

离心力对兔骨髓基质细胞成骨分化的影响*

徐南伟, 张煜, 周栋, 孙荣彬

Effect of centrifugal force on osteoblastic differentiation of bone marrow stroma cells *in vitro*

Xu Nan-wei, Zhang Yu, Zhou Dong, Sun Rong-bin

Department of
Orthopedics,
Changzhou Second
People's Hospital of
Nanjing Medical
University,
Changzhou
213003, Jiangsu
Province, China

Xu Nan-wei, Chief
physician, Associate
professor,
Department of
Orthopedics,
Changzhou Second
People's Hospital of
Nanjing Medical
University,
Changzhou
213003, Jiangsu
Province, China
xunanwei1963@
yahoo.com.cn

Supported by: the
"831 Project"
Scientific Research
Program of
Changzhou*

Received: 2009-07-15
Accepted: 2009-10-24

南京医科大学附
属常州市第二人
民医院骨科, 江苏
省常州市
213003

徐南伟, 男, 1963
年生, 江苏省常州
市人, 汉族, 1985
年苏州医学院毕
业, 主任医师, 副
教授, 主要从事脊
柱外科、计算机辅
助骨科及骨组织
工程方面的研究。
xunanwei1963@
yahoo.com.cn

中图分类号: R394.2
文献标识码: A
文章编号: 1673-8225
(2010)01-0028-05

收稿日期: 2009-07-15
修回日期: 2009-10-24
(20090715001/
ZS-A)

Abstract

BACKGROUND: Centrifugal force is a contributing factor inducing osteoblastic differentiation from bone marrow stroma cells.
OBJECTIVE: To explore whether centrifugal force promote osteoblastic differentiation from rabbit marrow stroma cell seeded on poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) scaffolds.
METHODS: Rabbit bone marrow stroma cells were isolated and cultured by whole bone marrow method, purified by attachment method, and digested by trypsin-EDTA at 80% confluency. The cell concentration was adjusted to $1 \times 10^9/L$. PLGA was cut into pieces, 5 mm \times 5 mm, soaked in serum-conditioned culture medium for 24 hours. The third passage of bone stroma cell suspension at a density of 300 μ L was respectively seeded into the PLGA material. The scaffold/cell compound was placed in centrifuge tube, with cell at the upper layer and cultured in osteoblastic induced medium containing ascorbic acid, β -sodium glycerophosphate, and dexamethasone respectively under centrifugal force every 12 hours (1 000 r/min for 30 minutes, relative centrifugal force 132 g) and static condition. Alkaline phosphatase activity, osteocalcin content and calcium content as well as observation by light microscopy were used to evaluate osteoblastic differentiation.
RESULTS AND CONCLUSION: After 16 days of *in vitro* culture, the scaffolds of centrifugal force group were coated by multi-layer cells and mineralized matrix, but only a thin layer of cells were observed on the scaffold of control group. The centrifugal force system resulted in a significant decrease in alkaline phosphatase activity at day 2 ($P < 0.05$) but significant increase at day 4 compared with the static culture condition ($P < 0.05$). During the whole culture time, osteocalcin secretion remained low in control group. At days 12 and 16, a significant enhancement in osteocalcin secretion was observed for centrifugal force culture compared with static culture conditions ($P < 0.05$). Moreover, after 16 days of culture a significant increase in calcium deposition was observed in the scaffolds subjected to centrifugal force compared with static culture condition ($P < 0.05$). Centrifugal force can enhance osteoblastic differentiation and mineralized matrix production of bone marrow stroma cell seeded in PLGA.

