



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102539736 A

(43) 申请公布日 2012. 07. 04

(21) 申请号 201110422541. X

(22) 申请日 2011. 12. 16

(71) 申请人 北京汉氏联合生物技术有限公司
地址 100176 北京市大兴区北京经济技术开
发区康定街 1 号院 3 号楼一、二层

(72) 发明人 韩忠朝

(74) 专利代理机构 北京国帆知识产权代理事务
所(普通合伙) 11334
代理人 李增朝

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006. 01)

C12N 5/0775(2010. 01)

C12N 5/0735(2010. 01)

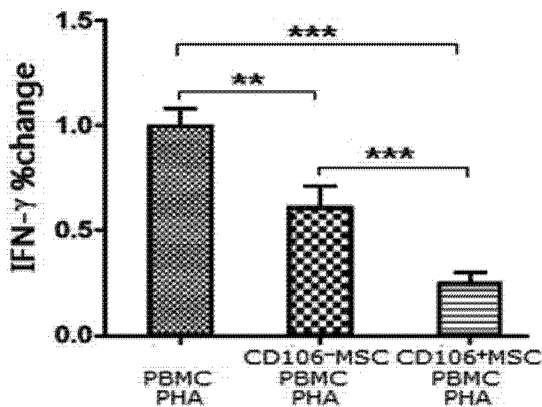
权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 4 页

(54) 发明名称

一种 CD106 阳性细胞、其鉴定、制备方法及应
用

(57) 摘要

本发明公布了一种 CD106 阳性间充质干细胞的鉴定、制备方法及其应用。通过免疫学的手段从骨髓或胎盘等组织分离出的单个核细胞鉴定并分离出 CD106 阳性细胞,再进行贴壁培养操作,获取贴壁的 CD106 阳性细胞;或将骨髓或胎盘等组织分离出的单个核细胞贴壁培养操作,获取贴壁的间充质细胞,在获得足够的细胞时,再分离出其中 CD106 阳性的间充质干细胞。这些 CD106 阳性为间充质干细胞,贴壁生长,表达间充质干细胞相关免疫表型,具有成骨、成脂等分化能力。与 CD106 阴性间充质干细胞相比具有更强的免疫抑制能力,可以更好的抑制淋巴细胞增殖和分泌 IFN- γ ,可以用于 GVHD 和自身免疫系统疾病的治疗。



1. 一种干细胞亚群的鉴定方法,其特征是,利用技术手段鉴定表面标志物 CD106 为阳性的细胞。

2. 如权利要求 1 所述的鉴定方法,其特征是,所述鉴定表面标志物 CD106 的技术手段是免疫学方法。

3. 如权利要求 2 所述的鉴定方法,其特征是,所述免疫学方法是流式细胞技术。

4. 如权利要求 1-3 所述的鉴定方法,其特征是所述 CD106 阳性细胞为间充质干细胞。

5. 如权利要求 4 所述的鉴定方法,其特征是所述间充质干细胞为人间充质干细胞。

6. 如权利要求 5 所述的鉴定方法,其特征是所述人间充质干细胞的来源包括人胎盘组织及骨髓组织。

7. 如权利要求 6 所述的鉴定方法,其特征是所述人间充质干细胞的来源为人胎盘组织。

8. 如权利要求 1-3、5-7 所述的鉴定方法,用于鉴定分离相对于天然状态下的间充质干细胞具备更强免疫抑制能力的间充质干细胞亚群。

9. 一种 CD106 阳性细胞的制备方法,其特征是采用技术手段将利用权利要求 1-3、5-7 所述鉴定方法鉴定的 CD106 阳性细胞亚群由天然组织中分离。

10. 如权利要求 4 所述的分离方法,其特征是所述技术手段为免疫学方法。

11. 如权利要求 5 所述的分离方法,其特征是所述免疫学方法包括流式细胞仪分选、免疫磁珠分离。

12. 一种 CD106 阳性细胞,其特征是由权利要求 9 所述的制备方法制备的。

13. 如权利要求 12 所述的 CD106 阳性细胞,其特征是表达细胞表面标记还包括 CD29、CD44、CD73、CD90、CD105、CD166。

14. 根据权利要求 12 所述的 CD106 阳性细胞,其特征是:所述 CD106 阳性细胞为间充质干细胞,具有成骨、成脂分化能力。

15. 根据权利要求 12 所述的 CD106 阳性细胞,其特征是:所述 CD106 阳性间充质干细胞与 CD106 阴性间充质干细胞相比,表达更高的前列腺素 E2 (PGE2) 和 HGF,具有更强的免疫抑制作用和促血管新生功能。

16. 根据权利要求 12-15 所述的 CD106 阳性细胞,其在人体骨髓细胞中的数量可以反映体内免疫调控水平的高低。

17. 根据权利要求 12-15 所述的 CD106 阳性细胞,可以用于制备治疗 GVHD 和自身免疫系统疾病的药物。

18. 一种分离人间充质干细胞亚群的方法,包括以下步骤:

从组织原代分离出的单个核细胞分离出 CD106 阳性细胞,再进行贴壁培养操作,获取贴壁的 CD106 阳性细胞;

