90 min 进行洗涤。最后，弃去上清液，用预冷的 200 μL PBS 重悬沉淀，所得样品即可用于后续实验。采用透射电子显微镜观察 MSC-Exo 的超微结构，采用纳米颗粒跟踪分析测定 MSC-Exo 的粒径和浓度。

1.4 模型制备与分组

1.4.1 H/R 损伤模型的建立 为建立 H/R 诱导的少突胶质细胞损伤模型，H/R 组细胞先于缺氧条件下（37℃、99% N_2、1% O_2）培养 12 h，再于正常条件下（37℃、5% CO_2、95% 空气）复氧培养 12 h[19]。所有实验均独立重复 3 次（3 批独立细胞样本，每批每组设 3 个复孔）。

1.4.2 分组 为探讨 MSC-Exo 对少突胶质细胞 H/R 损伤的保护作用，首先将细胞分为对照组、H/R 组、MSC-Exo 组。对照组细胞于正常条件下（37℃、5% CO_2、95% 空气）培养；MSC-Exo 组少突胶质细胞在 H/R 处理前，使用 MSC-Exo 预处理 48 h，然后进行上述 H/R 处理。为验证 MSC-Exo 是否通过 JAK2/STAT3 信号通路抑制铁死亡起保护作用，增设 JAK2i 组，使用 JAK2i 预处理 12 h，然后进行上述 H/R 处理，共分为 4 组：H/R 组（模型对照组）、MSC-Exo 组、JAK2i 组、JAK2i+MSC-Exo 组。在 JAK2i+MSC-Exo 组中，先加入 MSC-Exo 干预 36 h，随后加入 JAK2i 继续孵育 12 h，之后再进行 H/R 处理。

1.5 CCK-8 法检测细胞活力

调整少突胶质细胞密度至 5×10^4 个/mL，以每孔 100 μL（即 5×10^3 个细胞/孔）接种于 96 孔板中，每组设 3 个复孔。细胞贴壁培养 24 h 后，每孔加入 CCK-8 溶液 10 μL，37℃ 避光孵育 30 min。以不含细胞的培养液孔为空白对照，使用酶标仪测定 450 nm 处吸光值。

1.6 流式细胞术检测细胞凋亡水平

将少突胶质细胞用胰蛋白酶消化，显微镜下观察到 50%～60% 的细胞变圆后，加入 3 倍体积的 DMEM 以终止消化，离心收集细胞沉淀，用 200 μL 1× 结合缓冲液洗涤 3 次后，先后加入 5 μL Annexin V-FITC 和 5 μL PI 染液，混匀，室温避光孵育 15 min，再通过流式细胞术检测细胞凋亡情况。

1.7 Caspase-3 活性的检测

收集不同处理的少突胶质细胞，加入裂解液冰上裂解 15 min，4℃、12 000 r/min 离心 15 min，取上清。BCA 法测定蛋白浓度后，取等量蛋白 50 μg 加入含 caspase-3 底物（DEVD-pNA）的反应液，37℃ 孵育 2 h，酶标仪测定 405 nm 处吸光值。

1.8 检测 MDA 含量

取各组细胞，用预冷 PBS 洗涤 2 次，加入 RIPA 裂解液（含 PMSF）冰上裂解 15 min，4℃、12 000 r/min 离心 15 min，取上清。按照 MDA 检测试剂盒说明书操作，加入反应试剂，混匀后沸水浴加热 15 min，冷却后离心，取上清液用酶标仪测定 532 nm 处吸光值。

1.9 采用流式细胞仪检测活性氧活性

取各组细胞，使用 0.25% 的胰蛋白酶进行消化，弃去上清加入 200 μL PBS 洗涤 3 次，取沉淀用 1 mL PBS 重悬，加入荧光探针 DCFH-DA，用流式细胞仪测定相对荧光强度，反映活性氧（reactive oxygen species, ROS）活性。

1.10 检测 GSH 含量

取各组细胞，弃去培养基后用预冷的 PBS 洗涤细胞 3 次，加入 RIPA 裂解液冰上裂解细胞，冰浴超声破碎细胞，4℃、10 400 r/min 离心 10 min。依次将样品、标准品以每孔 100 μL 加入 96 孔板，检测 412 nm 处各孔吸光值，并计算样本中谷胱甘肽（glutathione, GSH）含量。

1.11 检测 Fe^{2+} 含量

取各组细胞，弃去培养基，PBS 洗涤 1 次，加入胰蛋白酶消化细胞，收集沉淀。加入缓冲液，混匀，冰上裂解 10 min。用玻璃匀浆仪在 4℃进行匀浆，10 400 r/min 离心 3~5 min，收集上清液。另设空白孔（显色液）、标准曲线孔（不同浓度铁标准液+显色液）及样品孔（上清液+显色液）。用酶标仪在 593 nm 处测定每组样品的吸光值。按标准曲线计算 Fe^{2+} 含量。

1.12 Western Blot

取各组细胞，RIPA 裂解提取总蛋白，BCA 法测定并标化浓度。取等量蛋白进行 12.5% SDS-PAGE 电泳、转膜，5% 脱脂奶粉 TBST 封闭 1 h 后，分别加入以下一抗于 4℃孵育过夜：兔抗 MAG（1∶1 000）、兔抗 MOG（1∶1 000）、兔抗 Olig2（1∶500）、兔抗 MBP（1∶1 000）、兔抗 GPX4（1∶1 000）、兔抗 TFR（1∶1 000）、兔抗 JAK2（1∶1 000）、兔抗 p-JAK2（1∶1 000）、兔抗 STAT3（1∶1 000）、兔抗 p-STAT3（1∶1 000）及小鼠抗 GAPDH（1∶5 000），次日 TBST 洗膜后，HRP 标记二抗（1∶5 000）37°C 孵育 1 h，增强化学发光检测，Image J 分析条带灰度值。

