文章编号:1000-5404(2011)06-0591-05

论著

成骨细胞及血管内皮细胞复合同种异体颗粒骨治疗大鼠股骨头坏死

李琪佳[1],郭 静[1],甘洪全[2],宋会平[2],白俊清[2],王志强[2] (063000 河北 唐山,华北煤炭医学院:实验中心[1],附属医院骨科[2])

【摘要】 **目的** 探讨骨髓基质干细胞(bone marrow stromal stem cells,BMSCs)来源的大鼠同种异体成骨细胞(osteoblast, OB)及血管内皮细胞(vascular endothelial cells, VEC)与同种异体颗粒骨复合后治疗大鼠创伤性股骨头坏死(osteonecrosis of the femoral head, ONFH)的可能性。**方法** 36只6月龄SD大鼠,分为模型组、同种骨组及OB+VEC+同种骨组($n=12$)。同时取4周龄SD大鼠BMSCs体外分离培养,取第3代细胞复合同种颗粒骨;制备大鼠创伤性股骨头坏死动物模型(圆韧带离断法)并分别在术后1、2、4、6周处死动物并取材。扫描电镜观察两种细胞在支架上的生长情况;免疫细胞化学技术检测诱导后血管内皮细胞CD34、CD31的表达;碱性磷酸酶(ALP)染色及Ⅰ型胶原免疫细胞化学染色鉴定成骨细胞;5-溴脱氧尿嘧啶(5-bromo-2-deoxy Uridine, BrdU)体外标记成骨细胞及内皮细胞,动物体内示踪两种细胞动力学。光镜观察病理形态改变;通过骨形态计量学参数计算新骨生成量,包括骨小梁面积百分率(percent trabecular area, %Tb. Ar)、骨小梁厚度(trabecular bone thickness, Tb. Th)、骨小梁数量(trabecular bone number, Tb. N)、骨小梁分离度(trabecular bone separation degree, Tb. Sp)。**结果** BMSCs诱导来源的成骨细胞其ALP染色及Ⅰ型胶原免疫组化染色均呈阳性反应;血管内皮细胞表达了其标志物CD31、CD34。两种细胞与同种骨有良好的组织细胞相容性,细胞在其表面及壁内平铺、伸展、生长状态良好。OB+VEC+同种骨组新骨生成量均多于模型组及同种骨组,各项新骨形成参数均高于模型组及同种骨组($P<0.01$)。**结论** OB+VEC+同种骨支架材料在治疗实验性大鼠ONFH中其促成骨能力优于单纯同种异体颗粒骨。

【关键词】 骨髓基质干细胞;成骨细胞;血管内皮细胞;同种异体骨;股骨头坏死
【中图法分类号】 R-332;R618.805;R329.24 【文献标志码】 A

Osteoblasts and vascular endothelial cells combined with allogeneic morselized bone graft for treating rat osteonecrosis of the femoral head

Li Qijia[1], Guo Jing[1], Gan Hongquan[2], Song Huiping[2], Bai Junqing[2], Wang Zhiqiang[2] ([1]Laboratory Center, [2]Department of Orthopaedics, Affiliated Hospital, North China Coal Medical Collage, Tangshan, Hebei Province, 063000, China)

