

خون بند ناف: سلول‌های بنیادی و روش‌های تکثیر آزمایشگاهی

فاطمه محمد علی^۱، امیر آتشی^۲، مسعود سلیمانی^۳، سعید آبرون^۴، علی‌اکبر پورفتح‌اله^۵، سعید کاویانی^۴،
منصوره عجمی^۱، منیره عجمی^۱

چکیده

سابقه و هدف

خون بند ناف منبعی در دسترس از سلول‌های بنیادی خونساز است که با وجود مزایای زیاد، برخی محدودیت‌ها هم دارد. حجم کم و تعداد کم سلول‌های بنیادی خون بند ناف، منجر به پیوندپذیری با تاخیر آن می‌شود. با در نظر گرفتن این محدودیت‌ها، بسیاری از محققان به دنبال عواملی هستند که باعث تسریع پیوندپذیری و افزایش تعداد مطلق سلول‌های بنیادی خون بند ناف شود.

مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر، بیش از ۲۰۰ مقاله منتشر شده در زمینه خون بند ناف مرور گردید. در این مقاله مروری، به بررسی اهمیت استفاده از خون بند ناف، ماهیت سلول‌های بنیادی موجود در آن و روش‌های تکثیر آزمایشگاهی سلول‌های بنیادی خون بند ناف پرداخته شده است.

یافته‌ها

سلول‌های بنیادی خونساز خون بند ناف در مقایسه با مغز استخوان و خون محیطی، ظرفیت تکثیری بالاتر و جمعیت‌های سلولی نارس‌تری دارند. مطالعه‌های مختلف، حضور جمعیت‌های مختلف سلولی را در کنار سلول‌های بنیادی خونساز، در خون بند ناف نشان داده‌اند که امکان استفاده از این منبع را در ایمونوتراپی، مهندسی بافت و طب ترمیمی مقدور می‌سازد. بنابراین راهبردهایی برای جداسازی و گسترش زیر گروه‌های مختلف سلولی از خون بند ناف و استفاده از آن‌ها در درمان بیماری‌های مختلف مورد توجه قرار گرفته است.

نتیجه‌گیری

خون بند ناف منبعی مورد توجه در تحقیقات و روش‌های درمانی نوین است که در موارد پیوند اورژانسی در بزرگسالانی که اهداکننده مغز استخوان سازگار از نظر HLA ندارند، منبع جایگزین مناسبی است. در کنار در دسترس بودن و ایمن بودن خون بند ناف، مطالعه‌های بیشتری در زمینه تسریع پیوندپذیری، توسعه دسترسی آن، بهبود کیفیت و بررسی نتایج استفاده از آن در گروه‌های مختلف بیماران مورد نیاز است.

کلمات کلیدی: خون بند ناف، سلول‌های بنیادی، پیوند سلول‌های بنیادی خون بند ناف

تاریخ دریافت: ۹۳/۴/۳

تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۲۶

۱- دانشجوی PhD هماتولوژی و بانک خون - گروه خون‌شناسی و بانک خون دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس - تهران - ایران

۲- PhD هماتولوژی و بانک خون - استادیار دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس - تهران - ایران

۳- مؤلف مسؤل: PhD هماتولوژی و بانک خون - دانشیار دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس - تهران - ایران - صندوق پستی: ۱۴۱۱۵-۱۱۱

۴- PhD هماتولوژی و بانک خون - دانشیار دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس - تهران - ایران

۵- مؤلف مسؤل: PhD ایمونولوژی - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون و استاد دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت

مدرس - تهران - ایران - صندوق پستی: ۱۴۱۱۵-۱۱۱

مقدمه

سلول‌های بنیادی خونساز با قابلیت خودنوسازی و تمایز به تمامی رده‌های خونی بالغ باعث حفظ سیستم ایمنی، عملکرد بافتی و هموستاز خونی در تمام طول عمر موجود زنده می‌شوند (۱). سلول‌های بنیادی خونساز دارای ارزش بالایی در درمان بیماری‌های بدخیم و غیر بدخیم می‌باشند. به طور معمول سلول‌های بنیادی مشتق از مغز استخوان و خون محیطی باید به منظور جلوگیری از رد پیوند از نظر آنتی‌ژن‌های لکوسیت انسانی (HLA) با گیرنده پیوند سازگار باشند اما تنها ۲۵٪ تا ۳۰٪ بیماران قادر به تهیه سلول‌های بنیادی مغز استخوان از دهنده خویشاوند و یا غیرخویشاوند (unrelated) سازگار از نظر HLA می‌باشند (۲). در طول دو دهه اخیر، مطالعه‌های مختلف نشان داده‌اند که خون بند ناف منبعی غنی از سلول‌های بنیادی خونساز می‌باشد و از آن جا که خون بند ناف به راحتی از بانک‌های خون بند ناف به دست می‌آید و الزامات کمتری برای سازگاری HLA نیاز دارد، استفاده از سلول‌های بنیادی آن افزایش یافته است (۳).

خون بند ناف اولین بار به عنوان منبع سلول‌های بنیادی در سال ۱۹۷۰ شناخته شد (۴). حضور پروژنیاتورهای خونساز در خون بند ناف انسانی اولین بار در سال ۱۹۷۴ گزارش شد (۵). حدود ۱۰ سال بعد، حضور جمعیت پیش‌ساز خونساز بررسی شد (۶). اولین پیوند خون بند ناف در سال ۱۹۸۹ در درمان کودکی با آنمی فانکونی انجام شد (۷). طبق آخرین گزارش NCBP (National Cord Blood program) تا سال ۲۰۰۹ بیش از ۱۵۰۰۰ پیوند خون بند ناف در سرتاسر جهان انجام شده است (۸). طبق گزارش سالانه BMDW (Bone Marrow Donors World Wide) در سال ۲۰۱۴، بیش از ۶۰۰۰۰۰ واحد خون بند ناف در بیش از ۱۰۰ بانک خون بند ناف در سراسر جهان ذخیره شده است (۹). طبق بررسی که توسط مرکز بین‌المللی پیوند مغز استخوان (IBMTR = International Blood and Marrow Transplant Research) انجام شد، تخمین زده شده است که پس از سال ۱۹۹۸، ۲۰٪ پیوندهای سلول‌های بنیادی انجام شده در بیماران جوان (کمتر از ۲۰ سال) پیوند خون بند ناف بوده

است (۱۰).

با وجود تمام مزایای استفاده از خون بند ناف به علت حجم کم آن، تعداد سلول‌های بنیادی خون بند ناف تنها حدود ۱۰٪ سلول‌های بنیادی موجود در نمونه مغز استخوان است که منجر به پیوندپذیری با تاخیر آن می‌شود (۱۱). یک راه برای غلبه بر این مشکل، پیوند هم‌زمان دو واحد خون بند ناف از دهنده غیرخویشاوند است (۱۲). روش دیگر که در سال‌های اخیر به آن توجه بیشتری می‌شود، شناسایی عواملی است که باعث افزایش لانه‌گزینی، پیوندپذیری و افزایش تعداد مطلق سلول‌های بنیادی موجود در خون بند ناف می‌شوند.

هدف از این مقاله مروری، بررسی مزایا و معایب استفاده از خون بند ناف، بررسی پردازش، استخراج و ذخیره‌سازی خون بند ناف، شناخت فیزیولوژی و سلول‌های موجود در خون بند ناف و نهایتاً بررسی روش‌های مختلف برای تکثیر آزمایشگاهی سلول‌های بنیادی خون بند ناف بود که قادر به افزایش قابل اعتماد و حقیقی در تعداد سلول‌های بنیادی/ پروژنیاتور موجود در یک واحد خون بند ناف و نهایتاً افزایش میزان پیوندپذیری و افزایش بقای بیماران می‌شود.

مزایا و معایب استفاده از خون بند ناف:

از آن جا که تعداد جمعیت جهان بیش از ۶ میلیارد نفر است و سالانه بیش از ۱۰۰ میلیون نوزاد متولد می‌شود، بنابراین خون بند ناف بزرگترین منبع سلول‌های بنیادی است (۱۳). سلول‌های بنیادی خون بند ناف یک مرحله حد واسط سلول‌های بنیادی رویانی و سلول‌های بنیادی بزرگسالان هستند که پتانسیل تکثیری بالایی دارند (۱۴). علاوه بر پتانسیل خودنوسازی، خون بند ناف منبعی است که استفاده نمی‌شود و دور ریخته می‌شود. هم چنین جمع‌آوری غیر تهاجمی آن از مزایای دیگر خون بند ناف نسبت به سایر منابع سلول‌های بنیادی است. خون بند ناف منبعی فراوان از سلول‌های بنیادی/ پروژنیاتور خونساز و غیر خونساز است و سلول‌های پروژنیاتور اولیه آن ۱۰ برابر سلول‌های بنیادی مغز استخوان می‌باشد (۱۵).

مطالعه‌های آزمایشگاهی متعددی نشان داده‌اند که

قرار می‌گیرند مشاهده می‌شود و به عنوان جایگزینی مناسب در کودکان و بزرگسالان فاقد اهداکننده سازگار از نظر HLA مطرح می‌باشد (۲۱، ۳۳).

استفاده از خون بند ناف با محدودیت‌هایی نیز همراه است. یکی از معایب استفاده از خون بند ناف، کم بودن تعداد سلول‌های موجود در یک واحد آن است. تعداد سلول‌های بنیادی/پروژنیاتور موجود در یک واحد خون بند ناف تنها حدود ۵٪ مقدار مطلوب مورد نیاز برای پیوند خونساز بزرگسالان است ($10^6 \times 4-2$ به ازای هر کیلوگرم) (۳۴). NCBP اعلام کرده است که تنها ۲۰٪ از واحدهای خون بند ناف، حاوی مقادیر سلولی کافی برای یک بیمار ۷۵ کیلوگرمی می‌باشند (با توجه به آستانه مقدار سلول بیشتر از $10^7 \times 2/5$ سلول‌های هسته‌دار کل (TNCs) به ازای کیلوگرم) (۳۵). بنابراین پیوند خون بند ناف به طور معمول و به طور موفقیت‌آمیزتری در پیوندهای کودکان استفاده می‌شود. بیماران دریافت‌کننده خون بند ناف با میزان سلول‌های تک هسته‌ای کل کمتر از $10^7 \times 1/8$ و سلول‌های $CD34^+$ کمتر از $10^5 \times 1/7$ به ازای هر کیلوگرم وزن گیرنده، پیوندپذیری و میزان بقای کمتری دارند. بنابراین تعداد سلول‌های هسته‌دار تزریق شده و درجه سازگاری HLA، پیشگویی کننده‌های اصلی موفقیت پیوند خون بند ناف هستند (۳۷، ۳۶).

محدود بودن تعداد سلول‌های موجود در خون بند ناف منجر به پیوندپذیری با تاخیر و بازسازی کمتر نوتروفیل و پلاکت می‌شود (۳۸). مطالعه‌های مختلف نشان داده‌اند که استفاده از خون بند ناف با بازسازی نوتروفیلی (نوتروفیل بیشتر از 500 سلول در mm^3) در ۲۲ تا ۲۷ روزه همراه می‌باشد که در مقایسه با زمان بازسازی نوتروفیلی در تزریق سلول‌های بنیادی مغز استخوان از اهداکننده غیرخویشاوند که ۱۸ روز است، بالاتر می‌باشد. هم‌چنین زمان بازسازی پلاکتی (پلاکت بیشتر از 20000 سلول در mm^3) ۶۰ روز به طول می‌انجامد در حالی که با سلول‌های بنیادی مغز استخوان ۲۹ روز است (۳۹). اما محدودیت دیگر استفاده از خون بند ناف این است که یک بار می‌توان آن را جمع‌آوری کرد و مشخص نیست که حاوی سلول‌های بنیادی خونساز کافی برای پیوند موفق در بزرگسالان باشد.

احتمال بروز GVHD با پیوند خون بند ناف کمتر بوده و لنفوسیت‌های خون بند ناف از لنفوسیت‌های مغز استخوان و خون محیطی ایمنی‌زایی کمتری دارند (۱۹-۱۶).

GVHD علت عمده مرگ و میر پس از پیوند سلول‌های بنیادی خونساز آلوزن و تزریق لنفوسیت اهداکنندگان است (۲۰). در مطالعه‌های مختلفی که به بررسی بروز GVHD و بقای بیماران دریافت‌کننده سلول‌های بنیادی خونساز خون بند ناف از اهداکننده غیرخویشاوند پرداخته‌اند، حداقل ۳/۶ سازگاری از نظر HLA را برای پیوند خون بند ناف لازم می‌دانند (سازگاری از نظر HLA های A، B و DRB1) (۲۴-۲۱). در حالی که در پیوند مغز استخوان از خویشاوندان، سازگاری ۶/۶ و از غیر خویشاوندان سازگاری ۱۰/۱۰ (از نظر HLA های B، C، A، DRB1 و DQB1) لازم است و حتی برخی مراکز به علت افزایش GVHD متعاقب ناسازگاری آلل‌های DPB1 در پیوند مغز استخوان، این آلل را نیز از نظر سازگاری بررسی می‌کنند که تحت عنوان سازگاری ۱۲/۱۲ شناخته می‌شود (۲۹-۲۵). همان‌طور که ذکر گردید لنفوسیت‌های خون بند ناف ایمنی‌زایی کمتری نسبت به سایر منابع دارند؛ دلایلی هم‌چون: عدم تولید لنفوسیت T سیتوتوکسیک، عدم ساخت سایتوکاین‌های پیش‌التهابی تولید شده از Th1 (ایترفرون- γ و TNF- α) در نوزاد نسبت به بزرگسالان و عدم بلوغ سلول‌های ایمنی یا کنترل آن توسط سلول‌های دندریتیک یا سلول‌های کشنده طبیعی موجود در خون بند ناف، در این امر دخیل هستند (۳۰).

از دیگر مزایای خون بند ناف، احتمال کمتر آلودگی ویروسی با عواملی چون سیتو مگالوویروس و اپشتاین بار ویروس می‌باشد (۳۱). هم‌چنین در مقایسه با نمونه مغز استخوان که نیمه عمر محدودی داشته و نیاز به همکاری بین پزشک جمع‌آوری‌کننده، پرسنل حمل و نقل و تیم پیوند دارد، نمونه فریز شده خون بند ناف را می‌توان به راحتی انجماد زدایی کرد و در هنگام نیاز استفاده نمود. سلول‌های بنیادی خون بند ناف نسبت به سایر سلول‌های بنیادی سوماتیک، طول تلومر طولانی‌تر و فعالیت تلومرایی بالاتری دارند (۳۲). در نتیجه در سال‌های اخیر افزایش قابل توجهی در تعداد بیماران که تحت پیوند خون بند ناف

ناف به این صورت است که پس از بریدن و گره زدن بند ناف، یک کیسه مخصوص با بارکد مشخص جهت جمع‌آوری انتخاب می‌شود. سوزن متصل به کیسه با رعایت شرایط استریل وارد ورید بند ناف شده و کیسه در سطح پایین‌تری قرار داده می‌شود تا خون داخل ورید بند ناف به سرعت و به طور کامل وارد کیسه جمع‌آوری استریل با ماده ضد انعقاد شود. مطالعه‌های مختلف نشان داده‌اند که ضد انعقادهای هپارین و اسید سیترات دکستروز (ACD) مناسب می‌باشند (۴۳).

