

# 人脐带间充质干细胞向成骨细胞及脂肪细胞分化过程中 *nm23-H1*基因的表达\*\*\*\*

荣靖<sup>1</sup>, 彭鑫磊<sup>1</sup>, 马岩岩<sup>1</sup>, 刘秋英<sup>1</sup>, 周向荣<sup>2</sup>, 罗新<sup>3</sup>, 王一飞<sup>1</sup>

## Expression of *nm23-H1* during differentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells into adipocytes and osteoblasts *in vitro*

Rong Jing<sup>1</sup>, Peng Xin-lei<sup>1</sup>, Ma Yan-yan<sup>1</sup>, Liu Qiu-ying<sup>1</sup>, Zhou Xiang-rong<sup>2</sup>, Luo Xin<sup>3</sup>, Wang Yi-fei<sup>1</sup>

### Abstract

**BACKGROUND:** It has been proved that *nm23-H1* gene has a great influence on proliferation, differentiation and transferring of many kinds of cells.

**OBJECTIVE:** To study on the expression of *nm23-H1* gene during differentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells (hUCMSCs) into adipocytes and osteoblasts *in vitro*.

**METHODS:** The hUCMSCs were isolated from human umbilical cord by tissue adherence, and a flow cytometry was used for immunophenotype identification. Then the 3<sup>rd</sup> passage cells were induced to differentiate into adipocytes and osteoblasts, characterized by oil red O staining and Alizarin red staining respectively. The expression of *nm23-H1* mRNA was detected by real time quantitative RT-PCR during the adipogenic and osteogenic differentiation.

**RESULTS AND CONCLUSION:** During the adipogenic differentiation, the *nm23-H1* expression was increased in mRNA level after the induction on 4 days, and reached to the highest level on 7 days ( $P < 0.01$ ), and then was gradually decreased on 14 days to the primary level which had no significant changes compared with untreated control ( $P > 0.05$ ). During the osteogenic differentiation, the *nm23-H1* expression in mRNA level was downregulated ( $P < 0.01$ ) until maturation on 28 days ( $P > 0.05$ ). *nm23-H1* gene has shown a regulatory changes during the differentiation of hUCMSCs into adipocytes and osteoblasts, this might imply that *nm23-H1* gene make a contribution to the osteogenic and adipogenic differentiation.

Rong J, Peng XL, Ma YY, Liu QY, Zhou XR, Luo X, Wang YF. Expression of *nm23-H1* during differentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells into adipocytes and osteoblasts *in vitro*. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(19): 3467-3471. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

### 摘要

**背景:** *nm23-h1* 基因已被证实与多种细胞的增殖、分化、转移密切相关。

**目的:** 观察人脐带间充质干细胞在体外向成脂及成骨方向诱导分化的过程中 *nm23-H1* 基因的表达变化。

**方法:** 采用组织块贴壁法从脐带中分离培养间充质干细胞, 流式细胞术鉴定其表型, 之后分别加入成脂诱导剂和成骨诱导剂进行体外诱导分化。对照组采用不含诱导因子的培养液进行培养。

**结果与结论:** 在成脂诱导过程的第4天, *nm23-H1* mRNA 的表达上调, 至第7天达到最高( $P < 0.01$ ), 其后开始逐渐恢复, 直至第14天与对照组相比无显著差异( $P > 0.05$ )。而在成骨诱导过程中, *nm23-H1* mRNA 则一直为低表达状态( $P < 0.01$ ), 直至第28天恢复为对照组水平( $P > 0.05$ )。结果显示 *nm23-H1* 基因表达在成脂分化前期发生上调, 而在成骨分化过程中一直下调。

**关键词:** 脐带间充质干细胞; 脂肪细胞; 成骨细胞; 分化; *nm23-H1*

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.19.011

荣靖, 彭鑫磊, 马岩岩, 刘秋英, 周向荣, 罗新, 王一飞. 人脐带间充质干细胞向成骨细胞及脂肪细胞分化过程中 *nm23-H1* 基因的表达[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(19):3467-3471. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

