排斥反应问题。

CTLA-4Ig是细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4（CTLA4）与IgGFc段的基因重组融合蛋白，可阻断抗原特异性T细胞活化过程起重要作用的B7-CD28共刺激通路，从而导致这类T细胞的无能或凋亡，对控制器官移植排斥反应的发生具有重要作用[1]。实验研究表明，CTLA-4Ig在心脏移植、肢体复合组织移植中，全身应用和局部基因导入均取得了良好的效果[8,9]。而局部应用则可避免同时存在的病原体的耐受和诱发感染。因此，我们认为用分子生物学手段，使组织工程种子细胞在移植局部表达CTLA-4Ig，诱导局部特异性免疫耐受可能会成为解决异基因移植免疫反应的良好策略。

本课题组前期研究[2]表明，用逆转录病毒载体介导CTLA-4Ig基因转染hMSCs，被修饰细胞及其分化后代能够持续分泌CTLA-4Ig蛋白，异种移植动物体内能够成骨。提示CTLA-4Ig基因修饰的可能通过分泌CTLA-4Ig蛋白诱导特异性免疫耐受，使其分化后代免疫原性降低或抗排斥反应能力增强，有利于异基因移植时的定植和分化。逆转录病毒载体介导的基因转染能够将外源基因整合到细胞基因组中并传向子代，使目的蛋白得以持续表达。对于细胞基因改造，筛选获得新细胞株和某些疾病的基因治疗是一种理想的转染方式，但若有辅助病毒的产生，则存在诱导成肿瘤的生物安全问题。并且CTLA-4Ig在体内的长期持续表达也可能带来对全身免疫功能的不利影响。

复制缺陷型腺病毒是一种安全，高效的转染方式[10]，目的基因只在被转染细胞本身表达。组织工程种子细胞只须在细胞移植入体内早期的一定时间内表达，诱导特异性免疫耐受即可达到降低免疫排斥反应的目的，因此，本研究选择腺病毒作为载体介导CTLA-4Ig基因转染hMSCs，转染率达81.14%。在本实验中，转染28 d的hMSCs中仍能检测到CTLA-4Ig蛋白的表达，并且基因转染对hMSCs细胞的形态没有明显的影响，保持了体外培养分化成骨能力。如果将这种细胞用于异种移植体内动物实验，持续28 d的CTLA-4Ig蛋白表达，可在成骨早期阶段诱导局部特异性免疫耐受。并且不存在CTLA-4Ig在体内的长期持续表达可能带来的对全身免疫功能的不利影响。

本研究结果表明，腺病毒介导的CTLA-4Ig基因转染hMSCs，转染效率高，可持续表达CTLA-4Ig蛋白4周以上，保持了诱导成骨分化的潜能。为异基因hMSCs作为组织工程骨种子细胞修复骨缺损的应用研究提供了依据。

参考文献：

[1] Lin H, Wei R Q, Goodman R E, *et al*. CD28 blockade alters cytokine mRNA profiles in cardiac transplantation[J]. Surgery, 1997, 122(2): 129-137.

[2] 代　飞，吴　军，许建中，等. 基因修饰人骨髓间充质干细胞作为骨组织工程种子细胞异种移植的实验研究[J]. 中华创伤杂志，2005, 21(11): 838-844.

[3] Pittenger M F, Mackay A M, Beck S C, *et al*. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells[J]. Science, 1999, 284(5411): 143-147.

[4] Jaiswal N, Haynesworth S E, Caplan A I, *et al*. Osteogenic differentiation of purified, culture-expanded human mesenchymal stem cells *in vitro*[J]. J Cell Biochem, 1997, 64(2): 295-312.

[5] Niemeyer P, Seekinger A, Simank H G, *et al*. Allogenic transplantation of human mesenchymal stem cells for tissue engineering purposes: an *in vitro* study[J]. Orthopade, 2004, 33(12): 1346-1353.

[6] Eliopoulos N, Stagg J, Lejeune L, *et al*. Allogeneic marrow stromal cells are immune rejected by MHC class I- and class II-mismatched recipient mice[J]. Blood, 2005, 106(13): 4057-4065.

[7] 代　飞，吴　军，许建中，等. 体外成骨诱导增加人骨髓间充质干细胞刺激PBMCs增殖[J]. 第三军医大学学报，2005, 27(16): 1652-1655.

[8] Guillot C, Mathieu P, Coathalem H, *et al*. Tolerance to cardiac allografts *via* local and systemic mechanisms after adenovirus-mediated CTLA4Ig expression[J]. J Immunol, 2000, 164(10): 5258-5268.

[9] Kanaya K, Tsuchida Y, Inobe M, *et al*. Combined gene therapy with adenovirus vectors containing CTLA4Ig and CD40Ig prolongs survival of composite tissue allografts in rat model[J]. Transplantation, 2003, 75(3): 275-281.

[10] Hendrie P C, Russell D W. Gene targeting with viral vectors[J]. Mol Ther, 2005, 12(1): 9-17.

（编辑　张大春）

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