

大鼠肌肉注射移植人脐带间充质干细胞的安全性*

张美荣, 张学峰, 胡建霞, 王丽, 张桂芝, 高宏, 苗志敏, 王颜刚

Safety of human umbilical cord mesenchymal stem cells transplanted into rats by intramuscular injection

Zhang Mei-rong, Zhang Xue-feng, Hu Jian-xia, Wang Li, Zhang Gui-zhi, Gao Hong, Miao Zhi-min, Wang Yan-gang

Abstract

BACKGROUND: A few reports have addressed the safety of mesenchymal stem cells (MSCs) by intramuscular injection in China.

OBJECTIVE: To observe each physiological index and pathological changes of local muscle tissue following human umbilical cord MSCs (HUMSCs) transplanted into rat muscle by intramuscular injection.

METHODS: In a total of 51 male SPF Wistar rats, three served as blank controls, and the remaining was randomly divided into four groups. $2.5 \times 10^9/L$, $5 \times 10^9/L$, $1.5 \times 10^{10}/L$ HUMSCs were respectively injected into the gastrocnemius of the left lower limb of rats of low, moderate and high cell concentration groups, totally two entry sites, 0.1 mL/site. The distance between two sites was 0.5 cm. 50 g/L glucose solution was infused into rats of the solvent control group. Urine routine test, blood routine test, hematological and biochemical test and histopathologic examination were conducted at 1 day, 1, 2, 4 weeks following injection.

RESULTS AND CONCLUSION: No significant effect was observed on urine routine test and histopathologic examination of liver and kidney after injection of HUMSCs. Total bilirubin levels were transient, or platelet, lactate dehydrogenase, and creatine kinase-MB levels slightly higher exceeding upper normal range caused by inflammatory reaction. High cell concentration could cause significant inflammatory reaction in the injection site of muscle tissues. Results have suggested that HUMSCs do not induce severe immunoreactivity even to xenografts by intramuscular injection owing to their low immunogenicity under suitable concentration and dose of cell transplantation.

Stem Cell Research Center, Affiliated Hospital of Medical College, Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Zhang Mei-rong*, Master, Stem Cell Research Center, Affiliated Hospital of Medical College, Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China
zhangmeirong0431@yahoo.com.cn

Correspondence to: Wang Yan-gang, Doctor, Chief physician, Stem Cell Research Center, Affiliated Hospital of Medical College, Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China
wangyg1966@yahoo.com.cn

Received: 2010-01-17
Accepted: 2010-06-12

青岛大学医学院附属医院干细胞研究中心, 山东省青岛市 266003

张美荣*, 女, 1978年生, 吉林省吉林市人, 汉族, 2006年中国协和医科大学毕业, 硕士, 主要从事干细胞技术方面的研究。
zhangmeirong0431@yahoo.com.cn

通讯作者: 王颜刚, 博士, 主任医师, 青岛大学医学院附属医院干细胞研究中心, 山东省青岛市 266003
wangyg1966@yahoo.com.cn

中图分类号: R394.2
文献标识码: A
文章编号: 1673-8225 (2010)27-04997-04

收稿日期: 2010-01-17
修回日期: 2010-06-12
(20091209012/ZS-Q)

Zhang MR, Zhang XF, Hu JX, Wang L, Zhang GZ, Gao H, Miao ZM, Wang YG. Safety of human umbilical cord mesenchymal stem cells transplanted into rats by intramuscular injection. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(27): 4997-5000.

[http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 目前国内关于间充质干细胞肌肉注射安全性方面的研究报道较少。

目的: 观察人脐带间充质干细胞肌肉注射后, 移植大鼠各项生理指标及注射局部肌肉组织的病理学变化。

方法: SPF级雄性Wistar大鼠51只, 取3只作为空白对照, 剩余48只随机均分为4组: 低、中、高浓度细胞移植组分别于大鼠左下肢腓肠肌外侧肌肉注射 $2.5 \times 10^9 L^{-1}$, $5 \times 10^9 L^{-1}$, $1.5 \times 10^{10} L^{-1}$ 人脐带间充质干细胞悬液, 共注射2个位点, 每个位点注射0.1 mL, 2个位点间隔约0.5 cm; 溶媒对照组同法注射50 g/L葡萄糖溶液。分别于注射后1 d及1, 2, 4周进行大鼠尿常规、血液学、血液生化学和病理组织学检查。

