

Original Article

# Reduction of Tumor Necrosis Factor Alpha Secretion by Tetrandrine-Treated Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells as an Immunosuppressive Alkaloid

Shohreh Fadaghi<sup>1,2,3</sup> , Reza Nosratabadi<sup>4,5</sup> , Mahdi Ranjkesh<sup>6</sup> , Farnaz Sedghy<sup>7</sup> , Ahmadreza Behzadi<sup>8</sup> , Merat Mahmoodi<sup>9\*</sup> 

<sup>1</sup> Ph.D. Candidate, Department of Medical Immunology, Afzalipour Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

<sup>2</sup> Ph.D. Candidate, Student Research Committee, Afzalipour Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

<sup>3</sup> Ph.D. Candidate, Department of Immunology, School of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>4</sup> Associate Professor, Department of Medical Immunology, Afzalipour Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

<sup>5</sup> Associate Professor, Gastroenterology and Hepatology Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

<sup>6</sup> MSc, Department of Medical Immunology, Afzalipour Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

<sup>7</sup> Assistant Professor, Department of Medical Immunology, Afzalipour Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

<sup>8</sup> Medical Student, Student Research Committee, Afzalipour Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

<sup>9</sup> Assistant Professor, Department of Medical Immunology, Afzalipour Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

## Article history:

Received: November 19, 2025

Revised: June 20, 2026

Accepted: June 28, 2026

ePublished: July 16, 2026



**\*Corresponding author:** Merat Mahmoodi, Department of Medical Immunology, Afzalipour Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

E-mail: merat.mahmoodi@yahoo.com

## Abstract

**Background and Aim:** Mesenchymal stem cells (MSCs) have shown different immunomodulatory properties. They suppress the proliferation and activation of T and B lymphocytes, inhibit natural killer cell activity, and impair dendritic cell maturation. In order to promote the therapeutic activities of these cells, researchers have suggested preconditioning them with various components, including natural extracts. Tetrandrine is a bisbenzylisoquinoline alkaloid with well-documented immunosuppressive and anti-inflammatory properties that modulates cytokine production and immune cell functions. This study aimed to evaluate the effect of tetrandrine on the secretion of TNF- $\alpha$  and IL-6 cytokines from MSCs.

**Materials and Methods:** MSCs were cultured and treated with tetrandrine for 48 hours, after which the levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  in the culture supernatant were measured using a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

**Results:** The findings showed that the treatment of AD-MSCs with various doses of tetrandrine could reduce the level of TNF- $\alpha$  as an inflammatory cytokine in MSCs ( $P < 0.01$ ); however, no significant changes were observed in the level of IL-6, compared to the control group.

**Conclusion:** According to the results, tetrandrine increases the anti-inflammatory potential of MSCs through decreased secretion of TNF- $\alpha$ . Hence, it is possible that the treatment of MSCs with tetrandrine enhances the therapeutic and immunomodulatory properties of these cells.

**Keywords:** Inflammation, Mesenchymal Stem Cells, Tetrandrine, Tumor necrosis factor- $\alpha$

**Please cite this article as follows:** Fadaghi SH, Nosratabadi R, Ranjkesh M, Sedghy F, Behzadi A, Mahmoodi M. Reduction of Tumor Necrosis Factor Alpha Secretion by Tetrandrine-Treated Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells as an Immunosuppressive Alkaloid. SJKUMS. 2026; 31(2):211-218. DOI:10.22034/31.2.211



**Copyright** © 2026 Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which permits copying and redistributing the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

## کاهش ترشح فاکتور نکروز توموری آلفا توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی تیمار شده با تراندرین به عنوان یک آلوئید سرکوب کننده ایمنی

شهره فداغی<sup>۱</sup>، رضا نصرت آبادی<sup>۲</sup>، مهدی رنجکش<sup>۳</sup>، فرناز صدقی<sup>۴</sup>، احمد رضا بهزادی<sup>۵</sup>، مرآت محمودی<sup>۶\*</sup>

۱. دانشجوی دکتری تخصصی، گروه ایمونولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۲. دانشجوی دکتری تخصصی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۳. دانشجوی دکتری تخصصی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴. دانشیار، گروه ایمونولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۵. دانشیار، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۶. کارشناسی ارشد، گروه ایمونولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۷. استادیار، گروه ایمونولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۸. دانشجوی دکتری عمومی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۹. استادیار، گروه ایمونولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

### چکیده

#### تاریخچه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۴/۰۸/۲۸  
ویرایش: ۱۴۰۵/۰۳/۳۰  
پذیرش: ۱۴۰۵/۰۴/۰۷  
انتشار: ۱۴۰۵/۰۴/۲۵

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی کردستان محفوظ است.

**زمینه و هدف:** سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) ویژگی‌های ایمونومدولاتوری متنوعی دارند. این سلول‌ها تکثیر و فعال‌سازی لنفوسیت‌های T و B را مهار می‌کنند، فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی را کاهش می‌دهند و از بلوغ سلول‌های دندریتیک جلوگیری می‌کنند. به منظور افزایش توان درمانی این سلول‌ها، پژوهشگران پیش‌شرطی‌سازی آن‌ها را با ترکیبات مختلف، از جمله عصاره‌های طبیعی، پیشنهاد کرده‌اند. تراندرین نوعی آلوئید بیس‌بنزیل‌ایزوکوئینولینی است که خواص سرکوب‌کننده ایمنی و ضد التهابی شناخته شده دارد و می‌تواند تولید سیتوکین‌ها و عملکرد سلول‌های ایمنی را تنظیم کند. هدف از این مطالعه بررسی اثر تراندرین در ترشح سیتوکین‌های  $TNF-\alpha$  و IL-6 توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی بود.

