

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.14.010

[http://www.crter.org]

许婷婷, 张海萍, 王跃嗣. 酸性成纤维细胞生长因子与胚胎干细胞的造血分化[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(14):2538-2543.

酸性成纤维细胞生长因子与胚胎干细胞的造血分化**

许婷婷, 张海萍, 王跃嗣

滨州医学院干细胞研究所, 山东省烟台市 264003

文章亮点:

实验用小鼠胚胎干细胞作为研究对象, 探讨酸性成纤维细胞生长因子对造血祖细胞表面标记物 Flk-1⁺与 CD133⁺细胞的影响, 发现酸性成纤维细胞生长因子可促进 Flk-1⁺与 CD133⁺细胞的产生, 证明酸性成纤维细胞生长因子能够有效地促进拟胚体的扩增以及成血管血液干细胞的产生与增殖。

关键词:

干细胞; 肿瘤干细胞; 小鼠胚胎干细胞; 拟胚体; 酸性成纤维细胞生长因子; Flk-1; CD133; 国家自然科学基金; 干细胞图片文章

摘要

背景: 有研究表明, 在卵黄囊造血、胎肝造血和胚胎干细胞向造血干细胞分化过程中, 酸性成纤维细胞生长因子可强烈表达。

目的: 探讨酸性成纤维细胞生长因子对小鼠胚胎干细胞造血分化的作用, 在拟胚体培养阶段施加酸性成纤维细胞生长因子, 验证酸性成纤维细胞生长因子对造血形成细胞产生的调控作用。

方法: 培养小鼠胚胎干细胞, 将饲养层上生长状态良好的小鼠胚胎干细胞用胰酶消化成单个细胞后, 利用悬滴法制备拟胚体, 拟胚体继续悬浮培养, 以 1, 2 和 5 μg/L 酸性成纤维细胞生长因子分别培养 3, 5, 7, 9 d, 通过免疫荧光法检测胚胎干细胞与拟胚体中酸性成纤维细胞生长因子的表达, 流式细胞术检测 Flk-1⁺与 CD133⁺阳性细胞率。

结果与结论: 酸性成纤维细胞生长因子在拟胚体中呈阳性表达。在 5 μg/L 酸性成纤维细胞生长因子作用下, Flk-1⁺细胞随时间增加表达增加, CD133⁺细胞表达模式与 Flk-1⁺细胞类似。在 1 μg/L 时, Flk-1⁺细胞在 7 d 时表达达到高峰, 随后下降。CD133⁺细胞表达结果类似。而在 2 μg/L 时, 5 d 时 Flk-1⁺细胞表达升高, 随后下降, 在 9 d 时表达又增高。而 CD133⁺细胞则总体呈现升高趋势。酸性成纤维细胞生长因子可促进 Flk-1⁺与 CD133⁺细胞的产生, 证明酸性成纤维细胞生长因子能够有效促进拟胚体的扩增以及成血管血液干细胞的产生与增殖。

Acidic fibroblast growth factor effect on hematopoietic differentiation of embryonic stem cells

Xu Ting-ting, Zhang Hai-ping, Wang Yue-si

Stem Cell Institute of Binzhou Medical College, Yantai 264003, Shandong Province, China

Abstract

BACKGROUND: Studies have shown that acidic fibroblast growth factor can be strongly expressed in the yolk sac hematopoietic cells and fetal liver hematopoietic cells and in the differentiation process of embryonic stem cells to hematopoietic stem cells.

OBJECTIVE: To explore the effect of acidic fibroblast growth factor on hematopoietic differentiation of mice embryonic stem cells, to test and verify the regulation effect of acidic fibroblast growth factor in the formation of hematopoietic cells through adding the acidic fibroblast growth factor into the embryoid body culture stages.

