

人羊膜间充质干细胞支持造血的体外实验***

章守琴^{1,2}, 李维佳¹, 史明霞¹, 钱永海¹

Supportive effect of human amniotic mesenchymal stem cells on hematopoiesis *in vitro*

Zhang Shou-qin^{1,2}, Li Wei-jia¹, Shi Ming-xia¹, Qian Yong-hai¹

Abstract

BACKGROUND: Bone marrow (BM) is the main source of mesenchymal stem cell (MSCs) at present, but because of the inconvenience of isolation, and the age-related decrease in the number of MSCs, amnion as a new source of MSCs has been widely concerned recently.

OBJECTIVE: To explore the supportive effects of MSCs derived from human amnions on hematopoiesis *in vitro* and to elevate the success rate of co-transplantation of amniotic mesenchymal stem cells (AMSCs) and hematopoietic stem cells.

METHODS: MSCs were isolated and cultured from human amnions after childbirth by the tissue pieces culture method.

Mononuclear cells (MNCs) were isolated from umbilical cord blood using density gradient centrifugation. CD34⁺ cells were isolated by magnetic cell sorting. The MNC and CD34⁺ cells were co-cultured with AMSCs for four weeks respectively. The concentration of the floating cells was recorded weekly. And as the control, they were co-cultured with the BM-MSCs and deeder layer-free group respectively as well. The MNC and CD34-positive cells were plated in semisolid culture medium separately, and the colony formation was assessed at 14 days after the plating.

RESULTS AND CONCLUSION: AMSCs promoted the expansion of human cord blood MNCs and CD34⁺ cells, and also promoted the formation of hematopoietic progenitor cell colony in methylcellulose semisolid culture medium. Its capacity of hematopoietic support was similar to that of BM-MSCs, without significant difference. These indicate that *in vitro* AMSCs had the capacity for hematopoietic support similar to BM-MSCs. Thus, they may be an ideal source of stem cells for the expansion of hematopoietic stem cells *in vitro* and the co-transplantation of MSCs and hematopoietic stem cells to improve the success rate of clinical transplantations.

¹Department of Hematology, First Affiliated Hospital, Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China;

²Department of Emergency, Tenth People's Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200072, China

Zhang Shou-qin★, Studying for master's degree, Attending physician, Department of Hematology, First Affiliated Hospital, Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China; Department of Emergency, Tenth People's Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200072, China
zhshouqin@163.com

Zhang SQ, Li WJ, Shi MX, Qian YH. Supportive effect of human amniotic mesenchymal stem cells on hematopoiesis *in vitro*. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(49): 9235-9238. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景:骨髓是目前间充质干细胞的主要来源,但由于取材不便、细胞数量受年龄限制等原因,其应用具有一定局限性。近年来,羊膜作为间充质干细胞的新来源受到越来越广泛的关注。

目的:探讨人羊膜来源间充质干细胞在体外对造血干细胞的扩增是否有支持作用,以及怎样提高羊膜间充质干细胞和造血干细胞共移植成功率。

方法:利用组织块培养法,从足月分娩的人羊膜中分离培养羊膜间充质干细胞。密度梯度离心法分离脐血单个核细胞,采用免疫磁珠分选技术分选其中CD34⁺细胞。分别用脐血单个核细胞和CD34⁺细胞与羊膜间充质干细胞共培养,连续4周,每周计悬浮细胞浓度,并以骨髓间充质干细胞组及无滋养层组作为对照。采用集落形成实验,把扩增的脐血单个核细胞和CD34⁺细胞分别接种至甲基纤维素半固体培养基中,14 d后根据典型形态特征计数造血集落数。

结果与结论:羊膜间充质干细胞可促进人脐血单个核细胞和CD34⁺细胞扩增,扩增后两者在甲基纤维素半固体培养基中能够形成造血祖细胞集落,其造血支持作用与骨髓间充质干细胞相似,两者对比无明显统计学差异。提示,羊膜间充质干细胞体外具有与骨髓间充质干细胞相似的造血支持作用,有可能为造血干细胞体外扩增及临床间充质干细胞与造血干细胞联合移植、提高造血干细胞移植成功率提供一种更加理想的间充质干细胞新来源。

关键词:羊膜;间充质干细胞;造血干细胞;造血支持;移植

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.49.026

Correspondence to: Shi Ming-xia, Doctor, Associate professor, Department of Hematology, First Affiliated Hospital, Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China
shmxia2002@sina.com

