

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.02.007

· 临床研究 ·

骨髓增生异常综合征患者骨髓来源间充质干细胞的成骨分化特点及其临床意义

庞艳彬¹,任杰²,范丽霞¹,王静¹,赵松颖¹,薛华¹,化罗明¹,杜欣³(1. 河北大学附属医院 血液内科, 河北 保定 071000; 2. 河北易县县医院 内科, 河北 易县 074200; 3. 广东省人民医院/广东省医学科学院, 华南理工大学医学院第一临床医院 血液内科, 广东 广州 510080)

[摘要] **目的:** 探讨骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)患者骨髓来源间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)成骨分化特点及其临床意义。**方法:** 骨髓标本取自河北大学附属医院血液内科30例未经治疗的新诊断的MDS患者。分离培养MDS患者及正常人的MSC, 体外培养并观察MSC的形态学特点。在适当条件下诱导MSC向成骨细胞和成脂细胞分化, 茜素红染色观察成骨诱导分化第14天钙结节形成情况, 实时荧光定量PCR法检测未分化MSC中成骨分化转录因子*Osteifx*、*RUNX2*以及参与造血细胞向白血病细胞转化的*Jagged-1*的mRNA表达水平。**结果:** MDS患者的骨髓来源的MSC表现为细胞体积增大、分化潜能下降。与对照组相比, 成骨分化转录因子*Osterix*和*RUNX2*表达水平明显下降(均 $P<0.05$); 茜素红染色结果显示, MDS组钙结节含量也明显少于正常对照组, 而*Jagged-1*的表达水平明显升高(均 $P<0.05$)。**结论:** MDS骨髓来源的MSC细胞体积增大、成骨分化能力明显减弱以及*Jagged-1*的表达水平升高, 可能在MDS造血功能衰竭和向急性髓系白血病转化的过程中发挥了重要作用。

[关键词] 骨髓增生异常综合征; 间充质干细胞; 成骨分化

[中图分类号] R733.3; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)02-0148-05

Characteristics and clinical significance of osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells derived from bone marrow in patients with myelodysplastic syndromes

PANG Yanbin¹, REN Jie², FAN Lixia¹, WANG Jing¹, ZHAO Songying¹, XUE Hua¹, HUA Luoming¹, DU Xin³(1. Department of Hematology, Affiliated Hospital of Hebei University, Baoding 071000, Hebei, China; 2. Department of Internal Medicine, Yixian County Hospital of Hebei, Yixian 074200, Hebei, China; 3. Department of Hematology, Guangdong General Hospital / Guangdong Academy of Medical Sciences, the First Clinical Hospital of Medicine School of South China University, Guangzhou 510080, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the osteogenic differentiation characteristics of mesenchymal stem cell (MSC) derived from bone marrow in patients with myelodysplastic syndromes (MDS) and its clinical significance. **Methods:** Bone marrow samples from 30 cases of newly diagnosed untreated MDS patient at Affiliated Hospital of Hebei University were collected for this study. MSCs from MDS patients and normal subjects were isolated and cultured, and morphological characteristics of MSCs were observed *in vitro*; under proper conditions, MSCs were induced to differentiate into osteoblasts and adipocytes; The formation of calcium nodules at 14th day after osteogenic differentiation was observed by alizarin red staining; mRNA expressions of osteogenic differentiation transcription factors *Osteifx* and *RUNX2* in undifferentiated MSCs, as well as the mRNA expression of *Jagged-1*, which involved in the transformation from hematopoietic cells into leukemic cells, were detected by quantitative PCR. **Results:** The MSCs derived from patients with MDS were characterized with increased cell volume and decreased differentiation potential. Compared with the control group, the expression levels

[基金项目] 广东省科技计划项目资助(No. 2017B020230004)。Projected supported by the Science and Technology Plan of Guangdong Province (No. 2017B020230004)