或将从组织原代分离出的单个核细胞贴壁培养操作,获取贴壁的间充质细胞,在获得足够的细胞时,再分离出其中 CD106 阳性细胞。

一种 CD106 阳性细胞、其鉴定、制备方法及应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种细胞的分离和制备,专利涉及一种具有更强免疫抑制能力的 CD106 间充质干细胞的分离制备办法。

背景技术

[0002] 大量的体内、体外研究表明,间充质干细胞(mesenchymal stemcell, MSC)能够直接抑制 T 细胞的增殖、分化及其效应机制,或者通过抑制树突细胞(dendritic cell, DC)的分化和成熟,间接抑制 T 细胞的增殖,以及影响效应 T 细胞亚群的分化。除了 T 淋巴细胞和 DC, MSC 的靶细胞还包括众多其他类型的免疫细胞,如 NK 细胞(natural killer cell, NK)、B 细胞、中性粒细胞、巨噬细胞等,调节这些细胞免疫生物学活性,如细胞因子的分泌,细胞毒活性等,最终诱导抗炎效应和 / 或免疫耐受状态。目前对 MSC 的免疫调节机制还不清楚,但是普遍认为 MSC 主要通过细胞间接触和可溶性因子的分泌发挥免疫抑制功能。

[0003] 多种可溶性因子参与 MSC 介导的免疫调节效应,它们可能直接来源于 MSC,或者通过 MSC 和靶细胞交互作用旁分泌产生。目前研究较多的可溶性因子是前列腺素 E2 (PGE2) 和人吲哚胺 2,3-双加氧酶 (IDO)。MSC 组成性表达一种对 PGE2 合成起关键作用的酶,即环氧化酶 2 (Cyclooxygenase, COX-2)。MSC 和外周血单个核细胞(PBMC)共培养可引起 PGE2 的分泌上调,炎性细胞因子干扰素- γ (IFN- γ)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)能提高 MSC 释放 PGE2 的水平。从受体支气管肺泡灌洗液中分离的同种异源 MSC 具有合成 PGE2 的能力,体内外可以利用化学抑制剂阻断 PGE2 的生成来减轻 MSC 介导的免疫抑制功能,这些结果表明 PGE2 是参与 MSC 免疫调节效应的关键分子。MSC 不组成性表达 IDO,但是靶细胞来源的 IFN- γ 可诱导 MSC 表达 IDO。IDO 是色氨酸降解为犬尿氨酸过程中的限速酶,而色氨酸是 T 细胞增殖所必需的氨基酸,其降解产物的堆积对 T 细胞增殖有抑制作用,这样,在 IFN- γ 存在下, MSC 表达 IDO,加速色氨酸的代谢,抑制 T 淋巴细胞的增殖。其他参与 MSC 免疫调节的可溶性因子包括转化生长因子- β 1 (TGF- β 1)、肝细胞生长因子(HGF)、白细胞介素-10 (IL-10)、白细胞介素-6 (IL-6)、可溶性组织相容性白细胞抗原-G5 (HLA-G5)、一氧化氮(NO)和半乳糖凝集素-9 (Galectin-1)等,它们可能通过诱导调节性 T 细胞的生成、影响效应靶细胞的增殖、凋亡以及效应因子的分泌等途径介导 MSC 的免疫抑制功能。NO 则更多参与小鼠 MSC 介导的免疫抑制效应。

[0004] 多种因素影响 MSC 的免疫调节能力,其中最重要的因素可能是细胞因子微环境。目前研究发现 IFN- γ 的分泌可能对 MSC 的免疫功能起重要作用。高浓度的 IFN- γ 可提高 MSC 的免疫抑制能力,导致 MSC 对 NK 细胞的抑制效应占优势。体外炎性因子如 TNF- α 和 IFN- γ 也可引起 MSC 的 COX-2 和 PGE2 表达上调,通过 PGE2 依赖的方式抑制免疫应答。炎性因子作用 MSC 能上调黏附分子 VCAM-1 和 ICAM-1,有助于 MSC 与 T 细胞的黏附,从而发挥其 T 细胞增殖的抑制功能。可以说, MSC 所具备的这种免疫抑制特点使之在医学上有巨大的应用潜力,可以应用于器官移植中排异反应以及各种自身免疫性疾病的治疗等多种情况。然而,常规制备的 MSC 是一个不均一的干细胞群体,并非所有的 MSC 都具备均一的较强