【**Abstract**】 **Objective** To study the possibility of bone marrow stromal stem cells (BMSCs)-derived allogeneic osteoblasts (OBs)/vascular endothelial cells (VECs) combined with allogeneic morselized bone grafts for treating rat traumatic osteonecrosis of the femoral head (ONFH). **Methods** Thirty-six six-month-old SD rats were divided into three groups: model group, allogeneic bone group, and OB+VEC+allogeneic bone group, each including 12 rats. BMSCs, extracted from 4-week-old SD rats, were cultured *in vitro*, and the obtained third-generation cells were combined with allogeneic morselized bone. An animal model for rat traumatic ONFH was built through removing round ligaments of femoral heads, and the animals were sacrificed in the first, second, fourth, and sixth weeks after implanting OB+VEC+allogeneic morselized bone or allogeneic morselized bone to collect the femoral heads. The growth of OBs and VECs on allogeneic morselized bone was observed with a scanning electronic microscope. The expression of CD34 and CD31 in VECs was detected through an immunocytochemical method. OBs were identified through alkaline phosphatase (ALP) staining and collagen type-Ⅰ immunocytochemical staining. OBs and VECs were labeled with 5-bromo-2-deoxy uridine (BrdU) *in vitro*, so as to trace the kinetics of OBs and VECs *in vivo*. Pathological morphology changes were observed with an optical microscope. New bone formation was calculated according to bone histomorphometry parameters, including percent trabecular area (%Tb. Ar), trabecular bone thickness (Tb. Th), trabecular bone number (Tb. N), and trabecular bone separation degree (Tb. Sp). **Results** ALP staining and collagen type-Ⅰ immunohistochemical staining of the BMSC-derived OBs gave positive results. The VECs expressed CD31 and

【基金项目】 河北省人事厅留学归国人员科技活动基金(200911)
【通信作者】 王志强,电话:(0315)3726369,E-mail:wzhqde@163.com

CD34. The OBs and VECs exhibited excellent biocompatibility with the allogeneic bone, and were in good spreading, extension, and growth conditions on its surfaces. The OB + VEC + allogeneic bone group accomplished more new bone formation than the model group and allogeneic bone group, and each new bone formation parameter of the OB + VEC + allogeneic bone group was higher than those in the model group and allogeneic bone group ($P<0.01$). **Conclusion** The OB + VEC + allogeneic bone composite has higher ability to promote new bone formation in treatment of rat traumatic ONFH than allogeneic morselized bone alone.

[Key words] bone marrow stromal stem cells; osteoblast; vascular endothelial cell; allogeneic bone; osteonecrosis of the femoral head

Supported by the Foundation of Science and Technology Activities for Overseas Returns of Department of Human Resources of Hebei Province (200911). Corresponding author: Wang Zhiqiang, Tel: 86-315-3726369, E-mail: wzhqde@163.com

股骨头坏死(osteonecrosis of the femoral head, ONFH)是由于股骨头血液供应中断而导致骨细胞变性坏死、骨髓造血细胞和脂肪细胞死亡引起的病理过程[1]。随着骨组织工程的进展,骨髓基质干细胞(bone marrow stromal stem cells, BMSCs)治疗ONFH的理论及临床应用研究越来越受到重视[2]。本实验对大鼠ONFH模型股骨头坏死塌陷病灶植入BMSCs来源的成骨细胞(osteoblast, OB)及血管内皮细胞(vascular endothelial cells, VEC)与同种骨粉复合物,观察其病理形态学改变;同时通过骨形态计量学参数测量及计算新骨生成量,探讨OB + VEC + 同种骨移植材料应用于治疗ONFH的可能性,为临床治疗ONFH提供新方法。

1 材料与方法

1.1 材料

6月龄SD大鼠36只,体质量400~450 g(用于创伤性股骨头坏死模型制备);4周龄SD大鼠4只,雌雄不限,体质量100~110 g(用于骨髓基质干细胞分离培养及诱导)。动物均由本院实验动物中心提供[许可证:SCXK(京)2007-0001]。同种骨由中国辐射防护研究院辐照技术研究所赠送。

1.2 方法

1.2.1 BMSCs的分离及诱导[3] BMSCs原代获取及传代。取大鼠股骨和胫骨骨髓,制成单细胞悬液,待原代BMSCs长满瓶底大部时传代。将其第3代BMSCs加入成骨条件培养基(10%胎牛血清、β-甘油磷酸钠10 mmol/L、地塞米松10^{-8} mol/L、维生素C 50 mg/L)及血管内皮细胞条件培养基(10%胎牛血清、血管内皮细胞生长因子10 μg/L、碱性成纤维细胞生长因子2 μg/L)中诱导培养。

