

# 人羊膜来源成体干细胞的多向分化潜能

史明霞<sup>1</sup>, 李维佳<sup>1</sup>, 李炳宗<sup>2</sup>, 李静<sup>3</sup>, 赵春华<sup>3</sup>

1 昆明医学院第一附属医院血液科, 昆明 650032

2 苏州大学附属第二医院血液科, 苏州 215004

3 中国医学科学院 中国协和医科大学 基础医学研究所 组织工程中心, 北京 100005

**摘要:** 干细胞治疗被认为是一种非常有潜力的治疗手段, 其中成体干细胞由于不存在伦理问题, 更为广大学者所青睐。本研究成功从人羊膜间质细胞中分离纯化出具有自我更新能力和多向分化潜能的成体干细胞。首先从羊膜间质细胞中通过极限稀释法进一步分离得到羊膜来源成体干细胞(Amion-derived stem cells, ADSC), 分析其形态、生长方式及主要的免疫表型, 并在体外分别将其向脂肪、成骨、内皮、肝细胞及神经细胞诱导分化。结果发现, ADSC 在适宜条件下能够向 3 个胚层的细胞分化, 经连续传代 30 次, 其形态及表型稳定, 并仍保持多向分化潜能。证实了 ADSC 的干细胞特性, 可能为细胞治疗及干细胞工程提供种子细胞的新来源。

**关键词:** 羊膜, 成体干细胞, 分化

## Multipotency of adult stem cells derived from human amnion

Mingxia Shi<sup>1</sup>, Weijia Li<sup>1</sup>, Bingzong Li<sup>2</sup>, Jing Li<sup>3</sup>, and Chunhua Zhao<sup>3</sup>

1 Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650032, China

2 Department of Hematology, the Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215004, China

3 Tissue Engineering Center, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100005, China

**Abstract:** Adult stem cells are drawing more and more attention due to the potential application in degenerative medicine without posing any moral problem. There is growing evidence showing that the human amnion contains various types of adult stem cell. Since amniotic tissue is readily available, it has the potential to be an important source of regenerative medicine material. In this study we tried to find multipotent adult stem cells in human amnion. We isolated stem cells from amniotic mesenchymal cells by limiting dilution assay. Similar to bone marrow derived mesenchymal stem cells, these cells displayed a fibroblast like appearance. They were positive for CD105, CD29, CD44, negative for haematopoietic (GlyA, CD31, CD34, CD45) and epithelial cell (pan-CK) markers. These stem cells had the potential to differentiate not only into osteogenic, adipogenic and endothelial lineages, but also hepatocyte-like cells and neural cells at the single-cell level depending on the culture conditions. They had the capacity for self-renewal and multilineage differentiation even after being expanded for more than 30 population doublings in vitro. So they may be an ideal stem cell source for inherited or degenerative diseases treatment.

**Keywords:** amnion, adult stem cells, differentiation

**Received:** December 22, 2008; **Accepted:** February 24, 2009

**Supported by:** Applied Basic Research Programs of Science and Technology Commission Foundation of Yunnan Province (No. 2007C136M), Science Foundation for Doctorate Research from the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College (No. 2007bs05).

**Corresponding author:** Mingxia Shi. Tel: +86-871-5324888; E-mail: shmxia2002@sina.com

云南省应用基础研究面上项目(No. 2007C136M), 昆明医学院第一附属医院内博士启动金项目(No. 2007bs05)资助。

早在 50 年前, 科学家和临床医生们就已经认识到羊膜具有潜在的临床应用价值。羊膜是胎膜的最内层, 其内表面是一层单层羊膜上皮细胞覆盖在基底膜上, 其下还有含间质细胞的海绵层。早期羊膜被用作覆盖皮肤伤口的敷料, 能够抗感染、减轻炎症发生, 抑制细胞免疫反应, 还可能刺激血管的生成。这些特点使它在多种疾病的辅助治疗中得到了广泛的应用, 例如治疗烧伤, 覆盖手术伤口, 更重要的是用于眼表重建术。近年来的研究表明, 羊膜中可能含有干细胞<sup>[1,2]</sup>, 理论上可以分化成各种组织细胞, 将来有望广泛应用于再生医学领域。本研究成功从人羊膜间质细胞中分离纯化出具有自我更新能力的成体干细胞 (Amnion-derived stem cells, ADSC), 并对其基本生物学特性及向 3 个胚层细胞分化的潜能进行了研究。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

