

论著

文章编号: 1000-5404(2011)05-0450-05

人脐血源基质细胞对造血细胞归巢植入能力的影响

刘颖, 陈幸华, 张曦, 高蕾, 张诚, 冯一梅 (400037 重庆 第三军医大学新桥医院血液科)

【摘要】目的 探讨人脐血源基质细胞(human umbilical cord blood-derived stromal cells, hUCBDSCs)对造血细胞早期归巢及植入能力的影响。方法 CCK-8法和Transwell法分别比较hUCBDSCs和人骨髓基质细胞(human bone marrow stromal cells, hBMSCs)对脐血单个核细胞(human umbilical cord blood-mononuclear cells, hUCB-MNCs)体外黏附及迁移能力的影响, RT-PCR法检测hUCBDSCs对促归巢相关因子的表达,⁶⁰Co γ 射线致死剂量辐照BABL/c小鼠后分别接受hUCB-MNCs单移植或hUCB-MNCs联合基质细胞共移植, 流式细胞仪检测小鼠骨髓人源CD45⁺细胞植入率, 追踪移植后CM-DiI标记的hUCB-MNCs体内迁移情况, 并比较各组归巢率。结果 hUCBDSCs和hBMSCs均能促进hUCB-MNCs的黏附, 且迁移作用显著强于无基质细胞共培养对照($P < 0.05$); hUCBDSCs能表达一系列与造血归巢相关的黏附分子和细胞因子; hUCBDSCs在联合hUCB-MNCs共移植中能不同程度提高造血植入率, 且当输注的hUCB-MNCs为低剂量(两种细胞按1:1各移植 2×10^6 /只)时这种促进作用最为显著($P < 0.01$); CM-DiI标记的hUCB-MNCs在体内主要归巢至骨髓和脾脏, hUCBDSCs联合移植后48h归巢率(43.49 ± 3.06)%显著高于hBMSCs联合移植组[(31.99 ± 7.26)%]和单移植组[(21.46 ± 6.88)%]($P < 0.05$)。结论 hUCBDSCs在促进造血细胞迁移、归巢和植入方面作用显著。

【关键词】 人脐血 基质细胞 造血细胞 归巢 植入

【中图分类号】 R392.28; R331.14; R394.2

【文献标志码】 A

Effect of hUCBDSCs on homing efficiency and engraftment capability of hematopoietic cells

Liu Ying, Chen Xinghua, Zhang Xi, Gao Lei, Zhang Cheng, Feng Yimei (Department of Hematology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of human umbilical cord blood-derived stromal cells (hUCBDSCs) on early homing efficiency and engraftment capability of hematopoietic cells. Methods CCK-8 method and Transwell method were utilized to compare the effects of hUCBDSCs and human bone marrow stromal cells (hBMSCs) on *in vitro* adhesion and migration capability of human umbilical cord blood-mononuclear cells (hUCB-MNCs). RT-PCR assay was employed to detect the expression of homing-associated factors in hUCBDSCs. BABL/c mice were irradiated by ⁶⁰Co γ -ray at a lethal dose, and then hUCB-MNCs were transplanted into some of the BABL/c mice alone and into others in combination with hUCBDSCs or hBMSCs. The engraftment rates of human CD45⁺ cells in mouse bone marrow were measured by flow cytometry. The *in vivo* migration of CM-DiI-labeled hUCB-MNCs after transplantation was traced, and homing rates were compared accordingly. Results Both hUCBDSCs and hBMSCs promoted the adhesion of hUCB-MNCs and significantly enhance the migration of hUCB-MNCs ($P < 0.05$). The hUCBDSCs expressed a series of homing-associated adhesion molecules and cytokines, and increased the engraftment rate of hUCB-MNCs, particularly when hUCB-MNCs were transplanted at a low dose (2×10^6 hUCB-MNCs and 2×10^6 hUCBDSCs per mouse) ($P < 0.01$). The CM-DiI-labeled hUCB-MNCs mainly homed to the bone marrow and spleen *in vivo*. The hUCB-MNCs showed a higher homing rate when transplanted in combination with hUCBDSCs than when transplanted alone or in combination with hBMSCs at 48 h after transplantation [(43.49 ± 3.06)% vs (31.99 ± 7.26)% and (21.46 ± 6.88)%] ($P < 0.05$). Conclusion hUCBDSCs can effectively promote the migration, homing, and engraftment of hUCB-MNCs.

