

· 综述 ·

羊膜组织细胞在再生医学领域的研究与应用*

舒 峻¹ 张 岚¹ 蔡 哲^{1,2}

在机体损伤和疾病康复过程中,受损组织和器官的修复与重建一直是生物学和临床医学面临的重大难题。据报道全世界每年约有上千万人遭受各种形式的创伤,有数百万人因疾病康复过程重要器官发生纤维化而导致功能丧失。一直以来对于只采用药物疗法而不能得以恢复的严重损伤,不得不依靠人工脏器或脏器移植来解决。然而器官移植尽管有其巨大的治疗作用,但它仍然是一种有损伤和有代价的治疗方法,而且由于受到伦理以及机体免疫排斥等方面的限制很难满足临床救治的需要。因此,借助于现代科学技术的发展,如何使受损的组织器官再生或在体外复制出所需要的组织或器官进行替代性治疗便成为生物学、基础医学和临床医学关注的焦点。随着医学分子生物学、细胞学以及材料学等的迅猛发展,组织或脏器的再生机制已经明了,细胞增殖因子已能很容易地获得,因此,再生医学的确立已成为可能。再生医学不仅具有重要的科学研究价值,而且还有巨大的应用前景。

1 再生医学概述

所谓再生医学是以利用人类的自然治愈能力,使受到巨大创伤的机体组织或器官获得自己再生能力为目的的医学。再生医学包括组织工程、细胞和细胞因子治疗、基因治疗、微生态治疗等,其中组织工程是再生医学的核心部分。20世纪80年代,Langer和Vacanti提出利用工程学和生命科学的原理和技术,在体外预先构建一个有生命的种植体或体外装置,用于修复组织缺损,替代器官的部分或全部功能,具有极为重要的科学意义。由于利用组织工程学技术能制造出含有特定活性的细胞群落,将后者直接移植或者播种于可降解材料上,除有良好的生物相容性外,同时还具有生长潜力,所以此项技术在临床上具有广泛的应用前景。

再生医学研究的核心问题在于,移植细胞源(种子细胞)的筛选和培养,移植材料和移植途径的选择以及一系列与其相关的试验学方法。目前在再生医学领域研究得最多的是干细胞,然而干细胞涉及的伦理道德还缺乏相应的规范,临床应用尚需时日。近年来研究发现羊膜组织细胞具有干细胞样特性,理论上可以分化成各种组织细胞,且容易获得,而又不引起任何伦理争议。它的这些优势使其作为干细胞的替代物而引起众多科学家的注意。

2 羊膜组织细胞的生物学特性

人羊膜是来源于胎儿的胚胎早期产物,厚约0.02—0.05mm,透明、有韧性,无血管、神经和淋巴管,由羊膜上皮、基底膜和基质组成,其抗原性极低。研究表明羊膜上皮细胞HLA-DR表达缺失,不表达HLA-A、B、C,提示羊膜上皮细胞移植不引发免疫排斥^[1]。侯光辉等^[2]观察了羊膜组织对人外周血T细胞活化的影响,发现羊膜组织不能刺激人外周血T细

胞活化及CD8⁺T细胞亚群表面分子CD69产生活化表达,从免疫细胞生物学水平证实了羊膜组织的低免疫源性。有学者对人羊膜来源间质干细胞应用流式细胞检测显示:CD29、CD44、HLA-ABC阳性表达,CD34、CD45、HLA-DR阴性表达^[3]。

羊膜被认为是适于上皮生长的天然培养基。羊膜能产生各种生长因子如表皮细胞生长因子(EGF)、转移生长因子 β (TGF- β)、肝细胞生长因子(HGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)及白细胞介素-10(IL-10)。这些细胞因子可能通过单独或网状途径加速嗜中性粒细胞的程序性死亡,然后影响胶原酶的产生及其相关功能,从而减轻炎症。此外,在体外实验中发现培养羊膜上皮细胞上清液可以明显抑制嗜中性粒细胞和巨噬细胞的化学趋向性,明显减少由分裂源刺激的T、B细胞增殖,提示羊膜上皮细胞可能通过分泌一种可溶性因子抑制先天免疫和获得性免疫^[4-5]。羊膜还能抑制纤维化和新生血管形成,羊膜中不但含有抗新生血管化蛋白,而且其无血管的基质可以减少血管化的肉芽组织^[6]。

