DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.02.034

综述

文章编号:1000-5404(2003)02-0170-04

骺板组织工程的研究进展

Advances in the studies of epiphyseal-cartilage tissue engineering

周 强,杨 柳,戴 刚 综述,李起鸿 审校 (第三军医大学附属西南医院骨科,重庆 400038)

骺板(又称生长板)是位于长骨骺与干骺端之间一层具有纵向生长能力的透明软骨,负责骨的生长,其组织结构和基质成分呈梯级变化,生理活动和生物学行为复杂,受全身内分泌(包括激素、生长因子)和局部旁分泌及自分泌(多种生长因子)的调控。内分泌障碍、基质蛋白基因突变、营养代谢障碍、毒性物质、物理因素等均会导致多种骺板生长发育性疾病,如软骨发育不良、侏儒症等;骺板损伤和感染会导致骺板部分或全部早闭、畸形发育,严重影响肢体功能和劳动力。

Langenskiöld提出的骨桥切除以脂肪等材料充填仅对小于25%~30%的部分骺板早闭有肯定疗效[1,2],而目前对以上疾患导致的骺板严重损害及早闭尚无确实有效的治疗方法。虽然国内外学者探索以自体带血管蒂的骺板游离移植治疗骺板严重损伤早闭,在临床和实验均取得了较好的效果[3~6]。但是,自体骺板移植的组织来源极有限,而且必然造成供区新的损伤,严重破坏供区的骨生长而产生新的畸形,导致相应的功能障碍等并发症,因此,在临床上只能用于有限的特殊病例,难以广泛实施,终究不是一种很理想的治疗方法。近年来,组织工程技术的飞速发展为骺板严重病损早闭的治疗带来了新的契机。国内外学者已经开始探索用组织工程的方法修复骺板损伤早闭,并取得了一些可喜的结果,前景令人鼓舞。由于骺板组织结构和功能的特殊性,故用组织工程技术重建骺板,特别是恢复其正常生长功能,具有相当的难度,还存在着许多需要进一步研究和解决的问题。现仅就骺板组织工程的研究进展作一综述。

1 骺板软骨组织的组织工程构建

1988年美国学者Vacanti等首次将小牛关节软骨细胞接种于三维支架上,经体外适当培养后植入裸鼠体内生成了具有一定形态的活性透明软骨。对于骺板软组织工程则有所不同,必须具备两方面的功能即阻止血管长入骺板缺损区和修复骺板缺损,因此,工程化的骺板软骨应具有较成熟的软骨组织结构。目前主要有三种构建方法,即离心管内细胞聚集培养、细胞高密度培养和细胞复合支架材料的构建培养。

1.1 离心管内聚集培养生成骺软骨组织

日本学者Kato等[7]于1988年首先报道了用兔肋骨骺板软骨细胞在塑料离心管中生成软骨组织。他将8×10^4个细胞悬浮于含有10%胎牛血清和50 μg/ml抗坏血酸的MEM培养液经离心在离心管底部形成细胞团,在培养8~10 d细胞开始构筑软骨样组织,在12 d细胞增殖达平台期,以后软骨细胞开始终末分化并产生基质矿化。中国学者颜炜群等[8]对Kato等[7]的方法加以改进,在离心管内成功地生成骺板样软骨组织,并且在接种3 d后将细胞团从管中移入培养皿不影响其特征性组织结构的形成,他们接种的肋软骨骺板细胞数量为15×10^4,培养液为含10%胎牛血清和50 μg/ml抗坏血酸的IMDM,培养第14天这些细胞生成了生长板样软骨组织,上部为肥大软骨细胞,下部为静息软骨细胞,第25天,增殖及成熟区软骨细胞趋向肥大。Ballock等[9]在离心管中培养生成了骺发育性软骨组织,培养液为1∶1的DMEM/Ham′s F12(含0.1%或0.01%胎牛血清),接种的为骺板静止区的软骨细胞,数量为16×10^4个,在21 d形成了直径约2 mm、高约1 mm软骨组织团块,其内软骨细胞为柱状排列,呈辐射状,中心区为肥大软骨细胞;在无血清的情况下,用甲状腺素在含有GH、IGF-1的培养基中可以重现这一组织结构特点。我们以9×10^5原代骺板软骨细胞离心沉降,培养4周生成的工程化骺软骨组织体积达到直径为4~4.5 mm、高为2.2~3.0 mm[10]。因此,目前的研究情况表明这一方法可获得的工程化软骨体积大小和外形是很有限的,仅能满足小型动物骺板软骨缺损模型的修复性研究[11]和作为骨、软骨发生、生长代谢及软骨相关疾病研究的体外模型[12,13]。

