

- 4 Cano E, Mahadevan LC. Parallel signal processing among mammalian MAPK[J]. TIBS, 1995, 20(3): 117 - 122
- 5 Claudia N, Ariane N, Serge H, *et al.* Activation of STAT3 by IL - 6 and IL - 10 in primary human macrophages is differentially modulated by suppressor of cytokine signaling[J]. J Immunol, 2003, 170(6): 3263 - 3272
- 6 Wang T, Gorgoglione B, Maehr T, *et al.* Fish suppressors of cytokine signaling(SOCS): gene discovery, modulation of expression and function[J]. J Signal Transduct, 2011: 905813
- 7 Chen XH, Zhu C, Ji CB, *et al.* STEAP4, a gene associated with insulin sensitivity, is regulated by several adipokines in human adipocytes[J]. Int J Mol Med, 2010, 25(3): 361 - 367
- 8 Zhang CM, Chi X, Wang B, *et al.* Downregulation of STEAP4, a highly - expressed TNF - alpha - inducible gene in adipose tissue, is associated with obesity in humans[J]. Acta Pharmacol Sin, 2008, 29(5): 587 - 592
- 9 Tiedje C, Ronkina N, Tehrani M, *et al.* The p38/MK2 - driven exchange between tristetraprolin and HuR regulates AU - rich element - dependent translation[J]. PloS Genet, 2012, 8(9): e1002977
- 10 Pfeiffer JR, Brooks SA. Cullin 4B is recruited to tristetraprolin - containing messenger ribonucleoproteins and regulates TNF - α mRNA polysome loading[J]. J Immunol, 2012, 188(4): 1828 - 1839
- 11 Keamey P, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data[J]. Lancet, 2005, 365(9455): 217 - 223
- 12 Yao XG, Frommlet F, Zhou L, *et al.* The prevalence of hypertension, obesity and dyslipidemia in individuals of over 30 years of age belonging to minorities from the pasure area of Xinjiang [J]. BMC Public Health, 2010, 10: 91
- 13 郭艳英, 李南方, 王昌敏, 等. 新疆维吾尔族人 STEAP4 基因遗传变异的分布及其与代谢综合征的关联[J]. 中华医学遗传学杂志, 2011, 28(1): 78 - 82
- 14 Moore JH, Gilbert JC, Tsai CT, *et al.* A flexible computational framework for detecting, characterizing and interpreting statistical patterns of epistasis in genetic studies of human disease susceptibility[J]. J Theor Biol, 2006, 241(2): 252 - 261
- 15 骆常好, 刘桂芬, 张爱莲. 多因子降维法和 Logistic 回归交互效应分析对比研究[J]. 中国药物与临床, 2008, 8(10): 777 - 779

(收稿日期: 2013 - 08 - 26)

(修回日期: 2013 - 10 - 24)

利福平对兔脂肪干细胞增殖、成骨及黏附支架的影响

梁求真 吐汉·艾买提 宋兴华 蒋岳华 马 艳 毕晓娟 白晶晶 罗 兰

摘 要 **目的** 探讨利福平(rifampicin, RFP)对兔脂肪干细胞(rabbit adipose - derived stem cells, rADSCs)增殖、成骨及黏附支架的影响,为后期 RFP 缓释系统与 rADSCs 的复合奠定实验基础。**方法** 分离培养 rADSCs,检测细胞周期及表面抗原 CD44,成骨、成脂诱导后分别行茜素红及油红 O 染色。用利福平生长液干预 rADSCs,按浓度分为 0、10、20 及 30 μ g/ml 4 组,分别绘制细胞生长曲线、检测细胞凋亡率及碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)含量。制备同种异体脱钙骨支架,并复合各组 rADSCs,计算细胞黏附率,扫描电子显微镜观察复合情况。**结果** rADSCs 呈长梭形生长, G_0/G_1 期占 78.3% $\pm$ 4.2%,表面抗原 CD44 阳性表达。成骨诱导后茜素红染色及成脂诱导后油红 O 染色均为阳性。生长曲线示 30 μ g/ml 组第 4 ~ 11 天增殖能力较其他 3 组弱($P < 0.01$),细胞凋亡示 30 μ g/ml 组凋亡率高于其他 3 组($P < 0.01$),ALP 检测示成骨诱导后第 14 天 30 μ g/ml 组 ALP 含量较其他 3 组少($P < 0.01$),细胞黏附率示 30 μ g/ml 组较其他 3 组低($P < 0.01$)。扫描电镜观察 30 μ g/ml 组黏附的细胞数量少,形态松散。**结论** 不影响 rADSCs 增殖、成骨及黏附支架的 RFP 临界浓度约为 20 μ g/ml。

