

骨髓间充质干细胞复合 I 型胶原修饰的聚乳酸聚乙醇酸对骨质疏松大鼠骨缺损的影响

黄成校, 余化龙, 高超, 刘亚东

(湖北医药学院附属东风医院骨三科, 湖北 十堰 442008)

摘要:目的 通过将骨髓间充质干细胞复合 I 型胶原修饰的聚乳酸聚乙醇酸 (PLGA) 微球支架注入骨质疏松大鼠股骨转子间, 探讨其对骨缺损后骨质量的局部改善情况。方法 通过切除 30 只 SD 雌性大鼠双侧卵巢建立骨质疏松动物模型, 并用电钻在股骨转子间人为制作骨缺损; 实验动物按随机数字表法均分为给药组、模型组和假手术组。给药组大鼠骨缺损部位注入骨髓间充质干细胞复合 I 型胶原修饰的 PLGA 微球, 模型组大鼠骨缺损部位注入 PBS 缓冲液, 假手术组大鼠行假手术。分别考察术后 1、3 个月骨缺损部位的骨矿含量、骨密度、骨小梁厚度、骨小梁面积百分比及分离度。结果 骨髓间充质干细胞与 I 型胶原修饰的 PLGA 微球支架体外培养 7 d, 发现细胞在支架表面黏附、生长良好。与模型组比较, 给药组动物术后 1 个月的骨密度、骨小梁厚度、骨小梁面积百分比均显著增大, 骨小梁分离度显著减小, 均差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 骨矿含量变化不明显 ($P > 0.05$); 给药组动物术后 3 个月的骨矿含量、骨密度、骨小梁厚度、骨小梁面积百分比均显著大于模型组, 骨小梁分离度显著小于模型组, 均差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 骨髓间充质干细胞复合 I 型胶原修饰的 PLGA 微球可修复大鼠骨质疏松部位骨缺损, 改建骨小梁结构, 提高骨质量。

关键词: 骨髓间充质干细胞; 聚乳酸聚乙醇酸; 骨质疏松; 骨密度

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2017.04.008

Effect of polylactic acid-polyglycolic acid copolymer/collagen type I microsphere combined with bone mesenchymal stem cells on bone defects in animal model with osteoporosis

HUANG Chengxiao, YU Hualong, GAO Chao, LIU Yadong

(The Third Department of Osteology, The Affiliated Dongfeng Hospital of Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442008, China)

Abstract: Objective To study the effects of PLGA/CoI microspheres combined with BMSCs on bone defects in animal model with

通信作者: 余化龙, 男, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 手显微外科, E-mail: yuhualong_2009@qq.com

参考文献

- [1] COLLEY DG, BUSTINDUY AL, SECOR WE, et al. Human schistosomiasis [J]. Lancet, 2014, 383 (9936): 2253-2264.
- [2] THÉTIOT-LAURENT SA, BOISSIER J, ROBERT A, et al. Schistosomiasis chemotherapy [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2013, 52 (31): 7936-7956.
- [3] WANG W, WANG L, LIANG YS. Susceptibility or resistance of praziquantel in human schistosomiasis: a review [J]. Parasitol Res, 2012, 111 (5): 1871-1877.
- [4] CIOLI D, PICA-MATTOCCIA L, BASSO A, et al. Schistosomiasis control: praziquantel forever [J]. Mol Biochem Parasitol, 2014, 195 (1): 23-29.
- [5] JIM F, CHENG D, TAO JY, et al. Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of corilagin in a rat model of acute cholestasis [J]. BMC Gastroenterol, 2013, 13: 79.
- [6] 郑兰娟, 罗艳萍, 汪玉娇, 等. 五倍子抗菌抗炎作用研究进展 [J]. 中国病原生物学杂志, 2011, 6 (11): 868-869.
- [7] 郭姝彤, 刘永仙, 艾彩莲, 等. 五倍子有效成分提取分离、药理作用及临床应用研究进展 [J]. 陕西中医, 2015, 36 (6): 762-764.
- [8] GUO YJ, LUO T, WU F, et al. Corilagin Protects Against HSV1 Encephalitis Through Inhibiting the TLR2 Signaling Pathways In Vivo and In Vitro [J]. Mol Neurobiol, 2015, 52 (3): 1547-1560.
- [9] GUO YJ, ZHAO L, LI XF, et al. Effect of Corilagin on anti-inflammation in HSV-1 encephalitis and HSV-1 infected microglia [J]. Eur J Pharmacol, 2010, 635 (1/3): 79-86.
- [10] 蔡文, 赵雷, 李华蓉, 等. 山奈酚对感染日本血吸虫小鼠 TGF- β 1/Smads 信号通路的影响 [J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2014, 26 (4): 399-403.
- [11] ROSS AG, OLVEDA RM, ACOSTA L, et al. Road to the elimination of schistosomiasis from Asia: the journey is far from over [J]. Microbes Infect, 2013, 15 (13): 858-865.
- [12] 郭文建, 牛雪花, 周建敏, 等. 替米沙坦治疗晚期血吸虫肝硬化门静脉高压的临床疗效观察 [J]. 安徽医药, 2015, 19 (4): 779-780.
- [13] KUBOTA S, TAKIGAWA M. Cellular and molecular actions of CCN2/CTGF and its role under physiological and pathological conditions [J]. Clin Sci, 2015, 128 (3): 181-196.

