

# 胰岛素样生长因子 I 和碱性成纤维细胞生长因子对人类牙乳头间充质细胞增殖和分化的影响\*\*☆

谢家敏<sup>1</sup>, 田卫东<sup>2</sup>, 刘磊<sup>2</sup>

## Effect of insulin-like growth factor I and basic fibroblast growth factor on proliferation and differentiation of human dental papilla mesenchymal cells

Xie Jia-min<sup>1</sup>, Tian Wei-dong<sup>2</sup>, Liu Lei<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Dentistry, Taizhou People's Hospital, Taizhou 225300, Jiangsu Province, China; <sup>2</sup>West China College of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Xie Jia-min<sup>\*</sup>, Doctor, Associate chief physician, Department of Dentistry, Taizhou People's Hospital, Taizhou 225300, Jiangsu Province, China  
xie\_jiamin@126.com

Supported by: the Teaching and Research Award Program for Outstanding Young Teachers in Higher Education Institutions of Ministry of Education of China, No.2003682<sup>\*</sup>; the Special Program for Key Basic Research of the Ministry of Science and Technology of China, No.2002CCC00700<sup>\*</sup>

Received: 2009-07-03  
Accepted: 2009-11-19

### Abstract

**BACKGROUND:** Previous research has indicated that both insulin-like growth factor I (IGF-I) and basic fibroblast growth factor (bFGF) play an important role in cell proliferation and differentiation. However, the effect on biological characteristics of human dental papilla mesenchymal cells (hDPMCs) still remains unclear.

**OBJECTIVE:** To research the effect of IGF-I and bFGF on the proliferation and differentiation of hDPMCs.

**METHODS:** hDPMCs were isolated and cultured in DMEM/F12 culture media containing 1% or 10% fetal bovine serum. The fourth-passaged hDPMCs were incubated in culture media containing 0, 0.1, 1, 10 and 100 µg/L bFGF and 0, 25, 50, 75 and 100 µg/L IGF-I (0 µg/L as control group), respectively. At 96 hours after culture, proliferative activity was measured with MTT assay. The corresponding growth factor culture media were used in 10 µg/L bFGF group, 100 µg/L IGF-I group, bFGF + IGF-I group, and control group, respectively. At days 1, 3, 5, and 7 after culture, the proliferative activity was detected using MTT assay, and alkaline phosphatase (ALP) activity was measured using modified enzyme kinetics method.

**RESULTS AND CONCLUSION:** At the 0-100 µg/L mass concentration scope, both bFGF and IGF-I could accelerate proliferation of hDPMCs, and the proliferation ability of bFGF was superior to that of IGF-I; moreover, the combination of bFGF and IGF-I caused a synergetic action to proliferation of hDPMCs. The maximal valid concentration of bFGF was 10 µg/L, and the maximal action concentration of IGF-I was 100 µg/L. At 0-7 days, the effect of bFGF on the ALP activity of hDPMCs was not obvious, but the effect of IGF-I on ALP activity of hDPMCs became greater with the time passing; furthermore, the combination of bFGF and IGF-I could generate a synergetic action on increasing the ALP activity.

Xie JM, Tian WD, Liu L. Effect of insulin-like growth factor I and basic fibroblast growth factor on proliferation and differentiation of human dental papilla mesenchymal cells. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(1): 70-74.  
[http://www.crter.cn http://en.zgckf.com]

### 摘要

**背景:** 研究表明, 胰岛素样生长因子 I 和碱性成纤维细胞生长因子对细胞的增殖分化有重要作用, 但对人类牙乳头间充质细胞生物学特性有何影响尚不清楚。

**目的:** 观察胰岛素样生长因子 I 和碱性成纤维细胞生长因子对体外培养人类牙乳头间充质细胞增殖和分化能力的影响。

**方法:** 在建立人类牙乳头间充质细胞培养模型的基础上, ①分别用含体积分数为 1% 或 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基将两种生长因子配制不同的实验终浓度, 取第 4 代生长良好的人类牙乳头间充质细胞, 分别加入含 0, 0.1, 1, 10, 100 µg/L 碱性成纤维细胞生长因子和 0, 25, 50, 75, 100 µg/L 胰岛素样生长因子 I 的培养基(0 µg/L 作对照), 培养 96 h 后四甲基偶氮唑盐法测增殖活性。②设 10 µg/L 碱性成纤维细胞生长因子组、100 µg/L 胰岛素样生长因子 I 组、碱性成纤维细胞生长因子+胰岛素样生长因子 I 组和对照组。同上述方法每孔分别加含相应质量浓度生长因子的培养液, 分别在培养 1, 3, 5, 7 d 后, 四甲基偶氮唑盐法测细胞增殖活性, 改良酶动力学法测定细胞碱性磷酸酶活性。

