

· 临床研究 ·

再生障碍性贫血患儿骨髓间充质干细胞 体外造血支持作用的研究

吴艳, 于洁, 张磊, 罗庆, 肖剑文, 刘筱梅, 宪莹, 戴碧涛, 徐酉华, 苏庸春
(重庆医科大学附属儿童医院血液肿瘤科, 重庆 400014)

[摘要] **目的** 骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)具有造血支持作用,再生障碍性贫血(aplastic anemia, AA)的发病机制涉及到造血微环境的异常,将两方面联系起来,体外研究再障患儿骨髓MSC的造血支持作用与再障的造血微环境异常的关系。**方法** 采集24例再障患儿和19例对照儿童的骨髓标本,分离、培养和扩增MSC;观察细胞形态及骨髓MSC成纤维细胞集落形成单位(CFU-F)计数分析;应用MTT法检测骨髓MSC粘附造血细胞的能力;应用ELISA检测骨髓MSC分泌干细胞生长因子(SCF)的浓度;对骨髓MSC进行贴壁培养,接种骨髓单个核细胞,计数扩增细胞数和红系爆式集落生成单位(BFU-E),粒细胞巨噬细胞集落生成单位(CFU-GM),混合细胞集落生成单位(CFU-GMME)。**结果** ①再障患儿骨髓MSC传代时间延长,CFU-F计数 15.70 ± 5.78 显著低于对照组 21.73 ± 5.74 , $P < 0.05$;②再障患儿骨髓MSC培养上清中SCF的浓度 30.69 ± 16.82 pg/mL显著低于对照组 50.74 ± 14.83 pg/mL, $P < 0.01$;③再障患儿骨髓MSC支持下的单个核细胞(MNC)细胞扩增总数和红系爆式集落生成单位(BFU-E),粒细胞巨噬细胞集落生成单位(CFU-GM),混合细胞集落生成单位(CFU-GMME)计数显著低于对照组, $P < 0.01$ 。**结论** 再障患儿骨髓MSC体外造血支持作用较对照儿童骨髓MSC显著降低,其发生机制可能与再障患儿骨髓MSC增殖能力减低及分泌SCF减少有关。
[中国当代儿科杂志,2008,10(4):455-459]

[关键词] 再生障碍性贫血;间充质干细胞;造血支持;干细胞生长因子;儿童
[中图分类号] R556.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2008)04-0455-05

Hematopoiesis support of mesenchymal stem cells in children with aplastic anemia

WU Yan, YU Jie, ZHANG Lei, LUO Qing, XIAO Jian-Wen, LIU Xiao-Mei, XIAN Ying, DAI Bi-Tao, XU You-Hua, SU Yong-Chun. Department of Hematology, Children's Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China (Yu J, Email: yujie167@yahoo.com)

Abstract: Objective The abnormality of hemopoietic inductive microenvironment (HIM) is involved in the pathophysiology of aplastic anemia (AA). Mesenchymal stem cells (MSC) are main source of bone marrow stromal cells which constitute the bone marrow HIM. Thus, the bone marrow failure in AA may be related to the function of MSC. The aim of the study was to investigate the hematopoiesis support function of MSC in children with AA *in vitro*. **Methods** Bone marrow samples were collected from 24 children with AA at diagnosis and 19 children with idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP), infectious mononucleosis or lymphadenitis (controls). MSCs from bone marrow samples were isolated, cultured and expanded. Morphology, proliferation activity and colony forming unit-fibroblast (CFU-F) were measured. The ability of bone marrow MSC to adhere hemopoietic cells was assayed by MTT. The concentration of stem cell factor (SCF) released from MSC was tested using ELISA. Mononuclear cells (MNC) of bone marrow were plated onto a feeder layer formed by MSC. Cells count and BFU-E, CFU-GM, CFU-GMME productions were measured. **Results** The first and third passage time of MSC in children with AA was longer than that in the controls. The number of CFU-F in children with AA (15.70 ± 5.78) was less than that in the controls (21.73 ± 5.74) ($P < 0.05$). The concentration of SCF in MSC supernatants in children with AA (30.69 ± 16.82 pg/mL) was significantly lower than the controls (50.74 ± 14.83 pg/mL) ($P < 0.01$). The total MNC count and the number of BFU-E, CFU-GM and CFU-GMME colonies in the support of MSC in children with AA were significantly lower than those in the controls ($P < 0.01$). **Conclusions** The hematopoiesis support function of MSC was significantly reduced in children with AA *in vitro*. The decreased hematopoiesis support function of MSC may be related its decreased proliferation capacity and SCF release activity. [Chin J Contemp Pediatr, 2008, 10 (4):455-459]