1.2.2 OB与VEC的鉴定 将诱导后的两种细胞分别进行碱性磷酸酶(ALP)染色及Ⅰ型胶原免疫细胞化学染色以鉴定OB;CD31、CD34免疫细胞化学染色以鉴定VEC。

1.2.3 OB与VEC直接共培养及MTT法检测细胞增殖活力 将诱导7 d后的OB与VEC 1:1接种于同一培养瓶中直接共培养,以OB和VEC作为实验组;以未诱导的BMSCs作为对照组。调整细胞数为2×10^4/ml,接种于96孔板。每孔加入20 μl MTT(5 mg/ml),37 ℃孵育。弃上清,加入200 μl二甲基亚砜,振荡,于酶联免疫检测仪490 nm波长处测定各孔光密度值[D(490)],取均值,分析其生长及增殖情况[4]。

1.2.4 BrdU标记OB和VEC 分别取OB及VEC加入BrdU,使终浓度为10 μmol/L的成骨培养基和内皮培养基继续培养72 h。制成2×10^6/ml单细胞悬液,并以1:1的比例混合,继续培养,待细胞贴壁后行BrdU免疫细胞化学染色检测BrdU标记物是否掺入到细胞内。

1.2.5 制备BrdU标记的OB + VEC + 同种骨复合物 将制备好的同种骨粉置入96孔板,漂洗,干燥。再将BrdU标记的OB、VEC接种于同种骨粉上,孵育。倒置相差显微镜观察细胞生长情况;扫描电镜观察细胞在同种骨上的生长状态。上述复合物用于模型植入实验。

1.2.6 大鼠ONFH模型制备及治疗 将36只SD大鼠,分为模型组、同种骨组及OB + VEC + 同种骨组,每组12只,每组下设术后1、2、4、6周4个时相点,每个时相点3只。模型组:单侧制备模型,对侧作为健康对照;同种骨组:模型建立1周后行骨粉植入术;BrdU标记的OB + VEC + 同种骨组:模型建立1周后,行OB + VEC + 同种骨复合物植入术。通过圆韧带离断的方法建立创伤性大鼠ONFH模型[5-6]。模型建立后1周行治疗手术。将OB及VEC制成细胞悬液,加入同种骨粉使最终复合材料中骨粉浓度约为4 mg/ml。用加样器缓慢注入钻孔内,无反流。迅速用骨蜡封闭钻孔。术后肌注抗生素以预防感染。

1.2.7 ONFH标本大体及切片观察 各时间点分别处死动物取股骨头,观察其表面及切面病变。后行脱钙石蜡及不脱钙骨组织切片,经HE及Von Kossa染色。切片新生骨小梁处采样。光镜(×100)下每张切片选5个视野,计算均值。利用北京航空航天大学图像分析系统软件测量分析新生骨量,得出骨小梁面积百分率(percent trabecular area, % Tb. Ar)、骨小梁厚度(trabecular bone thickness, Tb. Th)、骨小梁数量(trabecular bone number, Tb. N)、骨小梁分离度(trabecular bone separation degree, Tb. Sp)[7]。

1.3 统计学分析

采用SPSS 13.0统计软件,计量资料用$\bar{x}\pm s$表示行单因素方差分析,组间两两比较采用SNK法。

2 结果

2.1 BMSCs向OB、VEC的诱导及鉴定

BMSCs成骨诱导7 d后,ALP染色及Ⅰ型胶原免疫细胞化学染色呈阳性反应;BMSCs向血管内皮细胞诱导14 d,CD31、

CD34 免疫细胞化学染色均呈阳性反应。

2.2 OB 与 VEC 直接共培养及 MTT 法检测细胞增殖活力

两种细胞直接培养后，细胞相互交织生长，无相互排斥和吞噬现象。1～2 d 时，两组细胞均增殖缓慢，为潜伏期，3～6 d 时细胞增殖迅速，数量明显增加，进入对数生长期；OB 呈长梭形，VEC 呈椭圆形，7～8 d 时细胞数增加缓慢，进入平台期。VEC 呈长梭形，与成骨细胞难于鉴别（图 1）。1～2 d 两组间差异无统计学意义（$P > 0.05$），3～8 d 差异有统计学意义（$P < 0.05$）。见表 1。