Supported by: the General Program of Application Basic Research of Yunnan Province, No. 2007C136M*; the Doctor Priming Foundation Program of First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, No. 2007bs05*

Received: 2010-06-30
Accepted: 2010-08-23

章守琴, 李维佳, 史明霞, 钱永海. 人羊膜间充质干细胞支持造血的体外实验[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(49):9235-9238. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

间充质干细胞是一群具有自我更新和多向分化潜能的成体干细胞,具有支持造血干细胞增殖的能力^[1-3]。目前临床使用的间充质干细胞大多数来自于成人骨髓,但是随着年龄的增加,骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)的含量和分化能力都显著下降^[4-6]。此外,从骨髓获取间充

质干细胞必须通过有创性的途径获得,给患者带来痛苦,取材不易,且来源组织细胞成分复杂,分离纯化繁琐,使研究和应用受到限制。使用胎儿出生后作为医疗垃圾丢弃的羊膜几乎不受伦理学限制,材料来源丰富。有研究表明,羊膜间充质干细胞(amniotic mesenchymal stem cells, AMSCs)无论在形态、生长方式、细胞表型及分化潜能均与BMSCs相似^[7-8]。实验采用组织块培养法从羊膜中分离、培养间充质干细胞,用共培养及集落形成法研究AMSCs对

¹昆明医学院第一附属医院血液科, 云南省昆明市 650032; ²同济大学附属第十人民医院急诊科, 上海市 200072

章守琴★, 女, 1976年生, 安徽省合肥市人, 汉族, 昆明医学院在读硕士, 主治医师, 主要从事干细胞方面的研究。zhshouqin@163.com

通讯作者: 史明霞, 博士, 副教授, 昆明医学院第一附属医院血液科, 云南省昆明市 650032 shmxia2002@sina.com

中图分类号: R394.2
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2010)49-09235-04

收稿日期: 2010-06-30
修回日期: 2010-08-23
(20100630005/D-Q)

造血干细胞扩增的支持作用, 为临床进行造血干细胞扩增, 以及AMSCs和造血干细胞共移植、提高移植成功率提供实验依据。

1 材料和方法

设计: 细胞及集落培养实验, 对照观察。

时间及地点: 于2009-04/10在云南省肿瘤医院研究所实验室完成。

材料: 羊膜和脐血取自昆明医学院第一附属医院产科, 经产妇及家属知情同意, 肝炎病毒、HIV、梅毒、衣原体等病原学检查阴性。BMSCs由昆明医学院重点实验室提供。

主要试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
IMDM 液体培养基,	美国 Hyclone 公司
DMEM/F12 液体培养基,	
α-MEM 液体培养基, 胎牛血清, 马血清, 胰蛋白酶干粉	
新生牛血清	杭州四季青公司
牛血清白蛋白	美国 Amresco 公司
淋巴细胞分离液	天津血液研究所
氢化可的松	美国 Alfa 公司
甲基纤维素半固体培养基 H4434	加拿大 StemCell 公司
CD34 ⁺ 细胞磁珠分选系统	挪威 Dynal 公司
小鼠抗人的单克隆抗体 CD34	BioLegend 公司
FITC 标记的羊抗鼠二抗	Southern Biotech 公司
注射用青霉素钠, 注射用硫酸链霉素, EDTA	山东瑞阳制药厂
超净工作台, -20 °C冰箱, 4 °C冰箱, CO ₂ 恒温恒湿培养箱	Thermo electron corporation
流式细胞仪	Becton Dickinson 公司
磁力搅拌器, 水平离心机	上海安亭科学仪器厂
倒置相差显微镜	Olympus 公司
细胞培养瓶培养板	美国 Corning Costar 公司

方法:

AMSCs的分离、培养: 无菌条件下取健康足月顺产胎儿的胎盘, 钝性分离胎盘胎儿面的羊膜, 用D-Hank's液充分冲洗后剪碎成糜状。将羊膜组织小块分散接种到培养瓶内, 用完全DMEM/F12培养基(含体积分数10%胎牛血清, 100 U/mL青霉素, 100 mg/L链霉素)置于37 °C、95%湿度、体积分数为5%CO₂培养箱静置培养。1周左右可见细胞自组织块边缘移出, 当细胞间融合达80%~90%时, 用0.125%胰酶消化并传代。

