*Sci J Iran Blood Transfus Organ 2024;21 (1): 66-81*

***Review Article***

# The effect of different oxygen concentrations on stemness of hematopoietic stem cells

***Mohammadali F.[1], Jamali M.[1]***

*[1]Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran*

## Abstract

***Background and Objectives***

Recently, studies on the factors involved in stemness of stem cells have received a lot of attention due to its importance of stem cell-based treatments. One of the important stimuli in the fate of stem cells is the amount of oxygen in the environment. The results of various studies showed that a low concentration of oxygen in the niche of stem cells, preserves the reserves of the stem cells. Therefore, this study aims to investigate the effect of hypoxia on the hematopoietic stem cells (HSC) and the involved mechanisms.

***Materials and Methods***

In this review article, more than 100 papers in the pubmed database were reviewed. In this study, hypoxia induction methods, the effect of hypoxia on HSC and the effect of hypoxia on HSCs in Co-culture with other cells, hypoxia relationship with HIF1a factor and hypoxia relationship with stem cell stemness were discussed.

***Results***

The results of this review showed that low oxygen concentration can affect the stemness of stem cells. The difference in the results observed in different studies was due to different hypoxia induction methods, oxygen percentage, type of stem cells and time exposed to hypoxia, which necessitated optimization of the protocols for hypoxia induction.

***Conclusions***

Compared to the oxygen concentration of the environment, very low concentrations of oxygen (anoxia: 1%) take the stem cells mainly in the dormant phase and maintain a high stemness state, while at higher concentrations (5%) along with maintaining the proliferative potential of cells, stemness is also maintained. Of course, designing optimal culture conditions with specific oxygen concentration and understanding the mechanisms involved can help in the development of new target molecules and treatments based on stem cell in various diseases.

***Key words:*** Hypoxia, Oxygen, Hematopoietic Stem Cells

*Received: 2 Dec 2023*
*Accepted:1 Jan 2024*

*Correspondence:* Mohammadali F., PhD of Hematology & Blood Banking. Assistant Professor of Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and education in Transfusion Medicine.
P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88629553; Fax: (+9821) 88628708
E-mail: *f.mohammadali86@yahoo.com*



[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25 ]

خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۲۱ شماره ۱ بهار ۱۴۰۳ (۸۱-۶۶)

مقاله مروری

# اثر غلظت‌های مختلف اکسیژن بر بنیادینگی سلول‌های بنیادی خونساز

فاطمه محمدعلی[۱]، مصطفی جمالی[۲]

## چکیده

### سابقه و هدف

اخیراً مطالعه‌ها در زمینه عوامل دخیل در بنیادینگی سلول‌های بنیادی به دلیل اهمیت آن در درمان‌های بر پایه سلول‌های بنیادی مورد توجه زیادی قرار گرفته است. یکی از محرک‌های مهم در تعیین سرنوشت سلول‌های بنیادی، میزان اکسیژن محیطی است. نتایج مطالعه‌های مختلف نشان می‌دهد که غلظت اکسیژن پایین در نیچ سلول‌های بنیادی، مسئول حفظ ذخایر آن است. بنابراین در این مطالعه هدف بررسی اثر هیپوکسی بر سلول‌های بنیادی خونساز یا HSC و مکانیسم‌های دخیل بود.

### مواد و روش‌ها

در این مقاله مروری بیش از ۱۰۰ مقاله در دیتابیسPubmed مرور گردید. در این مطالعه به بررسی روش‌های القای هیپوکسی، اثر هیپوکسی بر HSC ، اثر هیپوکسی در همکشتی HSC با سایر سلول‌ها، ارتباط هیپوکسی با فاکتور HIF1a و ارتباط هیپوکسی با بنیادینگی سلول‌های بنیادی پرداخته شد.

### یافته‌ها

نتایج این بررسی مروری نشان داد که غلظت کم اکسیژن می‌تواند بر ظرفیت بنیادینگی سلول‌های بنیادی تاثیر بگذارد. تفاوت در نتایج مشاهده شده در مطالعه‌های مختلف به دلیل روش‌های مختلف القای هیپوکسی،درصد اکسیژن مورد استفاده، نوع سلول‌های بنیادی و زمان قرار گرفتن در معرض هیپوکسی بود که ضرورت بهینه‌سازی دستورالعمل‌های القای هیپوکسی را نشان می‌دهد.

### نتیجه گیری

در مقایسه با غلظت اکسیژن محیط، غلظت‌های بسیار پایین اکسیژن ۱٪ (آنوکسی) سلول‌های بنیادی را در فاز خاموشی برده و بنیادینگی بالایی را حفظ می‌کنند در حالی که در غلظت‌های بالاتر (۵٪) در کنار حفظ تکثیر سلول‌ها، بنیادینگی نیز حفظ می‌شود. مسلماً طراحی محیط‌های کشت بهینه با غلظت اکسیژن مشخص و شناخت مکانیسم‌های درگیر می‌تواند در توسعه مولکول‌های هدف جدید و درمان‌های بر پایه سلول‌های بنیادی کمک‌کننده باشد.

**کلمات کلیدی:** هیپوکسی، اکسیژن، سلول‌های بنیادی خونساز

*تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۱*
*تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۱۱*

۱- مؤلف مسئول: PhD هماتولوژی آزمایشگاهی و بانک خون ـ استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵

۲- متخصص آسیب‌شناسی ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران



[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25 ]

**مقدمه**

سلول‌های بنیادی خونساز سلول‌هایی با قابلیت خودنوسازی و تمایز به رده‌های مختلف سلولی می‌باشند که در درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها استفاده می‌شوند. روش‌های مختلفی برای تکثیر آزمایشگاهی (*in vitro*) سلول‌های بنیادی خونساز (Hematopoietic Stem Cell : HSC) وجود دارد (۱). در کنار عوامل شناخته شده در زمینه رشد *in vitro* سلول‌های بنیادی خونساز، قرار گرفتن در معرض اکسیژن یک عامل مهم در تعیین سرنوشت سلول‌های بنیادی به شمار می‌آید. به منظور تأمین بهترین شرایط برای کشت HSC در *in vitro* باید میزان غلظت حقیقی اکسیژن نیچ سلول‌های بنیادی در نظر گرفته شود. در حال حاضر اندازه‌گیری دقیق غلظت اکسیژن نیچ امکان‌پذیر نیست اما در مطالعه‌های وسیعی پذیرفته شده است که غلظت اکسیژن در نیچ هماتوپوئیتیک، پایین‌تر از غلظت اکسیژن محیطی است و مشخصه نیچ هماتوپوئیتیک اکسیژن پایین آن است. به همین دلیل به آن نیچ هیپوکسیک نیز گفته می‌شود(۲). میزان اکسیژن در بافت‌های مختلف متفاوت است. غلظت واقعی اکسیژن به خون‌رسانی بافت و فعالیت متابولیکی آن بستگی دارد (۳).

در شرایط هموستاتیک غلظت اکسیژن سلول‌ها در مغز استخوان به حدود ۲ تا ۹ درصد (۶۴/۸-۱۴/۴ میلی‌متر جیوه) می‌رسد (۴). در عروق خونی بند ناف، غلظت اکسیژن کمی بالاتر است. در زمان زایمان غلظت اکسیژن ۳۸-۲۵ میلی‌متر جیوه است که حدود ۵-۳ درصد می‌باشد (۵). در جفت (حدود ۱۲ هفته پس از حاملگی) به حدود ۶۰ میلی‌متر جیوه (۱۰-۸ درصد) می‌رسد (۷، ۶).

با وجود این که مکان آناتومیک نیچ هیپوکسی مشخص نشده است اما مشاهدات زیادی نشان می‌دهد که سلول‌های HSC ، میکرومحیط هیپوکسی را نسبت به محیط غنی از اکسیژن ترجیح می‌دهند. از جمله: مدل‌سازی ریاضی توزیع غلظت اکسیژن در مغز استخوان نشان داده است که HSC در محیطی هیپوکسیک واقع شده است (۸). از سوی دیگر کشت هیپوکسیک HSC در اکسیژن پایین باعث افزایش تولید رده‌های اریتروئیدی- مگاکاریوسیتی و پروژنیتورهای گرانولوسیتی- مونوسیتی می‌شود (۱۰، ۹).

کشت هیپوکسی باعث افزایش پیوندپذیری HSC می‌شود (۱۳-۱۱). نهایتاً مطالعه‌های داخل بدن(*in vivo*) نشان داده‌اند که HSC با فنوتیپ اولیه‌تر در ناحیه هیپوکسیک نیچ واقع شده است (۱۷-۱۴). روی هم رفته این نتایج نشان می‌دهند که میکرو محیط با غلظت اکسیژن کم توسط HSC تحمل نمی‌شود بلکه برای حفظ بنیادینگی آن ضروری است.

سلول‌ها در پاسخ به میزان اکسیژن موجود، بیان ژن‌های خود را تغییر می‌دهند که این تغییرات متابولیسم، ایمنی و سازماندهی بافتی سلول را تحت تأثیر قرار می‌دهد. پاسخ‌های سلولی به هیپوکسی عمدتاً از طریق فاکتور رونویسی HIF1( Hypoxia Inducible Factor 1) واسطه‌گری می‌شود که خود باعث تغییر بیان ژن‌های درگیر در آنژیوژنز، پرولیفراسیون سلولی و بقا در شرایط هیپوکسیک می‌شود. معمولاً سلول‌ها در پاسخ به غلظت اکسیژن، پاسخ‌های مختلفی ایجاد می‌کنند از جمله: کاهش فسفوریلاسیون اکسیداتیو، توقف چرخه سلولی و تحریک تشکیل عروق خونی جدید که با آزاد کردن فاکتورهایی چون فاکتور رشد اندوتلیال عروقی ( Vascular endothelial growth factor) VEGF ، فاکتور رشد ترانسفورمه کننده بتا (Transforming growth factor beta) TGF-B ، آنژیوپوئیتین ۱ (Angiopoietin 1) ANG-1 و فاکتور رشد فیبروبلاستی ۲ (Fibroblast growth factor2) FGF2 همراه است (۱۸).

غلظت بالای اکسیژن باعث القای سیتوتوکسیسیتی به علت تولید گونه‌های فعال اکسیژن ROS ( Reactive oxygen species) می‌شود که با اکسیداسیون لیپید، پروتئین و نوکلئیک اسید منجر به اختلال عملکرد سلولی می‌گردد. معمولاً سلول‌ها سطوح مختلفی از آنتی‌اکسیدان‌ها و آنزیم‌های ردوکس (Redox) برای مقابله با تجمع ROS دارند اما در برخی موارد این سیستم توان مقابله کافی با تولید ROS را نداشته و منجر به درجات مختلفی از تولرانس ROS می‌شود (۱۹).