关键词 骨结核 脂肪干细胞 利福平

[中图分类号] R68 [文献标识码] A

Effects of Rifampicin on the Proliferation, Osteogenic Differentiation and Adhesion to Scaffold of Rabbit Adipose - derived Stem Cells. Liang Qiuzhen, Tuhan · Aimaiti, Song Xinghua, Jiang Yuehua, Ma Yan, Bi Xiaojuan, Bai Jingjing, Luo Lan. The First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Xinjiang 530054, China

Abstract Objective To evaluate the effects of rifampicin (RFP) on the proliferation, osteogenic differentiation and adhesion to scaffold of rabbit adipose - derived stem cells(rADSCs). **Methods** The adipose tissue was obtained from inguinal fat pads of the rabbit,

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81360283)

作者单位:830054 乌鲁木齐,新疆医科大学第一附属医院骨科中心(梁求真、宋兴华、蒋岳华、白晶晶),呼吸科(吐汉·艾买提),临床医学研究院干细胞研究中心(马艳、毕晓娟),药学部(罗兰)

通讯作者:宋兴华,电子信箱:forwin23@163.com

and digested with type I collagenase. The characteristics of rADSCs were certified by the results of cell cycle, anti - CD44 antibody and multipotential differentiation including osteogenic induction and adipogenic induction. The rADSCs were randomly divided into four group according to drug concentration of rifampicin, including group 0 μ g/ml, group 10 μ g/ml, group 20 μ g/ml and group 30 μ g/ml. The cell growth curves, cell apoptosis and alkaline phosphatase (ALP) activity were used for determining the effects of rifampicin on rADSCs. Decalcified allograft bone scaffold were prepared, and the adhesion rate was calculated after inoculation. The appearance of the complex was also observed by scanning electron microscope (SEM). **Results** The rADSCs grew spindle - shaped in vitro, G₀/G₁ cycle was around 78.3% $\pm$ 4.2%. Expression of CD44 was positive. Alizarin red staining demonstrated positive formation of mineralized nods. The results of Oil red O staining was also positive. The results of cell growth curves showed the proliferation in group 30 μ g/ml were lower than that in other groups from day 4 to 11. The cell apoptosis rate was higher in group 30 μ g/ml than that in other groups ($P < 0.01$). The expression of ALP was fewer on day 14 in group 30 μ g/ml than that in other groups ($P < 0.01$). The adhesion rate was lower in group 30 μ g/ml than that in other groups ($P < 0.01$). The appearance of SEM showed that in group 30 μ g/ml the cells were fewer and looser. **Conclusion** The critical concentration of RFP without effects on the proliferation, osteogenic differentiation and adhesion to scaffold of rADSCs was about 20 μ g/ml.

Key words Bone tuberculosis; Adipose - derived stem cells; Rifampicin

骨结核致残率高、愈合慢,是发生率最高的肺外结核,其治疗多采用在全身抗结核药物的控制下行手术治疗。但全身化疗后,病灶骨组织中的药物浓度低,加之术中植骨不能在短期内融合,导致残余病灶极易复发^[1,2]。骨结核病灶清除后,局部应用抗结核药物的价值已经得到肯定,利福平(rifampicin, RFP)作为脂溶性药物,更适宜局部给药。目前关于利福平微球及缓释支架的报道逐渐增多,为其临床应用奠定了基础^[3-6]。兔脂肪干细胞(rabbit adipose - derived stem cells, rADSCs)经体内、外实验证实具有成骨分化潜能,与骨髓干细胞相比来源广泛,含量丰富,更适合应用于临床^[7]。本实验即探讨 RFP 对 rADSCs 增殖、成骨及黏附支架的影响,为后期制备具有“RFP 缓释”和“rADSCs 成骨”双重作用的抗结核性骨组织工程复合体提供实验基础。