间充质干细胞滋养层的建立: 取第3代AMSCs和BMSCs, 以2×10⁴/cm²分别接种至六孔板作为滋养层, 每组复种十二孔。待细胞融合至80%

以上时, 将滋养层细胞在直线加速器下照射20 Gy抑制细胞增殖能力。

脐血单个核细胞及CD34⁺细胞的分离: 取新鲜抗凝脐血, 与IMDM按1:1稀释, 以1.077 g/mL淋巴细胞分离液分离单个核细胞, 用CD34⁺细胞磁珠分选系统(按照Dynal公司说明书步骤)分选其中的CD34⁺细胞。分选后用流式细胞仪测定, CD34⁺细胞比率>95%, 符合后续实验要求。用Dexter长期培养体系(含体积分数马血清12.5%, 胎牛血清12.5%, 氢化可的松5×10⁻⁷ mol/L的IMDM)重悬单个核细胞1×10⁹ L⁻¹, 重悬CD34⁺细胞1×10⁸ L⁻¹。

体外支持造血功能的测定: 取24 h前照射的AMSCs和BMSCs滋养层培养板, 将脐血单个核细胞和CD34⁺细胞分别接种至滋养层共培养, AMSCs和BMSCs组再分别设立无滋养层作为空白对照组, 均用Dexter长期培养体系培养。每周半量换液, 测悬浮细胞浓度, 连续4周。第2周换液收集的悬浮细胞分别接种至甲基纤维素半固体培养基H4434中行造血集落培养, 单个核细胞为1×10⁴/孔, CD34⁺细胞为1×10³/孔。在接种后的第14天计数造血集落数量。

主要观察指标: ①AMSCs生长情况和形态观察。②与AMSCs共培养的脐血单个核细胞和CD34⁺细胞的扩增。③扩增后的脐血单个核细胞和CD34⁺细胞在半固体培养基中集落形成情况。

设计、实施、评估者: 实验设计为第一作者和通讯作者, 干预实施和评估由全体作者共同完成, 均经过系统科研培训。

统计学分析: 由第一作者采用SPSS 16软件完成统计处理, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析, P<0.05为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 AMSCs的分离、培养、鉴定 羊膜接种后7 d左右细胞从组织块边缘移出, 呈贴壁生长, 形态呈梭形、多角形, 细胞均质, 折光性强。此后细胞数量逐渐增多, 待组织周围及各组织块之间区域细胞密集, 给予首次传代。传代后细胞5 d左右达到80%~90%融合。传至第3代, 细胞呈梭形, 形态均一。经流式分析及体外诱导分化证实, AMSCs的基本生物学特性符合间充质干细胞特征, 高表达CD29、CD44、CD105, 不表达CD31、CD34、CD45、pan-CK等内皮、造血及上皮细胞表型, HLA-DR呈阴性, 在适宜条件下体外可成功向脂肪和成骨细

胞诱导分化(结果未显示)。

2.2 单个核细胞和CD34⁺细胞扩增结果 AMSCs和BMSCs支持下的脐血单个核细胞和CD34⁺细胞经过4周的培养, 活力好, 扩增旺盛; 无滋养层支持的空白对照组细胞扩增能力相对较弱, 活力较差。每周半量换液后计悬浮细胞浓度, AMSCs组与BMSCs组间比较差异无显著性意义($P > 0.05$); 分别与空白对照组比较差异有显著性意义($P < 0.05$), 见表1, 2。

表1 脐血单个核细胞的扩增
Table 1 Expansion of umbilical cord blood mononuclear cells ($\bar{x} \pm s$, $n=6$, $\times 10^9/L$)

Group	1 wk	2 wk	3 wk	4 wk
AMSCs	1.49±0.09 ^a	1.15±0.05 ^a	0.88±0.05 ^a	0.58±0.05 ^a
BMSCs	1.43±0.05 ^a	1.10±0.03 ^a	0.84±0.05 ^a	0.55±0.05 ^a
Blank control	1.19±0.05	0.98±0.03	0.66±0.04	0.38±0.04

AMSCs: amniotic mesenchymal stem cells; BMSCs: bone marrow mesenchymal stem cells; ^a $P < 0.05$, vs. blank control group

表2 脐血 CD34⁺细胞的扩增
Table 2 Expansion of umbilical cord blood CD34⁺ cells ($\bar{x} \pm s$, $n=6$, $\times 10^3/L$)

Group	1 wk	2 wk	3 wk	4 wk
AMSCs	1.38±0.06 ^a	0.78±0.04 ^a	0.50±0.02 ^a	0.38±0.02 ^a
BMSCs	1.35±0.04 ^a	0.75±0.04 ^a	0.47±0.04 ^a	0.35±0.04 ^a
Blank control	1.12±0.02	0.61±0.02	0.34±0.03	0.20±0.02