## 0 引言

间充质干细胞是一类具有自我更新能力的成体干细胞, 可以向多种细胞组织类型分化。人们首先在骨髓中确认了间充质干细胞的存在, 此后, 又从许多其他组织中分离鉴定出了这类细胞。脂肪组织、骨骼肌、成体外周血、脐带、脐带血、羊水等都可能成为间充质干细胞的来源<sup>[1-3]</sup>。其中, 人脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cells, hUCMSCs)是从废弃的胎儿附属物--脐

带中提取获得的一类间充质干细胞, 该种细胞免疫原性低<sup>[9-10]</sup>, 性质稳定, 可长期传代培养, 并具有多向分化潜能, 可以在体外诱导分化为脂肪细胞、成骨细胞、软骨细胞、肌肉细胞等多种细胞类型, 但其分化机制目前尚不完全清楚。由于hUCMSCs取材简单, 细胞得率高, 不存在伦理争议和法律约束, 因此在组织工程和细胞替代治疗方面具有广阔应用前景, 近年来备受关注。

*Nm23-H1*是一种重要的肿瘤转移抑制基因, 目前研究主要集中对肿瘤细胞侵袭、转移、分化的影响, 关于该基因与间充质干细胞之间

<sup>1</sup>Guangzhou (Jinan) Biomedicine Research & Development Center, Guangzhou 510632, Guangdong Province, China; <sup>2</sup>Asia Pacific Stem Cell Science Limited, Hong Kong, China; <sup>3</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510632, Guangdong Province, China

Rong Jing★, Studying for master's degree, Guangzhou (Jinan) Biomedicine Research & Development Center, Guangzhou 510632, Guangdong Province, China lydia033rj@qq.com

Correspondence to: Wang Yi-fei, Professor, Guangzhou (Jinan) Biomedicine Research & Development Center, Guangzhou 510632, Guangdong Province, China twangyf@jnu.edu.cn

Supported by: International Cooperation Projects, No. 2008DFA30590\*; Project of Guangzhou (Jinan)-Hong Kong Cell Engineering United Laboratory\*; the National Natural Science Foundation of China, No. 81070459\*; the Fundamental Research Funds for the Central Universities\*

Received: 2011-01-24 Accepted: 2011-03-17

<sup>1</sup> 广州(暨南)生物医药研究开发基地, 广东省广州市 510632; <sup>2</sup> 亚太干细胞研究中心有限公司, 香港; <sup>3</sup> 暨南大学附属第一医院妇产科, 广东省广州市 510632

荣靖★, 女, 1985年生, 河南省洛阳市人, 汉族, 暨南大学生命科学技术学院在读硕士, 主要从事间充质干细胞多能性的研究。  
lydia033rj@qq.com

通讯作者: 王云飞, 教授, 广州(暨南)生物医药研究开发基地, 广东省广州市 510632  
twangyf@jnu.edu.cn

中图分类号: R394.2  
文献标识码: A  
文章编号: 1673-8225(2011)19-03467-05

收稿日期: 2011-01-24  
修回日期: 2011-03-17  
(20110124024/M·W)

的相互作用国内外尚无文献报道。文章通过观察UCMSCs在体外诱导成脂及成骨分化过程中 nm23-H1 基因表达量的变化, 首次发现了该基因在间充质干细胞分化过程中存在规律性变化, 探讨 nm23-H1 与成脂及成骨分化过程可能存在的相关性, 旨在为进一步揭示该基因在间充质干细胞的成骨成脂分化平衡中以及成骨障碍类疾病治疗方面可能扮演的重要角色提供初步的理论依据和可能。

## 1 材料和方法

**设计:** 细胞学体外对比观察。

**时间及地点:** 于2010-07/12在暨南大学生物医药研发基地完成。

**材料:**

**脐带标本:** 取自暨南大学附属第一医院手术室, 为正常足月剖宫产健康婴儿脐带组织, 经产妇知情同意, 实验方案经医院伦理委员会批准。标本采集前, 产妇已做艾滋病病毒抗体、乙型肝炎病毒抗体、丙型肝炎病毒抗体、梅毒螺旋体抗体、支原体等检测。标本采集后4℃保存, 4 h内完成实验。

