بررسی امکان پیوند سلول‌های تک هسته‌ای مشتق از خون بند ناف انسان در مغز استخوان موش‌های صحرایی اشعه دیده

مهدی کدیور [*۱] (Ph.D)، لیلی قاضی‌زاده [۲] (M.Sc)

۱- *انستیتو پاستور ایران، گروه بیوشیمی*

۲- *دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات*

چکیده

سابقه و هدف: نظر به اهمیت مهاجرت سلولی در درمان‌های مبتنی بر پیوند سلولی و لزوم درک بهتر این مساله، در تحقیق حاضر امکان پیوند سلول‌های تک هسته‌ای خون بند ناف انسان در بافت مغز استخوان موش‌های صحرایی سالم و اشعه دیده بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های خون بند ناف جمع‌آوری و پس از جداسازی و شمارش سلولی، تعداد ۵×۱۰۶ سلول به ازای هر حیوان، از طریق ورید دمی به موش‌های صحرایی بالغ در ۱۳ گروه (۱ گروه سالم و ۱۲ گروه پرتو دیده) تزریق شد. سپس در فواصل زمانی مشخص، حیوانات کشته و نمونه‌های مغز استخوان آن‌ها گرفته و DNA سلول‌های آن‌ها جداسازی و با پرایمرهای اختصاصی STS انسانی تکثیر گشت. در نهایت، محصولات PCR بر روی ژل الکترو فورز مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج PCR درمورد موش‌های سالم و اشعه دیده، در همه گروه‌ها منفی بود که نشان‌دهنده عدم وجود سلول‌های تک هسته‌ای مشتق از خون بند ناف انسان در مغز استخوان موش‌های صحرایی پیوندی می‌باشد.

نتیجه‌گیری: نتایج ما نشان داد سلول‌های تک هسته‌ای مشتق از خون بند ناف انسان، پس از تزریق وریدی به موش‌های صحرایی قادر به لانه گزینی درمغز استخوان این حیوانات نیستند. این امر ممکن است به علت به دام افتادن سلول‌ها در سایر اندام‌ها و یا شرایط نامناسب حاکم بر فیزیولوژی سلول‌ها جهت مهاجرت و لانه‌گزینی باشد.

واژه‌های کلیدی: مهاجرت سلولی، خون بند ناف، سلول‌های تک هسته‌ای

مقدمه

خون بند ناف منبع غنی از سلول‌های بنیادی خون‌ساز و انواع دیگری از سلول‌های تک هسته‌ای است که به دلیل دارا بودن خاصیت خود نوزائی و توان تمایزی به بافت‌های مختلف منبع مناسبی برای استفاده در برخی استراتژی‌های سلول درمانی و ژن درمانی محسوب می‌شود [۱]. پتانسیل استفاده از خون بندناف به عنوان یک منبع از سلول‌های بنیادی خون‌ساز قابل پیوند اولین بار در اوایل دهه ۱۹۸۰ مطرح شد و سرانجام امکان انجام این پیشنهاد با مطالعات انجام شده بر روی خون بندناف انسان تایید شد [۲]. بر پایه این مطالعات اولین پیوند خون بندناف انسانی بر روی یک بیمار مبتلا به آنمی فانکونی در سال ۱۹۸۸ با موفقیت انجام شد [۳]. بعد از آن، بانک‌های خون بند ناف در سراسر جهان برای پیوند خون بند ناف خویشاوند و غیرخویشاوند به‌وجود آمدند. تخمین زده می‌شود تاکنون بیش از ۲۰۰۰ بیمار تحت عمل پیوند خون بند ناف قرار گرفته‌اند [۵،۴].

