

微囊化同种异体骨髓间充质干细胞移植 预防兔椎间盘退变的实验研究

曹 烨, 吴小涛, 王运涛, 严慧深, 邵建树

(东南大学附属中大医院骨科 210009 江苏省南京市)

【摘要】目的:探讨超顺磁性氧化铁(superparamagnetic iron oxide, SPIO)磁粒子标记的微囊化同种异体骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, bMMSCs)移植预防椎间盘退变的可行性。**方法:**选用 60 只健康新西兰大白兔, 随机平均分为 A、B、C、D、E 5 组, 每组 12 只。A、B、C、D 组应用髓核抽吸法制作 L2/3、L3/4、L4/5 椎间盘退变模型, 取同种异体兔 bMMSCs 行体外培养, 并在体外纯化扩增, 用 SPIO 标记后行微囊化, 于造模手术当时植入(A 组)兔手术节段椎间盘内; B 组植入未微囊化 bMMSCs; C 组移植空微囊; D 组仅制作模型, 不移植; E 组为正常对照组。分别于建模后 2、4、6、8 周时 MRI 扫描对标记干细胞在椎间盘内分布进行示踪, 并于相应时间点处死动物后取 L2/3、L3/4、L4/5 髓核组织, 用间苯三酚分光光度法测定蛋白多糖含量的变化, 免疫组化测定 II 型胶原含量的变化, 所得数据进行统计学分析。**结果:**bMMSCs 能被 SPIO 有效标记, 应用 MRI 扫描可观察到其在体内的分布, 8 周时 MRI 图像与 4 周时相比, 干细胞由注射部位向周边发生了迁徙。建模后 2、4、6、8 周各时间点, A 组髓核中蛋白多糖和 II 型胶原的含量均高于 B 组、C 组和 D 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); B 组均高于 C 组及 D 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 各时间点 E 组与 B 组、C 组及 D 组相比差异有统计学意义($P < 0.05$); 术后 6、8 周时 A 组与 E 组之间差异无统计学意义($P > 0.05$); 各时间点 C 组和 D 组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论:**微囊化 bMMSCs 移植后能恢复兔髓核中细胞外基质含量, 其效果优于单纯 bMMSCs 移植。

【关键词】椎间盘退变; 微囊化; 骨髓间充质干细胞; 超顺磁性氧化铁; 同种异体移植; 兔

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2009.09.13

中图分类号: R681.5, Q813 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2009)-09-0693-06

Microencapsulated bone marrow mesenchymal stem cells marked by superparamagnetic iron oxide allograft to prevent lumbar intervertebral disc degeneration: an experimental research/CAO Ye, WU Xiaotao, WANG Yuntao, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2009, 19(9): 693-698

【Abstract】Objective: To investigate the feasibility of microencapsulated bone marrow mesenchymal stem cells (bMMSCs) marked by superparamagnetic iron oxide (SPIO) allograft on preventing lumbar intervertebral disc degeneration. **Method:** Sixty healthy New Zealand white rabbits regardless of gender, were randomly divided into 5 groups. Degenerative models were established in 4 groups by the aspiration of the nucleus pulposus. 4 groups were designed as follows. Group A, microencapsulated bMMSCs group, bMMSCs were cultured and proliferated in vitro and microencapsulated after being marked by SPIO, thereafter they were transplanted into the degenerative discs. Group B, unmicroencapsulated bMMSCs group. Group C, microencapsules without bMMSCs group. Group D, degenerative models group without transplantation. Group E, normal control group, with each group of 12 rabbits. At 2, 4, 6, 8 weeks, magnetic resonance scanning was performed to trace the implanted cells in discs, and the nucleus pulposus of L2/3, L3/4, L4/5 disc were harvested and immunohistochemical staining was used to determine the variation of type II collagen content, spectrophotometry was used to determine the amount of proteoglycan. All these datas were put forward to statistical analysis. **Result:** MRI scanning can trace

基金项目: 江苏省自然科学基金资助项目(BK2007107); 东南大学国家自然科学基金预研项目(XJ2008342); 东南大学新进博士科研启动基金资助项目(9290002359)