AMSCs: amniotic mesenchymal stem cells; BMSCs: bone marrow mesenchymal stem cells; ^a $P < 0.05$, vs. blank control group

2.3 扩增后细胞的集落形成结果 培养至第2周的脐血单个核细胞、CD34⁺细胞分别以 1×10^4 /孔、 1×10^3 /孔接种至H4434甲基纤维素半固体培养基中, 培养14 d计数BFU-E、CFU-GEMM、CFU-GM、CFU-E集落, 见图1。

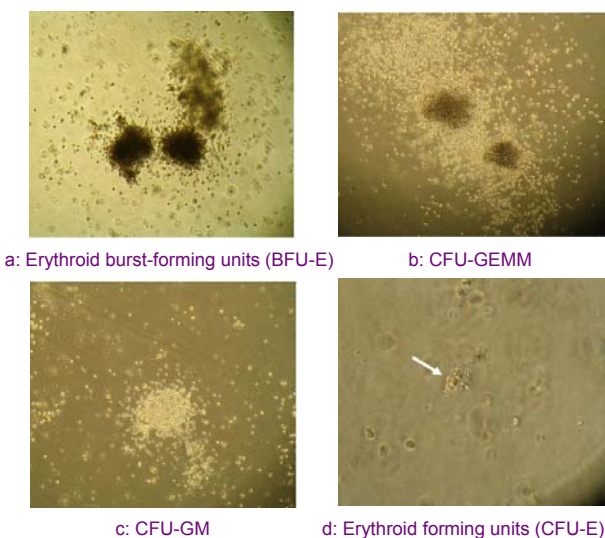


Figure 1 Colony forming units of BFU-E, CFU-GEMM, CFU-GM and CFU-E after being cultured for 14 d
图1 培养14 d的BFU-E、CFU-GEMM、CFU-GM、CFU-E集落

结果显示, 有AMSCs和BMSCs支持的脐血单个核细胞和CD34⁺细胞, 形成的各种集落数较无滋养层支持者明显增多, 见表3, 4。

表3 扩增的脐血单个核细胞形成的集落数
Table 3 Colony formation of expanded umbilical cord blood mononuclear cells ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Group	BFU-E	CFU-GM	CFU-GEMM	CFU-E
AMSCs	44.5±7.4 ^a	53.3±3.9 ^a	8.8±1.2 ^a	7.2±1.5 ^a
BMSCs	42.5±3.1 ^a	51.0±1.5 ^a	8.5±1.0 ^a	6.5±1.4 ^a
Blank control	30.2±1.7	35.7±2.3	6.5±0.8	3.7±0.8

AMSCs: amniotic mesenchymal stem cells; BMSCs: bone marrow mesenchymal stem cells; BFU-E: erythroid burst-forming units; CFU-E: erythroid forming units; ^a $P < 0.05$, vs. blank control group

表4 扩增的脐血 CD34⁺细胞形成的集落数
Table 4 Colony formation of expanded umbilical cord blood CD34⁺ cells ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Group	BFU-E	CFU-GM	CFU-GEMM
AMSCs	24.7±3.4 ^a	17.7±2.1 ^a	6.8±1.5 ^a
BMSCs	23.7±2.7 ^a	16.3±1.2 ^a	6.5±1.0 ^a
Blank control	15.5±1.6	9.8±1.7	3.5±1.0

AMSCs: amniotic mesenchymal stem cells; BMSCs: bone marrow mesenchymal stem cells; BFU-E: erythroid burst-forming units; ^a $P < 0.05$, vs. blank control group

3 讨论

AMSCs高表达CD44、CD29、CD105, 而CD31、CD34、CD45、HLA-DR、pan-CK等内皮、造血及上皮细胞表型为阴性, 符合间充质干细胞表型特征, 此外, 该干细胞群体体外在适宜条件下能够向脂肪、成骨、内皮、神经和肝上皮细胞等进行分化, 具有多向分化潜能, 在适当的培养体系中体外可大量扩增^[8-9]。

