

# 成骨细胞培养在骨组织工程和运动领域的研究进展★

李丽艳, 任塘珂

## Osteoblasts culture in bone tissue engineering and exercise research

Li Li-yan, Ren Tang-ke

### Abstract

**BACKGROUND:** Under different culture and cytokine-stimulated conditions, osteoblasts have different proliferation and differentiation abilities as well as functions.

**OBJECTIVE:** To summarize the progress in *in vitro* culture of osteoblasts as well as proliferative ability of osteoblasts.

**METHODS:** A search of PubMed and Wanfang databases (1990/2011) was performed for articles addressing exercise, osteoblast culture and bone tissue engineering. The keywords were "exercise, osteoblast raise method" in English and "exercise, osteoblast, bone tissue engineering" in Chinese. Unrelated articles or repetitive articles were excluded, and finally 29 articles were included in result analysis.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Osteoblast culture is influenced by the following factors: methods to choose seed cells, pattern of scaffold materials, cytokines, culture environment, and mechanical factors in bone tissue engineering construction. Osteoblasts cultured in different conditions and stimulated by different cytokines have different proliferative and differentiated abilities. The proliferative speed of osteoblasts is closely related to a low shear environment produced by rotating-wall vessel bioreactor, appropriate cytokines and selection of cytoskeleton.

Li LY, Ren TK. Osteoblasts culture in bone tissue engineering and exercise research. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(11): 2043-2046. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

School of Physical Education, Luoyang Normal University, Luoyang 471022, Henan Province, China

Li Li-yan★, Master, Lecturer, School of Physical Education, Luoyang Normal University, Luoyang 471022, Henan Province, China  
Llyan2008dd@126.com

Received: 2011-07-01  
Accepted: 2012-01-26

### 摘要

背景: 成骨细胞在不同的培养环境、细胞因子刺激下增殖、分化及功能不同。

目的: 总结成骨细胞体外培养技术与成骨细胞增殖速度的研究进展。

方法: 检索 1990/2011PubMed 数据库及万方数据库有关运动、成骨细胞培养和骨组织工程等方面的文献,英文检索词为 "exercise, Osteoblast raise method", 中文检索词为 "运动, 成骨细胞, 骨组织工程"。排除与研究目的无关和内容重复者。保留 29 篇文献做进一步分析。

结果与结论: 骨组织工程构建中种子细胞的选择方式、支架材料的不同形式、细胞因子、培养环境、力学因素都对成骨细胞的培养有重要影响。构建骨组织工程中成骨细胞在不同的培养环境、细胞因子刺激下会有不同的增殖能力和分化结果。成骨细胞的增殖速度与旋转壁式生物反应器提供的低剪力环境、适宜的细胞因子、细胞支架的选择密切相关。

关键词: 成骨细胞; 培养; 骨组织工程; 运动; 细胞增殖

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.11.033

李丽艳, 任塘珂. 成骨细胞培养在骨组织工程和运动领域的研究进展[J].中国组织工程研究, 2012, 16(11): 2043-2046. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

## 0 引言

成骨细胞在不同的培养环境、细胞因子刺激下增殖、分化及功能不同。成骨细胞体外培养可克服自体骨嫁接和异体骨移植等传统治疗方法在治疗外伤、先天性骨缺损、骨瘤和其他骨科疾病上的局限性,还可以了解成骨细胞生物学特性,是研究骨质疏松、运动对骨组织的影响和构建骨组织工程的重要手段之一。文章就近年来成骨细胞培养在骨组织工程和运动领域研究取得的成就做一综述。

## 1 资料和方法

**1.1 资料来源** 由第一作者检索 1990/2008 PubMed 数据库、国际科学引文数据库及万方

数据库。英文检索词为 "exercise, Osteoblast, raise method, bone tissue project", 中文检索词为 "运动, 成骨细胞, 培养和骨组织工程"。检索文献量总计 75 篇。