Xu NW, Zhang Y, Zhou D, Sun RB. Effect of centrifugal force on osteoblastic differentiation of bone marrow stroma cells *in vitro*. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(1): 28-32.
[http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 在骨髓基质细胞向成骨细胞分化过程中,离心力是一种促进因素。
目的: 探讨离心力是否能促进复合于聚羟基乙酸共聚物材料上的兔骨髓基质细胞向成骨方向分化。
方法: 全骨髓法分离培养兔骨髓基质细胞,贴壁法纯化,至细胞达 80%融合时胰酶-EDTA 消化传代,调整细胞浓度为 $1 \times 10^9 L^{-1}$ 。将聚羟基乙酸共聚物切割成 5 mm \times 5 mm 大小,预先浸泡入含血清培养基内 24 h,然后将第 3 代骨髓基质细胞悬液按 300 μ L/块密度接种于支架材料表面,将复合物置入离心管底,细胞滴加面朝上,加入含抗坏血酸、 β -甘油磷酸钠、地塞米松的成骨诱导培养基。设立 2 组:离心力刺激组每间隔 12 h 将离心培养管置于离心机上,按 1 000 r/min 离心 30 min,相对离心力 132 g;对照组培养管中细胞不作离心静态培养。通过光镜观察及检测碱性磷酸酶活性、骨钙素含量、组织钙含量,评估成骨细胞的分化水平。
结果与结论: 体外培养第 16 天,离心力刺激组支架表面被多层细胞和矿化基质所覆盖,而对照组仅支架表层见一薄层细胞。与对照组比较,离心力刺激组培养后第 2 天碱性磷酸酶活性明显降低($P < 0.05$),第 4 天碱性磷酸酶活性明显升高($P < 0.05$)。在整个培养期间对照组骨钙素质量浓度一直维持低水平,离心力刺激组第 12、16 天骨钙素质量浓度明显高于对照组($P < 0.05$)。培养 16 d 后离心力刺激组的钙质量浓度明显高于对照组($P < 0.05$)。提示离心力能促进接种于聚羟基乙酸共聚物的兔骨髓基质细胞成骨分化,并形成矿化产物。
关键词: 离心力;骨髓基质细胞;成骨分化;组织工程;兔
doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.01.007

徐南伟,张煜,周栋,孙荣彬.离心力对兔骨髓基质细胞成骨分化的影响[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(1):28-32.
[http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

随着组织工程学的深入发展, 力学环境对种子细胞的成活、分化及和支架材料的结合效能产生的影响被广泛研究。相对于普通的平板静力培养, 在不同力学刺激条件下, 生成的组织工程产物在体内外都将发挥不同的生物学作用^[1-2]。特别是在软骨组织工程方面, 各种生物反应器已经被使用到软骨组织工程产品的培育中^[3-7], 然而对于骨组织工程, 国内这方面的研究较少。

实验选择离心力为刺激条件, 观察力学环境对骨髓基质细胞诱导分化为成骨细胞的影响。

1 材料和方法

设计: 细胞学体外对照观察。

时间及地点: 于2008-03/09在南京医科大学附属常州市第二人民医院中心实验室完成。

材料: 新西兰白兔10只, 3周龄, 雌雄不拘, 由南京安立默公司提供, 动物质量合格证号: SCXK(苏)2005-0003, 实验过程中对动物的处置符合动物伦理学标准。

实验用试剂与仪器:

试剂与仪器	来源
L-DMEM 培养基、胰蛋白酶	Gibco
胎牛血清	BIOIND
青霉素、链霉素、地塞米松、抗坏血酸	Sigma
β -甘油磷酸钠	MERCK
碱性磷酸酶试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、钙含量测定试剂盒	南京建成生物制品公司
骨钙素酶联试剂盒	北京爱迪博
聚乳酸、聚羟基乙酸共聚物	济南岱罡生物
相差显微镜	olympus
酶标仪	Bio-Tek

实验方法:

兔骨髓基质细胞的分离与培养^[8]: 全部新西兰白兔空气栓塞法处死后, 获取双侧股骨、胫骨, 剔除软组织, 浸泡于体积分数为75%的乙醇内10 min, 无菌条件下切除两侧骨髓, 保留骨干部分, 注射器吸取含100 mg/L青霉素、100 mg/L链霉素的无血清DMEM培养液, 将骨干内骨髓组织完全冲出。反复吹打分散后离心弃上清, 重置细胞加入含体积分数为20%胎牛血清的L-DMEM培养基, 置入37 °C、体积分数为5%的CO₂饱和湿度培养箱中, 3 d后半量换液, 后隔天全量换液, 逐步去除红细胞及不贴壁的杂质细胞。倒置显微镜下观察, 见梭形骨髓基质细胞覆盖瓶底80%时, 用0.5 g/L胰酶+0.1 g/L

EDTA消化, 按1:3比例分瓶传代培养。最终制成浓度为 $1 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ 的细胞悬液。取传至第3代骨髓基质细胞进行诱导分化。

骨髓基质细胞和聚羟基乙酸共聚物支架的复合^[9-10]: 聚羟基乙酸共聚物厚度4 mm, 孔隙率 90%, 拉伸模数348~362 MPa, 切割成5 mm×5 mm大小, 经环氧乙烷消毒。支架材料预先浸泡入含血清培养基内24 h, 将骨髓基质细胞悬液按300 μL /块密度接种于支架材料表面。

成骨诱导分化体系: 向全培养基中加入50 mg/L抗坏血酸, 10^{-6} mol/L β -甘油磷酸钠, $1.0 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ 地塞米松制成诱导培养基。将骨髓基质细胞-聚羟基乙酸共聚物支架复合物小心置入离心管底, 细胞滴加面朝上, 将滤网置于组织块上方防止其漂浮移位。每支离心管内添加诱导培养基5 mL, 静置贴附24 h, 然后放入37 °C、体积分数为5%的CO₂饱和湿度培养箱中培养。

实验分组: 设立2组: 离心力刺激组每间隔12 h将离心培养管置于离心机上, 按1 000 r/min离心30 min, 相对离心力132 g; 对照组培养管中细胞不作离心静态培养。根据细胞生长情况适时换液, 按实验要求于不同时间段停止培养, 收集组织块, 观察细胞生长及生化指标的改变, 每组每时间段样本量为5管。

光镜观察: 分别于接种后第2, 4, 8, 16天, 在倒置相差显微镜下观察细胞形态变化及和支架材料的结合情况。

碱性磷酸酶活性的测定: 分别于第2, 4, 8, 12, 16天采集细胞-支架复合物, PBS冲洗2遍, 超声粉碎, 离心后以上清液为样品使用碱性磷酸酶试剂盒进行检测, 于405 nm测吸光度值, 计算出细胞在不同时间的碱性磷酸酶活性。蛋白染色法测定总蛋白含量。用碱性磷酸酶活性除去各自相应的总蛋白含量, 比较单位质量蛋白中碱性磷酸酶的活性。

骨钙素质量浓度的测定: 将培养第4, 8, 12, 16天的组织块取出, 终止培养, PBS冲洗2遍后, 粉碎细胞, 采用骨钙素ELISA法试剂盒进行测定。

组织钙质量浓度的测定: 将培养第4, 8, 12, 16天的组织块中细胞粉碎后制成匀浆, 采用OCPC法测定钙质量浓度, 测定波长575 nm。

主要观察指标: ①细胞形态及其与支架材料的结合情况。②碱性磷酸酶活性。③骨钙素质量浓度。④组织钙质量浓度。

设计、实施、评估者: 设计为第一、二作者, 实施与评估为第二、三、四作者, 均经过系统培训, 未使用盲法评估。

统计学分析: 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 由第一作者采用SPSS 12.0软件进行成组资料的两样本 t 检验分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 光镜观察

细胞接种24 h后:

相差显微镜下可见两组支架材料周围均有梭形细胞黏附, 并于2 d后开始增殖, 但离心力刺激组细胞较稀疏。

自培养第4天起:

离心力刺激组支架表面贴附细胞量明显增多, 形态仍以梭形为主, 并出现较多的三角形、多角形细胞。

培养第8天:

离心力刺激组材料周围细胞连接成片, 细胞分泌旺盛, 呈多角形“铺路石”外观。

对照组支架表面才出现多角形细胞, 数量较离心力刺激组少, 与支架结合较差。

培养第12天:

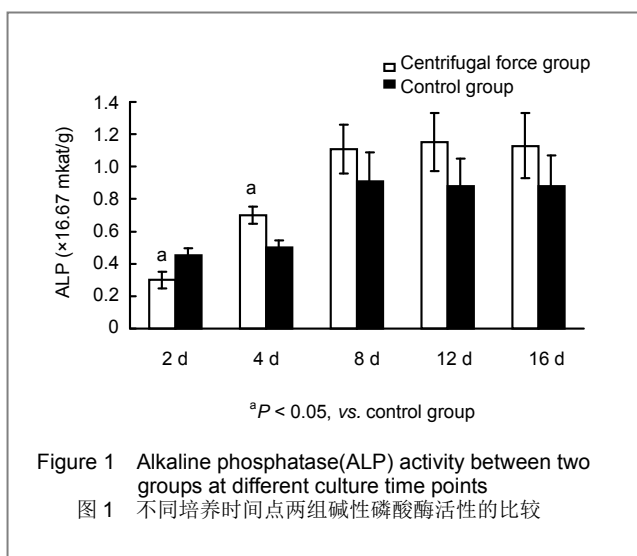
离心力刺激组细胞密度进一步增高, 细胞与材料界限模糊。

培养16天时:

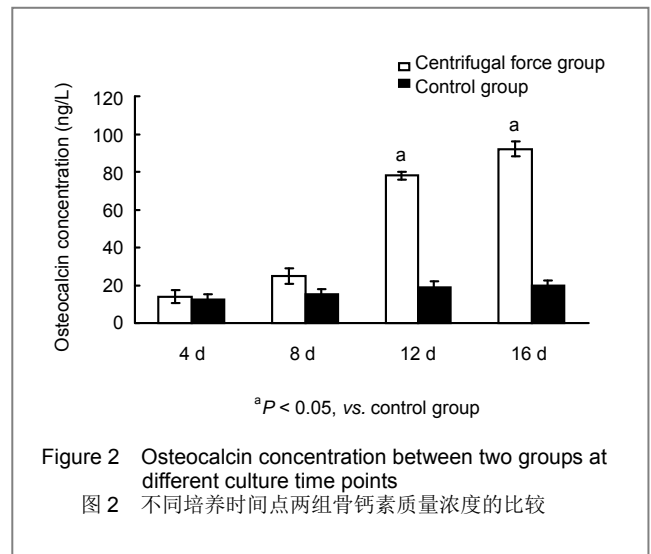
离心力刺激组支架上充满了矿物质, 这种无机基质深入到支架内部。

对照组支架表面有一层薄的细胞基质。

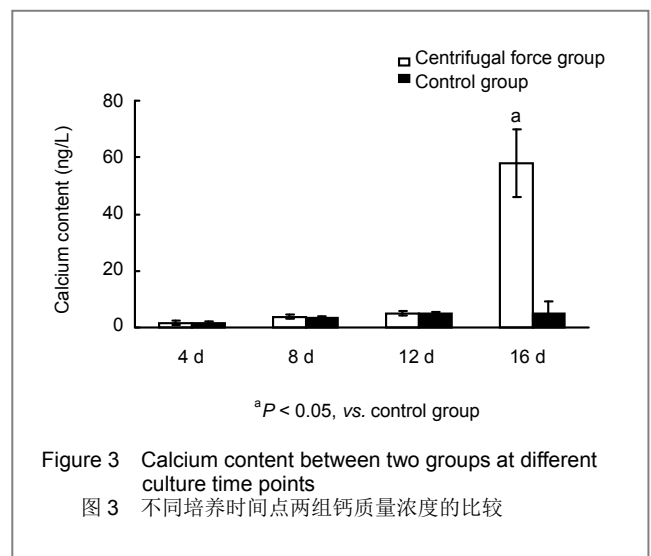
2.2 碱性磷酸酶活性 与对照组比较, 培养后第2天离心力刺激组碱性磷酸酶活性明显降低($P < 0.05$), 第4天时碱性磷酸酶活性明显升高($P < 0.05$), 第8, 12, 16天碱性磷酸酶活性无明显变化, 见图1。