[作者简介] 庞艳彬(1980-)男, 硕士, 主治医师, 主要从事骨髓微环境中的间充质干细胞在骨髓增生异常综合征发病机制的研究, E-mail: 1113911251@qq.com

[通信作者] 杜欣(DU Xin, corresponding author), 博士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 主要从事骨髓增生异常综合征造血微环境与免疫调节的研究, E-mail: miyadu@hotmail.com

of osteogenic differentiation transcription factors *Osterix* and *RUNX2* were significantly decreased ($P < 0.05$). Alizarin red staining showed that the content of calcium nodules in MDS group was significantly less than that in the normal control group, while the expression level of *Jagged-1* was significantly higher ($P < 0.05$). **Conclusion:** MSCs derived from bone marrow of MDS patients showed significant increased cell volume, decreased differentiation potential and elevated *Jagged-1* expression; all of these might play important roles in the hematopoietic failure and progression to acute myeloid leukemia in MDS patients.

[Key words] myelodysplastic syndromes(MDS); mesenchymal stem cell(MSC); osteogenic differentiation

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(2): 148-152. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.02.007]

骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)通常被认为是一组由造血干细胞异常构成的克隆性疾病,具有骨髓无效造血并伴有不同程度向急性髓系白血病转化的特点^[1-2]。虽然MDS肿瘤细胞中的遗传学和分子学异常是目前MDS研究的重点,但是自从发现敲除骨髓微环境中的间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)内编码miRNA的核酸内切酶III的*Dicer1*基因导致小鼠骨髓出现MDS样表现后,骨髓微环境在MDS疾病进展中的作用日益受到重视^[3]。目前研究^[4]认为,MDS是造血干细胞和骨髓微环境均存在异常的肿瘤性疾病。MSC是骨髓微环境的关键构成成分,其可以分化为成骨细胞、成脂细胞在内的多种间质细胞,MSC及其衍生细胞均含有多种参与调控造血干细胞增殖、分化和归巢的基因^[5,6]。此外,MSC还具有独特的免疫调节功能,在维持骨髓免疫微环境稳定方面发挥了重要作用^[6]。MSC的成骨分化能力在形成适合造血干细胞生存的微环境过程具有不可或缺的作用,动物实验^[7]表明,成骨分化潜能下降的MSC在小鼠的肾被膜下形成不能适合造血干细胞生长的骨髓微环境。将MDS小鼠的肿瘤细胞移植入成骨潜能正常的骨髓微环境后,肿瘤细胞的造血功能改善,延缓了向急性髓系白血病(acute myelocytic leukemia, AML)的转化^[1]。总之,动物实验结果表明,MSC成骨分化能力在支持正常造血和肿瘤细胞向AML转化的过程中发挥了重要作用。然而,关于MDS患者骨髓来源的MSC成骨分化潜能的文献相对较少,且部分研究^[8-10]结果并不一致。为了进一步阐明MDS骨髓来源MSC成骨分化能力及MSC在MDS疾病进展中的作用,本研究对MDS骨髓来源MSC成骨分化潜能及其含有参与造血细胞向白血病细胞转化过程中发挥重要调控作用的*Jagged-1*的表达水平进行研究。

1 材料与方法

1.1 临床资料

骨髓标本取自河北大学附属医院血液内科30例未经治疗的新诊断的MDS患者,年龄34~80岁(中位年龄57岁)。根据2008年WHO中MDS的分类标准^[8],其中10例为难治性血细胞减少伴有多系病态造

血(refractory cytopenia with multilineage dysplasia, RCMD)、2例环形铁粒幼细胞性难治性贫血(refractory anemia with ringed sideroblast, RARS)、9例难治性血细胞减少伴有原始细胞增多(refractory anemia with excess blasts, RAEB)、4例为未分类MDS(MDS unclassified, MDS-u);2例MDS转变的急性髓系白血病,另外有3例慢粒-单核白血病。将本科治疗的20例性别和年龄匹配的缺铁性贫血或巨幼细胞性贫血患者的骨髓标本作为对照组,年龄32~73岁(中位年龄55岁)。本研究所有供者和患者均签署知情同意书,并得到医院伦理委员会批准。

