

骨形态发生蛋白2复合脂肪源性干细胞修复兔缺血性股骨头坏死***

齐新文, 王兆杰, 陈军平, 赵俊延, 安荣泽

Bone morphogenetic protein-2 combined with adipose derived stem cells for treatment of avascular necrosis of the femoral head in rabbits

Qi Xin-wen, Wang Zhao-jie, Chen Jun-ping, Zhao Jun-yan, An Rong-ze

Abstract

Department of Orthopedics, the Fifth Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zhuhai 51900, Guangdong Province, China

Qi Xin-wen★, Master, Associate chief physician, Department of Orthopedics, the Fifth Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zhuhai 51900, Guangdong Province, China

Correspondence to: Wang Zhao-jie, Doctor, Chief physician, Department of Orthopedics, the Fifth Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zhuhai 51900, Guangdong Province, China c3h3qxw@163.com.cn

Supported by: Zhuhai Municipal Health Bureau of Scientific Research Project, No. 2009069*; 2009 Annual Youth Scientific Research Fund Project of Zunyi Medical College, No. 2009(05)*; Medical Development Project of Zhuhai City, No. 2008[80]*

Received: 2011-07-27
Accepted: 2011-09-13

BACKGROUND: Adipose derived stem cells (ADSCs) and bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) have a strong osteogenic capability that is important for the repair of avascular necrosis of the femoral head.
OBJECTIVE: To observe the combined effects of ADSCs and BMP-2 on avascular necrosis of the femoral head.
METHODS: The avascular femoral head necrosis models were established in 48 rabbits using liquid nitrogen. The rabbits were divided into control group, core decompression group, ADSCs group and BMP-2+ADSCs group randomly.
RESULTS AND CONCLUSION: Tissue repair of femoral head necrosis in ADSCs group and BMP-2+ADSCs group was vigorous. There were more newly formed trabeculae, which were strengthened. X-ray showed no obvious cystic degeneration and collapse of the femoral head. The growth of trabeculae and bone marrow in BMP-2+ADSCs group was more vigorous than that in ADSCs group at 8 weeks. It is indicated that BMP-2 combined with ADSCs have a stronger repairable ability in necrosis of the femoral head necrosis.

Qi XW, Wang ZJ, Chen JP, Zhao JY, An RZ. Bone morphogenetic protein-2 combined with adipose derived stem cells for treatment of avascular necrosis of the femoral head in rabbits. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(45): 8386-8390. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 骨形态发生蛋白2和脂肪源性干细胞都有很强的成骨能力,对于缺血性股骨头坏死的修复有重要意义。
目的: 观察骨形态发生蛋白2体内复合脂肪源性干细胞成骨治疗兔股骨头缺血坏死的疗效。
方法: 48只新西兰大白兔采用液氮冷冻法造模,随机分为对照组,髓芯减压组,脂肪源性干细胞组,骨形态发生蛋白2复合脂肪源性干细胞组。
结果与结论: 脂肪源性干细胞组与骨形态发生蛋白2复合脂肪源性干细胞组兔股骨头坏死区域的组织修复旺盛,新生骨小梁较多且逐步强化,X射线未见明显的囊性变和股骨头塌陷发生。在8周时骨形态发生蛋白2复合脂肪源性干细胞组骨小梁及骨髓组织生长较单纯脂肪源性干细胞组更旺盛。表明骨形态发生蛋白2因子复合脂肪源性干细胞植入股骨头坏死模型后成骨较多,修复坏死区域功能较强。
关键词: 股骨头坏死; 细胞移植; 脂肪源性干细胞; 骨形态发生蛋白; 兔
doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.45.006

齐新文, 王兆杰, 陈军平, 赵俊延, 安荣泽. 骨形态发生蛋白2复合脂肪源性干细胞修复兔缺血性股骨头坏死[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(45):8386-8390. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

