

人脐带间充质干细胞移植治疗 Graves 病小鼠的疗效

李荣良 韩扣兰 戴小丽 李卫勇 黄 诚
(盐城卫生职业技术学院 江苏盐城 224005)

摘要:目的 探讨人脐带间充质干细胞(UC-MSC)对 Graves 病(GD)模型小鼠的治疗作用。方法 将 48 只 18 周龄雌性 GD 小鼠随机分为 G0、G1、G2、G3 组各 12 只,G1 组和 G3 组给予丙硫氧嘧啶(PTU) 50 mg×60 d 灌胃,同时 G2 组和 G3 组于经尾静脉移植入 MSC 1 次,G0 组不治疗。定期称取小鼠体质量,常规测定血象与谷丙转氨酶(GPT),化学发光法测定血清游离甲状腺素(FT₄),酶联吸附法(ELISA)法测定血清甲状腺刺激抗体(TSAb),HE 染色观察甲状腺病理改变。结果 26 周龄时体质量 G2 组(28.6±2.8)g、G3 组(29.4±3.1)g 高于 G0 组的(25.3±2.8)g、G1 组的(25.6±3.4)g P 均<0.05。26 周龄时,白细胞 G2 组(6.7 ± 1.4) $\times 10^9/L$ 、G3 组(7.3 ± 1.2) $\times 10^9/L$ 高于 G0 组的(4.2 ± 0.6) $\times 10^9/L$ 、G1 组的(4.3 ± 1.1) $\times 10^9/L$ P 均<0.05;GPT G2 组(34.8±12.5)U/L、G3 组(36.7±14.7)U/L 低于 G0 组的(57.2±13.5)U/L、G1 组的(59.0±11.6)U/L P 均<0.05。26 周龄时,血清 FT₄ 及 TSAb 水平 G2 组分别为(6.2±1.2)pmol/L、(4.7±0.8)U/mL,G3 组分别为(5.9±1.3)pmol/L、(3.4±0.7)U/mL 低于 G0 组的(10.0±1.8)pmol/L、(8.4±1.0)U/mL P 均<0.05。甲状腺滤泡上皮增生与新生滤泡 G2 组和 G3 组较 G0 组明显减少。结论 UC-MSC 对 Graves 病模型鼠有显著疗效,安全且无排斥反应。

关键词: Graves 病;脐带;间充质干细胞;干细胞移植术;小鼠

doi: 10.3969/j.issn.1002-266X.2013.36.006

中图分类号:R581.1 文献标志码:A 文章编号:1002-266X(2013)36-0017-04

Efficacy of umbilical-cord mesenchymal stem cells transplantation in treatment of mice with Graves disease

LI Rong-liang, HAN Kou-lan, DAI Xiao-li, LI Wei-yong, HUANG Cheng
(Yancheng Institute of Health Science, Yancheng 224005, China)

Abstract: Objective To investigate the efficacy of umbilical-cord mesenchymal stem cells (UC-MSC) transplantation in the treatment of mice with Graves disease (GD). **Methods** Forty-eight 18-week-old GD female mice were divided into 4 groups: group 1 (G1) was treated with propylthiouracil (PTU) (50 mg×60 d), group 2 (G2) was transplanted with 1×10^6 UC-MSC once through caudal vein, group 3 (G3) was treated with PTU(50 mg×60 d) and UC-MSC, and group 0 (G0) was treated with 0.5 mL normal saline as controls. Blood analysis, glutamic pyruvic transaminase (GPT) and body weight were assessed every two weeks. Chemiluminescence was used to detect the levels of serum free thyroxine (FT₄). Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to measure the levels of serum thyroid stimulating antibody (TSAb). The pathological changes of the thyroids were observed by HE staining. **Results** At week 26, the body weight of mice in G2 [(28.6±2.8)g] and G3 [(29.4±3.1)g] was separately higher than that of G0 [(25.3±2.8)g] and G1 [(25.6±3.4)g] ($P<0.05$). At week 26, the leukocytes in G2 [(6.7±1.4) $\times 10^9/L$] and G3 [(7.3±1.2) $\times 10^9/L$] were both increased compared with those in G0 [(4.2±0.6) $\times 10^9/L$] and G1 [(4.3±1.1) $\times 10^9/L$] ($P<0.05$), but the GPT in G2 (34.8±12.5)U/L and G3 (36.7±14.7)U/L were decreased compared with those in G0 (57.2±13.5)U/L and G1 (59.0±11.6)U/L ($P<0.05$). At week 26, the serum FT₄ and TSAb levels in G2 [(6.2±1.2)pmol/L, (4.7±0.8)U/mL] and G3 [(5.9±1.3)pmol/L, (3.4±0.7)U/mL] were both lower than those in G0 [(10.0±1.8)pmol/L, (8.4±1.0)U/mL] ($P<0.05$). The thyroid follicular epithelial hyperplasia and new follicular were significantly decreased in G2 and G3 compared with those of G0. **Conclusion** UC-MSC is very effective in treating GD mice, and it is safe and free of rejection reactions.