2.3 骨钙素质量浓度 在整个培养期间, 对照组骨钙素质量浓度一直维持低水平; 而离心力刺激组自第8天起逐渐升高, 并且在第12, 16天明显高于对照组($P < 0.05$), 见图2。



2.4 组织钙质量浓度 在整个培养期间两组的钙沉积都很少, 但培养16 d后离心力刺激组的组织钙质量浓度明显高于对照组($P < 0.05$), 见图3。



3 讨论

力学刺激在促进骨组织生长、维持正常骨量, 加快骨折修复塑形等方面的重要作用早已被广泛报道^[11-13]。为了获得更加符合生理功能的组织工程骨, 模拟体内细胞所处的力学环境对培养体系施加力学干预一直是骨组织工程研究的前沿课题。

实验在骨髓基质细胞向成骨细胞诱导分化的过程中, 除使用常规诱导因子外, 还施加间歇性力学刺激, 以观察力学作用是否能促进骨髓基质细胞向成骨细胞表型分化, 并最终形成成熟的骨组织。

常用的力学刺激信号包括静水压力、张力等, 实验选择可控性较高的离心力进行检测。离心力首先引起黏

附在材料上的细胞发生拉伸形变, 是一种拉伸力。有实验表明这种拉伸力可刺激成骨细胞自分泌一些可弥散的有促生长活性的因子, 这些因子能促进单层培养的成骨细胞增生^[14], 其次在离心开始与结束的过程中液体与细胞-支架复合物相对移动, 产生流体剪切力。Smalt 等^[15]认为, 促使成骨细胞增殖的力学信号主要是通过液体流动产生的剪切力而不是机械张力。流体力学刺激能够明显增加培养的骨膜细胞增殖, 刺激细胞DNA合成^[16-19]。这种机械应力刺激过程中, 有多条信号传导通路参与, 如细胞外信号调节激酶通路^[20-23]、一氧化氮合酶途径、COX-前列腺素E₂^[24-26]通路。应力作用下骨细胞中迅速活化表达的黏附分子介导的细胞骨架途径也参与其中^[27]。

但是对于成骨细胞的祖细胞骨髓基质细胞, 离心力是否能起到促进分化作用一直研究不多。力学效应依赖于细胞的分化成熟程度, 如果细胞没有增殖分化的过程, 就不会对应力产生有效应答。因此, 与骨膜细胞、骨干内成骨细胞、骨细胞等成熟靶细胞相比, 选择具有多向分化能力的骨髓基质细胞对于力学信号更加敏感。

在静态培养环境下, 由于支架材料的空间因素, 使得只有位于支架周边的细胞能得到充足营养, 因此限制了材料中心地带的细胞分化和活性表达。在实验中发现, 对细胞-材料复合体施加离心力后, 支架内部细胞和边缘细胞形态一致, 这说明离心力消除了培养基的转运限制, 增加了营养和氧气供应, 同时便于带走代谢产物, 使得支架材料内部能更多的容纳细胞生长。除了这种内外营养平衡机制, 离心力自身也是一种成骨诱导因素。Lee等^[28]发现, 单纯使用离心力在无血清培养条件下就能增加骨髓基质细胞DNA合成。目前对于离心力的机械刺激信号如何转化为细胞分化生长的生物信号的具体机制还不清楚, 可能应力作用于细胞后, 能活化一个或多个激素或因子作用与骨细胞, 最终引起机械生物信号传导, 基因表达变化导致一系列化学物质产生, 如跨膜离子通道类, 细胞骨架成分、整合素和CD44受体, 后续使*c-fos*, *c-jun*和COX-2基因表达水平发生改变, CAMP增加, 促使NO分泌和PG表达, 此后IGF-I、I型胶原、OPN、OC的表达水平增加, 整个过程是由转录因子及一系列蛋白的磷酸化和去磷酸化转录活化特殊编码基因实现的^[29]。