1.2 细胞高密度培养生成骺软骨

Estrada等[14]将骺板软骨细胞以$>2.0\times10^7$个/ml的高密度接种一直径为6 mm的塑料平皿,皿底涂有聚羟乙基甲基丙烯酸酯以阻止细胞附壁,用含10%胎牛血清的DMEM培养液培养24 h细胞形成簇状生长,2~3周后逐渐形成软骨组织,4周时开始出现X型胶原表达。Kawabe等[15]将兔骺板软骨细胞1×10^7个接种于直径10 cm^2的塑料培养皿中,用含10%胎牛血清的Ham′s F12培养液也生成了约150~200 μm厚的薄层软骨组织。这一方法可获得更大面积的工程化骺软骨,但所用细胞数量巨大,而生成软骨体积和外形的可控制差,用于骺板修复可行性欠佳,但可作为软骨相关研究的体外模型[16]。

1.3 细胞复合支架材料的构建培养生成骺软骨

Roche等[17]将胎牛的10^6~10^7个骺软骨细胞接种于直径为10 mm、厚6 mm的胶原海绵支架中,体外培养4周可形成有一定组织结构的软骨。我们将骺板软骨细胞与生物凝胶液混匀后固化成形,经体外培养两周即可生成具有一定组织结构的软骨,4周形成的软骨组织更成熟[18]。这类方法构建的工程化组织经培养在体外可形成较成熟的工程化软骨,且具有一定的

基金项目:国家自然科学基金资助重点项目(39830100),全军"十五"医药卫生科研基金资助重点项目(01Z072)
作者简介:周 强(1965-),男,河北省乐亭县人,博士,主治医师,讲师,主要从事组织工程及骨病方面的研究。电话:()23)68754164
通信作者:李起鸿,电话:(023)68754483
收稿日期:2002-03-01;修回日期:2002-09-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

外形, 应更适于骺板缺损区充填和修复, 并更有效地阻止血管长入和防止骨桥形成。但需要解决的问题是如何在体外培养过程中很好地保持工程化组织块的外形。也有研究者将经体外培养扩增的软骨细胞接种于琼脂或琼脂糖中, 不经体外培养而立即植入骺板缺损区[2,19,20]。