基金项目:江苏省盐城市科技局、卫生局科研资助项目(YK2010108)。

作者简介:李荣良(1967-)男,博士研究生,副教授,研究方向为间充质干细胞与自身免疫病。E-mail: lipeter@163.com

Key words: umbilical cord; mesenchymal stem cell transplantation; Graves disease

Graves 病(GD) 又称毒性弥漫性甲状腺肿,以多脏器、多系统受累为特点,约占临床全部甲状腺功能亢进症(甲亢)的 80%,其患病率为 1%~2%,每年新发病率为 2‰~3‰^[1]。其主要临床表现为高代谢综合征,部分患者可以出现甲状腺相关眼病、胫前黏液性水肿和(或)肝脏损害等。GD 的易感性由遗传、环境和免疫共同决定,其中免疫功能异常在 GD 发病中起十分重要的作用。GD 存在针对甲状腺细胞促甲状腺激素受体(TSHR)的特异性自身抗体,称为 TSHR 抗体(TRAb)。TRAb 有两种类型,即 TSHR 刺激性抗体(TSAb)和 TSHR 刺激阻断性抗体(TSBAb)。TSAb 与 TSHR 结合,激活腺苷酸环化酶信号系统,导致甲状腺细胞增生和甲状腺激素合成、分泌增加。目前,GD 的治疗主要依赖于抗甲状腺药物(ATD),但由于用药量大、时间长,容易出现多种不良反应,严重影响患者的生活质量。因此,针对 GD 的发病机制,寻找新的治疗方法十分必要。

间充质干细胞(MSC)最初特指骨髓基质细胞,后来发现在胎儿肝脏、肺脏、心脏等实质脏器与脐带、脐带血中均提取到与骨髓基质细胞生物学特性相似、免疫表型相同的干细胞。骨髓作为目前 MSC 的主要来源存在病毒污染的可能,且随着年龄增长其细胞数量和扩增、分化能力呈明显下降趋势。已有研究证实,由人脐带的连接组织中和脐血分离出的细胞在特定条件下能分化为软骨细胞或神经样细胞,并表达神经烯醇化酶(NSE)等神经元特异性抗原,表明人脐带 MSC(UC-MSC)具有多向分化潜能,具有作为细胞替代治疗种子细胞的可能。MSC 能分泌多种细胞因子、黏附分子,具有支持造血、组织修复、诱导免疫耐受和免疫调节的作用等。MSC 通过对 T 细胞、B 细胞和树突状细胞(DC)等免疫活性细胞的调节发挥作用^[2]。目前, MSC 已被用于移植物抗宿主病(GVHD)、系统性红斑狼疮(SLE)等自身性免疫病的临床治疗^[3,4],取得了较好的疗效,但移植治疗 GD 尚未见报道。2010 年 4 月~2012 年 12 月,本实验通过 UC-MSC 移植治疗 GD 小鼠,初步观察其安全性与疗效,为将来临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料 实验动物:64 只雌性 BALB/c 小鼠,6~8 周龄,体质量(20.0±2.0)g,由上海斯莱克实验动物有限公司提供。脐带标本来源于盐城市妇幼保健院产科健康产妇正常分娩足月新生儿的脐带(已取得新生儿父母的知情同意)。达氏改良伊氏