**مواد و روش‌ها:** سلول‌های بنیادی مزانشیمی کشت داده شد و به مدت ۴۸ ساعت با تراندرین تیمار شدند. سپس میزان سیتوکین‌های  $TNF-\alpha$  و IL-6 در مایع‌رویی کشت سلولی با استفاده از روش الایزای ساندویچی اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که تیمار سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی با دوزهای مختلف تراندرین موجب کاهش معنی‌دار سطح سیتوکین التهابی  $TNF-\alpha$  شد ( $P < 0.01$ )، در حالی که در سطح IL-6 در مقایسه با گروه کنترل، تغییر معنی‌داری مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که تراندرین از طریق کاهش ترشح  $TNF-\alpha$ ، پتانسیل ضد التهابی سلول‌های بنیادی مزانشیمی را افزایش می‌دهد. بنابراین، تیمار سلول‌های بنیادی مزانشیمی با تراندرین می‌تواند موجب تقویت خواص درمانی و ایمونومدولاتوری این سلول‌ها شود.

**واژگان کلیدی:** تراندرین، سلول‌های بنیادی مزانشیمی، فاکتور نکروز تومور دهنده تومور نوع آلفا، التهاب

\* نویسنده مسئول: مرآت محمودی، گروه ایمونولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.

ایمیل: [merat.mahmoodi@yahoo.com](mailto:merat.mahmoodi@yahoo.com)

**استناد:** فداغی، شهره؛ نصرت آبادی، رضا؛ رنجکش، مهدی؛ صدقی، فرناز؛ بهزادی، احمد رضا؛ محمودی، مرآت. کاهش ترشح فاکتور نکروز توموری آلفا توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی تیمار شده با تراندرین به عنوان یک آلوئید سرکوب‌کننده ایمنی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان، خرداد و تیر ۲۱۱-۲۱۸: (۲)۳۱، ۱۴۰۵.

### مقدمه

جداسازی کردند [۱]. امروزه، می‌توان این سلول‌ها را از انواع بافت‌ها مانند بافت چربی، طحال، قلب، ماهیچه اسکلتی، بند ناف و غیره

سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) را اولین بار Friedenstein و همکارانش در سال ۱۹۶۷ از مغز استخوان

آسیب‌دیده و آثار ایمنومدولاتوری آن‌ها منجر می‌شود [۱۲]. البته، به‌علت گران‌بودن مواد سنتتیک و سایتوکاین‌ها و همچنین برخی از آثار نامطلوب آن‌ها روی MSC، استفاده از مواد گیاهی به‌دلیل آثار سمی و عوارض جانبی کم، در دسترس بودن و مقرون‌به‌صرفه بودن، افزایش حیات، ظرفیت تکثیری، توان خودتجدیدشوندگی و آثار ایمنومدولاتوری و کاهش آپوپتوز سلول‌های بنیادی مزانشیمی، مورد توجه بسیار است [۱۲، ۱۳].

استفانیا تتراندرا اس مور (*Stephania tetrandra S. Moore*)، گیاه دارویی رایجی است که به خانواده زاموریان (*Menispermaceae*) تعلق دارد [۱۶-۱۴]. تتراندرا یکی از آلکالوئیدهای اصلی است که از ریشه‌های این گیاه استخراج می‌شود [۱۴]. تتراندرا علاوه بر آثار ضدالتهابی، دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های زیستی، از جمله سرکوب قوی سیستم ایمنی، ضد حساسیت، ضد درد، ضد افسردگی، ضد اکسیداسیون، ضد آریتمی، ضد دیابت، ضد میکروب، ضد سرطان، ضد ویروس ابولا و آثار محافظت‌کننده عصبی است که از اوایل قرن بیستم به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است [۱۸، ۱۷]. آثار ضدالتهابی آن با تأثیر روی مسیرهای سیگنالینگ مختلف مثل NFkB، ERK، PI3K و STAT3 نشان داده شده که با کاهش سایتوکاین‌های التهابی IL-1B، IL-6 و TNF-α و افزایش تولید سایتوکاین‌های تنظیمی مثل IL-10، در مهار واکنش‌های التهابی نقش دارد [۲۰، ۱۹]. با توجه به اهمیت تقویت خواص ایمنومدولاتوری سلول‌های بنیادی مزانشیمی در کاربردهای درمانی و شواهد موجود درباره آثار ضدالتهابی و تعدیل‌کننده ایمنی تتراندرا، بررسی اثر این ترکیب در عملکرد این سلول‌ها ضروری به نظر می‌رسد. از این‌رو، این مطالعه با هدف تعیین میزان ترشح TNF-α و IL-6 در مایع‌رویی سلول‌های MSCs تیمار شده با تتراندرا انجام شد.

## روش کار

### جداسازی و کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی

ابتدا سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی (AD-MSCs) به‌صورت منجمد، از بانک سلولی مرکز تحقیقات جامع سلول‌های بنیادی و پزشکی بازساختی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تهیه شد. پس از دریافت، سلول‌ها در ابتدا به‌سرعت انجمادزایی شدند. سه میلی‌لیتر محیط DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) از قبل داخل لوله ۱۵ میلی‌لیتر ریخته شد. سپس کرایوتیوب از تانک ازل خارج شد. سلول‌های فریز شده به‌مدت چند دقیقه در بن‌ماری ۳۷ درجه قرار گرفتند تا نسبتاً ذوب شوند. سپس سلول‌های داخل کرایوتیوب وارد لوله شد و پنج دقیقه در دور ۱۲۰۰ G سانتریفیوژ شدند. سپس، سوسپانسیون سلولی شسته شد و به فلاسک T25 حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط کامل، شامل محیط DMEM حاوی ۱۰ درصد

جداسازی کرد [۲، ۳]. از جمله خواص منحصر به‌فرد MSC، پتانسیل تمایزی، در دسترس بودن آن‌ها، ظرفیت گسترده آن‌ها برای گسترش در شرایط آزمایشگاهی و ترشح فاکتورهای تغذیه‌ای بود که به بازسازی بافت و خواص تنظیم ایمنی آن‌ها کمک و این سلول‌ها را برای درمان‌های مبتنی بر سلول کاندیدای مناسبی می‌کنند [۴، ۵]. سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌توانند تکثیر، تمایز و فعالیت اکثر سلول‌های ایمنی مانند سلول‌های NK، B، T، دندریتیک (DCs)، ماکروفاژ و غیره را از طریق تماس مستقیم یا غیرمستقیم با این سلول‌های ایمنی تنظیم کنند [۶، ۷]. از جمله مدیاتورهای تولید شده با سلول‌های MSC، که قادرند بر پاسخ‌های ایمنی تأثیر بگذارند (سرکوب یا تعدیل)، می‌توان به TGF-β1، اینترلوکین-۶ (IL-6)، IL-10، نیتریک اکسید (NO) و ایندول آمین ۳ و ۲ دی اکسیژناز (IDO) اشاره کرد [۸].