许婷婷★, 女, 1987年生, 山东省淄博市人, 汉族, 滨州医学院在读硕士, 主要从事干细胞发育分化研究。

xunuo258776507@163.com

通讯作者: 王跃嗣, 博士, 副教授, 滨州医学院干细胞研究所, 山东省烟台市 264003
wys7416@163.com

中图分类号: R318
文献标识码: A
文章编号: 2095-4344
(2013)14-02538-06

收稿日期: 2012-06-11
修回日期: 2012-07-12
(20120411007/W·C)

Xu Ting-ting★, Studying for master's degree, Stem Cell Institute of Binzhou Medical College, Yantai 264003, Shandong Province, China xunuo258776507@163.com

Corresponding author: Wang Yue-si, Doctor, Associate professor, Stem Cell Institute of Binzhou Medical College, Yantai 264003, Shandong Province, China wys7416@163.com

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 30801353*

Received: 2012-06-11

Accepted: 2012-07-12

METHODS: The mouse embryonic stem cells were cultured and then digested into single cells using trypsin when they were in good conditions on the feeder layer. The embryoid bodies were prepared with hanging drop method and then continue suspension cultured for 3, 5, 7 and 9 days with 1, 2 and 5 $\mu\text{g/L}$ acidic fibroblast growth factor. The expression of acidic fibroblast growth factor in embryonic stem cell and embryoid bodies was detected with immunofluorescence, and the Flk-1⁺ and CD133⁺ positive rates were detected with flow cytometry.

RESULTS AND CONCLUSION: Acidic fibroblast growth factor showed positive expression in embryoid bodies. In the effect of 5 $\mu\text{g/L}$ acidic fibroblast growth factor, Flk-1⁺ cells expression was increased with time increasing, the CD133⁺ cells expression patterns were similar to Flk-1⁺ cells. In the effect of 1 $\mu\text{g/L}$ acidic fibroblast growth factor, Flk-1⁺ cells expression peaked at 7 days and then decreased, and the CD133⁺ cells showed similar expression patterns. But in the effect of 2 $\mu\text{g/L}$ acidic fibroblast growth factor, Flk-1⁺ cells expression was increased at 5 days, then decreased, and increased again at 9 days; while CD133⁺ cells expression emerged a rising trend totality. Acidic fibroblast growth factor can promote the generation of Flk-1⁺ and CD133⁺ cells, suggesting that acidic fibroblast growth factor can effectively promote the amplification of embryonic body and the production and proliferation of hemangioblasts.

Key Words: stem cells; tumor stem cells; mouse embryonic stem cells; embryoid body; acidic fibroblast growth factor; Flk-1; CD133; National Natural Science Foundation of China; stem cell photographs-containing paper

Xu TT, Zhang HP, Wang YS. Acidic fibroblast growth factor effect on hematopoietic differentiation of embryonic stem cells. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2013;17(14): 2538-2543.

0 引言

胚胎干细胞是一类拥有强大的自我复制能力和发育的全能型的全能干细胞, 在体外可以定向诱导分化成某种特定的细胞类型, 胚胎干细胞的这些特点成为细胞治疗的新希望, 也使胚胎干细胞的相关研究成为生物界的热门领域^[1]。在胚胎干细胞向其他各种细胞类型分化的研究模型中, 向造血细胞分化的研究是较多的一部分。成血管血液干细胞是造血干细胞的前体细胞, 具有双潜能性, 是造血干细胞和成血管母细胞的祖细胞。因此其在胚胎造血和血管形成过程中具有重要作用。目前已经发现了很多因子与胚胎干细胞造血分化过程相关, 如wnt、notch、shh、骨形态发生蛋白等, 但是酸性成纤维细胞生长因子作为成纤维生长因子家族的重要成员, 对细胞的增殖与分化具有重要作用。有研究显示, 在卵黄囊造血分化过程中, 酸性成纤维细胞生长因子可强烈表达^[2]。酸性成纤维细胞生长因子在胚胎造血方面的研究国内外很少, 实验利用向拟胚体培养基中添加酸性成纤维细胞生长因子, 检测Flk-1⁺与CD133⁺细胞的变化情况, 从而探讨酸性成纤维细胞生长因子在胚胎干细胞造血分化中的作用。

1 材料和方法

设计: 单一样本观察。

时间及地点: 实验于2011年7至12月在滨州医学院干细胞研究所完成。

材料:

主要细胞及试剂:

Main cells and reagents:

细胞及试剂	来源
小鼠胚胎干细胞 D3 细胞系	中国科学院上海生命科学研究所以
高糖 DMEM 培养基(H-DMEM)、胎牛血清	美国 Hyclone 公司
免疫荧光相关抗体	santa cruz 公司
明胶和胰蛋白酶、L-谷氨酰胺、非必需氨基酸、 β -巯基乙醇	美国 Sigma 公司
二甲基亚砜	浙江海正药业股份有限公司
LIF(10^6 U)	MILLIPORE 公司