【Key words】 human umbilical cord; stromal cells; hematopoietic cells; homing; engraftment

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30971109) and Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC2009BA5011). Corresponding author: Chen Xinhua, E-mail: xhchen888@yahoo.com.cn

【基金项目】 国家自然科学基金(30971109);重庆市自然科学基金重点项目(CSTC2009BA5011)

【通信作者】 陈幸华, E-mail: xhchen888@yahoo.com.cn

研究证实,外源性输注人骨髓基质细胞(human bone marrow stromal cells, hBMSCs)能够促进造血恢复和植入,减轻移植后GVHD发生,提高移植率^[1-3]。但hBMSCs来源受限,采集骨髓增加供者痛苦和风险,细胞数量及增殖分化潜能随供者年龄增加而下降^[4-5]。自体移植中患者自身基质细胞存在异常,而异体移植亦有可能带来GVHD等免疫相关问题,均限制了hBMSCs在临床上的广泛使用。

人脐血源基质细胞(human umbilical cord blood-derived stromal cells, hUCBDSCs)是我室近年来培养建立的新型基质细胞,前期研究证实其能有效支持造血干/祖细胞增殖,特别是在促进巨核系集落形成方面具有积极作用^[6-7]。本实验从体外和体内两方面入手,旨在揭示hUCBDSCs对造血细胞早期归巢及植入的作用,并在某些方面同hBMSCs作比较,为hUCBDSCs的临床应用提供理论和实验依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源及细胞培养

人脐血取自2009年9月至2010年6月间本院妇产科住院健康孕妇[年龄(26.13±4.16)岁]足月顺产或剖宫产婴儿脐带,采集量60~110 ml,共采集15份,肝素抗凝。骨髓取自本院血液科门诊骨髓检查无异常患者,采集2~4 ml/人,共采集8份,肝素抗凝。所有标本采集均获本人及家属同意。脐血标本在采集后6 h内分选,6%明胶沉淀红细胞,按本室常规采用Ficoll淋巴细胞分离液分选出脐血单个核细胞(human umbilical cord blood-mononuclear cells, hUCB-MNCs)。hUCBDSCs和hBMSCs的分离和培养按照本室常规方法进行^[6],传至第2代0.25%胰酶消化混合后计数备用。

1.2 hUCBDSCs对造血细胞黏附的影响

0.25%胰酶消化收集培养的两种基质细胞(hUCBDSCs或hBMSCs)按 1×10^4 /孔接种于96孔板,于37℃、5% CO₂孵育24 h。将hUCB-MNCs按 1×10^5 /孔接种于有或无两种基质细胞滋养层的96孔板内共培养。同时,取等量基质细胞在上述培养条件下单独培养。24 h后PBS轻柔冲洗弃去悬浮细胞,每孔加入10 μl的CCK-8试剂,培养2 h后在450 nm处检测光密度值[D(450)]。每组设定5个复孔,按以下公式计算黏附率。

黏附率 = [共培养 D(450) - 基质细胞 D(450) / 单培养 D(450)] × 100%

1.3 hUCBDSCs对造血细胞迁移的影响

0.25%胰酶消化收集hUCBDSCs或hBMSCs按 1×10^5 /孔接种于24孔板,各设定5个复孔。待细胞70%~80%融合时更换新鲜培养基,将预先水化的Transwell小室置入孔内至底部于培养基中。将hUCB-MNCs按 5×10^4 /孔接种于有或无两种基质细胞滋养层的Transwell小室内,继续孵育24 h后取出小室。收集下层细胞悬液,利用CASY-TT亚流式细胞分析系统计数细胞。每孔计数5次,取平均值,按下面公式计算迁移率: 迁移率 = 下层细胞数 / 接种细胞总数 × 100%。

