

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.49.010 [http://www.crter.org]  
郑学峰, 刘霞. 人脐带间充质干细胞腹腔移植治疗急性肝损伤大鼠[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(49):8527-8531.

## 人脐带间充质干细胞腹腔移植治疗急性肝损伤大鼠\*\*

郑学峰<sup>1</sup>, 刘霞<sup>2</sup> (<sup>1</sup>辽宁医学院附属第一医院消化内科, 辽宁省锦州市 121001; <sup>2</sup>辽宁医学院组织与胚胎学教研室, 辽宁省锦州市 121001)

### 文章亮点:

1 实验特点为进行动物体内实验, 对 CCl<sub>4</sub> 所致大鼠急性肝损伤模型应用人脐带间充质干细胞进行治疗。  
2 采用体积分数 10% CCl<sub>4</sub> 橄榄油 7 mL/kg 经腹腔注射, 即可使大鼠肝脏受到中至重度的损伤(苏木精-伊红染色证实), 且不会导致大鼠死亡。此模型操作可靠, 重复性较强, 肝损伤一致性较好, 符合移植受体的要求。

### 关键词:

干细胞; 干细胞移植; 急性肝损伤; 细胞移植; 大鼠; 四氯化碳; 肝功能; 病理变化; 血清丙氨酸转氨酶; 天门冬氨酸转氨酶; 省级基金; 干细胞图片文章

### 主题词:

干细胞; 干细胞移植; 脐带; 模型, 动物; 药物性肝损伤; 四氯化碳

### 基金资助:

辽宁省教育厅课题(L2010296)\*

郑学峰★, 女, 1968年生, 辽宁省锦州市人, 汉族, 2012年辽宁医学院毕业, 硕士, 副教授, 主要从事慢性肝病的干细胞治疗研究。  
604616912@qq.com

中图分类号: R394.2  
文献标识码: B  
文章编号: 2095-4344  
(2013)49-08527-05

修回日期: 2013-09-26  
(20120211004/N - W)

### 摘要

**背景:** 体外实验证实人脐带间充质干细胞可诱导成肝样细胞, 故认为其可能具有肝脏修复功能。

**目的:** 进行动物体内实验, 观察人脐带间充质干细胞移植治疗大鼠急性肝损伤的效果。

**方法:** 将健康 SD 大鼠随机分为 3 组, 正常对照组不造模, 细胞移植组和 PBS 组腹腔注射体积分数 10% CCl<sub>4</sub> 橄榄油溶液制造急性肝损伤模型后 24 h, 分别经腹腔移植人脐带间充质干细胞悬液 0.5 mL 和等量 PBS。

**结果与结论:** 苏木精-伊红染色显示, CCl<sub>4</sub> 腹腔注射 24 h 后大鼠肝脏出现急性肝损伤的病理变化, 细胞移植后 7 d 时肝脏结构完全恢复正常, PBS 组 14 d 才恢复正常肝脏组织结构。与正常对照组相比, 其他 2 组大鼠血清丙氨酸转氨酶及天门冬氨酸转氨酶均明显升高 ( $P < 0.05-0.01$ ); 人脐带间充质干细胞移植后 3 d, 大鼠血清 2 种转氨酶水平较 PBS 组明显降低 ( $P < 0.05-0.01$ ); 7 d 后均降至正常水平。移植后第 3 天肝脏组织内可见抗人核蛋白抗体阳性细胞分布于汇管区, 第 7 天抗人白蛋白抗体的阳性表达。提示经鼠腹腔移植人脐带间充质干细胞后可以在一定程度上改善肝功能及修复受损的肝组织。

## Intraperitoneal transplantation of human umbilical cord mesenchymal stem cells in the treatment of acute liver injury in rats

Zheng Xue-feng<sup>1</sup>, Liu Xia<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China; <sup>2</sup>Department of Histology and Embryology, Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China)

### Abstract

**BACKGROUND:** *In vitro* experiments have confirmed that human umbilical cord mesenchymal stem cells can be induced to differentiate into hepatocyte-like cells, thus which can be considered to function as liver repair.

**OBJECTIVE:** To observe the therapeutic effect of human umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation on acute liver injuries in rats through *in vivo* animal experiments.