2　组织工程化骺板软骨在体内组织修复中的应用

由于组织工程化骺板软骨的研究工作刚起步, 所以治疗性研究工作的报道很少。Jouve 等[19,20]将经体外培养扩增的骺板软骨细胞接种于琼脂中, 立即植入兔骺板缺损区, 虽然产生了骺板闭合, 但发现在实验所用支架材料中惟有琼脂能在植入 21 d 还保持有具有生命力且健康的软骨细胞, 软骨细胞继续保留有富含蛋白多糖聚集体的细胞外基质, 并开始形成有序的成熟软骨细胞柱状结构。Lee 等[2]将经体外培养扩增的自体关节软骨和髂骨骺软骨细胞混于琼脂糖液中, 不经培养即植入兔胫骨上端内侧半骺板切除区, 结果生长阻滞及成角畸形都被阻止, 组织学证明软骨细胞在植入区具有很好的活力, 并较好地修复了骺板的缺损。我们将离心管内培养生成的工程化软骨植入幼兔胫骨上端内侧骺板缺损区, 观察表明植入的工程化软骨能在局部生理微环境下改建为正常的骺板组织结构并能较好地恢复骺板的生长功能[11]。由于骺板软骨有很好的生长和塑形能力, 许多研究者进行了以骺板软骨修复关节面缺损的实验研究, 自体组织移植取得了良好的结果。骺板软骨在关节腔的生理及力学环境下能产生适应性的组织结构改变[21]。但是异体移植由于排斥反应结果报道不一。这说明骺板细胞来源的组织工程软骨有可能用于修复关节软骨, 由于它生长代谢能力强, 结果可能优于关节软骨细胞来源的组织工程软骨。Kawabe 等[15]作了这方面有益的尝试。他们将体外培养 158 ~ 200 μm 厚的薄层生长板软骨折叠 1~2 层异体移植修复兔膝关节全厚关节软骨缺损, 在植入的前 2 周取得了极好的结果, 细胞和细胞基质增长充满缺损区。但从第 2 周以后随着排异反应的增加, 则出现植入物坏死, 为纤维肉芽组织取代, 其中体液免疫起部分作用, 主要是由于细胞介导的细胞毒作用。由此看来, 免疫排斥已成为组织工程异体修复亟待解决的问题。

3　骺板软骨移植及其免疫

以往认为软骨组织缺乏血管, 抗原被遮避, 软骨细胞陷窝具有免疫障碍作用。近年来的大量研究结果并不完全与这一观点相一致。用自体骺板软骨充填骨桥切除后的骺板缺损区在实验研究和临床应用的结果都比较满意。异体骺板软骨修部骺板及关节软骨缺损结果不一, 与免疫排斥反应的发生与否有密切关系。动物实验结果表明, 用异体骺板充填骺板缺损与不作任何充填相比较, 观察 12 周的结果没有区别[22], 而用自体骺板植入则可避免骺板部分闭合[23,24]。Mikami 等[25]用主要组织相容性抗原(MHC)相匹配的大鼠骺板修复未成年大鼠股骨关节面缺损, 观察 1 年的总成功率为 92%, 没有排异反应的表现; MHC 不匹配的总成功率则为 61%, 从术后 12 ~ 48 周 16 个植入物中 13 个显示淋巴细胞浸润。作者认为 MHC 匹配的完整骺板具有修复未成熟大鼠关节软骨缺损的能力并长期存活, 而不匹配的异体骺板将最终被排斥, 在组织配型中 MHC 对骺板移植最为重要。在异体肢体移植中, 如果 MHC 不匹配将产生强烈的急性排异反应破坏血管, 导致生长板各层细胞死亡; 在 MHC 匹配而次要组织相容性抗原不匹配的 Lewis 大鼠和 Fischer 344 大鼠间的后肢移植中则产生不同结果。组织学检查显示钙化带在第 9 天开始增宽, 初级骨小梁表面的破软骨细胞进行性减少和干骺端单核细胞浸润; 增殖、成熟和肥大带的细胞没有退变表现、形态完整, 部分钙化带软骨细胞形态仍完整, 软骨细胞的增殖、肥大、基质钙化继续进行。可见, 免疫靶细胞为破软骨细胞, 由于破软骨细胞减少消失, 导致肥大带增宽。这些结果说明在 MHC 相匹配而次要组织相容性抗原不匹配的情况下完整软骨具有弱的免疫原性[26], 对指导异体软骨移植和异体组织工程软骨的应用具有一定的价值。将鼠骺板植入另一个同基因鼠的股骨远端生长区, 尽管移植组织块可以从新宿主接受营养供应, 有一定程度的生长, 但不能产生与对照侧一致的生长, 且胸腺嘧啶的掺入也不正常[27]。大鼠关节-骺软骨复合物的软骨细胞移植修复关节软骨及软骨下骨缺损的实验研究结果表明, 同基因个体来源的软骨细胞形成的软骨不引起免疫浸润形成, 相反, 基因不同个体来源软骨细胞形成的软骨附近有大量浸润细胞出现, 可以观察到软骨吸收, 环胞素 A 的治疗可部分抑制浸润细胞的聚集和基质吸收。脾单核细胞免疫刺激试验证明异基因软骨细胞对受体的脾单核细胞具有强烈的刺激作用, 这一反应在接受环胞素 A 治疗后消失, 抗异基因软骨细胞的抗体反应却没有统计学意义上的升高, 提示在软骨移植的免疫反应中细胞免疫起主要作用[28]。在用胚胎后期的相应组织重健小鼠股骨远端骺板的研究中, 植入缺损的组织被证明有高的细胞动力学活性, 但重建的生长区只恢复了正常生长的 25%[29]。另一方面, 也有人认为只要彻底切除移植骺板表面附着的肌肉、纤维结缔组织, 控制一定的组织厚度, 用其修复关节而也可以取得较好的结果[30]。另一项研究表明选择性地阻断骺板区供血血管 72 h 对增殖带高度没有影响, 而肥大带中心部分高度明显增高, 说明骨软骨替代过程减缓或停滞[31]。这一结果与组织创伤微循环重建时间一般在 3 d 左右相结合分析, 可以提示生长板软骨组织块移植不会因血供暂时缺失而坏死或失去生长功能。在软骨组织工程技术修复关节软骨缺损中, 实验后期的结果不满意, 其中主要的原因是细胞免疫排异反应的发生[15]。用药物治疗解决骺板软骨移植的免疫问题是困难的, 因为缺乏抗移植排斥的无毒性药物[32]。