第一作者简介: 男(1983-), 在读硕士研究生, 研究方向: 脊柱外科

电话: (025)83272207 E-mail: caoyeseu@163.com

通讯作者: 吴小涛 E-mail: wuxiaotao@medmail.com.cn

the distribution of bMMSCs in discs marked by SPIO. Under MRI, the stem cells were noted to migrate from injected site to peripheral at 8th week compared with those at 4th week. Microencapsulated bMMSCs maintained viability and proliferative potency in the rabbit intervertebral disc. In 2, 4, 6, 8 weeks, the amount of proteoglycan and type II collagen in intervertebral matrix in group A was higher than those in group B, group C and group D, which showed significant difference ($P < 0.05$). The amount of proteoglycan and type II collagen in group B was higher compared with those in group C and group D, while the amount of proteoglycan and type II collagen in group E was higher compared with those in group B, group C and group D at each time point, which showed significant difference ($P < 0.05$), however no significant difference existed between group C and group D ($P > 0.05$) at each time point and between group A and group E ($P > 0.05$) at 6, 8 weeks point respectively. **Conclusion:** Microencapsulated bMMSCs can restore extracellular matrix, which show superior transplantation than bMMSCs transplantation alone.

【Key words】 Intervertebral disc degeneration; Microencapsulation; Bone marrow mesenchymal stem cells; Superparamagnetic iron oxide; Allograft; Rabbit

【Author's address】 Department of Orthopaedics, Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing, 210009, China

椎间盘退变 (intervertebral disc degeneration, IDD) 引起的椎间盘源性腰痛、腰椎间盘突出症等是骨科常见疾患, 临床上常采用药物或手术等治疗方法, 但这些方法只能缓解症状, 不能逆转椎间盘退变, 并非理想的治疗手段。微囊化组织或细胞移植是近年来发展起来的一项新技术, 它利用微囊的免疫阻隔作用以及半透膜特性, 移植后可以避免宿主的免疫排斥反应, 同时可以发挥移植物的分泌功能等生物效应, 进而达到治疗相关疾病的目的^[1]。随着分子成像技术的发展, 应用超顺磁性氧化铁 (SPIO) 纳米粒子标记干细胞, 已成为体内示踪的重要手段。本研究旨在探讨微囊化的异体骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, bMMSCs) 移植是否能有效预防椎间盘退变, 并应用 SPIO 标记行干细胞活体示踪。

1 材料和方法

1.1 主要材料和试剂

LG-DMEM 培养基 (美国 Gibco 公司), 100% 胎牛血清 (杭州四季青公司), 胰蛋白酶 (美国 Sigma 公司), 抗 II 型胶原抗体 (美国 ADL 公司), 海藻酸钠、多聚赖氨酸 (美国 Sigma 公司), 微囊发生器 (瑞士 Nisco 公司), 1.5T MRI 仪 (荷兰 Philips 公司), 新西兰大白兔 (由东南大学医学院动物中心提供)。

1.2 实验方法

1.2.1 兔 bMMSCs 的分离培养 取 1 月龄新西兰大白兔 6 只 (平均体重 1.1kg), 雌雄不拘, 无菌条件下从双侧胫骨上端抽出骨髓血, 采用密度梯

度离心法分离 bMMSCs, 加入含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液, 置于 5%CO₂、饱和湿度、37℃ 培养箱。4~5d 后首次换液, 以后每 3d 换液 1 次。倒置显微镜下逐日观察细胞形态并拍照记录。细胞生长融合达 90% 以上时用 0.25% 胰蛋白酶消化, 按 1 传 2 比例分瓶接种传代培养。此为传一代, 记为 P1, 以此类推, 分别获取 P2、P3、P4……P10 代间充质干细胞。以 P3 代细胞作为注射用细胞。取 P3 代 bMMSCs 悬液进行计数, 调整细胞密度为 1×10^6 个/ml 并行台盼蓝染色。镜下观察, 在 3min 内用血细胞计数板分别计活细胞和死细胞数 (死细胞被染成淡蓝色, 而活细胞拒染)。活细胞率 (%) = 活细胞数 / (活细胞数 + 死细胞数) $\times 100\%$ 。