**METHODS:** Healthy Sprague-Dawley rats were randomly divided into three groups: normal control group without modeling, cell transplantation group, and PBS group. Rat models of acute liver injury were prepared by 10% CCl<sub>4</sub>-olive oil solution in the cell transplantation and PBS groups which were followed by intraperitoneal injection of 0.5 mL human umbilical cord mesenchymal stem cell suspension and 0.5 mL PBS, respectively.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Hematoxylin-eosin staining showed that pathological changes related to acute liver injury appeared at 24 hours after intraperitoneal injection of CCl<sub>4</sub>. Then, the liver structure recovered at 7 days after cell transplantation, but it did not recover till the 14<sup>th</sup> day after PBS injection. Compared with the normal control group, serum alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase levels were significantly increased in the other two groups ( $P < 0.05-0.01$ ). In the cell transplantation group, the serum alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase levels were significantly lower than those in the PBS group at 3 days after treatment ( $P < 0.05-0.01$ ), and recovered normally after 7 days. Cells positive for anti-human nucleoprotein antibody were found in the portal area of liver tissues in the cell transplantation group after 3 days of transplantation, and then cells positive for anti-human albumin antibody appeared after 7 days. These findings

Zheng Xue-feng ★, Master, Associate professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China  
604616912@qq.com

Accepted: 2013-09-26

indicate that intraperitoneal transplantation of human umbilical cord mesenchymal stem cells can improve liver function and repair injured liver tissues after acute liver injury in rats to some extent.

**Subject headings:** stem cells; stem cell transplantation; umbilical cord; models, animal; drug-induced liver injury; carbon tetrachloride

**Funding:** a grant from the Educational Bureau of Liaoning Province, No. L2010296\*

Zheng XF, Liu X. Intraperitoneal transplantation of human umbilical cord mesenchymal stem cells in the treatment of acute liver injury in rats. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2013;17(49):8527-8531.

## 0 引言 Introduction

干细胞移植研究在理论和技术上已取得了很大的进展,并展现出广阔的临床应用前景。因此,利用干细胞移植技术寻求一种简便安全有效的方法促进肝损伤修复,可为肝脏疾病的治疗开辟一个新领域。近年来,因来源广泛,采集容易,人脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cells, hUCMSCs)已经成为科研工作者的关注点。

人脐带间充质干细胞较骨髓间充质干细胞免疫原性低,且国内外研究表明间充质干细胞具有直接或间接的抗炎、抗纤维化、抑制肝细胞凋亡、刺激肝细胞再生的作用,因此人脐带间充质干细胞可作为肝脏疾病细胞治疗的理想靶细胞。闫俊卿等<sup>[1]</sup>分离人脐带间充质干细胞,并应用肝细胞生长因子、成纤维生长因子4和抑瘤素等细胞因子诱导其向肝细胞分化,免疫学检测显示分化的细胞表达的细胞表面标志物ALB、AFP、CK18和CK19,糖原染色功能鉴定呈现阳性,证实脐带间充质干细胞在体外可诱导分化为肝细胞。陈军等<sup>[2]</sup>研究发现,人脐带间充质干细胞在含肝细胞生长因子、碱性成纤维细胞生长因子、制瘤素及胎牛血清的DMEM/F12培养体系中,能诱导分化为具有肝细胞表型和功能的细胞,且前3项细胞因子联合应用的诱导效果优于单纯应用前两者。

虽然有较多体外实验证实人脐带间充质干细胞可诱导成肝样细胞,但应用人脐带间充质干细胞治疗动物急性肝损伤的体内实验,国内文献尚不多见。实验拟对CCl<sub>4</sub>所致大鼠急性肝损伤模型应用人脐带间充质干细胞进行治疗,观察其效果,为干细胞促进受损肝脏的修复及再生提供更好的途径和方法。

