

## 骨髓间充质干细胞对 HepG2 肝癌细胞增殖的影响

唐甜<sup>1,2</sup>,李红<sup>1,2</sup>,薛冰<sup>1,2</sup>,唐小军<sup>1,2</sup>,陈汐敏<sup>1,2</sup>,仇镇宁<sup>2</sup>,朱进<sup>3</sup>,Tom C Tsang<sup>4</sup>,冯振卿<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>南京医科大学病理学系,<sup>2</sup>卫生部抗体技术重点实验室,江苏南京 210029;<sup>3</sup>南京军区军事医学研究所,江苏南京 210002;<sup>4</sup>The University of Arizona,AZ 85721,USA)

**[摘要]** 目的:观察大鼠骨髓间充质干细胞对 HepG2 肝癌细胞增殖的影响,并初步探讨其机制。方法:全骨髓贴壁法分离培养大鼠骨髓间充质干细胞,流式细胞术鉴定其分子表面标志,体外扩增培养并收集培养上清。MTT 法、平板克隆实验及软琼脂克隆实验检测大鼠间充质干细胞对人肝癌细胞株 HepG2 增殖的影响,流式细胞术检测肝癌细胞周期的改变,Western blot 法检测细胞周期相关蛋白 Cyclin D1 表达情况。结果:骨髓间充质干细胞 CD105 和 CD90 表达阳性,CD34 和 CD45 表达阴性。在骨髓间充质干细胞培养上清作用下,MTT 法显示实验组肝癌细胞光密度值增加( $P < 0.05$ ),平板克隆法显示实验组肝癌细胞克隆形成率比对照组明显升高( $P < 0.05$ ),软琼脂克隆法显示实验组肝癌细胞空间克隆形成率比对照组明显升高( $P < 0.05$ ),流式细胞术显示实验组细胞周期 G1 期比例降低,S 期、G2 期比例增加。Western blot 显示实验组细胞 Cyclin D1 表达量增加( $P < 0.05$ )。结论:骨髓间充质干细胞可促进 HepG2 肝癌细胞的增殖及空间克隆形成能力,其促进肝癌细胞体外增殖可能与 Cyclin D1 表达上调有关。

**[关键词]** 间充质干细胞;肝癌细胞;增殖;Cyclin D1

**[中图分类号]** Q813;R735.7

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2012)05-604-05

## The effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on proliferation of human hepatocellular carcinoma cell line HepG2 *in vitro*

TANG Tian<sup>1,2</sup>,LI Hong<sup>1,2</sup>,XUE bing<sup>1,2</sup>,TANG Xiao-jun<sup>1,2</sup>,CHEN Xi-min<sup>1,2</sup>,QIU Zhen-ning<sup>2</sup>,ZHU Jin<sup>3</sup>,Tom C Tsang<sup>4</sup>,FENG Zhen-qing<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Pathology,<sup>2</sup>Key Laboratory of Antibody Technique of Ministry of Health,NJMU,Nanjing 210029;  
<sup>3</sup>Huadong Medical Institute of Biotechnology,Nanjing 210002,China;<sup>4</sup>University of Arizona,AZ 85721,USA)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects of rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) on the proliferation and cell cycle distribution of human hepatocellular carcinoma cell line HepG2 *in vitro*. **Methods:** Rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells were isolated and identified by FACS and were expanded *ex vivo* and the supernatant was collected. Cell growth was measured by MTT assay,colony formation and soft agar colony formation assay. Cell cycle progression was analyzed by flow cytometry. Western blot assays were used to detect the expression of Cyclin D1. **Results:** Mesenchymal stem cells promoted the proliferation and clonogenicity of cell line HepG2 indirectly by MSC-CM( $P < 0.05$ ). Cell number in G0/G1 phase was decreased and that in S and G2/M phase was increased ( $P < 0.05$ ). MSCs promote the expression of protein Cyclin D1 in HepG2 ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Mesenchymal stem cells can promote the proliferation of hepatocellular carcinoma cell line by upregulating Cyclin D1.

