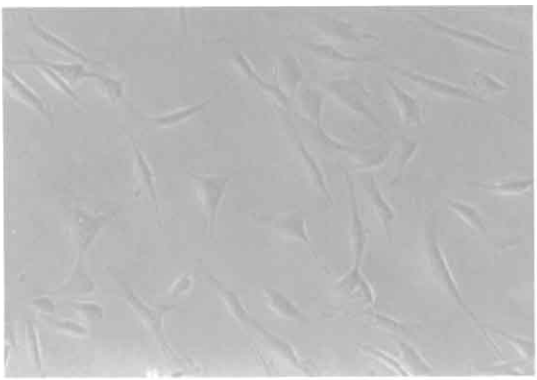


图 2　分离、培养 5 d 时的细胞形态　（光镜 ×100）

Fig 2　MSCs isolated and cultured for 5 d　(Light microscope ×100)

3　讨论

Friedenstein 等[4] 首先从骨髓中分离、培养了一种贴壁生长的纤维样细胞，在体外培养具有有限的自我更新的能力并能分化为骨、软骨等组织。这种细胞被命名为克隆形成单位成纤维细胞（colony forming unit-fibroblast，CFU-F）；后来 Pittenger 等[3] 采用 Percoll（1.073 g/ml）密度梯度离心法，进一步从骨髓中分离出了一类细胞，这类细胞同源性更强，具有更强的自我更新能力和多向分化潜能，被认为是比 CFU-F 更纯的 MSCs。从人骨髓中分离 MSCs 有几种方法：全骨髓培养、Ficoll（1.077g/ml）密度梯度离心法、Percoll（1.073 g/ml）密度梯度离心法，应用 MSCs 贴壁生长特性使其与造血谱系细胞分离。研究表明：全骨髓培养效果最差，由于造血谱系细胞的影响很难得到比较纯的 MSCs[5,6]；Ficoll（1.077g/ml）分离的 MSCs 纯度不如 Percoll[7]。也有人利用针对 MSCs 表面抗原（如 STRO-1、CD11b、Hop-26 等）的单克隆抗体包被免疫磁珠或通过流式细胞仪分选 MSCs[8,9]。然而到目前为止，还没有一种方法被视为分选是 MSCs 的标准方法。

本研究分别采用了 Percoll 和比重为 1.073 g/ml 的 Ficoll 密度梯度离心法分离 MSCs，并观察了两种方法分离的 MSCs 体外扩增情况。发现用两种方法分离的 MSCs 在细胞形态、细胞表面标志、生长速度和生命周期等方面无明显的差别。与 Percoll 密度梯度离心法比较，Ficoll（1.073 g/ml）密度梯度离心法不仅降低了离心对细胞的损害；而且简化了操作步骤，缩短了分离时间，减少了污染机会。因此，Ficoll（1.073 g/ml）密度梯度离心法是一种行之有效的 MSCs 分离方法。

参考文献：

[1] Edelman E R. Vascular tissue engineering: designer arteries[J]. Circ Res, 1999, 85(12): 1115-1117.

[2] Langer R, Vacanti J P. Tissue engineering[J]. Science, 1993, 260(5110): 920-926.

[3] Pittenger M F, Mackay A M, Beck S C, *et al*. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells[J]. Science, 1999, 284(5411): 143-147.

[4] Friedenstein A J, Piatetzky Shapiro II, Petrakova K V. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells[J]. J Embryol Exp Morphol, 1966, 16(3): 381-390.

[5] Kitano Y, Radu A, Shaaban A, *et al*. Selection, enrichment, and culture expansion of murine mesenchymal progenitor cells by retroviral transduction of cycling adherent bone marrow cells[J]. Exp Hematol, 2000, 28(12): 1460-1469.

[6] Van Vlasselaer P, Falla N, Snoeck H, *et al*. Characterization and purification of osteogenic cells from murine bone marrow by two-color cell sorting using anti-Sca-1 monoclonal antibody and wheat germ agglutinin[J]. Blood, 1994, 84(3): 753-763.

[7] 刘晓丹，郭子宽，李秀森，等. 人骨髓间充质干细胞分离与培养方法的建立[J]. 军事医学科学院院刊，2000，24(4)：282-284.

[8] Encina N R, Billotte W G, Hofmann M C. Immunomagnetic isolation of osteoprogenitors from human bone marrow stroma[J]. Lab Invest, 1999, 79(4): 449-457.

[9] Oreffo R O, Virdi A S, Triffitt J T. Retroviral marking of human bone marrow fibroblasts: *in vitro* expansion and localization in calvarial sites after subcutaneous transplantation *in vivo*[J]. J Cell Physiol, 2001, 186(2): 201-209.

（编辑　王　红）

参考文献中英文作者名的著录方法

医学期刊的论文中，引用英文文献的比例很高，但有不少作者将英、美人的姓名搞错，以至用光盘核对时出现错姓、错名或姓名全错。英、美人姓名的习惯写法是：名-名-姓，“名”可以有 1 个、2 个或 3 个，但“姓”只有 1 个。因此，从书籍或期刊中的姓名转录到文献时，要将次序调整为姓-名-名。姓是不可以简写的；“名”可以缩写，用第一个字母大写，不用缩写点。数据库在著录作者姓名时，已经调整为姓-名-名，可照录。

例如：John Quincy Public 写为 Public J Q。

本刊编辑部