股骨头缺血坏死(avascular necrosis of femoral head, ANFH)发生率随着酗酒、交通事故及激素的滥用等逐年增高,对其病因病机及治疗的相关研究也成为目前的热点课题^[1-2]。骨组织工程及干细胞的研究深入使得股骨头缺血坏死的细胞和基因治疗成为可能,国内外已经有学者开始在髓芯减压的基础上加用干细胞及成骨因子对坏死股骨头进行修复治疗研究^[3-5]。本实验作者通过液氮冷冻法建立股骨头坏死模型,而后对股骨头坏死模型行髓芯减压并植入成骨因子骨形态发生蛋白2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2)和脂肪源性干细胞(adipose derived stem cells, ADSCs),

通过影像学及组织学观察二者复合成骨情况及治疗股骨头坏死的疗效,以期为临床应用提供实验依据。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 实验于2010-08/2011-05在遵义医学院珠海校区中心实验室完成。

材料:

实验动物: 选用SPF级四、五个月龄健康新西兰大白兔48只,雌雄不限,体质量2.5~3.5 kg,常规饮食水,分笼饲养。由广东省医学实验动物中心提供,合格证: SCXK(粤)2003-0002,实验过程中对于动物的处置参照国家科学技术部2006年发布的《关于善待实验动物的指导性

意见》^[6]。全部采用液氮冷冻股骨头负重区制备股骨头坏死模型, 随机分为4组, 每组12只, 分别为对照组, 髓芯减压组, ADSCs组, BMP-2复合ADSCs组。后两组动物在制模之前1周从颈部取脂肪组织进行ADSCs的获取及培养传代以备实验中应用。

试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
BMP-2 细胞因子	上海普欣生物公司
DR 影像 X 射线机	德国西门子公司
光学显微镜	日本 OLYMPUS 公司
医用明胶海绵	江苏南京金陵制药厂

方法:

ADSCs 的分离培养及传代: 无菌条件下取ADSCs组、BMP-2复合ADSCs组新西兰大白兔颈背部脂肪组织约3 g, 去除血管及浅筋膜等组织, 用PBS反复冲洗, 剪刀剪碎至糊状; 用0.1% I型胶原酶在37℃水浴摇床中轻搅拌消化20~30 min。使用等量体积的完全培养基中和后, 离心10 min, 弃上清, 沉淀重悬后以80目尼龙筛网过滤, 接种于培养瓶内, 加入体积分数为10%胎牛血清的DMEM培养基中, 37℃、体积分数为5%CO₂孵箱内培养。5 d后换液吹去红细胞可见脂肪干细胞贴壁生长, 待细胞长满培养孔面积60%时, 用0.25%的胰蛋白酶消化, 进行原代传代。待第3代细胞长满后(图1)进行消化并将细胞配制成2×10⁹ L⁻¹细胞悬液, 复合于医用明胶海绵上(3 mm×4 mm×2 mm), 在培养箱中孵育4 h备用。以上干细胞的提取均来源于同一只实验动物。



Figure 1 The third generation of adipose derived stem cells grew well, and cells were spindle-shaped (×100)
图1 第3代脂肪源性干细胞生长旺盛, 细胞呈梭形(×100)

动物造模及细胞因子和干细胞的移植: 动物均为单侧股骨头进行实验, 制模方法按戴双武等^[7]推荐方法进行: 30 mg/kg戊巴比妥钠耳缘静脉注射麻醉后俯卧体位, 取髋关节后外侧切口, 于肌肉间隙游离暴露股骨头, 内旋股骨显露股

骨头负重区, 在不切断圆韧带和髋关节不脱位的情况下切开发节囊, 以液氮棉签连续快速冷冻股骨头25次, 约每次10 s, 共约4 min。对照组冷冻后立即关闭切口; 其余3组自然复温后行以下处理: 髓芯减压组从股骨颈的后内侧向股骨头钻孔, 钻头直径3.5 mm, 钻入3.5~4.0 mm, 正好到达关节软骨下; ADSCs组同法钻孔后在孔内植入含有ADSCs的明胶海绵; BMP-2复合ADSCs组钻孔后植入含有质量浓度为100 μg/L BMP-2细胞因子的浸有ADSCs的明胶海绵条^[8], 关闭伤口。术后连续5 d臀大肌注射庆大霉素, 8×10⁴ U/d, 预防手术后感染。