**主要试剂及仪器:**

试剂及仪器	来源
DMEM/F12 培养基干粉、 LG-DMEM 液体培养基、胎牛血清	Gibco, 美国
吡啶美辛、地塞米松、1-甲基-3- 异丁基黄嘌呤、胰岛素、β-甘油 磷酸钠	Sigma, 美国
Trizol 试剂	Invitrogen, 美国
反转录 PCR 试剂盒、实时定量 PCR 试剂盒、SYBR Green I Primix Ex Taq 酶	Takara, 日本
CO <sub>2</sub> 细胞培养箱	Heraers, 德国
倒置相差显微镜	Olympus, 日本
CFX-96 实时定量 PCR 仪	Bio-rad, 美国
培养瓶, 培养皿, 离心管	Corning, 美国

**实验方法:**

**HUCMSCs的分离培养:** 取正常足月剖宫产健康婴儿脐带, 放入含有双抗(100 mg/L青霉素, 100 U/mL链霉素)的D-Hank' s缓冲液中, 洗净血液后剔除血管, 并剪成约1 mm<sup>2</sup>的组织块, 将其以适当密度接种于细胞培养板, 加入含有双抗及体积分数为10%胎牛血清的DMEM/F12培养基, 置于37℃、体积分数为5%CO<sub>2</sub>饱和湿度的培养箱内培养, 每3 d补加新鲜培养液。

当镜下观察组织块周围有呈集落生长的成纤维状细胞时, 去除组织块, 并添加培养基继续培养。待细胞生长至约80%融合时, 用37℃预温的含0.25%胰蛋白酶和0.02%EDTA的消化液消化, 按10<sup>4</sup>/cm<sup>2</sup>的密度传代至细胞培养瓶中进行培养。

**细胞表面抗原的测定:** 取对数生长期第3代的细胞, 吸去培养基, 加入0.25%胰蛋白酶-0.02%EDTA的消化液进行消化, 之后用适量血清终止消化, 1 000 r/min离心10 min后弃上清, 用4℃预冷的PBS洗涤细胞3次后重悬均匀。流式细胞术检测细胞表面免疫表型: CD29、CD44、CD105、CD34、CD45、CD86的表达情况。其中CD29、CD44、CD105是与基质细胞相关抗原, CD34、CD45是与造血及内皮细胞相关抗原, CD86为免疫排斥相关抗原。

**体外向成脂细胞诱导分化及鉴定:** 取对数生长期第3代的细胞, 按1×10<sup>8</sup> L<sup>-1</sup>接种于放有无菌盖玻片的6孔板中, 待细胞长至100%融合时, 诱导组换为成脂分化诱导培养液进行培养(LG-DMEM培养液, 含有体积分数为10%胎牛血清、5 mg/L胰岛素、1 μmol/L地塞米松、0.5 mmol/L 1-甲基-3-异丁基黄嘌呤、100 μmol/L吡啶美辛、双抗), 选取4, 7, 10, 14, 17, 21 d 6个时间点进行诱导。阴性对照组采用不含诱导因子的培养液进行培养, 连续培养21 d。两组均为每周换液两次。每日在镜下观察细胞生长、分化状态。诱导结束时, 油红O染色液染色鉴定。油红O染色步骤: ①取出细胞爬片, 用pH 7.0的PBS溶液洗涤3遍, 每次5 min。②40 g/L多聚甲醛室温固定10 min。③在细胞固定的过程中, 配制0.2%油红O工作染液, 过滤后静置。④滴加适量油红O染液染色, 避光、静置30 min。⑤PBS 冲洗至背景干净, 自然晾干后中性树脂封固。⑥显微镜下观察并采集图片。

**体外向成骨细胞诱导分化及鉴定:** 取对数生长期第3代的细胞, 按1×10<sup>7</sup> L<sup>-1</sup>接种于放有无菌盖玻片的6孔板中, 待细胞长至80%融合时, 诱导组换为成骨分化诱导培养液进行培养(LG-DMEM培养液, 含有体积分数为10%胎牛血清、100 nmol/L地塞米松、100 mmol/L β-甘油磷酸钠、0.2 mmol/L抗坏血酸、双抗), 选取5, 10, 15, 20, 24, 28 d 6个时间点进行诱导。阴性对照组采用不含诱导因子的培养液进行培养, 连续培养28 d。两组均为每周换液两次。每日在镜下观察细胞生长、分化状态。

