

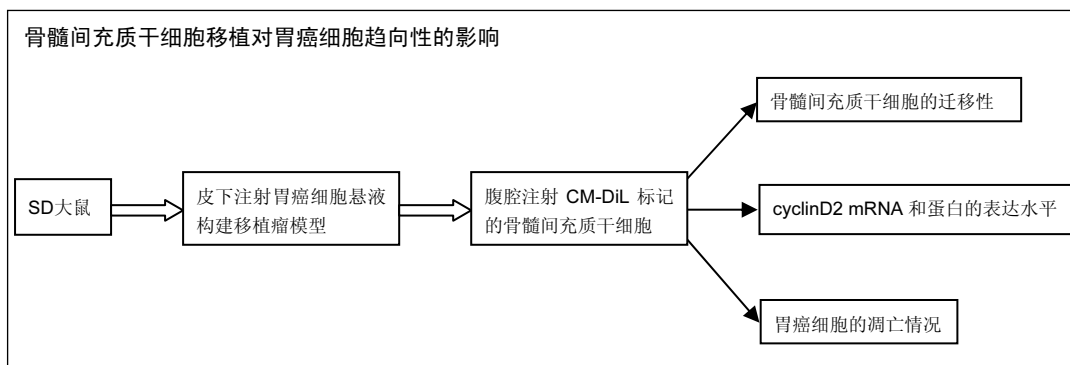
骨髓间充质干细胞移植对胃癌模型大鼠肿瘤细胞的影响

陈超¹, 李海涛²(遵化市人民医院, ¹病理科, ²外一科, 河北省遵化市 064200)

引用本文: 陈超, 李海涛. 骨髓间充质干细胞移植对胃癌模型大鼠肿瘤细胞的影响[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(41): 6158-6163.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.41.012 ORCID: 0000-0001-7550-9440(陈超)

文章快速阅读:



陈超, 男, 1980年生, 河北省唐山市人, 汉族, 2009年华北煤炭医学院毕业, 硕士, 医师, 主要从事肿瘤病理研究。

中图分类号:R394.2

文献标识码:B

文章编号:2095-4344

(2016)41-06158-06

稿件接受: 2016-08-01

文题释义:

间充质干细胞与肿瘤的关系: 间充质干细胞表面含有大量炎症因子受体, 可趋向性迁移至炎症反应处, 甚至肿瘤病灶处。间充质干细胞的趋向性与炎症反应部位或者肿瘤病灶处所释放的炎症因子、细胞因子和化学物质相关。

细胞周期蛋白: 与真核细胞的细胞周期呈模同步周期性浓度升降的蛋白质, 最先是海胆胚胎中分离鉴定的, 为相对分子质量 50 000 蛋白质的一大家族, 包括: 周期蛋白质 A、B、D、E、G 及 H。它们与关键的蛋白质激酶结合, 并调节它们的酶活性, 从而帮助推动和协调细胞周期的进行。

摘要

背景: 近年来研究发现, 骨髓间充质干细胞对肿瘤组织具有靶向性迁移的特性。

目的: 探讨骨髓间充质干细胞移植对大鼠胃癌细胞趋向性及增殖分化的影响。

方法: SD 大鼠皮下注射胃癌细胞株 SGC-7901 建立胃癌模型, 建模成功后细胞移植组腹腔注射荧光标记培养的骨髓间充质干细胞(1×10^7 个/只), 移植后 10 d 采用荧光 DiI 标记检测骨髓间充质干细胞的靶向性, 荧光实时 PCR 和 Western blot 检测胃癌组织中细胞周期素 D2 mRNA 和蛋白的表达, 原位末端标记法染色观察胃癌细胞凋亡情况。

结果与结论: ①骨髓间充质干细胞成功靶向到大鼠胃癌组织; ②细胞移植组的细胞周期素 D2 mRNA 及其蛋白的表达水平均显著高于模型组($P < 0.05$); ③与模型组比较, 细胞移植组阳性凋亡细胞明显减少($P < 0.05$); ④结果表明, 骨髓间充质干细胞具有靶向迁移到胃癌组织的能力, 骨髓间充质干细胞移植可促进胃癌肿瘤细胞的增殖。

