

## • 实验研究 Experiment research •

## 自体骨髓干细胞经肝动脉移植治疗急性肝损伤的实验研究

朱应合, 韩金铃, 刘彦平, 高 觉, 徐 克, 张曦彤, 丁国民

**【摘要】 目的** 评价自体骨髓干细胞经肝动脉移植对兔急性肝损伤模型的治疗效果,了解促肝细胞生长素(pHGF)在干细胞移植治疗中的协同作用。**方法** 新西兰雄性大白兔 15 只,皮下注射 50% CCl<sub>4</sub> 橄榄油溶液 0.8 ml/kg 连续 4 d 制作急性肝损伤模型。模型动物随机分为实验组 A(干细胞移植组),实验组 B(干细胞移植 + pHGF 组)和对照组(各 5 只)。实验组经兔双侧胫骨抽取骨髓约 5 ml,采用密度梯度离心法分离骨髓干细胞,制成 5 ml 细胞悬液,透视下经股动脉插管将骨髓干细胞经肝动脉注入肝脏,对照组注入生理盐水。实验组 B 在干细胞移植后隔日静脉注射 pHGF 2.0 mg/kg 共 20 d。干细胞移植后 2、4、8 周抽血进行肝功能检测,8 周后取兔肝脏组织标本进行病理学观察。**结果** 骨髓干细胞肝动脉移植后肝功能逐渐改善,至移植后 8 周,各组血清 AST、ALT 活性和 TBIL、ALB 含量均显著低于术前指标,而球蛋白含量高于术前( $P$  均  $< 0.05$ ),而且各组之间仍有明显差异。病理组织学观察显示实验组肝纤维组织增生程度和肝细胞变性较对照组明显减轻。免疫组化染色可见肝组织内散在分布有 CD34 阳性肝样细胞,实验组 A 较对照组多,实验组 B 最多。**结论** 自体骨髓干细胞经肝动脉移植对肝损伤有明显治疗作用,可改善肝功能,促进肝组织结构重建,抑制纤维组织增生;pHGF 能加速肝组织的修复和肝功能的改善。

**【关键词】** 骨髓干细胞;移植;肝损伤,实验性;治疗

中图分类号:R730.59 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2009)-07-0529-05

**Transplantation of autologous bone marrow stem cells via hepatic artery for the treatment of acute hepatic injury: an experimental study in rabbits** ZHU Ying-he, HAN Jin-ling, LIU Yan-ping, GAO Jue, XU Ke, ZHANG Xi-tong, DING Guo-min. Department of Radiology, the First Hospital Affiliated to Chinese Medical University, Shenyang 110001, China

**【Abstract】 Objective** To evaluate the transplantation of autologous bone marrow stem cells via hepatic artery in treating acute hepatic injury in experimental rabbit models and to clarify the synergistic effect of hepatocyte growth-promoting factor (pHGF) in stem cell transplantation therapy for liver injury. **Methods** Acute hepatic injury models were established in 15 experimental rabbits by daily subcutaneous injection of CCl<sub>4</sub> olive oil solution with the dose of 0.8 ml/kg for 4 days in succession. The experimental rabbits were randomly and equally divided into three groups: study group A (stem cell transplant,  $n = 5$ ), study group B (stem cell transplant + pFHG,  $n = 5$ ), and control group ( $n = 5$ ). Bone marrow of 5 ml was drawn from the tibia in all rabbits of both study groups, from which bone marrow stem cells were isolated by using density gradient centrifugation, and 5 ml cellular suspension was prepared. Under fluoroscopic guidance, catheterization through the femoral artery was performed and the cellular suspension was infused into the liver via the hepatic artery. Only injection of saline was carried out in the rabbits of control group. For the rabbits in group B, pFHG (2.0 mg/kg) was administered intravenously every other day for 20 days. At 2, 4 and 8 weeks after stem cell transplantation, hepatic function was determined. Eight weeks after the transplantation all the rabbits were sacrificed and the liver specimens were collected and sent for pathological examination. **Results** After stem cell transplantation, the hepatic function was gradually improved. Eight weeks after the transplantation, the activity of AST, ALT and the content of ALB, TBIL were significantly

lower than that before the procedure, while the content of GOLB was markedly increased in all rabbits. In addition, the difference in the above parameters

作者单位:110001 沈阳 中国医科大学第一临床学院放射科  
[朱应合(现在江苏常州市中医院,213000)、徐 克、张曦彤];江苏常州市中医院检验科(韩金铃、丁国民),放射科(刘彦平),外科(高 觉)  
通信作者:徐 克 Email:xukem@pub.ln.cninfo.net

between three groups was statistically significant ( $P < 0.05$ ). Pathologically, the hepatocyte degeneration and the fibrous hyperplasia in the study groups were obviously not as severe as in the control group. Moreover, the amount of CD34+ hepatic cells within liver tissue in the study group A was more than that in the control group, and the amount of cells was the largest in the study group B. **Conclusion** Transplantation of autologous bone marrow stem cells via hepatic artery is very effective for the treatment of acute hepatic injury in experimental animals. It can improve liver function, promote hepatic reconstruction and inhibit fibrous hyperplasia. The hepatocyte growth-promoting factor is helpful in repairing liver tissue and in improving liver function. (J Intervent Radiol, 2009, 18: 529-533)

**【Key words】** bone marrow stem cell; transplantation; hepatic injury, experimental; treatment

为进一步证实骨髓干细胞(MSC)在肝脏再生中的作用及评价临床急性肝损伤治疗的可行性,本研究将自体 MSC 通过肝动脉植入肝内,观察其对兔急性肝损伤模型的治疗作用。同时了解促肝细胞生长素 (hepatocyte growth-promoting factor, pHGF) 在干细胞移植治疗中的协同作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物模型制作及分组 新西兰雄性大白兔 15 只,由中国医科大学医学实验动物中心提供并负责饲养,体重( $2.0 \pm 0.2$ )kg。实验前测定肝功能(5 只)和肝脏病理(2 只)作为正常对照。随后每日皮下注射 50%  $\text{CCl}_4$  0.8ml/kg 体重,连续注射 4 d 制备急性肝损伤模型<sup>[3]</sup>。经血清肝功能检测(5 只)和肝病理组织学(2 只)观察,确认符合急性肝损伤标准(大面积肝细胞变性、坏死、肝组织结构紊乱、炎性细胞浸润和肝酶活性显著升高)并作为模型对照指标。将符合标准的 15 只兔随机分为实验 1 组(干细胞移植组)、实验 2 组(干细胞移植 + pHGF)和模型对照组(各 5 只)。在实验期间给予正常饲料喂养。

1.1.2 主要试剂及仪器 多用途高速离心机(巴德公司),OEC-9800 DSA 血管造影仪(美国 GE 公司),Percoll 分离液(美国 Sigma 公司),DMEM 培养基(美国 Hyclone 公司),全自动生化分析仪(日本日立公司),骨髓穿刺针等。

### 1.2 方法

1.2.1 MSC 的获取和分离 取兔双侧胫骨上端内侧为穿刺点,实验组动物静脉注射麻醉及固定后行胫骨穿刺,采用无菌方法抽吸骨髓约 5 ml(每侧 2 ~ 2.5 ml),用肝素抗凝。然后加等量 DMEM 细胞培养液稀释骨髓,制成骨髓悬液。将骨髓液沿管壁缓慢加到等量密度 1.073 Pml 的 Percoll 分离液,2 000 转/min( $R = 8$  cm)室温下离心 20 min。离心后弃去

