

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.06.028 [http://www.crter.org]

李丽春, 何治, 李剑平. 胎盘间充质干细胞的体外诱导分化[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(6):1116-1121.

胎盘间充质干细胞的体外诱导分化*★

李丽春¹, 何治², 李剑平¹

1 辽宁省血液中心, 辽宁省沈阳市 110044

2 沈阳市第四人民医院, 辽宁省沈阳市 110044

文章亮点:

1 胎盘来源广泛, 不引起供者不适以及不涉及伦理道德问题, 其分离培养后的胎盘间充质干细胞扩增能力较强, 具有多向分化潜能、造血支持及免疫抑制效应。

2 胎盘间充质干细胞与骨髓间充质干细胞有共同的生物学特性, 综合不同的诱导体系, 利用不同的培养基、血清和生长因子等诱导分化为神经细胞、脂肪细胞、成骨细胞和软骨细胞、类肝样细胞、心源性细胞、胰岛素分泌细胞等。

关键词:

干细胞; 干细胞综述; 胎盘间充质干细胞; 生物学特性; 诱导分化; 分离培养; 原代; 传代; 多向分化; 分化潜能; 胎盘; 临床应用; 综述文献; 其他基金

摘要

背景: 与骨髓、外周血、脂肪及胚胎等来源的间充质干细胞相比, 脐带和胎盘组织来源的间充质干细胞具有来源广泛、易于获得、不引起供者不适以及不存在道德伦理争议等优势。

目的: 探讨胎盘间充质干细胞体外分离、培养、传代的方法及其分化潜能, 为胎盘间充质干细胞的临床应用提供基础研究依据。

方法: 应用计算机检索 2000 年 1 月至 2011 年 12 月 PubMed 数据库、中国期刊全文数据库、万方数据库与胎盘间充质干细胞有关的文章, 中文检索词为“胎盘间充质干细胞, 体外, 诱导分化”, 英文检索词为“Placenta-derived mesenchymal stem cells, Induction and differentiation in vitro”。共检索到文献 98 篇, 最终纳入符合标准的 33 篇文献。

结果与结论: 目前国内胎盘间充质干细胞还处于基础研究阶段, 国外胎盘间充质干细胞在实验研究方面已经取得了一定的进展, 而且也在临床应用研究方面有了一定的突破。胎盘间充质干细胞具有来源广泛, 取材方便, 不引起供者不适以及不涉及伦理道德问题, 与捐献骨髓或采集动员外周血相比, 供者无痛苦, 感染机会少, 扩增能力强等, 在临床治疗方面有待于进一步深入研究。

In vitro induced differentiation of placenta-derived mesenchymal stem cells

Li Li-chun¹, He Zhi², Li Jian-ping¹

1 Liaoning Blood Center, Shenyang 110044, Liaoning Province, China

2 Fourth People's Hospital of Shenyang, Shenyang 110044, Liaoning Province, China

Abstract

BACKGROUND: Compared to bone marrow-, peripheral blood-, fat- and embryo-derived mesenchymal stem cells, umbilical cord- and placenta-derived mesenchymal stem cells possess advantages including wide source, ease of harvesting, no immunological rejection or ethical compromise.

OBJECTIVE: To investigate the methods to *in vitro* isolate, culture and sub-culture of placenta-derived mesenchymal stem cells, providing experimental basis for clinical application of placenta-derived mesenchymal stem cells.

李丽春★, 女, 1975 年生, 辽宁省沈阳市人, 汉族, 2009 年哈尔滨医科大学毕业, 硕士, 医师, 主要从事干细胞等研究。
lichunli2009@yahoo.cn

通讯作者: 李剑平, 主任医师, 辽宁省血液中心, 辽宁省沈阳市 110044
ljp_63@yahoo.com

中图分类号: R318

文献标识码: B

文章编号: 2095-4344

(2013)06-01116-06

收稿日期: 2012-04-13

修回日期: 2012-06-18

(20120413013M·S)