نتایج مطالعه‌های مختلف نشان می‌دهد که غلظت کم اکسیژن که در نیچ مغز استخوان وجود دارد، می‌تواند بر ظرفیت پرولیفراتیو، بقا و بنیادینگی سلول‌های بنیادی تأثیر



[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25 ]

بگذارد (۲۰). سلول‌های هماتوپوئیتیک خاموش در ناحیه اندوستئال (Endosteal) نیچ مغز استخوان با شرایط هیپوکسیک فراوان ترند (۲۱). در خصوص سیستم هماتوپوئیتیک تعادل بین تکثیر سلولی و خاموشی برای HSC با غلظت اکسیژن حدود ۵ درصد گزارش شده است (۲۳، ۲۲).

خاصیت بنیادینگی (Stemness) به ترکیبی از خواص مختلف هم‌چون حفظ خودنوسازی، پتانسیل پیوندپذیری طولانی مدت، لانه‌گزینی و تمایز چند رده‌ای اطلاق می‌شود. باید به این مسأله توجه داشت که مارکر واحدی به عنوان مارکر مختص و قطعی برای بنیادینگی سلول‌های بنیادی وجود نداشته، بلکه ترکیبی از مارکرها هستند که بیانگر بنیادینگی بوده و با اطمینان می‌توان گفت که عدم حضور تعداد قابل توجهی از این مارکرها، ماهیت بنیادی بودن یک سلول را رد می‌نماید. در این مطالعه به بررسی روش‌های القای هیپوکسی، اثر هیپوکسی بر سلول‌های بنیادی خونساز، اثر هیپوکسی بر سلول‌های بنیادی خونساز در همکشتی با سایر سلول‌ها، ارتباط هیپوکسی با فاکتور HIF1a و ارتباط هیپوکسی با بنیادینگی سلول‌های بنیادی پرداخته شد.

## مواد و روش‌ها

در این مقاله مروری بیش از ۱۰۰ مقاله در دیتابیس pubmed با کلمات کلیدی هیپوکسی، بنیادینگی و سلول‌های بنیادی خونساز مرور گردید.

## یافته‌ها

### روش‌های فیزیکی القای هیپوکسی:

*چمبرهای (Chamber) هیپوکسیک، انکوباتورهای سه گازه و ایستگاه کاری (Workstation) هیپوکسی:*

انکوباتورها و چمبرهای هیپوکسیک فراوان‌ترین سیستم‌های مورد استفاده برای ایجاد شرایط هیپوکسی هستند. چمبرها از مواد جامد ثابت و سایز مناسب برای ۱۲ ظرف محیط کشت ۱۰ سانتی‌متری و تجهیزاتی چون رگولاتور (Regulator) و لوله‌کشی پمپ‌ها برای تأمین گاز داخل محفظه تشکیل شده است. در این چمبرها باید از آب مقطر در ظروف استریل برای حفظ رطوبت داخل چمبر استفاده شود (۲۴). یکی از نقایص این چمبرها نشت آن است به همین دلیل امروزه عمدتاً از انکوباتورهای سه گازه استفاده می‌شود. اولین انکوباتور سه گازه در سال ۱۹۷۹ استفاده شد، در این انکوباتورها دو گاز $CO_2$ و $N_2$ باعث کاهش غلظت اکسیژن می‌شوند. یکی دیگر از روش‌ها استفاده از کیسه‌های بی‌هوازی (آنئروپک) است که در چندین مقاله بررسی شده است (۲۶، ۲۵). این کیسه‌ها کاربری بسیار راحتی دارند و نیازی به آب یا کاتالیست ندارند و فقط باید آن‌ها را در داخل جار قرار داد. یکی از مزایای مهم آن قیمت کم و حمل و نقل راحت آن است.

استفاده از Workstation هیپوکسی که کنترل دقیق درصد اکسیژن و دی‌اکسید کربن را امکان‌پذیر می‌کند، روشی مناسب است (۲۷). این محفظه‌ها سلول‌ها را در معرض عدم تغییر غلظت اکسیژن قرار می‌دهند چون می‌توان محیط کشت را بدون تغییر سطح اکسیژن آن تعویض کرد. این ابزار مجهز به سنسور اکسیژن است که غلظت اکسیژن را پایش می‌کند و دو دستکش دارد که جابه‌جایی نمونه را امکان‌پذیر می‌کند (۲۷). این ابزار برای ایجاد شرایط آنوکسی یا غلظت اکسیژن بسیار پایین مناسب است.

اخیرا دستگاه پیچیده میکروفلوئیدی برای ایجاد شرایط کاهش اکسیژن با امکان سنجش دقیق فشار اکسیژن پیشنهاد شده است. ابعاد کوچک این وسیله فاصله انتشار اکسیژن را به حداقل رسانده و یک سیستم میکروواسکولار (Microvascular) با حجم‌های کوچک (در حد میکرولیتر) را فراهم می‌آورد (۲۸). تعیین مقادیر دقیق اکسیژن سلول‌ها امکان‌پذیر نیست چون میزان مصرف اکسیژن توسط سلول‌ها به چندین متغیر نوع ظروف کشت سلول، نوع سلول، میزان سلول کشت داده شده، حجم محیط کشت و ترکیبات آن، دما و رطوبت محیط کشت و تعداد دفعات بازشدن درب انکوباتور بستگی دارد (۲۹). به عنوان مثال تعویض محیط کشت باعث می‌شود مدتی زمان ببرد تا سلول‌ها با غلظت اکسیژن جدید به تعادل برسند (۲۹). به همین دلیل قرار دادن سنسورهای اکسیژن در محیط کشت برای اندازه‌گیری غلظت اکسیژن پیشنهاد می‌شود تا تمام نوسانات اکسیژن را اندازه‌گیری کند هر چند که به طور روتین استفاده نمی‌شود (۳۰).



[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25 ]

*روش‌های شیمیایی القای هیپوکسی:*

روش دیگر مطالعه بررسی هیپوکسی، استفاده از تیمار دارویی و ترکیبات شیمیایی تحت عنوان ترکیبات مقلد هیپوکسی می‌باشد که در میان آن‌ها کلرید کبالت، دی متیل اگزالیل گلایسین (DMOG) و دفروکسامین (DFO) ترکیباتی است که بسیار استفاده می‌شوند (۳۱).

DMOG مهارکننده رقابتی ایزوفرم ۳ پرولیل هیدروکسیلاز (Proly 1 Hydroxylase Domain : PHD) است که مهارکننده HIF می‌باشد و به عنوان آنالوگ ۲-اکسوگلوتارات (2OG : کوسوبسترای PHD) عمل می‌کند و در جایگاه کاتالیتیک قرار گرفته و باعث مهار فعالیت آنزیمی می‌شود (۳۲).

DFO شلاتور آهن است که کوفاکتور دیگر فعالیت PHD است. کمبود آهن در دسترس باعث مهار فعالیت PHD و تحریک تجمع HIF1α و افزایش فعالیت آن می‌شود (۳۳). کلرید کبالت باعث مهار PHD با جایگزینی آهن و افزایش سطح پروتئین HIF1α و القای فعالیت رونویسی آن می‌شود (۳۴) کبالت مانع اتصال HIF1α به پروتئین وون هیپل لاندا (VHL) و مهار تخریب HIF1α و تخلیه آسکوربات می‌شود که برای حفظ PHD ضروری است. افزایش سطح HIF1α بعد از تیمار با کلرید کبالت هم‌چنین با تولید ROS مرتبط دانسته شده است (۳۵). با این که این روش ارزان بوده و امکان باز کردن ظروف کشت سلول توسط اپراتور بدون تغییر در غلظت اکسیژن را فراهم می‌آورد، اما احتمالاً علاوه بر القای HIF مکانیسم‌های ناشناخته دیگری را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهد (۳۶). از سوی دیگر مدت زمان قرار گرفتن در معرض این مواد شیمیایی عامل متغیر مهم دیگری است (۳۷). هم‌چنین پاسخ‌های سلولی مختلفی ممکن است بسته به ایزوفرم HIF فعال شده رخ دهد. در مطالعه‌ها نشان داده شده که HIF1 پاسخ‌های اولیه در ۲۴ ساعت اول را ایجاد می‌کند در حالی که HIF2 در پاسخ‌های مزمن پس از ۲۴ ساعت نقش دارد (۳۸).

*تاثیر هیپوکسی بر سلول‌های بنیادی خونساز:*

هیپوکسی نقش مهمی در تنظیم خونسازی دارد که با حمایت HSC از استرس اکسیداتیو همراه است و یک مدیاتور مهم در پیری HSC می‌باشد (۴۰، ۳۹) بسیاری از مطالعه‌ها به بررسی نقش هیپوکسی در فعالیت خونسازی موش/انسان و مقایسه بقا و تکثیر، فعالیت پروژنیتورهای خونساز، فعالیت لانه گزینی در *In vivo* و چرخه سلولی سلول‌های خونساز کشت داده شده در نرموکسی در مقابل هیپوکسی پرداخته‌اند (۴۴-۴۱، ۱۳، ۹، ۷، ۶). تفاوت نتایج مطالعه‌های مختلف به علت تفاوت در بافت مورد استفاده، سیستم کشت هماتوپوئیتیک مورد استفاده (تشخیص حداقل ۵ نوع پروژنیتورمختلف)، سطح اکسیژن، زمان قرار گرفتن در معرض هیپوکسی و ترکیب‌های مختلف از سیتوکاین (فاکتور محرک کلنی گرانولوسیت/ماکروفاژ (GM-CSF)، اینترلوکین ۳ (IL-3) و اینترلوکین۶ (IL-6)، استم سل فاکتور(SCF)، ترومبوپیتین (TPO)، لیگاند شبه FMS- تیروزین کیناز ۳ (FLT-3) ) در محیط کشت بوده است. بسته به شرایط محیط کشت، تعداد سلول‌های خونساز کاهش، افزایش و یا بدون تغییر در مقایسه با زمان صفر بوده است. خلاصه مطالعه‌هایی که به بررسی اثر هیپوکسی بر سلول‌های بنیادی خونساز پرداخته‌اند در جدول ذکر گردیده است (جدول ۱). به طور کلی کشت سلول‌ها در آنوکسی (اکسیژن ۱ درصد و کمتر) موجب افزایش حفظ و بازگشت HSC به فاز خاموشی و G0 می‌شود (۵۳) اما کشت در غلظت‌های بالاتر (۳ و ۵ درصد) باعث حفظ پرولیفراسیون در کنار حفظ خودنوسازی سلول‌های HSC موشی و انسانی می‌گردد (۱۱).

