

条件培养液中的活性组分

金洁 史小林*

(首都医科大学生殖医学研究中心, 北京 100054)

摘要 条件培养液中含有细胞分泌的活性物质, 因此, 条件培养液可再现体外培养细胞或组织的微环境, 促进或抑制来源不同的细胞或组织的生长、增殖和分化, 也被用于研究各种生理或病理现象的机制。当前, 国内外研究较多的有乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 细胞、骨髓内皮细胞、坐骨神经和肝细胞等的条件培养液。

关键词 条件培养液; MDA-MB-231 细胞; 骨髓内皮细胞; 坐骨神经; 肝细胞

体外培养是医学研究领域广泛使用的技术, 体外培养的条件是目的细胞和组织生长、增殖的基本保证, 因此, 体外培养条件一直是科学界不断研究的课题。体外培养细胞的增殖和功能状态, 可通过接触依赖性和接触非依赖性的细胞间的相互作用, 受到周围细胞的影响^[1]。其相互作用包括: (1) 释放调节因子(即生长因子和抑素); (2) 对临近细胞的浆膜成分和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)成分发生反应; (3) 通过缝隙连接进行信号传递。共培养技术和饲养层技术虽说可通过这三条途径对体外培养的细胞施加影响, 但却给日后目的细胞的纯化设置了很大的障碍。此外, 滋养层细胞需经丝裂霉素 C 或 γ 射线处理终止分裂, 多少会影响目的细胞。相比之下, 条件培养液的应用就具有了一定的优势。

在培养过程中, 有些细胞可能会分泌活性物质到培养液中, 其中细胞因子(和相应的受体结合进行细胞间的信息传递)是主要的活性物质之一, 这种培养过某种细胞或组织以后, 含有细胞分泌物的培养液就称为条件培养液。利用条件培养液可有效提高细胞或组织在体外培养的成功率, 而且不同来源的条件培养液对不同细胞、组织有着不同的促进或抑制作用。研究与应用较成熟的是成纤维细胞的条件培养液, Lim 等^[2]对其进行了蛋白质组分析, 鉴定出 136 种蛋白质。

MDA-MB-231 cells, TCM

肿瘤组织的产物可以间接调节肿瘤细胞与宿主细胞间的相互作用, 不少学者将 TCM 用于肿瘤发生、生长、转移的机制研究中, 发现 TCM 可通过多种途径促进肿瘤细胞的增殖和恶性化, 为临床上肿瘤的治疗提供了新的思路。Wu 等^[3]证明 MDA-MB-231 细胞可产生高浓度的血管内皮生长因子(VEGF)、粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)和白细胞介素 8(IL-8)。前两者在其中可能具有重要角色。

VEGF 属垂体源性生长因子家族, 非还原型分子量为 46 kDa, 还原型分子量为 18 和 23 kDa, 凝胶过滤分子量为 36~41 kDa。在体外的作用: (1) 下调肿瘤坏死因子 α (TNF- α)诱导的血管内皮细胞 E-选择蛋白(CD62-E)、血小板-内皮细胞黏附分子 1(PECAM-1)和血管细胞黏附分子 1(VCAM-1/CD106)等黏附分子的表达, 使肿瘤组织免于宿主免疫系统细胞毒细胞的侵入^[4]; (2) 作为血管内皮细胞的丝裂原, 可作用于 Flk-1 受体, 激活促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)/胞外信号调节激酶(ERK), 进一步激活应激活化蛋白激酶(stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal kinase, SAPK/JNK), 最终促进血管内皮细胞周期蛋白 D1/E 的表达, 增强周期蛋白依赖激酶(cyclin-dependent kinase, CDK4)的活性, 加速内皮细胞从 G₁ 期向 S 期的转化, 从而诱导血管内皮

1 乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 细胞条件培养液(tummor-conditioned medium from

收稿日期: 2004-10-08 接受日期: 2004-11-18

北京市教委资助项目(No.KM200310025289)

* 通讯作者。Tel: 010-63051443, Fax: 010-63291972, E-mail: x.l.

shi@263.net

细胞的增殖、分化和肿瘤的血管发生^[5,6]; (3)Oyama等^[7]认为 VEGF 可通过 Flt-1 受体减少核因子 κ B(NF- κ B)亚基 RelB 和 c-Rel 的表达,从而显著抑制 NF- κ B 激活基因转录的活性,影响造血前体细胞分化为功能成熟的树突状细胞,降低其抗原传递功能。