结果与结论: 人脐带间充质干细胞肌肉注射后对大鼠尿常规及肝脏、肾脏均无明显影响; 仅引起总胆红素一过性升高, 以及血小板、乳酸脱氢酶和肌酸激酶同工酶轻度炎症反应性升高; 高浓度细胞移植可引起肌肉注射局部明显炎症反应。提示人脐带间充质干细胞免疫原性极低, 在掌握了细胞移植的适宜浓度及剂量的前提下, 以肌肉注射的方式进行异种移植不会引起受者严重的免疫排斥反应。

关键词: 肌肉; 安全性; 注射; 人脐带间充质干细胞; 干细胞移植

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.27.013

张美荣, 张学峰, 胡建霞, 王丽, 张桂芝, 高宏, 苗志敏, 王颜刚. 大鼠肌肉注射移植人脐带间充质干细胞的安全性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(27):4994-5000.

[http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

间充质干细胞又称多能基质细胞, 是干细胞家族的重要成员, 来源于发育早期的中胚层和外胚层^[1]。间充质干细胞最初在骨髓中发现, 因其具有多向分化潜能、造血支持和促进干细胞植入、免疫调控和自我复制等特点而日益受

到人们的关注。如间充质干细胞在体内或体外特定的诱导条件下, 可分化为脂肪、骨、软骨、肌肉、肌腱、韧带、神经、肝、心肌、内皮等多种组织细胞, 连续传代培养和低温冻存后仍具有多向分化潜能, 可作为理想的种子细胞用于衰老和病变引起的组织器官损伤修复^[2-10]。迄今研究表明, 脐带来源的间充质干细胞不但能够成为骨髓间充质干细胞的理想替代物, 因其

表达多种胚胎干细胞的特有分子标志, 具有分化潜力大、增殖能力强、免疫原性低、取材方便、无道德伦理问题的限制、易于工业化制备等特征, 因此有可能成为最具临床应用前景的多能干细胞^[11-23]。

间充质干细胞移植方式主要包括静脉注射、肌肉注射、鞘内注射、动脉介入注射途径, 操作虽然简便易行, 但关于其移植安全性的报道仍较少^[24-26], 且国内尚无关于间充质干细胞肌肉注射安全性方面的报道。

实验将不同浓度的人脐带间充质干细胞以肌肉注射方式移植给大鼠, 通过观察细胞移植后不同时间点大鼠各项生理指标的改变, 探讨人脐带间充质干细胞大鼠肌肉注射的安全剂量, 从而为以肌肉注射方式进行间充质干细胞移植的临床治疗研究提供有参考价值的细胞剂量范围。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 于2009-08/11在青岛大学医学院附属医院干细胞研究中心完成。

材料: SPF级雄性Wistar大鼠51只, 7周龄, 体重164~220 g, 购自中国科学院上海实验动物中心, 动物质量合格证号0062386, 实验过程中对动物的处置符合动物伦理学标准。51只大鼠随机分为空白对照组3只、溶媒对照组12只、低浓度细胞移植组12只、中浓度细胞移植组12只、高浓度细胞移植组12只。除空白对照组外, 其余4组按照观察时间(1 d、1周、2周、4周)再随机分为4个亚组, 每亚组3只。

人脐带间充质干细胞均由青岛大学医学院附属医院干细胞研究中心实验室分离、培养扩增并保存。实验中使用的人脐带间充质干细胞均经过微生物检测及流式细胞仪检测, 微生物检测结果均为阴性, 细胞表型符合间充质干细胞的表型特征, 即CD34(-), CD45(-), HLA-DR(-), CD90(+), CD105(+).

主要试剂与仪器:

试剂及仪器	来源
DMEM 培养基	Hyclone
胎牛血清	Gibco
青链霉素、胰酶	Solarbio
支原体检测试剂盒	碧云天
小鼠抗人 CD34-PE、小鼠抗人 CD45-FITC、小鼠抗人 HLA-DR-FITC、小鼠抗人 CD90- FITC、小鼠抗人 CD105-PE、小鼠抗人 CD146-PE	美国 BD
尿液分析仪	优利特
7600-20 型全自动生化分析仪	日立
BC-5300 全自动血液细胞分析仪	迈瑞

实验方法:

人脐带间充质干细胞的肌肉注射: 收集体外培养至第5代的人脐带间充质干细胞, 制备细胞悬液, 采用50 g/L葡萄糖注射液调整细胞浓度, 4 °C保存备用, 细胞活力大于90%。低、中、高浓度细胞移植组分别用1 mL注射器于大鼠左下肢腓肠肌外侧肌肉注射 $2.5 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$, $5 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$, $1.5 \times 10^{10} \text{ L}^{-1}$ 人脐带间充质干细胞悬液, 共注射2个位点, 每个位点注射0.1 mL, 2个位点间隔约0.5 cm。溶媒对照组采用同样方法注射50 g/L葡萄糖溶液。空白对照组不进行任何注射。

尿液检查: 大鼠于尿液收集前放入代谢笼内禁食16 h, 各项指标采用优利特100尿液分析仪进行测定。

血液学、血液生化、电解质检查: 大鼠尿液收集完毕后麻醉, 腹主动脉采血5.0~8.0 mL。血液学、血液生化学及电解质指标采用7600-20型全自动生化分析仪及BC-5300全自动血液细胞分析仪进行测定。

组织病理学检查: 大鼠采血完毕后, 剪断腹腔大血管, 将动物放血处死, 尽快解剖。检查的脏器为肝脏、肾脏及注射部位肌肉组织。组织经40 g/L多聚甲醛固定, 取材修块, 逐级乙醇脱水, 石蜡包埋切片, 经苏木精-伊红染色, 光镜下观察。

设计、实施、评估者: 设计为第一、二、三、六作者, 实施为第一、四、五作者, 评估为第一、二、七、八作者, 均经过系统培训, 未使用盲法评估。

统计学分析: 由第一作者使用SPSS 12.0软件进行统计分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用One-Way ANOVA方差分析和多重比较检验(LSD、SNK检验), $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 人脐带间充质干细胞对大鼠尿液指标的影响 细胞移植后1 d及1, 2, 4周, 空白对照组、溶媒对照组与低、中、高浓度细胞移植组大鼠的尿液检测结果均正常, 说明人脐带间充质干细胞肌肉注射不会引起大鼠尿液生理学意义上的改变。

2.2 人脐带间充质干细胞对大鼠血液学指标的影响^[27-28] 细胞移植2周后, 与溶媒对照组比较, 低、中、高浓度细胞移植组大鼠血小板计数均明显升高 $[(1\ 001.67 \pm 18.00) \times 10^9 \text{ L}^{-1}, (1\ 530.67 \pm 235.79) \times 10^9 \text{ L}^{-1}, (1\ 507.33 \pm 77.66) \times 10^9 \text{ L}^{-1}, (1\ 330.00 \pm 223.12) \times 10^9 \text{ L}^{-1}, F=6.41, P=0.016]$ 。

2.3 人脐带间充质干细胞对大鼠血清生化指标的影响 与溶媒对照组比较, 低、中、高浓度细胞移植组大鼠于细胞移植后1 d总胆红素浓度均明显升高($F=4.974, P=0.031$), 于细胞移植后1周乳酸脱氢酶、肌酸激酶同工酶活性均明显升高($F=6.344, P=0.016; F=5.786, P=0.021$), 见表1。

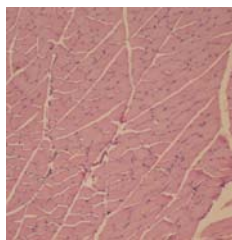
表 1 细胞移植后大鼠血清生化指标的变化
Table 1 Changes in serum biochemical indicators in rats after cell transplantation ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Group	Total bilirubin ($\mu\text{mol/L}$)	Lactate dehydrogenase ($\mu\text{kat/L}$)	Creatin kinase-MB ($\mu\text{kat/L}$)
Solvent control	0.25 \pm 0.50	12.63 \pm 1.44	14.59 \pm 1.74
Cell transplantation			
Low concentration	1.13 \pm 0.35	23.05 \pm 5.35	27.63 \pm 7.50
Model concentration	0.82 \pm 0.12	23.90 \pm 0.61	28.39 \pm 0.31
High concentration	1.05 \pm 0.49	19.97 \pm 4.31	22.50 \pm 4.94
<i>F</i>	4.974	6.344	5.786
<i>P</i>	0.031	0.016	0.021