上清液,吸取第 2 层乳白色的单个核细胞层,用生理盐水稀释后,1 500 转/min 离心 5 min,弃上清液,再次稀释、离心,反复 3 次。将得到的单个核细胞用生理盐水制成体积为 5 ml 的细胞悬液(浓度为  $1.0 \times 10^7$  个细胞/ml)。经锥虫蓝染色后镜下观察干细胞形态,细胞仪计数所获细胞数约为  $5.0 \times 10^7$  个细胞。

1.2.2 MSC 移植 模型兔麻醉固定后,置于 DSA 检查床上,选择兔右侧大腿部备皮、消毒、铺巾,2%利多卡因皮内浸润麻醉,剪开皮肤,分离筋膜及肌层,暴露股动静脉鞘,仔细分离出股动脉。微穿刺针穿刺股动脉成功后,送入直径 0.018 mm 微导丝,再引入 3 F 微导管至腹主动脉,造影了解肝动脉走行。在微导丝的引导下将微导管插至肝动脉内造影,确认后将分离的 MSC 通过导管从肝动脉缓慢注入病变肝脏,随后用 2 ml 生理盐水冲洗管腔。然后结扎股动脉,缝合皮肤,待模型兔自然苏醒,常规喂养观察。对照组兔经肝动脉注入 5 ml 生理盐水,实验 1 组、2 组给予 5 ml 干细胞悬液,实验 2 组兔自干细胞移植当日起,隔日静脉给予 pHGF 1 次,每次 2 mg/kg 体重,持续 20 d。

1.2.3 肝功能指标检测 在实验前、细胞移植前和细胞移植后 2、4、8 周分别采集外周血检测肝功能。检测指标包括 ALT、AST、TBIL,总蛋白(TP),白蛋白(ALB),球蛋白(GLOB)等。对照组同步检测上述指标。

1.2.4 病理学观察 细胞移植术后 8 周,将所有动物处死,手术切除肝脏,先观察其大体形态,然后取部分肝组织作为标本,经 4%甲醛固定 24 h 后,采用常规石蜡包埋、切片和 HE 染色,在普通光学显微镜观察并摄片。进一步行 Masson 染色和干细胞免疫组化染色,观察各组纤维化程度的改变和干细胞在肝脏内存留及分化情况。

### 1.3 统计学处理

实验数据用( $\bar{x} \pm s$ )表示,各组数据在符合正态分布且方差齐时采用方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。所有统计处理均用 SPSS11.5 统计专用软件完成。

## 2 结果

### 2.1 血清氨基转移酶活性及相关蛋白含量变化

与健康动物比较,急性肝损伤模型兔的血清 ALT 和 AST 等肝酶活性均显著升高,血清胆红素上升, GLOB 含量升高( $P < 0.05$ ),而血清 TP 和 ALB 含量未见明显变化( $P > 0.05$ ,表 1)。MSC 移植后,各组 ALT、AST 等逐渐降低,TP、ALB 先降低,后逐渐升高。至术后 8 周,除 TP 外术前、术后肝功能指标均有明显差异(表 2~5)。

### 2.2 组织病理学改变

**2.2.1 常规染色病理学改变** 正常肝组织结构清楚,肝细胞排列整齐,肝小叶完整,肝细胞围绕中央静脉呈放射状排列。模型形成后动物肝脏明显萎缩,质地变软,弹性变差,HE 染色显微镜下肝组织显示肝结构紊乱,大量肝细胞坏死、水肿和脂肪变性,汇管区及中央静脉附近有较多炎性细胞浸润。MSC 移植治疗 8 周后,各组肝脏大体形态明显恢复。镜下对照组仍可见散在肝细胞肿胀、空泡样变,部分区域有纤维组织增生,细胞排列紊乱,组织内仍有较多炎性细胞存在;而实验 1 组和实验 2 组肝组织基本结构清晰,肝细胞完整并排列有序,组织结构基本正常,炎性细胞浸润明显减少。在高倍镜下肝组织内可见核大浓染、胞质少的卵圆样细胞,实验 2 组较实验 1 组和对照组多见。

### 2.2.2 特殊染色病理学变化

**2.2.2.1 Masson 三色纤维染色:**实验 1 组和实验 2 组显示肝组织内未见明显纤维组织增生,两组间组织结构无明显差别,而对照组可见部分纤维组织增生,出现轻度纤维化改变。

**2.2.2.2 免疫组化染色:**采用干细胞 CD34 抗体染色,实验组肝组织内散在分布的胞质呈棕黄色浓染的 CD34 阳性骨髓源性肝细胞,细胞呈多角形,核相对深染,嵌于肝细胞索中,形态类似于正常肝细胞,多见于汇管区和中央静脉周围,散在或成簇分布。

实验 2 组这类细胞较实验 1 组更多见,而对照组这种细胞少,细胞形态小,成类圆形,核大深染,胞质少,位于肝细胞索间隙内,形态上与其他组这类细胞有一定差异,考虑为未分化成熟的干细胞(图 1)。

## 3 讨论

研究证明骨髓组织中存在多种类型的干细胞,如多能干细胞(MSC)、造血干细胞、间充质干细胞等,这些细胞可以在体外诱导下分化为肝样细胞。肝细胞生长因子(HGF)、成纤维细胞生长因子(FGF)等是很好的诱导分化的促进剂<sup>[1,2]</sup>。Mitchell 等<sup>[3]</sup>认为,在肝功能持续损害的前提下 MSC 会向肝细胞转化, MSC 在一定条件下可以向肝细胞分化,肝组织损伤具有动员 MSC 的作用,肝脏损伤并释放出的信号因子是激活 MSC 并吸引其在肝脏停留的重要因素。

关于 MSC 治疗肝脏疾病的机制目前认识较少,可能是 MSC 能在肝损伤、肝纤维化环境中存活、增殖,并向肝细胞分化,形成成熟肝细胞,改善肝功能。同时移植细胞通过分泌细胞因子,刺激受体肝细胞再生,间接影响某些促胶原降解因子的表达如  $\mu$ PA,促进胶原和 ECM 的降解,逆转肝纤维化,促进肝小叶结构的恢复<sup>[4]</sup>。

尽管机体本身存在自发的 MSC 向肝脏转移和分化的机制,但这种自发性反应远远不能达到治疗的目的,自体 MSC 移植是一种增强这种效应的重要手段。Esch 等<sup>[5]</sup>将体外纯化的骨髓 CD133 阳性细胞通过肝门静脉植入体内,发现植入 CD133 阳性细胞的受损伤肝脏生长速度为对照组的 2.5 倍。潘兴华等<sup>[6]</sup>在猕猴急性肝损伤模型中采用自体 MSC 经门静脉途径移植治疗,结果显示干细胞移植治疗组肝功能改善明显好于对照组。也有学者在临床研究中得到了相似的结果<sup>[7-9]</sup>。