سلول‌های بنیادی مزانشیمی، به‌دلیل عملکرد تعدیل‌کننده سیستم ایمنی و ایمنی‌زایی کم در مطالعات کلینیکی برای درمان اختلالات ایمنی مانند بیماری پیوند در مقابل میزبان (GVHD)، مولتیپل اسکلروزیس، و غیره استفاده شده‌اند [۹]. اما درخصوص استفاده از این سلول‌ها در مطالعات کلینیکی، نتایج متناقضی دیده شده است. یکی از دلایل عمده این موضوع، انعطاف‌پذیری عملکردی و قطبیت‌پذیری فنوتیپ سلول‌های بنیادی مزانشیمی است. بدین معنی که عملکردهای تعدیل‌کننده ایمنی آن‌ها تحت ریزمحیط آن‌هاست و عملکرد آن‌ها می‌تواند بسته به ریزمحیطشان، التهابی یا ضدالتهابی شود [۱۰]. برای مثال، گزارش شده است که تحریک رسپتورهای متفاوت شبه‌تول (TLR)، به‌عنوان دسته‌ای از رسپتورهای ایمنی ذاتی، که در سلول‌های بنیادی مزانشیمی نیز بیان می‌شوند، قابلیت ایجاد فنوتیپ‌های متفاوت را دارند. تحریک TLR4 با لیپوپلی‌ساکارید باعث ایجاد فنوتیپ التهابی (MSC1) در این سلول‌ها، افزایش سایتوکاین‌های التهابی و فعال‌شدن سلول‌های T می‌شود، در صورتی که poly(I:C) محرک TLR3 باعث افزایش فاکتورهای ایمنومدولاتوری ذکر شده با سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSC2) و مهار فعالیت سلول‌های T می‌شود [۱۰، ۷].

از طرفی، کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی و پاساژ دادن آن‌ها برای به‌دست آوردن تعداد مناسب سلول برای انتقال به بدن سبب افزایش میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) و افزایش تولید فاکتورهای التهابی، از جمله سایتوکاین‌های اینترفرون گاما (IFN-γ) و فاکتور نکروزدهنده تومور نوع آلفا (TNF-α) می‌شود [۱۱]. بدین علت، محققان به دنبال ایجاد راهکارهایی برای افزایش عملکرد ایمنومدولاتوری این سلول‌ها و همچنین افزایش حیات و توان تکثیری و کاهش آپوپتوز سلول‌های بنیادی مزانشیمی قبل از ورود به بدن هستند. تاکنون، پیش‌شرطی کردن (preconditioning) یا پرایمینگ) سلول‌های MSC با سایتوکاین‌های التهابی، یا واسطه‌های شیمیایی و فارماکولوژیک بیشترین توجه را به خود جلب کرده است که به افزایش بقا، بازسازی بافت آسیب‌دیده و مهاجرت به بافت

درجهٔ مرطوب حاوی ۵ درصد دی‌اکسیدکربن قرار گرفتند.

### تیمار سلولی با تتراندین

تتراندین از شرکت سیگماآلدیج آمریکا (شمارهٔ ثبت ۳-۳۴-۵۱۸ و درجهٔ خلوص بیش از ۹۸ درصد) خریداری شد. طبق مطالعات قبلی، دو دوز تتراندین (۵ و ۱۰ میکرومولار) برای پرایمینگ سلول‌های بنیادی مزانشیمی انتخاب شد [۲۱، ۲۲]. بعد از تکثیر سلول‌ها و پرشدن ۸۰ درصد کف فلاسک، سلول‌ها با استفاده از محلول تریپسین ۰/۲۵ درصد جدا شدند و به میزان  $5 \times 10^5$  سلول در چاهک در پلیت کشت ۹۶ خانه در محیط کشت DMEM - high glucose غنی‌شده با ۱۰ درصد FBS و ۱ درصد پنی سیلین/ استرپتومایسین به مدت ۴۸ ساعت با غلظت‌های ۵ و ۱۰ میکرومولار تتراندین تیمار شدند. این زمان براساس نتیجهٔ مطالعهٔ قبلی انتخاب شده است [۲۲]. تست‌ها با سه تکرار انجام شد. گروه‌بندی چاهک‌ها در جدول ۱ ارائه شده است.

سرم جنین گاوی (FBS ، Fetal bovine serum) و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین/ استرپتومایسین (P/S) اضافه شد و فلاسک به انکوباتور ۳۷ درجه با ۵ درصد  $CO_2$  وارد شد. سپس هر ۴۸ ساعت یک‌بار، تعویض محیط انجام گرفت. این سلول‌ها هر ۲۴ ساعت از نظر مورفولوژی با میکروسکوپ معکوس (اینورت) بررسی شدند. در صورتی این سلول‌ها پاساژ داده شدند که حدود ۷۰ تا ۸۰ درصد فلاسک از سلول‌ها پر شده باشد. برای پاساژ سلول‌ها، در ابتدا محیط درون فلاسک خارج شد و سپس ۵۰۰ میکرولیتر تریپسین به فلاسک اضافه و چهار تا پنج دقیقه در انکوباتور قرار داده شد. سپس، تریپسین با FBS خنثی و سلول‌ها به فالکن منتقل و در دور ۱۲۰۰G به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شدند. بعد از سانتریفیوژ مایع رویی خارج و به رسوب سلولی ۱ میلی‌لیتر محیط اضافه شد. بعد با لام نئوبار شمارش سلولی انجام شد. سپس ۵۰۰ هزار سلول به فلاسک T25 یا ۱ میلیون سلول به فلاسک T75 اضافه و به ترتیب با محیط کامل به حجم ۵ یا ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شدند و در نهایت، فلاسک‌ها در انکوباتور ۳۷

