



## بررسی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از دیواره ورید ناف انسانی و تعیین روند تمایز آن به غضروف و استخوان

محمدعلی زارع<sup>۱</sup>، محمدرضا باغبان‌اسلامی نژاد<sup>۲</sup> و<sup>۳\*</sup>، احمد حسینی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> گروه بیولوژی و علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

<sup>۲</sup> پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌شناسی و فناوری سلول‌های بنیادی جهاد دانشگاهی، تهران

<sup>۳</sup> مرکز تحقیقات علوم سلولی، گروه سلول‌های بنیادی و زیست‌شناسی تکمیلی، تهران

<sup>۴</sup> مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

(دریافت مقاله: ۹۰/۱۲/۱۵- پذیرش مقاله: ۹۲/۵/۱)

### چکیده

**زمینه:** سلول‌های بنیادی مزانشیمی شامل پیش‌سازهای چندظرفیتی نادری هستند که قادر به تمایز به دودمان‌های استخوان‌ساز، چربی‌ساز، غضروف‌ساز می‌باشند. به دلیل این توانایی‌ها، به نظر می‌رسد که سلول‌های بنیادی مزانشیمی به ابزاری مورد توجه در چرخه مهندسی بافت و سلول درمانی تبدیل شده‌اند. هدف از این مطالعه استفاده از بند ناف به عنوان یک منبع در دسترس سلول‌های بنیادی مزانشیمی بوده است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تعداد ۳۵ نمونه از بافت بند ناف مربوط به نوزادان فول ترم و سالم مورد مطالعه قرار گرفت.

**یافته‌ها:** سلول‌های جدا شده ظاهر فیروپلاستی داشتند و پتانسیل تمایز به ۳ رده استخوان، چربی و غضروفی را نشان دادند. پروفایل مارکرهای سطحی اثبات کننده مزانشیمی بودن آنها بود.

**نتیجه‌گیری:** بر اساس یافته‌های کنونی سلول‌های بنیادی، مزانشیمی مشتق از دیواره ورید نافی قابل جدا کردن، کشت و تمایز به سه رده استخوان غضروف و چربی می‌باشند.

**واژگان کلیدی:** سلول‌های بنیادی مزانشیمی، بند ناف انسان، ورید نافی، تمایز

\* تهران، پژوهشکده زیست‌شناسی و فناوری سلول‌های بنیادی جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان

## مقدمه

سلول‌های بنیادی مزانشیمی به دلیل رشد کاربرد آنها در مهندسی بافت و همچنین توانایی آنها در تعدیل پاسخ‌های ایمنی به‌طور روز افزونی مورد توجه محققین می‌باشد (۵-۱).

سلول‌های بنیادی مزانشیمی در انسان به‌طور معمول از نمونه‌های مغز استخوان مشتق شده از ستیغ ایلیاک<sup>۱</sup> استخوان لگن و یا از استخوان‌های درشت نی<sup>۲</sup> و ران<sup>۳</sup> جدا می‌گردند (۶).

اشکال بزرگ وارده به مغز استخوان به‌عنوان منبع سلول‌های بنیادی مزانشیمی تهاجمی بودن آن در حین نمونه‌گیری، میزان بالای آلودگی ویروسی و همچنین کاهش قابل ملاحظه در تعداد و ظرفیت تکثیر و تمایز با پیشرفت سن می‌باشد (۵، ۷ و ۸).

بنابراین بررسی برای یافتن منبع جایگزین مناسب که حاوی سلول‌هایی با قدرت تمایز و تکثیر بیشتر و خطر آلودگی ویروسی کمتری باشد از اهمیت چشمگیری برخوردار می‌باشد (۵ و ۷).

جفت و بند ناف از منابعی است که دارای سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌باشند (۷ و ۹). در مقایسه با مغز استخوان این منابع به راحتی در دسترس است و جداسازی سلول بنیادی مزانشیمی از آنها راحت‌تر می‌باشد. مزیت دیگر استفاده از این منابع این است که میزان سلول‌های بنیادی مزانشیمی در این منابع فراوان‌تر از میزان آنها در مغز استخوان است (۱۰ و ۱۱).

