

# 慢病毒载体感染成年食蟹猴骨髓间充质干细胞

任振华<sup>1,2</sup>, 王淑艳<sup>1</sup>, 张颖<sup>1</sup>, 邹春林<sup>1</sup>, 张愚<sup>1</sup>

1 首都医科大学 宣武医院细胞治疗中心, 北京 100053

2 安徽医科大学 人体解剖学教研室, 合肥 230032

**摘要:** 骨髓间充质干细胞 (Mesenchymal stem cells, MSCs) 具有增殖和多向分化潜能, 临床应用广泛, 近年来备受关注。另一方面, MSCs 易于转导和表达外源基因, 是理想的基因工程细胞。非人灵长类 (NHPs) 和人类具有非常相近的遗传背景, NHPs 模型在评价药物疗效和移植治疗等方面具有不可替代的价值。本研究采用密度梯度离心法分离成年食蟹猴骨髓单核细胞 (Marrow mononuclear cells, MNCs), 贴壁培养 MSCs。同时构建表达绿色荧光蛋白 (Green fluorescent protein, GFP) 的慢病毒载体, 感染成年食蟹猴 MSCs。结果显示, 体外培养的成年食蟹猴 MSCs 均感染猴泡沫病毒 (Simian foamy virus, SFV), 体外培养成年食蟹猴 MSCs 必须添加抗病毒药物 Tenofovir。但由于食蟹猴 MSCs 感染 SFV, 以及培养中添加了抗病毒药物 Tenofovir, 慢病毒载体的感染效率明显降低 (< 10%)。本研究通过停用抗病毒药, 在细胞复苏后 6 d 转染慢病毒, 可大幅提高慢病毒的感染效率 (> 50%)。为成年食蟹猴 MSCs 作为基因工程细胞应用于实验和临床研究提供了技术保证。

**关键词:** 食蟹猴骨髓间充质干细胞, 绿色荧光蛋白, 慢病毒载体, 猴泡沫病毒, 转导

## Improving infection efficiency of adult cynomolgus monkey mesenchymal stem cells with lentiviral vectors

Zhenhua Ren<sup>1,2</sup>, Shuyan Wang<sup>1</sup>, Ying Zhang<sup>1</sup>, Chunlin Zou<sup>1</sup>, and Y. Alex Zhang<sup>1</sup>

1 Cell Therapy Center, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China

2 Department of Anatomy, Anhui Medical University, Hefei 230032, China

**Abstract:** Mesenchymal stem cells (MSCs) have received considerable attention for various therapeutic approaches in recent years. MSCs are also easy to genetically modify to express therapeutic genes by using lentiviral vectors. Because of the similarities in genetics, physiology and metabolism between non-human primates (NHPs) and humans, NHPs models are invaluable for researching human disorders and for developing therapeutic strategies. Therefore, MSCs derived from NHPs could be a powerful tool for cell therapy and genetic engineering. Studies from captive and free-ranging adult NHPs show that up to 100% were infected with simian foamy virus (SFV). In this study, we found that all cultured MSCs derived from adult cynomolgus monkey were infected with SFV by RT-PCR. Therefore, antiviral drugs must be added in MSCs culture. However, because of SFV infection and additive antiviral drugs, the infection efficiency of the lentiviral vectors reduced significantly. In this study, we improved the infection efficiency by disabled antiviral drugs before lentiviral infection. It might be provide technical assistance for the culture of adult cynomolgus monkey MSCs as genetically engineered cells applied to clinical and experimental research.

**Received:** January 27, 2010; **Accepted:** March 26, 2010

**Supported by:** Scientific Project of Beijing Municipal Science & Technology Commission (No. D07050701350703).

**Corresponding author:** Y. Alex Zhang. Tel: +86-10-63184557; Fax: +86-10-83198889; E-mail: yaz@bjsap.org

北京市科委科技计划 (No. D07050701350703) 资助。

**Keywords:** cynomolgus monkey mesenchymal stem cells, green fluorescent protein, lentiviral vectors, simian foamy viruses, transduction

骨髓间充质干细胞 (MSCs) 是来自于骨髓的成体干细胞, 因其具有增殖和多向分化潜能、造血支持、免疫调控等特点而备受关注<sup>[1-2]</sup>。MSCs 在体外可分化成为脂肪、成骨、软骨等中胚层的组织细胞。由于其良好的可塑性和不涉及伦理争议, MSCs 成为组织工程和细胞治疗的最佳种子细胞<sup>[3-5]</sup>。在遗传学上, MSCs 易于转导、表达外源基因<sup>[6]</sup>。不论是质粒、还是病毒载体均可携带目的基因转导 MSCs, 在体外长期、高效地表达, 而不影响干细胞的特性<sup>[7-9]</sup>。因此, MSCs 是基因工程理想的靶细胞。