1.13 统计学分析

使用 SPSS 22.0、GraphPad Prism 9.0 软件进行统计学分析。符合正态分布的数据以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，组间比较采用单因素方差分析，方差齐性组间两两比较采用 LSD-t 检验，方差不齐时采用 Dunnett-t 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 少突胶质细胞的鉴定与 MSC-Exo 的表征检测

Western blot 结果显示，在 H/R 模型中，少突胶质细胞标志蛋白 MAG、MOG、Olig2 和 MBP 的表达水平均下降（图 1A）；MSC-Exo 表达典型标志蛋白 TSG101、CD81 及 CD63，而未检测到 calnexin（图 1B）。通过透射电子显微镜观察 MSC-Exo 有典型“杯盘”形态（图 1C）；纳米颗粒跟踪分析显示 MSC-Exo 粒径分布集中在 30~150 nm 之间，平均粒径为 142.4 nm，浓度为 6.3×10^{10} 粒子/mL。以上证实本研究所用的 MSC-Exo 纯度高、形态和粒径均符合 Exo 表征。

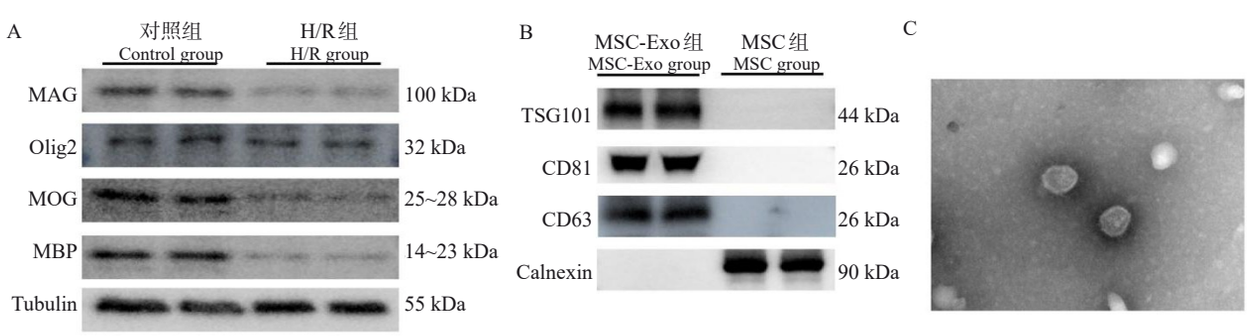


图 1 Western blot 鉴定少突胶质细胞及 MSC-Exo 表征 A：Western blot 检测 MAG、MOG、Olig2、MBP 和 Tubulin 蛋白表达条带图（n=3）；B：Western blot 检测 MSC-Exo 中 TSG101、CD81、CD63 和 calnexin 蛋白表达条带图（n=3）；C：透射电子显微镜观察 MSC-Exo 形态表现，有典型“杯盘”形态（n=3）；本研究参照 MISEV2023 指南进行 MSC-Exo 的分离与表征检测[20]。

2.2 MSC-Exo 对 H/R 诱导少突胶质细胞损伤的影响

与对照组相比，H/R 组细胞活力降低（P<0.05），caspase-3 活性上升（P<0.05）；与 H/R 组相比，MSC-Exo 组细胞活力升高（P<0.05），caspase-3 活性下降（P<0.05）。流式细胞术结果显示，H/R 组细胞凋亡增加（P<0.05），MSC-Exo 组细胞凋亡减轻（P<0.05），见表 1、图 2。

2.3 MSC-Exo 对 H/R 诱导少突胶质细胞氧化应激的影响

与对照组相比，H/R 组 GSH 含量下降（P<0.05），MDA 含量、Fe^{2+} 含量及 ROS 活性上升（P<0.05）；与 H/R 组相比，MSC-Exo 组 GSH 含量上升（P<0.05），MDA 含量、Fe^{2+} 含量及 ROS 活性下降（P<0.05），见表 2。

表 1　对照组、H/R 组、MSC-Exo 组细胞活力、caspase-3、细胞凋亡情况比较　（$\bar{x} \pm s$，n=3）

组别	细胞活力 (%)	caspase-3 (%)	凋亡 (%)
对照组	1.000 ± 0.041	1.00 ± 0.06	9.4 ± 0.8
H/R 组	0.251 ± 0.026[a]	2.14 ± 0.13[a]	44.3 ± 3.2[a]
MSC-Exo 组	0.570 ± 0.073[b]	1.06 ± 0.09[b]	26.5 ± 1.2[b]
F 值	253.0	142.1	226.0
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

注：［H/R］缺氧复氧；［MSC-Exo］间充质干细胞来源外泌体；［caspase-3］胱天蛋白酶-3。[a]与对照组比较，P<0.05；[b]与 H/R 组比较，P<0.05。