关键词:

干细胞; 移植; 胃癌; 骨髓间充质干细胞; SGC-7901 细胞; 细胞凋亡; cyclinD2

主题词:

骨髓; 间质干细胞移植; 胃肿瘤; 细胞周期蛋白 D; 组织工程

Effect of transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells on gastric cancer cell line SGC7901 in a rat model of gastric cancer

Chen Chao¹, Li Hai-tao² (¹Department of Pathology, ²Department of Surgery, Zunhua City People's Hospital, Zunhua 064200, Hebei Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Bone marrow mesenchymal stem cells can migrate into tumor tissues, as reported in

Chen Chao, Master,
Physician, Department of
Pathology, Zunhua City
People's Hospital, Zunhua
064200, Hebei Province,
China

recent studies.

OBJECTIVE: To investigate the tropism and effect of transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells on proliferation and differentiation of gastric cancer cell line SGC7901 in rats.

METHODS: Gastric cancer models were established in Sprague-Dawley rats by subcutaneous injection of gastric cancer cell line SGC7901, and then, in cell transplantation group, each rat underwent an intraperitoneal injection of 1×10^7 bone marrow mesenchymal stem cells. After transplantation, the targeting ability of bone marrow mesenchymal stem cells was detected using fluorescent Dil labeling. Cyclin D2 mRNA and protein expressions were measured using real-time PCR and western blot assay, respectively. Apoptosis of gastric cancer cells was observed by *in situ* terminal labeling method.

RESULTS AND METHODS: Bone marrow mesenchymal stem cells successfully migrated into the gastric cancer site in rats. The expression levels of cyclin D2 mRNA and protein in the cell transplantation group were significantly higher than those in the model group ($P < 0.05$). It was observed that the number of apoptotic cancer cells was significantly reduced in the cell transplantation group compared with the model group ($P < 0.05$). These findings indicate that bone marrow mesenchymal stem cells have the ability to migrate into the tumor sites, thereby promoting the proliferation of gastric cancer cells.

Subject headings: Bone Marrow; Mesenchymal Stem Cell Transplantation; Stomach Neoplasms; Cyclin D; Tissue Engineering

Cite this article: Chen C, Li HT. Effect of transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells on gastric cancer cell line SGC7901 in a rat model of gastric cancer. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(41):6158-6163.

0 引言 Introduction

胃癌是常见的恶性肿瘤之一^[1-3]。对胃癌的起源, 长期以来有两种说法: 其一是由炎症等引起的胃黏膜上皮细胞恶性转化^[4], 其二是由于胃肠干细胞突变以及生长调控机制异常^[5]。但是Houghton等研究的发现冲破了这两种传统说法, 并引起了医学界的重大关注。该团队研究发现骨髓间充质干细胞具有靶向迁移到胃受损位点的能力, 形成胃上皮癌^[6], 骨髓间充质干细胞也因此被认为是胃癌细胞的第三种起源^[7-8]。

间充质干细胞是一类具有多向分化潜能的多能干细胞, 近年来研究发现其在受损组织修复、再生以及功能恢复等方面表现出了良好的效果^[9-13]。骨髓间充质干细胞因其丰富的来源、无限的自我复制和增殖分化能力以及较低的免疫豁免性, 已经被广泛应用于组织工程中。骨髓间充质干细胞可以跨胚层横向分化为骨、软骨、心肌以及神经组织^[14]。

