

人脐带间充质干细胞冻存复苏后的生物学特征**◆

王有为¹, 韩之波², 严淑琳¹, 毛爱彬¹, 王斌¹, 王丁², 陈可², 韩忠朝^{1,2}

Biological characteristics of human umbilical cord mesenchymal stem cells following cryopreservation

Wang You-wei¹, Han Zhi-bo², Yan Shu-lin¹, Mao Ai-bin¹, Wang Bin¹, Wang Ding², Chen Ke², Han Zhong-chao^{1,2}

Abstract

BACKGROUND: An effective freezing-thawing technique is crucial for the clinical application of human umbilical cord mesenchymal stem cells (UC-MSCs).

OBJECTIVE: To investigate biological characteristics of UC-MSCs after cryopreservation.

METHODS: UC-MSCs were isolated from human umbilical cord and frozen in liquid nitrogen. The survival rate and the suppressive effect of γ -interferon (IFN- γ) of cryopreserved-thawed and fresh human UC-MSCs were compared. Furthermore, the multiple potentials and phenotype of UC-MSCs were estimated after cryopreservation.

RESULTS AND CONCLUSION: There was no significant difference between cryopreserved-thawed and fresh human UC-MSCs on the survival rate and the suppressive effect of IFN- γ of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs). After cryopreservation, human UC-MSCs had the potential differentiation and the phenotype of mesenchymal stem cells.

Wang YW, Han ZB, Yan SL, Mao AB, Wang B, Wang D, Chen K, Han ZC. Biological characteristics of human umbilical cord mesenchymal stem cells following cryopreservation. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(10):1729-1733. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 冻存脐带间充质干细胞, 并有效地保持其生物学特性, 是储存脐带间充质干细胞以供临床使用的重要工艺之一。

目的: 观察冻存后脐带间充质干细胞的生物学特性, 验证其是否仍具有间充质干细胞的基本特征。

方法: 从脐带分离得到间充质干细胞后, 将其冻存于液氮之中。比较经冻存复苏后的脐带间充质干细胞和新鲜制备的脐带间充质干细胞活率、抑制人外周血单个核细胞分泌 γ -干扰素等方面的异同。检验经冻存复苏后的脐带间充质干细胞是否具有多向分化潜能, 其表型是否满足间充质干细胞的基本特征。

结果与结论: 在细胞活率和抑制人外周血单个核细胞分泌 γ -干扰素方面, 冻存和新鲜的脐带间充质干细胞差异无显著性意义。经冻存复苏后的脐带间充质干细胞保持了间充质干细胞的基本形态, 其表型满足间充质干细胞的基本要求, 具有多向分化的潜能。

关键词: 冻存; 脐带间充质干细胞; 成骨分化; 成脂分化; 调节免疫

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.10.004

王有为, 韩之波, 严淑琳, 毛爱彬, 王斌, 王丁, 陈可, 韩忠朝. 人脐带间充质干细胞冻存复苏后的生物学特征[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(10):1729-1733. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

间充质干细胞是一类能够自我更新和具有多向分化潜能的细胞。间充质干细胞最早在骨髓中发现^[1], 其后陆续报道在脂肪组织^[2-3]、骨膜、滑膜、肌肉组织、乳牙^[4]、以及脐带血等众多组织中均存在间充质干细胞^[5-6]。近年来实验发现间充质干细胞在治疗神经损伤^[7-8]、造血干细胞移植时促进造血系统重建及造血干细胞植入^[9], 预防和治疗移植抗宿主病等方面具有良好的临床应用前景^[10]。

脐带间充质干细胞 (umbilical cord mesenchymal stem cells, UC-MSCs) 是来源于胎儿脐带华通氏胶的间充质干细胞^[11-12], 和骨髓来源的间充质干细胞一样, UC-MSCs具有

