

# 血清体积分数对人细胞因子诱导杀伤细胞增殖的影响\*\*\*

任思坡, 韩光宇, 拾莉, 谭昆, 耿跃春, 杨钦湘, 王健

## Effects of serum concentration on the proliferation of human cytokine induced killer cells

Ren Si-po, Han Guang-yu, Shi Li, Tan Kun, Geng Yue-chun, Yang Qin-xiang, Wang Jian

### Abstract

**BACKGROUND:** Cytokine induced killer (CIK) cells are cultured mostly in 10% serum, but there have been few studies describing the effects of serum concentration on growth characteristics of CIK cells.

**OBJECTIVE:** To investigate the proliferation of CIK cells in different concentrations of serum.

**METHODS:** CIK cells were cultured with 10%, 20% and 30% fetal bovine serum supplemented with recombinant human interleukin (IL-2). The effects of serum concentration on cell cycle were analyzed using flow cytometry. The proliferation of CIK in different concentrations of serum was determined by MTT assay and the growth characteristics of CIK cells were observed.

**RESULTS AND CONCLUSION:** The proliferation rate and proliferation index of CIK cells were the lowest in 10% serum and highest in 30% serum. There was statistical significance in proliferation rate among three groups ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). The proliferation of CIK cells cultured are serum concentration-dependent *in vitro*.

Ren SP, Han GY, Shi L, Tan K, Geng YC, Yang QX, Wang J. Effects of serum concentration on the proliferation of human cytokine induced killer cells. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(41): 7689-7692. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

Xuzhou Institute of Medical Sciences, Xuzhou 221006, Jiangsu Province, China

Ren Si-po★, Master, Technician in charge, Xuzhou Institute of Medical Sciences, Xuzhou 221006, Jiangsu Province, China  
rensipo@163.com

Correspondence to: Wang Jian, Associate researcher, Xuzhou Institute of Medical Sciences, Xuzhou 221006, Jiangsu Province, China  
xzsyks@yahoo.com.cn.

Supported by: Social Development Program of Bureau of Science and Technology of Xuzhou City, No.XZ2006268\*; XM09B004\*

Received: 2011-05-05  
Accepted: 2011-08-16

### 摘要

**背景:** 细胞因子诱导的杀伤细胞的培养多采用体积分数 10% 的血清, 但关于血清体积分数对其生长特性的影响少有报道。

**目的:** 观察细胞因子诱导的杀伤细胞在不同血清体积分数培养液中的增殖情况。

**方法:** 分别配制血清体积分数为 10%, 20% 和 30% + 重组人白细胞介素 2 等细胞因子的完全培养液培养人细胞因子诱导的杀伤细胞, 使用流式细胞仪分析血清体积分数对细胞周期的影响, 通过 MTT 法检测细胞因子诱导的杀伤细胞在不同血清体积分数培养液中的增殖, 并观察细胞因子诱导的杀伤细胞的生长状态。

**结果与结论:** 细胞因子诱导的杀伤细胞在体积分数 10% 血清培养液中增殖速率和增殖指数均最低, 在体积分数 30% 血清培养液中最高, 3 组细胞的不同时间点的增殖速率差异均有显著性意义 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。结果证实, 体外培养的细胞因子诱导的杀伤细胞的增殖具有血清体积分数依赖性, 高血清体积分数培养液的促细胞因子诱导的杀伤细胞增殖效应明显。

**关键词:** 血清体积分数; 细胞因子诱导的杀伤细胞; 增殖; 细胞培养; 组织工程

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.41.022

任思坡, 韩光宇, 拾莉, 谭昆, 耿跃春, 杨钦湘, 王健. 血清体积分数对人细胞因子诱导杀伤细胞增殖的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(41):7689-7692. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

## 0 引言

国内外研究报道的细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer, CIK)体外培养多采用含体积分数10%血清的培养液<sup>[1-3]</sup>。血清中含有细胞生长、增殖所必需的营养成分和生长因子, 可以促进CIK细胞的生长, 是体外培养CIK细胞必不可缺的成分<sup>[4-7]</sup>, 但是关于血清体积分数对CIK细胞的细胞周期和增殖影响的研究则少见报道。鉴于此, 实验观察了体外培养的人CIK细胞在不同血清体积分数培养液中的增殖情况。