骨髓间充质干细胞是胃癌细胞起源的学说极大推动了医学界对胃癌的认识。尽管治疗肿瘤的首选是手术切除^[15], 但是胃癌发现时间相对较晚、治疗后复发率较高, 这无疑加大了胃癌治疗的难度。目前对进展期或晚期的胃癌患者, 主要施以化疗、放疗或综合治疗, 但是根治效果并不理想^[16-17]。研究发现骨髓间充质干细胞可以促进胃癌荷瘤鼠瘤体的生长, 作者推测骨髓间充质干细胞对胃癌细胞具有一定的促增殖能力, 严重阻碍了胃癌的根治效果^[18]。此外, 近年来研究发现, 骨髓间充质干细胞对肿瘤组织具有靶向性迁移的特性^[19], 作者推测

骨髓间充质干细胞可能对胃癌组织也有这样的特性, 那么如果检测到胃部存在骨髓间充质干细胞, 可以早期诊断胃癌。

实验旨在通过测定骨髓间充质干细胞对胃癌的靶向性迁移特性和对胃癌细胞的增殖活化能力, 进而为胃癌的治疗和早期诊断提供理论依据和参考价值。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 实验于2014年10月至2015年12月在河北医科大学动物实验室完成。

1.3 材料

1.3.1 实验动物 雄性SD大鼠30只, 七八周龄, 体重180-200 g, 由上海羲森生物科技有限公司提供, 饲养环境: 室温25 °C, 湿度50%-80%, 自由饮水和采食, 许可证号: 100023517。

1.3.2 主要细胞、试剂和仪器 大鼠骨髓间充质干细胞由华中科技大学同济医学院附属协和医院提供; 大鼠胃癌细胞株SGC-7901购买于上海汇中细胞生物科技有限公司。二氨基联苯胺(北京化学试剂集团有限公司); 胰蛋白酶(美国Sigma公司); RPMI-1640、胎牛血清和PBS(Hyclone公司); 细胞培养箱(Heraeus Sepatech公司); Trizol试剂盒(Invitrogen); BCA蛋白浓度测试试剂盒(增强型)、5×SDS蛋白上样缓冲液、20×TBS缓冲液(南京建成生物工程研究所); SP-Dil染料(北京大清生物技术有限公司); 细胞周期蛋白D2(cyclin D2)抗体(北京百

迈客生物科技有限公司); β -actin抗体(艾康生物技术(杭州)有限公司); 超净工作台(艺斯高上海贸易有限公司); 荧光染色溶液的配制: 将2.5 g SP-Dil染料用1 L的DMF进行溶解。

1.4 实验方法

1.4.1 骨髓间充质干细胞荧光标记体外培养^[20-21] 首先用胰蛋白酶将贴壁细胞消化为单个骨髓间充质干细胞, 3 000 r/min离心10 min, 用pH 7.4的PBS重悬细胞, 使细胞浓度达到 $1 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$, 接种于含体积分数为10%胎牛血清、100 U/mL双抗青链霉素、2 mmol/L谷氨酰胺、终质量浓度为10 g/L SP-Dil荧光染料的DMEM培养液, 置于37 °C, 体积分数为5%CO₂的细胞培养箱培养48 h, 荧光显微镜下观察细胞表面荧光标记情况。

1.4.2 实验动物分组 30只SD大鼠随机分为正常对照组、模型组和细胞移植组, 每组10只。

1.4.3 胃癌模型建立^[22-23] 取生长状态良好的胃癌细胞株SGC-7901, 加入I型胰蛋白酶消化为单个细胞, 使用PBS重悬, 调整细胞浓度为 $1 \times 10^{10} \text{ L}^{-1}$, 模型组和细胞移植组大鼠右腋皮下注射200 μL 胃癌细胞悬液, 刺入点距注射点大约1 cm。注射后1周, 可见大鼠腋下均生长出直径约1 cm的瘤块, 说明建模成功。

1.4.4 细胞移植^[24-25] 建模成功后, 细胞移植组大鼠腹腔注射1 mL荧光标记培养的骨髓间充质干细胞(约为 1×10^7 个/只), 模型组大鼠腹腔注射同体积的PBS(荧光染料终质量浓度为10 g/L)。