多向分化潜能。相比于成体来源的间充质干细胞, UC-MSCs具有更强的增殖能力, 更适用于规模化生产, 有更大的临床应用潜力^[13]。

UC-MSCs是胎儿的珍贵资源, 低温冻存是保存UC-MSCs的有效方法。本实验就低温冻存UC-MSCs是否能保持间充质干细胞的活力及生物学特性进行探讨。

1 材料和方法

设计: 细胞学体外观察。

时间及地点: 实验于2008-03/2009-05在天津昂赛细胞基因工程有限公司及中国医学科学院北京协和医学院血液学研究所实验血液学国家重点实验室完成。

材料: 脐带取自顺产及剖宫产的胎盘侧脐

¹National Engineering Research Center of Cell Products, AmCell Gene Co., Ltd., TEDA, Tianjin 300457, China; ²State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology and Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China

Wang You-wei★, Master, National Engineering Research Center of Cell Products, AmCell Gene Co., Ltd., TEDA, Tianjin 300457, China wangyouwei1981@hotmail.com

Correspondence to: Han Zhong-chao, National Engineering Research Center of Cell Products, AmCell Gene Co., Ltd., TEDA, Tianjin 300457, China; State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology and Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China

Supported by: Special Foundation Project for Technology Innovation of Tianjin, No. 08FDZDSH02900*

Received: 2009-10-06 Accepted: 2010-02-08

¹ 细胞产品国家工程研究中心, 天津昂赛细胞基因工程有限公司, 天津市 300457; ² 中国医学科学院北京协和医学院血液学研究所国家重点实验室, 天津市 300020

王有为★, 男, 1981年生, 重庆市人, 汉族, 2006年四川大学毕业, 硕士, 主要从事干细胞生物学的研究。
Wangyouwei
1981@hotmail.com

通讯作者: 韩忠朝, 细胞产品国家工程研究中心, 天津昂赛细胞基因工程有限公司, 天津市 300457; 中国医学科学院北京协和医学院血液学研究所国家重点实验室, 天津市 300020

中图分类号: R394.2
文献标识码: A
文章编号: 1673-8225
(2010)10-01729-05

收稿日期: 2009-10-06
修回日期: 2010-02-08
(20090706001/
WL-H)

带, 父母均健康(由于脐带是产妇的个人资源, 实验采取的是产妇捐献方式且对实验知情且同意)。

UC-MSCs由天津昂赛细胞基因工程有限公司按其生产工艺制备, 并经其质量检验部门检验合格。

主要试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
DMEM/F12培养基、胰酶 胎牛血清、锥虫蓝	Gibco 中国医学科学院血液研究所科技公司
二甲基亚砷	天津市标准科技有限公司
地塞米松、IBMX、吲哚美辛、 抗坏血酸磷酸盐、β-甘油 磷酸、植物血凝素	Sigma
胰岛素 多聚甲醛	Peptotech 中国医药集团上海化学试剂公司
乙醇 油红O	天津市化学试剂三厂 生工生物工程(上海)有限公司
硝酸银	天津市北方化玻采购销售中心
硫代硫酸钠 流式抗体CD19-FITC、 CD34-FITC、CD-11b-PE、 CD73-PE、CD90-PE、 CD45-PE、CD105-PE、 HLA-DR-PE	天津市化学试剂批发部 BD Biosciences Pharmingen
Human IFN-γ ELISA Kit 流式细胞仪	晶美生物 BD
酶标仪	BIO-RAD
倒置显微镜、普通显微镜	奥林巴斯

实验过程:

UC-MSCs分离及冻存: UC-MSCs的分离主要参考Lu等^[12]的方法。将脐带组织剪碎至1.0~2.0 cm³后, 先用0.075%的胶原酶消化30 min, 然后再用0.125%的胰酶消化30 min。消化所得混合液体经100 μm滤膜过滤后以1×10⁶/cm²的浓度接种于细胞培养瓶中。待UC-MSCs生长至80%融合时, 胰酶消化细胞, 离心后以冻存保护液(70%DF12+体积分数为20%胎牛血清+10%二甲基亚砷)重悬细胞。细胞于-80℃过夜后, 转入液氮中保存。

UC-MSCs复苏: UC-MSCs于液氮中冻存1个月, 从液氮中取出细胞, 立即投入42℃水浴中融化。PBS洗涤后, 以完全培养基于37℃、体积分数为5%CO₂培养箱中培养或进行其他生

物学特征检测^[14]。

复苏后UC-MSCs活率检测: 以PBS稀释复苏的细胞后, 锥虫蓝染色, 于计数板上计数着色的细胞和未着色的细胞。按如下公式计算复苏后的UC-MSCs活率:

$$\text{细胞活率(\%)} = \frac{\text{未着色细胞}}{\text{未着色细胞} + \text{着色细胞}} \times 100\%$$

