

黄芩甙体外诱导大鼠骨髓基质细胞向神经干细胞的分化*

张雷¹, 张媛¹, 倪红霞¹, 陈立梅²

Differentiation of rat bone marrow stromal cells into neural stem cells induced by baicalin *in vitro*

Zhang Lei¹, Zhang Yuan¹, Ni Hong-xia¹, Chen Li-mei²

¹Morphology Laboratory,
²Department of Cytobiology, Medical College of Beihua University, Jilin 132013, Jilin Province, China

Zhang Lei★, Master, Experimentalist, Morphology Laboratory, Medical College of Beihua University, Jilin 132013, Jilin Province, China
jlsunbin@126.com

Correspondence to: Chen Li-mei, Doctor, Associate professor, Department of Cytobiology, Medical College of Beihua University, Jilin 132013, Jilin Province, China
limei.chen@yahoo.com.cn

Received:2010-03-09
Accepted:2010-04-12

北华大学基础医学院,¹形态实验室,²细胞生物教研室,吉林省吉林市 132013

张雷★,女,1971年生,吉林省吉林市人,汉族,1994年吉林师范大学毕业,硕士,实验师。主要从事细胞生物学与医学遗传学研究。
jlsunbin@126.com

通讯作者:陈立梅,博士,副教授,北华大学基础医学院细胞生物教研室,吉林省吉林市 132013
limei.chen@yahoo.com.cn

中图分类号:R394.2
文献标识码:B
文章编号:1673-8225 (2010)27-05054-04

收稿日期:2010-03-09
修回日期:2010-04-12
(20100309005/D·Q)

Abstract

BACKGROUND: The existing experimental results show that bone marrow stromal cells have enormous potential of differentiating into bone, neural stem cells and hematopoietic stem cells, while baicalin can induce cell differentiation.

OBJECTIVE: To study the possibility that induced the differentiation of bone marrow stromal cells into neural stem cells *in vitro* by baicalin.

METHODS: Bone marrow stromal cells were harvested from Wistar rats, cultured and assigned to experimental and control groups. That in the control group was left intact. BMSCs in the experimental group were induced by baicalin (350-400 μmol/L). Both groups had the same training environment. Well grown cells following 6 consecutive days were detected using Western blot assay and reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR).

RESULTS AND CONCLUSION: After induced by baicalin for 7 days, bone marrow stromal cells formed the more typical form of neural cells. Before induction, bone marrow stromal cells did not express neural cell marker protein mRNA and protein. After induced for 6 days, neural cells expressed marker protein and mRNA. Control group was negative for marker protein and mRNA. These indicated that baicalin may induce the differentiation of adult rat bone marrow stromal cells into neuron-like cell *in vitro*.

Zhang L, Zhang Y, Ni HX, Chen LM. Differentiation of rat bone marrow stromal cells into neural stem cells induced by baicalin *in vitro*. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(27): 5054-5057.
[http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 已有实验表明,骨髓基质细胞具有分化为骨骼、神经干细胞及造血干细胞的巨大潜能,而黄芩甙具有诱导细胞分化的作用。

目的: 探讨黄芩甙体外诱导骨髓基质细胞分化为神经干细胞的可能性。

方法: 分离培养 Wistar 纯系大鼠骨髓基质细胞,并将分离的骨髓基质细胞分为实验组和对照组,对照组不干预,实验组用黄芩甙(350~400 μmol/L)诱导,2组的培养环境相同。持续诱导 6 d 后选取生长良好的细胞进行蛋白质印迹和反转录 PCR(RT-PCR)法检测。

结果与结论: 黄芩甙诱导 7 d 后,骨髓基质细胞形成较典型的神经细胞形态。诱导前骨髓基质细胞不表达神经细胞标记蛋白 mRNA 和蛋白;诱导 6 d 表达神经细胞标记蛋白和 mRNA;对照组不表达神经细胞标记蛋白和 mRNA。证实黄芩甙在体外可诱导成年大鼠骨髓基质细胞分化为神经样细胞。

关键词: 黄芩甙;骨髓基质细胞;神经干细胞;巢蛋白;诱导

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.27.026

张雷,张媛,倪红霞,陈立梅.黄芩甙体外诱导大鼠骨髓基质细胞向神经干细胞的分化[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(27):5054-5057. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