4　展望

正是由于骺板是一种具有特殊功能的透明软骨, 一旦病损, 以自体移植修复其组织结构和恢复其功能, 与其他组织相比付出的代价更为昂贵。组织工程技术有希望为骺板病损及早闭的治疗提供所需的具有良好功能活性的移植物。但是, 骺板软骨组织工程研究与其它组织工程研究一样, 还存在着许多组织工程共同的及其特有的问题有待进一步探索和解决, 具体主要有以下几个方面: ①如何能在体外生成具有正常组织结构和相应细胞功能活性、在重要相关因子调控下具有正常生长功能的骺板软骨, 其中有很多技术问题, 也有与骺板基础研究相关的理论问题。②组织工程化骺板软骨植入体内后, 如何维持不同细胞亚群的正常梯级分化和生长功能, 避免骺板早闭和骨

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

化。③在全能干细胞和多能干细胞的定向诱导分化问题尚未解决之前,如何制备具有良好功能活性的异体移植物将是骺板组织工程面对临床应用的主要研究内容之一。工程化软骨异体修复也存在着移植免疫的问题,但与其他组织相比其细胞成分单一,使得应用现代分子生物学及免疫学等技术解决这一问题具有更多的便利。④如何低成本地获得大量功能正常的种子细胞。目前,多通过在特定生长因子作用下使分离的原代细胞迅速扩增,从而达到增加种子细胞数量的目的,但存在着细胞衰老和生物学功能改变或低下的问题。建立静息软骨细胞永生化细胞系不失为一种较理想的方法,其细胞应能在相应激素和生长因子作用下进入骺板软骨细胞特有的增殖、成熟、肥大、凋亡的生命过程。另外,我们还可以象储备移植器官一样建立组织工程种子细胞储备库,进行严格的组织移植配型。总之,现代细胞生物学、分子生物学、免疫学、基因工程技术、材料科学等相关学科的迅速发展将为我们提供解决问题的工具和途径。

关键词:骺板;组织工程;软骨
中图法分类号:R318.08;R322.71 文献标识码:A

参考文献:

[1] 祥 麒. 部分生长板停滞及治疗(PBR)[J]. 中华骨科杂志,1996,16(6):405-407.

[2] Lee E H, Chen F, Chan J, *et al*. Treatment of growth arrest by transfer of cultured chondrocytes into physeal defects[J]. J Pediatr Orthop, 1998, 18(2): 155-160.