流式检测复苏后UC-MSCs表型: 复苏后的UC-MSCs经CD19-FITC, CD34-FITC, CD11b-PE, CD73-PE, CD90-PE, CD45-PE, CD105-PE, HLA-DR-PE(FITC, fluorescein isothiocyanate; PE, phycoerythrin)标记后, 流式细胞分析仪BD FACSCalibur分析。

冻存后UC-MSCs诱导分化: 复苏细胞后, 以2×10⁵/孔的密度接种于24孔板中, 待细胞达到90%融合后更换分化诱导培养基。

成骨分化诱导培养基: 体积分数为10%胎牛血清、0.1 μmol/L地塞米松、0.2 mmol/L抗坏血酸磷酸盐、10 mmol/L β-甘油磷酸。

成脂分化诱导培养基: 体积分数为10%胎牛血清、1 μmol/L地塞米松、0.5 mmol/L IBMX、10 mg/L胰岛素、100 μmol/L吲哚美辛。每两三天更换培养基, 21 d后对成脂诱导的UC-MSCs作油红O染色, 对成骨诱导的UC-MSCs作Von Kossa染色^[15-19]。

冻存UC-MSCs抑制人外周血单个核细胞γ-干扰素分泌: 将新鲜和冻存的UC-MSCs分别按1×10⁴cell/孔接种于96孔板中。接种后, 37℃、体积分数为5%CO₂、饱和湿度培养1 h, 铯源照射20 Gy。每孔加入1×10⁵人外周血单个核细胞、2 μL植物血凝素(10 mg/L)与UC-MSCs共培养。72 h后, 1 600 r/min离心10 min, 收集上清。ELISA测量培养上清中γ-干扰素水平。

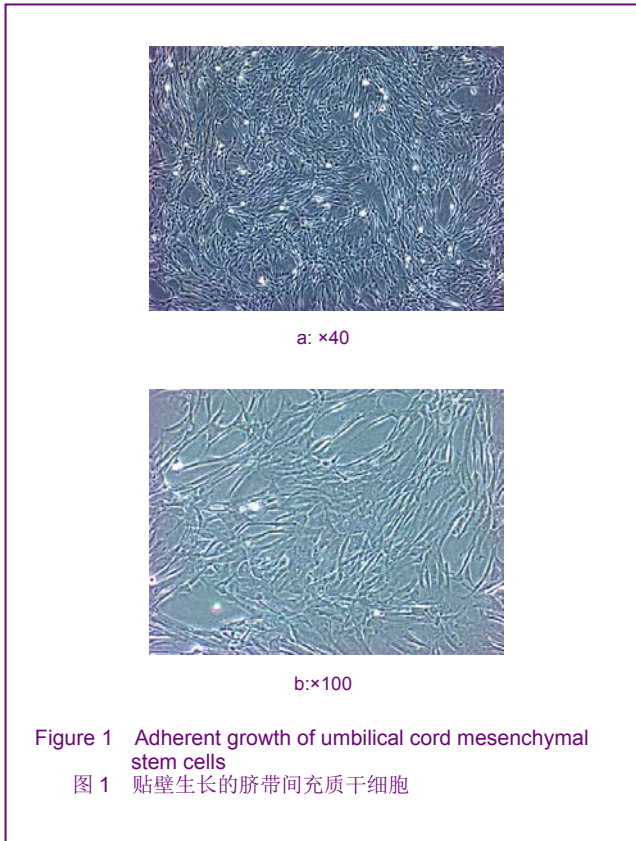
主要观察指标: 倒置显微镜观察细胞形态、细胞活率、油红O和Von Kossa检测细胞成脂分化能力和成骨分化能力、流式细胞仪检测细胞表型、ELISA检测细胞γ-干扰素分泌情况。