本研究通过介入方法经肝动脉输入分离的自体 MSC 对兔急性肝损伤模型进行实验性治疗,观察其对肝细胞的保护作用 and 移植后在肝脏内存留和分化情况。结果显示干细胞移植 8 周后各组肝功能大部分指标较术前均有显著改善,表明肝脏在受到急性损伤后本身具有强大的自我修复能力,而且移植了 MSC 的动物肝功能得到更明显改善,与对照组

表 1 急性肝损伤模型制备前后肝功能对照表

组别	动物数	ALT(u/L)	AST(u/L)	TBIL( $\mu$ mol/L)	TP(g/L)	ALB(g/L)	GLOB(g/L)
正常组	5	35.8 $\pm$ 8.0	21.0 $\pm$ 7.7	6.4 $\pm$ 0.52	64.6 $\pm$ 2.8	40.3 $\pm$ 2.3	24.3 $\pm$ 2.5
模型组	5	331.0 $\pm$ 29.2*	223.0 $\pm$ 33.2*	11.6 $\pm$ 0.6**	68.7 $\pm$ 1.8 <sup>△</sup>	39.8 $\pm$ 1.1**	38.9 $\pm$ 0.9**

两组比较 \* $P < 0.01$ ; \*\* $P < 0.05$ ; <sup>△</sup> $P > 0.05$ 。



表 2 自体骨髓干细胞移植前后模型对照组肝功能改善情况

( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数	ALT(u/L)	AST(u/L)	TBIL( $\mu$ mol/L)	TP(g/L)	ALB(g/L)	GLOB(g/L)
术前	5	331.0 $\pm$ 29.2	223.0 $\pm$ 33.2	11.6 $\pm$ 0.6	68.7 $\pm$ 1.8	39.8 $\pm$ 1.1	38.9 $\pm$ 0.9
术后2周	5	287.0 $\pm$ 39.1	221.0 $\pm$ 14.4	11.6 $\pm$ 0.6	65.4 $\pm$ 1.8	36.9 $\pm$ 1.0	39.8 $\pm$ 1.4
术后4周	4	153.6 $\pm$ 13.4	202.0 $\pm$ 22.9	10.0 $\pm$ 0.3	66.0 $\pm$ 2.0	34.0 $\pm$ 0.8	44.2 $\pm$ 0.8
术后8周	3	120.5 $\pm$ 11.9*	133.8 $\pm$ 8.1*	9.0 $\pm$ 0.33**	67.2 $\pm$ 0.8 $^{\Delta}$	35.3 $\pm$ 0.8**	45.2 $\pm$ 1.1**

\* 模型对照组术前与术后 8 周比较  $^{\Delta}P < 0.01$ ; \*\* $P < 0.05$ ;  $^{\Delta}P > 0.05$ 。

表 3 自体骨髓干细胞移植前后干细胞移植组肝功能改善情况

( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数	ALT(u/L)	AST(u/L)	TBIL( $\mu$ mol/L)	TP(g/L)	ALB(g/L)	GLOB(g/L)
术前	5	331.0 $\pm$ 29.2	223.0 $\pm$ 33.2	11.6 $\pm$ 0.6	68.7 $\pm$ 1.8	39.8 $\pm$ 1.1	38.9 $\pm$ 0.9
术后2周	5	255.8 $\pm$ 51.0	208.0 $\pm$ 28.3	10.7 $\pm$ 0.5	69.9 $\pm$ 2.1	36.7 $\pm$ 0.9	39.7 $\pm$ 1.2
术后4周	4	129.3 $\pm$ 10.4	139.8 $\pm$ 16.8	9.4 $\pm$ 0.6	67.5 $\pm$ 1.0	35.9 $\pm$ 0.9	40.5 $\pm$ 0.9
术后8周	4	84.3 $\pm$ 9.9*	98.5 $\pm$ 8.5*	8.4 $\pm$ 0.7*	67.0 $\pm$ 1.4 $^{\Delta}$	37.2 $\pm$ 0.4*	41.3 $\pm$ 1.0*

\* 干细胞移植组术前与术后 8 周比较 \*\* $P < 0.05$ ;  $^{\Delta}P > 0.05$ 。

表 4 自体骨髓干细胞移植前后干细胞移植+pHGF 组肝功能改善情况

( $\bar{x} \pm s$ )

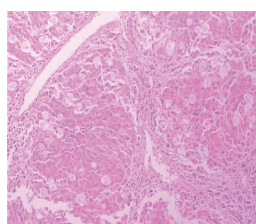
组别	动物数	ALT(u/L)	AST(u/L)	TBIL( $\mu$ mol/L)	TP(g/L)	ALB(g/L)	GLOB(g/L)
术前	5	331.0 $\pm$ 29.2	223.0 $\pm$ 33.2	11.6 $\pm$ 0.6	68.7 $\pm$ 1.8	39.8 $\pm$ 1.1	38.9 $\pm$ 0.9
术后2周	5	203.2 $\pm$ 9.7	178.6 $\pm$ 17.6	10.0 $\pm$ 0.4	64.6 $\pm$ 1.4	36.5 $\pm$ 0.6	39.5 $\pm$ 0.8
术后4周	4	81.2 $\pm$ 11.4	98.0 $\pm$ 13.0	8.2 $\pm$ 0.4	67.6 $\pm$ 0.9	36.3 $\pm$ 0.8	38.3 $\pm$ 0.9
术后8周	4	58.5 $\pm$ 1.7**	77.3 $\pm$ 7.7**	7.2 $\pm$ 0.3**	69.4 $\pm$ 0.9 $^{\Delta}$	38.6 $\pm$ 0.6**	39.6 $\pm$ 0.6**

\* 干细胞移植+pHGF 组术前与术后 8 周比较 \*\* $P < 0.05$ ;  $^{\Delta}P > 0.05$ 。

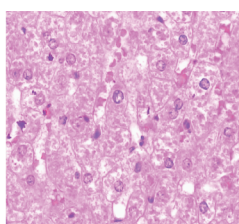
表 5 自体骨髓干细胞移植后 8 周肝功能改善情况

( $\bar{x} \pm s$ )

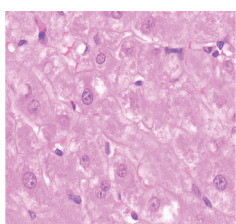
组别	动物数	ALT(u/L)	AST(u/L)	TBIL( $\mu$ mol/L)	TP(g/L)	ALB(g/L)	GLOB(g/L)
模型对照组	3	120.5 $\pm$ 11.9	133.8 $\pm$ 8.1	9.0 $\pm$ 0.33	76.2 $\pm$ 0.8	31.3 $\pm$ 0.8	45.2 $\pm$ 1.1
干细胞移植组	4	84.3 $\pm$ 9.9* $^{\Delta}$	98.5 $\pm$ 8.5* $^{\Delta}$	8.4 $\pm$ 0.7	77.0 $\pm$ 1.4	36.2 $\pm$ 0.4* $^{\Delta}$	41.3 $\pm$ 1.0*
移植+pHGF组	4	58.5 $\pm$ 1.7**	77.3 $\pm$ 7.7**	7.2 $\pm$ 0.3**	79.4 $\pm$ 0.9	38.6 $\pm$ 0.6**	39.6 $\pm$ 0.6
P值*		< 0.05	< 0.05	> 0.05	> 0.05	< 0.05	< 0.05
P值***		< 0.05	< 0.05	> 0.05	> 0.05	< 0.05	> 0.05