1.2 主要试剂与材料

Ficoll分离液(美国Sigma公司),MSC培养基、成骨分化培养基和成脂诱导分化培养基(广州赛叶生物科技有限公司),0.25%胰酶(美国Sigma公司),藻红蛋白(PE公司),小鼠抗人、单克隆抗体、异硫氰酸荧光素(FITC)(美国BD公司),TRIzol试剂(美国Invitrogen公司)。ABI 7500 PCR仪(美国Perkin Elmer公司),倒置显微镜(日本Olympus公司),台式离心机(德国Eppendorf公司)流式细胞仪(美国BD公司)。

1.3 MSC的分离与培养

在诊断时留取新鲜骨髓标本,肝素抗凝,与1×PBS稀释后加入1.077 g/ml的Ficoll分离液分层,600×g离心15 min获得骨髓单个核细胞,应用人MSC培养基,其中含有10%胎牛血清、谷氨酰胺和100 U/ml的青霉素。将骨髓单个核细胞种植在25 cm²的培养皿,放置在37℃、5% CO₂饱和湿度的培养箱内培养。72 h后更换培养基并去除非贴壁细胞,每周换液2次。当细胞达到70%~80%汇合度后,应用0.25%胰酶消化,1:3进行传代。第2~4代的MSC收获后用于实验分析。

1.4 MSC的表型鉴定

为了达到MSC的最低诊断标准并排除血细胞的污染,对MSC表达的CD34、CD45、CD73、CD90、CD109和CD166进行表型鉴定^[9]。消化、收集第3代MSC 2×10⁵个细胞,加入0.9 ml的PBS,170×g离心5 min,弃上清。流式管中剩余约100 μl PBS,加藻红蛋白(PE)标记的小鼠抗人表达CD73、CD166和CD105,单克隆抗体或异硫氰酸荧光素(FITC)标记的

小鼠抗人CD34、CD90和CD45单克隆抗体,以及PE或FITC标记的小鼠抗人IgG1同型对照抗体10 μ l,振荡混匀,4 $^{\circ}$ C避光孵育30 min。PBS洗1次,180 \times g离心5 min,弃上清。每管加入2%多聚甲醛400 μ l重悬,流式细胞仪检测。

1.4 MSC的分化

以 $2\times 10^4/\text{cm}^2$ 的密度将第2代MSC种植在6孔板中,每周更换培养基2次,待MSC汇合度达到70%后,更换为人MSC成骨分化培养基继续培养,每3 d换液1次。培养14 d后细胞固定,茜素红染色、照相。成脂分化:将 $2\times 10^4/\text{cm}^2$ 细胞接种于6孔板中,每周更换培养基2次,直到细胞汇合度达到100%或者过汇合。加入MSC至成脂诱导分化培养基A液,诱导3 d后,更换为间质干细胞成脂诱导分化培养基B液;24 h后,换回A液进行诱导;A液和B液交替作用3次后,继续用B液维持培养2 d,细胞固定,油红染色,照相。