(收稿日期: 2016-08-18, 修回日期: 2016-09-10)

osteoporosis. **Methods** Thirty Sprague Dawley rats were ovariectomized to establish osteoporosis animal models, and the intertrochanteric bone defect was made with electric drill. The models were randomly assigned into sham group (treated with sham operation), control group (the intertrochanteric bone defect sites were treated with phosphate buffer saline) and drug administration group (the intertrochanteric bone defect sites were treated with PLGA/CoI microspheres combined with BMSCs). The bone mineral content, bone mineral density, trabecular thickness, percentage of trabecular area and trabecular spacing after operation for 1, 3 months were compared. **Results** After 7 days of coculture, BMSCs seeded on PLGA/CoI microspheres had nice adherence and proliferation. The bone mineral density, trabecular thickness and percentage of trabecular area were larger, the trabecular spacing value was smaller in drug administration group compared with the control group after operation for one month (all $P < 0.05$), respectively; the change of bone mineral content was insignificant ($P > 0.05$). Compared with the control group, the bone mineral content, bone mineral density, trabecular thickness and percentage of trabecular area increased significantly in drug administration group (all $P < 0.05$); the trabecular spacing value decreased significantly in drug administration group ($P < 0.05$). **Conclusions** The bone defect of osteoporotic site can be repaired, the trabecular reconstruction and bone quality of osteoporotic site also can be improved after the injection of the PLGA/CoI microspheres combined with BMSCs.

Key words: Bone mesenchymal stem cell; Polylactic acid-polyglycolic acid copolymer; Osteoporosis; Bone mineral density

目前已有的人工骨修复替代材料均是通过物理方法固定骨质疏松部位的骨小梁微骨折, 填充骨小梁间的微小骨缺损, 进而预防和治疗骨折, 但这些方法存在共同的缺点: (1) 物理性填充椎体对骨小梁改建无促进作用; (2) 存在渗漏的风险; (3) 材料的长期力学特性尚有待研究^[1-2]。理想的可注射性骨修复材料要能以微创方式修复病变部位, 其制备应考虑生物活性物质骨诱导和基质材料骨传导的优点^[3-4]。目前, 能够提高骨质疏松部位力学强度并能促进骨小梁改建的骨填充材料较少。研究表明 I 型胶原可促进骨髓间质干细胞黏附、增殖, 并向成骨细胞分化^[5], 且聚乳酸聚乙醇酸共聚物 (PLGA) 微球已广泛用于骨组织工程种子细胞扩增^[6]。但未见应用干细胞复合 PLGA 微球支架预防骨质疏松性骨缺损的相关报道。本研究建立大鼠骨质疏松动物模型, 将骨髓间充质干细胞复合 I 型胶原修饰的 PLGA 微球支架注射入大鼠股骨转子间的骨缺损部位, 通过考察骨密度、骨显微结构等指标探讨此复合材料在骨质疏松部位改善骨质量的效果。研究目的在于观察骨髓间质干细胞与 I 型胶原修饰的 PLGA 微球支架结合的能力, 并观察骨髓间质干细胞复合 I 型胶原修饰的 PLGA 微球在动物骨质疏松部位的成骨情况。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 清洁级健康雌性未孕 SD 大鼠 30 只, 3 月龄, 体质量约 200 g; 另 2 只 50 g 雌性大鼠用于培养骨髓间充质干细胞, 实验动物购自南昌大学医学实验动物中心, 动物使用许可证号: SYXK (赣) 2015-0003。动物实验遵循《关于善待实验动物的指导意见》的相关规定。