注: \* 与模型对照组术后 8 周比较  $P < 0.05$ ; \*\* 与模型对照组术后 8 周比较  $P < 0.05$ ;  $^{\Delta}$  与移植+pHGF 组术后 8 周比较  $P < 0.05$ 。

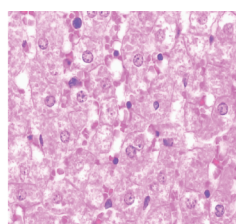
a 干细胞移植前肝损伤模型肝组织,显示组织细胞坏死和炎性细胞浸润(Masson 染色,x40)



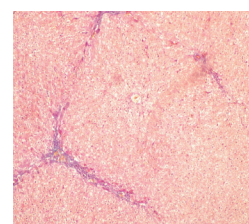
b 干细胞移植后 8 周对照组,可见细胞形态欠规整,可见散在细胞坏死(HE 染色,x200)



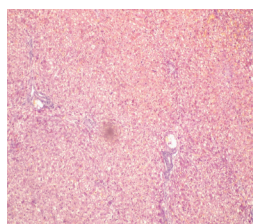
c 干细胞移植后 8 周实验 1 组,可见细胞形态完整,细胞索排列较规则,无明显细胞坏死(HE 染色,x200)



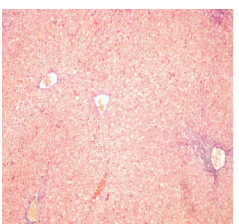
d 干细胞移植后 12 周实验 2 组,细胞形态完整,细胞索排列规则,内见较多核大浓染类圆细胞(HE 染色,x200)



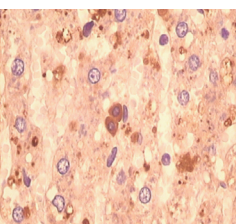
e 干细胞移植后 8 周对照组,可见纤维组织增生(Masson 染色,x100)



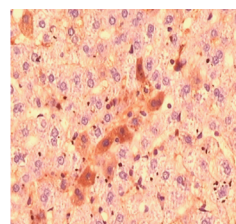
f 干细胞移植后 8 周实验 1 组,纤维组织增生不明显(Masson 染色,x100)



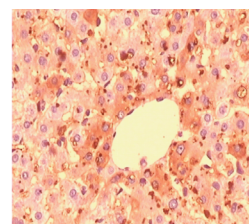
g 干细胞移植后 8 周实验 2 组,未见纤维组织增生(Masson 染色,x100)



h 干细胞移植后 8 周对照组,可见少数浓染的 CD34+细胞,形态呈类圆形,体积较小(免疫组化染色,x200)



i 实验 1 组,可见散在浓染的 CD34+肝样细胞(免疫组化染色,x200)



j 实验 2 组 12 周,可见较多浓染的 CD34+肝样细胞,近中央静脉周围分布较多(免疫组化染色,x200)

图 1 实验兔肝病理及免疫组化染色改变

之间也有明显差异,这也表明移植的干细胞能在肝脏内存留和分化,起到保护肝细胞、改善肝功能的作用。病理组织学观察也显示,移植 MSC 的动物肝细胞形态相对完整,肝组织结构清晰,未见明显纤维增生;而未移植 MSC 的动物肝细胞仍有变性和坏死,肝组织结构紊乱,有纤维化倾向,表明移植的 MSC 在肝脏内可促进肝组织再生和抑制纤维组织增生。免疫组化染色显示干细胞移植组肝组织内散在分布有胞质浓染 CD34 阳性肝样细胞,楔于肝细胞索内,形态类似于肝细胞,而且数量上实验组较对照组多见,而对照组内这类细胞少,形态未成熟,且位于肝细胞索间隙,而正常肝组织中则未见这类细胞。因 CD34 为 MSC 的特有标志,这提示部分 MSC 在肝脏损害的前提下可被动进入肝脏内分化,但这种作用有限,而且是一个较长的过程。而移植干细胞可以很快融入肝细胞索内,并分化为成熟肝细胞,同时也提示干细胞的直接移植可较快地产生治疗效果。综上所述,本实验结果表明肝脏在受到急性损伤后本身具有强大的自我修复能力,经肝动脉植入的自体 MSC 可停留在肝脏内进行生长和分化,并有明显促进损伤肝组织的修复和阻止向肝纤维化方向发展的作用。

另一方面,如何使移植的干细胞能更多在肝内停留并分化是增强 MSC 治疗的关键。除了选择合适的移植途径外,寻找能促进干细胞在肝脏归巢的药物是一种重要方法。pHGF 是从乳猪新鲜肝脏组织中提取纯化制备而成的小分子量多肽类活性物质,有保护肝细胞,促进肝细胞的再生,加速肝功能恢复的作用。临床上主要用于各种重型病毒性肝炎的辅助治疗。在实验中 pHGF 可诱导 MSC 向肝细胞分化,增加 MSC 在肝脏内归巢和转化<sup>[10]</sup>。理论上,如果在干细胞移植的同时联用 pHGF 不仅会起到保护肝功能和促进肝细胞的再生的作用,而且可能促进 MSC 在肝脏的归巢和分化,加速肝脏的修复和重建。

本研究的实验 2 组在经肝动脉移植自体 MSC 前后隔日给予静脉注射 pHGF 葡萄糖溶液共 20 d,结果显示 8 周后该组动物肝功能指标得到更显著改善,与实验 1 组也有明显差异。病理组织学也显示

联用 pHGF 后动物肝组织结构改善更明显,纤维增生更少,肝组织内 CD34 阳性骨髓源性肝样细胞数量也较实验 1 组多。可见自体 MSC 移植治疗肝损伤时联用 pHGF,不仅能保护肝细胞,又能促进移植干细胞在肝脏内的归巢和分化,加速肝组织的修复和肝功能的改善,对临床治疗急性肝损伤有一定帮助。

#### [参考文献]

- [1] Theise ND, Nimmakayalu M, Gardner R, et al. Liver from bone marrow in humans[J]. *Hepatology*, 2000, 32: 11 - 16.
- [2] Schwartz RE, Reyes M, Koodie L, et al. Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells[J]. *J Clin Invest*, 2002, 109: 1291 - 1302.
- [3] Mitchell C, Fausto N. Bone marrow derived hepatocytes: rare but promising[J]. *Am J Patol*, 2002, 161: 349 - 350.
- [4] 吴理茂,李连达,刘红,等. 自体骨髓干细胞移植与归元方联用治疗急性肝损伤的实验研究[J]. *中国工程科学*, 2004, 6: 34 - 42.
- [5] am Esch JS, Knoefel WT, Klein M, et al. Portal application of autologous CD133+ bone marrow cells to the liver: a novel concept to support hepatic regeneration[J]. *Stem cells*, 2005, 23: 463 - 470.
- [6] 潘兴华,庞荣清,陈系古,等. 猕猴自体骨髓干细胞移植治疗急性肝损伤的实验研究[J]. *热带医学杂志*, 2006, 6: 247 - 250.
- [7] 张强,李京雨,徐力扬. 经肝动脉骨髓干细胞移植治疗肝硬化的初步临床应用[J]. *中国介入影像与治疗学*, 2005, 2: 261 - 263.
- [8] 姚鹏,胡大荣,王帅,等. 自体骨髓干细胞移植治疗慢性重症肝病 60 例[J]. *实用医学杂志*, 2005, 21: 2143 - 2145.
- [9] Terai S, Ishikawa T, Omori K, et al. Improved liver function in patients with liver cirrhosis after autologous bone marrow cell infusion therapy[J]. *Stem Cells*, 2006, 24: 2292 - 2298.
- [10] 祁金锋,韩明子,穆丽雅,等. 肝细胞刺激因子对骨髓单个核细胞向肝归巢的影响[J]. *医学研究生学报*, 2007, 20: 471 - 473.
- [11] Kollet O, Shvitiel S, Chen YQ, et al. HGF, SDF-1, and MMP-9 are involved in stress-induced human CD34 + stem cell recruitment to the liver[J]. *J Clin Invest*, 2003, 112: 160 - 169.