非人灵长类 (NHPs) 和人类具有非常相近的遗传背景<sup>[10-11]</sup>, 实验显示 NHPs 与人类 MSCs 具有相似的生物学特征<sup>[12]</sup>。NHPs 模型在评价药物疗效和移植治疗等方面具有不可替代的价值<sup>[13]</sup>。然而, 研究显示成年 NHPs 感染猴泡沫病毒 (SFV) 高达 100%<sup>[14]</sup>, 体外培养来自于 NHPs 的 MSCs 必须添加抗病毒药物<sup>[15]</sup>, 这给 MSCs 慢病毒感染带来了困难。本研究采用密度梯度离心法, 分离培养成年食蟹猴 MSCs, 复苏后的 MSCs 停用抗病毒药, 在停药 6 d 后感染绿色荧光蛋白 (GFP) 慢病毒载体, 大幅提高成年食蟹猴 MSCs 慢病毒感染效率, 为食蟹猴 MSCs 作为基因工程细胞进一步应用于实验或临床研究奠定了基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验动物

实验动物包括 6 只 8~10 岁健康成年食蟹猴和 1 只 SFV 阴性幼年食蟹猴, 由广西南宁灵康赛诺科生物科技有限公司提供, 灵长类动物按照国际实验动物评估和认证管理委员会 (AAALAC) 的标准饲养, 动物病原体检测和生物安全检验合格。

#### 1.1.2 细胞和质粒

293T 细胞由北京大学生命科学院分子生物学实验室惠赠。慢病毒载体转移质粒 DUET101-GFP、包装质粒 CMV $\Delta$ 8.91 和 PMD.G 由美国 Johns Hopkins 大学程临钊教授惠赠。

#### 1.1.3 实验试剂

细胞培养试剂 DMEM-F12、DMEM、OPTI-MEM、MSC-Qualified FBS、BSA、0.25% Trysin-EDTA、GlutaMAX™-I Supplement、N2、青链霉素等购自 Invitrogen 公司。Ficoll-Paque™ Plus 单核细胞分离液购自 StemCell 公司。碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF) 购自 R&D 公司。转染试剂 Lipofectamine 2000 购自 Invitrogen 公司。Polybrene、DMSO、Transferrin 购自 Sigma 公司。潮霉素 (Hygromycin) 购自 Roche 公司。逆转录酶 SSII 和 Trizol 购自 Invitrogen 公司。rTaq 酶购自 TaKaRa 公司, DNA mini kit 购自 Qiagen 公司。Tenofovir 购自 LGM Pharmaceuticals 公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 食蟹猴 MSCs 培养

无菌条件下从食蟹猴髂骨嵴抽取 5 mL 骨髓, 加入等体积的 DPBS 稀释, 贴壁缓慢加入离心管内盛有等体积的 Ficoll 分离液上, 2 500 r/min 离心 20 min, 小心吸取中间层细胞置于另一离心管中, PBS 洗涤 2 次,  $5 \times 10^5$  cells/mL 单核细胞种植在 DMEM 低糖培养基, 包含 10% FBS、1% 青链霉素、1% GlutaMAX、20 ng/mL bFGF 和 10  $\mu$ mol/L Tenofovir, 5% CO<sub>2</sub>、37°C 孵箱培养, 24 h 后更换培养基, 80% 长满后 0.25% 胰酶消化传代。体外培养扩增 MSCs 到一定数量后冻存, 每毫升冻存液中细胞不应低于  $10^6$  个细胞, 异丙醇逐步降温, -80°C 过夜, 转移到液氮中保存。

#### 1.2.2 体外培养 MSCs 感染 SFV

按照 DNA 提取试剂盒的操作步骤, 提取食蟹猴 MSCs 基因组 DNA。用 Trizol 裂解 MSCs, 提取 RNA, Oligo(dT) 逆转成 cDNA。按照文献报道<sup>[16-17]</sup>, 特异引物检测体外培养的食蟹猴 MSCs 感染 SFV 的比例。引物序列包括: round 1: forward 5'-AGGATGGTGGGGACCAGCTA-3'; reverse 5'-GCTGCCCTTG GTCAGAGTG-3'。round 2: forward 5'-CAGTGAA TTCCAGAATCTCTTC-3'; reverse 5'-CACTTATCCC ACTAGATGGTTC-3'。