实验方法:

溶液配制: ①胚胎干细胞培养基: H-DMEM+体积分数15%胎牛血清+2 mmol/L谷氨酰胺+0.1 mmol/L β -巯基乙醇+非必需氨基酸+ 10^6 U/LIF。②消化液: 2.5 g/L胰蛋白酶-0.02%EDTA。③冻存液: 体积分数为90%的胎牛血清+10%二甲基亚砷。④0.01 mol/L PBS配制: NaCl 8.0 g/L; KCl 0.2 g/L; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 2.89 g/L; KH_2PO_4 0.2 g/L; 依次溶解于三蒸水中, 定容后调pH达7.4。⑤0.1%明胶。

胚胎干细胞的复苏: 培养方法参照Kurosawa^[3]方法。从液氮中取出冰冻的小鼠胚胎干细胞冻存管, 立即投入37 °C水浴中快速旋转以迅速解冻(控制在1 min之内), 待融化剩一片冰晶时消毒冻存管外壁拿入超净工作台, 移入预先加有胚胎干细胞培养液的离心管中, 1 000 r/min, 离心5 min, 弃上清, 吹打均匀后按 $1 \times 10^6/\text{cm}^2$ 密度接种于丝裂霉素处理过的饲养层细胞之上, 放入37 °C, 体积分数5%CO₂培养箱中培养。次日起开始更换培养液, 每天更换1次。第二三天可以看见微小的克隆出现, 之后逐渐长大, 复苏后第4-6天传代, 具体情况视细胞生长情况而定。

拟胚体制备: 当传代的胚胎干细胞的在饲养层细胞上生长2 d后, 镜下观察呈明显突起的集落状态, 克隆边缘与周围饲养层细胞分界清晰时, 用差速贴壁法去除饲养层细胞, 收集悬液后用于制备拟胚体, 离心后用未添加白血病抑制因子的胚胎干细胞培养液重悬, 按 $1 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$ 的细胞浓度以每滴25 μL 接种于10 cm培养皿盖上, 注意每滴间的距离不宜太近或太远, 皿内加10 mL PBS悬滴培养于CO₂培养箱内, 24 h后大体可见悬滴内白色颗粒状物, 48 h后收集。

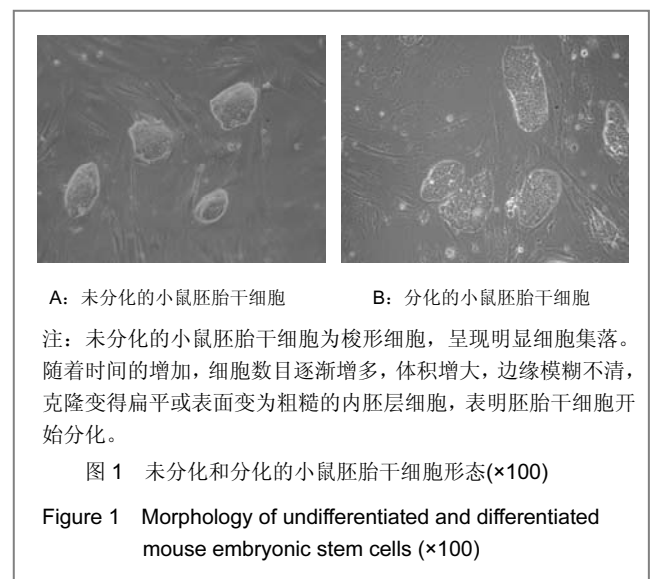
细胞的免疫荧光染色: ①胚胎干细胞差速贴壁30 min后, 吸取上层悬液按 10^8 L^{-1} 种在预铺有0.1%明胶的24孔板上。②在37 °C, 体积分数5%CO₂饱和湿度的培养箱中培养24 h。③弃旧培养液, PBS清洗3 min, 40 g/L多聚甲醛室温固定20 min。④PBS清洗3 min, 0.5% TritonX-100孵育15 min; PBS清洗2次, 5 min/次。⑤体积分数2%羊血清封闭20 min; 加入体积分数1%牛血清白蛋白稀释的1:100抗兔酸性成纤维细胞生长因子多克隆抗体, 4 °C孵育过夜。⑥加入1%BSA稀释的1:200 FITC标记的鼠抗羊二抗, 避光条件下室温孵育1 h; PBS漂洗2次, 5 min/次。⑦DAPI染色5 min; 抗淬灭缓冲甘油封固剂封固, 倒置荧光显微镜观察拍照。⑧对照组用PBS代替一抗, 其余步骤均同。实验组和对照组各设3个复孔。