GM-CSF 在体内的主要功能为促进粒细胞生成,分子量为 18~32 kDa,凝胶过滤分子量为 30 kDa。体外可促进粒细胞和巨噬细胞的增殖、分化,调节两系成熟细胞生物功能的表达^[8], (1)下调人正常中性粒细胞(normal human neutrophil, PMN)的呼吸爆发,抑制 PMN 的细胞毒性; (2)引起膜表面蛋白的改变,如诱导 PMN CD11b 和 CD18 受体的表达,增强其黏附肿瘤细胞的能力,帮助肿瘤细胞穿透各种正常的血管内膜屏障^[3]。

2 骨髓内皮细胞条件培养液(bone marrow endothelial cells conditioned medium, BMEC-cm)

造血基质细胞、ECM 和细胞因子构成骨髓微环境的三维网络。BMEC 作为一种重要的基质细胞,在骨髓微环境中发挥着不可替代的作用。Li 等^[9]在 BMEC 中检测到 19 种细胞因子的 mRNA,包括干细胞因子(SCF)、GM-CSF、IL-1、IL-6 和 IL-11 等造血刺激因子及转化生长因子 β (TGF- β)、巨噬细胞抑制蛋白 2 α (macrophage inhibitory protein 2 α , MIP-2 α)、巨噬细胞刺激蛋白 1(macrophage stimulating protein 1, MSP-1)、胸腺素 β 4、干扰素 γ 、IL-13、抑制素等造血抑制因子的 mRNA。分子量小于 10 kDa 组分的 BMEC-cm 含抑制因子为主,用来维持造血干细胞的静止状态,避免干细胞的耗竭和化疗药物对造血的副作用;分子量大于 10 kDa 组分含刺激因子为主,在适当浓度下用来刺激骨髓和卵黄囊造血干/祖细胞的体外增殖及高增殖潜能成集落细胞(high proliferative potential colony-forming cells, HPP-CFC)、粒细胞巨噬细胞集落生成单位(colony-forming unit-granulocyte macrophage, CFU-GM)、红细胞集落生成单位(erythrocytic colony-forming unit, CFU-E)、红细胞爆裂型集落生成单位(erythrocytic burst-forming unit, BFU-E)和巨核细胞集落生成单位(colony-forming unit-megakaryocyte, CFU-Meg)的形成^[9,10]。关于 TGF- β 、SCF 的研究较多。

TGF- β 最初被发现能使成纤维细胞发生表型转

化,因此而得名。非还原型分子量为 25 kDa,还原型分子量为 11.5~12.5 kDa,凝胶滤过分子量为 23~25 kDa。其作用为: (1)调节细胞周期抑制因子 p21、p27 的产出和功能,使脐血(cord blood, CB) CD34⁺CD38⁻Lin⁻ (lineage-marker-negative)细胞处于静止期,如抑制 TGF- β 的作用,可显著促进 CD34⁺CD38⁻Lin⁻ 细胞的增殖,导致占绝对优势的 BFU-E 的产出,这一红系发生的早期过程不依赖于促红细胞生成素(EPO); (2)TGF- β 在 SCF/EPO 刺激的培养体系中促进 CFU-E 的生成,且在没有 EPO 的情况下,可加速小型 BFU-E/CFU-E 的形成; (3)5 ng/ml 时, TGF- β 并不抑制幼稚红细胞的生长,但可在没有巨噬细胞的情况下显著诱导其去核过程,可能主要作用于中幼红细胞和晚幼红细胞^[11]; (4)与两种跨膜丝/苏氨酸激酶受体(TGF- β I 型、II 型受体, T β R I、II)的复合体结合,磷酸化下游的效应分子 Smad2、Smad3 和 Smad4,从而显著上调肌醇磷酸酶 SHIP 的 mRNA 水平(直接诱导 SHIP 基因的启动子活性)及 SHIP 蛋白的表达和功能,SHIP 的磷脂酶活性可引起细胞间磷脂池的改变,如水解第二信使磷脂酰肌醇 3(phosphatidylinositol-3, PI3),进而阻滞蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt/PKB)的磷酸化活化,最终诱导正常细胞或肿瘤细胞的凋亡^[12]; (5)同样通过 Smad 信号途径, TGF- β 可促进卵黄囊的血管发生,如阻滞 T β R I 的作用,可破坏内皮细胞的迁移特性和纤维黏连蛋白的合成,取消 TGF- β 诱导的增殖抑制及间质细胞向平滑肌细胞的分化,导致异常血管形成及正常血管网络的缺乏,但这一作用的信号转换机制与其调节造血的机制并不相同,并且还可通过内皮细胞表达的其他蛋白质信号伴侣发挥作用,包括辅助受体 endoglin、激活素受体样激酶 1(activin receptor-like kinase 1, ALK-1)及其下游效应分子 Smad5^[13]。