1.5 实时荧光定量PCR(qPCR)检测基因的表达水平

收集第3代MSC,加入1 ml TRIzol提取总RNA,取3 μ g RNA根据RNA逆转录试剂盒逆转录成cDNA,以此为模板进行PCR扩增。反应条件如下:第一步预变性95 $^{\circ}$ C 30 s;第二步PCR反应95 $^{\circ}$ C 5 s,60 $^{\circ}$ C 34 s,40个循环;溶解曲线95 $^{\circ}$ C 15 s,60 $^{\circ}$ C 1 min,95 $^{\circ}$ C 15 s,并在81 $^{\circ}$ C(内参选 β -actin基因)各设一次读板检测荧光。扩增完成后,再进行熔解曲线分析,以0.17 $^{\circ}$ C/s变化速度从55 $^{\circ}$ C到95 $^{\circ}$ C每隔2 s记录1次荧光值,可获得熔解曲线。为了减少各实验组间的差异,每一标本均设3组平行孔。*Oxterix*、*RUNX2*和*Jagged-1*的引物序列见表1。随后确定循环数阈值,mRNA表达的相对数量通过比较Ct的方法值计算获得,通过相对于 β -actin和参照基因的标准化,靶基因的相对数值被表达为 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 。 ΔCT =靶基因的CT值-内参基因CT值, $-\Delta\Delta\text{CT}$ =靶基因样本的CT值-靶基因的参照样本的CT值。

表1 *Oxterix*、*RUNX2*和*Jagged-1*基因的引物序列
Tab. 1 Primer sequences of *Oxterix*, *RUNX2* and *Jagged-1*

Gene	Forward	Reverse
<i>Oxterix</i>	TCTCCATCTGCCTGGCTCCTT	CTGCACGCTGCCGTCAGCATG
<i>RUNX2</i>	TCTTCAGCACAGTGACACCAT	CTGTTGCGCAGCCACCACCG
<i>Jagged-1</i>	CTATACGTTGCTTGTGGAGGC	TGCTTCAGCGTCTGCCACTGC
β -actin	TATGGAGAAGATTTGGCACC	ATGAGACACACCTAAGGACC

1.6 统计学处理

采用SPSS20.0统计学软件,计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,靶基因*SDF-1*、*PD-L1*在MDS-MSC和健康对照MSC中的表达对比采用独立样本 t 检验,以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MSC的形态及表型鉴定

与对照组MSC全部能够实现体外生长不同,MDS组只有20例患者的MSC实现体外生长。对照组MSC表现出纤细的梭性外观,而MDS-MSC多呈现扁平状外观,体积较大(图1)。对照组和MDS组MSC免疫表型均高表达(>95%)已标记的CD166、CD73、CD105和CD90,低表达(<2%)CD45、CD34(图2)。

2.2 MDS来源的MSC的成骨分化潜能明显下降

茜素红(图3A)和油红染色(图3B)结果显示,对照组和MDS组MSC在体外具有成骨和成脂细胞分化潜能。茜素红细胞化学染色显示MDS组MSC的钙结节含量明显少于对照组,提示MDS组MSC成骨分化潜能较对照组明显下降。为了进一步定量分析

MDS组和对照组MSC成骨分化潜能间的差异,对MSC中参与成骨分化的转录因子的表达水平进行qPCR定量分析,结果显示,MDS组中*Oxterix*和*RUNX2*的 $\Delta\Delta\text{CT}$ 值明显高于对照组(*Oxterix*: 5.96 ± 1.75 vs 4.37 ± 1.86 , $P<0.05$; *RUNX2*: 3.22 ± 1.31 vs 2.18 ± 1.00 , $P<0.01$)。表明*Oxterix*和*RUNX2*基因表达水平在MDS组中明显下降,提示MDS来源的MSC的成骨分化潜能明显下降。

2.3 MDS来源的MSC中*Jagged-1*表达水平明显升高

正常的造血干细胞移植入高表达*Jagged-1*的骨髓微环境后可使其转化为白血病细胞。qPCR检测结果显示,MDS来源MSC中*Jagged-1*的表达水平 $\Delta\Delta\text{CT}$ 值明显低于对照组(2.03 ± 1.16 vs 3.73 ± 0.98 , $P<0.01$)。表明MDS来源的MSC中*Jagged-1*基因表达水平高于对照组MSC的表达水平,可能参与MDS向AML的转化。

