维普资讯 http://www.cqvip.com

度梯度离心法、流式细胞仪法和免疫磁珠法。各种方法都有利弊。本实验采用差速贴壁法分离大鼠BMSCs，第一次换液时间是接种后24 h，每次换液时尽量将未贴壁细胞冲洗掉，进行纯化。这种方法虽有原代培养纯度不高的缺点，但其简便易行，经传代后细胞纯度可达到90%左右。

3.2 骨髓基质细胞的诱导分化

从细胞遗传学来看，定向分化都是含有相同基因组的细胞不同基因表达的结果，是细胞发育的不同阶段。基因表达需一定的条件，多种因素包括细胞外环境因素如细胞因子、激素等均参与调节，并影响细胞的定向分化。在这些因素中，神经营养因子的作用尤为关键。碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)在胚胎时的含量很高[6]，新生鼠皮下注射bFGF可促进海马、室管膜下区等处神经干细胞的分裂增殖[7]，因此，bFGF是一种高效的神经营养因子。在体外培养中，bFGF可诱导来自胚胎的神经干细胞增殖，产生由未分化细胞组成的细胞球，这些细胞能表达神经上皮细胞特有的Nestin。另外，bFGF对神经干细胞的存活、增殖和分化具有剂量依赖性，在含有一种低浓度的bFGF的基本培养液中，神经干细胞呈现神经元的分化特征，随着bFGF水平的增加则分化为胶质细胞[8]。Jiang等[9]研究表明神经前体细胞在去除PDGF和EGF后加入bFGF培养14 d后有(68±9)%表现出神经元形态和表型。

基于以上对bGFG的研究结果，近年来，大量研究BMSCs定向诱导为神经元的实验中均用bFGF预诱导24 h。为了明确预诱导对进一步定向诱导的影响，本实验延长预诱导时间，通过神经元特异性标记物(NF-200)验证转化的神经元样细胞。结果显示bFGF确实能使BMSCs向神经元方向分化。但发现延长诱导时间并未增加神经元样细胞所占百分比。同时，诱导72 h后视野中开始出现有空泡细胞，96 h这种细胞增多。考虑是因为bFGF作用时间有限，诱导72 h后出现变性细胞，因未换液，培养基酸化所致。本文认为预诱导24 h是可取的。目前，BMSCs向神经元定向分化仍然是研究的重点，能否从定性表达过渡到定量高表达，是迄待解决的瓶颈问题[10]。因此，通过对体外诱导因素进行逐步筛选，优化诱导条件，力求使神经元样细胞所占比例达最大，进而研究这些细胞的功能，使它们能够替代体内丢失的神经元，重建功能。

[参考文献]

[1] Weimann JM, Charlton CA, Brazelton TR, et al. Contribution of transplanted bone marrow cells to Purkinje neurons in human adult brains[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(4): 2088 - 2093.
[2] Munoz-Elias G, Woodbury D, Black IB. Marrow stromal cells, mitosis, and neuronal differentiation: stem cell and precursor functions[J]. Stem Cells, 2003, 21(4): 437 - 448.
[3] Woodburg D, Schwarz EJ, Prockop DJ, et al. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons[J]. J Neurosci Res, 2000, 61(4): 364 - 370.
[4] Sanchez Ramos J, Song S, Cardozo Pelaez F, et al. Adult bone marrow stromal cells differentiate into neuronal cells in vitro[J]. Exp Neurol, 2000, 164(2): 247 - 256.
[5] Deng W, Obrocka M, Fischer I, et al. In vitro differentiation of human marrow stromal cells into early progenitors of neural cells by conditions that increase intracellular cyclic AMP[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 282(1): 148 - 152.
[6] Mckay R. Stem cells in the central nervous system[J]. Science, 1997, 276(5309): 66 - 71.
[7] Tao Y, Black IB, DiCicco Bloom E. In vivo neurogenesis is inhibited by neutralizing antibodies to basic fibroblast growth factor [J]. J Neurobiol, 1997, 33(3): 289 - 296.
[8] Qian X, Davis AA, Goderie SK, et al. FGF2 concentration regulates the generation of neurons and glia from multipotent cortical stem cells[J]. Neuron, 1997, 18(1): 81 - 93.
[9] Jiang Yuehua, Jahagirdar Balkrishna N, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow [J]. Nature, 2002, 418(6893): 41 - 49.
[10] 张成. 骨髓干细胞移植在神经疾病中的应用前景[J]. 医学文选, 2003, 22(1): 1 - 3.

(编辑:余汇洋)

关于统计学符号的使用

统计学符号不论用哪种字母，也不论大写或小写一律都用斜体。要注意区分拉丁字母和希腊字母。例如均数的符号是字母 $\bar{x}$，卡方的符号是希腊字母 χ^2，自由度的符号是希腊文"υ"，不是拉丁文"V"。样本的相关系数是英文"r"，不能误为希腊文"γ"。

(本刊编辑部)