胰酶、胎牛血清 (Fetal calf serum, FCS) (Gibco 公司), 型胶原酶、DNA 酶、中性蛋白酶、表皮细胞生长因子 (Epidermal growth factor, EGF)、内皮细胞生长因子 (Vascular endothelial growth factor, VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子 (Basic fibroblastic growth factor, bFGF)、血小板衍生生长因子 (Platelet-derived growth factor BB, PDGF-BB)、Flt-3 ligand、干细胞因子 (Stem cell factor, SCF)、肝细胞生长因子 (Hepatocyte growth factor, HGF) (Sigma 公司); CD29、CD31、CD34、CD45、CD44、CD105、HLA-DR、HLA-A, B, C 单抗 (BD biosciences pharmingen 公司), 广谱细胞角蛋白 (Pan-cytokeratin, pan-CK) 抗体、鼠抗人细胞角蛋白 18 (Cytokeratin 18, CK18) 单抗 (Abcam 公司); Matrigel (BD bioscience biotech 公司); DiI-Ac-LDL 染色试剂盒 (Molecular probes 公司); 兔抗人 vWF 抗体和白蛋白 (Albumin, ALB) 抗体 (Dako 公司), 鼠抗人神经丝 (Neurofilament, NF) 抗体、胶质纤维酸性蛋白 (Glial acidic fibrillary protein, GFAP) 抗体 (Serotec 公司), 兔抗人半乳糖脑苷脂 (Galactocerebroside, GalC) 抗体 (Chemicon 公司); 二抗均购自 Santa Cruz Biotechnology 公司。

### 1.2 分离并克隆人 ADSC

胎盘取自足月妊娠的健康产妇剖宫产手术, 机

械分离羊膜组织, 以 D-Hank's 溶液漂洗去除血细胞。将羊膜剪成小块, 先后用 0.25% 胰酶及 0.2% 型胶原酶、0.01% DNA 酶和 0.1% 中性蛋白酶消化分离得到间质细胞<sup>[3]</sup>, 于含 2% FCS、40% MCDB、58% DF<sub>12</sub>、100 U/mL 青霉素和 1000 U/mL 链霉素的培养基中培养。待细胞达 80% 融合时, 消化并进行细胞克隆培养。以极限稀释法接种在 96 孔板中 (每孔 1 个细胞), 预先以 Matrigel 铺板, 其中含 2% FCS, 10 ng/mL EGF, 10 ng/mL PDGF-BB, 50 ng/mL Flt-3 ligand 及 50 ng/mL SCF。24 h 后镜下观察, 细胞数大于 1 个的孔被舍弃。密切观察细胞生长情况, 并将多个细胞克隆分别进行扩增。扩增时采用纤维粘连蛋白 (Fibronectin, FN) 铺板。

### 1.3 细胞周期和细胞生长方式的测定

细胞以  $5 \times 10^3$  细胞/孔, 接种于 24 孔板, 饱和湿度、5% CO<sub>2</sub> 培养, 每天取 3 孔, 胰酶消化后计数细胞取均值, 绘制生长曲线。细胞周期采用 70% 乙醇 5 mL 固定细胞 4°C 过夜, 再用 40 mg/L 的 RNase A 37°C 孵育 20 min, 加入 3 mg/L 碘化丙啶 4°C 孵育 30 min, 流式细胞仪测定。

### 1.4 单细胞来源 ADSC 表型测定

采用间接免疫荧光法。一抗为小鼠抗人的单克隆抗体 CD29、CD31、CD34、CD45、CD44、CD105、HLA-DR、HLA-A, B, C 和 pan-CK, 加入 FITC 标记的羊抗鼠二抗, 4°C 孵育 30 min, 流式细胞仪测定。

### 1.5 成脂分化和成骨分化

细胞以  $2 \times 10^4$ /cm<sup>2</sup> 接种, 在含有 10% FCS、 $10^{-6}$  mol/L 地塞米松、100 μg/mL 1-甲基-3-异丁基-黄嘌呤, 50 μg/mL 抗坏血酸, 100 U/mL 青霉素和 1000 U/mL 链霉素的 DMEM 培养基中诱导 3 周, 10% 甲醛固定 10 min 后, 油红 O 染色。成骨诱导采用含 10% FCS,  $10^{-8}$  mol/L 地塞米松,  $2 \times 10^{-4}$  mol/L 抗坏血酸, 10 mmol/L 甘油磷酸钠的 IMDM 培养基, 诱导后 3 周, Von Kossa 染色。

### 1.6 向内皮细胞诱导分化

细胞以  $2 \times 10^4$ /孔的密度接种于 FN 包被的 3.5 cm<sup>2</sup> 培养皿, 12 h 后改为内皮诱导培养基 (含 2% FCS、50 ng/mL VEGF 和 10 ng/mL bFGF 的 M199 培养基), 诱导 2~3 周后, 用 LDL 摄取实验、免疫荧光、免疫印迹等方法鉴定。为观察能否形成血管样结构, 细胞以  $1 \times 10^3$ /孔接种在 Matrigel 包被的 96 孔板内, 以内皮诱导培养基培养。