**[Key words]** mesenchymal stem cells;hepatocellular carcinoma cell;proliferation;Cyclin D1

[Acta Univ Med Nanjing, 2012, 32(5): 604-608]

肝癌是最常见的恶性肿瘤之一,其病死率在全

球居于第 3 位,在我国居于第 2 位<sup>[1-2]</sup>,其特征是生长快,预后极差。肿瘤的生长并不是一个孤立的过程,而是建立在肿瘤细胞与周围微环境及机体内环境之间相互作用的基础之上。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)作为微环境细胞成分和

**[基金项目]** 美国 Cure Cancer Worldwide corporation 资助项目,江苏省科技支撑计划资助项目(BE2011842)

\*通讯作者,E-mail:fengzhenqing@njmu.edu.cn

结缔组织的干细胞,是近年来的研究热点。MSCs 是来源于中胚层的一类具有高度自我更新能力和多向分化潜能的非造血干细胞,主要存在于全身结缔组织、器官间质和骨髓组织中<sup>[3]</sup>。MSCs 对肿瘤的增殖具有促进还是抑制作用尚存在争议<sup>[4-13]</sup>。本研究拟观察大鼠 MSCs 对人肝癌细胞株 HepG2 增殖和细胞周期的影响,为进一步研究 MSCs 在肝癌发生发展中的作用提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

雄性 SD 大鼠,80~100 g,购自南京医科大学实验动物中心。动物饮水及饲料均经过 121℃、30 min 的高压灭菌,标准饲养条件。肝癌细胞株 HepG2 购自中国科学院上海细胞所。鼠抗人细胞周期相关蛋白 Cyclin D1 抗体(美国 Abcam 公司),鼠抗人  $\beta$ -actin 抗体(美国 Santa Cruz 公司),L-DMEM、H-DMEM 培养基、胎牛血清、青链霉素及 24 孔、96 孔培养板(美国 Gibco 公司),四甲基偶氮唑蓝(MTT)、二甲基亚砷(DMSO)(美国 Sigma 公司)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 大鼠骨髓 MSCs 的分离、培养与鉴定

以颈椎脱臼方法处死大鼠,75%乙醇浸泡 15 min。无菌条件下取胫骨和股骨,用注射器吸取 L-DMEM 反复冲打骨髓腔,使骨髓细胞被冲出并充分分散制成单细胞悬液。加入含有 10%胎牛血清的 L-DMEM 培养基,以  $1 \times 10^6$  个/ml 接种于直径为 10 cm 的细胞培养皿中,在 37℃、5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。原代培养 24、48 h 后,各换液 1 次,去除不贴壁的细胞。此后每 3 d 换液 1 次,待贴壁细胞汇合度达 80%~90%,胰酶消化,按 1:3 比例传代。观察培养的 MSCs 是否存在细胞集落及排列极性。收集第 5~8 代 MSCs,约  $4 \times 10^5$  个,用 PBS 清洗细胞 3 次,然后将细胞平均分到 4 个 1.5 ml EP 管中,每个 EP 管均用 500  $\mu$ l PBS 重悬细胞。分别加入 CD34-FITC、CD45-FITC、CD90-FITC、CD105-PE 抗体各 1  $\mu$ l,避光室温孵育 30 min,PBS 液洗去未结合的抗体,流式细胞仪(美国 Becton Dickinson 公司)测定 MSCs 的表面抗原表达。

#### 1.2.2 大鼠骨髓 MSCs 培养上清的收集

选择第 5~8 代细胞,以  $2 \times 10^6$  个细胞接种于直径为 15 cm 的细胞培养皿中,加入 8 ml 无血清 H-DMEM 培养 24 h 后收集上清,标记为 MSC-CM,用 0.22  $\mu$ m 滤膜过滤后 4℃保存。

### 1.2.3 MTT 实验

取对数生长期的肝癌细胞株 HepG2 接种于 96 孔板中,每孔  $5 \times 10^3$  个,每孔体积为 100  $\mu$ l,培养 24 h 后弃上清,对照组加入含 5%胎牛血清的 H-DMEM 培养基 100  $\mu$ l,4 个实验组在含 5%胎牛血清的 H-DMEM 培养基中加入 MSC-CM,使 100  $\mu$ l 培养基中 MSC-CM 的浓度分别为 25%、50%、75%、90%。每组设 5 个复孔。继续培养 24 h 和 48 h 后各孔加入 20  $\mu$ l MTT 溶液(5 g/L),4 h 后弃上清,再加 DMSO 100  $\mu$ l 微振荡 10 min,酶标仪读取光密度值  $D(490 \text{ nm})$ 。