عروق بند ناف از دو شریان و یک ورید تشکیل شده است که توسط یک بافت هم‌بند استرومائی یکنواخت سرشار از پروتئوگلیکان‌ها<sup>۴</sup> و موکوپلی ساکاریدها<sup>۵</sup>

احاطه شده‌اند (۱۲). عروق بند ناف و مزانشیم احاطه کننده آن که شامل بافت هم‌بند ماتریکس یا ژله وارتون می‌باشد از مزودرم خارج رویانی منشأ می‌گیرد، این بافت‌ها و همچنین سلول‌های زاینده بدوی<sup>۶</sup> از اپی‌بلاست پروگزیمال تمایز می‌یابند (۱۳).

هدف بررسی پیش رو علاوه بر جدا سازی سلول‌های بنیادی مزانشیمی از دیواره ورید ناف به‌عنوان منبعی در دسترس، ارزیابی سلول‌های به دست آمده از لحاظ شاخصه‌های تکثیری و توان تمایز به استخوان و غضروف بوده است.

## مواد و روش‌ها

## -جمع‌آوری نمونه‌ها

تعداد ۳۵ بند ناف را که مربوط به زایمان‌های full term و نوزادان نرمال و مادران فاقد بیماری خاص بودند، با اطلاع والدین از بیمارستان تهیه شد و تحت شرایط aseptic و در PBS حاوی پنی‌سیلین، استرپتومایسین، جنتامایسین و فونجیزون به آزمایشگاه منتقل و طی ۱۲-۶ ساعت فرایندآوری شدند (۱۸). با توجه به اینکه جفت و بند ناف از جمله ارگان‌های زائد می‌باشد و پس از زایمان دفع می‌گردند و در ضمن با اطلاع والدین و پس از بررسی در کمیته اخلاق دانشگاه از آنها استفاده گردید، از نظر ملاحظات اخلاقی با مشکلی مواجه نمی‌باشد.

## - جداسازی و کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی

## از دیواره ورید ناف

جهت جداسازی سلول‌های بنیادی مزانشیمی از ورید ناف در آزمایشگاه ورید ناف کانالیزه شده و توسط

<sup>1</sup> Iliac crest<sup>2</sup> Tibia<sup>3</sup> Femur<sup>4</sup> Proteoglycans<sup>5</sup> Mucopolysaccharide<sup>6</sup> primordial germ cells

سوم یا چهارم با استفاده از تکنیک فلوسایتومتری مورد بررسی قرار گرفت.

#### بررسی توان تکثیری سلول‌های بنیادی مزانشیمی

ارزیابی پتانسیل کلونی‌زایی: جهت ارزیابی کلونی‌ها در پاساژ سوم سلول‌ها را با تراکم  $10^5 \times 0.5$  در پلیت ۱۰ سانتیمتر کشت داده شد. تعویض محیط هر ۳ روز یکبار تا ۱۴ روز صورت گرفت. سپس برای بررسی کلونی‌ها، کشت‌ها با کریستال ویولت رنگ‌آمیزی شدند و نمونه‌ها از نظر تعداد کلونی و اندازه کلنی‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند.

#### محاسبه تعداد دو برابر شدگی جمعیتی (PDN)<sup>۷</sup> و

#### زمان دو برابر شدن جمعیت (PDT)<sup>۸</sup>:

تعداد دو برابر شدگی جمعیت برای سلول‌های پاساژهای سوم و چهارم بررسی شد. بدین ترتیب که سلول‌ها با تراکم  $10^3 \times 20$  سلول (NO) در هر چاهک پلیت شش چاهکی کشت شدند. هر سه روز یک بار محیط کشت تعویض شد و طی روزهای سوم ششم و نهم سلول‌ها جدا شده و شمارش شدند. (N) و بر اساس فرمول  $PDN = \log_2(N/NO)$  دو برابر شدن جمعیت سلولی محاسبه گردید. و با تقسیم زمان تقسیم بر دو برابر شدگی جمعیت زمان دو برابر شدن جمعیتی محاسبه گردید.