神经干细胞(neural stem cell, NSCs)是一类具有分裂潜能和自我更新能力的母细胞,它可以通过不对等的分裂方式产生神经组织的各类细胞。从骨髓基质细胞分化而来的神经样细胞对中枢神经系统变性和损伤具有潜在的治疗作用。作为组织工程种子细胞之一的骨髓基质细胞(bone marrow stromal cells BMSCs)倍受关注,目前研究显示, BMSCs 具有分化为骨骼、神经干细胞及造血干细胞的巨大潜能,堪称多功能干细胞^[1-2],特别是发现其可以分化成星形胶质细胞、少突胶质细胞及神经^[3-4]。神

经细胞形成的局部环境能够刺激 BMSCs 分化为神经元,神经细胞和 BMSCs 之间的紧密联系对这一分化起重要作用^[5-6]。

巢蛋白基因编码了一个中等纤维骨架蛋白,因其中枢神经系统发育过程中的瞬时性表达而被克隆^[7]。很多实验结果表明,巢蛋白可能同时参与了神经元和胶质细胞的分化。成年动物中枢神经系统损伤后,在损伤导致的星形胶质细胞重新激活过程中,能观察到细胞重新表达巢蛋白,并且巢蛋白的表达会维持很长时间^[8]。这些结果表明,巢蛋白与神经元和胶质细胞的分化有密切关系。在神经元分化过程中,该基因主要在快速分裂的神经前体细胞中存在瞬时性表达^[9-10]。

近年来相关实验发现在一定条件下, 黄芩及刺五加等可以诱导 BMSCs 分化为神经元样细胞、胶质细胞样细胞^[11], 而黄芩甙, 是从天然植物黄芩中提取的具有抗菌作用的有效成分, 对革兰阳性和阴性细菌有抵制作用。临床上用于上呼吸道感染、急性扁桃腺炎、急性咽喉炎、肺炎及痢疾病, 并能治疗肝炎, 降低转氨酶。是生产银黄针、银黄片、银黄口服液的主要成分。此外, 黄芩甙具有诱导细胞分化的作用^[12]。骨髓基质细胞具有可以直接从骨髓腔内抽取, 来源充足, 取材方便, 对实验对象创伤小, 无免疫排斥反应等优点, 而且细胞处于未分化状态, 增殖能力强, 可在体外培养中大量增殖, 一定诱导条件下可以分化为神经细胞。因此本实验利用黄芩甙诱导大鼠骨髓间充质干细胞, 并观察其形态学变化及神经标志蛋白 nestin 的表达情况, 为进一步研究其作用奠定基础。

1 材料和方法

设计: 细胞学体外实验。

时间及地点: 2009-04/2010-01 在北华大学基础医学院形态实验室完成。

材料: Wistar 纯系大鼠 5 只, 雌雄不限, 体质量 120~160 g, 清洁级, 购自长春高新医学动物实验研究中心, 许可证号(SCXK-(吉):2003-2004)。实验动物饲养于清洁级动物房内, 温度 18~26 °C, 相对湿度 50%~60%, 光照明暗各 12 h, 通风 10 次/h。实验过程符合相关动物伦理学要求^[14]。

主要试剂:

主要试剂	来源
黄芩苷(25 kg 纸板桶)	武汉远城科技发展有限公司
Semi-Dry 电转仪	美国 BIO-RAD 公司
神经巢蛋白抗体(Nestin)	美国 Gibco 公司
Western Blot 试剂盒	武汉博士德公司
TBST 脱脂奶粉	购买的伊利脱脂奶粉
Sigmagel 软件 Gel 1.0	美国 SPSS 公司
DMEM-LG 培养基、胰蛋白酶、胎牛血清、Percoll 淋巴细胞分离液等试剂	美国 Sigma 公司

方法:

大鼠 BMSCs 的培养和诱导: 5 只大鼠用乙醚麻醉后处死, 体积分数为 75% 的乙醇浸泡 5 min 后, 在无菌操作台上无菌条件下分离双侧股骨, 在含生理盐水的 50 mm² 玻璃平皿中去除股骨周围肌肉组织, 剪去骺端, 用 10 mL 注射器抽取适量 Hank's 液冲洗骨髓腔, 将骨髓冲入培养瓶。反复吹打骨髓细胞悬液, 制成单细胞悬液。细胞悬液在 1 000 r/min, 离心 5 min 后收集细胞或进行密度梯度离心。将单细胞悬液于 1:2 比例加液缓慢滴加

至含相对密度 1.082 Percoll 细胞分离液中, 4 °C, 经 1 000 r/min 密度梯度离心 20 min, 去掉上清, 小心收集单核细胞层, 用含有体积分数为 10% 胎牛血清的 DMEM-LG 培养液培养, 吸打分散组织使之成为均匀的细胞混悬液, 并调整细胞密度。然后将 1.6×10⁹ 个单核细胞接种到 25 cm² 的细胞培养瓶中, 置于体积分数为 5% 的 CO₂, 37 °C CO₂ 培养箱中培养, 2 d 后, 在倒置显微镜下观察细胞的贴壁生长情况, 待多数细胞贴壁后, 换全液以除去非贴壁细胞, 之后每三四天半量换液 1 次。原代培养 10~12 d 后, 当细胞达 90% 融合时传代培养。传代培养时先吸去全部培养基, 用质量浓度 2.5 g/L 胰蛋白酶消化 60~120 min, 在倒置显微镜下观察细胞开始变圆后, 加入完全培养基终止胰酶消化, 并将细胞吹打混匀, 以 1:2 比例进行传代培养。实验将分离的 BMSCs 分为实验组和对照组, 对照组不干预, 实验组用黄芩甙(350~400 μmol/L)诱导^[13], 2 组的培养环境相同。持续诱导 6 d 后选取生长良好的细胞进行蛋白质印迹和反转录 PCR(RT-PCR)法检测。

蛋白质印迹分析: 制备样品后, 用 125 g/L SDS-PAGE (100 V, 2 h)。将电泳后的凝胶浸在电转 buffer(含有 3.0 g/L Tris 碱, 14.4 g 甘氨酸, 100 mL 甲醇)30 min。用 Semi-Dry 电转仪将凝胶中的蛋白质转移至 PVDF 膜 (2.5 A/m², 2 h)。电转后的 PVDF 膜在体积分数 10% 甲醇中脱水 15 s, 在滤纸上放置 30 min, 使其充分干燥。用 5% 的 TBST 脱脂奶粉 (TBST: 10 mmol/L Tris-HCl pH 7.5, 0.15 mol/L 氯化钠, 1 g/L Tween20 (Amersham) 封闭聚偏二氟乙烯膜 1 h。用 1% 的 TBST 脱脂奶粉稀释第一抗体与聚偏二氟乙烯膜共同孵育 (10 mL/膜) 2 h (37 °C)。用 TBST 洗涤聚偏二氟乙烯膜 5 次, 5 min/次。用 10 g/L 脱脂奶粉-TBST 稀释第二抗体与聚偏二氟乙烯膜共同孵育 (10 mL/膜) 1 h (室温)。用 TBST 洗涤聚偏二氟乙烯膜 5 次, 5 min/次。用 ECL Kit 检测目的蛋白质。用 Sigmagel 软件对 X 射线平片上阳性条带实施扫描。加样量误差由 β-actin 矫正。

RT-PCR 检测: 用 TRizol 法^[15]提取组织总 RNA。采用 Nestin 特异性引物扩增目的片断, β-actin 作为内参照。Nestin 上游引物 5'-tcc aga aac tca agc acc ac-3'; 下游引物 5'-cca ccg tat ctt ccc acc t-3'; β-actin 上游引物 5'-aac cct aag gcc acc cgt gaa aag-3', 下游引物 5'-tgg act gtc tga tgg agt act-3'; 反转录反应条件为 48 °C 45 min, PCR 反应条件为 94 °C 30 s, 55 °C 1 min, 68 °C 2 min, 循环数 40。扩增产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳分析和测序分析。