تفاوت در نتایج مشاهده شده در مطالعه‌های مختلف به دلیل روش‌های القای هیپوکسی مختلف (شیمیایی یا فیزیکی)، درصد اکسیژن مورد استفاده، مدل‌های سلول‌های بنیادی استفاده شده و زمان در معرض هیپوکسی بودن می‌باشد. علاوه براین متابولیسم سلول‌های بنیادی تعیین‌کننده مهم فرآیندهای سلولی است که در پرولیفراسیون، بنیادینگی و تعهد به رده نقش دارند.

*اثر هیپوکسی بر سلول‌های بنیادی خونساز در سیستم‌های هم کشتی:*

در مطالعه‌های مختلفی اثر هیپوکسی در کنار سیستم‌های



[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25 ]

**جدول ۱: خلاصه مطالعه‌های انجام شده در زمینه کشت سلول‌های بنیادی خونساز در شرایط هیپوکسی**

| نوع سلول بنیادی | اثر هیپوکسی | رفرانس |
|---|---|---|
| سلول‌های بنیادی خونساز $CD34^+$ | اکسیژن ۰/۱ درصد در مقایسه با غلظت اکسیژن ۳ و ۲۱ درصد مانع ورود سلول‌ها به چرخه سلولی (کاهش رشد) و حفظ سلول‌ها در فاز G0 می‌شود | ۴۵ |
| سلول‌های بنیادی خونساز مغز استخوان موش | اکسیژن ۱ درصد منجر به مهار برگشت‌پذیر تکثیر سلول‌ها می‌شود. هم‌چنین کشت در شرایط هیپوکسی باعث افزایش برخی از سلول‌های خونساز و پروژنیتورهای مقاوم در برابر ۵- فلوروواوراسیل می‌شود. | ۴۶ |
| سلول‌های بنیادی خونساز | کشت در غلظت اکسیژن ۱ درصد، در ابتدا تعداد سلول‌های خونساز کاهش یافت اما پس از آن به سطح زمان صفر رسید و یا از آن میزان بالاتر رفت، در حالی که کشت در نرموکسی با افزایش ۳ برابری سلول‌ها همراه بود. | ۷ |
| سلول‌های بنیادی خونساز با فنوتیپ اولیه $CD34^+CD38^-$ خون بند ناف | اکسیژن ۱ درصد منجر به کاهش چشمگیر پرولیفراسیون و افزایش بیان ژن‌های مهاری چرخه سلولی هم‌چون P21 می‌شود. هیپوکسی ۱ درصد به طور مؤثر باعث حفظ سلول‌های بنیادی خونساز با فنوتیپ اولیه $CD34^+CD38^-$ خون بند ناف می‌شود در حالی که تعداد کلی سلول‌ها کاهش می‌یابد | ۴۴ |
| سلول‌های بنیادی خونساز LSK + (Lin-,Sac1+,c-kit$^+$) | شرایط هیپوکسی شدید (اکسیژن ۰/۱٪) منجربه کاهش قابل توجه تعداد سلول‌ها در مقایسه با غلظت اکسیژن طبیعی (۲۱ درصد) شد در حالی که جمعیت سلولی در فاز G0 چرخه سلولی افزایش یافت. پیوند پذیری به ازای یک سلول در شرایط هیپوکسی بالاتر بود. | ۴۷ |
| سلول‌های بنیادی خونساز Lin- $CD34^+$ مغز استخوان | توانایی تکثیر سلول‌های بنیادی خونساز Lin- $CD34^+$ در غلظت اکسیژن ۱/۵ درصد کاهش یافت در حالی که توانایی تکثیر سلول‌های Lin- $CD34^+$ $CD38^-$ (زیر مجموعه غنی از HSCs) افزایش یافته بود. | ۱۳ |
| سلول‌های $CD34^+$ خون بند ناف | جمع‌آوری و فرآوری سلول‌های $CD34^+$ خون بند ناف در اکسیژن ۳ درصد باعث افزایش ۳ برابری تعداد HSC شد. | ۴۸ |
| کشت سلول‌های هماتوپوئیتیک $CD34^+$ | اکسیژن ۳ درصد باعث افزایش ریکاوری و پیوندپذیری HSC در موش و خون محیطی و خون بند ناف انسان می‌شود. | ۴۹ |
| سلول‌های خونساز $CD133^+$ خون بند ناف | شرایط هیپوکسی منجر به تکثیر ۲۷ برابری سلول‌های $CD34^+CD38^-$ شد. کلنی میلوییدی در غلظت اکسیژن ۵ درصد به طور چشمگیری بالاتر بود و خاصیت پیوندپذیری بالاتری داشت. | ۵۰ |
| سلول‌های بنیادی خونساز | کشت در شرایط هیپوکسی منجر به پیوند پذیری طولانی مدت (یک ماهه ) در پیوند HSC شد. | ۵۱ |
| سلول‌های بنیادی خونساز $CD34^+$ خون بند ناف | میزان تکثیر $CD34^+$ افزایش یافته که افزایش ۳۰ برابری در FACS (Fluorescence-activated cell sorting) و ۱۲۰ برابری در CFU ( colony forming unit) را نشان داد. پیوندپذیری طولانی مدت در شرایط هیپوکسی مشاهده شد. | ۵۲ |
| سلول‌های بنیادی خونساز خون بند ناف | اکسیژن ۲۱ درصد حتی برای مدت کوتاه (۲۰ تا ۳۰ دقیقه) اثر مخربی بر بازده HSC خون بند ناف دارد و اکسیژن ۳ درصد باعث حفظ ذخیره سلول‌های بنیادی می‌شود. | ۴۸ |



[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25 ]

**جدول ۲: خلاصه مطالعه‌های انجام شده در زمینه کشت سلول‌های بنیادی خونساز در شرایط هیپوکسی در شرایط همکشتی**

| نوع سیستم همکشتی | اثر هیپوکسی | رفرانس |
|---|---|---|
| سلول‌های $CD34^+$ خون بند ناف با سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان | هیپوکسی خفیف (اکسیژن ۵ درصد) درکنار همکشتی با سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان منجر به افزایش تعداد کل سلول‌های هسته‌دار(TNC) و افزایش نسبی سلول‌های $CD34^+$ می‌شود. | ۵۴ |
| هم کشتی سلول‌های بنیادی خونساز $CD34^+$ خون محیطی انسان با سلول‌های استرومایی مغز استخوان | هیپوکسی همراه با همکشتی منجر به حفظ سلول‌های بنیادی اولیه فاز تاریک (Dim phase : سلول‌های خونسازی که به زیر سلول‌های استرومایی مهاجرت کرده‌اند) می‌شود. | ۴۵ |
| سلول‌های بنیادی خونساز $CD34^+$ خون بند ناف هم کشتی داده شده با سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان | در غلظت اکسیژن ۱/۵ درصد خاصیت SRC (NOD/SCID repopulating cells) بالاتری در مقایسه با سلول‌های $CD34^+$ تازه گزارش شد | ۲ |
| سلول‌های بنیادی خونساز هم کشتی داده شده با سلول‌های بنیادی مزانشیمی (Mesenchymal Stem Cell :MSC) | غلظت اکسیژن ۰/۵ درصد همراه با هم کشتی با سلول‌های بنیادی مزانشیمی باعث شد تعداد پرولیفراسیون و تقسیم سلولی در سلول‌های بنیادی خونساز کمتر شود اما باعث حفظ بهتر پروژنیتورهای اولیه شد. | ۴۵ |
| سلول‌های بنیادی خونساز $CD34^+$ خون بند ناف با سلول‌های بنیادی مزانشیمی | اکسیژن ۱۰ درصد در مقایسه با اکسیژن ۵ و ۲۰ درصد، تکثیر بالاتر سلول‌های بنیادی را نشان داد. در غلظت اکسیژن ۱۰ درصد سلولهای اولیه‌تر $CD34^+CD90^+$ بیشترین میزان افزایش را داشتند. | ۵۵ |
| کشت سلول‌های بنیادی خونساز خون بند ناف در حضور استئوبلاست‌ها | شرایط هیپوکسی (اکسیژن ۵ درصد) منجر به افزایش تعداد کلی سلول‌ها، تعداد کلنی‌ها و سلول‌های بنیادی $CD34^+$ می‌شود. | ۵۶ |
| هم کشتی سلول‌های بنیادی خونساز با سلول‌های استرومایی مشتق از بافت چربی | سلول‌های استرومایی بافت چربی در ترکیب با هیپوکسی (اکسیژن ۵ درصد) باعث افزایش تکثیر سلول‌های پروژنیتور خون بند ناف شد. میزان سلول‌های $CD34^+$ در شرایط هیپوکسی بالاتر از نرموکسی بود. | ۵۷ |
| هم کشتی سلول‌های بنیادی خونساز با سلول‌های بنیادی مزانشیمی | شیفت به سمت رده میلوییدی مشاهده شد ($CD33^+$,$CD15^+$.$CD14^+$) که می‌تواند بر پیوندپذیری با تأخیر غلبه کند. | ۵۸ |
| سلول‌های بنیادی مزانشیمی با بیان افزایش یافته HIF1a در همکشتی با HSC | MSC در حفظ فنوتیپ HSC و مهار تمایز آن نقش دارد. | ۵۹ |
| تثبیت HIF در سلول‌های بنیادی مزانشیمی و همکشتی آن با سلول‌های بنیادی خونساز | تولید و ترشح سیتوکاین‌ها و کموکاین‌های حمایت‌کننده از خونسازی افزایش یافته و تعداد سلول‌های بنیادی $CD34^+$ افزایش می‌یابد. | ۶۰–۶۵ |
| سلول‌های بنیادی خونساز با همکشتی با سلول‌های بنیادی مزانشیمی و سلول‌های اندوتلیال (در ساختار سه بعدی) | این ترکیب با اثر سینرژیسم با اکسیژن ۳ درصد باعث حفظ HSC و تقلید بهتر فضای نیچ شد. | ۶۶ |

همکشتی بر سلول‌های بنیادی خونساز نیز بررسی شده است (جدول ۲).