**结果与结论:** 在 0~100 µg/L 质量浓度范围时, 两种生长因子对人类牙乳头间充质细胞增殖具有促进作用, 碱性成纤维细胞生长因子的促增殖作用比胰岛素样生长因子 I 大, 联合作用时有协同促增殖作用。碱性成纤维细胞生长因子的最大有效质量浓度为 10 µg/L, 胰岛素样生长因子 I 的最大作用质量浓度为 100 µg/L。在 0~7 d 时, 碱性成纤维细胞生长因子对人类牙乳头间充质细胞的碱性磷酸酶活性影响不明显, 随着时间的增加, 胰岛素样生长因子 I 对细胞碱性磷酸酶活性影响增加, 与碱性成纤维细胞生长因子联用时, 对增加碱性磷酸酶的活性有协同作用。

**关键词:** 人类牙乳头间充质细胞; 胰岛素样生长因子 I; 碱性成纤维细胞生长因子; 增殖分化; 碱性磷酸酶

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.01.015

谢家敏, 田卫东, 刘磊. 胰岛素样生长因子 I 和碱性成纤维细胞生长因子对人类牙乳头间充质细胞增殖和分化的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(1):70-74. [http://www.crter.org http://cn.zgckf.com]

<sup>1</sup> 泰州市人民医院口腔科, 江苏省泰州市 225300 ;  
<sup>2</sup> 四川大学华西口腔医学院, 四川省成都市 610041

谢家敏<sup>\*</sup>, 男, 1969年生, 四川省南充市人, 汉族, 2005年四川大学毕业, 博士, 副主任医师, 主要从事口腔医学的研究。  
xie\_jiamin@126.com

中图分类号: R394.2  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225 (2010)01-00070-05

收稿日期: 2009-07-03  
修回日期: 2009-11-19 (20090703001/WL-H)

## 0 引言

种子细胞的研究是组织工程牙研究的重要环节<sup>[1-3]</sup>, 人类牙乳头间充质细胞(human dental papilla mesenchymal cells, hDPMCs)是构建组织工程牙重要的种子细胞。而胰岛素样生长因子 I (insulin-like growth factor I, IGF- I) 和碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)对细胞的增殖分化有重要作用<sup>[4-7]</sup>, 但对人类牙乳头间充质细胞(human dental papilla mesenchymal cells, hDPMCs)生物学特性有何影响尚不清楚。本实验在建立hDPMCs培养模型的基础上, 观察不同浓度的IGF- I 和bFGF对hDPMCs的增殖及碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)活性的影响, 对hDPMCs的研究和组织工程牙的构建具有十分重要的意义。

## 1 材料和方法

**设计:** 随机分组设计, 对比观察。

**时间及地点:** 实验于2005-01/04在四川大学华西口腔医学院国家重点实验室完成。

**材料:** 在产妇知情同意的情况下, 经医院伦理委员会批准, 选择自然流产的3或4个月胎龄的人胚胎。

**主要试剂及仪器:**

试剂及仪器	来源
DMEM(低糖)/F12培养基、胰蛋白酶、胎牛血清、IGF- I 纤粘连蛋白、重组人胰岛素样生长因子 I、人碱性成纤维细胞生长因子2、MTT、考马斯亮蓝 G-250	美国GIBCO公司 美国Sigma公司
鼠抗人(广谱)细胞角蛋白多克隆抗体、鼠抗人波形丝蛋白单克隆抗体和 LsAB免疫组织化学检测试剂盒	武汉博士德公司
二甲基亚砷	上海东风试剂厂
HTS700PLUS多孔板高效分析仪	美国, PE公司
碱性磷酸酶检测试剂盒	BGH公司, 中国台湾
Triton-100	华美生物工程公司
超净工作台	苏州净化仪器 设备厂
CO <sub>2</sub> 细胞培养箱	FORMA
倒置相差显微镜	OLYMPUS
体视解剖显微镜及照相系统	重庆光学仪器厂
解剖器械、培养瓶、细胞计数板	武汉博士德公司