培养基(DMEM,美国 Gibco 公司);胎牛血清(FBS,美国 Gibco 公司);Ficoll-Paque 分离液(天津市 TBD 生物技术发展中心);胶原酶 II、血管内皮生长因子、内皮生长因子、胰蛋白酶(美国 Sigma 公司);荧光标记小鼠抗人抗体(法国 Immunotech 公司):CD₁₄-PE、CD₂₉-FITC、CD₄₄-FITC、CD₄₅-PE、CD₁₀₅-PE、HLADR-异硫氰酸荧光素(FITC);CO₂ 孵箱(Sanyo 公司);倒置显微镜(Olympus 公司);JEM-4230 型透射电子显微镜(日本电子株式会社);FT₄ 检测试剂盒(IMMULITE,美国 DPC 公司);TSAb 检测酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒(天津瑞爱金生物科技有限公司提供)。

1.2 方法

1.2.1 UC-MSC 收集和单个核细胞分离及培养、鉴定 将脐带从手术台上取下,无菌条件下浸入 DMEM/F12 培养液中,4℃ 保存。超净台内取出脐带。PBS 冲洗,冲去脐静脉及动脉内的残存血。将脐带剪碎至 1~2 mm³ 大小组织块,转移至 0.075% 胶原酶 II 中,37℃ 持续搅拌消化 30 min,随即用 0.125% 胰酶 37℃ 持续搅拌消化 30 min。100 μm 细胞筛过滤,滤液离心,PBS 洗 2 次。以 1.0×10⁶/cm² 的密度接种于含低糖 DMEM 培养液[含 5% 的 FBS,2 mL 谷氨酰胺,10 ng/mL 血管内皮生长因子(VEGF),10 ng/mL 内皮生长因子(EGF),10⁵ U/L 青霉素,100 mg/L 链霉素]的 T25 塑料培养瓶中。3~4 d 后更换培养液,去掉未贴壁细胞。以后每 3 d 换液 1 次,至细胞融合传代。待细胞生长到 80% 左右融合时以 0.25% 胰蛋白酶二胺四乙酸(EDTA)混合液消化,然后按 2:1 的比例传代接种培养。取原代 MSC 用 PBS 洗 3 遍,与荧光标记小鼠抗人抗体室温反应 30 min。PBS 洗涤去未结合抗体,应用 FACScan 流式细胞仪检测细胞表面抗原表达情况。

1.2.2 GD 模型小鼠的制备与分组 所有实验动物饲养于江苏省医药动物实验基地 SPF 屏障环境。同伍丽萍等^[5]造模方法,首先,AdMax 法构建重组腺病毒(Ad-TSHR289),然后经胫前肌注 BALB/c 小鼠,每 3 周免疫 1 次,共 3 次。在第 3 次免疫后 3 周测定血清中 FT₄ 与 TSAb 的表达量,细针穿刺甲状腺组织 HE 切片染色。将造模成功的 48 只小鼠随机分为 G₀、G₁、G₂、G₃ 组:G₁、G₃ 组于第 18 周予以丙硫氧嘧啶(PTU)50 mg×60 d 灌胃,同时 G₁~G₃ 组尾静脉注射 1×10⁶ P3 代 UC-MSC,G₀ 组尾静脉注射 0.5 mL 生理盐水。于第 26 周处死所有动物,常规检测。

1.2.3 指标测定 每 2~3 周测定动物体质量,治疗 26 周时检测,血常规及谷丙转氨酶(GPT) ELISA 法测定血清 TSAb 的浓度,FT₄ 测定按试剂盒说明书操作。

1.2.4 甲状腺病理观察 取出甲状腺经甲醛固定,石蜡包埋并制作切片,HE 染色,光镜下观察小鼠甲状腺滤泡结构等组织学变化。

1.2.5 统计学方法 采用 SPSS11.0 统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多个样本均数间的比较采用单因素方差分析。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 UC-MSc 表面抗原检测结果 流式细胞仪检测 UC-MSc,结果显示细胞均一性较好,均表达 CD₂₉、CD₄₄ 和 CD₁₀₅,而不表达 CD₁₄、CD₃₄、CD₄₅ 和人类白细胞抗原(HLA)-DR。

2.2 各组 GD 小鼠体质量比较 见表 1。

表 1 各组 GD 小鼠体质量比较(g $\bar{x} \pm s$)

组别	18 周	20 周	22 周	24 周	26 周
G0 组	22.4±2.4	23.2±3.2	23.7±2.8	24.6±2.2	25.3±2.8
G1 组	22.6±2.8	23.8±3.6	24.3±3.1	25.1±3.4	25.6±3.4
G2 组	22.2±3.3	23.5±3.2	24.0±2.5	26.1±2.7	28.6±2.8* #
G3 组	22.5±2.6	23.8±2.5	24.4±2.4	26.5±2.5	29.4±3.1* #