1.2.2 兔 bMMSCs 的 SPIO 标记 将 SPIO 纳米粒子 (东南大学纳米技术研究中心提供) 加入细胞培养液中, 标记 Fe 浓度为 25μg/ml, 共同孵育 24h, 弃去培养液后用 PBS 反复冲洗。0.25% 胰蛋白酶消化收集 bMMSCs, 使 bMMSCs 再次悬浮成单个细胞, 准备行细胞微囊化。同时一部分标记过的细胞进行普鲁士蓝染色观察细胞内铁。

1.2.3 微囊化 bMMSCs 的制备 取 50ml 标记后的 bMMSCs 细胞悬液, 将其浓度调至 2×10^6 个/ml, 离心后弃去上清液。加入 1.5% 的藻酸钠溶液至 50ml, 混匀, 置于气流式微囊形成仪, 调整气流量为 4L/min (氧气), 由 4.5 号针尖打出, 滴入 1.5% 的氯化钙溶液中, 静置 25min, 洗涤 2 遍。置入 0.1% 多聚赖氨酸溶液中静置 6min, 洗涤 2 遍。再置入 0.15% 的藻酸钠溶液中静置 4min, 洗涤 2 遍。加入 1.5% 的柠檬酸三钠, 静置 5min, 洗涤 2

遍。获得微囊化 bMMSCs(图 1),加入 DMEM 培养液备用。

1.2.4 分组及手术方法 纯种成年新西兰大白兔 60 只,雌雄不限,平均体重 2.5kg,随机平均分为 A、B、C、D、E 5 组。A、B、C、D 组按文献^[2]报道,采用纤维环穿刺抽取髓核法,诱导建立椎间盘退变模型;全麻下采用腰椎侧前方倒八字手术入路,于腹膜外进入腰椎的侧前方,找到椎间盘,于 L2/3、L3/4、L4/5 用 21 号针头针刺抽吸椎间盘,抽出髓核组织湿重约 3~4mg。A 组在对应的椎间盘内注射微囊化细胞悬液 25 μ l;B 组在对应的椎间盘内注射未微囊化细胞悬液 25 μ l;C 组在对应的椎间盘内注射空微囊悬液 25 μ l;D 组(模型组)在对应的椎间盘内注射磷酸缓冲液(PBS)25 μ l;E 组不做任何处理,作为正常对照。每组各 12 只。在每个相应椎间盘旁的腰大肌处以黑色缝合线作标记,用于以后取样观察。然后冲洗、止血,依次逐层关闭切口。术后每日定期观察切口情况,肌肉注射抗生素预防感染。

1.2.5 MRI 扫描 在 2、4、6、8 周,每组随机选取 2 只兔行 MRI 检查。观测移植入椎间盘标记细胞的信号强度、范围,随时间的部位迁徙及信号强度、范围的变化。

1.2.6 蛋白多糖含量测定 将以上 5 组每组随机分为 2、4、6、8 周组 4 个亚组,每组 3 只兔;在相应时间点于兔耳缘静脉注射空气 10ml 处死,立即取出兔腰椎并辨认 L2/3、L3/4、L4/5 椎间盘,确认 3 组相应椎间盘,取出 L2/3 和 L3/4 椎间盘髓核组织($n=6$),采用间苯三酚分光光度法测定光密度值,转换为量值作蛋白多糖含量的测定。

1.2.7 II 型胶原含量测定 将各时间点取出的相应 L4/5 椎间盘置 10%中性福尔马林保存,常规脱水、透明、石蜡包埋、切片(片厚 3 μ m)、免疫组化检测,一抗为抗兔 II 型胶原的单克隆抗体(1:100),DAB 显色。免疫组化结果判断:阳性细胞间质呈棕黄色,应用 LeicaQ550 IW 计算机图像分析系统及其软件定量评价呈阳性免疫染色的髓核细胞间质的灰度值(灰度分级 0~255 级,0 级为最深,255 级为最浅),每只兔取 2 张切片,每个时间点共 6 张,每张切片随机采集 4 个高倍视野($\times 200$)进行测定($n=24$,向同一个方向移动切片,不重叠,不重复)。测得结果为视野内阳性细胞间质的灰度值。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 15.0 软件进行统计学分析。结果用均值 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。相同时间点各组间先进行单因素方差分析(F 检验),若 P 值有统计学意义($P<0.05$),再行组间两两比较,采用 SNK 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 兔 bMMSCs 原代培养生长及形态观察