Li Li-chun★, Master, Physician,
Liaoning Blood Center,
Shenyang 110044, Liaoning
Province, China
lichunli2009@yahoo.cn

Corresponding author: Li
Jian-ping, Chief physician,
Liaoning Blood Center,
Shenyang 110044, Liaoning
Province, China
ljp_63@yahoo.com

Supported by: Science and
Technology Development
Program of Shenyang, No.
F10-206-1-00*

Accepted: 2012-04-13
Accepted: 2012-06-18

METHODS: A computer-based online retrieval was performed to search papers regarding placenta-derived mesenchymal stem cells published in PubMed database, Chinese Journal Full Text Database, Wanfang database using key words "placenta-derived mesenchymal stem cells, induction and differentiation *in vitro*". A total of 98 papers were retrieved, and 33 were suitable for final analysis.

RESULTS AND CONCLUSION: Placenta-derived mesenchymal stem cells are in the stage of basic research in China, but some progress has been made in basic research and clinical application of placenta-derived mesenchymal stem cells in countries outside China. Placenta-derived mesenchymal stem cells possess advantages including wide source, ease in sample harvesting and no immunological rejection or ethical compromise as well as less pain, fewer infection opportunities and stronger proliferative capacity compared to bone marrow donation or peripheral blood collection. For these reasons, placenta-derived mesenchymal stem cells should be further studied.

Key Words: stem cells; stem cell review; placenta-derived mesenchymal stem cells; biological characteristics, induced differentiation; isolation and culture; primary; passage; multi-direction differentiation; differentiation potential; placenta; clinical application; review literature; other grants-supported paper

Li LC, He Z, Li JP. In vitro induced differentiation of placenta-derived mesenchymal stem cells. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2013;17(6): 1116-1121.

0 引言

胎盘间充质干细胞是从胎盘组织中分离培养出来的易贴壁生长的间充质干细胞, 在体外可被培养、传代, 并具有定向分化为神经细胞、脂肪细胞、成骨细胞和软骨细胞、类肝样细胞、心源性细胞、胰岛素分泌细胞等。文章综述了胎盘间充质干细胞的分离、培养、传代方法, 了解其一般生物学特性, 并探讨了胎盘间充质干细胞的多向分化潜能, 为胎盘间充质干细胞的临床应用提供基础研究依据。

1 资料和方法

1.1 资料来源 由第一作者应用计算机检索2000年1月至2011年12月PubMed数据库、中国期刊全文数据库、万方数据库相关胎盘间充质干细胞文章, 中文检索词为“胎盘间充质干细胞, 体外诱导分化”, 英文检索词为“placenta-derived mesenchymal stem cells, induction and differentiation *in vitro*”。共检索到文献98篇。

1.2 入选标准 ①有关胎盘间充质干细胞的生物学特性。②有关胎盘来源间充质干细胞的多向分化潜能的研究。③有关胎盘间充质干细胞的临床应用。

1.3 资料提取 计算机初检得到98篇文献, 阅读标题和摘要进行初筛, 排除因研究目的与本文无关及内容重复的研究65篇, 最终得到33篇符合标准的文章进行归纳总结。

2 结果

2.1 胎盘间充质干细胞的生物学特性

2.1.1 形态学特点 胎盘间充质干细胞的生物学特性与骨髓间充质干细胞相似, 均呈平行排列或漩涡样生长, 形态类似成纤维细胞。传代细胞三四天可增殖1倍, 培养细胞可稳定生长传代, 细胞增殖活跃, 具有较强的自我更新和多系分化潜能^[1]。崔晶等^[2]研究以体外培养人胎盘间充质干细胞为研究对象, 分为6组, 不加尿酸的对照组, 以及尿酸0.1,

0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mmol/L组, 结果显示同一时间内, 随着尿酸浓度增加, 细胞数目逐渐增加, 尤其是0.8 mmol/L尿酸组; 同一浓度尿酸, 随着培养时间的延长(时间 < 5 d), 细胞数目也逐渐增加, 第5天的时候细胞数目达到高峰, 提示尿酸具有呈时间及浓度依赖性的促进胎盘间充质干细胞增殖的作用, 尤其是0.8 mmol/L尿酸在培养第5天的时候促进作用最明显。