پس از جمع‌آوری، خون بند ناف را برچسب گذاری کرده، وزن نموده و حجم آن ثبت می‌شود. سپس شمارش سلول‌های هسته‌دار قبل و بعد از پردازش انجام می‌شود. آزمایش شمارش سلول‌های $CD34^+$ ، میزان زنده ماندن سلولی و یا توان سلولی با استفاده از سلول‌های زنده $CD34^+$ و تعیین تعداد کل واحدهای تشکیل دهنده کلونی (CFU) نیز بر نمونه خون بند ناف انجام می‌شود (۴۴). شمارش سلولی و حجم، پارامترهای مهم مطلوبیت واحد خون بند ناف برای ذخیره‌سازی هستند. حداقل سلول‌های تک هسته‌ای به ازای هر کیلوگرم وزن گیرنده پیوند $2/5 \times 10^7$ می‌باشد (۳۵، ۴۵). به منظور کاهش فضای ذخیره‌سازی، کاهش هزینه‌های بانک خون بند ناف و هم چنین حذف ناسازگاری‌های احتمالی ABO و Rh بین اهداکننده و گیرنده، گلبول‌های قرمز موجود در خون بند ناف حذف می‌شوند. علاوه بر این بازسازی و بقای سلولی بالاتری در فرآورده‌های انجماد زدایی شده تهی از RBC مشاهده می‌شود (۴۶). به منظور حذف پلاسما و گلبول‌های قرمز خون بند ناف از عوامل شیمیایی مثل استارچ یا کلرید آمونیوم استفاده می‌شود. جداسازی فیزیکی سلول‌های تک هسته‌ای و گلبول‌های قرمز با از دست دادن چشمگیر سلول‌های پروژنیاتور همراه می‌باشد (۴۷)، در حالی که روش‌های جداسازی با استفاده از رسوب با هیدروکسی اتیل استارچ نتایج مطلوبی داشته است (۴۸، ۴۹). هم چنین مطالعه‌هایی به بررسی پلی‌ژلین برای حذف گلبول‌های قرمز پرداخته‌اند که کار با آن راحت و ایمن می‌باشد و تاثیری نیز بر بازسازی سلول‌های پروژنیاتور ندارد (۵۰). نمونه‌های جمع شده خون بند ناف از نظر آلودگی

خون بند ناف در مقایسه با سلول‌های بنیادی مغز استخوان و خون محیطی، هزینه‌های بالاتری دارد (۴۰). علت آن این است که بیش از ششصد هزار واحد خون بند ناف تاکنون در سراسر جهان ذخیره گردیده اما تنها تعداد محدودی از آن‌ها برای پیوند استفاده می‌گردد. بنابراین به علت بالا بودن هزینه‌های ذخیره‌سازی خون بند ناف، سرمایه‌گذاری در جهت تاسیس بانک‌های خون عمومی مورد نیاز است.

جداسازی، فریز و ذخیره خون بند ناف:

با شناخت خون بند ناف به عنوان منبع ارزشمند سلول‌های بنیادی، بانک‌های خون بند ناف در سراسر جهان تاسیس شدند تا تعداد زیادی از واحدهای خون بند ناف را با کیفیت بالا برای مراکز پیوند فراهم آورند. مراحل مختلفی که در بانک‌های خون بند ناف انجام می‌شود عبارتند از: فراخوانی اهداکننده، اخذ تاریخچه پزشکی، تکمیل فرم رضایت‌نامه، انجام آزمایش‌ها در اهداکنندگان، جمع‌آوری خون بند ناف، پردازش، فریز، انجام آزمایش بر واحدهای خون بند ناف و تحویل نمونه‌ها به مراکز پیوند (۴۱).

از تمامی اهداکنندگان باید رضایت‌نامه آگاهانه قبل از جمع‌آوری خون بند ناف گرفته شود. نمونه خون مادر از نظر بیماری‌های عفونی شامل سفیلیس HTLV-1، HIV، هپاتیت B، هپاتیت C و آنتی‌بادی سیتومگالو ویروس آزمایش می‌شود (۴۱).

خون بند ناف را می‌توان به دو روش جمع‌آوری کرد: روش داخل رحمی که سلول‌های خون بند ناف از جفت و یا عروق بند ناف بعد از به دنیا آمدن نوزاد اهدا کننده و پس از جدا نمودن نوزاد از بند ناف ولی قبل از خروج جفت جمع‌آوری می‌شود و روش خارج رحمی که در آن سلول‌های خون بند ناف از جفت و یا عروق بند ناف پس از خروج جفت جمع‌آوری می‌شود. مطالعه‌ها نشان می‌دهند که جمع‌آوری خون بند ناف با روش داخل رحمی در مقایسه با روش خارج رحمی، حجم، تعداد سلول‌های تک هسته‌ای تام، سلول‌های $CD34^+$ و CFU تام بالاتری دارد (۴۲). دستورالعمل پیشنهادی برای جمع‌آوری خون بند

در نیتروژن مایع نیز زنده می‌مانند و باعث آلودگی می‌شوند بنابراین باید احتیاط‌های لازم در این زمینه انجام شود (۶۱).

کلید موفقیت بانک‌های خون بند ناف، ذخیره و نگهداری طولانی مدت واحدهای خون بند ناف و متعاقباً بازیابی کافی سلول‌های زنده و عملکردی پس از ذخیره طولانی مدت است. طولانی‌ترین مدتی که با بازیابی کارآمد سلول‌های بنیادی / پروژنیاتور خونساز در واحدهای خون بند ناف گزارش شده است، ۲۳ سال می‌باشد (۶۲).

سلول‌های موجود در خون بند ناف:

خون بند ناف منبعی فراوان از سلول‌های بنیادی / پروژنیاتور خونساز و غیر خونساز در مراحل مختلف تعهد رده‌ای است. اجزای اصلی خون بند ناف شامل سلول‌های بنیادی خونساز، سلول‌های بنیادی مزانشیمی، سلول‌های بنیادی شبه رویانی، سلول‌های بنیادی سوماتیک نامحدود، سلول‌های اندوتلیال، لنفوسیت‌ها، سلول‌های کشته‌شده طبیعی، سلول‌های دندریتیک و اریتروسیت‌ها می‌باشد. هم‌چنین سلول‌های بنیادی خون بند ناف قابلیت تولید سلول‌های بنیادی چند قوه القایی را دارند.

سلول‌های بنیادی خونساز خون بند ناف:

بروکس مایر و همکارانش به مشاهداتی اساسی در زمینه اجزای مختلف خونساز موجود در خون بند ناف پرداختند و مشخصات سلول‌های بنیادی خونساز خون بند ناف را: Lin⁻، CD45RA⁻، CD90⁺، CD38⁺ و CD34⁺ گزارش کردند و نتیجه گرفتند که همانند سلول‌های بنیادی خون محیطی، خون بند ناف حاوی سلول‌های بنیادی کلونوژنیک است هر چند که فراوانی آن‌ها در خون بند ناف بالاتر (۱ تا ۵ در ۱۰۰۰ سلول تک هسته‌ای) از سلول‌های بنیادی خون محیطی (۱ تا ۵ در ۲۰۰۰۰) می‌باشد (۱۵). سلیمانی و همکارانش در مطالعه‌های مختلف با استفاده از فایکول و آنتی‌بادی ضد CD34 نشاندار شده با ذرات آهن با استفاده از ستون MACS به‌طور موفقیت‌آمیزی سلول‌های بنیادی خونساز CD34⁺ را از خون بند ناف تخلیص نمودند (۶۶-۶۳).

میکروبی شامل باکتری‌های هوازی، غیر هوازی و قارچ‌ها با روش دستی یا سیستم‌های دستگاهی بررسی می‌شوند. دمای حمل و نقل نمونه بند ناف باید 4 ± 22 درجه سانتی‌گراد باشد (۵۱).

نمونه خون بند ناف، به صورت بافی کوت جداشده از خون بند ناف در دی متیل سولفوکساید (DMSO) با غلظت ۱۰٪ فریز می‌شود (۵۲). فرآیند فریز کردن به صورت ۱ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه تا ۴- درجه سانتی‌گراد می‌باشد، سپس نمونه‌ها به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل می‌شوند و نهایتاً پس از یک روز به نیتروژن مایع یا فاز بخار نیتروژن مایع با دمای کمتر از ۱۸۰- درجه سانتی‌گراد برای نگهداری طولانی مدت انتقال می‌یابند. این فرآیند امروزه با استفاده از فریزرهای هشداردهنده ارتقا یافته است. فریزرهای ذخیره‌سازی واحد خون بند ناف، باید دارای سامانه‌ای جهت پایش مداوم درجه حرارت و ثبت دما برای حداقل هر ۴ ساعت باشند (۵۳). پس از ۱۰ سال ذخیره خون بند ناف، بازیابی سلول‌ها باید حداقل ۹۰٪ باشد (۵۱). در گذشته خون بند ناف با گلیسرول فریز می‌شد اما امروزه دی‌متیل‌سولفوکساید ۱۰٪ به عنوان محافظت‌کننده در سرمای انتخابی استفاده می‌شود که در حضور آن خون بند ناف تا ۱۰ سال در نیتروژن مایع بدون تخریب و از دست دادن توانش پایدار است (۵۴).

DMSO دارای اثرات سمی بر سلول‌ها (بسته به دما و مدت زمان در معرض قرار گرفتن قبل از فریز و بعد از انجمادزدایی) می‌باشد (۵۵، ۵۶). بنابراین بسیاری از مطالعه‌ها برای اجتناب از اثرات سمی آن بر سلول‌ها، دستورالعملی برای کاهش غلظت DMSO (تا ۵٪، ۳٪-۷٪) برای سلول‌های بنیادی خونساز پیشنهاد داده‌اند (۵۹-۵۷). معزی و همکارانش در مطالعه‌ای که به بررسی تاثیر فریز کردن بر ظرفیت کلونوژنیک، محتوای سلولی CD34⁺ و پتانسیل تکثیر آزمایشگاهی سلول‌های پروژنیاتور خون بند ناف پرداخته بودند، پس از یک ماه نگهداری در DMSO با غلظت ۱۰٪ علی‌رغم کاهش بقای سلولی، تفاوت چشمگیری در پارامترهای مورد نظر مشاهده نکردند (۶۰).

نگهداری در بخار نیتروژن مانع آلودگی واحدهای خون بند ناف می‌شود اما ویروس‌هایی چون هپاتیت و پاپیلوما

در کشت بدون کاهش تعداد سلول‌های CD34⁺ می‌باشند (۷۷، ۷۶). این یافته‌ها نشان می‌دهند که پروژنیوتورهای خون بند ناف ظرفیت تولید سلول‌های بالغ و قدرت خودنوسازی بالایی دارند، بنابراین خون بند ناف منبعی مناسب در پیوند بالینی سلول‌های بنیادی/ پروژنیوتور است و این ویژگی‌های خون بند ناف باعث پیوندپذیری آن علی‌رغم محتوای کم سلول می‌شود.

زیر گروه دیگری از سلول‌های CD34⁺ که به تعداد نسبتاً زیاد در خون بند ناف حضور دارند، سلول‌های CD133⁺ هستند. سلول‌های CD133⁺ در مغز جنین نیز شناسایی شده‌اند و به نظر می‌رسد در این ناحیه سلول‌های بنیادی عصبی حضور داشته باشند (۷۹، ۷۸). حفیظی و همکارانش موفق به تمایز نورونی سلول‌های بنیادی CD34⁺/133⁺ خون بند ناف شدند که امکان استفاده درمانی از این زیر گروه سلول‌های بنیادی را در درمان بیماری‌های تخریب نورون نشان می‌دهد (۸۰).

در زمینه دستکاری‌های ژنتیکی، مطالعه‌های مختلف نشان داده‌اند که سلول‌های بنیادی خون بند ناف در مقایسه با مغز استخوان هدف مناسبتری برای انتقال ژن‌هایی چون آدنوزین د آمیناز می‌باشند (۸۱).

سلول‌های بنیادی چند قوه القایی مشتق از خون بند ناف:

یکی از ویژگی‌های مهم سلول‌های بنیادی خون بند ناف، توانایی آن‌ها در تولید سلول‌های بنیادی چند قوه القایی (iPS) پس از ترانسفکشن با ژن‌های ضروری می‌باشد (۸۳، ۸۲). تاکناکا و همکارانش در سال ۲۰۱۰ موفق به برنامه‌ریزی مجدد سلول‌های CD34⁺ خون بند ناف به سلول‌های iPS پس از ترانسفکشن و پیروسی با *sox2*، *klf-2*، *oct-4* و *c-myc* و سرکوب ژن *P53* از طریق RNA خاموشگر شدند (۸۴). این سلول‌ها از نظر ویژگی‌هایی چون مرفولوژی سلولی، ظرفیت تمایزی و بیان مارکرهای چند قوه شبیه به سلول‌های بنیادی رویانی نرمال انسان بودند. ژئورگتی و همکارانش نیز در سال ۲۰۱۰ نتایج مشابهی را پس از ترانسفکشن سلول‌های بنیادی خون بند ناف با فاکتورهای رونویسی *oct-4* و *sox-2* نشان دادند (۸۲).

فئوتیپ سلول‌های بنیادی خون‌ساز موجود در خون بند ناف از مغز استخوان بزرگسالان متفاوت است چون سلول‌های خون بند ناف حاوی درصد بالاتری (حتی تا چهار برابر) سلول‌های CD38⁻ در بخش CD34⁺ در مقایسه با مغز استخوان انسان می‌باشند و در مقایسه با سلول‌های مشابه از نظر فئوتیپی در مغز استخوان یا خون محیطی این سلول‌ها ظرفیت تکثیر بالاتر و حساسیت بیشتری به تحریک با سایتوکاین‌ها دارند (۷۰-۶۷).

روش‌های کشت نیمه جامد نشان داده‌اند که پروژنیوتورهای خون‌ساز متعهد به رده CFU-GM و BFU-E در خون بند ناف به تعداد کمتری نسبت به مغز استخوان حضور دارند در حالی که پروژنیوتورهای ابتدایی تر (CFU-GEMM و HPP-CFC) در خون بند ناف از مغز استخوان فراوانترند. بنابراین به نظر می‌رسد که سلول‌های بنیادی موجود در خون بند ناف، سلول‌های بنیادی ابتدایی‌تری نسبت به نمونه مغز استخوان بالغین و خون محیطی دارند که با حضور مارکرهای CD34 و c-kit و عدم حضور مارکرهای تعهد به رده مثل Thy-1، CD41، CD71، CD33 و CD38 مشخص می‌شود (۷۲، ۷۱، ۶۸). علاوه بر این کلنی‌های مشتق از پروژنیوتور خون بند ناف بسیار بزرگتر هستند و حاوی کلنی‌های ماکروسکوپی فراوانی می‌باشند. این مشاهدات نشان می‌دهند که خون بند ناف حاوی ذخایر پروژنیوتوری شبیه به ذخایر موجود در کبد جنینی است (۷۴، ۷۳).

آنالیز تشکیل سلولی ناحیه کوبلستون (CAFC) نشان می‌دهد که سلول‌های CD34⁺ خون بند ناف حاوی جمعیت بالاتری از CAFC (هفته ۶) (به ترتیب ۳، ۶ تا ۱۰ برابر) بالاتر از سلول‌های CD34⁺ مغز استخوان و خون محیطی می‌باشد. با روش *in vivo* آنالیز لانه گزینی سلول‌ها در موش نود (NOD)، ظرفیت پیوندپذیری سلول‌های CD34⁺ در خون بند ناف بالاتر از مغز استخوان بوده است (۷۵).

برخی مطالعه‌ها نشان داده‌اند که سلول‌های CD34⁺ موجود در خون بند ناف علی‌رغم سلول‌های بنیادی مغز استخوان که در آن تعداد سلول‌های CD34⁺ به سرعت در کشت کاهش می‌یابد، قادر به تولید چندین هزار سلول بالغ

سلول‌های بنیادی مزانشیمی خون بند ناف:

سلول‌های خون بند ناف هم چنین حاوی جمعیت سلول‌های بنیادی مزانشیمی است که خصوصیات تکاملی و مورفولوژیکی متفاوتی از سایر سلول‌های بنیادی خون بند ناف نشان می‌دهند. تعداد این سلول‌ها در خون بند ناف کم است و تفاوت زیادی در تعداد این سلول‌ها در واحدهای خون بند ناف مختلف جمع‌آوری شده مشاهده شده است (۹۲-۸۴). شانس جداسازی سلول‌های بنیادی مزانشیمی از خون بند ناف نسبت به سلول‌های بنیادی مزانشیمی جدا شده از مغز استخوان کمتر بوده است (۶۳٪ در مقابل ۱۰۰٪) (۹۳).

