

三种贵金属烤瓷合金与高糖对小鼠成纤维细胞L-929增殖的影响*

谢晖¹, 范兆乾², 方颖¹

Effects of three kinds of noble ceramic alloys and high glucose on proliferation of L-929 cells in mice

Xie Hui¹, Fan Zhao-qian², Fang Ying¹

Abstract

BACKGROUND: The oral environments of diabetic patients were special, and there are few studies on safety of dental restorative materials for these patients.

OBJECTIVE: To observe the effects of three kinds of noble ceramic alloys and high glucose on proliferation of mouse fibroblasts L-929 cultured *in vitro*.

METHODS: 89% Au-base alloy, 74% Au-base alloy and silver-palladium alloy were immersed in mediums with different glucose concentrations (11.1, 22.2, and 33.3 mmol/L) for extraction. Mouse fibroblasts L-929 were co-cultured with the extraction. The control group was set up.

RESULTS AND CONCLUSION: Proliferative activities of L-929 cells cultured in mediums with different glucose concentrations and different noble ceramic alloys were different, and the two-factor interactions at 24 and 72 hours existed ($P < 0.05$). The proliferation of L-929 cells cultured by 89% Au-base alloy and 22.2 mmol/L high glucose concentration was more faster than the control group ($P=0.004$), while the silver-palladium alloy could inhibit the proliferation ($P < 0.001$). However, no significant difference was found among the 74% Au-base alloy groups with different glucose concentrations and the control group. It is suggested that 74% Au-alloy with different glucose concentrations among these three kinds of materials has the least effects on cell proliferation.

Xie H, Fan ZQ, Fang Y. Effects of three kinds of noble ceramic alloys and high glucose on proliferation of L-929 cells in mice. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(12): 2171-2174. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 糖尿病患者这一特殊群体口腔环境较为特殊, 关于口腔修复材料在这类患者应用的安全性研究较少见报道。

目的: 检测3种贵金属烤瓷合金与高糖对体外培养的小鼠成纤维细胞L-929增殖的影响。

方法: 将89%金合金、74%金合金、银钯合金3种烤瓷材料浸泡在不同糖浓度(11.1, 22.2, 33.3 mmol/L)的培养液中浸提, 将所得的浸提液与小鼠成纤维细胞L-929共培养。同期设立空白对照。

结果与结论: L-929在不同贵金属烤瓷合金和不同糖浓度的细胞培养液中的增殖活性不同, 24, 72 h两因素交互作用的 P 值均小于0.05。与阴性对照组相比, 22.2 mmol/L糖浓度下89%金合金促进细胞的增殖($P=0.004$), 银钯合金则抑制细胞的增殖($P < 0.001$), 74%金合金在不同糖浓度的培养液中与阴性对照组相比其细胞的增殖活性差异无显著性意义。结果表明, 上述3种材料中74%金合金在不同糖浓度下对细胞增殖的影响最小。

关键词: 贵金属烤瓷合金; 高糖; 金合金; 银钯合金; 小鼠成纤维细胞; 增殖

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.12.019

谢晖, 范兆乾, 方颖. 三种贵金属烤瓷合金与高糖对小鼠成纤维细胞L-929增殖的影响[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(12):2171-2174. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

研究表明, 金属烤瓷合金中析出的金属离子对细胞有一定的毒性作用^[1-3], 改变细胞炎症递质的表达^[4]。即使贵金属烤瓷合金也不例外^[5]。而某些全身疾病如糖尿病也会引发口腔疾病^[6], 糖尿病与烤瓷冠修复同样增加了牙周炎的易感性^[7], 那么糖尿病患者行金属基底烤瓷冠、桥修复术后, 面临着合金腐蚀所释放的金属离子以及内环境高糖的双重威胁, 二者是否会影响牙周软组织细胞的活性, 加重牙龈牙周的炎症变化? 以及二者是否存在交互作用? 实验采用析因设计, 将3种贵金属烤瓷合金浸泡在不同糖浓度的细胞培养液中, 将所得的浸提液