2.1.2 胎盘间充质干细胞的表面标志 目前大多数学者认为间充质干细胞是属于中胚层的一类多能干细胞, 多种来源的间充质干细胞均无统一的特异性表面标志。而目前的研究倾向于认为胎盘间充质干细胞的表面标志与骨髓间充质干细胞的表面标志相类似, 如间质干细胞标志SH2、CD105、SH3.4/CD73、CD90/THY-1、CD166、CD106; 主要组织相容性复合物HLA-A,B,C; 整合蛋白家族CD49e、CD29; 透明质酸盐受体CD44等, 不表达造血干细胞表面标志CD34、CD45、CD14、HLA-DR和上皮细胞表面标志VWF、Flk-1、CD31、KDR等, 除此之外胎盘间充质干细胞不表达共刺激分子CD80、CD86、CD401等^[3-8], 因此胎盘间充质干细胞的免疫原性低, 并且移植入受者体内时, 胎盘间充质干细胞可以抑制受者T淋巴细胞的活性功能, 减轻移植物抗宿主反应^[9]。也有人认为胎盘间充质干细胞可表达SSEA-4、TRA-1-61、Oct-4等胚胎干细胞的表面标志^[5, 10], 说明胎盘间充质干细胞应该是一群极其原始的多能干细胞, 较其他来源的成体干细胞具有强大的增殖能力和多向分化的潜能。Fukuchi等^[4]采用RT-PCR的方法检测胎盘来源间充质干细胞mRNA的表达, 发现了干细胞的标志性基因Oct-4、Rex-1和造血相关的基因HOXB4、GATA-2、CBF β 、fit-1以及器官特异性基因renin、nestin、GFAP等的表达。张睿婷等^[11]采用短串联重复序列分析证明所得到的胎盘绒毛膜来源的间充质干细胞生长呈典型的成纤维细胞形态, 细胞表达常见的间充质干细胞表面标记CD90、CD73、CD105、CD44, 不表达CD45、CD11b和CD34。同时, 细胞也表达Nestin和Sox-2, 在不同的条件培养基培养状态下, 细胞可向成骨、成脂方向分化, 这些绒毛膜间充质干细胞能抑制植物血凝素刺激的人外周血单个核细胞分泌 γ -干扰素, 可见绒毛膜来源的间充质干细胞具有和传统的骨髓来源间充质干细胞相似的生物学特性。

2.1.3 胎盘间充质干细胞的体外分离培养传代的方法

胎盘间充质干细胞的原代培养: 取足月剖腹产胎儿的胎盘(按医院规定, 产妇及家属知情同意), 取胎盘的胎儿面蜕膜组织, 用PBS冲洗3-5次, 去除血迹, 用剪刀将其剪成1.0-2.0 mm³碎片, 加入1%IV型胶原酶, 置于37 °C水浴锅中消化30 min, 用DMEM中止胰酶消化, 并充分均匀吹打, 100目筛网研磨过滤, 收集过滤后的细胞悬液, 以1 200 r/min离心5 min, 加入完全培养基(含低糖DMEM, 体积分数为10%胎牛血清, 1%双抗)10 mL均匀吹打, 血细胞计数板计数, 调整细胞浓度, 以 $(2-5)\times 10^8$ L⁻¹的细胞浓度接种细胞到细胞培养瓶中, 置于37 °C恒温、体积分数为5%CO₂、体积分数为21%O₂饱和湿度的培养箱培养, 每三四天进行换液1次, 待细胞生长铺满至瓶底80%-90%时进行传代, 以后按常规方法传代, 冻存, 培养3代以后的细胞用于实验。