1.4 RT-PCR法检测hUCBDSCs促归巢相关因子的表达

用Tripure试剂提取培养后第2代hUCBDSCs的总RNA,核酸蛋白分析仪测定(D(260)/D(280))和RNA浓度。取3 μg总RNA按照试剂盒说明书进行逆转录反应。PCR引物序列及反应参数见表1。PCR反应条件为95℃预变性5 min,94℃变性30 s,退火30 s后,72℃延伸1 min,35个循环后,72℃终末延伸10 min。产物以2%琼脂糖凝胶100 V电泳40 min。Bio-Rad凝胶成像分析仪观察并照相。

表1 RT-PCR反应引物序列及反应参数

基因	引物序列(5'-3')	退火温度(℃)	扩增片段长度(bp)
SDF-1	正义:CCCTTCAGATTGTAGCCCGG	60	251
	反义:CGATCCAGATCAATGTGCC		
CXCR-4	正义:AATCATCAAGCAAGGGTG	58	506
	反义:CTACAGTCTACACAGAGA		
ICAM-1(CD54)	正义:TATGGCAACGACTCTTCT	58	238
	反义:CATTCAGCGTCACCTTG		
VCAM-1(CD106)	正义:TGTGCACAGCACTTGTGAA	56.1	434
	反义:TTCTTGCAGCTTTGTGGATG		
HCAM(CD44)	正义:GACAGACACCTCAGTTTTTCTGGA	55.4	845
	反义:TTCCTTCGTGTGTGGTAATGAGA		
PECAM-1(CD31)	正义:CCAAGATAGCCTCAAAGTC	53.8	368
	反义:TTCACCCTCAGAACCTCA		
Fibronectin	正义:CGAAATCACAGCCAGTAG	56.1	639
	反义:ATCACATCCACACGGTAG		

1.5 实验动物

BALB/c近交系雄性小鼠(10~12周,体质量为18~24 g)购自第三军医大学实验动物中心。所有小鼠接受⁶⁰Coγ射线8.5 Gy全身辐照(剂量率80 cGy/min)给予无菌饮食饲养于层流无菌环境。

1.6 流式细胞仪检测小鼠骨髓人源CD45⁺细胞植入率

辐照后6 h,48只BALB/c小鼠随机分为8组,将hUCB-MNCs分别按2、4、6、8 × 10⁶个/只联合hUCBDSCs(2 × 10⁶/只)输注给小鼠,对照组仅输注不同剂量的hUCB-MNCs。移植后第6周冲出各组小鼠股骨、胫骨骨髓制备单细胞悬液,鼠抗人FITC标记的CD45单克隆抗体(购自美国BD公司)与细胞悬液避光孵育,PBS洗涤后上流式细胞仪检测。

1.7 荧光法检测造血细胞体内归巢能力

按本室既往方法采用CM-DiI荧光染料标记的hUCB-MNCs^[7]。60只BALB/c小鼠接受辐照后随机分为3组,将荧光标记的hUCB-MNCs按2 × 10⁶/只分别联合hUCBDSCs(2 × 10⁶/只)或hBMSCs(2 × 10⁶/只)共输注给小鼠,对照组仅输注hUCB-MNCs(2 × 10⁶/只)。移植后12、24、48 h和72 h断颈处死各组小鼠(各时相点2只),制备小鼠脾、肝、肺、心、脑、肾等器官的冰冻切片及骨髓、外周血涂片,激光共聚焦观察荧光细胞在各组织及器官的分布。在归巢率检测上,有报道小鼠下肢股骨和胫骨的骨髓细胞含量约占全身骨髓细胞含量的25%^[8]。移植后12、24、48 h收集小鼠骨髓细胞(各时相点3只),游离小鼠双下肢股骨和胫骨,开放髓腔,PBS反复洗脱收集骨髓细胞采用CASY-TT亚流式细胞分析系统计数,流式细胞仪检测荧光细