主要观察指标: 经黄芩甙诱导后的骨髓基质细胞的形态变化及神经细胞标记蛋白巢蛋白的 mRNA 和蛋白的表达情况。

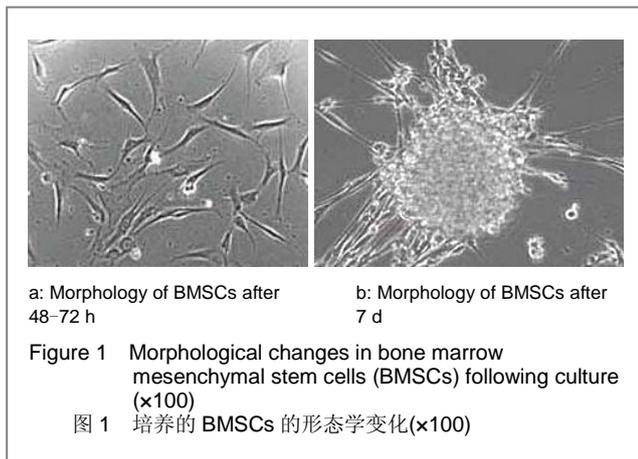
设计、实施、评估者: 实验设计为第一作者, 评估

者为第四作者, 均实施人员为所有作者, 所有人员均经过严格的培训, 并具有丰富的经验, 实验采用盲法评估。

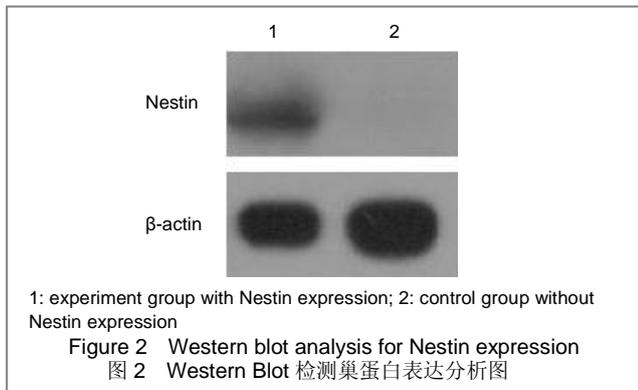
统计学分析: 第 3 作者采用学校购买 SPSS 12.0 软件分析完成, 统计分析采用 *t* 检验。

2 结果

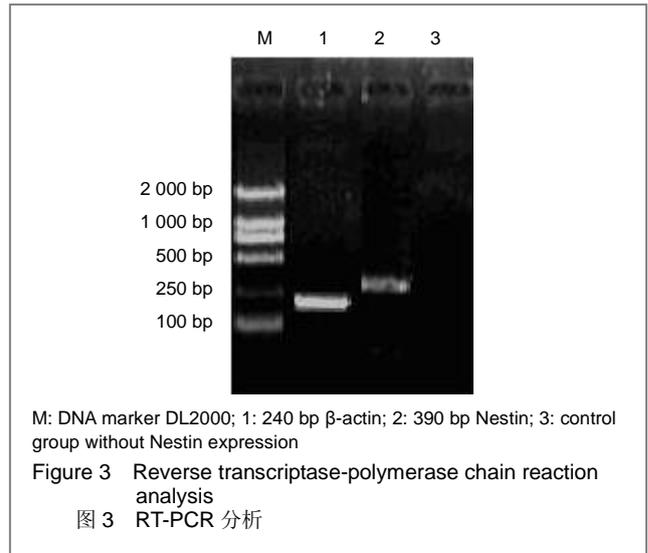
2.1 培养的 BMSCs 的形态学变化 倒置相差显微镜形态学观察: 接种初期, 细胞贴壁生长以分散的、克隆集落方式增殖, 细胞呈圆形漂浮于培养液中, 表面光滑、透亮, 培养液中有少量红细胞混杂, 48~72 h 后, 细胞形态不一, 伸出多个突起, 呈梭形的成纤维细胞样或多角形改变, 核较大, 位于中央或边缘, 同时出现细胞分裂现象。诱导培养 7 d 后, 细胞形态基本为纺锤形的成纤维细胞样, 偶有宽大扁平的多边形细胞, 细胞逐渐长出小突起, 突起延长并相互连接成网, 具有神经细胞形态特征, 见图 1。