**جدول ۱.** گروه‌بندی چاهک‌ها و شرایط تیمار سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی با تتراندین در طول ۴۸ ساعت

| گروه‌ها (n=۳)     | کنترل (بدون تیمار)          | تیمار یک                     | تیمار دو |
|-------------------|-----------------------------|------------------------------|----------|
| MSC بدون تتراندین | MSC + تتراندین (۵ $\mu M$ ) | MSC + تتراندین (۱۰ $\mu M$ ) |          |

GraphPad Prism 8 انجام شد. حداقل غلظت قابل تشخیص برای سیتوکین‌های IL-6 و TNF-a حدوداً برابر با ۵ پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود.

### تحلیل آماری

برای مقایسهٔ میزان متغیرها در گروه‌های تیمار شده با تتراندین و گروه تیمار نشده از آزمون آماری آنالیزواریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده شد. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار میانگین (Mean  $\pm$  SD) گزارش شدند. سطح معنی‌داری در آزمون‌ها  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

### نتایج

مورفولوژی سلول‌های بنیادی مزانشیمی استفاده‌شده به صورت دوکی‌شکل، کشیده و فیبروبلاست‌مانند بود. این سلول‌ها به مدت ۴۸ ساعت با غلظت‌های ۵ و ۱۰ میکرومولار تتراندین تیمار شدند که مورفولوژی آن‌ها زیر میکروسکوپ اینورت در حالت تیمار شده و فاقد تیمار در شکل ۱ قابل مشاهده است.

برای بررسی میزان سیتوکین‌های IL-6 و TNF-a پس از تیمار سلول‌های MSC با تتراندین، از تکنیک ساندویچ‌الایزا استفاده شد. غلظت این سیتوکین‌ها در مایع رویی حاصل از کشت سلول‌های MSC بعد از ۴۸ ساعت تیمار با غلظت‌های ۵ و ۱۰ میکرومولار از تتراندین در نمودار ۱ نشان داده شده است.

### اندازه‌گیری سیتوکین‌ها به روش الایزا

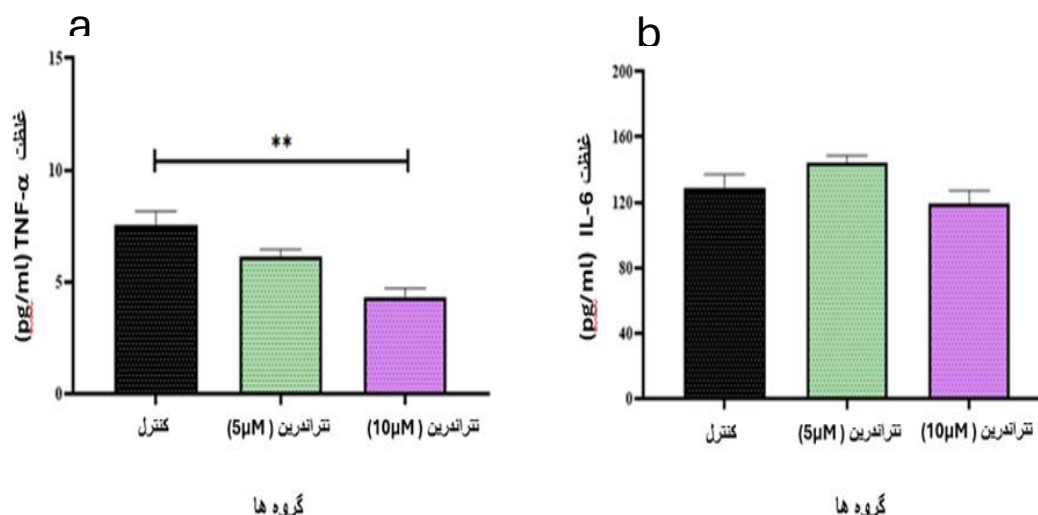
برای بررسی میزان سیتوکین‌های IL-6 و TNF-a از تست الایزا و طبق دستورالعمل کیت (کارمانیا پارس ژن کرمان، ایران) استفاده شد. به طور خلاصه، ابتدا میزان ۱۰۰ میکرولیتر از استانداردها و نمونه‌ها در چاهک‌های مختلف اضافه شد. سپس چاهک‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق (۱۸-۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد) انکوبه شدند. چاهک‌ها پنج مرتبه با محلول شست‌وشو، شسته شدند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی کونژوگه با آنزیم پراکسیداز ترب کوهی (horseradish peroxidase, HRP) به تمام چاهک‌ها اضافه شد. سپس انکوباسیون به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق (۱۸-۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد) مجدد تکرار شد. پس از اتمام انکوباسیون، چاهک‌ها سه تا پنج بار با محلول شست‌وشو، مجدد شسته شدند. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول سوبسترای تترا متیل بنزیدین (TMB) به تمام چاهک‌ها اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی انکوبه شدند. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول متوقف‌کنندهٔ سولفوریک اسید ۲ نرمال ( $H_2SO_4$ , 2N) به تمام چاهک‌ها اضافه شد. در نهایت، میزان جذب نوری نمونه‌ها و استانداردها با استفاده از دستگاه الایزایدر و در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت شد. برای به دست آوردن غلظت سیتوکین‌ها در نمونه‌های مختلف، در برنامه اکسل غلظت‌های مختلف استاندارد در محور افقی و جذب نوری آن‌ها در محور عمودی وارد شد و منحنی استاندارد رسم شد. سپس، آنالیزها با استفاده از نرم‌افزار

بود ( $P < 0.01$ ) (نمودار ۱a). در ارتباط با تغییرات میزان IL-6، در هیچ کدام از دو گروه تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل، تغییر معناداری مشاهده نشد (نمودار ۱b).