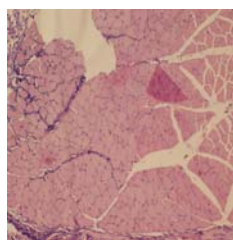
2.4 组织病理学结果 细胞移植后1 d及1, 2, 4周, 低、中浓度细胞移植组均未观察到肌肉注射局部大体解剖改变。高浓度细胞移植组于移植后1周1只大鼠大体解剖可见肌肉注射局部肿大, 移植后2周1只大鼠大体解剖可见肌肉注射局部有脓肿, 1只大鼠可见肌肉注射局部有脓肿破溃灶, 移植后4周大体解剖未见肌肉注射局部有明显炎症改变。

细胞移植后1 d及1, 2, 4周, 与溶媒对照组比较, 光镜下低、中、高浓度细胞移植组大鼠肾脏和肝脏组织学均无明显改变。

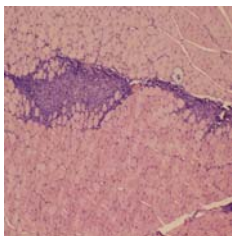
光镜下低、中、高浓度细胞移植组大鼠于细胞局部肌肉注射部位可见明显组织学改变, 表现为与细胞移植浓度呈正相关的人脐带间充质干细胞浸润, 随时间延长细胞浸润程度递减, 至移植后4周仅见极少量人脐带间充质干细胞散在分布, 见图1, 2。



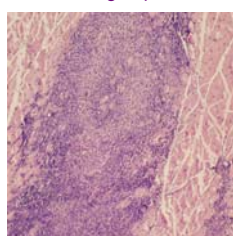
a: Normal in solvent control group



b: Small amounts of HUMSCs and inflammatory cells in low concentration group



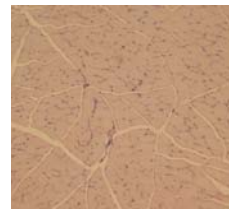
c: More HUMSCs and inflammatory cells in middle concentration group



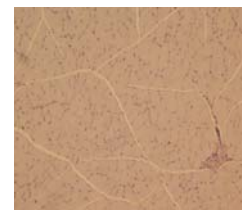
d: Many HUMSCs and inflammatory cells in high concentration group

Figure 1 Histopathology change in the skeletal muscle of rats 2 wk after injection of human umbilical cord mesenchymal stem cells (HUMSCs) (Hematoxylin-eosin staining, $\times 100$)

图 1 人脐带间充质干细胞移植后 2 周, 大鼠肌肉注射局部组织病理学改变(苏木精-伊红染色, $\times 100$)



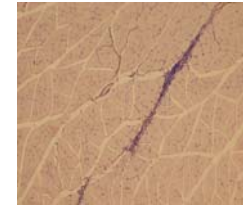
a: Normal in blank control group



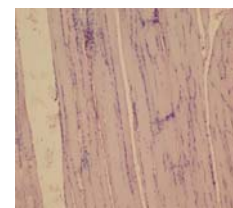
b: Normal in solvent control group



c: Few HUMSCs in low concentration group



d: Small amounts of HUMSCs in moderate concentration group



e: A small quantity of HUMSCs migration in high concentration group

Figure 2 Histopathology change in the skeletal muscle of rats at 4 wk after injection of human umbilical cord mesenchymal stem cells (HUMSCs) (Hematoxylin-eosin staining, $\times 100$)

图 2 人脐带间充质干细胞移植后 4 周, 大鼠肌肉注射局部组织病理学改变(苏木精-伊红染色, $\times 100$)

3 讨论

最近通过研究发现, 从脐带中可以提取大量增殖能力旺盛的间充质干细胞, 且纯度高, 免疫原性低。动物实验和临床试验已经初步证实该细胞具有可代替自体骨髓干细胞的潜力, 从而可以免除因采集骨髓给患者或供者带来的痛苦, 且可以灵活制定治疗方案, 进行多次移植。

实验结果显示各浓度组人脐带间充质干细胞肌肉注射后4周内对大鼠尿液及肝脏、肾脏均无明显影响; 仅可引起血小板轻度炎症反应性升高, 乳酸脱氢酶和肌酸激酶同工酶肌肉炎症反应性升高及总胆红素一过性升高。