免疫抑制能力,其到目前为止,尚未有某种成熟的公开技术能够从 MSC 细胞群体中特异性地鉴别并获取较高免疫抑制能力的细胞群体。

[0005] 关于间充质干细胞表达 CD106 (又叫 VCAM-1) 的报道不一。有报道说骨髓间充质干细胞表达 CD106 阳性,而脐带、脂肪间充质干细胞 CD106 表达多为阴性或弱阳性。有人认为 STRO-1 /CD106/CD146 均可作为有效分选干细胞的标记。上述报道是基于其分化能力来说的,如在申请号为 200880002860.1 的专利中提到用 CD44 和 CD106 双阳性分选间充质干细胞用于形成牙,申请号为 200480014698.7 的专利提到 CD106 阳性分选间充质前体细胞可以分化成血管和牙本质等。Ren 等在免疫学杂志(Journal of Immunology, 2010 ;184:2321-8)发表的文章中指出,炎症因子可以上调 ICAM-1 和 VCAM-1 增强免疫抑制效果,用 IFN- γ 能刺激间充质干细胞增加 VCAM-1 表达,但这同时也会增加 HLA-DR 的表达。本发明中,我们比较研究了 CD106 阳性和阴性的间充质干细胞的成骨和成脂分化能力,发现没有明显的差异,但发现了 CD106 阳性的间充质干细胞具有更强的抑制淋巴细胞分泌 IFN- γ 的能力,表达更高的水平的 COX2 和 HGF。进一步,我们发现 CD106 阳性的间充质干细胞不表达 HLA-DR。基于这些研究发现,本发明建立一种 CD106 阳性间充质干细胞亚群的鉴定、制备方法,用于鉴别人体内间充质干细胞的免疫调节水平、制备可以治疗移植物抗宿主病和自身免疫性疾病的高免疫抑制活性间充质干细胞制剂。

发明内容

[0006] 针对现有技术中所存在的缺乏有效鉴定和分选高免疫抑制能力的间充质干细胞的方法的技术缺陷,本发明提供如下的解决方案。

[0007] 利用发明人所发现的 CD106 阳性细胞的生物学特征,通过免疫学的方法鉴定并分离出 CD106 阳性的间充质干细胞,该干细胞亚群即具备了相对均一的高免疫抑制能力。具体来说是采用流式细胞仪或免疫磁珠进行纯化间充质干细胞中的 CD106 阳性细胞,并进行扩增操作。

[0008] 本发明的操作步骤概括如下:

(1) 从组织中分离出的单个核细胞分离出 CD106 阳性细胞,再进行贴壁培养操作,获取贴壁的 CD106 阳性细胞;

(2) 或将从组织中分离出的单个核细胞贴壁培养操作,获取贴壁的间充质细胞,在获得足够的细胞时,再分离出其中 CD106 阳性细胞;

根据上述方法,我们达到了以下效果(1)我们可以得到大量 CD106 阳性间充质干细胞;(2)得到了具有更强的抑制淋巴细胞增殖和分泌 IFN- γ 的活性间充质干细胞,可以用于自身免疫系统疾病的治疗。

[0009] 目前我们检测了成人骨髓、成人脂肪、羊膜、胎盘绒毛膜和脐带来源的细胞,其中成人骨髓、胎盘绒毛膜来源间充质干细胞表达较高水平的 CD106。

[0010] 我们认为 CD106 阳性的间充质干细胞是一种活化型的间充质干细胞,在骨髓和绒毛膜出现更多的活化型间充质干细胞是为了更好的抑制免疫反应,维持造血环境稳定和避免胎儿被母体排异。一些炎症因子能刺激 CD106 阴性间充质干细胞表达 CD106,但我们认为这是一过性的活化,因为实验发现撤除炎症因子后间充质干细胞的 CD106 很快就恢复到阴性。

附图说明

[0011] 图 1: 胎盘组织中 CD106⁺ 细胞比例, 横坐标为 CD106 PE 的荧光强度, 纵坐标为 SSC (侧向角);

图 2: CD106⁺ 细胞形态, 其呈典型的成纤维样细胞形态;

图 3: CD106⁺ 细胞流式表型;

图 4: CD106⁺ 细胞成脂和成骨分化; 成脂分化用油红 O 染色, 成骨分化用茜素红染色;

图 5: CD106⁺ 细胞和 CD106⁻ 细胞 COX2 和 HGF mRNA 表达比较, 纵坐标分别为 COX2 和 HGF mRNA 的相对表达量;

图 6: CD106⁺ 细胞和 CD106⁻ 细胞 PGE2 和 HGF 表达比较, 纵坐标分别为 PGE2 和 HGF 的浓度, 单位为纳克 / 毫升 (ng/ml);

图 7: CD106⁺ 细胞抑制 PHA 刺激的淋巴细胞分泌 IFN- γ , 横坐标为 PBMC 用 PHA 刺激组、CD106 阴性间充质干细胞与 PHA 刺激的 PBMC 共培养组、CD106 阳性间充质干细胞与 PHA 刺激的 PBMC 共培养组, 纵坐标为各组相对 PBMC 用 PHA 刺激组的 IFN- γ 表达量;

图 8: 治疗组和 GVHD 组的动物生存曲线。

[0012]

具体实施方式

[0013] 以下结合具体实施例对本发明作进一步的详细描述。

[0014] 实施例 1: 胎盘来源细胞的分离和其中 CD106 阳性细胞的获取及扩增培养。

[0015] 1. 胎盘的采集, 在产妇知情同意的情况采集胎盘。用无菌生理盐水冲洗胎盘, 然后将胎盘装入专用的无菌采集盒中, 并加入采集液。随后将胎盘 4℃ 运输到实验地点, 胎盘不超过 48 小时。

[0016] 2. 胎盘绒毛膜组织间充质干细胞的分离: (1) 用机械的方法分离出绒毛膜组织; (2) 将组织剪碎至 0.1-1 立方厘米, 然后用磷酸盐溶液反复冲洗组织块 5 次以上, 使组织块无明显的血凝块及其它杂物; (3) 按照与组织体积比 1:1 的比例加入胶原酶和胰酶的混合物, 37℃ 恒温消化 60 分钟; (4) 通过 200 目滤网获得单细胞悬液, 离心, 去掉上清; (5) 用 DF12 培养基重悬细胞。

