

羟乙基淀粉一步与两步法分离骨髓单个核细胞及血小板的比较

马艳¹, 陈双², 毕晓娟¹, 江明^{1,2}

Mononuclear cells and platelets isolated from human bone marrow using hydroxyethyl starch by one-step way versus two-step way

Ma Yan¹, Chen Shuang², Bi Xiao-juan¹, Jiang Ming^{1,2}

Abstract

BACKGROUND: It can improve the concentrated efficiency of mononuclear cell to use hydroxyethyl starch with lymphocyte separating medium. However, there is no report addressing the residual volume of platelets.

OBJECTIVE: To detect the efficiency of isolating mononuclear cells and residual volume of platelets using hydroxyethyl starch by one step or two-step way.

METHODS: Bone marrow was obtained from the samples of patients treated with adult autologous bone marrow karyocyte transplantation performed at the First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, China. Bone marrow tissues acquired from patients were sedimentated by hydroxyethyl starch solution only, or followed by further centrifugation with lymphocyte separating medium. Karyocytes, mononuclear cells and platelet number by these two methods were observed.

RESULTS AND CONCLUSION: The average percentage of mononuclear cells in two-step group (89%) was significantly higher than one-step group (45%) ($P < 0.05$). Moreover, the number of platelets was lower in two-step group (median: 73.00) than one-step group (median: 367.50) ($P < 0.05$). Results have suggested that the isolation efficiency of using hydroxyethyl starch solution by two-step way from human bone marrow was higher than one-step way.

Ma Y, Chen S, Bi XJ, Jiang M. Mononuclear cells and platelets isolated from human bone marrow using hydroxyethyl starch by one-step way versus two-step way. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(40): 7529-7532. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 羟乙基淀粉和淋巴细胞分离液两步法分离骨髓有核细胞, 可以提高单个核细胞的浓缩效率, 但对血小板残留量的研究未见报道。

目的: 明确羟乙基淀粉两种分离方法浓缩骨髓单个核细胞的效率和残留血小板的量。

方法: 骨髓来自在新疆医科大学第一附属医院行自体骨髓有核细胞移植治疗相关疾病分离骨髓的检测标本。采用羟乙基淀粉自然沉降和羟乙基淀粉沉降后再用淋巴细胞分离液分离骨髓细胞。观察两种方法分离骨髓细胞后有核细胞、单个核细胞、血小板数。

结果与结论: 羟乙基淀粉两步法分离骨髓后有核细胞悬液中单个核细胞均值为 89%, 一步法为 45%。两步法浓缩单个核细胞的百分率高于一步法 ($P < 0.05$); 残留血小板数(中位数: 73.00)低于一步法(中位数: 367.50) ($P < 0.05$)。结果表明, 羟乙基淀粉和淋巴细胞分离液两步法分离骨髓细胞中单个核细胞和血小板的效果优于一步法。

关键词: 羟乙基淀粉; 淋巴细胞分离液; 分离; 单个核细胞; 血小板

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.40.026

马艳, 陈双, 毕晓娟, 江明. 羟乙基淀粉一步与两步法分离骨髓单个核细胞及血小板的比较[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(40):7529-7532. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

近年来, 间充质干细胞由于具有分化为间充质谱系的能力, 被作为组织再生有潜力的细胞源^[1-5], 已经广泛应用于实验性再生研究, 并在临床用于急性心肌梗死^[6-8]、严重下肢缺血性肢体坏死^[9]、股骨头坏死^[10-12]、糖尿病足等疾病病变组织的修复和再生的治疗研究中^[9]。由于骨髓间充质干细胞缺乏特异性的表面抗原^[13], 特性的鉴定仍然有不确定性, 这对实验研究和临床治疗收集足量的有治疗价值的细胞无疑是挑战。自1975年Mishler^[14]首次用羟乙基淀粉分离细胞以来, 应用羟乙基淀粉分离各种血标本和

比较羟乙基淀粉浓缩有核细胞方法的研究报道不少^[15-19], 但未见对有核细胞血浆中血小板的残余量进行的研究报道。为此, 本实验旨在比较羟乙基淀粉两种方法收集骨髓单个核细胞效果的同时, 对其残留血小板亦进行了比对。