SCF 是由正常基质细胞产生的细胞因子,分子量为 20~35 kDa,其作用为: (1)与粒细胞集落刺激因子(G-CSF)联合,下调 p27^{kip} 的活性和信号转导子及转录激活子 3(signal transducer and activator of transcription-3, STAT3)酪氨酸、丝氨酸残基的非依赖性磷酸化,而增强人原始造血细胞在体外长期扩增的能力和体外造血细胞的动员^[14]; (2)作用于受体 c-kit,可诱导 PI3-K 的 p85 亚单位与 c-kit 结合而活化 p110 亚单位,随后磷酸化 Akt,通过渥曼青霉素(wortmannin)和雷帕霉素(rapamycin)敏感途径

磷酸化 p70S6K 的 Thr-389, 进而促进周期蛋白 D3 的表达和 Rb(主要是 Ser-780)的磷酸化, 促使 A 型精原细胞由 G₁ 期进入 S 期, 最终诱导细胞的生长、增殖和分化, 这一过程并不依赖于雄性生殖系干细胞的自我更新和分化^[15]; (3) 是 GM-CSF、IL-5 和 IL-3 外的又一个嗜酸性粒细胞(eosinophils, Eo)形成刺激因子, 可诱导 Eo、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞集落(neutrophilic granulocytes and eosinophils colonies, GEO)两种途经的 Eo 形成, 但是其作用下的嗜酸性粒细胞的集落数和单个集落的细胞数都不是很多(可因与 G-CSF、GM-CSF 的联合而增强), 考虑到 SCF 在体外主要以分泌形式存在, 所以其在体内(以膜表达形式为主)促嗜酸性粒细胞形成的作用会更强, 这一诱导作用主要发生在 Eo 或 GEO 祖细胞的形成阶段, 也可在 Eo 的成熟阶段起部分作用^[16]; (4) 选择性诱导 CB CD34⁺ 细胞和更原始的 CD34⁺CD38⁻Lin⁻ 细胞中肥大细胞的高纯度生长^[11]。

3 坐骨神经条件培养液(cultured-sciatic nerve conditioned medium, SCM)

外周神经系统的发生、维持和修复依赖于多种神经营养因子和其他分子(如调节轴突生长的 ECM 中的分子)的活性^[17]。坐骨神经是体内最长、最粗大的外周有髓神经纤维, 且在体外培养时神经元的轴突将失去作用, 故 SCM 成为研究 Schwann 细胞功能的理想对象, 用于诱导 PC12 细胞的神经元样分化和降低成神经细胞瘤(neuroblastoma, NB)细胞的恶性度^[17-19]。Schwann 细胞作为周围神经纤维的鞘细胞, 对周围神经再生起着重要的作用, 可向其培养液中分泌多种活性物质: 神经生长因子(NGF)、脑源性神经营养因子、睫状神经营养因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)、胶质细胞源性神经营养因子家族、神经调节蛋白(neuregulin, NRG)、磷脂酰肌醇(蛋白)聚糖 1(glypican-1)、组织金属蛋白酶抑制剂-2(TIMP-2)、硫酸乙酰肝素糖蛋白、内皮他丁(endostatin)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)家族、胰岛素样生长因子、contrapsin response mediator protein、细胞表面黏附分子及一些 ECM 成分^[17-20]。

NRG 是一种热稳定蛋白质, 具有肝素亲和性, 被确认为是表皮生长因子超家族的一个亚家族^[21], 其受体分子量为 45~80 kDa, 被认为是坐骨神经体外培养 9~11 天时 SCM 中的主要神经营养因子^[19],