1.4.5 荧光Dil标记检测^[26-27] 细胞移植后第10天, 迅速处死大鼠, 用体积分数为75%乙醇溶液消毒瘤体表面皮肤, 剥开皮肤并取出瘤体组织, 连续制作2张厚度约为6 μm 的组织冰冻切片, 对切片实施4', 6-二脒基-2-苯基吡啶染色, 随机选取荧光显微镜下的3个视野并计数视野中的CM-Dil阳性细胞数目, 取其平均值。

1.4.6 CyclinD2 mRNA及其蛋白表达 获取大鼠的瘤体组织, 提取总RNA, 根据赵聘等^[28-29]方法运用实时荧光PCR技术测定cyclinD2 mRNA的表达。通过Primer Primer 5.0软件设计引物, CyclinD2上游引物: 5'-TCA TGA CTT CAT TGA GCA-3', 下游引物: 5'-CAC TTC CTC ATC CTG CTG-3', 扩增片段长度为193 bp。 β -actin基因作为内参, 扩增片段长度为453 bp。采用2^{- $\Delta\Delta\text{Ct}$} 分析法表示cyclin D2 mRNA相对表达水平。实验重复检测3次。

获取大鼠的胃癌组织, 采用郭晓等^[30]与屈建强等^[31]报道的方法采用Western blot方法测定cyclinD2蛋白表

达水平。

1.4.7 胃癌阳性细胞凋亡检测^[32] 细胞移植后第10天, 采集大鼠移植瘤组织, 制作石蜡切片, 每个瘤体5张切片, 常规进行脱蜡处理, 滴加20 mg/L蛋白酶K消化液(不含DNase), 20-30 °C消化15-25 min; 使用PBS或HBSS洗涤3次, 保证将蛋白酶K完全洗涤干净; 洗涤后滴加原位末端标记反应混合液50 μL , 在湿盒中37 °C孵育1 h, 滴加POD2转化液50 μL , 湿盒37 °C孵育30 min, pH 7.4的PBS冲洗3次, DAB显色, 苏木精轻度复染、脱水、透明、封固, 显微镜观察, 棕黄色细胞核的细胞为凋亡细胞, 计算细胞凋亡率。

1.5 主要观察指标 ①骨髓间充质干细胞的形态及其荧光标记情况; ②cyclinD2 mRNA和蛋白的表达; ③细胞凋亡率。

1.6 统计学分析 将所有实验数据输入Excel 2010表格中, 去除异值, 用生物统计学软件SPSS 16.0进行统计分析; 组间比较采用t检验分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 骨髓间充质干细胞的形态 光镜下观察到第3代骨髓间充质干细胞排列整齐、呈漩涡状生长, 形态多呈长梭形、多角形, 细胞形态趋于一致, 贴壁细胞分布均匀, 胞浆丰富, 胞体饱满, 细胞集落逐渐与邻近集落融合成片, 见图1A。

2.2 荧光Dil标记结果 被Dil标记的骨髓间充质干细胞呈现红色(图1B), 分布于细胞质中, 红色荧光物质在胃癌组织中占较高比例, 实验结果表明骨髓间充质干细胞成功靶向到大鼠胃癌组织中。肝脏、脾脏部位未发现骨髓间充质干细胞的存在。

2.3 Real-time PCR检测胃癌组织中cyclinD2 mRNA的表达 在正常组织中cyclinD2 mRNA呈高表达。与模型组比较, 细胞移植组cyclinD2 mRNA呈高表达, 但仍较正常组织低, 差异有显著性意义($P < 0.05$), 见图2。

2.4 Western blot检测胃癌组织中cyclinD2蛋白的表达 在正常组织中cyclinD2蛋白呈高表达, 模型组呈现明显弱表达, 与模型组比较, 细胞移植组呈高表达, 但仍较正常组织低, 差异有显著性意义($P < 0.05$), 见图3。