چندین عامل محدودکننده در گسترش سریع استفاده از

* نویسنده مسئول، تلفن: ۶۶۹۶۹۲۹۸-۰۲۱ نمابر: ۶۶۴۰۲۷۷۰ - ۰۲۱

Email: Kadivar@pasteur.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۵/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۰/۲۰

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

خون بند ناف برای پیوند وجود دارد. این عوامل عبارتند از عدم تجربه کافی در خصوص پیوند خون بند ناف، عدم وجود داده های بالینی در خصوص احتمال انتقال بیماری‌های ژنتیکی ناشناخته پس از تزریق خون بند ناف، تعداد کم سلول‌های بنیادی در هر واحد خون بند ناف، آلودگی خون بند ناف با سلول‌های مادری طی جمع‌آوری خون، مراحل سخت شناسایی، تایپینگ و به‌دست آوردن یک اهداءکننده غیرخویشاوند و مشکلات رد پیوند مرتبط با HLA (Human leukocyte antigen) نامتجانس [۷،۶]. از طرفی از مزایای عملی خون بند ناف غیرخویشاوند که به عنوان یک منبع جای‌گزین سلول‌های بنیادی مطرح شده‌اند می‌توان به سهولت نسبی تهیه در مقایسه با مغز استخوان غیرخویشاوند، عدم آلودگی خون بند ناف به ویروس‌های موجود در مغز استخوان، فقدان خطر برای مادران و اهداء کنندگان، کاهش رد ایمونولوژیک پیوند و بیماری پیوند علیه میزبان به علت عدم وجود سلول‌های T بالغ در خون بند ناف، عدم نیاز به سازگاری HLA جهت انتخاب اهداءکننده و گیرنده، قابلیت ذخیره‌سازی و قابلیت دست‌رسی سریع جهت استفاده فوری در مراکز پیوند [۱۰،۹،۸] اشاره کرد.

به طور کلی دو روش برای تجویز سلول‌ها در پیوند سلولی و یا سلول درمانی مطرح است. یکی روش موضعی و دیگری تجویز سیستمیک سلول‌ها از طریق جریان خون [۱۲،۱۱]. محدودیت‌های روش تجویز موضعی از جمله خطر مرگ و میر بالا، تهاجمی بودن این روش، تخریب ساختار ظریف ریزمحیط بافت، وجود بیماری‌های متعدد چند کانونی و نیز هزینه بالا موجب شده است تا امروزه بسیاری از توجهات در درمان‌های مبتنی بر سلول به تجویز سیستمیک آن‌ها معطوف گردد [۱۴،۱۳]. مهم‌ترین چالش استفاده از سلول‌ها در این نوع تجویز، مساله لانه‌گزینی آن‌ها در بافت‌های هدف می‌باشد [۱۶،۱۵]. هرچند مطالعات زیادی در این زمینه صورت گرفته و یا در حال انجام است اما به نظر می‌رسد، ابعاد این مساله هنوز بسیار ناشناخته و مبهم است [۱۸،۱۷].

از آن‌جا که لانه‌گزینی سلول‌های پیوندی در سلول درمانی به عنوان پیش‌نیاز پیوند و عمل‌کرد صحیح آن سلول‌ها در بافت هدف محسوب می‌شود، لذا فهم بهترابعاد این پدیده در افزایش کارایی سلول درمانی بسیار حیاتی است.

با توجه به اهمیت استفاده از سلول‌های خون بند ناف در سلول درمانی و نیز با توجه به امکان استفاده از آن‌ها به صورت تزریق سیستمیک، بر آن شدیم تا در تحقیق حاضر، در راستای روشن‌تر شدن ابعاد پدیده مهاجرت سلولی و نیز لانه‌گزینی، امکان مهاجرت سلول‌های تک هسته‌ای خون بند ناف انسانی را از خون وریدی به مغز استخوان در موش‌های صحرایی سالم واشعه دیده بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی. در این مطالعه از ۶۵ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد Wistar در ۱۳ گروه (۱ گروه سالم و ۱۲ گروه پرتو دیده) استفاده شد. حیوانات از انستیتو پاستور کرج تهیه شدند.