## 1 材料和方法 Materials and methods

**设计:** 随机对照动物实验。

**材料:**

**实验动物:** 健康SD大鼠80只,体质量150-170 g,雌雄各半,由辽宁医学院实验动物中心提供,动物自由饮水及进食。

**人脐带间充质干细胞:** 由细胞产品国家工程中心提供。

**人脐带间充质干细胞移植治疗急性肝损伤大鼠实验用主要试剂及仪器:**

试剂及仪器	来源
四氯化碳	重庆川江化工厂
PCR 优化试剂盒	博奥春天生物工程公司
引物	上海生物工程公司
LEICACM1900 冰冻恒温切片机	德国

### 实验方法:

**大鼠急性CCl<sub>4</sub>肝损伤模型的建立及干预分组:** 采用新鲜的橄榄油作为溶剂,将CCl<sub>4</sub>溶解于橄榄油中混匀,配制成体积分数10%CCl<sub>4</sub>橄榄油。80只大鼠随机取8只为正常对照组,仅腹腔注射橄榄油7 mL/kg,剩余72只大鼠采用长尾由纪子的方法,腹腔注射体积分数10%CCl<sub>4</sub>橄榄油7 mL/kg制备大鼠急性肝损伤模型。造模24 h后处死正常对照组、CCl<sub>4</sub>模型大鼠各8只,进行血液生化的肝功能分析和肝脏病理组织学观察,证实功能障碍和肝组织结构损伤后,将其余64只急性肝损伤模型大鼠按体质量随机分为细胞移植组及PBS组,每组32只。

**人脐带间充质干细胞的培养及标记:** 细胞生长到80%-90%融合时,进行1:2传代;传代细胞用倒置显微镜进行形态学观察。取第2代的人脐带间充质干细胞,PBS冲洗3遍,移植前48 h,用5-溴脱氧尿苷(BrdU)进行标记:取第3代培养72 h的人脐带间充质干细胞,吸除旧培养液,用PBS冲洗2次,加入BrdU终浓度为10 μmol/L的完全L-DMEM培养基继续培养。

**标记人脐带间充质干细胞注射液的移植:** 生长良好的第5代细胞经胰酶消化后,用PBS调整细胞浓度为 $3 \times 10^{11} \text{ L}^{-1}$ ,在造模后24 h后,经腹腔注射移植。细胞移植组缓慢注入细胞悬液0.5 mL,PBS组同样经腹腔注射0.5 mL的PBS。移植后注意保暖,给予糖盐水饮用。

### 主要观察指标:

**大鼠一般状况观察:** 统计术后大鼠存活数量,观察各组大鼠精神活动及对外界的反应、摄食及尿便等情况。

**血清生化指标检测:** 细胞移植后1, 3, 7, 11, 14 d随机挑选每组大鼠各6只,摘眼球采血,离心3 500 r/min×10 min,取血清0.1 mL。利用自动生化分析仪测定血清丙氨酸转氨酶、天门冬氨酸转氨酶水平。

**苏木精-伊红染色观察肝组织肝小叶再生情况:** 上述时间点处死的大鼠, 取肝最大右叶相同部位的一小块肝组织, 每块大小约 $1.5\text{ cm}\times 1.5\text{ cm}\times 0.4\text{ cm}$ , 体积分数为10%中性缓冲甲醛液固定24-48 h, 制备石蜡切片, 进行苏木精-伊红染色。光镜观察实验组及对照组肝小叶的结构形态变化。

**免疫荧光检测BrdU标记细胞移植后示踪:** 采血后处死大鼠, 取肝左叶的一小块组织, 大小为 $1.5\text{ cm}\times 1.5\text{ cm}\times 0.4\text{ cm}$ , 用吸水纸将组织块的水分充分吸干, 采用冰冻恒温切片, 提前将温度设置为 $-17\text{--}20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 将持物托上滴入OCT包埋剂, 直接放入恒温箱中冷冻2 min后切片, 厚度为 $3\text{--}5\text{ }\mu\text{m}$ , 荧光显微镜下观察并照相。

**免疫组织化学染色检测人白蛋白的表达:** 石蜡切片脱蜡至水。二甲苯室温脱蜡2次,  $5\text{--}10\text{ min/次}$ 。体积分数为100%, 90%, 0%乙醇梯度入水各5 min。PBS洗3次,  $5\text{ min/次}$ 。体积分数为3%过氧化氢-甲醇于室温孵育 $5\text{--}10\text{ min}$ 以消除内源性过氧化物酶的活性。蒸馏水冲洗, PBS浸泡5 min。体积分数5%-10%正常血清封闭, 室温孵育10 min。倾去血清, 勿洗。滴加适当比例稀释的鼠抗人白蛋白抗体(Anti-Alb工作液),  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育 $1.0\text{--}2.0\text{ h}$ 或 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 过夜。PBS冲洗3次,  $5\text{ min/次}$ 。滴加第二代生物素标记二抗工作液,  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育 $10\text{--}30\text{ min}$ 。PBS冲洗3次,  $5\text{ min/次}$ 。滴加适当比例稀释的辣根酶标记链霉卵白素(PBS稀释),  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育 $10\text{--}30\text{ min}$ ; 或第二代辣根酶标记链霉卵白素工作液,  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 或室温孵育 $10\text{--}30\text{ min}$ 。PBS冲洗3次,  $5\text{ min/次}$ 。DAB显色剂显色, 室温, 10 min; 苏木精复染核; 封固。镜下观察并拍照。