[0017] 3. CD106 阳性细胞的分选: 按 stem cell 公司 EasySep® 正选人 PE 标记细胞的试剂盒 (货号: 18551) 的方法进行, 先用藻红蛋白 (PE) 标记的 CD106 抗体标记上述细胞, 再用标记有磁珠的抗 PE 抗体与上述细胞孵育, 按试剂盒的方法获得 CD106 阳性细胞。

[0018] 4. CD106 阳性间充质干细胞的获得, 将第 3 步获得的细胞用含 10% 体积比的胎牛血清的 DF12 培养基重悬, 并接种到培养瓶中, 每 3 天换液一次, 等细胞融合度达到 80-90% 时将细胞用质量比 0.25% 胰酶消化后按 1:3 传代培养, 将细胞扩增到所需的数量后进行冻存或使用。

[0019] 5. 流式细胞仪分析间充质干细胞中 CD106 阳性细胞的比例及间充质干细胞相关标记 (CD29、CD44、CD73、CD90、CD105、CD166) 的检测。将分离后的细胞按每个样本 2×10^5 细胞分管, 按专业人士熟知的方法使用抗体标记后, 用磷酸盐缓冲液 (PBS) 重悬到 400 μ L 装入流式管。用 BD 公司 FACSCalibur 流式细胞分析仪检测、分析。

[0020] 6. 成骨、成脂分化:以 4×10^4 细胞 / 孔接种于 6 孔板内。培养 24 小时后细胞贴壁,弃去培养液。

[0021] 成脂诱导体系(IMDM 培养基、10% FBS、10-6M 地塞米松、0.5 mM 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤、10 μ l/ml 胰岛素、60 μ M 吡哆美辛、2 μ M/ml L-谷氨酰胺)继续培养。每 3 天换液 1 次,共诱导 21 天。弃掉培养液, PBS 洗 2 次,10% 甲醛固定 30 分钟。PBS 再洗 3 次。加入 0.2% 油红 O 染液,37°C 染色 30 分钟。吸出染液回收, PBS 洗 3 次。显微镜下观察并照相。

[0022] 成骨诱导体系(IMDM 培养基、10% FBS、10-7M 地塞米松、0.2 mM 2-磷酸抗坏血酸、10 mM β -磷酸甘油、2 μ M/ml L-谷氨酰胺和 100 U/ml 青霉素 / 链霉素)继续培养。每 3 天换液 1 次,共诱导 14-21 天。培养 21 天,弃培养液, PBS 洗 2 次。甲醇:丙酮(1:1)室温固定 10 分钟, PBS 洗 3 次。加入 0.5% 茜素红,37°C 染色 30 分钟,弃染液, PBS 洗 3 次。显微镜下观察并照相。

[0023] 结果:我们分离的胎盘组织原代细胞中有 0.36% 的 CD106 阳性细胞(见图 1),分离的 CD106 阳性细胞经过贴壁培养,获得间充质干细胞,具有成纤维细胞形态(见图 2);通过流式检测 CD106 阳性细胞比例为 94%, CD29、CD44、CD73、CD90、CD105、CD166 的阳性率均在 99% 以上(见图 3)。诱导分化鉴定所获得 CD106 阳性细胞具有向成骨、成脂的分化能力(见图 4)。

[0024] 实施例 2:CD106 阳性间充质干细胞的分选。

[0025] 将扩增后的间充质干细胞,通过使用专业人士都熟知的磁珠分选方法,从胎盘来源细胞分离出 CD106 阳性细胞。

[0026] 结果:通过磁珠分选后,获得的 CD106 阳性细胞纯度为 97.91%。

[0027] 实施例 3:CD106 阳性间充质干细胞表达更高的 COX2/PGE2、HGF。

[0028] 将 CD106 阳性间充质干细胞与 CD106 阴性间充质干细胞分别扩增到所需数量,吸取培养上清留用,再用专业人士所熟知的方法提取上述两种细胞的 mRNA,并逆转录成 cDNA,用定量聚合酶链反应(rt-PCR)比较两种细胞 COX2 和 HGF 的 mRNA 表达量。

[0029] 将上步留用的培养上清用专业人士熟知的酶联免疫吸附法(ELISA)分别检测其中 PGE2 和 HGF 的含量。

[0030] 结果:CD106⁺ 间充质干细胞比 CD106⁻ 间充质干细胞表达更高水平的 COX2 和 HGF mRNA (见图 5), CD106⁺ 间充质干细胞比 CD106⁻ 间充质干细胞表达更高水平的 PGE2 和 HGF (见图 6)。

[0031] 实施例 4:CD106 阳性间充质干细胞抑制 PHA 刺激的淋巴细胞分泌 IFN- γ 。

[0032] 1. 分别收集正常培养的 CD106⁺MSC 和 CD106⁻MSC,钴 60 照射后计数。用含 10%FBS 的 RPMI 1640 培养液悬浮后种植于平底 96 孔细胞培养板,按 10^4 个 / 孔分组,每组设 3 个复孔,于 37°C、5%CO₂,饱和湿度培养箱内用普通培养基培养 24h。