1 对象和方法

设计: 细胞学体外检测对比实验。

时间及地点: 于2007-01/2008-08在新疆医科大学第一附属医院血液科移植病区百级细胞分离室和生化室完成。

对象: 选择2006-12/2008-08在新疆医科大学第一附属医院住院的临床诊断为急性心

¹Stem Cell Laboratory, Medical Research Center, ²Institute of Hematology, First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Ma Yan, Associate chief technician, Stem Cell Laboratory, Medical Research Center, First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China mayan1121@126.com

Correspondence to: Jiang Ming, Professor, Master's supervisor, Chief physician, Stem Cell Laboratory, Medical Research Center, First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; Institute of Hematology, First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; jiangmingyy@yahoo.com.cn

Received: 2010-05-19
Accepted: 2010-07-15

新疆医科大学第一附属医院, ¹医学研究中心所属干细胞研究中心; ²血研所, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

马艳, 女, 1958年生, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市人, 汉族, 1985年乌鲁木齐军区军医学校毕业, 副主任技师, 主要从事干细胞实验研究。

mayan1121@126.com

通讯作者: 江明, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 新疆医科大学第一附属医院医学研究中心所属干细胞研究中心、新疆医科大学第一附属医院血研所, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054
jiangmingyy@yahoo.com.cn

中图分类号: R394.2
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225(2010)40-07529-04

收稿日期: 2010-05-19
修回日期: 2010-07-15
(20100519017/W · Q)

肌梗死14例、股骨头坏死7例、严重下肢缺血性坏死21例。纳入标准: 骨髓形态学检测正常(诊断按WHO标准)、相关检测项目(羟乙基淀粉分离前和后、淋巴细胞分离液分离后的有核细胞数、血小板数, 有核细胞中单个核细胞的百分率)齐全, 并需施行自体骨髓移植的患者。按标准纳入男26例, 女6例, 年龄23~79岁。取材患者签署同意书。

材料:

试剂及仪器	来源
6%羟乙基淀粉	美国 EXCEL CONTAINER
淋巴细胞分离液	中国科学院血液病研究所
Wright 染液	天津天新精细化工试剂有限公司
草酸铵	天津百世化学试剂有限公司
无菌采血袋	广州华南医疗用品有限公司
正置显微镜	Leica
低速冷冻离心机(KDC-2046)	中国

实验方法:

标本的采集: 患者均行利多卡因局麻, 以肝素钠30~50 U/mL骨髓血抗凝, 髂后上棘多点穿刺, 采血量为100~200 mL/次, 收集于采血袋中, 速送入百级净化间, 在下述操作中收集检测标本, 并于5 h之内完成数据检测。

羟乙基淀粉一步法分离: 骨髓血与6%羟乙基淀粉以4:1比例混匀, 室温静置1 h, 弃底层红细胞, 将上层血浆700 g×30 min离心, 分浆夹排挤上清液弃之, 按临床治疗量余留下层浓缩的有核细胞血浆10~40 mL不等。分别留细胞悬液1 mL进行两步法处理, 0.1 mL为细胞计数用。

羟乙基淀粉两步法分离: 在锥形离心管中加3 mL淋巴细胞分离液, 将1 mL羟乙基淀粉一步法分离的细胞悬液用生理盐水以1:1稀释、混匀, 加于淋巴细胞分离液之上, 400 g×30 min离心, 收集单个核细胞, 生理盐水洗涤2遍, 弃上清液, 加入0.1 mL生理盐水, 混匀为细胞计数用。

血小板计数: 3组标本分别用10 g/L草酸胺溶液稀释后, 血细胞计数板计数血小板数。

有核细胞计数: 3组标本分别用白细胞稀释液稀释后, 血细胞计数板计数有核细胞数。

单个核细胞计数: 3组标本分别制备细胞涂片(注: 两步法则将细胞悬液与胎牛血清以1:3混匀后涂片), Wright染色后计数200个有核细胞中淋巴细胞和单核细胞占的百分率, 同时另外计数有核红细胞, 用校正公式[有核细胞×100/(100+有核红细胞)] 去除有核红细胞数,