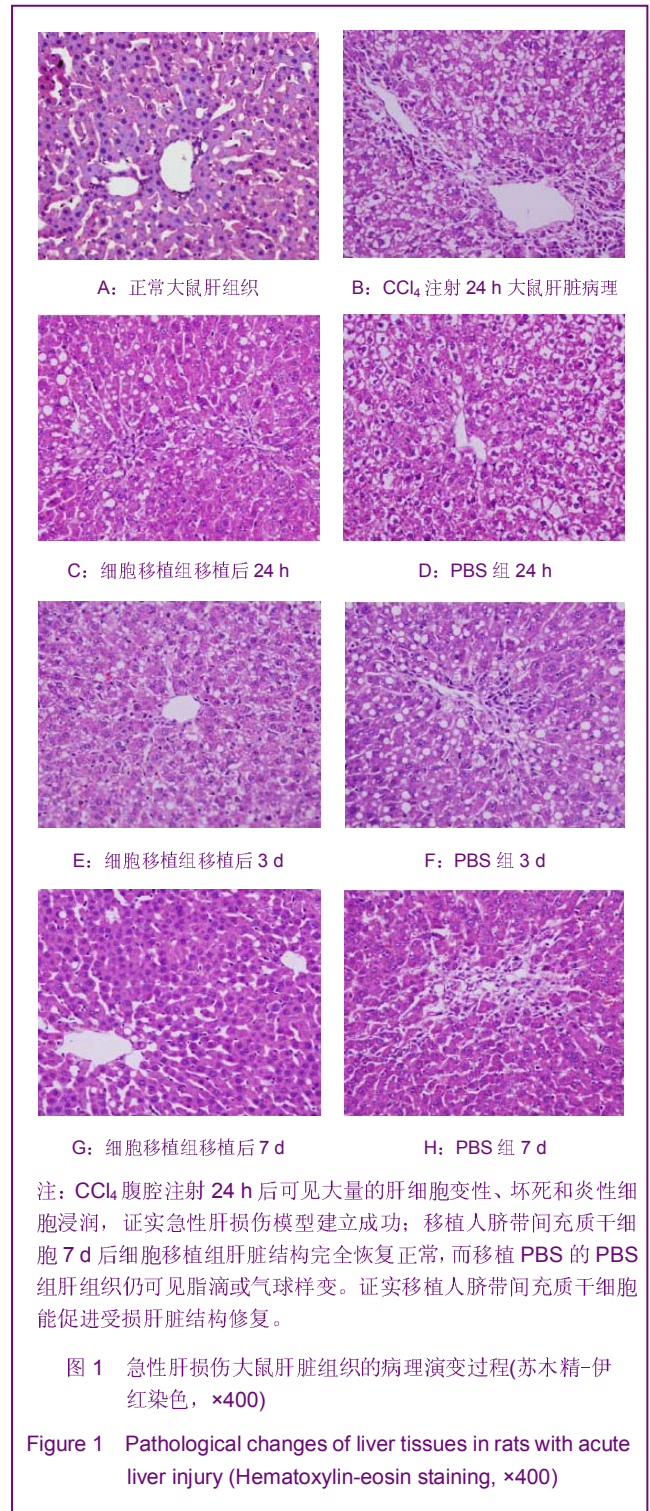
**统计学分析:** 由作者采用SPSS 11.5软件对数据进行单因素方差分析, 实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,  $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

## 2 结果 Results

**2.1 人脐带间充质干细胞移植后大鼠生长状态** 所有大鼠经腹腔移植标记或未标记的人脐带间充质干细胞后, 第1天精神、食欲差, 活动少; 移植后第2天基本恢复正常饮食, 精神可, 所有大鼠全部存活到实验设计时间, 无意外死亡。

**2.2 肝脏组织病理观察** 正常对照组大鼠肝脏颜色为红褐色, 质软, 表面光滑, 有光泽。常规苏木精-伊红染色可见肝小叶结构清晰, 肝细胞多为单核, 肝板为条索状, 围绕中心静脉呈放射状排列, 见图1A。 $\text{CCl}_4$ 腹腔注射24 h后弥漫性肝小叶中心带肝细胞气球样变或脂肪变性, 中央静脉周围肝细胞内出现大量的脂肪滴, 可见炎性细胞浸润, 见图1B。随着观察时间的推移, 上述组织学变化均好转, 细胞移植组较PBS组更早更快的恢复, 7 d时肝脏结构完全恢复正常, 见图1C-G; PBS组