[0033] 2. 无菌条件下取健康成人静脉血 5ml,肝素抗凝, Ficol1 分离 PBMC 并计数,将细胞重悬于含 10%FBS 的 RPMI 1640 培养液中,计数并将浓度调节为 2×10^6 /mL。

[0034] 3. 将 PBMC 接种于前述 96 孔细胞培养板,与 MSC 进行共培养。每孔中 10^5 个细胞,同时加入 10 μ g/mlPHA。

[0035] 4. 用 RPMI 1640 培养液将每孔体积调整为 200 μ l,37°C、5%CO₂,饱和湿度培养箱

内用普通培养基培养 72h 后收集各个组的上清,用 ELISA 检测每组培养上清的 IFN- γ 浓度。

[0036] 结果:CD106⁺ 和 CD106⁻ 间充质干细胞均能明显抑制 PHA 刺激的淋巴细胞分泌 IFN- γ , 而 CD106⁺ 间充质干细胞的抑制效果明显好于 CD106⁻ 间充质干细胞 ($p < 0.01$) (见图 7)。

[0037] 实施例 5:CD106 阳性间充质干细胞治疗小鼠移植物抗宿主病 (GVHD)。

[0038] 1. BAL B/c 小鼠急性移植物抗宿主病 (aGVHD) 模型的建立

1.1 造模前 BAL B/c 小鼠用 60Co γ 射线照射骨髓:小鼠以 60Co γ 射线致死量全身辐照(照射剂量为 10.0Gy)。运输时全部小鼠装在与无菌包装盒中,照射前于超净间内将小鼠转移到专用的小鼠铅盒中,保证小鼠不被污染。

[0039] 1.2 C57BL/6 供体小鼠骨髓细胞 (BMC) 的制备(每只动物约可取 $4-6 \times 10^7$ BMC):小鼠断髓处死,置于 75% 酒精中浸泡 5 分钟,无菌条件下取小鼠股骨、胫腓骨,反复冲洗骨髓,过滤,制成单细胞悬液;室温 1000rpm 离心 5 分钟,用无菌的 PBS 洗 2 次;以台盼蓝染色法进行活细胞计数,细胞活性率在 99% 以上;调节细胞浓度为 1×10^8 /ml,室温放置备用。

[0040] 1.3 C57BL/6 供体小鼠脾脏细胞 (SC) 的制备(每只动物约可取 $5-20 \times 10^7$ SC):小鼠断髓处死,置于 75% 酒精中浸泡 5 分钟,无菌条件下取脾脏,置 200 目不锈钢滤网中研磨, RPMI1640 冲洗,制成单细胞悬液;室温 1000rpm 离心 5 分钟,洗 2 次;以台盼蓝染色法进行活细胞计数,细胞活性率在 99% 以上;调节细胞浓度为 1×10^8 /ml,室温放置备用。

[0041] 1.4 建立 aGVHD 模型:制备好的 BMC 和 SC 悬液,以 1:1 混合,即 BMC 取 0.1ml, SC 取 0.1ml,尾静脉输注给经过照射的 BAL B/c 受体小鼠,输注细胞量为 2.0×10^7 个/只小鼠,总体积 0.2ml。

[0042] 2. MSC 用于治疗 aGVHD

传代培养的 CD106⁺MSC 和 CD106⁻MSC,消化、计数;用含有 33 单位/ml 低分子肝素钙的生理盐水调整细胞浓度为 1.0×10^7 /ml,共 1.5ml;按照 0.1ml/只动物的剂量,给予小鼠尾静脉输注;给药时间为造模后第 3 天和第 6 天给两个治疗组输注 MSC。对照 GVHD 组则注射同体积含有 33 单位/ml 低分子肝素钙的生理盐水。