Key words: Aplastic anemia; Mesenchymal stem cell; Hematopoiesis support; Stem cell factor; Child

[收稿日期]2008-04-19;[修回日期]2008-05-21
[作者简介]吴艳,女,硕士研究生。主攻方向:儿童血液肿瘤诊治的研究。
[通讯作者]于洁,教授,重庆医科大学附属儿童医院血液肿瘤科,邮编:400014。

骨髓造血微环境是由骨髓微血管、神经体液因子、细胞因子、基质细胞及非细胞纤维成分、细胞外基质和粘附因子等组成,提供适当的造血生长信号给造血干细胞(hemopoietic stem cell, HSC)。间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)是骨髓造血微环境的主要组成部分,通过介导 HSC 粘附,分泌多种造血生长因子而发挥造血支持作用^[1,2]。其中干细胞因子(stem cell factor, SCF)能够刺激原始造血细胞增殖分化,在一定水平上反应骨髓基质的造血调控作用^[3]。再生障碍性贫血(aplastic anemia, AA)发病机制主要涉及免疫功能紊乱、造血微环境异常和造血干祖细胞破坏,其中造血微环境异常在再障发病过程中起很重要的作用。本课题通过实验观察再障患儿骨髓 MSC 的造血支持作用,期望为研究骨髓 MSC 与再障发病机制提供依据。

1 对象和方法

1.1 研究对象

再障组:24 例,男 14 例,女 10 例,年龄 3 ~ 13 岁,中位年龄 10 岁,骨髓标本来自重庆医科大学附属儿童医院血液科。确诊时血常规:WBC $0.9 \sim 4.3 \times 10^9/L$, Hb $37 \sim 69 \text{ g/L}$, PLT $4 \sim 47 \times 10^9/L$;骨髓涂片检查示骨髓增生低下,红系、粒系不同程度增生减低,骨髓小粒中非造血细胞增多,巨核细胞少见,血小板罕见;骨髓活检示骨髓组织增生减低,造血细胞重度减少,脂肪组织增生活跃。诊断符合 1987 第四届再生障碍性贫血学术会议所确立的诊断标准^[4]。其中 12 例符合急性再障诊断标准;另外 12 例符合慢性再障诊断标准。24 例患儿均为初诊,标本采自治疗前。急性再障组与慢性再障组又合并称为再障组。

对照组:19 例,男 11 例,女 8 例,年龄 2 ~ 11 岁,中位年龄 8 岁,骨髓标本同样取自重庆医科大学附属儿童医院血液科。特发性血小板减少性紫癜(idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP)9 例,骨穿结果示巨核细胞成熟障碍,血小板少见,符合 ITP 骨髓象;传染性单核细胞增多症 8 例,淋巴结炎 2 例,骨穿结果呈增生性骨髓象。将骨髓结果呈增生性骨髓象的标本作为对照组 1,ITP 组与对照组 1 合并作为对照组 2。本研究得到重庆医科大学附属儿童医院伦理道德委员会批准,并获取受试对象家长的知情同意。