材料与方法

1. 材料:4 个月龄健康新西兰大白兔 4 只,雌雄不限,体重平均 2.5kg,由新疆医科大学第一附属医院动物基地提供。酶标仪(Thermo 公司),流式细胞仪(Beckman 公司),共聚焦荧光显微镜(Leica 公司),电镜(日本日立公司),完全生长液[含 10% 胎牛血清(HyClone 公司)的 DMEM 培养基(GIBCO 公司)],I 型胶原酶(Worthington 公司),磷酸盐缓冲液 PBS (HyClone 公司),地塞米松、 β -甘油磷酸钠、胰蛋白酶、L-抗坏血酸、青霉素、链霉素、3-异丁基-1-甲基黄嘌呤、胰岛素、吡哆美辛、茜素红染液、油红 O 染液、碘化丙啶 PI、RNase (Sigma 公司),山羊血清、CCK-8 试剂盒(武汉博士德),抗兔 CD44 抗体(Milipore 公司),FITC 标记山羊抗兔 IgG(北京中杉金桥公司),利福平(浙江天瑞制药公司),细胞凋亡试剂盒(BD 公司),ALP 检测试剂盒(南京建成公司)。

2. rADSCs 分离、传代:3% 戊巴比妥钠麻醉后,取兔双侧腹股沟脂肪,清除小血管及外包膜,用眼科剪剪至糊状,

0.01% 的 I 型胶原酶 37℃ 水浴箱消化 30min,加入 3 倍体积的 PBS 终止消化,2600r/min 离心 10min,弃上清及表层漂浮脂肪,重悬细胞,接种于 10cm 的皿中,体积分数为 5% CO₂,37℃ 饱和湿度培养,48h 后首次换液,以后每 3 天换液 1 次。约 85% ~ 90% 融合时,用 0.25% 胰蛋白酶消化贴壁细胞进行传代。

3. rADSCs 鉴定:(1)检测细胞周期:取 P3 代 rADSCs,消化后收集细胞,调整细胞浓度为 1×10^6 个/管,加入 368 μ l 95% 的乙醇和 132 μ l PBS,4℃ 过夜,第 2 天加入 RNase 置 37℃ 水浴 30min,之后加 400 μ l PI,4℃ 避光孵育 1h,流式细胞仪检测。(2)鉴定细胞表面抗原:取 P3 代 rADSCs,培养细胞爬片,固定后用 5% 羊血清封闭 30min,加入 CD 44 一抗(1:200),4℃ 湿盒孵育过夜,第 2 天加入 FITC 标记的羊抗兔二抗(1:100),37℃ 孵育 45min,再加入 PI 衬染核 5min,荧光共聚焦显微镜下观察。(3)分化诱导:以 3×10^4 /cm² 的密度接种 P3 代 rADSCs 于 6 孔板中,至细胞汇合达 60% ~ 80% 时加入, A. 成骨诱导液:含 50 μ mol/L 抗坏血酸、10mmol/L β -磷酸甘油钠及 0.1 μ mol/L 地塞米松,诱导 21 天后茜素红染液室温染色 5min 镜检; B. 成脂诱导:含 0.5mmol/L 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤,1 μ mol/L 地塞米松,10 μ mol/L 胰岛素及 200 μ mol/L 吡哆美辛,诱导 14 天后,油红 O 染液室温染色 15min 镜检。

4. 利福平对 rADSCs 增殖活性的影响:配置不同浓度的利福平生液,分为 0 μ g/ml(对照)、10 μ g/ml(低浓度)、20 μ g/ml(中浓度)及 30 μ g/ml(高浓度)4 组,分别进行以下实验。(1)绘制细胞生长曲线:取 P3 代 rADSCs 按细胞数 1000 个/孔接种于 96 孔板,24h 后更换为含利福平的完全生长液,分 11 天检测,每组每天取 6 孔加入 CCK-8 溶液 10 μ l,37℃ 孵育 4h,酶标仪振荡 10min 后于 490nm 波长处测定吸光值,绘制生长曲线。(2)检测细胞凋亡:取 P3 代 rADSCs 按 4×10^4 /ml 接种于 10cm 培养皿中,24h 后更换为含利福平的完全生长液,培养 72h 后,用不含 EDTA 的胰蛋白酶消化细胞,收集于 EP 管中(约含 5×10^5 个/管),每管加入 300 μ l 的 Binding Buffer 及 5 μ l Annexin V - FITC 混匀后,再加入 5 μ l PI 混匀,室