#### بررسی پتانسیل تمایزی سلول‌های بنیادی مزانشیمی

تمایز به استخوان: جهت القاء استخوان‌سازی سلول‌های پاساژ سوم را با غلظت  $10^3 \times 30$  سلول در محیط کشت DMEM حاوی ۱۵ درصد FBS در ۳ پلیت ۶ خانه کشت داده شدند، پس از اینکه کف پلیت را پر کردند (۸۰ درصد پیوستگی)، در ۲ خانه از

PBS محتوی ۱۰۰ واحد در میلی لیتر هپارین، دو مرتبه شسته شد. سپس ورید را با کلاژناز ۰/۱ درصد در محیط کشت M199 تکمیل شده با آنتی‌بیوتیک پر کرده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شد در مرحله بعد پس از ماساژ ملایم ورید آن را با PBS شستشو می‌دهیم. سوسپانسیون سلول‌های آندوتلیال و ساب آندوتلیال جمع شده و به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفیوژ  $600 \times g$  قرار می‌دهیم. در مرحله بعد نمونه را در DMEM تکمیل شده با ۱۰۰ واحد در میلی لیتر پنی‌سیلین، ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر استرپتومایسین و ۱۵ درصد FBS قرار داده و سپس سلول‌ها با تراکم  $10^6 \text{MNC/cm}^2 \times 1$  در فلاسک‌های ۷۵ محتوی DMEM کشت داده شدند و به‌عنوان پاساژ صفر محاسبه و سپس در دمای  $37^\circ\text{C}$  و ۵ درصد  $\text{CO}_2$  انکوبه گردید. بعد از سه روز با عوض کردن محیط کشت سلول‌های غیر چسبنده برداشته شدند. سلول‌های چسبیده در محیط کشت نگهداری شده و هر سه روز یک بار با محیط کشت تازه تغذیه شدند تا اینکه حدود دو هفته بعد کلونی‌های سلول‌های فیبروبلاستوئید ظاهر شدند. پس از آنکه سلول‌ها ۸۰-۷۰ درصد هم‌پوشانی کردند سلول‌ها را با استفاده از Trypsin/EDTA از کف فلاسک‌ها جدا شده و پس از شمارش به فلاسک‌های جدید منتقل شدند (۱۴).

#### بررسی ماهیت بنیادی مزانشیمی سلول‌های جدا شده

جهت اثبات بنیادی مزانشیمی بودن سلول‌های استخراج شده بر اساس مارکرهای سطحی آن‌ها از روش فلوسایتومتری استفاده شد. بدین‌منظور سلول‌های پاساژ

<sup>7</sup> Population Doubling Number

<sup>8</sup> Population Doubling Time

## یافته‌ها

### - کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از ورید نافی (شکل ۱)

در کشت‌های اولیه بیشتر سلول‌های قابل مشاهده دارای مورفولوژی سلول‌های آندوتلیال بودند، طی مدت ۱۰ روز سلول‌های آندوتلیالی شروع به از بین رفتن کردند و سلول‌های شبه فیروبلاستی جایگزین آن‌ها می‌شدند. پس از دو هفته با تشکیل کلونی جمعیت یکسانی از سلول‌های مزانشیمی تشکیل گردید.

پس از پاساژ سوم سلول‌ها کاملاً خالص شدند و کلونی‌های تشکیل شده نسبت به پاساژهای اولیه بزرگتر بوده و با سرعت به تکثیر خود ادامه دادند و تا پاساژ بیستم بدون تغییر در سرعت به تکثیر خود ادامه دادند. ولی زمانی که سلول‌ها دارای تراکم بالا می‌گردند، سرعت رشد آن‌ها کاسته شده و شکل سلول‌ها شروع به تغییر می‌کردند.