2.5 TUNEL法检测胃癌细胞凋亡情况 细胞移植后10 d, 正常对照组未出现阳性凋亡细胞, 模型组有较多的阳性凋亡细胞, 细胞移植组阳性凋亡细胞明显减少, 见图4。

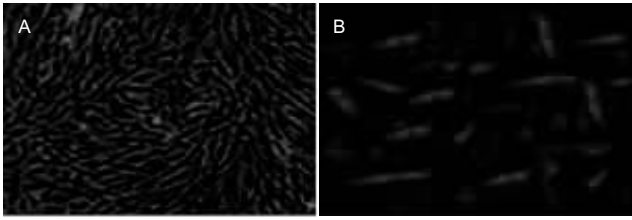


图1 骨髓间充质干细胞形态及荧光标记情况(×200)

Figure 1 The cell morphology and fluorescence labeling of bone marrow mesenchymal stem cells (×200)

图注: 图中 A 为第 3 代骨髓间充质干细胞排列整齐、呈漩涡状生长; B 为荧光染料 SP-Dil 染色后骨髓间充质干细胞, 呈现红色。

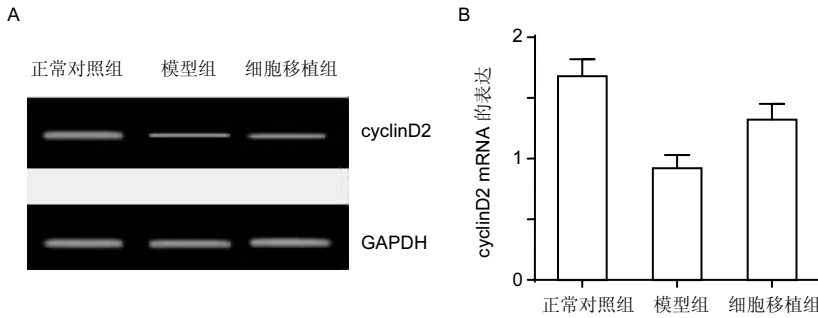


图2 Real-time PCR 检测胃癌组织中 cyclinD2 mRNA 的表达

Figure 2 The cyclin D2 mRNA expression in the gastric cancer tissues detected by real-time PCR

图注: 图中 A 为各组胃癌组织 cyclinD2 mRNA 的电泳图; B 为各组胃癌组织 cyclinD2 mRNA 的表达。

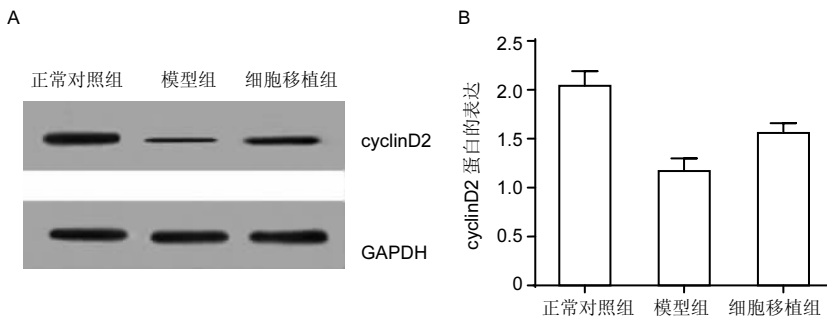


图3 Western blot 检测胃癌组织中 cyclinD2 蛋白的表达

Figure 3 The cyclin D2 protein expression in the gastric cancer tissues detected by western blot assay

图注: 图中 A 为各组胃癌组织 cyclinD2 蛋白的电泳图; B 为各组胃癌组织 cyclinD2 蛋白的表达。

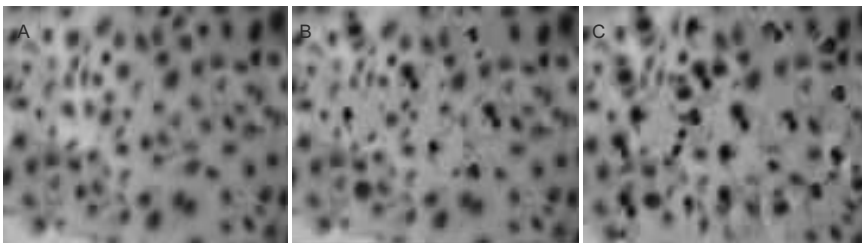


图4 TUNEL 法检测胃癌细胞凋亡情况(×200)

