能力也在退化，不同年龄的MSCs体外增殖、分化特点有很大差异，尤其是来自老年患者的种子细胞易老化，从而丧失分泌基质的功能，因而难以从少量的组织经体外分离培养获得大量的组织细胞。不同年龄供体的hMSCs生长特性是否存在差异以及是否能满足修复自身骨缺损的需要尚缺少系统的研究，且多停留在动物实验上。

本实验看出不同年龄供体每毫升骨髓所含单个核细胞数随着年龄的增大而减少，传代时间以及每代收获细胞数不同，低龄组细胞体形较小、集落形成多、形态规则、细胞密度大，各组倍增时间差别明显，显示出低龄组增殖能力强于高龄组。年龄越小传代时间越短所收获的细胞数越多，按支架接种细胞数$10^6 \sim 10^7$数量级[3]的要求各年龄组在传2代左右均能满足，但高龄组增殖周期（至2代）18～29 d明显高于低龄组13～19 d，这就要求临床应用时应充分考虑不同年龄供体骨髓的抽取量以及种子细胞的扩增时间与病情的需要。

20岁以下组细胞周期中增殖期S+G_2+M的百分比例为32.12与60岁以上组9.78的差异具有显著性意义（$P<0.01$），其凋亡率0.02与60岁以上组0.35的差异也具有显著性意义（$P<0.01$）但对各组细胞的应用均无明显影响。随年龄增大、细胞增殖期百分比例减少、静止期比例增加，反映出了细胞增殖的年龄区别。

活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶能使外源性MTT还原为紫色结晶，二甲基亚砜能溶解此结晶物，用酶联免疫检测仪在490 nm波长出测定其吸收值，可间接反映活细胞数量与功能。MTT生长曲线可以看出低龄组与高龄组的差异明显，各组均在3 d左右出现倍增，6 d左右达到增殖高峰，20岁以下组曲线坡度陡直，高峰值高表明其增殖能力旺盛，60岁以上组曲线较平缓，高峰值明显较20岁以下组低，表明其增殖能力较弱。从该图可以看出随供体年龄的增加细胞的增殖能力相应减弱。

ALP是成熟成骨细胞的标志性酶之一，其活性可以反映出细胞的成骨分化能力。本实验中20岁以下组的ALP活性明显高于其它组（$P<0.01$），说明低龄组hMSCs的成骨能力大于高龄组，随着年龄的增大hMSCs的成骨分化能力相应降低。

从以上结果看出，总的来说hMSCs的增殖、成骨分化能力随着年龄的增加而减弱，但各年龄组细胞扩增数量能满足hMSCs种子细胞的临床应用。通过对不同年龄供体的hMSCs生长、增殖、成骨分化进行比较研究，确立其参数，充分考虑年龄对hMSCs增殖、成骨分化的影响，为种子细胞的临床应用提供了依据。

参考文献：

[1] Muller S M, Glowacki J. Age-related decline in the osteogenic potential of human bone marrow cells cultured in three-dimensional collagen sponges[J]. J Cell Biochem, 2001, 82(4): 583-590.

[2] Voegele T J, Voegele-Kadletz M, Esposito V, *et al*. The effect of different isolation techniques on human osteoblast-like cell growth[J]. Anticancer Res, 2000, 20(5B): 3575-3581.

[3] 叶招明，金岩，等. 细胞培养[M]. 西安：世界图书出版公司，1996. 136-137.

[4] Ter Brugge P J, Jansen J A. *In vitro* osteogenic differentiation of rat bone marrow cells subcultured with and without dexamethasone[J]. Tissue Eng, 2002, 8(2): 321-331.

[5] Buttery L D, Bourne S, Xynos J D, *et al*. Differentiation of osteoblasts and *in vitro* bone formation from murine embryonic stem cells[J]. Tissue Eng, 2001, 7(1): 89-99.

[6] Wexler S A, Donaldson C, Denning-Kendall P, *et al*. Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal 'stem' cells but umbilical cord and mobilized adult blood are not[J]. Br J Haematol, 2003, 121(2): 368-374.

[7] Hasegawa Y, Ohgushi H, Ishimura M, *et al*. Marrow cell culture on polylactic acid fabrics[J]. Clin Orthop, 1999, (358): 235-243.

（编辑 汪勃俭）

参考文献中英文作者名的著录方法

医学期刊的论文中，引用英文文献的比例很高，但有不少作者将英、美人的姓名搞错，以至用光盘核对时出现错姓、错名或姓名全错。英、美人姓名的习惯写法是：名-名-姓，“名”可以有1个、2个或3个，但“姓”只有1个。因此，从书籍或期刊中的姓名转录到文献时，要将次序调整为姓-名-名。姓是不可以简写的；“名”可以缩写，用第一个字母大写，不用缩写点。数据库在著录作者姓名时，已经调整为姓-名-名，可照录。

例如：John Quincy Public 写为 Public J Q。

本刊编辑部