主要观察指标:

放射学及大体观察: 分别于术后2, 4, 6, 8周分批处死动物, 每个时间点每组取3只动物进行X射线摄片, 而后大体观察股骨头表面情况及有无塌陷变形等。

组织学观察: 分别于术后2, 4, 6, 8周时处死动物行放射学检查后取出股骨头标本经过体积分数为10%甲醛固定, 8%甲酸溶液脱钙处理后石蜡包埋, 进行组织切片及苏木精-伊红染色并光镜观察。主要观察缺损区骨小梁变化, 采用HPLAS-2000高清晰度彩色病理图文报告分析系统测定比较骨小梁占整个缺损视野骨面积百分数(每组选取10个视野进行测量比较, 最后取其平均值)来分析成骨情况。

统计学分析: 采用SPSS 13.0统计学软件包进行数据分析, 对骨小梁面积百分比均值进行t检验分析, P<0.05为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 实验动物一般情况良好, 未出现伤口感染, 均进入结果分析。

2.2 放射学及大体观察结果

大体观察: 术后2周所有股骨头标本均呈苍白色, 未见软骨剥脱和塌陷, 4周时股骨头外形呈圆形未见塌陷, 但对对照组2个, 髓芯减压组1个软骨面轻度剥脱。6周时对照组3个, 髓芯减压组2个出现关节面负重区轻度塌陷, 其余关节面轻度剥脱, 8周时关节面剥脱加重, 部分软骨下骨外露, 对照组、髓芯减压组较严重。

X射线观察: 对照组从第4周开始股骨头密度增加且囊性变, 8周时最重且出现股骨头不规则及塌陷(图2)。4周时髓芯减压组、ADSCs组, BMP-2复合ADSCs组股骨头内出现密度增加, 8周时髓芯减压组有硬化带出现并股骨头不圆滑

遵义医学院第五附属(珠海)医院骨科, 广东省珠海市519100

齐新文★, 男, 1973年生, 汉族, 2004年遵义医学院外科系骨科专业毕业, 硕士, 副主任医师, 主要从事股骨头坏死和骨质疏松等骨科及创伤脊柱骨科方面的研究。

通讯作者: 王兆杰, 博士, 主任医师, 遵义医学院第五附属(珠海)医院骨科, 广东省珠海市519100
c3h3qxw@163.com

中图分类号: R394.2
文献标识码: A
文章编号: 1673-8225 (2011)45-08386-05

收稿日期: 2011-07-27
修回日期: 2011-09-13
(20110727004/M·W)

(图3), ADSCs组, BMP-2复合ADSCs组有密度稍低的骨质结构, 未见股骨头塌陷及明显的囊性变(图4)。



Figure 2 X-ray showed collapse and irregular shape of the femoral head in the control group at 8 wk
图2 第8周时X射线片显示对照组股骨头塌陷, 形状不规则



Figure 3 X-ray showed hardened zone and not smooth of the femoral head in the core decompression group at 8 wk
图3 第8周时X射线片显示髓芯减压组股骨头出现硬化带并股骨头不圆滑

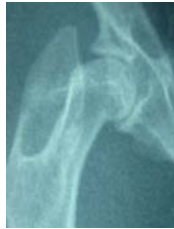


Figure 4 X-ray showed smooth femoral head and low-density structure in the bone morphogenetic protein-2 combined with adipose derived stem cells group at 8 wk, no obvious cystic degeneration and collapse occurred
图4 第8周时X射线片显示 BMP-2 复合 ADSCs 组股骨头圆滑, 有密度较低的结构, 无明显塌陷及囊性变

2.3 组织形态学变化 对照组第4周时出现骨坏死表现, 8周时的标本切片见大量骨陷窝, 骨小梁变细, 部分断裂, 髓腔内造血组织减少, 可见大量不良脂肪组织, 为骨坏死表现(图5)。髓芯减压组第8周时钻孔区修复不完全, 虽然有较成熟的骨髓组织, 骨小梁的形成和修复较少或不完全, 多为幼稚骨小梁(图6)。ADSCs组、BMP-2复合ADSCs组第6周时钻孔区有新生骨小梁结构, 8周时 ADSCs组骨小梁形成较多且骨髓组织趋于成熟(图7), BMP-2复合ADSCs组的骨髓组织明显较ADSCs组成熟且增生活跃, 造血细胞丰富, 骨小梁也相对较粗, 排列整齐且致密饱满, 骨细胞清晰可见, 核大位于中央(图8)。

