

# 不同来源骨髓间充质干细胞对CD34<sup>+</sup>细胞增殖的影响\*\*\*

王荣<sup>1</sup>, 刘瑞凤<sup>2</sup>, 张永翠<sup>2</sup>, 潘智慧<sup>2</sup>, 李欣<sup>2</sup>, 刘小民<sup>3</sup>, 尹国华<sup>2</sup>, 张静<sup>4</sup>, 张开明<sup>2</sup>

## Effect of different sources of bone mesenchymal stem cells on CD34<sup>+</sup> cell proliferation

Wang Rong<sup>1</sup>, Liu Rui-feng<sup>2</sup>, Zhang Yong-cui<sup>2</sup>, Pan Zhi-hui<sup>2</sup>, Li Xin<sup>2</sup>, Liu Xiao-min<sup>3</sup>, Yin Guo-hua<sup>2</sup>, Zhang Jing<sup>4</sup>, Zhang Kai-ming<sup>2</sup>

### Abstract

**BACKGROUND:** There are some significant differences of biological characteristics, immunological reaction and antigen presentation between bone mesenchymal stem cells (BMSCs) from psoriasis vulgaris (PV) patients and normal health. But there are no more differences between PV patients and aborted fetus.

**OBJECTIVE:** To study the effect of different sources of BMSCs on CD34<sup>+</sup> cell proliferation.

**METHODS:** Mononuclear cells were separated from bone marrow in PV patients and aborted fetus by density gradient centrifugation method, then the cells were cultivated and generated. The cultured supernatant was collected until 72 hours later by spreading to the second generation. The purity of CD34<sup>+</sup> cells and BMSCs was detected by flow cytometry. Cells growth was observed under inverted microscope. CD34<sup>+</sup> cells from normal human bone marrow were selected by magnetic cell sorting method, and then the cells were cultured in the BMSCs culture supernatant for 24 hours. MTT was used to detect the proliferative activity of CD34<sup>+</sup> cells.

**RESULTS AND CONCLUSION:** There was no statistic difference on the morphology of CD34<sup>+</sup> cells after cultured in the BMSCs culture supernatant derived from PV patients and aborted fetus for 24 hours. There is no significantly effect of BMSCs culture supernatant derived from PV patients and aborted fetus on the proliferation of CD34<sup>+</sup> cells ( $P > 0.05$ ).

Wang R, Liu RF, Zhang YC, Pan ZH, Li X, Liu XM, Yin GH, Zhang J, Zhang KM. Effect of different sources of bone mesenchymal stem cells on CD34<sup>+</sup> cell proliferation. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(6): 973-976.  
[http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

### 摘要

**背景:** 作者前期研究显示, 银屑病与正常人骨髓间充质干细胞的生物学特性、免疫学反应及抗原提呈功能有明显差异, 而与流产胎儿骨髓间充质干细胞无明显差异。

**目的:** 观察不同来源骨髓间充质干细胞对正常人骨髓 CD34<sup>+</sup> 细胞增殖的影响。

**方法:** 密度梯度离心法分离银屑病患者和流产胎儿骨髓单一核细胞并培养、传代, 传至第 2 代 72 h 后收集培养上清液, 流式细胞仪鉴定骨髓 CD34<sup>+</sup> 细胞及骨髓间充质干细胞纯度。倒置显微镜下观察培养细胞的生长状态, 细胞磁珠分选仪分选出的正常人骨髓 CD34<sup>+</sup> 细胞加入骨髓间充质干细胞培养上清液培养 24 h 后, 四甲基偶氮唑盐比色法检测骨髓 CD34<sup>+</sup> 细胞的增殖活性。

**结果与结论:** CD34<sup>+</sup> 细胞加入银屑病患者和流产胎儿骨髓间充质干细胞培养上清液培养 24 h 后, 细胞形态无差别。银屑病患者和流产胎儿骨髓间充质干细胞培养上清液对正常人骨髓 CD34<sup>+</sup> 细胞增殖的影响差异无显著性意义 ( $P > 0.05$ )。

**关键词:** 银屑病; CD34<sup>+</sup> 细胞; 骨髓间充质干细胞; 增殖活性

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.06.005

王荣, 刘瑞凤, 张永翠, 潘智慧, 李欣, 刘小民, 尹国华, 张静, 张开明. 不同来源骨髓间充质干细胞对 CD34<sup>+</sup> 细胞增殖的影响[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(6):973-976. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