与细胞共培养, 采用四甲基偶氮唑盐(MTT)比色法检测细胞的增殖活性, 模拟临床烤瓷冠金属基底的腐蚀产物对于糖尿病患者牙周软组织细胞活性的影响, 探讨临床工作中糖尿病患者行烤瓷冠修复时其牙周所面临的危险因素。探讨金属离子与高糖对细胞活性的影响以及二者之间的交互作用。

1 材料和方法

设计: 对比观察。

时间及地点: 实验于2008-07/2009-07在山西医科大学中心实验室完成。

材料: 小鼠成纤维细胞L-929由解放军第四军医大学提供。

¹Stomatology Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510140, Guangdong Province, China; ²Department of Equipment Production, Anhui Branch of Henan Coal Chemical Group, Anyang 455133, Henan Province, China

Xie Hui★, Master, Attending physician, Stomatology Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510140, Guangdong Province, China Xiehui1317@163.com

Received: 2011-08-16
Accepted: 2011-11-08

¹ 广州医学院口腔医院, 广东省广州市 510140; ² 河南煤化集团安化分公司设备制作部, 河南省安阳市 455133

谢晖★, 女, 1974年生, 湖北省天门人, 汉族, 2007年山西医科大学毕业, 硕士, 主治医师, 主要从事口腔修复材料与临床应用研究。Xiehui1317@163.com

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2012)12-02171-04

收稿日期: 2011-08-16
修回日期: 2011-11-08
(20110816015/W · L)

金属材料:

金属材料	来源
89%金合金	北京瑞麟金业技术开发有限公司
74%金合金, 银钯合金	All dental Q&Co AB

材料含Au-Pt-Pd-Ag, 合金成分见表1。

表 1 三种贵金属合金组成成分表 Table 1 Compositions of the three noble ceramic alloys (%)			
Composition	89% Au-base alloy	74% Au-base alloy	Silver-palladium alloy
Au	89.4	74.0	2.0
Pt	5.8	4.0	0.0
Pd	1.6	7.6	26.0
Ag	1.3	10.8	59.0
Others	1.9	3.6	13.0

实验方法:

细胞系培养: 将小鼠成纤维细胞L-929培养于含体积分数10%胎牛血清的RPMI1640细胞培养液中, 于35 mL培养瓶、37℃、体积分数5%的CO₂培养箱中培养。当培养细胞密度约70%~80%时传代。弃培养瓶中培养液, 加2.5 g/L胰酶中和残余培养液后倒掉胰酶, 再次加少量胰酶消化贴壁细胞两分钟, 向培养瓶中加入10 mL培养液并轻轻吹打瓶壁使细胞脱落; 按1:3比例传代培养于35 mL培养瓶中。

金属试件制备: 表1中各材料按临床常规方法铸造成10 mm×10 mm×1 mm的试片, 并抛光成镜面。试片经无水乙醇超声洗涤15 min, 三蒸水冲洗3次, 烘干备用。合金试片实验前经121℃高压灭菌20 min, 放入培养瓶中。

浸提液制备: 无菌下将葡萄糖按一定比例溶入新鲜配制的RPMI培养液, 得到糖浓度分别为11.1, 22.2, 33.3 mmol/L的培养液。将制备的金属试片以1 mL/cm²比率浸泡于上述3种培养液, 在37℃、体积分数5%CO₂条件下连续浸提5 d后并经0.22 μm孔径滤膜过滤除菌, 获得含糖浓度分别11.1, 22.2, 33.3 mmol/L的不同贵金属烤瓷合金浸提液。同期设立空白对照。

实验分组: 实验分为阴性(空白)对照组、89%高金组, 74%金合金组, 银钯合金组, 分别经11.1, 22.2, 33.3 mmol/L不同浓度糖培养液浸提。