碱性磷酸酶是成骨细胞分化早期的特异表型, 其作用在于水解对骨矿化有极强抑制作用的无机焦磷酸盐, 使其浓度下降, 从而使得骨矿化增强; 调节钙、磷等离子浓度, 增强骨钙化。实验中碱性磷酸酶活性在2 d时力学组还低于离心力刺激组, 提示离心力对于未完全黏附的细胞有一定伤害的, 有文献报道离心力小于320 g对细胞无害^[28], 但本组实验中130 g的离心力还是对细

胞产生了一过性损害。

碱性磷酸酶的改变趋势提示离心力对于MSC成骨分化的早期阶段是有积极意义的, 但是由于这种指标为非特异性, 因此一些反应成骨分化的后期指标的改变更让人信服。

骨钙素又称r-羧基谷氨酸蛋白, 是一种维生素K依赖酶修饰的骨非胶原蛋白, 在成骨细胞的分化成熟过程中均有表达^[30], 能在基质钙化后能明显上调表达, 促进钙与羟磷灰石结合及随后在骨基质的沉积, 因此是成熟成骨细胞合成的特异性蛋白。

基质矿化过程是成骨分化的最终标志, 通过测定组织的钙沉积数量可以了解基质矿化程度。实验中在静态培养的整个过程中, 骨钙素和钙含量均保持低水平, 在离心力干预下骨钙素在第8~16天呈逐渐升高趋势, 钙含量也呈同比上升关系。这提示离心力的作用改善促进了骨髓基质细胞的成骨分化, 并最终产生了具有生理意义的基质钙化。

总之, 在骨髓基质细胞成骨化诱导体系中, 间断施加离心力有助于成骨细胞的成熟和生物活性表达。但是施加离心力的大小、作用时间以及有关机制还有待于进一步分析。

4 参考文献

- [1] De Croos JN, Dhaliwal SS, Grynpas MD, et al. Cyclic compressive mechanical stimulation induces sequential catabolic and anabolic gene changes in chondrocytes resulting in increased extracellular matrix accumulation. *Matrix Biol.* 2006;25(6):323-331.
- [2] Schumann D, Kujat R, Nerlich M, et al. Mechanobiological conditioning of stem cells for cartilage tissue engineering. *Biomed Mater Eng.* 2006;16(4 Suppl):S37-52.
- [3] Haasper C, Zeichen J, Meister R, et al. Tissue engineering of osteochondral constructs in vitro using bioreactors. *Injury.* 2008;39 Suppl 1:S66-76.
- [4] Martin I, Wendt D, Heberer M. The role of bioreactors in tissue engineering. *Trends Biotechnol.* 2004; 22(2):80-86.
- [5] Chen X, Xu H, Wan C, et al. Bioreactor expansion of human adult bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells.* 2006; 24(9):2052-2059.
- [6] Chen HC, Hu YC. Bioreactors for tissue engineering. *Biotechnol Lett.* 2006; 28(18): 1415-1423.
- [7] Wang HC, Zhang ZY, Xin WG. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu.* 2007;11(14): 2609-2612.
王会才, 张震宇, 辛伟光. 微重力三维动态诱导骨髓间充质干细胞复合可注射型支架材料Pluronic F-127修复关节软骨缺损[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11(14): 2609-2612.
- [8] Liu SQ, Wei AL, Tao HY, et al. *Wuhan Daxue Xuebao.* 2003;(2): 189-191.
刘世清, 卫爱林, 陶海鹰, 等. 兔骨髓基质细胞的体外培养[J]. *武汉大学学报:医学版*, 2003,(2):189-191.
- [9] Yin XX, Chen ZQ, Guo ZQ, et al. *Zhongguo Xiufu Chongjian Waikexue.* 2004;(2):88-91.
殷晓雪, 陈仲强, 郭昭庆, 马庆军, 党耕町. 人骨髓间充质干细胞定向诱导分化为成骨细胞及其鉴定[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2004,(2): 88-91.
- [10] Zhao QP, Fan QY, Yu B. *Zhongguo Linchuang Kangfu.* 2005;9(46): 22-23.
赵勤鹏, 范清宇, 鱼兵. 兔骨髓基质细胞培养后与载体聚乳酸-聚乙醇酸复合的相容性[J]. *中国临床康复*, 2005, 9(46):22-23.
- [11] Turner CH. Bone strength : current concepts. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1068:429-446.
- [12] Maldonado S, Findeisen R, Allgower F. Describing force induced bone growth and adaptation by a mathematical model. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2008;8(1)15-17.
- [13] Sanuki R, Mitsui N, Suzuki N, et al. Effect of compressive force on the production of prostaglandin E(2) and its receptors in osteoblastic Saos - 2 cells. *Connect Tissue Res.* 2007;48(5): 246-253.