胞百分比。采用以下公式计算造血细胞归巢率。归巢率=(流式检测率×骨髓细胞总数)/标记细胞总数×100%。

1.8 统计学处理

计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件进行单因素方差分析,组间两两比较通过 Tukey-Kramer 法分析。

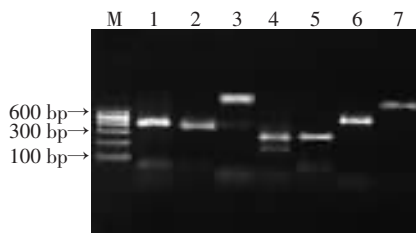
2 结果

2.1 hUCBDSCs 对脐血有核细胞黏附及迁移能力的影响

hUCBDSCs 或 hBMSCs 分别与 hUCB-MNCs 共培养 24 h 后,均能黏附部分 hUCB-MNCs,黏附率分别为(35.86±4.75)%和(40.17±5.80)%,无显著差异($P > 0.05$)。hUCBDSCs 和 hBMSCs 均可增强 hUCB-MNCs 的迁移能力,促使其通过 Transwell 上的小孔,进入到小室下层培养液中,迁移率分别为(18.76±2.28)%和(13.40±2.99)%,均明显高于无基质细胞共培养 hUCB-MNCs 的迁移率(5.38±0.88)%($P < 0.05$),hUCBDSCs 和 hBMSCs 联合移植两组间无统计学差异($P > 0.05$)。

2.2 RT-PCR 法检测 hUCBDSCs 促归巢植入相关因子的表达

如图 1 所示,SDF-1、CXCR-4、ICAM-1(CD54)、VCAM-1(CD106)、HCAM(CD44)、PECAM-1(CD31)、Fibronectin 等与造血细胞归巢植入密切相关的黏附分子、细胞因子及受体均明显表达于 hUCBDSCs,揭示其对造血细胞在体内的归巢和植入具有重要作用。



M: 标准; 1: CXCR-4; 2: PECAM-1; 3: HCAM; 4: ICAM-1; 5: SDF-1; 6: VCAM-1; 7: Fibronectin

图 1 RT-PCR 法检测 hUCBDSCs 对促归巢植入相关因子的表达

2.3 流式细胞仪检测小鼠骨髓人源 CD45⁺ 细胞植入率

移植后 6 周流式细胞仪检测小鼠骨髓中人 CD45⁺ 细胞百分比反映植入率。结果显示,采用 hUCB-MNCs 单移植后植入率随 hUCB-MNCs 输注量增加呈剂量相关性增长。hUCBDSCs 联合移植均能不同程度提高小鼠骨髓中人 CD45⁺ 细胞植入比例,尤其当 hUCB-MNCs 输注剂量最低(2×10^6 /只)时植入率(27.90±7.13)%较 hUCB-MNCs 单移植的植入率(3.87±3.53)%提高最为显著($P < 0.01$)。随着 hUCB-MNCs 输注剂量增加至 4×10^6 /只,hUCBDSCs 联合移植组植入率增长幅度减小。而增加到 6×10^6 或 8×10^6 个/只时,植入率提高无统计学意义($P > 0.05$)。

2.4 荧光法检测造血细胞体内归巢能力

激光共聚焦观察 CM-DiI 标记的 hUCB-MNCs 发红色荧光。采用单移植或联合两种基质细胞移植后荧光细胞在体内分布情况大致相同,均主要归巢于骨髓和脾脏参与早期造血功能重建。移植后,12 h 荧光细胞主要分布在脾、肝、肺等血供丰富的

组织及骨髓和外周血,24 h 骨髓和脾脏中荧光细胞最多,肺和肝脏仅有少量荧光可见,48 h 荧光细胞则主要分布于骨髓和脾脏,其余组织器官几乎未可见,72 h 骨髓中单个细胞的荧光强度逐渐减低(图 2)。