### 1.2 检索方法

**纳入标准:** 有关运动、成骨细胞培养和骨组织工程等方面的文献。

**排除标准:** 重复性研究。

**数据的提取:** 计算机初检得到 57 篇文献, 阅读标题和摘要进行初筛, 排除因研究目的与本文无关及内容重复的研究 28 篇, 共保留其中的 29 篇归纳总结。

**质量评估:** 符合纳入标准的 29 篇文献中, 文献 [1-3] 探讨了在培养器皿中骨组织的基本培养方法, 文献 [4-27] 探讨了不同培养环境的各种因素变化对骨组织工程构建中成骨细胞培养方法的影响, 文献 [28-29] 探讨了组织工程骨的储存、

洛阳师范学院体育学院, 河南省洛阳市 471022

李丽艳★, 女, 1973 年生, 河南省洛阳市人, 汉族, 2006 年扬州大学毕业, 硕士, 讲师, 主要从事骨细胞在运动过程中变化和影响的研究。  
Llyan2008dd@126.com

中图分类号: R318  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225 (2012)11-02043-04

收稿日期: 2011-07-01  
修回日期: 2012-01-26  
(20110701015W · L)

运输方法及与绝经后骨质疏松的关系。

## 2 结果

### 2.1 成骨细胞的基本培养方法

常用的培养方法有骨组织贴片法和骨组织酶原消化法。

酶原消化法分离成骨细胞, 方法为小鼠的颅骨加入 II 型胶原酶溶液, 水浴振荡弃上清液, 重新加入胶原酶溶液消化, 重复 3 次, 集中所有上悬液离心, 倒去上清液, 沉淀用 DMEM 完全培养基混悬细胞。接种于培养皿中, 放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。待生长细胞铺满培养皿 80% 后进行传代。培养液用吸管吹打至细胞分散进行传代<sup>[1]</sup>。

骨组织贴片法为小鼠颅骨剪碎至 1 mm×1 mm 大小的碎片, 均匀铺在细胞培养瓶底部, 置于 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。在原代培养过程中, 每三四天换液 1 次, 细胞生长至 80% 细胞汇合时, 可进行胰蛋白酶消化传代。当细胞形态变圆时终止消化, 离心弃消化液, 加入 DMEM 培养液, 吹打混匀收集细胞悬液, 接种于六孔板中置于 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养, 可获第 1 代成骨细胞。传两三代后, 可使成骨细胞得到纯化, 纯化后的细胞可用于细胞鉴定及其他实验<sup>[2]</sup>。

骨组织酶原消化法可在短期内获得大量细胞, 但对细胞膜表面受体和抗原成分有损伤。骨组织贴片法对细胞损伤小, 但需时间较长, 要 2~4 周才能获得细胞。结合骨组织贴片法和酶原消化法的优点, 先用胰蛋白酶消化骨组织碎块 15 min 除去杂细胞然后再在细胞培养瓶中贴片培养, 可使骨组织贴片松动利于成骨细胞爬出<sup>[3]</sup>。

### 2.2 骨组织工程构建中成骨细胞培养方法的应用

#### 2.2.1 骨组织工程构建中种子细胞的选择方式

骨髓基质干细胞(bone marrow stromal stemcells, BMSCs)是有多向分化潜能的干细胞, 在特定的条件下可向成骨细胞分化, 非常适合做组织工程骨构建的种子细胞。抽取健康成人骨髓组织, 用 Percoll 分离液分离出骨髓中的单个核细胞, 在 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养, 通过传代培养扩增骨髓基质干细胞, 传 3 代时改用含地塞米松、β-甘油磷酸和维生素 C 的条件培养基培养, 用倒置显微镜、苏木精-伊红染色观察增殖和分化情况, 并测定碱性磷酸酶活性和钙结节形成能力。在体外培养的成骨细胞表现出与典型的成骨细胞相似的形态特征和生物学特性<sup>[4]</sup>。间充质干细胞是成体干细胞之一, 具有多向分化潜能。脐血中同样含有间充质干细胞, 收集方法简便, 也可作为组织工程骨构建的种子细胞。脐血经 L-DMEM 稀释后, 制备单个核细胞。多次洗涤后重新悬浮于 L-DMEM 培养基中, 接种于培养瓶中, 置于 CO<sub>2</sub> 培养箱中传代, 可成功培育出成骨细胞<sup>[5]</sup>。骨膜中含有间充质干细胞, 可分化形成骨。自体骨膜移植来源有限, 异体骨膜取用