Ilancheran S等^[7]发现人羊膜上皮细胞(hAECs)表达人类胚胎干细胞的相关蛋白,包括:POU区域、class5、转录因子1、Nanog同源异形盒、SRY-box 2和SSEA-4。通过对细胞表型、mRNA表达、免疫细胞化学和超微结构进行分析,hAECs在体外可以诱导分化为心肌、肌肉、骨、脂肪、胰腺、肝细胞、神经元和星形胶质细胞。

近年来的研究表明,羊膜上皮细胞中存在有神经元前体细胞或干细胞,有合成释放生物活性物质和神经营养因子的功能。Akiva^[8]报道来源于鼠羊膜的细胞表达CD29和CD90但是不表达CD45和CD11b。在培养基内的羊膜细胞处于多分化状态,表达神经外胚层、中胚层和内胚层的标志蛋白,在神经诱导培养基中培养的羊膜细胞表现为神经细胞的形态并且神经特异性基因表达上调。培养的羊膜上皮细胞合成和释放活化素(Activin)和头蛋白(Noggin)。研究表明,由Activin A可以诱导初始反应基因(primary response gene)Noggin mRNA的表达,提示羊膜上皮细胞内存在Activin信号路径,人类羊膜组织中有可能包含有早期发育的神经元^[9]。Sakuragawa等^[10]对人类和哺乳类动物的羊膜细胞生物学特性进行深入研究后发现,培养人羊膜上皮细胞中有RC1、Vimentin、A2B5、NFP、MAP2、GFAP等免疫组织化学染色阳性细胞,提示羊膜上皮细胞中存在多潜能神经元、星形胶质

* 基金项目:北京市自然科学基金重点项目(5041002);北京市科委重大研究课题(D07050701350704)

1 中日友好医院临床医学研究所免疫室,北京,100029

2 通讯作者

作者简介:舒峻,男,助理研究员,硕士

收稿日期:2008-08-19

细胞和少突胶质细胞的前体细胞。而后又在组织学、蛋白质和 mRNA 水平证实了少突胶质细胞特异性标记物髓磷脂碱性蛋白 (myelin basic protein, MBP)、环核苷酸磷酸二脂酶 CNPase、蛋白脂质蛋白 (proteolipid protein, PLP) 的表达。国内蔡哲研究小组发现人羊膜组织中存在 Nestin/GFAP 双阳性细胞, 此外, 还表达 Musashi-1、波形蛋白 (Vimentin) 和多唾液酸神经细胞粘附分子 (polysialic acid neural cell adhesion molecule, PSA-NCAM) 等神经干细胞特异性标志蛋白; 培养羊膜细胞中存在 Vimentin 和 PSA-NCAM 阳性细胞, 以及 Nestin/GFAP 双阳性细胞^[11]。另外有人从羊膜组织成功培养出的细胞, 传代后在神经干细胞培养基中可以形成类似神经干细胞的球状结构。细胞表达 Vimentin 和 Nestin 两种神经干细胞的标志物, 也表达神经元的标志物 NSE 和 β -微血管蛋白 (β -tubulin); 大部分细胞表达多巴胺能神经元的标志物 TH, 少数细胞表达星型胶质细胞的标志物 GFAP^[12]。

3 羊膜组织细胞的临床应用

3.1 完整羊膜组织的应用研究

羊膜组织因其独特的结构在重建健康眼表、防止角膜结膜化、血管化、感染及睑球粘连等方面具有独特的作用, 目前已广泛应用于眼科临床。

3.1.1 重建眼表: 结膜损伤是常见的眼表疾病。以往大多采用口唇黏膜作为结膜替代物, 取材繁琐, 术后外观欠佳, 给患者增加了一定的痛苦。而采用羊膜替代结膜重建眼表, 手术程序相对简单, 残存的结膜细胞能很快在羊膜上爬行生长, 术后外观及功能均较为满意。羊膜自身的一些特点决定了它比较适用于眼表重建^[13-14]。