[0043] 3. 疗效的评价采用生存率为评价指标

每天观察并记录各组动物的存活状况,用于动物生存曲线的绘制以评价模型与治疗效果。

[0044] 结果:小鼠 aGVHD 模型用 CD106⁺ 细胞和 CD106⁻ 细胞治疗后的生存曲线(见图 8)。

[0045] 以上所述仅为本发明的较佳实施例而已,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

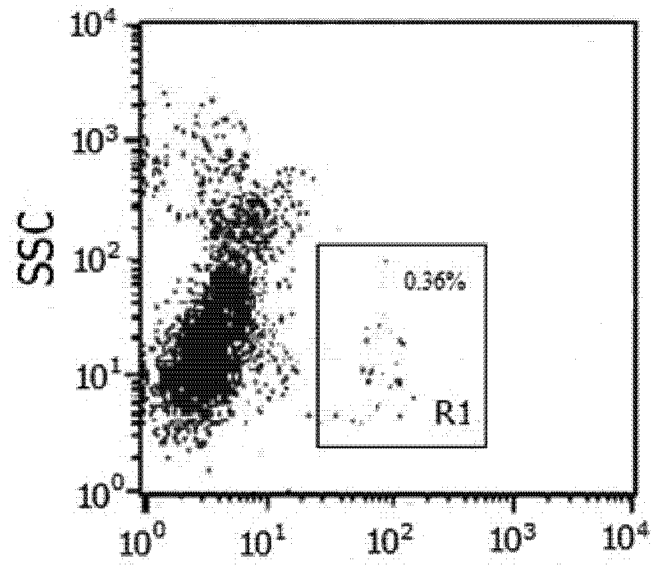


图 1

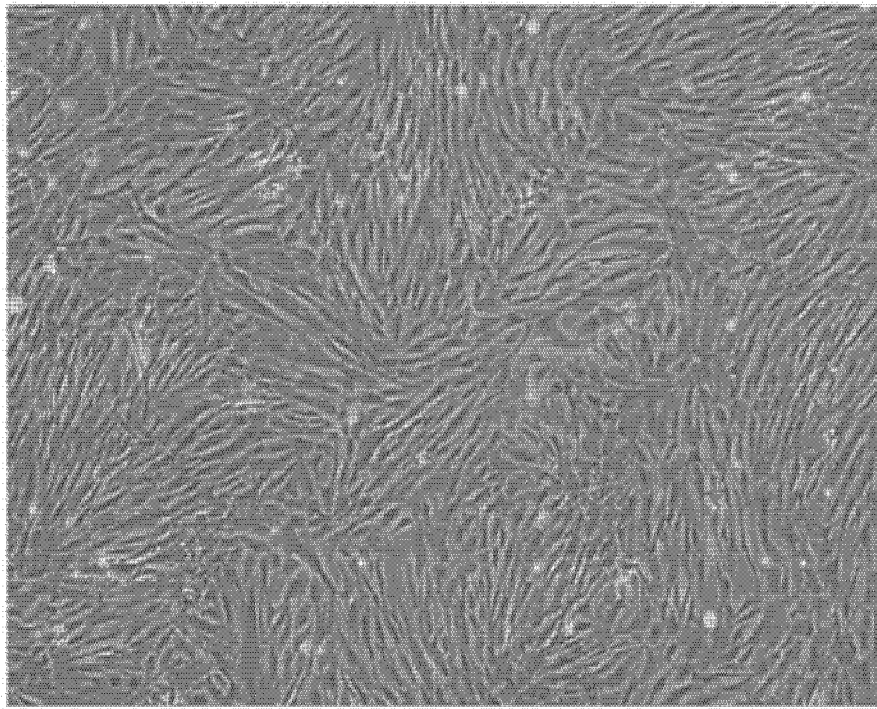


图 2

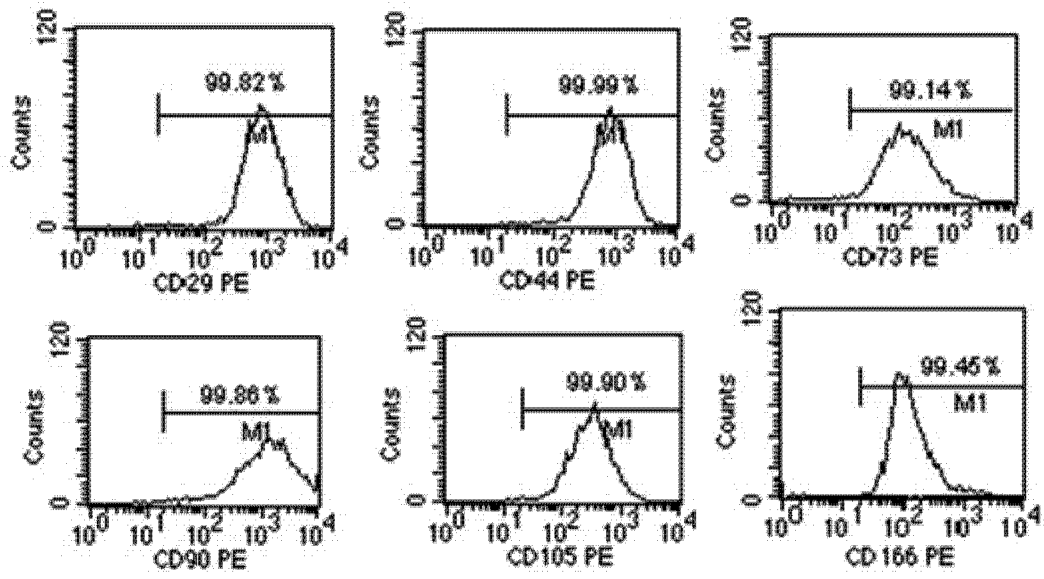
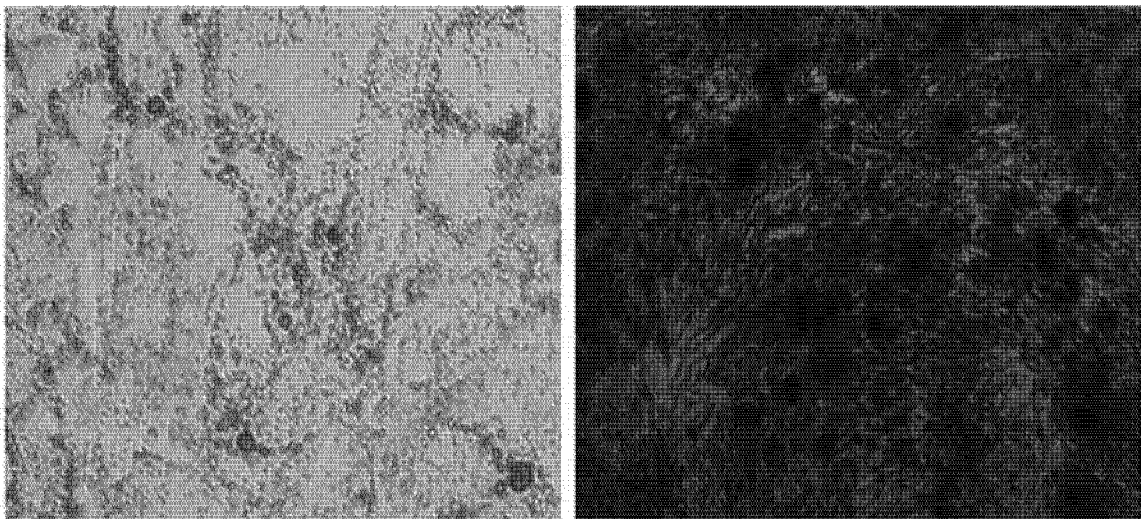