سلیمانی و همکارانش موفق به جداسازی سلول‌های بنیادی مزانشیمی از خون بند ناف شدند (۹۷-۹۴). این سلول‌ها خواص سلولی، مورفولوژیکی و تمایزی شبیه به سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان دارند اما نسبت به سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان که تعداد و پتانسیل تمایزی آن‌ها با افزایش سن کاهش می‌یابد، ارجحیت دارند (۱۰۰-۹۸). سلول‌های بنیادی مزانشیمی خون بند ناف، پتانسیل بالایی برای تمایز نوروئیک دارند. این سلول‌ها فنوتیپ عصبی و مارکرهای سلول‌های عصبی از جمله مارکر هسته عصبی (NeuN) و پروتئین تراکمی پس سیناپسی (PSD95) را بیان می‌کنند (۱۰۲، ۱۰۱). علاوه بر این مطالعه‌های مختلف نشان داده‌اند که این سلول‌ها علاوه بر تمایز به سلول‌های عصبی (آستروسیت و نورون) می‌توانند به هیپاتوسیت، استئوبلاست، آدیپوسیت، کندروسیت و سلول‌های خونساز تمایز یابند (۱۰۴، ۱۰۳). به نظر می‌رسد فاکتور رونویسی Oct-4 در تنظیم تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی خون بند ناف نقش داشته باشد که بر ویژگی "بنیادینگی" این سلول‌ها تاکید می‌کند (۱۰۴).

یانگ و همکارانش خصوصیات سلول‌های بنیادی مزانشیمی موجود در خون بند ناف را این چنین بیان کردند که از نظر مارکرهای CD90 (Thy-1)، CD44، CD29، CD13 مثبت و از نظر CD64، CD106، CD45، CD34، CD61/CD51، CD31، CD14، HLA-DR منفی هستند و در مطالعه‌های دیگر سلول‌های بنیادی مزانشیمی را از نظر بیان مارکرهای CD90، (SH-3، SH-4، CD73)، CD166 و

CD105 (SH-2، endoglin) مثبت و از نظر مارکرهای CD79، CD31، CD34، CD45، CD80، HLA-DR، CD19 و CD11 منفی گزارش کردند (۱۰۶، ۱۰۵). سلول‌های بنیادی مزانشیمی خون بند ناف مولکول‌های کمک تحریکی CD86، CD80، CD40، MHC II را که معمولاً بر سطح سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن بیان می‌شود، بیان نمی‌کنند (۱۰۷).

اخیراً بافت بند ناف (UC) به جای خون بند ناف به عنوان منبع سلول‌های بنیادی مزانشیمی مطرح شده است. مطالعه‌های مختلف نشان داده‌اند که سلول‌هایی که مارکرهای مزانشیمی CD73، CD105، CD44 و CD90 را بیان می‌کنند، در بافت بند ناف به میزان فراوانی حضور دارند (۱۱۳-۱۰۸). هم چنین مطالعه‌های مختلف نشان داده‌اند که ماتریکس ژله‌ای و بافت همبند و عروق اطراف بند ناف که مجموعاً تحت عنوان ژله و ارتون نامیده می‌شوند، منبع غنی از سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌باشد (۱۳۲-۱۱۴). سلول‌های بنیادی مزانشیمی جدا شده از ژله و ارتون، مارکرهای سلول‌های بنیادی مزانشیمی شامل رسپتور ماتریکس (CD105، CD44) و مارکرهای ایتنرگینی (CD51، CD29) را بیان می‌کنند اما از نظر مارکرهای دودمان خونساز CD34 و CD45 منفی هستند (۱۰۷). برخلاف سلول‌های بنیادی مزانشیمی که از مغز استخوان بزرگسالان جدا می‌شوند، جمعیت کوچکی از سلول‌های بنیادی مزانشیمی موجود در بند ناف، اندوگلین (CD105) و CD49e را بیان می‌کنند. هم چنین این سلول‌ها از نظر مارکرهای CD45، CD34، CD26، CD33، CD14 و HLA-DR منفی هستند (۱۱۵، ۱۱۴).

نیچه پری واسکولار منبع اصلی سلول‌های بنیادی مزانشیمی در ارگان‌های مختلف است (۱۱۷، ۱۱۶، ۱۱۲). به سلول‌های شبه سلول‌های بنیادی مزانشیمی که از عروق بند ناف به دست می‌آید، سلول‌های پری واسکولار بند ناف انسان (HUCPVC) گفته می‌شود (۱۱۸). این سلول‌ها همانند سایر سلول‌های بنیادی مزانشیمی ظرفیت یکسانی برای تمایز به فنوتیپ استئوژنیک با پتانسیل تکثیری بالا دارند. HUCPVC به عنوان منبع سلول‌های بنیادی مزانشیمی خارج رویانی در سلول درمانی استفاده می‌شود

سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان بیشتر در استئوزنز نقش دارند (۱۲۲).

با این که سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از خون بند ناف، مغز استخوان و بافت چربی از نظر مورفولوژیکی و ایمونوفنوتیپی شبیه‌اند اما برخی مطالعه‌ها نشان داده‌اند که سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از خون بند ناف در مقایسه با سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان و بافت چربی، تمایز آدیپوژنیک کمتری داشته و واکوئل‌های چربی کمتر و کوچکتری تولید می‌کنند (۱۲۷). با این که تفاوت چشمگیری در مورفولوژی و ایمونوفنوتیپ سلول‌های بنیادی مزانشیمی جدا شده از خون بند ناف، مغز استخوان و بافت چربی مشاهده نشده اما موفقیت جداسازی سلول‌های بنیادی مزانشیمی از واحدهای خون بند ناف کمتر است و علت آن فراوانی کمتر کلنی آن‌ها در مقایسه با مغز استخوان و بافت چربی است. هر چند که سلول‌های بنیادی مزانشیمی جدا شده از خون بند ناف ظرفیت خودنوسازی بالاتری در مقایسه با مغز استخوان دارند (۱۲۸، ۸۵).

سلول‌های بنیادی مزانشیمی خون بند ناف را می‌توان به مدت طولانی‌تر با ظرفیت تکثیری بالاتر در مقایسه با سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان یا بافت چربی کشت داد که احتمالاً منعکس‌کننده ویژگی بنیادینگی برتر سلول‌های بنیادی مزانشیمی خون بند ناف نسبت به سایر منابع است (۱۳۲-۱۲۹، ۱۲۷). باید توجه داشت که پتانسیل تمایزی و طول عمر سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان به طور چشمگیری با افزایش سن اهداکننده کاهش می‌یابد (۱۰۰، ۹۹).

سلول‌های بنیادی مزانشیمی در *in vivo* باعث تنظیم سیستم ایمنی و افزایش پیوندپذیری سلول‌های بنیادی / پروژنیاتور خونساز CD34⁺ و سلول‌های بنیادی رویانی (ES = Embryonic Stem Cell) می‌شوند (۱۳۴، ۱۳۳). مطالعه‌های مختلفی نشان داده‌اند که هم کشتی خون بند ناف با سلول‌های بنیادی مزانشیمی به عنوان سلول‌های حفاظت‌کننده می‌تواند باعث حفظ سلول‌های نابالغ شود (۱۳۵، ۱۰۶). استفاده از لایه استرومال خون بند ناف به دلیل کم بودن جمعیت سلول‌های بنیادی مزانشیمی موجود

(۱۱۹). HUCPVC قادر به تمایز استئوژنیک، کندروژنیک و آدیپوژنیک است و پتانسیل تکثیری بالاتر و رشد بیشتری نسبت به سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان دارند. هم چنین سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان با پدیده مهار تماسی رشد خود را متوقف می‌کنند در حالی که HUCPVC به رشد خود در شکل چند لایه ادامه می‌دهند (۱۲۱، ۱۲۰).

سلول‌های بنیادی مزانشیمی جدا شده از خون بند ناف و بافت بند ناف شباهت‌های زیادی در تمایز به رده‌های سلولی مختلف دارند و قادر به تکثیر طولانی مدت در کشت هستند (۱۱۹، ۱۱۳، ۱۰۷). هر چند که به نظر می‌رسد از نظر پروفایل بیان ژنی باهم تفاوت دارند (۱۱۱). ژن‌های مرتبط با چسبندگی سلولی، مورفوژنز، ترشح، آنژیوژنز و نوروژنز غالباً در سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت بند ناف بیان می‌شود در حالی که ژن‌های مرتبط با استئوژنز و سیستم ایمنی عمدتاً در سطح سلول‌های بنیادی مزانشیمی خون بند ناف بیان می‌شوند (۱۱۱). این بیان متفاوت ژن‌های سلول‌های بنیادی مزانشیمی مختص بافت، احتمالاً منعکس‌کننده عملکرد این سلول‌ها تحت تاثیر نیچه‌های مختلف است.

سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت بند ناف از سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان در پروفایل بیان سایتوکاینی متفاوتند (۱۲۰). سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت بند ناف عمدتاً سطوح بالایی از IL8، IL6، IL1a، LIF، HGF، GM-CSF، G-CSF و IL11 را بیان می‌کنند در حالی که سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان، VEGF و SDF- β بیشتری تولید می‌کنند (۱۲۱). سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت بند ناف به طور چشمگیری باعث افزایش تعداد کلنی گرانولوسیتی - ماکروفاژی (CFU-GM) می‌شود ولی تاثیری بر BFU-E و CFU-GEMM ندارد (۱۲۲).

سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از خون بند ناف و مغز استخوان، پتانسیل پروژنیاتوری چند رده‌ای و پروفایل بیان سایتوکاین مشابهی را نشان می‌دهند و قدرت تمایز یکسانی در تمایز به استئوسیت و آدیپوسیت دارند (۱۲۸-۱۲۲). مطالعه‌هایی وجود دارند که نشان می‌دهند سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت بند ناف بیشتر در آنژیوژنز و

(SSEA-3، SSEA-4) مثبت بودند (۱۴۰، ۱۳). این سلول‌ها به طور موفقیت‌آمیزی به سلول‌های اختصاصی هر سه لایه جنینی تمایز داده می‌شوند بنابراین می‌توان آن‌ها را تحت عنوان سلول‌های بنیادی چند قوه توصیف کرد (۱۴۳، ۱۴۲، ۱۴۰).

سلول‌های بنیادی سوماتیک نامحدود:

کوگلر و همکارانش حضور سلول‌هایی با پتانسیل چند قوه‌ای، تحت عنوان سلول‌های بنیادی سوماتیک نامحدود (USSC = Unrestricted Somatic Stem Cells) با قدرت تمایز به استئوبلاست، کندروبلاست، آدیپوسیت، سلول‌های خونساز و سلول‌های عصبی را در خون بند ناف نشان دادند و استفاده از این سلول‌های مشتق از خون بند ناف در جنین گوسفند منجر به هماتوپوئز انسانی چشمگیر و هم چنین شناسایی کاردیومیوسیت‌های انسانی شد (۱۴۴). مطالعه دیگری حضور این سلول‌های چند قوه‌ای را در خون بند ناف گزارش کردند، در این مطالعه سلول‌های $CD34^+$ ترانسفکت شده با پروتئین فلورسنت سبز (GFP) را به طور داخل رحمی به بزغاله تزریق نمودند، سپس سلول‌های GFP^+ در خون، مغز استخوان، طحال، کبد، کلیه، عضله، ریه و قلب بزغاله مشاهده شد (۱۴۵).

پیش‌سازهای اندوتلیال و سلول‌های تحریک‌کننده آنژیوژنز: خون بند ناف حاوی سلول‌های پروژنیاتور اندوتلیالی (EPC = Endothelial progenitor Cells) است که پتانسیل تکثیری وسیع و تشکیل عروق عملکردی با عمر طولانی در *in vivo* را دارند (۱۴۷، ۱۴۶). مطالعه‌ای نشان داد که سلول‌های $CD34^+$ و $CD11b^+$ که تقریباً کمتر از نیمی از سلول‌های $CD34^+$ خون بند ناف را تشکیل می‌دهد، توانایی تمایز به سلول‌های اندوتلیال عملکردی در *in vitro* و *in vivo* را دارد (۱۴۸).

در مطالعه دیگری سلول‌های $VEGFR3^+$ (Vascular endothelial growth factor) و $CD34^+$ نه تنها توانایی تمایز به سلول‌های اندوتلیال در *in vivo* را دارند بلکه حتی باعث تکثیر حدوداً ۴۰ برابری آن‌ها در شرایط آزمایشگاهی و متعاقباً حفظ عملکرد رگ‌زایی در *in vivo* می‌شود. در همان

در خون بند ناف سخت است اما سلول‌های بنیادی مزانشیمی خون بند ناف می‌توانند سایتوکاین‌هایی را تولید کنند که باعث تسهیل پیوند شده و باعث بقای سلول‌های بنیادی خونساز در *in vivo* شوند (۱۳۶، ۸۸، ۸۷). در مطالعه دلالت و همکارانش، سلول‌های $CD34^+$ جدا شده از خون بند ناف به همراه سلول‌های مزانشیمی جدا شده از مغز استخوان به موش‌های Balb/c اشعه دیده پیوند زده شد و تسریع پیوندپذیری سلول‌های $CD34^+$ مشاهده شد (۱۳۷). بنابراین استفاده از پیوند هم زمان سلول‌های بنیادی خون بند ناف به همراه سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌تواند موفقیت پیوند سلول‌های بنیادی را افزایش دهد.

سایر سلول‌های موجود در خون بند ناف:

سلول‌های بنیادی شبه رویانی:

بوزانسکا و همکارانش در سال ۲۰۰۲ به طور موفقیت‌آمیزی توانستند سلول‌های بنیادی غیر خونساز - $CD34$ و $CD45$ را از خون بند ناف با استفاده از روش immunomagnetic cells sorting خالص سازی کنند (۱۳۸). پس از این گروه افراد مختلفی به خالص سازی و تعیین خصوصیات این جمعیت ابتدایی سلول‌های بنیادی از بخش تک هسته‌ای خون بند ناف با استفاده از روش‌های FACS (Fluorescence Activated Cell sorting) و Immunomagnetic depletion پرداختند (۱۴۱-۱۳۹). مک گوچین و همکارانش در سال ۲۰۰۵ این سلول‌ها را به علت تشابهات آن‌ها با ویژگی‌های سلول‌های بنیادی رویانی، سلول‌های بنیادی شبه رویانی مشتق از بند ناف (CBEs = Cord - blood - derived embryonic like stem cells) نامیدند (۱۳۱). گروه دیگری از محققان، جمعیت مشابهی از این سلول‌ها را از خون بند ناف جدا کرده و آن‌ها را سلول‌های بنیادی شبه رویانی بسیار کوچک (VSEL = Very Small embryonic-like stem cell) نامیدند (۱۳۲). این سلول‌های بنیادی نابالغ مارکرهای چند قوه‌ای مثل sox-2، Oct-4 و nanog را بیان می‌کنند که به طور نرمال توسط سلول‌های بنیادی رویانی چند قوه بیان می‌شود (۱۴۰، ۱۳۲). علاوه بر این آن‌ها از نظر مارکرهای سلول‌های بنیادی رویانی یعنی آنتی‌ژن‌های مختص رده رویانی ۳ و ۴

مطالعه نشان داده شد که غلظت این بخش پروژنیاتور اندوتلیال در سلول‌های $CD34^+$ بند ناف حدوداً ۱۰ برابر بالاتر از سلول‌های $CD34^+$ مغز استخوان است (۱۴۹). سلول‌های تک هسته‌ای خون بند ناف نیز در مطالعه‌های مختلف حیوانی و انسانی باعث تحریک آنژیوژنز می‌شود (۱۵۳-۱۵۰). علاوه بر این سلول‌های بنیادی مزانشیمی موجود در خون بند ناف با ترشح سایتوکاین‌ها و فاکتورهای رشدی چون VEGF و FGF-2 (Fibroblast growth Factor-2) باعث تحریک آنژیوژنز می‌شوند (۱۵۵، ۱۵۴). هم‌چنین مطالعه‌هایی هستند که گزارش می‌دهند سلول‌های بنیادی مزانشیمی با تمایز مستقیم به سلول‌های اندوتلیال در آنژیوژنز نقش دارند (۱۵۶).