جمع‌آوری خون بند ناف و جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای. جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای خون بند ناف مطابق روش‌های روتین صورت پذیرفت [۱۰،۹،۸]. به این منظور پس از دریافت فرم رضایت تحقیق از بیماران، خون بند ناف نوزادان ترم متولد شده از مادران سالم، به مقدار ۵۰ میلی‌لیتر در فالکون‌های حاوی ماده ضد انعقاد هپارین تحت شرایط استریل جمع‌آوری شد. پس از آن به هر نمونه به نسبت ۱ به ۵ هیدروکسی اتیل استارچ (Sigma) اضافه گردید و به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق باقی ماند. سپس ۷ میلی‌لیتر از محلول روئی به آرامی بر روی ۳ میلی‌لیتر فایکول (Gibco) با گرادیان ۱/۰۷۷– ۱/۰۸ گرم بر سانتی‌متر مربع منتقل و به مدت ۲۰ دقیقه در ۲۶۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. در نهایت توسط یک پیپت پاستور، سلول‌های تک هسته‌ای از لایه وسط فالکون جمع‌آوری و توسط لام نئوبار شمارش شد. هم‌چنین درصد زنده بودن سلول‌ها قبل از تزریق، توسط رنگ‌آمیزی تریپان بلو تعیین شد.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

تابش‌دهی. موش‌های گیرنده پیوند توسط دستگاه مخزنی کوبالت ۶۰ در معرض تابش ۷ گری اشعه گاما قرار گرفتند. هدف از تابش‌دهی، سرکوب مغز استخوان موش‌های صحرایی گیرنده پیوند بود.

پیوند سلولی. پس از جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای خون بند ناف انسان تزریق وریدی این سلول‌ها به موش‌های صحرایی انجام شد. تزریق در یک گروه موش صحرایی سالم و ۱۲ گروه موش صحرایی اشعه دیده صورت گرفت. ۱۲ گروه موش صحرایی اشعه دیده به سه دسته چهارتایی تقسیم شدند و بر طبق یک فاصله زمانی به ترتیب در روزهای ۱، ۳ و ۷ روز پس از پرتودهی پیوند سلول‌ها در آن‌ها انجام شد (جدول ۱). تزریق از طریق ورید دمی و به کمک سرنگ انسولین در حجم یک میلی‌لیتر و دوز ۴×۱۰۶ سلول، انجام شد.

جدول ۱. برنامه زمانی تزریق سلول‌ها و جداسازی آن‌ها از موش‌های صحرایی اشعه دیده و نتیجه PCR آن‌ها

فاصله زمانی ❋ / جدول زمانی ❋❋	۱ روز	۳ روز	۷ روز
۳ روز	–	–	–
۷ روز	–	–	–
۱۴ روز	–	–	–
۲۱ روز	–	–	–

❋: مدت زمان بین پرتودهی و تزریق سلول‌ها و ❋ ❋: شماره روزهای مربوط به جمع آوری و جداسازی سلول‌ها از مغز استخوان پس از تزریق سلول‌ها

جداسازی سلول‌های مغز استخوان از موش‌های صحرایی. موش‌های صحرایی دریافت‌کننده پیوند در مقاطع زمانی مشخص (جدول ۱) کشته شده و استخوان ران آن‌ها جدا و محتویات آن توسط فلاشینگ محیط DMEM (Dublecos modified eagles medium) به درون یک لوله ۱۴میلی‌لیتری استریل تخلیه و سپس به مدت ۳ دقیقه در ۱۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد تا پلیت سلولی تشکیل گردد. در نهایت محیط روئی تخلیه شده و DNA سلول‌ها توسط کیت QIAGEN استخراج شد.

ارزیابی پیوند به کمک تکنیک PCR. تکثیر DNA با استفاده از پرایمرهای اختصاصی STS انسانی صورت پذیرفت (جدول ۲ و۳). در نهایت محصولات PCR روی ژل الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفت.