胎盘间充质干细胞的传代培养: 细胞生长融合至近80%-90%时, 弃培养液, 加入PBS 5-10 mL冲洗2遍以清除残留培养液, 滴加0.05%胰蛋白酶1.0-2.0 mL, 在倒置显微镜下观察细胞形态, 1.0-3.0 min后贴壁细胞皱缩逐渐脱落悬浮, 加入完全培养液(DMEM, 体积分数为10%胎牛血清, 1%双抗)中止胰酶消化, 反复吹打直至几乎全部细胞脱落悬浮, 以1 200 r/min离心5 min, 弃上清, 再加培养液吹打混匀, 进行细胞计数, 将细胞悬液平均分至3个培养皿中, 补足培养基10 mL, 置于37 °C恒温、体积分数为5%CO₂、体积分数为21%O₂、饱和湿度的培养箱中继续培养。

胎盘间充质干细胞的冻存: 收集无污染处于对数生长期的细胞(24 h前换液1次), 观察细胞状态是否良好, 弃培养液, 加入PBS 5-10 mL冲洗2遍, 以清除残留培养液, 用0.05%胰蛋白酶消化成悬浮细胞, 加入新的完全培养液吹打均匀, 调整细胞数为 1×10^7 左右, 以1 200 r/min离心5 min弃上清, 用0.5 mL胎牛血清吹打均匀细胞, 加入用含20%二甲基亚砜的无血清培养基配制的冻存液0.5 mL缓慢滴入细胞悬液中, 用吸管轻轻吹打均匀并转入冻存管中, 旋紧冻存管盖, 用封口膜封口, 标记好名称及日期, 置于4 °C冰箱1 h, 再转移到-80 °C冰箱, 1周内放入液氮罐中长期存储。

胎盘间充质干细胞的复苏: 预先调配水浴锅水温为37-39 °C, 从液氮中或-80 °C冰箱中取出细胞冻存管, 立即置于水浴锅中迅速晃动, 直至冻存液充分完全溶解成液体状, 用吸管将细胞冻存悬液转移到无菌离心管中, 加入5-10 mL的培养液, 混匀吹打15-30次, 将细胞悬液经1 000-1 200 r/min离心, 弃去上清, 向沉淀细胞内加入5-10 mL完全培养液, 轻轻吹打混匀, 将细胞悬液转移到无菌培养皿内, 补足培养液进行培养, 24 h内换液以去除残余二甲基亚砜, 继续培养, 传代。

2.2 胎盘来源间充质干细胞的多向分化潜能 间充质干细胞来源于发育早期的中胚层和外胚层, 而胎盘的主要部分为羊膜及绒毛膜中胚层, 理论上证实了胎盘中含有间充质干细胞的可能性^[12-14]。

2.2.1 胎盘间充质干细胞诱导分化为成骨细胞和软骨细胞^[15-19] 诱导间充质干细胞分化为软骨时, 先将间充质干细胞低速离心, 使其形成细胞团块, 然后用含转化生长因子 β 3的无血清培养基培养, 组织学显示细胞团块随培养时间的增长而出现富含糖蛋白的细胞外基质。在10-14 d时表达关节软骨特异性的II型胶原蛋白。将其在体外培养体系中培养3个月后, 组织学显示软骨细胞样陷窝非常明显, 细胞外聚集大量的细胞外基质和II型胶原蛋白。杜莉莉等^[20]采用组织块培养法分离获取人胎盘间充质干细胞, 培养的人胎盘间充质干细胞均一表达CD29和CD44, 而CD31、CD34、CD45和HLA-DR呈阴性, 用含转化生长因子 β 3、维生素C、胰岛素、地塞米松、转铁蛋白的诱导培养基处理14 d后, 甲苯胺蓝染色及II型胶原染色阳性, 说明该细胞经诱导液作用可定向分化为软骨细胞。