## 实验过程:

**hDPMCs的体外培养和鉴定:** 选择自然流产的3或4个月胎龄的人胚胎, 口腔黏膜消毒, 切取上、下颌标本, Hank' s液冲洗3次, 无菌条件下分离上、下颌磨牙牙胚, 置入pH 7.2的PBS中。PBS冲洗3次后5 g/L的胰蛋白酶4 ℃消化10 min。体视显微镜下, 在含血清的培养基中将牙乳头与成釉器分离。将分离的牙乳头行组织块法培养, 培养液为含 $1 \times 10^6$  U/L的白血病抑制因子、体积分数为10%胎牛血清的DMEM/F12(1: 1), 每3 d换液1次, 待细胞停止游出时, 去除组织块。当原代细胞长满瓶底面积90%时, 用消化贴壁法传代并纯化细胞。取第4代细胞做细胞爬片, 用细胞角蛋白和波形丝蛋白的免疫细胞化学染色鉴定细胞来源。

**不同质量浓度bFGF和IGF- I单独作用对hDPMCs增殖的影响:** 分别用含体积分数为1%, 10%胎牛血清的DMEM/F12培养基将2种生长因子配制成不同的实验终浓度, IGF- I的终质量浓度分别为0, 25, 50, 75, 100 μg/L, bFGF的终质量浓度为0, 0.1, 1, 10, 100 μg/L。取第4代生长良好的hDPMCs, 0.25%胰酶消化后, 以 $3 \times 10^7$  L<sup>-1</sup>的细胞浓度接种于96孔培养板, 100 μL/孔培养24 h, 弃培养液, 分别加入含不同质量浓度生长因子的培养基200 μL/孔, 继续培养96 h, 对照组加不含生长因子、体积分数为1%或10%胎牛血清的DMEM/F12培养基200 μL, 培养96 h后, 采用MTT法用全自动酶联免疫检测仪在490 nm波长处测定其吸光度A值, 观察细胞增殖活性。

**bFGF或IGF- I不同时间对hDPMCs增殖效应的影响:** 设bFGF组、IGF- I组、bFGF+IGF- I组和对照组。bFGF和IGF- I均由含体积分数为1%胎牛血清的DMEM/F12培养基配制, bFGF终质量浓度为10 μg/L、IGF- I为100 μg/L, 同上述方法每孔分别加含相应质量浓度生长因子的培养液, 分别在培养1, 3, 5, 7 d后, 采用MTT法用全自动酶联免疫检测仪在490 nm波长处测定其吸光度A值, 观察细胞增殖活性。

**bFGF和IGF- I对hDPMCs碱性磷酸酶活性的影响:** 两种生长因子均由体积分数为1%胎牛血清的DMEM/F12培养基配制, 分为10 μg/L bFGF组、100 μg/L IGF- I组、10 μg/L bFGF+100 μg/L IGF- I组和对照组。按上述方法分别在培养的hDPMCs中加入分组因子进行分别干预, 在培养1, 3, 5, 7 d后, 用改良酶动力学法测定细胞碱性磷酸酶活性<sup>[8-9]</sup>。

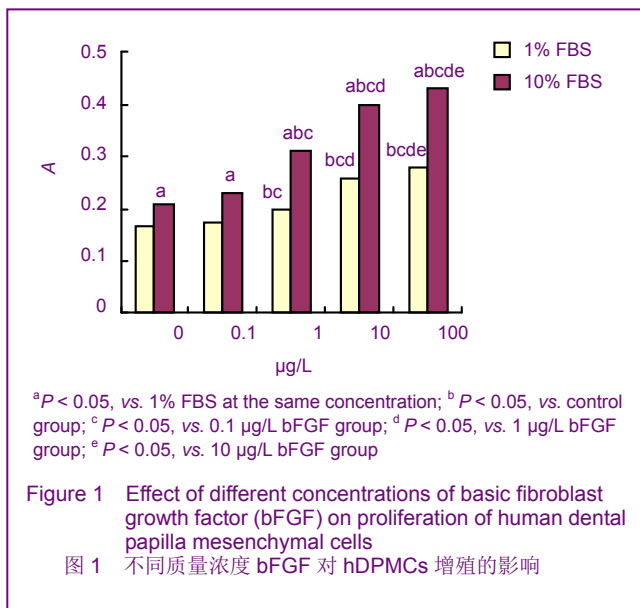
**主要观察指标:** 不同质量浓度bFGF和IGF- I 单独作用对hDPMCs增殖的影响; bFGF、IGF- I 及其联合应用不同时间对hDPMCs增殖及碱性磷酸酶活性的影响。

