

· 论 著 ·

# 体外皮肤移植和 TUNEL 实验评价猕猴间充质干细胞输注对细胞免疫的影响

黄雅静, 孙琪云, 刘丽辉, 范传波, 胡恺勋, 边 莉, 郭 梅, 艾辉胜

(解放军第 307 医院血液科, 北京 100039)

**[摘要]** **目的:**通过给猕猴单次无预处理输注猕猴白细胞抗原(RhLA)不相合供者的骨髓来源的间充质干细胞(MSCs),观察能否抑制供受者之间的免疫反应。**方法:**无菌抽取 MSCs 供者猕猴骨髓,分离单个核细胞,用 2%FCS 的 DMEM/F12 培养液培养骨髓 MSCs,用流式细胞术检测其表型,不同培养条件诱导 MSCs 多向分化以鉴定;单次无预处理输注 MSCs 给 RhLA 不相合受者,分别于 MSCs 输注前及输注后 20、40、60 d 取受者外周血淋巴细胞分别与供者及非供者皮肤体外共培养 72 h,观察培养皮肤病理损伤情况,同时 TUNEL 法检测培养皮肤石蜡切片中凋亡细胞的比率。**结果:**输注 MSCs 后 20 d,受者淋巴细胞与供者皮肤呈现减低的免疫反应,皮肤病理损伤程度较输注前减轻,凋亡细胞比例由(23.0±4.9)%下降到(12.2±1.9)%;MSCs 受者与非供者之间体外皮肤病理片中凋亡细胞比例也由输注前的(22.0±2.0)%下降至(11.8±1.4)%,具有显著差异( $P<0.05$ );输注后 40 d 和 60 d,受者淋巴细胞无论对供者还是非供者的皮肤均产生较强的免疫反应,凋亡细胞比例增至(22.0±3.2)%、(22.0±2.5)%(供者)及(23.2±2.4)%、(24.0±2.6)%(非供者)。**结论:**猕猴输注同种异基因 MSCs 后,通过体外实验可以检测到供受者之间降低的免疫反应,但是这种免疫抑制作用是短期的、可逆的。

**[关键词]** 间充质干细胞;免疫,细胞;皮肤移植;TUNEL 法

**[中图分类号]** R 392.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2006)05-0465-05

## *In vitro* skin transplantation and TUNEL assay in evaluation of cellular immunity caused by infusion of rhesus mesenchymal stem cells

HUANG Ya-jing, SUN Qi-yun, LIU Li-hui, FAN Chuan-bo, HU Kai-xun, BIAN Li, GUO Mei, AI Hui-sheng (Department of Hematology, No. 307 Hospital of PLA, Beijing 100039, China)

**[ABSTRACT]** **Objective:** To transfuse rhesus bone marrow derived mesenchymal stem cells (MSCs) to rhesus leucocytes antigen (RhLA) mismatched recipients, in attempt to study the immunological reaction between recipients' T lymphocytes and the skin of donor or a third party. **Methods:** Bone marrow aspirates were collected from femurs of donor rhesus, and the mononuclear cells were isolated and resuspended in low glucose Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM) containing 2% fetal bovine serum. Phenotype of MSCs was analyzed by flow cytometry and the differentiated cells were identified by relevant specific staining. Allogeneic MSCs were given to recipients (single infusion) without preconditioning. Peripheral blood lymphocytes from recipients were co-cultured *in vitro* with the donor's skin or a third rhesus for 72 h before and 20 days, 40 days, and 60 days after infusion. The pathological lesions were evaluated and the keratinocyte apoptosis of the skin sections was determined by TUNEL assay. **Results:** Twenty days after infusion, the pathological lesion in *in vitro* skin explants from MSCs donor was less and the apoptosis rate was declined to (12.2±1.9)% from a pre-infusion level of (23.0±4.9)%. The apoptosis of cells in skin explants from the third party also declined to (11.8±1.4)% from a pre-infusion level of (22.0±2.0)% ( $P<0.05$ ). Intensive immunological reaction was observed between recipient and donor/the third party on day 40 and day 60 after transplantation, with the apoptosis rate being (22.0±3.2)%, (22.0±2.5)% (donor) and (23.2±2.4)%, (24.0±2.6)% (the third party). **Conclusion:** Allogeneic MSCs transfusion can decrease the immunological reaction between donors and recipients in rhesus, but this decreased reaction is temporary and reversible.