困难较大。应用组织工程原理和方法, 将人胚骨膜来源成骨细胞接种于生物衍生羊膜支架材料上培育, 检测成骨细胞特异转录因子(Cbfa1)和成骨细胞特异基因(Osterix)mRNA 可正常表达<sup>[6]</sup>。

#### 2.2.2 骨组织工程支架材料的不同形式

生物活性支架材料是种子细胞增殖与分化的平台, 寻找具有三维空间结构的材料支架为组织工程的核心问题之一。将重组人骨形态发生蛋白 2 与壳聚糖为主要基质的支架材料相复合, γ 射线辐射灭菌后接种上原代培养的大鼠成骨细胞。体外培养 3 d 后扫描电镜观察细胞与材料的贴附情况, 可见成骨细胞紧密贴附于材料孔隙内并保持良好的生长状态。将接种有成骨细胞的复合材料植入裸鼠背部皮下, X 射线可见与植入物大小、位置相符的高密度影, 组织学染色证实材料降解及孔隙内硬骨的生成<sup>[7]</sup>。生长因子可促进种子细胞依托生物支架材料在生物体内增殖和分化。成骨细胞在生物活性玻璃与转化生长因子构建的三维立体生物支架中培养, 通过上清液碱性磷酸酶测定, MTT 细胞计数法检测, 成骨细胞在生物活性玻璃/转化生长因子 β 支架表面及空隙内生长状态良好<sup>[8]</sup>。

研究表明成骨细胞能在聚乳酸、海藻酸钙上生长、繁殖。海藻酸钙指标均高于聚乳酸组, 且高浓度组指标均优于低浓度组<sup>[9]</sup>。柠檬酸化硫酸钙可作为骨移植替代材料, 材料浸提液可促进成骨细胞增殖。柠檬酸化硫酸钙对成骨细胞不具有细胞毒性作用, 随着硫酸钙的溶解, 在材料植入部位的局部形成高钙环境, 有利于成骨细胞的增殖和分化, 促进新骨的形成<sup>[10]</sup>。

#### 2.2.3 细胞因子对组织工程骨构建的影响

碱性成纤维生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)是一种具有广谱作用的细胞因子, bFGF 作为一种强有力的促分裂素, 在骨折修复早期, 一方面使成骨细胞大量增殖分化, 促进骨折愈合; 另一方面促进成纤维细胞有丝分裂, 直接参与纤维骨痂的形成。以聚乳酸为包裹材料用复乳-干燥法制备碱性成纤维生长因子聚乳酸纳米微球, 能促进兔颅骨传代 4 次的成骨细胞的增殖及矿化结节的形成<sup>[11]</sup>。大豆苷元具有促进成骨细胞增殖以及分化作用。不同浓度的大豆苷元溶液加入成骨细胞进行培养, 用 MTT 法测定成骨细胞的增殖作用加强, PNPP 法测定碱性磷酸酶活性升高及 RIA 法测定骨钙素含量增加<sup>[12]</sup>。

前列腺素 E2 可以使成骨细胞的形态发生明显变化, 不同剂量的前列腺素 E2 所致细胞形态变化程度各不相同。正常的成骨细胞呈扁平、多角状, 当加入 1 μmol 的前列腺素 E2 时, 细胞开始萎缩; 加入 10 μmol、100 μmol 的前列腺素 E2 时, 18%~30% 的细胞形状拉长。细胞内钙离子浓度升高可增强前列腺素 E2 的这种作用, 蛋白激酶抑制剂 H-8 则抑制前列腺素 E2 这种作用。电镜下观察到, 前列腺素 E2 使成骨细胞形态发生

变化的原因在于使细胞内肌动蛋白断裂, 从而使细胞形态发生变化<sup>[13]</sup>。前列腺素 E2 可促使骨髓细胞 *c-fos*、*c-jun* 和 *egr-1* 基因的表达, 这表明前列腺素 E2 促进骨生成的作用主要是通过加强骨间质细胞向成骨细胞的转化来完成的<sup>[14]</sup>。