1.2 实验方法

1.2.1 主要试剂和仪器

DMEM (Dulbecco's

modified eagle's medium)培养基(Hyclone 公司),优质胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、马血清(horse serum, HS) (PAA 公司),小牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA, TBD 公司),24 孔、96 孔细胞培养板(Costar 公司),四甲基偶氮唑盐(MTT)、二甲基亚砜(DMSO) (Sigma 公司),丝裂霉素(Roche 公司),SCF ELISA 试剂盒(北京尚柏公司),细胞因子 EPO, FL, SCF, GM-CSF, TPO, IL-11 (Peprotech 公司)。酶标仪(TECAN SUNRISE 公司)。

1.2.2 骨髓 MSC 的体外分离、纯化和扩增培养 无菌条件下采集骨髓 1 ~ 2 mL,采用密度梯度离心法,反复贴壁分离纯化单个核细胞(MSC)^[5]。记录每一代的传代时间进行比较,传至 3 ~ 4 代细胞中骨髓 MSC 的纯度可达 90%,即进行试验。

1.2.3 成纤维细胞集落形成单位(colony forming unit-fibroblast, CFU-F)分析 分离骨髓中的 MNC 以 5×10^5 量接种于 35 mm 培养皿中,24 h 后移去悬浮细胞,3 ~ 4 d 更换一次培养基,第 14 天结束培养,行瑞氏染色,计数 CFU-F (> 20 个细胞为一个克隆)。

1.2.4 MTT 法 以吸光度(A)值反映骨髓 MSC 粘附骨髓 MNC 的能力:骨髓 MSC 粘附 MNC 的能力越强,则对应的 A 值越大^[6]。骨髓 MSC 以 10^4 /孔接种至 96 孔板中,待形成融合层后,加入骨髓 MNC 10^5 /孔,共培养 24 h 后采用 MTT 法,测定各孔 A 值。

黏附率 = 实验组 A 值 / (MSC 组 A 值 + MNC 组 A 值)

1.2.5 酶联免疫吸附实验(ELISA) 采用 ELISA 双抗体夹心法定量分析骨髓 MSC 分泌到培养液中的 SCF 浓度。收集培养上清, -20℃ 冻存备用。操作步骤严格按照按试剂盒内说明书进行,以标准品 A 值绘制标准曲线。

1.2.6 造血祖细胞集落培养分析

(1)骨髓 MSC 对骨髓单个核细胞(MNC)的体外扩增作用:骨髓 MSC 10^5 /孔加入 24 孔板中,待培养骨髓 MSC 80% 融合后,用 $10 \mu\text{g/mL}$ 的丝裂霉素处理,将分离得到的骨髓 MNC 10^6 /孔加入含 MSC 层的 24 孔板中,扩增体系为 DMEM 培养基中含 10% FBS, 10% HS, $5 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 氢化考地松,并加入细胞因子 FL, SCF, IL-11 各 10 ng/mL ,培养 7 d 后取悬浮细胞,用台盼蓝拒染法计数。

(2)造血祖细胞集落分析:将扩增 7 d 后的造血细胞接种于 0.9% 的甲基纤维素半固体培养基,该培养基中含 1% 的 BSA, 0.1 mmol/L 2-巯基乙醇, EPO 10 U/mL , FL 20 ng/mL , SCF 20 ng/mL , GM-CSF

10 ng/mL,TPO 10 ng/mL,20% 胎牛血清。每个样本均设置三个复孔,培养 14 d 后计数红系爆式集落形成单位(BFU-E, >200 个有核红细胞),粒细胞巨噬细胞集落生成单位(CFU-GM, >20 个有核细胞),混合细胞系集落形成单位(CFU-GEMM, >500 个细胞,包含红系、粒系、巨噬细胞和巨核系)。

1.3 统计学分析

实验结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用统计软件 SPSS12.0 进行多个样本均数间方差分析(LSD-t 检验)和两独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