计算所得即为单个核细胞百分率。计数检验人员为经专业培训主管检验师1名。

主要观察指标: 两种方法分离骨髓细胞后有核细胞、单个核细胞、血小板数。

设计、实施、评估者: 设计者为第一、四作者, 实施为第一、二、三作者, 评估为第一、三作者, 均经过正规培训, 未使用盲法评估。

统计学分析: 实验的主要目的是评价两种方法分离单个核细胞的效率和残留血小板的数量。各组先分别计数血小板数($\times 10^9 L^{-1}$)、有核细胞数($\times 10^9 L^{-1}$)和有核细胞中单个核细胞百分数, 应用PEMS3.1软件进行了随机区组设计的秩和检验, 按 $\alpha=0.05$ 检验水准求得P值。

2 结果

2.1 骨髓原液、一步法和两步法分离骨髓单个核细胞的比较 两步法分离骨髓单个核细胞的纯度明显高于另外两组($P < 0.05$), 见表1。

表1 骨髓原液、一步法和两步法分离骨髓单个核细胞的比较
Table 1 Comparison of isolating bone marrow mononuclear cells using bone marrow stock solution, one-step or two-step way ($n=32$)

Sample	M (IQR)	Mean sum of ranks	M	P
Bone marrow stock solution	0.48 ^a	1.5		
One-step method	0.45 ^a	1.5	1 536	0.000 0
Two-step method	0.89	3		

^a $P < 0.05$, vs.two-step method

2.2 骨髓原液、一步法和两步法分离后血浆中血小板含量的比较 两步法分离去除骨髓中的血小板效果明显优于一步法($P < 0.05$), 但与骨髓原液中的血小板含量差异无显著性意义($P > 0.05$), 见表2。

表2 骨髓原液、一步法和两步法分离后血浆中血小板含量的比较
Table 2 Comparison of platelet content in plasma using bone marrow stock solution, one-step or two-step way ($n=32$)

Sample	M (IQR)	Mean sum of ranks	M	P
Bone marrow stock solution	128.24 ^a	1.75		
One-step method	367.50	2.99	1 554	0.000 0
Two-step method	73.00 ^a	1.28		

^a $P < 0.05$, vs. one-step method

3 讨论

一般认为干细胞在形态上为淋巴样细胞,其密度与淋巴和单个核细胞的密度基本相同,通过密度梯度离心的方法就可以收集到^[20-22]。良好的浓集单个核细胞的技术是获得足够治疗细胞进行各项研究的基础。虽然,免疫磁珠法和流式细胞仪筛选骨髓血中的干细胞具有纯度高、特点,但因其需专用设备、操作繁琐、对细胞损伤大和价格昂贵^[23],临床上多采用简便易操作、对细胞损伤小的沉降剂或密度梯度离心法达到浓缩有核细胞^[24],提高治疗细胞收获的目的。羟乙基淀粉可诱使红细胞形成缙钱状,加速了红细胞在血浆中的沉降,去除红细胞后,达到浓集骨髓有核细胞的目的。有研究小组是用传统的淋巴细胞分离液密度梯度法分离骨髓中单个核细胞^[25-27],但研究显示密度梯度分离骨髓单个核细胞细胞属开放性操作^[23, 28],没有广泛应用于临床是因为其增加了感染的风险。然而,在这两种分离中对质量轻悬浮在血浆中的血小板残留数量却未见文献报道。目前,临床自体骨髓细胞移植治疗各种疾病时,有些疾病的发病机制为凝血功能紊乱相关性疾病,在这类疾病中血小板的激活及病变的脉管病损,具有促诱血小板血栓形成的可能,因此,分离收集的自体骨髓单个核细胞中血小板残留量的多少可能会影响到治疗的效果。

为此,本实验对羟乙基淀粉一步法和两步法浓缩有核细胞中单个核细胞数量进行比较的同时,对残余血小板的数量进行了平行比对。研究表明:羟乙基淀粉两步法与一步法浓缩单个核细胞的纯度和去除血小板能力比较差别均有显著性意义,虽然,二步法去除血小板后血浆中的数量与骨髓原液中的差异不显著,但也是处于生理血小板含量的范畴内。由此证实两步法分离骨髓细胞质量优于一步法。