成骨生长肽是由 14 个氨基酸组成的多肽因子可刺激成骨细胞和骨髓基质细胞的分化和增殖。Bab 等<sup>[15]</sup>发现人工合成成骨生长肽在低浓度时, 随浓度升高刺激成骨细胞增殖作用增强, 达到最佳作用浓度后再进一步提高药物浓度, 反而抑制细胞增殖。对骨肉瘤细胞系 ROS17/2.8, 合成成骨生长肽的最佳浓度为  $10^{-11} \sim 10^{-8}$  mol/L, 对成骨细胞系 MC3T3 E1, 其最佳浓度为  $10^{-13}$  mol/L。成骨生长肽羧基端片段成骨生长肽 ( $10^{-14}$ ) 及其衍生物 G38I 和 G38K 对成骨细胞的数目和活性的影响也表现为低浓度刺激、高浓度抑制, 3 种药物在  $10^{-11}$  mol/L 时促进成骨细胞增殖的作用最强<sup>[16]</sup>。

**2.2.4 成骨细胞培养环境对组织工程骨构建的影响**  
成骨细胞与骨髓基质细胞混合培养时, 成骨细胞提供的成骨微环境可体外诱导骨髓基质干细胞 BMSCs 向成骨细胞分化, 而且复合支架可形成成熟的骨组织。成骨细胞诱导 BMSCs 有效成骨的最小比值为成骨细胞与 BMSCs 数量为 3 : 7 时, 已可实现有效成骨<sup>[17]</sup>。临床上用骨移植修复骨缺损的基本过程是移植物的血管化、骨再生及骨端融合。移植血管化是关键环节, 其作用贯穿于整个移植修复过程, 对骨再生与融合的方式及效果起决定作用。胚胎干细胞来自附植胚泡内细胞团, 具有多向分化潜能, 可分化诱导为血管内皮细胞和成骨细胞。经过鼠胚成纤维细胞的培养、MEF 饲养层的制备、囊胚的获取与培养、内细胞团的分离和培养等步骤诱导胚胎干细胞分化为血管内皮细胞。将胚胎干细胞和诱导的血管内皮细胞按 1 : 1 的比例接种于培养板上, 加入成骨细胞诱导液可显著促进胚胎干细胞向成骨细胞分化及与血管内皮细胞的融合<sup>[18]</sup>。

人工关节假体无菌性松动与假体磨损诱导的骨溶解有着密切关系, 磨损颗粒对成骨细胞功能的抑制可能亦是假体无菌性松动发生的重要机制。将不同浓度的钛合金颗粒 (1.0、0.1 和 0.01g/L) 与成骨细胞共同培养, 1.0 g/L 和 0.1 g/L 钛合金颗粒抑制了成骨细胞的增殖, 0.01 g/L 组对成骨细胞的增殖影响不明显。不同浓度的钛合金颗粒对成骨细胞碱性磷酸酶的活性和 I 型胶原合成均有抑制作用, 存在一定的剂量-时间-效应关系<sup>[19]</sup>。

模拟失重条件下, 骨髓间质干细胞增殖受抑制, 并向成骨方向转化能力减弱。BMSC 在 3D 回转器中模拟失重力状态, 向成骨分化能力减弱, 成骨标志物 Runx2 的表达下降, PPAR $\gamma$ 2 表达增加。模拟微重力使 ERK 磷酸化降低, 而 P38MAPK 增加, 联合应用增加 Runx2 的骨形态发生蛋白、增加 ERK 磷酸化的 FGF2 和

