

· 临床研究 ·

再生障碍性贫血患儿骨髓间充质干细胞体外生物学特性及其与免疫抑制疗效的关系

黄永兰¹, 黄绍良², 黄科², 蔡耘²

(1. 广州市妇婴医院儿科, 广东 广州 510180; 2. 中山大学附属第二医院儿科, 广东 广州 510120)

[摘要] **目的** 探讨再生障碍性贫血(再障)患儿骨髓间充质干细胞(MSC)体外生物学特性及与免疫抑制治疗(IST)疗效的关系,评价 MSC 异常在再障发生、发展中的作用。**方法** 对 29 例再障患儿进行了骨髓 MSC 培养,其中 17 例患儿接受 IST,观察 MSC 体外生长特点、表面标志、细胞周期、对 PHA 刺激的外周血淋巴细胞增殖的抑制作用,并与 5 例正常儿童骨髓作对照;观察再障患儿 MSC 异常与 IST 疗效的关系。**结果** 55% (16/29)的再障患儿表现为不同程度的 MSC 生长异常,主要为 MSC 数量减少及增殖能力下降,其中以重型再障(SAA)、病程较长者或放/化疗后再障为多见。培养成功的再障患儿第 3 代 MSC 表面标志、细胞周期、转化生长因子-β₁ (TGF-β₁)分泌水平及对 PHA 刺激的淋巴细胞增殖的抑制作用与对照组比较,差异均无显著性($P>0.05$)。在 17 例接受 IST 患儿中,9 例 MSC 生长基本正常的再障患儿经 IST 后 8 例达完全缓解,而 8 例 MSC 生长异常者仅 2 例达完全缓解,两组比较差异具有显著性($P<0.01$)。**结论** 多数再障患儿骨髓 MSC 体外生长存在不同程度的异常,其 MSC 异常对 IST 后患儿骨髓造血功能恢复具有一定的负面影响。 [中国当代儿科杂志,2008,10(1):9-13]

[关键词] 贫血,再生障碍性;间充质干细胞;免疫抑制治疗;儿童
[中图分类号] R556.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2008)01-0009-05

Biological characteristics of bone marrow-derived mesenchymal stem cells and their relationship with immunosuppressive therapy in children with aplastic anemia

HUANG Yong-Lan, HUANG Shao-Liang, HUANG Ke, CAI Yun. Department of Pediatrics, Second Affiliated Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510120, China (Huang S-L, Email: hshl@gzsums.edu.cn)

Abstract: Objective To study the biological characteristics of bone marrow-derived mesenchymal stem cells(MSC) in children with aplastic anemia (AA) and evaluate the relationship of biological characteristics of MSC with the efficacy of immunosuppressive therapy (IST). **Methods** Bone marrow-derived MSC were cultured and isolated from 29 children with AA and 5 normal controls. Seventeen out of the 29 cases received IST. Surface markers and cell cycle of MSC at passage 3 were analyzed by flow cytometry. The inhibition of lymphocyte proliferation by MSC was evaluated and TGF-β₁ level in the supernatant of MSC was detected using ELISA. **Results** Growth abnormality of MSC was found in 16 children with AA (55%), characterized by deficiency and poor proliferation of MSC, and was frequently seen in patients with severe AA or in patients with more prolonged disease course or in patients with radiation/chemotherapy-induced AA. Surface markers, cell cycle and TGF-β₁ level in the supernatant of MSC at passage 3 and the inhibition of lymphocyte proliferation by MSC in the AA group were similar to those in the control group. Eight out of nine patients with normal MSC growth achieved complete remission (CR) but only 2 out of 8 patients with abnormal MSC growth achieved CR following IST ($P<0.01$). **Conclusions** Bone marrow-derived MSC growth abnormality occurs in most of children with AA. MSC abnormality may affect adversely hematological recovery following IST. [Chin J Contemp Pediatr, 2008, 10 (1):9-13]

Key words: Anemia, aplastic; Mesenchymal stem cell; Immunosuppressive therapy; Child