Figure 4 The gastric cancer cell apoptosis detected by TUNEL assay (×200)

图注: 图中 A 为正常对照组未出现阳性凋亡细胞; B 为模型组有较多的阳性凋亡细胞; C 为细胞移植组阳性凋亡细胞明显减少。

3 讨论 Discussion

由于诊断不及时, 胃癌患者确诊时, 疾病往往到了进展期或晚期, 其根治率也严重下降, 因此, 早期确诊非常重要。实验通过 Dil 荧光标记技术发现, 骨髓间充质干细胞具有向胃癌移植瘤部位趋化的特性。趋化是指某些特定的细胞在特定条件下, 向靶器官或靶组织移动的特性^[33]。实验结果表明骨髓间充质干细胞具有胃癌靶向性, 利用这一特性可以用核素或荧光标记骨髓间充质干细胞, 然后通过检测胃部此类标记细胞的浓度, 早期诊断胃癌肿瘤的发生, 为胃癌治疗提供依据。

在寻求癌症治疗新模式的征途中, 学者发现肿瘤基因疗法可能是癌症肿瘤治疗的第 4 种模式。肿瘤基因治疗的关键技术之一是载体的选择, 然而目前肿瘤基因载

体存在诸多的弊端: 细胞寿命较短, 细胞自我复制能力和无限增殖的潜能有限, 体外来源缺乏, 器官靶向性较差^[34]。骨髓间充质干细胞作为基因载体具有以下优势: ①存活能力和增殖活化能力非常强; ②来源丰富, 采集较为简单; ③体外增殖扩增能力强。实验发现骨髓间充质干细胞具有靶向迁移到胃癌的能力, 因此通过基因改造骨髓间充质干细胞, 其可能成为新的有效的肿瘤基因载体。

实验发现, 骨髓间充质干细胞移植组大鼠瘤体的 Cyclin D2 基因和蛋白表达水平显著提高。Cycling D2 是细胞周期素家族成员之一, 当细胞从静息状态发展并开始有丝分裂时, 该蛋白家族将首先被合成, 并与细胞周期蛋白依赖性激酶 4 和 6 结合成蛋白复合物, 启动细

胞周期 S 期。Cyclin D2 在调节细胞有丝分裂从 G₁ 期向 S 期转换中发挥着非常关键的作用, 该蛋白还影响肿瘤瘤体的发展和生长^[35]。Cyclin D2 的低水平表达将阻止细胞由 G₁ 期向 S 期的转换, 而其过表达预示细胞的 G₁ 期时间缩短, 进入 S 期的时间间隔减少, 加速细胞的代谢分裂^[36]。实验研究发现, 骨髓间充质干细胞移植后, 胃癌肿瘤细胞 Cyclin D2 表达提高, 这提示骨髓间充质干细胞移植促进了胃癌细胞的增殖分化, 这与文献^[18]报道较为一致。此外, 通过 TUNEL 染色法, 研究发现骨髓间充质干细胞可以降低胃癌细胞的凋亡率, 这进一步证明了骨髓间充质干细胞对胃癌发展的促进作用。

Sun 等^[37]体外研究了骨髓间充质干细胞与 B16 黑色素瘤细胞共培养时, 肿瘤细胞的增殖分化显著提高; 陈军等^[38]与 Karnoub 等^[39]也得到了相似的结果。此系因肿瘤细胞生长需要间质的支持, 骨髓间充质干细胞具有构建肿瘤间质的潜力, 此外其还可以分泌多种细胞因子, 协助肿瘤细胞的生长。