### 1.2.4 平板克隆形成试验

取对数生长期的肝癌细胞株 HepG2 接种于 24 孔板内,每孔 500 个,每孔加入 1 ml 培养液。培养 24 h 后弃上清。对照组加入含 10%胎牛血清的 H-DMEM 培养基 1 ml,4 个实验组在含 10%胎牛血清的 H-DMEM 培养基中加入 MSC-CM,使 1 ml 培养基中的 MSC-CM 浓度分别为 25%、50%、75%、90%。静止培养 10 d 后弃去培养液,0.1%结晶紫染色,计数克隆数。克隆形成率(%)=克隆数/接种细胞数 $\times$ 100%。实验重复 3 次。

### 1.2.5 软琼脂克隆形成试验

取对数生长期的 HepG2 细胞,消化制成单细胞悬液,活细胞计数,对照组加入含 10%胎牛血清的 H-DMEM 培养基 1 ml,4 个实验组在含 10%胎牛血清的 H-DMEM 培养基中加入 MSC-CM,使 1 ml 培养基中的 MSC-CM 浓度分别为 25%、50%、75%、90%,调整细胞密度至  $1 \times 10^4$  个/ml。按 1:1 比例使 1.2%的低熔点琼脂糖和 2 $\times$ DMEM 培养基(含有 2 $\times$ 抗生素和 10%的胎牛血清)混匀,制备成 0.6%的低熔点琼脂糖,1 ml/孔注入 24 孔板内,室温凝固。将 0.6%的低熔点琼脂糖与 2 $\times$ DMEM 培养基按 1:1 体积比混匀,制备 0.3%的上层琼脂,每孔加 1 ml 上层琼脂和 100  $\mu$ l 单细胞悬液(约  $10^3$  个/孔),混匀,室温凝固,每组做 5 个复孔。待上层琼脂凝固后,加入约 0.5 ml 无血清 DMEM,以防止上层琼脂水分蒸发,浓度改变。放入 37℃ 5%CO<sub>2</sub> 湿箱中培养 14 d。倒置相差显微镜下观察集落形成情况,计数直径 > 50  $\mu$ m 的克隆,计算克隆形成率。实验重复 3 次。

### 1.2.6 流式细胞术检测细胞周期

胰酶消化经 75%MSC-CM 浓度下培养 24 h 后及无 MSC-CM 对照组的肝癌细胞 HepG2,离心,PBS 洗 2 次,计数,调整细胞数为  $1 \times 10^5$  个,75%乙醇固定,-20℃保存,后用流式细胞仪分析。

### 1.2.7 Western blot 检测 Cyclin D1 的表达

对照组 HepG2 细胞无 MSC-CM, 实验组 HepG2 细胞加入 75%MSC-CM 分别孵育 24 h 和 48 h, 用 RIPA 细胞裂解液裂解细胞, 提取总蛋白, BCA 法测定蛋白含量。用蛋白上样缓冲液调整浓度, 样品在沸水中煮 10 min; 按浓缩胶电压 60 V, 分离胶电压 90 V 电泳, 总计电泳时间为 2 h 左右; 制作电转三明治, 于冰水中 300 mA 恒电流转 45~60 min。常规封闭、洗膜后与 1:1 000 鼠抗人 Cyclin D1 抗体 4℃ 孵育过夜, 洗膜后加入 1:1 000 辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠抗体, 37℃ 孵育 1 h 后, ECL 显色。用 Bio-Rad 图像分析系统照像, 用 Quantity One 软件分析, 数值以相应蛋白条带的灰度值与  $\beta$ -actin 蛋白条带的灰度值表示, 实验重复 5 次。

### 1.3 统计学方法

实验数据用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用 SPSS17.0 软件进行分析处理, 各组间用方差分析进行比较, 并以 LSD-*t* 检验来进行不同处理组间的两两比较,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 大鼠骨髓 MSCs 的培养与鉴定