2.3 扫描电镜观察 OB + VEC + 同种骨复合物

同种骨材料表面呈蜂窝状，有孔隙。复合 OB 及 VEC 后细胞贴附其表面及孔隙内壁，铺展并排列紧密，两种细胞仍可见分化及增殖，细胞质有丝状伸出（图 2）。

2.4 病理形态学观察

各组动物术后即可运动良好。伤口无感染，Ⅰ期愈合。大体观察：模型组股骨头表面粗糙、颜色变浅、体积变小且无光泽。随时间的延长，软骨下骨变得暗红。6 周时，股骨头坏死，坏死部分呈楔形、苍白，修复区出现灶状不连续的纤维带（图 3）。同种骨组早期外形基本同模型组，晚期股骨头扁平，切面可见灰白色纤维带修复组织，OB + VEC + 同种骨组股骨头浅白，切面半透明软骨样组织内混杂骨组织，质脆。镜下观察，模型组：早期股骨头软骨粗糙，变薄，软骨细胞大小不等，排列紊乱。软骨下骨小梁排列紊乱、崩解断裂，可见死骨形成，周围散在或灶状破骨细胞出现。晚期软骨下骨空虚，可见少量残存骨小梁，大量空骨陷窝形成（图 4A）。骨髓腔内充填了大量的脂肪细胞且体积增大。同种骨组：早期头表面软骨层部分脱失，软骨及软骨下骨内可见多量植入的骨颗粒，其边缘及出现吸收凹，可见毛细血管及纤维组织长入其内，并同破骨细胞一道分割植入的骨粒（图 4B）。中期，软骨性骨小梁形成，并见成排的成骨细胞排列其周围。骨颗粒尚未被“爬行替代”。后期骨小梁逐渐成熟。此期间血管数量减少，并可见少量新生造血组织出现于髓腔（图 4D）。OB + VEC + 同种骨组：初期骨颗粒周围成骨性肉芽组织包绕，此期出现片状软骨化骨及新生小血管多于其他两组（图 4C）。其后新骨面积加大，骨小梁排列有序，融合成片并与原有正常骨组织相连接不易区分（图 4E）。