**[KEY WORDS]** mesenchymal stem cells; immunity, cellular; skin transplantation; TUNEL assay

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(5): 465-469]

间充质干细胞(MSCs)来源方便,易分离、培养,经多代扩增后仍保持干细胞活性,可以分化为多种组织细胞,如骨、软骨、脂肪和肌肉;MSCs 能够分泌多种细胞因子来促进造血干细胞的生长和分化,在造血重建、组织修复和基因治疗等方面都具有广阔的应用前景<sup>[1,2]</sup>。MSCs 可以表达 MHC-I 类

抗原和低水平的 MHC-II 类抗原以及 Fas 配体

**[基金项目]** 国家高技术研究发展计划/863 计划(2002AA216081).  
Supported by National High-tech R&D Program/863 Program (2002AA216081).

**[作者简介]** 黄雅静,博士,医师. E-mail: yajinghuang@msn.com

(FasL),不表达共刺激分子 B7-1、B7-2、CD40、CD40L<sup>[3]</sup>。因此,MSCs 应该能够被 T 细胞识别,但是,给狒狒输注 MHC 不相合的异基因 MSCs 并未被排斥<sup>[4]</sup>。一些研究表明在混合淋巴细胞培养(MLC)中加入的 MSCs 不但不被 T 细胞识别,并且能够抑制 T 细胞的增殖<sup>[5]</sup>。

本实验旨在检测猕猴单次输注同种异基因 MSCs 后受者(MSCs-recipient, MR)与 MSCs 供者(MSCs-donor, MD)和非 MSCs 供者(non-MSCs-donor, NMD)之间的体外免疫应答变化。采用体外皮肤移植实验,比较输注前后体外皮肤移植物的损伤情况,同时应用末端脱氧核糖核酸转移酶 dUTP 断端标记法(terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling, TUNEL)检测移植皮肤中的凋亡细胞,根据皮肤损伤的病理分级以及凋亡细胞的比率来评价受者淋巴细胞与供者和非供者抗原之间免疫应答反应的强弱。

## 1 材料和方法

1.1 实验对象 健康猕猴 8 只购自军事医学科学院动物中心,动物饲养合格证号 SCXK-(军)2002-001,雄性 3 只,雌性 5 只,无亲缘关系。以雄性猕猴为供者(MD),雌性为受者(MR),随机配对进行 MSCs 输注。供受者间 RhLA 配型采用混合淋巴细胞反应法(MLR),计算刺激指数(SI)均>3。公式:单向  $SI_{供受者} = R_{供} S_{受} D / R_{供} S_{供} D$ ,其中  $R_{供}$  为供者反应细胞,  $S_{受}$  为受者刺激细胞;  $S_{供}$  为供者刺激细胞,  $D$  为光密度值。

1.2 MSCs 的分离和培养 速眠新 0.1 ml/kg 肌注麻醉猕猴,股骨穿刺抽取骨髓约 5 ml,肝素抗凝,小心加于 60%梯度的 Percoll 工作液之上,1 500 r/min 离心 20 min,吸出白膜层细胞, PBS 洗 2 次,用含 2%胎牛血清(FCS)的 DMEM/F12 培养液重悬细胞,置 37℃、5%CO<sub>2</sub> 培养箱,48 h 后换液,以后每 3 d 半量换液。本实验使用细胞为传代培养的第 3 代细胞。