诱导结束时, 茜素红染色鉴定。茜素红染色步骤: ①取出细胞爬片, 用pH 7.0的PBS溶液洗涤2遍, 每次2 min。②40 g/L多聚甲醛室温固定10~15 min, 之后PBS洗涤3次。③用新鲜配制的茜素红染液37 °C、避光固定30 min, 之后吸去染液, PBS洗涤两三遍。④用1 mL PBS覆盖细胞, 自然晾干后中性树脂封固。⑤显微镜下观察并采集图片。

**实时定量PCR检测:** 待成脂分化及成骨分化诱导至特定时间点后, 采用Trizol试剂提取各组诱导细胞及未诱导细胞的总RNA, 紫外分光光度计测定其 $A_{260/280}$ 值。取2  $\mu$ g RNA为模板, 以Oligo d(T)为引物进行反转录合成cDNA, 反转录条件参照说明书。以反转录所得cDNA为模板, 采用SYBR Green I染料法进行实时定量PCR检测, 扩增nm23-H1基因以及18sRNA基因片段, 检测nm23-H1 mRNA相对表达量。PCR扩增条件: 95 °C 3 s, 60 °C 5 s, 72 °C 30 s, 进行40个循环。对PCR反应过程中每一循环的荧光强度进行实时(real-time)检测, 通过对荧光强度的分析来达到等量检测的目的。根据各自标准品建立标准曲线, 以18sRNA作为内参基因, 分析nm23-H1 mRNA在分化过程中相对表达量的变化。

引物序列:

基因	Primer F (上游引物)	Primer R (下游引物)
Nm23-H1	5'-GGA CCA TCC GTG GAG ACT-3'	5'-CAG GGT GAA ACC ACA AGC-3'
18sRNA	5'-CCT GGA TAC CGC AGC TAG GA-3'	5'-GCG GCG CAA TAC GAA TGC CCC-3'

**主要观察指标:** 倒置显微镜观察细胞形态; 流式细胞仪检测HUCMSCs免疫表型; 显微镜观察诱导过程中细胞形态及染色变化情况; 实时荧光定量PCR技术检测HUCMSCs分化过程中nm23-H1基因的表达水平。

**统计学分析:** 所有数据均用SPSS 15.0软件进行统计学分析, 数据由CFX-96实时定量PCR仪自带软件完成, 目的基因相对含量= $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。以 $\bar{x}\pm s$ 表示nm23-H1基因的表达情况, 采用One-way ANOVA方差分析,  $P < 0.05$ 为差异有显著性意义,  $P < 0.01$ 为差异有非常显著性意义。

## 2 结果

**2.1 hUCMSCs的形态学观察** 在接种组织块大约1周左右时, 可观察到有少量成纤维状细胞从组织块周围爬出, 折光性强, 细胞核为圆形或椭圆形, 位于胞体中央, 胞质丰富。在去除组织块并以完全培养液培养后, 可见这些细胞成规则的集落生长, 见图1。传代至培养瓶中后, 其增殖较原代快, 两三天即可达到80%融合, 并呈规则的涡旋状排列生长, 见图2。

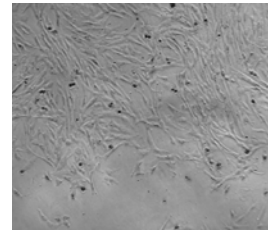


Figure 1 Primary culture of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells at 10 d after culture ( $\times 100$ )  
图1 人脐带间充质干细胞原代培养第10天( $\times 100$ )



Figure 2 80% confluence of the 1<sup>st</sup> passage of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells ( $\times 40$ )  
图2 80%融合的第1代人脐带间充质干细胞( $\times 40$ )

**2.2 细胞表面抗原检测** 应用流式细胞仪检测6组细胞表面抗原, 结果显示, 3组与基质细胞相关的抗原呈现高表达, 而与造血及内皮细胞相关的2组抗原、与免疫排斥相关的2组抗原均为阴性, 见图3。说明培养扩增的人脐带来源的间充质干细胞是一均质细胞群, 且不含造血系细胞。