目前多数学者认为,再生障碍性贫血(简称再障)是T淋巴细胞介导的骨髓造血功能衰竭^[1~3],间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)是存在于骨髓基质中的具有多向分化潜能的一组非造血细胞亚群,对造血干/祖细胞(hematopoietic stem / progenitor cells, HSPC)的自我更新和造血分化具有重要调节作用,MSC还具有免疫调节作用。迄今为止,有关再障患儿骨髓 MSC 的改变及其在疾病发生、发展中作用尚不十分清楚。我们观察了 29 例再障患儿骨髓 MSC 体外生物学特性及其与免疫抑制

[收稿日期]2007-05-25;[修回日期]2007-07-12
[作者简介]黄永兰,女,博士,主任医师。主攻方向:小儿血液病及造血干细胞移植。
[通讯作者]黄绍良,教授,博士生导师。中山大学附属第二医院儿科,邮编:510120。

治疗(immunosuppressive therapy, IST)疗效的关系, 试图探讨 MSC 在再障发生、发展中的作用。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

于2004年2月至2005年12月中山大学附属第二医院儿科确诊再障患儿29例,其中男17例,女12例,年龄2~15岁,平均9岁。起病前有明确诱因的继发性再障6例(继发于系统性红斑狼疮、桥本氏甲状腺炎、过敏性紫癜和坏死性淋巴结炎各1例,放/化疗2例),无明确诱因的特发性再障23例。根据Camitta分型标准^[4],重型再障(severe aplastic anemia, SAA)21例(初诊16例,缓解期5例),轻型再障(moderate AA, MAA)8例。在24例初诊患儿中,接受抗胸腺细胞球蛋白和环孢菌素A(CsA)联合的强化免疫抑制治疗者11例,单用CsA治疗者6例,细胞生长因子治疗2例(放/化疗后),同胞HLA全相合外周血造血干细胞移植1例,未接受治疗4例。对照组:同期正常儿童骨髓5份,来源于同胞骨髓移植供者或骨髓MSC供者。以上检查和治疗均取得患儿家长知情同意。

1.2 IST疗效判断

参照1998年Santa Margherita Ligure国际会议制定的标准^[4],分完全缓解(CR)、部分缓解(PR)和无效(NR)。SAA:①CR:ANC>1.5×10⁹/L,Hb>110 g/L,PLT>100×10⁹/L;②PR:ANC>0.5×10⁹/L,Hb>80 g/L,PLT>20×10⁹/L;③NR:血常规无改善;④复发:外周血细胞达CR或PR后又回复到SAA水平,伴或不伴有输血。MAA:①CR:与SAA相同;②PR:脱离输血(如果以前需输血);或至少1系细胞两倍增或正常;或三系细胞较治疗前明显增高,其中Hb>3 g/L(如果开始<3 g/L),ANC>0.5×10⁹/L(如果开始<0.5×10⁹/L),PLT>20×10⁹/L(如果开始<20×10⁹/L);③NR:病情加重或血常规改变不符合上述条件。CR及PR为有效,判断疗效时停造血生长因子2周以上、血常规维持稳定水平达4周。

1.3 MSC的分离、培养及形态学观察

采用本室已建立的方法进行骨髓MSC培养。取骨髓液3 mL,加等量PBS稀释后缓慢加到淋巴细胞分离液界面上(1.077 g/mL,中国医科院血液研究所),20℃ 2 000 r/min离心20 min,小心收集中间层,分离单个核细胞(MNC),再用PBS洗2次,L-DMEM重悬细胞,计数,以2×10⁵/cm²的细胞密

度接种于25 cm²细胞培养瓶内,加含10%胎牛血清的L-DMEM,置37℃,体积分数5% CO₂饱和湿度培养箱中,3 d半量换液,6~7 d全量换液,以后每3~4 d换液1次,倒置相差显微镜下观察细胞生长情况,当细胞融合达90%时用0.25%胰蛋白酶消化,按1:3的比例传代。

1.4 MSC表面标志的检测

采用流式细胞仪检测第3代MSC表面标志CD29, CD44, CD105, CD166, CD106, CD54, CD34, CD45表达水平,荧光标记小鼠抗人抗体购于PharMingen公司,以同型IgG作为阴性对照,结果用CellQuest软件分析。