3.1.2 睑球粘连: 睑球粘连见于各种原因引起的大面积结膜损害, 如化学烧伤、热灼伤、机械性损伤、重型渗出性多形性红斑综合征 (Stevens-Johnson syndrome)、复发性赘肉等。Solomon 等^[15]将羊膜移植用于睑球粘连 17 只眼的结膜穹隆重建, 有 12 只眼获得了成功, 睑球粘连完全解除, 2 只眼获得部分穹隆重建, 睑球粘连得到改善, 3 只眼睑球粘连复发。由此认为, 羊膜移植是解决睑球粘连的有效方法。

3.1.3 角膜溃疡: 对于顽固性、药物治疗无效的上皮细胞缺失的患者, 羊膜移植提供了一种可选择的新方法。无论是单层羊膜覆盖浅的溃疡还是多层羊膜移植治疗较深的溃疡, 都取得了比较满意的临床疗效, 大多数患者获得了有效的术后视力, 相比较于角膜移植其优势明显。同时, 手术后羊膜凭借较好的透明性可以使患者获得较好的远视力。

3.1.4 视网膜移植: Yoshita 等^[16]使用分散酶处理过的羊膜为基底膜培养人视网膜色素上皮 (RPE) 细胞获得成功。用这种方法培养的 RPE 细胞的 RPE65、酪氨酸相关蛋白-2 等的基因表达上调。此外, 血管内皮生长因子、色素上皮衍生因子明显增高。这项研究初步表明羊膜作为培养 RPE 细胞的基质可能有利于 RPE 细胞的分化及上皮表型表达。并且这项研究使羊膜在眼科的应用有了新的发展方向, 为视网膜移植提供了新的研究方向与发展空间。

3.1.5 硬脊膜损伤: 朱勋兵等^[17]对 60 只中国白兔行 L5 水平椎板切除术, 分别在硬膜外覆盖羊膜、几丁糖膜, 空白对照组

不做任何覆盖。空白对照组暴露的硬膜发生广泛粘连, 硬膜外腔几乎消失; 羊膜组和几丁糖膜组硬膜外瘢痕稀少, 硬膜表面光滑, 硬膜外形形成潜在腔隙, 维持了硬膜外的有效空间。不同时间段三组间粘连度评价以羊膜组最低, 几丁糖膜组次之, 空白组最高, 差异均有显著性 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。在硬膜和骶棘肌间放置合适的材料可预防硬膜外粘连, 羊膜能预防硬膜外瘢痕向椎管内延伸。

3.1.6 糖尿病难愈性皮肤溃疡: 有学者选择 120 例糖尿病难愈性创面观察羊膜在组织修复中的作用, 观察组创面应用人胎羊膜覆盖治疗, 对照组采用常规治疗, 分别于第 3、7、14 天观察创面上皮爬行后的面积及肉芽成熟程度。在治疗第 7、14 天时, 观察组上皮爬行速度及肉芽组织生长均明显优于对照组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)^[18], 说明羊膜组织在促进创面修复中有积极的作用。

3.1.7 烧伤: 羊膜是生物敷料中较重要的一类, 外层为疏松结缔组织, 内层为上皮细胞组织, 无血管、无神经、无淋巴的半透明薄膜, 含胶原、糖蛋白、蛋白多糖等多种成分, 并表达多种生长因子 mRNA 及相关蛋白, 有利于细胞的生长繁殖, 是细胞的良好载体。有研究者采用自体对照, 比较牛羊膜和作为对照的凡士林油纱敷料在烧伤创面的临床应用效果, 羊膜组材料换药时患者疼痛轻微, 对照组较明显。羊膜组创面愈合时间在各类创面中均低于对照组, 差异有显著性意义, 并且创面感染率在深 II 度和残余创面也明显低于对照组, 差异有显著性意义, 说明牛羊膜可以促进烧伤创面愈合, 降低创面感染率^[19]。

此外, 人羊膜还被应用于骨科疾病, 如人胚半月板纤维软骨细胞扩增后与羊膜进行复合培养, 发现纤维软骨细胞于羊膜上牢固黏附, 3d 开始增殖, 2 周时已有大量细胞生长于羊膜上, 说明羊膜可作为半月板组织工程细胞支架材料^[20]。