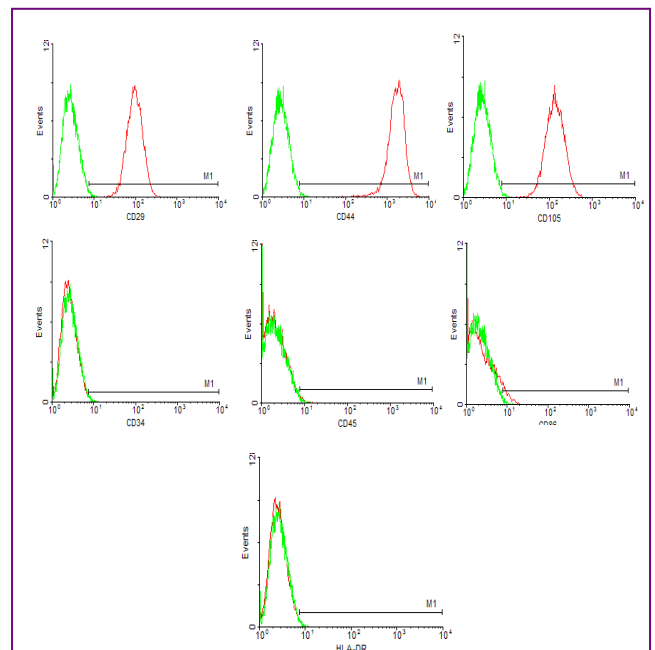
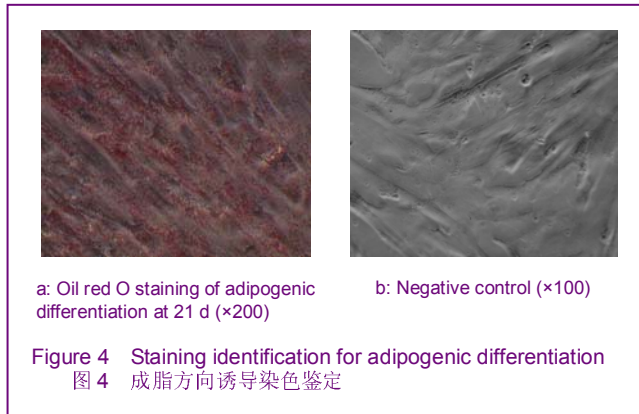
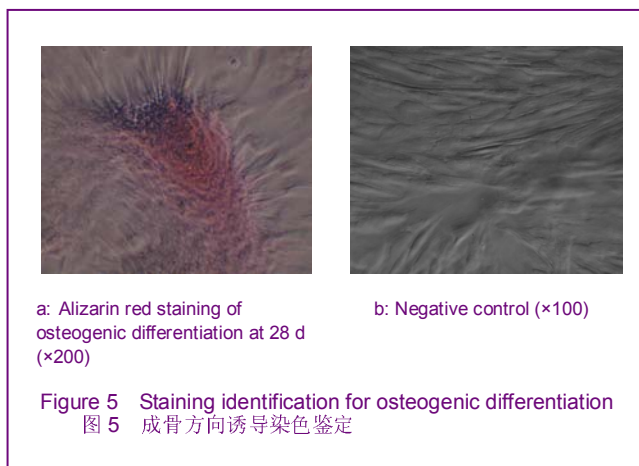


Figure 3 Antigen expression of the 3<sup>rd</sup> passage of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells  
图3 第3代人脐带间充质干细胞表面抗原表达

