

骨髓间充质干细胞研究中的哲学思考

★ 王力 (江西中医学院附属医院骨伤一科 南昌 330006)

★ 万军 (江西中医学院 2004 级研究生 南昌 330006)

关键词:骨髓间充质干细胞;骨组织工程学;哲学

中图分类号:B02 文献标识码:A

近年来,生物材料学和细胞生物学的发展促进了骨组织工程学的迅速进步。作为种植在载体材料上的种子细胞,骨髓间充质干细胞(MSC)更是成为研究的热点。大量、深入的 MSC 研究给骨组织工程带来了广阔的前景。回顾研究历程,展望其发展趋势,有必要进行一些哲学思考。

1 MSC 的研究过程体现了认识的辩证发展过程

认识运动是一个有规律的辩证发展过程,经过由实践到认识,又由认识到实践的循环往复,不断发展实现认识与实践,主观与现实的具体历史的统一。以实践为基础的客体对客体的认识必然是一个无限发展的过程。实践的发展对认识提出新的问题,这些问题的解决又推动着认识不断向前发展,主体的认识能力在实践中产生并在实践中不断发展^[1]。种子细胞的选择一直是困扰骨组织工程进展的难题之一。因为已在科学实践的研究中利用骨外膜成骨细胞、松质骨来源成骨细胞、软骨细胞等作为种子细胞,但实践中发现这些细胞已接近成熟,在植入体内前的体外培养阶段增殖力较弱,而且取材不方便,供体局部损伤大,来源也比较有限,这些问题使骨组织工程的应用受到严重限制。骨髓由于来源较广,对供体损伤小,其作为种子细胞的来源之所也就相应地进入了研究领域,成为关注的对象。

骨髓间充质干细胞的研究经历了较长的逐渐深入的实践-认识-实践的过程。1974 年, Friedenstein 等^[2]首先发现骨髓标本中小部分贴附细胞在培养过程中能够分化形成类似骨或软骨集落。1987 年, Owen 等^[3]在分离培养时发现其形状呈成纤维细胞样,因而称其为“成纤维细胞集落形成单位(CFU-F)”。1988 年, Mamiatopoulos 等^[4]首次报道鼠 MSC 在体外培养能形成钙化的骨样组织,经 X-线衍射分析确定形成的钙化物具有羟基磷灰石结构,证明体外培养的骨髓基质具有成骨能力。1989 年, Benakya 等^[5]将 MSC 体外培养获得具有典型的成骨细胞特性的细胞:具有较高的碱性磷酸酶活性,只产生 I 型胶原,在条件培养液中可以产生矿化的细胞外基质。随着研究的深入,人们发现其对骨髓血系细胞具有支持诱导作用,且又来自骨髓基质,故将其称为“骨髓基质细胞(BMSCs)。”特别是在 1999 年, Pittenger^[6]在《Sci-

ence》上发表文章宣布其分离到骨髓来源的单个 MSC,产生极大反响,对其认识及研究也更加深入,对其研究也就越来越成为热点, MSC 的相关研究报告在各类杂志上明显增多。随着研究再深入,发现 MSC 在不同的诱导条件下,具有向中胚层组织细胞分化的能力,故又称其为“间充质干细胞”、“间充质祖细胞”、“骨源性干细胞”。因此从其名称的变化上也反映了人们对 MSC 的认识在不断科学实践的基础上一步步加深。

2 物质运动形式辩证关系的原理在 MSC 的多向分化特性的研究中的重要指导意义

马克思主义哲学关于物质运动形式辩证关系的原理认为一切物质都是以一定的运动形式存在着。每一种运动形式又包括着无限多样的具体运动形式,并且各种物质运动形式在一定条件下都可以相互转化。这对深入研究和理解 MSC 的多向分化特性具有重要指导意义。已有很多的研究表明 MSC 具有多向分化潜能,能够向成骨细胞、软骨细胞、成纤维细胞、脂肪细胞、内皮细胞等分化,但其分化需要一定条件。针对促使 MSC 定向分化的条件,人们进行了大量的研究。如在含有地塞米松、 β -甘油磷酸钠、维生素 C 的条件培养基中, MSC 能大量向成骨细胞转化,形成骨组织;在培养前将分离出的 MSC 低速离心,使细胞形成细胞微团,培养体中加入 TGF- β 即可促使 MSC 向软骨分化等等。但到目前为止,各种诱导物的作用机制还不太清楚,有待进一步研究。