流式细胞仪检测: ①悬滴法收集48 h拟胚体后, 用悬浮法继续培养, 在分化培养液中分别添加1, 2和5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的酸性成纤维细胞生长因子, 收集经不同质量浓度的酸性成纤维细胞生长因子悬浮培养后的拟胚体。②用2.5 g/L胰蛋白酶-0.02%EDTA将拟胚体消化10-20 min, 轻轻吹打成单细胞悬液, 培养9 d的拟胚体较难消化可适当延长时间。③离心后弃去上清液, 用40 g/L多聚甲醛固定10 min; PBS漂洗1次, 3 min。④离心后弃去上清液, 0.5%TritonX-100孵育15 min; PBS漂洗1次, 5 min。⑤离心后弃去上清液, 体积分数5%羊血清封闭20 min。⑥分别加入1%BSA稀释的1:100抗兔Flk-1多克隆抗体、抗羊CD133多克隆抗体, 4 °C孵育过夜。⑦分别加入1%BSA稀释的1:200FITC标记的鼠抗羊二抗、CY3标记的羊抗兔二抗, 避光条件下室温孵育1 h。⑧加入PBS后转入流式管中, 流式细胞仪检测。⑨调零组用相同状态未添加酸性成纤维细胞生长因子培养所得细胞。分别培养3, 5, 7, 9 d后用流式细胞术检测其中Flk-1和CD133阳性细胞率。

主要观察指标: ①小鼠胚胎干细胞的形态学观察结果。②酸性成纤维细胞生长因子在胚胎干细胞中的表达。③拟胚体中酸性成纤维细胞生长因子的表达。④流式细胞仪检测Flk-1阳性细胞率。⑤流式细胞术检测CD133阳性细胞率。