7 d时仍可见脂滴或气球样变, 见图1H, 14 d才恢复正常肝脏组织结构。



**2.3 移植前后肝功能的变化**  $\text{CCl}_4$ 造成大鼠急性肝损伤后, 与正常对照组相比, 血清丙氨酸转氨酶及天门冬氨酸转氨酶均明显升高( $P < 0.05\text{--}0.01$ )。人脐带间充质干细胞移植后3 d, 与PBS组相比, 细胞移植组大鼠的丙氨酸转氨酶及天门冬氨酸转氨酶水平明显降低( $P < 0.05\text{--}0.01$ ), 说明人脐带间充质干细胞移植可降低 $\text{CCl}_4$ 所致大鼠肝脏损伤的丙氨酸转氨酶及天门冬氨酸转氨酶



酶水平。7 d后, 各组丙氨酸转氨酶及天门冬氨酸转氨酶均降至正常水平, 见表1, 2。

表 1 移植后不同时间各组大鼠血清中丙氨酸转氨酶的表达水平

Table 1 The levels of serum alanine aminotransferase in rats at different time after cell transplantation ( $\bar{x}\pm s$ , nkat/L)

移植后时间	正常对照组	PBS组	细胞移植组
1 d	762.8±146.5	2 460.7±113.5 <sup>a</sup>	1 495.1±51.7 <sup>ab</sup>
3 d		2 065.6±88.5 <sup>a</sup>	752.7±114.9 <sup>b</sup>
7 d		1 546.1±111.5 <sup>a</sup>	706.5±238.2 <sup>b</sup>
11 d		763.2±90.5	772.3±120.0
14 d		776.8±55.2	752.8±27.8

与正常对照组比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 PBS 组比, <sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

注: 结果说明人脐带间充质干细胞移植可降低 CCl<sub>4</sub> 所致大鼠肝脏损伤的丙氨酸转氨酶水平。

表 2 移植后不同时间各组大鼠血清中天门冬氨酸转氨酶的表达水平

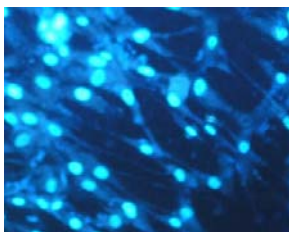
Table 2 The levels of serum aspartate aminotransferase in rats at different time after cell transplantation ( $\bar{x}\pm s$ , nkat/L)

移植后时间	正常对照组	PBS组	细胞移植组
1 d	2 853.9±356.9	7 879.6±317.6 <sup>b</sup>	4 395.4±284.6 <sup>ad</sup>
3 d		6 523.0±789.2 <sup>b</sup>	2 939.4±678.6 <sup>d</sup>
7 d		4 336.0±422.3 <sup>a</sup>	2 898.1±279.9 <sup>c</sup>
11 d		2 870.6±964.2	2 908.9±1 560.1
14 d		2 852.7±55.2	2 756.4±522.6

与正常对照组比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ ; 与 PBS 组比, <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ 。

注: 结果说明人脐带间充质干细胞移植可降低 CCl<sub>4</sub> 所致大鼠肝脏损伤的天门冬氨酸转氨酶水平。

2.4 细胞移植后荧光显微镜观察 Brdu 终浓度为 10 μmol/L 条件 DMEM/F12 培养基中孵育 48 h 后, 用免疫组织化学检测标记率达 90%, 见图 2。



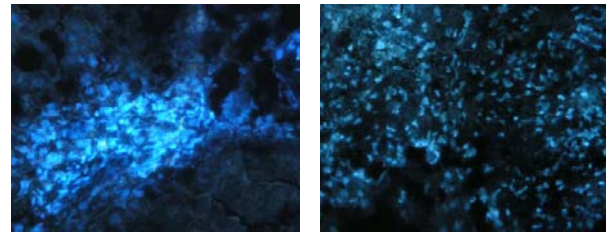
注: 10 μmol/L Brdu 标记率为 90%。

图 2 人脐带间充质干细胞 Brdu 标记(×200)