## 1 材料和方法

**设计:** 细胞学体外实验。

**时间及地点:** 于2009-05/2010-02在徐州

市医学科学研究所细胞实验室完成。

### 材料:

**人CIK细胞:** 收集徐州市医学科学研究所的健康志愿者的外周血, 由本室分离单个核细胞并诱导为CIK细胞。

### 主要试剂及仪器:

| 试剂及仪器                                                                      | 来源               |
|----------------------------------------------------------------------------|------------------|
| RPMI 1640 培养液                                                              | 美国 Gibco 公司      |
| Ficoll、小牛血清                                                                | 天津灏洋生物制品科技有限责任公司 |
| 酶联免疫分析仪                                                                    | 美国 Bio-RAD 公司    |
| 重组人干扰素 $\gamma$ (recombinant human interferon $\gamma$ , rhIFN- $\gamma$ ) | 厦门特宝公司           |
| 重组人白细胞介素 1, 2 (recombinant human interleukin-1, 2, rhIL-1, 2)              | 上海欣百诺生物公司        |
| 鼠抗人 CD3 单克隆抗体                                                              | 武汉生物制品研究所        |
| 流式细胞仪                                                                      | 美国 BD 公司         |

徐州市医学科学研究所, 江苏省徐州市, 221006

任思坡★, 男, 1977 年生, 山东省枣庄市人, 汉族, 硕士, 主管技师, 主要从事 DC-CIK 细胞和脐血间充质干细胞的基础和临床应用研究。  
rensipo@163.com

通讯作者: 王健, 副研究员, 徐州市医学科学研究所, 江苏省徐州市, 221006  
xzsyks@yahoo.com.cn

中图分类号: R318  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225 (2011)41-07689-04

收稿日期: 2011-05-05  
修回日期: 2011-08-16  
(20100130006/WJ-S)

## 实验方法:

**外周血单个核细胞的收集:** 采集健康志愿者外周血, 用肝素抗凝后, 以Ficoll淋巴细胞分离液分离获得单个核细胞, 用RPMI 1640培养液洗涤3次, 调整细胞浓度为 $5 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ , 贴壁培养30 min, 收集非黏附细胞, 1 000 r/min, 离心10 min, 弃上清备用<sup>[8]</sup>。

**流式细胞仪检测CIK细胞的细胞周期:** 将取收集的非黏附细胞分别用3种不同血清体积分数的培养液稀释<sup>[9]</sup>。实验分3组, 每组分别采用体积分数10%, 20%及30%小牛血清的1640培养液培养CIK细胞, 每组接种6瓶。每瓶的细胞浓度均调整为 $1 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ 。加入rhIFN- $\gamma$  1 000 U/mL, 放置于37 °C、体积分数5% CO<sub>2</sub>孵育箱中培养24 h后加入rhIL-1 100 U/mL, rhIL-2 800 U/mL, CD3McAb 200  $\mu\text{g/L}$ , 继续培养。以后每隔3 d更换2/3新鲜培养液, 并补加rhIL-1和rhIL-2<sup>[10-16]</sup>。

培养至第7天每组收集 $3 \times 10^6$ 个细胞, 乙醇法固定, PBS洗去乙醇, 1 000 r/min离心5 min, 加入PBS制备成 $2 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ 细胞悬液, 加入等体积的碘化丙啶染液和RNase-A至终浓度为50 mg/L, 避光染色20 min, 流式细胞仪进行细胞周期分析, 所用软件为BD FACSORT Cell Quest (美国BD公司)。

$$\text{细胞增殖指数(PI)} = (S + G_2 + M) / (G_0 + G_1 + S + G_2 + M)$$

**MTT检测CIK细胞增殖能力:** 取收集的非黏附细胞分别用3种不同血清体积分数(10%, 20%和30%)的培养液稀释, 调整细胞浓度为 $1 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$ , 每种血清体积分数接种1块96孔板, 200  $\mu\text{L}$ /孔, 同时设空白对照孔(只添加培养液, 不接种细胞), 共接种3块96孔板, 分别用于接种后2, 4, 6, 8, 10, 12和14 d检测, 每种培养液在每个检测时间点检测12孔细胞, 另外每个孔板设无细胞培养液空白对照12孔。分别于接种后第4, 7, 11 d各换液1次。