[3] Glickman A M, Yang J P, Stevens D G, *et al*. Epiphyseal plate transplantation between sites of different growth potential[J]. J Pediatr Orthop, 2000, 20(3): 289-295.

[4] Vilkki S K. Distraction and microvascular epiphysis tranfer for radial club hand[J]. J Hand Surg, 1998, 23(4): 445-452.

[5] 王树锋,吕占辉,王明山,等. 带血供腓骨小头骨骺移植的解剖与临床研究[J]. 中华骨科杂志,2001,21(2):99-102.

[6] Innocenti M, Ceruso M, Manfrini M, *et al*. Free vascularized growth-plate transfer after bone tumor resection in children[J]. J Reconstr Microsurg, 1998, 14(2): 137-143.

[7] Kato Y L, Wamoto M, Koike T, *et al*. Terminal differentiation and calcification in rabbit chondrocyte cultures grown in centrifuge tubes: Regulation by transforming growth factor β and serum factors[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1988, 85(24): 9552-9556.

[8] Yan W Q, Tong M H, Yang T S, *et al*. Reorganization of isolated chondrocyles into growth plate-like tissue in pelleted cultures[J]. J Bone Miner Metab, 1995, 13(2): 77-80.

[9] Ballock R T, Reddi A H. Thyroxine is the serum factor that regulates morphogenesis of columar cartilage from isolated chondrocyte in chemically defined medium[J]. J Cell Biol, 1994, 126(5): 1311-1318.

[10] 周 强,李起鸿,戴 刚,等. 高数量骺板软骨细胞聚集培养生成软骨组织的观察[J]. 第三军医大学学报,2002,24(5):556-558.

[11] 周 强,李起鸿,戴 刚,等. 经离心管培养骺软骨异体修复兔骺板部分损伤的初步观察[J]. 第三军医大学学报,2001,23(10):1139-1142.

[12] Ballock R T, Zhou X, Mink L M, *et al*. Both retinoic acid and 1,25(OH)2 vitamin D3 inhibit thyroid hormone-induced terminal differentiaton of growth plate chondrocytes[J]. J Orthop Res, 2001, 19(1): 43-49.

[13] Ballock R T, Zhou X, Mink L M, *et al*. Expression of cyclin-dependent kinase inhibitors in epiphyseal chondrocytes induced to terminally differentiatewith thyroid hormone[J]. Endocrinology, 2000, 141(12): 4 552-4 557.

[14] Estrada L E, Dodge G R, Richardson D W, *et al*. Characterization of a biomaterial with cartilage-like properties expressing type X collagen generated *in vitro* using neonatal porcine articular and growth plate chondrocytes[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2001, 9(2): 169-177.

[15] Kawabe N, Yoshinao M. The repair of full-thickness articular cartilage defects: Immune responses to reparative tissue formed by allogeneic growth plate chondrocyte implants[J]. Clin Orthop, 1991, (265): 279-293.

[16] Freyria A M, Ronziere M C, Roche S, *et al*. Regulation of growth, protein synthesis, and maturation of fetal bovineepiphyseal chondrocytes grown in high-density culture in the presence of ascorbic acid, retinoic acid, and dihydrocytochalasin B[J]. J Cell Biochem, 1999, 76(1): 84-98.

[17] Roche S, Ronziere M C, Herbage D, *et al*. Native and DPPA cross-linked collagen sponges seeded with fetal bovine epiphyseal chondrocytes used for cartilage tissue engineering[J]. Biomaterials, 2001, 22(1): 9-18.

[18] 周 强,李起鸿,戴 刚,等. 骺板软骨细胞复合生物凝胶培养生成软骨组织的观察[J]. 第三军医大学学报,2002,24(5):559-562.

[19] Jouve J L, Mottet V, Cottalorda J, *et al*. Reimplantation of growth plate chondrocyte cultures in central growth plate defects: Part I Characterization of cultures[J]. J Pediatr Orthop B, 1998, 7(2): 167-173.