2 结果

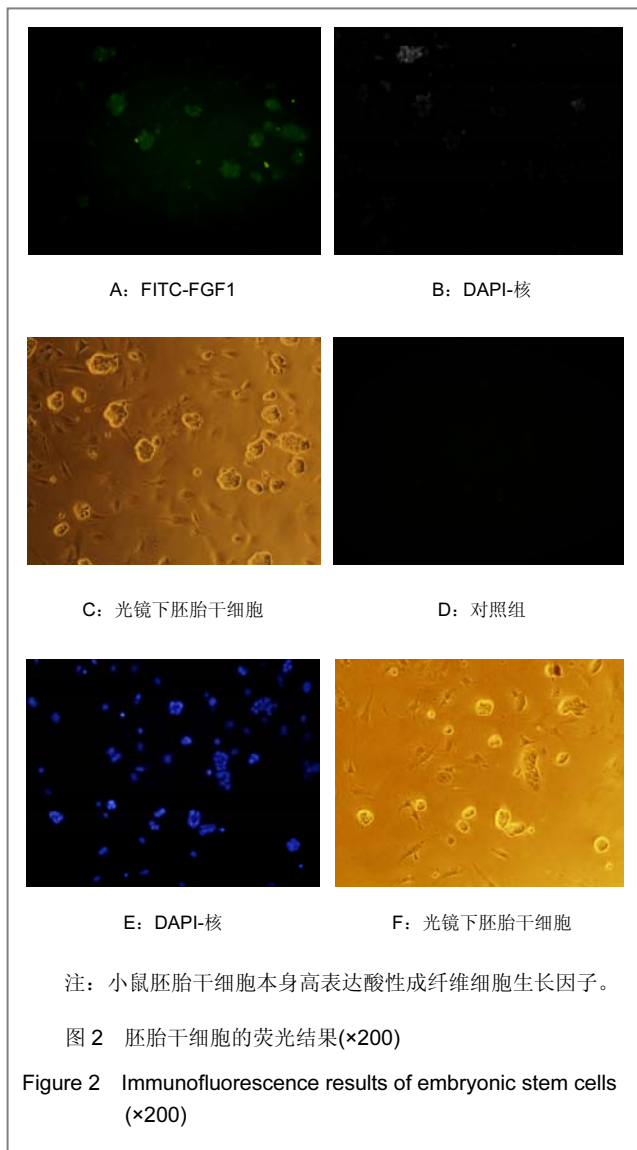
2.1 小鼠胚胎干细胞的形态学观察 见图1。



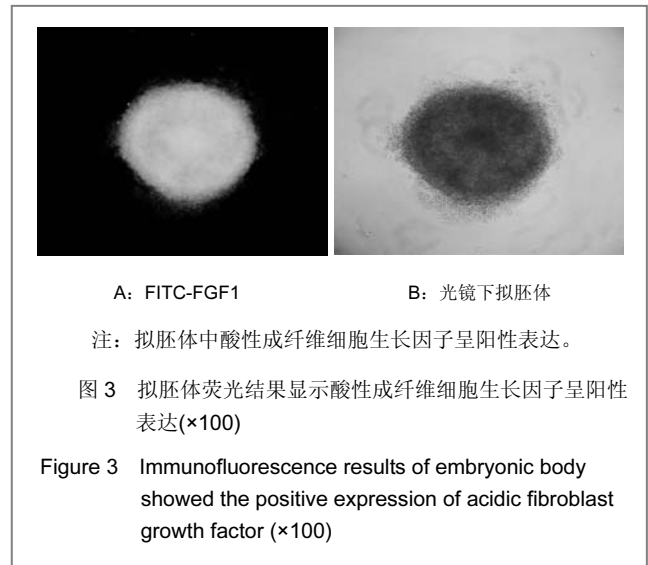
小鼠胚胎干细胞在原始小鼠胚胎成纤维细胞制备的饲养层上呈未分化状态生长, 镜下观察饲养层细胞为

梭形细胞, 胚胎干细胞呈现明显细胞集落, 聚集成椭圆形, 克隆边缘清晰, 折光性强, 细胞小, 排列紧密, 界限清楚, 见图1A。随着时间的增加, 胚胎干细胞的数目逐渐增多, 体积逐渐增大, 边缘逐渐模糊不清, 克隆变得扁平或表面变为粗糙的内胚层细胞, 表明胚胎干细胞开始分化, 见图1B。

2.2 酸性成纤维细胞生长因子在胚胎干细胞中的表达 利用差速贴壁法去除饲养层细胞后, 在胚胎干培养基培养24 h, 做细胞的酸性成纤维细胞生长因子免疫荧光染色, 结果显示小鼠胚胎干细胞本身高表达酸性成纤维细胞生长因子, 见图2。



2.3 拟胚体中酸性成纤维细胞生长因子的表达 利用悬滴法制备拟胚体, 48 h后收集, 免疫荧光染色检测拟胚体中酸性成纤维细胞生长因子的表达情况, 结果见图3, 拟胚体中酸性成纤维细胞生长因子呈阳性表达。



2.4 流式细胞仪检测Flk-1阳性细胞率 见表1。

表1 流式细胞术测得 Flk-1 阳性细胞率的结果

Table 1 Flk-1 positive rate tested by flow cytometry ($\bar{x} \pm s, \%$)

时间	1 $\mu\text{g/L}$	2 $\mu\text{g/L}$	5 $\mu\text{g/L}$	对照组
3 d	0.95 \pm 0.5 ^{ab}	1.27 \pm 0.49 ^{ab}	0.66 \pm 0.39 ^{ab}	1.39 \pm 0.67
5 d	2.24 \pm 0.45	5.41 \pm 0.92	3.91 \pm 0.87	3.42 \pm 0.77
7 d	5.52 \pm 0.57 ^a	3.33 \pm 1.19	5.89 \pm 0.39 ^a	4.69 \pm 0.95
9 d	1.55 \pm 0.26	6.02 \pm 0.11 ^a	7.13 \pm 0.29 ^a	4.25 \pm 0.47