2.2.2 胎盘间充质干细胞诱导分化为成脂肪细胞 取培养3代以后的细胞种于6孔培养板中, 密度为 1×10^5 孔, 待长至40%-50%时, 吸去完全培养基, 加入诱导体系包括低糖DMEM, 体积分数为10%胎牛血清, 胰岛素1 mg/L, 地塞米松0.1 μ mol/L, 吡喹美辛200 μ mol/L, IBMX 50 mmol/L, 进行成脂肪细胞诱导分化, 每3 d进行半量换液, 10-15 d后大量细胞出现成脂肪细胞形态, 10 d后油红O染色检测出现脂肪滴。

2.2.3 胎盘间充质干细胞诱导分化成神经细胞^[16, 21-22] 取第2代培养细胞, 接种于6孔板, 生长

密度达到60%时加入神经细胞诱导培养基, 包括DMEM、2%二甲基亚砜和100 μ mol/L丁羟基茴香醚。37 °C、体积分数为5%CO₂、饱和湿度条件下静置培养诱导分化24 h后, 经免疫荧光染色鉴定胎盘间充质干细胞诱导分化后神经元特异性的烯醇化酶、胶质纤维酸性蛋白呈阳性表达。

2.2.4 胎盘间充质干细胞诱导分化为类肝样细胞 在红景天苷和细胞因子的作用下, 经过21 d的体外培养, 胎盘间充质干细胞由长梭形变为多边形、类圆形, 并具有肝细胞特异的表型和功能, 免疫荧光可检测到诱导后细胞内CK18表达, 培养上清液中有白蛋白的分泌, 说明胎盘间充质干细胞在红景天苷和成纤维细胞生长因子4作用下在体外能转化为肝细胞样细胞^[23]。王晓萃等^[24]取孕20 d的大鼠胎盘, 经胶原酶消化、密度离心、贴壁筛选法分离培养胎盘源间充质干细胞, 在体外培养体系中加入胎肝滤液, 模拟体内肝脏微环境, 诱导大鼠胎盘间充质干细胞向肝细胞定向分化, 结果显示在体外培养条件下, 大鼠胎盘间充质干细胞贴壁生长为成纤维样细胞, CD44表面标志物检测阳性; 大鼠胎盘间充质干细胞经胎肝滤液诱导14 d时细胞呈现圆形、卵圆形的特征性改变, 甲胎蛋白、CK19表达阳性, 说明胎肝滤液能够诱导大鼠胎盘间充质干细胞定向分化为肝细胞样细胞。

2.2.5 胎盘间充质干细胞诱导分化为心源性细胞^[25] 取对数生长期的细胞, 胰酶消化并吹打成单个细胞后, 制成 2.5×10^7 L⁻¹细胞悬液, 加入IMDM培养液, 诱导体系中含有0.1 mmol/L非必需氨基酸、2 mmol/L L-谷氨酰胺、100 U/mL青链霉素、0.1 mmol/L β -巯基乙醇、体积分数为20%胎牛血清。细胞悬液以20 μ L/滴接种于直径10 cm的培养皿盖上, 培养皿内放入10 mL无菌PBS, 盖上培养皿盖, 置于37 °C、体积分数为5%CO₂的培养箱中, 3 d后, 从单个细胞悬滴中吸出形成的悬浮拟胚体, 转入至预先以0.1%明胶涂抹的24孔细胞培养板中。免疫细胞化学和免疫荧光方法证实胎盘间充质干细胞能被诱导分化为心源性细胞。

2.2.6 胎盘间充质干细胞诱导分化为胰岛素分泌细胞 取培养至第3代生长旺盛的细胞以胰蛋白酶消化后, 体积分数为10%胎牛血清终止消化, PBS洗2遍, 悬浮培养于6孔培养液中, 加入诱导培养基, 诱导体系包含低糖DMEM、1%非必需氨基酸、0.1 mmol/L β -

巯基乙醇、1 mmol/L谷氨酰胺、5 μ g/L人碱性成纤维生长因子。诱导培养7 d和14 d后, 采用双硫脲染色、免疫细胞化学染色和ELISA等方法检测到诱导分化的细胞中有胰岛素的生成与分泌, 用RT-PCR方法检测诱导分化的细胞中有PDX-1、Insulin1、Insulin2和Glut2等相关基因mRNA的表达。