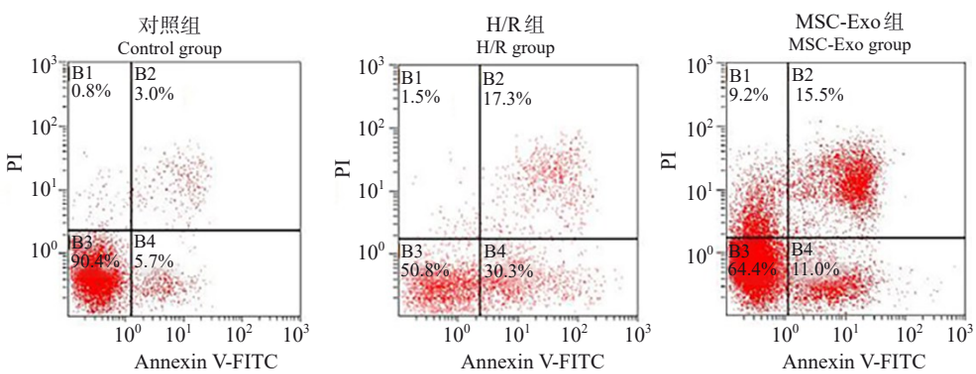


图 2　流式细胞术检测细胞凋亡情况　［H/R］缺氧复氧；［MSC-Exo］间充质干细胞来源外泌体。B1 象限代表坏死的细胞，B2 象限代表早期凋亡的细胞，B3 象限代表活细胞，B4 象限代表晚期凋亡的细胞。红色是各象限的细胞。H/R 组细胞凋亡增加，MSC-Exo 组细胞凋亡减轻。

表 2　对照组、H/R 组、MSC-Exo 组细胞 MDA、GSH、Fe^{2+}、ROS 比较　（$\bar{x} \pm s$，n=3）

组别	MDA (nmol/mg)	GSH (μmol/g)	Fe^{2+} (μmol/g)	ROS (%)
对照组	3.7 ± 0.4	1.49 ± 0.08	0.13 ± 0.03	22.2 ± 0.6
H/R 组	8.8 ± 0.3[a]	1.21 ± 0.09[a]	0.45 ± 0.05[a]	97.9 ± 2.8[a]
MSC-Exo 组	5.8 ± 0.5[b]	1.44 ± 0.04[b]	0.36 ± 0.04[b]	67.0 ± 2.0[b]
F 值	27.3	13.0	67.3	1 025.0
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：［H/R］缺氧复氧；［MSC-Exo］间充质干细胞来源外泌体；［MDA］丙二醛；［GSH］谷胱甘肽；［Fe^{2+}］铁离子；［ROS］活性氧。[a]与对照组比较，P<0.05；[b]与 H/R 组比较 P<0.05。

2.4　MSC-Exo 对 H/R 诱导少突胶质细胞铁死亡的影响

与对照组相比，H/R 组 GPX4 蛋白表达下调（P<0.05），TFR 蛋白表达上调（P<0.05）；与 H/R 组相比，MSC-Exo 组 GPX4 蛋白表达上调（P<0.05），TFR 蛋白表达下调（P<0.05）。见表 3、图 3。

2.5　MSC-Exo 对 JAK2、STAT3、p-JAK2 及 p-STAT3 蛋白的影响

与对照组相比，H/R 组 JAK2、STAT3、p-JAK2 及 p-STAT3 蛋白表达增加（P<0.05）。与 H/R 组相比，MSC-Exo 组 JAK2、STAT3、p-JAK2 及 p-STAT3 表达均较 H/R 组降低（P<0.05）。见图 4、表 4。

表 3　对照组、H/R 组、MSC-Exo 组铁死亡相关蛋白 GPX4、TFR 蛋白表达水平比较　（$\bar{x} \pm s$，n=3）

组别	GPX4	TFR
对照组	0.84 ± 0.09	0.63 ± 0.09
H/R 组	0.34 ± 0.06[a]	1.07 ± 0.10[a]
MSC-Exo 组	0.62 ± 0.03[b]	1.03 ± 0.07[b]
F 值	49.6	22.3
P 值	<0.001	0.002

注：［H/R］缺氧复氧；［MSC-Exo］间充质干细胞来源外泌体。［GPX4］谷胱甘肽过氧化物酶 4；［TFR］转铁蛋白受体。[a]与对照组比较，P<0.05；[b]与 H/R 组比较，P<0.05。

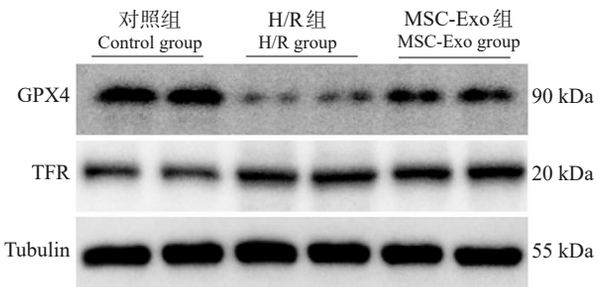


图 3　Western blot 检测铁死亡相关蛋白 GPX4、TFR 蛋白表达条带图　［H/R］缺氧复氧；［MSC-Exo］间充质干细胞来源外泌体；［GPX4］谷胱甘肽过氧化物酶 4；［TFR］转铁蛋白受体。

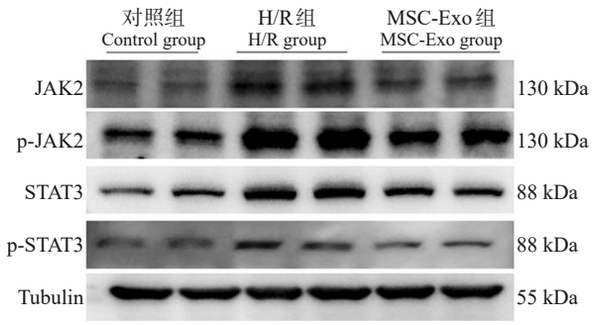


图 4　Western blot 检测 JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3 蛋白表达条带图　［H/R］缺氧复氧；［MSC-Exo］间充质干细胞来源外泌体；［JAK2］Janus 激酶 2；［p-JAK2］磷酸化 Janus 激酶 2；［STAT3］信号转导及转录激活因子 3；［p-STAT3］磷酸化信号转导及转录激活因子 3。