1.3 MSCs 体外诱导分化 当细胞达 80%融合时,以  $5 \times 10^3/cm^2$  接种于 25 cm<sup>2</sup> 培养瓶和 6 cm 直径的培养皿,加入成骨分化培养液,成骨分化体系含  $10^{-7}$  mol/L 地塞米松、10 mol/L  $\beta$ -磷酸甘油、0.05 mol/L 维生素 C,隔天换液,在第 4、8、12 和 16 天检测钙化小结,用甲醛溶液固定细胞, Von Kossa 染色。加入成脂分化培养液,脂肪分化体系含  $10^{-6}$  mol/L 地塞米松、0.5 mmol/L 甲基黄嘌呤(IB-MX)、0.1 mmol/L 维生素 C,在第 4、8、12 和 16 天

检测脂肪滴,用甲醛溶液固定细胞,油红 O 染色。

1.4 MSCs 的体内输注 将培养 MSCs 的上清液进行细菌、真菌培养,PCR 法检测支原体。无预处理向 MR 猕猴单次股骨髓内注射 MSCs。

1.5 体外皮肤移植试验 分别于 MSCs 输注前,输注后 20、40、60 d 进行体外皮肤移植实验。取 MR 外周血淋巴细胞分别与 MD、NMD 皮肤体外共培养 72 h,作 H-E 染色病理切片及组织化学切片。以与 MD 猕猴白细胞抗原(RhLA)不相合的无关非受者猴(non-MSCs-recipient, NMR)的淋巴细胞与 MD 皮肤共培养作为实验阳性对照。

1.5.1 提取外周血淋巴细胞 取猕猴外周血 4 ml,肝素抗凝, PBS 稀释 1 倍,小心加于 4 ml 淋巴细胞分离液(Ficoll)上,1 500 r/min 离心 15 min,吸取中间白膜层细胞, PBS 洗 2 次,重悬于 10% FCS RPMI 1640 完全培养基中。显微镜下计数,调整细胞密度为  $1 \times 10^7/ml$ 。用 96 孔培养板培养细胞,每孔加入 200  $\mu$ l 培养液,其中淋巴细胞数为  $2 \times 10^6$  个/孔。

1.5.2 体外皮肤移植片 猕猴麻醉,俯卧位,背部局部去毛,碘伏消毒皮肤,无菌条件下切取约 1 cm<sup>2</sup> 大小全层皮肤,去除皮下脂肪,切为 1 mm $\times$ 1 mm 大小皮片,置 96 孔培养板中。实验分组如下,实验组:MR 淋巴细胞加 MD 或 NMD 皮片;阳性对照组:NMR 淋巴细胞加 MD 皮片;阴性对照组:MD 淋巴细胞加自身皮片;空白组:培养液中仅有 MD 或 NMD 皮片。每组重复 3 孔。37℃、5%CO<sub>2</sub> 培养箱孵育 72 h。

1.5.3 病理分析 与淋巴细胞共孵育后的皮片用 10%甲醛固定,军事医学科学院附属医院病理室做病理切片(H-E 染色),2 位病理学专家双盲读片。皮肤病理损伤分级参照 Lerner 等<sup>[6]</sup>1974 年提出的移植物抗宿主病的皮损分级。0 度:正常皮肤;1 度:淋巴细胞浸润,棘细胞、基底细胞空泡变性;2 度:表皮层细胞空泡变性,海绵状变性,有嗜酸小体出现;3 度:表皮细胞基底层灶性溶解,水泡形成伴有 2 度改变;4 度:表皮全层脱落,伴有 3 度改变。实验发现皮肤离体培养 72 h 后可以出现 0~2 度的损伤,因此将空白组皮肤的病理结果视为背景,实验组出现 2 度以下损伤视为阴性结果,3~4 度损伤视为阳性结果。