肌肉病理结果显示, 肌肉局部注射细胞后1 d、1周和2周, 各浓度组在大鼠肌肉注射部位及附近均可见数量与细胞移植浓度呈正相关的人脐带间充质干细胞或由人脐带间充质干细胞分化形成的幼稚细胞; 而注射细胞后4周, 各浓度组仅可见在肌肉间质内呈小灶状散在分布的少量脐带间充质干细胞或其分化形成的幼稚细胞, 其中高浓度组可见少量细胞呈迁移生长趋势。说明

人脐带间充质干细胞移植到大鼠肌肉组织内可以存活较长时间,且可以自肌肉组织注射局部向周边迁移,促进肌纤维生长,该现象与文献报道结果较一致^[29]。值得注意的是,低和中浓度组仅引起注射部位轻度炎症反应,但高浓度组因大量人脐带间充质干细胞淤积于注射部位组织间隙内,可导致明显局部组织炎症反应。该炎症反应在细胞移植后2周病理改变最严重,至细胞移植后4周炎症基本完全吸收,表明该炎症反应可以自愈。

实验结果显示人脐带间充质干细胞肌肉注射大鼠后仅引起肌肉注射局部不同程度炎症反应,并未引起急性毒理反应及严重异种排斥反应。因此在异种间充质干细胞肌肉移植动物实验中,建议细胞移植浓度不宜过高,以 $2.5 \times 10^9 \text{ L}^{-1} \sim 5 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ 为宜。同时细胞移植的体积和位点数不可仅参照药物肌肉注射标准,须谨慎制定方案。