表 4　对照组、H/R 组、MSC-Exo 组 JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3 蛋白表达水平比较　（$\bar{x} \pm s$，n=3）

组别	JAK2	p-JAK2	STAT3	p-STAT3
对照组	0.49 ± 0.07	0.65 ± 0.07	0.48 ± 0.05	0.25 ± 0.08
H/R 组	0.70 ± 0.09[a]	0.99 ± 0.13[a]	1.07 ± 0.09[a]	0.91 ± 0.07[a]
MSC-Exo 组	0.43 ± 0.05[b]	0.72 ± 0.06[b]	0.65 ± 0.05[b]	0.53 ± 0.06[b]
F 值	12.2	11.0	59.5	65.1
P 值	<0.001	0.001	<0.001	<0.001

注：［H/R］缺氧复氧；［MSC-Exo］间充质干细胞来源外泌体；［JAK2］Janus 激酶 2；［p-JAK2］磷酸化 Janus 激酶 2；［STAT3］信号转导及转录激活因子 3；［p-STAT3］磷酸化信号转导及转录激活因子 3。[a]与对照组比较，P<0.05；[b]与 H/R 组比较，P<0.05。

2.6　JAK2i 对 p-JAK2、p-STAT3 蛋白表达的影响

与对照组相比，H/R 组 p-JAK2 与 p-STAT3 磷酸化水平增加（P<0.05）；与 H/R 组相比，JAK2i 组 p-JAK2 与 p-STAT3 磷酸化水平下降（P<0.05）。细胞活力检测结果进一步表明，H/R 组细胞活力显著下降（P<0.05），而 JAK2i 干预则能够显著恢复细胞活力（P<0.05）。见表 5、图 5。

表 5　对照组、H/R 组、JAK2i 组细胞 p-JAK2、p-STAT3 蛋白表达水平及细胞活力比较　（$\bar{x} \pm s$，n=3）

组别	p-JAK2	p-STAT3	细胞活力
对照组	0.53 ± 0.03	0.250 ± 0.012	0.862 ± 0.014
H/R 组	1.07 ± 0.07[a]	0.842 ± 0.076[a]	0.322 ± 0.043[a]
JAK2i 组	0.78 ± 0.07[b]	0.570 ± 0.052[b]	0.701 ± 0.049[b]
F 值	62.3	87.7	49.0
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

注：［H/R］缺氧复氧；［JAK2i］JAK2 抑制剂；［p-JAK2］磷酸化 Janus 激酶 2；［p-STAT3］磷酸化信号转导及转录激活因子 3。[a]与对照组比较，P<0.05；[b]与 H/R 组比较，P<0.05。

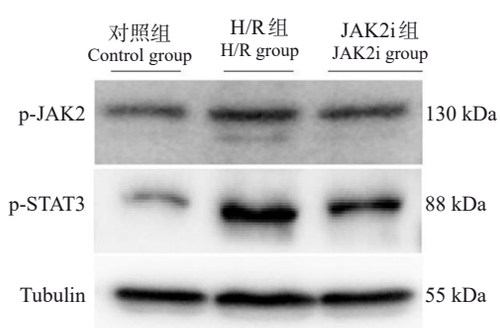


图 5　Western blot 检测 p-JAK2、p-STAT3 蛋白表达条带图　［H/R］缺氧复氧；［JAK2i］JAK2 抑制剂；［p-JAK2］磷酸化 Janus 激酶 2；［p-STAT3］磷酸化信号转导及转录激活因子 3。

2.7　JAK2i 及 MSC-Exo 对细胞凋亡和氧化应激的影响

流式细胞术结果显示，与 H/R 组相比，JAK2i 组、MSC-Exo 组细胞凋亡、ROS 活性降低（P<0.05）。与 JAK2i 组、MSC-Exo 组相比，JAK2i+MSC-Exo 组细胞凋亡减轻、ROS 活性降低（P

<0.05）。与 H/R 组相比，JAK2i 组与 MSC-Exo 组细胞活力升高，GSH 含量升高，MDA、Fe^{2+}含量降低（P<0.05）；JAK2i+MSC-Exo 组上述改变更加显著（P<0.05）。见表 6、图 6~7。

表 6　H/R 组、JAK2i 组、MSC-Exo 组、JAK2i+MSC-Exo 组细胞凋亡、ROS、细胞活力、MDA、GSH、Fe^{2+}比较　（$\bar{x} \pm s$，n=3）

组别	凋亡 (%)	ROS (%)	细胞活力 (%)	MDA (nmol/mg)	GSH (μmol/g)	Fe^{2+} (μmol/g)
H/R 组	51.4 ± 1.1	114 ± 3	0.352 ± 0.050	9.56 ± 0.58	21.5 ± 2.0	0.563 ± 0.109
JAK2i 组	31.4 ± 2.1[a]	79 ± 4[a]	0.601 ± 0.030[a]	6.91 ± 0.33[a]	27.4 ± 1.0[a]	0.362 ± 0.042[a]
MSC-Exo 组	28.4 ± 6.3[a]	74 ± 3[a]	0.657 ± 0.091[a]	6.96 ± 0.20[a]	28.5 ± 0.8[a]	0.370 ± 0.053[a]
JAK2i+MSC-Exo 组	24.1 ± 0.7[a,b,c]	51 ± 3[a,b,c]	0.853 ± 0.010[a,b,c]	5.00 ± 0.55[a,b,c]	24.2 ± 1.7[a,b,c]	0.252 ± 0.010[a,b,c]
F值	38.2	187.3	43.8	54.0	13.7	12.2
P值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.002	0.002