(收稿日期:2008-11-21)

# 自体骨髓干细胞经肝动脉移植治疗急性肝损伤的实验研究

作者: [朱应合](#), [韩金铃](#), [刘彦平](#), [高觉](#), [徐克](#), [张曦彤](#), [丁国民](#), [ZHU Ying-he](#), [HAN Jin-ling](#), [LIU Yon-ping](#), [GAO Jue](#), [XU Ke](#), [ZHANG Xi-tong](#), [DING Guo-min](#)

作者单位: [朱应合](#), [ZHU Ying-he](#) (江苏常州市中医院, 213000), [韩金铃](#), [丁国民](#), [HAN Jin-ling](#), [DING Guo-min](#) (江苏常州市中医院检验科), [刘彦平](#), [LIU Yon-ping](#) (江苏常州市中医院放射科), [高觉](#), [GAO Jue](#) (江苏常州市中医院放射科外科), [徐克](#), [张曦彤](#), [XU Ke](#), [ZHANG Xi-tong](#) (沈阳中国医科大学第一临床学院放射科, 110001)

刊名: [介入放射学杂志](#) **ISTIC** **PKU**

英文刊名: [JOURNAL OF INTERVENTIONAL RADIOLOGY](#)

年, 卷(期): 2009, 18(7)

被引用次数: 0次

## 参考文献 (11条)

1. [Theise ND, Nimmakayalu M, Gardner R](#) Liver from bone marrow in humans 2000
2. [Schwartz RE, Reyes M, Koodie L](#) Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells 2002
3. [Mitchell C, Fausto N](#) Bone marrow derived hepatocytes: rare but promising 2002
4. [吴理茂, 李连达, 刘红](#) 自体骨髓干细胞移植与归元方联用治疗急性慢性肝损伤的实验研究[期刊论文]-[中国工程科学](#) 2004
5. [am Esch JS, Knoefel WT, Klein M](#) Portal application of autologous CD133+ bone marrow cells to the liver: a novel concept to support hepatic regeneration 2005
6. [潘兴华, 庞荣清, 陈系古](#) 猕猴自体骨髓干细胞移植治疗急性肝损伤的实验研究[期刊论文]-[热带医学杂志](#) 2006
7. [张强, 李京雨, 徐力扬](#) 经肝动脉骨髓干细胞移植治疗肝硬化的初步临床应用[期刊论文]-[中国介入影像与治疗学](#) 2005
8. [姚鹏, 胡大荣, 王帅](#) 自体骨髓干细胞移植治疗慢性重症肝病60例[期刊论文]-[实用医学杂志](#) 2005 (21)
9. [Terai S, Ishikawa T, Omori K](#) Improved liver function in patients with liver cirrhosis after autologous bone marrow cell infusion therapy 2006
10. [祁金锋, 韩明子, 穆丽雅](#) 肝细胞刺激因子对骨髓单个核细胞向肝归巢的影响[期刊论文]-[医学研究生学报](#) 2007
11. [Kollet O, Shvitiel S, Chen YQ](#) HGF, SDF-1, and MMP-9 are involved in stress-induced human CD34 + stem cell recruitment to the liver 2003

## 相似文献 (10条)

1. 期刊论文 [李志营, 步星耀, 张圣旭, 刘猛, 程培训, 张永福, Li Zhi-ying, Bu Xing-yao, Zhang Sheng-xu, Liu Meng, Cheng Pei-xun, Zhang Yong-fu](#) 自体骨髓干细胞动员移植与手术移植治疗脊髓损伤的比较 -[中国组织工程研究与临床康复](#) 2009, 13 (45)

背景: 研究表明, 骨髓干细胞可在损伤脊髓中存活、向损伤部位迁移并向神经元和星形胶质细胞分化, 促进损伤脊髓功能的恢复, 是治疗脊髓损伤的一条有效途径。自体骨髓干细胞动员移植与手术移植治疗脊髓损伤均具有更广阔的临床应用前景, 但两者的疗效与治疗机制是否存在区别还不清楚。目的: 比较自体骨髓干细胞动员移植与手术移植治疗脊髓损伤的效果, 并以定性定量指标评价。设计、时间及地点: 随机对照动物实验, 于2007-06/2008-04在河南省人民医院完成。材料: 10周龄SD大鼠90只, 雌雄各半, 体重(240±10)g, 用于制备脊髓损伤模型。方法: 动物造模前注射5-溴-2-脱氧尿嘧啶核苷50 mg/(kg·d)×3 d后抽取自体骨髓, 体外分离自体骨髓干细胞; NYU Impactor制作脊髓损伤模型。90只模型大鼠按随机数字表法分为3组, 每组30只。动员移植组: 应用重组粒细胞刺激因子皮下注射, 20 mg/(kg·d)×7 d; 手术移植组为损伤局部移植0.3 mL (1×10<sup>6</sup>~10<sup>7</sup>) 骨髓间充质干细胞; 对照组: 脊髓损伤后给予相同体积(0.3 mL)的生理盐水。各组均从术前3 d开始, 连续10 d腹腔注射5-溴-2-脱氧尿嘧啶核苷50 mg/(kg·d)。主要观察指标: 采用Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) 评分检测伤后3 d, 1, 2, 4, 8周大鼠后肢的运动功能; 伤后1, 2, 4, 8周通过体感诱发电位和运动诱发电位检测脊髓上、下行神经传导通路, 判断脊髓损伤和恢复程度; 病理和免疫组织化学观察脊髓损伤组织细胞结构变化及5-溴-2-脱氧尿嘧啶核苷、胶质纤维酸性蛋白和神经元特异性烯醇化酶分布表达。结果: ①脊髓损伤后1, 2, 4, 8周动员移植组和手术移植组BBB评分均较对照组升高 (P<0.01); 动员移植组和手术移植组相比, 差异均无显著性意义 (P>0.05)。②脊髓损伤1, 2, 4, 8周后, 与对照组相比, 动员移植组和手术移植组体感诱发电位和运动诱发电位潜伏期均降低 (P<0.05~0.01), 波幅均增高 (P<0.05~0.01); 动员移植组和手术移植组各时间点相比, 差异均无显著性意义 (P>0.05)。③组织病理学显示动员移植组和手术移植组较对照组有更少的空洞、坏死及胶质纤维酸性蛋白瘢痕组织, 较多的5-溴-2-脱氧尿嘧啶核苷阳性细胞和特异性烯醇化酶阳性细胞。结论: 自体骨髓干细胞动员移植和手术移植两种方法均能明显减轻脊髓损伤的程度, 促进损伤后脊髓功能的恢复, 两者对比, 前者更为方便、无创, 实用性强。