1.6 TUNEL 法检测皮肤切片中的凋亡细胞 实验组体外培养皮肤作石蜡切片,检测皮肤中凋亡细胞的比率。TUNEL 试剂盒购自武汉博士德生物公司,按照试剂盒说明进行实验,简述如下:皮肤石蜡

切片二甲苯脱蜡,梯度乙醇入水(实验过程中保证石蜡切片湿润),加入蛋白酶 K 使细胞脱蛋白透明,依次加标记液、封闭液、抗地高辛抗体、SABC, DAB 显色,苏木精轻度复染,梯度乙醇脱水,透明,封片。阴性对照片不加标记液,阳性对照片经 DNA 酶处理。光学显微镜下观察,表皮层中细胞核棕染的为阳性细胞,每片计数 >100 个细胞,计算阳性细胞的比例。

1.7 统计学处理 用 SAS 软件包进行 *t* 检验。

## 2 结果

2.1 MSCs 培养鉴定 培养的骨髓单个核细胞大部分于 24 h 内即贴壁,倒置显微镜下,贴壁细胞呈

圆形,有小的胞质突起。72 h 后,大多数细胞有胞质突起,部分呈梭形,1 周后以梭形细胞为主,胞质丰富,核大,核染色质细,核仁明显。瑞氏染色后,于光镜下可见成纤维样细胞形态,细胞呈平行或漩涡状生长(图 1A)。上流式细胞仪检测培养第 3 代 MSCs 的细胞表型;Flk 为 73.71%,CD44 为 12%,CD29 为 98.42%,CD34 为 0.24%,CD45 为 0.28%,HLA-DR 为 0。在脂肪诱导体系中,可见脂肪液泡逐渐充满整个细胞,油红 O 染色可见红色的脂肪颗粒(图 1B)。在成骨诱导体系中,细胞形态由原来的梭形变成了立方形,随细胞生长密度的增长形成多层的结节结构,Von Kossa 染色有明显的钙化基质沉积(图 1C)。

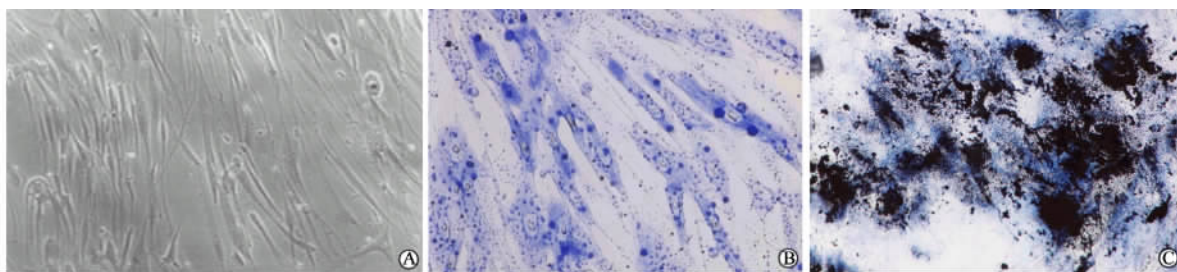


图 1 猕猴 MSCs 正常形态以及诱导分化

Fig 1 Morphologic feature of rhesus MSCs and its differentiation

A: Morphologic feature of rhesus MSCs (the 9th day,  $\times 100$ ); B: MSCs differentiated into the adipogenic lineage (oil red O staining,  $\times 400$ ); C: MSCs differentiated into the osteogenic lineage (Von Kossa staining,  $\times 400$ )

2.2 MSCs 输注后猕猴一般情况 MSCs 培养上清液无细菌、真菌污染,PCR 检测无支原体污染。输注细胞数为  $4 \times 10^5 \sim 2 \times 10^6/\text{kg}$ 。输注后猕猴心率、呼吸、血压正常,未见皮疹及精神异常,未见急性毒性反应。观察 3 个月血常规、肝肾功能,无明显变化。

2.3 体外皮肤移植病理变化 体外皮肤移植的阳

性对照组均出现严重的 4 度损伤。MR 淋巴细胞与 MD 皮肤共培养组,输注 MSCs 之前皮肤移植病理均为阳性,输注后 20 d,供者的皮肤移植病理损伤减轻,未见皮肤大泡、嗜酸性小体和表皮脱落等病理现象,病理结果为阴性(图 2A);输注后 40、60 d,病理损伤加重(图 2B),均为阳性表现(表 1)。

