构建组织工程骨的种子细胞，不仅因其来源丰富，采集方便，容易在体外培养、诱导、扩增，具有良好的成骨细胞分化潜能和成骨活性，而且应用自体的 hMSCs 作为同源细胞治疗，还具有细胞与支架材料的亲和性较好的优点[9]，此点也在本实验所包括的一系列细胞组织学定性染色和 hMSCs 与自制的 DBM 支架材料的良好复合中得到验证。在组织工程骨支架材料研究方面，从细胞相容性、组织相容性、理化性能和生物安全性等方面考虑，同种异体 DBM 的加工工艺成熟简便；具有极低的免疫原性、良好的细胞及组织相容性[8]的同时还具有消毒后保持其骨诱导能力的特性[10]；本身亦具有一定力学强度，通过改变脱钙率可以调节其力学强度，以适应临床不同植骨部位的需要[7]；通过采集前病原学检测和相应的加工处理，可以保证其具有较好的生物安全性；Kasten 等[11]对部分脱钙的羟基磷灰石(CDHA)、β-磷酸三钙(β-TCP)以及脱钙骨基质(DBM)从种子细胞的粘附率、长入支架内部的数量、增殖和分化效率等方面做过比较，结果证明 DBM 为三者中最优选择。DBM 为一种经典的修复骨缺损的天然材料，乳白色、成型，其结构、轮廓都能维持原来骨的形态。经生物安全性监测，该材料符合国际标准化组织 ISO 的规定。来源于人的 DBM 天然网孔符合人体正常生理要求[5]，且材料可以随着成骨的进展逐步降解吸收，降解过程中并不产生对成骨有害的酸性代谢产物，使得 hMSCs 可以在材料内表面迅速贴壁、稳步扩增，本实验通过在裸鼠皮下异位成骨的研究，成功地说明了 DBM 不仅可以为 hMSCs 或是成骨细胞提供理想的三维立体支架，其良好的组织相容性和无细胞毒性使其成为骨组织工程种子细胞较为理想的支架材料之一。体外构建过程中显示，细胞上架后 7 d 与上架后 5 d 基质分泌情况类似，故在动物实验中选择了体外构建后 5 d 为时间点，主要是为了在达到满足成骨要求的同时既尽可能的减少了体外培养的时间，降低组织工程骨污染或细胞受损的几率，又节省了组织培养的人力物力，为今后以 DBM 与 hMSCs 复合构建的组织工程骨的产业化完善其实验室操作的标准化规程积累经验。另外，本实验同时还以裸鼠皮下注射细胞悬液的方法一定程度上验证了诱导上架细胞的安全性。本实验以 DBM 为支架材料，复合体外诱导培养的 hMSCs 成功地构建了组织工程骨，并在裸鼠异位成骨试验中取得了良好的效果，综合其微创的优点，可望使依本实验方法构建的组织工程骨成为临床骨缺损修复与自体骨同等理想的替代材料。

参考文献：

[1] Levenberg S, Langer R. Advances in tissue engineering[J]. Curr Top Dev Biol, 2004, 61: 113 - 134.

[2] Maddox E, Zhan M, Mundy G R, *et al*. Optimizing human demineralized bone matrix for clinical application[J]. Tissue Eng, 2000, 6 (4): 441 - 448.

[3] Boiret N, Rapatel C, Veyrat Masson R, *et al*. Characterization of nonexpanded mesenchymal progenitor cells from normal adult human bone marrow [J]. Exp Hematol, 2005, 33(2): 219 - 225.

[4] Arinzeh T L, Peter S J, Archambault M P, *et al*. Allogeneic mesenchymal stem cells regenerate bone in a critical-sized canine segmental defect[J]. J Bone Joint Surg Am, 2003, 85-A (10): 1927 - 1935.

[5] Han B, Tang B, Nimni M E. Quantitative and sensitive *in vitro* assay for osteoinductive activity of demineralized bone matrix[J]. J Orthop Res, 2003, 21(4): 648 - 654.

[6] Lucarelli E, Donati D, Cenacchi A, *et al*. Bone reconstruction of large defects using bone marrow derived autologous stem cells[J]. Transfus Apheresis Sci, 2004, 30(2): 169 - 174.

[7] Mauney J R, Jaquiery C, Volloch V, *et al*. *In vitro* and *in vivo* evaluation of differentially demineralized cancellous bone scaffolds combined with human bone marrow stromal cells for tissue engineering[J]. Biomaterials, 2005, 26(16): 3173 - 3185.

[8] Burg K J, Porter S, Kellam J F. Biomaterial developments for bone tissue engineering[J]. Biomaterials, 2000, 21(23): 2347 - 2359.

[9] Zipori D. Mesenchymal stem cells: harnessing cell plasticity to tissue and organ repair[J]. Blood Cells Mol Dis, 2004, 33(3): 211 - 215.

[10] Ferreira S D, Dernell W S, Powers B E, *et al*. Effect of gas-plasma sterilization on the osteoinductive capacity of demineralized bone matrix[J]. Clin Orthop, 2001, (388): 233 - 239.

[11] Kasten P, Luginbuhl R, van Griensven M, *et al*. Comparison of human bone marrow stromal cells seeded on calcium-deficient hydroxyapatite, β-tricalcium phosphate and demineralized bone matrix[J]. Biomaterials, 2003, 24(15): 2593 - 2603.

(编辑　王　红)

作者书写数字须知

根据《关于出版物上数字用法的规定》，本刊实行三位分节法(即从小数点算起，向左向右每 3 位分 1 节，节间留出一定空隙)，废除千分撇分节法(如 2,431 改为 2 431)。但年份、页数、部队编号、仪表型号、标准号不用三位分节法。中文出现的数字，凡属计数数值，一律用阿拉伯数字表示。

本刊编辑部