**设计、实施、评估者:** 实验设计、干预实施为第一作者, 评估为第二作者。实验者和检测者均接受过正规培训, 采用盲法评估。

**统计学分析:** 由第一作者采用SPSS 10.0软件完成统计处理,  $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

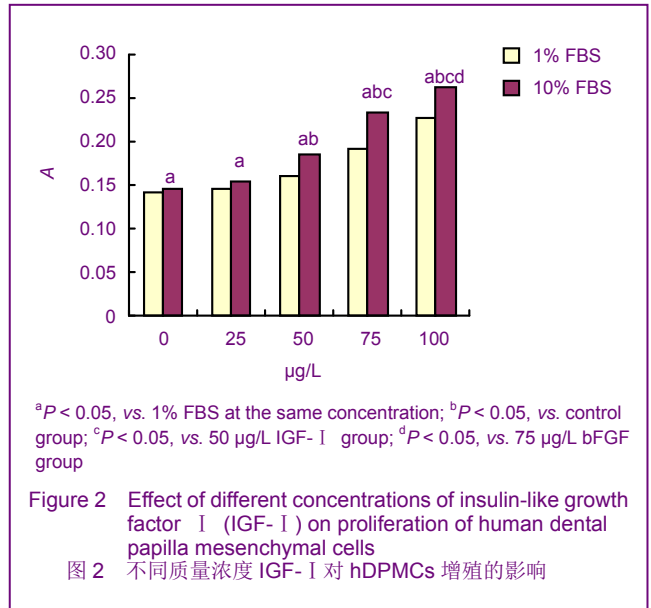
## 2 结果

**2.1 不同质量浓度bFGF和IGF- I 对hDPMCs增殖的影响** 在含体积分数为1%或10%胎牛血清条件下, bFGF的促增殖作用随质量浓度的增加而增强, 1, 10, 100  $\mu\text{g/L}$  bFGF对hDPMCs的促增殖作用与对照组相比, 差异有显著性意义( $P < 0.05$ ); 而0.1  $\mu\text{g/L}$  bFGF组与对照组相比, 差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。0.1, 1, 10, 100  $\mu\text{g/L}$  bFGF组两两比较, 差异有显著性意义( $P < 0.05$ ); 而10  $\mu\text{g/L}$  bFGF和100  $\mu\text{g/L}$  bFGF两组间相比, 差异无显著性意义( $P > 0.05$ ), 提示在0~100  $\mu\text{g/L}$ 范围内, bFGF促hDPMCs增殖的有效质量浓度范围可能为1~10  $\mu\text{g/L}$ , 最大效应质量浓度为10  $\mu\text{g/L}$ , 见图1。

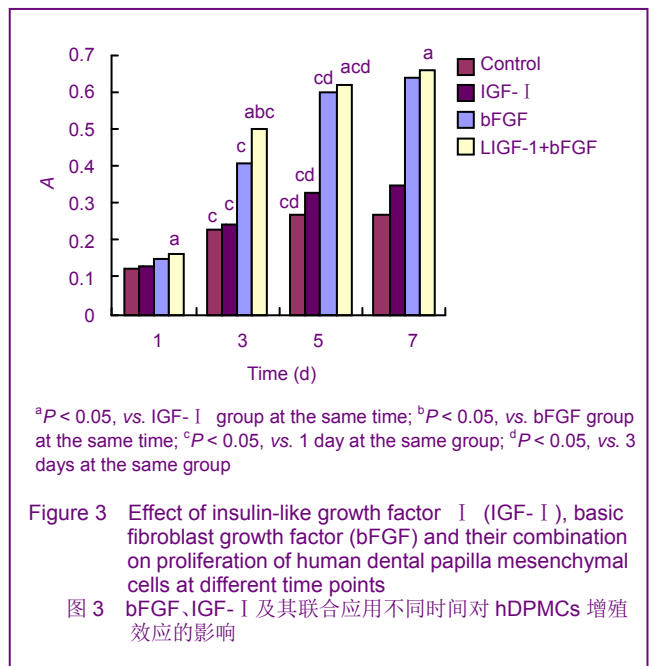


在含体积分数为1%或10%胎牛血清条件下, IGF- I 对hDPMCs的促增殖作用随浓度的增加而增强, 50, 75, 100  $\mu\text{g/L}$  IGF- I 组对hDPMCs的促增殖作用两两相比及与对照组相比, 差异有显著性意义( $P < 0.05$ ); 25  $\mu\text{g/L}$  IGF- I 组与对照组相比, 差异无显著性意义( $P > 0.05$ ), 提示在0~100  $\mu\text{g/L}$ 范围内, IGF- I 有效浓度范围可能为50~100  $\mu\text{g/L}$ , 其最大效应质量浓度为100  $\mu\text{g/L}$ 。实验结果还显示胎牛血清对hDPMCs生长有一定影响, 在bFGF和IGF- I 组中, 体积分数为10%胎牛血清的A