分别于培养第2, 4, 6, 8, 10, 12和14天后, 每板各取其中12孔进行检测, 每孔加质量浓度5 g/L MTT溶液20  $\mu\text{L}$ , 培养4 h, 弃去孔内液体, 每孔加DMSO试剂150  $\mu\text{L}$ , 振荡10 min, 使用酶联免疫检测仪测量各孔在490 nm波长的吸光度值, 结果取平均值<sup>[17]</sup>。

**细胞的生长状态观察:** 倒置光学显微镜观察细胞的生长状态, 每日观察3块96孔板中细胞的生长状态, 细胞浓度变化, 对比细胞的形态、大小和折光度等。

**主要观察指标:** 培养的CIK细胞的增殖情况和形态。

**统计学分析:** 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用SPSS 16.0统计学软件进行数据分析, 组间数据差异比较采用单因素方差分析,  $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

## 2 结果

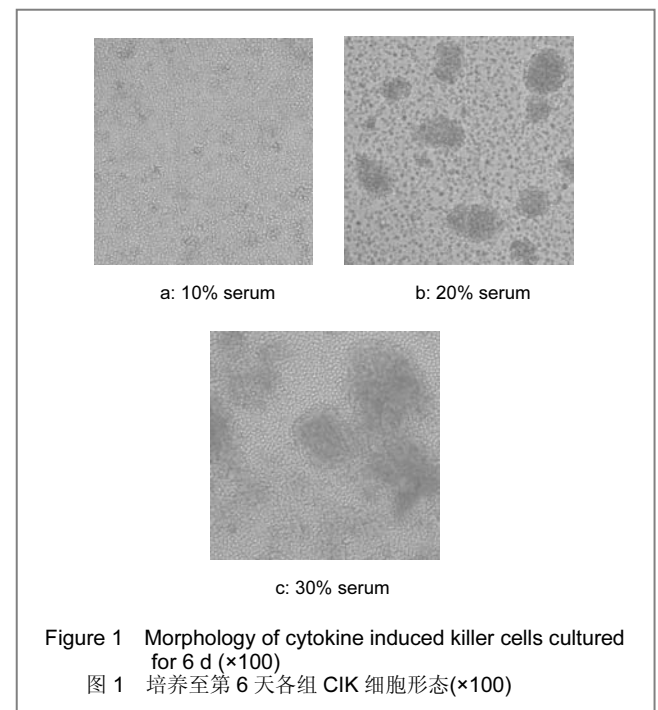
**2.1 不同体积分数血清培养液对CIK细胞细胞周期的影响** 与体积分数10%组比较, 体积分数20%和30%组CIK细胞增殖指数明显升高( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ); 与20%组比较, 30%组CIK细胞增殖指数明显升高( $P < 0.01$ )。流式细胞仪检测结果见表1。

表1 不同血清体积分数培养液对CIK细胞周期的影响  
Table 1 Effect of different serum concentrations on cell cycle of cytokine induced killer cells ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ , %)

| Serum concentration | G <sub>0</sub> +G <sub>1</sub> | S          | G <sub>2</sub> +M | Proliferation index      |
|---------------------|--------------------------------|------------|-------------------|--------------------------|
| 10%                 | 65.01±0.52                     | 28.11±0.65 | 6.87±0.66         | 34.99±0.45               |
| 20%                 | 55.80±1.07                     | 34.07±0.96 | 10.13±0.75        | 44.20±0.83 <sup>a</sup>  |
| 30%                 | 39.23±1.58                     | 45.52±1.32 | 15.22±1.65        | 60.77±1.34 <sup>bc</sup> |

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ , vs. 10% group; <sup>c</sup> $P < 0.01$ , vs. 20% group

**2.2 不同体积分数血清培养液对CIK细胞生长状态的影响** 通过倒置光学显微镜每天观察发现随着培养天数的增加, 各组细胞均出现集落生长, 血清体积分数30%组和20%组的细胞集落分布不均匀, 10%组的细胞集落分布较均匀, 但30%组的细胞集落最大, 20%组的次之, 10%组最小。体积分数30%组的CIK细胞折光度最好, 细胞体积最大, 细胞核最大。见图1。