温避光孵育 15min 后立即进行流式定量检测。

5. 利福平对 rADSCs 成骨活性的影响:配置不同浓度的利福平生长液,按前述方法分为对照组、低浓度组、中浓度组及高浓度组。取 P3 代 rADSCs 以 3500/孔接种于 96 孔板,24h 后更换为含利福平的成骨诱导液。分别于成骨诱导后第 3、7、14 天收集细胞,一式 6 份,按 ALP 试剂盒说明进行检测,ALP 含量以金氏单位/100ml 表示。

6. 利福平对 rADSCs 黏附支架的影响:(1)制备同种异体脱钙骨支架:取兔双侧肋骨,立即压力蒸馏水冲洗 30min。0.5% 盐酸中脱钙 15min 左右,至其不再坚硬、弹性良好为止。去除一侧皮质,修剪成大小约 5mm × 5mm × 3mm。使用前经 ⁶⁰Co-γ 射线辐照灭菌,完全生长液平衡 24h。(2)rADSCs-骨支架的复合:取前述 4 组细胞,经消化后,调整细胞浓度为 5 × 10⁶/ml,各取 100μl 的细胞悬液滴加到材料上,置于培养箱中复合培养 4h 后,移入另一平皿,沿皿壁缓慢加入完全生长液,将原平皿中细胞消化、计数,得出流失细胞数。(3)计算细胞黏附率:rADSCs-骨支架复合培养 24h 后,在培养液中轻轻晃动,换于另一平皿,将原平皿中细胞消化收集、计数,得出未黏附细胞数。黏附率(%) = (接种细胞数 - 流失细胞数 - 未黏附细胞数) / (接种细胞数 - 流失细胞数) × 100%。(4)扫描电子显微镜观察:4 组复合物培养 5 天后,常规固定、脱水、喷金,观察 rADSCs 在骨支架上的黏附及生长。

7. 统计学方法:计数资料均以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各时间点组间比较,方差齐时采用单向方差分析,组间差异有统计学意义时,进行 LSD 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。数据统计应用 SPSS 18.0 统计软件完成。

结 果

1. rADSCs 的生长特性及鉴定:(1)生长特性:原代 rADSCs 培养 5 ~ 7 天后可达到 80% ~ 90% 融合。传代后平均 3 天达到 90% ~ 100% 融合,细胞呈旋涡状排列。(2)细胞周期: G_0/G_1 期占 78.3% ± 4.2%。(3)细胞表面抗原:免疫荧光细胞化学染色示 CD44 阳性表达,胞质特异性绿染。细胞核被 PI 染为红色(图 1)。(4)分化诱导:A. 成骨诱导 21 天后,可见钙结节产生,茜素红染色示其着深红色(图 2);B. 成脂诱导第 14 天油红 O 染色示胞质中红染的脂质滴(图 3)。

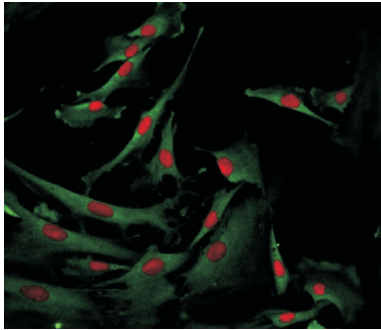


图 1 P3 代 rADSCs CD44 免疫荧光染色(×200)

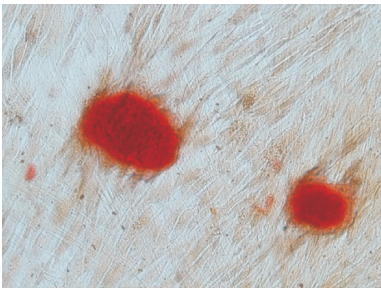


图 2 P3 代 rADSCs 成骨诱导第 21 天茜素红染色(×200)

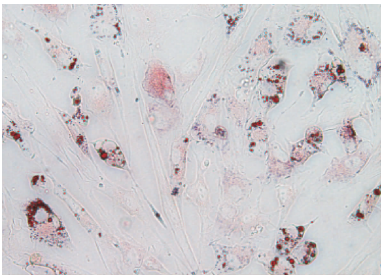


图 3 P3 代 rADSCs 成脂诱导第 14 天油红 O 染色(×100)