### 1.2.3 慢病毒载体包装和浓缩

慢病毒包装采用脂质体介导的瞬时转染法, 293T 细胞培养在高糖 DMEM 培养基, 包含 10% FBS、1% Glutamine 和 1% 青链霉素。将 293T 细胞传代于多聚赖氨酸包被的培养皿, 待细胞 80% 汇合后转染。转染过程中, 首先将构建好的编码 GFP 的转移质粒 DUET101、包装质粒 CMV $\Delta$ 8.91 和 PMD.G 按一定比例溶于 OPTI-MEM 中, 同时将 Lipofectamine 2 000 溶于等体积的 OPTI-MEM 中, 室温放置 5 min。然后将两者混合, 轻柔混匀, 室温静置 20 min。用 OPTI-MEM 培养基更换 293T 细胞培养基后, 加入转染混合液。待转染混合液培养 8~12 h 后, 换成 ITS 培养基 (DMEM 高糖培养基包含 10  $\mu$ g/mL Insulin、5  $\mu$ g/mL Transferrin、1% Glutamine 和 1% 青链霉素), 分别于 24 h 和 48 h 后收集病毒上清, 用 0.45  $\mu$ m 滤器过滤细胞碎片, 4 $^{\circ}$ C 保存。将病毒上清加入 Ultra-Plus 20 滤膜, 4 $^{\circ}$ C、4 000 $\times$  g 离心 20 min, 所得浓缩病毒转染 293T 细胞进行滴度鉴定后, -80 $^{\circ}$ C 保存, 用于下一步实验。

### 1.2.4 慢病毒载体感染 MSCs

将成年食蟹猴 MSCs 冻存管从液氮中取出, 37 $^{\circ}$ C 迅速解冻, 转移入 15 mL 离心管中加入 10 mL 不含抗病毒药物 Tenofovir 的 MSCs 培养基, 1 000 r/min 离心 2 min。吸出上清, 种植于含有或不含抗病毒药物 Tenofovir 的 MSCs 培养基中。按 1:3 传代, 用含有或不含抗病毒药物 Tenofovir 的 MSCs 培养基继续培养 2~6 d。等到细胞长满 70%, 更换新鲜培养基, 根据 GFP 慢病毒滴度和细胞数量, 分别于不同的时间点 (2、4、6 d), 按不同拷贝数 (1、5、10、15) 加入病毒上清, 同时按培养基体积加入 8  $\mu$ g/mL 的 polybrene。孵育 20 h 后弃去转染液, 加入新鲜培养基。继续培养 1 周后, 荧光显微镜观察 GFP 阳性细胞, 流式细胞仪计数慢病毒感染效率。SFV 阴性食蟹猴 MSCs 作为对照。

### 1.3 统计分析

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, SPSS16.0 软件进行统计分析。采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  认为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 成年食蟹猴 MSCs 培养

骨髓单核细胞 (MNCs) 以  $2 \times 10^5$  cells/cm $^2$  接种于 25 cm $^2$  的培养瓶, 48 h 后更换培养基, 2~4 d 后出现增殖克隆, 部分细胞呈纺锤形或多角形, 大小长短不一。经 8~10 d 培养, 细胞 80% 融合, 细胞形态转变成以长梭形为主, 呈涡旋状排列生长。胰酶消化传代, 当细胞扩增到一定数量后冻存。

### 2.2 慢病毒载体包装和滴度检测

GFP 慢病毒载体 DUET101 包含 2 个启动子结构 EF1- $\alpha$  和 PGK, 分别驱动 GFP 基因和潮霉素抗性基因 (图 1E)。慢病毒载体系统的 3 个质粒 DUET101、CMV8.91 和 PMD.G 按一定比例共转染 293T 细胞 (图 1A、1B), 收集感染后 24 h, 48 h 的上清, 浓缩后感染 293T 细胞 (图 1C), 流式细胞仪计数 GFP 阳性细胞比例达 95% (图 1D), 计算病毒滴度为  $1 \times 10^7$  TU/mL (TU, Transduction unit)。