سایتوکاین  $TNF-\alpha$  در گروه‌های مختلف سلول‌های MSC تیمار شده با تراندرین در مقایسه با گروه کنترل تیمار نشده کاهش نشان داد که این کاهش در غلظت ۱۰ میکرومولار تراندرین معنادار



شکل ۱. مورفولوژی سلول‌های MSC پاساژ سوم در حالت‌های تیمار نشده و تیمار شده با غلظت‌های ۵ و ۱۰ میکرومولار تراندرین (سلول‌ها حالت کشیده، دوکی شکل و شبه فیبروبلاستی خود را پس از تیمار نیز حفظ کرده‌اند).



**نمودار ۱.** ارزیابی سایتوکاین‌های مترشح از سلول‌های MSC پس از تیمار با غلظت‌های ۵ و ۱۰ میکرومولار تراندرین (a). میزان تولید  $TNF-\alpha$ ، b. میزان تولید IL-6. نتایج به صورت اندازه‌گیری سه تکرار از هر دوز نشان داده شده است. مقایسه بین گروه کنترل و گروه‌های تیمار (۵ و ۱۰ میکرومولار) انجام و داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار میانگین نشان داده شده است. مقایسه آماری بین گروه‌ها با آزمون One-Way ANOVA انجام شده است.  $P < 0.01$  نسبت به گروه کنترل است.

## بحث

همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد، ثبات یا افزایش خواص بازسازی‌کننده، تمایزی و تعدیل‌ایمنی سلول‌های MSC از مسائل اصلی برای افزایش کارایی آن‌ها در کارآزمایی‌های بالینی است. بنابراین، به کار بردن استراتژی‌هایی برای تقویت عملکرد MSC قبل از تجویز در شرایط *In vitro* می‌تواند باعث غلبه بر محدودیت‌های استفاده از MSC‌های بکر باشد [۲۳]. پیش‌شرطی‌سازی سلول‌های MSC با مواد گیاهی به دلیل عوارض جانبی کم و در دسترس بودن، بیشتر مورد توجه قرار گرفته است [۱۳]. یکی از ویژگی‌های این مطالعه و اختلاف آن با اکثر مطالعات انجام‌شده، استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی و تیمار آن‌ها با ماده کمتر

شناخته‌شده، ولی با خواص شگفت‌انگیز تراندرین است. دلیل استفاده از AD-MSC این است که بافت چربی در مقادیر نسبتاً زیادی در بسیاری از افراد در دسترس است و جداسازی آن راحت و غیرتهاجمی است. این سلول‌ها می‌توانند به طور مؤثر در شرایط آزمایشگاهی گسترش یابند و پتانسیل تکثیر و تمایز بالایی دارند، ظرفیت تکثیری آن‌ها در مقایسه با سلول‌های MSC مشتق از مغز استخوان (Bone marrow: BM-MSC) بیشتر است و نسبت به سلول‌های BM-MSC دیرتر به پیری می‌رسند [۲۴-۲۶].

تراندرین، آلکالوئید مشتق از ریشه‌های گیاه استفانیا تتراس مور، در طب سنتی چینی کاربرد به خصوصی دارد. برطبق نتیجه مطالعه قبلی ما، سلول‌های AD-MSC تیمار شده با تراندرین،

میزان ترشح سایتوکاین التهابی  $IFN-\gamma$  را کاهش دادند و پس از هم‌کشتی با سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (Peripheral blood mononuclear cells: PBMCs) فعال‌شده با آنتی‌بادی ضد CD3 و CD28، باعث کاهش تولید  $IFN-\gamma$  و افزایش میزان  $TGF-\beta$  از این سلول‌ها شدند [۲۲]. از این سو، با توجه به نتایج مطالعات قبلی، در این مطالعه از تتراندین برای تیمار سلول‌های AD-MSC استفاده شد و این مطالعه، تنها مطالعه تاکنون انجام‌شده درباره بررسی اثر تتراندین بر ترشح دو سایتوکاین مهم تأثیرگذار در سیستم ایمنی، یعنی سایتوکاین‌های IL-6 و  $TNF-\alpha$ ، از سلول‌های بنیادی مزانشیمی است؛ چراکه تحقیقات قبلی نشان داده که در شرایط فیزیولوژیکی، سلول‌های بنیادی مزانشیمی سطح پایینی از  $TNF-\alpha$  را تولید و ترشح می‌کنند [۲۷]. از طرفی، سلول‌های MSC جداسازی شده از بافت چربی از لحاظ تولید سایتوکاین و رسپتورهای سایتوکاینی هتروژن هستند و تمام ترشحات و عملکردهای این سلول‌ها بعد از تیمار با مواد متفاوت ممکن است دچار کاهش یا افزایش شوند [۲۸]. با این حال، اهداف عملکردی سایتوکاین‌های التهابی مشتق از MSC هنوز به‌طور کامل شناخته‌شده نیستند [۲۷].

نتایج این مطالعه نشان داد که تیمار سلول‌های MSC با تتراندین توانست ترشح  $TNF-\alpha$  را به‌طور معنی‌داری کاهش دهد.  $TNF-\alpha$  نوعی سایتوکاین التهابی قوی است که در انواع سلول‌های مختلف آثار پلئوتروپیک دارد و در پاتوژنز بیماری‌های التهابی مزمن نقش مهمی ایفا می‌کند [۲۹، ۲۷]. همسو با نتایج مطالعه ما، در سال ۲۰۱۵ Zijiang Yang و همکارانش مطالعه‌ای انجام دادند که مشخص شد تتراندین باعث افزایش ترشح Prostaglandin E2 (عامل سرکوب‌کننده سیستم ایمنی) از طریق مسیر سیگنالینگ Nuclear Factor kappa-light-chain-1 (enhancer of activated B cells / Cyclooxygenase-2) از سلول‌های MSC می‌شود، به‌طوری که وقتی MSC های پیش‌شرطی‌شده با تتراندین (TET-Primed MSC) با ماکروفاژهای موشی (RAW264.7) هم‌کشتی شدند، سطوح ترشح  $TNF-\alpha$  با سلول‌های ماکروفاژ کاهش یافت [۲۱].