注:与同时点 G0 组比较,* $P < 0.05$;与同时点 G1 组比较,# $P < 0.05$

2.3 各组 GD 小鼠 GPT、血常规指标比较 见表 2。

表 2 各组 GD 小鼠 GPT 与血常规指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	GPT(U/L)	WBC($\times 10^9/L$)	Hb(g/L)	PLT($\times 10^9/L$)
G0 组	57.2±13.5	4.2±0.6	162.4±13.6	621.4±65.2
G1 组	59.0±11.6	4.3±1.1	149.2±14.2	663.7±58.4
G2 组	34.8±12.5* #	6.7±1.4* #	161.3±15.6	723.6±81.5
G3 组	36.7±14.7* #	7.3±1.2* #	163.4±15.9	720.8±87.3

注:与 G0 组比较,* $P < 0.05$;与 G1 组比较,# $P < 0.05$

2.4 各组 GD 小鼠血清 FT₄ 及 TSAb 比较 见表 3。

表 3 各组 GD 小鼠血清 FT₄ 及 TSAb 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	G0 组	G1 组	G2 组	G3 组
FT ₄ (pmol/L)	10.6±2.4	6.7±1.5	6.3±1.1*	6.1±1.4*
TSAb(U/mL)	8.1±1.6	6.3±1.1	5.2±0.9* #	4.7±1.4* #

注:与 G0 组比较,* $P < 0.05$;与 G1 组比较,# $P < 0.05$

2.5 各组 GD 小鼠甲状腺组织病理变化 观察治疗前后 GD 小鼠甲状腺 HE 染色切片。G0 组小鼠甲状腺滤泡细胞增生肥大,呈立方状或高柱状,滤泡大小不一,滤泡腔中胶质含量减少,在增生的甲状腺滤泡中有乳头状折叠凸入滤泡腔,滤泡间可见不同程度的淋巴细胞浸润。G1、G2、G3 组小鼠光镜下显示甲状腺滤泡上皮增生与新生滤泡明显少于 G0 组,泡中胶质含量比较丰富,未见胶质浓缩。见插页 III 图 7。

3 讨论

MSC 是一种具有向多向分化潜能的祖细胞,在体外能大量扩增,能着巢于受损组织。MSC 具有独

特的表型,它不表达 HLA-II 类抗原和协同刺激分子等,所以免疫原性较低;在异基因 MSC 移植时无排斥反应发生,MSC 在分化成其他细胞类型时仍保留其免疫调节作用^[6],这意味 MSC 移植可发挥长期的免疫调节作用。GD 是一种甲状腺素合成增多的器官特异性自身免疫性疾病,可以导致多系统损害与免疫紊乱。Choi 等^[7]最近研究发现,脂肪来源的 MSC 可以影响 T 辅助(Th)细胞因子的平衡治疗甲状腺炎。我们研究结果表明,健康人 UC-MSc 移植治疗 GD 小鼠能显著提高体质量与白细胞数,降低血清 FT₄ 及 TSAb 的表达水平,减少肝损害,显著改善 GD 小鼠甲状腺病理。