2.2 Western Blot 检测结果 诱导 6 d 后, 大鼠 BMSCs 表达巢蛋白, 而未加诱导剂的对照组则无巢蛋白表达, $r = 0.623$, $P < 0.01$, 实验组和对照组差异有显著性意义, 见图 2。



2.3 RT-PCR 检测结果 RT-PCR 产物电泳后凝胶成像, 黄芩甙诱导后实验组有 Nestin mRNA 表达, 而对照组则未见 Nestin mRNA 表达, $r = -0.325$, $P < 0.05$, 差异有显著性意义, 见图 3。



3 讨论

胚胎干细胞因其存在着细胞来源、伦理道德争议及免疫排斥等问题及成体神经组织来源的干细胞采集困难, 容易造成神经功能缺失等缺陷等诸多因素不能被广泛应用于临床, 因此迫切需要找到方便、可行、高效的神经干细胞种子细胞来源^[16-18]。理想的种子细胞应具备来源广泛、易获得, 体外易于培养扩增, 与整合部位相容性好等优点^[19-24]。患者自身神经干细胞是最理想的种子细胞。BMSCs 具有多向分化潜能和强大的增殖能力, 遗传背景稳定, 体内植入反应弱, 易于分离扩增纯化, 因此近年来, 国内外学者对 BMSCs 向神经干细胞诱导分化的研究比较关注。相关实验表明, BMSCs 与神经干细胞具有许多类似克隆增殖特性及多向分化潜能^[25-27]。

本实验中对培养 7 d 左右的传代细胞进行细胞巢蛋白表达检测, 可见巢蛋白呈阳性表达, 这表明骨髓来源的 BMSCs 在体外培养诱导分化后能表现为神经干细胞的特征^[11-12,28]。巢蛋白是一种中间丝蛋白, 存在于神经外胚层上皮干细胞中, 在中枢神经系统的发育过程中瞬时表达, 巢蛋白是目前最常用的神经干细胞的标志^[29-30]。

为了证实巢蛋白阳性的 BMSCs 为神经干细胞, 实验作了进一步的研究, 在持续培养的细胞中可见培养的细胞胞体变大、出芽及分裂现象, 这类细胞比较容易贴壁, 增殖比较快, 形成单细胞层。进一步培养胞体呈梭形, 细胞向外伸出长短不同的突起, 细胞边缘不整齐, 呈树枝状, 部分细长突起相互延伸、连接并交织成网, 细胞核圆形, 核仁明显可见, 胞浆呈半透明, 呈典型的神经细胞形态。虽然目前尚不能完全肯定该细胞是否是神经干细胞, 因为巢蛋白并不是神经干细胞专有标志, 而是神经干细胞的高亲和性标志, 在角膜干细胞内皮细胞及胰腺血管也都表达巢蛋白^[31]; 但可以肯定的是

BMSCs源细胞经体外培养、诱导分化出的细胞具有神经系细胞的特征。黄芩甙不但具有诱导作用, 有研究还报道其可能具有治疗中风的作用^[32]。结果表明: 分离得到的大鼠BMSCs可在体外特定的神经细胞诱导剂黄芩甙作用下被诱导为表达巢蛋白的神经样细胞, 且可以进一步经体外培养、分裂增殖成细胞克隆团, 再进行传代培养, 表现为持续增殖的能力。但是关于黄芩甙的诱导机制以及诱导出的神经细胞样细胞的功能尚有待于进一步研究。