جدول۲. توالی آغازگر مورد استفاده

Primer sequences	Length
F: 5′- TCT GTA ATT TTG GGA AGG CA- 3′ R: 5′- GTC CTA ATA TCC CCC CAT GT - 3′	200 bp

جدول۳. برنامه PCR

مراحل	حرارت (C)	زمان	تعداد چرخه
دناتوره کردن اولیه	۹۴	۴ دقیقه	۱
دناتوره کردن	۹۴	۴۵ ثانیه	۳۰
جفت شدن پرایمرها	۵۶	۳۰ ثانیه	
پلی مریزه شدن	۷۲	۱ دقیقه	
پلیمریزه شدن نهایی	۷۲	۴۵ ثانیه	۱

رقت‌سازی مرحله‌ای. جهت سنجش حد تشخیص PCR به کار رفته در این مطالعه و تعیین حداقل سلول لازم لانه‌گزینی کرده برای مشخص شدن توسط این روش، تست رقت‌سازی مرحله‌ای (Serial dilution) صورت پذیرفت. بدین منظور DNA سلول‌های تک هسته‌ای جدا شده از خون بند ناف انسان در تراکم‌های مختلف سلولی استخراج و با پرایمرهای STS تکثیر شد.

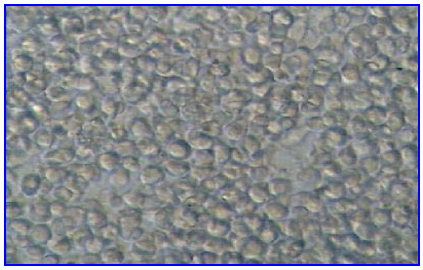
نتایج

سلول‌های تک هسته‌ای جدا شده از خون بند ناف. از هر نمونه خون بند ناف انسان (۵۰ میلی‌لیتر) حدود ۵×۱۰۶ سلول تک هسته‌ای جدا شد. درصد سلول‌های زنده توسط رنگ‌آمیزی تریپان بلو معادل ۹۸ درصد تعیین شد (شکل ۱).

لانه‌گزینی سلول‌ها در مغز استخوان. با توجه به نتایج PCR سلول‌های جدا شده از مغز استخوان موش‌های صحرایی سالم و اشعه دیده، در همه فواصل زمانی پس از پیوند، نشانه‌ای از وجود قطعه STS مربوط به سلول‌های تک هسته‌ای انسانی در DNA استخراج شده از جمعیت سلولی جدا شده از مغز استخوان موش‌های صحرایی مشاهده نشد

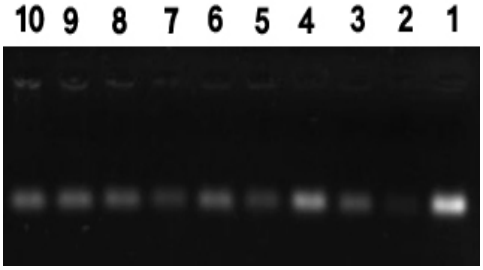
[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

(جدول ۱) که این امر نشان‌دهنده عدم لانه‌گزینی سلول‌های تک هسته‌ای مشتق از خون بند ناف انسان در مغز استخوان موش‌های صحرایی پیوندی می‌باشد.



شکل ۱. سلول‌های تک هسته‌ای جدا شده از خون بند ناف انسان پس از رنگ آمیزی با تریپان بلو (بزرگنمایی ۴۰۰x).

رقت‌سازی مرحله‌ای. نتایج تست رقت‌سازی مرحله‌ای (شکل ۲) حاکی از آن است که در کلیه تراکم‌های سلولی آزمایش شده، روش PCR قادر به تشخیص سلول‌های تک هسته‌ای خون بند ناف می‌باشد.



شکل ۲. نتایج PCR نمونه های سلولهای تک هسته ای مشتق از خون بند ناف انسانی در تراکم های مخلف سلولی. تراکم سلولها در ستون ۱ تا ۱۰ به ترتیب برابر ۱×۱۰^{۶}، ۵×۱۰^{۵}، ۲×۱۰^{۵}، ۱×۱۰^{۵}، ۲×۱۰^{۴}، ۱×۱۰^{۴}، ۵×۱۰^{۳}، ۲×۱۰^{۳}، ۱×۱۰^{۳} و ۴×۱۰^{۲} سلول بوده است.