流式细胞仪检测移植后小鼠骨髓中荧光细胞数量并计算归巢率。移植后 12 h,单移植组、hBMSCs 联合移植和 hUCBDSCs 联合移植组造血细胞归巢率依次为(5.12±2.10)%、(8.55±3.44)%和(7.45±2.86)%,三者无统计学差异($P > 0.05$)。之后,两种基质细胞联合移植组较单移植组归巢效率显著增加。移植后 24 h,hUCBDSCs 和 hBMSCs 联合移植组归巢率分别为(22.40±7.91)%和(19.96±7.16)%,均显著高于单移植组[(11.37±7.07)%($P < 0.05$)]。移植后 48 h,hUCBDSCs 联合移植组归巢率[(43.49±3.06)%]显著高于 hBMSCs 联合移植组[(31.99±7.26)%]和单移植组(21.46±6.88)%($P < 0.05$)。

3 讨论

近年来,脐血作为一种新型干细胞资源,因其来源丰富,取材方便,具有较低免疫原性,在多种造血系统恶性疾病临床治疗中具有潜在的应用价值。但脐血中造血干/祖细胞数量不足不能满足大多数成人移植重建造血及免疫功能的需要,限制了其广泛应用^[9]。将两份或多份脐血混合移植以提高移植植物中有核细胞数量是目前研究的热点之一。但 Barker 等^[10-11]报道,接受双份脐血移植的患者造血重建只依靠单份脐血的优势植入,且随着时间的推移处于劣势植入的那份脐血最终会被排斥。通过体外扩增虽然可以增加脐血造血细胞数量,但可能导致其分化并降低归巢和长期植入的能力^[12-13]。因此,如何扩增脐血造血干/祖细胞的数量,提高其归巢植入率,缩短造血重建恢复时间,已经成为目前人们对脐血移植研究的主要问题。

我们在前期研究中发现 hUCBDSCs 能持续分泌造血生长因子维持 CD34⁺ 细胞的体外扩增,具有支持重建造血的物质基础。在动物实验中也证实 hUCBDSCs 能明显促进致死剂量辐照小鼠血象,特别是巨核系的恢复,修复受损微环境,对移植后 GVHD 发生也具有重要的预防作用^[14-16]。移植后早期,经静脉注入患者体内的 HSCs 及时高效地归巢定位于骨髓造血龛是移植后造血发生及重建的重要前提,一方面取决于输注细胞数量,更重要的与骨髓微环境对 HSCs 的迁移、黏附能力密切相关。归巢是一个复杂的多步骤过程,包括:①HSCs 黏附、跨越骨髓血管内皮细胞层迁入髓腔;②HSCs 迁移至造血龛,与骨髓微环境中的基质细胞相互识别、黏附;③通过与基质细胞直接接触,并在基质细胞分泌的细胞因子及细胞外基质作用下实现其自身增殖、分化和成熟^[17]。本实验中我们证实了 hUCBDSCs 和 hBMSCs 均能有效促进造血细胞体外黏附和迁移,对造血细胞的归巢植入具有潜在促进作用。