لنفوسیت‌ها:

در مقایسه با خون محیطی بزرگسالان، خون بند ناف حاوی نسبت بالایی از سلول‌های T باکره با فنوتیپ $CD45RA^+$ ، $CD45RO^-$ ، $CD62L^+$ آن کمتر قرار گرفتن جنین در معرض پاتوژن‌های محیطی و واکنش‌ها در مقایسه با بزرگسالان است (۱۵۷). هم‌چنین خون بند ناف حاوی لنفوسیت‌های B و به تعداد کمتر لنفوسیت‌های T ($CD3^+$) می‌باشد ولی نسبت $CD4^+$ به $CD8^+$ بالاتر از میزان آن در خون محیطی است (۱۵۹، ۱۵۸).

خون بند ناف حاوی سلول‌های T تنظیمی ($CD4^+$)، $CD25^+$ است که به عنوان واسطه کنترل GVHD مطرح می‌باشند. ساکاگوچی و همکارانش اولین کسانی بودند که نشان دادند موش‌های NOD فاقد لنفوسیت‌های T $CD4^+$ و $CD25^+$ مبتلا به بیماری‌های اتوایمیون می‌شدند. سلول‌های T تنظیمی سلول‌هایی هستند که ۵٪ تا ۱۰٪ سلول‌های $CD4^+$ T خون محیطی را تشکیل می‌دهند و از نظر مارکرهای سطحی (CTLA-4(CD152)، رسپتور TNF القاشده با گلوکوکورتیکوئید (GITR)، OX-40 (CD134) و FOXP3 مثبت می‌باشند (۱۶۴، ۱۶۳، ۱۶۱، ۱۳۲). هم‌چنین این سلول‌ها مولکول ایتگرین L (L-Selectin) $CD62L$ و رسپتور کموکاین CCR7 را که برای لانه‌گزینی آن‌ها در بافت لنفوئید ثانویه ضروری است و رسپتورهای کموکاینی

سلول‌های T تنظیمی موجود در خون بند ناف فریز شده را می‌توان با انتخاب مثبت توسط ریزمهره‌های مغناطیسی کونژوگه با آنتی $CD25$ جداسازی کرد (۱۷۵). تنها در حدود $5 \times 10^6 \times (3-7 \times 10^6)$ سلول T تنظیمی را می‌توان از یک واحد خون بند ناف جدا کرد (۱۷۷، ۱۷۶). از آن جا که تعداد سلول T تنظیمی موجود در خون بند ناف برای چندین بار تزریق به منظور ایمونوتراپی برای پیشگیری از GVHD کافی نیست، روش‌هایی برای تکثیر آزمایشگاهی سلول‌های T تنظیمی موجود در خون بند ناف در حال بررسی است (۱۷۶).

مطالعه‌های مختلفی وجود دارند که پیشنهاد می‌دهند سلول‌های کشنده طبیعی (NK) با کاهش تنظیمی سلول‌های T آلوراکتیو، کاهش تکثیر سلول‌های T اهداکننده و افزایش آپوپتوز سلول‌های T، نقش تنظیمی مهمی را در GVHD ایفا می‌کنند (۱۷۷). سلول‌های کشنده طبیعی لنفوسیت‌هایی هستند که از نظر مارکر $CD3$ منفی بوده و از نظر $CD16$ و یا $CD56$ مثبت هستند. بر اساس بیان سطحی $CD16$ و $CD56$ ، سلول‌های کشنده طبیعی به چهار زیر گروه تقسیم می‌شوند. جمعیت $CD16^+CD56^-$ که به فراوانی در خون بند ناف نسبت به خون محیطی و مغز استخوان موجودند

دندریتیک خون محیطی، سلول‌های دندریتیک خون بند ناف با تولید اینترلوکین ۴ باعث مهار تولید ایتترفرون گاما و مهار تمایز سلول‌های T به سمت Th1 می‌شوند (۱۸۹). نادری و همکارانش نشان دادند که سلول‌های دندریتیک خون بند ناف، مولکول‌های سطحی مرتبط با آپوپتوز (FasL) بالاتری را بیان می‌کنند که منجر به آپوپتوز سلول‌های دندریتیک و در نتیجه کاهش فعال شدن لنفوسیت‌های T می‌شود (۱۹۰). بنابراین سلول‌های دندریتیک موجود در خون بند ناف که از نظر ایمونولوژیک ضعیف هستند، فاکتور مهمی در کاهش بروز GVHD در پیوند خون بند ناف می‌باشند.

لازم به ذکر است که خون بند ناف حاوی سلول‌های بالغ خونی مثل اریتروسیت‌ها و پلاکت‌ها نیز می‌باشد و روش‌های تکثیر سلول‌های بالغ خونی مثل اریتروسیت‌ها و پلاکت‌ها از سلول‌های پروژنیاتور خونساز خون بند ناف در حال بررسی است (۱۹۳-۱۹۱).

روش‌های تکثیر سلول‌های بنیادی خون بند ناف:

همان‌طور که گفته شد، یکی از محدودیت‌های استفاده از خون بند ناف کم بودن سلول‌های بنیادی موجود در یک واحد خون بند ناف است. پیوندپذیری با تاخیر و نقص در پیوندپذیری خون بند ناف عمدتاً به علت مقدار سلول کم در هر واحد خون بند ناف است. یکی از راه‌های غلبه بر این محدودیت، استفاده از ۲ واحد خون بند ناف به جای یک واحد (که تحت عنوان پیوند دو واحد شناخته می‌شود) است که شانس بیمار دریافت‌کننده پیوند خون بند ناف را افزایش می‌دهد (۱۹۴).

راه دیگر، پیوند هم‌زمان یک واحد خون بند ناف به همراه سلول‌های بنیادی خون محیطی انتخاب شده از نظر CD34 یا CD34 همراه با CD133 از گروه سوم اهداکنندگان می‌باشد (۱۹۵). در مطالعه ماگرو و همکارانش سلول‌های بنیادی خونساز خون محیطی با G-CSF موبیلیزه شده و از نظر سلول‌های T تخلیه گردید و به همراه یک واحد خون بند ناف سازگار از نظر HLA تزریق گردید. میانگین زمان پیوندپذیری نوتروفیلی و پلاکتی به ترتیب در

(۱۷۸). سلول‌های $CD16^+CD56^-$ میزان برابری از پرفورین و گرانزیم B با سلول‌های $CD16^+CD56^+$ بیان می‌کنند (۱۸۲-۱۷۹). کشت سلول‌های $CD16^+CD56^-$ مشتق از خون بند ناف با اینترلوکین ۲ و ۵ منجر به کسب مارکر CD56 می‌شود که نشان می‌دهد سلول‌های کشنده طبیعی که $CD16^+CD56^-$ هستند، احتمالاً پروژنیاتور سلول‌های کشنده طبیعی هستند و هم‌چنین این یافته‌ها نشان می‌دهد که سلول‌های کشنده طبیعی $CD16^+CD56^+$ موجود در خون بند ناف از نظر عملکردی نابالغ هستند اما پتانسیل لیز سلولی را دارند (۱۷۸).

خون بند ناف نسبت به مغز استخوان و خون محیطی حاوی تعداد بالاتر سلول‌های کشنده طبیعی است در حالی که تعداد جمعیت لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک، $CD56^+$ کمتری دارد (۱۸۳، ۳۰). هم‌چنین سلول‌های خون بند ناف میزان مطلق کمتری از سایتوکاین‌ها نسبت به سایر منابع بزرگسالان تولید می‌کند (۱۸۴). علاوه بر این در خون بند ناف سایتوکاین‌های ضد التهابی، ایتترفرون گاما، اینترلوکین ۴ و اینترلوکین ۱۰ نسبت به سایتوکاین‌های پیش التهابی (اینترلوکین ۲) فراوان‌تر است (۱۸۴). این کمبود بلوغ سیستم ایمنی در شیوع کمتر GVHD و انتقال عفونت‌های ویروسی مهم است.

سلول‌های دندریتیک:

از آن‌جا که سلول‌های دندریتیک موجود در خون بند ناف نابالغ هستند، توانایی ایمونولوژیکی ناقصی در عرضه آنتی‌ژن دارند (۱۸۶، ۱۸۵). سلول‌های دندریتیک موجود در خون بند ناف عمدتاً سلول‌های دندریتیک پلاسما سیتوئید هستند ($CD11^c$ و $CD123^+$) تا سلول‌های دندریتیک میلوئید ($CD11^c$ و $CD123^-$) (۱۸۸، ۱۸۷). علاوه بر این سلول‌های دندریتیک پلاسما سیتوئید موجود در خون بند ناف، مولکول‌های کمک تحریکی و $TNF-\alpha$ کمتری در مقایسه با سلول‌های دندریتیک موجود در نمونه خون محیطی بزرگسالان بیان می‌کنند که نشان‌دهنده پاسخ ناقص آن‌ها به لیپوپولی ساکارید و سیتوزین فسفات گوانوزین غیرمتیله (CPG) می‌باشد (۱۸۷). در مقایسه با سلول‌های

نانوگرم بر میلی‌لیتر از ترکیب سایتوکاینی IL-3، IL-6، TPO، SCF و Flt3-L (SF) به مدت دو هفته نشان دادند که محیط SF تاثیر بیشتری بر تکثیر سلول‌های خونساز مورد استفاده در پیوند (تا بیش از ۵ برابر) نسبت به دو محیط حاوی FCS و CBP دارد (۲۰۵). مطالعه‌های مختلف نیز نشان دادند که اضافه کردن MIP1- α به ترکیب سایتوکاینی فوق باعث افزایش تعداد سلول‌های بنیادی خونساز می‌شود (۲۰۶، ۹۷). به دلیل محدودیت‌های استفاده از محیط‌های کشت حاوی سرم حیوانی در پیوندهای انسانی، مطالعه‌های مختلفی به مقایسه محیط‌های فاقد سرم با محیط‌های کشت حاوی FCS یا پلاسمای خون بند ناف اتولوگ پرداخته‌اند و تاثیر بیشتر محیط‌های فاقد سرم را بر گسترش سلول‌های بنیادی خونساز خون بند ناف نشان داده‌اند (۲۱۱-۲۰۷).

در هم کشتی استرومال، سلول‌های خون بند ناف با استفاده از سلول‌های استرومایی به عنوان سلول‌های حمایت‌کننده تکثیر داده می‌شوند. در این زمینه ژانگ و همکارانش نشان دادند که سلول‌های استئوبلاستی دوکی شکل N - کاده‌رین مثبت و CD45 (SNO) از طریق تماس فیزیکی، مسؤول حفظ طولانی مدت سلول‌های بنیادی خونساز می‌شوند (۲۱۲). سلیمانی و همکارانش نیز با هم کشتی HSC های خون بند ناف با سلول‌های بنیادی مزانشیمی موشی همراه با سایتوکاین‌های TPO، SCF و FLT3/FLK2 در محیط کشت فاقد سرم، شاهد تکثیر ۱۰ تا ۲۰ برابری سلول‌های بنیادی خونساز در طی یک یا دو هفته بودند (۲۱۴، ۲۱۳). هم چنین در مطالعه‌ای دیگر سلول‌های بنیادی خونساز کشت داده شده بر بستر سلول‌های بنیادی مزانشیمی به عنوان لایه فیدر منجر به تکثیر بالاتر و سرعت آپوپتوز کمتر آن می‌شود (۲۱۵).

انواع مختلف روش‌های تکثیر سلول‌های بنیادی خونساز خون بند ناف:

با شناخت مسیرهای مختلف پیامدهی داخل سلولی سلول‌های بنیادی خونساز، از روش‌های متفاوتی برای تکثیر آزمایشگاهی آن‌ها استفاده شده است (جدول ۱).

۱۰ و ۳۳ روز اتفاق افتاد که این روش تسریع پیوندپذیری با حداقل عوارض را امکان‌پذیر می‌سازد. از آن جا که در بسیاری از موارد واحدهای خون بند ناف با تعداد سلول کم و تفاوت ۳-۰ ناسازگاری، گاهی تنها گزینه انتخابی بیماران بزرگسال است، در این مواقع استفاده از سلول‌های بنیادی خونساز جدا شده از اهداکننده سوم امکان استفاده از واحدهای خون بند ناف با تعداد سلول‌های تک هسته‌ای کمتر از حد آستانه برای پیوند را مقدور می‌سازد (۱۹۶).

روش دیگر برای غلبه بر این محدودیت‌ها، روش‌های تکثیر آزمایشگاهی سلول‌های بنیادی خونساز آلورژنیک یا اتولوگ قبل از تزریق به گیرنده است. بر این اساس اگر تعداد سلول‌های بنیادی خونساز جمع‌آوری شده در خون بند ناف کمتر از حد مورد نیاز باشد، می‌توان سلول‌های بنیادی خونساز را تکثیر و گسترش داد. در سال‌های اخیر پیشرفت‌های عمده‌ای در جهت تکثیر سلول‌های بنیادی خون بند ناف انجام شده است.

به طور کلی روش‌های تکثیر آزمایشگاهی خون بند ناف به دو دسته: کشت در سوسپانسیون مایع و هم کشتی با سلول‌های استرومال تقسیم می‌شوند. در کشت‌های مایع، سلول‌های بنیادی خون بند ناف جدا شده در معرض ترکیبی از سایتوکاین‌ها، فاکتورهای رشد و سایر فاکتورها در مدت زمان مشخص قرار می‌گیرند. قبل از کشت، پروژنیوتورهای خونساز از واحدهای خون بند ناف جدا می‌شوند. سایتوکاین‌های G-CFS، GM-CSF، SCF، IL1، IL3، IL6، IL11، FLT3L، ترومبوپوئین و اریتروپوئین در درجات مختلف، بیشترین سایتوکاین‌هایی هستند که از نظر اثرات تکثیری و تمایزی شان بر سلول‌های خونساز اولیه و تکثیر آن‌ها استفاده شده‌اند (۲۰۴-۱۹۷).

در مطالعه‌ای که خلیلی و همکارانش به منظور ارزیابی محیط‌های مختلف برای دستیابی به بهترین شرایط کشت برای تکثیر سلول‌های خونساز خون بند ناف انجام دادند، نتایج مقایسه بین محیط کشت RPMI 1640 همراه با ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FCS) و یا ۱۰٪ پلاسمای خون بند ناف (CBP) و هم چنین محیط فاقد سرم در حضور ۵۰

جدول ۱: روش‌های مختلف تکثیر سلول‌های بنیادی خونساز خون بند ناف به تفکیک مسیرهای پیامدهی داخل سلولی