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه از تکنیک PCR جهت بررسی توانایی لانه‌گزینی سلول‌های تک هسته‌ای مشتق از خون بند ناف انسان در مغز استخوان موش‌های صحرایی به دنبال پیوند زنوگرافت سیستمیک استفاده شد. نتایج حاضر، حاکی از عدم وجود ترادف STS در مغز استخوان موش‌های مورد مطالعه بود. به عبارت دیگر یافته‌های این مطالعه نشان داد که سلول‌های تک هسته‌ای مشتق از خون بند ناف انسان، پس از تزریق وریدی به هر کدام از موش‌های صحرایی اشعه دیده و یا اشعه ندیده، قادر به لانه‌گزینی در مغز استخوان این حیوانات نیستند.

به طور کلی مهاجرت سلول‌های بنیادی از داخل خون، از بین اندوتلیال عروق خونی به اندام‌های مختلف و به مغز استخوان نیاز به هدایت فعالی دارد. به این فرایند، لانه‌گزینی اطلاق می‌شود که نقش فیزیولوژیک مهمی در حفظ هموستاز مغز استخوان دارد. لانه‌گزینی نقش مهمی در کارایی استراتژی‌های سلول درمانی دارد زیرا موفقیت در سلول و ژن درمانی به توانایی پیوند این سلول‌ها در بافت هدف بستگی دارد. هر چند تحقیقات در زمینه پیوند سلول‌های تک هسته‌ای و خون‌ساز جدا شده از خون بندناف از سال ۱۹۸۸ آغاز شده است [۱۹]، اما به نظر می‌رسد در این ارتباط سوالات بدون جواب زیادی باقی مانده است [۲۱،۲۰]. این پدیده به طور کلی شامل سه مرحله غلطیدن (Rolling)، چسبیدن (Adhesion) و دخول سلول‌ها از لایه اندوتلیال به بافت هدف (Transmigration) می‌گردد [۱۱]. مشخص شده است که طیف وسیعی از ملوکول‌ها، فرایند لانه‌گزینی سلول‌های بنیادی را میان‌جیگری می‌کنند. بیان و یا عدم بیان بسیاری از ملوکول‌های سطحی بر روی سلول‌های بنیادی و نیز بر روی سلول‌های بافت هدف می‌تواند در نتیجه لانه‌گزینی تاثیر بسیار مهمی داشته باشد [۱۲]. گیرنده مهمی که در این پدیده نقش ایفا می‌کند گیرنده CXCR4 می‌باشد. هر سلول بنیادی واجد این گیرنده، به محل ضایعه مهاجرت کند. مکانیزم عمل بدین صورت می‌باشد که در محل ضایعه فاکتورهای مختلفی ترشح می‌شود. فاکتور مهمی که لیگاند این گیرنده می‌باشد فاکتور SDF-1 (Stromal derived factor-1) می‌باشد. این فاکتور در محل ضایعه تشکیل شده و سلول‌ها را به طرف خود می‌کشد. هر چند گزارش شده است که این گیرنده در بسیاری از سلول‌های تک هسته‌ای خون بند ناف از جمله سلول‌های بنیادی مزانشیمی و نیز سلول‌های بنیادی خون‌ساز وجود دارد، اما بیان آن به شدت وابسته به منشا سلولی، نوع میزبان دریافت‌کننده پیوند و شرایط سلول‌ها قبل از پیوند است [۲۲،۱۱].

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

در این مطالعه از روش PCR جهت ردیابی سلول‌های پیوند شده استفاده شد. با توجه به نتایج حاصل از تست رقت‌سازی مرحله‌ای مشخص شد که حتی در صورت وجود ۴۰۰ سلول در مغز استخوان، PCR قادر به تشخیص آن می‌باشد. به عبارت دیگر با توجه به دوز سلولی به کار رفته، در صورت لانه‌گزینی ۰/۰۱ درصد از سلول‌های تزریق شده، با این روش قابل تشخیص بود. علاوه بر ردیابی سلول‌ها در پیوند مغز استخوان، از دیگر کاربردهای روش PCR می‌توان به بررسی جای‌گزینی اختصاصی انواع مختلفی از زیر رده‌های سلول‌های بنیادی که با مهندسی ژنتیک دست‌کاری شده‌اند، ارزیابی تاثیر درمان بر روی پی‌گیری درمان، نحوه تمایز سلول‌های بنیادی در بافت هدف و مشخص کردن علت رد پیوند در جمعیت خاص بیماری‌ها در شرایط in vivo اشاره کرد.