设计、实施、评估者: 实验设计为第一、二、八作者, 干预实施为第一、三、四、五作者, 评估为第二、六、七作者, 经过正规培训, 采用盲法评估。

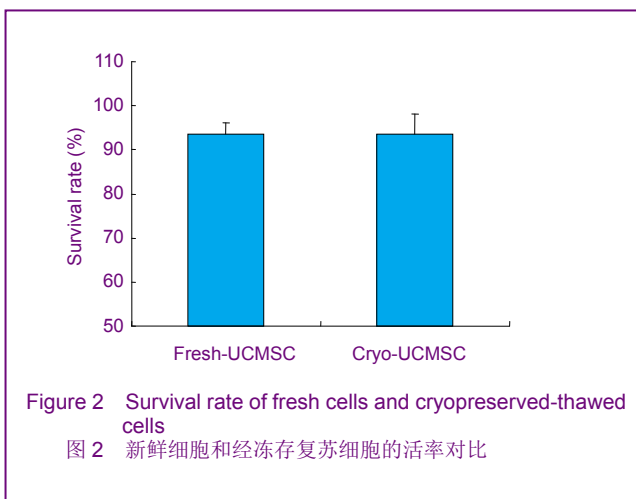
统计学分析: 由第一作者采用GraphPad Prism软件完成统计处理。

2 结果

2.1 UC-MSCs的分离培养 从脐带中分离得到的间充质干细胞在体外贴壁生长, 细胞形态为梭形, 与骨髓中来源的间充质干细胞类似^[12]。

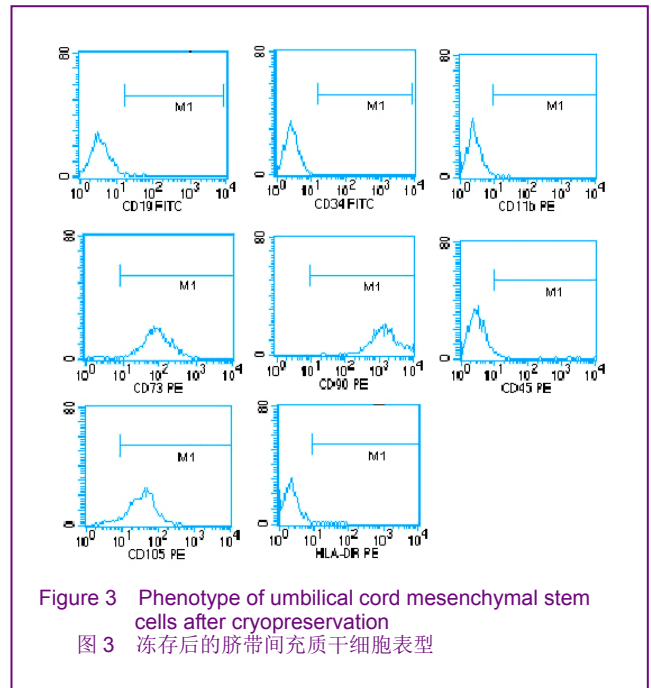


2.2 UC-MSCs经冻存复苏后细胞活率 冻存UC-MSCs和新鲜UC-MSCs活率均在90%以上: 新鲜制备的UC-MSCs平均活率为93.62%, 经冻存复苏的UC-MSCs平均活率为91.17%。

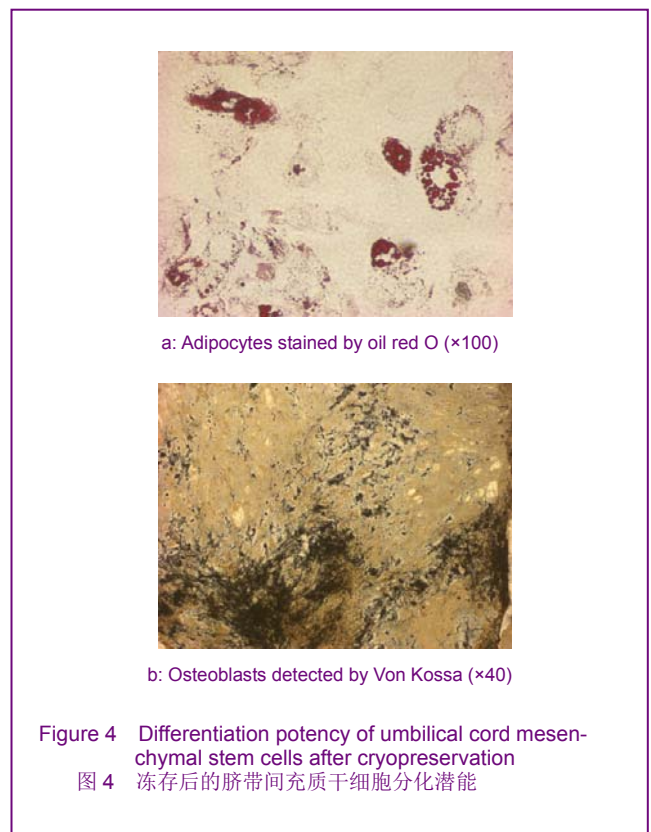


2.3 经冻存复苏后的UC-MSCs表面标记 流式细胞仪分析冻存后UC-MSCs表面CD19、CD34、CD11b、

CD45、HLA-DR表达阴性, CD73、CD90、CD105表达阳性。冻存后的UC-MSCs表型仍满足国际细胞移植学会对间充质干细胞的要求^[20]。



2.4 经冻存复苏后的UC-MSCs分化潜能 成脂诱导后的UC-MSCs经油红O染色可见红色油滴; 成骨诱导后的成骨细胞经Von Kossa染色后可见黑色颗粒, 提示有钙沉积。在特定的诱导培养基下, 冻存后的UC-MSCs能向脂肪和骨分化, 仍然具有多向分化潜能。