1.1.2 主要试剂与仪器 聚乳酸聚乙醇酸 (PLGA) (美国, Sigma); I 型胶原 (美国, Santa cruz 公司); 胎牛血清、DMEM 低糖培养基 (美国, Hyclone 公司); 青霉素、链霉素混合液、胰蛋白酶-乙二胺四乙酸消化液 (南京, 凯基生物); 磷酸盐缓冲液 (南京, 碧云天生物技术研究所在所)。JSM-6700F 扫描电镜 (日本, JEOL 公司); QDR-4500A 双能 X 线骨密度仪 (美国, HOLOGIC 公司); Micro CT 系统 (比利时, Skyscan 公司); CO₂ 恒温孵育箱 (日本, SANYO 公司); CHC-212 光学显微镜、CK40 倒置显微镜 (日本, OLYMPUS 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 骨质疏松模型的制备 所有实验雌性 SD 大鼠在全麻状态下行去势手术切除双侧卵巢, 卵巢切除后饲养 3 个月^[7]。

1.2.2 骨髓间充质干细胞的分离与培养 将 2 只 50 g 雌性 SD 大鼠处死, 分离股骨干和胫骨干, 剪去干骺端, PBS 冲洗骨髓, 冲洗液 800 r · min⁻¹ 离心 3 min, 弃上清。用 3 mL DMEM 培养基 (含体积分数为 10% 的胎牛血清, 10 g · L⁻¹ 青霉素、链霉素混合液) 重悬, 接种至 75 mL 培养瓶中。定期更换细胞培养液、并消化传代^[8]。

1.2.3 PLGA 微球支架的制备和修饰 将 1.25 mL 不同浓度 (50 g · L⁻¹ 和 100 g · L⁻¹) 的 NH₄HCO₃ 溶液 (W1 相) 加入 4 mL 不同浓度 (15.6、31.3、62.5 g · L⁻¹) 的 PLGA 有机溶液中 (O 相), 冰水浴中乳化得到初乳液 (W1/O)。将所得初乳液倒入 150 mL 1 g · L⁻¹ 的 PVA 水溶液中 (W2 相), 搅拌得到二次乳液 (W1/O/W2), 有机溶剂挥发得到 PLGA 多孔微球, 蒸馏水洗涤。将 PLGA 多孔微球分散于过量的 2 mol · L⁻¹ 乙二胺水溶液中, 水解后的微球用蒸馏

水清洗。将微球浸泡于 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 I 型胶原溶液中, 4°C 过夜, 蒸馏水清洗制成 I 型胶原修饰的 PLGA 微球支架, 进行 ^{60}Co 辐射消毒^[9-10]。

1.2.4 PLGA 微球支架与骨髓间充质干细胞联合培养 取第 3 代骨髓间充质干细胞, EDTA 溶液消化细胞, 并调整细胞密度达到 1×10^7 个 $\cdot$ 毫升⁻¹。向 6 孔板中每孔加入 1 mL DMEM、1 mL I 型胶原修饰的 PLGA 微球和 1 mL 细胞悬液 (1×10^7 个 $\cdot$ 毫升⁻¹), 再加入 3 mL DMEM。每天半量换液, 第 6 天改为无血清培养基。将细胞复合支架与无血清培养基共同培养至第 7 天, 取部分材料于扫描电镜下观察微球表面细胞的生长情况, 其它用于体内实验。