1.5 细胞周期

取第3代MSC,经PBS洗涤后加入70%的冰乙醇2 mL,充分混匀后置-20℃固定24 h,1 200 r/min离心5 min去乙醇,PBS洗2次,加入10 g/L RNA酶50 mL,0.1 g/L碘化吡啶450 mL,4℃避光染色30 min,流式细胞仪检测。增殖指数=S期+(G2-M)期。

1.6 MSC培养上清的收集及TGF-β₁检测

取第3代MSC按2×10⁴/孔接种于12孔培养板,每样本接种3孔,每孔加L-DMEM完全培养基1 mL,细胞融合达90%时收集上清,3孔混匀,取1 mL上清-80℃保存。采用ELISA检测MSC培养上清液中TGF-β₁水平,TGF-β₁试剂盒购于晶美生物制品有限公司,操作按说明书进行。

1.7 MSC对PHA诱导的淋巴细胞增殖的抑制作用

取第3代MSC,按2×10⁴/孔接种于12孔培养板(3复孔),细胞融合达90%予丝裂霉素C处理,制备MSC滋养层。每孔加健康人外周血MNC 5×10⁵,PHA 10 mg/mL(终浓度),总体积0.5 mL。以不含MSC滋养层的PHA刺激孔为对照,另设无MSC及PHA的MNC孔了解PHA刺激效果。置37℃,5% CO₂饱和湿度培养箱3 d,倒置光学显微镜下观察细胞增殖情况。将细胞轻轻混匀后移入1.5 mL Apendoff管中,离心,留取上清液-80℃保存待测TGF-β₁水平;细胞悬液移入96孔培养板,1 000 r/min离心5 min,弃上清,加MTT 100 mL/孔,振荡1 min,37℃,5% CO₂培养4 h,离心后弃上清,再加DMSO 100 mL/孔,振荡1 min,待结晶完全溶解后,酶标仪测吸光度(A)值。MSC对PHA刺激的淋巴细胞增殖抑制率=(AMSC组-A无MSC组)/A无MSC组×100%。

1.8 统计学处理

计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间均

数比较用 t 检验,计数资料用 χ^2 检验,相关分析用双变量相关分析。 $P < 0.05$ 被认为有统计学意义。

2 结果

2.1 再障患儿骨髓 MSC 生长特点

正常儿童骨髓 MNC 接种 24 h 后可见少量贴壁细胞,48 ~ 72 h 后可见散在单个或几个长梭形细胞,4 ~ 6 d 可见由几个或 20 ~ 40 个细胞组成的克隆,细胞形态均一,克隆分布均匀,于 12 ~ 14 d 细胞呈现 90% 融合,传代及冻存复苏的细胞于 24 h 小时后完全贴壁,每 3 ~ 5 d 传代 1 次,可至 10 代以上,细胞生长速度和形态无明显改变。再障患儿骨髓 MSC 生长情况与正常儿童存在较大差异,根据 MSC 生长异常程度不同分为 3 种情况(图 1)。
①基本正常:与正常骨髓 MSC 生长基本一致,于 12 ~ 14 d 细胞融合达 90%,每 3 ~ 5 d 传代 1 次,可至第 10 代,细胞形态和生长速度无明显异常;
②轻度异常:细胞贴壁及 MSC 克隆形成延迟,克隆数量减少,分布不均匀,生长速度较慢,细胞融合达 90% 所需时间常达 21 d,按 1:2 或 1:3 比例传代后,细胞生长速度和形态好转,至 5 代左右,细胞生长速度减慢,胞体增大,胞浆内颗粒增多;
③严重异常:原代细胞培养至 7 d 仍无贴壁,或至 14 d 仍无较大 MSC 克隆形成,不能传代。