2.2.7 胎盘间充质干细胞诱导分化为表皮细胞 胎盘间充质干细胞的体外定向诱导模型不仅有助于组织工程研究, 同时也对阐明胎盘间充质干细胞增殖分化机制及相关疾病的发病机制具有重要意义。万振洲等^[26]分离培养胎盘间充质干细胞, 用含体积分数为2%胎牛血清以及20 μ g/L表皮生长因子条件培养基诱导, 诱导后细胞表面抗原CD29、CD44、CD105阳性, D34、CD45、CD106以及HLA-DR阴性, 诱导后细胞形态明显改变, 表皮细胞标志物CK19以及CK10免疫荧光染色阳性, 提示胎盘间充质干细胞在体外具有分化为表皮细胞的能力, 可以作为皮肤组织工程和干细胞研究的一种有效来源。

2.3 胎盘间充质干细胞的应用

2.3.1 造血支持 因脐血移植物中造血干细胞数量相对少而造成造血恢复和免疫重建延迟, 并且在移植中存在免疫排斥反应, 胎盘间充质干细胞正逐渐发挥其造血支持的作用^[27]。胎盘间充质干细胞作为饲养层与脐血造血干祖细胞共培养后, 可见胎盘间充质干细胞可显著扩增培养体系中脐血造血干细胞的数量, 而且胎盘可以抑制细胞间相互刺激引起的T淋巴细胞增殖的现象, 因此胎盘间充质干细胞是脐血来源的造血干细胞体外培养的最佳饲养层细胞, 对其具有肯定的体外支持和扩增作用, 而且胎盘间充质干细胞的造血支持作用优于骨髓间充质干细胞^[3]。何津等^[28]采用酶消化法分离培养人胎盘组织中贴壁细胞, 其具有间充质干细胞特性, 表达多种造血相关因子, 包括干细胞因子、粒细胞集落刺激因子、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、巨噬细胞集落刺激因子和白细胞介素6, 说明人胎盘贴壁细胞可为脐血CD34⁺细胞体外扩增提供潜在滋养层。

2.3.2 组织修复 卢文宁等^[29]用酶消化法自人胎盘组织中分离培养胎盘间充质干细胞, 移植到心肌梗死模型大鼠4周后超声心动图检测大鼠心脏功能明显改善。人羊膜上皮细胞体外定向分化的肝细胞可以表达

至少30多种人成体肝脏所表达的基因, 这说明人羊膜上皮细胞来源的肝细胞可以对肝脏疾病进行有效的治疗^[30]。李洪秋等^[31]研究表明脊髓损伤后, 人胎盘间充质干细胞移植能促进脊髓损伤大鼠后肢运动功能改善, 移植14 d即可观察到明显改善, 28 d BBB评分有明显提高, 与对照组大鼠相比, 移植术后7, 14和28 d, 人胎盘间充质干细胞移植能增加损区域伤中碱性成纤维细胞生长因子的表达($P < 0.05$), 结果说明脊髓损伤后, 人胎盘间充质干细胞移植对神经功能恢复有促进作用, 其机制可能与其能在宿主脊髓内产生大量碱性成纤维细胞生长因子从而促进脊髓损伤的修复有关。胎盘间充质干细胞诱导生成的胰岛素分泌细胞可移植于糖尿病小鼠体内并能在短期内降低糖尿病小鼠的血糖, 改善糖尿病小鼠的一般状况, 在一定的时间内起到替代治疗的作用^[32]。