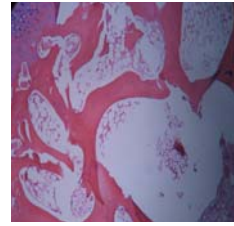


Figure 5 A lot of empty osteocytes appeared, part of trabeculae were broken up, the amount of bone marrow hemopoietic tissues reduce and adipose tissues were showed in the control group at 8 wk ($\times 200$)
图5 对照组第8周时出现大量骨陷窝, 部分骨小梁断裂, 髓内造血组织减少, 可见脂肪组织($\times 200$)

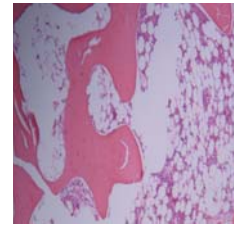


Figure 6 More mature bone marrow tissues were seen in the core decompression group at 8 wk, bone trabeculae were completely repaired and formed, and most bone trabeculae were native ($\times 200$)
图6 髓芯减压组第8周时可见较成熟的骨髓组织, 骨小梁形成和修复不完全, 多为幼稚骨小梁($\times 200$)

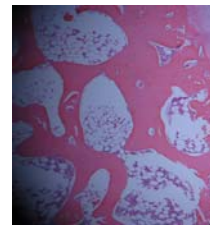


Figure 7 More trabeculae in the adipose derived stem cells group appeared at 8 wk, and bone marrow tissues tended to be mature ($\times 200$)
图7 ADSCs组第8周时骨小梁形成较多且骨髓组织趋于成熟($\times 200$)

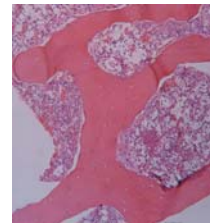


Figure 8 Mature bone marrow grew up actively and hematopoietic cells were rich in the bone morphogenetic protein-2 combined with adipose derived stem cells group at 8 wk, trabecular bones were thicker, in regular arrangement and compact ($\times 200$)
图8 BMP-2 复合 ADSCs 组第8周时成熟骨髓增生活跃, 造血细胞丰富, 骨小梁较粗, 排列整齐且致密饱满($\times 200$)

实验形态学显示ADSCs组和BMP-2复合ADSCs组比单纯的髓芯减压组骨髓组织生长旺盛, 骨小梁形成较快。髓芯减压组、ADSCs组、BMP-2复合ADSCs组在4周和8周时钻孔区骨小梁面积百分比相比较见表1。在4, 8周时, ADSCs组、BMP-2复合ADSCs组与髓芯减压组比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$); 在4周时ADSCs组与BMP-2复合ADSCs组比较, 差异无显著性意义($P > 0.05$); 在8周时ADSCs组与BMP-2复合ADSCs组比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$)。

表1 髓芯减压组、ADSCs组、BMP-2复合ADSCs组第4周和8周时钻孔区骨小梁面积百分比
Table 1 Bone trabeculae area percentage of drilling area in the core decompression group, ADSCs group and BMP-2+ADSCs group at 4 and 8 wk (x±s, %)

Group	4 wk	8 wk
Core decompression	28.56±1.23	35.43±2.47
ADSCs	58.64±9.78 ^a	67.87±12.69 ^a
BMP-2 composited ADSCs	62.94±10.65 ^a	78.48±11.69 ^{ab}

BMP-2: bone morphogenetic protein-2; ADSCs: adipose derived stem cells; ^a $P < 0.05$, vs. core decompression group; ^b $P < 0.05$, vs. ADSCs group