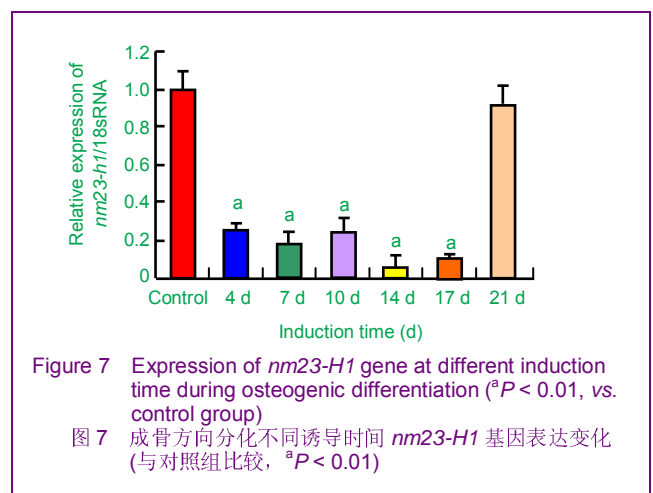
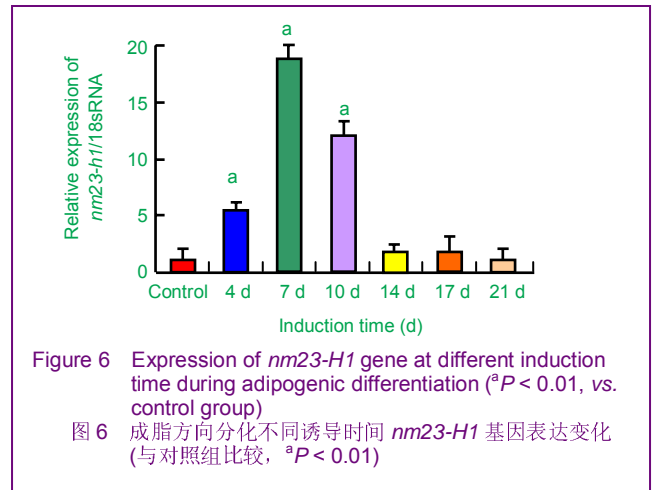
**2.3 向脂肪细胞及成骨细胞方向诱导及其鉴定** 在脂肪定向诱导分化体系中培养后, 随着诱导时间的延长, 细胞内开始出现空泡样的脂滴, 并逐渐增多变大, 细胞由原来的成纤维状逐渐变为圆形或椭圆形。连续诱导 21 d, 油红O染色后镜下观察可见细胞浆中充满红色的油滴, 未加诱导因子的阴性对照组用油红O染色则未见明显油滴形成。见图4。



在成骨定向诱导分化体系中培养后, 伴随诱导时间的延长, 细胞逐渐出现层叠聚集的生长态势, 细胞融合处呈现为“网格状”, 细胞边缘锐化清晰。连续诱导2周后, 可见多处矿化结节, 其后结节逐渐增多, 直至诱导至28 d钙化结节相互融合, 用茜素红可将其染色为红色, 而阴性对照组细胞则未见以上变化。见图5。



**2.4 实时定量PCR结果** 在成脂分化的第4天, *nm23-H1* mRNA的相对表达量呈现出上调的状态, 在诱导至第7天时表达量达到最高( $P < 0.01$ ), 在这之后表达量开始逐渐降低, 在第14天恢复至正常对照水平( $P > 0.05$ ), 见图6。在成骨分化过程中, *nm23-H1*在第4天直至第24天, 均表现为下调状态( $P < 0.01$ ), 在第28天, 其mRNA相对表达量恢复至与对照组相比差异无显著性意义( $P > 0.05$ ), 见图7。



### 3 讨论

*Nm23-H1*基因首先是作为一种肿瘤转移抑制基因于1988年被Steeg等<sup>[11]</sup>发现的, 现今已是肿瘤转移的一个研究热点。该基因位于17号染色体长臂17q21.3-17q22之间, 其cDNA全长576 bp, 编码152个氨基酸, 该蛋白被称为NDPK-A, 它具有核苷二磷酸激酶(nucleoside diphosphate kinase, NDPK)活性, 该酶是细胞中普遍存在的一种多功能同质酶家族, 主要分布于胞浆和质膜上, 其功能涉及依赖三磷酸核苷的细胞活动, 即催化三磷酸核苷的 $\gamma$ -磷酸发生转移成为二磷酸核苷, 维持机体内三磷酸核苷和二磷酸核苷库的平衡<sup>[12]</sup>。核苷二磷酸激酶通过催化这一反应影响微管聚合、纺锤体形成, 从而对细胞内染色体复制分裂、细胞骨架对信号的响应等方面产生作用<sup>[13]</sup>。Daberna等<sup>[14]</sup>发现NDPK能够通过调节G蛋白的第二信使作用来影响细胞的信号传递, 从而进一步作用于细胞的生长和分化。此外 *nm23-H1*蛋白含有GRD序列, 该序列可以被整合素家族识别, 介导细胞与细胞、细胞与细胞外基质的黏附, 参与它们之间的跨膜信号转导过程, 在细胞生长、分化、