P38MAPK 的特异抑制剂 SB203580 的实验结果, 提示通过调节不同的信号通路可显著逆转模拟微重力对人 BMSC 向成骨细胞分化的抑制作用<sup>[20]</sup>。高压氧治疗是将患者放置于高压氧舱内进行加压, 使舱内的气压超过 1 个大气压, 同时让患者吸入纯氧或高浓度氧, 使机体得到较高分压的氧气, 以达到治疗疾病的目的。高压氧用于延迟骨愈合、骨不连、放射性骨髓炎等疾病的治疗取得了显著的效果。成骨细胞接受不同条件的高压氧治疗, 分别是 2.4ATA 90 min, 2.4ATA 30 min, 1.5ATA 90 min 和 1.5ATA 30 min。高压氧治疗前后细胞外乳酸脱氢酶含量没有发生改变, 提示了高压氧未对成骨细胞造成毒性影响。高压氧增加了骨结节的形成, 同时钙沉积增加, 碱性磷酸酶的活力也显著增强, 表明高压氧促进了成骨细胞的增殖和分化<sup>[21]</sup>。

自从 Van Wezel 等试验用微载体法悬浮培养动物贴壁细胞获得成功以后, 利用微载体在生物反应器中体外大规模扩增动植物细胞就成为最常用有效的方法。旋转壁式生物反应器 (Rotating Wall Vessel, RWV) 是美国 NASA 为在地面上模拟微重力条件下细胞的生长而开发的一种新型细胞及组织培养装置<sup>[22-23]</sup>。在此种反应器内由于细胞所受剪切力极低, 而且细胞之间有三维联系的机会, 因而所培养的细胞的功能更接近于自然细胞, 并且可形成更接近自然的组织。将适量成骨细胞接种于微载体上制成细胞悬液, 接种于 RWV 的工作腔内。使得细胞与微载体的黏附物能随反应器内外筒一起以较为理想的运行轨迹与转筒一起运动。实验至第 12 天结束, 检测其组织形态和生物功能。成骨细胞在生物反应器中每代可以扩增 10 倍以上, 各种生物指标性能良好。新型旋转壁式生物反应器可以提供低剪切力的培养环境, 细胞之间有三维联系的机会, 成骨细胞表现出良好的体外扩增能力, 适于建立一种理想的成骨细胞体外扩增的三维培养体系<sup>[24]</sup>。

**2.2.5 力学因素对组织工程骨的影响**  
由于在体环境极其复杂, 目前研究细胞水平力学响应主要依赖体外培养的条件。细胞力学响应的研究有基底拉伸、四点弯曲拉伸、流体剪应力组合、流体静压力以及单独流体剪应力刺激等<sup>[25-26]</sup>。研究取孔隙 500~800  $\mu\text{m}$ 、密度 0.36~0.45 g/cm<sup>3</sup> 的生物衍生骨支架, 接种 Wistar 乳鼠第 3 代成骨细胞悬液, 复合培养。其中加载组, 施加表现应变 1 000  $\mu\epsilon$ 、3 Hz、3 min/d 的正弦载荷, 形成成骨细胞力学响应模型。扫描电镜下可见支架表面有梭形成骨细胞附着。于培养后 1, 4, 8, 12, 16, 20, 24 和 28 d, 采用 MTT 法检测加载组成骨细胞增殖快<sup>[27]</sup>。

**2.3 组织工程骨的储存、运输方法**  
采用深低温冻干技术处理, 保留组织工程骨内具有促进成骨作用细胞因子的基础上, 将种子细胞杀死, 既可保留组织工程骨大部分的成骨活性, 又可降低运输条件限制。研究用人 BMSCs

与 DBM 复合构建组织工程骨, 分别于体外孵育 3, 5, 7, 9, 12, 15 d 经过低温干燥后得到冻干组织工程骨, 并将体外培养不同时间点的组织工程骨和冻干组织工程骨行扫描电镜观察。Western blot 法检测组织工程骨和冻干组织工程骨内成骨相关蛋白骨形态发生蛋白 2、转化生长因子  $\beta$ 、胰岛素样生长因子 1 的变化。将冻干组织工程骨、组织工程骨和 DBM 分别移植于裸鼠皮下进行异位成骨实验。扫描电镜观察示, 组织工程骨中种子细胞保持正常形态, 随着培养时间的延长分泌细胞外基质逐渐增加; 冻干组织工程骨内的种子细胞脱水皱缩而亡, 细胞外基质位于疏松的 DBM 支架材料中。术后 8, 12 周, 组织工程骨和冻干组织工程骨移植裸鼠皮下可以实现较好的异位成骨。冻干组织工程骨与组织工程骨具有相似的成骨活性, 为组织工程骨的储存和运输提供了一种新的策略和方法<sup>[28]</sup>。