有研究小组的体内外研究显示,在骨移植和骨缺损治疗中骨髓间充质细胞与富含血小板血浆联合移植有加速骨愈合和重塑作用^[29-30]。由此说明骨髓有核细胞血浆中的血小板具有双重性。作者的体会是:①成体骨髓细胞作为种子细胞修复和再生受损组织时,不能忽视血小板的作用,应根据治疗疾病的发病机制不同选择适宜的细胞分离方法。例如,对心血管疾病患者治疗时推荐在采血袋的管道系统用羟乙基淀粉将大量红细胞和血浆去除,使有核细胞血浆容积大为减少,再经淋巴细胞分离液分离,以缩减开放性操作的步骤和时间。②必须在百级净化室完成所有分离骨髓细胞的操作。③选择无菌操作技能娴熟的专业技术人员分离细胞。毕竟两步法分离细胞仍有开放性操作、丢失细胞较一步法多、对实验环境、试剂和接触细胞的实验器皿有指标限定,这些弊端也一定程度限制两步法的广泛的开展。目前需要做

的是在规范化操作标准出台之前,努力做好成体骨髓间充质细胞移植严格慎密的设计、检测,监督实施,为临床应用前的体内外基础实验、临床试验性研究提供客观的标测数据,提高临床实施成体骨髓间充质细胞移植治疗的可行性水平。