形成连接和维持极性方面起着重要作用<sup>[15]</sup>。

有研究表明, *nm23-H1*基因不仅与肿瘤转移抑制有关, 它对胚胎发育分化过程中的胚胎着床、妊娠早期分化等也起着重要的作用<sup>[16]</sup>。而这种作用依赖该基因所编码的NDPK-A蛋白。Willems等<sup>[17]</sup>对*nm23-H1*在造血干细胞中的表达进行了研究, 结果表明, NDPK在造血细胞的早期成熟阶段发挥了功能, 而在其后进一步的分化中表达下调。之后他们报道了在人的某种造血细胞系中加入NDPK蛋白能够抑制其分化。在进一步研究外源NDPK蛋白对造血细胞作用的实验中, Willems等将重组的*nm23-H1*蛋白作用于正常的人造血祖细胞, 结果显示, 外源的*nm23*蛋白在正常造血细胞分化的末期具有调节作用, 高浓度的*nm23*蛋白能够促进红细胞的生成, 抑制过多的巨噬细胞形成, 而这一作用不依赖于其NDPK酶活性。

实验利用组织块贴壁法从剖宫产胎儿的脐带中分离提取HUCMSCs, 体外培养至第3代时, 运用流式细胞术检测所得细胞11种表面抗原, 均与目前文献报道的间充质干细胞表面抗原特征相符合<sup>[18-19]</sup>。同时将第3代处于对数生长期的细胞进行成骨和成脂的定向诱导分化, 结果显示, 成脂方向分化细胞经油红O染色后, 可见胞浆中充满油滴空泡; 成骨方向分化细胞经茜素红染色后可见其结节中的沉积钙发生显色反应, 呈现红色。以上结果说明分离得到的确实是具有多向分化潜能的间充质干细胞。运用实时定量PCR的方法, 检测HUCMSCs在体外成骨及成脂分化的不同时间点, *nm23-H1*基因mRNA相对表达量的改变。结果显示, *nm23-H1*在成脂分化前期表达量上调, mRNA显著增加, 后期则稳定在未分化时的表达水平; 而在成骨分化过程中则刚好相反, *nm23-H1*的表达量在绝大部分时期一直呈现下调态势, 直至28 d分化成熟恢复至分化前正常水平。该结果表明*nm23-H1*基因在间充质干细胞成骨与成脂分化过程中呈现出了规律性的变化, 并有可能在间充质干细胞的分化过程中发挥着一定的作用, 这对于进一步研究该基因在间充质干细胞中的功能和作用机制提供了基础, 并对未来骨质疏松和成骨障碍类疾病的治疗, 提供了新的思路。

#### 4 参考文献

- [1] Wickham MQ, Erickson GR, Gimble JM, et al. Multipotent stromal cells derived from the infrapatellar fat pad of the knee. *Clin Orthop Relat Res.* 2003;(412):196-212.
- [2] Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell.* 2002;13(12):4279-4295.
- [3] Asakura A, Komaki M, Rudnicki M. Muscle satellite cells are multipotential stem cells that exhibit myogenic, osteogenic, and adipogenic differentiation. *Differentiation.* 2001;68(4-5):245-253.
- [4] Wada MR, Inagawa-Ogashiwa M, Shimizu S, et al. Generation of different fates from multipotent muscle stem cells. *Development.* 2002;129(12):2987-2995.