与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 5 d 组比较, ^b $P < 0.05$ 。

注: 在 5 $\mu\text{g/L}$ 酸性成纤维细胞生长因子作用下, Flk-1⁺细胞随时间增加表达增加, 在 1 $\mu\text{g/L}$ 时, Flk-1⁺细胞在 7 d 时表达达到高峰, 随后下降, 而在 2 $\mu\text{g/L}$ 时, 5 d 时 Flk-1⁺细胞表达升高, 随后下降, 在 9 d 时表达又增高。

结果显示, 在 5 $\mu\text{g/L}$ 酸性成纤维细胞生长因子作用下, Flk-1⁺细胞随时间增加表达增加, 在 1 $\mu\text{g/L}$ 时, Flk-1⁺细胞在 7 d 时表达达到高峰, 随后下降, 而在 2 $\mu\text{g/L}$ 时, 5 d 时 Flk-1⁺细胞表达升高, 随后下降, 在 9 d 时表达又增高; 5 d 内不同质量浓度酸性成纤维细胞生长因子作用后, Flk-1⁺细胞量较少, 虽然 3 d 与 5 d 组间比较发现 Flk-1⁺细胞呈现缓慢增长趋势, 但相对于正常对照组其总体是呈下降趋势; 随着时间的延长, Flk-1⁺细胞量出现快速上升, 相对于对照组也呈增长趋势。

2.5 流式细胞术检测CD133阳性细胞率 见表2。结果显示, 在 1 $\mu\text{g/L}$ 和 5 $\mu\text{g/L}$ 质量浓度时, CD133⁺细胞在 7 d 时表达达到高峰, 随后下降, 在 2 $\mu\text{g/L}$ 酸性成纤维细胞生长因子作用下, CD133⁺细胞总体呈增长趋势; 在 5 d 内, 不同浓度酸性成纤维细胞生长因子作用后,

CD133⁺细胞量较少, 相对于正常对照组其总体是呈下降趋势; 随着时间的延长, CD133⁺细胞量出现快速上升, 相对于对照组呈增长趋势。

表 2 流式细胞术测得 CD133 阳性细胞率的结果

Table 2 CD133 positive rate tested by flow cytometry ($\bar{x}\pm s$, %)

时间	1 $\mu\text{g/L}$	2 $\mu\text{g/L}$	5 $\mu\text{g/L}$	对照组
3 d	1.15 \pm 0.34 ^a	1.27 \pm 0.45	0.85 \pm 0.33 ^a	1.54 \pm 0.26
5 d	1.74 \pm 0.56 ^a	2.65 \pm 0.26	1.22 \pm 0.38 ^a	2.92 \pm 0.36
7 d	6.18 \pm 0.46 ^a	3.17 \pm 0.49	6.19 \pm 0.20 ^a	4.11 \pm 0.22
9 d	1.88 \pm 0.21	6.29 \pm 0.47 ^a	4.49 \pm 0.80	6.24 \pm 0.49

与对照组比较, ^a $P < 0.05$ 。

注: 在 5 $\mu\text{g/L}$ 酸性成纤维细胞生长因子作用下, Flk-1⁺细胞随时间增加表达增加, 在 1 $\mu\text{g/L}$ 时, Flk-1⁺细胞在 7 d 时表达达到高峰, 随后下降, 而在 2 $\mu\text{g/L}$ 时, 5 d 时 Flk-1⁺细胞表达升高, 随后下降, 在 9 d 时表达又增高。

3 讨论

胚胎干细胞是从早期胚胎组织中分离的一种能自我更新、长期增殖并且具有多向分化潜能的干细胞。由于胚胎干细胞的全能性, 已成为体外研究器官分化发育机制的理想工具。胚胎干细胞分化形成拟胚体的过程是完全自发的, 最早形成的拟胚体是类球状的实体结构, 拟胚体继续发育内部出现囊腔时, 即为囊状拟胚体, 此时期的拟胚体提供了胚胎发育过程中各类型细胞相互作用的微环境, 与胚胎发育过程中卵黄囊相似^[4]。因此, 拟胚体的形成是一种模拟体内早期胚胎发育过程的方法, 目前已被广泛应用于胚胎干细胞的诱导分化的相关研究, 胚胎发育机制的研究包括细胞形态发生的检测研究等^[5-6]。而目前对于制备拟胚体的方法彼此相差很大, 实验采用了悬滴法制备, 悬滴法可以控制拟胚体形成时的起始细胞数, 从而得到大小均一、发育阶段同步的拟胚体, 为之后的研究打好基础。

