

# 聚对苯二甲酸乙二酯三维支架及碱性成纤维生长因子和乳酸对成人骨髓间充质干细胞增殖的影响\*\*\*

曹延粉, 李 丁, 王菊芳

## Influence of poly(ethylene terephthalate) three-dimensional scaffold, basic fibroblast growth factor and lactic acid on proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells

Cao Yan-fen, Li Ding, Wang Ju-fang

### Abstract

**BACKGROUND:** Many studies focus on the change of conventional cell culture condition, a three-dimensional scaffold could be used to support high density culturing.

**OBJECTIVE:** To observe the proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells (hMSCs) in three-dimensional culture condition.

**METHODS:** The effect of basic fibroblast growth factor and lactic acid on the proliferation of hMSCs was measured. Based on the optimized condition, the growth and metabolism of hMSCs cultured in poly(ethylene terephthalate) were further investigated; Dyed by Cell tracker Green, the activity of hMSCs-poly(ethylene terephthalate) was imaged under a laser confocal microscope; the details of hMSCs-poly(ethylene terephthalate) were observed using scanning electron microscope.

**RESULTS AND CONCLUSION:** A low-dose basic fibroblast growth factor (5  $\mu\text{g/L}$ ) and lactic acid (< 0.9 g/L) in culture medium displayed a significant promotion of the proliferation of hMSCs. Under the optimized condition, for the experimental group (with 5  $\mu\text{g/L}$  basic fibroblast growth factor) and control (without 5  $\mu\text{g/L}$  basic fibroblast growth factor), the expansion folds and specific growth rate were 15.29 and 0.136, 9.66 and 0.113, respectively. The amount of cells in the experimental group was increased 160% than that in control group. Observation of confocal laser microscopy and scanning electron microscope illustrated that the morphology and attachment of cells on poly(ethylene terephthalate) were stereoscopic, multi-level distributed, the unique structure of poly(ethylene terephthalate) three-dimensional scaffold provides cells with a larger growing space.

School of Biosciences & Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China

Cao Yan-fen★, Studying for master's degree, School of Biosciences & Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China caoyanfen009@gmail.com

Cao YF, Li D, Wang JF. Influence of poly(ethylene terephthalate) three-dimensional scaffold, basic fibroblast growth factor and lactic acid on proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(38):7103-7107. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

### 摘要

**背景:** 诸多实验聚焦在改变传统的细胞培养方式, 希望利用三维支架材料能够获得更多细胞量。

**目的:** 观察人骨髓间充质干细胞在三维培养条件下的增殖特点。

**方法:** 检测不同质量浓度的碱性成纤维生长因子和乳酸对骨髓间充质干细胞增殖的影响。在确定最佳条件基础上, 进一步测定聚对苯二甲酸乙二酯三维支架上人骨髓间充质干细胞的增殖和代谢的特点。通过 Cell tracker Green 染色, 激光共聚焦显微镜观察人骨髓间充质干细胞在三维支架材料上的活性。利用扫描电镜观察人骨髓间充质干细胞在三维支架材料上的形态分布特点。

**结果与结论:** 当培养基中碱性成纤维生长因子质量浓度为 5  $\mu\text{g/L}$ , 乳酸质量浓度少于 0.9 g/L 时, 最有利于促进三维支架材料上人骨髓间充质干细胞的增殖。在此优化条件下, 人骨髓间充质干细胞在实验组(含 5  $\mu\text{g/L}$  bFGF)和对照组(不含 bFGF)中的扩增倍数分别为 15.3 和 9.6, 比生长速率分别为 0.136/d 和 0.113/d, 实验组的细胞量比对照组提高了 160%。激光共聚焦显微镜和扫描电镜检测结果表明, 人骨髓间充质干细胞在三维支架材料上呈立体、多层生长, 聚对苯二甲酸乙二酯三维支架的特有结构为细胞提供相对较大的生长空间。

**关键词:** 成人; 骨髓间充质干细胞; 三维培养; 聚对苯二甲酸乙二酯; 碱性成纤维生长因子; 乳酸

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.38.018

Correspondence to: Wang Ju-fang, Doctor, Professor, School of Biosciences & Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China jufwang@scut.edu.cn

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 20876060\*; Fundamental Research Funds for the Central Universities, South China University of Technology, No. 2009ZZ0039\*