通过使其受体 ErbB 的酪氨酸磷酸化在体外可调节不同神经系统细胞的增殖、迁移和分化^[22]: (1) 与 glypican-1 结合形成 glypican-1-NRG 复合体, 作用于 ErbB 受体, 诱导 PC12 细胞(一种肾上腺嗜铬细胞的克隆系)的神经元样分化, 尤其是突起较长的神经元的生成, 并引起 PC12 细胞内 L、N、P/Q 型 Ca²⁺ 离子流和 A、K⁺dr 型 K⁺ 离子流的功能性增多^[17-19]; (2) 促进神经元的定向、增殖、迁移和分化, 选择性的调节神经元和神经肌肉接头处神经递质受体的表达, 维持神经肌肉接头的存在; (3) NRG 的 ErbB 受体与中间神经元突触后膜 PDZ-区域蛋白的密度有关, 可调节突触的可塑性^[23]; (4) 在正常条件下, 神经元 NRG1(即 $\beta 1$ 异构体)的表达控制着髓鞘的形成速度, 可使髓鞘变厚, 电传导速率增快, NRG III 型受体起主要作用, 且对细轴突的作用更加明显, 这是因为, 轴突直径的线性增长需要髓鞘的指数合成, 即 NRG1 的指数分泌, 此外, 髓鞘形成的增加是 Schwann 细胞包裹圈数增多的结果, 而不是 Schwann 细胞数量上的增多, $\beta 1$ NRG1 的这种作用由整合素信号调节, 故在体外只能诱导去髓鞘和 Schwann 细胞的死亡^[24]; (5) $\alpha 2a-2b$ NRG1 主要由间质细胞(包括 Schwann 细胞)产生, 在没有轴突存在的情况下可显著促进 Schwann 细胞的存活、活性和分化, 此外, 不能排除其促有丝分裂的作用^[25]。

TIMP-2 是 TIMP 家族的一员, TIMP 可抑制所有已知基质金属蛋白酶(matrix metalloproteases, MMP)的活性, 因此在不同的生理过程中, 维持着 ECM 的沉淀和降解平衡^[26], TIMP-2 的体外作用有: (1) 诱导 NB 细胞的分化, 抑制其增殖, 阻滞 bFGF 诱导的人内皮细胞的生长, 减少血管生成, 同时促进 NB 中成纤维细胞的增殖, 降低 NB 的侵入和恶性潜能^[20]; (2) 过渡表达的 TIMP-2 可阻滞 MMP-2 前体的活化, 从而显著抑制 H-ras 转化的巨噬细胞趋化因子 10A (macrophage chemotactic factor, MCF10A) 人类乳腺上皮细胞的转移、侵入和血管形成^[27]。

4 肝细胞条件培养液(hepatocyte-conditioned medium, HCM)

肝脏是人体内具有多种生理与代谢功能的重要脏器, 在糖类、脂类、蛋白质、氨基酸、各种维生素、激素代谢, 胆色素与胆汁酸生成与转归, 药物与毒物的生物转化及其代谢等 500 种以上生理、生化功能与代谢发生联系。肝细胞占肝内细胞

总数的90%，是肝脏行使功能的主体细胞，可合成分泌大量物质。因此，近年来有学者利用生理或病理条件下的HCM进行有关方面的研究。

Fujii等^[28]对大鼠HCM进行凝胶过滤液体色谱分析时发现，有大量分子量超过12 kDa的分子存在。进一步用超滤膜获取分子量大于50 kDa的液体组分，则发现体外肝细胞悬浮球体的形成率与该组分的浓度成正比，可能与纤维黏连蛋白、白蛋白或一些ECM有关，但可溶性因子起到主要的作用。此外，HCM还能调节球体的直径分布在一个适当的范围，以确保球体组成细胞的存活，可显著提高氨的代谢率和白蛋白的分泌率。

大鼠RL-ET-1G细胞是一种对地塞米松(dexamethasone, DEX)诱导谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)表达(转录水平)敏感的肝组织来源的细胞系，Haupt等^[29]发现，HCM中的一种可溶性因子(分子量100~500 kDa)可降低DEX对RL-ET-1G细胞GS活性的诱导作用。用HCM培养的RL-ET-1G细胞中，DEX诱导的GS的mRNA维持在诱导水平，而GS蛋白和GS专有活性则被降低到接近基础水平，表明HCM的阻滞作用发生在转录后水平。该因子虽尚未被鉴定出来，但Haupt等^[30]在1998年证明它并不是谷氨酸。