ما در این مطالعه لانه‌گزینی سلول‌ها را هم در موش‌های سالم و هم در مراحل زمانی مختلف در موش‌های اشعه دیده بررسی کردیم تا اثرات احتمالی اشعه گاما را در تحریک لانه‌گزینی سلول‌ها بررسی کنیم. با توجه به این‌که اشعه گاما در دوز به کار رفته (۷ گری) قادر به تخریب سلول‌های مغز استخوان حیوانات بوده است [۲۳]، بنابراین روشن شد که مغز استخوان تخریب شده نسبت به مغز استخوان سالم آمادگی بیش‌تری برای پذیرش سلول‌های تک هسته‌ای ندارد. با توجه به این‌که کشت و تکثیر سلول‌های مغز استخوان در in vitro موجب تغییر در ملکول‌های سطحی دخیل در چسبندگی و لانه‌گزینی آن‌ها می‌گردد [۲۵،۲۴]، در این مطالعه از سلول‌های تک هسته‌ای که بلافاصله از خون بند ناف انسان جداسازی شده بود، به عنوان سلول‌های پیوندی استفاده شد. نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر حاکی از آن است که سلول‌های تک هسته‌ای جدا شده از خون بند ناف انسان پس از تزریق (با دوز ۴×۱۰۶ سلول) به موش‌های صحرایی سالم و یا اشعه دیده قادر به لانه‌گزینی در مغز استخوان نیستند.

در حال حاضر گزارشات کمی در مورد پیوند سلول‌های تک هسته‌ای در کلینیک وجود دارد و تحقیق در مورد لانه‌گزینی سلول‌های تک هسته‌ای خون بند ناف ادامه دارد [۲۸،۲۷،۲۶]. پیش‌رفت در زمینه درمان با سلول‌های بنیادی، به ارزیابی کمی و کیفی از توزیع این سلول‌ها در بافت هدف، چگونگی لانه‌گزینی و نحوه تکثیر و تمایز این سلول‌ها در بافت مربوطه، نیاز دارد [۲۹].

از آن‌جا که در مطالعه حاضر از سلول‌های تک هسته‌ای خون بند ناف استفاده شده است و نیز با توجه به این‌که تعداد سلول‌های بنیادی خون‌ساز در جمعیت سلول‌های تک هسته‌ای خون بند ناف اندک است [۲]، می‌توان چنین مطالعه‌ای را به کمک سلول‌های بنیادی خون‌ساز خالص شده انجام داد و نتایج را با مطالعه حاضر مقایسه نمود. از طرفی نوع پیوند به کار رفته در مطالعه حاضر زنوگرافت بوده است که این امر شاید در نتیجه لانه‌گزینی تاثیرگذار باشد. در صورت وجود موش‌های صحرایی هم‌زاد، می‌توان چنین مطالعه‌ای را با استفاده از جداسازی سلول‌های خون‌ساز این موش‌ها به صورت پیوند اتوگرافت بررسی کرد و نتایج را با مطالعه حاضر مقایسه کرد.