4 参考文献

- [1] Sonja S,Tobias D,Claudia L,et al. Simplified protocol to isolate, purify, and culture expand mesenchymal stem cells. *Stem Cell and Development*.2007;16:105-107.
- [2] Alwin S,Bernhard S,Karin B,et al. Chondrogenic Potential of Human Adult Mesenchymal Stem Cells Is Independent of Age or Osteoarthritis Etiology. *STEM CELLS*. 2007; 25(2):3244-3251.
- [3] Huang K,Huang SL,Zhou DH,et al.Zhonghua Xueyexue Zazhi. 2007;28(2):87-92.
黄科,黄绍良,周敦华等,骨髓腔输注间充质干细胞对骨髓移植后造血重建和移植抗宿主病作用的实验研究[J].中华血液学杂志,2007,28(2):87-92.
- [4] Yang HL,Geng DC,Wang JH,et al.Zhonghua Guke Zazhi. 2006; 26(10):690-694.
杨惠林,耿德春,王骏骅,等.脂肪基质干细胞培养及其定向为成骨细胞、软骨细胞特性的研究[J].中华骨科杂志,2006,26(10):690-694.
- [5] Zhao SN,Zhang HY,Gu ZF,et al.Zhonghua Fengshibingxue Zazhi. 2008;12(10):663-666.
赵盛楠,张华勇,顾志峰,等.间充质干细胞对系统性红斑狼疮CD4+Foxp3+T淋巴细胞的调节[J].中华风湿病学杂志,2008,12(10): 663-666.
- [6] Arnold R, Villa A, Gutiérrez H, et al. Absence of accelerated atherosclerotic disease progression after intracoronary infusion of bone marrow derived mononuclear cells in patients with acute myocardial infarction--angiographic and intravascular ultrasound--results from the TERapia Celular Aplicada al Miocardio Pilot study.*Am Heart J*.2010;159(6):1154.e1-8.
- [7] Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, et al. Transendocardial, Autologous Bone Marrow Cell Transplantation for Severe, Chronic Ischemic Heart Failure.*Circulation*.2003;107(13): 2294-2302.
- [8] Sürder D, Schwitler J, Moccetti T, et al. Cell-based therapy for myocardial repair in patients with acute myocardial infarction: rationale and study design of the SWISS multicenter Intracoronary Stem cells Study in Acute Myocardial Infarction (SWISS-AMI). *Am Heart J*. 2010 ;160(1):58-64.
- [9] Procházka V, Gumulec J, Chmelová J et al. Autologous bone marrow stem cell transplantation in patients with end-stage chronic critical limb ischemia and diabetic foot. *Vnitř Lek* 2009;55(3):173-178.
- [10] Wang BL, Sun W, Shi ZC,et al. Treatment of nontraumatic osteonecrosis of the femoral head with the implantation of core decompression and concentrated autologous bone marrow containing mononuclear cells. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2010 ; 130(7):859-865.
- [11] Karatoprak O, Korkmaz MF, Kara AN et al.Early results of autologous mononuclear bone marrow cell implantation in nontraumatic avascular necrosis of the femoral head. *Acta Orthop Traumatol Turc*. 2008 ;42(3):178-183.
- [12] Yasunaga Y, Terayama H, Yamasaki T,et al.Treatment of osteonecrosis of the femoral head with implantation of autologous bone-marrow mononuclear cells. *Clin Calcium*. 2007 ;17(6):910-915.
- [13] Jiang Y,Jahagirdar BN,Reinhardt RL,et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*. 2002;418(6893):41-49.
- [14] Mishler JM. Hydroxyethyl starch as an experimental adjunct to leukocyte separation by centrifugal means: review of safety and efficacy. *Transfusion*.1975 ;15 (5):449-460
- [15] Szymanski IO. A new method to collect granulocytes using a low dose of hydroxyethyl starch. *Vox Sang*.1983;44(2):106-114
- [16] Montuoro A,De Rose L,Del Monte C,et al. A technique for isolation of bone marrow cells using hydroxyethyl starch (HES) sedimentating agent. *Haematologica*.1991;76 (Suppl 1):7-9.
- [17] Han YP,Liu Y,Zhang LL,et al.Fangshe Mianyixue Zazhi. 2004; 17(4): 315-316.
韩亚萍,刘源,章莉莉,等.不同方法分离外周血单个核细胞对树突状细胞增殖的影响[J].放射免疫学杂志,2004,17(4):315-316.
- [18] Chi ZY,Jiang H,Cai HB,et al.Zhongguo Shuxue Zazhi. 2004; 17(2): 71-74.
迟占有,姜华,蔡海波,等.羟乙基淀粉沉降法分离脐血过程的深入分析及条件优化[J].中国输血杂志,2004,17(2):71-74.
- [19] Chi ZH,Zhang H,Lu Y.Zhongguo Linchuang Kangfu. 2006;10(1): 20-22.
迟作华,张涓,陆琰.人骨髓间充质干细胞分离方法的比较[J].中国临床康复,2006;10(1):20-22.

[20] Pei XT.Beijing: Beijing Science & Technology Press. 2006:1-3. 裴雪涛.干细胞实验指南[M].北京:科学技术出版社,2006:1-3 .

[21] Yeo C, Saunders N, Locca D et al. Ficoll-Paque versus Lymphoprep: a comparative study of two density gradient media for therapeutic bone marrow mononuclear cell preparations. Regen Med. 2009;4(5):689-696.

[22] Chang Y, Hsieh PH, Chao CC. The efficiency of Percoll and Ficoll density gradient media in the isolation of marrow derived human mesenchymal stem cells with osteogenic potential. Chang Gung Med J.2009;32(3):264-275.

[23] Huang T,Xu RX,Jiang XD,et al.Zhongguo Linchuang Jiepouxue Zazhi. 2008;26(2):171-174. 黄涛,徐如祥,姜晓丹,等.大鼠骨髓基质细胞的培养及其表面抗原的检测[J].中国临床解剖学杂志,2008,26(2):171-174.

[24] Lapierre V, Pellegrini N, Bardey I,et al. Cord blood volume reduction using an automated system (Sepax) vs. a semi-automated system (Optipress II) and a manual method (hydroxyethyl starch sedimentation) for routine cord blood banking: a comparative study .Cytotherapy.2007;9(2):165-169. Bi WW,Guo W,Zhao CM,et al.Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2007;11(28):5519-5522. 毕薇薇,郭巍,赵春明,等.成人骨髓间充质干细胞的体外培养及生物学特性[J].中国组织工程研究与临床康复,2007;11(28):5519-5522.