مکانیسم سلولی	نتایج	رفرانس
سیگنالینگ Notch	تیمار پروژنیوتورهای خون بند ناف CD34 ⁺ با سیگنالینگ Notch باعث افزایش تعداد مطلق سلول‌های بنیادی/پروژنیوتور در حدود بیش از ۱۰۰ برابر می‌شود	۲۱۶
مسیر سیگنالینگ Wnt	حضور ژن‌های Wnt منجر به افزایش تعداد سلول‌های کمتر تمایز یافته خونساز و کاهش سلول‌های بالغ نسبت به کنترل می‌شود	۲۱۷
ترکیب Wnt و Notch	مسیرهای Wnt و Notch مسیرهای پارالل در سلول‌های بنیادی خونساز هستند که در آن Wnt باعث افزایش پرولیفراسیون و بقای سلول‌های بنیادی خونساز می‌شود در حالی که Notch مانع تمایز آن‌ها می‌شود	۲۱۸
پروتئین‌های شبه آنژیوپوئین (AngptI)	استفاده از این پروتئین‌ها باعث تکثیر طولانی مدت ۲۴ تا ۳۰ برابری سلول‌های بنیادی خونساز می‌شود	۲۱۹
TAT-HOXB4	استفاده از TAT-HOXB4 نوترکیب خالص شده منجر به افزایش ۷/۵ برابری در سلول‌های پروژنیوتور CD34 ⁺ موجود در خون بند ناف و خون محیطی می‌شود	۲۲۰
آگونیست C-mpl (پروتوانکوژن ویروس لوسمی میلوپرولیفراتیو)	مولکول کوچک آگونیست C-mpl یعنی NR-101 باعث تکثیر سلول‌های بنیادی خون بند ناف و افزایش ۲/۳ برابری در جایگزینی سلول‌ها در موش SCID در مقایسه با TPO می‌شود	۲۲۱
zLLYfmk و zVADfmk	افزودن مهارکننده‌های پروتئاز (مهارکننده کاسپاز) zLLYfmk (مهارکننده کالپین) به محیط‌های کشت سلول‌های CD34 ⁺ خون بند ناف باعث افزایش محتوای سلولی CD34 ⁺ در حدود ۳ تا ۵ برابر نسبت به کنترل می‌شود	۲۲۲
پروتئین چاپرون ER (GRP94)	مدل موشی فاقد ژن GRP94 نقص در لانه‌گزینی سلول‌های بنیادی خونساز در نیچه به همراه جمعیت افزایش یافته سلول‌های بنیادی خونساز اولیه را نشان دادند	۲۲۳
پروستاگلندین E2 (PGE2)	سلول‌های بنیادی خونساز موجود در خون بند ناف، رسپتورهای PGE2 را بیان می‌کنند و به تحریک EX vivo با PGE2 پاسخ می‌دهند. سلول‌های خون بند ناف انسانی تیمار شده با PGE2، میزان آپوپتوز کمتر و پرولیفراسیون بیشتری را نشان دادند	۲۲۴
آنتاگونیست رسپتور آریل هیدروکربنی SR1	(SR1) stemregenin 1 زمانی که به سایر سایتوکاین‌ها در محیط کشت اضافه می‌شود، باعث افزایش سلول‌های بنیادی/پروژنیوتور خونساز در حدود ۱۰ برابر در مقایسه با سایتوکاین‌ها به تنهایی می‌شود	۲۲۵
TGF-B	مهار بیان ژن TGFBR2 موجب افزایش جمعیت سلول‌های خونساز CD34 ⁺ می‌شود	۲۲۶
BMP	غلظت بالای BMP-4 می‌تواند تمایز سلول‌های بنیادی خونساز خون بند ناف CD38 ⁻ و CD34 ⁻ را مهار می‌کند، هم چنین می‌تواند به طور غیر مستقیم باعث کنترل سلول‌های بنیادی خونساز با تنظیم سایر نیچه سلول‌های بنیادی خونساز شود	۲۲۷ و ۲۲۸
Bmi-1	بیان بیش از حد Bmi-1 باعث افزایش تقسیم متقارن سلول‌های بنیادی خونساز و افزایش تکثیر سلول‌های بنیادی خونساز می‌شود	۲۲۹
شلاتورهای مس تترا اتیلن پنتامین (TEPA)	تیمار سلول‌های CD34 ⁺ مشتق از خون بند ناف در محیط مایع حاوی TPO، IL6، SCF، FLT3L با شلاتور مس تترا اتیلن پنتامین (TEPA) باعث حفظ فنوتیپ اولیه سلول‌ها می‌شود	۲۳۰-۲۳۲
آل ترانس رتینوئیک اسید	آل ترانس رتینوئیک اسید (ATRA) در تنظیم هماتوپوئز نقش دارد و باعث افزایش لانه	۲۳۳

	گزینی طولانی مدت سلول‌های موشی می‌شود	(ATRA)
۲۳۴-۲۳۶	استفاده از عوامل هیپومتیله کننده و هیستون د استیلاز به ترتیب باعث افزایش ظرفیت خودنوسازی و پیوندپذیری سلول‌های بنیادی می‌شود. یک نمونه از این عوامل، گارسینول است که یک مهارکننده هیستون استیل ترانسفراز است که تکثیر سلول‌های بنیادی خونساز CD34 ⁺ را تحریک می‌کند	اپی ژنتیک

نتیجه‌گیری

خون بند ناف منبعی فراوان و در دسترس از سلول‌های بنیادی با عدم بلوغ ایمنولوژیکی و پلاستیستی بالاست که آن را نسبت به سایر منابع سلول‌های بنیادی ارجح ساخته است و یکی از بهترین منابع سلول‌های بنیادی در زمینه تحقیقات و کاربردهای بالینی است.

اما مشکل عمده در استفاده از خون بند ناف، کم بودن سلول‌های بنیادی خونساز موجود در نمونه خون بند ناف است که تاکنون مطالعه‌های متعددی به بررسی روش‌های مختلفی هم چون تزریق هم زمان دو واحد خون بند ناف و راهبردهای تکثیر سلولی برای افزایش تعداد این سلول‌ها پرداخته‌اند. به نظر می‌رسد که ترکیبی از واحدهای تکثیر داده شده در شرایط آزمایشگاهی (به منظور بازیابی

هماتوپوئز اولیه) همراه با واحد دستکاری نشده (به منظور هماتوپوئز طولانی مدت) می‌تواند راهبرد مناسبی باشد. باید به این نکته اشاره کرد با این که روش‌های تکثیر آزمایشگاهی روش‌هایی مفید هستند اما نباید این روش‌ها به عنوان تنها روش برای افزایش عملکرد سلول‌های بنیادی خونساز استفاده شوند چون ممکن است خصوصیات رشد سلول‌های بنیادی خونساز در شرایط آزمایشگاهی شبیه به داخل بدن نباشد. در این مطالعه حضور جمعیت‌های مختلف سلولی علاوه بر سلول‌های بنیادی خونساز در خون بند ناف بررسی شد که با پیشرفت روش‌هایی برای جداسازی و تکثیر این اجزا، استفاده از این منبع در درمان بهتر و پیشرفته‌تر بیماری‌های مختلف، ایمنوتراپی، مهندسی بافت و طب ترمیمی را در آینده مقدور می‌سازد.

References :

- Mihu CM, Mihu D, Costin N, Rus Ciucă D, Suşman S, Ciorte R. Isolation and characterization of stem cells from the placenta and the umbilical cord. *Rom J Morphol Embryol* 2008; 49(4): 441-6.
- Laver JH, Hulsey TC, Jones JP, Gautreaux M, Barredo JC, Abboud MR. Assessment of barriers to bone marrow donation by unrelated African-American potential donors. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001; 7(1): 45-8.
- Goessling W, Allen RS, Guan X, Jin P, Uchida N, Dovey M, *et al.* Prostaglandin E2 enhances human cord blood stem cell xenotransplants and shows long-term safety in preclinical nonhuman primate transplant models. *Cell Stem Cell* 2011; 8(4): 445-58.
- Mayani H, Alvarado-Moreno JA, Flores-Guzmán P. Biology of human hematopoietic stem and progenitor cells present in circulation. *Arch Med Res* 2003; 34(6): 476-88.
- Knudtson S. *In vitro* growth of granulocytic colonies from circulating cells in human cord blood. *Blood* 1974; 43(3): 357-61.
- Leary AG, Ogawa M. Blast cell colony assay for umbilical cord blood and adult bone marrow progenitors. *Blood* 1987; 69(3): 953-6.
- Gluckman E, Devergié A, Bourdeau-Esprou H, Thierry D, Traineau R, Auerbach A, *et al.* Transplantation of umbilical cord blood in Fanconi's anemia. *Nouv Rev Fr Hematol* 1990; 32(6): 423-5.
- National Cord Blood Program. Welcome to the New York Blood Center's National Cord Blood Program Website. Available from: <http://www.nationalcordbloodprogram.org>.
- Bone Marrow Donors Worldwide. Welcome to Bone Marrow Donors Worldwide. Leiden, Netherlands. Available from: http://www.bmdw.org/index.php?id=statistics_cordblood, 2014.
- Gluckman E. History of cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2009; 44(10): 621-6.
- Rocha V, Broxmeyer HE. New approaches for improving engraftment after cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16(1 Suppl): S126-32.
- Ballen KK, Spitzer TR, Yeap BY, McAfee S, Dey BR, Attar E, *et al.* Double unrelated reduced-intensity umbilical cord blood transplantation in adults. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; 13(1): 82-9.
- McGuckin C, Forraz N, Baradez M-O, Basford C,

- Dickinson AM, Navran S, *et al.* Embryonic-like stem cells from umbilical cord blood and potential for neural modeling. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2006; 66(4): 321-9.
- 14- Pipes BL, Tsang T, Peng SX, Fiederlein R, Graham M, Harris DT. Telomere length changes after umbilical cord blood transplant. *Transfusion* 2006; 46(6): 1038-43.
- 15- Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G, Cooper S, Bard J, English D, *et al.* Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86(10): 3828-32.
- 16- Rabian-Herzog C, Lesage S, Gluckman E, Charron D. Characterization of lymphocyte subpopulations in cord blood. *J Hematother* 1993; 2(2): 255-7.
- 17- Bofill M, Akbar AN, Salmon M, Robinson M, Burford G, Janossy G. Immature CD45RA(low)RO(low) T cells in the human cord blood. I. Antecedents of CD45RA+ unprimed T cells. *J Immunol* 1994; 152(12): 5613-23.
- 18- Risdon G, Gaddy J, Stehman FB, Broxmeyer HE. Proliferative and cytotoxic responses of human cord blood T lymphocytes following allogeneic stimulation. *Cell Immunol* 1994; 154(1): 14-24.
- 19- Cohen SB, Madrigal JA. Immunological and functional differences between cord and peripheral blood. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21 Suppl 3: S9-12.
- 20- MacMillan ML, Weisdorf DJ, Brunstein CG, Cao Q, DeFor TE, Verneris MR, *et al.* Acute graft-versus-host disease after unrelated donor umbilical cord blood transplantation: analysis of risk factors. *Blood* 2009; 113(11): 2410-5
- 21- Barker JN, Davies SM, DeFor T, Ramsay NK, Weisdorf DJ, Wagner JE. Survival after transplantation of unrelated donor umbilical cord blood is comparable to that of human leukocyte antigen-matched unrelated donor bone marrow: results of a matched-pair analysis. *Blood* 2001; 97(10): 2957-61.
- 22- Rocha V, Wagner Jr JE, Sobocinski KA, Klein JP, Zhang M-J, Horowitz MM, *et al.* Graft-versus-host disease in children who have received a cord-blood or bone marrow transplant from an HLA-identical sibling. Eurocord and International Bone Marrow Transplant Registry Working Committee on Alternative Donor and Stem Cell Sources. *N Engl J Med* 2000; 342(25): 1846-54.
- 23- Rocha V, Labopin M, Sanz G, Arcese W, Schwerdtfeger R, Bosi A, *et al.* Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. *N Engl J Med* 2004; 351(22): 2276-85.
- 24- Leung AY, Kwong YL. Haematopoietic stem cell transplantation: current concepts and novel therapeutic strategies. *Br Med Bull* 2010; 93: 85-103.
- 25- Petersdorf EW. Optimal HLA matching in hematopoietic cell transplantation. *Curr Opin Immunol* 2008; 20(5): 588-93.
- 26- Shaw BE, Arguello R, Garcia-Sepulveda CA, Madrigal JA. The impact of HLA genotyping on survival following unrelated donor haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2010; 150(3): 251-8.
- 27- Lee SJ, Klein J, Haagenson M, Baxter-Lowe LA, Confer DL, Eapen M, *et al.* High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood* 2007; 110(13): 4576-83.
- 28- Fleischhauer K, Shaw BE, Gooley T, Malkki M, Bardy P, Bignon JD, *et al.* Effect of T-cell epitope matching at HLA-DPB1 in recipients of unrelated-donor haematopoietic-cell-transplantation: a retrospective study. *Lancet Oncol* 2012; 13(4): 366-74.
- 29- Bettens F, Passweg J, Schanz U, Chalandon Y, Heim D, Gungör T, *et al.* Impact of HLA-DPB1 haplotypes on outcome of 10/10 matched unrelated hematopoietic stem cell donor transplantation depends on MHC-linked microsatellite polymorphisms. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18(4): 608-16.
- 30- D'Arena G, Musto P, Cascavilla N, Di Giorgio G, Fusilli S, Zendoli F, *et al.* Flow cytometric characterization of human umbilical cord blood lymphocytes: immunophenotypic features. *Haematologica* 1998; 83(3): 197-203.
- 31- Behzad-Behbahani A, Pouransari R, Tabei S, Rahiminejad M, Robati M, Yaghoobi R, *et al.* Risk of viral transmission via bone marrow progenitor cells versus umbilical cord blood hematopoietic stem cells in bone marrow transplantation. *Transplant Proc* 2005; 37(7): 3211-2.
- 32- Gammaitoni L, Weisel KC, Gunetti M, Wu KD, Bruno S, Pinelli S, *et al.* Elevated telomerase activity and minimal telomere loss in cord blood long-term cultures with extensive stem cell replication. *Blood* 2004; 103(12): 4440-8.
- 33- Laughlin MJ, Eapen M, Rubinstein P, Wagner JE, Zhang M-J, Champlin RE, *et al.* Outcomes after transplantation of cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with leukemia. *New Engl J Med* 2004; 351(22): 2265-75.
- 34- Gilmore GL, DePasquale DK, Lister J, Shaddock RK. *Ex vivo* expansion of human umbilical cord blood and peripheral blood CD34(+) hematopoietic stem cells. *Exp Hematol* 2000; 28(11): 1297-305.
- 35- Stevens CE, Scaradavou A, Carrier C, Carpenter C, Rubinstein P. An empirical analysis of the probability of finding a well-matched cord blood (CB) unit: implications for a National Cord Blood Inventory. *Blood* 2005; 106. [Abstract 2047]
- 36- Wagner JE, Barker JN, DeFor TE, Baker KS, Blazar BR, Eide C, *et al.* Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood* 2002; 100(5): 1611-8.
- 37- Gluckman E, Rocha V, Boyer-Chammard A, Locatelli F, Arcese W, Pasquini R, *et al.* Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors. Eurocord Transplant Group and the European Blood and Marrow Transplantation Group. *N Engl J Med* 1997; 337(6): 373-81.
- 38- Migliaccio AR, Adamson JW, Stevens CE, Dobrila NL, Carrier CM, Rubinstein P. Cell dose and speed of engraftment in placental/umbilical cord blood transplantation: graft progenitor cell content is a better predictor than nucleated cell quantity. *Blood* 2000;