3 问题和展望

胎盘间充质干细胞研究在近几年取得了较大的进展, 虽然骨髓干细胞与胎盘干细胞生长的倍增时间是不同的, 但在形态和生长方式上却极为近似, 而且二者培养的条件是一样的, 获取的方法也都简便易行, 同时二者在体外均易被扩增, 说明两者具有近似的生物学特点^[33]。但是胎盘来源广泛, 取材方便, 不引起供者不适以及不涉及伦理道德问题, 与捐献骨髓或采集动员外周血相比, 供者无痛苦, 感染机会少。胎盘在人类胚胎发育过程中的特殊地位和作用还可能具有更潜在的优势, 但还有许多问题需要解决, 如: 是何种信号诱导了胎盘间充质干细胞向多系分化? 胎盘间充质干细胞标志基因的表达随细胞传代而发生变化是否与胚胎发育过程和分化的时间进程有关系? 总之, 目前还需要进一步优化细胞采集和培养的技术, 提高细胞分离效率和纯度, 通过大量动物实验深入研究胎盘间充质干细胞在体内发挥效应的调控机制, 为胎盘间充质干细胞在组织工程、再生医学、细胞基因治疗领域得到广泛的应用。

基金资助: 沈阳市科学技术计划项目(F10-206-1-00)。

作者贡献: 文章资料收集、成文由第一作者完成, 审校为通讯作者, 第一作者对文章负责。

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: 没有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] Barlow S, Brooke G, Chatterjee K, et al. Comparison of human placenta- and bone marrow-derived multipotent mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev.* 2008;17(6):1095-1107.
- [2] 崔晶, 杨乃龙, 王静怡. 尿酸对人胎盘间充质干细胞增殖的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(10):1795-1798.
- [3] Zhang Y, Li C, Jiang X, et al. Human placenta-derived mesenchymal progenitor cells support culture expansion of long-term culture-initiating cells from cord blood CD34+ cells. *Exp Hematol.* 2004;32(7):657-664.
- [4] Fukuchi Y, Nakajima H, Sugiyama D, et al. Human placenta-derived cells have mesenchymal stem/progenitor cell potential. *Stem Cells.* 2004;22(5):649-658.
- [5] Yen BL, Huang HI, Chien CC, et al. Isolation of multipotent cells from human term placenta. *Stem Cells.* 2005;23(1):3-9.
- [6] Bailo M, Soncini M, Vertua E, et al. Engraftment potential of human amnion and chorion cells derived from term placenta. *Transplantation.* 2004;78(10):1439-1448.
- [7] Pasquinelli G, Tazzari P, Ricci F, et al. Ultrastructural characteristics of human mesenchymal stromal (stem) cells derived from bone marrow and term placenta. *Ultrastruct Pathol.* 2007;31(1):23-31.
- [8] Jones BJ, Brooke G, Atkinson K, et al. Immunosuppression by placental indoleamine 2,3-dioxygenase: a role for mesenchymal stem cells. *Placenta.* 2007;28(11-12):1174-1181.
- [9] Li C, Zhang W, Jiang X, et al. Human-placenta-derived mesenchymal stem cells inhibit proliferation and function of allogeneic immune cells. *Cell Tissue Res.* 2007;330(3):437-446.
- [10] Battula VL, Bareiss PM, Trembl S, et al. Human placenta and bone marrow derived MSC cultured in serum-free, b-FGF-containing medium express cell surface frizzled-9 and SSEA-4 and give rise to multilineage differentiation. *Differentiation.* 2007;75(4):279-291.
- [11] 张睿婷, 韩之波, 王涛, 等. 人胎盘绒毛膜来源间充质干细胞的生物学特性[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(10):1823-1826.
- [12] Semenov OV, Koestenbauer S, Riegel M, et al. Multipotent mesenchymal stem cells from human placenta: critical parameters for isolation and maintenance of stemness after isolation. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;202(2):193.e1-193.e13.
- [13] Huang YC, Yang ZM, Jiang NG, et al. Characterization of MSCs from human placental decidua basalis in hypoxia and serum deprivation. *Cell Biol Int.* 2010;34(3):237-243.
- [14] Castrechini NM, Murthi P, Gude NM, et al. Mesenchymal stem cells in human placental chorionic villi reside in a vascular Niche. *Placenta.* 2010;31(3):203-212.