原代细胞接种后 24h 细胞开始贴壁,可见细胞为分散、克隆集落方式增殖,多呈圆形或类圆形;5~7d 后细胞集落逐渐增多扩大,并彼此融合,细胞呈现梭形外观;10~12d 细胞融合达 90%以上,细胞呈栅栏状、漩涡状排列(图 2),细胞间的界限不清,可以传代。经 0.25%的胰蛋白酶消化后的细胞呈圆形,分瓶接种后 12h 内开始贴壁。传代后的细胞增殖加速,细胞不以集落形式生长,而是呈均匀分布长梭形生长,细胞形态均匀,排列规则。培养 5~7d 即可再次传代。将传代至 P3 的细胞经 0.25%的胰蛋白酶消化后制成细胞悬液,台盼蓝排斥试验检测细胞活率达 95%。

2.2 SPIO 标记的干细胞

传代至第 3 代的细胞与磁粒子共同孵育 24h,PBS 反复漂洗后高倍镜下即可观察到细胞内分布有大量的黄黑色铁颗粒。普鲁士蓝染色后每个标记细胞的胞质内均可见到蓝色颗粒(图 3),标记率近 100%。

2.3 MRI 扫描

在 MRI T2 像上,A 组及 B 组在早期(2、4 周)扫描时发现注入的磁粒子形成一个低信号的浓聚区,周围为高信号的正常髓核组织,后期(6、8 周)的髓核 T2 像即表现为均一的低信号,提示 SPIO 标记的干细胞植入髓核内后由移植中心区向周边髓核发生迁徙(图 4)。C 组及 D 组在各时间点髓核 T2 像均呈低信号影,E 组在各时间点髓核 T2 像均呈高信号影。

2.4 蛋白多糖及 II 型胶原含量测定结果

A 组、B 组和 E 组髓核组织 II 型胶原染色 2 周即显示阳性染色,各时间点均呈阳性或强阳性,而 C 组与 D 组呈阴性或弱阳性反应(图 5)。各组的蛋白多糖及 II 型胶原测定结果见表 1。各时间点,A 组髓核中蛋白多糖和 II 型胶原的含量均高于 B 组、C 组和 D 组,差异有统计学意义($P<$

0.05); B 组均高于 C 组及 D 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 各时间点 E 组与 B 组、C 组及 D 组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 术后 6、8 周时 A 组与 E 组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 各时间点 C 组和 D 组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

目前对椎间盘退变的发生、发展机制尚未完全清楚, 遗传、环境和年龄等都可导致 IDD 的发生。近年来研究发现利用细胞移植可增加椎间盘正常细胞量, 并能促进细胞外基质的合成与代谢, 有缓解甚至逆转椎间盘退变进程的可能。常用的