- 96(8): 2717-22.
- 39- Petropoulou A, Rocha V. Risk factors and options to improve engraftment in unrelated cord blood transplantation. *Stem cells Int* 2011; 2011: 610514.
 - 40- Bart T. Cost effectiveness of cord blood versus bone marrow and peripheral blood stem cells. *Clinicoecon Outcomes Res* 2010; 2: 141-7.
 - 41- Rubinstein P, Rosenfield RE, Adamson JW, Stevens CE. Stored placental blood for unrelated bone marrow reconstitution. *Blood* 1993; 81(7): 1679-90.
 - 42- Bertolini F, Lazzari L, Lauri E, Corsini C, Castelli C, Gorini F, *et al.* Comparative study of different procedures for the collection and banking of umbilical cord blood. *J Hematother* 1995; 4(1): 29-36.
 - 43- Harris DT, Schumacher MJ, Rychlik S, Booth A, Acevedo A, Rubinstein P, *et al.* Collection, separation and cryopreservation of umbilical cord blood for use in transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1994; 13(2): 135-43.
 - 44- Ballen KK. New trends in umbilical cord blood transplantation. *Blood* 2005; 105(10): 3786-92.
 - 45- Hollands P, McCauley C. Private cord blood banking: current use and clinical future. *Stem Cell Rev* 2009; 5(3): 195-203.
 - 46- Badowski MS, Harris DT. Collection, processing, and banking of umbilical cord blood stem cells for clinical use in transplantation and regenerative medicine. *Methods Mol Biol* 2008; 39(3): 173-8.
 - 47- Migliaccio G, Migliaccio AR, Druzin ML, Giardina P, Zsebo KM, Adamson JW. Long-term generation of colony-forming cells in liquid culture of CD34+ cord blood cells in the presence of recombinant human stem cell factor. *Blood* 1992; 79(10): 2620-7.
 - 48- Bertolini F, Lazzari L, Lauri E, Corsini C, Castelli C, Gorini F, *et al.* Comparative study of different procedures for the collection and banking of umbilical cord blood. *J Hematother* 1995; 4(1): 29-36.
 - 49- Harris D, Schumacher M, Rychlik S, Booth A, Acevedo A, Rubinstein P, *et al.* Collection, separation and cryopreservation of umbilical cord blood for use in transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1994; 13(2): 135-43.
 - 50- Almici C, Carlo-Stella C, Mangoni L, Garau D, Cottafavi L, Rizzoli V, *et al.* Density separation of umbilical cord blood and recovery of hemopoietic progenitor cells: implications for cord blood banking. *Stem Cells* 1995; 13(5): 533-40.
 - 51- Butler MG, Menitove JE. Umbilical cord blood banking: an update. *J Assist Reprod Genet* 2011; 28(8): 669-76.
 - 52- Garcia J. Allogeneic unrelated cord blood banking worldwide: an update. *Transfus Apher Sci* 2010; 42(3): 257-63.
 - 53- Berz D, McCormack EM, Winer ES, Colvin GA, Quesenberry PJ. Cryopreservation of hematopoietic stem cells. *Am J Hematol* 2007; 82(6): 463-72.
 - 54- Broxmeyer HE, Srour EF, Hangoc G, Cooper S, Anderson SA, Bodine DM. High-efficiency recovery of functional hematopoietic progenitor and stem cells from human cord blood cryopreserved for 15 years. *Proc Nat Acad Sci U S A* 2003; 100(2): 645-50.
 - 55- Shlebak A, Marley S, Roberts I, Davidson R, Goldman J, Gordon M. Optimal timing for processing and cryopreservation of umbilical cord haematopoietic stem cells for clinical transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1999; 23(2): 131-6.
 - 56- Choi CW, Kim BS, Seo JH, Shin SW, Kim YH, Kim JS. Long-term engraftment stability of peripheral blood stem cells cryopreserved using the dump-freezing method in a -80 C mechanical freezer with 10% dimethyl sulfoxide. *Int J Hematol* 2001; 73(2): 245-50.
 - 57- Abrahamsen JF, Bakken AM, Bruserud Ø. Cryopreserving human peripheral blood progenitor cells with 5-percent rather than 10-percent DMSO results in less apoptosis and necrosis in CD34+ cells. *Transfusion* 2002; 42(12): 1573-80.
 - 58- Galmés A, Besalduch J, Bargay J, Novo A, Morey M, Guerra JM, *et al.* Long-term storage at -80 degrees C of hematopoietic progenitor cells with 5-percent dimethyl sulfoxide as the sole cryoprotectant. *Transfusion* 1999; 39(1): 70-3.
 - 59- Halle P, Tournilhac O, Knopinska-Posluszny W, Kanold J, Gembara P, Boiret N, *et al.* Uncontrolled-rate freezing and storage at -80 degrees C, with only 3.5-percent DMSO in cryoprotective solution for 109 autologous peripheral blood progenitor cell transplantations. *Transfusion* 2001; 41(5): 667-73.
 - 60- Moezzi L, Pourfathollah A, Alimoghaddam K, Soleimani M, Ardjmand AR. The effect of cryopreservation on clonogenic capacity and *in vitro* expansion potential of umbilical cord blood progenitor cells. *Transplant Proc* 2005; 37(10): 4500-3.
 - 61- Harris DT, Mapother M, Goodman C. Prevention of cross-sample and infectious contamination during cord blood banking by use of cryovials for storage in liquid nitrogen. *Transfusion* 2000; 40: 111S
 - 62- Broxmeyer HE. Umbilical cord transplantation: Epilogue. *Semin Hematol* 2010; 47(1): 97-103.
 - 63- Soufizomorrod M, Soleimani M, Hajifathali A, Mohammadi MM, Abroun S. Expansion of CD133+ umbilical cord blood derived hematopoietic stem cells on biocompatible microwells. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res* 2013; 7(1): 9-14.
 - 64- Fallah P, Arefian E, Naderi M, Aghae-Bakhtiari SH, Atashi A, Ahmadi K, *et al.* miR-146a and miR-150 promote the differentiation of CD133+ cells into T-lymphoid lineage. *Mol Biol Rep* 2013; 40(8): 4713-9.
 - 65- Hafizi M, Atashi A, Bakhshandeh B, Kabiri M, Nadri S, Hosseini RH, *et al.* MicroRNAs as markers for neurally committed CD133+/CD34+ stem cells derived from human umbilical cord blood. *Biochem Genet* 2013; 51(3-4): 175-88.
 - 66- Kouhkan F, Soleimani M, Daliri M, Behmanesh M, Mobarra N, Mossahebi Mohammadi M, *et al.* miR-451 Up-regulation, Induce Erythroid Differentiation of CD133+ cells Independent of Cytokine Cocktails. *Iran J Basic Med Sci* 2013; 16(6): 756-63.
 - 67- Hatzfeld J, Batard P, Cardoso A, Li M, Panterne B, Sansilvestri P, *et al.* Purification and release from quiescence of umbilical cord blood early progenitors reveal their potential to engraft adults. *Blood Cells* 1994; 20(2-3): 430-4.
 - 68- Van Epps D, Bender J, Lee W, Schilling M, Smith A, Smith S, *et al.* Harvesting, characterization, and culture of CD34+ cells from human bone marrow, peripheral blood, and cord blood. *Blood Cells* 1994; 20(2-3):

- 411-23.
- 69- Lu L, Xiao M, Shen RN, Grigsby S, Broxmeyer HE. Enrichment, characterization, and responsiveness of single primitive CD34 human umbilical cord blood hematopoietic progenitors with high proliferative and replating potential. *Blood* 1993; 81(1): 41-8.
- 70- Traycoff C, Abboud M, Laver J, Clapp D, Hoffman R, Law P, *et al.* Human umbilical cord blood hematopoietic progenitor cells: are they the same as their adult bone marrow counterparts? *Blood Cells* 1994; 20(2-3): 382-90.
- 71- Pettengell R, Luft T, Henschler R, Hows JM, Dexter TM, Ryder D, *et al.* Direct comparison by limiting dilution analysis of long-term culture-initiating cells in human bone marrow, umbilical cord blood, and blood stem cells. *Blood* 1994; 84(11): 3653-9.
- 72- Hao QL, Shah AJ, Thiemann FT, Smogorzewska EM, Crooks GM. A functional comparison of CD34+ CD38-cells in cord blood and bone marrow. *Blood* 1995; 86(10): 3745-53.
- 73- Broxmeyer HE, Hangoc G, Cooper S, Ribeiro RC, Graves V, Yoder M, *et al.* Growth characteristics and expansion of human umbilical cord blood and estimation of its potential for transplantation in adults. *Proc Nat Acad Sci* 1992; 89(9): 4109-13.
- 74- Broxmeyer H, Kurtzberg J, Gluckman E, Auerbach A, Douglas G, Cooper S, *et al.* Umbilical cord blood hematopoietic stem and repopulating cells in human clinical transplantation. *Blood Cells* 1990; 17(2): 313-29.
- 75- Ng YY, van Kessel B, Lokhorst HM, Baert MR, van den Burg CM, Bloem AC, *et al.* Gene-expression profiling of CD34+ cells from various hematopoietic stem-cell sources reveals functional differences in stem-cell activity. *J Leuk Biol* 2004; 75(2): 314-23.
- 76- Lansdorp PM, Dragowska W, Mayani H. Ontogeny-related changes in proliferative potential of human hematopoietic cells. *J Exp Med* 1993; 178(3): 787-91.
- 77- Mayani H, Lansdorp PM. Thy-1 expression is linked to functional properties of primitive hematopoietic progenitor cells from human umbilical cord blood. *Blood* 1994; 83(9): 2410-7.
- 78- Tamaki S, Eckert K, He D, Sutton R, Doshe M, Jain G, *et al.* Engraftment of sorted/expanded human central nervous system stem cells from fetal brain. *J Neurosci Res* 2002; 69(6): 976-86.
- 79- Uchida N, Buck DW, He D, Reitsma MJ, Masek M, Phan TV, *et al.* Direct isolation of human central nervous system stem cells. *Proc Nat Acad Sci U S A* 2000; 97(26): 14720-5.
- 80- Hafizi M, Atashi A, Bakhshandeh B, Kabiri M, Nadri S, Hosseini RH, *et al.* MicroRNAs as Markers for Neurally Committed CD133+/CD34+ Stem Cells Derived from Human Umbilical Cord Blood. *Biochem Genet* 2013; 51(3-4): 175-88.
- 81- Moritz T, Keller D, Williams D. Human cord blood cells as targets for gene transfer: potential use in genetic therapies of severe combined immunodeficiency disease. *J Exp Med* 1993; 178(2): 529-36.
- 82- Giorgetti A, Montserrat N, Rodriguez-Piza I, Azqueta C, Veiga A, Izpisua Belmonte JC. Generation of induced pluripotent stem cells from human cord blood cells with only two factors: Oct4 and Sox2. *Nat Protoc* 2010; 5(4): 811-20.
- 83- Takenaka C, Nishishita N, Takada N, Jakt LM, Kawamata S. Effective generation of iPS cells from CD34+ cord blood cells by inhibition of p53. *Exp Hematol* 2010; 38(2): 154-62.
- 84- Wang M, Yang Y, Yang D, Luo F, Liang W, Guo S, *et al.* The immunomodulatory activity of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells *in vitro*. *Immunology* 2009; 126(2): 220-32.
- 85- Erices A, Conget P, Minguell JJ. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *Br J Haematol* 2000; 109(1): 235-42.
- 86- Lee OK, Kuo TK, Chen WM, Lee KD, Hsieh SL, Chen TH. Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Blood* 2004; 103(5): 1669-75.
- 87- Goodwin HS, Bicknese AR, Chien SN, Bogucki BD, Quinn CO, Wall DA. Multilineage differentiation activity by cells isolated from umbilical cord blood: expression of bone, fat, and neural markers. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001; 7(11): 581-8.
- 88- Bieback K, Kern S, Klüter H, Eichler H. Critical parameters for the isolation of mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Stem Cells* 2004; 22(4): 625-34.
- 89- Secco M, Zucconi E, Vieira NM, Fogaça LL, Cerqueira A, Carvalho MDF, *et al.* Multipotent stem cells from umbilical cord: cord is richer than blood! *Stem Cells* 2008; 26(1): 146-50.
- 90- Wexler SA, Donaldson C, Denning-Kendall P, Rice C, Bradley B, Hows JM. Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal 'stem' cells but umbilical cord and mobilized adult blood are not. *Br J Haematol* 2003; 121(2): 368-74.
- 91- Mareschi K, Biasin E, Piacibello W, Aglietta M, Madon E, Fagioli F. Isolation of human mesenchymal stem cells: bone marrow versus umbilical cord blood. *Haematologica* 2001; 86(10): 1099-100.
- 92- Romanov YA, Svintsitskaya VA, Smirnov VN. Searching for alternative sources of postnatal human mesenchymal stem cells: candidate MSC-like cells from umbilical cord. *Stem Cells* 2003; 21(1): 105-10.
- 93- Kern S, Eichler H, Stoeve J, Klüter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord Blood, or adipose tissue. *Stem Cells* 2006; 24(5): 1294-301.
- 94- Adegani FJ, Langroudi L, Arefian E, Soleimani M. Differentiation microRNAs affect stemness status of USSCs. *Iran Red Crescent Med J* 2011; 13(10): 726-34.
- 95- Seyedjafari E, Soleimani M, Ghaemi N, Sarbolouki MN. Enhanced osteogenic differentiation of cord blood-derived unrestricted somatic stem cells on electrospun nanofibers. *J Mater Sci Mater Med* 2011; 22(1): 165-74.
- 96- Langroudi L, Forouzandeh M, Soleimani M, Atashi A, Golestaneh AF. Induction of differentiation by down-regulation of Nanog and Rex-1 in cord blood derived unrestricted somatic stem cells. *Mol Biol Rep* 2013; 40(7): 4429-37.
- 97- Alimoghaddam K, Khalili M, Soleimani M, Lili M, Ghodsi P, Arjmand A, *et al.* Evaluation the effects of

- mip-1a on *Ex vivo* expansion of cord blood hematopoietic progenitor cells in different culture media. *Molecular Therapy* 2006; 13: S138.
- 98- Mueller SM, Glowacki J. Age-related decline in the osteogenic potential of human bone marrow cells cultured in three-dimensional collagen sponges. *J Cell Biochem* 2001; 82(4): 583-90.
- 99- Stenderup K, Justesen J, Clausen C, Kassem M. Aging is associated with decreased maximal life span and accelerated senescence of bone marrow stromal cells. *Bone* 2003; 33(6): 919-26.
- 100- Rao MS, Mattson MP. Stem cells and aging: expanding the possibilities. *Mech Ageing Dev* 2001; 122(7): 713-34.
- 101- Kim SJ, Lee JK, Kim JW, Jung JW, Seo K, Park SB, *et al.* Surface modification of polydimethylsiloxane (PDMS) induced proliferation and neural-like cells differentiation of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells. *J Mat Sci Mater Med* 2008; 19(8): 2953-62.
- 102- Lim JY, Park SI, Oh JH, Kim SM, Jeong CH, Jun JA, *et al.* Brain-derived neurotrophic factor stimulates the neural differentiation of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells and survival of differentiated cells through MAPK/ERK and PI3K/Akt-dependent signaling pathways. *J Neurosci Res* 2008; 86(10): 2168-78.
- 103- Bhandari DR, Seo KW, Roh KH, Jung JW, Kang SK, Kang KS. REX-1 expression and p38 MAPK activation status can determine proliferation/differentiation fates in human mesenchymal stem cells. *PLoS One* 2010; 5(5): e10493.
- 104- Seo KW, Lee SR, Bhandari DR, Roh KH, Park SB, So AY, *et al.* OCT4A contributes to the stemness and multi-potency of human umbilical cord blood-derived multipotent stem cells (hUCB-MSCs). *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 384(1): 120-5.
- 105- Yang SE, Ha CW, Jung M, Jin HJ, Lee M, Song H, *et al.* Mesenchymal stem/progenitor cells developed in cultures from UC blood. *Cytotherapy* 2004; 6(5): 476-86.
- 106- Robinson S, Niu T, De Lima M, Ng J, Yang H, McMannis J, *et al.* *Ex vivo* expansion of umbilical cord blood. *Cytotherapy* 2005; 7(3): 243-50.
- 107- Wang HS, Hung SC, Peng ST, Huang CC, Wei HM, Guo YJ, *et al.* Mesenchymal stem cells in the Wharton's jelly of the human umbilical cord. *Stem Cells* 2004; 22(7): 1330-7.
- 108- Romanov YA, Svintsitskaya VA, Smirnov VN. Searching for alternative sources of postnatal human mesenchymal stem cells: Candidate MSC-like cells from umbilical cord. *Stem Cells* 2003; 21(1): 105-10.
- 109- Lu LL, Liu YJ, Yang SG, Zhao QJ, Wang X, Gong W, *et al.* Isolation and characterization of human umbilical cord mesenchymal stem cells with hematopoiesis-supportive function and other potentials. *Haematologica* 2006; 91(8): 1017-26.
- 110- Boissel L, Tuncer HH, Betancur M, Wolfberg A, Klingemann H. Umbilical cord mesenchymal stem cells increase expansion of cord blood natural killer cells. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14(9): 1031-8.
- 111- Secco M, Moreira YB, Zucconi E, Vieira NM, Jazedje T, Muotri AR, *et al.* Gene expression profile of mesenchymal stem cells from paired umbilical cord units: cord is different from blood. *Stem Cell Rev* 2009; 5(4): 387-401.
- 112- Crisan M, Yap S, Casteilla L, Chen CW, Corselli M, Park TS, *et al.* A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs. *Cell Stem Cell* 2008; 3(3): 301-13.
- 113- Can A, Karahuseyinoglu S. Concise review: Human umbilical cord stroma with regard to the source of fetus-derived stem cells. *Stem Cells* 2007; 25(11): 2886-95.
- 114- Weiss ML, Medicetty S, Bledsoe AR, Rachakarla RS, Choi M, Merchav S, *et al.* Human umbilical cord matrix stem cells: preliminary characterization and effect of transplantation in a rodent model of Parkinson's disease. *Stem Cells* 2006; 24(3): 781-92.
- 115- Weiss ML, Troyer DL. Stem cells in the umbilical cord. *Stem Cell Rev* 2006; 2(2): 155-62.
- 116- Covas DT, Panepucci RA, Fontes AM, Silva Jr WA, Orellana MD, Freitas MC, *et al.* Multipotent mesenchymal stromal cells obtained from diverse human tissues share functional properties and gene-expression profile with CD146+ perivascular cells and fibroblasts. *Exp Hematol* 2008; 36(5): 642-54.
- 117- da Silva Meirelles L, Caplan AI, Nardi NB. In search of the in vivo identity of mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2008; 26(9): 2287-99.
- 118- Sarugaser R, Lickorish D, Baksh D, Hosseini MM, Davies JE. Human umbilical cord perivascular (HUCPV) cells: a source of mesenchymal progenitors. *Stem Cells* 2005; 23(2): 220-9.
- 119- Baksh D, Yao R, Tuan RS. Comparison of proliferative and multilineage differentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord and bone marrow. *Stem Cells* 2007; 25(6): 1384-92.
- 120- Panepucci RA, Siufi JL, Silva WA Jr, Siquiera R, Neder L, Orellana M, *et al.* Comparison of gene expression of umbilical cord vein and bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2004; 22(7): 1263-78.
- 121- Friedman R, Betancur M, Boissel L, Tuncer H, Cetrulo C, Klingemann H. Umbilical cord mesenchymal stem cells: adjuvants for human cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; 13(12): 1477-86.
- 122- Feldmann RE Jr, Bieback K, Maurer MH, Kalenka A, Bürgers HF, Gross B, *et al.* Stem cell proteomes: a profile of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord blood. *Electrophoresis* 2005; 26(14): 2749-58.
- 123- Liu CH, Hwang SM. Cytokine interactions in mesenchymal stem cells from cord blood. *Cytokine* 2005; 32(6): 270-9.
- 124- Yoo KH, Jang IK, Lee MW, Kim HE, Yang MS, Eom Y, *et al.* Comparison of immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells derived from adult human tissues. *Cell Immunol* 2009; 259(2): 150-6.
- 125- Bieback K, Klüter H. Mesenchymal stromal cells from umbilical cord blood. *Curr Stem Cell Res Ther* 2007; 2(4): 310-23.
- 126- Bieback K, Kern S, Kocaömer A, Ferlik K, Bugert P. Comparing mesenchymal stromal cells from different