经贴壁筛选法所得到的大鼠 MSCs 为成纤维细胞样, 呈漩涡状贴壁生长(图 1)。流式细胞仪检测细胞表面标志物 CD34、CD45 为阴性, 证明其为非造血类细胞, CD90、CD105 为阳性, 符合 MSCs 特征。

### 2.2 大鼠骨髓 MSCs 对肝癌细胞增殖的影响

用 MTT 法检测 MSCs 对肝癌细胞增殖的影响, 并绘制生长曲线(图 2), HepG2 细胞株中对照组和 4 个实验组 24 h 的光密度值分别为  $0.414 \pm 0.01$ 、 $0.468 \pm 0.029$ 、 $0.502 \pm 0.015$ 、 $0.536 \pm 0.011$  和  $0.522 \pm 0.027$ ; 48 h 的光密度值分别为  $0.475 \pm 0.02$ 、 $0.617 \pm$

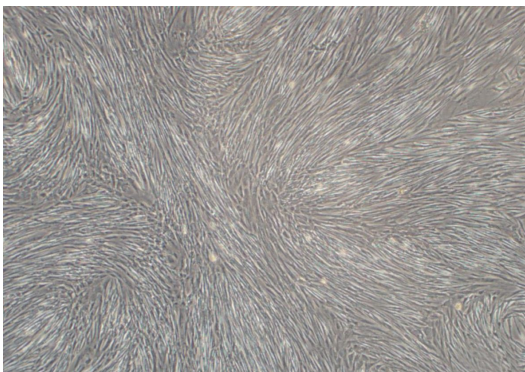


图 1 第 5 代 MSCs 的形态( $\times 100$ )

Figure 1 Spindle-shaped morphology and more confluent MSCs appear at passage 5( $\times 100$ )

$0.027$ 、 $0.760 \pm 0.015$ 、 $0.791 \pm 0.023$ 、 $0.771 \pm 0.013$ ; 72 h 的各组光密度值分别为  $0.530 \pm 0.039$ 、 $0.795 \pm 0.045$ 、 $0.877 \pm 0.008$ 、 $0.981 \pm 0.031$ 、 $0.966 \pm 0.034$ 。对各组数据进行统计学分析, 3 个时间点 4 组实验组与对照组间差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。4 个实验组间 25%MSC-CM 和 50%MSC-CM 处理组与其他实验组比较差异也有统计学意义( $P < 0.05$ ), 但 75%MSC-CM 组与 90%MSC-CM 组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

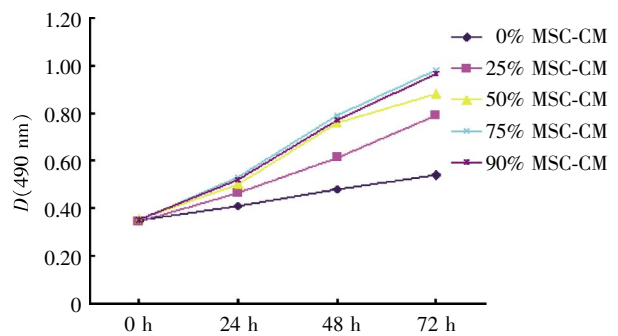


图 2 MTT 法检测 HepG2 细胞增殖

Figure 2 HepG2 cell proliferation was assessed by MTT

### 2.3 大鼠骨髓 MSCs 对肝癌细胞克隆形成能力的影响

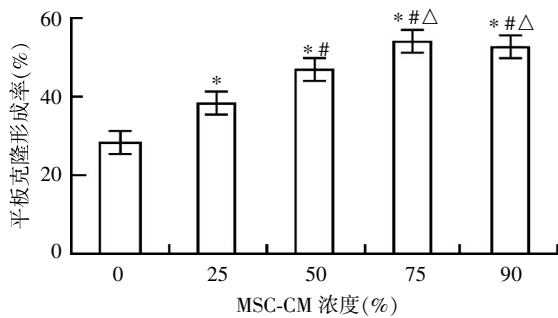
HepG2 细胞株中无 MSC-CM 处理对照组和 4 个实验组的克隆形成率分别为  $(28.34 \pm 1.20)\%$ 、 $(37.89 \pm 2.70)\%$ 、 $(46.57 \pm 1.10)\%$ 、 $(53.88 \pm 3.00)\%$  和  $(52.51 \pm 1.50)\%$ , 对照组与各实验组差异有统计学意义( $P < 0.05$ , 图 3); 25%MSC-CM 组与 50%、75%、90%MSC-CM 组相比, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 50%MSC-CM 组与 25%、75%、90%MSC-CM 组相比, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 而 75%MSC-CM 组与 90%MSC-CM 组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