### 1.7 向神经细胞诱导分化

细胞以  $2 \times 10^3/\text{cm}^2$  的密度接种于 FN 包被的培养皿, 12 h 后改为神经诱导培养基(在基础培养基中加入 100 ng/mL bFGF)。用免疫荧光、RT-PCR 鉴定。

### 1.8 向肝上皮细胞诱导分化

细胞以  $2 \times 10^4$ /皿的密度接种于 FN 包被的培养皿, 扩增培养基中不含 EGF, 12 h 后改为肝上皮细胞诱导培养基(在基础培养基中加入 30 ng/mL HGF 和 20 ng/mL bFGF)。用免疫荧光、RT-PCR 鉴定。

表 1 RT-PCR 扩增所用的引物及其序列

Table 1 Primer sequences used for the RT-PCR amplification

Gene	Base pairs		Sequence (5'-3')
OPN	330	Sense	CTA GGC ATC ACC TGT GC CAT ACC
		Antisense	CAG TGA CCA GTT CAT CAG ATT CAT C
LPL	298	Sense	ATG GAG AGC AAA GCC CTG CTC
		Antisense	TAC AGG GCG GCC ACA AGT TTT
NF	195	Sense	ATG AGT TCC TTC AGC TAC GAG C
		Antisense	GGG CAT CAA CGA TCC AGA GC
GFAP	161	Sense	CCT CTC CCT GGC TCG AAT G
		Antisense	GGA AGC GAA CCT TCT CGA TGT A
MBP	379	Sense	TTA GCT GAA TTC GCG TGT GG
		Antisense	GAG GAA GTG AAT GAG CCG GTT A
ALB	350	Sense	TTG GAA AAA TCC CAC TGC AT
		Antisense	CTC CAA GCT GCT CAA AAA GC
CK18	269	Sense	CGT CTT GCT GCT GAT GAC TTT AGA G
		Antisense	TTG GCG AGG TCC TGA GAT TTG
$\beta_2\text{M}$	115	Sense	ACC CCC ACT GAA AAA GAT GA
		Antisense	ATC TTC AAA CCT CCA TGA TG

### 1.9 分化结果的检测

RT-PCR 扩增所用引物及其序列见表 1。免疫荧光特异性一抗采用鼠或兔抗人 CD31、vWF、NF、GFAP、GalC、ALB 或 CK18 抗体, 二抗为 TRITC 或 FITC 标记的山羊抗鼠或抗兔及驴抗兔 IgG 抗体。免疫印记采用鼠抗人 CD31 单抗、兔抗人 vWF 多克隆抗体; 显色用化学发光法。

## 2 结果

### 2.1 单克隆来源的 ADSC 形态和表型特征

单克隆培养共挑出 45 个单细胞克隆, 其中只有

6 个得以成功的连续传代扩增, 其余克隆因衰老而被放弃。因所获得的 6 个克隆在本研究中未发现生物学特性有明显不同, 故以下结果均以其中一个克隆来源的细胞为代表。获得的单克隆扩增细胞, 形态呈成纤维样或多角形(图 1A)。细胞增殖较快, 在对数生长期, 细胞倍增时间约为 30 h(图 1B)。免疫表型分析结果显示, 在诱导分化前, 单克隆源扩增细胞高表达 CD105, 不表达上皮细胞特征性标志 pan-CK, 造血和内皮细胞的特征性表型 CD45、CD34、CD31 和 vWF, 不表达 HLA-A, B, C 和 HLA-DR(图 2)。经连续传代 30 次, 形态及表型保持稳定, 无明显变化。

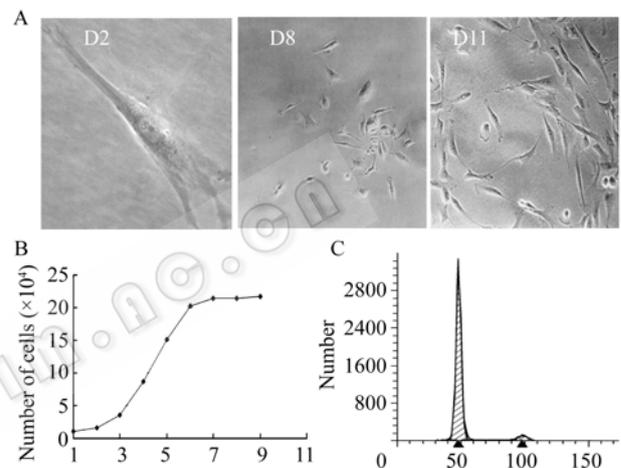


图 1 ADSC 的形态及生长方式

Fig. 1 Morphology and expansion potential of ADSC. (A) ADSC cloned by limiting dilution. Single cell adherent to the plate in one well proliferated for 2 days (D2), 8 days (D8), and 11 days (D11). (B) The doubling time of all these cell populations was about 30 hours. (C) The cell cycle analysis of ADSC by FACS.