2. 利福平对 rADSCs 增殖活性的影响:(1)细胞生长曲线:CCK-8 检测示 4 组细胞的生长曲线均呈“S”形,但 30μg/ml 组第 4 ~ 11 天的增殖能力较其他 3 组弱,差异有统计学意义($P < 0.01$,图 4)。(2)细胞凋亡:流式细胞仪检测示 30μg/ml 组的早期、晚期和总凋亡率均高于其他 3 组,差异有统计学意义($P < 0.01$,表 1)。

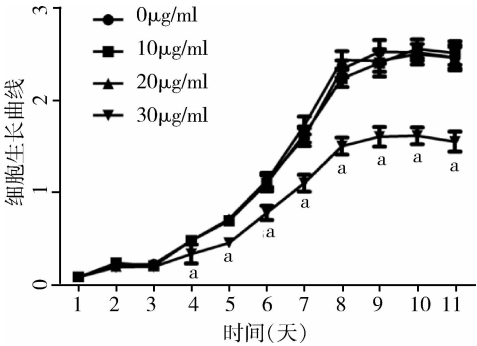


图 4 经不同浓度利福平干预后的细胞生长曲线
与其他 3 组比较,^a $P < 0.01$

表 1 不同浓度利福平干预后的细胞凋亡分析($n = 3, \% , \bar{x} \pm s$)

组别	构成百分比		
	早期凋亡率	晚期凋亡率	总凋亡率
0μg/ml	1.87 ± 0.31	2.03 ± 0.21	3.90 ± 0.50
10μg/ml	1.86 ± 0.21	2.03 ± 0.38	3.89 ± 0.46
20μg/ml	2.00 ± 0.30	2.23 ± 0.29	4.23 ± 0.57
30μg/ml	11.13 ± 0.71 ^a	4.07 ± 0.42 ^a	15.20 ± 1.01 ^a

与其他 3 组比较,^a $P < 0.01$

3. 利福平对 rADSCs 成骨活性的影响: 酶标仪检测 4 组中 ALP 的含量随诱导时间的延长逐渐上升, 第 14 天 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 组的 ALP 含量较其他 3 组低, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 图 5)。

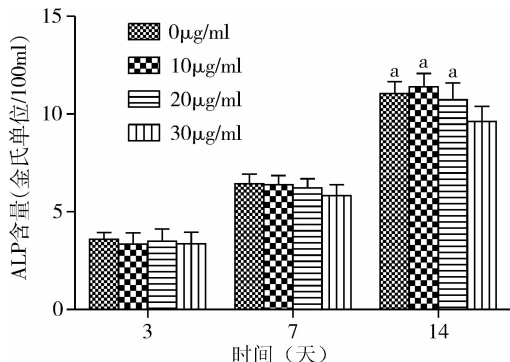


图 5 经不同浓度利福平干预后的 ALP 表达

与同时间 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 组比较, ^a $P < 0.01$

4. 利福平对 rADSCs 黏附支架的影响: (1) 细胞黏附率: 4 组细胞黏附率均在 80% 以上, 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 组细胞黏附率较其他 3 组低, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 表 2)。(2) 扫描电子显微镜观察: rADSCs 与支架复合培养第 5 天, 0、10 及 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 组可见 rADSCs 呈梭形伸展、相互融合成膜状, 紧密覆盖在骨支架的表面 (图 6), 而 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 组可见 rADSCs 形态不均一、排列紊乱, 与骨支架黏附较松散 (图 7)。

表 2 不同浓度利福平干预后的细胞黏附率 ($n = 3$, %, $\bar{x} \pm s$)

检测指标	0 $\mu\text{g}/\text{ml}$	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	20 $\mu\text{g}/\text{ml}$	30 $\mu\text{g}/\text{ml}$
细胞黏附率	93.87 $\pm$ 1.31 ^a	94.03 $\pm$ 1.21 ^a	93.20 $\pm$ 1.17 ^a	85.21 $\pm$ 1.90

与 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 组比较, ^a $P < 0.01$

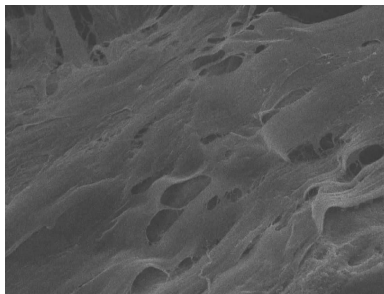


图 6 rADSCs - 骨支架复合 (对照组) 第 5 天

(扫描电镜 15kV, $\times 1000$)