1.2.5 动物骨缺损制作及分组 SD 大鼠麻醉后切开并显露双侧股骨大转子, 以电钻自大转子向小转子方向制作直径 2.5 mm、深 3 mm 的骨缺损^[11]。将 30 只去势大鼠按随机数字表法分为 3 组, 每组 10 只。假手术组大鼠行假手术、模型组大鼠股骨转子间骨缺损区注入 PBS 缓冲液、给药组大鼠股骨转子间骨缺损区注入骨髓间充质干细胞复合 I 型胶原修饰的 PLGA 微球, 每侧注入均约为 30 μL , 分层缝合肌肉、皮肤。术后 1 个月和 3 个月每组各处死 5 只大鼠, 取出完整股骨, 剔除软组织后生理盐水纱布包裹, -20°C 保存。

1.2.6 股骨转子间区骨密度测定 股骨标本置于双能 X 射线骨密度仪的探头下, 应用小动物软件进行股骨扫描, 测定股骨转子间区骨矿含量和骨密度。

1.2.7 股骨转子间区骨小梁结构观察 将股骨自

小转子下缘离断, 近端部分沿长轴置于样品容器内, 于电压 80 kV, 分辨率 6.8 μm 条件下进行 Micro CT 扫描, 测定股骨转子间区骨形态计量学指标。骨形态计量学检查指标: 骨小梁厚度用于描述骨小梁结构形态, 数量一定的条件下, 厚度越大, 骨量越多; 骨小梁面积百分比为骨小梁面积占骨组织面积的百分比, 反映骨量的多少; 骨小梁分离度用于描述骨小梁间的平均距离, 分离度越大, 骨小梁间距越大, 骨质越疏松。

1.3 统计学方法 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 SPSS 20.0 统计软件分析, 采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 检验; 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨髓间充质干细胞与微球支架联合培养观察

图 1A 显示 PLGA 微球扫描电镜结构, I 型胶原修饰的 PLGA 微球支架表面有大量胶原丝(图 1B), 骨髓间充质干细胞与 I 型胶原修饰的 PLGA 微球支架共培养 7 d 后, 骨髓间充质干细胞可在微球支架表面黏附并生长良好(图 1C)。

2.2 术后 1 个月骨矿含量、骨密度及骨小梁组织形态学的比较 与模型组比较, 给药组动物术后 1 个月股骨转子间区的骨密度、骨小梁厚度、骨小梁面积百分比均显著增大 ($P < 0.05$), 骨小梁分离度明显减小 ($P < 0.05$), 但两组间骨矿含量比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与假手术组比较, 给药组动物术后 1 个月股骨转子间区骨密度显著增大 ($P < 0.05$), 骨小梁分离度显著减小 ($P < 0.05$), 见表 1。