曹延粉, 李丁, 王菊芳. 聚对苯二甲酸乙二酯三维支架及碱性成纤维生长因子和乳酸对成人骨髓间充质干细胞增殖的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(38):7103-7107. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

Received: 2010-05-14  
Accepted: 2010-07-14

## 0 引言

人骨髓间充质干细胞 (human mesenchymal stem cells, hMSCs) 是一类具有多项分化潜能的多能干细胞, 能在体内和体外诱导分化成骨、软骨、心肌、骨骼肌、神经细胞、肌腱、脂肪和结缔组织等, 且在体内具有免疫调

节功能<sup>[1-2]</sup>, 因而可以作为骨组织工程的理想细胞来源, 同时骨髓间充质干细胞也是细胞治疗和药物筛选的理想资源<sup>[3-8]</sup>。

传统的细胞二维扩增培养, 存在种种弊端, 干细胞实现商业化和临床应用的一个最大障碍是缺乏有效的大规模培养干细胞的平台技术。提高 hMSCs 的扩增倍数成为干细胞研究的一个重点, 近年来, 干细胞的三维培养越来越受到研究

华南理工大学生物科学与工程学院, 广东省广州市 510006

曹延粉★, 女, 1984年生, 河北省邢台市人, 汉族, 在读硕士, 主要从事干细胞规模化扩增方面的研究。  
caoyanfen009@gmail.com

通讯作者: 王菊芳, 博士, 教授, 华南理工大学生物科学与工程学院, 广东省广州市 510006  
jufwang@scut.edu.cn

中图分类号: R318  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225 (2010)38-07103-05

收稿日期: 2010-05-14  
修回日期: 2010-07-14  
(20100514013/M·Y)

人员的重视<sup>[9-11]</sup>, 而细胞从二维到三维的转变第一步就是培养条件的优化。

目前关于提高干细胞扩增能力方面的研究, 主要是改变培养方式、传代和接种的密度、血清的选择、所用的生长因子、捐赠人的年龄和低温保藏的影响等<sup>[12]</sup>。研究发现, 一些细胞生长因子如碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、HGF、HB-EGF/HER-1可以有效促进细胞的增殖<sup>[13-15]</sup>。bFGF是一种多肽类生长因子, 有促进中胚层和神经外胚层细胞有丝分裂的作用, 在促进血管生成、创伤愈合和组织损伤修复过程中起着很大作用<sup>[16]</sup>。乳酸作为细胞代谢产物中的主要物质, 对细胞的增殖具有反馈抑制作用<sup>[17-18]</sup>。目前这两种因素对hMSCs在三维支架上的增殖情况还没有很好的探讨。

本文利用聚对苯二甲酸乙二酯(polyethylene terephthalate, PET)三维支架材料培养hMSCs。观察不同质量浓度的bFGF和乳酸对hMSCs增殖的影响, 在确定最佳浓度的基础上, 进一步研究hMSCs在PET三维材料上的增殖、代谢和分布情况, 为将来hMSCs的三维规模化扩增提供理论依据。

## 1 材料和方法

**设计:** 材料-干细胞体外实验。

**时间及地点:** 于2008-06/2009-12在华南理工大学生物科学与工程学院完成。

**材料:**

**实验细胞:** hMSCs为中山大学干细胞与组织工程研究中心惠赠, 第7代细胞, 经流式细胞仪表面标记物鉴定。

**主要试剂、仪器:**

主要试剂、仪器	来源
DMEM 培养基	Gibco
胎牛血清	Gibco
Cell tracker Green	Invitrogen
bFGF	Invitrogen
CCK-8	碧云天生物科技研究所
聚对苯二甲酸乙二酯(PET)	美国杜邦
激光共聚焦显微镜	leica Tcs SP5
S3000N 扫描电镜	HITACHI
SBA-40C 生物传感分析仪	山东微生物所

**实验方法:**

**不同质量浓度的bFGF对hMSCs的影响:** 将生长良好的hMSCs以500个/孔接种于96孔板中, 调节

bFGF在完全培养基中的质量浓度分别为0, 5, 10, 15, 20 μg/L, 接种4 h细胞贴壁后, 每个质量浓度各取3孔, 加1/10体积的CCK-8, 37 °C孵育3 h后, 用酶标仪在450 nm(参考波长为620 nm)的波长下测定吸光度值大小, 以后每隔两天换液并测定一次。以不含bFGF的培养基为对照组。