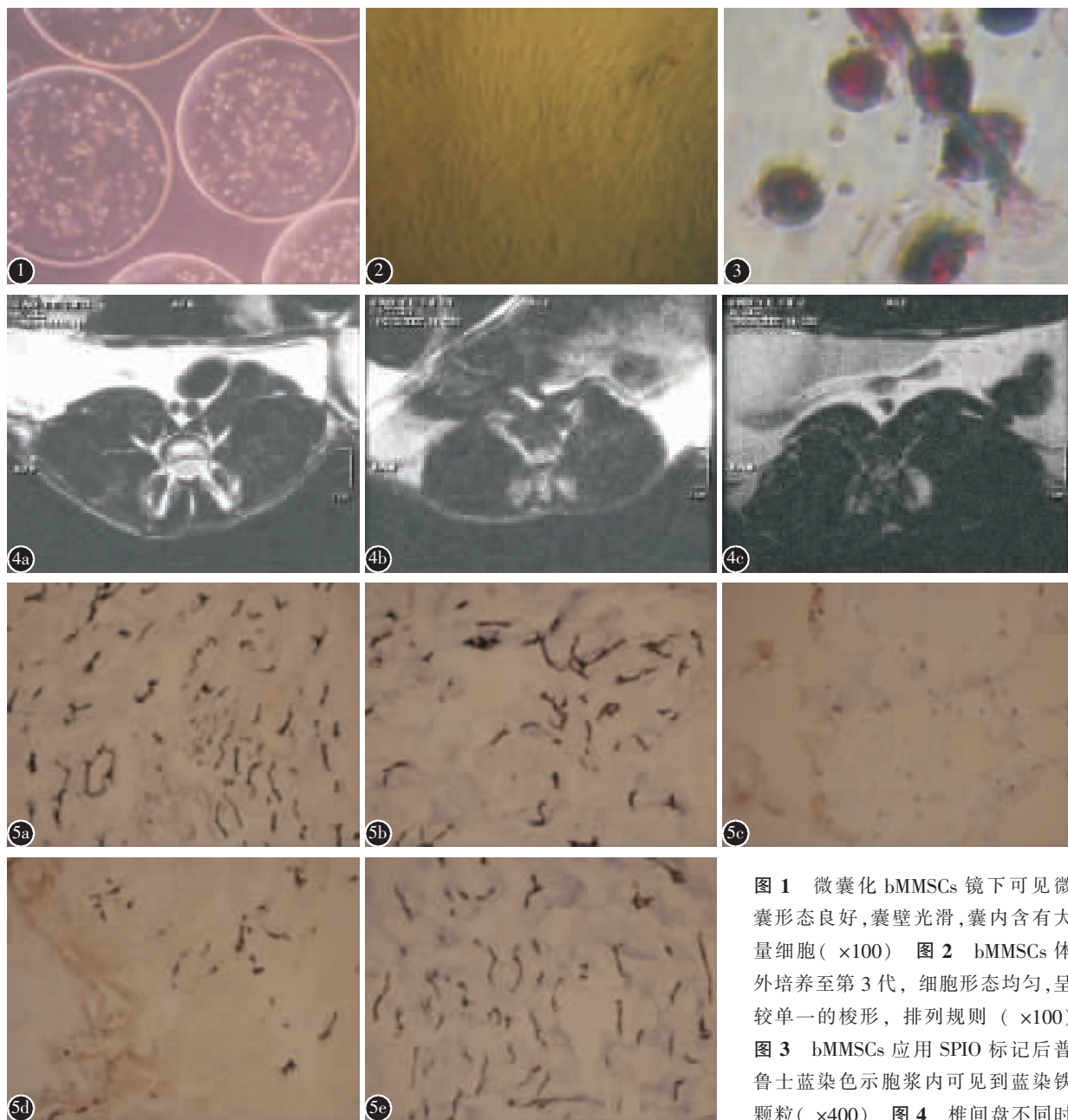


图 1 微囊化 bMMSCs 镜下可见微囊形态良好, 囊壁光滑, 囊内含大量细胞 ($\times 100$) 图 2 bMMSCs 体外培养至第 3 代, 细胞形态均匀, 呈较单一的梭形, 排列规则 ($\times 100$) 图 3 bMMSCs 应用 SPIO 标记后普鲁士蓝染色示胞浆内可见到蓝染铁颗粒 ($\times 400$) 图 4 椎间盘不同时期的 T2 像 a 正常椎间盘 MRI T2

像示正常髓核呈高信号影 b SPIO 标记干细胞植入后 4 周 T2 像示干细胞植入区形成低信号浓聚区 c SPIO 标记干细胞植入后 8 周 T2 像示髓核呈均一的低信号影 图 5 髓核内 II 型胶原免疫组织化学染色 a 8 周时微囊组髓核内示 II 型胶原含量较多 ($\times 200$) b 8 周时未微囊组髓核内示 II 型胶原含量较多 ($\times 200$) c 8 周时空微囊组髓核内示 II 型胶原含量较稀疏 ($\times 200$) d 8 周时模型组髓核内示 II 型胶原含量较稀疏 ($\times 200$) e 8 周时对照组髓核内示 II 型胶原含量较密集 ($\times 200$)