در نهایت استفاده از نیچ هیپوکسیک برای افزایش تکثیر مناسب HSC و در کنار آن حفظ فنوتیپ آن در *In vivo* نیاز به مطالعه‌های گسترده دارد (۶۷).

*ارتباط هیپوکسی با HIF1a:*

HIF تنظیم کننده اصلی هموستاز اکسیژن است که



[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25 ]

تاکنون هزاران هدف ژنی برای آن شناخته شده است. HIF یک فاکتور رونویسی هترودایمر است که از دو زیر واحد تشکیل شده است :HIF1α و HIF1β (۶۸).

HIF1α تنظیم‌کننده اصلی هیپوکسی است و عمدتاً در سطح بعد از رونویسی تنظیم می‌شود (۶۹). امروزه ۳ زیر واحد α شناسایی شده است HIF 1α ، HIF 2α و HIF 3α که (۷۰) که هر کدام عملکرد متفاوتی دارند (۷۱). هر سه ایزوفرم هترودایمری با HIF1β تشکیل داده و به جایگاه اتصال به HIF متصل می‌شوند (۷۲).

HIF در حالت طبیعی در سطوح پایه در سلول‌ها بیان می‌شود اما در غلظت اکسیژن بالا یعنی اکسیژن ۲۱ درصد (که به آن نرموکسی نیز می‌گویند) یوبیکوئیتینه شده و تخریب می‌شود. که توسط آنزیم پرولیل هیدروکسیلاز دومین (PHD) هیدروکسیله شده و جایگاه اتصال برای پروتئین وون هیپل لاندا ایجاد می‌کنند که جزیی از کمپلکس E3 یوبیکوئیتین لیگاز است و باعث تخریب پروتئازومی HIFIα می‌شود در نتیجه HIFIα در شرایط نرموکسی سریعاً تخریب می‌شود (۷۳).

در شرایط غلظت اکسیژن پایین (که به آن هیپوکسی نیز گفته می‌شود) PHD غیرفعال است و پروتئین HIFIα پایدار مانده و زیرگروه‌های HIFα و HIFβ هترودایمری را تشکیل می‌دهند که نام آن کمپلکس انتقال هسته‌ای رسپتور آریل هیدروکربن (ARNT : Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator) است که به هسته منتقل می‌شود. وقتی این هترو دایمر در هسته تشکیل می‌شود، توسط کواکتیویتورها (Coactivator) شناسایی شده و به توالی حفاظت شده در عنصر پاسخ دهنده به هیپوکسی (HRE : Hypoxia response element) ژن‌های هدف متصل شده و باعث تنظیم رونویسی می‌شود (۷۴).

## بحث

نتایج مطالعه تاکوبو و همکاران با موش‌های حذف ژنی شده نشان داد که HIF-1α بر خاموشی HSC و عملکرد آن در داخل بدن نقش دارد (۷۵). با این که هیپوکسی با واسطه HIF و اثر آن در تکثیر HSC بسیار مهم است، شرایط نرموکسی/فعال‌سازی پیوسته HIF-1α اثرات منفی بر روی عملکرد HSC دارد.

نتایج مطالعه‌ها نشان داده است که حذف ژنی *HIF2α* در سیستم هماتوپوئیتیک تأثیری بر عملکرد HSC ندارد هر چند که حذف ژنی آن در جمعیت غنی از سلول‌های بنیادی و پروژنیتوری $CD34^+$ منجر به اختلال در ظرفیت بازسازی می‌شود (۷۷، ۷۶). البته موش HIF2α Null زمانی که با سلول‌های اهدایی نوع وحشی پیوند داده می‌شود، نقص در هماتوپوئز نشان می‌دهد که نشان‌دهنده نقش HIF2α در هماتوپوئز طبیعی در میکرومحیط HSC می‌باشد (۷۷).

ناک اوت ژنتیکی تنظیم‌کننده‌های منفی HIF نیز منجر به افزایش سیگنالینگ هیپوکسی می‌شود. به عنوان مثال حذف PHD منجر به تثبیت HIFIα و HIF2α می‌شود (۷۸). موش گیرنده پیوند با نقص PHD در مغز استخوان افزایش پیوندپذیری را نشان داد که نشان می‌دهد حذف PHD و افزایش سیگنالینگ هیپوکسی باعث افزایش پرولیفراسیون HSC پس از پیوند می‌شود. به طور مشابه حذف مونوآللی وون هیپل لاندا که لیگاز HIF E3 است، باعث افزایش خاموشی در HSC و افزایش پیوندپذیری در مغز استخوان شد (۷۹). از سوی دیگر حذف ژنی CITED2 (Cbp/p300-interacting transactivator 2) که یک تنظیم‌کننده منفی HIFIα است، در سیستم هماتوپوئیتیک منجر به از دست دادن HSC و نقص مغز استخوان شد (۸۰). این نتایج نشان می‌دهد که کنترل مناسب سطوح HIF در HSC در نیچ برای تعیین سرنوشت سلول بنیادی ضروری است.

بنابراین تنظیم دقیق سطح HIFIα برای حفظ خاموشی HSC ضروری است و به نظر می‌رسد محور HIFIα در اثرات هیپوکسی بر سلول‌های بنیادی خونساز نقش اصلی را داشته باشد.

### *هیپوکسی و بنیادینگی:*

غلظت اکسیژن به طور نزدیکی با حفظ بنیادینگی سلول‌های بنیادی در نیچ بافتی (جایگاه آناتومیکی که در تولید و حفظ و ترمیم سلول‌های بنیادی نقش دارد) ارتباط دارد (۸۳-۸۱). نیچ سلول‌های بنیادی یک ساختار پیچیده، هتروتیپیک و دینامیکی است که شامل ماتریکس خارج



[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25 ]

سلولی، سلول‌های مجاور در نیچ، فاکتورهای سیگنالینگ محلول ترشح شده و سیگنال‌های مختلف فیزیکی و محیطی می‌باشد (۸۵، ۸۴).

در مطالعه‌های مختلف نشان داده شده است که سلول بنیادی در شرایط هیپوکسیک در نیچ قرار دارند اما اندازه‌گیری دقیق میزان اکسیژن در نیچ با روش‌های فعلی امکان‌پذیر نیست اما با تخمین حدود غلظت اکسیژن ۳ تا ۱۳ درصد در نیچ سلول‌های بنیادی وجود دارد (۸۶).

خاصیت بنیادینگی (Stemness) به ترکیبی از خواص مختلف هم‌چون حفظ خودنوسازی، پتانسیل پیوندپذیری طولانی مدت، لانه‌گزینی و تمایز چند رده ای اطلاق می‌شود. باید به این مسأله توجه داشت که مارکر واحدی به عنوان مارکر مختص و قطعی برای بنیادینگی سلول‌های بنیادی وجود نداشته، بلکه ترکیبی از مارکرها هستند که بیانگر بنیادینگی می‌باشند.

حفظ خودنوسازی و بنیادینگی سلول‌های بنیادی توسط فاکتورهای سلولی داخلی و خارجی تنظیم می‌شود. همان طور که قبلاً بحث شد غلظت کم اکسیژن یا هیپوکسی با حفظ بنیادینگی سلول‌های بنیادی مرتبط است. سلول‌های بنیادی کشت داده شده در شرایط هیپوکسیک می‌توانند خاصیت خودنوسازی و ظرفیت بنیادینگی خود را حفظ کنند که در مورد HSC به خوبی نشان داده شده است. فشار اکسیژن کم با مکانیسمی که شرایط *In vivo* را تقلید می‌کند، منجر به افزایش بیان ژن‌های مرتبط با بنیادینگی می‌شود (۸۷). این فاکتورهای بنیادینگی می‌توانند باعث تنظیم بیان سایر ژن‌های درگیر در بنیادینگی به صورت آبشاری شوند (۸۸).

بنیادینگی با بیان فاکتورهای رونویسی مثل OCT4 (octamer-binding transcription factor 4) و SRY (SRY-Box Transcription Factor2) و NANOG مرتبط است که نقش مهمی در شبکه رونویسی سلول‌های بنیادی دارد (۸۹). علاوه بر این پروتئین‌های متعددی چون ESRRB (Estrogen-related receptor beta) و ZFX (Zinc Finger Protein X-Linked) در کنترل خودنوسازی، E2F1 (E2F Transcription)، KLF4 (Kruppel-like factor 4) و C-MYC در تنظیم چرخه سلولی و SMAD1 (SMAD Family Member) و BMP (Bone morphogenetic protein) و LIF (Leukemia inhibitory factor) در حفظ کیفیت سلول شناسایی شده است (۹۰). NANOG تنظیم‌کننده بالا دست و فعال‌کننده STAT3 (Signal transducer and activatior of transcription 3) و OCT4 است و از طریق کمپلکس متشکل از فاکتورهای رونویسی KLF4 ، SOX2 و OCT4 تنظیم بنیادینگی آن اتفاق می‌افتد (۹۱).

با وجود این که NANOG ، OCT4 و SOX2 بیشترین مارکرهای بنیادینگی بررسی شده هستند، REX1 (reduced expression-1) فاکتور مهم دیگری است که در ترکیب با ژن‌های بالا نقش مهمی در پیشروی چرخه سلولی و حفظ بنیادینگی دارد (۹۲). علاوه بر فاکتورهای ژنتیکی، مدیفیکاسیون‌های اپی‌ژنتیک مثل متیلاسیون DNA و تغییر نوکلئوزوم و مدیفیکاسیون‌های بعد از ترجمه در هیستون‌ها نیز نقش مهمی در حفظ بنیادینگی سلول‌های بنیادی دارند. در مطالعه‌ای که به بررسی اثر اسفر سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر سلول‌های بنیادی خونساز در شرایط هیپوکسیک پرداخته بودند در کنار افزایش بازده سلولی، افزایش خودنوسازی و افزایش ژن‌های درگیر در لانه‌گزینی را گزارش کردند (۹۳).

مطالعه‌ای نشان داد که غلظت اکسیژن یک درصد باعث حفظ بهتر سلول‌های LTC-IC می‌شود. بنابراین نتیجه گرفتند که غلظت اکسیژن یک درصد باعث حفظ بنیادینگی و خاموشی سلول‌های بنیادی خونساز با فعالسازی مسیرهای سیگنالینگ Notch و Wnt/β-catenin و Hedgehog از طریق فاکتورهای مرتبط با HIF می‌شود (۹۴).