浸提液与L-929细胞共培养: 将小鼠结缔组织成纤维细胞(L-929)用培养液制备成浓度为4×10⁷ L⁻¹的细胞悬液, 转种至96孔培养板, 每孔0.1 mL: 培养24 h以使细胞贴壁。24 h后舍弃原培养液, 换用以上制得的各组浸提液, 放入CO₂培养箱(37℃, 饱和湿度, 体积分数5%CO₂和95%空气)中继续培养, 96孔板每个实验组6孔, 24, 72 h行MTT比色法测定每孔吸光度(A)值。

主要观察指标: 各组的细胞增殖情况。

统计学分析: 采用SPSS 17.0软件行析因设计方差

分析, A值均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两因素析因设计分析贵金属烤瓷合金浸提液与高糖对细胞的增殖的交互作用。

2 结果

贵金属烤瓷合金浸提液与高糖对细胞的增殖的交互作用: 见表2~5。

表 2 各组合金浸提液在不同糖浓度下培养细胞 24 h 的 A 值
Table 2 The absorbance values of cells cultured in mediums with different glucose concentrations for 24 h ($\bar{x} \pm s$)

Group	Normal glucose concentration (11.1 mmol/L)	High glucose concentration (22.2 mmol/L)	High glucose concentration (33.3 mmol/L)
Control	1.032±0.162	0.897±0.194	1.045±0.197
89% Au-base alloy	1.032±0.024	1.011±0.129	0.908±0.092
74% Au-base alloy	1.125±0.156	0.927±0.105	1.073±0.089
Silver-palladium alloy	0.928±0.223	0.827±0.084	1.061±0.054

表 3 两因素交互作用 24 h 统计表
Table 3 Statistics of two-factor interactions for 24 h

Original data	Sum of square	Mean square	Variance	P
Correction coefficient	1.670	0.119	7.544	0.000
Intercept	78.249	78.249	4948.961	0.000
Alloy factor	1.227	0.307	19.394	0.000
Glucose factor	0.123	0.062	8.342	0.025
Alloy-glucose interaction	0.320	0.040	2.533	0.017

表 4 各组合金浸提液在不同糖浓度下培养细胞 72 h 的 A 值
Table 4 The absorbance values of cells cultured in mediums with different glucose concentrations for 72 h ($\bar{x} \pm s$)

Group	Normal glucose concentration (11.1 mmol/L)	High glucose concentration (22.2 mmol/L)	High glucose concentration (33.3 mmol/L)
Control	0.999±0.052	1.067±0.072	1.085±0.039
89% Au-base alloy	0.861±0.042	0.951±0.052	0.809±0.067
74% Au-base alloy	1.085±0.088	0.898±0.105	1.102±0.102
Silver-palladium alloy	1.035±0.058	0.741±0.043	0.864±0.069

表 5 两因素交互作用 72 h 统计表
Table 5 Statistics of two-factor interactions for 72 h

Original data	Sum of square	Mean square	Variance	P
Correction coefficient	2.443	0.175	41.667	0.000
Intercept	72.151	72.151	7227.624	0.000
Alloy factor	1.899	0.475	113.349	0.000
Glucose factor	0.025	0.012	2.974	0.057
Alloy-glucose interaction	0.519	0.065	15.498	0.000

对24, 72 h数据进行统计, 结果表明: 不同合金与不同浓度的糖对细胞增殖的影响是不同的, 两因素的交互作用有统计学意义(P 值分别为0.017, 0.000)。

24 h时89%金合金与高糖对细胞增殖的交互作用有显著性意义($P=0.003<0.05$)。22.2 mmol/L糖浓度的89%金合金浸提液与正常糖浓度下89%金合金浸提液中细胞增殖活性相比 $P=0.004$, 95%置信区间(0.021 7, 0.136 3), 22.2 mmol/L糖浓度的89%金合金浸提液与33.3 mmol/L糖浓度下89%金合金浸提液相比 $P=0.03$, 95%置信区间(0.004 7, 0.119 3), 22.2 mmol/L糖浓度与89%金合金浸提液交互作用促进细胞的增殖。