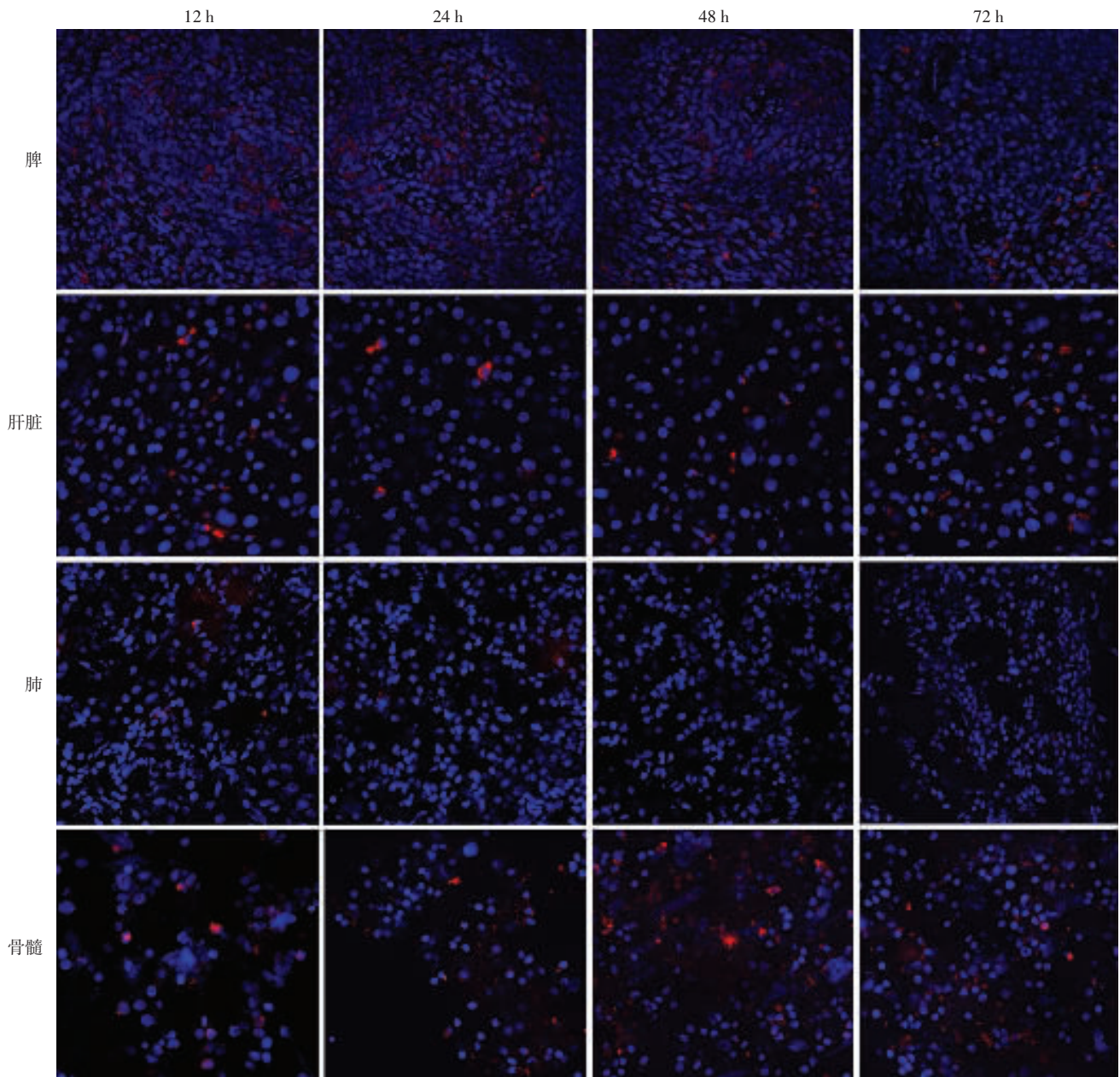


图2 hUCB-MNCs在联合hUCBDSCs共移植小鼠体内迁移情况(激光共聚焦显微镜×400)

一系列黏附分子、细胞因子及相关受体在HSCs归巢过程中作用显著。内皮和基质细胞分泌的SDF-1激活HSCs相应受体CXCR4,并触发LFA-1/ICAM和VLA-4/VCAM-1的作用而使HSCs黏附并穿透内皮细胞层,而VLA-4和VLA-5与Fibronectin的作用使HSCs穿过细胞外基质,并顺着SDF-1浓度梯度迁移并定植于骨髓龛位。因此,SDF-1/CXCR4轴在归巢中发挥重要作用,SDF-1浓度的降低可能是减少干细胞归巢趋向性的重要机制之一^[17-18]。我们在新近研究中也发现,hUCBDSCs高表达SDF-1和PECAM-1在促进巨核细胞增殖、分化、迁移,及血小板的成熟方面具有重要作用^[19]。此外,HCAM及配体细胞外基质的透明质酸也能支持HSCs的黏附、增殖和分化,抗体阻