### - بررسی ماهیت بنیادی مزانشیمی سلول‌های جدا شده توسط فلوسایتومتری

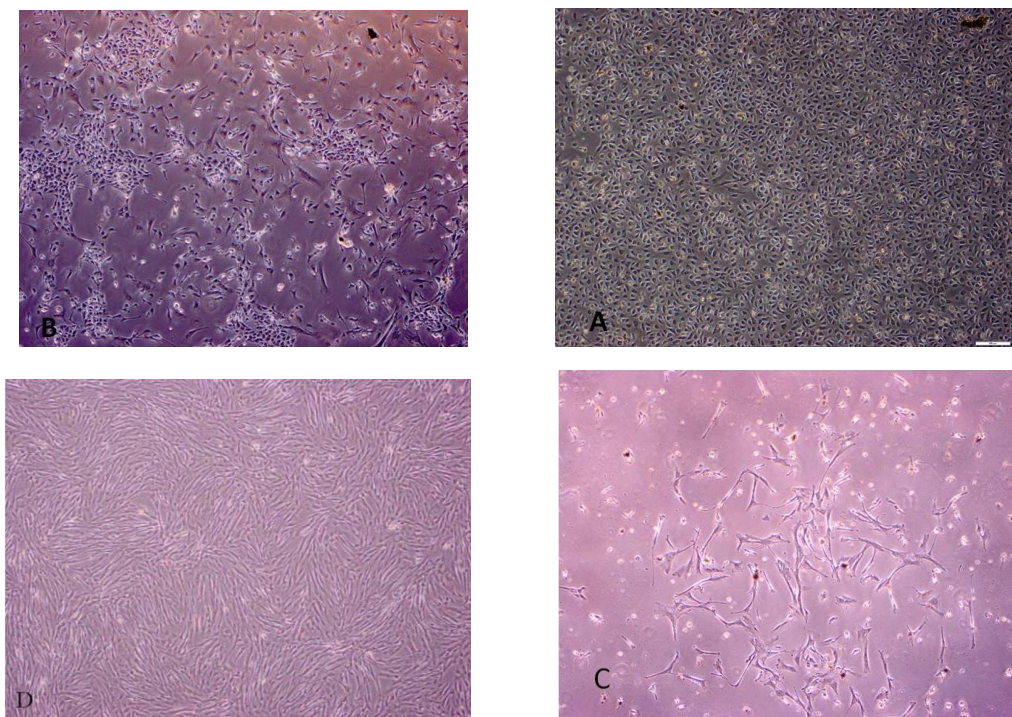
در بررسی فلوسایتومتری سلول‌های بنیادی مزانشیمی مارکرهای دودمان هماتوپویتیک (CD۴۵/۳۴) و مارکر سلول‌های انوتلیال (CD۳۱) را بیان نکردند و مارکرهای سلول‌های بنیادی مزانشیمی (CD۱۰۵-CD۷۳-CD۴۴-CD۲۹-CD۹۰) را بیان کردند (جدول ۱ و شکل ۲).

تمایز به استخوان و غضروف: برای تعیین تمایز به استخوان از رنگ‌آمیزی آلزارین رد و از رنگ‌آمیزی تولوئیدین بلو برای بررسی تمایز به غضروف استفاده گردیده است. تشکیل کریستال‌های رسوب کلسیم بیانگر تمایز به استخوان می‌باشد. و تشکیل غضروف هیالین نمایانگر تمایز به استخوان می‌باشد.

پلیت‌ها، محیط DMEM حاوی ۱۵ درصد FBS به‌عنوان کنترل و در خانه‌های دیگر، محیط کشت القاء کننده استخوان‌سازی حاوی ۰٫۱ میکرومولار دگزامتازون، ۱۰ میلی مولار بتاگلیسروفسفات، ۰٫۰۵ میلی مولار آسکوربات و ۱۰ درصد ریخته و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد CO<sub>2</sub> انکوبه شدند. محیط تمایز سلول‌ها هر ۲ روز یک بار تعویض و در پایان هفته سوم، تمایز سلول‌ها را با روش‌های بررسی بیان ژن‌ها به‌روش RT-PCR<sup>۹</sup> و تجمع کلسیم ارزیابی گردید.