值均高于体积分数为1%胎牛血清组, 差异有显著性意义( $P < 0.05$ ), 说明两种生长因子在体积分数为10%胎牛血清条件下可能更能促进hDPMCs的生长增殖, 见图2。

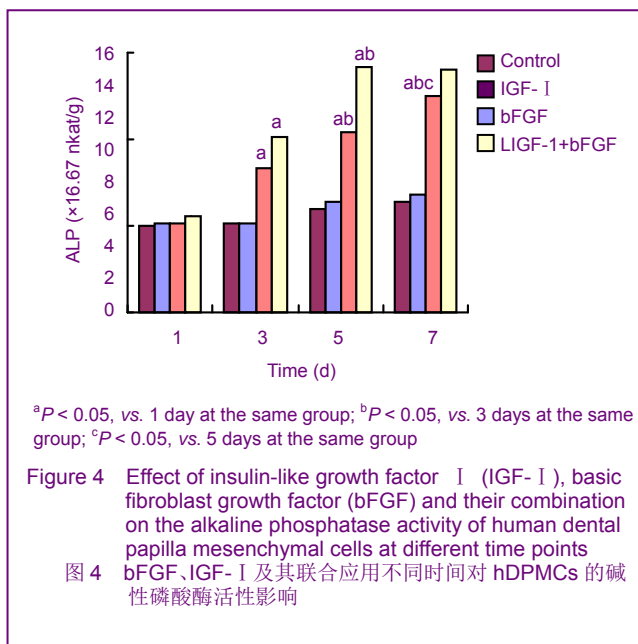


**2.2 两种因子单独或联合作用不同时间对hDPMCs增殖效应的影响** 10  $\mu\text{g/L}$  bFGF和100  $\mu\text{g/L}$  IGF- I 单独或联合作用, 均有促细胞增殖作用, 10  $\mu\text{g/L}$  bFGF和100  $\mu\text{g/L}$  IGF- I 联合作用时促增殖作用最强, IGF- I 作用最弱, 两者相比差异有显著性意义( $P < 0.05$ ); 但bFGF+IGF- I 组与bFGF组相比, 除3 d外, 其余各时间点差异均无显著性意义( $P > 0.05$ )。作用1 d时增殖效应不显著, 随着培养时间的延长, 效应逐渐增大, 作用5 d时效应最强, 5 d和7 d相比, 差异无显著性意义( $P > 0.05$ ); 各组作用1, 3, 5 d时两两比较, 差异有显著性意义( $P < 0.05$ ), 见图3。





**2.3 两种因子单独或联合作用不同时间对hDPMCs的碱性磷酸酶活性影响** 10  $\mu\text{g/L}$  bFGF和100  $\mu\text{g/L}$  IGF- I单独或联合作用, 都能增加hDPMCs的碱性磷酸酶活性, 10  $\mu\text{g/L}$  bFGF+100  $\mu\text{g/L}$  IGF- I组碱性磷酸酶增加效应最显著, IGF-I次之。bFGF作用不明显, 对碱性磷酸酶活性的影响与对照组相比, 差异无显著性意义 ( $P > 0.05$ )。0~7 d范围内, 各组随着培养时间的延长, 碱性磷酸酶活性逐渐增加, 作用第1天效应不明显, 以后随着时间的延长, 10  $\mu\text{g/L}$  bFGF+100  $\mu\text{g/L}$  IGF- I组和IGF- I组均明显促进碱性磷酸酶活性的增加, IGF- I组碱性磷酸酶活性7 d达最大, 1, 3, 5, 7 d的碱性磷酸酶活性两两比较, 差异有显著性意义 ( $P < 0.05$ )。bFGF+IGF- I组碱性磷酸酶活性5 d达最大, 1, 3, 5 d的碱性磷酸酶活性两两相比, 差异有显著性意义 ( $P < 0.05$ )。7 d时碱性磷酸酶不再增加, 与5 d的碱性磷酸酶活性相比, 差异无显著性意义 ( $P > 0.05$ ), 见图4。