29 例再障患儿中, MSC 生长基本正常 13 例,轻度异常 7 例,严重异常 9 例,异常率为 55% (表 1)。初诊 SAA 患儿 MSC 生长异常率为 68.8% (11/16),显著高于 MAA 者 (2/8, $\chi^2 = 4.11, P < 0.05$)。MSC 生长异常的患儿病程为 24.8 ± 41.6 月,生长正常者为 10.2 ± 11.4 月,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。病程在 1 年以内的 MAA 患儿 MSC 生长均正常,而 3 例病程超过 3 年的再障患儿 (1 例为 MAA, 2 例由 MAA 发展为 SAA) 骨髓 MSC 生长均严重异常。2 例放/化疗后再障均为 MSC 生长严重异常。5 例缓解期的 SAA 患儿 (CR 4 例, PR 1 例,缓解时间 > 1 年) 中, 3 例表现为 MSC 生长异常,其中 1 例 PR 患儿为 MSC 生长严重异常。

2.2 MSC 表面标志、TGF- β_1 分泌水平及细胞周期
再障患儿第 3 代 MSC 不表达 CD34, CD45, 高表

达 CD166, CD105, CD54, CD106, CD29, CD44, 与正常对照组比较差异无显著性 ($P > 0.05$, 表 2)。再障患儿 MSC 培养上清液中 TGF- β_1 水平为 (1.1 ± 0.1) mg/L, 与对照组 (1.2 ± 0.1) mg/L 比较差异亦无统计学意义 ($P > 0.05$)。细胞周期分析显示,再障患儿第 3 代 MSC S 期占 $(4.1 \pm 0.2)\%$, 增殖指数为 $(7.7 \pm 0.2)\%$, 对照组分别为 $(3.8 \pm 0.2)\%$ 和 $(7.4 \pm 0.3)\%$, 两组比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。

2.3 MSC 对 PHA 刺激的淋巴细胞增殖的抑制作用

观察了 6 例再障患儿 (SAA 2 例, MAA 4 例) 和 4 例对照儿童骨髓 MSC 对 PHA 刺激的正常人外周血淋巴细胞增殖的抑制作用,再障组 MSC 的抑制率为 $(42.1 \pm 6.2)\%$, 对照组为 $(43.4 \pm 7.0)\%$, 两组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 图 2)。同等条件下,当 12 孔板 MSC 细胞融合仅 70% 时,对照组和再障组 MSC 的这种抑制作用均消失,即 MSC 的免疫负调节作用具有剂量依赖性。MSC 的抑制率与培养上清中 TGF- β_1 水平呈显著正相关 ($r = 0.791, P < 0.01$)。

2.4 再障患儿骨髓 MSC 生长情况与 IST 的关系

17 例再障 (其中 SAA 9 例) 患儿于 IST 治疗前进行了骨髓 MSC 培养,其中 9 例 MSC 生长基本正常 (SAA 4 例) 的患儿经 IST 后 8 例 CR, 另 8 例 MSC 生长异常 (SAA 5 例) 的患儿经 IST 后仅 2 例 CR, 两组比较差异有显著性 ($\chi^2 = 7.13, P < 0.01$)。其中 4 例 MSC 生长轻度异常的 SAA 患儿经 IST 后复查 (CR 3 例, PR 1 例) 其 MSC 生长基本正常; 1 例无 MSC 生长的继发性 SAA 患儿 (坏死性淋巴结炎) 经 CsA 和甲基泼尼松龙治疗 15 d (中性粒细胞恢复正常) 及 1 例无 MSC 生长的病程 3 年以上的 MAA 患儿经造血干细胞移植后 21 d (尚未重建造血) 复查骨髓 MSC, 均可见散在的 MSC 集落形成, 该移植患儿于移植后 6 个月血常规恢复正常。

表 1 再障患儿骨髓 MSC 生长情况与疾病状态的关系				
分组	例数	基本正常	轻度异常	严重异常
初诊 SAA	16	5	4	7
初诊 MAA	8	6	1	1
缓解 SAA	5	2	2	1