2.5 冻存和新鲜UC-MSCs抑制人外周血单个核细胞 γ -干扰素分泌比较 间充质干细胞有调节免疫反应的特性。在体内研究中, 间充质干细胞能降低移植物抗宿主病反应; 体外实验结果显示, 间充质干细胞能抑制T细胞增殖, 抑制外周血单个核细胞 γ -干扰素分泌^[21-22]。

实验比较了冻存和新鲜UC-MSCs抑制人外周血单个核细胞 γ -干扰素分泌的效果。与未加入UC-MSCs的人外周血单个核细胞相比, 加入UC-MSCs能显著降低人外周血单个核细胞 γ -干扰素分泌量, 其差异具有显著性意义($P < 0.05$)。在植物血凝素的刺激下, 新鲜和冻存的UC-MSCs都能抑制人外周血单个核细胞 γ -干扰素分泌, 但差异无显著性意义($P > 0.05$)。

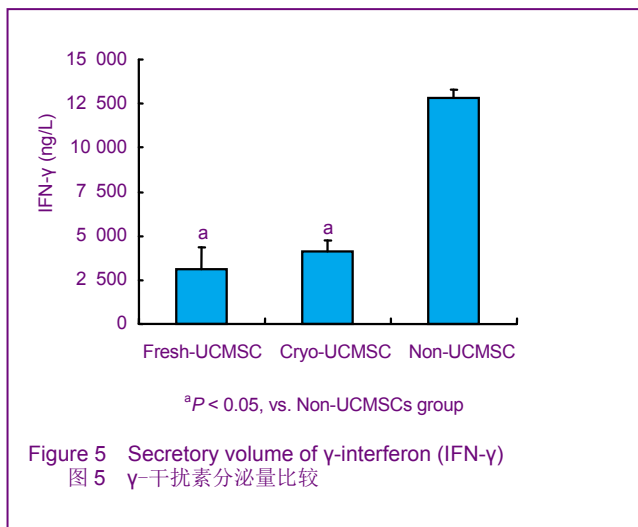


Figure 5 Secretory volume of γ -interferon (IFN- γ)
图5 γ -干扰素分泌量比较

3 讨论

间充质干细胞最早从骨髓中分离得到, 因其易于在体外进行扩增, 无致瘤性, 在免疫调节及组织再生方面显示出了强大的临床应用前景。与骨髓间充质干细胞相比, UC-MSCs取材更方便、扩增能力更强、受病毒污染的概率低, 已成为近年来研究的一个热点。

虽然UC-MSCs在治疗一些自身免疫疾病及退行性病变等方面具有极高的临床价值^[23-30], 但就个体自身而言, 刚出生的胎儿往往不需要进行间充质干细胞移植, 对间充质干细胞的需求往往发生在10年(如进行造血干细胞移植时的共移植间充质干细胞或移植后急性移植物抗宿主病的预防及治疗)或几十年(如肝硬化等退行性疾病)之后。因此有必要将UC-MSCs冻存起来, 以备若干年后需要移植时使用。