表 1 不同时间点各组髓核组织中蛋白多糖含量及 II 型胶原灰度值

($\bar{x} \pm s$)

	蛋白多糖含量($n=6, \text{mg} \cdot 100\text{mg}^{-1}$)				II 型胶原灰度值($n=24$)			
	2周	4周	6周	8周	2周	4周	6周	8周
A组	4.304±0.125	4.547±0.157	4.738±0.096 ^①	4.808±0.122 ^①	148.15±2.27	146.38±2.62	143.87±1.98 ^①	142.59±2.04 ^①
B组	3.873±0.199	4.211±0.205	4.458±0.188	4.587±0.131	150.64±2.17	148.61±2.39	146.85±1.88	146.05±2.12
C组	3.305±0.141 ^②	3.177±0.159 ^②	3.242±0.208 ^②	3.127±0.170 ^②	155.26±2.11 ^②	154.94±2.78 ^②	156.40±2.46 ^②	157.28±2.31 ^②
D组	3.359±0.165	3.227±0.180	3.160±0.196	3.078±0.221	154.73±2.40	155.51±1.95	157.11±2.34	158.02±1.99
E组	4.816±0.156	4.825±0.118	4.841±0.136	4.835±0.195	140.85±2.21	141.93±1.97	142.70±2.63	141.92±2.59

注:相同时间点①与 E 组比较 $P>0.05$, ②与 D 组比较 $P>0.05$, 其余各组间两两比较 $P<0.05$ (A 组, 微囊化 bMMSCs 移植组; B 组, 未微囊化 bMMSCs 移植组; C 组, 空微囊移植组; D 组, 模型组; E 组, 正常对照组)

移植细胞有髓核细胞、纤维环细胞及软骨来源的细胞等, 但这些细胞来源有限, 体外培养相对困难, 并不是理想的种子细胞。bMMSCs 来源广泛, 具有分化成各种间充质来源的结缔组织细胞的潜能^[3], 其分化结果由其最终周围环境决定, 在合适的条件下可以分化成骨、软骨、脂肪等。而且 bMMSCs 有采集容易、增殖能力强、体外培养时易扩增等特点, 使其可以作为潜在的种子细胞。对于 bMMSCs 的分离培养, 目前大多数研究者以密度梯度离心结合贴壁培养, 取得相对理想的分离纯化的目的^[4]。本实验也通过密度梯度离心法结合贴壁筛选分离、体外纯化扩增 bMMSCs, 采用密度梯度离心法提取单个核细胞进行培养, 避免了过多杂细胞的混入, 得到相对纯化的细胞, 接种于培养瓶后, 利用 bMMSCs 的贴壁性, 残余的红细胞、单核细胞、巨噬细胞等在培养过程中不贴壁、死亡或随换液弃去, 从而使 bMMSCs 得到进一步纯化。传代至 P3 代的细胞呈梭形, 均匀分布, 具有典型的 bMMSCs 形态特点。

Sakai 等^[5]用绿色荧光蛋白标记的自体 bMMSCs 移植入兔退变椎间盘模型后发现退变椎间盘的高度、细胞基质得以恢复, 并证明植入后的 bMMSCs 表现出一些类软骨细胞的特征性表型。赵梓汝等^[6]将转化生长因子- $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 干预下的兔同种异体 bMMSCs 移植到退变的椎间盘, 发现在一定时间内可以增加蛋白多糖和 II 型胶原含量。目前对 bMMSCs 的免疫学特征尚有争议, 尽管有学者认为异体移植 bMMSCs 具有存在免疫逃逸现象, 但在实际应用中不可避免要长期使用免疫抑制剂。另外为了增强 bMMSCs 移植后的效应, 通常的做法是将病毒携带如 SOX-9、BMP-2 等目的基因转染到 bMMSCs 后进行移植, 但经病毒转染的 bMMSCs 会诱导机体的排斥反应^[7]。有研究^[8]显示,