综上所述, 骨髓间充质干细胞可以靶向性地向胃癌发生部位迁移, 这为胃癌的早期诊断和肿瘤基因治疗中载体构建提供了新的思路和方法。

作者贡献: 实验设计为陈超, 实验实施、评估为陈超、李海涛。

利益冲突: 所有作者共同认可文章内容不涉及相关利益冲突。

伦理问题: 实验过程中对动物的处置符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不良行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*. 2005;55(2):74-108.
- [2] 吴春晓, 郑莹, 鲍萍萍, 等. 上海市胃癌发病流行现状与时间趋势分析[J]. *外科理论与实践*, 2008, 13(1):24-29.
- [3] Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. *J Clin Oncol*. 2006;24(14):2137-2150.
- [4] 谢余澄, 杨亚丽, 孙涛, 等. 骨髓间充质干细胞与胃癌的起源[J]. *临床医学*, 2012, 32(8): 102-104.
- [5] Takaishi S, Okumura T, Tu S, et al. Identification of gastric cancer stem cells using the cell surface marker CD44. *Stem Cells*. 2009;27(5):1006-1020.
- [6] Houghton J, Stoicov C, Nomura S, et al. Gastric cancer originating from bone marrow-derived cells. *Science*. 2004;306(5701):1568-1571.
- [7] Marx J. Cancer research. Inflammation and cancer: the link grows stronger. *Science*. 2004;306(5698): 966-968.
- [8] Marx J. *Medicine*. Bone marrow cells: the source of gastric cancer. *Science*. 2004;306(5701):1455-1457.
- [9] Anzalone R, Lo Iacono M, Loria T, et al. Wharton's jelly mesenchymal stem cells as candidates for beta cells regeneration: extending the differentiative and immunomodulatory benefits of adult mesenchymal stem cells for the treatment of type 1 diabetes. *Stem Cell Rev*. 2011;7(2):342-363.
- [10] Volarevic V, Arsenijevic N, Lukic ML, et al. Concise review: Mesenchymal stem cell treatment of the complications of diabetes mellitus. *Stem Cells*. 2011; 29(1):5-10.
- [11] Tang Y, Gan X, Cheheltani R, et al. Targeted delivery of vascular endothelial growth factor improves stem cell therapy in a rat myocardial infarction model. *Nanomedicine*. 2014;10(8):1711-1718.
- [12] Humphreys BD, Bonventre JV. Mesenchymal stem cells in acute kidney injury. *Annu Rev Med*. 2008;59: 311-325.
- [13] O'Loughlin A, Kulkarni M, Creane M, et al. Topical administration of allogeneic mesenchymal stromal cells seeded in a collagen scaffold augments wound healing and increases angiogenesis in the diabetic rabbit ulcer. *Diabetes*. 2013;62(7):2588-2594.
- [14] Zhang G, Zhou J, Fan Q, et al. Arterial-venous endothelial cell fate is related to vascular endothelial growth factor and Notch status during human bone mesenchymal stem cell differentiation. *FEBS Lett*. 2008;582(19):2957-2964.
- [15] 陈晓宇, 黄陈, 裘正军. 早期胃癌的治疗现状与进展[J]. *现代生物医学进展*, 2015, 15(12): 2352-2354.
- [16] 李涛, 梁美霞, 冯道夫, 等. 进展期胃癌综合治疗分析[J]. *首都医药*, 2014, 21(6): 25-27.