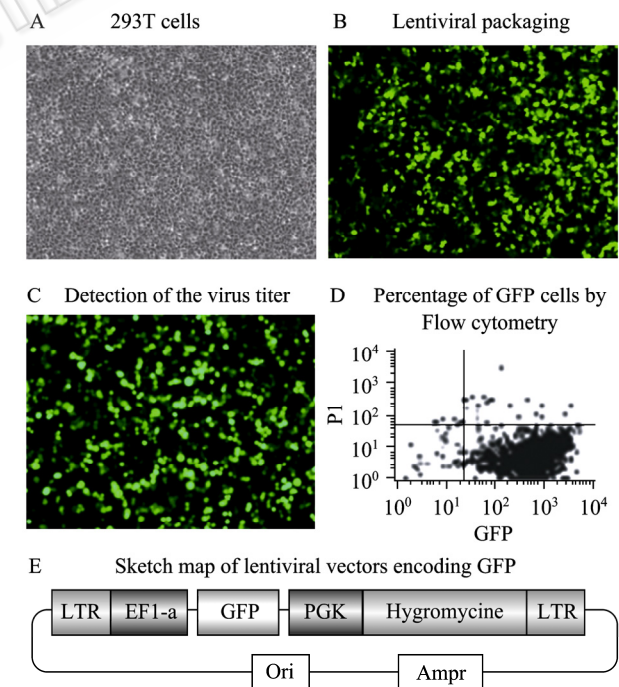


图 1 慢病毒载体包装及滴度检测

Fig. 1 Package and titer detection of lentiviral vectors. (A) 293T cells (Magnification, 100 $\times$ ). (B) Package of lentiviral vectors in 293T cells (20 h after lipofectin transfection, Magnification, 100 $\times$ ). (C) Detection of the lentiviral titer by infecting 293T cells with concentrated virus (Magnification, 100 $\times$ ). (D) The percentage of GFP positive cells by flow cytometry. (E) Sketch map of lentiviral vectors encoding GFP.

### 2.3 成年食蟹猴 MSCs 感染猴泡沫病毒 (SFV)

研究报道 3 岁以上的非人灵长类 (NHPs) 感染猴泡沫病毒 (SFV) 比例高达 100%<sup>[14]</sup>。与前人的报道一致<sup>[15]</sup>，体外培养食蟹猴 MSCs 添加抗病毒药物 Tenofovir，避免出现因 SFV 感染引起的细胞融合 (图 2A)。而没有添加抗病毒药物 Tenofovir，将出现大的融合细胞，细胞无法分裂增殖 (图 2B)。RT-PCR 确认出现融合细胞的 MSCs 感染 SFV (图 2C)。结果显示，随机选择的 6 只 8~10 岁健康成年食蟹猴均感染 SFV，体外培养必须添加 Tenofovir，否则不超过 3 代即出现大片融合细胞，无法继续传代培养 (图 2D)。添加抗病毒药物能继续体外培养，且能维持 MSCs 正常的细胞形态和增殖分化能力<sup>[15]</sup>。

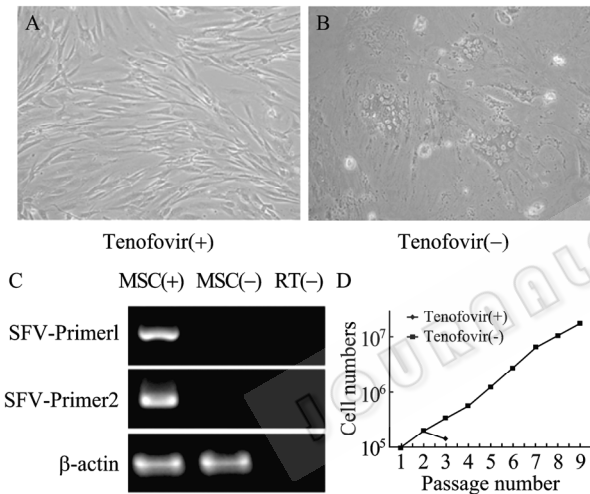


图 2 成年食蟹猴 MSCs 感染 SFV

Fig. 2 SFV infection in cultured MSCs of adult cynomolgus monkey. (A) MSCs culture with Tenofovir (Magnification, 200 $\times$ ). (B) The morphology of fusion cells were showed in MSCs culture without Tenofovir (Magnification, 200 $\times$ ). (C) RT-PCR reconfirmed MSCs infected with SFV. MSC (+) or (-) indicated the presence or absence of fusion cells in MSCs culture. (D) Adult cynomolgus monkey MSCs could be passaged for more than 10 with Tenofovir, and not more than passage 3 without Tenofovir.