分离和冻存满足临床使用要求的UC-MSCs是一项复杂的工作, 需要严格的质量管理和控制体系, 有必要建立专门的UC-MSCs库, 从脐带的采集到UC-MSCs的分离、扩增、冻存、复苏以及最后制备成临床应用的注射用UC-MSCs都实施严格的GMP管理, 以便很好地保

证经分离、扩增、冻存后的UC-MSCs临床使用时的安全性和有效性。

经实验发现, 在冻存复苏过程中, 间充质干细胞的活率未受明显的影响, 复苏后的间充质干细胞贴壁良好, 同样可以进行扩增、传代培养。同时, 冻存后的UC-MSCs保持了间充质干细胞的基本特性, 其表型满足国际细胞治疗协会对间充质干细胞的基本要求, 具有成骨、成脂的多向分化潜能。在调节免疫反应的体外实验中, 冻存的UC-MSCs显著抑制人外周血单个核细胞 γ -干扰素分泌, 其抑制率和新鲜UC-MSCs差别不显著。实验结果为建立UC-MSCs库的可行性提供了初步实验依据。

4 参考文献

- [1] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 1999; 284(5411): 143-147.
- [2] Chi Y, Wang YW, Han ZB, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009;13(45):8825-8828. 池颖, 王有为, 韩之波, 等. 不同供者来源及不同传代数脂肪间充质干细胞端粒酶的活性检测[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(45): 8825-8828.
- [3] Yan XB, Guo ZK, Jiepu Kexue Jinzhan. 2009;15(4):416-419. 闫小滨, 郭志坤. 脂肪来源间充质干细胞的生物学特性及临床应用前景[J]. 解剖科学进展, 2009, 15(4): 416-419.
- [4] Barry FP, Murphy JM: Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization. *Int J Biochem Cell Biol*. 2004;36(4):568-584.
- [5] Hayashi N, Takahashi K, Abe Y, et al. Placental/umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cell-like stromal cells support hematopoietic recovery of X-irradiated human CD34+ cells. *Life Sci*. 2009;84(17-18):598-605.
- [6] Feng JX, La XL, Ma Y. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009;13(45):8854-8860. 冯建勋, 腊晓林, 马艳. 两步法分离和培养人羊水来源胚胎间充质干细胞的生物学特征[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(45): 8854-8860.
- [7] Liao W, Xie J, Zhong J, et al. Therapeutic effect of human umbilical cord multipotent mesenchymal stromal cells in a rat model of stroke. *Transplantation*. 2009;87(3):350-359.
- [8] Li JM, Zhu H, Liu Y, et al. Zhongguo Bijiao Yixue Zazhi. 2009; 19(12):1-4. 李加美, 朱华, 刘颖, 等. IL-10在人骨髓间充质干细胞移植治疗食蟹猴脑缺血中的作用[J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19(12): 1-4.
- [9] Ball LM, Bernardo ME, Roelofs H, et al. Cotransplantation of ex vivo expanded mesenchymal stem cells accelerates lymphocyte recovery and may reduce the risk of graft failure in haploidentical hematopoietic stem-cell transplantation. *Blood*. 2007;110(7):2764-2767.
- [10] Le Blanc K, Frassoni F, Ball L, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet*. 2008;371(9624):1579-1586.
- [11] La Rocca G, Anzalone R, Corrao S, et al. Isolation and characterization of Oct-4+/HLA-G+ mesenchymal stem cells from human umbilical cord matrix: differentiation potential and detection of new markers. *Histochem Cell Biol*. 2009;131(2): 267-282.
- [12] Lu LL, Liu YJ, Yang SG, et al. Isolation and characterization of human umbilical cord mesenchymal stem cells with hematopoiesis-supportive function and other potentials. *Haematologica*. 2006;91(8):1017-1026.
- [13] Troyer DL, Weiss ML. Wharton's jelly-derived cells are a primitive stromal cell population. *Stem Cells*. 2008;26(3): 591-599.
- [14] Zhong Q, Zeng HL. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009;13(40):7942-7946. 钟启, 曾慧兰. 低氧对间充质干细胞生物学特性的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(40): 7942-7946.
- [15] Bonab MM, Alimoghaddam K, Talebian F, et al. Aging of mesenchymal stem cell in vitro. *BMC Cell Biol*. 2006;7:14.
- [16] Moon JH, Lee JR, Jee BC, et al. Successful vitrification of human amnion-derived mesenchymal stem cells. *Hum Reprod*. 2008;23(8):1760-1770.
- [17] Kim J, Kang HM, Kim H, et al. Ex vivo characteristics of human amniotic membrane-derived stem cells. *Cloning Stem Cells*. 2007;9(4):581-594.