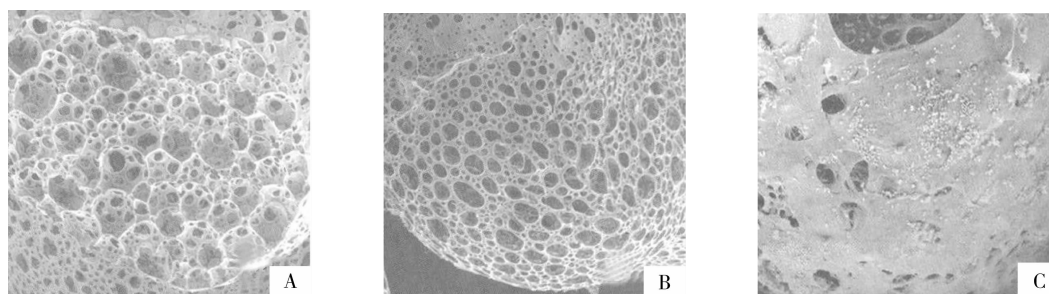


图 1 骨髓间充质干细胞与微球支架联合培养电镜观察

表 1 两组动物术后 1 个月骨矿含量、骨密度及骨小梁组织形态学的比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	鼠数/只	骨矿含量/mg	骨密度/ $\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$	骨小梁厚度/ μm	骨小梁面积百分比/%	骨小梁分离度/ μm
给药组	10	42.46 ± 4.80	$0.318 \pm 0.013^{\text{ab}}$	$455.98 \pm 21.97^{\text{a}}$	$9.63 \pm 0.44^{\text{a}}$	$2659.94 \pm 117.93^{\text{ab}}$
模型组	10	36.52 ± 6.22	0.264 ± 0.024	$250.25 \pm 38.66^{\text{b}}$	$8.40 \pm 0.39^{\text{b}}$	3226.77 ± 88.97
假手术组	10	36.01 ± 5.06	0.261 ± 0.023	445.08 ± 25.29	9.35 ± 0.53	3154.84 ± 90.29
F 值		2.213	11.987	76.816	9.999	47.653
P 值		0.152	0.001	0.000	0.003	0.000

注: 与模型组比较, $^{\text{a}}P < 0.05$; 与假手术组比较, $^{\text{b}}P < 0.05$ 。

2.3 术后3个月骨小梁形态变化 股骨转子间区 Micro CT 扫描结果显示,模型组骨小梁断裂,排列较稀疏,形态结构完整性差;给药组骨小梁粗壮、饱满,形态结构完整,连接成网状,见图2。

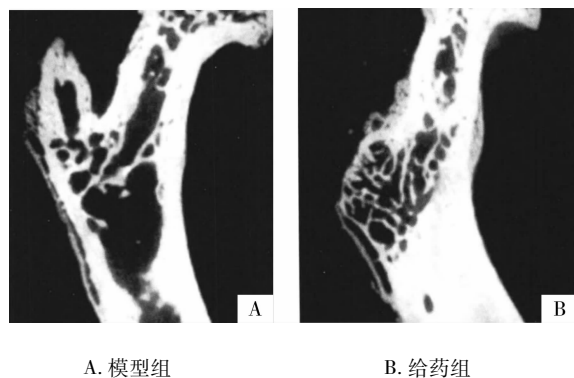


图2 术后3个月股骨转子间区骨小梁结构
Micro CT 扫描图

2.4 术后3个月骨矿含量、骨密度及骨小梁组织形态学的比较 与模型组和假手术组比较,给药组动物术后3个月股骨转子间区的骨矿含量、骨密度、骨小梁厚度、骨小梁面积百分比均显著增大($P < 0.05$),骨小梁分离度均明显减小($P < 0.05$);与假手术组比较,模型组动物术后3个月股骨转子间区的骨矿含量、骨密度、骨小梁面积百分比均明显减小($P < 0.05$),见表2。

3 讨论

目前常采用椎体成形术或椎体后凸成形术治疗骨质疏松症椎体出现骨折的病人,手术中常采用的骨水泥聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)可导致多种术中及术后并发症,主要包括:骨水泥凝固时产生的凝聚热可能灼伤邻近组织,也可能烧伤椎体内骨细胞而影响骨折愈合;PMMA 单体吸收还可引起低血压休克;骨水泥界面出现异物反应,可造成骨吸收,导致椎体力学强度下降;PMMA 无活性且不可降解,一旦注入体内将成为永久性的异物存在,并影响骨的重塑^[12-13]。因此,对于临床上更为多见的骨密度下降严重、濒临骨折的“高危”骨质疏松症病

人,并不适合采用此类手术治疗。

研究表明骨质疏松症常伴间充质干细胞增殖和成骨分化能力的下降,成骨细胞成骨能力也降低,局部注射正常间充质干细胞可改善骨质疏松部位的骨结构^[14],骨髓间充质干细胞易于分离增殖,具有多向分化潜能等优点,使其成为免疫调节组织修复和细胞治疗的首选材料^[15]。I型胶原是骨组织重要的细胞外基质,将I型胶原均匀包被在PLGA材料表面,可实现种子细胞在材料上良好的黏附和生长。已有文献报道干细胞复合支架材料治疗骨缺损的研究结果^[16-17],如腺病毒介导的骨保护素转染脂肪干细胞复合I型胶原修饰的PLGA 8周后可以促进大鼠骨质疏松左侧股骨骨折部位早期骨痂的形成,增加剪切强度、弹性模量、最大应力及最大载荷降低剪切应变,改善骨折愈合后的力学强度^[18]。本研究设想制备I型胶原修饰的PLGA微球支架,将骨髓间充质干细胞与支架复合后通过注射的方法植入骨质疏松模型动物骨缺损部位,促进骨小梁改建,提高骨质力学强度,预防骨质疏松性骨折。