另外, MSC 还存在多样性, Pittenger 等^[6]对来自同一供体的 6 个 MSC 单克隆进行了诱导,结果表明所有克隆的细胞可以分化成为成骨细胞,而只有 5 个克隆的细胞可以分化为脂肪细胞, 2 个克隆的细胞可以分化为软骨细胞。MSC 具有可塑性,是其特点之一。分化已定的 MSC,可以在一定诱导条件下进行转分化。有实验发现已表达骨钙素 OCN 的成骨细胞,能被 100% 诱导表达成脂肪细胞;肥大的软骨细胞可转分化而表达成骨细胞的标志物^[7],但其机理还不明了,人们推测 MSC 分化过程中存在双潜能细胞的阶段,但还有待进一步证实。

3 技术在 MSC 的研究中发挥重要作用

技术方法的进步极大地促进了人们对 MSC 认识和研究 的深度。马克思主义的技术论认为,技术作为自然科学的发展 动力推动着自然科学的进步。高纯度 MSC 或均质细胞群 的获取是 MSC 研究的理想基础条件。在如何获得纯的 MSC 的研究过程中就充分体现了技术方法的重要性。全骨髓法 和离心法是常用的 MSC 分离方法,因为造血系细胞在培养 过程中不贴壁死亡或随换液弃去,2~3 周可以消失,但有的 造血系细胞存在可达 2 个月之久。而在骨髓中只有少量的 间充质干细胞,仅占骨髓细胞的 0.01/万~1/万,所以单纯采 用以上方法难以获得纯的 MSC^[8]。后来,Pittenger 等^[9]采用 流式细胞仪法检测培养的第一、二代的 MSC 的均质性可达 95%和 98%,但骨髓基质中还包括内皮细胞、脂肪细胞、巨噬 细胞等具有附壁能力的细胞,难以获得纯的 MSC。于是人们 又改进技术方法,利用细胞表面特异性抗原标记分子的单克 隆抗体筛选的免疫方法来纯化 MSC 或去除非目的细胞,取 得很大进步,如 Majumdar 等^[9]利用 CD105 单克隆抗体包被 的微珠,在磁场作用下从梯度离心所得单纯细胞中分离纯化 MSC,结果提高了 9 倍克隆形成率。随着基因技术的进步, 基因转染 MSC 的培养又为我们获得纯的干细胞提供了新的 空间^[8]。有研究以逆转录病毒为载体,携带 LacZ 和 neo 基 因靶向体外培养的鼠 MSC,经 G418 筛选后的细胞在原代培 养中形成了大的成纤维细胞克隆,检测未发现血系细胞的污 染,细胞表达低水平的分化标记,但仍保持原始表型,保留着 向脂肪细胞和成骨细胞分化的潜能^[10]。

4 MSC 作为骨组织工程的种子细胞体现了系统科学方法 的最优化原则

最优化原则要求确定系统的最佳目标,取得最佳设计, 实现最佳控制,通过系统的最佳运作,实现系统的最佳效果。 在研究解决问题时,统筹兼顾,大力协作,多中取优,从中选 择最佳组合,以达到最佳目的,实现最优的成本效益。按照 上述系统方法最佳成化原则,选择作为骨组织工程的种子细 胞应具备下列条件:(1)在体外培养有较强的增殖能力,并保 持成骨潜能;(2)成骨能力明确;(3)取材方便;(4)来源广泛, 对供体损伤小。Maniopoulos 等^[4]研究发现鼠 MSC 在体外 培养能形成钙化的骨样组织,证明 MSC 具有明确的成骨能 力。MSC 的主要生物学特性包括两个非常重要的方面:一是 具有多向分化能力;二是具有强大的增殖能力,20 mL 的骨 髓样本经 3 代 6 周的培养可扩增 2×10^9 倍,达 1 013 个细 胞,相当于成年人体细胞的总数^[11]。另外 MSC 来源于骨 髓,取材方便,对供体造成的损伤很小,所以其被选择作为骨 组织工程的种子细胞体现了最优化原则。