74%金合金与高糖交互作用 $P=0.002$, 正常糖浓度下的74%金合金浸提液与其他两组高糖下的浸提液细胞增殖相比, 其差异无显著性意义。

银钯合金与高糖对细胞增殖的交互作用 $P=0.000<0.05$, 其中22.2 mmol/L糖浓度下银钯合金与正常糖浓度下银钯合金组相比 $P=0.000<0.05$, 95%置信区间(-0.171 6, -0.053 9), 22.2 mmol/L糖浓度下银钯合金与33.3 mmol/L糖浓度下银钯合金组相比 $P=0.015<0.05$, 95%置信区间(-0.129 2, -0.011 5), 22.2 mmol/L糖浓度下银钯合金浸提液抑制细胞的增殖。

3 讨论

传统观点认为, 糖尿病患者牙周多有萎缩、牙冠增长、牙齿常有松动, 牙周组织代偿功能降低, 承担殆力减退, 如采用固定义齿修复, 容易造成基牙的牙周组织损伤, 不宜选择固定义齿^[8]。但是, 随着经济和医疗条件的不断提高, 该类患者的失牙逐渐减少, 其牙体、牙根保存修复日益好转。烤瓷冠舒适、方便、美观, 易为患者接受, 所以仍不失为一种选择。

口腔修复用金属析出离子所具有的生物学效应一直受到人们的关注, 体外评价试验表明, 镍、铬、铜等修复体常用金属元素的离子会抑制成纤维细胞的生长, 具有一定的细胞毒性^[9-12]。金属烤瓷修复所用的合金与一般牙科用的合金材料不同, 其合金材料有特殊要求, 并在组成中添加有微量元素^[13], 故其生物安全性尤为重要。许多学者就口腔修复所用材料的细胞毒性进行了体内体外的研究^[14-15], 有的学者从微观角度进行了研究^[16], 还有学者对正畸科以及种植科所用的材料也进行了检验^[17-18]。

作者在前期的研究中发现, 不同的贵金属烤瓷合金对细胞的毒性以及对细胞因子的分泌影响是不同的。口腔生物材料逐渐标准化, 为临床安全使用提供了可靠保证。但是面对修复科某些特殊的群体, 临床医生能否正确选择和使用, 仍是一个非常重要的问题^[8]。本实验结果表明不同的烤瓷合金的浸液物对细胞增殖的影响有

差异, 验证了作者以往的研究。同时也发现不同的糖浓度对细胞增殖的影响也不相同, 除此以外, 还发现3种贵金属烤瓷合金浸提液与高糖二因素对体外培养的细胞的增殖活性影响之间存在交互效应。

口腔内显露的金属以唾液、龈沟液为电解质, 使金属表面的金属离子溶解析出。当析出物超出人体生理耐受量时便会引起局部或全身的损害^[19]。国外已有学者在研究中发现糖尿病患者在高血糖同时伴有体内金属离子代谢的紊乱^[20-22]。本次检测的3种贵金属烤瓷合金中, 3种合金浸提液与高糖之间均存在交互效应, 但74%金合金在不同糖浓度下对细胞增殖的影响最小。推测可能是74%金合金析出物最少, 或者析出的离子有差异造成的, 至于其浸提液的具体成分, 以及何种成分与高糖对细胞的增殖产生交互效应的有关机制还有待进一步证实。而国外有学者的研究报道可利用金粒与葡萄糖之间的交互效应产生的颜色变化用于尿糖的检验^[23], 以及基因重组等技术上的使用^[24-26]。还有学者对断奶后的小牛饮食添加铬发现有助于小牛的胰岛素代谢, 改变血清激素及血糖水平, 对小牛的生长影响较小^[27]。

另外在临床工作中, 烤瓷金属在给患者待用之前不仅要进行铸造, 还需要在烤瓷炉中反复烧结, 烧结后组织面也无法抛光。实验所采用的试件只进行了一次铸造并抛光, 与临床有一定的差距, 属本研究的不足之处。