**PET支架上接种:** hMSCs在方瓶中长到80%~90%融合时, 用0.125%胰蛋白酶消化, 收集细胞, 用含体积分数为10%胎牛血清的L-DMEM培养基制成一定密度的细胞悬液。用移液枪将100 μL浓度为1×10<sup>8</sup> L<sup>-1</sup>细胞悬液小心加到预先用培养基浸泡的PET材料上, 静置于37 °C, 体积分数为5%CO<sub>2</sub>培养箱内4 h, 使hMSCs黏附于材料上, 然后将长有细胞的材料移至另一新的24孔板内, 每孔加入2 mL培养基, 血球计数板计数未吸附的细胞的量, 计算细胞的接种率。培养期间适时换液。

**乳酸对hMSCs增殖的影响:** 配制含不同质量浓度乳酸的培养基, 使培养基中分别含乳酸0.32 (不含外加乳酸), 0.6, 0.9, 1.2, 1.5 g/L。用NaHCO<sub>3</sub>调节培养基pH值为7.0, 0.22 μm过滤膜过滤除菌, 接种1×10<sup>4</sup>/孔hMSCs于PET上, 用含不同质量浓度乳酸的培养基, 置于37 °C、体积分数为5% CO<sub>2</sub>及饱和湿度的培养箱中培养, 5 d后测细胞的数量。

**PET上hMSCs增殖及代谢的测定:** 在优化的条件下, 测定PET上hMSCs的增殖及代谢情况, 按上述方法接种, 设置实验组(含5 μg/L bFGF)和对照组(不含bFGF), 实验过程中适时换液, 使培养基中的乳酸质量浓度小于0.9 g/L, 每组接种hMSCs的量为1×10<sup>4</sup>, 每3 d取3个孔, 用0.125%的胰酶消化, 血球计数板计数, 测定细胞在PET材料上的增殖。用SBA-40C生物传感分析仪测定换液前后培养基中葡萄糖和乳酸的质量浓度, 得出细胞对葡萄糖的消耗量和乳酸的生成量。

**激光共聚焦显微镜观察:** 弃去旧的培养基, 然后向孔内加入4 μm cell tracker green, 37 °C避光孵育30 min, 弃去上清液, 加入完全培养基, 30 min后, 激光共聚焦显微镜下观察hMSCs在PET上的活性。