- [14] Lee DH, Park JC, Suh H. Effect of centrifugal force on cellular activity of osteoblastic MC3T3-E1 cells in vitro. *Yonsei Med J.* 2001;42(4):405-410.
- [15] Smalt R, Mitchell FT, Howard RL, et al. Induction of NO and prostaglandin E2 in osteoblasts by wall-shear stress but not mechanical strain. *Am J Physiol.* 1997; 273(4 Pt 1):E751-758.
- [16] Kurata K, Heino TJ, Higaki H, et al. Bone marrow cell differentiation induced by mechanically damaged osteocytes in 3D gel-embedded culture. *J Bone Miner Res.* 2006;21(4):616-625.
- [17] Thi M, Iacobas DA, Iacobas S, et al. Fluid shear stress up-regulates vascular endothelial growth factor gene expression in osteoblasts. *Ann NY Acad Sci.* 2007;1117(Issue Skeletal): 73-81.
- [18] Kanokwan CP, Rita S, Yang JP, et al. Nmp4 /CIZ contributes to fluid shear stress induced MMP-13 gene induction in osteoblasts. *J Cell Biochem.* 2007; 102(5):1202-1213.
- [19] Grimston SK, Brodt MD, Silva MJ, et al. Attenuated response to in vivo mechanical loading in mice with conditional osteoblast ablation of the connexin43 gene (Gja1). *J Bone Miner Res.* 2008; 23(6):879-886.
- [20] Broderick KE, Zhang T, Rangaswami H, et al. Guanosine 3', 5' 2 cyclic monophosphate (cGMP) / cGMP2dependent p protein kinase induce interleukin26 transcription in osteoblasts. *Mol Endocrinol.* 2007; 21(5): 1148-1162.
- [21] Mehrotra M, Saegusa M, Wadhwa S, et al. Fluid flow induces Rankl expression in primary murine calvarial osteoblasts. *J Cell Biochem.* 2006; 98(5):1271-1283.
- [22] Chi HK, Lidan Y, Clare E, et al. Oscillatory fluid flow induced shear stress decreases osteoclastogenesis through RANKL and OPG signaling. *Bone.* 2006; 39(5):1043-1047.
- [23] Triplett JW, O' Riley R, Tekulve K, et al. Mechanical loading by fluid shear stress enhances IGF21 receptor signaling in osteoblasts in a PKC zeta-dependent manner. *Mol Cell Biomech.* 2007; 4(1):13-25.
- [24] McGarry JG, Klein Nulend J, Prendergast PJ, et al. The effect of cytoskeletal disruption on pulsatile fluid flow-induced nitric oxide and prostaglandin E2 release in osteocytes and osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005; 330(1):341-348.
- [25] Meenal M, Masatomo S, Carol P, et al. Role of Cbfa1 /Runx2 in the fluid shear stress induction of COX2 in osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;341(4):1225-1230.
- [26] Meenal M, Masatomo S, Carol P, et al. Role of Cbfa1 /Runx2 in the fluid shear stress induction of COX2 in osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;341(4):1225-1230.
- [27] Myers KA, Rattner JB, Shrive NG, et al. Osteoblast-like cells and fluid flow: cytoskeleton-dependent shear sensitivity. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;364(2):214-219.
- [28] Lee DH, Park JC, Suh H. Effect of Centrifugal Force on Growth of Mouse Osteoblastic MC3T3-E1 Cells in vitro. *J Dent Res.* 1993; 72(9):1351-1355.
- [29] Rubin J, Rubin C, Jacobs CR. Molecular pathways mediating mechanical signaling in bone. *Gene.* 2006;367(1-2):1-16.
- [30] Stein GS, Lian JB. Molecular mechanisms mediating proliferation/differentiation interrelationships during progressive development of the osteoblast phenotype. *Endocr Rev.* 1993;14(4): 424-442.