致谢: 该课题所有经费均来源于河南煤化集团安化分公司设备制作部范兆乾先生, 在此表示深深的谢意。

4 参考文献

- [1] Li Y, Wong C, Xiong J, et al. Cytotoxicity of titanium and titanium alloying elements. *J Dent Res*. 2010;89(5):493-497.
- [2] Tsousi A, Jones E, Case CP. The in vitro genotoxicity of orthopaedic ceramic (Al₂O₃) and metal (CoCr alloy) particles. *Mutat Res*. 2010;29:697(1-2):1-9.
- [3] Meng H, Han D, Zhan DS. Effects of different dental alloys on cytotoxic and apoptosis related genes expression of mouse fibroblast cells L929. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2009;44(8):497-501.
- [4] Wu HY, Wang RF, Liu XY, et al. KouQiang Hemianxiufuxue Zazhi. 2007;8(3):161-163.
武红艳, 王仁飞, 刘秀艳, 等. 3种牙科合金对龈沟液中IL-6和TNF- α 表达的影响[J]. 口腔颌面修复学杂志, 2007, 8(3):161-163.
- [5] Xie H, Luo XJ, Chen XJ, et al. DuLiXue Zazhi. 2009;23(5):418-420.
谢晖, 罗晓晋, 陈显久, 等. 三种贵金属烤瓷合金的浸液物细胞毒性研究[J]. 毒理学杂志, 2009, 23(5):418-420.
- [6] Ye RG. Beijing: People's Medical Publishing House. 2001:98.
- [7] Wang LX, Shao JH, Liu Y. KouQiang Hemianxiufuxue Zazhi. 2005;6(3):196-198.
王立新, 邵江红, 刘洋. 烤瓷冠修复对非依赖型糖尿病患者牙周状况的影响[J]. 口腔颌面修复学杂志, 2005, 6(3):196-198.
- [8] Sheng W. ZhongHua Laonian KouQiangYiXue ZaZhi. 2006;4(3):162-164.
盛薇. 老年糖尿病患者义齿修复临床探讨[J]. 中华老年口腔医学志, 2006, 4(3):162-164.
- [9] Chen ZQ. Beijing: Huaxue Gongye Chubanshe. 2004:3-341.
陈治清. 口腔生物材料学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004:3-341.
- [10] Yu SR. JinShu GongNeng Cailiao. 2000;7(1) 4-9.
于思荣. 金属系牙科材料的应用现状及部分元素的毒副作用[J]. 金属功能材料, 2000, 7(1) 4-9.
- [11] Qiao GY, Shen QP, Su JS. Study on cytotoxicity of three kinds of dental ceramic alloys on L929 mouse fibroblasts in vitro. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*. 2010;19(1):72-76.
- [12] Zhang F, Weidmann A, Nebe JB, et al. Preparation, microstructures, mechanical properties, and cytocompatibility of TiMn alloys for biomedical applications. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2010;94(2):406-413.