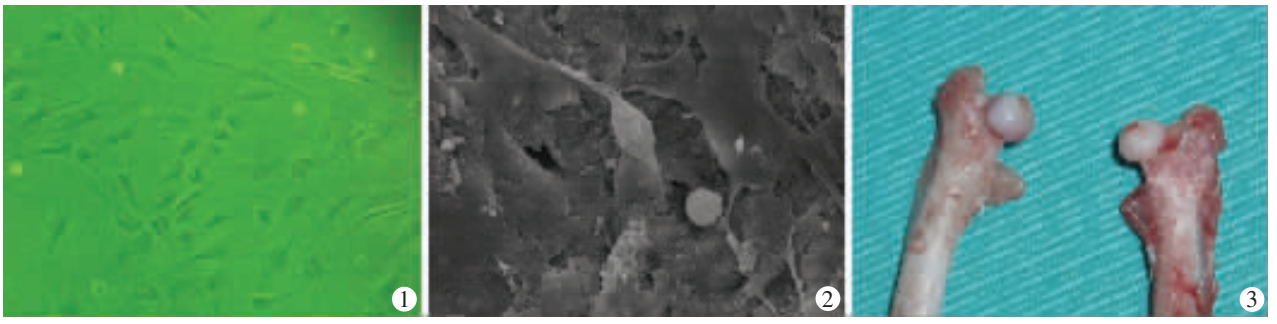
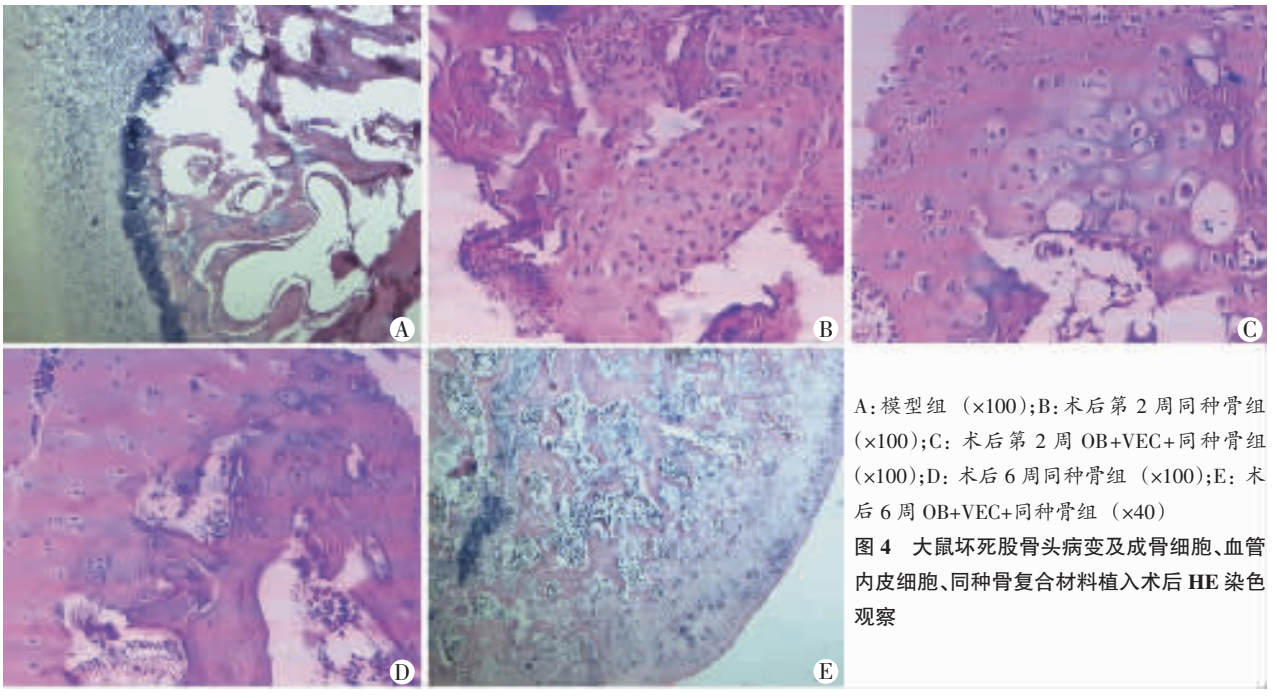


图 1 成骨细胞及血管内皮细胞共培养形态特点 （倒置相差显微镜 ×200）

图 2 成骨细胞、血管内皮细胞与支架材料复合培养超微结构特点 （SEM ×500）

图 3 大鼠创伤性股骨头坏死标本观察 （左：正常股骨头；右：坏死模型）



A：模型组 （×100）；B：术后第 2 周同种骨组（×100）；C：术后第 2 周 OB+VEC+同种骨组（×100）；D：术后 6 周同种骨组 （×100）；E：术后 6 周 OB+VEC+同种骨组 （×40）

图 4 大鼠坏死股骨头病变及成骨细胞、血管内皮细胞、同种骨复合材料植入术后 HE 染色观察

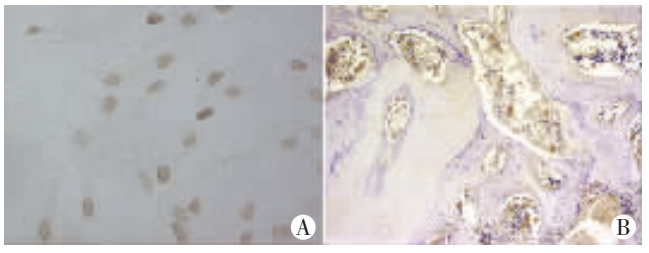
表1 MTT法检测成骨细胞、血管内皮细胞生长增殖状态 [D(490), $n=6$, $\bar{x}\pm s$]