- [5] Zvaifler NJ, Marinova-Mutafchieva L, Adams G, et al. Mesenchymal precursor cells in the blood of normal individuals. *Arthritis Res.* 2000;2(6):477-488.
- [6] Mitchell KE, Weiss ML, Mitchell BM, et al. Matrix cells from Wharton's jelly form neurons and glia. *Stem Cells.* 2003;21(1):50-60.
- [7] Rosada C, Justesen J, Melsvik D, et al. The human umbilical cord blood: a potential source for osteoblast progenitor cells. *Calcif Tissue Int.* 2003;72(2):135-142.
- [8] In 't Anker PS, Scherjon SA, Kleijburg-van der Keur C, et al. Amniotic fluid as a novel source of mesenchymal stem cells for therapeutic transplantation. *Blood.* 2003;102(4):1548-1549.
- [9] Cho PS, Messina DJ, Hirsh EL, et al. Immunogenicity of umbilical cord tissue derived cells. *Blood.* 2008;111(1):430-438.
- [10] Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Immunoregulatory function of mesenchymal stem cells. *Eur J Immunol.* 2006;36(10):2566-2573.
- [11] Steeg PS, Bevilacqua G, Kopper L, et al. Evidence for a novel gene associated with low tumor metastatic potential. *J Natl Cancer Inst.* 1988;80(3):200-204.
- [12] Roymans D, Willems R, Van Blockstaele DR, et al. Nucleoside diphosphate kinase (NDPK/NM23) and the waltz with multiple partners: possible consequences in tumor metastasis. *Clin Exp Metastasis.* 2002;19(6):465-476.
- [13] Indinnimeo M, Cicchini C, Stazi A, et al. nm23-H1 protein expression in anal canal carcinoma: does it correlate with prognosis? *J Surg Oncol.* 2000;74(2):163-166.
- [14] Dabernat S, Larou M, Massé K, et al. Organization and expression of mouse nm23-M1 gene. Comparison with nm23-M2 expression. *Gene.* 1999;236(2):221-230.
- [15] Amendola R, Martinez R, Negroni A, et al. DR-nm23 expression affects neuroblastoma cell differentiation, integrin expression, and adhesion characteristics. *Med Pediatr Oncol.* 2001;36(1):93-96.
- [16] Shi Y, Parhar RS, Zou M, et al. Differential nm23 gene expression at the fetal-maternal interface. *Br J Cancer.* 1994;70(3):440-444.
- [17] Willems R, Slegers H, Rodrigus I, et al. Extracellular nucleoside diphosphate kinase NM23/NDPK modulates normal hematopoietic differentiation. *Exp Hematol.* 2002;30(7):640-648.
- [18] Reger RL, Tucker AH, Wolfe MR. Differentiation and characterization of human MSCs. *Methods Mol Biol.* 2008;449:93-107.
- [19] Roubelakis MG, Pappa KI, Bitsika V, et al. Molecular and proteomic characterization of human mesenchymal stem cells derived from amniotic fluid: comparison to bone marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev.* 2007;16(6):931-952.

#### 来自本文课题的更多信息一

**基金资助:** 国际科技合作项目(2008DFA30590); 广州(暨南)-香港细胞工程联合实验室项目; 国家自然科学基金(81070459); 中央高校基本科研业务费专项资金资助。

**作者贡献:** 实验设计为荣靖及刘秋英, 实验实施为荣靖, 实验评估为彭鑫磊, 资料收集为马岩岩。荣靖成文, 周向荣、罗新、王一飞审校, 王一飞对文章负责。

**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。

**伦理批准:** 脐带样本取自暨南大学附属第一医院手术室, 为正常足月剖宫产健康婴儿脐带组织, 取材之前, 产妇已完全知情同意将其脐带样本用于间充质干细胞相关研究; 且研究方案经过医院伦理委员会批准。

#### 本文创新性

**提供证据:** 于2010-11检索 ScienceDirect 数据库, 检索关键词为: “stem cell” AND “nm23” OR “NDPK”; “progenitor” AND “nm23” OR “NDPK”; “stromal cell” AND “nm23” OR “NDPK”。结果显示均无间充质干细胞与 *nm23* 基因或 NDPK 蛋白的相关报道。

**创新点说明:** 课题旨在研究基因 *nm23-h1* 与人脐带间充质干细胞分化作用的相互关系, 在目前的国内外研究中, 未有涉及该基因与间充质干细胞的相关报道。实验结果初步显示该基因的表达在细胞分化过程中呈现有规律的变化。