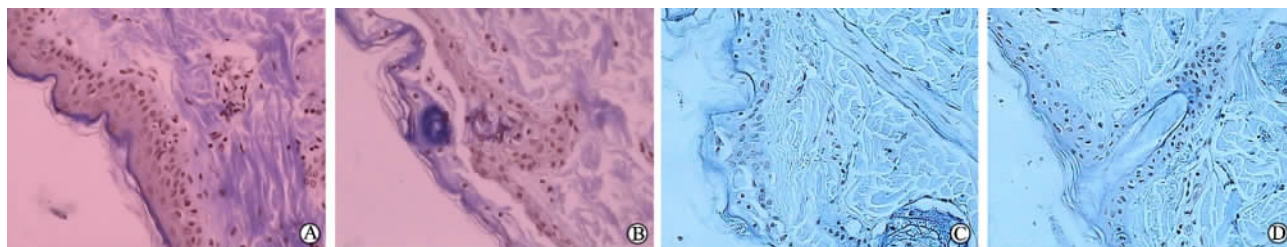


图 2 体外皮肤移植病理图和 TUNEL 图

Fig 2 Pathology and TUNEL assay of *in vitro* skin explants

A: Haematoxylin and eosin stained skin section from the skin explant assay showing a grade 0-1 lesion. This is normal skin and considered as background. Mild vacuolisation of basal cells is seen, together with the occasional dyskeratotic body; B: Haematoxylin and eosin stained skin section from the skin explant assay showing a grade 3-4 lesion with diffuse vacuolisation of basal cells, scattered dyskeratotic bodies, and subepidermal cleft formation. This is considered a positive result; C: Grade 1 TUNEL biopsy showing less apoptotic cells (brown nuclei). Most of this skin section showing negative staining; D: Grade 3 TUNEL biopsy, showing more apoptotic cells with brown nuclei

表 1 体外移植皮肤切片病理损伤结果

Tab 1 Pathology lesion of *in vitro* skin explants

Group	No.	Pre-infusion	Post-infusion(t/d)		
			20	40	60
MR+MD	1	+	-	+	+
	2	+	-	+	+
	3	+	-	+	+
	4	+	-	+	+
	5	+	-	+	+
MR+NMD	1	+	-	+	+
	2	+	-	+	+
	3	+	-	+	+
	4	+	-	+	+
	5	+	-	+	+

MR; MSCs-recipient; MD; MSCs-donor; ND; Non-MSCs-donor

2.4 皮肤移植 TUNEL 检测结果 选取体外皮肤移植实验空白组(病理结果阴性)和阳性对照组(病理结果阳性)皮肤石蜡切片各 10 例, TUNEL(图 2C、2D)发现空白组凋亡细胞数多在 15% 以下(8/10, 80%), 阳性对照组凋亡细胞比例 ≥ 15% 的比率是 90%(9/10)。MD 的皮肤移植片凋亡细胞比例由输注前的(23.0 ± 4.9)% 下降到(12.2 ± 1.9)%, 具有显著差异(P < 0.05); 输注后 40、60 d, 凋亡细胞比例增至(22.0 ± 3.2)%、(22.0 ± 2.5)%, 与输注前结果比较无显著差异。

MR 淋巴细胞与 NMD 皮片共培养组, 在输注前和输注后 20 d 也检测到病理损伤的减轻, 皮肤切片中凋亡细胞比例减少, 皮肤移植石蜡切片凋亡细胞比例由输注前的(22.0 ± 2.0)% 下降到(11.8 ± 1.4)%, 具有显著差异(P < 0.05); 输注后 40、60 d, 凋亡细胞比例分别为(23.2 ± 2.4)%、(24.0 ± 2.6)%, 增至输注前水平。