3 讨论

近年来的研究发现,MDS的发生除与肿瘤细胞中的遗传学和分子学异常有关以外,还可能与骨髓微环境的异常有关^[3-4]。骨髓微环境中关键构成成分

MSC的功能改变既可导致MDS的造血功能衰竭又促使MDS向AML转化^[1]。本研究发现MDS来源的MSC不仅形态上表现出老化的特点,更重要的是成骨分化潜能下降,参与造血细胞向白血病转化的*Jagged-1*表达增高,可能在MDS疾病进展过程中发挥了重要作用。

与大部分研究者的结果类似,本研究结果也证明MDS来源的MSC成骨分化潜能下降,尽管也有少数实验结果证明MDS来源的MSC成骨潜能并未下降^[8-11]。造成这种差异的原因可能与后者只是采用茜苏红化学染色单一的实验方法,分析MDS来源的MSC成骨分化潜能。该实验方法并不能定量反映MDS来源的MSC与对照组MSC在成骨分化能力之间的差异^[8]。Fei等^[11]对MSC中未分化时参与成骨分化的转录因子*Osterix*和*RUNX2*、诱导分化过程中早

期*ALP*、*BSP*和*COL-1*、末期的*OPN*和*OCN*等成骨相关基因表达水平通过PCR定量分析,发现MDS来源的MSC成骨分化水平明显下降。Geyh等^[8]通过多种细胞化学染色并对结果应用软件进行量化分析同样证明MDS来源的MSC成骨分化潜能下降。

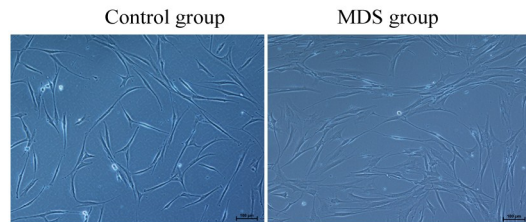
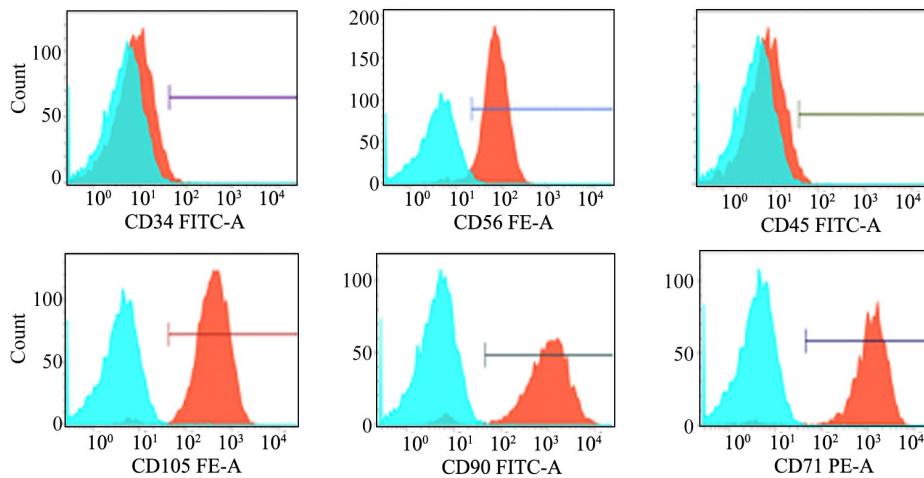


图1 MSC的形态特点

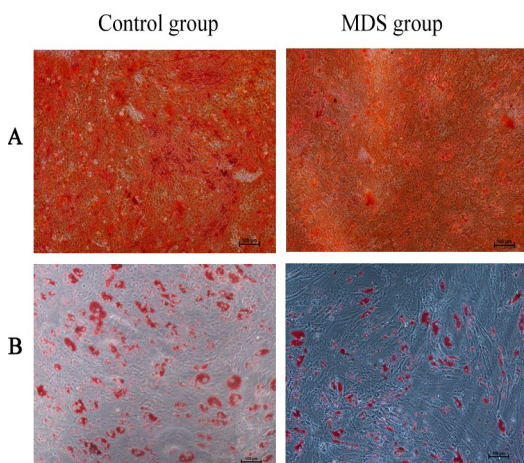
Fig.1 The morphological characteristics of MSCs