### 3 讨论

多肽生长因子是一组能够调节细胞生长分化的有效生物递质, 对细胞的增生、迁移和代谢等有重要作用<sup>[10-12]</sup>。在牙齿的生长发育及形成过程中, 多种生长因子相互作用构成生长因子功能性网络<sup>[13-15]</sup>, 形成细胞生存、增殖和分化的微环境, 以调控细胞的各种功能活动。其中bFGF和IGF- I对细胞的增殖和分化作用近年来受到广泛关注<sup>[16-18]</sup>。bFGF是一种能促进细胞有丝分裂、血管形成、神经营养及创伤愈合等多重生物学效应的生长因子, 特别是对中胚层和神经外胚层来源的细胞有丝分裂和形态发生有重要作用, 需分泌到细胞外通过与靶细胞上的受体结合而发挥作用<sup>[19-20]</sup>。IGF- I被发现

在有丝分裂、细胞转化和抗凋亡方面有十分重要作用, 近年来引起广泛关注<sup>[21-22]</sup>。

有研究表明3~7  $\mu\text{g/L}$  bFGF对骨髓间充质干细胞有显著的促增殖作用, 而且其质量浓度影响着干细胞的集落形成率和大小<sup>[23-24]</sup>。Shiba等<sup>[25]</sup>在研究不同生长因子对体外培养人牙髓细胞的作用时, 发现bFGF能促进牙髓细胞增殖和DNA合成, 其作用呈剂量依赖性。也有研究发现, 0~100  $\mu\text{g/L}$  bFGF对胎鼠下颌突外胚间充质细胞有促增殖作用, 10  $\mu\text{g/L}$ 时作用最显著<sup>[26]</sup>。本组通过MTT法检测IGF- I和bFGF对hDPMCs增殖活力影响的结果显示: bFGF单独作用时对hDPMCs促增殖效应具有剂量和时间依赖性, 10  $\mu\text{g/L}$ 即可达最大效应; 随着培养时间的延长, 效应逐渐增强, 在加入生长因子第3~5天时效应最显著。而IGF- I单独作用于hDPMCs时, 促增殖效应与质量浓度呈正相关, 随质量浓度的增加而增强, 其质量浓度为100  $\mu\text{g/L}$ 时, 促增殖作用达最大; 随培养时间延长, 效应增强, 在3~5 d增殖效应最显著, 与bFGF类似。以上结果表明: 生长因子对细胞的作用效应不仅与生长因子的种类、浓度有关, 也与细胞类型、作用时相有关。其原因可能与效应细胞膜上相应的受体数量相关, 当生长因子与其相应受体结合达到饱和后, 即使浓度再增大也不能增加其作用<sup>[27]</sup>; 另外也可能与不同细胞、细胞的不同生长状态、细胞分泌生长因子的效能有关, 当生长因子的浓度达到一定剂量后, 细胞增殖加快, 密度增大, 细胞自分泌和旁分泌作用增强, 外源性生长因子的效应不能被显现<sup>[28]</sup>, 所以选择适宜浓度的生长因子对细胞体外扩增有十分重要的意义。

本实验中两种生长因子联合作用时, 结果显示其增殖效率大于其他各组, 说明联合应用IGF- I和bFGF对细胞增殖可能产生协同作用, 在第5, 7天时, 两种因子联用与bFGF单独作用相比, 差异无显著性意义 ( $P > 0.05$ ), 这可能是生长因子联合使用时, 其促细胞增殖作用增强, 随着时间的延长, 细胞密度增加, 细胞分泌生长因子增多, 从而抑制了外源性生长因子的作用。

碱性磷酸酶在矿化组织形成中起着非常重要的作用, 碱性磷酸酶活性增高被认为是成牙本质前体细胞分化和生物矿化的重要前提条件之一, 与细胞分化状态密切相关。分化程度越高, 分泌矿化基质的能力越强, 碱性磷酸酶活性则越高, 研究显示, 成牙本质细胞和成牙本质前体细胞碱性磷酸酶活性均比未分化的间充质细胞高<sup>[29]</sup>。本组结果表明, IGF- I单独或与bFGF联合作用均能显著提高hDPMCs的碱性磷酸酶活性, 联合应用时碱性磷酸酶增加效应最显著, 以两种因子联合作用7 d时的碱性磷酸酶活性最大, IGF- I次之, bFGF随浓度增大, 碱性磷酸酶活性有一定程度升高, 但无显著性差异, 说明IGF- I单独作用能促进hDPMCs分化, 与bFGF联合作用则对细胞分化产生协同作用。结果显示对碱性