- [17] 徐学新,张炜.晚期胃癌的治疗进展[J].中国肿瘤临床与康复,2012, 18(6): 574-576.
- [18] 王凯,李玉明,张明凯,等.人胃癌组织中间充质干细胞对胃癌细胞株SGC-7901增殖与侵袭能力的影响[J].中华实验外科杂志, 2014, 31(3): 480-482.
- [19] Roorda BD, ter Elst A, Kamps WA, et al. Bone marrow-derived cells and tumor growth: contribution of bone marrow-derived cells to tumor micro-environments with special focus on mesenchymal stem cells. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2009;69(3):187-198.
- [20] 赵宝成,王振军,毛伟征,等.脐血间充质干细胞靶向胃癌移植瘤的实验研究[J].肿瘤研究与临床,2011, 23(1): 4-7.
- [21] 申晶.骨髓源间充质干细胞输注促进STZ诱导的糖尿病大鼠胰腺内 α 细胞向 β 细胞的转变:糖尿病治疗的新模式[D].北京:中国人民解放军医学院, 2013.
- [22] 祝荫.慢病毒载体介导NK4基因修饰骨髓间充质干细胞靶向治疗胃癌的实验研究[D].南昌:南昌大学,2010.
- [23] 赵宝成.人脐血间充质干细胞趋向胃癌种植瘤及其分子机制的实验研究[D].青岛:青岛大学, 2008.
- [24] 郭彤,王薇,张君,等.骨髓间充质干细胞移植治疗眼表损害的初步实验研究[J].中华眼科杂志,2006,42(3):246-250.
- [25] 智晓东,吕刚.大鼠骨髓间充质干细胞和许旺细胞联合移植治疗脊髓损伤[J].中国组织工程研究与临床康复,2008, 12(16): 3015-3018.
- [26] 汤庆,何小洪,向邦德,等.人脐静脉血管内皮细胞培养,冻存,复苏与鉴定[J].广州医学院学报, 2006, 34(2):60-63.
- [27] 张冶金,郭林,赵德伟.兔骨髓间充质干细胞与羊膜的共培养[J].中国组织工程研究,2012,16(27):4959-4962.
- [28] 赵聃,李妍,周建博,等.大鼠Thy-1肾炎增殖病变及sublytic C5b-9致其肾小球系膜细胞增生的实验研究[J].南京医科大学学报, 2012, 12(10):1343-1350.
- [29] 赵蕾,朱翠敏,张志华,等.丙戊酸钠逆转Kasumi-1白血病细胞株AML1-ETO融合蛋白转录抑制的作用[J].中国实验血液学杂志, 2009,17(2):363-367.
- [30] 郭晓,潘峻. ERK阻滞剂U0126对白血病细胞K562细胞周期的作用及机制[J].第三军医大学学报, 2008, 30(5): 393-395.
- [31] 屈建强,杨涛,周乐. p57kip2和cyclin D2在人脑胶质瘤中的表达和临床意义[J].第四军医大学学报, 2007, 28(20): 1878-1880.
- [32] 郑倩,刘红,刘华,等.果糖二磷酸钠对2型糖尿病大鼠胰岛内质网应激时CHOP和JNK 表达及胰岛细胞凋亡的影响[J].中国病理生理杂志, 2012, 28(4): 733-737.
- [33] 王共先,汪泱,胡红林,等.骨髓间充质干细胞向前列腺癌趋向转移的研究[J].中华实验外科杂志, 2006, 23(5): 582-584.
- [34] 宋向明,赵瑜,田长富.肿瘤基因治疗的病毒载体研究进展[J].医学综述,2014,20(6): 1006-1009.
- [35] Song H, Hogdall E, Ramus SJ, et al. Effects of common germ-line genetic variation in cell cycle genes on ovarian cancer survival. *Clin Cancer Res*. 2008; 14(4):1090-1095.
- [36] 顾立志.间充质干细胞对胃癌SGC7901细胞增殖的影响及机制的实验研究[D].徐州:徐州医学院, 2009.
- [37] Sun T, Sun BC, Ni CS, et al. Pilot study on the interaction between B16 melanoma cell-line and bone-marrow derived mesenchymal stem cells. *Cancer Lett*. 2008;263(1):35-43.
- [38] 陈军,徐祗顺,赵海峰,等.骨髓间充质干细胞在兔肿瘤组织中的分布与分化[J].中华医学杂志, 2007,87(33):2361-2364.
- [39] Karnoub AE, Dash AB, Vo AP, et al. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis. *Nature*. 2007;449(7162):557-563.