تمایز به غضروف: به‌منظور تمایز به غضروف از روش Micromass culture استفاده شد. و ۲×۱۰<sup>۵</sup> سلول به یک لوله ۱۵ میلی‌لیتری منتقل شد. سلول‌ها تحت ۱۲۰۰RPM به مدت ۵ دقیقه سانتی‌فیوژ شدند. سپس محیط رویی تخلیه شده و محیط کندروژنیک حاوی ۵۰۰ نانو گرم در میلی‌لیتر bone morphogenetic protein-2 با گلوکز بالا غنی شده با ۱۰ نانوگرم در میلی‌لیتر transforming growth factor-β<sub>3</sub>، ۱۰-۷ مولار دگزامتازون، ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر آسکوربات دو فسفات، ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر پرولین، ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر پیرووات و ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر ITS+premix به پلیت اضافه شد و پس از سوسپانسیون با دور ۱۲۰۰RPM به مدت ۵ دقیقه سانتی‌فیوژ و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد CO<sub>2</sub> انکوبه گردید. محیط تمایز هر دو روز یک بار به مدت ۳ هفته تعویض شد. برای ارزیابی تمایز به غضروف از روش رنگ‌آمیزی اختصاصی تولوئیدین بلو و بررسی بیان ژن‌ها استفاده شد.

<sup>۹</sup> Polymerase Chain Reaction Reverse Transcriptio



شکل ۱) سلول‌های شبه بنیادی مزانشیمی جدا شده از لایه آندوتلیال و ساب آندوتلیال دیواره ورید نافی. A-B پاساژ اولیه در روزهای ششم و دهم. C پاساژ اول روز سوم و D پاساژ سوم در روز دهم

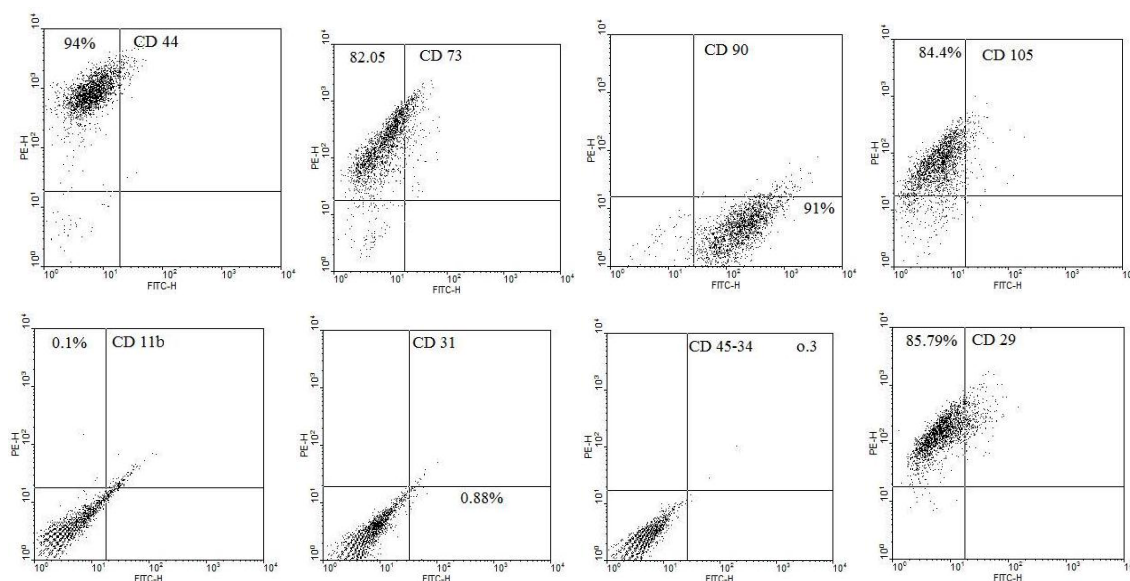
پس از جداسازی و تکثیر سلول‌های جدا شده از دیواره ورید نافی، در کشت‌های اولیه به‌طور عمده دو نوع سلول مشاهده گردید یک گروه ویژگی مورفولوژیک سلول‌های آندوتلیال داشت و گروه دوم ویژگی سلول‌های بنیادی مزانشیمی. سلول‌های نوع اول طی کشت با این روش به مرور پراکنده شده و از بین می‌روند و قابلیت تکثیر پیدا نخواهند کرد. در حالی که سلول‌های شبه بنیادی مزانشیمی به تکثیر خود ادامه داده و تشکیل کلونی می‌دهند.