### 2.2 ADSC 向脂肪细胞、成骨细胞分化

ADSC 在成脂诱导 3 周后, 可见细胞内充满脂肪泡, 油红-O 染色强阳性(图 3A)。成骨诱导 3 周后进行 Von-Kossa 染色, 可见明显黑色矿化物沉积(图 3B)。RT-PCR 证实上述诱导后的 ADSC 分别表达脂肪及骨形成特异性基因脂蛋白酯酶(Lipoprotein lipase, LPL)和骨桥蛋白(Osteopontin, OPN), 而对照组细胞无表达(图 3C)。

### 2.3 ADSC 向内皮细胞分化

向内皮诱导 14 d 后, 可见细胞呈典型的血管内皮细胞形态(“鹅卵石样”的细胞区)(图 4B)。免疫荧光及 Western blotting 结果显示试验组细胞表达

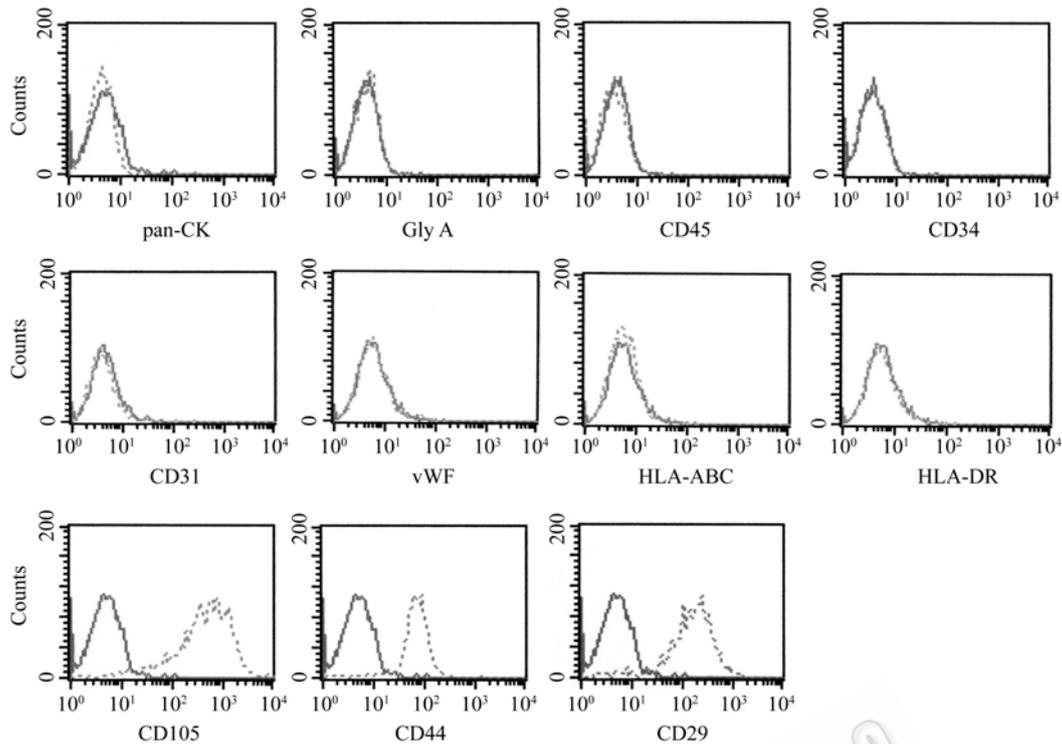


图 2 ADSC 的免疫表型

Fig. 2 Phenotype analysis of culture-expanded ADSC before induction. The real line outlined the region of fluorescent intensity for cells labeled with control antibodies. A representative example of 3 experiments is shown.