Blue: Corresponding isotype control; Red: Tested sample

图2 流式细胞术检测MSC中CD34、CD45、CD73、CD90、CD166和CD105表型

Fig.2 The phenotypes of CD34, CD45, CD73, CD90, CD166 and CD105 in MSCs detected by Flow cytometry



A: Alizarin red staining; B: Oil red staining

图3 MSC的分化特点

Fig.3 Differentiation characteristics of MSCs

MDS来源的MSC的成骨分化潜能下降可能在MDS疾病进展中具有重要意义。近年来动物研究表明,MSC只有在经历软骨内成骨的过渡阶段后才能被重塑形成适合造血干细胞生存的骨髓微环境,分化产生所需的成熟细胞,而*RUNX2*表达下降的MSC由于成骨分化潜能受损,形成不能适合造血干细胞生长的骨髓微环境^[7]。成骨分化潜能下降的MDS来源的MSC与正常造血干细胞体外共培养实验结果表明MDS来源的MSC使大部分造血干细胞处于G0/G1期,提示对正常造血的支持功能下降^[8]。

MDS来源的MSC支持正常造血能力下降并诱导MDS肿瘤细胞向AML转化可能与其分泌的*Jagged-1*表达升高有关^[12]。*Jagged-1*是NOTCH信号通路的经典受体之一,该通路传递细胞表面信号,在进

化上高度保守,参与了多种细胞的分化过程^[13-14]。NOTCH信号通路的机制复杂,简单的说配体与细胞表面的NOTCH信号受体结合后,细胞内结构域通过多次水解转移到细胞核后与转录复合体结合,通过不同的作用机制使正常造血干细胞功能衰竭,同时促进造血细胞向白血病细胞转化^[14-15]。Kode等^[16]的动物实验结果证明,移植*Jagged-1*到骨髓微环境的正常造血干细胞中,最终转化为白血病细胞,而通过基因加工降低微环境中*Jagged-1*分泌或药物抑制NOTCH信号通过的活化,则使小鼠的贫血得到改善、抑制白血病细胞向髓系偏倚,并阻止白血病的形成,说明*Jagged-1*参与抑制正常造血和正常造血干细胞向白血病转化的过程。与其他研究者^[17-18]的结果相似,本研究在基因水平上同样证明MDS来源的MSC中*Jagged-1*表达增加^[8]。近期研究结果^[18]表明,单纯针对MDS肿瘤细胞的治疗可能并不能将其治愈,同时对MDS肿瘤细胞和微环境进行干预的治疗方式有可能进一步改善MDS治疗效果。

综上所述,本研究发现MDS骨髓微环境中的关键构成充分MSC的成骨分化潜能下降、*Jagged-1*表达升高可能在MDS疾病进展中发挥重要作用,为探索靶向干预MDS肿瘤细胞与微环境间相互作用作为MDS的一种治疗方式提供了理论依据。

[参考文献]