### 2.4 大鼠骨髓 MSCs 对肝癌细胞空间克隆形成能力的影响

HepG2 细胞株中对照组空间克隆形成率为  $(11.27 \pm 2.12)\%$ , 25%、50%、75%、90%MSC-CM 4 个实验组的空间克隆形成率分别为  $(18.92 \pm 2.21)\%$ 、 $(27.22 \pm 1.15)\%$ 、 $(28.21 \pm 2.11)\%$ 、 $(27.12 \pm 1.53)\%$ , 对照组与各实验组差异有统计学意义( $P < 0.05$ , 图 4)。25%MSC-CM 组与 50%、75%、90%MSC-CM 组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 50%、75%、90%MSC-CM 组组间比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

### 2.5 大鼠骨髓 MSCs 对肝癌细胞周期的影响

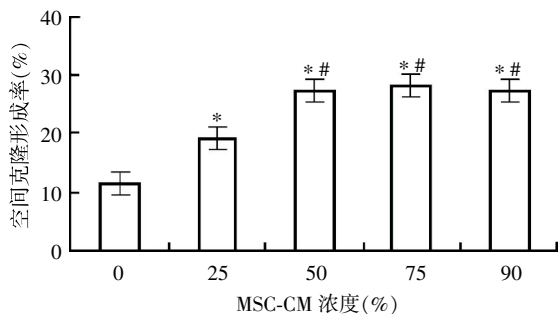
流式细胞术检测显示, 实验组 HepG2 细胞与无



与 0%MSC-CM 对照组比较, \* $P < 0.05$ ; 与 25%MSC-CM 组比较, # $P < 0.05$ ; 与 50%MSC-CM 组比较, △ $P < 0.05$ 。

图 3 平板克隆实验检测 HepG2 细胞克隆形成率

Figure 3 Effects of MSC-CM on plate colony formation ability of HepG2



与 0%MSC-CM 对照组比较, \* $P < 0.05$ ; 与 25%MSC-CM 组比较, # $P < 0.05$ 。

图 4 软琼脂克隆实验检测 HepG2 细胞空间克隆形成率

Figure 4 Effects of MSC-CM on soft agar colony formation ability of HepG2

MSC-CM 处理的对照组相比, G1 期比例降低, S 期、G2 期比例增加, 见图 5。

### 2.6 大鼠骨髓 MSCs 对肝癌细胞 Cyclin D1 蛋白表达的影响

Western blot 法结果显示, 无 MSC-CM 处理的对照组 HepG2 细胞表达 Cyclin D1 蛋白的相对灰度值为  $0.44 \pm 0.03$ , 实验组 75%MSC-CM 作用 24 h 后 Cyclin D1 蛋白的相对灰度值为  $0.89 \pm 0.05$ , 作用 48 h 后 Cyclin D1 蛋白的相对灰度值为  $1.16 \pm 0.05$ 。对照组与实验组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ , 图 6), 结果表明 MSC-CM 能增加肝癌细胞 HepG2 中 Cyclin D1 蛋白的表达量。

### 3 讨论

近年来, 肿瘤微环境在一系列肿瘤生物学行为中的作用引起了人们的广泛关注。实体肿瘤的存在和生长依赖于由多种细胞、分子组成的复杂的肿瘤微环境。骨髓 MSCs 作为肿瘤微环境中的一种前体细胞, 可能参与到实体肿瘤的各种生物学行为。