**2.4 成骨细胞培养方法研究绝经后骨质疏松机制** 绝经后骨质疏松的病理机制十分复杂, 骨吸收相对或绝对增强导致的骨吸收-骨形成脱耦联是其关键病理环节。目前对于成骨-破骨耦联及相关机制研究正不断深入, 而骨保护素又成为研究中的热点。雌性大鼠随机分为 3 组: 正常对照组、去势组、去势后运动组, 在跑台上进行中强度运动 10 周。对股骨骨髓基质干细胞进行成骨细胞诱导培养, 细胞培养至 14 d 抽提细胞内总 RNA, RT-PCR 方法半定量检测各组细胞骨保护素基因 mRNA 表达量。雌激素缺乏后骨髓微环境中骨保护素基因 mRNA 表达降低, 运动抑制去卵巢大鼠的骨吸收亢进可能与促进骨髓微环境中骨保护素基因表达有关<sup>[29]</sup>。

### 3 讨论

成骨细胞体外培养技术不仅是研究成骨细胞生物学特性及功能调节的重要工具, 而且常用来研究代谢性骨病和构建骨组织工程。构建骨组织工程中成骨细胞在不同的培养环境、细胞因子刺激下会有不同的增殖能力和分化结果。如何快速扩增成骨细胞及与在体环境相仿的情况下成骨细胞仍能保持良好的增殖能力是今后的骨组织工程研究方向。

### 4 参考文献

[1] 刘岳强, 刘开泰, 杨晓燕, 等. 大鼠成骨细胞体外培养[J]. 中国实验动物学报, 2007, 15(3): 231-234.  
 [2] 符毓豪, 王菊. 小鼠成骨细胞体外分离培养及鉴定[J]. 农垦医学, 2008, 30(6): 455-457.  
 [3] 李建华, 尹美珍. 兔成骨细胞体外培养体系的研究[J]. 武汉理工大学学报, 2007, 29(4): 55-58.  
 [4] 丁亮华, 罗光华. 成人骨髓基质干细胞体外成骨细胞分化诱导[J]. 中国生物医学学报, 2006, 25(3): 333-336.  
 [5] 程志安, 沈慧勇. 脐血间充质干细胞的生物学特性及其成骨细胞定向诱导[J]. 中国矫形外科杂志, 2004, 12(20): 1571-1574.  
 [6] 祁洁, 杨志明. 成骨细胞 Cbfa1 和 Osterix 基因在体外构建组织工程骨膜中的表达[J]. 中国重复重建外科杂志, 2006, 20(6): 666-668.