CD31 及 vWF(图 4A、4D)。诱导后细胞具有内皮细胞的吞噬功能, 即可吞噬 DiI-Ac-LDL(图 4A)。将 ADSC 接种在 Matrigel 胶上, 由 VEGF 和 bFGF 诱导, 24 h 内细胞开始迁移, 在第 7 天左右, 逐渐增殖分化为由多个细胞排列而成的微血管样结构(图 4C)。

#### 2.4 ADSC 向神经细胞分化

向神经定向诱导 10~14 d 后, 免疫荧光检测结果显示, 分化后的细胞表达神经元(NF)、星形胶质细胞(GFAP)和少突胶质细胞(GalC)的特征性表面标志。RT-PCR 也进一步证实了诱导后的细胞表达各类神经细胞的特异性基因, 例如 NF、GFAP 和髓磷脂碱性蛋白(Myelin basic protein, MBP; 少突胶质细胞)(图 5)。

#### 2.5 ADSC 向肝上皮样细胞分化

定向诱导 14 d 后, 免疫荧光检测结果显示试验组细胞 ALB 及 CK18 阳性, RT-PCR 进一步证实上述结果(图 6)。

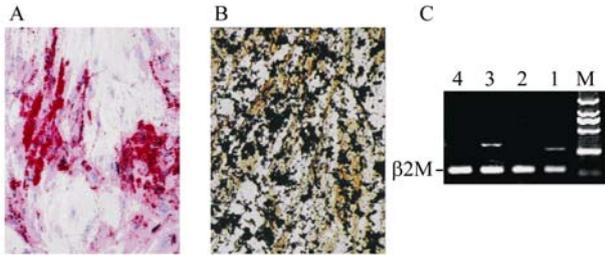
### 3 讨论

近年来, 干细胞因为其在组织损伤修复、心脑血管疾病和恶性肿瘤等多种疾病的治疗方面有着广

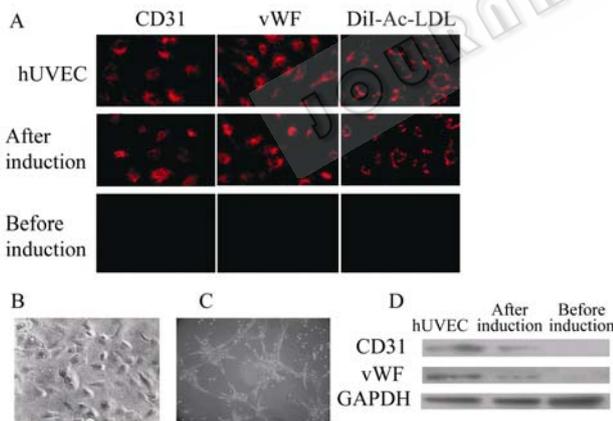
阔的应用前景而倍受人们重视。成体干细胞具有“可塑性”, 能在一定外界环境下转变成其他组织系统的细胞, 实现跨系统甚至跨胚层分化<sup>[4-6]</sup>, 这使其能够通过增殖分化形成局部组织细胞, 是替代、修复或加强受损或衰老组织/器官功能的理想种子细胞。

羊膜组织是胚胎发育的早期组织。一些研究报告, 羊膜上皮细胞具有多种功能, 可以象神经元细胞一样合成和分泌多种神经递质和神经营养因子, 例如乙酰胆碱、去甲肾上腺素、多巴胺<sup>[7,8]</sup>、神经营养因子-3、神经生长因子、脑源性神经营养因子、IL-1、IL-4、IL-6 等<sup>[9]</sup>; 和肝细胞一样产生和释放 ALB<sup>[10]</sup>; 还能够表达胰十二指肠同源异型盒基因(Pancreatic and duodenal homeobox 1, Pdx-1)<sup>[11]</sup>。同时, 羊膜间质细胞也被证实能够产生前列腺素<sup>[12]</sup>, 并表达神经祖细胞<sup>[13]</sup>和心肌细胞<sup>[14]</sup>的一些标志。以上研究结果提示, 羊膜中确实存在着具有多向分化潜能的干细胞, 在适宜的条件下能够向 3 个胚层的细胞分化。近来, Alviano 等<sup>[15]</sup>和 Tamagawa 等<sup>[16]</sup>报道人羊膜间质细胞可以在体外诱导分化为内皮和肝上皮样细胞, Kobayashi 等<sup>[17]</sup>也证实从羊膜间质细胞中分离得到的 SP(Side population)细胞具有多分化

潜能。同时，亦有报道人羊膜上皮细胞在适宜条件下于体外也能够向 3 个胚层的细胞进行分化<sup>[1]</sup>。最近，又有学者成功从大鼠羊膜组织中分离得到具有多向分化潜能的干细胞<sup>[2]</sup>，并证实其移植入胎鼠脑内能够长期存活并向内皮细胞分化<sup>[18]</sup>。Coppi 等<sup>[19]</sup>已从单细胞水平证实了羊水中存在具有向 3 个胚层分化能力的多潜能干细胞，并证实这些细胞具有胎儿的基因标志，因此有理由推测这些多能干细胞可能来源于羊膜组织。