Bresgen等^[31]用原代培养肝细胞3 h的条件培养液(HCM₀₋₃)培养原代大鼠肝细胞，观察到凋亡的现象，认为与其中的特定因子有关。此外，HCM₀₋₃也诱导细胞的坏死，并且引起细胞形态显著的变化。但是，对凋亡的诱导被证实是最显著的作用，因为只需10 ng/ml浓度的纯化HCM₀₋₃便可诱导细胞的凋亡，而该浓度并不能引起可观测到的细胞坏死和任何形态学上的改变，只有当浓度大于100 ng/ml时，才可引起显著的坏死。肝细胞缺血再灌注造成的细胞凋亡和坏死可引起线粒体通透性转变，而糖分解的ATP产物又可阻止细胞坏死、促进凋亡形成^[32]，这可能是由凋亡向坏死转变的浓度依赖性的机制^[31]。Bresgen等还在HCM₀₋₃中检测到一种酸性铁蛋白的存在，与H-链铁蛋白(NCBI P19132)和人胎盘免疫调节铁蛋白(placental immunomodulatory ferritin, PLIF, NCBI AAK55486)均高度同源。并且，PLIF的mRNA在人肝脏中也有表达^[33]，说明PLIF本身或其相关同源铁蛋白是HCM₀₋₃引起细胞凋亡的主要因子^[31]。

Parkes等^[34,35]在研究肝星形细胞(hepatic stellate cells, HSC)时发现，HCM可刺激体外HSC的DNA

合成及I型胶原的表达，增强HSC对血浆的增殖反应。用离子或维生素A处理过的HCM对HSC的作用更强，可能的机制是，促进肝细胞TGF- β 的合成、分泌和激活，增强HSC TGF- β 诱导的基因表达和I、IV型胶原，PAI-1与TGF- β -1自身的合成。

5 其他细胞的条件培养液

Wang等^[36]发现成年大鼠嗅鞘细胞条件培养液可以：(1)增强PC12细胞的分化，引起形态学改变，促进神经突起的生长，上调神经元特有蛋白 β 微管蛋白III的表达；(2)显著减少Zn²⁺诱导的细胞死亡，对神经细胞具有保护作用。NGF在其中可能起到重要作用。

星形胶质细胞条件培养液(astroglia-conditioned medium, GCM)可诱导体外胚胎中脑培养物向多巴胺能神经元的分化^[37]：(1)显著提高酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)阳性细胞的数量；(2)诱导TH的从头合成，使神经元内TH mRNA和TH蛋白的表达增加；(3)诱导TH树突的长出；(4)引起多巴胺(dopamine, DA)的摄取增加和细胞内DA、还原谷胱甘肽水平的上升。此外，GCM还抑制神经元的凋亡，具有神经保护作用。de-Bernardo等^[37]认为，GCM的这些作用是通过激活PKA、PKC、MAPK和PI3-K途径实现的。

Mack等^[38]将视网膜色素上皮细胞(retinal pigment epithelial cell, RPE)条件培养液用于体外培养的兔视网膜中视锥细胞的分化研究。发现RPE来源的细胞外可溶性因子可刺激与花生凝集素结合的膜表面分子的表达，但抑制视蛋白的表达。RPE条件培养液对视锥细胞分化的不同阶段所表现出的抑制或刺激作用可能与CNTF有关。

可制备条件培养液的细胞还有很多，如视网膜色素上皮细胞与Müller细胞^[39]、骨细胞^[40]、混合淋巴细胞^[41]等，但总的来说，它们的作用机制与应用性的探讨以及新的高效条件培养液的开发还有待于研究者的进一步研究。

参考文献 (References)

- [1] Toth L *et al.* *Cancer Lett*, 2000, **151**: 57
- [2] Lim JW *et al.* *Proteomics*, 2002, **2**: 1187
- [3] Wu QD *et al.* *Eur J Surg*, 2000, **166**: 361
- [4] Watts ME *et al.* *Anticancer Res*, 2002, **22**: 953
- [5] Li A *et al.* *Clin Hemorheol Microcirc*, 2003, **29**: 383
- [6] Pedram A *et al.* *Endocrinology*, 2001, **142**: 1578