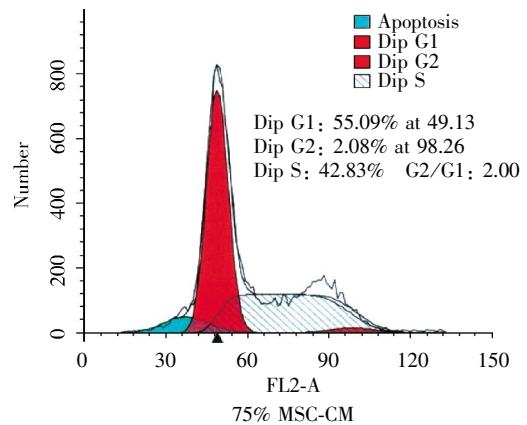
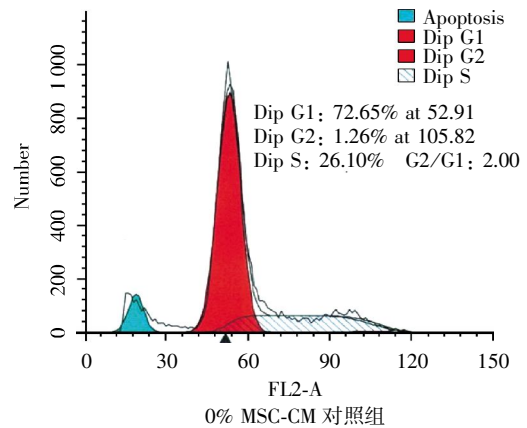
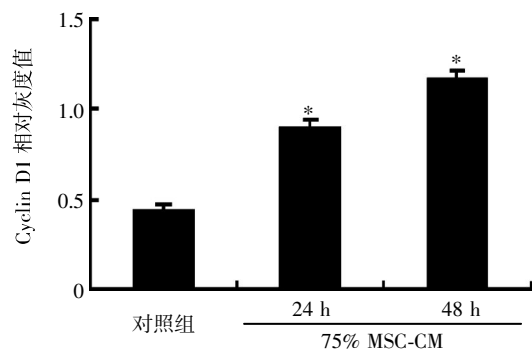
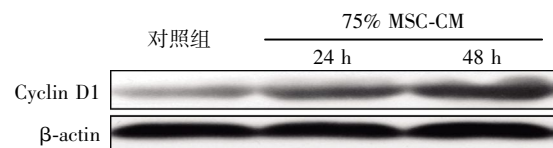


图 5 MSC-CM 对 HepG2 细胞周期的影响

Figure 5 Effect of MSC-CM on the cell cycle of HepG2



与对照组相比, \* $P < 0.05$ 。

图 6 MSC-CM 对 HepG2 细胞 Cyclin D1 蛋白表达的影响

Figure 6 Effect of MSC-CM on the expression of protein Cyclin D1 in HepG2

MSCs 具有强大的多向分化、自我更新、组织浸润和迁移能力。在乳腺癌患者的外周血中已检测到循环 MSCs 的存在, 并能够进行直接的分选和体外培养<sup>[13]</sup>。静脉注射的 MSCs 可以在肿瘤组织中归巢并可整合入肿瘤结构中而有助于肿瘤基质的形成<sup>[14]</sup>。

MSCs 在肿瘤中的作用并不统一,文献报道 MSCs 对肿瘤的作用存在双向性。在白血病<sup>[4-5]</sup>、黑色素瘤<sup>[6]</sup>、非霍奇金淋巴瘤<sup>[7]</sup>研究中 MSCs 抑制肿瘤的增殖和发展,而在乳腺癌<sup>[8-10]</sup>、前列腺癌<sup>[11-12]</sup>研究中发现 MSCs 促进肿瘤生长和转移。肝癌作为最常见的恶性肿瘤之一,它与 MSC 之间的关系还不十分明确。

MTT 试验结果显示实验组肝癌细胞光密度值增加,且具有统计学意义,表明 MSC-CM 能促进肝癌细胞增殖,其作用随着 MSC-CM 浓度增加而增大。平板克隆形成试验主要是评价单个细胞增殖能力和致瘤性的指标,细胞之间增殖能力的差异容易被检测出来,其结果表明在 MSC-CM 的作用下肝癌细胞的体外克隆形成能力增强,有着更强的对生存环境的适应性、更强的独立生存能力和致瘤能力。软琼脂克隆形成试验反映细胞群体依赖性和增殖能力两个重要性状,MSC-CM 处理后 HepG2 细胞空间克隆形成率增加,其结果与 MTT 实验、平板克隆实验结果一致,提示 MSC 可促进肝癌细胞的增殖。