注：［H/R］缺氧复氧；［JAK2i］JAK2 抑制剂；［MSC-Exo］间充质干细胞来源外泌体；［ROS］活性氧；［MDA］丙二醛；［GSH］谷胱甘肽；［Fe^{2+}］铁离子。[a]与 H/R 组比较，P<0.05；[b]与 JAK2i 组比较，P<0.05；[c]与 MSC-Exo 组比较，P<0.05。

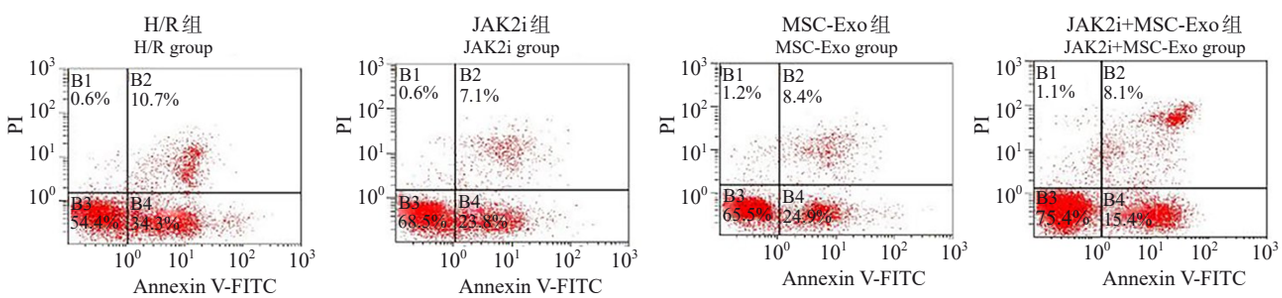


图 6　流式细胞术检测细胞凋亡情况　［H/R］缺氧复氧；［JAK2i］JAK2 抑制剂；［MSC-Exo］间充质干细胞来源外泌体。B1 象限代表坏死的细胞，B2 象限代表早期凋亡的细胞，B3 象限代表活细胞，B4 象限代表晚期凋亡的细胞。红色是各象限的细胞。H/R 处理可诱导细胞凋亡，JAK2i、MSC-Exo 处理减轻细胞凋亡，JAK2i+MSC-Exo 处理细胞凋亡减轻则更加显著。

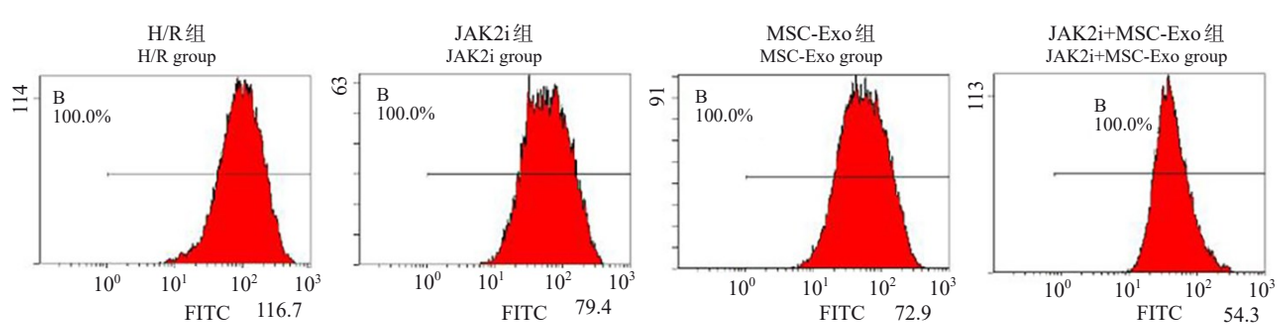


图 7　流式细胞术检测细胞 ROS 活性　［H/R］缺氧复氧；［JAK2i］JAK2 抑制剂；［MSC-Exo］间充质干细胞来源外泌体。横坐标（X 轴）为 FITC 荧光强度，代表 ROS 荧光探针的荧光信号强度，纵坐标（Y 轴）为细胞计数，峰值越高表示该荧光强度聚集的细胞数量越多；每组右下角显示的数值（116.7、79.4、72.9、54.3），是平均荧光强度。H/R 组加重 ROS 活性增强，MSC-Exo 组及 JAK2i 组 ROS 活性均降低，JAK2i+MSC-Exo 组 ROS 活性进一步降低。

2.8　JAK2i 和 MSC-Exo 对铁死亡的影响

与 H/R 组相比，JAK2i 组、MSC-Exo 组、JAK2i+MSC-Exo 组 GPX4 蛋白表达升高（P<0.05），TFR 蛋白表达下降（P<0.05）；与 JAK2i 组、MSC-Exo 组相比，JAK2i+MSC-Exo 组 GPX4 蛋白表达进一步升高（P<0.05），TFR 蛋白表达进一步降低（P<0.05）。见表 7、图 8。

表 7　H/R组、JAK2i组、MSC-Exo组、JAK2i+MSC-Exo组铁死亡相关蛋白表达水平比较　（$\bar{x} \pm s$，n=3）

组别	GPX4	TFR
H/R 组	0.521 ± 0.030	0.928 ± 0.040
JAK2i 组	0.757 ± 0.030[a]	0.721 ± 0.021[a]
MSC-Exo 组	0.702 ± 0.021[a]	0.772 ± 0.030[a]
JAK2i+MSC-Exo 组	0.925 ± 0.030[a,b,c]	0.537 ± 0.040[a,b,c]
F值	112.0	74.0
P值	<0.001	<0.001