以羊膜作为移植物用于 5 例完全性阴道和宫颈发育不良的女性的宫颈和阴道成形术中, 实验结果也显示在所有病例中上皮形成良好, 且宫颈及阴道重建成功。提示羊膜能作为一种同种异体移植物用于宫颈再造术^[21]效果良好。此外, 还有对 6 例先天性无阴道患者进行羊膜移植阴道成形术的报道^[22]。

3.2 羊膜上皮细胞的应用研究

研究表明, 人羊膜上皮细胞 (HAECs) 可分泌多种神经营养因子, 促进神经元的存活及其轴突生长^[23]。人羊膜上皮细胞可表达脑源性神经营养因子 (BDNF)、神经营养因子-3 (NT-3) mRNA, 在体外能改善无血清培养基中 TH 阳性多巴胺 (DA) 能神经元的存活, 并且使 DA 能神经元在遭受 6-羟基多巴胺毒性作用时保持形态完整^[24-25]。因此, 羊膜上皮细胞在神经系统疾病中的应用有着极为重要的意义。

3.2.1 缺血性脑损伤: LU 等^[26]将人羊膜细胞移植到 SD 大鼠脑损伤模型的脑内, 发现人羊膜细胞可以在脑内存活至移植后 4 周, 并且能表达神经元特异性抗原 MAP2, 移植组动物后肢功能较对照组明显改善, 提示人羊膜细胞移植治疗能有效改善神经功能。Okawa 等^[27]发现培养的羊膜上皮细胞中存在有神经元和神经干细胞表面标记 Nestin、MAP2 的阳性细胞, 同时表达 Nestin mRNA。纯化后的神经元干细胞脑缺血模型

的脑内细胞移植实验发现,移植细胞可以迁移到缺血部位,并显示了选择性神经元死亡与存活,与脑缺血部位相应的神经元成活。国内孟晓婷等^[20]用大鼠羊膜上皮细胞研究发现羊膜上皮细胞与神经干细胞具有一定的同源性。羊膜上皮细胞能促进体外培养的神经干细胞的分化,且主要向神经元分化,并促进神经元初级突起的生长。提示羊膜上皮细胞为神经干细胞提供促进其分化及存活适宜的微环境。

3.2.2 脊髓损伤: Sankar 等^[20]利用体外培养标记的人羊膜上皮细胞移植治疗猴脊髓损伤,通过 15—60d 观察,发现移植部位有成活的人羊膜上皮细胞存在,并且宿主脊髓中有与羊膜上皮细胞同样标记物的神经元和轴突,提示羊膜上皮细胞具有修复神经系统损伤的作用。恒河猴脊髓半切损伤模型,同时移植人羊膜上皮细胞或转染了 BDNF 的羊膜上皮细胞,于损伤后 80d 观察实验动物的行为学变化,并行组织学检查。结果发现治疗组脊髓损伤侧后肢运动功能恢复明显优于对照组。治疗组移植体内可见 AchE、TH 阳性神经纤维和 GFAP 阳性的神经胶质细胞,移植体内有荧光金染色^[30]。还有人将人羊膜细胞移植入脊髓损伤大鼠模型体内,采用 Basso、Beatlie、Bresnahan (BBB) 运动功能评分并将组织取材进行形态学观察,发现移植组从术后第 2 周开始后肢功能迅速恢复,到第 4 周达平台期,对照组也是从术后第 2 周开始恢复,但是从第 3 周开始基本停止。观察结束时移植组 BBB 评分明显好于对照组。在移植后第 2 周和 8 周都能见到羊膜细胞,但是随着时间延长细胞数量逐渐减少。其原因可能是:羊膜细胞最大限度的保存了神经元,使得神经环路的完整性强于非移植组;促进中间神经元的发育、再生,建立上下环路部分联系;羊膜细胞提供的营养因子促进了脊根神经节的发育,增强了本体感觉环路所介导的反射形成^[31]。