در مطالعه‌ای دیگر، که Yuan و همکارانش در چین با هدف بررسی آثار آنتی‌روماتوئیدی تتراندین انجام دادند، مشخص شد که تتراندین باعث کاهش میزان سایتوکاین‌های التهابی IL17A،  $TNF-\alpha$ ،  $IFN-\gamma$ ، IL1B و افزایش سطوح سرمی IL10، افزایش سلول‌های تنظیمی Treg و کاهش سلول‌های التهابی Th17 در موش‌های روماتوئیدی و نیز *invitro* شد [۳۰]. در سال ۲۰۲۰ نیز مؤسسه و همکاران به بررسی آثار ایمنومدولاتوری سلول‌های MSC از پیش تیمار شده با کافئین (به‌عنوان یک زانتین‌آلکالوئید) پرداختند. نتایج مطالعه نشان داد که کافئین سبب افزایش فاکتورهای ضدالتهابی و مهارکننده ایمنی چون  $TGF-B$ ، IL-10 و آنزیم ایندول آمین ۲ و ۳ دی اکسیژناز (IDO) می‌شود. همچنین،

آزمایش‌های آن‌ها در مدل حیوانی آرتریت روماتوئید نشان داد که درمان حیوانات با سلول‌های بنیادی مزانشیمی از پیش تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل، باعث افزایش آثار ایمنومدولاتوری، از جمله کاهش پروتئین فاز حاد التهابی (CRP)، IL-1B و  $TNF-\alpha$ ، و افزایش فاکتور ضدالتهابی IL-10 شد [۳۱].

IL-6 سایتوکاینی است که بسته به منبع سنتز، ممکن است خواص التهابی و ضدالتهابی داشته باشد [۳۲]. IL-6 شش نوع رونوشت کدکننده پروتئین دارد و مشخص شده است واریانت‌های طبیعی این سایتوکاین (ناشی از تغییر در ترکیب اگزون‌ها و از بین رفتن آن‌ها) می‌توانند عملکردهای بیولوژیکی مختلفی را در سلول‌ها و موقعیت‌های مختلف انجام دهند. نظری و همکاران بیان دو نوع رونوشت IL-6 را در سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان انسان مشخص کردند که هر کدام عملکردهای مختلفی داشتند و تیمار سلول‌های MSC با عصاره آویشن شیرازی روی بیان یک واریانت اثر افزایشی و دیگری اثر کاهشی داشت [۳۳]. مطالعات IL-6 را یکی از فاکتورهای تعدیل‌کننده ایمنی تولیدشده از سلول‌های MSC دانسته‌اند و نشان داده‌اند که برخی از عملکردهای مهمی سلول‌های بنیادی مزانشیمی به ترشح IL-6 مرتبط می‌شود [۳۴-۳۵]. برای مثال، نتایج مطالعه Deng و همکارانش نشان داد که سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بندناف انسان با ترشح IL-6 از طریق تنظیم فاکتور Suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS1) باعث القای فنوتیپ DC ترلژنیک می‌شوند [۳۵]. مطالعه دیگری نشان داد که پیش‌تیمار MSC های مشتق از بند ناف با ایتراکونازول به افزایش ترشح IL-6 و در نتیجه القای قطبش ماکروفاژها به فنوتیپ ضدالتهابی M2 منجر می‌شود و فرایند ترمیم زخم را از طریق افزایش آنژیوژنز و رسوب کلاژن تسریع می‌کند [۳۷].

نتایج ما نشان داد که تیمار با تتراندین با دوز بالاتر، تولید IL-6 از سلول‌های MSC را اندکی افزایش داد، ولی معنادار نبود. می‌توان احتمال داد که تتراندین علاوه بر کاهش ترشح  $TNF-\alpha$ ، که در این مطالعه مشخص شد، از طریق تأثیر در دیگر مکانیسم‌های تنظیمی سلول‌های MSC، عملکردهای تعدیل ایمنی آن‌ها را می‌تواند افزایش دهد. همان‌طور که نتایج مطالعه قبلی ما نشان داد که تتراندین باعث افزایش تولید دو فاکتور تنظیمی و ضدالتهابی IDO و سوپر اکسید دیسموتاز ۳ (SOD3) از سلول‌های AD-MSC شد [۲۲]. با این حال، پژوهش‌های آینده می‌توانند دامنه وسیع‌تری از غلظت‌های تتراندین را بررسی کنند تا بهترین دوز برای افزایش آثار ایمنومدولاتوری و حداقل سمیت سلولی مشخص شود. آثار طولانی‌مدت تیمار تتراندین در عملکرد و زنده‌مانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی نیز نیازمند ارزیابی است. مکانیزم‌های دقیق کاهش  $TNF-\alpha$  و دیگر سایتوکین‌ها با تمرکز بر مسیرهای سیگنالینگ  $PI3K$ ، ERK/NF- $\kappa$ B و STAT3 باید بررسی شود. استفاده از MSC های پیش‌شرطی‌شده با تتراندین در مدل‌های

از تمام افرادی که در این پژوهش ما را یاری کردند تشکر و قدردانی می‌شود. هزینه مالی این پژوهش را معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تأمین کرده است.

### ملاحظات اخلاقی

تحقیق حاضر با تکیه بر کد اخلاقی IR.KMU.AH.REC.1402.201 انجام شده است. همچنین، تمام مراحل انجام پژوهش با تأیید کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان و براساس دستورالعمل‌های اخلاقی انجام شده است.

### تضاد منافع

پژوهشگران پژوهش حاضر، منافع متقابلی از تألیف و انتشار این مقاله ندارند.

حیوانی بیماری‌های التهابی می‌تواند پتانسیل درمانی بالینی این روش را روشن کند. همچنین، بررسی آثار هم‌زمان تتراندین با دیگر ترکیبات ضدالتهابی یا ایمنومودولاتور می‌تواند آثار هم‌افزایی و بهینه‌سازی درمان را مشخص کند.