注：［H/R］缺氧复氧；［JAK2i］JAK2 抑制剂；［MSC-Exo］间充质干细胞来源外泌体；［GPX4］谷胱甘肽过氧化物酶 4；［TFR］转铁蛋白受体。[a] 与 H/R 组比较，P<0.05；[b] 与 JAK2i 组比较，P<0.05；[c] 与 MSC-Exo 组比较，P<0.05。

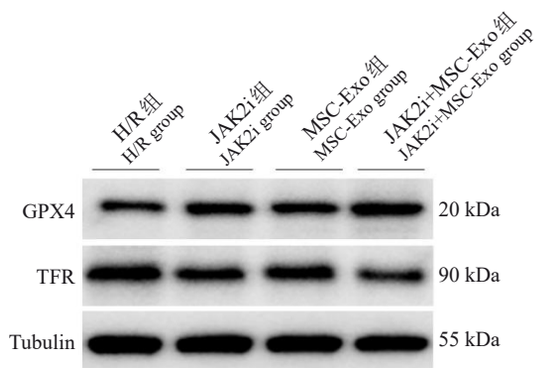


图 8　Western Blot 检测铁死亡相关蛋白 GPX4、TFR 蛋白表达条带图　［H/R］缺氧复氧；［JAK2i］JAK2 抑制剂；［MSC-Exo］间充质干细胞来源外泌体；［GPX4］谷胱甘肽过氧化物酶 4；［TFR］转铁蛋白受体。

3　讨论

WMI 是早产儿最常见的严重脑损伤类型，也是导致脑性瘫痪等终身神经功能障碍的核心病因，其病理本质为白质发育过程中少突胶质细胞成熟延迟或受阻引发的髓鞘形成障碍[21]。因此，调控少突胶质细胞存活、增殖与分化，减轻其损伤，是干预早产儿 WMI、促进功能恢复的重要靶点[22]。目前临床针对早产儿 WMI 仍缺乏有效治疗手段，探索其潜在干预靶点具有重要的临床意义。MSC-Exo 作为干细胞旁分泌效应的核心载体，研究表明其具有神经保护、抗凋亡等多重生物学活性[23]。本研究聚焦少突胶质细胞的 H/R 损伤模型以模拟 WMI 中少突胶质细胞损伤的病理过程，旨在为早产儿 WMI 的治疗提供实验依据。

既往研究表明，H/R 会导致自由基大量产生，当超出细胞的清除能力时便会引发氧化应激，进而破坏蛋白质、脂质及 DNA，使细胞正常功能受损，表现为细胞活力下降，氧化应激增强。增强的氧化应激会攻击细胞膜上的多不饱和脂肪酸，导致关键物质 GSH 耗竭，还会激活以 caspase-3 为代表的凋亡通路，促使细胞发生程序性死亡[24-25]。本研究中，H/R 导致少突胶质细胞活力下降，细胞凋亡和氧化应激增加，而 MSC-Exo 处理可提高细胞活力，防止细胞凋亡与氧化应激的发生。这表明 MSC-Exo 可缓解 H/R 诱导的少突胶质细胞损伤。也有研究发现，脑缺血再灌注损伤后 JAK2/STAT3 信号通路被异常激活，参与神经元凋亡及炎症反应[26]。本研究中，MSC-Exo 干预后可抑制 JAK2/STAT3 信号通路。为进一步探究 JAK2/STAT3 信号通路在早产儿 WMI 中的作用，应用 JAK2i 进行干预，结果显示，JAK2i 能够显著抑制 JAK2/STAT3 信号通路，同时恢复细胞活力，减轻氧化应激程度，这与 MSC-Exo 处理的效果一致，提示 MSC-Exo 可能通过抑制 JAK2/STAT3 信号通路的过度激活来发挥其保护作用，表明 JAK2/STAT3 信号通路可能是 MSC-Exo 发挥神经保护作用的关键信号通路。H/R 损伤导致大量炎症因子释放、细胞内氧化物质增加、氧化还原反应失衡等，以上均与铁死亡关系密切[27-28]。铁死亡是一种由铁超载介导的脂质过氧化驱动的程序性细胞死亡，近年来已得到广泛研究[29]。亦有研究指出，抑制 JAK2/STAT3 信号通路可减少脂质过氧化产物并上调 GPX4 蛋白表达，从而抑制铁死亡的发生[30]。然而，MSC-Exo 对早产儿 WMI 的作用，尤其是在 H/R 诱导的少突胶质细胞损伤中的作用尚不清楚。为进一步探究 MSC-Exo 抑制 JAK2/STAT3 信号通路的机制是否与铁死亡相关，本研究检测了铁死亡关键蛋白 GPX4 和 TFR 的表达，结果显示，MSC-Exo 或 JAK2i 均可显著抑制铁死亡的发生。以上结果表明，MSC-Exo 通过调控 JAK2/STAT3 信号通路抑制少突胶质细胞铁死亡，从而减轻早产儿 WMI，铁死亡可能是 MSC-Exo 保护少突胶质细胞的重要靶点。

综上所述，本研究证实 MSC-Exo 具有神经保护作用，与既往 MSC-Exo 在其他脑损伤模型中的研究结论一致[31-32]；本研究首次在少突胶质细胞损伤模型中证实，MSC-Exo 通过 JAK2/STAT3 信号通路调控铁死亡的保护机制。既往研究多聚焦于神经元或整体动物模型，而本研究以 WMI 病理进程中的核心效应细胞少突胶质细胞为研究对象，针对性构建早产儿 WMI 相关的体外损伤模型，不仅