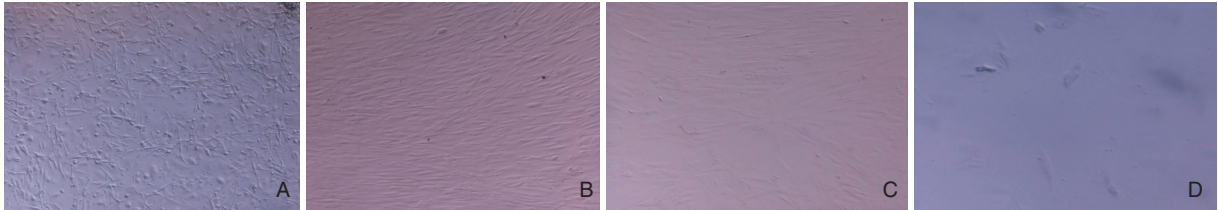


图 1 细胞形态学 A:原代 MSC,细胞形态不规则,大小不等; B:第 3 代 MSC,细胞呈典型的长梭形,形态均一; C:对照组第 6 代 MSC,细胞呈长梭形,形态均一; D:再障组第 6 代 MSC,细胞量少,并呈现出老化和分化现象

2.2 增殖能力的观察

2.2.1 传代时间比较 急慢性再障组间传代时间差异无显著性,合并二者为再障组进行分析;ITP 组与对照组 1 间传代时间差异无显著性,合并二者为对照组 2 进行分析。再障组与对照组 2 比较,第 1、第 3 代传代时间较对照显著延长;第 2 代传代时间与对照差异无显著性(表 1)。

表 1 再障与对照组骨髓 MSC 传代时间比较 ($\bar{x} \pm s$)				
组别	例数	P0-P1	P1-P2	P2-P3
急性再障组	6	19.17 ± 9.78	12.67 ± 11.22	9.83 ± 5.34
慢性再障组	10	19.70 ± 6.60	13.50 ± 8.60	11.10 ± 4.38
ITP 组	7	11.71 ± 1.80	7.29 ± 3.99	8.29 ± 2.36
再障组	16	19.50 ± 7.62 ^b	13.18 ± 9.30	10.62 ± 4.63 ^a
对照组 1	8	14.25 ± 1.83	9.88 ± 3.40	6.75 ± 2.60
对照组 2	15	13.07 ± 2.19	8.67 ± 3.79	7.33 ± 2.45

注:P0-P1,P1-P2,P2-P3 分别表示骨髓 MSC 第 1,2,3 代的传代时间。a:与对照组比较 $P < 0.05$; b: $P < 0.01$

2.2.2 CFU-F 集落形成分析 急慢性再障组间 CFU-F 计数无显著差别,合并二者为再障组进行分析;ITP 组与对照组 1 间 CFU-F 计数无显著差别,因此合并二者为对照组 2 进行分析。再障组 CFU-F 计数(15.70 ± 5.78)显著低于对照组 2 CFU-F 计数

2.1 细胞形态学观察

再障骨髓中分离的 MNC 接种于培养瓶中,24 h 后即可观察到少量贴壁细胞生长,48 h 后去除悬浮细胞,贴壁细胞表现为成纤维细胞样,原代细胞形态不均一,第 3 代细胞铺满瓶底后呈长梭形、漩涡状分布,形态均一。收集 24 例再障患儿骨髓标本,其中 6 例分离培养 MSC 失败,分别为 5 例重型再障,1 例慢性再障,而对照组 19 例标本都能成功培养出 MSC。再障组的 MSC 与对照比较前 3 代形态无明显差异,传代至第 4~5 代后细胞即出现明显的老化和分化现象,而对照组 MSC 可以传代至第 8 代后仍能保持均一的细胞形态和 7~10 d 的传代时间(图 1)。

(21.73 ± 5.74), $P < 0.01$ (表 2)。

2.3 骨髓 MSC 对造血细胞粘附的能力

急慢性再障组间骨髓 MSC 对造血细胞粘附率无显著差别,合并二者为再障组进行分析;ITP 组与对照组 1 间骨髓 MSC 对造血细胞粘附率均差异无显著性,合并二者为对照组 2 进行分析。再障组骨髓 MSC 与造血细胞的粘附率较对照组 2 骨髓 MSC 对造血细胞的粘附率比较差异无显著性(表 2)。