- [18] Park BW, Hah YS, Kim DR, et al. Osteogenic phenotypes and mineralization of cultured human periosteal-derived cells. Arch Oral Biol. 2007;52(10):983-989.
- [19] Ye XY, Li XJ, Xu Y, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009;13(36):7029-7033. 野向阳, 李相军, 徐岩, 等. 人脐带间充质干细胞体外成骨极免疫学特征[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(36): 7029-7033.
- [20] Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy. 2006;8(4):315-317.
- [21] Krampera M, Cosmi L, Angelini R, et al. Role for interferon-gamma in the immunomodulatory activity of human bone marrow mesenchymal stem cells. Stem Cells. 2006;24(2):386-398.
- [22] Ma M, Shan BE, Liu W, et al. Xibao yu Fenzi Mianyixue Zazhi. 2009;25(12):1119-1112. 马鸣, 单保恩, 刘伟, 等. 大鼠骨髓间充质干细胞对脾单个核细胞的免疫调节作用[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2009, 25(12): 1119-1112.
- [23] Li YF, Sun LJ, Zhao YQ, et al. Zhongguo Zhongyiyao Xiandai Yuancheng Jiaoyu. 2009;7(9):81-83. 李艳芬, 孙兰军, 赵英强, 等. 复方丹参滴丸干预骨髓间充质干细胞移植后心肌再生的实验研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2009, 7(9): 81-83.
- [24] Feng GJ, Liu H, Deng L, et al. Shengwu Yixue Gongchengxue Zazhi. 2009;26(6):1300-1305. 丰干钧, 刘浩, 邓力, 等. 构建椎间盘组织工程的人骨髓间充质干细胞的分离及三维培养[J]. 生物医学工程杂志, 2009, 26(6): 1300-1305.
- [25] Duan Z, Chen XY, Xu YH, et al. Disi Junyi Daxue Xuebao. 2009;30(23):2761-2764. 段征, 陈晓云, 徐艳华, 等. 骨髓间充质干细胞移植对大鼠溃疡性结肠炎的修复[J]. 第四军医大学学报, 2009, 30(23): 2761-2764.
- [26] Wu LK, Wang XJ, Chu SC, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009;13(40):7951-7954. 吴立克, 王晓娟, 褚赛纯, 等. 脐血间充质干细胞移植治疗帕金森病30例[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(40): 7951-7954.
- [27] Liu M, Yang SG, Liu PX, et al. Zhongguo Shiyao Xueyixue Zazhi. 2009;17(5):1294-1300. 刘蒙, 杨少光, 刘鹏霞, 等. 人骨髓和脐带来源间充质干细胞体外支持造血能力的比较研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2009, 17(5): 1294-1300.
- [28] Lu H, Miao ZN, Wu WJ, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009;13(45):8955-8960. 陆华, 苗宗宁, 吴卫江, 等. 人骨髓间充质干细胞的免疫调节作用及向神经样细胞诱导分化[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(45): 8955-8960.
- [29] Chen X, Hua JY, Shi QZ. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009;13(40):7908-7912. 陈新, 华建媛, 石庆之. 人脐带间充质干细胞对再生障碍性贫血T细胞的调节作用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(40): 7908-7912.
- [30] Zhao YM, Zhong GQ, Li JY, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009;13(45):8895-8900. 赵艳梅, 钟国强, 李金轶, 等. 同种异体骨髓间充质干细胞移植急性心肌梗死大鼠缝隙连接蛋白43及缝隙连接蛋白45 mRNA的表达[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(45): 8895-8900.