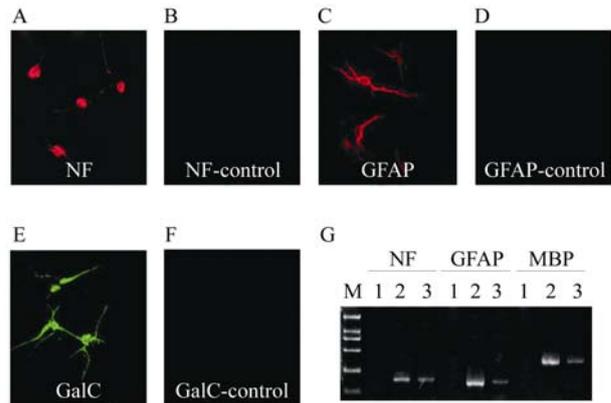


**图 3 ADSC 在体外向脂肪及成骨细胞诱导分化**  
 Fig. 3 Adipogenic or osteogenic differentiation of ADSC. (A) The cells in the adipogenic induction group were positively stained for oil red-O. (B) The induced cells stained by the von Kossa technique showed calcium accumulation after osteogenic induction for 3 weeks. (C) Total RNA was analyzed by RT-PCR for mRNA expression of lipoprotein lipase (Lane 1), osteopontin (Lane 3) and  $\beta$ 2-microglobulin ( $\beta$ 2M). The uninduced cells serve as control (Lane 2, 4).

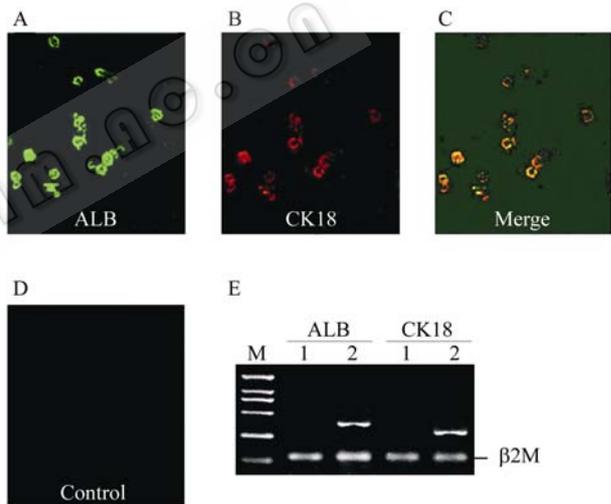


**图 4 ADSC 向内皮细胞诱导分化**  
 Fig. 4 Endothelial differentiation of ADSC. (A) Differentiation to endothelial cells was evaluated by immunofluorescence for CD31, vWF, and the ability to take up DiI-Ac-LDL. (B) The expanded clonal cells showed endothelial-like morphology after being treated with VEGF and bFGF for 14 days. (C) ADSC seeded in the Matrigel began to migrate and aggregated into spherical structure within 2-3 days and extended gradually to form vascular plexus on day 6-7. (D) Results were further confirmed by Western blotting for CD31 and vWF.

Journals.im.ac.cn



**图 5 ADSC 向神经细胞诱导分化**  
 Fig. 5 *In vitro* differentiation of ADSC to neuroectoderm. (A) ADSC grown in the presence of 100ng/mL bFGF for 14 days show immunoreactivity with NF (red). (B) Control. (C, E) ADSC were also stained by GFAP (red) and GalC (green) after induction. (D, F) Control. (G) These results were confirmed by RT-PCR for NF, GFAP and MBP. 1: pre-differentiation; 2: positive control; 3: induced differentiation. Original magnification: 200 $\times$ .



**图 6 ADSC 向肝上皮样细胞诱导分化**  
 Fig. 6 Expression of differentiation markers of hepatocyte lineage in ADSC. (A) ADSC cultured with HGF and b-FGF for 14 days were stained by ALB antibody (green). (B) The induced cells were also stained by CK18 mAb (red). (C) A merged image of ALB and CK18 staining in A and B. (D) Control. (E) RT-PCR products of ALB, CK18 and  $\beta$ 2-microglobulin. 1: pre-differentiation; 2: induced differentiation. Original magnification: 200 $\times$ .