[26] Gao Y,Chu HN,Guo CJ,et al.Zhongguo YishiZazhi. 2008;10(10):1303-1306. 高缨,褚红女,郭春娟,等.骨髓间充质干细胞支持脐血造血干/祖细胞体外扩增的研究[J].中国医师杂志,2008,10(10):1303-1306.

[27] Bodo E,Strauer ,Michael Brehm,Tobias Zeus et al. Repair of Infarcted Myocardium by Autologous Intracoronary Mononuclear Bone Marrow Cell Transplantation in Humans. Circulation.2002;106:1913-1918.

[28] Kawasaki-Oyama RS,Braille DM,Caldas HC et al.Blood mesenchymal stem cell culture from the umbilical cord with and without Ficoll-Paque density gradient method. Rev Bras Cir Cardiovasc.2008;23(1):29-34.

[29] Cenni E,Perut F,Ciapetti G,et al. In vitro evaluation of freeze-dried bone allografts combined with platelet rich plasma and human bone marrow stromal cells for tissue engineering. Mater Sci Mater Med.2008;31.[Epub ahead of print].

[30] Dallari D,Fini M,Stagni C,et al. In vitro study on the healing of bone defects treated with bone marrow stromal cells,platelet-rich plasma,and freeze-dried bone allografts,alone and in combination. J Orthop Res.2006;24(5):877-888.

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。

致谢:感谢新疆医科大学第一附属医院医学统计咨询室徐秦教授、胡歌杨老师对本实验给予的帮助!

课题的意义:应用羟乙基淀粉或淋巴细胞分离液浓集成体骨髓单个核细胞是临床较为常用的技术手段。本实验比较了两种分离方法分离血浆中血小板的残存量,这提示临床以此法分离骨髓细胞治疗相关疾病时,应根据疾病的发病机制酌情采取不同的细胞分离手段,可避免因输注过量的血小板而引发的次生副作用。

课题评估的“金标准”:该分离细胞手段尚未有“金标准”可借鉴。

设计或课题的偏倚与不足:因条件所限未能进行血小板的活化和功能的测定,没能为临床提供完整的小血小板相关资料,是这项实验的不足。

○ IL-24基因修饰的间充质干细胞双靶向抗肺 学研究

CRTER 杂志“关注 2011-2013 年国家自然科学基金干细胞项目”的组稿内容: 本刊学术部

癌的实验研究

○ BMP-4活化的脂肪源干细胞治疗重型再生

障碍性贫血的实验研究

○ 松针有效部位对猪骨髓间充质干细胞生长机制的研究

○ PTO诱导肿瘤干细胞凋亡的分子机制

○ 果蝇肠干细胞的维持和定向分化的分子机理

○ 脂类代谢关键基因fas在果蝇生殖干细胞命运决定中的作用

○ 以IPS作为供体细胞进行核移植后表观遗传

○ 基于诱导多能干细胞技术的I型神经纤维瘤

疾病模型研究

○ 肾透明细胞癌干细胞表面分子标志的鉴定

○ 应用表面模式化方法研究表皮干细胞迁移动力学及其分子机制

○ Calcineurin/NFAT信号通路在小鼠胚胎干细胞中的功能研究

○ 间充质干细胞与免疫系统的相互作用: 基础及应用研究

○ 三磷酸肌醇受体(IP3Rs)在胚胎干细胞分化

命运决定中的作用和调控机制

○ 纺锤体基质蛋白质在胚胎干细胞维持和分化中的功能

○ 干细胞编程与重编程过程中组蛋白变体

○ H2A.Z和H3.3表观遗传调控的分子机制

○ 蛋白质精氨酸甲基转移酶SKB1调控拟南芥根尖干细胞维持和分化的分子机制

○ 利用独特的细胞共培养体系分离刺激哺乳动物器官鹿茸完全再生物质的研究

○ 转染Ang1及VEGF双质粒的胎盘来源间充质干细胞对新生小鼠BPD模型干预研究

○ 癌基因p28GANK对肝干细胞和肝癌前体细胞功能的调节及其对肝癌发生机制的影响