2.4 骨髓 MSC 培养上清中 SCF 浓度

急慢性再障组间骨髓 MSC 培养上清中 SCF 浓度无显著差别,合并二者为再障组进行分析;ITP 组与对照组 1 间骨髓 MSC 培养上清中 SCF 浓度无显著差别,合并二者为对照组 2 进行分析。再障组骨髓 MSC 培养上清中 SCF 浓度 30.69 ± 16.82 pg/mL 显著低于对照组 2 的 50.74 ± 14.83 pg/mL, $P < 0.01$ (表 2)。

2.5 骨髓 MSC 对骨髓 MNC 的体外支持能力

2.5.1 骨髓 MSC 对骨髓 MNC 的体外扩增能力的比较 急慢性再障组间骨髓 MSC 支持骨髓 MNC 扩增数量无显著差别,合并二者为再障组进行分析;ITP 组与对照组 1 间骨髓 MSC 支持骨髓 MNC 扩增的数量无显著差别,合并二者为对照组 2 进行分析。再障组骨髓 MSC 支持下的骨髓 MNC 的扩增数量

1.35 ± 0.32 × 10⁶/mL 显著低于对照组 2 的扩增数量 1.70 ± 0.29 × 10⁶/mL, *P* < 0.01 (表 3)。

2.5.2 集落分析 急慢性再障组间骨髓 MSC 扩增后的骨髓 MNC 集落形成能力无显著差别,合并二者为再障组进行分析;ITP 组与对照组 1 间骨髓

MSC 扩增后的骨髓 MNC 集落形成能力无显著差别,合并二者为对照组 2 进行分析。再障组骨髓 MSC 扩增后的 MNC 形成的 BFU-E, CFU-GM, CFU-GEMM 集落数量显著低于对照组 (表 3)。

表 2 再障与对照组骨髓 MSC CFU-F 计数、黏附率、培养上清中 SCF 浓度比较 (x̄ ± s)

组别	CFU-F 计数	黏附率 (%)	SCF 浓度 (pg/mL)
急性再障组	15.71 ± 9.12 (n = 7)	58.12 ± 13.31 (n = 6)	31.64 ± 19.94 (n = 6)
慢性再障组	15.70 ± 5.79 (n = 10)	60.81 ± 17.81 (n = 8)	31.23 ± 14.93 (n = 8)
ITP 组	21.00 ± 6.34 (n = 7)	69.42 ± 16.01 (n = 7)	47.72 ± 17.66 (n = 6)
再障组	15.70 ± 5.78 (n = 17) ^a	59.65 ± 15.52 (n = 14)	30.69 ± 16.82 (n = 14) ^a
对照组 1	23.00 ± 5.04 (n = 9)	67.09 ± 15.59 (n = 8)	56.33 ± 10.97 (n = 6)
对照组 2	22.05 ± 5.64 (n = 16)	68.18 ± 15.53 (n = 15)	52.02 ± 14.72 (n = 12)

a: 与对照组 2 比较 *P* < 0.01

表 3 再障和对照 MSC 扩增后 MNC 集落形成能力比较 (x̄ ± s)