讨 论

骨结核清创术后, 病灶部位血供差, 瘢痕形成严重, 故即使全身应用大剂量抗结核药物, 病灶区域也很难达到有效杀菌浓度, 加之术中植骨不能在短期内

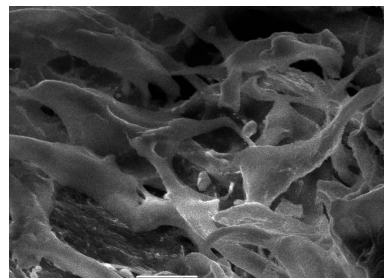


图 7 rADSCs - 骨支架复合 (高浓度组) 第 5 天

(扫描电镜 15kV, $\times 1000$)

融合, 致使残余病灶极易复发^[1,2]。如何提高骨结核清创术后的植骨融合率, 同时在植骨局部维持有效的抗结核药物浓度预防复发, 是临床中迫切需要解决的问题。

目前, 骨结核术中局部应用抗结核药物的价值已经得到肯定, 用药形式多为链霉素或异烟肼直接局部给药或明胶海绵吸附后应用^[3]。但这些药物水溶性好, 术中植入很快会被溶解、吸收, 难以在局部维持有效的抗结核药物浓度。RFP 是治疗结核病的重要药物, 为半合成广谱杀菌剂, 脂溶性良好, 更适宜局部应用^[4]。目前, 以 RFP 为原料药制作抗结核性缓释剂的报道逐渐增多, 叶向阳等^[5]制作利福平聚乳酸缓释微球具有缓慢释放药物的性质。鲍玉成等^[6]将利福平制成微米球, 并将其加工成双药物缓释载体, 通过家兔体内实验证实该载体能够长时间保持周围组织中的药物浓度, 弥补血药浓度的不足。上述实验目的均在于提高植骨局部的抗结核作用, 但并不能加快植骨融合的速率。

随着干细胞理论和技术的发展与成熟, 应用干细胞构建组织工程骨加快骨缺损的修复已成为国内外学者广泛认同的发展方向, 其中种子细胞的选择是组织工程骨的前体和关键^[7]。以往认为骨髓基质干细胞为组织工程骨首选的种子细胞, 但其来源于骨髓, 由于成人骨髓量有限, 抽取时创伤大, 故其应用受到一定的限制。而脂肪干细胞与骨髓干细胞相比, 来源广泛、含量丰富、对供体损伤小, 拥有多向分化潜能和较强的体外扩增能力, 已成为骨组织工程的重要种子细胞, 更适合应用于临床^[8]。本实验所分离、培养的脂肪干细胞来源于兔, 并通过诱导证明了其可向骨、脂肪分化, 且基于前期实验基础, 方便在后期研究中进行清创、植骨等基本手术操作^[9]。

目前尚未见抗结核药物与脂肪干细胞复合的报道。Hou 等^[10]利用纤维蛋白凝胶作为黏附剂将山羊

骨髓间充质干细胞与万古霉素藻酸钙微珠复合,期望其解决开放性骨折复位后的骨缺损和感染问题,该复合思路同样可应用于结核术后的植骨材料。在构建具有“RFP 缓释”和“rADSCs 成骨”的复合体之前,必须首先研究不同浓度的 RFP 对 rADSCs 的影响。本实验分别从细胞凋亡、增殖、成骨及黏附支架等方面探讨 RFP 对细胞的毒性作用。结果表明高浓度的 RFP(30 μ g/ml)可促进细胞凋亡,尤其促进早期凋亡。细胞生长曲线也证实经高浓度 RFP 干预后,rADSCs 在后期的增殖能力明显下降。ALP 检测发现高浓度 RFP 对 rADSCs 成骨的影响不及增殖的影响大,其原因可能为成骨诱导液中加入的地塞米松本身即可抑制细胞增殖有关。黏附率计算及扫描电镜观察结果提示 rADSCs 与同种异体脱钙骨支架具有良好的相容性,但高浓度的 RFP 也可影响 rADSCs 与支架的复合。因此,最终确定的不影响 rADSCs 增殖、成骨及黏附能力的临界浓度约为 20 μ g/ml,而 RFP 最低抑菌浓度(MIC)为 0.005 ~ 0.5 μ g/ml,最低杀菌浓度(MBC)为 MIC 的 10 倍^[2]。由此可见本实验得出的临界浓度高于 MBC,可有效杀灭结核杆菌。这一结论可为构建具有 RFP 缓释和 rADSCs 成骨双重作用的抗结核性骨组织工程复合体提供实验基础。