2. 学位论文 [郭跃虎](#) 受体骨髓干细胞在大鼠移植肝内血管内皮细胞的分化 2006

背景: 1963年, Starzl成功施行了世界第一例临床原位肝移植(Orthotopic liver transplantation, OLT)。几十年来, 通过在器官保存、手术技术、抗排斥药物、术前术后处理等领域重大进展, 肝移植成为公认治疗终末期肝病的外科手段。移植术后的排斥反应仍然是威胁患者和移植物长期存活的主要原因。移植排斥反应的本质上是由于供体作为异基因抗原侵入引起受体特异性免疫激活而造成对供体组织结构和功能持续损伤的病理过程。我们设想, 移植的肝脏如果能够被特异性的受体细胞替代, 逐渐转变为与受体基因类似或相同的器官, 移植的肝脏就不会被排斥而长期存活。

骨髓来源的干细胞主要包括造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)、间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)和多能成体祖细胞(multipotent adult progenitor cells, MAPCs)等。具有多向分化潜能的骨髓干细胞具有广阔的临床应用前景。近期干细胞研究的进展证实, 人类和啮齿类动物的骨髓干细胞可分化为多种细胞类型, 包括骨髓肌细胞、心肌细胞、神经细胞和肝细胞、血管内皮细胞等。自身成体骨髓干细胞可避免免疫排斥反应。在肝移植术后, 受体特异性骨髓干细胞能不能回输到移植肝中, 实现向受体自身肝组织细胞的分化, 从而实现供肝的“受体化”, 从而实现减轻排斥反应, 改善肝脏功能呢?

我们前期进行的实验中将雌性受体大鼠同一品系的雄性大鼠骨髓干细胞经门脉同期输入来源于不同种雌性大鼠的供肝, 实验组的中位生存时间, 肝脏功能明显优于对照组。在停用亚治疗剂量的免疫抑制剂后实验组大鼠长期存活, 后期病理检查未见明显排斥反应。成功诱导了免疫耐受状态的出现。我们发现移植的骨髓干细胞向肝样细胞横向分化, 移植细胞的替代率60天可达(62.70±1.79)%; 甲胎蛋白、白蛋白免疫组化双阳性移植细胞百分率分别为(55.53±2.32)%, (56.83±2.32)%。初步证明了受体骨髓干细胞能够在移植肝脏内生长分化、发生替代。在前期实验中的移植细胞替代率要高于甲胎蛋白、白蛋白免疫组化双阳性移植细胞百分率。提示除了向肝样细胞分化以外可能同时发生了向其他组织细胞的分化。同时常在病理切片中可见汇管区明显的血管增生, 是否出现了向血管内皮细胞分化呢?

骨髓中存在内皮祖细胞, 是一种能够分化为血管内皮的前体细胞, 其可以由骨髓动员到外周血, 分化为成熟的内皮细胞, 并整合到血管损伤部位, 参与血管的修复。Gohra等曾经深入观察了同种腹主动脉移植后其内皮变化情况, 他发现移植的腹主动脉由于缺血和再灌注损伤其内皮部分缺损, 移植后供者内皮首先出现增殖, 由于同种的排斥反应, 移植血管自身内皮又逐渐脱落, 最终受者内皮增殖并覆盖移植血管腔表面。在肝移植中同样存在缺血再灌注损伤和免疫排斥反应对于血管内皮的损伤。因为血管内皮细胞是血液与组织间的重要屏障, 是器官移植后供、受者细胞间最早接触的場所, 最早被免疫系统识别。血管内皮细胞具备独特的生物学功能: 有免疫原性, 有抗原提呈功能, 其同白细胞相互作用在移植排斥反应中有重要作用。如果在此条件下骨髓源血管祖细胞早期参与血管内皮的修复, 受体来源血管内皮细胞替代供肝组织内的血管内皮细胞将对减轻排斥反应改善供肝功能有着重要作用。



骨髓中的EPCs(血管内皮祖细胞)表达CD34、CD133和VEGF-2,(鼠的对应抗原称fetalliverkinase-1, flk-1)而不表达VE-cadherin和IvWF。EPCs释放入血后CD133标志逐渐消失,CD34表达下调,并出现表达VE-cadherin、vWF、CD31、eNOS等成熟血管内皮标志。CD133表达消失的同时出现vWF,可能为EPCs分化为成熟内皮的标志[11]。依据这些特点我们实验设计拟建立双袖套法大鼠原位肝移植模型,将受体特异性骨髓干细胞经门静脉途径植入移植肝脏,观察术后早期的病理表现,利用Sry原位杂交结合vWF免疫组化双染观察特异性骨髓干细胞是否可在肝内转化为血管内皮细胞,以期从中获得提示和相关的证据。

目的:研究受体特异性骨髓干细胞在大鼠移植肝中向血管内皮细胞的分化情况及其对大鼠原位肝脏移植早期排斥反应的影响。

方法:用双袖套法建立大鼠原位肝移植模型,供体为雌性Wistar大鼠,受体为雌性SD大鼠。受鼠随机分为对照组和实验组,对照组6只,实验组12只。其中对照组仅行原位肝移植,实验组在原位肝移植术后关腹前经门静脉注射雌性SD大鼠骨髓单个核细胞0.5ml(1×10<sup>7</sup>个/ml)。受体大鼠均给予亚治疗剂量的环孢素A(cyclosporineA,CsA)0.25mg/kg,肌注,1次/天,最长维持14天。术前一天开始。实验组再随机分为3组,每组4只,分别在术后1周、2周、3周处死取材,观察术后早期的病理变化;并对移植肝组织行雄性性别决定基因Sry原位杂交结合vWF免疫组化的双标技术,观察受体特异性骨髓干细胞向血管内皮细胞的分化情况。

结果:(1)手术后实验组一般情况明显优于对照组。(2)对照组术后存活时间7~12天,死亡后的常规病理表现为重度急性排斥反应。(3)实验组在处死取材前一般状况良好,术后早期的常规病理表现为轻到中度急性排斥反应。(4)实验组从第一周开始可见原位杂交与vWF双染阳性细胞,首先在肝组织内出现,后在供肝血管壁发现有双染阳性细胞出现。

结论:(1)受体特异性骨髓干细胞能在移植肝的环境中诱导分化为血管内皮样细胞,表达vWF。(2)由受体特异性骨髓干细胞分化的血管内皮细胞可部分替代移植肝本身的血管内皮细胞。(3)移植肝组织为受体特异性骨髓分化来的细胞所部分替代,实现供体器官受体化是受体特异性骨髓细胞输注减轻肝移植排斥反应的可能原因之一。

3. 期刊论文 [刘宏伟. 盖鲁粤. 张端珍. 金琴花. 董蔚. LIU Hong-wei. GAI Lu-yue. ZHANG Duan-zhen. JIN Qin-hua. DONG Wei 骨髓干细胞动员与移植治疗心肌梗死的比较 - 中国病理生理杂志](#) 2006, 22 (4)