MSC 能够直接分化为组织细胞和(或)融入受损的成熟细胞,从而达到结构及功能上的修复。在不同诱导条件下,MSC 具有向心肌细胞、肝细胞、神经元及肺泡上皮细胞等分化的多项潜能^[8-10]。甲状腺是由 3 个胚层来源的多种细胞组成的器官,其中数量最多的是甲状腺滤泡细胞,具有分泌甲状腺激素的功能。而 Na⁺/I⁻ 同向转运体(NIS)、甲状腺过氧化物酶(TPO)、甲状腺球蛋白(Tg)和 TSHR 与甲状腺激素的合成关系密切。因此,NIS、TPO、Tg 和 TSHR 被认为是甲状腺滤泡细胞分化的标志^[11],编码这 4 种蛋白的基因即为甲状腺细胞特异表达基因。Lin 等^[11]将 1×10^6 个小鼠胚胎干细胞(ESC)接种于 DMEM 培养基,加入含 15% 的 FBS,100 U/mL 青霉素-链霉素、1% 白血病抑制因子以及 115×10^{-4} mol/L 硫代甘油的培养基进行培养 2 d 传代 1 次,收集培养过程中的干细胞,采用 RT-PCR 方法对其中甲状腺细胞特异表达基因进行检测。结果表明,第 6 天起开始有甲状腺细胞特异基因 NIS、TPO、Tg 和 TSHR 的表达。Arufe 等^[12]将 TSHR^{+/-} ESC 进行培养,得到甲状腺滤泡样细胞集落。这些细胞集落可以表现出甲状腺滤泡细胞的特性,免疫荧光证实滤泡样细胞集落同时表达 TSHR 和 NIS,并且这些细胞还可以摄取 I⁻。与 Lin 等研究结果一致。刘雄英等^[13]将 E14 小鼠的 ESC 细胞株在体外培养并诱导分化为甲状腺细胞,以 RT-PCR 检测甲状腺细胞相关分子,结果显示在诱导的第 6 天和第 10 天均可见诱导细胞中有 TSHR、NIS,尤其是 TPO、Tg 等基因的表达,表明诱导细胞中含有甲状腺细胞。Choi 等^[7]发现,脂肪来源的 MSC 可以有效修复被破坏的甲状腺滤泡,阻止胶质浓缩及纤维组织细胞增生。本研究表明,UC-MSc 移植治疗 GD 小鼠后,其甲状腺病变的严重程度均较对照组明显好转,其体质量轻、肝脏损害均明显改善。这些结果均表明,UC-MSc 对 GD 小鼠甲状腺病变的修复具有一定的作用。

MSC 不仅可以抑制 B 淋巴细胞的增殖,而且能影响其功能。研究发现, MSC 对 T 细胞依赖性刺激和有丝分裂原刺激引起的脾脏 B 淋巴细胞的增殖均有抑制作用^[14]。Corcione 等^[15]研究表明,人骨髓 MSC 对 Ig 抗体、可溶性 CD₄₀ 配体、IL-2 和 IL-4 激发下的 B 淋巴细胞增殖均有抑制作用,且 B 细胞的功能也受到抑制,包括 B 细胞向抗体分泌细胞的分化和 B 细胞的趋化性。而 Rasmusson 等^[16]研究显示,在不同水平脂多糖(LPS)或病毒抗原的刺激下,人骨髓 MSC 可以刺激或抑制 B 细胞分泌 IgG,表明 MSC 对 B 细胞功能的调节作用受多种因素的影响。TSAb 是 GD 中的主要致病抗体,该抗体是由 B 淋巴细胞产生的一类具有异质性的特异性免疫球蛋白。我们研究发现, MSC 移植治疗 GD 模型鼠 1 周时 TSAb 水平开始下降。随着时间的延长,至实验终点时, G1、G2、G3 组 TSAb 水平与 G0 组相比差异有统计学意义。这也证明了 UC-MSC 可以通过抑制 TSAb,而对 GD 模型鼠起到治疗作用。

骨髓来源的 MSC 具有分泌化学趋化因子 SDF1 表达其受体 CXCR4 及其他相关黏附分子的特性,通过表达这些归巢相关分子,骨髓 MSC 可引导造血干祖细胞准确归巢,从而促进造血干细胞的有效植入^[17,18]。张浪辉等^[19]通过 RT-PCR 技术检测发现, UC-MSC 具有表达化学趋化因子及相关黏附分子的特性,有利于实现自身的归巢定位并引导造血干细胞的有效归巢与植入。本研究表明, MSC 移植治疗到 26 周时 GD 小鼠白细胞数相对于未移植的两组明显增多。这也证明了通过 UC-MSC 移植可以有效治疗 GD 本身和药物导致白细胞减少,改善患者的生存质量。

综上所述, UC-MSC 移植后, GD 小鼠血清 FT₄ 与 TSAb 水平下降, 体质量显著增加, 甲状腺、肝脏、白细胞损害均明显减轻。这说明 UC-MSC 治疗 GD 模型鼠安全有效, 为临床应用提供了参考依据, 其治疗机制有待进一步研究。

参考文献:

[1] Weetman AP. Graves disease 1835-2002 [J]. *Horm Res*, 2003, 59 (Suppl 1): 114-118.
 [2] Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses [J]. *Blood*, 2005, 105(4): 1815-1822.
 [3] Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells [J]. *Lancet*, 2004, 363(9419): 1439-1441.
 [4] 张华勇, 冯学兵, 马晓蕾, 等. 异基因骨髓间充质干细胞移植治疗系统性红斑狼疮 11 例临床分析 [J]. *中华风湿病学杂志*,