### 2.4 成年食蟹猴 MSC 转染慢病毒

SFV 阴性的食蟹猴 MSCs 作为对照，检测慢病毒感染食蟹猴 MSCs 效率。结果显示，慢病毒 MOI 值为 5 和 10，食蟹猴 MSCs 感染效率可达到 80% 以上 (图 3A)。在 MOI 值为 10 的条件下，随着感染时间延长，感染效率逐渐提高，20 h 后到达平台水平，感染效率为 85% 左右 (图 3B)。

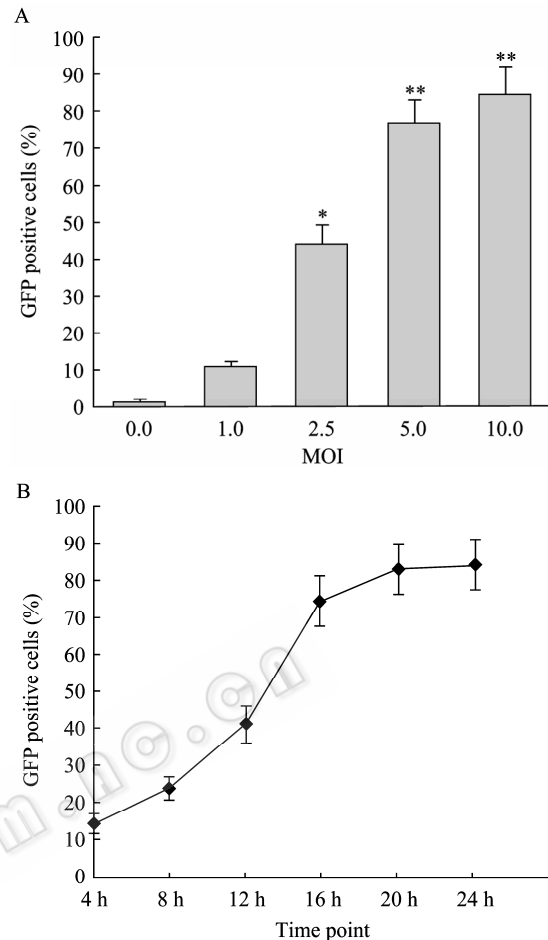


图 3 不同拷贝数或感染时间条件下慢病毒感染 SFV 阴性 MSCs 的效率

Fig. 3 Infection efficiency of SFV negative MSCs with lentiviral vectors at different MOI or infection times. (A) The percentage of GFP positive cells at different MOI (\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ). (B) The percentage of GFP positive cells at different infection times.

成年食蟹猴 MSCs 均感染 SFV，体外培养必须添加抗病毒药物 Tenofovir (图 4A、4F)。与 SFV 阴性 MSCs 感染效率比较 (图 3 和图 4E、4J)，SFV 阳性 MSCs 由于感染 SFV，以及培养添加的抗病毒药物 Tenofovir，明显降低慢病毒感染效率 (<10%) (图 4G 和图 5)。因此，为了提高慢病毒的感染效率，在复苏成年食蟹猴 MSCs 后停用抗病毒药物，分别于不同的时间点，感染慢病毒 (图 4H、4I 和图 5)，随着停用时间的延长转染效率相应增加，停用 6 d 后慢病毒转染效率可达到 50% (图 4I 和图 5)。但另一方面，由于成年食蟹猴 MSCs 感染 SFV，随着停用抗病毒药物时间的延长，会出现融合细胞 (平均超过 8 d 后)，MSCs 将无法继续传代培养。