در مطالعه دیگری سلول‌های بنیادی مزانشیمی و سلول‌های بنیادی خونساز $CD34^+$ از سلول‌های تک هسته‌ای خون بند ناف جدا شدند. سلول‌های بنیادی مزانشیمی خون بند ناف با یک یا چند ناقل بیانی sSCF ، mSCF و SDF-1 نوکلئوفکت شدند. سپس سلول‌های $HSC\ CD34^+$ جدا شده با سلول‌های بنیادی مزانشیمی نوکلئوفکت شده در ۱۰ گروه در محیط کشت حاوی TPO و Flt3L با یا بدون SCF کشت داده شدند. سپس تعداد



[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25 ]

$CD34^+$HSC، ظرفیت کلونوژنیک و سطوح رونویسی ژن‌های تنظیمی و بنیادینگی شامل: CXCR4 (chemokine receptor type 4)، C-X-C، HomeoboxB4 (HOXB4)، BMI1 و SALL4 (Sal-like protein 4) متعاقب هم کشتی با سلول‌های بنیادی مزانشیمی اصلاح شده مورد ارزیابی قرار گرفت. نتیجه این تحقیق نشان داد که سلول‌های $CD34^+$HSC که هم کشتی با سلول‌های بنیادی مزانشیمی با افزایش بیان mSCF/sSCF/SDF-1 داشتند، بیشترین افزایش را در تعداد کلی سلول (۰/۲۶ ± ۴/۷۳ برابر)، ظرفیت کلونوژنیک (۰/۲۵ ± ۵/۳ برابر) و هم چنین سطوح رونویسی ژن‌های CXCR4، HOXB4 و BMI1 نشان دادند (۹۵).

در مطالعه‌ای ما به بررسی بیان ژن *HOXB4* به عنوان ژن درگیر در خودنوسازی پرداختیم (۹۶). نتایج ما نشان داد بیشترین بیان ژن *HOXB4* در سلول‌های بنیادی خونساز $CD34^+$ خون بند ناف در شرایط هم کشتی با سلول‌های بنیادی مزانشیمی همراه با سیتوکاین‌ها در شرایط هیپوکسی خفیف بود (۱/۸ برابری در روز ۷). در گروه فیدر + سیتوکاین با غلظت اکسیژن ۲۰ درصد بیان ژن *HOXB4* بالاتر از بیان آن در شرایط کشت سیتوکاین به تنهایی و فیدر به تنهایی بود. از آن جا که سیتوکاین‌ها باعث پیشروی تمایز به سلول‌های بالغ‌تر می‌شوند، بنابراین در شرایط کشت سیتوکاین به تنهایی بیان مارکرهای مرتبط با خودنوسازی کاهش می‌یابد. در شرایط هیپوکسی نسبت به نرموکسی، افزایش معنادار بیان *HOXB4* (۱/۸–۱/۳ برابر در روز ۷) مشاهده شد. در مطالعه‌های قبلی نیز گزارش شده است که هیپوکسی در حفظ خصوصیات خود نوسازی HSCs سودمند است (۷، ۶). در مطالعه ما بیان *HOXB4* در طول زمان تکثیر، کاهش یافت در حالی که هم کشتی با سلول‌های بنیادی مزانشیمی کاهش آن را جبران کرد. ما بیان ژن *HOXB4* را به عنوان مارکر خود نوسازی HSC انتخاب کردیم زیرا *HOXB4* یکی از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های خودنوسازی HSC می‌باشد (۹۷). در سلول‌های بنیادی بیان می‌شود و سپس در طی تمایز در انسان و موش کاهش بیان می‌یابد (۹۹، ۹۸).

مطالعه‌های متعددی نشان داده‌اند که HOXB4 باعث تکثیر *ex vivo* و *in vivo* HSCs می‌شود (۱۰۲–۱۰۰).

مطالعه‌های متعددی گزارش کرده‌اند که سیتوکاین‌هایی مانند GM-CSF، IL-3، SCF و TPO موجب افزایش تکثیر HSC موشی و انسانی می‌شود اما با افزایش سریع ROS در سلول‌ها نیز همراه هستند (۱۰۳). به نظر می‌رسد که همکشتی با سلول‌های بنیادی مزانشیمی از عوارض جانبی ROS کاسته و باعث حفظ بهتر خودنوسازی HSC می‌شود. هیپوکسی با سرکوب چرخه سلولی و القای خاموشی، HSC ها را در شرایط *ex vivo* حفظ می‌کند.

هیپوکسی باعث مهار فعالیت فاکتور رونویسی c-Myc و سیگنالینگ mTOR نیز می‌شود و باعث القای مهارکننده Cdk (Cyclin-dependent kinases) می‌شود. هیپوکسی بیان پروتئین Fbxw7 (F-box/WD repeat-containing protein 7) را در HSC افزایش می‌دهد بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مکانیسم مهار c-Myc در طول هیپوکسی توسط مسیر وابسته به Fbxw7 تنظیم می‌شود. نتایج تحقیقی نشان داد که مسیر هیپوکسی وابسته به Fbxw7 مکانیسمی است که از طریق آن فشار کم اکسیژن نقش مهمی در حفظ عملکرد طبیعی HSC دارد. علاوه بر کشت هیپوکسیک، تغییر بیان یا فعالیت Fbxw7 می‌تواند ابزاری امید بخش برای حفظ *ex vivo* HSCs باشد (۱۰۴).

در مطالعه‌ای که به بررسی غلظت اکسیژن ۴–۱ درصد بر سلول‌های بنیادی هماتوپوئیتیک پرداختند، سلول‌های بنیادی هماتوپوئیتیک در غلظت اکسیژن کم افزایش کلسیم سیتوزولیک و میتوکندریایی، ترانسپورتر ABC (ATP-binding cassette super-family G member 2) ABCG2 و بیان جابه‌جاکننده سدیم هیدروژن NHE1 (The sodium-hydrogen antiporter 1) را مشاهده کردند که با افزایش جمعیت LSK همراه بوده و نقش تنظیم کلسیم در حفظ فنوتیپی سلول‌های بنیادی خونساز را نشان می‌دهد (۱۰۵).

به منظور پیوندپذیری موفق، سلول‌های بنیادی خونساز باید به مغز استخوان مهاجرت کنند (لانه گزینی) سپس پیوند یافته و تکثیر و تمایز پیدا کنند. بنابراین بررسی مارکرهای لانه‌گزینی HSC گامی مهم در بررسی بنیادینگی HSC می‌باشد.

لانه‌گزینی مغز استخوان فرآیندی سریع و هماهنگ



[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25 ]

است که در آن سلول‌های بنیادی هماتوپوئیتیک و پروژنیتور وارد مغز استخوان می‌شوند، پس از پیوند فعال شدن اینتگرینی از طریق SDF1 ( stromal cell-derived factor 1) باعث القای چسبندگی HSC به دیواره اندوتلیال می‌شوند و HSC می‌تواند از طریق لایه اندوتلیال مهاجرت کند و در نهایت HSC به نیچ خود لنگر انداخته و باعث پیوندپذیری طولانی مدت می‌شود.

CXCR4 در سطح سلول‌های هماتوپوئیتیک و پروژنیتور بیان می‌شود (۱۰۶). بیان گیرنده CXCR4 برای لانه‌گزینی سلولی و پیوندپذیری HSC به مغز استخوان و فراخوانی پروژنیتورهای هماتوپوئیتیک و اندوتلیال ضروری است و هم‌چنین به عنوان عامل پروآنژیوژنیک باعث افزایش تشکیل عروق جدید در مدل موشی ایسکمی می‌شود (۱۰۷، ۱۰۸).

در رویکرد بالینی چندین مطالعه نشان داده‌اند که کاهش مطلق بیان CXCR4 می‌تواند عواقب شدیدی بر روی قابلیت پیوند سلول‌های بنیادی خونساز $CD34^+$ داشته باشد (۱۰۹). از سوی دیگر، با سلول‌هایی که مقدار بالایی از CXCR4 را بیان می‌کردند، میزان سلول‌های $CD34^+$ موبیلیزه شده کمتری به ازای هر کیلو وزن بدن برای پیوند مورد نیاز بود (۱۱۰).

نتایج مطالعه ما نشان داد بیشترین بیان ژن *CXCR4* در سلول‌های $CD34^+$ در شرایط هم کشتی با سلول‌های بنیادی مزانشیمی همراه با سیتوکاین‌ها در هیپوکسی خفیف بود (که می‌تواند نقش مهمی در افزایش لانه گزینی HSC به مغز استخوان داشته باشد) (۵۴). نتایج ما نشان داد که با وجود تکثیر بیشتر HSC در گروه سیتوکاین، بیان ژن *CXCR4* در این گروه نسبت به گروه فیدر و فیدر + سیتوکاین پایین‌تر بود. سیتوکاین‌ها نه تنها باعث القای تقسیم سلولی می‌شوند بلکه باعث پیشروی تمایز به سلول‌های بالغ تر نیز می‌شوند که توانایی پیوندپذیری ندارند (۱۱۳-۱۱۱). بنابراین انتخاب صحیح ترکیب سیتوکاینی برای حفظ پیوند ضروری است. مقالات مختلف کاهش بیان CXCR4 متعاقب افزایش بیان رسپتور چسبندگی AR (Adhesion receptor) را در طول کشت $CD34^+$ با سیتوکاین نشان دادند که نقص لانه گزینی می‌تواند به این علت باشد (۱۰۹).

کاهش بیان CXCR4 در طول تکثیر یکی از دلایل اصلی عدم پیوندپذیری به دلیل عدم لانه گزینی مناسب HSC می‌باشد. هم راستا با نتایج مطالعه ما نسبت بالاتری از سلول‌های CXCR4 منفی در کشت‌های تکثیر شده با سیتوکاین مشاهده شده است. در این تحقیق دلیل آن را کاهش تولید CXCR4 به علت کاهش CXCR4 داخلی یا به علت اینترنالیزه شدن CXCR4 از سطح به داخل گزارش کردند (۱۰۹). نشان داده شده که افزایش بیان CXCR4 با هیپوکسی باعث افزایش بهبود سل‌تراپی می‌شود (۱۱۴).

مطالعه‌های متعددی نشان دادند که ژن *CXCR4* یکی از اهداف ژن *HIF-1α* است (۱۱۵). بنابراین، دلیل افزایش بیان CXCR4 در هیپوکسی به نظر می‌رسد که اتصال HIF-1α به توالی هدف آن باشد. هم‌چنین نشان داده شده که وون هیپل لاندا پروتئینی است که به طور منفی با بیان CXCR4 مرتبط است (از طریق مسیر فعالسازی CXCR4 وابسته به HIF)(۱۱۶).