目的:比较骨髓干细胞动员与骨髓单个核细胞移植对兔心肌梗死的治疗作用,探讨更有效、更适用的干细胞治疗心肌梗死的方法. 方法:将30只新西兰兔采用结扎前降支的方法复制心肌梗死模型,随机分为动员组、移植组 and 对照组,动员组(n=10)心梗后3 h开始皮下注射粒细胞集落刺激因子(G-CSF)30 μg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,连续使用5 d,第5 d抽取静脉血约10 mL,分离单个核细胞(BMCs)用5-溴脱氧尿嘧啶核苷(BrdU)标记后,经静脉注入动物体内. 移植组(n=10)心梗后7~10 d,抽取骨髓3~5 mL,分离MNCs用BrdU标记,然后开胸将细胞移植至梗死区,对照组(n=10)不采取任何治疗措施. 心梗后1周及5周采用超声心动图(UCG)检查心脏功能变化,5周时作血液动力学测定,取心脏作免疫组织化学鉴定. 结果:心梗后5周,动员组左室射血分数(EF)明显高于1周时,移植组无变化,对照组显著下降. 5周时动员组及移植组左室舒张末压(LVEDP)、+dp/dtmax和-dp/dtmax与对照组相比均有显著差异. 动员组及移植组在心肌梗死区均发现有BrdU标记的阳性细胞,两组梗塞区血管密度明显高于对照组,但均未发现有新生的平滑肌细胞及心肌细胞. 结论:骨髓干细胞动员及BMCs移植治疗心肌梗死,均能通过促进梗死区血管新生,明显改善心脏功能,骨髓干细胞动员可能为心肌梗死的治疗提供一种新的无创性手段.

4. 期刊论文 [刘宏伟. 盖鲁粤. 张端珍. 金琴花. 董蔚. LIU Hong-wei. GAI Lu-yue. ZHANG Duan-zhen. JIN Qin-hua. DONG Wei 骨髓干细胞动员与移植治疗心肌梗死的比较 - 中国现代医学杂志](#) 2005, 15 (18)

目的:比较骨髓干细胞动员与骨髓单个核细胞移植对兔心肌梗塞的治疗作用,探讨更有效、更适用的干细胞治疗心肌梗塞的方法. 方法将30支新西兰白兔采用结扎前降支的方法制作心肌梗塞模型,随机分为动员组、移植组 and 对照组,动员组(n=10)心梗后3h开始皮下注射粒细胞集落刺激因子(G-CSF)30 μg/(kg·d),连续使用5 d,第5天抽取静脉血约10mL,分离单个核细胞(mononuclear cells,MNCs)用5-溴脱氧尿嘧啶核苷(bromodeoxyuridine,BrdU)标记后,经静脉注入动物体内. 移植组(n=10)心梗后7~10 d,抽取骨髓3~5mL,分离MNCs用BrdU标记,然后开胸将细胞移植至梗死区,对照组(n=10)不采取任何治疗措施. 心梗后1周及5周采用超声心动图(UCG)检查了解心脏功能变化,5周时作血液动力学测定,取心脏作免疫组织化学鉴定. 结果心梗后5周,动员组左室射血分数(EF)与1周时相比明显增加,移植组无变化,对照组显著下降. 5周时动员组及移植组左室舒张末压(LVEDP)、+dp/dtmax和-dp/dtmax与对照组相比均有显著变化. 动员组及移植组在心肌梗死区均发现有BrdU标记的阳性细胞,两组梗死区血管密度明显高于对照组,但均未发现有新生的平滑肌细胞及心肌细胞. 结论骨髓干细胞动员治疗心肌梗死,能通过促进梗死区血管新生,明显改善心脏功能,骨髓单个核细胞移植可避免心功能的恶化,但在改善心功能方面的作用有限,骨髓干细胞动员可能为心肌梗塞的治疗提供一种更适用的无创性的手段.

5. 学位论文 [柴淑芳 骨髓干细胞在睾丸中横向分化可能性的探索](#) 2007

睾丸是雄性个体最重要的生殖器官,它不仅是精子生成的重要场所,而且还具有分泌雄性激素、维持副性特征的功能。睾丸中主要有三种细胞——赖氏细胞、支持细胞、生殖细胞。赖氏细胞位于曲细精管之间,其分泌的睾酮等雄性激素维持着睾丸内外的激素环境;支持细胞位于睾丸曲细精管内基底膜附近,它们之间的紧密连接形成血睾屏障,将分化至各阶段的生殖细胞包裹在其中,为精子发生提供免疫豁免环境。最近的研究证实睾丸中支持细胞为精原干细胞提供了一种通用的存活及分化环境,它不仅可以识别相同物种的精原干细胞,而且能识别不同物种的精原干细胞,并允许其回到曲细精管基底膜位置,重新启动增殖、分化过程。然而,在精子发生过程中,究竟支持细胞提供的微环境起主导作用还是生殖细胞本身的分化特性起主导作用尚不清楚。

另外,近年来干细胞方面的研究主要集中在胚胎干细胞和成体干细胞。尽管胚胎干细胞因有“发育全能性”而极具应用潜力,但因涉及到伦理问题而备受争议。而成体干细胞中的骨髓干细胞不存在伦理学方面的问题,获取方便,同时现有研究发现骨髓干细胞具有可塑性,能横向分化成多种组织器官细胞,如骨、软骨、脂肪、肌肉、肝脏、肾、心脏,甚至脑的细胞。由此,我们提出问题:在睾丸中,外源骨髓干细胞能否与支持细胞相互识别并横向分化为生殖细胞启动精子发生过程?如果答案是肯定的说明在干细胞分化发育中微环境起着关键的作用,相反,说明生殖细胞本身更重要。

鉴于以上认识,本实验从提取小鼠骨髓干细胞入手,分别采用睾丸网注射技术和尾静脉注射技术将具有遗传标记的供体骨髓干细胞移植到去除了内源性精原干细胞的野生型小鼠睾丸中,睾丸曲细精管为精子发生提供了一个特殊的微环境,同时也以供体精原干细胞对照进行相同的移植,观察骨髓干细胞在睾丸这个免疫豁免的特殊环境中是否能够增殖及分化。

结果显示,对照组移植80天后,受体小鼠曲细精管内供体精原干细胞大量增殖并重新启动生精过程,生成了精子,且交配试验获得了正常的仔鼠。对照组移植的结果说明本实验所使用的睾丸网细胞移植技术是成熟的。由于供体细胞在移植时是由睾丸网到达曲细精管管腔中,而精子发生却要首先从基底膜开始穿越支持细胞间形成的紧密连接再到达管腔,证明异体外源精原干细胞可以逆向穿越受体小鼠睾丸的血睾屏障,回到基底膜位置重新定位(归巢),并可以在支持细胞的营养调节下启动增殖、分化,最终形成精子;亦证明了精原干细胞的移植确实能够使受体小鼠恢复生育能力,为本研究提供了技术保障。