成血管血液干细胞被认为是造血干细胞和成血管细胞的共同祖细胞, 在胚胎造血分化和血管形成过程中都具有重要作用。研究显示成血管血液干细胞的发育起始了胚胎干细胞的造血分化^[7]。而Flk-1和CD133是启动胚胎干细胞造血发育的重要基因。成纤维细胞生长因子是一个多肽家族, 它不仅存在于脊椎动物体内, 在无脊椎动物体内也表达, 科学家通过对各种生物种类的成纤维细胞生长因子鉴定, 发现不同动物之间成纤维细胞生

长因子序列具有很高的同源性。成纤维细胞生长因子1亦称酸性成纤维细胞生长因子, 它是成纤维细胞生长因子家族成员之一, 具有促进有丝分裂和细胞生存的活性, 并参与组织器官发育、胚胎发生和伤口愈合及肿瘤形成等多种生物学过程^[8-9]。酸性成纤维细胞生长因子能够作用于多种器官组织的形态发生、分化及功能, 它通过与细胞表面的受体结合, 利用细胞外途径可使受体磷酸化, 细胞内途径可通过跨膜转运后, 进入胞内直接作用于DNA, 促进细胞的增殖^[10]。另有研究报道酸性成纤维细胞生长因子具有强大的促进细胞分裂和抑制细胞凋亡的作用^[11-12]。酸性成纤维细胞生长因子在胚胎的形态发生与细胞分化过程中起着重要的作用, 以往研究发现, 酸性成纤维细胞生长因子参与心脏的发育, 在促进上皮和间充质的转变过程中具有重要作用^[13]; 与肺支气管的发生与肺表面活性物质相关蛋白的合成有紧密关系^[14]; 在肾脏、毛囊、牙齿等的发育中都起着重要作用。

实验采用小鼠胚胎干细胞形成拟胚体后, 将酸性成纤维细胞生长因子因子添加在拟胚体培养基中继续悬浮培养, 观察酸性成纤维细胞生长因子对拟胚体中造血祖细胞表面标记物Flk-1与CD133的变化情况, 发现酸性成纤维细胞生长因子的使用量影响Flk-1⁺与CD133⁺细胞的产生, 酸性成纤维细胞生长因子对胚胎造血发育的作用受不同因子的调控, 而这种作用就表现为促进或者抑制作用, 实验结果显示酸性成纤维细胞生长因子在拟胚体中呈阳性表达。在5 $\mu\text{g/L}$ 酸性成纤维细胞生长因子作用下, Flk-1⁺细胞随时间增加表达增加, CD133⁺细胞表达模式与Flk-1⁺细胞类似。在1 $\mu\text{g/L}$ 浓度时, Flk-1⁺细胞在7 d时表达达到高峰, 随后下降。CD133⁺细胞表达结果类似。而在2 $\mu\text{g/L}$ 浓度时, 5 d时Flk-1⁺细胞表达升高, 随后下降, 在9 d时表达又增高。而CD133⁺细胞则总体呈现升高趋势。在短时间内(5 d内), 不同浓度酸性成纤维细胞生长因子作用后, Flk-1⁺与CD133⁺细胞量较少, 虽然相对于正常对照组其总体是呈下降趋势, 但3 d与5 d组间比较发现Flk-1⁺与CD133⁺细胞呈现缓慢增长趋势; 随着时间的延长, Flk-1⁺与CD133⁺细胞量出现快速上升, 相对于对照组也呈增长趋势, 表明这段时间造血细胞大量生成, 而酸性成纤维细胞生长因子介导的通路也发挥了重要的作用。有研究证明FGF通路对胚胎的原始造血具有负调节作用^[15], 这与实验中开始Flk-1⁺与CD133⁺细胞呈缓慢增长或者说是负增长相符, 而原始造血在小鼠胚胎卵黄囊中最早开始于胚胎发育的7.5 d, 实验结果显示7 d后Flk-1⁺与CD133⁺细胞呈大量增长,