3 讨论

3.1 ADSCs促进成骨的作用及研究现状 ADSCs作为起源于中胚层的干细胞, 与骨髓间充质干细胞一样, 具有自我更新能力、活力持久及多向分化潜能且有确定的向成骨细胞定向分化的能力^[9], ADSCs属于诱导性骨原细胞, 其分化并不能完全自发, 需某些细胞因子或体内外环境的共同参与。其具体成骨性能和机制尚不完全清楚^[10]。

3.2 BMP-2在股骨头坏死中的应用 BMP是TGF- β 超家族成员, 是骨组织工程中应用最广泛的信号蛋白, 其中BMP-2是最重要的成骨形成调控因子, 它可以诱导未分化的间充质干细胞向骨母细胞及软骨母细胞分化^[11], 另外它具有较强的促进成骨细胞分化的功能并表达特异性成骨细胞产物^[12]。有学者实验认为在骨形成过程中, BMP-2可以与间充质细胞表面受体结合激活靶细胞内基因调节因子, 促进间充质细胞向骨细胞转化, 同时抑制细胞向脂肪细胞转化。对于股骨头缺血坏死性疾病, 除了增加股骨头内成骨细胞的活性及数量外, 血管的形成及血运的改善也是加快修复的必要条件, 已有研究表明BMP-2能够刺激新生血管形成, 加快股骨头骨修复过程中的血管化过程^[13]。国内外已经有学者对于BMP-2诱导骨髓间充质干细胞成骨修复股骨头坏死进行了研究^[14-15], 但是BMP-2诱导ADSCs的实验和临床研究较少。

3.3 髓芯减压及BMP-2复合ADSCs修复缺血性股骨头

坏死的作用 缺血性股骨头坏死的发病机制虽然尚不清楚, 大多数学者认同应用骨内压增高和血液循环障碍来解释。髓芯减压及促进局部血液循环随之成为近年来治疗非创伤性股骨头坏死的主流手术干预方法, 其有效率在30%~90%不等。国内外研究进一步提示, 髓芯减压的治疗效果及股骨头坏死的预后与修复过程中坏死区局部及患者自体的干细胞(尤其是骨髓间充质干细胞)数量有着密切关系, 骨髓间充质干细胞数目减少是导致股骨头难以完全修复的主要原因^[3, 16]。本实验应用目前较骨髓间充质干细胞取材广泛, 多向分化, 基因稳定, 自体无免疫排斥反应的ADSCs代替骨髓间充质干细胞在髓芯减压的基础上进行移植, 并且应用目前成骨性能最强的BMP-2因子进行诱导和调节来观察其修复股骨头坏死的作用效果。对照组表明液氮冷冻造模法出现的骨坏死和修复及塌陷过程与临床非创伤性股骨头缺血坏死基本一致, 股骨头坏死率较高, 是目前较方便的一种实验研究方法。髓芯减压组虽然进行髓芯减压, 组织学上也有骨小梁的修复和重建, 但是由于修复期坏死区及周边干细胞数量少、活性有限、坏死区周围应力集中最后还是导致骨结构损害阻断了骨的修复, 导致股骨头塌陷^[17-18]。ADSCs组和BMP-2复合ADSCs组作为ADSCs和BMP-2诱导因子的移植组, 表现出股骨头坏死区域的组织修复旺盛, 新生骨小梁较多且逐步强化, X射线也未见明显的囊性变和股骨头塌陷发生。BMP-2复合ADSCs组4周时骨小梁的面积百分比与ADSCs组比较虽然稍高, 但差异无显著性意义。8周时骨小梁的成熟和面积百分比比较ADSCs组高且差异有显著性意义。这说明ADSCs在一定环境下具有向成骨细胞转化的能力并且可以协助局部BMSCs发挥成骨的作用, BMP-2复合ADSCs组在8周时骨小梁及骨髓组织生长较单纯ADSCs组旺盛, 提示BMP-2发挥着成骨及刺激新血管形成的作用。实验表明, BMP-2因子体内复合ADSCs比单独应用ADSCs在治疗股骨头坏死中成骨较多, 修复坏死区域功能较强。本实验为利用干细胞移植及细胞因子干预治疗缺血性股骨头坏死提供了某些形态学依据。