**扫描电镜观察:** 将hMSCs-PET复合物用PBS洗2次, 3%戊二醛固定5 h, PBS洗数次, 梯度乙醇脱水, 梯度无水丙酮清洗数次, 冷冻干燥, 溅射仪喷金, 扫描电镜观察及拍照。

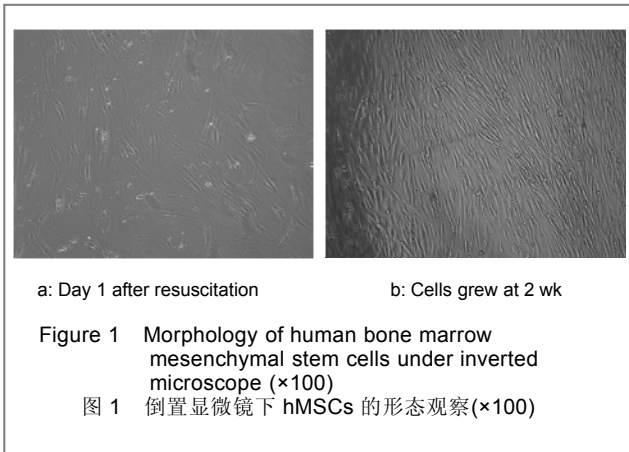
**设计、实施、评估者:** 为文章作者, 均经过系统培训, 未使用盲法评估。

**统计学分析:** 由第一作者采用SPSS 17.0

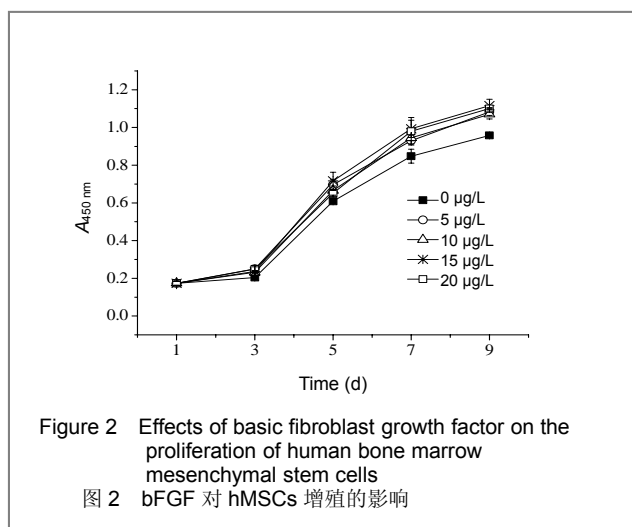
进行统计处理, 组间比较采用  $t$  检验和单因素方差分析。

## 2 结果

**2.1 倒置显微镜下细胞形态的观察** 倒置显微镜下观察常规培养的hMSCs形态见图1, 复苏后的第1天, 换液除去漂浮的复苏后损伤细胞, 细胞稀疏分布于平皿底部, 多为梭形。细胞生长至第2周, 达到基本融合状态, hMSCs均匀铺在平板上, 成纤维状成簇生长。

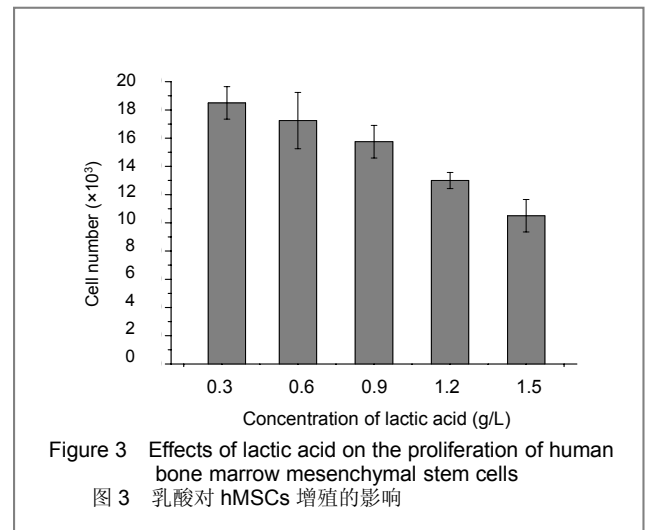


**2.2 不同质量浓度的bFGF对hMSCs增殖的影响** 含不同质量浓度(0~20  $\mu\text{g/L}$ )bFGF的培养基对hMSCs增殖的影响, 见图2。含质量浓度为5~20  $\mu\text{g/L}$  bFGF的培养基可显著促进hMSCs增殖(当 $> 5$  d时,  $P < 0.05$ ), 但实验组中各质量浓度bFGF对细胞增殖的效果差异没有显著性意义( $P > 0.05$ ), 综合经济与影响效果确定bFGF最佳的使用质量浓度为5  $\mu\text{g/L}$ 。

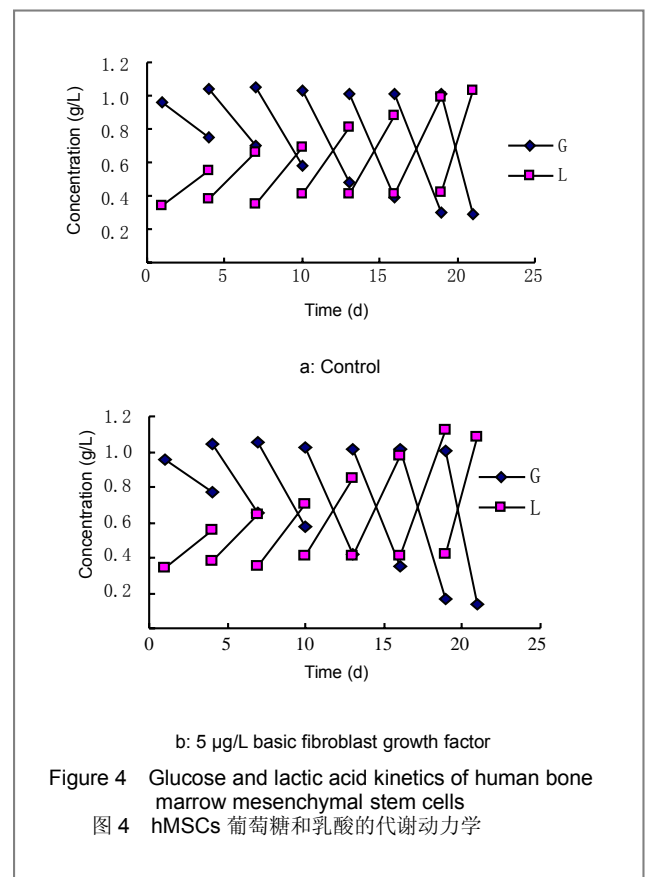


**2.3 乳酸对hMSCs增殖的影响** 用含不同初始质量浓度乳酸的培养基培养hMSCs, 5 d后, 细胞的增殖情况检测结果见图3。相对于对照组0.32 g/L, 不同的初始质量浓度乳酸对hMSCs均有不同程度的抑制作用, 0.32 g/L组与0.6 g/L组比较, 差异无显著性意义( $P >$