**2.3 不同体积分数血清培养液对细胞增殖的影响** 细胞增殖在生长早期不明显。随着细胞进入对数生长期, 不同血清体积分数培养液对细胞增殖的影响开始显现,

各血清组随着培养时间的延长, 细胞浓度均增大。3种不同体积分数的血清培养液之间平均吸光度值在培养的第2天差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。培养4~14 d, 3组平均吸光度值差异均具有显著性意义( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。这表明血清对细胞的增殖在早期并不明显, 随着细胞进入对数生长期, 血清体积分数对细胞增殖的影响开始明显。见表2。

表2 MTT法检测不同血清体积分数培养液对细胞增殖的影响  
Table 2 Effect of different serum concentrations on cell proliferation by MTT ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=12$ )

| Culture time (d) | Serum concentration (%) |                        |                         |
|------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|
|                  | 10                      | 20                     | 30                      |
| 2                | 0.32±0.03               | 0.33±0.04              | 0.35±0.04               |
| 4                | 0.58±0.07               | 0.67±0.08 <sup>a</sup> | 0.79±0.08 <sup>bc</sup> |
| 6                | 0.80±0.10               | 0.90±0.11 <sup>a</sup> | 1.07±0.12 <sup>bc</sup> |

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ , vs. 10% group; <sup>c</sup> $P < 0.01$ , vs. 20% group

### 3 讨论

CIK细胞是由白细胞介素1、2、IFN- $\gamma$ 和CD3单克隆抗体等多种细胞因子诱导而成的对多种肿瘤细胞具有杀伤活性的细胞毒性T细胞, 其溶瘤活性具有非MHC限制性, CIK细胞在体内归巢于脾脏、淋巴结等, 可特异性地聚集于肿瘤局部发挥抗肿瘤作用。有研究显示, CIK细胞对于大部分恶性肿瘤均有较好的治疗作用<sup>[18-20]</sup>, 其治疗效果与回输的CIK细胞数量及细胞活力有密切关系。目前有文献报道经加入白细胞介素2等细胞因子诱导CIK细胞可扩增数倍至数百倍<sup>[14-16, 18-21]</sup>, 如能改进培养方法使CIK细胞扩增更多倍数将会进一步提高CIK细胞的杀瘤效果。

血清是细胞培养中的天然培养基, 在细胞培养中有十分重要的作用<sup>[22]</sup>, 它不但可以供给细胞增殖和维持细胞生长所需的大多数因子, 几乎可促进所有类型细胞生长, 而且使用添加血清的培养基可以减少培养各类型新细胞所需时间<sup>[22]</sup>。因此实验分别观察了血清体积分数对CIK细胞的细胞周期、细胞增殖能力和生长状态的影响。

实验结果显示, 随着血清体积分数的升高,  $G_1$ %明显下降, 而 $S\%+(G_2+M)\%$ 明显升高。结果表明血清体积分数对CIK细胞的细胞周期和增殖都有影响提高血清体积分数可使CIK细胞的 $G_1$ 期缩短, 刺激CIK细胞从 $G_1$ 期向S期快速过渡, 使细胞整个增殖周期缩短, 从而促进CIK细胞的增殖。同时通过倒置光显微镜观察发现高血清体积分数组CIK细胞的折光度和细胞形态明显好于低血清体积分数组。实验结果说明血清体积分数越高CIK细胞的增殖效果越明显且细胞形态越好, 但在培养过程

中还需考虑成本的问题, 因此实验在CIK细胞的培养过程中可以根据实际情况适当的提高血清体积分数。

综上所述, 提高培养液的血清体积分数可以使CIK细胞增殖速度加快, 细胞生长状态更好。但进一步研究增大血清体积分数是否会有致瘤性, 以及增大血清体积分数是否会对CIK细胞的杀伤肿瘤细胞, 这些问题将在未来实验进一步观察。