bMMSCs 与 NK 细胞相互作用后, 在干扰素的刺激下可以成为抗原提呈细胞, 引起免疫反应。另外 bMMSCs 在移植过程中, 向成骨细胞或其他细胞分化后, 其免疫学特性尚未清楚。正常的椎间盘由于其特殊的生理屏障维持其免疫赦免状态, 但在退变的椎间盘组织中, 致炎因子高度表达, 其免疫状态也发生了变化^[9]。

1980 年 Lim 等^[10]利用海藻酸钠-多聚赖氨酸-海藻酸钠 (APA) 微囊技术包裹大鼠胰岛细胞治疗实验性糖尿病成功, 标志着微囊化细胞移植技术的确立。其发明的 APA 微囊具有生物半透膜特性, 允许小分子的营养物、分泌物及代谢物自由出入, 限制大分子免疫球蛋白及细胞进入, 从而保护细胞免受宿主免疫系统的攻击, 具有较好的生物相容性, 同时微囊内细胞的活性不受影响。Jonna 等^[11]将人视网膜色素上皮细胞微囊化后体外培养时发现, 细胞在微囊里能长期存活, 并保持分泌能力。目前微囊化组织细胞移植主要集中于胰岛、嗜铬细胞、肝细胞等内分泌代谢疾病和神经性疾病。近年来有学者开始尝试对微囊化 bMMSCs 进行研究, Ding 等^[12]将转 BMP-2 基因的大鼠 bMMSCs 包裹到高纯度海藻酸钠微胶囊内, 观察到微胶囊能阻止 bMMSCs 瘤样增殖, 分泌的 BMP 还能推动 bMMSCs 向软骨细胞分化, 并分泌 I、II 型胶原蛋白等。

本研究采用微囊化技术包裹同种异体兔 bMMSCs 在椎间盘退变发生前进行干预, 结果显示, 8 周内微囊组髓核中 II 型胶原及蛋白多糖的含量高于模型组, 未微囊组髓核中基质含量也高于模型组, 差异有统计学意义。说明单纯 bMMSCs 移植能恢复一定的细胞外基质含量。可见在椎间盘退变的早期, 给予干细胞干预能阻止退变的发生。微囊细胞移植组的效果优于未微囊细胞移植组, 说明微囊不仅可以起到有效的免疫隔离作用,

还可以明显延长微囊化细胞在宿主体内存活和发挥功能的时间。Calafiore 等^[13]报道在动物实验中,微囊化胰岛同种或异种移植后,受者血糖正常可长达数月,而未微囊化胰岛移植后,血糖缓解时间不超过 2 周,明显低于微囊化胰岛移植组。由于细胞包被在微囊内,同时微囊能阻止 bMMSCs 增殖,因此可在体内长期分泌目的产物而免受宿主体内免疫系统的识别和破坏。

为了解干细胞植入后在受体内的生存状态,大都采用体外标记后再植入体内的方法,目前主要采用荧光染料、核素、基因转染等标记方法。然而,上述标记方法需要离体状态下进行组织学切片分析和鉴定,且不能对干细胞在体内进行动态观察。目前 SPIO 干细胞标记和活体 MRI 示踪研究方面已取得了重要进展^[14],已经成为干细胞移植研究的重要手段。SPIO 具有生物可降解性,在体内可被细胞代谢,示踪细胞可达 3 个月以上^[15]。标记细胞内的 SPIO 不影响干细胞的长期活性、生长率,不改变干细胞的功能和分化能力^[16]。本研究应用 SPIO 纳米粒子进行标记,利用 MRI 对干细胞移植后的迁徙、增殖情况进行动态观察,观察到 SPIO 标记的干细胞植入髓核内后由移植中心区向周边髓核发生迁徙。Sobajima 等^[17]在兔模型上也观察到干细胞向纤维环区域发生了迁移。但干细胞发生迁徙的机制有待进一步研究。