表 2 再障患儿和正常儿童骨髓 MSC 黏附分子表达水平比较							
(x ± s, %)							
分组	例数	CD29	CD44	CD166	CD105	CD54	CD106
正常对照组	5	87.9 ± 3.2	98.6 ± 0.2	83.9 ± 9.0	86.2 ± 4.5	72.6 ± 8.1	70.1 ± 5.0
再障组	8	97.3 ± 0.2	98.3 ± 0.3	89.5 ± 3.2	91.0 ± 2.0	63.3 ± 3.0	73.5 ± 2.4

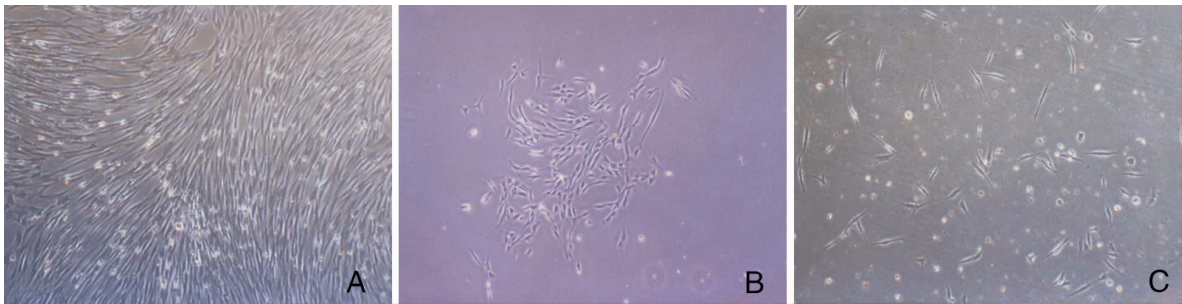


图1 再障患儿骨髓 MSC 原代培养 (12 d, 40 ×) 根据细胞贴壁、MSC 克隆形成和细胞融合所需时间不同分为 3 种类型。A: MSC 生长正常,细胞融合达 90%; B: MSC 生长轻度异常, MSC 克隆大小不一,分布不均; C: MSC 生长严重异常,不能形成较大的 MSC 克隆,不能传代。

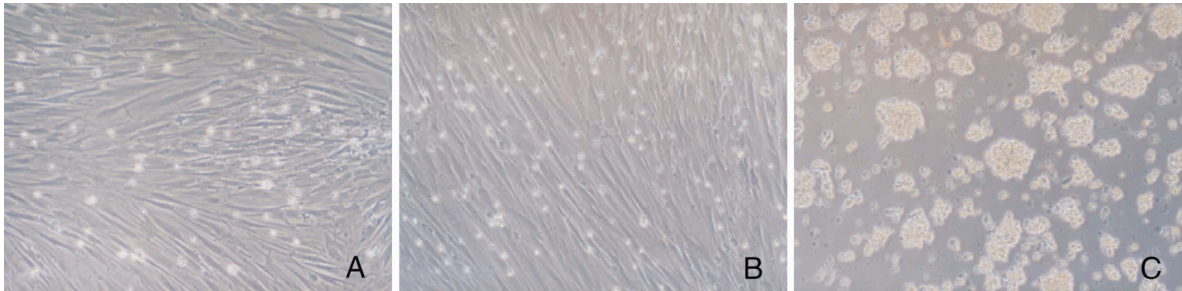


图2 再障患儿和正常儿童骨髓 MSC 抑制 PHA 诱导的正常人外周血淋巴细胞增殖反应 (共培养 3 d, 100 ×) A:再障患儿 MSC + PBMNC + PHA 共培养,无淋巴细胞增殖克隆; B:正常儿童 MSC + PBMNC + PHA 共培养,无淋巴细胞增殖克隆; C:无 MSC 存在时 PBMNC + PHA 共培养,见淋巴细胞增殖克隆。PBMNC:外周血单个核细胞,PHA:植物血凝素