- [1] BALDERMAN S R, LI A J, HOFFMAN C M, et al. Targeting of the bone marrow microenvironment improves outcome in a murine model of myelodysplastic syndrome[J]. *Blood*, 2016, 127(5): 616-625. DOI: 10.1182/blood-2015-06-653113.
- [2] SPERLING A S, GIBSON C J, EBERT B L. The genetics of myelodysplastic syndrome: from clonal haematopoiesis to secondary leukaemia[J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(1): 5-19. DOI: 10.1038/nrc.2016.112.
- [3] ZAMBETTI N A, PING Z, CHEN S, et al. Mesenchymal inflammation drives genotoxic stress in hematopoietic stem cells and predicts disease evolution in human pre-leukemia[J]. *Cell Stem Cell*, 2016, 19(5): 613-627. DOI: 10.1016/j.stem.2016.08.021.
- [4] MEDYOUF H, MOSSNER M, JANN J C, et al. Myelodysplastic cells in patients reprogram mesenchymal stromal cells to establish a transplantable stem cell niche disease unit[J]. *Cell Stem Cell*, 2014, 14(6): 824-837. DOI: 10.1016/j.stem.2014.02.014.
- [5] 杨兴肖, 单保恩. 间充质干细胞对移植抗宿主病的免疫调节作用[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2011, 18(03): 337-342. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.03.020.
- [6] FRACCHIOLLA NS, FATTIZZO B, CORTELEZZI A. Mesenchymal stem cells in myeloid malignancies: a focus on immune escaping and therapeutic implications[J/OL]. *Stem Cells Int*, 2017, 2017: 6720594[2017-11-13]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5602646/>. DOI: 10.1155/2017/6720594.
- [7] REINISCH A, ETCHART N, THOMAS D, et al. Epigenetic and in vivo comparison of diverse MSC sources reveals an endochondral signature for human hematopoietic niche formation[J]. *Blood*, 2015, 125(2):249-260. DOI: 10.1182/blood-2014-04-572255.
- [8] GEYH S, OZ S, CADEDDU R P, et al. Insufficient stromal support in MDS results from molecular and functional deficits of mesenchymal stromal cells[J]. *Leukemia*, 2013, 27(9): 1841-1851. DOI: 10.1038/leu.2013.193.
- [9] PANG Y B, DENG C X, GENG S X, et al. Premature exhaustion of mesenchymal stromal cells from myelodysplastic syndrome patients[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(7): 3462-3468.
- [10] KLAUS M, STAVROULAKI E, KASTRINAKI M C, et al. Reserves, functional, immunoregulatory, and cytogenetic properties of bone marrow mesenchymal stem cells in patients with myelodysplastic syndromes[J]. *Stem Cells Dev*, 2010, 19(7): 1043-1054. DOI: 10.1089/scd.2009.0286.
- [11] FEI C M, ZHAO Y S, GU S C, et al. Impaired osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells derived from bone marrow of patients with lower-risk myelodysplastic syndromes[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(5): 4307-4316. DOI: 10.1007/s13277-013-1565-6.
- [12] TIAN Y, XU Y, XUE T Y, et al. Notch activation enhances mesenchymal stem cell sheet osteogenic potential by inhibition of cellular senescence[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(2): e2595[2017-11-17]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5386477/>. DOI: 10.1038/cddis.
- [13] EVANS A G, CALVI L M. Notch signaling in the malignant bone marrow microenvironment: implications for a niche-based model of oncogenesis[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2015, 1335(1): 63-77. DOI: 10.1111/nyas.12562.
- [14] 范冬梅, 张子祥, 赵英新, 等. 人脐带来源间充质干细胞向HepG2肝癌细胞原位移植瘤的归巢及分化[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(6): 595-600. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.06.004.
- [15] 贾文婷, 蔡准, 张雪鹏, 等. ADAM17-shRNA转染的骨髓间充质干细胞对裸鼠乳腺癌移植瘤生长的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(10): 1088-1092. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.10.008.
- [16] KODE A, MANAVALAN J S, MOSIALOU I, et al. Leukemogenesis Induced by an Activating β -catenin mutation in osteoblasts[J]. *Nature*, 2014, 506(7487): 240-244. DOI: 10.1038/nature12883.
- [17] 庞艳彬, 薛华, 杜欣. 间充质干细胞在骨髓增生异常综合征发生发展中的作用[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(9): 1032-1036. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.09.018.
- [18] GLENTHØJ A, ØRSKOV A D, HANSEN J W, et al. Immune mechanisms in myelodysplastic syndrome[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(6): 944-951. DOI: 10.3390/ijms17060944.

[收稿日期] 2017-10-11

[修回日期] 2017-12-18

[本文编辑] 王映红