CD34是人们认识最早的造血细胞分化标志, 也是人们在基础或临床研究中用于造血干细胞富集最常用的表面分子。在人脐带血和成体造血组织中, 也有一部分原始的CD34⁺细胞同样具有髓系和淋巴系重建能力。利用免疫缺陷小鼠和胎羊移植模型, 已经证实这群CD34⁺造血干细胞的存在^[10-11]。同时, 这群细胞在体外均能进一步分化为CD34⁺细胞^[12-13]。不过有研究表明, 在体外实验中CD34⁺细胞的扩增能力较CD34⁺细胞明显减弱, 其在半固体集落形成细胞培养实验中不能够形成造血集落^[14], 且CD34⁺细胞广泛用于脐血干细胞移植的临床和实验中, 这是本实验选用CD34⁺细胞的原因。

已有研究发现BMSCs在体外培养体系中可以促进造血干细胞增殖与发育^[15-16], 并已开始用于临床与造血干细胞联合移植以促进造血干细胞的植入和造血功能重建^[17-20]。胎盘是造血器官, 羊膜作为胎盘的重要组成部分, 作者推测其很可能在造血过程中发挥重要作用。利用成熟的间充质干细胞培养体系, 成功地从人羊膜中

分离培养出间充质干细胞, 将其作为滋养层, 与脐血单个核细胞和脐血CD34⁺细胞共培养四周, 每周半量换液并计悬浮细胞浓度。结果显示人AMSCs和BMSCs具有相似的促进脐血单个核细胞和CD34⁺细胞扩增的作用, 跟无滋养层的空白对照组相比有明显差异。为进一步证实AMSCs的造血支持作用, 实验将脐血单个核细胞和CD34⁺细胞分别与AMSCs共培养后检测扩增细胞的造血集落形成能力, 并与BMSCs及无滋养层者相对比。结果提示AMSCs体外具有与BMSCs相似造血支持作用, CFU-GM、BFU-E及较早期的造血集落CFU-GEMM均明显高于无滋养层培养条件下所形成的集落数。红系造血祖细胞包括早期红系祖细胞和晚期红系祖细胞, 在分选CD34⁺细胞时, 由于去除了相对成熟的晚期红系祖细胞, 所以在CD34⁺组几乎没有CFU-E的形成。以AMSCs为滋养层, 为脐血中分离获得的造血干细胞提供微环境, 可能通过与造血细胞的直接接触、分泌多种造血生长因子调节造血细胞的生长、发育、增殖及分化。作者初步实验已经证实, AMSCs可以表达干细胞因子、巨噬细胞集落刺激因子、克隆刺激因子、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、白细胞介素3, 6, 11、白血病抑制因子等多种细胞因子(结果未显示), 而上述细胞因子是促进造血干细胞扩增、抑制分化的重要因子。

与成人骨髓移植相比, 脐血移植具有诸多优势, 临床应用已有20年的历史^[21-22], 但脐血移植中造血干细胞数量相对少而造成的造血恢复和免疫重建延迟, 似乎是无法突破的“瓶颈”^[23]。动物实验已证实间充质干细胞联合造血干细胞共移植, 可明显促进植入, 减轻移植抗宿主病, 临床也报道了给白血病患者输注HLA单倍型相合的父母的BMSC获得成功的案例^[24]。课题已经证实AMSCs体外具有与BMSCs相似的抑制T细胞增殖的作用^[25], 如能够提供充分的实验数据证明AMSCs在数量和功能上能够完全替代BMSCs, 在脐血移植中, 将真正实现同一供者来源造血干细胞和间充质干细胞共输注, 对无关供者尤其是同胞间脐血移植具有重要而深远的意义。

4 参考文献

[1] Deans RJ, Moselay AB. Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses. *Exp Hematol* 2000;28(8):875-884.
 [2] Le Blanc K, Ringden O. Mesenchymal stem cells: properties and role in clinical bone marrow transplantation. *Cur Opin Immunol* 2006;18(5):586-591.
 [3] 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.
 [4] D'ippolito G, Schiller PC, Ricordi C, et al. Age-related osteogenic potential of mesenchymal stromal stem cells from human vertebral bone marrow. *J Bone Miner Res* 1999;14(7):1115-1122.
 [5] D'ippolito G, Howard GA, Roos BA, et al. Sustained stromal stem cell self-renewal and osteoblastic differentiation during aging. *Rejuv Res*. 2006;9(1):10-19.
 [6] Mareschi K, Ferrero I, Rustichelli D, et al. Expansion of mesenchymal stem cells isolated from pediatric and adult donor bone marrow. *J Cell Biochem*. 2006;97(4):744-754.