来自本文课题的更多信息--

基金资助: 天津市科技创新专项资金项目(08FDZDZH02900), 课题名称: 脐带间充质干细胞治疗产品的研制及细胞产品国家工程研究中心建设。

利益冲突: 无其他利益冲突。

课题的创新点: 冻存是保存脐带间充质干细胞的方法, 但冻存对脐带间充质干细胞生物学特性的影响少有研究, 本文的创新之处在于对冻存前后脐带间充质干细胞的生物学特性进行了对比研究。

课题评估的“金标准”: 目前尚未发现对间充质干细胞冻存后生物学功能评价公认的金标准。

设计或课题的偏倚与不足: 文章通过体外实验发现脐带间充质干细胞在经过冻存一定时间后, 仍能保持间充质干细胞的基本生物学特性, 但其长期冻存效果尚有待进一步考察。分化检测项目可以适当增加分化特异性基因表达的研究。冻存脐带间充质干细胞的过程中使用了牛血清, 可尽量使用无血清的冻存保护液以增加其安全性。如能增加一些体内实验, 会使其结果更具有说服力。

提供临床借鉴的价值: 间充质干细胞在修复受损组织、调节免疫等方面具有较大的临床应用价值。与骨髓、脂肪等组织来源的间充质干细胞相比, 从脐带中分离获取的间充质干细胞具有更强的增殖能力, 取材更加方便, 解决了临床应用间充质干细胞的来源问题。冻存后的脐带间充质干细胞仍然具有干细胞的生物学特征, 调节免疫的功能未受到影响。本实验结果为建立脐带间充质干细胞库的可行性提供了实验依据。

如何向 SCI 收录的优秀杂志投稿:《Nature》与《Science》之比较(本刊发展部)

在众多的国际刊物中, 英国的《Nature》和美国的《Science》是最为著名的2种综合学术刊物, 它们的发行量和影响力高于其他任何专业性刊物。一篇文章在两刊中任何一本发表均具有同等的重要性。但两刊各有自己的特点, 这些细小的特点有时会影响到投稿者的倾向性。

两刊在形式上的相同性: 比如科技论文基本以3种形式出现: ①学术论文:《Nature》Article;《Science》Research article。②研究报道:《Nature》Letter;《Science》Report。③通讯:《Nature》Correspondence;《Science》Letter。研究文章较长, 一般可在5-7页左右。研究报道一般为2-4页, 通讯一般不超过1页。

两刊的重要差别之一:《Science》允许参考文献中在一个参考文献号下列出一个以上的文献, 同时也允许在参考文献下加入简要注解

说明等。这2点在《Nature》中是不允许的。因此, 在同一类文章形式中,《Science》提供了较大的空间。在对空间要求极为苛刻的情况下, 这是十分值得考虑的一点。

另外一个重要区别是两刊的审稿程序: 这个程序与两刊的隶属有很大关系。《Science》是“美国科学促进会(AAAS)”的会刊, 而《Nature》则属于一家出版公司。《Science》有一个很大的评审委员会负责审稿, 评审委员会成员由世界知名科学家组成。这些科学家的背景与组成成分对稿件的筛选有很大的影响。而《Nature》对稿件的筛选受编辑的影响较大。稿件由编辑初选后寄送有关专家审阅。

第三点差别是《Science》在北美的影响力较强: 这和它是AAAS会刊有关。因为美国许多科技人员都是该会会员, 而会员交纳会费后就

自动收到每一期《Science》, 因此它的发行量较《Nature》大一些。而《Nature》则基本是商业性经营。但它在全球的影响似乎较大一些, 所发表的文章引用率也高一些。但这些差别每年都会变化。

另外,《Nature》有它的姐妹刊《自然医学》和《自然遗传学》等。由于医学和遗传学是当今科学研究中最为活跃、研究成果产出最高的2个学科, 因此,《Nature》姐妹刊的存在可以减少这2方面文章对其他科技论文的压力。其结果是非医学、非遗传方面的研究可能有较多的机会在《Nature》上得以发表。

来源: BBS 水木清华站 smth.org [FROM: 166.111.36.*] 作者孟津为中国科学院古脊椎动物与古人类研究所, 北京100044; 美国马萨诸塞州州立大学生物系