磷酸酶的影响具有时间依赖性, 说明随着作用时间的延长, 发生分化的细胞数量可能更多, 分化程度更高。

综上所述, bFGF 单独作用能明显促进 hDPMCs 的增殖, IGF- I 对细胞增殖作用较弱, 但与 bFGF 联用, 对细胞增殖有协同作用; IGF- I 能明显增加 hDPMCs 的碱性磷酸酶活性, bFGF 对碱性磷酸酶的活性影响不明显, 但与 IGF- I 联用, 对增加细胞的碱性磷酸酶活性有协同作用。结果表明这两种生长因子均对 hDPMCs 的增殖和分化具有重要作用, 这对探讨影响 hDPMCs 增殖和分化的因素提供参考依据, 对进一步揭示 hDPMCs 向成牙本质细胞分化成熟的基质提供理论参考。

#### 4 参考文献

- [1] Caviedes-Bucheli J, Canales-Sánchez P, Castrillón-Sarria N, et al. Expression of insulin-like growth factor-1 and proliferating cell nuclear antigen in human pulp cells of teeth with complete and incomplete root development. *Int Endod J.* 2009;42(8):686-693.
- [2] Weber TE, Ziemer CJ, Kerr BJ. Effects of adding fibrous feedstuffs to the diet of young pigs on growth performance, intestinal cytokines, and circulating acute-phase proteins. *J Anim Sci.* 2008;86(4):871-881.
- [3] Cooke RF, Arthington JD, Staples CR, et al. Effects of supplement type on performance, reproductive, and physiological responses of Brahman-crossbred females. *J Anim Sci.* 2007;85(10):2564-2574.
- [4] Caviedes-Bucheli J, Angel-Londoño P, Diaz-Perez A, et al. Variation in the expression of insulin-like growth factor-1 in human pulp tissue according to the root-development stage. *J Endod.* 2007;33(11):1293-1295.
- [5] Cabrera S, Barden D, Wolf M, et al. Effects of growth factors on dental pulp cell sensitivity to amalgam toxicity. *Dent Mater.* 2007;23(10):1205-1210.
- [6] Rivero C, Azuero-Holguín MM, Diaz E, et al. Expression of insulin-like growth factor-1 and proliferating cell nuclear antigen in human pulp cells of teeth with complete and incomplete root development. *Int Endod J.* 2009;42(8):686-693.
- [7] Shimabukuro Y, Ueda M, Ozasa M, et al. Fibroblast growth factor-2 regulates the cell function of human dental pulp cells. *J Endod.* 2009;35(11):1529-1535.
- [8] Horibe M, Sawa T, Kataoka M, et al. Regulation of tenascin expression in cultured rat dental pulp cells. *Odontology.* 2004;92(1):22-26.
- [9] Melin M, Joffre-Romeas A, Farges JC, et al. Effects of TGF beta 1 on dental pulp cells in cultured human tooth slices. *J Dent Res.* 2000;79(9):1689-1696.
- [10] Iimura T, Denans N, Pourquie O. Establishment of Hox vertebral identities in the embryonic spine precursors. *Curr Top Dev Biol.* 2009;88:201-234.
- [11] Chen J, Lan Y, Baek JA, et al. Wnt/beta-catenin signaling plays an essential role in activation of odontogenic mesenchyme during early tooth development. *Dev Biol.* 2009;334(1):174-185.
- [12] Palamakumbura AH, Vora SR, Nugent MA, et al. Lysyl oxidase propeptide inhibits prostate cancer cell growth by mechanisms that target FGF-2-cell binding and signaling. *Oncogene.* 2009;28(38):3390-3400.
- [13] Kokubu E, Yoshinari M, Matsuzaka K, et al. Behavior of rat periodontal ligament cells on fibroblast growth factor-2-immobilized titanium surfaces treated by plasma modification. *J Biomed Mater Res A.* 2009;91(1):69-75.
- [14] Mitsiadis TA, Tucker AS, De Bari C, et al. A regulatory relationship between Tbx1 and FGF signaling during tooth morphogenesis and ameloblast lineage determination. *Dev Biol.* 2008;320(1):39-48.
- [15] Menezes R, Letra A, Ruff J, et al. Studies of genes in the FGF signaling pathway and oral clefts with or without dental anomalies. *Am J Med Genet A.* 2008;146A(12):1614-1617.
- [16] Takamori K, Hosokawa R, Xu X, et al. Epithelial fibroblast growth factor receptor 1 regulates enamel formation. *J Dent Res.* 2008;87(3):238-243.
- [17] Kawazoe Y, Katoh S, Onodera Y, et al. Activation of the FGF signaling pathway and subsequent induction of mesenchymal stem cell differentiation by inorganic polyphosphate. *Int J Biol Sci.* 2008;4(1):37-47.
- [18] Termsuknirandorn S, Hosomichi J, Soma K. Occlusal stimuli influence on the expression of IGF-1 and the IGF-1 receptor in the rat periodontal ligament. *Angle Orthod.* 2008;78(4):610-616.
- [19] Tran-Hung L, Laurent P, Camps J, et al. Quantification of angiogenic growth factors released by human dental cells after injury. *Arch Oral Biol.* 2008;53(1):9-13.
- [20] Mina M, Havens B, Velonis DA. FGF signaling in mandibular skeletogenesis. *Orthod Craniofac Res.* 2007;10(2):59-66.
- [21] Oi Y, Ota M, Yamamoto S, et al. Beta-tricalcium phosphate and basic fibroblast growth factor combination enhances periodontal regeneration in intrabony defects in dogs. *Dent Mater J.* 2009;28(2):162-169.
- [22] Tani Y, Tateno T, Izumiyama H, et al. Defective expression of prohormone convertase 4 and enhanced expression of insulin-like growth factor II by pleural solitary fibrous tumor causing hypoglycemia. *Endocr J.* 2008;55(5):905-911.
- [23] Iwanuma O, Abe S, Hiroki E, Kado S, et al. Effects of mechanical stretching on caspase and IGF-1 expression during the proliferation process of myoblasts. *Zoolog Sci.* 2008;25(3):242-247.
- [24] Bao LY, Jin Y, Shi JN, et al. Tissue engineering of dentin-pulp complex-like structures by human dental mesenchymal cells. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2005;40(5):408-411.
- [25] Shiba H, Fujita T, Doi N, et al. Differential effects of various growth factors and cytokines on the syntheses of DNA, type I collagen, laminin, fibronectin, osteonectin/secreted protein, acidic and rich in cysteine (SPARC), and alkaline phosphatase by human pulp cells in culture. *J Cell Physiol.* 1998;174(2):194-205.
- [26] Reichenmiller KM, Mattern C, Ranke MB, et al. IGFs, IGF-BPs, IGF-binding sites and biochemical markers of bone metabolism during differentiation in human pulp fibroblasts. *Horm Res.* 2004;62(1):33-39.
- [27] Masoud M, Masoud I, Kent RL Jr, et al. Assessing skeletal maturity by using blood spot insulin-like growth factor I (IGF-I) testing. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2008;134(2):209-216.
- [28] Mullane EM, Dong Z, Sedgley CM, et al. Effects of VEGF and FGF2 on the revascularization of severed human dental pulps. *J Dent Res.* 2008;87(12):1144-1148.
- [29] Lee JY, Choo JE, Choi YS, et al. Effect of immobilized cell-binding peptides on chitosan membranes for osteoblastic differentiation of mesenchymal stem cells. *Biotechnol Appl Biochem.* 2009;52(Pt 1):69-77.