骨密度指单位面积的骨矿含量,具有较高的精密度和准确度,能直接反映骨量的变化,而骨矿含量只能反映大鼠整体的骨量变化,用于评价骨量丢失效能较差。本研究结果显示,术后1、3个月骨密度值显著高于模型组,术后3个月骨矿含量也显著高于模型组,说明植入干细胞复合I型胶原修饰的PLGA支架能在一定程度上提高骨质疏松动物骨缺损部位的骨密度值。

骨强度主要由骨的矿物质含量决定,但骨密度与骨强度有时并不完全一致,骨密度并不能完全反映骨强度高低,而骨的结构对骨强度具有较大影响。因此,在骨质疏松症的诊断和治疗中对骨结构变化的把握具有重要意义。Micro CT的空间分辨率高,并可重建骨小梁模型,其采用三维测量与三维成像方法可直接测定骨形态参数,测量参数与传统形态计量参数高度相关,精确度亦高于传统骨组织

表2 两组动物术后3个月骨矿含量、骨密度及骨小梁组织形态学的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数/只	骨矿含量/mg	骨密度/ $g \cdot m^{-2}$	骨小梁厚度/ μm	骨小梁面积百分比/%	骨小梁分离度/ μm
给药组	10	50.54 ± 5.25^{ab}	0.328 ± 0.019^{ab}	356.86 ± 25.85^{ab}	6.57 ± 0.33^{ab}	1552.40 ± 73.55^{ab}
模型组	10	27.73 ± 6.69^b	0.203 ± 0.017^b	84.67 ± 9.53	4.72 ± 0.19^b	4587.63 ± 391.66
假手术组	10	37.14 ± 5.18	0.250 ± 0.022	101.20 ± 12.25	5.23 ± 0.18	4751.36 ± 314.94
F 值		19.892	53.489	384.180	78.232	188.696
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与模型组比较,^a $P < 0.05$;与假手术组比较,^b $P < 0.05$ 。

形态计学^[19]。文献报道,因为新生骨小梁的骨量减少、连接减少,骨质疏松症将影响骨质疏松大鼠的骨折愈合^[20]。本研究显示,术后1、3个月骨小梁厚度、骨小梁面积显著大于模型组,术后1、3个月骨小梁分离度也显著小于模型组,说明植入干细胞复合I型胶原修饰的PLGA支架能够修复骨质疏松部位的骨缺损,并促进了骨小梁的改建,提高骨的质量。

本研究尚存在一定的局限性,如每组实验动物样本量较少,在以后的实验中将增加样本量,并进行大动物实验以进一步验证材料骨修复的效果。另外,本研究使用的植入材料强度需进一步改进以满足临床上对术后即刻稳定的要求。

综上所述,本研究制备了I型胶原修饰的PLGA微球支架,将干细胞与支架进行体外培养,通过注射方式将复合材料植入骨质疏松大鼠骨缺损部位,术后1个月时,复合支架能够更快地修复骨质疏松性骨缺损;术后3个月该复合支架可促进骨质疏松部位骨小梁的改建,提高骨质量,在一定程度上发挥骨质疏松性骨折预防和治疗的作用。