### 3 讨论

MSCs 在骨髓内可分化为基质细胞, 分泌多种细胞因子, 产生细胞外基质分子、黏附分子等, 提示其参与造血微环境, 促进造血, 影响造血干细胞的归巢、增殖、分化<sup>[1,2]</sup>。在造血干细胞移植中, MSCs 可增加造血细胞植入率、促进造血恢复、抑制免疫, 具有广阔的临床应用前景。实验发现 MSCs 能够跨越 MHC 屏障, 不但输注同种异基因 MHC 不相合的 MSCs 是安全的, 甚至异种间输注 MSCs 也能完全耐受。MSCs 这种特殊的免疫特性是当今研究的热点。

Bartholomew 等<sup>[4]</sup>给狒狒输注 MSCs 后能够延

长组织不相容性皮肤移植物的存活时间。本研究进行皮肤移植预实验发现, 猕猴生性好动, 皮肤移植困难多, 同时在移植状态的判断上准确性不高, 因此设计应用体外皮肤移植实验。体外皮肤移植模型最早于 1982 年由 Berkman 建立<sup>[7]</sup>, 之后, Dickinson 和 Sviland 等<sup>[8,9]</sup>将其应用于移植前移植抗宿主病(GVHD)的预测, 具有 85% 以上的特异性和敏感性。本实验借鉴并改进了 Dickinson 的方法<sup>[10]</sup>, 将体外皮肤移植应用于评价供受者之间的免疫反应, 同时结合 TUNEL 实验检测移植皮肤中凋亡细胞的比例, 量化判断 MSCs 输注对供受者之间免疫应答的影响。

实验发现输注 MSCs 后 20 d, 受者淋巴细胞与供者皮肤呈现减低的免疫反应, 皮肤病理损伤程度较输注前减轻, 凋亡细胞比例减低; MSCs 受者与非供者之间体外皮肤病理片中凋亡细胞比例也由输注前的(22.0 ± 2.0)% 下降至(11.8 ± 1.4)%, 具有显著差异; 输注后 40 d 和 60 d, 受者淋巴细胞无论对供者还是非供者的皮肤均产生较强的免疫排斥。实验结果说明猕猴输注同种异基因 MSCs 后, 通过体外实验可以检测到供受者之间降低的免疫反应, 但是这种免疫抑制作用是短期的可逆的, 可持续至输注后 20 d。

许多研究都探讨了 MSCs 对 MLC 的作用机制。Krampera 等<sup>[11]</sup>认为 MSCs 选择性的抑制已接触抗原的 T 细胞, 其抑制作用是通过与 T 细胞接触从而阻止 T 细胞与抗原呈递细胞接触而产生的; Le Blanc 等<sup>[5]</sup>认为 MSCs 对 MLR 的作用与 MSCs 的剂量有关, 在 MLR 中加入(1~4) × 10<sup>5</sup> 的 MSCs 对 T 细胞的增殖起到抑制作用, 加入 10~1 000 的 MSCs 抑制作用减弱, 有时起到刺激增殖的作用, 同时认为这种刺激作用与 MHC 无关, 可能是由于 MSCs 表面结构起到了刺激源或促分裂源的作用, 使 MSCs 表面抗原与 MLC 的 HLA-DR 抗原共同起效发挥了刺激作用。与其他研究不同的是, 我们对猕猴无预处理单次输注 MSCs, 然后再检测供受者之间细胞免疫应答强弱, 发现单次 MSCs 体内输注也能对受者淋巴细胞产生诱导作用, 使受者淋巴细胞对供者及非供者皮肤的免疫排斥减弱, 表现为皮肤病理损伤的减轻和凋亡细胞的减少。

Bartholomew 等<sup>[4]</sup>实验中, 给狒狒输注 MSCs 的数量为 20 × 10<sup>6</sup>/kg, 获得了延长 MHC 不相合皮

肤移植物的存活时间。与 Bartholomew 的实验相比,我们输注的细胞数较低(最多为  $2 \times 10^6/\text{kg}$ ),相差 10 倍以上,表明即使输注的 MSCs 数量较少,也同样可以产生免疫抑制作用。