- human tissues: bone marrow, adipose tissue and umbilical cord blood. *Biomed Mater Eng* 2008; 18(1 Suppl): S71-6.
- 127- Rebelatto C, Aguiar A, Moretão MP, Senegaglia A, Hansen P, Barchiki F, *et al.* Dissimilar differentiation of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, and adipose tissue. *Exp Biol Med* (Maywood) 2008; 233(7): 901-13.
- 128- Kern S, Eichler H, Stoeve J, Klüter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord Blood, or adipose tissue. *Stem Cells* 2006; 24(5): 1294-301.
- 129- Kögler G, Sensken S, Airey JA, Trapp T, Müschen M, Feldhahn N, *et al.* A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential. *J Exp Med* 2004; 200(2): 123-35.
- 130- Kögler G, Sensken S, Wernet P. Comparative generation and characterization of pluripotent unrestricted somatic stem cells with mesenchymal stem cells from human cord blood. *Exp Hematol* 2006; 34(11): 1589-95.
- 131- McGuckin C, Forraz N, Baradez MO, Navran S, Zhao J, Urban R, *et al.* Production of stem cells with embryonic characteristics from human umbilical cord blood. *Cell Prolif* 2005; 38(4): 245-55.
- 132- Kucia M, Halasa M, Wysoczynski M, Baskiewicz-Masiuk M, Moldenhawer S, Zuba-Surma E, *et al.* Morphological and molecular characterization of novel population of CXCR4+ SSEA-4+ Oct-4+ very small embryonic-like cells purified from human cord blood: preliminary report. *Leukemia* 2007; 21(2): 297-303.
- 133- Ringdén O, Uzunel M, Rasmusson I, Remberger M, Sundberg B, Lönnies H, *et al.* Mesenchymal stem cells for treatment of therapyresistant graft-versus-host disease. *Transplantation* 2006; 81(10): 1390-7.
- 134- Le Blanc K, Ringdén O. Mesenchymal stem cells: properties and role in clinical bone marrow transplantation. *Curr Opin Immunol* 2006; 18(5): 586-91.
- 135- Noort WA, Kruisselbrink AB, in't Anker PS, Kruger M, van Bezooijen RL, de Paus RA, *et al.* Mesenchymal stem cells promote engraftment of human umbilical cord blood-derived CD34(+) cells in NOD/SCID mice. *Exp Hematol* 2002; 30(8): 870-8.
- 136- In 't Anker PS, Scherjon SA, Kleijburg-van der Keur C, de Groot-Swings GM, Claas FH, Fibbe WE, *et al.* Isolation of mesenchymal stem cells of fetal or maternal origin from human placenta. *Stem Cells* 2004; 22(7): 1338-45.
- 137- Delalat B, Pourfatholah AA, Movassaghpour AA, Soleimani M, Mozdarani H, Kaviani S. Evaluation of cotransplantation of human mesenchymal stem cells and umbilical cord blood CD34 cells with CFU-S assay. *Sci J Iran Blood Transfus Organ* 2007; 3(4): 343-53. [Article in Farsi]
- 138- Buzańska L, Machaj E, Zabłocka B, Pojda Z, Domańska-Janik K. Human cord blood-derived cells attain neuronal and glial features *in vitro*. *J Cell Sci* 2002; 115(Pt 10): 2131-8.
- 139- Forraz N, Pettengell R, McGuckin CP. Characterization of a lineage-negative stem-progenitor cell population optimized for *ex vivo* expansion and enriched for LTC-IC. *Stem Cells* 2004; 22(1): 100-8.
- 140- McGuckin C, Forraz N. Potential for access to embryonic-like cells from human umbilical cord blood. *Cell Prolif* 2008; 41 Suppl 1: 31-40.
- 141- Kucia M, Halasa M, Wysoczynski M, Baskiewicz-Masiuk M, Moldenhawer S, Zuba-Surma E, *et al.* Morphological and molecular characterization of novel population of CXCR4+ SSEA-4+ Oct-4+ very small embryonic-like cells purified from human cord blood—preliminary report. *Leukemia* 2007; 21(2): 297-303.
- 142- Ma N, Stamm C, Kaminski A, Li W, Kleine H-D, Müller-Hilke B, *et al.* Human cord blood cells induce angiogenesis following myocardial infarction in NOD/scid-mice. *Cardiovasc Res* 2005; 66(1): 45-54.
- 143- Denner L, Bodenburg Y, Zhao J, Howe M, Cappo J, Tilton R, *et al.* Directed engineering of umbilical cord blood stem cells to produce C-peptide and insulin. *Cell Prolif* 2007; 40(3): 367-80.
- 144- Kögler G, Sensken S, Airey JA, Trapp T, Müschen M, Feldhahn N, *et al.* A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential. *J Exp Med* 2004; 200(2): 123-35.
- 145- Zeng F, Chen MJ, Baldwin DA, Gong ZJ, Yan JB, Qian H, *et al.* Multiorgan engraftment and differentiation of human cord blood CD34+ Lin- cells in goats assessed by gene expression profiling. *Proc Nat Acad Sci U S A* 2006; 103(20): 7801-6.
- 146- Thomas ED. Bone marrow transplantation: a review. *Semin Hematol* 1999; 36(4 Suppl 7): 95-103.
- 147- Au P, Daheron LM, Duda DG, Cohen KS, Tyrrell JA, Lanning RM, *et al.* Differential *in vivo* potential of endothelial progenitor cells from human umbilical cord blood and adult peripheral blood to form functional long-lasting vessels. *Blood* 2008; 111(3): 1302-5.
- 148- Hildbrand P, Cirulli V, Prinsen RC, Smith KA, Torbett BE, Salomon DR, *et al.* The role of angiopoietins in the development of endothelial cells from cord blood CD34+ progenitors. *Blood* 2004; 104(7): 2010-9.
- 149- Salven P, Mustjoki S, Alitalo R, Alitalo K, Rafii S. VEGFR-3 and CD133 identify a population of CD34+ lymphatic/vascular endothelial precursor cells. *Blood* 2003; 101(1): 168-72.
- 150- Cho SW, Gwak SJ, Kang SW, Bhang SH, Song KW, Yang YS, *et al.* Enhancement of angiogenic efficacy of human cord blood cell transplantation. *Tissue Eng* 2006; 12(6): 1651-61.
- 151- Botta R, Gao E, Stassi G, Bonci D, Pelosi E, Zwas D, *et al.* Heart infarct in NOD-SCID mice: therapeutic vasculogenesis by transplantation of human CD34+ cells and low dose CD34+ KDR+ cells. *FASEB J* 2004; 18(12): 1392-4.
- 152- Le Ricousse-Roussanne S, Barateau V, Contreres JO, Boval B, Kraus-Berthier L, Tobelem G. *Ex vivo* differentiated endothelial and smooth muscle cells from human cord blood progenitors home to the angiogenic tumor vasculature. *Cardiovasc Res* 2004; 62(1): 176-84.
- 153- Tomonari A, Tojo A, Takahashi T, Iseki T, Ooi J, Takahashi S, *et al.* Resolution of Behcet's disease after HLA-mismatched unrelated cord blood transplantation

- for myelodysplastic syndrome. *Ann Hematol* 2004; 83(7): 464-6.
- 154- Mayer H, Bertram H, Lindenmaier W, Korff T, Weber H, Weich H. Vascular endothelial growth factor (VEGF-A) expression in human mesenchymal stem cells: Autocrine and paracrine role on osteoblastic and endothelial differentiation. *J Cell Biochem* 2005; 95(4): 827-39.
- 155- Liu CH, Hwang SM. Cytokine interactions in mesenchymal stem cells from cord blood. *Cytokine* 2005; 32(6): 270-9.
- 156- Gang E, Jeong J, Han S, Yan Q, Jeon CJ, Kim H. *In vitro* endothelial potential of human UC blood-derived mesenchymal stem cells. *Cytherapy* 2006; 8(3): 215-27.
- 157- Reen DJ. Activation and functional capacity of human neonatal CD4 T-cells. *Vaccine* 1998; 16(14-15): 1401-8.
- 158- Harris DT, Schumacher MJ, Locascio J, Besencon FJ, Olson GB, DeLuca D, *et al.* Phenotypic and functional immaturity of human umbilical cord blood T lymphocytes. *Proc Nat Acad Sci U S A* 1992; 89(21): 10006-10.
- 159- Pranke P, Failace RR, Allebrandt WF, Steibel G, Schmidt F, Nardi NB. Hematologic and immunophenotypic characterization of human umbilical cord blood. *Acta Haematol* 2001; 105(2): 71-6.
- 160- Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995; 155(3): 1151-64.
- 161- Dieckmann D, Plottner H, Berchtold S, Berger T, Schuler G. *Ex vivo* isolation and characterization of CD4+ CD25+ T cells with regulatory properties from human blood. *J Exp Med* 2001; 193(11): 1303-10.
- 162- Shimizu J, Yamazaki S, Takahashi T, Ishida Y, Sakaguchi S. Stimulation of CD25+ CD4+ regulatory T cells through GITR breaks immunological self-tolerance. *Nat Immunol* 2002; 3(2): 135-42.
- 163- McHugh RS, Whitters MJ, Piccirillo CA, Young DA, Shevach EM, Collins M, *et al.* CD4(+) CD25(+) immunoregulatory T cells: gene expression analysis reveals a functional role for the glucocorticoid-induced TNF receptor. *Immunity* 2002; 16(2): 311-23.
- 164- Valzasina B, Guiducci C, Dislich H, Killeen N, Weinberg AD, Colombo MP. Triggering of OX40 (CD134) on CD4+ CD25+ T cells blocks their inhibitory activity: a novel regulatory role for OX40 and its comparison with GITR. *Blood* 2005; 105(7): 2845-51.
- 165- Taylor PA, Panoskaltis-Mortari A, Swedin JM, Lucas PJ, Gress RE, Levine BL, *et al.* L-Selectin(hi) but not the L-selectin(lo) CD4+25+ T-regulatory cells are potent inhibitors of GVHD and BM graft rejection. *Blood* 2004; 104(12): 3804-12.
- 166- Ermann J, Hoffmann P, Edinger M, Dutt S, Blankenberg FG, Higgins JP, *et al.* Only the CD62L+ subpopulation of CD4+CD25+ regulatory T cells protects from lethal acute GVHD. *Blood* 2005; 105(5): 2220-6.
- 167- Wei S, Kryczek I, Zou W. Regulatory T-cell compartmentalization and trafficking. *Blood* 2006; 108(2): 426-31.
- 168- Iellem A, Mariani M, Lang R, Recalde H, Panina-Bordignon P, Sinigaglia F, *et al.* Unique chemotactic response profile and specific expression of chemokine receptors CCR4 and CCR8 by CD4+ CD25+ regulatory T cells. *J Exp Med* 2001; 194(6): 847-54.
- 169- Wing K, Ekmark A, Karlsson H, Rudin A, Suri- Payer E. Characterization of human CD25+ CD4+ T cells in thymus, cord and adult blood. *Immunology* 2002; 106(2): 190-9.
- 170- Ng WF, Duggan PJ, Ponchel F, Matarese G, Lombardi G, Edwards AD, *et al.* Human CD4+CD25+ cells: a naturally occurring population of regulatory T cells. *Blood* 2001; 98(9): 2736-44.
- 171- Lee CC, Lin SJ, Cheng PJ, Kuo ML. The regulatory function of umbilical cord blood CD4(+) CD25(+) T cells stimulated with anti-CD3/anti-CD28 and exogenous interleukin (IL)-2 or (IL)-15. *Pediatr Allergy Immunol* 2009; 20(7): 624-32.
- 172- Chen L, Cohen AC, Lewis DB. Impaired allogeneic activation and T-helper 1 differentiation of human cord blood naive CD4 T cells. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12(2): 160-71.
- 173- Arasteh J, Pourpak Z, Ebtekar M, Pourfathollah AA, Mohammad Hassan Z, Farahmandian T, Mahmoudzadeh-Niknam H. Evaluation of the Effect of IL-22 on Human Cord Blood CD4+ T Cells. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2010; 9(2): 59-67.
- 174- Schaub B, Liu J, Höppler S, Schleich I, Huehn J, Olek S, *et al.* Maternal farm exposure modulates neonatal immune mechanisms through regulatory T cells. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123(4): 774-82. e5.
- 175- Hippen KL, Harker-Murray P, Porter SB, Merkel SC, Londer A, Taylor DK, *et al.* Umbilical cord blood regulatory T-cell expansion and functional effects of tumor necrosis factor receptor family members OX40 and 4-1BB expressed on artificial antigen-presenting cells. *Blood* 2008; 112(7): 2847-57.
- 176- Tolar J, Hippen KL, Blazar BR. Immune regulatory cells in umbilical cord blood: T regulatory cells and mesenchymal stromal cells. *Br J Haematol* 2009; 147(2): 200-6.
- 177- Godfrey WR, Spoden DJ, Ying GG, Baker SR, Liu B, Levine BL, *et al.* Cord blood CD4(+) CD25(+)-derived T regulatory cell lines express FoxP3 protein and manifest potent suppressor function. *Blood* 2005; 105(2): 750-8.
- 178- Kim YJ, Broxmeyer HE. Immune regulatory cells in umbilical cord blood and their potential roles in transplantation tolerance. *Crit Rev Oncol/Hematol* 2011; 79(2): 112-26.
- 179- Gaddy J, Broxmeyer HE. Cord Blood CD16+56- cells with low lytic activity are possible precursors of mature natural killer cells. *Cell Immunol* 1997; 180(2): 132-42.
- 180- Fan YY, Yang BY, Wu CY. Phenotypic and functional heterogeneity of natural killer cells from umbilical cord blood mononuclear cells. *Immunol Invest* 2008; 37(1): 79-96.
- 181- Dalle J, Menezes J, Wagner E, Blagdon M, Champagne J, Champagne M, *et al.* Characterization of