组别	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d
实验组	0.128±0.001	0.132±0.002	0.147±0.003[a]	0.180±0.001[a]	0.217±0.001[a]	0.254±0.007[a]	0.261±0.053[a]	0.270±0.002[a]
对照组	0.131±0.002	0.138±0.002	0.216±0.002	0.267±0.002	0.333±0.002	0.408±0.002	0.413±0.002	0.411±0.001

a：$P<0.05$，与对照组比较

2.5 BrdU标记OB及VEC体内示踪检测

体外对掺入了BrdU的OB和VEC进行免疫细胞化染色可见BrdU细胞阳性信号表达位于细胞核(图5A)。术后OB+VEC+同种骨组可见新骨及少量血管部位可见BrdU阳性细胞，其他组未发现BrdU标记阳性细胞(图5B)。



A：体外(×200) B：体内(×100)

图5 BrdU标记成骨细胞及血管内皮细胞体外标记及体内示踪检测 (IHC)

2.6 新生骨形态计量学检测

新生骨经特殊染色均呈黑褐色。OB+VEC+同种骨组植入后显示：病变区域成骨量要优于其他两组($P<0.01$)，而同种骨组与模型组组间比较，%Tb. Ar、Tb. Th、Tb. N及Tb. Sp均有显著性差异($P<0.01$)。见表2，图6。

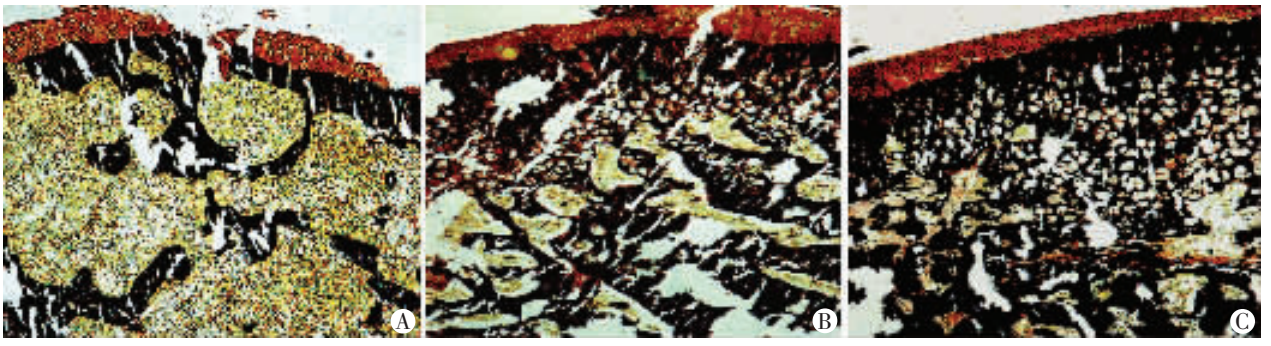
表2 股骨头坏死术后第6周骨形态计量学检测 ($n=12$, $\bar{x}\pm s$)

组别	骨小梁面积百分率(%)	骨小梁厚度(μm)	骨小梁数量(mm)	骨小梁分离度(μm)
模型组	45.88±6.78	72.63±5.68	6.64±0.70	191.14±18.49
同种骨组	64.01±6.83[a]	82.68±4.60[a]	7.69±0.80[a]	114.24±21.48[a]
OB+VEC+同种骨组	89.62±8.03[ab]	88.82±3.72[ab]	9.82±0.76[ab]	71.63±20.83[ab]