3 讨论

已经证实, MSC 是构成骨髓微环境的重要组成部分,可分泌多种造血调控因子、黏附分子和细胞外基质支持和调节造血干细胞的自我更新、增殖和分化,同时还具有免疫调节、抑制细胞和体液免疫、防治移植抗宿主病等作用,但 MSC 在再障发生、发展中的作用仍不清楚。最近陈静等^[6]观察了 5 例再障患儿骨髓 MSC 体外生长情况,发现再障患儿 MSC 的增殖能力较正常对照组降低。我们对 29 例再障患儿和 5 例正常对照儿童骨髓 MSC 体外培养观察发现,再障患儿存在不同程度的 MSC 生长异常,主要表现为:①MSC 相对数量和绝对数量减少,前者指相同的 MNC 密度下贴壁细胞和 MSC 数量减少,后者指初诊再障患儿由于骨髓 MNC 数量明显减少^[3],即使 MSC 体外生长正常,体内仍存在 MSC 绝对数量减少。②MSC 增殖能力降低,首先表现为原代培养时 MSC 克隆大小不一,分布不均匀,严重时不能形成较大的细胞克隆。其次,部分患儿的 MSC 经过 5 ~ 6 代培养后细胞生长速度减慢,形态异常。

③MSC 生长异常与病情严重程度、病程及发病诱因有一定关系,以 SAA、病程较长者或放/化疗后再障相对多见。我们还对培养成功的第 3 代 MSC 进一步分析显示,再障患儿 MSC 表面标志、细胞周期、分泌 TGF-β₁ 的能力以及对 PHA 刺激的淋巴细胞增殖的抑制作用均属正常,提示残存的 MSC 无明显的内在缺陷。部分初诊 SAA 和 MAA 患儿 MSC 生长正常,而且 MSC 生长异常者经 IST 后 MSC 生长可恢复正常,说明再障患儿 MSC 异常不是导致再障发病的原因,而可能是免疫损伤的结果。我们同期的研究结果显示,70.4% 的特发性再障患儿体内存在 T 淋巴细胞克隆性增殖等特异性免疫功能异常^[2],再障患儿 HSPC 凋亡增加和体外增殖能力下降与骨髓 T 淋巴细胞数量增多和功能活化、分泌 γ-干扰素增加有关^[3]。最近文献报道^[7],正常骨髓基质细胞在体外暴露于 γ-干扰素可发生与 CD34⁺ 细胞相似的基因表达谱变化,即细胞凋亡基因和免疫反应基因表达增强。因此,我们认为,再障患儿 MSC 异常主要是免疫介导的继发性损伤。病程在 1 年以内的 MAA 患儿 MSC 生长均正常,而 3 例病程超过 3 年的再障患儿(1 例为 MAA, 2 例由 MAA 发展为 SAA)

骨髓 MSC 生长均严重异常,高度提示长期的免疫损伤不单损伤 HSPC,还可导致骨髓微环境的严重破坏,加重病情。放/化疗后再障患儿骨髓 MSC 生长严重异常可能与射线和细胞毒药物的直接损伤有关。

正常的造血微环境对维持正常骨髓造血具有重要作用。本组资料显示,9 例 MSC 生长基本正常的再障患儿经 IST 后 8 例血常规恢复正常,达到完全缓解状态,而 8 例 MSC 生长异常的再障患儿经 IST 后仅 2 例血常规恢复正常,说明相对正常的骨髓微环境对 HSPC 功能的恢复具有重要促进作用,而异常的骨髓微环境可能影响 IST 后造血恢复。此外,本组 1 例病程 3 年以上无 MSC 生长的 MAA 患儿经造血干细胞移植后 6 个月血常规才恢复正常;5 例随访的缓解期 SAA 患儿中 1 例为 PR,其 MSC 生长严重异常,以上均提示 MSC 生长严重异常不利于骨髓造血恢复。最近体外实验显示,MSC 与 HSPC 直接接触,对维持造血干细胞的不对称分裂具有重要作用,造血干细胞在无 MSC 环境中易发生对称性分裂,干细胞向各系祖细胞分化^[8]。再障患儿骨髓 HSPC 数量减少,早期祖细胞缺乏,CD34⁺ 细胞系分化抗原表达增加等缺陷除与细胞凋亡增加和促进造血的细胞因子分泌增加有关外^[3],可能还与 MSC 异常有关。因此,对免疫介导性再障,临床上应积极给予 IST 或造血干细胞移植,以尽早终止淋巴细胞对 HSPC 和 MSC 的破坏,避免导致严重的不可逆的骨髓损伤,影响治疗效果。