这时间与胚胎开始造血时间相近。不同浓度酸性成纤维细胞生长因子对Fik-1⁺与CD133⁺细胞的影响表明酸性成纤维细胞生长因子在刺激阳性细胞产生的同时, 不同浓度的酸性成纤维细胞生长因子可能对别的信号途径形成反馈性作用, 导致酸性成纤维细胞生长因子信号减弱或增强, 因此, Fik-1⁺与CD133⁺细胞表达受酸性成纤维细胞生长因子浓度的一定影响。在实验中使用酸性成纤维细胞生长因子探讨其对造血祖细胞表面标记物Fik-1⁺与CD133⁺细胞的影响, 发现酸性成纤维细胞生长因子可促进Fik-1⁺与CD133⁺细胞的产生, 可以证明酸性成纤维细胞生长因子能够有效地促进拟胚体的扩增以及成血管血液干细胞的产生与增殖, 这为进一步研究胚胎干细胞造血分化提供了一定的实验基础, 但具体机制尚不清楚。

基金资助: 国家自然科学基金(30801353)。

作者贡献: 实验设计、评估和审核为通讯作者, 实施为第一、二作者。

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。

伦理要求: 未涉及与相关伦理道德冲突的内容。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

4 参考文献

- [1] Daley GQ, Scadden DT. Prospects for stem cell-based therapy. Cell.2008;132(4): 544-548.
- [2] Wang YS, Li JY, Jin SH, et al. Zhonghua Xueyexue Zazhi. 2008; 29(8):535-539.
王跃嗣, 李建远, 靳韶华, 等. 碱性成纤维细胞生长因子在胚胎卵黄囊造血过程中的表达[J]. 中华血液学杂志, 2008, 29(8):535- 539.
- [3] Kurosawa H. Methods for inducing embryoid body formation: in vitro differentiation system of embryonic stem cells. Biosci Bioeng. 2007; 103(5):389-398.
- [4] Wang C, Faloon P W, Tan Z, et al. Mouse lysocardiolipin acyltransferase controls the development of hematopoietic and endothelial lineages during in vitro embryonic stem-cell differentiation. Blood. 2007; 110(10):3601-3609.
- [5] Bratt-Leal AM, Carpenedo RL, McDevitt TC. Engineering the embryoid body microenvironment to direct embryonic stem cell differentiation. biotechnol prog. 2009; 25(1):43-51.
- [6] Weitzer G. Embryonic stem cell-derived embryoid bodies: an in vitro model of eutherian pregastrulation development and early gastrulation. Handb Exp Pharmacol. 2006; 174:21-51.
- [7] Kennedy M, D'Souza SL, Lynch-kattman M, et al. Development of hemangioblast defines the onset of hematopoiesis in human ES cell differentiation cultures. Blood. 2007; 09:2679-2687.
- [8] Sedighiani F, Nikol S. Gene therapy in vascular disease. Surgeon. 2011; 9(6):326-335.
- [9] Grose R, Dickson C. Fibroblast growth factor signaling in tumorigenesis. Cytokine Growth Factor Rev. 2005. 16:179-186.
- [10] Takahashi M, Okubo N, Chosa N, et al. Fibroblast growth factor-1-induced ERK1/2 signaling reciprocally regulates proliferation and smooth muscle cell differentiation of ligament-derived endothelial progenitor cell-like cells. Int J Mol Med. 2012; 29(3):357-364.
- [11] Nilsen T, Rosendal KR, Sørensen V, et al. A nuclear export sequence located on beta-strand in fibroblast growth factor-1. J Biol Chem. 2007; 282(36):26245-26256.
- [12] Nakayama F, Hagiwara A, Kimura M, et al. Evaluation of radiation-induced hair follicle apoptosis in mice and the preventive effects of fibroblast growth factor-1. Exp Dermatol. 2009; 18(10):889-892.
- [13] Matsuyama D, Kawahara K. Proliferation of neonatal cardiomyocytes by connexin43 knockdown via synergistic inactivation of p38 MAPK and increased expression of FGF1. Basic Res Cardiol. 2009; 104(6):631-642.
- [14] Serls AE, Doherty S, Parvatiyar P, et al. Different thresholds of fibroblast growth factors pattern the ventral foregut into liver and lung. Development. 2005; 132(1):35-47.
- [15] Nakazawa F, Nagai H, Shin M, et al. Negative regulation of primitive hematopoiesis by the FGF signaling pathway. Blood. 2006; 108(10):3335-3343.