[7] Ming-song Tsai, Shiao-Min Hwang, Kuang-Den Chen, et al. Functional network analysis of the transcriptomes of mesenchymal stem cells derived from amniotic fluid, amniotic membrane, cord blood and bone marrow. *Stem Cell*. 2007;25(10):2511-2523.
 [8] Parolini O, Alviano F, Bagnara GP, et al. Concise review: isolation and characterization of cells from human term placenta: outcome of the first international Workshop on Placenta Derived Stem Cells. *Stem Cells* 2008;26(2):300-311.
 [9] Shi MX, Li WJ, Zhao CH et al. Shengwu Gongcheng Xuebao. 2009; 25(5): 754-60.
 史明霞, 李维佳, 赵春华, 等. 人羊膜来源成体干细胞的多向分化潜能[J]. *生物工程学报*, 2009, 25(5):754-760.
 [10] Zanjani E, Almeida-Porada G, Livingston AG, et al. Human bone marrow CD34-cells engraft in vivo and undergo multilineage expression that includes giving rise to CD34⁺ cells. *Exp. Hematol*. 1998;26(4):353-360.
 [11] Bhatia M, Bonnet D, Murdoch B, et al. A newly discovered class of human hematopoietic cells with SCID-repopulating activity. *Nat Med*. 1998;4:1038-1045.
 [12] Nakamura Y, Ando K, Chargui J, et al. Ex vivo generation of CD34⁺ cells from CD34-hematopoietic cells. *Blood*. 1999;94(12):4053-4059.
 [13] Zanjani ED, Almeida-Porada G, Livingston AG, et al. Reversible expression of CD34 by adult human bone marrow long-term engrafting hematopoietic stem cells. *Exp Hematol*. 2003;31(5):406-412.
 [14] Wang J, Kimura T, Asada R, et al. SCID-repopulating cell activity of human cord blood-derived CD34-cells assured by intra-bone marrow injection. *Blood*. 2003;101(8):2924-2931.
 [15] Zhou DH, Huang K, Huang SL et al. *Zhongshan Daxue Xuebao*. 2010;31(1):39-44.
 周敦华, 黄科, 黄绍良, 等. 间充质干细胞及其培养上清与融冻产物对脐血CD34⁺细胞扩增及分化的作用[J]. *中山大学学报*, 2010, 31(1):39-44.
 [16] Jiang EL, Yang DL, Huang Y, et al. *Shengwu Yixue Gongcheng Yu Linchuang*. 2008;12(3):193-197.
 姜尔烈, 杨栋林, 黄勇, 等. 成人骨髓间充质干细胞对造血干细胞体外增殖的影响[J]. *生物医学工程与临床*, 2008, 12(3):193-197.
 [17] Krupnick AS, Shaaban A, Radu A, et al. Bone marrow tissue engineering. *Tissue Eng*. 2002;8(1):145-155.
 [18] Almeida-porada G, Porada CD, Tran N, et al. Cotransplantation of human stromal cell progenitors into preimmune fetal sheep results in early appearance of human donor cells in circulation and boosts cell levels in bone marrow at later time points after transplantation. *Blood*. 2000;95(11):3620-3627.
 [19] Le Blanc K, Samuelsson H, Gustafsson B, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells to enhance engraftment of hematopoietic stem cells. *Leukemia* 2007;21(8):1733-1738.
 [20] 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.
 [21] Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med*. 1989;321(17):1174-1178.
 [22] Xu SX, Tang XH, Tang XF. *Linchuang Erke Zazhi*. 2008;26(3):246-249.
 徐世侠, 汤先华, 唐湘风. 非血缘脐血及骨髓移植治疗儿童血液病的meta分析[J]. *临床儿科杂志*. 2008, 26(3):246-249.
 [23] Cohen Y, Nagler A. Umbilical cord blood transplantation—how, when and for whom? *Blood Rev*. 2004;18(3):167-179.
 [24] Maitra B, Szekeley E, Gjini K, et al. Human mesenchymal stem cells support unrelated donor hematopoietic stem cells and suppress T-cell activation. *Bone Marrow Transplant*. 2004;33(6):597-604.
 [25] Angelopoulou M, Novelli E, Grove JE, et al. Cotransplantation of human mesenchymal stem cells enhances human myelopoiesis and megakaryocytopoiesis in NOD/SCID mice. *Exp Hematol*. 2003;31(5):413-420.

来自本文课题的更多信息——

基金资助: 云南省应用基础研究面上项目 (No.2007C136M); 昆明医学院第一附属医院院内博士启动金资助项目 (No.2007bs05)。课题名称: 人羊膜间充质干细胞支持造血和免疫学特性研究。

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。