## 0 引言

骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)是骨髓中除造血干细胞以外的另一类干细胞类型, 也是支持着骨髓造血干细胞的增殖、分化的微环境<sup>[1-3]</sup>。经过多年来的研究, 推测骨髓造血细胞可能参与了银屑病的发病<sup>[4]</sup>。前期作者的比较研究显示, 银屑病患者与正常人BMSCs生物学特性<sup>[5-6]</sup>、免疫学反应及抗原提呈功能差异有显著性意义, 银屑病患者与流产胎儿BMSCs差异无显著性意义。流产胎儿BMSCs处于发育阶段, 提示银屑病患者BMSCs免疫状况明显下降, 与流产胎儿BMSCs免疫反应处于同一水平。CD34<sup>+</sup>是造血

干/祖细胞的表面标志, BMSCs是骨髓中另一类干细胞, 对CD34<sup>+</sup>细胞的发育、分化有重要作用。因此, 进一步详细了解流产胎儿与银屑病患者BMSCs其他的生物学差异, 以期对后续研究提供重要依据。故本实验通过培养流产胎儿与银屑病患者BMSCs获取其培养上清, 观察两种培养上清液对正常人骨髓CD34<sup>+</sup>细胞增殖影响的差异。

## 1 材料和方法

**设计:** 细胞学水平, 体外对比观察实验。

**时间及地点:** 于2010-07/2011-05在太原市中心医院皮肤科实验室完成。

**材料:** 正常人、流产胎儿及银屑病患者骨

<sup>1</sup>Second Clinical Medical College of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China;

<sup>2</sup>Department of Dermatology, Taiyuan Central Hospital, Taiyuan 030009, Shanxi Province, China;

<sup>3</sup>Department of Inter Medicine, Hospital of Zhongbei University, Taiyuan 030051, Shanxi Province, China;

<sup>4</sup>Department of Cardiology, Taiyuan Central Hospital, Taiyuan 030009, Shanxi Province, China

Wang Rong★, Studying for master's degree, Second Clinical Medical College of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China  
wrsuny@126.com

Correspondence to: Zhang Kai-ming, Doctor, Chief physician, Department of Dermatology, Taiyuan Central Hospital, Taiyuan 030009, Shanxi Province, China  
zhangkaiming@sina.com

Correspondence to: Zhang Jing, Chief physician, Department of Cardiology, Taiyuan Central Hospital, Taiyuan 030009, Shanxi Province, China  
zhangjing@sina.com

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No.30972657\*; Shanxi Natural Science Foundation, No.2008011082-2\*

Received: 2011-07-16  
Accepted: 2011-09-27

<sup>1</sup>山西医科大学第二临床医学院, 山西省太原市 030001; <sup>2</sup>太原市中心医院, <sup>3</sup>皮肤科, <sup>4</sup>心内科, 山西省太原市 030009; <sup>5</sup>中北大学医院大内科, 山西省太原市 030051

王荣★, 女, 1979年生, 浙江省临安市人, 汉族, 2004年长治医学院毕业, 山西医科大学在读硕士, 主要从事银屑病发病机制方面的研究。  
wrsuny@126.com

通讯作者: 张开明, 博士, 主任医师, 太原市中心医院皮肤科, 山西省太原市 030009  
zhangkaiming@sina.com

通讯作者: 张静, 主任医师, 太原市中心医院心内科, 山西省太原市 030009  
zhangjing@sina.com

中图分类号: R394.2  
文献标识码: A  
文章编号: 1673-8225(2012)06-00973-04

收稿日期: 2011-07-16  
修回日期: 2011-09-27  
(20110701014/G·C)

髓, 实验方案得到医院伦理委员会批准。

**流产胎儿组:** 选择9例孕期19~30周流产胎儿, 男4例, 女5例, 平均孕周为25周。胎儿母亲健康, 因故自愿选用米非司酮联合米索前列醇终止妊娠, 胎盘、脐带与胎体连接完整, 低温保存并防止细菌污染标本, 所有取材均征得供者同意。

**银屑班组:** 9例患者骨髓取材自太原市中心医院皮肤科经临床以及病理确诊进行期寻常型银屑病患者, 男5例, 女4例, 年龄24~49岁, 平均37.8岁, 病程1个月~20余年, 所有取材均征得患者同意。

**纳入标准:** ①符合临床及病理诊断确诊进行期寻常型银屑病诊断标准者<sup>[7]</sup>。②16岁以上, 无心、脑、肝、肾疾患及其他内科疾病者。③取材前3个月均未系统使用过免疫抑制剂、糖皮质激素、维A酸类及影响造血的抗生素类药物者。

