

【参考文献】

- [1] 陈仲庚. 人格心理学[M]. 沈阳: 辽宁人民出版社, 1986: 93-103.
- [2] Reuven Gal, A David Mangelsdorff. 苗丹民等译. 军事心理学手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2004: 33-49.
- [3] 王家同, 贾丹兵, 胡文东, 等. 不同性别飞行学员人格特征的比较[J]. 第四军医大学学报, 2003, 24(16): 1529-1531.
- [4] 苗丹民, 王京生. 军事心理学研究[M]. 西安: 第四军医大学出版社, 2003: 140-146.
- [5] 李绍衣. 16PF使用指导手册[M]. 沈阳: 辽宁省教育科学研究所, 1981.
- [6] 戴忠恒, 祝蓓里. 卡特尔十六种人格因素量表(修订本)手册

- [M]. 上海: 华东师范大学, 1988: 5-30.
- [7] 刘运芳. 卡特尔人格特质理论述评[J]. 孝感学院学报, 2002, 22(2): 48-51.
- [8] Sharon C, Ivan TR. A meta-analytic review of the big five personality factors and accident involvement in occupational and non-occupational settings[J]. Br Psychol Soc, 2005, 78: 355-372.
- [9] John MM, Mark FS. Interpersonal and personality dimensions of behavior: FIRO-band the big five[J]. North Am J Psych, 2005(7): 205-216.
- [10] 郑日昌. 心理测量[M]. 长沙: 湖南教育出版社, 1987: 20-49.
- 编辑 杨湘华

· 技术方法 · 文章编号 1000-2790(2006)16-1525-01

人牙囊细胞体外三维立体培养的初步探讨

王 滇¹, 刘宏伟², 金 岩³ (¹解放军第94医院口腔科, 江西南昌 330002; ²上海同济大学口腔医学院口腔内科, 上海 200072; ³第四军医大学口腔医学院组织病理教研室, 陕西西安 710033)

【关键词】牙囊 细胞培养 三维培养

【中图分类号】R781.4 【文献标识码】B

1 材料和方法

1.1 材料 鼠尾 I 型胶原(美国 Sigma 公司); CBHA(第四军医大学口腔医学院颌面外科提供); 倒置显微镜及照像系统(日本 Olympus 公司); S-520 扫描电镜(日本).

1.2 方法 酶消化联合组织块法体外获得人乳牙胚牙囊细胞^[2] 3~4 代 HDFCs 6 孔板中(1×10^6 细胞/孔)连续培养 10 d, 形成约 0.5 mm 厚膜状组织, 将形成的膜状组织完整揭下, 切片 HE 染色.

1.2.2 利用 I 型胶原凝胶三维立体培养 HDFCs 乙酸法制备 I 型胶原溶液, 在 3 mL 胶原溶液中加入约 2×10^6 /L 的细胞悬液混匀, 移至 12 孔培养板, 37°C CO₂ 孵箱静置 30 min 后形成细胞凝胶, 加入培养液 2 mL. 24, 72, 148 h 各取一孔胶原切片 HE 染色镜下观察. CBHA 切割成 5 mm × 5 mm × 3 mm 大小, 灭菌, 低糖 DMEM 液预湿 30 min. 细胞密度为 5×10^9 /L 接种到 CBHA 上, 每份标本接种细胞悬液 0.2 mL, 负压抽吸使其充分进入材料多孔间隙中后移至 24 孔板孵育 2 h 后加入 2 mL 培养液, 24 h 换液一次. 72 h 后制备标本扫描电镜下观察.

收稿日期 2005-09-02; 接受日期 2005-10-31

基金项目: 国家 863 “十五”重大专项[组织器官工程(2002AA205041)]; 广东省科技计划项目[牙周组织初级结构体外构建的研究(C30704)]

通讯作者: 刘宏伟. Tel: (021)56032686 Email: hongwei_ddds@hotmail.com

作者简介: 王 滇. 硕士, 主治医师. Tel: (0621)8848082 Email: wangzhen924@hotmail.com

2 结果 显微镜下观察, 接种 24 h, 细胞呈一定的方向排列并出现复层化生长趋势, 72 h 细胞分泌出大量胶原纤维, 并逐渐在孔底呈现肉眼可见的膜状组织. 10 d 时从孔板底刮下膜状组织完整并具有一定韧性, HE 染色: 复层化组织为 8~10 层细胞, 胞外基质丰富. 牙囊细胞胶原凝胶形成后呈半透明状, 有一定的弹性和抗拉性. 约 24 h 后显微镜下见细胞逐渐伸展延长, 梭形, 呈三维立体生长. 随时间延长, 细胞凝胶透明度降低出现回缩. HE 染色镜下见 HDFCs 均匀地分布于胶原中, 梭形三维生长. 随时间增长细胞密度增加. 利用 CBHA 三维培养 HDFCs 扫描电镜低倍视野下可见 HDFCs 在 CBHA 上生长茂密, 部分区域细胞增殖旺盛, 互相融合, 成片状生长. 高倍视野下见细胞在 CBHA 上贴附紧密, 生长旺盛, 细胞突细长伸展充分, 相互交织成网状, 多呈长梭形或星形, 并可见有分泌颗粒.

3 讨论 牙囊细胞体外连续培养形成的复层化组织具有足够的胞外基质, 形成膜样结构, 用于组织工程载体有其独特的优势. 种子细胞密度大; 有足够的胞外基质, 柔软具韧性和延展性^[3]. CBHA 是以海洋生物乌贼的脊骨—乌贼骨作为原料, 通过水热反应转化生成的羟基磷灰石材料^[4]. 以羟基磷灰石类材料作为牙周/牙齿组织工程研究的支架材料, 将为牙齿的形成提供优良的矿化环境. I 型胶原是胞外基质的成分, 本实验选择 I 型胶原凝胶为载体构建牙囊细胞的三维培养, 与常规二维培养相比, 更符合细胞在体内的生长状况, 对于体外研究牙囊细胞趋化、分化机制, 观察细胞的游走、性状及介入生长因子的诱导具有重要意义, 为我们研究牙囊细胞的分化机制提供良好的实验模型. 本实验表明, 复层化细胞载体、I 型胶原凝胶、CBHA 细胞相容性好, 可用于三维培养及组织工程载体研究.

【参考文献】

- [1] 王 滇, 刘宏伟, 金 岩, 等. 人牙囊细胞的培养及生物学特性[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2004, 14(9): 490-493.
- [2] 侯建霞, 曹采芳, 孟焕新. 牛成牙骨质细胞在体内形成牙骨质样组织的初步研究[J]. 中华口腔医学杂志, 2003, 38(1): 70-72.
- [3] 谢光远, 吴织芬, 王勤涛, 等. 骨髓基质细胞与乌贼骨转化羟基磷灰石复合物促进牙周组织再生的实验研究[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2004, 14(5): 179-181.

编辑 甄志强