- cord blood natural killer cells: implications for transplantation and neonatal infections. *Pediatr Res* 2005; 57(5 Pt 1): 649-55.
- 182- Wang Y, Xu H, Zheng X, Wei H, Sun R, Tian Z. High expression of NKG2A/CD94 and low expression of granzyme B are associated with reduced cord blood NK cell activity. *Cell Mol Immunol* 2007; 4(5): 377-82.
- 183- Saghafi S, Pourfathollah AA, Kheirandish M, Azimdoost A, Behnia M, Shahjahani M, *et al.* Cytotoxicity of human cord blood natural killer cells is enhanced by recombinant interleukin-15. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2010; 9(2): 69-77.
- 184- Gluckman E, Rocha V. History of the clinical use of umbilical cord blood hematopoietic cells. *Cytotherapy* 2005; 7(3): 219-27.
- 185- Sorg RV, Kögler G, Wernet P. Identification of cord blood dendritic cells as an immature CD11c-population. *Blood* 1999; 93(7): 2302-7.
- 186- Borrás FE, Matthews NC, Lowdell MW, Navarrete CV. Identification of both myeloid CD11c+ and lymphoid CD11c- dendritic cell subsets in cord blood. *Br J Haematol* 2001; 113(4): 925-31.
- 187- Drohan L, Harding JJ, Holm B, Cordoba-Tongson E, Dekker CL, Holmes T, *et al.* Selective developmental defects of cord blood antigen-presenting cell subsets. *Human Immunol* 2004; 65(11): 1356-69.
- 188- Crespo I, Paiva A, Couceiro A, Pimentel P, Orfão A, Regateiro F. Immunophenotypic and functional characterization of cord blood dendritic cells. *Stem Cells Dev* 2004; 13(1): 63-70.
- 189- Naderi N, Pourfathollah AA, Alimoghaddam K, Moazzeni SM. Cord blood dendritic cells prevent the differentiation of naive T-helper cells towards Th1 irrespective of their subtype. *Clin Exp Med* 2009; 9(1): 29-36.
- 190- Naderi N, Moazzeni SM, Pourfathollah AA, Alimoghaddam K. High expression of Fas ligand on cord blood dendritic cells: a possible immunoregulatory mechanism after cord blood transplantation. *Transplant Proc* 2011; 43(10): 3913-9.
- 191- Giarratana MC, Kobari L, Lapillonne H, Chalmers D, Kiger L, Cynober T, *et al.* *Ex vivo* generation of fully mature human red blood cells from hematopoietic stem cells. *Nat Biotechnol* 2005; 23(1): 69-74.
- 192- Migliaccio AR, Whitsett C, Migliaccio G. Erythroid cells *in vitro*: from developmental biology to blood transfusion products. *Curr Opin Hematol* 2009; 16(4): 259-68.
- 193- Mattia G, Milazzo L, Vulcano F, Pascuccio M, Macioce G, Hassan HJ, *et al.* Long-term platelet production assessed in NOD/SCID mice injected with cord blood CD34+ cells, thrombopoietin-amplified in clinical grade serum-free culture. *Exp Hematol* 2008; 36(2): 244-52.
- 194- Barker J, Weisdorf D, Wagner J. Creation of a double chimera after the transplantation of umbilical-cord blood from two partially matched unrelated donors. *N Engl J Med* 2001; 344(24): 1870-1.
- 195- Magro E, Regidor C, Cabrera R, Sanjuán I, Forès R, Garcia-Marco JA, *et al.* Early hematopoietic recovery after single unit unrelated cord blood transplantation in adults supported by co-infusion of mobilized stem cells from a third party donor. *Haematologica* 2006; 91(5): 640-8.
- 196- Bautista G, Cabrera GR, Regidor C, Forés R, García-Marco GA, Ojeda E, *et al.* Cord blood transplants supported by co-infusion of mobilized hematopoietic stem cells from a third-party donor. *Bone Marrow Transplant* 2009; 43(5): 365-73.
- 197- Xiao M, Broxmeyer H, Horie M, Grigsby S, Lu L. Extensive proliferative capacity of single isolated CD34 human cord blood cells in suspension culture. *Blood Cells* 1993; 20(2-3): 455-66; discussion 466-7.
- 198- Saeland S, Caux C, Favre C, Duvert V, Pebusque M, Mannoni P. Combined and sequential effects of human IL-3 and GM-CSF on the proliferation of CD34+ hematopoietic cells from cord blood. *Blood* 1989; 73(5): 1195-201.
- 199- Koller MR, Bender J, Papoutsakis E, Miller W. Effects of synergistic cytokine combinations, low oxygen, and irradiated stroma on the expansion of human cord blood progenitors. *Blood* 1992; 80(2): 403-11.
- 200- Srour E, Brandt J, Briddell R, Grigsby S, Leemhuis T, Hoffman R. Long-term generation and expansion of human primitive hematopoietic progenitor cells *in vitro*. *Blood* 1993; 81(3): 661-9.
- 201- Mayani H, Dragowska W, Lansdorp PM. Cytokine-induced selective expansion and maturation of erythroid versus myeloid progenitors from purified cord blood precursor cells. *Blood* 1993; 81(12): 3252-8.
- 202- Brugger W, Mocklin W, Heimfeld S, Berenson RJ, Mertelsmann R, Kanz L. *Ex vivo* expansion of enriched peripheral blood CD34+ progenitor cells by stem cell factor, interleukin-1 beta (IL-1 beta), IL-6, IL-3, interferon-gamma, and erythropoietin. *Blood* 1993; 81(10): 2579-84.
- 203- Du X, Scott D, Yang Z, Cooper R, Xiao X, Williams D. Interleukin-11 stimulates multilineage progenitors, but not stem cells, in murine and human long-term marrow cultures. *Blood* 1995; 86(1): 128-34.
- 204- Koller MR, Oxender M, Brott DA, Palsson BØ. flt-3 ligand is more potent than c-kit ligand for the synergistic stimulation of *ex vivo* hematopoietic cell expansion. *J Hematother* 1996; 5(5): 449-59.
- 205- Khalili M, Alimoghaddam K, Soleimani M, Ghodsi P, Hayat P, Ghavamzadeh A, *et al.* Evaluation of the best condition for *ex vivo* expansion of hematopoietic stem cells for the propose of cord blood transplantation. *Yakhteh* 2006; 8(1): 39-44.
- 206- Ebtekar M, Shahrokhi S, Alimoghaddam K. Characteristics of cord blood stem cells: Role of substance P (SP) and calcitonin gene-related peptide (CGRP). *Stem Cells and Cancer Stem Cells* 2012; 2: 27-36.
- 207- Qiu L, Meagher R, Welhausen S, Heye M, Brown R, , Herzig RH. *Ex vivo* expansion of CD34+ umbilical cord blood cells in a defined serum-free medium (QBSF-60) with early effect cytokines. *J Hematother Stem Cell Res* 1999; 8(6): 609-18.
- 208- Alimoghaddam K, Khali M, Soleimani M, Moezi L, Ghavamzadeh A. Serum Free Fedia Is the Best for Cord Blood Hematopoietic Cells Expansion. *Molecular Therapy* 2005; 11: S405.
- 209- Liu CH, WU ML, Hwang S. Optimization of serum

- free medium for cord blood mesenchymal stem cells. *Biochem Eng J* 2007; 33(1): 1-9.
- 210- Chen G, Yue A, Ruan Z, Yin Y, Wang R, Ren Y, *et al.* Human Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cells Do Not Undergo Malignant Transformation during Long-Term Culturing in Serum-Free Medium. *PLoS One* 2014; 9(6): e98565.
- 211- Xue C, Kwek Kyc, Chan JKY, Chen Q, Lim M. The hollow fiber bioreactor as a stroma-supported, serum-free *ex vivo* expansion platform for human umbilical cord blood cells. *Biotechnol J* 2014; 9(7): 980-9.
- 212- Zhang J, Niu C, Ye L, Huang H, He X, Tong WG, *et al.* Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size. *Nature* 2003; 425(6960): 836-41.
- 213- Soleimani M, Mozdarani H, Pourfathollah AA, Mortazavi Y, Alimoghaddam K, Nikogoftar M, *et al.* A Co-culture System for Expansion of Nonenriched Cord Blood Stem/Progenitor Cells. *Biotechnology* 2005; 4(4): 310-5.
- 214- Soleimani M, Mozdarani H, Pourfathollah A, Mortazavi Y, Alimoghaddam K, Nikogoftar M, *et al.* Expansion of Non-Enriched Cord Blood Stem/Progenitor Cells CD34+ CD38-Using Liver Cells. *Iran Biomed J* 2005; 9(3): 111-6.
- 215- Mehrasa R, Vaziri H, Oodi A, Khorshidfar M, Nikogoftar M, Golpour M, *et al.* Mesenchymal Stem Cells as a Feeder Layer Can Prevent Apoptosis of Expanded Hematopoietic Stem Cells Derived from Cord Blood. *Int J Mol Cell Med* 2014; 3(1): 1-10.
- 216- Karanu FN, Murdoch B, Gallacher L, Wu DM, Koremoto M, Sakano S, *et al.* The notch ligand jagged-1 represents a novel growth factor of human hematopoietic stem cells. *J Exp Med* 2000; 192(9): 1365-72.
- 217- Van Den Berg DJ, Sharma AK, Bruno E, Hoffman R. Role of members of the Wnt gene family in human hematopoiesis. *Blood* 1998; 92(9): 3189-202.
- 218- Duncan AW, Rattis FM, DiMascio LN, Congdon KL, Pazianos G, Zhao C, *et al.* Integration of Notch and Wnt signaling in hematopoietic stem cell maintenance. *Nat Immunol* 2005; 6(3): 314-22.
- 219- Zhang CC, Kaba M, Ge G, Xie K, Tong W, Hug C, *et al.* Angiopoietin-like proteins stimulate *ex vivo* expansion of hematopoietic stem cells. *Nat Med* 2006; 12(2): 240-5.
- 220- Huang CH, Chen PM, Lu TC, Kung WM, Chiou TJ, Yang MH, *et al.* Purified Recombinant TAT-Homeobox B4 Expands CD34+ Umbilical Cord Blood and Peripheral Blood Progenitor Cells *Ex Vivo*. *Tissue Eng Part C Methods* 2009; 16(3): 487-96.
- 221- Nishino T, Miyaji K, Ishiwata N, Arai K, Yui M, Asai Y, *et al.* *Ex vivo* expansion of human hematopoietic stem cells by a small-molecule agonist of c-MPL. *Exp Hematol* 2009; 37(11): 1364-77. e4.
- 222- Sangeetha V, Kale VP, Limaye LS. Expansion of Cord Blood CD34+ Cells in Presence of zVADfmk and zLLYfmk Improved Their *In Vitro* Functionality and *In Vivo* Engraftment in NOD/SCID Mouse. *PLoS One* 2010; 5(8): e12221.
- 223- Reddy RK, Mao C, Baumeister P, Austin RC, Kaufman RJ, Lee AS. The endoplasmic reticulum chaperone protein GRP94 is required for maintaining hematopoietic stem cell interactions with the adult bone marrow niche. *PLoS One* 2011; 6(5): e20364.
- 224- Luo B, Lam BS, Lee SH, Wey S, Zhou H, Wang M, *et al.* The endoplasmic reticulum chaperone protein GRP94 is required for maintaining hematopoietic stem cell interactions with the adult bone marrow niche in primate transplant models. *Cell Stem Cell* 2011; 8(4): 445-58.
- 225- Boitano AE, Wang J, Romeo R, Bouchez LC, Parker AE, Sutton SE, *et al.* Aryl hydrocarbon receptor antagonists promote the expansion of human hematopoietic stem cells. *Science* 2010; 329(5997): 1345-8.
- 226- Hashemi Z, Moghadam F, Soleimani M, Hafizi M, Amirzadeh N. TGF- β downregulation by RNAi technique in *ex vivo*-expanded HSCs on 3D DBM scaffold. *Tehran University Medical Journal* 2012; 70(2): 86-95.
- 227- Ying QL, Nichols J, Chambers I, Smith A. BMP induction of Id proteins suppresses differentiation and sustains embryonic stem cell self-renewal in collaboration with STAT3. *Cell* 2003; 115: 281-92.
- 228- Xu RH, Chen X, Li DS, Li R, Addicks GC, Glennon C, *et al.* BMP4 initiates human embryonic stem cell differentiation to trophoblast. *Nat Biotechnol* 2002; 20(12): 1261-4.
- 229- Iwama A, Oguro H, Negishi M, Kato Y, Morita Y, Tsukui H, *et al.* Enhanced self-renewal of hematopoietic stem cells mediated by the polycomb gene product Bmi-1. *Immunity* 2004; 21: 843-51.
- 230- Peled T, Mandel J, Goudsmid R, Landor C, Hasson N, Harati D, *et al.* Pre-clinical development of cord blood derived progenitor cell graft expanded *ex vivo* with cytokines and the polyamine copper chelator tetraethylenepentamine. *Cytherapy* 2004; 6: 344-55.
- 231- Peled T, Nagler A, Treves AJ. Preferential expansion of cord blood early progenitors enabled by linear polyamine copper chelators. *Biol Blood Marrow Transplant* 2003; 9: 129-30.
- 232- Peled T, Landau E, Prus E, Treves AJ, Nagler A, Fibach E. Cellular copper content modulates differentiation and self-renewal in cultures of cord blood-derived CD34+ cells. *Br J Haematol* 2002; 116(3): 655-61.
- 233- Purton LE, Bernstein ID, Collins SJ. All-trans retinoic acid enhances the long-term repopulating activity of cultured hematopoietic stem cells. *Blood* 2000; 95(2): 470-7.
- 234- Hu Z, Negrotto S, Gu X, Mahfouz R, Ng KP, Ebrahim Q, *et al.* Decitabine maintains hematopoietic precursor self-renewal by preventing repression of stem cell genes by a differentiation-inducing stimulus. *Mol Cancer Ther* 2010; 9(6): 1536-43.
- 235- Seet LF, Teng E, Lai YS, Laning J, Kraus M, Wnendt S, *et al.* Valproic acid enhances the engraftability of human umbilical cord blood hematopoietic stem cells expanded under serum-free conditions. *Eur J Haematol* 2009; 82(2): 124-32.
- 236- Nishino T, Wang C, Mochizuki-Kashio M, Osawa M, Nakauchi H, Iwama A. *Ex vivo* expansion of human hematopoietic stem cells by garcinol, a potent inhibitor of histone acetyltransferase. *PLoS One* 2011; 6(9): e24298.

Review Article

Umbilical cord blood: stem cells and *ex vivo* expansion methods

Mohammadali F.¹, Atashi A.¹, Soleimani M.¹, Abroun S.¹, Pourfathollah A.A.^{3,2}, Kaviani S.¹, Ajami M.¹, Ajami M.¹

¹Department of Hematology and Blood Banking, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

²Department of Immunology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

³Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

Umbilical cord blood (UCB) is an accessible source of hematopoietic stem cells (HSCs). Along with the advantages, UCB also has limitations: the low volume and the absolute number of HSCs available in UCB leading to the delayed engraftment. Given the limitations, many investigators have sought to accelerate engraftment and increase the absolute number of stem cells in UCB units.

Materials and Methods

In the present study more than 200 published articles about UCB were reviewed. This review article is aimed to focus on the importance of using cord blood, the nature of stem cells in cord blood, and the *ex vivo* expansion techniques of UCB HSC.

Results

UCB HSCs possess higher proliferative potentials and contain a higher proportion of primitive compartment as compared to bone marrow and peripheral blood. Several studies have reported the presence of different cell populations besides HSCs in cord blood that enable the use of these sources in immunotherapy, tissue engineering, and regenerative medicine. Thus, the strategies to isolate and expand selected subpopulations from UCB and the use of these cells in treatment of various diseases are the areas of active research.

Conclusions

Umbilical cord blood is an attractive source in both research and modern clinical applications providing a potentially useful alternative for patients who do not have an HLA-matched bone marrow donor. Besides the safety and feasibility of UCB, the other areas including the acceleration of the engraftment, the extension of access, the quality assurance, and the outcomes in the specific subgroups of patients are also required to be investigated.

Key words: Umbilical Cord Blood, Stem Cells, Cord Blood Stem Cell Transplantation

Received: 24 Jun 2014

Accepted: 15 Feb 2015

Correspondence: Soleimani M., PhD of Hematology and Blood Bank. Associate Professor of Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University.

P.O.Box: 14115-111, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88011001; Fax: (+9821) 88013030

E-mail: soleim_m@modares.ac.ir

Correspondence: Pourfathollah AA., PhD of Immunology. Professor of Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University and Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine.

P.O.Box: 14115-111, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 8801101; Fax: (+9821) 88013030

E-mail: pourfa@modares.ac.ir