#### 来自本文课题的更多信息--

**基金资助:** 教育部高等学校优秀青年教师教学科研奖励计划(2003682); 国家科技部重大基础研究前期专项资金资助项目(2002CCC00700)。

**利益冲突:** 无利益冲突。

**课题的意义:** 实验在建立人类牙乳头间充质细胞培养模型的基础上, 观察不同浓度的胰岛素样生长因子 I 和碱性成纤维细胞生长因子对人类牙乳头间充质细胞的增殖及碱性磷酸酶活性的影响, 结果表明胰岛素样生长因子 I 与碱性成纤维细胞生长因子联用, 对细胞增殖及对增加细胞的碱性磷酸酶活性有协同作用。这为组织工程牙的进一步研究提供了理论基础。

**课题评估的“金标准”:** 实验采用 MTT 法用全自动酶联免疫检测仪在 490 nm 波长处测定其吸光度 A 值, 观察细胞增殖活性, 用改良酶动力学法测定细胞碱性磷酸酶活性以反映人类牙乳头间充质细胞牙向分化的能力, 是目前相关研究中常用的评判标准。

**设计或课题的倚倚与不足:** 生长因子对牙乳头间充质细胞的增殖分化是一个较复杂的网络状调节, 如何增加干预因素, 如何对众多生长因子对细胞的时空调节作用作进一步研究, 还需要做更多的工作。

**提供临床借鉴的价值:** 组织工程牙相关问题的研究, 目前仍处于探索阶段。随着相关组织工程研究的不断深入, 组织工程的研究将逐步深入, 实验对探讨影响人类牙乳头间充质细胞增殖和分化的因素提供了参考依据, 对进一步揭示人类牙乳头间充质细胞向成牙本质细胞分化成熟的基质提供理论参考。