0.05); 0.32 g/L组与0.9 g/L组比较, 差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。结果表明: 培养基中高质量浓度乳酸抑制细胞的增殖, 因此在hMSCs的培养过程中应注意乳酸质量浓度, 及时检测细胞培养基中乳酸水平, 适时换液。



**2.4 bFGF对PET三维支架材料上细胞增殖和代谢的影响** 葡萄糖和乳酸是细胞生长代谢过程的重要参数, 在不含bFGF的对照组和含0.5  $\mu\text{g/L}$  bFGF的实验组中, 在整个培养期间, 葡萄糖和乳酸的质量浓度变化见图4。在两种培养条件下, 细胞对葡萄糖的消耗和乳酸的生成都随着时间而加剧, 而在添加有bFGF条件培养基的培养下, 细胞的代谢更加旺盛。



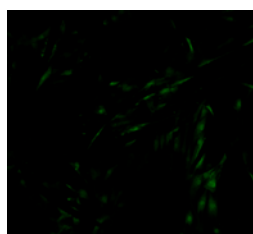
总结细胞的扩增倍数, 倍增时间和比生长速率见表1, 含bFGF实验组的细胞量比对照组提高了160%, 表明bFGF对三维培养的hMSCs有很好的促增殖作用。

表1 不同的培养基条件下 hMSCs 的增殖情况  
Table 1 The proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells under different conditions ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

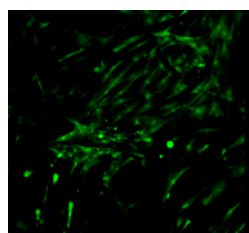
Medium composition	Expansion folds	Expansion time (d)	Specific growth rate ( $d^{-1}$ )
With bFGF	15.29±1.44 <sup>a</sup>	4.79±0.22 <sup>a</sup>	0.145±0.006 <sup>a</sup>
Without bFGF	9.66±1.18	5.80±0.33	0.120±0.006

bFGF: basic fibroblast growth factor; <sup>a</sup> $P < 0.05$ , vs. control group without bFGF

**2.5 激光共聚焦显微镜下细胞的观察** Cell tracker green溶液是具有荧光的氯甲基衍生物, 可以自由扩散穿过活细胞的细胞膜, 一旦进入细胞, 可在谷胱甘肽转移酶的作用下与胞内的硫醇类化合物结合形成不能透过性的化合物, 从而给活细胞标记上绿色荧光, 因此可以反映细胞的活性。激光共聚焦显微镜观察不同生长条件下的hMSCs的活性见图5, 结果表明hMSCs在PET材料上生长良好, 且在含有5  $\mu\text{g/L}$  bFGF培养基中的细胞具有更高的活性, 细胞量较大。



a: Control

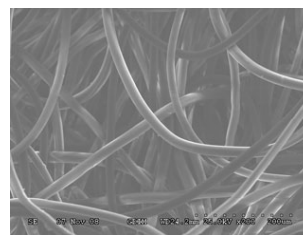


b: 0.5  $\mu\text{g/L}$  basic fibroblast growth factor

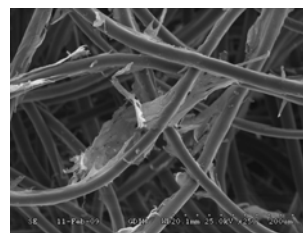
Figure 5 Confocal laser microscopy observation of human bone marrow mesenchymal stem cells cultured in poly(ethylene terephthalate) fiber