填补了MSC-Exo在少突胶质细胞铁死亡调控领域的研究空白，更从细胞层面为解析早产儿WMI的病理机制、开发靶向干预策略提供了实验依据。然而，本研究仍存在一定局限性：首先，所有实验均在体外细胞层面开展，缺乏动物体内实验及临床样本的验证，后续需构建早产儿WMI动物模型，验证MSC-Exo的体内保护效应及机制；其次，铁死亡的调控网络复杂，本研究仅检测了GPX4、TFR两个核心标志物，未全面考察其他关键调控因子的作用，后续需系统分析铁死亡相关分子的变化，以完善机制研究；此外，本研究仅聚焦JAK2/STAT3单条通路，未深入探讨该通路与其他铁死亡调控通路的交互作用，后续需进一步开展多通路关联研究。

作者贡献声明：孟远翠负责实验操作、数据整理、数据统计、文章撰写；朱艳萍负责实验设计、论文指导、论文审阅、经费支持；王超负责数据统计。

利益冲突声明：所有作者声明不存在利益冲突。

［参 考 文 献］

[1] Hallman M, Haapalainen A, Huusko JM, et al. Spontaneous premature birth as a target of genomic research[J]. Pediatr Res, 2019, 85(4): 422-431. PMID: 30353040. DOI: 10.1038/s41390-018-0180-z.

[2] Blencowe H, Lee AC, Cousens S, et al. Preterm birth-associated neurodevelopmental impairment estimates at regional and global levels for 2010[J]. Pediatr Res, 2013, 74Suppl 1(Suppl 1): 17-34. PMID: 24366461. PMCID: PMC3873710. DOI: 10.1038/pr.2013.204.

[3] 马玲, 熊曼. 少突胶质细胞的发育和体外分化研究进展[J]. 国际儿科学杂志, 2020, 47(9): 612-616. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4408.2020.09.004.

[4] Volpe JJ, Kinney HC, Jensen FE, et al. The developing oligodendrocyte: key cellular target in brain injury in the premature infant[J]. Int J Dev Neurosci, 2011, 29(4): 423-440. PMID: 21382469. PMCID: PMC3099053. DOI: 10.1016/j.ijdevneu.2011.02.012.

[5] Morioka C, Komaki M, Taki A, et al. Neuroprotective effects of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells on periventricular leukomalacia-like brain injury in neonatal rats[J]. Inflamm Regen, 2017, 37: 1. PMID: 29259700. PMCID: PMC5725779. DOI: 10.1186/s41232-016-0032-3.

[6] Peng X, Song J, Li B, et al. Umbilical cord blood stem cell therapy in premature brain injury: opportunities and challenges [J]. J Neurosci Res, 2020, 98(5): 815-825. PMID: 31797400. DOI: 10.1002/jnr.24548.

[7] Serrenho I, Serra SC, Salgado AJ, et al. Brain on the mend: induced mesenchymal stem cell-based therapies promote functional recovery in rats with neonatal hypoxic-ischemic brain injury[J]. Cytotherapy, 2026, 28(3): 101998. PMID: 41258855. DOI: 10.1016/j.jcyt.2025.10.008.

[8] Zhang Y, Chopp M, Meng Y, et al. Effect of exosomes derived from multipluripotent mesenchymal stromal cells on functional recovery and neurovascular plasticity in rats after traumatic brain injury[J]. J Neurosurg, 2015, 122(4): 856-867. PMID: 25594326. PMCID: PMC4382456. DOI:10.3171/2014.11.JNS14770.

[9] Choi HK, Chen M, Goldston LL, et al. Extracellular vesicles as nanotheranostic platforms for targeted neurological disorder interventions[J]. Nano Converg, 2024, 11(1): 19. PMID: 38739358. PMCID: PMC11091041. DOI: 10.1186/s40580-024-00426-5.

[10] Liu S, Wu X, Chandra S, et al. Extracellular vesicles: emerging tools as therapeutic agent carriers[J]. Acta Pharm Sin B, 2022, 12(10): 3822-3842. PMID: 36213541. PMCID: PMC9532556. DOI: 10.1016/j.apsb.2022.05.002.

[11] Kudpaje M, Joghee S, Ram Kumar RM. Exoomes as a nanotheranostic platform in brain diseases[J]. Eur J Neurosci, 2025, 62(3): e70215. PMID: 40765028. DOI: 10.1111/ejn.70215.

[12] Zhang Y, Chopp M, Meng Y, et al. Effect of exosomes derived from multipluripotent mesenchymal stromal cells on functional recovery and neurovascular plasticity in rats after traumatic brain injury[J]. J Neurosurg, 2015, 122(4): 856-867. PMID: 25594326. PMCID: PMC4382456. DOI:10.3171/2014.11.JNS14770.

[13] Xiao S, Zhang Y, Liu Z, et al. Alpinetin inhibits neuroinflammation and neuronal apoptosis via targeting the JAK2/STAT3 signaling pathway in spinal cord injury[J]. CNS Neurosci Ther, 2023, 29(4): 1094-1108. PMID: 36627822. PMCID: PMC10018110. DOI: 10.1111/cns.14085.

[14] Yan Y, Bai S, Han H, et al. Knockdown of trem2 promotes proinflammatory microglia and inhibits glioma progression via the JAK2/STAT3 and NF-κB pathways[J]. Cell Commun Signal, 2024, 22(1): 272. PMID: 38750472. PMCID: PMC11094905. DOI: 10.1186/s12964-024-01642-6.