**排除标准:** ①年龄超过60岁者。②哺乳期、妊娠妇女。③免疫功能低下者。④皮损面积小于体表面积20%的银屑病患者。

**正常人骨髓:** 正常人骨髓取自太原市中心医院血液科筛选的骨髓正常者, 取材征得本人同意。

**主要试剂及仪器:**

| 主要试剂及仪器   | 来源                 |
|---|--------------------|
| CD34 <sup>+</sup> 鼠抗人单抗(PE 标记)                  | BD 公司              |
| CD34 <sup>+</sup> 细胞无血清培养基                      | Gibco 公司           |
| DMEM/F12 培养基、胎牛血清                               | Hyclone 公司         |
| 干细胞因子、白细胞介素 3、Humankine FLT3 Ligand human(FLT3) | Sigma 公司           |
| 淋巴细胞分离液   | 天津灏洋公司             |
| 倒置相差显微镜   | Olympus 公司         |
| 37 °C 恒温培养箱                                     | Shel Lab 公司        |
| VarioMACS 分选器                                   | Miltenyi Biotec 公司 |
| 超净工作台   | 苏州净化设备有限公司         |

**实验方法:**

**骨髓单一核细胞分离以及BMSCs培养上清液的收集:**

胚胎四肢骨髓的获得: 对胚胎骨髓处理方法, 参考国外对相同组织处理方法<sup>[8]</sup>, 主要步骤为: 在无菌条件下, 截取胚胎四肢长骨, 用生理盐水冲洗四肢骨长骨的骨髓。

银屑病患者髂后上棘抽取骨髓5 mL, 肝素抗凝, 用含体积分数10%胎牛血清的DMEM/F12培养基1:2稀释, 用淋巴细胞分离液密度梯度离心(2 000 r/min, ×20 min), 再用培养基洗1

次(1 000 r/min, ×8 min), 分离出骨髓单一核细胞; 收集BMSCs培养上清液: 密度梯度离心法分离银屑病患者及引产胎儿骨髓单一核细胞, 将分离到的细胞以1×10<sup>9</sup> L<sup>-1</sup>加入含体积分数20%胎牛血清、100 U/mL青霉素及0.1 g/L链霉素的DMEM/F12培养液中, 每孔1 mL培养于24孔培养板中, 置37 °C、体积分数5%饱和湿度的CO<sub>2</sub>培养箱中孵育。当BMSCs传至第2代72 h后, 取一孔做流式细胞术鉴定BMSCs的纯度, 其纯度可达94%以上, 收集培养上清液, 离心(2 000 r/min×15 min), 0.45 μm微孔滤膜过滤分装, -20 °C保存待用。

**CD34<sup>+</sup>细胞的分选以及流式细胞术鉴定:** 按照美天旎磁珠分选仪进行CD34<sup>+</sup>细胞的分选<sup>[9]</sup>: 取正常人骨髓, 髂后上棘抽取骨髓5 mL, 肝素抗凝, 生理盐水等倍稀释后加于淋巴分离液上, 比例为2:1, 室温下进行密度梯度离心(2 000 r/min, ×20 min); 吸出白膜层, 小心的移到其他试管中, 并用生理盐水进行洗涤, 离心(1 000 r/min, ×8 min)。随后, 按照美天旎磁珠分选仪要求, 进行CD34<sup>+</sup>细胞分选; 分选完毕后用流式细胞术进行鉴定, 经过鉴定后确定经过分选的CD34<sup>+</sup>细胞的纯度可达90%以上。

**CD34<sup>+</sup>细胞在不同培养环境下进行培养:** 分选出来的CD34<sup>+</sup>细胞分别加入银屑病患者和流产胎儿BMSCs的培养上清液培养24 h, 具体方法: 用含干细胞因子50 μg/L、白细胞介素3 20 μg/L、FLT3 20 μg/L、青霉素100 U/mL、链霉素100 mg/L的CD34<sup>+</sup>细胞无血清培养基调整细胞浓度为5 000/孔, 以每孔100 μL接种于96孔培养板上, 每例样本采用1个样本孔及2个复孔, 另外取6个孔仅加入CD34<sup>+</sup>细胞无血清培养基, 于37 °C, 体积分数5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度培养箱中培养。