2009, 13(2): 89-92.
 [5] 伍丽萍, 施秉银, 郭丽英, 等. 在雌性小鼠制备 Graves 病动物模型 [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2006, 22(4): 388-391.
 [6] Le Blanc K, Tammik C, Rosendahl K, et al. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells [J]. *Exp Hematol*, 2003, 31(10): 890-896.
 [7] Choi EW, Shin IS, Lee HW, et al. Transplantation of CTLA4Ig gene-transduced adipose tissue-derived mesenchymal stem cells reduces inflammatory immune response and improves Th1/Th2 balance in experimental autoimmune thyroiditis [J]. *J Gene Med*, 2011, 13(1): 3-16.
 [8] Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium [J]. *Nature*, 2001, 410(8): 70-75.
 [9] Gaustad KG, Boquest AC, Anderson BE, et al. Differentiation of human adipose tissue stem cells using extracts of rat cardiomyocytes [J]. *Biochem Biophys Res Com*, 2004, 314(4): 420-427.
 [10] Rupp S, Badorf C, Koyanagi M, et al. Statin therapy in patients with coronary artery disease improves the impaired endothelial progenitor cell differentiation into cardiomyogenic cells [J]. *Basic Res Cardiol*, 2004, 99(1): 61-68.
 [11] Lin RY, Kubo A, Keller GM, et al. Committing embryonic stem cells to differentiate into thymocyte-like cell in vitro [J]. *Endocrinology*, 2003, 144(6): 2644-2649.
 [12] Arufe MC, Lu M, Kubo A, et al. Directed differentiation of mouse embryonic stem cells into thyroid follicular cells [J]. *Endocrinology*, 2006, 147(6): 3007-3015.
 [13] 刘雄英, 蒋宁一, 张绪超, 等. 体外诱导胚胎干细胞分化为甲状腺细胞的实验研究 [J]. *中华核医学杂志*, 2007, 27(1): 50-55.
 [14] Glennie S, Soeiro I, Dyson PJ, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells induce division arrest anergy of activated T cells [J]. *Blood*, 2005, 105(7): 2821-2827.
 [15] Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B cell functions [J]. *Blood*, 2006, 107(1): 367-372.
 [16] Rasmusson I, Le Blanc K, Sundberg B, et al. Mesenchymal stem cells stimulate antibody secretion in human B cells [J]. *Scand J Immunol*, 2007, 65(4): 336-343.
 [17] Broxmeyer H, Kohli L, Kim C, et al. Stromal cell derived factor-1 / CXCL12 directly enhances survival/ antiapoptosis of myeloid progenitor cells through CXCR4 and Gai proteins and enhances engraftment of competitive, repopulating stem cells [J]. *J Leukoc Biol*, 2003, 73(5): 630-638.
 [18] Lapidot T, Kollet O. The essential roles of the chemokine SDF-1 and its receptor CXCR4 in human stem cell homing and repopulation of transplanted immune-deficient NOD/SCID and NOD/SCID/B2m (null) mice [J]. *Leukemia*, 2002, 16(10): 1992-2003.
 [19] 张浪辉, 陈志哲, 吕璐璐, 等. 脐带源间充质干细胞促进造血细胞在 NOD/SCID 小鼠归巢 [J]. *福建医科大学学报*, 2006, 40(3): 203-206.

(收稿日期: 2013-01-15)

survivin、galectin-3、Ki-67在乳腺癌组织中的表达及其意义

(见正文15页)

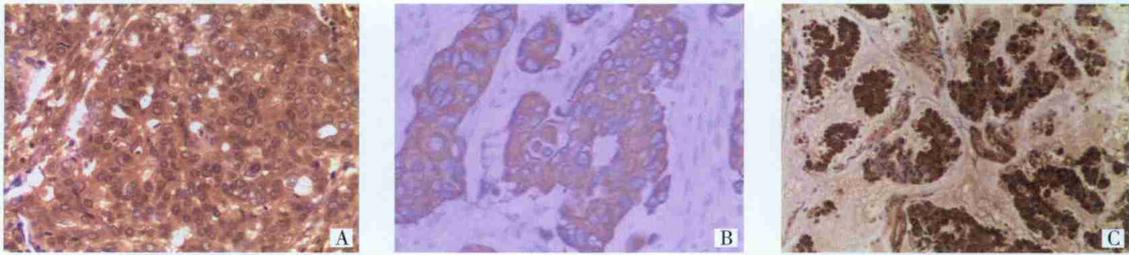


图6 survivin、galectin-3、Ki-67蛋白在乳腺癌组织中的表达（免疫组化， $\times 100$ ）

注：A为survivin；B为galectin-3；C为Ki-67

人脐带间充质干细胞移植治疗Graves病小鼠的疗效

(见正文19页)