غلظت اکسیژن ۵ درصد باعث افزایش چشمگیر بیان HIF-1α و VEGF (Vascular endothelial growth factor)، ABCG2 ، CXCR4 می‌شود. در مطالعه‌های فلوسایتومتری افزایش چشمگیر بیان CXCR4 در هیپوکسی (۱/۹ ± ۴۳/۱ درصد) در مقابل نرموکسی (۱/۸۶ ± ۳۲ درصد) مشاهده شد. بیان HIF-1α mRNA نیز حدود ۲/۴۵ برابر در اکسیژن ۵ درصد بالاتر از اکسیژن ۲۰ درصد بود اما بیان HIF-2α ثابت بود (۱۱۶).

در مطالعه‌ای که به بررسی سلول‌های CD133 مثبت خون بند ناف در شرایط هیپوکسی پرداخته بودند، در غلظت اکسیژن ۵ درصد در مقایسه با ۲۰ درصد در ده روز لانه‌گزینی SCID (Severe combined immunodeficiency) در هیپوکسی بهتر حفظ شدند و هیپوکسی باعث القای VEGF و ABCG2,CXCR4 با واسطه HIF-1α شد (۲۲).

## نتیجه‌گیری

هدف از این مقاله مروری، بررسی ارتباط بین غلظت‌های مختلف اکسیژن بر سلول‌های بنیادی خونساز بود و به بررسی مدل‌های کشت سلول و انواع مختلف



[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25 ]

سلول به عنوان ابزاری مهم برای بررسی مکانیسم درگیر در هیپوکسی پرداخته شد که مسلماً در توسعه روش‌های جدید برای بهبود روش‌های درمانی بر پایه سلول‌های بنیادی کمک‌کننده خواهد بود.

در مطالعه‌های مختلف پیشنهاد شده است که کاهش غلظت اکسیژن که منجر به تقلید فضای نیچ می‌شود، فنوتیپ اولیه سلول‌ها را بهتر حفظ می‌کند. نتایج مطالعه‌های مختلف نشان دادند که غلظت اکسیژن کم در حفظ بنیادینگی، پرولیفراسیون سلولی و مهار پیری و پلاستیسیتی سلولی نقش دارد. در اکثر مطالعه‌ها غلظت اکسیژن مورد بررسی ۱ تا ۵ درصد تعیین شده و غلظت کمتر از ۱ درصد تحت عنوان آنوکسی با خاموشی سلول‌ها گزارش شده است.

مطالعه‌های آینده می‌تواند در جهت بررسی روش‌هایی جهت اندازه‌گیری دقیق اکسیژن محیط کشت باشد که امکان مقایسه نتایج آزمایشگاهی بین مراکز مختلف را فراهم آورد. به این دلیل که تغییرات کوچک در سطح اکسیژن می‌تواند پاسخ‌های داخل سلولی و مسیرهای سیگنالینگ متفاوتی را فعال کند. بنابراین استفاده از سنسورهای اکسیژن برای سنجش دقیق اکسیژن محیط کشت ارزش بالایی دارد.

علاوه بر این سطوح بالای استاندارد سازی شرایط کشت از نظر غلظت اکسیژن برای تفسیر و مقایسه نتایج روش‌های فیزیکی و شیمیایی از نظر منبع سلول بنیادی مورد استفاده، پارامترهای کشت هم‌چون غلظت سلول، درجه تراکم سلول‌ها در محیط کشت و ترکیبات مغذی و زمان در معرض هیپوکسی بودن (حاد یا مزمن) مورد نیاز است. مسلماً شناسایی مکانیسم‌های درگیر در غلظت اکسیژن مختلف می‌تواند در توسعه مولکول‌های هدف جدید و درمان‌های طب ترمیمی در بیماری‌های مختلف هم‌چون سرطان کمک‌کننده باشد.

**نقش نویسندگان**

دکتر فاطمه محمد علی: جستجوی مقاله‌ها و جمع‌بندی، نگارش اولیه مقاله، ساختاربندی

دکتر مصطفی جمالی: ویرایش و اصلاح نسخه نهایی مقاله

## References:


1- Mohammadali F, Atashi A, Soleimani M, Abroun S, Pourfathollah AA, Kaviani S, *et al*. Umbilical cord blood: stem cells and ex vivo expansion methods .Sci J Iran Blood Transfus Organ 2015; 12(2): 183-205. [Article in Farsi]

2- Eliasson P, Jonsson JI. The hematopoietic stem cell niche: low in oxygen but a nice place to be. J Cell Physiol 2010; 222: 17-22.

3- Di Mattia M, Mauro A, Citeroni MR, Dufrusine B, Peserico A, Russo V, *et al* Insight into Hypoxia Stemness Control. Cells 2021; 10(8): 2161

4- Bardos JI, Ashcroft M. Negative and positive regulation of HIF-1: a complex network. Biochim Biophys Acta 2005; 1755: 107-20.

5- Simon, M.C, Keith, B. The role of oxygen availability in embryonic development and stem cell function. Nat Rev Mol Cell Biol 2008; 9: 285-96.

6- Ivanovic Z, Dello Sbarba P, Trimoreau F, Faucher JL, Praloran V. Primitive human HPCs are better maintained and expanded *in vitro* at 1 percent oxygen than at 20 percent. Transfusion 2000; 40: 1482-8.

7- Ivanovic Z, Bartolozzi B , Bernabei PA , Cipolleschi MG, Rovida E, Milenkovic P, *et al*. Incubation of murine bone marrow cells in hypoxia ensures the maintenance of marrow-repopulating ability together with the expansion of committed progenitors. Br J Haematol 2000; 108: 424-9.

8- Chow DC, Wenning LA, Miller WM, Papoutsakis ET. Modeling pO(2) distributions in the bone marrow hematopoietic compartment. II. Modified Kroghian Models Biophys J 2001; 81(2): 685-96.

9- Cipolleschi MG. Severe hypoxia enhances the formation of erythroid bursts from human cord blood cells and the maintenance of BFU-E *in vitro*. Exp Hematol 1997; 25: 1187-94.

10- Bapat A, Schippel N, Shi X, Jasbi P, Gu H, Kala M, *et al*. Hypoxia promotes erythroid differentiation through the development of progenitors and proerythroblasts. Exp Hematol 2021; 97: 32-46.

11- Koller MR, Bender JG, Miller WM, , Papoutsakis ET. Reduced oxygen tension increases hematopoiesis in longterm culture of human stem and progenitor cells




[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25 ]

from cord blood and bone marrow. Exp Hematol 1992; 20: 264-70.
12- Cipolleschi MG, Dello Sbarba P, Olivotto M. The role of hypoxia in the maintenance of hematopoietic stem cells. Blood 1993; 82: 2031-7.
13- Danet GH, Pan Y, Luongo JL, Bonnet DA, Simon MC. Expansion of human SCID-repopulating cells under hypoxic conditions. J Clin Invest 2003; 112: 126-35.
14- Dausinas Ni Paige, Basile Ch, Junge Ch, Hartman M, O'Leary Heather. Hypoxia and Hematopoiesis. Curr Stem Cell Rep 2022; 8: 24-34.
15- Kubota Y, Takubo K, Suda T. Bone marrow long label retaining cells reside in the sinusoidal hypoxic niche. Biochem Biophys Res Commun 2008; 366: 335-9.
16- Lo Celso C, Wu JW, Lin CP. *In vivo* imaging of hematopoietic stem cells and their microenvironment. J Biophotonics 2009; 2: 619-31.
17- Parmar K, Mauch P, Vergilio JA, Sackstein R, Down JD. Distribution of hematopoietic stem cells in the bone marrow according to regional hypoxia. Proc Natl Acad Sci U S A 2007; 104: 5431-6.
18- Winkler IG, Barbier V, Wadley R, Zannettino AC, Williams S, Levesque JP. Positioning of bone marrow hematopoietic and stromal cells relative to blood flow *in vivo*: serially reconstituting hematopoietic stem cells reside indistinct nonperfused niches. Blood 2010; 116: 375-85.
19- Bigarella CL, Liang R, Ghaffari S. Stem cells and the impact of ROS signaling. Development 2014; 141: 4206-18 .
20- Doulatov S, Notta F, Laurenti E, Dick JE. Hematopoiesis: a human perspective. Cell Stem Cell 2012; 10: 120-36.
21- Fujisaki J, Wu J, Carlson AL, Silberstein L, Putheti P, Larocca R, *et al*. *In vivo* imaging of Treg cells providing immune privilege to the haematopoietic stem-cell niche. Nature 2011; 474: 216-19.
22- Roy S , Tripathy M, Mathur N, Jain A, Mukhopadhyay A. Hypoxia improves expansion potential of human cord blood–derived hematopoietic stem cells and marrow repopulation efficiency. Eur J Haematol 2012; 88(5): 396-405.
23- Quinlan DP, Rameshwar P, Qian J, Maloof PB, Mohr AM , Hauser CJ , *et al*. Effect of hypoxia on the hematopoietic and immune modulator preprotachykinin-I. Arch Surg 1998; 133: 1328-34.
24- Bates MK. Culturing Cells Under Hypoxic Conditions for Biologically Relevant Results. Am Lab 2012. Available from: https://www.americanlaboratory.com/913-Technical-Articles/123131-Culturing-Cells-Under-Hypoxic-Conditions-for-Biologically-Relevant-Results/#:~:text=Cells%20cultured%20in%20low%20oxygen,way%20to%20achieve%20hypoxic%20conditions.
25- Lin M, Liu X, Zheng H, Huang X, Wu Y, Huang A, *et al*. IGF-1 enhances BMSC viability, migration, and anti-apoptosis in myocardial infarction via secreted frizzled-related protein 2 pathway. Stem Cell Res Ther 2020; 11(1): 22.
26- Yang Y, Jiang Z, Bolnick A, Dai J, Puscheck EE, Rappolee DA. Departure from optimal O2 level for mouse trophoblast stem cell proliferation and potency leads to most rapid AMPK activation. J Reprod Dev 2017; 63: 87-94.
27- Esteban MA, Maxwell PH. Manipulation of oxygen tensions for *in vitro* cell culture using a hypoxic workstation. Expert Rev Proteom 2005; 2: 307-14.
28- Lam SF, Shirure VS, Chu YE, Soetikno AG, George SC. Microfluidic device to attain high spatial and temporal control of oxygen. PLoS ONE 2018; 13: e0209574.
29- Place TL, Domann FE, Case AJ. Limitations of oxygen delivery to cells in culture: An underappreciated problem in basic and translational research. Free Radic Biol Med 2017; 113: 311-22.
30- Rivera KR , Yokus MA , Erb PD , Pozdin VA , Daniele M. Measuring and regulating oxygen levels in microphysiological systems: Design, material, and sensor considerations. Analyst 2019; 144: 3190-3215.
31- Davis CK, Jain SA, Bae ON, Majid A, Rajanikant GK. Hypoxia Mimetic Agents for Ischemic Stroke. Front Cell Dev Biol 2019; 6: 175.
32- Triantafyllou A, Liakos P, Tsakalof A, Georgatsou E, Simos G, Bonanou S. Cobalt induces hypoxia-inducible factor-1alpha (HIF-1alpha) in HeLa cells by an iron-independent, but ROS-, PI-3K- and MAPK-dependent mechanism. Free Radic Res 2006; 40: 847-56.
33- Muñoz-Sánchez J, Chánez-Cárdenas ME. The use of cobalt chloride as a chemical hypoxia model. J Appl Toxicol 2019; 39: 556-70.
34- Chandel NS, McClintock DS, Feliciano CE, Wood TM, Melendez JA, Rodriguez AM, *et al*. Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1alpha during hypoxia: a mechanism of O2 sensing. J Biol Chem 2000; 275: 25130-8.
35- Wu D, Yotnda P. Induction and testing of hypoxia in cell culture. J Vis Exp 2011;(54): 2899 .
36- Buravkova LB, Andreeva ER, Gogvadze V, Zhivotovsky B. Mesenchymal stem cells and hypoxia: Where are we? Mitochondrion 2014; 19: 105-12.
37- Bahsoun S, Coopman K, Forsyth NR, Akam EC. The Role of Dissolved Oxygen Levels on Human Mesenchymal Stem Cell Culture Success, Regulatory Compliance, and Therapeutic Potential. Stem Cells Dev 2018; 27: 1303-21.
38- Koh MY, Powis G. Passing the baton: The HIF switch. Trends Biochem Sci 2012; 37: 364-72.
39- Eliasson P, Rehn M, Hammar P, Larsson P, Sirenko O, Flippin LA, *et al*. Hypoxia mediates low cell-cycle activity and increases the proportion of long-term-reconstituting hematopoietic stem cells during *in vitro* culture. Exp Hematol 2010; 38(4): 301-10.
40- Lengner A. Deriviation of pre-X inactivation human embryonic stem cells under physiological Cipolleschi MG, Dello Sbarba P, Olivotto M. The role of hypoxia in the maintenance of hematopoietic stem cells. Blood 1993; 82(7): 2031-7.
41- Rich IN, Kubanek B. The effect of reduced oxygen tension on colony formation of erythropoietic cells *in vitro*. Br J Haematol 1982; 52(4): 579-88.
42- Ivanovic Z, Hermitte F, Brunet de la Grange P. Simultaneous maintenance of human cord blood SCID-repopulating cells and expansion of committed