**四甲基偶氮唑盐(MTT)比色法对CD34<sup>+</sup>细胞不同培养条件下的增殖情况进行比较:** 倒置显微镜下观察培养细胞的生长状态包括细胞形态变化及增殖状态。取上述分选出来的经过鉴定的CD34<sup>+</sup>细胞以每孔5 000细胞接种于96孔培养板上, 进行培养24 h后, 采用MTT比色法进行增殖活性的比较。

**主要观察指标:** 流式细胞术鉴定骨髓CD34<sup>+</sup>细胞及BMSCs纯度, MTT比色法检测骨髓CD34<sup>+</sup>细胞的增殖活性。

**统计学分析:** 由第一作者采用SPSS 16.0软件完成统计处理, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用2个独立样本均数的t 检验, P < 0.05

认为差异有显著性意义。

## 2 结果

**2.1 流式细胞术行BMSCs纯度鉴定及分选完毕后 CD34<sup>+</sup> 细胞纯度鉴定结果** 传至第2代的72 h BMSCs 的HLA-DR-FITC、CD45-PE、CD34-FITC均呈阴性；CD29-PE、CD44-FITC可达90%以上。用流式细胞术对分选完毕的CD34<sup>+</sup> 细胞进行纯度鉴定见图1。

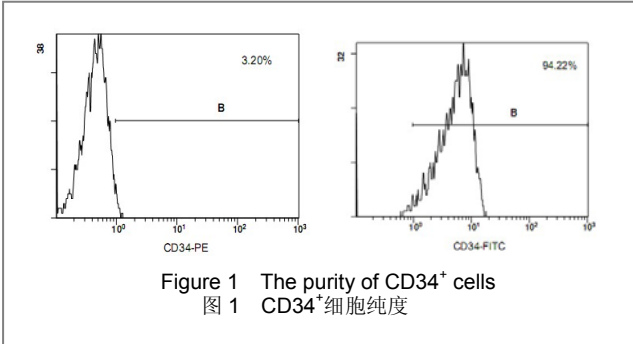


Figure 1 The purity of CD34<sup>+</sup> cells  
图1 CD34<sup>+</sup> 细胞纯度

**2.2 倒置显微镜下观察细胞的生长状况** 美天施磁珠分选仪分选 CD34<sup>+</sup> 细胞后，加入银屑病患者和流产胎儿 BMSCs 的培养上清液接种于 96 孔培养板，细胞未进行染色，直接在倒置显微镜下观察，CD34<sup>+</sup> 细胞的形态基本上均为圆形，见图 2。

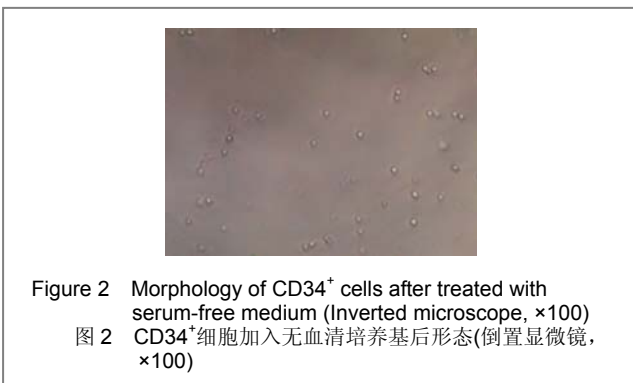


Figure 2 Morphology of CD34<sup>+</sup> cells after treated with serum-free medium (Inverted microscope, ×100)  
图2 CD34<sup>+</sup> 细胞加入无血清培养基后形态(倒置显微镜, ×100)