组别	例数	MNC 计 × 10 ⁶ /mL	BFU-E (n = 3)	CFU-GM (n = 3)	CFU-GEMM (n = 3)
急性再障组	5	1.21 ± 0.32	58.14 ± 6.54	127.29 ± 17.44	4.71 ± 3.35
慢性再障组	7	1.45 ± 0.29	64.50 ± 11.93	119.80 ± 12.61	5.80 ± 2.42
ITP 组	6	1.68 ± 0.35	91.83 ± 11.91	159.00 ± 11.54	10.33 ± 3.78
再障组	12	1.35 ± 0.32	61.88 ± 10.32 ^a	122.88 ± 14.76 ^a	5.41 ± 2.81 ^a
对照组 1	6	1.71 ± 0.25	82.16 ± 8.11	161.00 ± 16.48	8.33 ± 2.07
对照组 2	12	1.70 ± 0.29	87.00 ± 10.95	160.00 ± 24.02	9.33 ± 3.08

a: 与对照组 2 比较 *P* < 0.01

3 讨论

本研究在体外研究再障患儿骨髓 MSC 的造血支持作用,排除了体内的影响因素。结果显示再障患儿骨髓 MSC 支持骨髓 MNC 体外扩增的能力显著降低,将其扩增 1 周后的骨髓 MNC 进行体外集落培养,也发现体外的 BFU-E, CFU-GM, CFU-GEMM 计数显著低于对照组。有研究^[7]将微环境缺陷组患者的造血细胞与正常 MSC 共培养以后,CFU-GM 的产率显著提高,也证实了再障患者造血微环境缺陷,基质受损。本研究结果显示再障患者骨髓 MSC 体外支持造血能力降低,揭示了再障患者体内造血微环境存在异常,将无法给 HSC 提供良好的扩增环境,与再障的造血功能衰竭有关。

本研究结果显示,急、慢性再障患儿骨髓 MSC 的造血支持作用无显著性差异,因此合并为再障组进行比较;传单和淋巴结炎患儿的外周血象都在正常参考值范围内,骨髓检查示增生性骨髓象,目前未见这两类疾病的造血微环境异常和骨髓 MSC 异常的相关报道,因此我们将其骨髓 MSC 作为对照组 1;ITP 组的外周血象仅见血小板的减少,骨髓象中

见到巨核细胞成熟障碍,其他两系未见异常,因此本研究将其单独设为一组,与对照组 1 进行比较,结果显示其造血支持作用与对照组 1 无显著差异,推测其血小板的减少与免疫破坏有关,骨髓 MSC 的造血支持作用无降低,因此我们将 ITP 组与对照组 1 合并为对照组 2 进行比较。

从形态学上比较,再障患儿的骨髓 MSC 与对照儿童的前 3 代骨髓 MSC 比较差异无显著性,但是再障患儿的骨髓 MSC 较对照出现提前的分化和老化现象,并且体外培养成功率低于对照组。比较再障患儿骨髓 MSC CFU-F 计数较对照显著减少,提示再障患儿骨髓 MSC 的增殖能力显著减低,这将可能影响再障患儿骨髓 MSC 对造血的支持作用,导致造血微环境的异常,使 HSC 无法正常扩增。陈静等^[8]通过比较再障患儿与对照骨髓 MSC 的群体倍增时间,发现其增殖能力减低;黄永兰等^[9]研究也发现,再障患儿骨髓 MSC 相对数量和绝对数量减少和增殖能力降低,均与本研究结果一致。

骨髓 MSC 通过介导与造血细胞的黏附,提供给造血细胞分化增殖所必需的信号发挥造血支持作用。Kaito 等^[10]检测发现日本再障患者造血细胞与基质间的粘附能力增强。孙伟正等^[6]检测发现中

国慢性再障成人患者造血细胞与基质细胞粘附能力降低。本研究发现再障患儿与对照骨髓 MSC 粘附造血细胞能力,差异无显著性,提示再障患儿的骨髓造血微环境中 MSC 能够正常粘附 HSC,可能不影响造血微环境中的信号传导。在不同研究中的差异是否由儿童、成人,人种不同所造成,值得我们进一步观察和研究。