a：$P<0.01$，与模型组比较；b：$P<0.01$，与同种骨组比较

3 讨论

ONFH的自行修复能力有限，采用有效的治疗方法促进新骨形成十分重要。但到目前为止，仍无肯定的临床治疗方法能有效阻止或是逆转股骨头缺血性坏死病程的进展，因而ONFH的自我修复过程速度缓慢，坏死骨吸收迅速，最终导致关节面塌陷、应力失稳，进一步发展为晚期的关节破坏[8]。BMSCs作为组织工程的种子细胞具有多向分化潜能，在特定的环境中和细胞因子作用下可定向分化为OB及VEC或其他细胞，以促进血管及骨组织再生，加快受损组织修复[9]。BMSCs源性OB及VEC可以作为促进成骨及血管化的种子细胞。但将上述两种细胞共同复合于支架材料治疗骨缺损的研究国内外少有报道。因此，本实验将此两种细胞复合异体骨构建组织工程骨，研究其在体内成骨和成血管的作用。结果显示诱导后的OB及VEC表达了特有的标志物，ALP、Ⅰ型胶原及CD31、CD34均呈阳性反应。BrdU是一种反映细胞的增殖状态的示踪标记物，将BrdU掺入被检测的细胞中，其能对处于S期细胞进行标记。王小蕊等[10]在体外用BrdU标记成人BMSCs证明BrdU标记可用于成人BMSCs移植入体内后存活、生长和分化的动态示踪观察。本实验首先诱导BMSCs成为OB和VEC，后在其共培养过程中进行BrdU标记，利用免疫细胞化学检测到细胞核呈阳性反应，说明BrdU已掺入到细胞DNA链中。此后，将标记后的两种细胞与异体骨复合植入体内，分别于2、4周又进行免疫组化检测，示踪到所标记细胞多位于新生成骨细胞和小血管内皮细胞内，说明植入的成骨细胞和血管内皮细胞在体内存活、生长、增殖，组织相容性好，无排斥发生。只有这样才能使OB+VEC+同种异体骨复合物植入ONFH病灶后在植骨区提供活性细胞，补充骨基质，形成新骨以替代死骨，有利于ONFH修复。扫描电镜也证实两种细胞贴壁、铺展并排列紧密，分化增殖。说明该支架材料



A：模型组 B：同种骨组 C：OB+VEC+同种骨组

图6 大鼠坏死股骨头及成骨细胞、血管内皮细胞、同种骨复合材料植入大鼠骨坏死术后6周骨形态计量学测量结果 (Von kossa ×100)

对细胞也具有良好的亲和性，细胞在材料内可发挥功能。

组织工程骨在体外培养时并没有自己的营养血管，只能靠渗透作用吸取周围的营养。植入体内后，支架材料上的种子细胞周围的养分在很短时间内即可耗尽，而营养血管又不能在短时间内长入材料内部，因而不能满足快速修复骨缺损的需要[11-12]。ONFH 修复也具有同样道理。我们将 OB 及 VEC 种植于同种骨以构建组织工程骨，再通过 BrdU 示踪到 OB、VEC 可能提供部分新生血管及新生骨。因为骨发生过程中 OB 与 VEC 之间存在相互协调作用，VEC 作为血管生成的种子细胞在体内成骨活跃的微环境中发生毛细血管化，使材料内形成弥漫性的内源性微血管网并与宿主血管系统建立吻合[13]。同时还可分泌许多细胞因子如 VEGF、胰岛素样生长因子、前列腺素、集落刺激因子等，以促进血管发生，同时 VEC 还可分泌内皮素-1(ET-1)，可与成 OB 膜表面的 ET-1 受体结合提高成骨细胞的功能[14]。Deckers 等[15]指出 VEC 也可产生骨形态发生蛋白(BMP)，也证实了在骨沉积速率和营养血管表面积之间存在密切关系。

同种异体骨支架材料具有优良的组织相容性，具有骨传导和骨诱导性能[16]。本实验中，两种细胞均可以附着在同种骨上黏附、伸展、拉长。这可能是由于其天然的孔隙系统未受明显破坏，仍保留原骨小梁间隙及骨内管腔系统，有利于细胞生长。本研究经钻孔将 OB + VEC + 同种骨复合材料注入病灶。结果显示：早期同种骨与 OB + VEC + 同种骨之间相比其成骨作用无明显差异，虽然两组中晚期均可见到新骨形成，但同种骨组的成骨明显不及 OB + VEC + 同种骨组。Von kossa 染色是直观地观察骨骼局部钙盐分布情况。骨形态计量学计算已广泛应用于各种骨组织疾病的研究中。骨小梁数量的数值越大表示单位视野内骨小梁密度越大；骨小梁间距数值越大，则表示骨小梁之间距离越远；骨小梁厚度越大，说明骨小梁越粗壮，更有较好的修复性能[17]。本研究骨形态计量学参数测量结果显示 OB + VEC + 同种骨组新生骨量明显高于其他两组，证明了上述理论。