جدول ۱) فلوسایتومتری بیان مارکرهای مزانشیمی

CD۱۰۵	CD۹۰	CD۷۳	CD۴۴	CD۲۹	CD۲۵/۳۴	CD۳۱	CD۱۱B	
+	+	+	+	+	-	-	-	UVMSCS

## بحث

یافته‌های بررسی کنونی نشان می‌دهد که سلول‌های شبه بنیادی مزانشیمی در لایه ساب آندوتلیال ورید نافی وجود داشته که با روش به‌کار برده شده در این تحقیق قابل جدا کردن، کشت و تکثیر می‌باشند.



شکل ۲) فلوسایتمتری ایمونوفنوتایپ سلول‌های بنیادی مزانشیمی ورید نافی را نشان می‌دهد.

مزانشیمی ایده‌ی پیش‌ساز و مزانشیمی بودن این سلول‌ها را تقویت می‌کند. و تمایز به سلول‌های استخوان‌ساز و غضروف‌ساز این ایده را تقویت می‌کند. هر چند روش کار در مطالعات گذشته با روش کار در مطالعه حاضر متفاوت بوده و بعضی از مارکرهای بیوشیمیایی استفاده شده در تحقیقات مختلف تا حدودی با هم متفاوت هستند ولی احتمالاً سلول‌های به‌دست آمده در تمام این تحقیقات یکی بوده‌اند. یافته‌های این بررسی بیانگر کاربرد مناسب سلول‌های جدا شده از دیواره ورید نافی در مهندسی بافت و ترمیم می‌باشند.

### سپاس و قدردانی

این طرح با همکاری و هزینه پژوهشگاه رویان انجام گردیده است.

نتایج حاصل از مطالعات مورفولوژیک و ایمونوفنوتیپیک سلول‌های شبه بنیادی مزانشیمی مشتق از بند ناف انسانی بیان کننده شباهت نزدیک این سلول‌ها با سلول‌های مزانشیمی استخراج شده از مغز استخوان و سایر منابع می‌باشد (۳، ۵، ۱۱، ۱۷-۱۵).

ویکدنشتاین (widenstein) و همکاران سلول‌هایی از دیواره ناف جدا کردند که از نظر مورفولوژی و ویژگی‌های ایمونوفنوتیپیک مشابه سلول‌های به‌دست آمده در این بررسی می‌باشد (۱۴).

وجود سلول‌هایی با مورفولوژی و ویژگی‌های ایمونوفنوتیپیک مشابه سلول‌های به‌دست آمده در این بررسی توسط مارتین (Martin) و همکاران و مانکا (Manca) و همکاران و وی (Wei) و همکاران و سانتوس (Santos) و همکاران نیز گزارش گردیده است (۲۱-۱۸).

نمای شبه فیروبلستی و بیان نشدن مارکرهای آندوتلیالی و هماتوپوئیتیک و بیان مارکرهای