骨髓 MSC 的造血支持作用也通过分泌多种细胞生长因子,如 Flt-3L, IL-6, IL-7, IL-8 和 SCF 等支持造血^[1],其中 SCF 在骨髓中与 HSC 表面表达的 c-kit 结合,直接对 HSC 的生存、增殖、分化和粘附及骨髓微环境起着关键作用;SCF 还可以提高 HSC 对于其他造血生长因子的敏感性,反应骨髓基质的造血调控作用^[3]。有研究^[11]发现中国急、慢性再障患儿血浆中可溶性 SCF 水平降低,但是 Kojima 等^[12]研究发现日本的再障患者血浆中可溶性 SCF 水平与正常对照无显著差别。本研究结果显示再障患儿骨髓 MSC 细胞培养上清中 SCF 浓度显著低于对照组。SCF 在人体内不但可以由 MSC 分泌,也可以由内皮细胞和成纤维细胞分泌,当再障患儿体内 MSC 分泌的 SCF 水平降低后能够刺激内皮细胞和成纤维细胞分泌 SCF,因此推测在一定阶段内检测患儿血浆中的可溶性 SCF 水平可以出现与对照无差异的情况。SCF 水平降低后,与配体 c-kit 结合减少,SCF/c-kit 信号转导途径异常,导致 HSC 增殖能力下降,对其他造血生长因子的反应性也降低,推测与骨髓造血衰竭的发生密切相关。因此,即使 HSC 与 MSC 能够正常粘附,也不能得到适当的造血生长信号,最终导致造血细胞扩增和造血细胞集落形成能力降低。

综上所述,本研究结果显示再障患儿骨髓 MSC 体外造血支持作用较对照组显著降低,其发生机制可能与再障患儿骨髓 MSC 增殖能力减低及其分泌

SCF 减少有关,为骨髓 MSC 在再障发病机制中的作用提供了线索,有助于将骨髓 MSC 应用于临床治疗再障,提高治疗水平。

[参 考 文 献]

[1] Kim DH, Yoo KH, Choi KS, Choi J, Choi SY, Yang SE, et al. Gene expression profile of cytokine and growth factor during differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cell[J]. Cytokine, 2005,31(2):119-126.

[2] 赵智刚,唐晓琼,黎纬明,游泳,邹萍. 冻存前后骨髓间充质干细胞的生物学特性和支持造血的研究[J]. 中国实验血液学杂志,2006,14(2):304-307.

[3] Broudy VC. Stem cell factor and hematopoiesis[J]. Blood, 1997, 90(4):1345-1364.

[4] 胡亚美,江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 第7版. 北京:人民卫生出版社,2002,1729-1734.

[5] 裴雪涛. 干细胞技术[M]. 北京:化学工业出版社,2002,38-39.

[6] 孙伟正,俞亚琴,罗梅宏,罗梅宏,马智刚,王金环,等. 慢性再生障碍性贫血患儿骨髓基质细胞和单个核细胞黏附作用及部分相关抗原的表达[J]. 中华血液学杂志,2005,26(9):569-570.

[7] 赵秀娟,乔振华. 再生障碍性贫血患者骨髓间充质干细胞的造血实验研究[J]. 中华内科杂志,2007,46(8):681-682.

[8] 陈静,王茜,施英唐,周晓飞,徐晓军,刘爱莲,等. 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.

[9] 黄永兰,黄绍良,黄科,蔡耕. 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[J]. 中国当代儿科杂志,2008,10(1):9-13.

[10] Kaito K, Otsubo H, Ogasawara Y, Shimada T, Usui N, Kobayashi M. Adhesion molecule expression by bone marrow CD34-positive cells in aplastic anemia before and after immunosuppressive therapy[J]. Clin Lab Haem, 2003,25(6):393-396.

[11] 王军,冯建飞,赵雪莲,王伟,胡豫,王宏,等. 再生障碍性贫血患儿干细胞因子及其受体的研究[J]. 中华血液学杂志,2005,26(5):303-304.

[12] Kojima S, Matsuyama T, Koderia Y. Plasma levels and production of soluble stem cell factor by marrow stromal cells in patients with aplastic anaemia[J]. Br J Haematol, 1997, 99(2):440-446.

(本文编辑:吉耕中)