3.4 不足和展望 本实验为外源性应用BMP-2对ADSCs进行诱导, 存在因子扩散快, 易降解, 不能持续有效地作用靶细胞等缺点, 在一定程度上减弱或限制BMP-2功效。若利用基因转染技术通过BMP-2基因修饰ADSCs, 使其自分泌或旁分泌BMP-2, 内源性作用于干细胞, 诱导其分化和新骨形成, 可能会起到更强的成骨作用^[19]。另外国内外也有学者应用BMP基因转染对于另外一种骨质减少或骨量缺失性疾病—骨质疏松症进行了研究探讨^[20-21], 其具体成骨效果和也需要进一步研究。本实验髓芯减压后仅用明胶海绵作为ADSCs和BMP-2的载体, 无法在修复过程中起到支撑和防止塌陷的作用, 有学者应用伞状支撑骨和干细胞移植治疗股骨

头坏死起到缩短股骨头坏死修复时间, 防止塌陷的良好效果^[2]。若将以上方法进行揉合并加用血管内皮细胞生长因子等强力成血管因子刺激诱导血管大量生成是否能够在骨量减少性疾病——股骨头坏死及骨质疏松症的治疗中取得更好疗效, 有待于进一步研究和探讨。

4 参考文献

[1] Zhao DW. Zhonghua Xianwei Waikē Zazhi. 2006;29(2):165-166. 赵德伟. 股骨头缺血坏死修复与重建的意义[J]. 中华显微外科杂志, 2006, 29(2):165-166.

[2] Cao YW, Wang YS, Han F, et al. Zhonghua Xianwei Waikē Zazhi. 2010;33(4):293-296. 曹亚伟, 王义生, 韩枫, 等. 骨髓间充质干细胞和伞状支撑骨移植术治疗股骨头坏死实验[J]. 中华显微外科杂志, 2010, 33(4):293-296.

[3] Hernigou P, Beaujean F. Treatment of osteonecrosis with autologous bone marrow grafting. Clin Orthop Relat Res. 2002; (405):14-23.

[4] Tang TT, Lu B, Yue B, et al. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with hBMP-2-gene-modified tissue-engineered bone in goats. J Bone Joint Surg Br. 2007;89(1):127-129.

[5] Cui Q, Xiao Z, Li X, et al. Use of genetically engineered bone-marrow stem cells to treat femoral defects: an experimental study. J Bone Joint Surg Am. 2006;88 Suppl 3:167-172.

[6] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance Suggestions for the Care and Use of Laboratory Animals. 2006-09-30. 中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见. 2006-09-30.

[7] Dai SW, Ding S, Li ZH, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(2):276-279. 戴双武, 丁帅, 李章华, 等. 液氮冷冻法制作兔股骨头坏死模型: 可行, 理想与可信[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(2):276-279.

[8] Zhang WX, Chen SL, Yao XL, et al. Xibao yu Fenzi Mianyixue Zazhi. 2008;24(11):1062-1065. 张为西, 陈松林, 姚晓黎, 等. BMP-2和FGF-2对小鼠骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化的影响[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2008, 24(11):1062-1065.

[9] Li DY, Yu L, Li FT, et al. Jinan Daxue Xuebao. 2007;28(6):585-589. 李冬艳, 宇丽, 李发涛, 等. 脂肪来源的间充质干细胞分离方法的改进[J]. 暨南大学学报, 2007, 28(6):585-589.

[10] Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. Mol Biol Cell. 2002;13(12):4279-4295.

[11] Lim TY, Wang W, Shi Z, et al. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells and osteoblast differentiation on titanium with surface-grafted chitosan and immobilized bone morphogenetic protein-2. J Mater Sci Mater Med. 2009;20(1):1-10.

[12] Glassman SD, Carreon LY, Djurasovic M, et al. RhBMP-2 versus iliac crest bone graft for lumbar spine fusion: a randomized, controlled trial in patients over sixty years of age. Spine (Phila Pa 1976). 2008;33(26):2843-2849.