MSCs 在体外实验中所表现出来的对 T 淋巴细胞的免疫抑制作用有积极的临床意义,值得进一步深入研究。既往关于 MSCs 免疫调节作用的研究大多是通过体外实验,在体内实验方面,不做预处理、单纯输注异体 MSCs 来评价其免疫调节作用的研究报道很少。本实验对猕猴无预处理单次输注 MSCs,通过体外实验评价了猕猴单次 MSCs 输注后的免疫作用,对体外皮肤移植物的损伤进行病理分级,评判标准与判断皮肤移植体内存活时间相比较为准确,同时,凋亡细胞的增加是皮肤损伤的直接证据,对凋亡细胞的检测量化了实验数据,弥补了对病理切片判断不确切的弊端,增加结果的可靠性。MSCs 联合造血干细胞移植可促进植入<sup>[12,13]</sup>,减轻 GVHD。MSCs 特有的免疫调节作用使得它在造血干细胞移植中得以应用<sup>[14,15]</sup>,但其发挥作用的机制还有待于进一步探讨。本实验检测到 MSCs 体内输注后下调了供受者之间的免疫反应,降低排斥,为 MSCs 在造血干细胞移植中的应用作出理论铺垫。

#### [参考文献]

[1] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells[J]. *Science*, 1999, 284: 143-147.

[2] Gregory CA, Prockop DJ, Spees JL. Non-hematopoietic bone marrow stem cells: molecular control of expansion and differentiation[J]. *Exp Cell Res*, 2005, 306:330-335.

[3] Conget PA, Minguell JJ. Phenotypical and functional properties of human bone marrow mesenchymal progenitor cells[J]. *J Cell Physiol*, 1999, 181:67-73.

[4] Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation *in vitro* and prolong skin graft survival *in vivo* [J]. *Exp Hematol*, 2002, 30: 42-48.

[5] Le Blanc K, Tammik L, Sundberg B, et al. Mesenchymal

stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex[J]. *Scand J Immunol*, 2003, 57: 11-20.

- [6] Lerner KG, Kao GF, Storb R, et al. Histopathology of graft versus host reaction (GVHR) in human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors[J]. *Transplant Proc*, 1974, 6:367-371.
- [7] Berkman A, Farmer E, Tutschka P, et al. Skin explant culture as a model for cutaneous graft versus host disease[J]. *Exp Hematol*, 1982, 10(Suppl 12):33-40.
- [8] Sviland L, Dickinson AM, Carey PJ, et al. An *in vitro* predictive test for clinical graft-versus-host disease in allogeneic bone marrow transplant recipients[J]. *Bone Marrow Transplant*, 1990, 5: 105-109.
- [9] Sviland L, Hromadnikova I, Sedlacek P, et al. Histological correlation between different centers using the skin explant model to predict graft-versus-host disease following bone marrow transplantation[J]. *Hum Immunol*, 2001, 62: 1277-1281.
- [10] Dickinson A, Hromadnikova I, Sviland L. Use of a skin explant model for predicting GVHD in HLA-matched bone marrow transplants-effect of GVHD prophylaxis[J]. *Bone Marrow Transplant*, 1999, 24:857-863.
- [11] Krampera M, Glennie S, Dvson J, 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: 3722-3729.
- [12] Lazarus HM, Koc ON, Devine SM, et al. Cotransplantation of HLA-identical sibling culture-expanded mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells in hematologic malignancy patients[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005, 11: 389-398.
- [13] Polchert D, Moadsiri A, Napoles P, et al. Mesenchymal stem cells can facilitate engraftment across MHC barriers and can rescue lethally irradiated recipients[J]. *Blood*, 2002, 100: 108a.
- [14] Le Blanc K, Ringden O. Immunobiology of human mesenchymal stem cells and future use in hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005, 11:321-334.
- [15] Deans RJ, Moseley AB. Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses[J]. *Exp Hematol*, 2000, 28:875-884.

[收稿日期] 2005-11-11

[修回日期] 2006-03-19

[本文编辑] 孙岩