培养24 h后，倒置显微镜下银屑病患者组细胞数量增多，生长状态良好，细胞的形态基本上也为圆形，见图3。

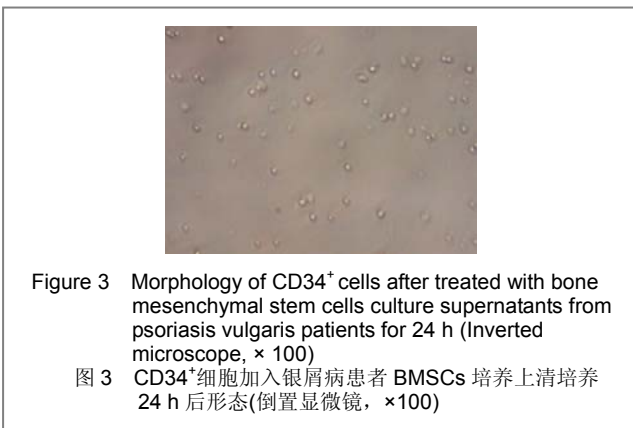


Figure 3 Morphology of CD34<sup>+</sup> cells after treated with bone mesenchymal stem cells culture supernatants from psoriasis vulgaris patients for 24 h (Inverted microscope, ×100)  
图3 CD34<sup>+</sup> 细胞加入银屑病患者 BMSCs 培养上清培养 24 h 后形态(倒置显微镜, ×100)

而流产胎儿组培养24 h后细胞数量也增多，生长状态良好，细胞的形态基本上没有变化，也为圆形，见图4。两者在倒置显微镜下观察，基本上没有区别。



Figure 4 Morphology of CD34<sup>+</sup> cells after treated with bone mesenchymal stem cells culture supernatants from aborted fetus for 24 h (Inverted microscope, ×100)  
图4 CD34<sup>+</sup> 细胞加入流产胎儿 BMSCs 培养上清培养 24 h 后形态(倒置显微镜, ×100)

**2.3 BMSCs培养上清液对正常人骨髓CD34<sup>+</sup> 细胞增殖活性的影响** 银屑病患者和流产胎儿BMSCs培养上清液加入到含CD34<sup>+</sup> 细胞的无血清培养基24 h后，银屑病患者和流产胎儿BMSCs培养上清液对骨髓CD34<sup>+</sup> 细胞增殖影响的差异无显著性意义( $P > 0.05$ )，见表1。

| 表1 CD34 <sup>+</sup> 细胞不同培养条件下增殖情况比较(MTT 比色法)  |                        |
|--|------------------------|
| Table 1 CD34 <sup>+</sup> proliferation under different culture conditions (MTT assay) |                        |
| Group  | Proliferation activity |
| Psoriasis vulgaris   | 0.045 3±0.002 9        |
| Aborted fetuses  | 0.045 6±0.003 5        |
| <i>t</i>   | -0.258                 |
| <i>P</i>   | 0.80                   |

## 3 讨论

近年研究初步表明，造血细胞在银屑病发病中起关键作用<sup>[10]</sup>，作者研究发现银屑病患者造血微环境、CD34<sup>+</sup> 细胞有异常<sup>[11-14]</sup>。BMSCs是多能干细胞，可分化为成骨细胞、肌细胞及血管内皮细胞等多种细胞，也可参与免疫调节反应，同时BMSCs具有分泌细胞因子的作用<sup>[15-17]</sup>，细胞因子的生物学作用极为多样，包括参与细胞增殖和分化、生长抑制、凋亡、趋化和随意运动等。近年来，多项研究表明细胞因子的不同组合能够促进CD34<sup>+</sup> 细胞体外增殖<sup>[18-22]</sup>。BMSCs是骨髓造血干细胞微环境重要的细胞成分，且对于造血干细胞的增殖具有促进作用<sup>[23-25]</sup>。研究表明BMSCs所分泌巨噬细胞集落刺激因子、白细胞介素6, 7, 8, 11, 12, 14, 15等细胞因子，对造血祖细胞生长具有支持作用<sup>[26]</sup>。本实验结果显示，银屑病患者和引产儿BMSCs分泌粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、巨噬细胞集落刺激因子、白细胞介素7, 11水平差异无显著性意义，且两者抗原提呈功能降低且免疫特性差异无显著性意义。因此，实验通过观察



银屑病患者和流产胎儿BMSCs培养上清液对CD34<sup>+</sup>细胞增殖是否有影响。结果显示,两者之间差异无显著性意义。研究表明,银屑病患者BMSCs对于CD34<sup>+</sup>细胞增殖的影响与流产胎儿BMSCs处于同一水平,也初步在实验上印证了本实验室前期有关银屑病患者和流产儿BMSCs方面的研究,为实验室的后续研究提供了基础。