### 4 参考文献

- [1] Han GY, Ren SP, Geng YC, et al. Xiandai Jianshan Yixue Zazhi. 2009;24(2):83-85.  
韩光宇, 任思坡, 耿跃春, 等. 树突细胞联合CIK杀伤肺癌细胞的实验研究[J]. 现代检验医学杂志, 2009, 24(2): 83-85.
- [2] Tan K, Han GY, Ren SP, et al. Zhonghua Quanke Yixue. 2010;8(6): 674-675.  
谭昆, 韩光宇, 任思坡, 等. CIK与树突细胞联合对肾癌细胞的杀伤研究[J]. 中华全科医学, 2010, 8(6): 674-675.
- [3] Shi L, Ren SP, Han GY, et al. Shiyong Yixue Zazhi. 2010;38(18): 3288-3290.  
拾莉, 任思坡, 韩光宇, 等. 细胞因子诱导杀伤细胞抗淋巴瘤细胞作用的研究[J]. 实用医学杂志, 2010, 38(18): 3288-3290.
- [4] Li H, Wang C, Yu J, et al. Dendritic cell-activated cytokine-induced killer cells enhance the anti-tumor effect of chemotherapy on non-small cell lung cancer in patients after surgery. Cytotherapy. 2009;11(8):1076-1083.
- [5] Zhu SX, Zhu JP, Xu M, et al. Jiangsu Yiyao. 2006;32(11):1093.  
朱寿兴, 朱建平, 徐鸣, 等. CIK细胞体外实验研究及治疗肿瘤的临床疗效[J]. 江苏医药, 2006, 32(11): 1093.
- [6] Wu C, Jiang J, Shi L, et al. Prospective study of chemotherapy in combination with cytokine-induced killer cells in patients suffering from advanced non-small cell lung cancer. Anticancer Res. 2008; 28(6):3997-4002.
- [7] Qin L, Wang ZH. Yixue Fenzi Shengwuxue Zazhi. 2007;4(1): 82-85.  
秦莉, 王志华. CIK细胞的体外培养与细胞毒作用[J]. 医学分子生物学杂志, 2007, 4(1): 82-85.
- [8] Shi LY, Liu JB, Liu XL, et al. Zhongliu Jichu yu Linchuang. 2009; 22(2):141-143.  
施玲燕, 刘继斌, 刘晓玲, 等. CIK细胞实验研究及治疗肿瘤的临床疗效观察[J]. 肿瘤基础与临床, 2009, 22(2): 141-143.
- [9] Li D, Yang L, Ding Y, et al. Kouqiang Yixue. 2007;27(5):252-254.  
李东, 杨磊, 丁寅, 等. 不同浓度血清对人牙周膜细胞生长特性的影响[J]. 口腔医学, 2007, 27(5): 252-254.
- [10] Schmidt-Wolf IG, Negrin RS, Kiem HP, et al. Use of a SCID mouse/human lymphoma model to evaluate cytokine-induced killer cells with potent antitumor cell activity. J Exp Med. 1991; 174(1):139-149.
- [11] Linn YC, Wang SM, Hui KM. Comparative gene expression profiling of cytokine induced killer cells in response to acute myeloid leukemic and acute lymphoblastic leukemic stimulators using oligonucleotide arrays. Exp Hematol. 2005;33(6): 671-681.
- [12] Weng DS, Zhou J, Zhou QM, et al. Minimally invasive treatment combined with cytokine-induced killer cells therapy lower the short-term recurrence rates of hepatocellular carcinomas. J Immunother. 2008;31(1):63-71.
- [13] Kornacker M, Moldenhauer G, Herbst M, et al. Cytokine-induced killer cells against autologous CLL: direct cytotoxic effects and induction of immune accessory molecules by interferon-gamma. Int J Cancer. 2006;119(6):1377-1382.
- [14] Franceschetti M, Pievani A, Borleri G, et al. Cytokine-induced killer cells are terminally differentiated activated CD8 cytotoxic TEMRA lymphocytes. Exp Hematol. 2009;37(5):616-628.
- [15] Jiang JT, Shen YP, Wu CP, et al. Increasing the frequency of CIK cells adoptive immunotherapy may decrease risk of death in gastric cancer patients. World J Gastroenterol. 2010;16(48): 6155-6162.
- [16] Introna M, Franceschetti M, Ciocca A, et al. Rapid and massive expansion of cord blood-derived cytokine-induced killer cells: an innovative proposal for the treatment of leukemia relapse after cord blood transplantation. Bone Marrow Transplant. 2006;38(9): 621-627.
- [17] Guo T, He MS, Wang YH, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng yu Linchuang Kangfu. 2009;23(13): 4462-4466.  
郭涛, 何明生, 王廷华, 等. 不同培养基和不同体积分数小牛血清对许旺细胞生长状态的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 23(13): 4462-4466.
- [18] Ying MG, Zheng QH, Cheng YG, et al. Fujian Yike Daxue Xuebao. 2007;5(4):218-221.  
应敏刚, 郑秋红, 陈奕贵, 等. CIK与DC细胞联合治疗145例晚期恶性实体瘤[J]. 福建医科大学学报, 2007, 5(4): 218-221.