3.2.3 帕金森病(PD): PD 是常见于老年人,是一种神经退行性病变,以脑的苍白球及黑质的多巴胺(DA)进行性减少为特征,目前尚缺乏有效的治疗措施。近年来 Kakishita 等^[32]的研究表明,羊膜细胞能够合成并产生 DA,分子水平研究证实羊膜上皮细胞有酪氨酸羟化酶(TH)的 mRNA 和蛋白质表达,在培养羊膜上皮细胞中,约 10% 的细胞酪氨酸羟化酶免疫组织化学染色阳性。酪氨酸羟化酶阳性细胞体内移植治疗大鼠帕金森病模型的实验表明,其不仅可以缓解帕金森病的临床症状,而且脑内移植细胞可以存活并具有产生 DA 的功能。国内刘斌等^[33]对羊膜细胞移植对帕金森病鼠纹状体中多巴胺神经元的促再生作用进行了研究,发现在接受移植的大鼠脑内的植入靶点周围出现了原位的酪氨酸羟化酶阳性纤维,同时模型鼠的旋转行为明显减少。目前已知羊膜细胞可以分泌神经生长因子(NGF)、上皮生长因子(EGF)和胰岛素样生长因子(IGF),但在上述实验中,是活羊膜细胞诱导了宿主脑内神经干细胞的增殖和分化还是羊膜细胞中的干细胞本身分化为神经细胞,目前尚不清楚。谢慧芳等^[34]用人羊膜上皮细胞移植治疗帕金森病大鼠时发现,治疗组 PD 大鼠的旋转行为改善明显达 14 周,BDNF 基因修饰的 hAECs 组能使恢复时间提前。免疫组织化学方法发现移植细胞在 14 周后仍有少量存活且部分表达 BDNF、酪氨酸羟化酶,纹状体内星形胶质细胞增生。实验结果说明 hAECs 和 BDNF 基因修饰的 hAECs 移

植对 PD 模型大鼠的行为有一定改善,hAECs 可以作为一种治疗 PD 的供体细胞。还有人将人羊膜细胞移植入 MPTP 所致的大鼠 PD 模型脑内纹状体,检测 MPTP 对黑质内细胞的毒性、移植细胞的存活情况和内源性神经细胞再生,以及纹状体内 BDNF 和 GDNF 水平。结果显示人羊膜细胞表达神经前体细胞的标志并且能分化成神经细胞、DA 能神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞,TH 阳性神经细胞在对照组的黑质内明显减少,在移植治疗组明显增加,免疫组化显示移植的细胞在 PD 大鼠脑内存活,侧脑室下区的 BrdU 阳性细胞和纹状体内的神经营养因子水平明显增加^[35]。

3.2.4 黏多糖病: 黏多糖病 VII 型是溶酶体储积病的一种,是由于降解葡萄糖胺聚糖的 β -葡萄糖苷酸酶缺乏所致,传统的酶替代疗法、骨髓移植等不能改善患儿的中枢神经系统症状。Nakama 等^[36]用封装的转基因人羊膜上皮细胞移植治疗黏多糖病 VII 型,发现在移植后 7dC3H 粘多糖病 VII 型模型鼠脑内的 β -葡萄糖苷酸酶增加,说明人羊膜上皮细胞可以有效地用于黏多糖病 VII 型的治疗。

3.3 羊膜间质细胞的应用研究

3.3.1 外周神经损伤: 国外有学者报道应用羊膜来源间充质干细胞移植治疗 SD 大鼠坐骨神经损伤,步态分析结果显示移植治疗组明显优于对照组,移植治疗组的肌肉复合动作电位的波幅百分比为 43%,对照组为 29%,动作电位传导潜伏期分别为 1.7ms 和 2.5ms,表明移植组治疗效果优于对照组^[37]。

3.3.2 心脏疾病: 有研究发现人羊膜间质细胞(hAMCs)表达心肌特异性转录因子 GATA4,心肌特异性基因如 MLC-2a、MLC-2v、cTnI、cTnT 和一过性外向性钾离子通道 Kv4.3,经 bFGF 或苯丙酸诺龙 A 刺激后,hAMCs 表达心肌细胞特异性标记 Nkx2.5 和心房利钠肽以及 α 肌球蛋白重链。将 hAMCs 移植入心肌梗死的鼠心脏后,hAMCs 在瘢痕组织中存活至少 2 个月并且能分化成心肌细胞^[38]。