Figure 2 5-Bromo-2-deoxyuridine-labeled human umbilical cord mesenchymal stem cells (×200)

Brdu 标记细胞移植后肝脏切片荧光显微镜下观察显示: 细胞移植后 3, 7 d 肝脏内可见较多胞核呈明亮蓝色荧光

的细胞, 3 d 时大部分蓝色荧光细胞成团分布, 7 d 时蓝色荧光细胞均匀分布, 见图 3。PBS 组各时间点均未见 Brdu 标记细胞, 见图 4。



A: 细胞移植 3 d

B: 细胞移植 7 d

注: 细胞移植后, 肝脏内可见较多胞核呈明亮蓝色荧光的细胞。

图 3 人脐带间充质干细胞移植后不同时间急性肝损伤模型大鼠肝脏内 Brdu 标记细胞(荧光显微镜, ×200)

Figure 3 5-Bromo-2-deoxyuridine-labeled cells in the liver tissue at different time after transplantation of human umbilical cord mesenchymal stem cells in rat models of acute liver injury (Fluorescence microscopy, ×200)



注: 未见 Brdu 标记细胞。

图 4 急性肝损伤模型大鼠移植 PBS 后 3 d 肝脏内 Brdu 标记细胞(荧光显微镜, ×100)

Figure 4 5-Bromo-2-deoxyuridine-labeled cells in the liver tissue at 3 d after PBS injection in rat models of acute liver injury (Fluorescence microscopy, ×100)

2.5 鼠抗人核蛋白抗体和抗人白蛋白抗体的检测 见图 5。

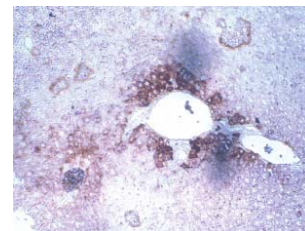


图 5 人脐带间充质干细胞移植后第 7 天急性肝损伤模型大鼠肝组织抗人白蛋白抗体的阳性表达(×100)

Figure 5 Positive expression of anti-human albumin antibody in the liver tissue of acute liver injury rats at 7 d after intraperitoneal transplantation of human umbilical cord mesenchymal stem cells (×100)

细胞移植组大鼠的肝脏组织内第3天即可见到抗人核蛋白抗体阳性细胞分布于汇管区, 第7天后可以观察到抗人白蛋白抗体的阳性表达, 并且随时间推移, 染色阳性细胞范围逐渐扩大。

### 3 讨论 Discussion

目前有以下几种常见的肝损伤模型建立方法: 药物中毒性肝损伤、免疫损伤性肝损伤, 酒精性肝损伤、外科手术性肝损伤等动物模型, 其中 $\text{CCl}_4$ 导致的药物性肝损伤因操作简单, 重复率高, 费用低廉等特点, 成为经典模型<sup>[3]</sup>。实验在前人经验及预实验基础上, 采用体积分数10% $\text{CCl}_4$ 橄榄油7 mL/kg经腹腔注射, 即可使大鼠肝脏受到中至重度的损伤(苏木精-伊红染色证实), 且不会导致大鼠死亡。此模型操作可靠, 重复性较强, 肝损伤一致性较好, 符合移植受体的要求。并且实验在造模后24 h内移植间充质干细胞, 即在 $\text{CCl}_4$ 损伤期内进行干预, 减少了大鼠自身修复对实验的影响, 使结果更恒定可信。