细胞周期分为 G0/G1、S、G2/M 期,其进程存在 G1/S 期转换及 G2/M 期转换两个关卡点,其中以 G1/S 转换点最为重要。因为细胞一旦从 G1 期跨入 S 期,则可以不再依赖外界信息刺激而很快自动完成分裂过程。MSCs 促进肝癌 HepG2 细胞增殖是通过调控细胞周期中哪个阶段实现尚不清楚。由于前期细胞学实验表明在 75%浓度下干细胞上清对肝癌细胞作用最明显,因此本研究选择检测了 75% MSC-CM 浓度下孵育的肝癌细胞周期,结果表明在经过 MSC-CM 作用后,肝癌细胞周期发生了变化,G1 期比例降低,S 期和 G2 期比例增高,提示 MSCs 促进肝癌细胞增殖的机制可能与加速细胞周期进程有关。Cyclin D1 是细胞周期的主要调控蛋白,当 Cyclin D1 过度表达时,G1/S 期进程加速,造成细胞增殖失控。Western blot 结果显示 MSC-CM 能通过增加肝癌细胞 HepG2 中 Cyclin D1 蛋白的表达量而加速细胞周期的进程。Cyclin D1 在多种肿瘤中都有高表达<sup>[15]</sup>,并参与 WNT、AKT 等细胞信号通路,MSCs 是否通过某条或多条信号通路上调 Cyclin D1 蛋白的表达还需要继续研究。

#### [参考文献]

- [1] Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics, 2002[J]. CA Cancer J Clin, 2005, 55(2): 74-108
- [2] He J, Gu D, Wu X, et al. Major causes of death among men and women in China [J]. N Engl J Med, 2005, 353(11): 1124-1134
- [3] Dominici M, Le BK, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement [J]. Cytotherapy, 2006, 8(4): 315-317
- [4] Zhu Y, Sun Z, Han Q, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit cancer cell proliferation by secreting DKK-1 [J]. Leukemia, 2009, 23(5): 925-933
- [5] Otsu K, Das S, Houser SD, et al. Concentration-dependent inhibition of angiogenesis by mesenchymal stem cells [J]. Blood, 2009, 113(18): 4197-4205
- [6] Cousin B, Ravet E, Poglio S, et al. Adult stromal cells derived from human adipose tissue provoke pancreatic cancer cell death both *in vitro* and *in vivo* [J]. PLoS One, 2009, 4(7): e6278
- [7] Secchiero P, Zorzet S, Tripodo C, et al. Human bone marrow mesenchymal stem cells display anti-cancer activity in SCID mice bearing disseminated non-Hodgkin's lymphoma xenografts [J]. PLoS One, 2010, 5(6): e11140
- [8] Karnoub AE, Dash AB, Vo AP, et al. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis [J]. Nature, 2007, 449(7162): 557-563
- [9] Muehlberg F, Song YH, Krohn A, et al. Tissue-resident stem cells promote breast cancer growth and metastasis [J]. Carcinogenesis, 2009, 30(4): 589-597
- [10] Galie M, Konstantinidou G, Peroni D, et al. Mesenchymal stem cells share molecular signature with mesenchymal tumor cells and favor early tumor growth in syngeneic mice [J]. Oncogene, 2008, 27(18): 2542-2551
- [11] Lin G, Yang R, Banie L, et al. Effects of transplantation of adipose tissue-derived stem cells on prostate tumor [J]. Prostate, 2010, 70(10): 1066-1073
- [12] Prantl L, Muehlberg F, Navone NM, et al. Adipose tissue-derived stem cells promote prostate tumor growth [J]. Prostate, 2010, 70(15): 1709-1715
- [13] Roufosse CA, Direkze NC, Otto WR, et al. Circulating mesenchymal stem cells [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2004, 36(4): 585-597
- [14] Fierro FA, Sierralta WD, EPunan MJ, et al. Marrow-derived mesenchymal stem cells; Role in epithelial tumor cell determination [J]. Clin Exp Metastasis, 2004, 21(4): 313-319
- [15] Kim JK, Diehl J. Nuclear cyclin D1: an oncogenic driver in human cancer [J]. J Cell Physiol, 2009, 220(2): 292-296

[收稿日期] 2011-12-29