4 参考文献

- [1] Xu RX, Jiang XD. Jiefangjun Yixue Zazhi. 2002;27(11):941-946. 徐如祥, 姜晓丹. 神经干细胞移植修复颅脑神经功能损害的研究现状及前景[J]. 解放军医学杂志. 2002;27(11):941-946.
- [2] Lepore AC, Neuhuber B, Connors TM, et al. Long-term fate of neural precursor cells following transplantation into developing and adult CNS. *Neuroscience*. 2006;142(1):287-304.
- [3] Run BB, Wang LL, Qiao JF, et al. Xibao yu Fenzi Mianyixue Zazhi. 2005;21(3):301-4,308. 闰彬彬, 王莉莉, 乔俊峰, 等. 体外诱导骨髓基质干细胞向神经元分化的机制研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志. 2005;21(3):301-4,308.
- [4] Giliarov AV. Nestin in the cells of the central nervous system. *Morfologija*. 2007;131(1):85-90.
- [5] Kamitori K, Machide M, Tomita K, et al. Cell-type-specific expression of protein tyrosine kinase-related receptor RYK in the central nervous system of the rat. *Brain Res Mol Brain Res*. 2002;104(2):255-266.
- [6] Suzuki SO, Goldman JE. Multiple cell populations in the early postnatal subventricular zone take distinct migratory pathways: a dynamic study of glial and neuronal progenitor migration. *J Neurosci*. 2003;23(10):4240-4250.
- [7] Frisén J, Johansson CB, Török C, et al. Rapid, widespread, and longlasting induction of nestin contributes to the generation of glial scar tissue after CNS injury. *J Cell Biol*. 1995;131(2):453-464.
- [8] Almazán G, Vela JM, Molina-Holgado E, et al. Re-evaluation of nestin as a marker of oligodendrocyte lineage cells. *Microsc Tech*. 2001;52(6):753-765.
- [9] Ding X, Jin Y, Wu Y, et al. Localization and cellular distribution of CPNE5 in embryonic mouse brain. *Brain Res*. 2008;1224:20-28.
- [10] Wang Y, Lu CQ, Wang F. Sichuan Jiepouxue Zazhi. 2006;14(01):58-61. 王勇, 陆长青, 王凡. 黄芩甙诱导大鼠骨髓间充质干细胞分化为神经样细胞的研究[J]. 四川解剖学杂志, 2006, 14(01):58-61.
- [11] Wang XS, Li HF, Zhao Y, et al. Zhongguo Zuzhi Gongheng Yangjiu yu Linchuang Kangfu. 2009, 13(23):2978-2982. 王新生, 李海峰, 赵炎, 等. 黄芩甙诱导大鼠骨髓间充质干细胞分化早期胞内钙调蛋白mRNA的转录水平[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(23):2978-2982.
- [12] Yang Q, Yang J, Xie P, et al. Nanfang Yike Daxue Xuebao. 2009;29(3):487-490. 杨琴, 杨军, 谢鹏, 等. 刺五加体外诱导骨髓基质细胞分化为神经样细胞的实验研究[J]. 南方医科大学学报. 2009, 29(3):487-490.
- [13] Woolburly D, Schwarz EJ, Prockop DJ, et al. Adult rat and human bone marrow stromal cell differentiate into neurons. 2000;61(4):364-370.
- [14] Tang DL, Xiao XZ. Zhongguo Yixue Lunlunxue. 2003;16(5):91. 唐道林, 肖献忠. 动物实验面临的伦理问题[J]. 中国医学伦理学, 2003;16(5):91.
- [15] Meng L, Feldman LA. A rapid TRIzol-based two-step method for DNA-free RNA extraction from Arabidopsis siliques and dry seeds. *Biotechnol J*. 2010;5(2):183-186.
- [16] Yin Z, Chen X, Chen JL, et al. Stem cells for tendon tissue engineering and regeneration. *Expert Opin Biol Ther*. 2010 Apr 2.
- [17] Zou Z, Zhang Y, Hao L, et al. More insight into mesenchymal stem cells and their effects inside the body. *Expert Opin Biol Ther*. 2010;10(2):215-230.
- [18] Song H, Song BW, Cha MJ, et al. Modification of mesenchymal stem cells for cardiac regeneration. *Expert Opin Biol Ther*. 2010;10(3):309-319.
- [19] Hajebrahimi Z, Mowla SJ, Movahedini M, et al. Gene expression alterations of neurotrophins, their receptors and prohormone convertases in a rat model of spinal cord contusion. *Neurosci Lett*. 2008;441(3):261-266.
- [20] Tamama K, Kawasaki H, Wells A. Epidermal growth factor (EGF) treatment on multipotential stromal cells (MSCs). Possible enhancement of therapeutic potential of MSC. *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010:795385. Epub 2010 Feb 17.
- [21] Arthur A, Zannettino A, Gronthos S. The therapeutic applications of multipotential mesenchymal/stromal stem cells in skeletal tissue repair. *J Cell Physiol*. 2009;218(2):237-245.
- [22] Sessarego N, Parodi A, Podestà M, et al. Multipotent mesenchymal stromal cells from amniotic fluid: solid perspectives for clinical application. *Haematologica*. 2008;93(3):339-346.
- [23] Tonti GA, Mannello F. From bone marrow to therapeutic applications: different behaviour and genetic/epigenetic stability during mesenchymal stem cell expansion in autologous and foetal bovine sera? *Int J Dev Biol*. 2008;52(8):1023-1032.
- [24] Bunnell BA, Flaatt M, Gagliardi C, et al. Adipose-derived stem cells: isolation, expansion and differentiation. *Methods*. 2008;45(2):115-120.
- [25] An SS, Jin HL, Kim KN, et al. Neuroprotective effect of combined hypoxia-induced VEGF and bone marrow-derived mesenchymal stem cell treatment. *Childs Nerv Syst*. 2010;26(3):323-231.
- [26] Kamishina H, Cheeseman JA, Farese JP, et al. Migration and differentiation of canine bone marrow stromal cells transplanted into the developing mouse brain. *J Vet Med Sci*. 2010;72(3):353-356.
- [27] Wang Y, Deng Y, Zhou GQ. SDF-1alpha/CXCR4-mediated migration of systemically transplanted bone marrow stromal cells towards ischemic brain lesion in a rat model. *Brain Res*. 2008;1195:104-112.
- [28] Song CH, Honmou O, Ohsawa N, et al. Effect of transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on mice infected with prions. *J Virol*. 2009;83(11):5918-5927.
- [29] Dell'Albani P. Stem cell markers in gliomas. *Neurochem Res*. 2008;33(12):2407-2415.
- [30] Yi L, Zhou ZH, Ping YF, et al. Isolation and characterization of stem cell-like precursor cells from primary human anaplastic oligoastrocytoma. *Mod Pathol*. 2007;20(10):1061-1068.
- [31] Kawamoto M, Ishiwata T, Cho K, et al. Nestin expression correlates with nerve and retroperitoneal tissue invasion in pancreatic cancer. *Hum Pathol*. 2009;40(2):189-198.
- [32] Zhang Z, Wu R, Li P, et al. Baicalin administration is effective in positive regulation of twenty-four ischemia/reperfusion-related proteins identified by a proteomic study. *Neurochem Int*. 2009;54(8):488-496.