实验组分两种情况,一是将供体骨髓干细胞经睾丸网移植到受体小鼠睾丸中,二是将供体骨髓干细胞经尾静脉移植到受体小鼠的血液中。睾丸网移植结果显示,移植后的受体小鼠睾丸恢复了生精过程,同时原位PCR技术进一步证明此睾丸中的生殖细胞来源于供体骨髓干细胞,说明外源骨髓干细胞在受体小鼠曲细精管中可以归巢和增殖,即可以分化成为生殖细胞;经尾静脉注射的骨髓干细胞在受体小鼠睾丸中的分化结果显示,移植后6M,常规检测得知野生型受体小鼠曲细精管上皮仍然很薄(只有一层睾丸支持细胞),在睾丸中未见任何供体来源的细胞,也没有生殖细胞归巢或增殖的迹象,说明供体骨髓干细胞不能够经过血液循环到达睾丸管腔中。由上可知,将外源骨髓干细胞经睾丸网移植到去除了内源性精原干细胞受体小鼠睾丸后,它们可以逆向通过睾丸的血睾屏障到达曲细精管基底膜(归巢),横向分化成为生殖细胞启动精子发生过程,即支持细胞可以识别外源的骨髓干细胞,允许其归巢,重新启动增殖、分化过程。但经尾静脉注射的骨髓干细胞则无法到达睾丸的曲细精管内。

本课题采用睾丸网注射技术和尾静脉注射技术研究外源骨髓干细胞与睾丸内微环境的相互关系及其横向分化潜能,结果发现通过血液移植骨髓干细胞无法使其在受体睾丸中归巢并增殖、分化,而通过睾丸网移植骨髓干细胞能够使其在受体睾丸中归巢并增殖、分化,说明在骨髓成体干细胞的分化过程中其微环境具有关键的作用,它可以诱导干细胞改变分化方向或进程即横向分化。。本研究不仅为最终阐明睾丸内细胞间的相互作用提供可靠的依据;而且对探讨骨髓干细胞的横向分化潜能具有重要的理论意义,同时为后续成体干细胞横向分化技术的研究打下基础,也为推动成体干细胞的临床应用起到积极的作用,可为男性不育患者带来福音。

6. 期刊论文 [刘永刚. 郭静萱. 张萍. 张少衡 骨髓干细胞心肌内移植增加诱生型一氧化氮合酶的表达 - 中国循环杂志](#) 2005, 20 (1)

目的:通过研究骨髓干细胞心肌内移植是否影响心脏血管内皮舒张功能相关的一氧化氮合酶(NOS)基因的表达,探讨骨髓干细胞心肌内移植对血管舒张功能的影响机制. 方法:对Lewis大鼠进行冠状动脉前降支结扎和骨髓干细胞梗死区域心肌内移植,术后梗死区域心肌取材. 分为急性心肌梗死组、骨髓干细胞心肌内移植组各15只,及正常组3只. 用逆转录多聚酶链反应(RT-PCR)方法检测诱生型一氧化氮合酶(iNOS)和内皮源性一氧化氮合酶(eNOS)的表达. 结果:急性心肌梗死组心肌组织中iNOS的表达在1天时明显增高,3天后迅速减低;骨髓干细胞心肌内移植组,心肌组织中iNOS的表达进一步增高,可维持1个月(P<0. 01). 急性心肌梗死组以及骨髓干细胞心肌内移植组,心肌组织eNOS的表达没有增加(P>0. 05). 结论:骨髓干细胞心肌内移植增加心肌组织iNOS的表达,延长其表达时间,但不影响心肌组织eNOS的表达.

7. 期刊论文 [屠燕. Tu Yan 自体骨髓干细胞冠状动脉内移植治疗心肌梗死的护理 - 护士进修杂志](#) 2006, 21 (12)

目的 回顾和总结对自体骨髓干细胞冠状动脉内移植治疗心肌梗死患者的护理经验. 方法 对16例确诊为心肌梗死病例,经冠状动脉植入从自体骨髓液中分离出的单个核细胞. 在手术不同时期实施有针对性的系统护理. 结果 16例患者均成功接受治疗,术中术后均未出现并发症,术后症状明显改善,复查心脏超声显示左心室射血分数较术前明显提高. 结论 自体骨髓干细胞冠状动脉内移植治疗心肌梗死是比较安全、有效的治疗方法. 围手术期的精心护理,术中、术后并发症的早期发现和及时处理是自体骨髓干细胞移植术成功的关键.

8. 期刊论文 [金艳. 曹克将 骨髓干细胞心肌移植进展及其致心律失常可能 - 中国心脏起搏与心电生理杂志](#) 2004, 18 (6)

心脏存在多种修复机制,但在各种急性或慢性病理状态下往往效果甚微.骨髓干细胞心肌移植可部分修复心肌梗死并预防梗死后充血性心力衰竭.干细胞移植可有多种途径,可分化为心肌样细胞,有研究证实骨髓干细胞移植有致心律失常作用的可能.

9. 学位论文 [刘永刚 骨髓干细胞心肌内移植促进血管新生作用及机制研究](#) 2004

目的:探讨骨髓干细胞心肌内移植的促血管新生作用,通过小动物以及大动物实验证实移植治疗的促血管新生作用和对心功能的改善. 检测在骨髓干细胞心肌内移植治疗过程中可能起作用的细胞因子在mRNA和蛋白质水平表达的变化,确定与骨髓干细胞心肌内移植治疗过程有关的细胞因子,研究促血管新生的作用机制. 同时观察心肌内移植对骨髓的影响,检测骨髓中干细胞因子表达的变化,探讨骨髓干细胞心肌内移植能否通过骨髓动员增强移植治疗的效果,并通过进一步的移植实验来探讨非正常状态下的骨髓用于移植治疗是否会影响心肌内移植的效果. 结论:骨髓单个核细胞心肌内移植可能通过促进血管新生改善左心室收缩功能. 冠状动脉内注射骨髓单个核细胞也可能通过促进血管新生改善心肌血液灌注,增强左室收缩功能. 骨髓单个核细胞心肌内移植可能通过促进血管新生改善心脏传导系统的功能,降低心律失常的发生率. 骨髓单个核细胞心肌内移植可能通过刺激心肌组织表达肝细胞生长因子受体的mRNA和蛋白质表达促进血管新生,通过增加诱生型一氧化氮合酶的表达促进既有毛细血管的开放增加血液灌注. 心肌梗死可以影响骨髓中干细胞因子的表达,骨髓单个核细胞心肌内移植能够逆转骨髓中干细胞因子表达水平的下调,可能会通过骨髓动员作用增加移植治疗的效果. 心肌梗死之后、骨髓单个核细胞心肌内移植之后的骨髓细胞用于心肌内移植,与应用正常骨髓单个核细胞相比,对心功能的改善程度相同,对心脏结构的影响程度也相同,不会影响移植治疗的效果.

10. 会议论文 单鸿 自体骨髓干细胞肝内移植治疗失代偿期肝硬化28例临床报告 2006

本文介绍自体骨髓干细胞肝内移植治疗失代偿期肝硬化28例临床资料， 材料及方法，自体骨髓干细胞分离制备方法等。

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_jrfsxzz200907014.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_jrfsxzz200907014.aspx)

授权使用: 中国科学技术大学(zgkx.jsdx), 授权号: 2d63c7a8-4634-4959-a392-9df6017ce408

下载时间: 2010年9月19日