参考文献

- [1] 赵斌,赵轶波,赵晓峰,等. 不同填充材料在修复羊椎体内骨缺损的吸收与成骨特性[J]. 中华实验外科杂志,2013,30(12):2655-2657.
- [2] 毕鑫,李多玉,杨毅,等. 不同人工骨材料复合骨髓间充质干细胞治疗早期股骨头坏死:争议与进展[J]. 中国组织工程研究,2014,18(12):1957-1962.
- [3] ALGHAMDI HS, BOSCO R, VAN DEN BEUCKEN JJ, et al. Osteogenicity of titanium implants coated with calcium phosphate or collagen type-I in osteoporotic rats[J]. Biomaterials, 2013, 34(15):3747-3757.
- [4] PERRIEN DS, YOUNG CS, ALVAREZ-URENA PP, et al. Percutaneous injection of augment injectable bone graft (rhPDGF-BB and β -tricalcium phosphate [β -TCP]/bovine type I collagen matrix) increases vertebral bone mineral density in geriatric female baboons[J]. Spine J, 2013, 13(5):580-586.
- [5] GUENTHER D, OKS A, ETTINGER M, et al. Enhanced migration of human bone marrow stromal cells in modified collagen hydrogels[J]. Int Orthop, 2013, 37(8):1605-1611.
- [6] MIAO T, RAO KS, SPEES JL, et al. Osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells through alginate-graft-poly(ethylene glycol) microsphere-mediated intracellular growth factor delivery[J]. J Control Release, 2014, 192:57-66.
- [7] 武巧珍,徐珏,诸葛飞,等. 两种雌激素对去卵巢大鼠子宫内膜的影响[J]. 安徽医药,2014,18(11):2054-2057.
- [8] 李鹏,黄成硕,高翔,等. 大鼠骨髓间充质干细胞体外分离及对原发性骨质疏松性骨折的实验研究[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(14):1984-1985.
- [9] 李雅钗,黄向华,张明乐,等. 聚乳酸-聚羟基乙酸/I型胶原复合支架的生物相容性研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2015, 29(9):1144-1149.
- [10] 于祥茹,韩晓谦,程梁,等. 载辛伐他汀 PLGA/CPC 支架材料复合 BMSCs 修复大鼠颅骨缺损的实验研究[J]. 口腔医学研究, 2015, 31(10):1032-1036.
- [11] 柳维,陶周善,贺行文,等. 唑来膦酸对骨质疏松性大鼠骨缺损修复的实验研究[J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2015, 30(7):736-739.
- [12] 隋福革,李恒,赵丛然,等. 经皮椎体后凸成形术治疗骨质疏松性椎体压缩骨折的并发症分析[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2012, 22(11):984-988.
- [13] 朱坤,张长春,邵晨. 经皮椎体成形术与经皮椎体后凸成形术后邻近椎体继发骨折的研究进展[J]. 中国修复重建外科杂志, 2013, 27(3):369-373.
- [14] POUNTOS I, GEORGOULI T, HENSHAW K, et al. The effect of bone morphogenetic protein-2, bone morphogenetic protein-7, parathyroid hormone, and platelet-derived growth factor on the proliferation and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells derived from osteoporotic bone[J]. J Orthop Trauma, 2010, 24(9):552-556.
- [15] 刘凯,文刚,刘日富,等. 骨髓间充质干细胞治疗局部骨质疏松[J]. 中国骨质疏松杂志, 2013, 19(11):1203-1206.
- [16] LANGENBACH F, NAUJOKS C, LASER A, et al. Improvement of the cell-loading efficiency of biomaterials by inoculation with stem cell-based microspheres, in osteogenesis[J]. J Biomater Appl, 2012, 26(5):549-564.
- [17] 刘日富,陶树清. 干细胞移植结合支架材料治疗骨质疏松[J]. 临床荟萃, 2014, 29(1):96-100.
- [18] 汪玉海,金丽娟,沈军. Ad-OPG 转染脂肪干细胞复合 I 型胶原修饰的 PLGA 对骨质疏松骨折愈合后生物力学的影响[J]. 宁夏医学杂志, 2012, 34(12):1191-1193.
- [19] 齐进,徐海峰,王晋申,等. 骨组织形态计量学和微 CT 测量技术在骨质疏松研究中的应用[J]. 国际骨科学杂志, 2012, 33(3):157-159.
- [20] CHENG N, DAI J, CHENG X, et al. Porous CaP/silk composite scaffolds to repair femur defects in an osteoporotic model[J]. J Mater Sci Mater Med, 2013, 24(8):1963-1975.

(收稿日期:2016-07-13,修回日期:2016-08-29)