- [13] Yong Z, Ji-ying W. Study on the cytotoxicity induced by ceramic alloys. Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi. 2010;26(9):929-930.
- [14] Contreras RG, Vilchis JR, Sakagami H, et al. Type of cell death induced by seven metals in cultured mouse osteoblastic cells. In vivo. 2010;24(4):507-512.
- [15] Contreras RG, Sakagami H, Nakajima H, et al. Type of cell death induced by various metal cations in cultured human gingival fibroblasts. In Vivo. 2010;24(4):513-517.
- [16] Wang X, Xia Y, Liu L, et al. Comparison of MTT assay, flow cytometry, and RT-PCR in the evaluation of cytotoxicity of five prosthodontic materials. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2010;95(2):357-364.
- [17] Hafez HS, Selim EM, Kamel Eid FH, et al. Cytotoxicity, genotoxicity, and metal release in patients with fixed orthodontic appliances: a longitudinal in-vivo study. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2011;140(3):298-308.
- [18] Velasco-Ortega E, Jos A, Cameán AM, et al. In vitro evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of a commercial titanium alloy for dental implantology. Mutat Res. 2010;30;702(1):17-23.
- [19] Wang K. Beijing: Zhongguo Jiliang Chubanshe. 1996:162-163. 王夔. 生命科学中的微量元素[M]. 北京: 中国计量出版社, 1996: 162-163
- [20] Mojiminiyi OA, Marouf R, Abdella NA. Body iron stores in relation to the metabolic syndrome, glycemic control and complications in female patients with type 2 diabetes Nutrition, Metabolism & Cardiovascular diseases 2008;(18):559-566
- [21] Sciacca MF, Pappalardo M, Milardi D, et al. Calcium-activated membrane interaction of the islet amyloid polypeptide: Implications in the pathogenesis of type II diabetes mellitus Archives of Biochemistry and Biophysics. 2008;(477):291-298
- [22] Uriu-Adams JY, Rucker RB, Comisso JF. Diabetes and dietary copper alter 67Cu metabolism and oxidant defense in the rat. Journal of Nutritional Biochemistry 2005;(16):312-320.
- [23] Radhakumary C, Sreenivasan K. Naked eye detection of glucose in urine using glucose oxidase immobilized gold nanoparticles. Anal Chem. 2011;83(7):2829-2833.
- [24] Nata IF, El-Safory NS, Lee CK. Carbonaceous materials passivation on amine functionalized magnetic nanoparticles and its application for metal affinity isolation of recombinant protein. ACS Appl Mater Interfaces. 2011;3(9):3342-3349.
- [25] Dalla Cort A, Forte G, Schiaffino L. Anion recognition in water with use of a neutral uranyl-salophen receptor. J Org Chem. 2011; 76(18):7569-7572.
- [26] Purohit M, Sassi-Gaha S, Rest RF. Rapid sporulation of Bacillus anthracis in a high iron, glucose-free medium. J Microbiol Methods. 2010;82(3):282-287.
- [27] Yari M, Nikkha A, Alikhani M, et al. Physiological calf responses to increased chromium supply in summer. J Dairy Sci. 2010;93(9): 4111-4120.

来自本文课题的更多信息——

作者贡献: 设计为第一作者、实施为山西医科大学中心实验室张华屏教授、评估为第三作者，是盲法评估。

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: 没有与相关伦理道德冲突的内容。

本文创新性: 实验结果层面上的创新性的具体体现是初步探讨了合金浸提液中的某些成分与葡萄糖一起存在于细胞外液时，会对细胞的增殖产生交互效应。也提示临床医师对于特殊群体的生物材料的选择一定要谨慎。

本期专题：骨组织工程细胞外基质材料②

5 异种脱蛋白松质骨支架体内移植后血清T细胞亚群的变化

高春阳(牡丹江医学院红旗医院骨科, 黑龙江省牡丹江市 157011)

推荐理由: 异种脱蛋白松质骨作为骨组织工程支架具有独特的优越性, 其中最具有吸引力的就是来源广泛且不存在社会伦理学问题。以往研究中未发现异种脱蛋白松质骨对个体间充质干细胞的生物学特性有不良影响, 显示了良好的细胞相容性, 以其为支架构建的组织工程骨在脊柱横突间成骨融合作用也另人鼓舞。这暗示异种脱蛋白松质骨可能成为一种极有实用价值的骨组织工程支架材料, 但因为缺少细胞生物学及免疫学论证, 很难在市场上商业化。按照移植免疫学理论, 异种材料移植会导致免疫反应, 这是由其自身的主要组织相容性复合物决定的。医用生物材料植入到体内到底免疫反应如何关系到能否作为支架材料应用于组织工程, 进而应用于临床。为此实验针对异种脱蛋白骨免疫原性及大动物体内植入后相关免疫学指标检测以评价其可行性。

6 骨髓间充质干细胞与同种异体脱钙骨基质组合生长因子诱导向软骨细胞分化

徐 斌(安徽医科大学第一附属医院骨科, 安徽省合肥市 230022)