[20] Jouve J L, Cottalorda J, Mottet V, *et al*. Reimplantation of growth plate chondrocyte cultures in central growth plate defects: Part II Surgical experimentation in rabbits[J]. J Pediatr Orthop B, 1998, 7(2): 174-178.

[21] Umehara T. Immunohistochemical localization of transforming growth factor-beta 1 in growth plate freshly transplanted into a full-thickness defectin articular cartilage[J]. Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi, 1994, 68(9): 790-797.

[22] Martiana K, Low C K, Tan S k, *et al*. Comparison of various interpositional materials in the prevention of transphyseal bone bridge formation[J]. Clin Orthop, 1996, (325): 218-224.

[23] Rudolph B, Dallek M, Meenen N M, *et al*. Behavior of artificially-induced epiphyseal groove defects in rabbits. Part 2. Transplantation of autologous and homologous groove cartilage[J]. Unfallchirurgie, 1993, 19(3): 131-137.

[24] Dallek M, Meenen N M, Jungbluth K H. Behavior of artificially-induced epiphyseal groove defects 3: Transplantation of autologous and homologous rib cartilage in Gottingen minipigs. Findings after a 16 week interval[J]. Unfallchirurgie, 1995, 21(5): 219-226.

[25] Mikami H. Fresh allograft of intact growth plate into immature articular cartilage defects in rats[J]. Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi, 1992, 66(5): 539-547.

[26] Mohtai M, Hotokebuchi T, Arai K, *et al*. Changes in growth-plate morphology associated with rejection of rat-limb allografts[J]. J Bone Joint Surg (Am), 1992, 74(9): 1375-1384.

[27] Barr S J, Zaleske D J. Physeal reconstruction with blocks of cartilage of varying developmental time[J]. J Pediatr Orthop, 1992, 12(6): 766-773.

[28] Hyc A, Malejczyk J, Osiecka A, *et al*. Immunological response against allogeneic chondrocytes transplanted into joint surface defects in rats[J]. Cell Transplant, 1997, 6(2): 119-124.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[29] Cundy P J, Jofe M, Zaleske D J, *et al*. Physeal reconstruction using tissue donated from early postnatal limbs in a murine model[J]. J Orthop Res [J]. 1991, 9(3): 360—366.
[30] 李晓光, 邢国强, 邢 岩. 胚胎骨骺移植修复关节面缺损的实验研究[J]. 白求恩医科大学学报, 1997, 23(2): 160.
[31] owen C V, Bray P W, Boyer M I, *et al*. Short-term response of epiphyseal plate cell populations following selective devascularization and microsurgical revascularization[J]. Microsurgery, 1994, 15(8): 555—562.
[32] Klaus G, Jux C, Fernandez P, *et al*. Suppression of growth plate chondrocyte proliferation by corticosteroids[J]. Pediatr Nephrol, 2000, 14(7): 612—615.

（编辑 王 红）

文章编号: 1000-5404(2003)02-0173-03

综述

骨组织工程中种子细胞和材料的粘附

Adhesion of seeding cells to scaffoldsin tissue engineering of bone

周红星 综述, 杨 柳 审校 （第三军医大学附属西南医院骨科, 重庆 400038）

各种原因造成骨缺损的治疗一直是骨科界的难题之一。传统的治疗方法有自体骨移植、同种异体骨移植和生物材料替代等。这些方法均不同程度地存在着来源困难、免疫排斥及成骨能力不确定等缺点。在对较大骨缺损进行骨移植时, 新骨形成之前移植骨可能已被机体吸收, 造成植骨失败[1]。骨组织工程的提出和发展为这一医学难题开辟了新的解决途径。随着骨组织工程研究的快速发展, 组织工程化骨已成为最有希望进入临床应用的组织工程成果之一。