### نتیجه‌گیری

پیرو نتایج مطالعات قبلی و با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه، می‌توان ادعا کرد که به‌کاربردن تتراندین برای تیمار سلول‌های MSC مشتق از چربی می‌تواند به افزایش خواص ضدالتهابی این سلول‌ها منجر شود. شایان ذکر است با توجه به اینکه این نتایج در شرایط آزمایشگاهی به دست آمده‌اند، تعمیم آن‌ها به محیط پیچیده درون بدن با عدم قطعیت همراه است و به تأیید بیشتر در مدل‌های حیوانی نیاز دارد.

### تشکر و قدردانی

## REFERENCES

- Friedenstein A, Heersche J, Kanis J. Bone and mineral research. Amsterdam: Elsevier; 1990. [Link]
- Barbetta C, Bonomi F, Lepri G, Furst DE, Randone SB, Guiducci S. Mesenchymal stem-cell-derived exosomes and microRNAs: advancing cell-free therapy in systemic sclerosis. *Cells*. 2025;14(13):1018. [Link]
- Chen S, Liang B, Xu J. Unveiling heterogeneity in MSCs: exploring marker-based strategies for defining MSC subpopulations. *J Transl Med*. 2024;22(1):459. [DOI: 10.1186/s12967-024-05294-5]
- Squillaro T, Peluso G, Galderisi U. Clinical trials with mesenchymal stem cells: an update. *Cell Transplant*. 2016;25(5):829-48. [DOI: 10.3727/096368915x689622]
- Hoseini SM, Montazeri F. Cell origin and microenvironment: the players of differentiation capacity in human mesenchymal stem cells. *Tissue Cell*. 2025;93:102709. [DOI: 10.1016/j.tice.2024.102709]
- Jiang T, Su S, Tian R, Jiao Y, Zheng S, Liu T, et al. Immunoregulatory orchestrations in osteoarthritis and mesenchymal stromal cells for therapy. *J Orthop Translat*. 2025;55:38-54. [DOI: 10.1016/j.jot.2025.08.009]
- Waterman RS, Tomchuck SL, Henkle SL, Betancourt AM. A new mesenchymal stem cell (MSC) paradigm: polarization into a pro-inflammatory MSC1 or an immunosuppressive MSC2 phenotype. *PLoS One*. 2010;5(4):e10088. [DOI: 10.1371/journal.pone.0010088]
- Zhao Q, Ren H, Han Z. Mesenchymal stem cells: immunomodulatory capability and clinical potential in immune diseases. *J Cell Immunother*. 2016;2(1):3-20. [DOI: 10.1016/j.jocit.2014.12.001]
- Qu G, Xie X, Li X, Chen Y, De Isla N, Huselstein C, et al. Immunomodulatory function of mesenchymal stem cells: regulation and application. *J Cell Immunother*. 2018;4(1):1-3. [DOI: 10.1016/j.jocit.2018.09.001]
- Bernardo ME, Fibbe WE. Mesenchymal stromal cells: sensors and switches of inflammation. *Cell Stem Cell*. 2013;13(4):392-402. [DOI: 10.1016/j.stem.2013.09.006]
- Hu C, Zhao L, Peng C, Li L. Regulation of the mitochondrial reactive oxygen species: strategies to control mesenchymal stem cell fates ex vivo and in vivo. *J Cell Mol Med*. 2018;22(11):5196-207. [DOI: 10.1111/jcmm.13835]
- Seo Y, Shin T-H, Kim H-S. Current strategies to enhance adipose stem cell function: an update. *Int J Mol Sci*. 2019;20(15):3827. [DOI: 10.3390/ijms20153827]
- Udalahmaththa VL, Jayasinghe CD, Udagama PV. Potential role of herbal remedies in stem cell therapy: proliferation and differentiation of human mesenchymal stromal cells. *Stem Cell Res Ther*. 2016;7(1):110. [DOI: 10.1186/s13287-016-0366-4]
- Wang R, Liu Y, Shi G, Zhou J, Li J, Li L, et al. Bioactive bisbenzylisoquinoline alkaloids from the roots of *Stephania tetrandra*. *Bioorg Chem*. 2020;98:103697. [DOI: 10.1016/j.bioorg.2020.103697]
- Xu W, Chen S, Wang X, Kusano J, Yamamoto R, Matsuda H, et al. NF- $\kappa$ B regulation by bisbenzylisoquinoline alkaloids in human T cells: a structure-activity relationship study. *Med Chem Res*. 2020;29(12):2123-9. [DOI: 10.1007/s00044-020-02624-2]
- Zhang Y, Qi D, Gao Y, Liang C, Zhang Y, Ma Z, et al. History of uses, phytochemistry, pharmacological activities, quality control and toxicity of the root of *Stephania tetrandra* S. Moore: a review. *J Ethnopharmacol*. 2020;260:112995. [DOI: 10.1016/j.jep.2020.112995]
- Bhagya N, Chandrashekar K. Tetrandrine—a molecule of wide bioactivity. *Phytochemistry*. 2016;125:5-13. [Link]
- Bhagya N, Chandrashekar K. Tetrandrine and cancer—an overview on the molecular approach. *Biomed Pharmacother*. 2018;97:624-32. [Link]
- Li S, Liu X, Chen X, Bi L. Research progress on anti-inflammatory effects and mechanisms of alkaloids from Chinese medical herbs. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2020;2020(1):1303524. [DOI: 10.1155/2020/1303524]
- Song J, Liu Y, Guo Y, Yuan M, Zhong W, Tang J, et al. Therapeutic effects of tetrandrine in inflammatory diseases: a comprehensive review. *Inflammopharmacology*. 2024;32(3):1743-57. [DOI: 10.1007/s10787-024-01452-9]
- Yang Z, Concannon J, Ng KS, Seyb K, Mortensen LJ, Ranganath S, et al. Tetrandrine identified in a small molecule screen to activate mesenchymal stem cells for enhanced immunomodulation. *Sci Rep*. 2016;6(1):30263. [DOI: 10.1038/srep30263]
- Fadaghi S, Mahmoodi M, Derakhshani A, Sedghy F, Ranjesh M, Behzadi A. Enhancement the antioxidative and immunomodulatory functions of mesenchymal stem cells by tetrandrine. *Heliyon*. 2024;10(16). [DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e35667]
- Gil S, Im K-I, Kim N, Lee J, Na H, Min G-J, et al. Mesenchymal stem cells preconditioned with a TLR5 agonist enhanced immunoregulatory effect through M2 macrophage polarization in a murine graft-versus-host disease model. *Int J Med Sci*. 2024;21(9):1649. [DOI: 10.7150/ijms.93121]
- Skrypnik M. Current progress and limitations of research regarding the therapeutic use of adipose-derived stem cells: literature review. *J Umm Al-Qura Univ Appl Sci*. 2025;11(1):63-75. [DOI: 10.1007/s43994-024-00147-9]