推荐理由: 组织工程软骨的建立和发展对软骨缺损的修复提出了一条新的思路和途径。但是, 目前的组织工程软骨培养仍存在诸多问题, 如去分化的软骨细胞在体外培养代数有限; 采用软骨细胞注射的方法易致细胞外漏且分布不均匀, 移植后软骨的易出现不规则退化等。另外移植软骨与正常软骨之间的生物相容性和

组织工程软骨的生物力学方面也需要进一步研究。关节内软骨游离体表面的软骨能够在膝关节内长久保持生理学活性和组织学特性, 提示关节腔内存在维持软骨生物活性的微环境, 可能成为组织工程软骨的优良培育场所, 并能够提供软骨细胞生长所需的各种细胞因子及应力刺激等因素。实验设计用细胞因子刺激骨髓间充质干细胞向软骨细胞分化后作为种子细胞在兔膝关节腔内培养组织工程软骨, 提倡“腔内培养, 腔内移植”的新理念。

7 兔肋软骨脱细胞基质的制备

刘萌萌(山东大学附属省立医院烧伤整形科, 山东省济南市 250021)

推荐理由: 组织工程研究的3大基本要素是种子细胞、载体材料及生物活性分子。软骨脱细胞基质是一种天然生物支架材料, 其性能作用更接近于生物体内自生组织, 因其去除了细胞所含抗原性, 与种子细胞具有良好的相容性。目前对于脱细胞真皮、骨组织及瓣膜材料的研究较多, 部分研究已经应用于临床, 但脱细胞软骨的研究仍较少。临床经验证实软骨缺损确实是临床器官及组织修复的较大障碍, 目前尚没有很好的解决方案, 软骨的组织工程替代物的研究显得更为迫切。目前国内有一些研究均利用兔脱细胞软骨构建天然组织工程支架并获得一定成果, 证实天然脱细胞软骨支架可以作为良好的组织工程支架材料。肋软骨属透明软骨, 临床上自体肋软骨已被广泛的应用于人体器官组织再造及缺损的填充修复, 因肋软骨来源较广泛, 取材方便, 因此实验以兔肋软骨作为软骨材料来源, 进行脱细胞研究。

异体软骨对于生物体仍具有一定的抗原

性, 实验以兔肋软骨作为研究材料, 以联合中性去垢剂-核酸酶法基本脱去其上软骨细胞成分, 降低软骨支架抗原性, 以提高支架材料生物相容性。鉴于此, 实验制备软骨组织工程天然生物支架, 为应用于临床作为软骨组织替代品修复软骨缺损提供一定的实验依据。

8 脱细胞天然骨基质与诱导性成骨细胞的体外相容性

李康杰(延边大学附属医院骨二科, 吉林省延吉市 133000)

推荐理由: 自体骨修复骨缺损临床效果较好, 但会造成供区损伤。利用组织工程学方法寻找理想的骨支架修复骨缺损是非常有前景的取代方案。其关键在于组织工程化骨支架必须在层次结构、生化组成及机械性质方面与受体无大的差异。生物衍生骨的构造和成分与天然骨类似, 成为组织工程研究者的首选目标。目前, 临床常用的衍

生骨主要为冻干方法处理过的骨片, 虽降低了抗原性, 但细胞碎片仍残留其中, 影响受体血管和细胞的长入。此外, 同种异体或异种异体细胞的细胞膜表面存在主要组织相容性抗原, 它是产生免疫排斥反应的主要因素。因此通过某种方法去除支架中的细胞, 最大限度保留细胞外骨基质将能制备出利于修复骨缺损的骨支架材料。文章利用化学除垢剂TritonX-100去除骨支架中的细胞成分, 并与诱导而来的成骨细胞进行联合培养, 观察细胞在材料表面的黏附情况及界面反应。

内容详见 www.crter.org/html/2012_03_13/2_64025_2012_03_13_197617.html