骨组织工程和其他组织工程一样, 需要 3 种基本生理因素: 种子细胞, 这些细胞可以由前体细胞诱导而来; 也可以在相似的微环境中生长产生。促进细胞生长和分化的生物因子, 这些生物因子可以由外源供给; 也可以是转化细胞产生的纯化蛋白; 也可以由骨基质或分泌细胞获得。支架, 这种支架是细胞赖以生长的材料, 它可以吸附粘附分子、分化因子和生长因子等生物活性物质, 可以逐渐被种子细胞产生的基质所替代[2]。其中, 细胞与支架材料的相互作用是组织工程研究的主要领域, 细胞与材料的粘附是基础, 细胞必须与材料发生适当的粘附才能进行迁移、分化和增殖。无论是在体外还是在体内, 最先直接与组织细胞接触并发生作用的是材料的表面, 因此细胞粘附到材料表面相当重要, 且粘附特性的差异也将会影响细胞的增殖、分化等一系列反应[3]。所以, 对种子细胞和材料粘附的研究不仅为骨组织工程研究筛选出适于种子细胞发挥生理功能的细胞外支架材料, 而且也可以为生产可用于临床的组织工程化活性骨提供主要的方法和手段。现就种子细胞与材料的粘附综述如下。

1 种子细胞与材料粘附的机制

种子细胞与材料表面粘附的位点称为粘附斑（Adhesion plaques）, 这种局部接触是一种紧密连接, 细胞膜与材料表面的距离在 10 ~ 15 nm 之间。在体内这种连接除了血管内的内皮细胞外几乎没有, 因为血管内皮细胞要承受较大的血流动力压。种子细胞在材料表面的粘附是细胞膜上的受体与吸附于材料上的粘附蛋白发生作用的结果。成骨细胞主要功能是合成、分泌骨基质并促进基质钙化形成骨组织, 细胞内碱性磷酸酶（ALP）含量较高, 分泌Ⅰ型胶原、骨结合素、骨钙素、骨桥蛋白、纤维连接蛋白及一系列生长因子[4]。这些因子已被证明具有促细胞粘附的作用, 这些蛋白中均含有精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸序列（RGD）。这一序列被称做粘附序列, 当它被细胞膜表面的整和素受体特异识别后激活细胞内的细胞骨架蛋白、蛋白酶、蛋白激酶、磷酸酶和信号传导系统, 促使细胞发生一系列的生理生化反应, 铺展而粘附于材料上[5]。

2 种子细胞与材料粘附的影响因素

细胞与材料的粘附是一个包括多因素的复杂过程, 受多种因素的影响。由于种子细胞真正接触的是材料的表面, 因此材料的表面性质对种子细胞与材料的粘附有着主要的影响, 其影响因素主要有生物学因素和材料因素两个方面。

2.1 生物学因素

生物学因素是指同细胞膜的组成及其性能有关的因素, 包括细胞膜的荷电性质、细胞的代谢状态、细胞的亲疏水性、细胞的表面电荷、细胞膜分子的运动方向、细胞膜的柔韧性、细胞表面大分子结构改变而产生的近距位阻力、细胞与材料接触的时间等[6]。

2.2 材料因素

材料因素主要指材料表面的荷电特性、表面自由能、表面的亲疏水性、材料的化学结构以及材料的形态结构等。一般规律为亲水性的表面有利于种子细胞的粘附生长, 高表面能的材料表面有利于细胞的粘附与铺展。材料表面的电荷性质与电荷密度对细胞生长有重要的影响, 在无血清时, 细胞在带正电荷的材料表面上的粘附增加。主要是因为带正电荷的材料表面与带负电荷的细胞之间的静电作用有利于细胞的粘附。生物材料必须既能支持细胞的粘附, 又能使粘附细胞在材料上很

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39830100); 全军“十五”医药卫生科研基金资助重点项目(01Z072)
作者简介: 周红星（1967—）, 男, 河南省南阳邓州市人, 硕士研究生, 主治医师, 主要从事骨组织工程中细胞与支架粘附的研究, 电话: (023) 65317146。
通信作者: 杨 柳, E-mail: Jointsurgery @mail. tmmu. com. cn
收稿日期: 2002-03-02; 修回日期: 2002-12-16

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net