来自本文课题的更多信息--

基金资助: 常州市“831 工程”培养对象科研项目。

课题的创新点: 周围环境应力的变化是促进成骨细胞有效生长分化的重要生理因素。在离心力作用下, 利于培养体系传输营养物质和氧气, 产生流动电势及细胞感受力学信号的分子媒介, 促进骨髓基质细胞向成骨细胞的定向分化。

课题评价的“金标准”: 根据文献报道, 目前成骨细胞的鉴定常用指标有: ①碱性磷酸酶是成骨细胞分化早期的特异表型。②骨钙素是成熟成骨细胞合成的特异性蛋白。③基质矿化过程是成骨分化的最终标志。因此实验采用了目前公用的上述几项检测标准。

课题的缺陷与不足: 通过贴壁法分离纯化骨髓基质细胞未进行表型鉴定, 有混入其他种类贴壁细胞的可能。

提供临床借鉴的价值: 实验通过改进细胞培养的力学条件, 促进骨髓基质细胞的成骨细胞方向分化, 有助于高效、稳定的构建组织工程骨, 对于临床上提高骨修复率、减少骨修复时间将是有益的尝试。

SCI 收录的干细胞期刊介绍: 本刊国际部

英文刊名: CLONING AND STEM CELLS

中文刊名: 克隆与干细胞

影响因子: 2.622

出版周期: 季刊

出版单位: Mary Ann Liebert, Inc

创刊时间: 1999 年

网站:

http://www.liebertpub.com/publication.aspx?pub_id=9

杂志简介:《克隆与干细胞》出版有关干细胞培养和分化, 以及生物学等方面的研究。期刊涉及从生殖细胞, 胚胎到成体各个阶段的干细胞的克隆研究。在哺乳动物细胞研究方面有比预期更好的验证。

收录数据库: MEDLINE; EMBASE/Excerpta Medica; Science Citation Index Expanded; BIOSIS Previews; Biotechnology Citation Index®; Biological Abstracts; Chemical Abstracts; EMBiology; Scopus; CAB Abstracts

CLONING AND STEM CELLS is a quarterly peer-reviewed journal that publishes original research papers, review papers, and short communications. Contributions are welcome in the fields of oocyte maturation, activation, fusion, cell cycle, gene expression, embryo culture, and embryo transfer as it relates to nuclear transfer; embryonic stem cells, primordial germ cells, and somatic cell lines, including their genetic modification (as it relates to nuclear transfer); and production of pharmaceutical proteins in milk by cloning, and tissue and organ therapy (xenotransplantation) using cloned animals and germ line gene therapy.

Published articles cover all aspects of cloning along with the biology, culture, and differentiation of stem cells from all stages of development from germ cell to embryo and adult.

The Journal will also publish LiteratureWatches, Web-Watches, Point/Counterpoints, News and Comments, including Meetings, and Book Reviews.