本研究从羊膜间质细胞中进一步分离得到 ADSC，其形态、主要的免疫表型等均与本实验室早期从胎儿多种组织分离得到的间充质干细胞 (Mesenchymal stem cells, MSC) 一致<sup>[20-22]</sup>，并在单细胞水平上证实 ADSC 在适宜条件下能够向 3 个胚层 (肝细胞; 脂肪、成骨及内皮细胞; 神经细胞) 分化，

经连续传代 30 次, 其形态及表型稳定, 并仍保持多向分化潜能, 具有自我更新能力。本研究可通过以下几个方面排除 ADSC 中污染了造血、内皮或羊膜上皮细胞: 1) 单克隆来源; 2) 羊膜本身不含血管, 受造血及内皮细胞污染的几率较低; 3) 单克隆来源细胞扩增后的流式分析显示, 造血细胞免疫表型 CD45、GlyA、CD34, 内皮细胞标志 CD31、vWF, 以及上皮细胞标志 pan-CK 均为阴性。

ADSC 可能在今后的组织工程、细胞治疗和基因治疗等方面具有广阔的临床应用前景。其巨大优势在于: 1) 取材几乎不受限制: 胎盘在胎儿娩出后就完成了使命, 成为“废弃物”, 只要正常分娩的健康产妇, 在知情同意的基础上, 都能够提供胎盘, 从而获取羊膜。与捐献骨髓相比, 患者无痛苦, 污染机会小, 应用不存在伦理学问题。2) 羊膜来源细胞与胎儿细胞免疫表型一致, 移植给同一胎儿属于自体移植, 不会发生免疫排斥, 在围产医学领域(如新生儿缺血缺氧性脑病等的治疗)有着潜在的应用价值。3) ADSC 具有低免疫原性的特点, 流式分析显示 HLA-A、B、C 和 HLA-DR 均为阴性, 亦有报道证实羊膜细胞不会引起同种或异种 T 淋巴细胞的增殖反应, 且能够在体外抑制混合淋巴细胞反应<sup>[23]</sup>, 这些都提示 ADSC 可能与骨髓来源 MSC 一样具有调节免疫和诱导免疫耐受的作用, 可能在将来的临床移植中发挥重要作用, 这尚需要进一步研究证实。

综上所述, 本研究成功从人羊膜组织中分离得到具有自我更新和多向分化潜能的 ADSC, 在体外适宜条件下, 能够向脂肪、成骨、内皮、神经和肝上皮细胞等进行分化, 且在适当的培养体系中可大量扩增, 可能为细胞治疗及干细胞工程提供种子细胞的新来源。

## REFERENCES

- [1] Ilancheran S, Michalska A, Peh G, *et al.* Stem cells derived from human fetal membranes display multilineage differentiation potential. *Biol Reprod*, 2007, **77**(3): 577-588.
- [2] Marcus AJ, Coyne TM, Rauch J, *et al.* Isolation, characterization, and differentiation of stem cells derived from the rat amniotic membrane. *Differentiation*, 2008, **76**(2): 130-144.
- [3] Casey ML, MacDonald PC. Interstitial collagen synthesis and processing in human amnion: A property of the mesenchymal cells. *Biol Reprod*, 1996, **55**(6): 1253-1260.
- [4] Ferrari G, Cusella-De Angelis G, Coletta M, *et al.* Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science*, 1998, **279** (5356): 1528-1530.
- [5] Mezey E, Chandross KJ, Harta G, *et al.* Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated *in vivo* from bone marrow. *Science*, 2000, **290** (5497): 1779-1782.
- [6] Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, *et al.* Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice. *Ann NY Acad Sci*, 2001, **938**: 221-229.
- [7] Elwan MA, Sakuragawa N. Evidence for synthesis and release of catecholamines by human amniotic epithelial cells. *Neuroreport*, 1997, **8**(16): 3435-3438.
- [8] 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. *Exp Neurol*, 2000, **165**(1): 27-34.
- [9] Uchida S, Inanaga Y, Kobayashi M, *et al.* Neurotrophic function of conditioned medium from human amniotic epithelial cells. *J Neurosci Res*, 2000, **62**(4): 585-590.
- [10] Takashima S, Ise H, Zhao P, *et al.* Human amniotic epithelial cells possess hepatocyte-like characteristics and functions. *Cell Struct Funct*, 2004, **29**(3): 73-84.
- [11] Miki T, Lehmann T, Cai H, *et al.* Stem cell characteristics of amniotic epithelial cells. *Stem Cells*, 2005, **23**(10): 1549-1559.
- [12] Whittle WL, Gibb W, Challis JR. The characterization of human amnion epithelial and mesenchymal cells: The cellular expression, activity and glucocorticoid regulation of prostaglandin output. *Placenta*, 2000, **21**(4): 394-401.
- [13] Sakuragawa N, Kakinuma K, Kikuchi A, *et al.* Human amnion mesenchyme cells express phenotypes of neuroglial progenitor cells. *J Neurosci Res*, 2004, **78**(2): 208-214.
- [14] Zhao P, Ise H, Hongo M, *et al.* Human amniotic mesenchymal cells have some characteristics of cardiomyocytes. *Transplantation*, 2005, **79**(5): 528-535.
- [15] Alviano F, Fossati V, Marchionni C, *et al.* Term amniotic membrane is a high throughput source for multipotent mesenchymal stem cells with the ability to differentiate into endothelial cells *in vitro*. *BMC Dev Biol*, 2007, **7**: 11.
- [16] Tamagawa T, Oi S, Ishiwata I, *et al.* Differentiation of mesenchymal cells derived from human amniotic membranes into hepatocyte-like cells *in vitro*. *Hum Cell*, 2007, **20**(3): 77-84.
- [17] Kobayashi M, Yakuwa T, Sasaki K, *et al.* Multilineage potential of side population cells from human amnion mesenchymal layer. *Cell Transplant*, 2008, **17**(3): 291-301.
- [18] Marcus AJ, Coyne TM, Black IB, *et al.* Fate of amnion-derived stem cells transplanted to the fetal rat brain: migration, survival and differentiation. *J Cell Mol Med*, 2008, **12**(4): 1256-1264.