此外羊膜间质细胞用于骨及关节缺损等治疗的研究也正在进行之中。

4 展望

羊膜是一种易得的生物材料,也易于加工、处理、保存和运输,并且在贮存相当长的时间后其适用性仍然不会受到损害。同时,羊膜也是一种理想的生物修复材料,具有支持上皮细胞生长、延长其生命、维持其克隆的作用。羊膜上皮细胞和间质细胞的分离纯化技术日渐成熟,为今后大规模的应用奠定了基础。更为重要的是,羊膜来源丰富、取材方便、易于分离,羊膜组织在胎儿娩出后即完成使命,成为“废弃物”,对其研究不会涉及伦理道德问题。它的这些独特的生物学特性使其必然成为现代临床医学中密切关注的领域,并具进一步深入研究的价值及更广泛的开发前景。

参考文献

- [1] Terada S, Matsuura K, Enosawa S, et al. Inducing proliferation of human amniotic epithelial(HAE) cells for cell therapy[J]. Cell Transplant,2000,9:701—704.

- [2] 侯光辉,徐锦堂,江振友,等.羊膜及培养鸡角膜缘上皮细胞对外周血T细胞CD69分子的活化研究[J].眼科研究,2003,21(1):12—14.
- [3] 李国喜,杨波,关方霞,等.人羊膜来源间质干细胞的分离、培养及鉴定[J].郑州大学学报(医学版),2006,41(2):244—247.
- [4] Shimazaki J, Shinozaki N, Tsubota K. Transplantation of amniotic membrane and limbal autograft for patients with recurrent pterygium associated with symblepharon [J]. Br J Ophthalmol,1998,82:235—240.
- [5] Solomon A, Wajngarten M, Alviano F, et al. Suppression of inflammatory and fibrotic responses in allergic inflammation by the amniotic membrane stromal matrix [J]. Clin Exp Allergy, 2005,35(7):941—948.
- [6] Li H, Niederhorn JY, Neelam S, et al. Immunosuppressive factors secreted by human amniotic epithelial cells [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2005,46(3):900—907.
- [7] Ilancheran S, Michalska A, Peh G, et al. Stem cells derived from human fetal membranes display multilineage differentiation potential[J]. Biol Reprod, 2007,77(3):577—88.
- [8] Marcus AJ, Coyne TM, Rauch J, et al. Isolation, characterization, and differentiation of stem cells derived from the rat amniotic membrane[J]. Differentiation,2008,76:130—144.
- [9] Koyano S, Fukui A, Uchida S, et al. Synthesis and release of activin and noggin by cultured human amniotic epithelial cells [J]. Dev Growth Differ, 2002,44:103—112.
- [10] Sakuragawa N, Thangavel R, Mizuguchi M, et al. Expression of markers for both neuronal and glial cell [J]. Neurosci Lett, 1996, 209:9—12.
- [11] 蔡哲,潘琳,舒峻,等.人类羊膜细胞表达神经干细胞特异性蛋白研究[J].中国康复理论与实践,2005,11(12):965—967.
- [12] 郑佳坤,杨立业,许曼丹,等.人类羊膜细胞表达神经细胞和脂肪细胞表型[J].四川大学学报(医学版),2006,37(5):696—699.
- [13] Akiva JM, Barabino S, Tolando M, et al. Role of amniotic membrane transplantation for conjunctival reconstruction in ocular cicatricial pemphigoid[J]. Ophthalmology, 2003, 110(3): 474—480.
- [14] Kobayashi A, Takahira M, Yamada A. Fornix and conjunctiva reconstruction by amniotic membrane in a patient with conjunctival mucosa associated lymphoid tissue lymphoma [J]. Jpn J Ophthalmol, 2002,46(3):346—348.
- [15] Solomon A, Espana EM, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for reconstruction of the conjunctival fornices[J]. Ophthalmology, 2003, 110(1):93—100.
- [16] Yoshita T, Kobayashi A, Takahashi M, et al. Reliability of intraocular pressure by Tono-Pen XL over amniotic membrane patch in human [J]. J Glaucoma,2004, 13(5):413—416.