[7] 左爱军, 梁东春, 王宝利, 等. rhBMP-2 对壳聚糖复合成骨细胞后的成骨活性影响[J]. 中国生物工程杂志, 2006, 26(5): 33-37.  
 [8] 许少刚, 赵健宁. 成骨细胞在生物活性玻璃与 TGF- $\beta$  复合生物支架上培养的实验研究[J]. 中国骨伤, 2007, 20(5): 295-298.  
 [9] 向川, 魏小川. 聚乳酸和海藻酸钠体外复合培养人成骨细胞的对比研究[J]. 华中科技大学学报, 2005, 34(3): 334-336.  
 [10] 陈华, 张伯勋, 张巨松, 等. 柠檬酸二硫酸钙对鼠成骨细胞增殖、分化的影响[J]. 军医进修学院学报, 2006, 27(2): 88-91.  
 [11] 张纲, 元连军, 谭颖徽, 等. bFGF-PLA-Ns 对体外培养成骨细胞增殖、分化的影响[J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(21): 2073-2075.  
 [12] 孙鹏, 毛羽, 陆一原, 等. 大豆苷元对体外培养大鼠成骨细胞增殖与分化的影响[J]. 北华大学学报, 2007, 8(4): 344-346.  
 [13] Weinreb M, Suponitzky I, Keila S. Systemic administration of anabolic dose of PGE2 in young rats increases the osteogenic capacity of bone marrow. Bone. 2008; 20(6): 521-526.  
 [14] Yang RS, Fu WM, Wang SM, et al. Morphological Changes Induced by Prostaglandin E in Cultured Rat Osteoblasts. Bone. 2007; 22(6): 629-636.  
 [15] Bab IT, Gazit DT, Chorev MT, et al. Histone H4-related osteogenic growth peptide: a novel circulating stimulator of osteoblastic activity. EMBO J. 2006; 11(5): 1867.  
 [16] 刘虹丽, 丁晓颖. 成骨生长肽羧基端片段及其衍生物对成骨细胞作用的体外研究[J]. 天津医科大学学报, 2005, 11(3): 349-352.  
 [17] 刘宁, 查振刚, 王双利, 等. 成骨细胞诱导骨髓基质细胞体外成骨的初步研究[J]. 暨南大学学报, 2009, 30(4): 414-416.  
 [18] 施文军, 王东. 胚胎干细胞诱导的内皮细胞对自身向成骨细胞分化的影响[J]. 中国医疗前沿, 2010, 5(6): 16-17.  
 [19] 徐炜, 董启榕. 钛合金颗粒对体外培养成骨细胞的作用[J]. 江苏医药, 2008, 34(2): 150-152.  
 [20] 吴东, 吴建珊. 高压氧对体外培养的成骨细胞增殖和分化的影响[J]. 生物化学与生物物理进展, 2008, 35(7): 791-793.  
 [21] Zheng Q, Hung G, Yang J, et al. Could the effect of modeled microgravity on osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells be reversed by regulation of signaling pathways? Biol Chem. 2007; 388: 755-763.  
 [22] Schwarz RP, Goodwin TJ, Wolf DA. Cell culture for three-dimensional modeling in rotating-wall vessels: an application of simulated microgravity. Tissue Cult Method. 2008; 14: 51-58.  
 [23] Jessup JM, Goodwin TJ, Spaulding G. Prospects for use of microgravity-based bioreactors to study three-dimensional host-tumor interactions in human neoplasia. Cell Biochem. 2007; 51: 290-300.  
 [24] 宋克东, 刘天庆. 成骨细胞在旋转壁式生物反应器内的大规模扩增[J]. 中国生物医学学报, 2005, 24(2): 134-136.  
 [25] 张西正, 张春秋. 三维支架条件下成骨细胞力学响应的模型[J]. 中国重复重建外科杂志, 2006, 20(1): 58-61.  
 [26] 侯天勇, 罗飞. 冻干组织工程骨与组织工程骨成骨活性比较研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2010, 24(7): 779-782.  
 [27] Tang LL, Wang YL, Pan J, et al. The effect of step-wise increased stretching on rat calvarial osteoblast collagen production. Biomech. 2008; 37(1): 157-161.  
 [28] Takai E, Mauck RL, Hung CT, et al. Osteocyte viability and regulation of osteoblast function in a 3D trabecular bone explant under dynamic hydrostatic pressure. Bone Miner Res. 2008; 19(9): 1403-1410.  
 [29] 陈一冰, 李靖. 运动对去势大鼠成骨细胞 OPG mRNA 表达的影响[J]. 体育科学, 2005, 25(2): 68-72.

**作者贡献:** 第一作者解析相关数据、构思并设计本综述, 第一作者对本文负责。第二作者审核。

**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。

**伦理要求:** 无涉及伦理冲突的内容。

**此问题的已知信息:** 成骨细胞体外培养可克服自体骨嫁接和异体骨移植等传统治疗方法在治疗骨外伤、先天性骨缺损、骨瘤和其他骨科疾病上的局限性, 是骨科治疗疾病方法的又一突破性进展。

**本综述增加的新信息:** 成骨细胞的增殖速度与旋转壁式生物反应器提供的低剪力环境、适宜的细胞因子、细胞支架的选择密切相关。

**临床应用的启示:** 进一步探索成骨细胞体外培养技术, 对于提高骨科疾病的治愈率、加快骨代谢性疾病的研究以及进一步深入了解和完善成骨细胞生物学特性及功能调节有着重要的意义。