## References:

1. Friedenstain AJ, Deriglasova UF, Kulagina NN, et al. Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method. *Exp Hematol* 1973; 2: p. 83-92.
2. Deans R.J, Moseley AB. Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses. *Exp Hematol*, 2000; 28: p. 875-84.
3. Minguell JJ, Conget P, Erices A. Biology and clinical utilization of mesenchymal progenitor cells. *Braz J Med Biol Res* 2000; 33: 881-7.
4. Filvaroff EH, Derynck R. Induction of myogenesis in mesenchymal cells by MyoD depends on their degree of differentiation. *Dev Biol* 1996; 178: 459-71.
5. 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: 105-10.
6. Digirolamo CM, Stokes D, Colter D, et al. Propagation and senescence of human marrow stromal cells in culture: a simple colony-forming assay identifies samples with the greatest potential to propagate and differentiate. *Br J Haematol* 1999; 107: 275-81.
7. Kadivar M, Khatami S, Mortezavi Y, et al. Multilineage Differentiation Activity by the Human Umbilical Vein-Derived Mesenchymal Stem Cell. *Iranian Biomedical Journal* 2006; 10: 175-184
8. Feldmann RE, Biback K, Maurer MH, et al. Stem cell proteomes: a profile of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord blood. *Electrophoresis* 2005; 26: 2749-58.
9. Fukuchi Y, Nakajima H, Sugiyama D, et al. Human placenta-derived cells have mesenchymal stem/progenitor cell potential. *Stem Cells* 2004; 22: 649-58.
10. Aust L, Devlin B, Foster SJ, et al., Yield of human adipose-derived adult stem cells from liposuction aspirates. *Cytotherapy* 2004; 6: 7-14.
11. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 2001; 7: 211-28.
12. Sobolewski K, Bankowski E, Chyczewski L, et al. Collagen and glycosaminoglycans of Wharton's jelly. *Biol Neonate* 1997; 71: 11-21.
13. Carlson BM, Placenta and extraembryonic membranes. In: Carlson BM, editor. *Human Embryology and Developmental Biology*. 3rd ed. Philadelphia: Mosby, 2004, 106-27.
14. Covas DT, Siufi JLC, Silva ARL, et al. Isolation and culture of umbilical vein mesenchymal stem cells. *Braz J Med Biol Res* 2003. 36: 1179-83.
15. Conget PA, Minguell JJ. Phenotypical and functional properties of human bone marrow mesenchymal progenitor cells. *J Cell Physiol* 1999; 181: 67-73.
16. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143-7.
17. Majumdar MK, Tjiede MA, Mosca JD, et al. Phenotypic and functional comparison of cultures of marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) and stromal cells. *J Cell Physiol* 1998; 176: 57-66.
18. Manca MF, Zwart I, Beo J, et al. Characterization of mesenchymal stromal cells derived from full-term umbilical cord blood. *Cytotherapy* 2008; 10: 54-68.
19. Martin-Rendon E, Sweeney D, Lu F, et al. 5-Azacytidine-treated human mesenchymal stem/progenitor cells derived from umbilical cord, cord blood and bone marrow do not generate cardiomyocytes in vitro at high frequencies. *Vox Sang* 2008; 95: 137-48.
20. Wei X, Peng G, Zheng S, et al. Differentiation of umbilical cord mesenchymal stem cells into steroidogenic cells in comparison to bone marrow mesenchymal stem cells. *Cell Prolif* 2012; 45: 101-10.
21. Santos TM, Percegon LS, Gonzalez P, et al. Expression of pancreatic endocrine markers by mesenchymal stem cells from human umbilical cord vein. *Transplant Proc* 2010; 42: 563-5.

*Original Article*

# Study of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord vein wall and determining the Process of differentiation to cartilage and bone

MA. Zare<sup>1</sup>, MR. Baghaban Eslaminejad<sup>2,3\*</sup>, A. Hosseini<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Department of biology and Anatomical Sciences, School of Medicin, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, IRAN

<sup>2</sup> Department of Stem Cell and Developmental Biology, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, IRAN

<sup>3</sup> Cellular Research Center, Department of Stem Cell, Tehran, IRAN

<sup>4</sup> Cellular and molecular Biology Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Teheran, IRAN

(Received 5 Mar, 2012 Accepted 23 Jul, 2013)

## *Abstract*

**Background:** Mesenchymal stem cells (MSCs) comprise a rare population of multipotent progenitors capable of supporting hematopoiesis and differentiating into three (osteogenic, adipogenic, and chondrogenic) or more (myogenic, cardiomyogenic, etc.) lineages. Due to this ability, MSCs appear to be an attractive tool in the context of tissue engineering and cell-based therapy. Currently, bone marrow represents the main source of MSCs for both experimental and clinical studies. The purpose of this study was isolation and quantitative comparison of mesenchymal stem cells derived from umbilical vein.

**Materials and Methods:** In this study, 35 samples of umbilical cord of healthy full-term newborn were studied.

**Results:** The cells had fibroblastoid like appearance and had revealed the potential to differentiate into three lineage of bone, Adipose and cartilage. Surface markers for mesenchymal nature were their demonstratives.

**Conclusion:** Based on our findings the mesenchymal stem cells, from umbilical vein wall can be isolated, cultured and differentiated into three categories of bone, cartilage and adipose.

**Key words:** Mesenchymal Stem Cells, Human Umbilical Cord, Umbilical Vein, differentiation

\*Address for correspondence: Stem Cell Department, Cell Sciences Research Center, Royan Institute, ACECR, Tehran, IRAN.  
E-mail: eslami@royaninstitute.org