[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25 ]

progenitors at low O2 concentration (3%). Stem Cells 2004; 22(5): 716-24.
43- Eliasson P, Karlsson R, Jönsson JI. Hypoxia expands primitive hematopoietic progenitor cells from mouse bone marrow during *in vitro* culture and preserves the colony-forming ability. J Stem Cells 2006; 1(4): 247-57.
44- Shima H, Takubo K, Iwasaki H. Reconstitution activity of hypoxic cultured human cord blood CD34-positive cells in NOG mice. Biochem Biophys Res Commun 2009; 378(3): 467-72..
45- Jing D, Wobus M, Poitz DM, Bornhäuser M, Ehninger G, Ordemann R. Oxygen tension plays a critical role in the hematopoietic microenvironment *in vitro*. Haematologica 2012; 97(3): 331-9
46- Cipolleschi MG, Rovida E, Ivanovic Z, Praloran V, Olivotto M, Dello Sbarba P. The expansion of murine bone marrow cells preincubated in hypoxia as an *in vitro* indicator of their marrow-repopulating ability. Leukemia 2000; 14: 735-9.
47- Matilda Rehn. The Hypoxic Hematopoietic Stem Cell Niche: Consequences of Hypoxia-induced Transcription on Stem Cell Fate [dissertion]. Lund University; 2011. p. 71 .
48- Mantel CR, O'Leary HA, Chitteti BR, Huang X, Cooper S, Hangoc G, *et al*. Enhancing Hematopoietic Stem Cell Transplantation Efficacy by Mitigating Oxygen Shock. Cell 2015; 161(7): 1553-65.
49- Wang X, Cooper S, Broxmeyer HE, Kapur R. Nuclear translocation of TFE3 under hypoxia enhances the engraftment of human hematopoietic stem cells. Leukemia 2022; 36(8): 2144-8.
50- Roy S, Tripathy M, Mathur N, Jain A, Mukhopadhyay A. Hypoxia improves expansion potential of human cord blood–derived hematopoietic stem cells and marrow repopulation efficiency. Eur J Haematol 2012; 88(5): 396-405.
51- Kobayashi H, Morikawa T, Okinaga A, Hamano F, Hashidate-Yoshida T, Watanuki S, *et al*. Environmental Optimization Enables Maintenance of Quiescent Hematopoietic Stem Cells Ex Vivo. Cell Rep 2019; 28(1): 145-58.
52- Tiwari A, Wong CS, Nekkanti LP, Deane JA, McDonald C, Jenkin G, *et al*. Impact of Oxygen Levels on Human Hematopoietic Stem and Progenitor Cell Expansion. Stem Cells Dev 2016; 25(20): 1604-13.
53- Hermitte F, Brunet de la Grange P, Belloc F, Praloran V, Ivanovic Z. Very low O2 concentration (0.1%) favors G0 return of dividing CD34+ cells. Stem Cells 2006; 24(1): 65-73.
54- Mohammadali F, Abroun S, Atashi A. Mild hypoxia and human bone marrow mesenchymal stem cells synergistically enhance expansion and homing capacity of human cord blood CD34+ stem cells. Iran J Basic Med Sci 2018; 21(7): 709-16.
55- Tursky ML, Collier FM, Ward AC. Systematic investigation of oxygen and growth factors in clinically valid ex vivo expansion of cord blood CD34+ hematopoietic progenitor cells. Cytotherapy 2012; 14(6): 679-85.
56- Song K1, Zhao G, Liu T, Zhang L, Ma X, Liu J, *et al*. Effective expansion of umbilical cord blood hematopoietic stem/progenitor cells by regulation of microencapsulated osteoblasts under hypoxic condition. Biotechnol Lett 2009; 31(7): 923-8
57- Andreeva ER, Andrianova IV, Sotnezova EV, Buravkov SV, Bobyleva PI, Romanov YA, *et al*. Human Adipose-Tissue Derived Stromal Cells in Combination with Hypoxia Effectively Support Ex Vivo Expansion of Cord Blood Haematopoietic Progenitors. PLoS ONE 2015; 10(4): e0124939.
58- Kelly SS, Sola CB, de Lima M, Shpall E. Ex vivo expansion of cord blood. Bone Marrow Transpl 2009; 44(10): 673-81.
59- Kiani AA, Abdi J, Halabian R, Roudkenar MH, Amirizadeh N, Soleiman Soltanpour M, *et al*. Over expression of HIF-1α in human mesenchymal stem cells increases their supportive functions for hematopoietic stem cells in an experimental co-culture model. Hematology 2014; 19(2): 85-98.
60- Moirangthem RD, Singh S, Adsul A, Jalnapurkar S, Limaye L, Kale VP. Hypoxic niche-mediated regeneration of hematopoiesis in the engraftment window is dominantly affected by oxygen tension in the milieu. Stem Cells Dev 2015; 24(20): 2423-36.
61- Minguell JJ, Erices A, Conget P. Mesenchymal stem cells. Exp Biol Med (Maywood) 2001; 226(6): 507-20.
62- da Silva Meirelles L, Chagastelles PC, Nardi NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. J Cell Sci 2006; 119(Pt 11): 2204-13.
63- Krampera M, Pizzolo G, Aprili G, Franchini M. Mesenchymal stem cells for bone ،cartilage ،tendon and skeletal muscle repair. Bone 2006; 39(4): 678-83.
64- Rojewski MT, Weber BM, Schrezenmeier H. Phenotypic Characterization of Mesenchymal Stem Cells from Various Tissues. Transfus Med Hemother 2008; 35(3): 168-84.
65- Charbord P, Casteilla L. Human mesenchymal stem cell biology. Med Sci 2011; 27(3): 261-7. [Article in French]
66- Barreto-Duran E, Mejia-Cruz CC, Jaramillo-Garcia LF, Leal-Garcia E, Barreto-Prieto A, Rodriguez-Pardo VM. 3D Multicellular Spheroid for the Study of Human Hematopoietic Stem Cells: Synergistic Effect Between Oxygen Levels, Mesenchymal Stromal Cells and Endothelial Cells. J Blood Med 2021; 12: 517-28.
67- Bangheng Liu ab, Chao Tao b, Zhonglian Wu c, Hang Yao c and Dong-An Wang. Engineering strategies to achieve efficient *in vitro* expansion of haematopoietic stem cells: development and improvement. J Mater Chem B 2022; 10: 1734-53.
68- Muz B, Khan MN, Kiriakidis S, Paleolog EM. The role of hypoxia and HIF-dependent signalling events in rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther 2009; 11: 201.
69- Khan WS, Adesida AB, Hardingham TE. Hypoxic conditions increase hypoxia-inducible transcription factor 2_ and enhance chondrogenesis in stem cells from the infrapatellar fat pad of osteoarthritis patients. Arthritis Res Ther 2007; 9: R55.
70- Kaluz S, Kaluzová M, Stanbridge EJ. Regulation of gene expression by hypoxia: Integration of the HIF-transduced hypoxic signal at the hypoxia-responsive element. Clin Chim Acta 2008; 395: 6-13.
71- Berchner-Pfannschmidt U, Frede S, Wotzlaw C, Fandrey J. Imaging of the hypoxia-inducible factor