国内外大量实验证明, 外源性干细胞可以在受损肝脏内定植, 并转化为肝细胞、胆管上皮细胞或血管内皮细胞, 改善肝功能, 修复受损肝脏结构, 促进肝脏再生<sup>[4-8]</sup>。陈政等<sup>[9]</sup>建立肝部分切除大鼠模型, 经门静脉植PKH26标记的人脐带间充质干细胞, 移植后1, 2, 3周均能观察到存活细胞, 且细胞表达肝细胞的标记物白蛋白。石翠翠<sup>[10]</sup>应用腹腔注射D-氨基半乳糖联合脂多糖法建立小鼠急性肝衰竭模型, 建模6 h后经尾静脉移植EGFP荧光标记的脐带间充质干细胞, 并设立生理盐水对照组, 结果显示移植脐带间充质干细胞的小鼠存活率为40%, 显著高于生理盐水对照组10%, 且肝功能及肝脏病理均有部分改善, 说明脐带间充质干细胞移植对急性肝衰竭小鼠具有明显的治疗作用; 同时相对定量RT-PCR证实脐带间充质干细胞能向受损的肝脏迁移并定植。冯曜宇<sup>[11]</sup>制作SD雄性大鼠 $\text{CCl}_4$ 急性肝损伤加部分肝切除模型, 以脐带间充质干细胞为载体细胞, 携带肝细胞生长因子基因到受损的肝脏模型, 肝功能、免疫组化检测、Western blot以及RT-PCR法检测结果显示, 脐带间充质干细胞能到达受损肝脏并表达肝细胞生长因子基因参与受体肝损伤的修复和再生过程中, 并起到有益的作用。

与以上报道相似, 作者的实验中肝脏组织病理学检测显示: 经腹腔移植人脐带间充质干细胞后, 大鼠肝细胞坏死等病理变化较 $\text{CCl}_4$ 损伤模型大鼠明显改善, 最终7 d内完全修复了肝脏的正常结构。血清转氨酶的活性是观察肝细胞损害敏感指标, 实验中经输注人脐带间充质干细胞之后, 大鼠血清丙氨酸转氨酶及天门冬氨酸转氨酶均能较快下降, 说明人脐带间充质干细胞移植对肝脏具有修复和保护作用。

**作者贡献:** 郑学峰进行实验设计, 实验实施为郑学峰, 实验评估为刘霞, 资料收集为刘霞, 郑学峰成文, 刘霞审校, 郑学峰对文章负责。

**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。

**伦理要求:** 实验过程中对动物的处置符合中华人民共和国科学技术部2006年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》标准。

**学术术语:** 5-溴脱氧尿苷(BrdU) -DNA 病毒的抑制剂。在免疫组化中的应用: BrdU 标记细胞免疫组化染色(SP法), BrdU(溴化脱氧尿嘧啶核苷)可以在体内和体外掺入到处于S期的细胞所合成的DNA链中, 以标记DNA。

**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 References

- [1] 闫俊卿, 韩涛, 朱争艳. 人脐带间充质干细胞生物学特性及向类肝细胞的分化[J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16(15): 1639-1644.
- [2] 陈军, 刘玉侠, 姜文华, 等. 体外诱导人脐带间充质干细胞向肝样细胞的分化[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(49): 9257-9260.
- [3] Majumdar MK, Thiede MA, Mosca JD, et al. Phenotypic and functional comparison of cultures of marrow-derived mesenchymal stem cells and stromal cells. Cell Physiol. 1998; 176(1): 57-66.
- [4] Petersen BE, Goff JP, Greenberger JS, et al. Hepatic oval cells express the hematopoietic stem cell marker Thy-1 in the rat. Hepatology 1998; 27(2): 433-445.
- [5] Durate RF, Frank DA. SCF and G-CSF lead to the synergistic induction of proliferation and gene expression through complementary signaling pathways. Blood. 2000; 96(10): 3422-3430.
- [6] Delgado MB, Clark-Lewis I, Loetscher P, et al. Rapid inactivation of stromal cell-derived factor-1 by cathepsin G associated with lymphocytes. Eur J Immunol. 2001; 31(3): 699-707.
- [7] Honczarenko M, Le Y, Swierkowski M, et al. Human bone marrow stromal cells express a distinct set of biologically functional chemokine receptors. Stem Cells. 2006; 24(4): 1030-1041.
- [8] Gaia S, Smedile A, Omedè P, et al. Feasibility and safety of G-CSF administration to induce bone marrow-derived cells mobilization in patients with end stage liver disease. J Hepatol. 2006; 45(1): 13-19.
- [9] 陈政, 劳学军, 高明. 人脐带间充质干细胞在肝部分切除模型大鼠体内向肝样细胞的分化[J]. 暨南大学学报: 自然科学与医学版, 2011, 32(6): 615-619.
- [10] 石翠翠. 脐带间充质干细胞移植治疗肝衰竭的临床前研究[D]. 苏州大学. 2012.
- [11] 冯曜宇. 脐带间充质干细胞转染HGF基因对肝损伤再生的研究[D]. 昆明医学院. 2008.