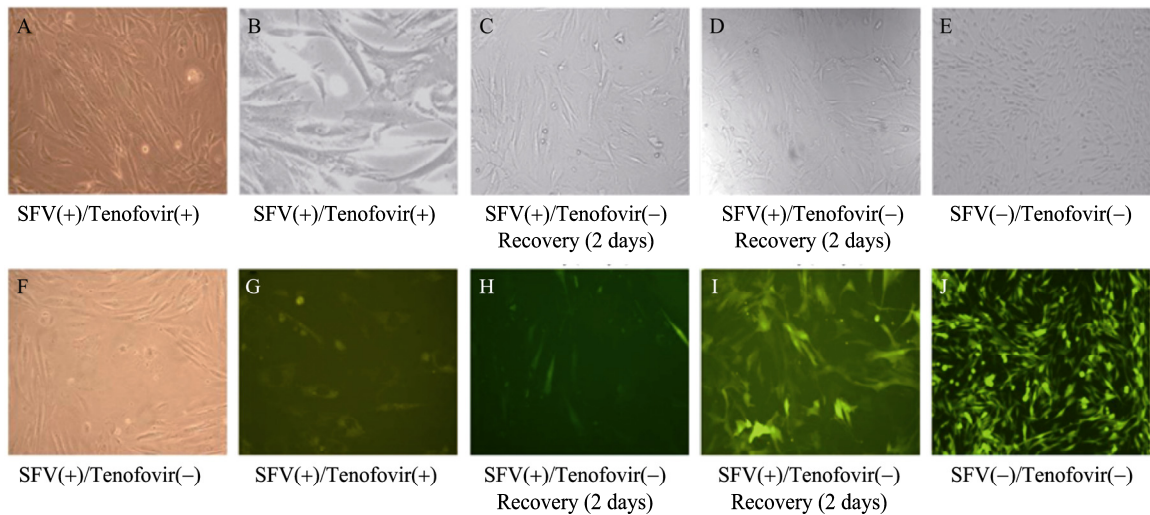


图 4 停用抗病毒药物 Tenofovir 后不同时间点慢病毒载体的感染效率

Fig. 4 Infection efficiency of SFV positive MSCs without Tenofovir with lentiviral vectors at different time point after recovery by fluorescence microscope. (A) and (F) SFV positive MSCs with or without Tenofovir in culture (Magnification, 200 $\times$ ). (B) and (G) The very low infection efficiency of SFV positive MSCs with Tenofovir (Magnification, 400 $\times$ ). (C) and (H) The infection efficiency of SFV positive MSCs without Tenofovir at 2 days after the recovery was about 15% (Magnification, 200 $\times$ ). (D) and (I) The infection efficiency of SFV positive MSCs without Tenofovir at 6 days after the recovery was more than 50% (Magnification, 200 $\times$ ). (E) and (J) As a control, lentiviral vectors infected SFV negative MSCs, and the infection efficiency was about 85% (Magnification, 100 $\times$ ).

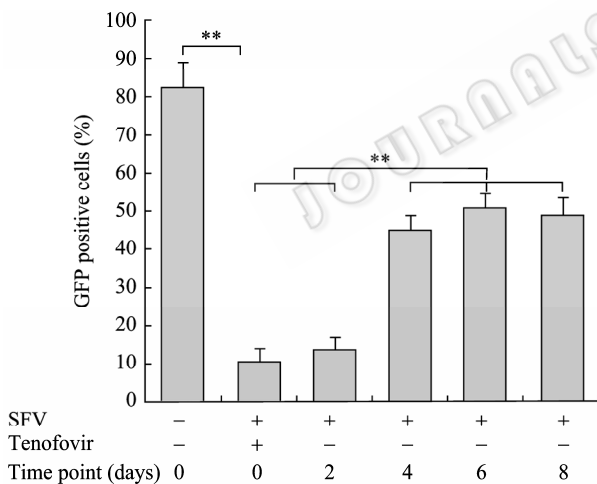


图 5 流式细胞仪检测停用抗病毒药物 Tenofovir 不同时间点慢病毒载体的感染效率

Fig. 5 Infection efficiency of SFV positive MSCs without Tenofovir at different time point after the recovery of by flow cytometry (\*\* $P < 0.01$ ).

### 3 讨论

猴泡沫病毒 (SFV) 主要感染非人灵长类 (NHPs), 包括大猩猩、狒狒、猴等。SFV 通过体液传播, 能感染经常接触 NHPs 的人群或其他物种。虽然研究显示捕获的或野外的 3 岁以上的 NHPs 感

染 SFV 比例高达 100%<sup>[14]</sup>, 但至今尚未发现 SFV 对 NHPs 有致病性。SFV 物种间的传播会引起致病性的改变<sup>[18-19]</sup>, 但尚没有确切的证据表明人类感染 SFV 而致病<sup>[20]</sup>。与之前的研究一致, 本研究发现, 体外培养 8~10 岁食蟹猴 MSCs 均感染 SFV, 体外培养扩增 MSCs 必须添加抗病毒药物。

慢病毒和 SFV 均属于逆转录病毒科, 为 RNA 病毒<sup>[21-22]</sup>, 病毒基因均包括 *gag*、*pol* 和 *env* 3 个基本结构基因。目前, 现有的慢病毒载体来源于多个物种, 如 HIV-1、2 型和 SIV 等。对 HIV 来源的慢病毒载体构建研究最广泛和深入, 它与一般的逆转录病毒载体不同的是, 对分裂细胞和非分裂细胞均具有感染能力, 可以将外源基因有效地整合到宿主染色体上, 从而达到持久性表达<sup>[23]</sup>。本研究发现, 体外构建的 GFP 慢病毒载体, 感染 293T 细胞和食蟹猴 MSCs 效率分别高达 95% 和 85% 以上, 并能在体外持续表达。