- [19] De Coppi P, Bartsch G Jr, Siddiqui MM, *et al.* Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nat Biotechnol*, 2007, **25**(1): 100–106.
- [20] Guo H, Liu JW, Yang SG, *et al.* The distribution of CD105<sup>+</sup> cells with characteristics of mesenchymal stem cells in diverse fetal tissues and organs. *Chin J Cell Biol*, 2004, **26**(4): 404–408.  
郭虹, 刘杰文, 杨少光, 等. 具有间充质干细胞特征的 CD105<sup>+</sup>细胞在胎儿多种组织器官的分布. *细胞生物学杂志*, 2004, **26**(4): 404–408.
- [21] Fang BJ, Shi MX, Liao LM, *et al.* Reconstitution of telomerase activity extends the proliferative life-span and maintains the neurogenetic potential of mesenchymal stem cells derived from human fetal muscle. *China Biotechnol*, 2004, **24**(8): 48–53.  
房佰俊, 史明霞, 廖联明, 等. 重建端粒酶活性延长胎儿肌肉源间充质干细胞寿命并维持其成神经潜能. *中国生物工程杂志*, 2004, **24**(8): 48–53.
- [22] Zheng CM, Sun Z, Cao Y, *et al.* Identification and isolation of mesenchymal stem cells from human fetal lung. *China Biotechnol*, 2004, **24**(3): 48–54.  
郑春梅, 孙昭, 曹莹, 等. 胎儿肺脏来源间充质干细胞的鉴定与损伤修复的实验研究. *中国生物工程杂志*, 2004, **24**(3): 48–54.
- [23] Bailo M, Soncini M, Vertua E, *et al.* Engraftment potential of human amnion and chorion cells derived from term placenta. *Transplantation*, 2004, **78**(10): 1439–1448.

## 科学出版社科学出版中心生命科学分社新书推介

### 白色生物技术 (翻译版)

〔德〕R 乌尔伯 D 塞尔 主编  
李爽 杨博 译

978-7-03-023820-7 ¥65.00 2009年4月出版

#### 内容简介

首先, 本书对白色生物技术相关的各类碳水化合物、油脂类及其他类型的原料从来源到应用进行了介绍, 之后对近年来生物技术中的热点——“高通量筛选”相关技术进行了简要的回顾和讨论。其次, 在“工业酶”一章中, 书中用了大量的篇幅就酶在工业中的应用进行了详尽的描述, 包括洗涤剂、纺织品、造纸工业、淀粉制品、生物乙醇、食品、动物饲料及化学品制造等, 而且还就新型酶的发现进行了探讨和介绍。之后, 本书又用一章的篇幅对生物催化剂在有机合成领域中的三种不同方式: 非手性合成, 不对称合成和动力学拆分进行了描述和讨论。再次, 就生物炼制和生物过程加工进行了广泛的介绍和讨论, 包括生物炼制原料、原理和实例, 以及生物加工过程的设计, 代谢过程分析和生物产品的下游处理等。最后, 总结了应用于发酵、生物转化以及下游过程中的一些新的传感技术和控制策略。

本书内容体系完整, 对白色生物技术所涉及的各个领域均有精辟的阐述, 有很多数据和实例, 反映了国际前沿水平。其时效性和系统性对相关领域的科研工作者极具指导意义, 对非专业人士迅速熟悉该领域也大有益处。



欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书 (免邮费)

邮购地址: 北京东黄城根北街16号 科学出版社 科学出版中心 生命科学分社 邮编: 100717

联系人: 周文字 联系电话: 010-64031535

更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn>, 欢迎致电索要书目