در مجموع، با توجه به وجود سوالات بدون جواب زیادی در مورد بیولوژی سلول‌های تک هسته‌ای و سلول‌های خون‌ساز و نیز چگونگی استفاده از آن‌ها در سلول درمانی، از قبیل نحوه تزریق آن‌ها (سیستمیک یا تزریق در اندام‌های هدف)، سیگنال‌هایی لازم برای جذب سلول‌ها در اندام‌های خاص، دوز مناسب برای پیوند و برنامه زمانی مناسب برای تجویز، به نظر می‌رسد عوامل مختلفی از جمله نوع سلول، تعداد سلول، شرایط سلول قبل از پیوند و نیز نوع میزبان (گیرنده پیوند) می‌تواند در نتیجه لانه‌گزینی تاثیرگذار باشد و بنابراین جهت استفاده موثر و بهتر از این سلول‌ها در سلول درمانی، نیاز به مطالعات کامل‌تر و دقیق‌تری وجود دارد.

تشکر و قدردانی

هزینه‌ی این مطالعه بر اساس طرح تحقیقاتی شماره ۲۹۰ انستیتو پاستور ایران تامین شده است. نویسندگان بر خود لازم

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

می‌دانند از کلیه پرسنل بخش بیوشیمی انستیتو پاستور تشکر نمایند.

منابع

[1] Cardoso AA, Li ML, Batard P, Sansilvestri P, Hatzfeld A, Levesque JP, et al. Human umbilical cord blood cd34+ cells purification with high yield of early progenitors. J Hematother 1993; 2: 275-279.

[2] Broxmeyer HE, Kurtzberg J, Gluckman E, Auerbach AD, Douglas G, Cooper S, et al. Umbilical cord blood Hematopoietic stem and repopulating cells in human clinical transplantation. Blood Cells 1991; 17: 313-329.

[3] Ballen K, Broxmeyer HE, McCullough J, Piaciabello W, Rebulla P, Vefaillie CM, Wagner JE. Current status of cord blood banking and transplantation in the United States and Europe. Bio Blood Marrow Transplant 2001; 7: 635-645.

[4] Barker JN, Wagner JE. Umbilical cord blood transplantation: current state of the art. Curr Opin Oncol 2002; 14: 160-164.

[5] Barker JN, Krepski TP, Defor TE, Davies SM, Wagner JE, Weisdorf DJ. Searching for unrelated donor Hematopoietic stem cells: avability and speed of umbilical cord blood versus bone marrow. Biol Blood Marrow Transplant 2002; 8: 257-260.

[6] Gluckman E, Rocha V, Chevret S. Results of unrelated umbilical cord blood transplant. Transfus Clin Biol 2001; 8: 146-154.

[7] Rocha V, Wagner JE Jr, Sobocinski KA, Klein JP, Zhang MJ, Horowitz MM, Gluckman E. Graft-versus-host disease in children who have received a cord-blood or bone marrow transplant from an HLA-identical sibling. N Engl J Med 2000; 342: 1846-1854.

[8] Gluckman E. Current status of umbilical cord blood Hematopoietic stem cell transplantation. Exp Hematol 2000; 28: 1197-1205.

[9] Rubinstein P. Why cord blood? Human Immunol 2006; 67: 398-404.

[10] Cohen Y, Kreiser D, Mayorov M, Nagler A. Unrelated and related cord blood banking and hematopoietic graft engineering. Cell Tissue Bank 2003; 4: 29-35.

[11] Nilsson SK, Simmons PJ. Transplantable stem cells: home to specific niches. Curr Opin Hematol 2004; 11: 102-106.

[12] Chute JP. Stem cell homing. Curr Opin Hematol 2006; 13: 399-406.

[13] Chamberlain G, Fox J, Ashton B, Middleton J. Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. Stem Cells 2007; 25: 2739-2749.

[14] Mattsson J. Recent progress in allogeneic stem cell transplantation. Curr Opin Mol Ther 2008; 10: 343-349.

[15] Lapidot T, Dar A, Kollet O. How do stem cells find their way home? Blood 2005; 106:1901-1910.

[16] Schlüter KD, Maxeiner H, Wenzel S. Mechanisms that regulate homing function of progenitor cells in myocardial infarction. Minerva Cardioangiol 2009; 57: 203-217.

[17] Karp JM, Leng Teo GS. Mesenchymal stem cell homing: the devil is in the details. Cell Stem Cell 2009; 4: 206-216.