- [7] Oyama T *et al.* *J Immunol*, 1998, **160**: 1224
[8] Shin IS *et al.* *J Vet Sci*, 2001, **2**: 159
[9] Li WM *et al.* *Cytokine*, 2000, **12**: 1017
[10] 那晓东等. *中国医学科学院学报*, 2002, **24**: 36
[11] Akel S *et al.* *Stem Cells*, 2003, **21**: 557
[12] Valderrama-Carvajal H *et al.* *Nat Cell Biol*, 2002, **4**: 963
[13] Larsson J *et al.* *EMBO J*, 2001, **20**: 1663
[14] Duarte RF *et al.* *Leuk Lymphoma*, 2002, **43**: 1179
[15] Feng LX *et al.* *J Biol Chem*, 2000, **275**: 25572
[16] Metcalf D *et al.* *Stem Cells*, 2002, **20**: 460
[17] Malave C *et al.* *Brain Res*, 2003, **983**: 74
[18] Castillo C *et al.* *Brain Res*, 2001, **911**: 181
[19] Villegas R *et al.* *Brain Res*, 2000, **852**: 305
[20] Huang D *et al.* *Cancer Res*, 2000, **60**: 5966
[21] Harari D *et al.* *Oncogene*, 1999, **18**: 2681
[22] Yau HJ *et al.* *Cereb Cortex*, 2003, **13**: 252
[23] Buonanno A *et al.* *Curr Opin Neurobiol*, 2001, **11**: 287
[24] Michailov GV *et al.* *Science*, 2004, **304**: 700
[25] Nicolino S *et al.* *Neuroreport*, 2003, **14**: 1541
[26] 范松青等. *癌症*, 2003, **22**: 968
[27] Ahn SM *et al.* *Cancer Lett*, 2004, **207**: 49
[28] Fujii Y *et al.* *J Biomater Sci Polym Ed*, 2000, **11**: 731
[29] Haupt W *et al.* *Life Sci*, 2000, **67**: 3191
[30] Haupt W *et al.* *Cell Biol Toxicol*, 1998, **14**: 69
[31] Bresgen N *et al.* *J Cell Physiol*, 2004, **198**: 452
[32] Kim JS *et al.* *Gastroenterology*, 2003, **124**: 494
[33] Moroz C *et al.* *J Biol Chem*, 2002, **277**: 12901
[34] Parkes JG *et al.* *Ann Clin Lab Sci*, 2003, **33**: 295
[35] Parkes JG *et al.* *Toxicol Lett*, 2003, **144**: 225
[36] Wang YZ *et al.* *Neurosci Lett*, 2003, **346**: 9
[37] de Bernardo S *et al.* *J Neurosci Res*, 2003, **73**: 818
[38] Mack AF *et al.* *Neurosci Lett*, 2003, **341**: 53
[39] Tretiach M *et al.* *Br J Ophthalmol*, 2004, **88**: 957
[40] Heino TJ *et al.* *Exp Cell Res*, 2004, **294**: 458
[41] Ma KK *et al.* *J Mol Cell Cardiol*, 2004, **36**: 505

The Active Components of Conditioned Medium

Jie Jin, Xiao-Lin Shi*

(Reproductive Medical Center, Capital University of Medical Sciences, Beijing 100054, China)

Abstract Conditioned medium contains many active compounds that are secreted by the cells. Hence, it can promote or suppress the cells or the tissues' growing, proliferating and differentiating with the ability to reappear their microenvironment. In addition, it is used to elucidate the mechanisms of various physiological and pathological phenomena. Currently, the conditioned mediums of MDA-MB-231 cells, bone marrow endothelial cells, cultured-sciatic nerves and hepatocytes get more attention. These topics will be reviewed in this article.

Key words conditioned medium; MDA-MB-231 cell; bone marrow endothelial cell; sciatic nerve; hepatocyte

Received: October 8, 2004 Accepted: November 18, 2004

This work was supported by Beijing Municipal Education Commission (No.KM200310025289)

*Corresponding author. Tel: 86-10-63051443, Fax: 86-10-63291972, E-mail: x.l.shi@263.net