综合上述理论及实验结果，总结出 OB + VEC 复合同种骨支架材料可能作为骨组织工程活性骨移植材料，在 ONFH 骨缺损修复中具有提供营养、促进成骨细胞增殖分化、新骨形成等功效。

参考文献：

[1] 王义生. 股骨头缺血性坏死[J]. 中国矫形外科杂志，2005，13(4)：310-312.

[2] 刘保一，赵德伟. 血管内皮细胞生长因子体外修饰骨髓基质干细胞关节镜下回植治疗兔股骨头坏死的研究[J]. 中华医学杂志，2009，87(37)：2629-2633.

[3] 芮钢，王者生，吕刚，等. 成骨细胞与血管内皮细胞联合培养的生物学特性[J]. 中国修复重建外科杂志，2004，18(4)：327-330.

[4] 黄开，章庆国，蔡国锋. 成骨细胞与诱导剂对骨髓基质干细胞的增殖与成骨分化的影响[J]. 中国修复重建外科杂志，2006，20(2)：125-129.

[5] 李琪佳，宋会平，邓华民，等. 骨髓基质干细胞复合同种骨移植治疗创伤性股骨头坏死实验研究[J]. 中国煤炭工业医学杂志，2010，13(3)：433-435.

[6] Boss J H. Experimental models of osteonecrosis of the femoral head[J]. J Orthop Sci，2004，9(5)：533-534.

[7] Parfitt A M，Drezner M，Glorieux F H，*et al*. Bone histomorphometry：standardization of nomenclature，symbols，and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee[J]. J Bone Miner Res，1987，2(6)：595-610.

[8] Revell M P，McBryde C W，Bhatnagar S，*et al*. Metal-on-metal hip resurfacing in osteonecrosis of the femoral head[J]. J Bone Joint Surg Am，2006，88(Suppl 3)：98-103.

[9] 徐天睿，李秀兰，白人骁. 血管化组织工程骨的研究进展[J]. 国际生物医学工程杂志，2006，29(6)：373-376.

[10] 王小蕊，侯相麟，席亚明，等. 成人骨髓间充质干细胞的鉴定与体外 BrdU 标记[J]. 中国组织工程研究与临床康复，2008，12(21)：4131-4135.

[11] Linda G，Griffith，Gail Naughton. Tissue engineering--current challenges and expanding opportunities[J]. Science，2002，295(5557)：1009-1014.

[12] 王明海，董友海，洪洋，等. 成骨细胞与血管内皮细胞体外直接共同培养生物学特性观察[J]. 中华实验外科杂志，2008，25(4)：485-487.

[13] Yang D，Guo T，Nie C，*et al*. Tissue-engineered blood vessel graft produced by self-derived cells and allogenic acellular matrix：a functional performance and histologic study[J]. Ann Plast Surg，2009，62(3)：297-303.

[14] Kanczler J M，Oreffo R O. Osteogenesis and angiogenesis：the potential for engineering bone[J]. Eur Cell Mater，2008，15：100-114.

[15] Deckers M M，van-Bezooijen R L，van-der-Horst G，*et al*. Bone morphogenetic proteins stimulate angiogenesis through osteoblast-derived vascular endothelial growth factor A[J]. Endocrinology，2002，143(4)：1545-1553.

[16] 瞿向阳，蒋电明，安洪，等. 钙磷骨水泥复合 rhVEGF 与 rhBMP-2 促进异体大段骨移植再血管化的实验研究[J]. 第三军医大学学报，2007，29(5)：406-409.

[17] 房冬梅，张林. 不同模式跑台运动对生长期大鼠长骨形态计量学参数的影响[J]. 中国运动医学杂志，2009，28(6)：654-656，692.

(收稿：2010-10-09 修回：2010-11-01)

(编辑 龙 亮)