MSCs 可以自体取材, 体外扩增, 可作为基因工程改造细胞, 不存在免疫排斥, 上述优点使 MSCs 成为各种疾病基因治疗中不可替代的重要载体<sup>[24-26]</sup>。研究显示, MSCs 作为基因工程细胞, 易于接受外援

基因。对比各种基因转导 MSCs 的方法,慢病毒具有最高的感染效率,并能稳定表达<sup>[27]</sup>。本研究发现,成年食蟹猴 MSCs 均感染 SFV,体外培养 MSCs 必须添加抗病毒药物,但由于 SFV 感染和添加抗病毒药物的影响,慢病毒感染效率非常低下。因此,为了提高慢病毒的感染效率,复苏成年食蟹猴 MSCs 后停用抗病毒药物,停药 6 d 慢病毒转染效率可达到 50%,大幅提高 SFV 阳性 MSCs 的感染效率。另一方面,停用抗病毒的时间不宜过长,超过 8 d 后, MSCs 会出现因 SFV 感染而引起的融合细胞, MSCs 将无法继续传代培养。本研究解决了因 SFV 感染而引起的食蟹猴 MSCs 慢病毒感染效率低下的问题,为食蟹猴 MSCs 作为基因工程载体细胞应用于实验和临床研究提供了技术保证。

## REFERENCES

- [1] Abdallah BM, Kassem M. Human mesenchymal stem cells: from basic biology to clinical applications. *Gene Ther*, 2008, **15**(2): 109–116.
- [2] Barry FP, Murphy JM. Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, **36**(4): 568–584.
- [3] Agata H, Watanabe N, Ishii Y, et al. Feasibility and efficacy of bone tissue engineering using human bone marrow stromal cells cultivated in serum-free conditions. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, **382**(2): 353–358.
- [4] Porada CD, Zanjani ED, Almeida-Porad G. Adult mesenchymal stem cells: a pluripotent population with multiple applications. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2006, **1**(3): 365–369.
- [5] Krampera M, Pizzolo G, Aprili G, et al. Mesenchymal stem cells for bone, cartilage, tendon and skeletal muscle repair. *Bone*, 2006, **39**(4): 678–683.
- [6] Bartholomew A, Patil S, Mackay A, et al. Baboon mesenchymal stem cells can be genetically modified to secrete human erythropoietin *in vivo*. *Hum Gene Ther*, 2001, **12**(12): 1527–1541.
- [7] Chan J, O'Donoghue K, de la Fuente J, et al. Human fetal mesenchymal stem cells as vehicles for gene delivery. *Stem Cells*, 2005, **23**(1): 93–102.
- [8] Lee K, Majumdar MK, Buyaner D, et al. Human mesenchymal stem cells maintain transgene expression during expansion and differentiation. *Mol Ther*, 2001, **3**(6): 857–864.
- [9] Zhang XY, La Russa VF, Bao L, et al. Lentiviral vectors for sustained transgene expression in human bone marrow-derived stromal cells. *Mol Ther*, 2002, **5**(5Pt 1): 555–565.
- [10] Boffelli D, McAuliffe J, Ovcharenko D, et al. Phylogenetic shadowing of primate sequences to find functional regions of the human genome. *Science*, 2003, **299**(5611): 1391–1394.
- [11] Dunbar CE. The use of nonhuman primate models to improve gene transfer into haematopoietic stem cells. *J Intern Med*, 2001, **249**(4): 329–338.
- [12] Izadpanah R, Joswig T, Tsien F, et al. Characterization of multipotent mesenchymal stem cells from the bone marrow of rhesus macaques. *Stem Cells Dev*, 2005, **14**(4): 440–451.
- [13] Inaba M, Adachi Y, Hisha H, et al. Extensive studies on perfusion method plus intra-bone marrow-bone marrow transplantation using cynomolgus monkeys. *Stem Cells*, 2007, **25**(8): 2098–2103.
- [14] Jones-Engel L, Steinkraus KA, Murray SM, et al. Sensitive assays for simian foamy viruses reveal a high prevalence of infection in commensal, free-ranging Asian monkeys. *J Virol*, 2007, **81**(14): 7330–7337.
- [15] Lee CC, Ye F, Tarantal AF. Comparison of growth and differentiation of fetal and adult rhesus monkey mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev*, 2006, **15**(2): 209–220.
- [16] Jones-Engel L, Engel GA, Schillaci MA, et al. Primate-to-human retroviral transmission in Asia. *Emerg Infect Dis*, 2005, **11**(7): 1028–1035.
- [17] Jones-Engel L, May CC, Engel GA, et al. Diverse contexts of zoonotic transmission of simian foamy viruses in Asia. *Emerg Infect Dis*, 2008, **14**(8): 1200–1208.
- [18] Murray SM, Picker LJ, Axthelm MK, et al. Expanded tissue targets for foamy virus replication with simian immunodeficiency virus-induced immunosuppression. *J Virol*, 2006, **80**(2): 663–670.
- [19] Cummins JE Jr, Boneva RS, Switzer WM, et al. Mucosal and systemic antibody responses in humans infected with Simian foamy virus. *J Virol*, 2005, **79**(20): 13186–13189.
- [20] Switzer WM, Bhullar V, Shanmugam V, et al. Frequent simian foamy virus infection in persons occupationally exposed to nonhuman primates. *J Virol*, 2004, **78**(6): 2780–2789.
- [21] Neuman-Haefiell D. Foamy viruses. *Intervirology*, 1993, **35**: 196–207.
- [22] Lai Z, Brady RO. Gene transfer into the central nervous system *in vivo* using a recombinant lentivirus vector. *J*