MSC 除具有支持造血作用外,还具有免疫调节作用,黄科等^[9]报道,MSC 在体外可分泌多种细胞因子,其中 TGF- β_1 是重要的免疫负调节因子,在免疫调节和免疫耐受中具有重要作用,可通过减少 Th1 细胞细胞因子(γ -干扰素)的分泌调节 Th1/Th2 细胞的功能^[10]。我们已经证实,再障患儿骨髓 TGF- β_1 水平是显著降低的,并与骨髓 CD8⁺ T 细胞数量增多有关^[11],尽管本组再障患儿体外 MSC 分泌 TGF- β_1 功能正常,但由于体内 MSC 数量减少,推测骨髓 TGF- β_1 水平降低可能与 MSC 异常有关。Krampera 等^[12]研究显示,骨髓 MSC 还可通过阻碍 T 细胞与抗原呈递细胞的接触,抑制 naive 和抗原特

异性记忆细胞对抗原的反应,因此,再障患儿 MSC 异常可能会加重业已存在的细胞免疫功能紊乱,这也可能是部分 MAA 患儿进展为 SAA 的重要原因。

[参 考 文 献]

[1] Zeng W, Maciejewski JP, Chen G, Young NS. Limited heterogeneity of T cell receptor BV usage in aplastic anemia[J]. J Clin Invest, 2001, 108(5):765-773.

[2] 黄永兰,黄绍良,包容,张绪超,吴燕峰. 再生障碍性贫血儿童 TCR V β 亚家族 T 细胞克隆性增殖及其与 HLA-DRB1 * 15 的关系[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2006, 27(2):161-164.

[3] 黄永兰,黄绍良,魏菁,吴燕峰,方建培,陈纯,等. 再生障碍性贫血患儿骨髓造血干/祖细胞缺陷与细胞免疫功能异常的关系[J]. 中华血液学杂志, 2006, 27(2):129-130.

[4] Camitta BM, Thomas ED, Nathan DG, Santos G, Gordon-Smith EC, Gale RP, et al. Severe aplastic anemia: a prospective study of the effect of early marrow transplantation on acute mortality[J]. Blood, 1976, 48(1):63-70.

[5] Camitta BM. What is the definition of cure for aplastic anemia? [J]. Acta Haematol, 2000, 103(1):16-18.

[6] 陈静,王茜,施英唐,周晓飞,徐晓军,刘爱莲. 再生障碍性贫血患儿骨髓间充质干细胞的生物学特点[J]. 中国实验血液学杂志, 2005, 13(5):832-838.

[7] Zeng W, Miyazato A, Chen G, Kajigaya S, Young NS, Maciejewski JP. Interferon-gamma-induced gene expression in CD34⁺ cells: identification of pathologic cytokine-specific signature profiles[J]. Blood, 2006, 107(1):167-175.

[8] Gottschling S, Saffrich R, Seckinger A, Krause U, Horsch K, Miesala K, et al. Human mesenchymal stromal cells regulate initial self-renewing divisions of hematopoietic progenitor cells by a beta1-integrin-dependent mechanism[J]. Stem Cells, 2007, 25(3):798-806.

[9] 黄科,周敦华,黄绍良,梁舜华. 不同年龄段人骨髓间充质干细胞生物学特性研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2005, 13(6):1049-1053.

[10] Kim YK, Myint AM, Lee BH, Han GS, Lee HJ, Kim DJ, et al. Th1, Th2 and Th3 cytokine alteration in schizophrenia[J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2004, 28(7):1129-1134.

[11] 黄永兰,黄绍良,梁蔚文,魏菁. 再生障碍性贫血患儿 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞及 TGF- β_1 、Flt-3L 水平变化的意义[J]. 中国实用儿科杂志, 2007, 22(2):130-132.

[12] Krampera M, Glennie S, Dyson J, Scott D, Laylor R, Simpson E, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide [J]. Blood, 2003, 101(9):3722-3729.

(本文编辑:吉耕中)