5 运用系统科学方法动态相关性原则,开展对 MSC 的进一 步研究

动态相关性原则要求人们不但要从时间序列上观察研 究对象的发展变化特点,而且在分析问题时还要尽可能多地考 虑各种因素。在这个原则指导下,有学者根据现有 MSC 的 研究进程,提出有很多影响 MSC 的因素值得研究,如 MSC

间的相互作用、MSC 与造血干细胞间的相互作用、MSC 与不 同成熟阶段的细胞的相互作用直接对其生长、分化产生的影 响;因为 MSC 在骨髓及用于骨组织工程要受到周围环境的 力的作用,但对 MSC 在各种力学条件下的改变还知之甚少; 目前的细胞载体材料自身的缺陷使得人们不断尝试使用新 的载体材料,如何促进 MSC 与理想材料相容生长并成骨等 都是今后需要研究的重要方面^[12]。此外还有如转染的外源 基因在获得纯的 MSC 过程中是否会影响 MSC 的分化潜能, 纯化的 MSC 长期传代能力如何,如何提高基因转染率?中 药对 MSC 的成骨有无影响,影响程度、机制又如何?等等, 这些都是值得深入研究的相关问题。总之,人们只有在不断 科学实验的基础上,方能获得对 MSC 尽可能全面的认识,并 尽早地应用于临床实践,为骨组织的工程开辟新的道路。

参考文献

- [1]杨河,林娅,黄小寒,马克思主义哲学纲要[M].北京,北京大学出 版社,2001.124~129
- [2]Friedenstein AJ,Deriglasova UF,Kulagina NW,et al. Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method[J]. Exp Hematol,1974,2:83~92
- [3]Owen ME, Cave J, Joyner CJ, Clonal analysis in vitro of osteogenic differentiation of marrow CFU-F. [J]. J Cell Science, 1987, 87 (pt5):731
- [4]Maniopoulos C, Sodek J, Melcher AH Bone formation in vitro by stromal cells obtained from bone marrow of young adults rats[J]. Cell Tissue Res. 1988,254(3):317
- [5]Benayahu D, Kletter Y, Zipori D, et al. Bone marrow derived stroma- cell line expressing osteoblastic phenotype in vitro and osteogenic capacity in vivo[J]. J Cell physiol, 1989, 140(1):1
- [6]Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage Potential of adult human mesenchymal stem cells[J]. Science, 1999, 284:143
- [7]Nuttall ME, Patton AJ, Olivera QL, et al Human trabecular bone cells are able to express both osteoblastic and adipocytic phenotype: implications for osteogenic disorders [J]. J Bone Miner Res, 1998, 13(3):371
- [8]王运涛. 骨髓间充质干细胞分离培养的研究进展[M]. 国外医学 生物工程分册, 2002, 25(4):184~188
- [9]Majumdar MF, Bank V, Peluso DP. et al. Isolation, characterization, and chondrogenic potential of human bone marrow-derived multipo- tential stromal cells[J]. J Cell Physiol 2000, 185(1):98~106
- [10]Kitano Y, Rodu A, Shabban A, et al, Selection, enrichment, and culture expansion of murine Mesenchymal progenitor cells by retro- viral transduction of cycling adherent bone marrow cells[J]. Exp Hematol, 2000, 28(12):1 460~1 469
- [11]Colter DC, Class R, DiGirolamo CM. et al. Rapid expansion of re- cycling stem cells in cultures of plastic-adherent cells from human bone marrow[J]. Proc Natl Acad Sci USA. 2000, 97(7):3 213~3 218
- [12]韩君,陈槐卿. 骨组织工程的种子细胞——骨髓基质细胞的研 究进展[J]. 国外医学生物医学工程分册, 2001, 24(1):12~15

(收稿日期:2006-01-10)