4 参考文献

- [1] 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.
- [2] Sasaki M, Abe R, Fujita Y, et al. Mesenchymal stem cells are recruited into wounded skin and contribute to wound repair by transdifferentiation into multiple skin cell type. *J Immunol*. 2008;180(4):2581-2587.
- [3] Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, et al. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation*. 2002;105(1):93-98.
- [4] Zhang M, Mal N, Kiedrowski M, et al. SDF-1 expression by mesenchymal stem cells results in trophic support of cardiac myocytes after myocardial infarction. *FASEB J*. 2007;21(12):3197-3207.
- [5] Martens TP, See F, Schuster MD, et al. Mesenchymal lineage precursor cells induce vascular network formation in ischemic myocardium. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2006;3(Suppl 1):S18-S22.
- [6] Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood*. 2007;110(10):3499-3506.
- [7] Phinney DG, Prockop DJ. Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair current views. *Stem Cells*. 2007;25(11):2896-2902.
- [8] Bantubungi K, Blum D, Cuvelier L, et al. Stem cell factor and mesenchymal and neural stem cell transplantation in a rat model of Huntington's disease. *Mol Cell Neurosci*. 2008; 37(3):454-470.
- [9] Petite H, Viateau V, Bensaid W, et al. Tissue-engineered bone regeneration. *Nat Biotechnol*. 2000;18(9):959-963.
- [10] Barry FP, Murphy JM. Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization. *Int J Bioch & Cell Biol*. 2004;36(4):568-584.
- [11] Sarugaser R, Lickorish D, Baksh D, et al. Human umbilical cord perivascular (HUCPV) cells: a source of mesenchymal progenitors. *Stem Cells*. 2005;23(2):220-229.
- [12] Weiss ML, Medicetty S, Bledsoe AR, et al. Human umbilical cord matrix stem cells: preliminary characterization and effect of transplantation in a rodent model of Parkinson's disease. *Stem Cells*. 2006;24(3):781-792.
- [13] Karahuseyinoglu S, Cinar O, Kilic E, et al. Biology of the Stem Cells in Human Umbilical Cord Stroma: In situ and in vitro Surveys. *Stem Cells*. 2007;25(2):319-331.
- [14] Baksh D, Yao R, Tuan RS. Comparison of proliferative and multilineage differentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord and bone marrow. *Stem Cells*. 2007;25(6):1384-1392.
- [15] Weiss ML, Troyer DL. Stem cells in the umbilical cord. *Stem Cell Rev*. 2006;2(2):155-162.
- [16] Troyer DL, Weiss ML. Wharton's jelly-derived cells are a primitive stromal cell population. *Stem Cells*. 2008;26(3):591-599.
- [17] Hoynowski SM, Fry MM, Gardner BM, et al. Characterization and differentiation of equine umbilical cord-derived matrix cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;362(2):347-353.
- [18] Liao W, Zhong J, Yu J, et al. Therapeutic benefit of human umbilical cord derived mesenchymal stromal cells in intracerebral hemorrhage rat: implications of anti-inflammation and angiogenesis. *Cell Physiol Biochem*. 2009;24(3-4):307-316.
- [19] Petsa A, Gargani S, Felesakis A, et al. Effectiveness of protocol for the isolation of Wharton's Jelly stem cells in large-scale applications. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2009;Epub ahead of print
- [20] Pereira WC, Khushnooma I, Madkaikar M, et al. Reproducible methodology for the isolation of mesenchymal stem cells from human umbilical cord and its potential for cardiomyocyte generation. *Tissue Eng Regen Med*. 2008;2(7):394-399.
- [21] Romanov YA, Svintsitskaya VA, Smirnov VN. Searching for alternative sources of postnatal human mesenchymal stem cells: candidate MSC-like cells from umbilical cord. *Stem Cells*.2003; 21(1):105-110.
- [22] Seshareddy K, Troyer D, Weiss ML. Method to isolate mesenchymal-like cells from Wharton's Jelly of umbilical cord. *Methods Cell Biol*. 2008;86:101-119.
- [23] Wang HS, Hung SC, Peng ST. Mesenchymal stem cells in the Wharton's jelly of the human umbilical cord. *Stem Cells*. 2004; 22(7):1330-1337.
- [24] Grinnemo KH, Mansson A, Dellgren G, et al. Xenoreactivity and engraftment of human mesenchymal stem cells transplanted into infarcted rat myocardium. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2004; 127(5):1293-1300.
- [25] Liu XX, Fan DS, Zhang J, et al. *Beijing Daxue Xuebao*. 2008; 40(2):185-191.
- [26] 刘小璇,樊东升,张俊,等.比较不同方式移植的人间充质干细胞在大鼠失神经支配的骨骼肌的分布及对坐骨神经损伤的影响[J].*北京大学学报(医学版)*,2008,40(2):185-191.
- [27] Beggs KJ, Lyubimov A, Borneman JN, et al. Immunologic consequences of multiple, high-dose administration of allogeneic mesenchymal stem cells to baboons. *Cell Transplant*. 2006;15(8-9):711-721.
- [28] Zhang M, Ji XG, Wang JY. *Zhongguo Xiaoduxue Zazhi*. 2006; 23(2): 119-120.
- [29] 张敏,纪晓光,王京燕,清洁级Wistar大鼠血常规及生化指标正常值观察[J].*中国消毒学杂志*,2006,23(2):119-120.
- [28] Wu XY, Wang DP, He Y, et al. *Zhongguo Bijiao Yixue Zazhi*. 2008; 18(7):28-32.
- [29] 吴晓燕,王冬平,贺栎,等.不同日龄SPF级Wistar大鼠血液生化参考值的建立[J].*中国比较医学杂志*,2008,18(7):28-32.
- [29] Shabbir A, Zisa D, Leiker M, et al. Muscular dystrophy therapy by nonautologous mesenchymal stem cells: muscle regeneration without immunosuppression and inflammation. *Transplantation*. 2009;87(9):1275-1282.

来自本文课题的更多信息--

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

课题的意义: 实验多时点全面检测大鼠肌肉注射人脐带间充质干细胞后的各项生理指标变化,为更全面的评估以肌肉多点注射方式进行间充质干细胞治疗的安全性提供了重要依据。

课题评估的“金标准”: 人脐带间充质干细胞肌肉注射移植后,采用优利特 100 尿液分析仪进行尿液指标测定,应用 7600-20 型全自动生化分析仪及 BC-5300 全自动血液细胞分析仪进行血液学、血液生化学及电解质指标测定,以苏木精-伊红染色检测组织病理学变化。

课题的偏倚与不足: 课题设计严谨,实施顺利,较好的完成了预期实验目的,无明显偏倚与不足。

提供临床借鉴的价值: 实验结果初步证实了人脐带间充质干细胞异种移植的安全性,并通过对比不同细胞浓度肌肉注射后不同时间点的局部病理改变情况,为临床用同种异体脐带间充质干细胞肌肉注射治疗下肢缺血及糖尿病足在细胞移植剂量、浓度及各项生理指标监测均提供了重要的参考依据。