25. Girolamo Ld, Lopa S, Arrigoni E, Sartori MF, Baruffaldi Preis FW, Brini AT. Human adipose-derived stem cells isolated from young and elderly women: their differentiation potential and scaffold interaction during in vitro osteoblastic differentiation. Taylor & Francis; 2009. [\[DOI: 10.3109/14653240903079393\]](https://doi.org/10.3109/14653240903079393)
26. Shi Y-Y, Nacamuli RP, Salim A, Longaker MT. The osteogenic potential of adipose-derived mesenchymal cells is maintained with aging. *Plast Reconstr Surg*. 2005;116(6):1686-96. [\[DOI: 10.1097/01.prs.0000185606.03222.a9\]](https://doi.org/10.1097/01.prs.0000185606.03222.a9)
27. Yu W, Chen C, Kou X, Sui B, Yu T, Liu D, et al. Mechanical force-driven  $\text{TNF}\alpha$  endocytosis governs stem cell homeostasis. *Bone Res*. 2020;8(1):44. [\[DOI: 10.1038/s41413-020-00117-x\]](https://doi.org/10.1038/s41413-020-00117-x)
28. Li H, Wang W, Wang G, Hou Y, Xu F, Liu R, et al. Interferon- $\gamma$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  promote the ability of human placenta-derived mesenchymal stromal cells to express programmed death ligand-2 and induce the differentiation of  $\text{CD4}^+$  interleukin-10 $^+$  and  $\text{CD8}^+$  interleukin-10 $^+$  Treg subsets. *Cytotherapy*. 2015;17(11):1560-71. [\[DOI: 10.1016/j.jcyt.2015.07.018\]](https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2015.07.018)
29. Van Loo G, Bertrand MJ. Death by  $\text{TNF}$ : a road to inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2023;23(5):289-303. [\[DOI: 10.1038/s41577-022-00792-3\]](https://doi.org/10.1038/s41577-022-00792-3)
30. Yuan X, Tong B, Dou Y, Wu X, Wei Z, Dai Y. Tetrandrine ameliorates collagen-induced arthritis in mice by restoring the balance between  $\text{Th17}$  and Treg cells via the aryl hydrocarbon receptor. *Biochem Pharmacol*. 2016;101:87-99. [\[DOI: 10.1016/j.bcp.2015.11.025\]](https://doi.org/10.1016/j.bcp.2015.11.025)
31. Ghaffary EM, Froushani SMA. Immunomodulatory benefits of mesenchymal stem cells treated with caffeine in adjuvant-induced arthritis. *Life Sci*. 2020;246:117420. [\[DOI: 10.1016/j.lfs.2020.117420\]](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117420)
32. Volarevic V, Gazdic M, Simovic Markovic B, Jovicic N, Djonov V, Arsenijevic N. Mesenchymal stem cell-derived factors: immuno-modulatory effects and therapeutic potential. *Biofactors*. 2017;43(5):633-44. [\[DOI: 10.1002/biof.1374\]](https://doi.org/10.1002/biof.1374)
33. Nazari A, Mahmazi S, Sahraian Z. Evaluation of Zataria multiflora Boiss. (Shirazi Thyme) hydro alcoholic extract effect on proinflammatory cytokine IL-6 different transcript variants expression level in mesenchymal stem cells (MSCs). *Gene Cell Tissue*. 2018;5(4). [\[DOI: 10.5812/gct.82463\]](https://doi.org/10.5812/gct.82463)
34. Bouffi C, Bony C, Courties G, Jorgensen C, Noel D. IL-6-dependent PGE2 secretion by mesenchymal stem cells inhibits local inflammation in experimental arthritis. *PLoS One*. 2010;5(12):e14247. [\[DOI: 10.1371/journal.pone.0014247\]](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014247)
35. Deng Y, Yi S, Wang G, Cheng J, Zhang Y, Chen W, et al. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells instruct dendritic cells to acquire tolerogenic phenotypes through the IL-6-mediated upregulation of SOCS1. *Stem Cells Dev*. 2014;23(17):2080-92. [\[DOI: 10.1089/scd.2013.0559\]](https://doi.org/10.1089/scd.2013.0559)
36. Philipp D, Suhr L, Wahlers T, Choi Y-H, Paunel-Görgülü A. Preconditioning of bone marrow-derived mesenchymal stem cells highly strengthens their potential to promote IL-6-dependent M2b polarization. *Stem Cell Res Ther*. 2018;9(1):286. [\[DOI: 10.1186/s13287-018-1039-2\]](https://doi.org/10.1186/s13287-018-1039-2)
37. Liu C, Xu Y, Lu Y, Du P, Li X, Wang C, et al. Mesenchymal stromal cells pretreated with proinflammatory cytokines enhance skin wound healing via IL-6-dependent M2 polarization. *Stem Cell Res Ther*. 2022;13(1):414. [\[DOI: 10.1186/s13287-022-02934-9\]](https://doi.org/10.1186/s13287-022-02934-9)