[15] Long Z, Zhu Y, Zhao H, et al. Ferroptosis in ischemic stroke: mechanisms, pathological implications, and therapeutic strategies [J]. Front Neurosci, 2025, 19: 1623485. PMID: 41306421. PMCID: PMC12643987. DOI: 10.3389/fnins.2025.1623485.

[16] Qiang JL, Ren MM, Yuan YS, et al. A review on cellular ferroptosis in traumatic brain injury: mechanisms and therapeutic implications[J]. Exp Neurol, 2026, 401: 115736. PMID: 41856450. DOI: 10.1016/j.expneurol.2026.115736.

[17] Nguyen TPM, Alves F, Lane DJR, et al. Triggering ferroptosis in neurodegenerative diseases[J]. Trends Neurosci, 2025, 48(10): 750-765. PMID: 40695640. DOI: 10.1016/j.tins.2025.06.008.

[18] Liu X, Zhao X, Zhu B, et al. Mechanistic study of S100A8-mediated ferroptosis in vascular dementia through the JAK2/STAT3 pathway[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2026, 198(4):

2387-2404. PMID: 41538098.
DOI: 10.1007/s12010-025-05527-3.

[19] 邓后亮, 张晶晶, 季爱民. α-硫辛酸对大鼠胶质瘤细胞缺氧复氧的保护作用[J]. 中华神经医学杂志, 2014, 13(6): 581-585. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-8925.2014.06.010.

[20] Welsh JA, Goberdhan DCI, O'Driscoll L, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023): from basic to advanced approaches[J]. J Extracell Vesicles, 2024, 13(2): e12404. PMID: 38326288. PMCID: PMC10850029. DOI: 10.1002/jev2.12404.

[21] Motavaf M, Piao X. Oligodendrocyte development and implication in perinatal white matter injury[J]. Front Cell Neurosci, 2021, 15: 764486. PMID: 34803612. PMCID: PMC8599582. DOI: 10.3389/fncel.2021.764486.

[22] Stadelmann C, Timmler S, Barrantes-Freer A, et al. Myelin in the central nervous system: structure, function, and pathology[J]. Physiol Rev, 2019, 99(3): 1381-1431. PMID: 31066630. DOI: 10.1152/physrev.00031.2018.

[23] Salehpour A, Karimi Z, Ghasemi Zadeh M, et al. Therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived exosomes and miRNAs in neuronal regeneration and rejuvenation in neurological disorders: a mini review[J]. Front Cell Neurosci, 2024, 18: 1427525. PMID: 39429946. PMCID: PMC11486650. DOI: 10.3389/fncel.2024.1427525.

[24] Xiao L, Wang M, Shi Y, et al. Neuroinflammation-mediated white matter injury in Parkinson's disease and potential therapeutic strategies targeting *NLRP3* inflammasome[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 143(Pt 3): 113483. PMID: 39488915. DOI:10.1016/j.intimp.2024.113483.

[25] Dixon SJ, Olzmann JA. The cell biology of ferroptosis[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2024, 25(6): 424-442. PMID: 38366038. PMCID: PMC12187608. DOI:10.1038/s41580-024-00703-5.

[26] Zheng Q, Xing J, Li X, et al. PRDM16 suppresses ferroptosis to protect against sepsis-associated acute kidney injury by targeting the NRF2/GPX4 axis[J]. Redox Biol, 2024, 78: 103417. PMID: 39549609. PMCID: PMC11612791. DOI: 10.1016/j.redox.2024.103417.

[27] Yuan C, Ma T, Liu M, et al. Ferroptosis, oxidative stress and hearing loss: mechanistic insights and therapeutic opportunities [J]. Heliyon, 2024, 10(20): e38553. PMID: 39512327. PMCID: PMC11541459. DOI:10.1016/j.heliyon.2024.e38553.

[28] Li J, Jia B, Cheng Y, et al. Targeting molecular mediators of ferroptosis and oxidative stress for neurological disorders[J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 3999083. PMID: 35910843. PMCID: PMC9337979. DOI:10.1155/2022/3999083.

[29] Yang K, Zeng L, Yuan X, et al. The mechanism of ferroptosis regulating oxidative stress in ischemic stroke and the regulation mechanism of natural pharmacological active components[J]. Biomed Pharmacother, 2022, 154: 113611. PMID: 36081288. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113611.

[30] Lai JQ, Zhao LL, Hong C, et al. Baicalein triggers ferroptosis in colorectal cancer cells via blocking the JAK2/STAT3/GPX4 axis [J]. Acta Pharmacol Sin, 2024, 45(8): 1715-1726. PMID: 38684798. PMCID: PMC11272787. DOI: 10.1038/s41401-024-01258-z.

[31] Cheng C, Chen X, Wang Y, et al. MSCs-derived exosomes attenuate ischemia-reperfusion brain injury and inhibit microglia apoptosis might via exosomal miR-26a-5p mediated suppression of CDK6[J]. Mol Med, 2021, 27(1): 67. PMID: 34215174. PMCID: PMC8254277. DOI: 10.1186/s10020-021-00324-0.

[32] Harrell CR, Volarevic A, Djonov V,et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes as new remedy for the treatment of neurocognitive disorders[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(3): 1433. PMID: 33535376. PMCID: PMC7867043. DOI: 10.3390/ijms22031433.

（本文编辑：王颖）

（©《中国当代儿科杂志》编辑部，开放获取CC BY-NC-ND 4.0协议）
（© Editorial Office of *Chinese Journal of Contemporary Pediatrics*. OA under CC BY-NC-ND 4.0 license）