图 3



成脂分化 (油红O染色)

成骨分化 (茜素红染色)

图 4

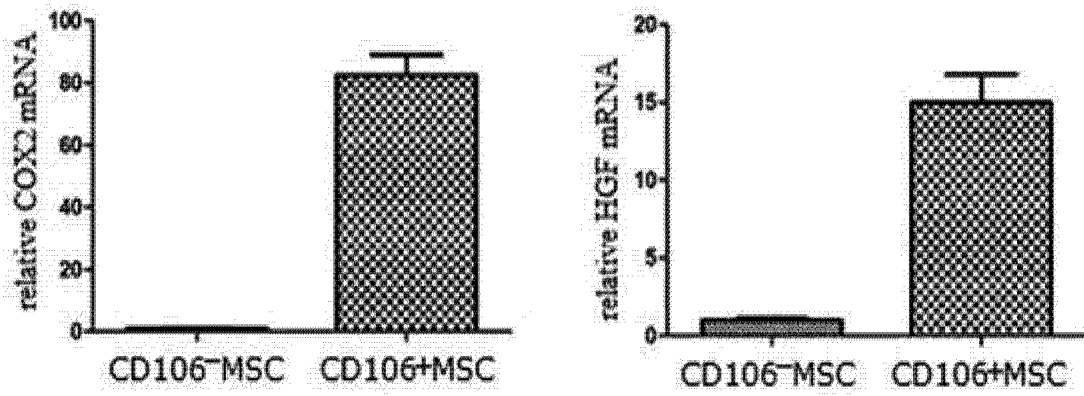


图 5

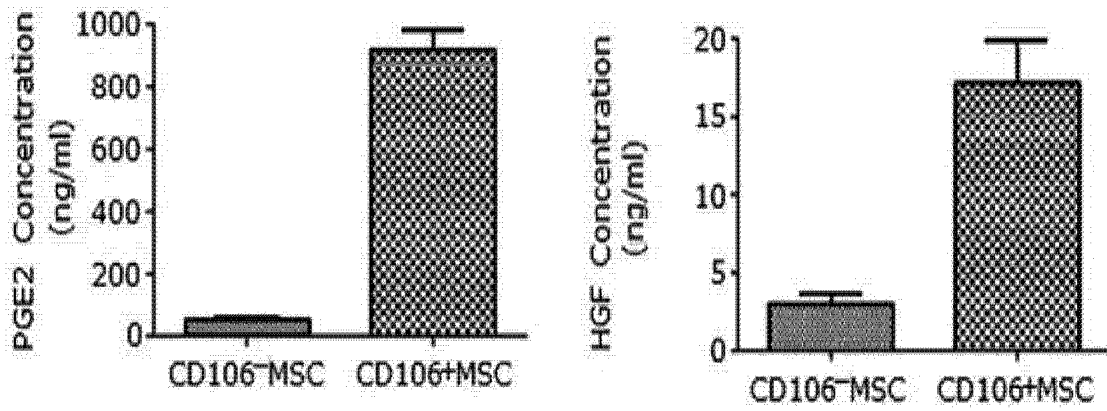


图 6

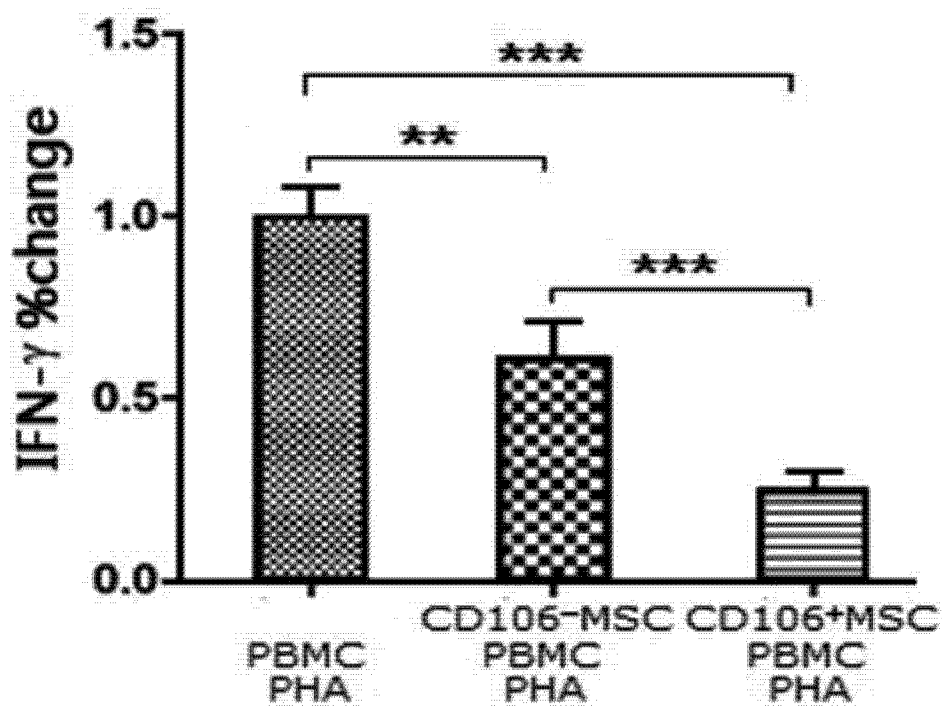


图 7

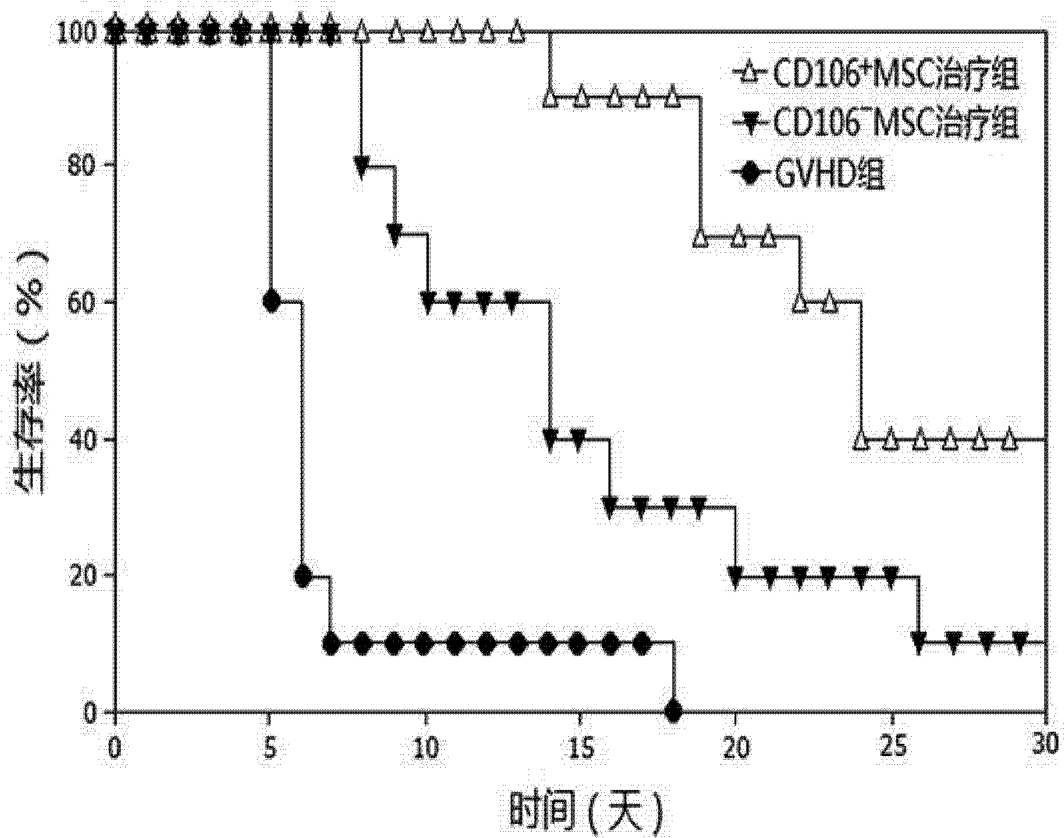


图 8

专利名称(译)	一种CD106阳性细胞、其鉴定、制备方法及应用		
公开(公告)号	CN102539736A	公开(公告)日	2012-07-04
申请号	CN201110422541.X	申请日	2011-12-16
[标]申请(专利权)人(译)	北京汉氏联合生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	北京汉氏联合生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	北京汉氏联合生物技术有限公司		
[标]发明人	韩忠朝		
发明人	韩忠朝		
IPC分类号	G01N33/53 C12N5/0775 C12N5/0735		
代理人(译)	李增朝		
其他公开文献	CN102539736B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公布了一种CD106阳性间充质干细胞的鉴定、制备方法及其应用。通过免疫学的手段从骨髓或胎盘等组织分离出的单个核细胞鉴定并分离出CD106阳性细胞，再进行贴壁培养操作，获取贴壁的CD106阳性细胞；或将骨髓或胎盘等组织分离出的单个核细胞贴壁培养操作，获取贴壁的间充质细胞，在获得足够的细胞时，再分离出其中CD106阳性的间充质干细胞。这些CD106阳性为间充质干细胞，贴壁生长，表达间充质干细胞相关免疫表型，具有成骨、成脂等分化能力。与CD106阴性间充质干细胞相比具有更强的免疫抑制能力，可以更好的抑制淋巴细胞增殖和分泌IFN- γ ，可以用于GVHD和自身免疫系统疾病的治疗。