- [19] Yang T, Sao JH, Li QY, et al. Zhongliu. 2010;30(8):700-705.  
杨涛,邵江河,李启英,等.树突状细胞联合CIK细胞应用于晚期恶性实体瘤治疗的临床疗效观察[J].肿瘤,2010,30(8):700-705.
- [20] Olloso P, Giancola R, Di Riti M, et al. Immunotherapy with cytokine induced killer cells in solid and hematopoietic tumours: a pilot clinical trial. Hematol Oncol. 2009;27(3):130-139.
- [21] Sangiolo D, Mesiano G, Carnevale SF, et al. Cytokine induced killer cells as adoptive immunotherapy strategy to augment graft versus tumor after hematopoietic cell transplantation. Expert Opin Biol Ther. 2009;9(7):831-840.
- [22] Dong GM. Zhongguo Shengwu Zhipinxue Zazhi. 2007;20(9):697-700.  
董关木.细胞培养用牛血清现状与进展[J].中国生物制品学杂志, 2007, 20(9):697-700.
- [23] State Council of the People's Republic of China. Administrative Regulations on Medical Institution. 1994-09-01.

#### 来自本文课题的更多信息--

**基金资助:** 课题受徐州市科技局社会发展项目 (XZ2006268, XM09B0044)资助, 项目名称: 细胞治疗临床与研究公共实验平台, CIK 细胞的冻存及复苏后再诱导研究。

**作者贡献:** 实验设计, 实施为第一作者, 结果评估为第二、三作者。均受过正规培训。

**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。

**伦理批准:** 根据中华人民共和国国务院颁发的《医疗机构管理条例》, 在实验前将实验方案和风险告知对方, 并签署知情同意书<sup>[23]</sup>。

**本文创新点:** CIK 细胞是由多种细胞因子诱导而成的对多种肿瘤细胞具有杀伤活性的细胞毒性 T 细胞, 在体外可扩增数倍至数百倍不等, 如能改进培养方法使 CIK 细胞扩增更多倍数将会进一步提高 CIK 细胞的杀瘤效果。实验从血清体积分数对 CIK 细胞影响的角度进行研究, 对于改进 CIK 细胞的培养方法与提高其临床治疗效果有参考意义。

## 本期专题: 细胞因子在牙周组织改建中的作用②(本刊中文部)

4 压力作用下牙周组织护骨素与Wnt-1的表达  
秦明群(桂林医学院附属医院, 广西壮族自治区桂林市 541001)

**推荐理由:** 正畸力作用下牙槽骨压力区破骨活跃, 骨质吸收, 张力区成骨活跃, 有新骨形成, 即压力侧和张力侧表现为不同的骨代谢活性。在大鼠正畸牙移动中, 护骨素在压力侧骨吸收部位发挥了重要的防御作用, 抑制破骨细胞的生成, 防止牙槽骨的过度吸收。目前研究已证实正畸骨改建与护骨素密切相关。成骨细胞通过护骨素来影响破骨细胞的生成, 成骨细胞分泌的护骨素作为RANKL的假受体, 竞争性地结合RANKL, 可抑制破骨细胞性骨吸收, 从而调节骨吸收和骨形成的动态平衡。目前研究表明, Wnt-1, Wnt-3a, Wnt-4, Wnt-5a与成骨活性相关, 而其是否在正畸骨改建中表达及与护骨素关系如何尚未有报道。实验从分子和蛋白水平检测Wnt-1和护骨素在正畸大鼠牙周组织压力侧的表达。见2011年11期2009-2012页。

5 增龄因素与压力侧牙周组织Wnt-1及护骨素的表达  
许连静(桂林医学院, 广西壮族自治区桂林市 541004)