- [17] 朱勋兵,周建生,潘功平,等.羊膜预防椎板切除术后硬膜外粘连的实验研究[J].蚌埠医学院学报,2006,31(2):129—131.
- [18] 于广远,高素珍,赵婷婷,等.人胎羊膜对糖尿病难愈性创面愈合影响的应用研究[J].人民军医,2008,51(2):79—80.
- [19] 朱志军,徐国土,赵静,等.牛羊膜在烧伤创面的临床应用研究[J].中国修复重建外科杂志,2006,20(7):735—738.
- [20] 叶川,尹培荣,吴承龙,等.羊膜与人胚半月板细胞构建复合物的实验研究[J].贵州医药,2005,29(6):486—488.
- [21] Mhaskar R. Amniotic membrane for cervical reconstruction[J]. Int J Gynaecol Obstet,2005,(2)90:123—127.
- [22] 冯云,曾廷菊.羊膜移植阴道成形术6例[J].现代医药卫生,2002,18(4):315.
- [23] Uchida S, Inanaga Y, Kobayashi K, et al. Neurotrophic function of conditioned medium from human amniotic epithelial cells[J]. Neurosci Res,2000, 62(4):585—590.
- [24] 朱梅,陈东,孟晓婷,等.羊膜上皮细胞移植治疗帕金森病大鼠的实验研究[J].中国老年医学杂志,2006,26(2):227—229.
- [25] Kakishita K, Nakao N, Sakuragawa N, et al. Implantation of human amniotic epithelial cells prevents the degeneration of nigral dopamine neurons in rats with 6-hydroxydopamine lesions[J]. Brain Res,2003,1,980(1):48—56.
- [26] LU Yi, HUI Guo-zhen, WU Zhi-yuan, et al. Treatment of traumatic brain injury in rats with transplantation of human amniotic cells [J]. Chinese Medical Journal,2006, 119 (21): 1843—1845.
- [27] Okawa H, Okuda O, Arai H, et al. Amniotic epithelial cells transform into neuron-like cells in the ischemic brain [J]. Neuroscience,2003, 118(1):11—17.
- [28] 孟晓婷,陈东,刘佳梅,等.羊膜上皮细胞促进共培养神经干细胞存活及分化[J].吉林大学学报(医学版),2004,30(2):184—187.
- [29] Sankar V, Muthusamy R. Role of human amniotic epithelial cell transplantation in spinal cord injury repair research [J]. Neuroscience,2003,118(1):11—17.
- [30] 李向东,惠国祯,吴智远,等.人羊膜上皮细胞移植治疗灵长类动物脊髓损伤的实验研究[J].中华神经外科杂志,23(2):149—152.
- [31] 吴智远,卢奕,惠国祯,等.人羊膜细胞移植治疗大鼠脊髓损伤的实验研究[J].中华神经外科杂志,2006,22(9):572—574.
- [32] Kakishita K, Elwan MA, Nakao N, et al. Human amniotic epithelial cells produce dopamine and survive after implantation into the striatum of a rat model of Parkinson's disease: a potential source of donor for transplantation therapy [J]. Exp Neurol,2000,165:27—34.
- [33] 刘斌,田新良,杨飞.羊膜细胞对帕金森氏病鼠纹状体中多巴胺神经元的再生作用[J].中国老年学杂志,2001,21:358—360.
- [34] 谢慧芳,刘天津,郭礼和.人羊膜上皮细胞移植及基因治疗帕金森病大鼠[J].细胞生物学杂志,2007,29:429—433.
- [35] Kong XY, Cai Z, Pan L, et al. Transplantation of human amniotic cells exerts neuroprotection in MPTP-induced Parkinson disease mice[J]. Brain Res, 2008,1205:108—115.
- [36] Nakama H, Ohsugi K, Otsuki T, et al. Encapsulation cell therapy for mucopolysaccharidosis type VII using genetically engineered immortalized human amnion epithelial cells [J]. Tohoku J Exp Med,2006,209(1):23—32.
- [37] Pan HC, Yang DY, Chiu YT, et al. Enhanced regeneration in injured sciatic nerve by human amniotic mesenchymal stem cell [J]. J Clin Neurosci, 2006,13(5):570—575.
- [38] Peng Zhao, Hirohiko Ise, Minoru Hongo, et al. Human amniotic mesenchymal cells have some characteristics of cardiomyocytes [J]. Transplantation,2005,79:528—535.