*Neurosci Res*, 2002, **67**(3): 363–371.

- [23] Chang LJ, Gay EE. The molecular genetics of lentiviral vectors--current and future perspectives. *Curr Gene Ther*, 2001, **1**(3): 237–251.
- [24] Himes BT, Neuhuber B, Coleman C, *et al.* Recovery of function following grafting of human bone marrow-derived stromal cells into the injured spinal cord. *Neurorehabil Neural Repair*, 2006, **20**(2): 278–296.
- [25] Lee RH, Hsu SC, Munoz J, *et al.* A subset of human

rapidly self-renewing marrow stromal cells preferentially engraft in mice. *Blood*, 2006, **107**(5): 2153–2161.

- [26] Gregory CA, Prockop DJ, Spees JL. Non-hematopoietic bone marrow stem cells: molecular control of expansion and differentiation. *Exp Cell Res*, 2005, **306**(2): 330–335.
- [27] McMahon JM, Conroy S, Lyons M, *et al.* Gene transfer into rat mesenchymal stem cells: a comparative study of viral and nonviral vectors. *Stem Cells Dev*, 2006, **15**(1): 87–96.



## 科学出版社科学出版中心生命科学分社新书推介

### 再生医学——理论与技术

“十一五”国家重点图书出版规划项目  
国家科学技术学术著作出版基金资助出版  
裴雪涛 主编 (应用生物技术大系)  
978-7-03-027266-9 ¥158.00 2010年5月

#### 内容简介

再生医学是目前备受关注的—个新兴学科,本书以科学、新颖、系统为基准,对于细胞、克隆技术、细胞重编程技术、组织工程、组织器官代用品、生物人工器官、异种器官移植等领域的最新理论和技术进行系统描述,全面地介绍再生医学的生物学基础、主要技术方法、应用和展望等。

本书可作为科研院所、大学、政府、企业等从事再生医学及其相关领域研究、开发、管理和应用的科学家、工程技术人员、临床医师、研究生、管理人员、社会学家和伦理学家等的参考用书。



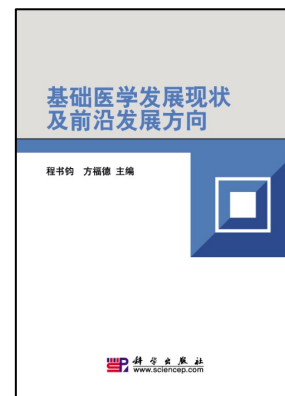
### 基础医学发展现状及前沿发展方向——中国工程院咨询项目报告

程书钧 等主编  
978-7-03-027401-4 ¥29.00 2010年5月

#### 内容简介

本报告是中国工程院医药卫生学部“医药学科发展现状及前沿发展方向”咨询项目的研究成果之一,详细分析了国内外基础医学学科发展现状与差距,分析、预测了基础医学学科发展趋势与需求,评述了我国基础医学学科面临的挑战与机遇,提出了我国基础医学学科前沿发展方向,以促进我国基础医学的可持续发展。

本报告展示了20多位院士、专家关于转化医学、免疫学、肿瘤防治等9个方面的研究成果和观点,可作为政府部门、科研机构、大学、企业进行基础医学科研布局决策或开展具体研究工作的重要参考资料,可供国内外专家、学者研究和参考。



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(010-64031535)

网上订购:www.dangdang.com www.joy.com www.amazon.cn www.beifabook.com

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