[13] Hu TY, Hu WH, Li JH, et al. Zhongguo Jiaoxing Waikē Zazhi. 2002; 9(4): 370-373. 胡彤宇, 扈文海, 李建衡, 等. 髓芯减压BMP植入治疗股骨头坏死的血流量及病理改变[J]. 中国矫形外科杂志, 2002, 9(4): 370-373.

[14] Tang TT, Lu B, Yue B, et al. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with hBMP-2-gene-modified tissue-engineered bone in goats. J Bone Joint Surg Br. 2007;89(1):127-129.

[15] Wu XH, Yang SH. Zhonghua Guke Zazhi. 2008;28(5):424-427. 吴星火, 杨述华. 细胞疗法治疗股骨头缺血坏死的研究进展[J]. 中华骨科杂志, 2008, 28(5):424-427.

[16] Wang JY, Wang BZ, Hu YC, et al. Zhonghua Guke Zazhi. 2008; 28(3):229-233. 汪江泳, 王保芝, 胡永成, 等. 自体 and 异体骨髓间充质干细胞移植对家兔股骨头缺血坏死治疗作用的比较研究[J]. 中华骨科杂志, 2008, 28(3):229-233.

[17] Yang SH, Xu HW, Ye SN, et al. Zhongguo Gu yu Guanjie Waikē. 2009;2(2):95-99. 杨述华, 许伟华, 叶树楠, 等. 异体螺纹骨笼结合自体松质骨支撑治疗早期股骨头坏死的临床疗效[J]. 中国骨与关节外科, 2009, 2(2):95-99.

[18] Tanzer M, Bobyn JD, Krygier JJ, et al. Histopathologic retrieval analysis of clinically failed porous tantalum osteonecrosis implants. J Bone Joint Surg Am. 2008;90(6):1282-1289.

[19] Li H, Dai K, Tang T, et al. Bone regeneration by implantation of adipose-derived stromal cells expressing BMP-2. Biochem Biophys Res Commun. 2007;356(4):836-842.

[20] Zhao GM, Li F, Sun TS, et al. Zhongguo Jiaoxing Waikē Zazhi. 2006;14(1):43-46. 赵广民, 李放, 孙天胜, 等. 腺病毒介导BMP-7基因抑制去势大鼠骨质疏松的实验研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2006, 14(1):43-46.

[21] Tang Y, Tang W, Lin Y, et al. Combination of bone tissue engineering and BMP-2 gene transfection promotes bone healing in osteoporotic rats. Cell Biol Int. 2008;32(9):1150-1157.

来自本文课题的更多信息--

基金资助: 珠海市卫生局科研课题立项资助 (2009069); 遵义医学院 2009 年度青年科研启动基金课题资助 [2009(05)]; 珠海市医学重点建设专科基金资助项目 (珠卫 2008[80])。

作者贡献: 实验设计为齐新文、王兆杰, 实验实施为齐新文、陈军平、赵俊廷, 实验评估为齐新文、王兆杰、安荣泽, 资料收集为齐新文、陈军平、赵俊廷。齐新文、王兆杰成文, 王兆杰、安荣泽审校, 齐新文、王兆杰、安荣泽对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及课题基金以外任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理批准: 实验过程中对动物的处置符合中华人民共和国科学技术部 2006-09-30 出台关于善待实验动物的指导性意见和动物伦理学标准。

本文创新性: ①检索 1979/2009-05 的《中国生物医学文献光盘数据库》、《中国期刊全文数据库》和 1996/2009-05 的 Pubmed 数据库, 关于 BMP-2 基因转染诱导 ADSCs 成骨已见少量文献报道, BMP-2 体外诱导 ADSCs 成骨及 ADSCs 成骨用于治疗股骨头坏死未见报道。②课题在前人骨髓间充质干细胞移植治疗家兔股骨头缺血坏死以及 BMP-2 体内成骨研究的基础上, 应用更具有优势的 ADSCs 及成骨作用最强的 BMP 家族因子对 ADSCs 进行诱导, 观察其在修复缺血性股骨头坏死这类骨量减少性疾病中的作用, 具有一定理论和方法创新性。