有研究表明,流产胎儿与成人BMSCs在支持造血方面有差异<sup>[27]</sup>,提示流产胎儿BMSCs与成人BMSCs在免疫反应以及生物学特性方面可能存在差异。本实验结果显示,银屑病患者BMSCs与流产胎儿BMSCs有相似之处,但银屑病患者与成人有差异,即银屑病患者分泌细胞因子水平有异常,且趋向于流产胎儿分泌水平。BMSCs是造血微环境的重要组成部分,对造血干细胞的增殖、分化均具有重要的作用<sup>[28]</sup>,银屑病患者BMSCs活性有异常,推测可能是导致银屑病患者造血干细胞活性异常的内在原因。

#### 4 参考文献

[1] Grove JE, Bruscia E, Krause DS, et al. Plasticity of bone-derived stem cells. *Stem Cells*. 2004;22(4):487-500.

[2] Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*. 2002;418(6893):41-49.

[3] Bonnet D. Biology of human bone marrow stem cells. *Clin Exp Med*. 2003;3(3):140-149.

[4] Zhang KM, Li XH. *Zhongguo Pifuxingbingxue*. 2004;18(8):501-503. 张开明,李新华.骨髓,银屑病发病“中枢”? [J].*中国皮肤性病学*,2004,18(8):501-503.

[5] Zhang K, Liu R, Yin G, et al. Differential cytokine secretion of cultured bone marrow stromal cells from patients with psoriasis and healthy volunteers. *Eur J Dermatol*. 2010;20(1):49-53.

[6] Deng Q, Liu RF, Wang L, et al. *Linchuang Pifuke*. 2010;39(9):545-547. 邓起,刘瑞风,王丽,等.银屑病患者骨髓基质细胞白介素-8、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子分泌水平的实验研究[J].*临床皮肤科*,2010,39(9):545-547.

[7] Shu JS. *Hubei Zhongyi Xueyuan*. 2009. 舒建山.中西医结合治疗寻常型银屑病的系统评价[D].湖北中医药大学,2009.

[8] Zhang ZY, Teoh SH, Chong MS, et al. Superior osteogenic capacity for bone tissue engineering of fetal compared with perinatal and adult mesenchymal stem cells. *Stem Cells*. 2009;27(11):126-137.

[9] Zhang Y, Li LS, Fu XH, et al. *Hunan Shifan Daxue Xuebao: Yixueban*. 2004;1(1):36-38. 张勇,李乐赛,符晓华,等.脐血CD34<sup>+</sup>细胞MACS分选及意义[J].*湖南师范大学学报:医学版*,2004,1(1):36-38.

[10] Li X, Fan X, Zhang K, et al. Influence of psoriatic peripheral blood CD4<sup>+</sup> T and CD8<sup>+</sup> T lymphocytes on cmyc, Bclxl and Ki67 gene expression in keratinocytes. *Eur J Dermatol*. 2007;17(5):392-396.

[11] Zhang K, Zhang R, Li X, et al. The mRNA expression and promoter methylation status of the p16 gene in colonyforming cells with high proliferative potential in patients with psoriasis. *ClinExp Dermatol*. 2007;32(6):702-708.

[12] Niu XP, Li XH, Zhang KM, et al. *Zhongguo Pifu Xingbingxue*. 2007;21(4):196-198. 牛旭平,李新华,张开明,等.银屑病患者骨髓造血细胞体外增殖活性研究[J].*中国皮肤性病学*,2007,21(4):196-198.

[13] Zhang K, Li X, Yin G, et al. Functional characterization of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells differentiated in vitro from bone marrow-derived haematopoietic cells of psoriasis patients with a family history of the disorder. *Br J Dermatol*. 2008;158(2):298-305.

[14] Li JQ, Li XH, Hou RX, et al. *Zhongguo Mianyixue Zazhi*. 2009;25(9):654-657. 李俊琴,李新华,侯瑞霞,等.银屑病患者骨髓CD34<sup>+</sup>细胞RUNX1及其靶基因SLC9A3R1的研究[J].*中国免疫学杂志*,2009,25(9):654-657.

[15] Liu RF, Yin GH, Zhang KM. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2009;13(14):2713-2716. 刘瑞风,尹国华,张开明.银屑病患者骨髓基质细胞分泌干细胞因子和粒细胞集落刺激因子的水平[J].*中国组织工程研究与临床康复*,2009,13(14):2713-2716.