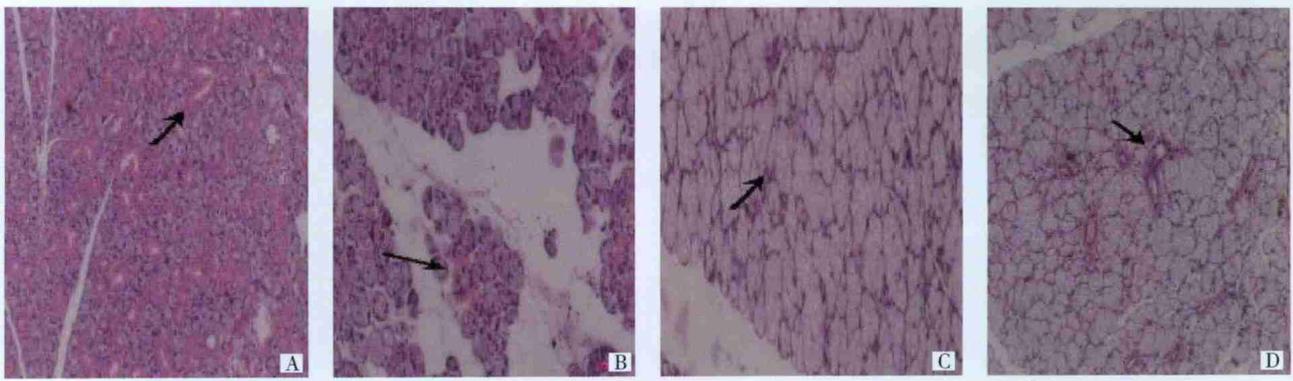


图7 各组GD小鼠甲状腺组织病理变化（HE， $\times 100$ ）

注：A为G0组；B为G1组；C为G2组；D为G3组

两种不同部位取材的大鼠骨髓基质细胞生物学特性比较

(见正文29页)

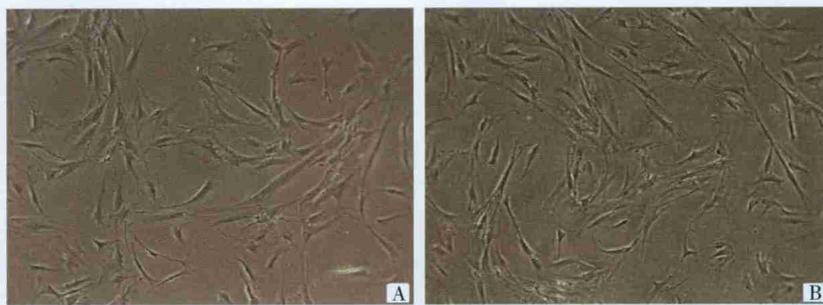


图8 BMSCs显微镜下细胞形态（ $200\times$ ）

注：A为大鼠长骨；B为大鼠尾椎骨

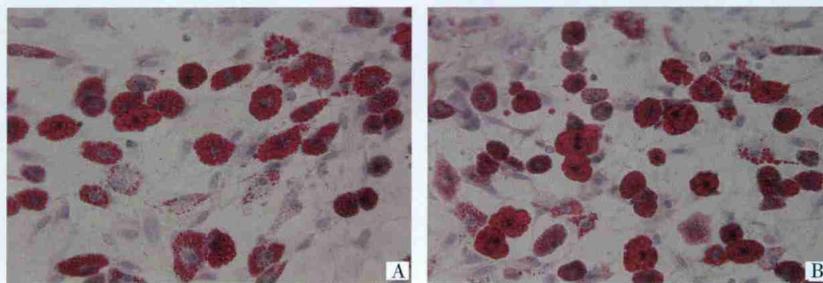


图9 BMSCs成脂诱导（油红O染色， $400\times$ ）

注：A为大鼠长骨；B为大鼠尾椎骨