- [15] In 't Anker PS, Scherjon SA, Kleijburg-van der Keur C, et al. Isolation of mesenchymal stem cells of fetal or maternal origin from human placenta. *Stem Cells.* 2004;22(7):1338-1345.
- [16] Portmann-Lanz CB, Schoeberlein A, Huber A, et al. Placental mesenchymal stem cells as potential autologous graft for pre- and perinatal neuroregeneration. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;194(3):664-673.
- [17] Wolbank S, Peterbauer A, Fahrner M, et al. Dose-dependent immunomodulatory effect of human stem cells from amniotic membrane: a comparison with human mesenchymal stem cells from adipose tissue. *Tissue Eng.* 2007;13(6):1173-1183.
- [18] Soncini M, Vertua E, Gibelli L, et al. Isolation and characterization of mesenchymal cells from human fetal membranes. *J Tissue Eng Regen Med.* 2007;1(4):296-305.
- [19] Alviano F, Fossati V, Marchionni C, et al. Term Amniotic membrane is a high throughput source for multipotent Mesenchymal Stem Cells with the ability to differentiate into endothelial cells in vitro. *BMC Dev Biol.* 2007;7:11.
- [20] 杜莉莉, 金玉楠, 李昆, 等. 胎盘来源的间充质干细胞体外分离培养及向软骨细胞分化的研究[J]. *解剖科学进展*, 2008, 14(1):83-86.
- [21] Portmann-Lanz CB, Schoeberlein A, Portmann R, et al. Turning placenta into brain: placental mesenchymal stem cells differentiate into neurons and oligodendrocytes. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;202(3):294.e1-294.e11.
- [22] Chang YJ, Hwang SM, Tseng CP, et al. Isolation of mesenchymal stem cells with neurogenic potential from the mesoderm of the amniotic membrane. *Cells Tissues Organs.* 2010;192(2):93-105.
- [23] 王珂, 徐建敏, 华玉明, 等. 红景天苷诱导人胎盘间充质干细胞分化为肝细胞样细胞[J]. *江苏医药*, 2011, 37(15):1765-1767.
- [24] 王晓萃, 吴金生, 于树娜. 胎肝滤液诱导大鼠胎盘间充质干细胞向肝细胞的分化[J]. *中国实验动物学报*, 2011, 19(5):419-422.
- [25] Ventura C, Cantoni S, Bianchi F, et al. Hyaluronan mixed esters of butyric and retinoic Acid drive cardiac and endothelial fate in term placenta human mesenchymal stem cells and enhance cardiac repair in infarcted rat hearts. *J Biol Chem.* 2007;282(19):14243-14252.
- [26] 万振洲, 冯亚松, 彭海林, 等. 体外诱导胎盘间充质干细胞向表皮细胞的分化[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(49):9223-9226.
- [27] Prather WR, Toren A, Meiron M. Placental-derived and expanded mesenchymal stromal cells (PLX-I) to enhance the engraftment of hematopoietic stem cells derived from umbilical cord blood. *Expert Opin Biol Ther.* 2008;8(8):1241-1250.
- [28] 何津, 张毅, 刘刚, 等. 人胎盘贴壁细胞的分离培养及造血相关因子表达[J]. *中华血液学杂志*, 2003, 24(12):652-654.
- [29] 卢文宁, 吕双红, 段翠蜜, 等. 人胎盘来源间充质干细胞移植治疗改善心肌梗死大鼠的心功能[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2008, 42(3):235-238.
- [30] 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.
- [31] 李洪秋, 崔丹, 阿良, 等. 人胎盘间充质干细胞移植对大鼠脊髓损伤区bFGF表达的影响[J]. *辽宁医学院学报*, 2010, 31(2):107-110.
- [32] 彭海林, 苗宗宁, 蒋霖, 等. 人胎盘间充质干细胞移植治疗局灶性脑缺血[J]. *中国实验外科杂志*, 2011, 28(3):477.
- [33] Miao Z, Jin J, Chen L, et al. Isolation of mesenchymal stem cells from human placenta: comparison with human bone marrow mesenchymal stem cells. *Cell Biol Int.* 2006;30(9):681-687.