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。

课题意义: 本课题旨在探讨黄芩甙在体外诱导骨髓基质细胞分化为神经干细胞的可能性, 黄芩甙诱导 7 d 后, 骨髓基质细胞形成较典型的神经细胞形态。黄芩甙在体外可诱导成年大鼠骨髓基质细胞分化为神经样细胞。这一研究对中枢神经系统疾病的治疗具有重要意义。在中枢神经系统的多种疾病的细胞和基因治疗方面, 为自体移植提供了有效的方法和手段。

课题评估的“金标准”: 本文诱导前骨髓基质细胞不表达神经细胞标记蛋白 mRNA 和蛋白; 诱导 7 d 表达神经细胞标记蛋白和 mRNA; 对照组不表达神经细胞标记蛋白和 mRNA。采用蛋白质印迹 (Western Blot)、反转录 PCR (RT-PCR) 法检测神经细胞标记蛋白巢蛋白 (nestin) mRNA 和蛋白的表达。均为国际公认的指标。

设计或课题的偏倚与不足: 本文主要是检测了诱导后大鼠骨髓基质细胞的 mRNA 和蛋白的表达情况, 并进行了简单的形态学观察, 没有进行免疫学方面的检测, 另外本研究只进行了巢蛋白的检测, 没有对其他神经标志蛋白进行检测, 这是实验的不足之处。

提供临床借鉴的价值: 骨髓基质细胞是骨髓中造血干细胞以外的非造血干细胞。研究发现其具有贴壁生长的特性、自我更新的能力和多分化潜能。大量的实验研究表明, 骨髓基质细胞在细胞治疗、基因治疗、组织工程等方面有广阔的应用前景。实验就为临床上应用骨髓基质细胞提供了方法和手段, 尤其在神经系统疾病的治疗方面奠定了基础。