[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25 ]

pathway: Insights into oxygen sensing. Eur Respir J 2008; 32: 210-7
72- Huang LE, Bunn HF. Hypoxia-inducible Factor and Its Biomedical Relevance. J Biol Chem 2003; 278: 19575-8.
73- Yang M, Su H, Soga T, Kranc KR, Pollard PJ. Prolyl hydroxylase domain enzymes: important regulators of cancer metabolism. Hypoxia (Auckl) 2014; 2: 127-42.
74- Jewell UR, Kvietikova I, Scheid A, Bauer C, Wenger RH, Gassmann M. Induction of HIF-1alpha in response to hypoxia is instantaneous. FASEB J 2001; 15(7): 1312-4.
75- Takubo K, Goda N, Yamada W, Iriuchishima H, Ikeda E, Kubota Y, *et al*. Regulation of the HIF-1alpha level is essential for hematopoietic stem cells. Cell Stem Cell 2010; 7(3): 391-402.
76- Guitart AV, Subramani C, Armesilla-Diaz A, Smith G, Sepulveda C, Gezer D, *et al*. Hif-2alpha is not essential for cell-autonomous hematopoietic stem cell maintenance. Blood 2013; 122(10): 1741-5.
77- Rouault-Pierre K, Lopez-Onieva L, Foster K, Anjos-Afonso F, Lamrissi-Garcia I, Serrano-Sanchez M, *et al*. HIF-2alpha protects human hematopoietic stem/progenitors and acute myeloid leukemic cells from apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress. Cell Stem Cell 2013; 13(5): 549-63.
78- Scortegagna M, Morris MA, Oktay Y, Bennett M, Garcia JA. The HIF family member EPAS1/ HIF-2alpha is required for normal hematopoiesis in mice. Blood 2003; 102(5): 1634-40.
79- Singh RP, Franke K, Kalucka J, Mamlouk S, Muschter A, Gembarska A, *et al*. HIF prolyl hydroxylase 2 (PHD2) is a critical regulator of hematopoietic stem cell maintenance during steady state and stress. Blood 2013; 121(26): 5158-66.
80- Kranc KR, Schepers H, Rodrigues NP, Bamforth S, Villadsen E, Ferry H, *et al*. Cited2 is an essential regulator of adult hematopoietic stem cells. Cell Stem Cell 2009; 5(6): 659-65.
81- Huang X, Trinh T, Aljoufi A, Broxmeyer HE. Hypoxia Signaling Pathway in Stem Cell Regulation: Good and Evil. Curr Stem Cell Rep 2018; 4(2): 149-57.
82- Scortegagna M, Morris MA, Oktay Y, Bennett M, Garcia JA. The HIF family member EPAS1/HIF-2alpha is required for normal hematopoiesis in mice. Blood 2003; 102(5): 1634-40.
83- Scadden, D.T. The stem-cell niche as an entity of action. Nature 2006; 441: 1075-9.
84- Discher DE, Mooney DJ, Zandstra PW. Growth Factors, Matrices, and Forces Combine and Control Stem Cells. Science 2009; 324: 1673-7.
85- Lane SW, Williams DA, Watt FM. Modulating the stem cell niche for tissue regeneration. Nat Biotechnol 2014; 32: 795-803.
86- Mas-Bargues C, Sanz-Ros J, Román-Domínguez A, Inglés M, Gimeno-Mallench L, *et al*. Relevance of Oxygen Concentration in Stem Cell Culture for Regenerativ Medicine. Int J Mol Sci 2019; 20: 1195.
87- Samal JRK, Rangasami VK, Samanta S, Varghese OP, Oommen OP. Discrepancies on the Role of Oxygen Gradient and Culture Condition on Mesenchymal Stem Cell Fate. Adv Healthc Mater 2021; 10(6): e2002058.
88- Kim H, Jang H, Kim TW, Kang BH, Lee SE, Jeon YK, *et al*. Core Pluripotency Factors Directly Regulate Metabolism in Embryonic Stem Cell to Maintain Pluripotency: ESC Metabolism by Core Pluripotency Factors. Stem Cells 2015; 33: 2699-711.
89- Boyer LA, Lee TI, Cole MF, Johnstone SE, Levine SS, Zucker JP, *et al*. Core Transcriptional Regulatory Circuitry in Human Embryonic Stem Cells. Cell 2005; 122: 947-56.
90- Murugesan, M. Premkumar, K. Hypoxia stimulates microenvironment in human embryonic stem cell through inflammatory signalling: An integrative analysis. Biochem Biophys Res Commun 2018; 498: 437-44.
91- Zhang,W. Sui, Y,Ni, J. Yang, T. Insights into the Nanog gene: A propeller for stemness in primitive stem cells. Int J Biol Sci 2016; 12: 1372-81.
92- Son MY, Choi H, Han YM, Cho YS. Unveiling the critical role of REX1 in the regulation of human stem cell pluripotency. Stem Cells 2013; 31: 2374-87.
93- Amiri F, Kiani AA, Bahadori M, Roudkenar MH. Co-culture of mesenchymal stem cell spheres with hematopoietic stem cells under hypoxia: a cost-effective method to maintain self-renewal and homing marker expression. Mol Biol Rep 2022; 49(2): 931-41.
94- Zhao D, Liu L, Chen Q, Wang F, Li Q, Zeng Q, *et al* . Hypoxia with Wharton's jelly mesenchymal stem cell coculture maintains stemness of umbilical cord blood-derived CD34+ cells. Stem Cell Res Ther 2018; 9(1): 158.
95- Mohammadali F, Abroun S, Atashi A. Combined mild hypoxia and bone marrow mesenchymal stem cells improve expansion and HOXB4 gene expression of human cord blood CD34+ stem cells. Arch Biol Sci 2018; 70(3): 433-41.
96- Zhang Y, Gao Y. Novel chemical attempts at ex vivo hematopoietic stem cell expansion. Int J Hematol 2016; 103: 519-29.
97- Sauvageau G, Lansdorp PM, Eaves CJ, Hogge DE, Dragowska WH, Reid DS, *et al*. Differential expression of homeobox genes in functionally distinct CD34+ subpopulations of human bone marrow cells. Proc Natl Acad Sci USA 1994; 91: 12223–7.
98- Pineault N, Helgason CD, Lawrence HJ, Humphries RK. Differential expression of Hox, Meis1, and Pbx1 genes in primitive cells throughout murine hematopoietic ontogeny. Exp Hematol 2002; 30: 49-57.
99- Antonchuk J, Sauvageau G, Humphries RK. HOXB4 overexpression mediates very rapid stem cell regeneration and competitive hematopoietic repopulation. Exp Hematol 2001; 29: 1125-34.
100- Thorsteinsdottir U, Sauvageau G, Humphries RK. Enhanced *in vivo* regenerative potential of HOXB4-transduced hematopoietic stem cells with regulation of their pool size. Blood 1999; 94: 2605-12.
101- Antonchuk J, Sauvageau G, Humphries RK. HOXB4-induced expansion of adult hematopoietic stem cells ex vivo. Cell 2002; 109: 39-45.
102- Kumar S, Geiger H. HSC Niche Biology and HSC Expansion Ex Vivo. Trends Mol Med 2017; 23(9): 799-819.
103- Iriuchishima H, Takubo K, Matsuoka S, Onoyama I, Nakayama KI, Nojima Y, Suda T. Ex vivo



[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25 ]

maintenance of hematopoietic stem cells by quiescence induction through Fbxw7α overexpression. Blood 2011; 117(8): 2373-7 .
104- Dausinas Ni P, Hartman M, Slack J, Basile C, Liu S, Wan J, *et al* . Novel differential calcium regulation of hematopoietic stem and progenitor cells under physiological low oxygen conditions. J Cell Physiol 2023; 238(7): 1492-1506.
105- Möhl R, Bautz F, Rafii S, Moore MA, Brugger W, Kanz L. The chemokine receptor CXCR-4 is expressed on CD34+ hematopoietic progenitors and leukemic cells and mediates transendothelial migration induced by stromal cell-derived factor-1. Blood 1998; 91: 4523-30.
106- Grunewald M, Avraham I, Dor Y, Bachar-Lustig E, Itin A, Jung S, *et al*. VEGF-induced adult neovascularization: recruitment, retention, and role of accessory cells. Cell 2006; 124: 175-89.
107- Walter DH, Haendeler J, Reinhold J, Rochwalsky U, Seeger F, Honold J, *et al*. Impaired CXCR4 signaling contributes to the reduced neovascularization capacity of endothelial progenitor cells from patients with coronary artery disease. Circ Res 2005; 97: 1142-51.
108- Denning-Kendall P, Singha S, Bradley B, Hows J. Cytokine Expansion Culture of Cord Blood CD34+Cells Induces Marked and Sustained Changes in Adhesion Receptor and CXCR4 Expressions. Stem Cells 2003; 21(1): 61-70.
109- Voermans C, Kooi ML, Rodenhuis S, van der Lelie H, van der Schoot CE, Gerritsen WR. *In vitro* migratory capacity of CD34+ cells is related to hematopoietic recovery after autologous stem cell transplantation. Blood 2001; 97(3): 799-804.
110- Bhatia M, Wang JC, Kapp U, Bonnet D, Dick JE. Purification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating immunedeficient mice. Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94: 5320-5.
111- Bryder D, Jacobsen SE. Interleukin-3 supports expansion of long-term multilineage repopulating activity after multiple stem cell divisions *in vitro*. Blood 2000; 96: 1748-55.
112- Piacibello W, Gammaitoni L, Bruno S, Gunetti M, Fagioli F, Cavalloni G, *et al*. Negative influence of IL3 on the expansion of human cord blood *in vivo* long-term repopulating stem cells. J Hematother Stem Cell Res 2000; 9: 945-56.
113- Tang YL, Zhu W, Cheng M, Chen L, Zhang J, Sun T, *et al*. Hypoxic preconditioning enhances the benefit of cardiac progenitor cell therapy for treatment of myocardial infarction by inducing CXCR4 expression. Circ Res 2009; 104: 1209-16.
114- Speth JM, Hoggatt J, Singh P, Pelus LM. Pharmacologic increase in HIF1α enhances hematopoietic stem and progenitor homing and engraftment. Blood 2014; 123(2): 203-7.
115- Staller P, Sulitkova J, Lisztwan J, Moch H, Oakeley EJ, Krek W. Chemokine receptor CXCR4 downregulated by von Hippel-Lindau tumour suppressor pVHL. Nature 2003; 425(6955): 307-11.
116- Sushmita Roy, Manjul Tripathy, Nitin Mathur, Asish Jain, Asok Mukhopadhyay. Hypoxia improves expansion potential of human cord blood–derived hematopoietic stem cells and marrow repopulation efficiency. Eur J Haematol 2012; 88(5): 396-405.

[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-25 ]