断其功能后可以彻底中止其归巢和植入。我们通过RT-PCR检测发现hUCBDSCs均能表达以上一系列归巢相关因子,推测hUCBDSCs在体内参与表达、激活和调节黏附分子对造血细胞表面相关受体特异性的产生趋化作用是其促进归巢植入的重要机制之一。

随后,我们采用hUCB-MNCs这种包含多种细胞成分的有核细胞作为造血细胞与hUCBDSCs联合移植,观察其对hUCB-MNCs在辐照损伤小鼠体内早期归巢植入的影响,并与hBMSCs进行比较。白细胞抗原CD45几乎存在于所有造血细胞表面,人源性CD45⁺细胞可区别于鼠源性细胞作为检测造血植入的重要指标^[20]。与Kim等^[21]和Maitra等^[22]的研究结果一致,我们观察到hUCBDSCs能不同程度提高小鼠

体内的人 CD45⁺ 细胞植入率,而当输注低剂量的造血细胞时,促进作用最为显著。在临床成人单份脐血移植中,有 10%~15% 患者存在植入失败而导致造血延迟,其中尤以血小板植入最慢^[23]。本研究结果以期找到造血细胞和基质细胞适宜的移植比例,以促进联合移植后稳定持久恢复造血,减轻放/化疗对造血基质的损伤和移植后可能出现的并发症,尤其对于缺乏充足干细胞来源的脐血移植患者意义重大。

辐照损伤在损伤造血实质的同时,也能破坏骨髓基质的正常功能,引起造血细胞不能及时有效地归巢和定植于骨髓,影响造血重建效果。前期研究我们证实外源性输注 hUCBDSCs 能特异性的“归巢”至骨髓和脾脏^[7],而是否对经静脉输注造血细胞在体内的迁移归巢产生影响尚不清楚。本实验中,我们证实了 CM-DiI 标记的 hUCB-MNCs 在移植初期主要归巢于骨髓、脾脏等造血器官,且在 48h 前未有明显分裂,能稳定存留于受体骨髓。而 hUCBDSCs 联合移植 48h 后归巢率较造血细胞单移植显著提高,甚至优于 hBMSCs 联合移植,提示 hUCBDSCs 可能在引导 HSCs 在小鼠体内向骨髓富集和迁移的同时,也有效促进了造血干/祖细胞在体内的增殖和分化。

参考文献:

- [1] Mendez-Ferrer S, Frenette P S. Hematopoietic stem cell trafficking : regulated adhesion and attraction to bone marrow microenvironment [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1116 : 392 - 413.
- [2] Zhang Y, Adachi Y, Suzuki Y, et al. Simultaneous injection of bone marrow cells and stromal cells into bone marrow accelerates hematopoiesis in vivo [J]. *Stem Cells*, 2004, 22(7): 1256 - 1262.
- [3] Li A, Zhang Q, Jiang J, et al. Co-transplantation of bone marrow stromal cells transduced with IL-7 gene enhances immune reconstitution after allogeneic bone marrow transplantation in mice [J]. *Gene Ther*, 2006, 13(15): 1178 - 1187.
- [4] Nishida S, Endo N, Yamagiwa H, et al. Number of osteoprogenitor cells in human bone marrow markedly decreases after skeletal maturation [J]. *J Bone Miner Metab*, 1999, 17(3): 171 - 177.
- [5] Stenderup K, Justesen J, Clausen C, et al. Aging is associated with decreased maximal life span and accelerated senescence of bone marrow stromal cells [J]. *Bone*, 2003, 33(6): 919 - 926.
- [6] Gao L, Chen X, Zhang X, et al. Human umbilical cord blood-derived stromal cell, a new resource of feeder layer to expand human umbilical cord blood CD34⁺ cells in vitro [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2006, 36(2): 322 - 328.
- [7] Gao L, Chen X H, Feng Y M, et al. Human umbilical cord blood-derived stromal cells : Multifaceted regulators of megakaryocytopoiesis [J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(7): [Epub ahead of print]
- [8] Szilvassy S J, Meyerrose T E, Ragland P L, et al. Differential homing and engraftment properties of hematopoietic progenitor cells from murine bone marrow, mobilized peripheral blood, and fetal liver [J]. *Blood*, 2001, 98(7): 2108 - 2115.
- [9] Parody R, Martino R, Rovira M, et al. Severe infections after unrelated donor allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adults : comparison of cord blood transplantation with peripheral blood and bone marrow transplantation [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2006, 12(7): 734 - 748.
- [10] Barker J N, Weisdorf D J, DeFor T E, et al. Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy [J]. *Blood*, 2005, 105(3): 1343 - 1347.
- [11] Kang H J, Kho S H, Jang M K, et al. Early engraftment kinetics of two units cord blood transplantation [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2006, 38(3): 197 - 201.
- [12] McNiece I K, Almeida-Porada G, Shpall E J, et al. Ex vivo expanded cord blood cells provide rapid engraftment in fetal sheep but lack long-term engrafting potential [J]. *Exp Hematol*, 2002, 30(6): 612 - 616.
- [13] Yamamura K, Ohishi K, Masuya M, et al. Ex vivo culture of human cord blood hematopoietic stem/progenitor cells adversely influences their distribution to other bone marrow compartments after intra-bone marrow transplantation [J]. *Stem Cells*, 2008, 26(2): 543 - 549.
- [14] 刘颖,陈幸华,张曦,等.人脐血源基质细胞联合造血细胞共移植促进造血重建与植入的研究 [J]. *第三军医大学学报*, 2010, 32(9): 895 - 899.
- [15] Hao L, Zhang C, Chen X H, et al. Human umbilical cord blood-derived stromal cells suppress xenogeneic immune cell response in vitro [J]. *Croat Med J*, 2009, 50(4): 351 - 360.
- [16] Hao L, Gao L, Chen X H, et al. Human umbilical cord blood-derived stromal cells prevent graft-versus-host disease in mice following haplo-identical stem cell transplantation [J]. *Cytotherapy*, 2011, 13(1): 83 - 91.
- [17] Hayakawa J, Migita M, Ueda T, et al. Dextran sulfate and stromal cell derived factor-1 promote CXCR4 expression and improve bone marrow homing efficiency of infused hematopoietic stem cells [J]. *J Nippon Med Sch*, 2009, 76(4): 198 - 208.
- [18] Peled A, Kollet O, Ponomaryov T, et al. The chemokine SDF-1 activates the integrins LFA-1, VLA-4, and VLA-5 on immature human CD34⁺ cells : role in transendothelial/stromal migration and engraftment of NOD/SCID mice [J]. *Blood*, 2000, 95(11): 3289 - 3296.
- [19] Feng Y, Chen X, Gao L. Hypothesis : human umbilical cord blood-derived stromal cells promote megakaryocytopoiesis through the influence of SDF-1 and PECAM-1 [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2010, 58(1): 25 - 30.
- [20] Brenner M K, Wulf G G, Rill D R, et al. Complement-fixing CD45 monoclonal antibodies to facilitate stem cell transplantation in mouse and man [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2003, 996 : 80 - 88.
- [21] Kim D W, Chung Y J, Kim T G, et al. Cotransplantation of third-party mesenchymal stromal cells can alleviate single-donor predominance and increase engraftment from double cord transplantation [J]. *Blood*, 2004, 103(5): 1941 - 1948.
- [22] Maitra B, Szekely E, Gjini K, et al. Human mesenchymal stem cells support unrelated donor hematopoietic stem cells and suppress T-cell activation [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2004, 33(6): 597 - 604.
- [23] Laughlin M J, Barker J, Bambach B, et al. Hematopoietic engraftment and survival in adult recipients of umbilical-cord blood from unrelated donors [J]. *N Engl J Med*, 2001, 344(24): 1815 - 1822.

(收稿 : 2010-10-19 修回 : 2010-11-18)

(编辑 王小寒)