[18] Khaldoyanidi S. Directing stem cell homing. Cell Stem Cell 2008; 2: 198-200.

[19] Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. N Engl J Med 1989; 321: 1174-1178.

[20] Cohen Y, Nagler A. Umbilical cord blood transplantation--how, when and for whom? Blood Rev 2004; 18: 167-179.

[21] Ueda T, Yoshida M, Yoshino H, Kobayashi K, Kawahata M, Ebihara Y, et al. Hematopoietic capability of CD34+ cord blood cells: a comparison with CD34+ adult bone marrow cells. Int J Hematol 2001; 73: 457-462.

[22] McDermott SP, Eppert K, Lechman ER, Doedens M, Dick JE. Comparison of human cord blood engraftment between immunocompromised mouse strains. Blood 2010; 116: 193-200.

[23] Fliedner TM, Graessle D, Paulsen C, Reimers K. Structure and function of bone marrow hemopoiesis: mechanisms of response to ionizing radiation exposure. Cancer Biother Radiopharm 2002; 17: 405-426.

[24] Ramírez M, Segovia JC, Benet I, Arbona C, Güenechea G, Blaya C, et al. Ex vivo expansion of umbilical cord blood (UCB) CD34(+) cells alters the expression and function of alpha 4 beta 1 and alpha 5 beta 1 integrins. Br J Haematol 2001; 115: 213-221.

[25] Denning-Kendall P, Singha S, Bradley B, Hows J. Cytokine expansion culture of cord blood CD34+ cells induces marked and sustained changes in adhesion receptor and CXCR4 expressions. Stem Cells 2003; 21: 61-70.

[26] Lim JJ, Jang JB, Kim JY, Moon SH, Lee CN, Lee KJ. Human umbilical cord blood mononuclear cell transplantation in rats with intrinsic sphincter deficiency. J Korean Med Sci 2010; 25: 663-670.

[27] Kelly SS, Parmar S, De Lima M, Robinson S. and Shpall E. Overcoming the barriers to umbilical cord blood transplantation. Cytotherapy 2010; 12: 121-130.

[28] Fløisand Y, Sioud M. Recent advances in hematopoietic stem cell transplantation and perspectives of RNAi applications. Methods Mol Biol 2010; 629: 507-523.

[29] Sputtek A. Stem cells derived from cord blood in transplantation and regenerative medicine. Further phenomena. Dtsch Arztebl Int 2010; 107: 293-294.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]

A study of graft possibility of human umbilical cord blood mononuclear cells into irradiated rat's bone marrow

Mehdi Kadivar (Ph.D)[*1], Leily Ghazi zadeh (M.Sc)[2]
1- Dept. of Biochemistry, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
2 - Dept. of Biochemistry, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

(Received: 20 Agu 2010 Accepted: 10 Jan 2011)

Introduction: Considering the importance of cell migration in cell therapy protocols and the necessity to understand this issue better. This study was administred to evaluate the homing possibility of human umbilical cord blood mononuclear cells in the irradiated and non-irradiated rats' bone marrow.

Materials and Methods: Human umbilical cord blood was collected and after isolation and cell counting, 5 × 10 6 cells were injected to tail veins of 13 groups (1 healthy and 12 irradiated group) of adult rats. In defined time gaps after injection, transplanted rats were sacrificed and their bone marrow cells were collected. Then, the DNA of these collected cells was extracted and was amplified by PCR using specific primers for human STS. Finally, PCR products were analyzed on gel electrophoresis.

Results: PCR results for irradiated and non-irradiated rats in all groups were negative which implied that human umbilical cord blood mononuclear cells did not home in bone marrow of transplanted rats.

Conclusion: Our results suggest that human umbilical cord blood mononuclear cells are unable to home in rat's bone marrow after intra-venous injection. This might be the result of trapping of cells into other organs or unknown conditions of cells physiology for migration and homing.

Keywords: Cell mobility, Umbilical cord blood, Mononuclear cells

* Corresponding author: Fax: +98 21 66402770; Tel: +98 21 66969298
kadivar@pasteur.ac.ir

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-04]