图5 激光共聚焦显微镜观察 PET 上 hMSCs 的活性

**2.6 扫描电镜下细胞的观察** 扫描电镜图片可以看出细胞可以很好地依附于PET上, 不同于二维培养, 细胞在材料中的生长空间较大, 不存在接触抑制现象。在生长的过程中, 细胞呈立体、多层生长, 细胞与细胞之间、细胞与材料之间有搭桥现象, PET的特有结构为细胞提供相对较大的生长空间。见图6。



a: PET



b: PET-hMSCs

PET: poly(ethylene terephthalate); hMSCs: human bone marrow mesenchymal stem cells

Figure 6 Scanning electron microscope image of PET fiber and hMSCs cultured in PET fiber

图6 扫描电镜观察 PET 纤维材料及培养于其上的 hMSCs

### 3 讨论

培养方式在hMSCs的体外扩增培养中十分重要, 支架材料不仅为细胞提供三维的结构, 使细胞形成适宜的空间分布和一定的连接, 而且能为细胞提供特异性的生长和分化信号, 形成与体内组织相似的细胞生长微环境<sup>[19]</sup>。体外培养的环境对细胞扩增能力的提高也非常重要, 而培养基是hMSCs体外扩增的一个很重要的参数。bFGF是一种广谱的有丝分裂原和形态发生因子, 可以调节多种细胞内关键的的联级反应包括一些细胞的增殖、迁移等<sup>[20]</sup>。在大规模的细胞培养中, 实时在线检测乳酸的含量, 可作为检测细胞发酵情况的一个重要的参考指标。

本文研究了不同bFGF及乳酸质量浓度对细胞增殖的影响, 经过CCK-8法筛选最佳的bFGF添加量, 得出bFGF的最佳质量浓度为5  $\mu\text{g/L}$ 。通过测定乳酸对细胞增殖量作用效果可得当培养液中乳酸的初始质量浓度超过0.9 g/L时, 细胞的生长受到较明显抑制。以添加5  $\mu\text{g/L}$  bFGF的培养基为实验组, 未添加的为对照组, 进一步研究hMSCs在PET三维材料上的增殖, 代谢情况。结果得出hMSCs在实验组和对照组中扩增倍数分别为15.29和9.66, 比生长速率分别为0.136/d和0.113/d, 优化后的培养方式下, 细胞的扩增量为对照组的160%。而Mygind等<sup>[21]</sup>利用珊瑚羟磷灰石来支持hMSCs的增殖和分化, 培养21 d后, 细胞仅扩增了3倍。Song等<sup>[13]</sup>研究了I类胶原、纤连蛋白和bFGF对细胞的影响, 其中

bFGF的添加可使扩增出的细胞增加130%左右。本实验显示bFGF对支架上hMSCs增殖的影响更为明显。激光共聚焦显微镜和扫描电镜检测结果表明hMSCs在PET纤维材料有较高活性、细胞呈立体、多层生长，PET的特有结构为细胞提供相对较大的生长空间。

发展新型的大规模培养未分化的干细胞的平台技术，才能满足干细胞的研究和在医学中应用的要求。本实验改进了传统二维的培养模式，利用PET作为三维支架材料培养hMSCs，并对三维培养条件进行了优化，为将来hMSCs的三维规模化扩增提供理论依据。但细胞在三维支架上的生长是一个复杂的过程，对于大规模培养还需进一步研究反应器中的其他因素及细胞在临床应用中的排斥反应等问题。

#### 4 参考文献

- [1] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 1999;284(5411):143-147.
- [2] Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*. 2002;418(6893):41-49.
- [3] Lee KB, Hui JH, Song IC, et al. Injectable mesenchymal stem cell therapy for large cartilage defects—a porcine model. *Stem Cells*. 2007;25(11):2964-2971.
- [4] Vacanti CA, Bonassar LJ, Vacanti MP, et al. Replacement of an avulsed phalanx with tissue-engineered bone. *N Engl J Med*. 2001;344(20):1511-1514.
- [5] Han P, Xie HQ, Luo JC, et al. *Zhongguo Xiufu Chongjian Waikexue*. 2008;22(2):221-227.  
韩平, 解慧琪, 罗静聪, 等. 细胞治疗临床应用新进展[J]. *中国修复重建外科杂志*. 2008;22(2):221-227.
- [6] Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. *Circ Res*. 2004;95(1):9-20.
- [7] Koç ON, Lazarus HM. Mesenchymal stem cells: heading into the clinic. *Bone Marrow Transplant*. 2001;27(3):235-239.
- [8] Cui ZF, Xu X, Trainor N, et al. Application of multiple parallel perfused microreactors and three-dimensional stem cell culture for toxicity testing. *Toxicol In Vitro*. 2007;21(7):1318-1324.
- [9] Provin C, Takano K, Sakai Y, et al. A method for the design of 3D scaffolds for high-density cell attachment and determination of optimum perfusion culture conditions. *J Biomech*. 2008;41(7):1436-1449.
- [10] Xu SL, Li DC, Xie YZ, et al. The growth of stem cells within  $\beta$ -TCP scaffolds in a fluid-dynamic environment. *Materials Science and Engineering C*. 2008;28(1):164-170.
- [11] Oh SK, Chen AK, Mok Y, et al. Long-term microcarrier suspension cultures of human embryonic stem cells. *Stem Cell Res*. 2009;2(3):219-230.
- [12] Sotiropoulou PA, Perez SA, Salagianni M, et al. Characterization of the optimal culture conditions for clinical scale production of human mesenchymal stem cells. *Stem Cells*. 2006;24(2):462-471.
- [13] Song GB, Ju Y, Soyama H, et al. Growth and proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells affected by type I collagen, fibronectin and bFGF. *Materials Science and Engineering C*. 2008;28(8):1467-1471.