[16] Liu RF, Yin GH, Zhang KM. *Zhongguo Pifu Xingbingxue*. 2009;23(3):132-134. 刘瑞风,尹国华,张开明.银屑病患者骨髓基质细胞分泌TNF- $\alpha$ ,LIF和HGF的分析[J].*中国皮肤性病学*,2009,23(3):132-134.

[17] Yin GH, Liu RF, Zhang KM. *Xiandai Mianyixue*. 2009;29(5):405-408. 尹国华,刘瑞风,张开明.银屑病患者骨髓基质细胞IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-11分泌水平的实验研究[J].*现代免疫学*,2009,29(5):405-408.

[18] Kobari L, Pflumio F, Giarratana M, et al. In vitro and in vivo evidence for the long-term multilineage (myeloid, B, NK, and T) reconstitution capacity of ex vivo expanded human CD34<sup>+</sup> cord blood cells. *Exp Hematol*. 2000;28(12):1470-1480.

[19] Verstegen MM, van Hennik PB, Terpstra W, et al. Transplantation of human umbilical cord blood cells in macrophage-depleted SCID mice: evidence for accessory cell involvement in expansion of immature CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> cells. *Blood*. 1998;91(6):1966-1976.

[20] Piacibello W, Sanavio F, Severino A, et al. Engraftment in nonobese diabetic severe combined immunodeficient mice of human CD34<sup>+</sup> cord blood cells after ex vivo expansion: evidence for the amplification and self-renewal of repopulating stem cells. *Blood*. 1999;93(11):3736-3749.

[21] Danet GH, Lee HW, Luongo JL, et al. Dissociation between stem cell phenotype and NOD/SCID repopulating activity in human peripheral blood CD34<sup>+</sup> cells after ex vivo expansion. *Exp Hematol*. 2001;29(12):1465-1473.

[22] Chute JP, Muramoto GG, Fung J, et al. Soluble factors elaborated by human brain endothelial cells induce the concomitant expansion of purified human BM CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> cells and SCID-repopulating cells. *Blood*. 2005;105(2):576-583.

[23] Ding G, Liu Y, Wang SL. *Beijing Kouqiang Yixue*. 2008;16(2):113-115. 丁刚,刘怡,王松灵.间充质干细胞的免疫学特性[J].*北京口腔医学*,2008,16(2):113-115.

[24] Toth ZE, Leker RR, Shahar T, et al. The combination of granulocyte colony-stimulating factor and stem cell factor significantly increases the number of bone marrow-derived endothelial cells in brains of mice following cerebral ischemia. *Blood*. 2008;111(12):5544-5552.

[25] Smart N, Riley PR. The stem cell movement. *Circ Res*. 2008;102(10):1155-1168.

[26] Deans RJ, Moselev AB. Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses. *Exp Hematol*. 2000;28(8):875-884.

[27] Sun XJ, Yang NL. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2009;13(14):2701-2704. 孙晓娟,杨乃龙.成人与胎儿骨髓间充质干细胞生物学性状的比较[J].*中国组织工程研究与临床康复*,2009,13(14):2701-2704.

[28] McNiece I, Briddell R. Ex vivo expansion of hematopoietic progenitor cells and mature cells. *Exp Hematol*. 2001;29(2001):3-11.

#### 来自本文课题的更多信息--

**基金声明:** 国家自然科学基金(30972657), 项目名称: 银屑病患者骨髓造血干细胞定向分化为 T 细胞过程 Notch 信号转导通路的动态研究; 山西省自然科学基金(2008011082-2), 项目名称: 系统性红斑狼疮患者骨髓 CD34<sup>+</sup> 细胞体外定向分化的 T 细胞活性研究。

**作者贡献:** 实验设计及干预实施为第一、二作者, 评估为全部作者, 评估者经过正规培训, 采用盲法评估。

**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:** 实验方案得到医院伦理委员会批准。

**本文创新性:** 检索中国知网 2010-07/12 的相关文献, 前期研究发现, 银屑病患者骨髓造血细胞活性有异常, 而以 BMSCs 为主组成的造血微环境是造血细胞赖以生长发育的内环境, BMSCs 分泌多种细胞因子来支持造血, 而且对 CD34<sup>+</sup> 细胞的发育、分化有重要作用。文章结果显示, 银屑病患者与正常成人有差异, 即银屑病患者分泌细胞因子水平有差异, 且趋向于流产胎儿分泌水平。银屑病患者 BMSCs 活性有异常, 推测可能是导致银屑病患者造血干细胞活性异常的内在原因。