综上所述,本实验应用 SPIO 成功标记 bMMSCs 后,利用微囊的免疫阻隔作用以及半透膜特性,将干细胞微囊化后移植可以有效地预防椎间盘退变,并能在体内示踪到干细胞,为未来干细胞的临床应用提供了实验依据。

4 参考文献

1. Rayat GR, Rajotte RV, Ao Z, et al. Microencapsulation of neonatal porcine islets: protection from human antibody complement mediated cytotoxicity in vitro and long term reversal of diabetes in nude mice[J]. Transplantation, 2000, 69(6): 1084-1090.
2. Okuma M, Mochida J, Nishimura K, et al. Reinsertion of stimulated nucleus pulposus cells retards intervertebral disc degeneration: an in vitro and in vivo experimental study[J]. J Orthop Res, 2000, 18(6): 988-997.
3. Caplan AL. Mesenchymal stem cells[J]. J Orthop Res, 1991, 9(5): 641-650.
4. Lisignoli G, Remiddi G, Cattinil L, et al. An elevated number of differentiated osteoblast colonies can be obtained from rat bone marrow stromal cells using a gradient isolation procedures [J]. Connect Tissue Res, 2001, 44(1): 49-57.
5. Sakai D, Mochida J, Iwashina T, et al. Differentiation of mesenchymal stem cells transplanted to a rabbit degenerative disc model: potential and limitations for stem cell therapy in disc regeneration[J]. Spine, 2005, 30(21): 2379-2387.
6. 赵梓汝, 吴小涛, 王运涛, 等. TGF- β 1 干预下体内兔骨髓间充质干细胞对椎间盘退变治疗的实验研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2006, 14(13): 1019-1022.
7. Xu XL, Tang TT, Dai KR, et al. Immune response and effect of human BMP-2 gene therapy on the repair of segmental tibial bone defects in goats[J]. Acta Orthop, 2005, 76(5): 637-646.
8. Stagg J. Immune regulation by mesenchymal stem cells: two sides to the coin[J]. Tissue Antigens, 2007, 69(1): 1-9.
9. 王葵光, 胡有谷. 腰椎间盘突出症的自身免疫状态[J]. 中华骨科杂志, 1994, 14(5): 258-262.
10. Lim F, Sun AM. Microencapsulated islets as bioartificial endocrine pancreas[J]. Science, 1980, 210(4472): 908-910.
11. Jonna W, Matti E, Heli S, et al. Alginate-based microencapsulation of retinal pigment epithelial cell line for cell therapy [J]. Biomaterials, 2008, 27(7): 869-876.
12. Ding HF, Liu R, Li BG, et al. Biologic effect and immunosulating behavior of BMP-2 gene-transfected bone marrow-derived mesenchymal stem cells in APA microcapsules[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 362(4): 923-927.
13. Calafiore R. Alginate microcapsules for pancreatic islet cell graft immunoprotection: struggle and progress towards the final cure for type 1 diabetes mellitus [J]. Expert Opin Biol Ther, 2003, 3(2): 201-205.
14. 鲍军平, 吴小涛, 王运涛, 等. 干细胞移植延缓椎间盘退变及磁共振示踪研究[J]. 东南大学学报(医学版), 2008, 27(3): 166-170.
15. Hinds KA, Hill JM, Shapiro EM, et al. Highly efficient endosomal labeling of progenitor and stem cells with large magnetic particles allows magnetic resonance imaging of single cells[J]. Blood, 2003, 102(3): 867-872.
16. 陈小伍, 方驰华, 刘胜军, 等. 超顺磁性纳米铁粒子标记骨髓基质干细胞及其分化能力的影响 [J]. 中华神经医学杂志, 2006, 5(3): 253-257.
17. Sobajima S, Shimera A, Kim J, et al. Feasibility of stem cell therapy for intervertebral disc degeneration [J]. The Spine J, 2004, 4(2): 117-125.

(收稿日期: 2009-02-19 修回日期: 2009-07-10)

(英文编审 蒋欣)

(本文编辑 彭向峰)