参考文献

- 1 Soares do Brito J, Batista N, Tirado A, *et al.* Surgical treatment of spinal tuberculosis: an orthopedic service experience[J]. *Acta Med*

- Port, 2013, 26(4): 349 - 356
 - 2 戈朝晖,王自立,魏敏吉. 利福平在脊柱结核患者不同组织分布的实验研究[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2004,14(12): 741 - 744
 - 3 刘江涛,王永清,夏侃,等. 异烟肼聚乳酸缓释体的制备及体内外释药特性[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2008, 18(4): 290 - 293
 - 4 Patel BK, Parikh RH, Aboti PS. Development of oral sustained release rifampicin loaded chitosan nanoparticles by design of experiment [J]. *J Drug Deliv*, 2013,37(4):938 - 941
 - 5 叶向阳,孙湘,贾会文,等. 利福平/聚乳酸-聚羟基乙酸缓释微球的制备及特性[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15: 9608 - 9612
 - 6 鲍玉成,张文龙,王勇. 缓释双药物载体制备与性能[J]. *中国组织工程研究*, 2013,17(29):5345 - 5350
 - 7 Liu G, Zhang Y, Liu B, *et al.* Bone regeneration in a canine cranial model using allogeneic adipose derived stem cells and coral scaffold [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(11):2655 - 2664
 - 8 Strioga M, Viswanathan S, Darinskas A, *et al.* Same or not the same? Comparison of adipose tissue - derived versus bone marrow - derived mesenchymal stem and stromal cells[J]. *Stem Cells Dev*, 2012, 21: 2724 - 2752
 - 9 刘正文,呼西旦,付明花,等. 免脊柱结核模型的构建[J]. *中华实验外科杂志*, 2012, 29:758 - 761
 - 10 Hou T, Xu J, Li Q, *et al.* In Vitro Evaluation of a Fibrin Gel Antibiotic Delivery System Containing Mesenchymal Stem Cells and Vancomycin Alginate Beads for Treating Bone Infections and Facilitating Bone Formation[J]. *Tissue Eng Part A*, 2008, 14:1173 - 1182
- (收稿日期:2013 - 10 - 18)
(修回日期:2013 - 10 - 21)

系统性红斑狼疮合并自身免疫性血小板减少血清学研究

任传永 徐 亮 陆进明 李 志 宣 丹 盛 君 毛桐俊

摘 要 **目的** 探讨与免疫性血小板减少有关的特异性自身抗体:抗 CD40 配体(CD40L)抗体、抗血小板生成素(TPO)抗体、抗血小板膜糖蛋白(GPⅡb/Ⅲa)抗体、抗血小板生成素受体(C-mpl)抗体在系统性红斑狼疮(SLE)合并血小板减少患者血清中分布及其作用。**方法** 收集 SLE 合并自身免疫性血小板减少、SLE 血小板正常各 60 例,酶联免疫吸附法(ELISA)测定该 4 种抗体,比较各组之间各抗体水平及抗体的阳性率是否存在统计学差异,SLE 合并血小板减少患者骨髓细胞学涂片检查常规进行。**结果** 4 种抗体的浓度与血小板数目存在不同程度负相关,血小板减少组抗体的阳性率高于血小板正常组 SLE 合并血小板减少患者中至少能够检测出其中一种抗体阳性的占 73%,同时检测出该 4 种抗体约为 13%。4 种抗体同时阳性或阴性的血小板减少患者临床表现及实验室指标比较存在统计学差异。**结论** 抗 CD40L 抗体、抗 C-mpl 抗体、抗血小板膜糖蛋白 GPⅡb/Ⅲa 抗体、TPO 抗体介导的自身免疫性血小板减少可能是 SLE 合并血小板减少的发病机制之一,尚有其他因素参与了 SLE 合并血小板减少的发病过程。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30571740)

作者单位:314500 浙江省桐乡市第一人民医院(任传永);241001 皖南医学院附属弋矶山医院(徐亮、陆进明、李志、宣丹、盛君、毛桐俊)

通讯作者:徐亮,电子信箱:xuliang_57@sohu.com