- [14] Forte G, Minieri M, Cossa P, et al. Hepatocyte growth factor effects on mesenchymal stem cells: proliferation, migration, and differentiation. *Stem Cells*. 2006;24(1):23-33.
- [15] Krampera M, Pasini A, Rigo A, et al. HB-EGF/HER-1 signaling in bone marrow mesenchymal stem cells: inducing cell expansion and reversibly preventing multilineage differentiation. *Blood*. 2005;106(1):59-66.
- [16] Fan HK, Zhou H, Li W, Shengwu Huaxue yu Shengwu Wuli Jinzhan. 2001;28(3):338-341.  
范洪宽, 周慧, 李惟. 成纤维细胞生长因子与其受体相互作用及其抑制剂的研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展*. 2001;28(3):338-341.
- [17] Ouyang A, Ng R, Yang ST. Long-term culturing of undifferentiated embryonic stem cells in conditioned media and three-dimensional fibrous matrices without extracellular matrix coating. *Stem Cells*. 2007;25(2):447-454.
- [18] Patel SD, Papoutsakis ET, Winter JN, et al. The lactate issue revisited: novel feeding protocols to examine inhibition of cell proliferation and glucose metabolism in hematopoietic cell cultures. *Biotechnol Prog*. 2000;16(5):885-892.
- [19] Grayson WL, Zhao F, Izadpanah R, et al. Effects of hypoxia on human mesenchymal stem cell expansion and plasticity in 3D constructs. *J Cell Physiol*. 2006;207(2):331-339.
- [20] Chiou M, Xu Y, Longaker MT. Mitogenic and chondrogenic effects of fibroblast growth factor-2 in adipose-derived mesenchymal cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;343(2):644-652.
- [21] Mygind T, Stiehler M, Baatrup A, et al. Mesenchymal stem cell ingrowth and differentiation on coralline hydroxyapatite scaffolds. *Biomaterials*. 2007;28(6):1036-1047.

#### 来自本文课题的更多信息——

**基金资助:** 国家自然科学基金(20876060), 华南理工大学中央高校基本科研业务费专项资金(2009ZZ0039)。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**课题的创新点:** 首次优化了培养基添加物、乳酸对聚对苯二甲酸乙二酯纤维材料上 hMSCs 生长增殖的影响, 为以后大规模三维培养扩增干细胞提供了初步依据。

**课题评估的“金标准”:** 目前国内外关于干细胞的三维扩增培养方面, 研究的种类较多, 但对扩增的评价还没有一个统一的金标准。

**设计或课题的偏倚与不足:** 细胞在三维支架上的生长是一个复杂的过程, 本文未考虑其他因素包括细胞的供体年龄、PO<sub>2</sub>、剪切力、传氧、传质等对细胞增殖的影响。

**提供临床借鉴的价值:** 国内外的相关报道已经得出间充质干细胞是组织工程、细胞治疗和药物筛选中理想的种子资源, 但其数量远远达不到要求。因此, 合理的培养条件及方式才能得出满足临床上对干细胞的需要, 将来利用聚对苯二甲酸乙二酯结合反应器对干细胞进行规模化扩增, 可获得更多大量优质干细胞资源, 可以更好用于疾病的治疗和药物的筛选, 保证其医学及商业化的需求。