**推荐理由:** 护骨素是一种参与骨密度调节的分泌性蛋白质, 仅在骨髓系统内部发挥作用, 能够抑制破骨细胞生成, 促进骨形成, 并维持牙槽骨改建的动态平衡。研究发现增龄因素对护骨素表达具有重要影响。Wnt信号对成骨细胞和破骨细胞具有双向调节作用, Wnt-1是其家族中与骨形成密切相关的因子之一, 而Wnt-1是否也在正畸骨改建中表达以及是否与护骨素一样

受到增龄因素的影响尚未阐明。实验通过对6, 24周龄大鼠压力侧护骨素、Wnt-1表达的检测发现, 增龄因素对护骨素在牙周组织中的表达和对破骨细胞生成具有调节作用, 为进一步探讨有效利用护骨素来控制正畸牙的移动速度提供依据。见2011年7期1174-1178页。

6 血小板衍化生长因子β对体外人牙周膜细胞增殖分化的影响  
林景广(辽宁医学院附属第二医院暨附属口腔医院, 辽宁省锦州市 121000)

**推荐理由:** 如何促进牙髓、牙体硬组织以及牙周组织的生理性修复和再生是已成为牙周病治疗的重点和难点。牙周组织的修复和重建, 有赖于残余牙周膜中牙周韧带细胞在多种生物介质调控下, 完成分裂、趋化、分化和细胞外基质生物合成等一系列关键的细胞活动。在此过程中首先要有一定数量的健康的牙周膜细胞, 而生长因子恰能增强这些细胞的增殖活性。血小板衍化生长因子β对于碱性磷酸酶阳性和阴性的细胞均表现出强大的趋化作用, 并能刺激DNA以及胶原和非胶原蛋白的合成, 从而促进组织的再生。实验观察了血小板衍化生长因子β在牙周膜成纤维细胞增殖过程中的作用。见2011年2期265-268页。

7 正畸牙移动过程中牙周组织白细胞介素8的表达  
潘旭(新疆医科大学第一附属医院口腔科正畸科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054)  
**推荐理由:** 在正畸牙齿移动过程中, 牙周组织的改建是牙齿受力后激活牙周组织内的成骨细胞和破骨细胞, 激发牙周组织的炎症反应,

从而导致牙周组织发生改建, 压力侧牙槽骨吸收, 张力侧牙槽骨增生, 使牙齿移动到新的位置达到矫治目的。故不少学者认为正畸牙移动实质是一个牙周组织的慢性炎症反应性生理过程, 常用牙周炎性细胞因子来研究正畸牙移动。白细胞介素8作为一种与骨改建相关的炎性细胞因子, 参与牙周组织的改建, 促进牙槽骨的吸收, 是骨吸收的标志物之一。目前尚未见到白细胞介素8在正畸牙移动过程中牙周组织表达的研究。实验通过观察正畸力作用下白细胞介素8在大鼠牙周组织表达的变化规律, 探讨其在牙周组织改建中的作用。见2011年20期3737-3740页。

8 2型糖尿病伴牙周病大鼠牙槽骨中转化生长因子β1 mRNA的表达  
曲攀(辽宁医学院附属第二医院, 辽宁省锦州市 121000)

**推荐理由:** 糖尿病可以增加牙周病的发病风险, 可引起牙槽骨吸收增强, 新骨形成缓慢, 牙槽骨丧失, 骨皮质变薄, 其表面成骨细胞数量减少, 而血糖的良好控制能促进牙周的康复。但是, 糖尿病促进牙周病变的具体机制尚未阐明。实验通过对大鼠牙槽骨转化生长因子β1 mRNA表达及根尖区骨密度变化的测定, 探究2型糖尿病促进牙周病变的机制。结果提示2型糖尿病可能通过转化生长因子β1的过表达来促进牙槽骨骨质疏松, 进而说明2型糖尿病可能通过转化生长因子β1的过表达来促进牙周病变。为2型糖尿病患者骨质疏松和牙周病变的发病机制和后续的治疗奠定了基础。见2010年46期8576-8580页。

详见: [www.crter.org/Html/2011\\_10\\_13/264024\\_2011\\_10\\_13\\_170349.html](http://www.crter.org/Html/2011_10_13/264024_2011_10_13_170349.html)