

快速浓集自体脂肪干细胞促进移植异体骨早期血管化****

殷剑¹, 杨毅¹, 杨小丰², 曹鑫¹, 邓伟¹, 邓强¹, 柴黎明², 金格勒¹

Rapid accumulation of autologous adipose-derived stem cells promotes early vascularization of implanted allogeneic bone

Yin Jian¹, Yang Yi¹, Yang Xiao-feng², Cao Xin¹, Deng Wei¹, Deng Qiang¹, Chai Li-ming², Jin Ge-le¹

文章亮点:

采用 ¹⁸F-NaF 作为显像剂, 通过正电子发射型计算机断层显像/CT 对植骨区的血供和代谢进行检测, 证实快速浓集自体脂肪干细胞可促进植入骨的早期血管化, 有效改善植骨区的血供和代谢。

Abstract

BACKGROUND: It is not yet available to construct tissue-engineered bone quickly for repair of bone defects in the clinic, and early vascularization of the implants remains to be paid increasing attention.

OBJECTIVE: The rapidly accumulated autologous adipose-derived stem cells were directly placed around the implants to investigate the effects on early vascularization of implants using positron emission tomography PET/CT and to search a method to rapidly construct tissue-engineered bone in the clinic.

METHODS: Forty-five male New Zealand rabbits were randomly and evenly divided into three groups. These groups were implanted respectively in the lumbar 5,6 intertransverse space with allograft iliac bone (allograft group), allograft iliac bone composited with rapidly accumulated adipose-derived stem cells (compound group), and autologous iliac bone (autograft group). Each group was injected with ¹⁸F-NaF at 1, 3, 5 weeks post-surgery and detected by positron emission tomography PET/CT to contrast the standard uptake value.

RESULTS AND CONCLUSION: At 1, 3, 5 weeks post-surgery, the distribution of radioactivity in the middle-segment of allogeneic bone was low, with poor improvement in blood supply and metabolism. The standard uptake value of ¹⁸F-NaF in the autograft group and compound group was significantly higher than that in the allograft group respectively ($P < 0.05$). It is demonstrated that rapid accumulation of autologous adipose-derived stem cells may promote early vascularization of allogeneic bone and improve the blood supply and metabolism in the implanted area. It is also a novel idea to rapidly construct tissue-engineered bone in the clinic.

Yin J, Yang Y, Yang XF, Cao X, Deng W, Deng Q, Chai LM, Jin GL. Rapid accumulation of autologous adipose-derived stem cells promotes early vascularization of implanted allogeneic bone. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(27):4996-5000. [http://www.crter.cn http://en.zgckf.com]

摘要

背景: 目前可满足骨修复的组织工程骨的快速构建方法尚不成熟, 植入物早期血管化仍是研究热点。

目的: 将快速浓集自体脂肪干细胞直接置于植骨周围, 通过正电子发射型计算机断层显像/CT 直观观察其对植入异体骨的早期血管化影响, 从而探索一种可用于临床的快速组织工程骨构建方法。

方法: 将 45 只雄性新西兰大白兔随机等分为异体骨组、复合组和自体骨组, 分别在腰 5, 6 横突间植入同种异体髂骨条、同种异体髂骨条复合快速浓集自体脂肪干细胞和自体髂骨条, 各组于植入后 1, 3, 5 周注射 ¹⁸F-NaF, 通过正电子发射型计算机断层显像/CT 对各组动物进行扫描显像, 对比各组植骨区标准摄取值。

结果与结论: 异体骨免植骨区中段放射性分布低, 血供及代谢未见明显改善, 而复合快速浓集自体脂肪干细胞组植骨区 ¹⁸F-NaF 的标准摄取值均不同程度地高于异体骨组 ($P < 0.05$), 提示快速浓集自体脂肪干细胞可促进植入骨的早期血管化, 有效改善植骨区的血供和代谢, 为临床快速构建组织工程骨提供了一种新思路。

关键词: 血管化; 脂肪干细胞; 同种异体骨; 自体骨; 组织工程; 干细胞

缩略语: 正电子发射型计算机断层显像: positron emission computed tomography, PET

殷剑, 杨毅, 杨小丰, 曹鑫, 邓伟, 邓强, 柴黎明, 金格勒. 快速浓集自体脂肪干细胞促进移植异体骨早期血管化[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(27):4996-5000. [http://www.crter.org http://cn.zgckf.com]

¹First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; ²People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830001, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Yin Jian★, Studying for master's degree, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
qsyj1983@163.com

Corresponding author: Jin Ge-le, M.D., Doctoral supervisor, Chief physician, Professor, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
jingl81@yahoo.com.cn

Supported by: the Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No.2010211A40*; Research Foundation for Doctors in Higher Education Institutes, No. 20116517120001*; Innovation Foundation for Post-graduate Studying for Master's Degree in Xinjiang Medical University, No. MC2010-18*; Special Foundation for Tissue Engineering in First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, No. 201022GC04*

0 引言

创伤、肿瘤、炎症、先天畸形等各种原因造成的较大骨缺损均需骨移植治疗^[1], 构建安全、成骨效率高的骨移植体已成为医学界关注的焦点之一^[2]。组织工程技术从其产生之日起, 就充分地显示了它在创伤修复治疗中的无比优越性^[3], 并逐渐成为创伤医学研究发展的重要方向^[4]。目前, 组织工程研究均采用将种子细胞在体外扩增到一定数量后与支架材料复合, 再将复合物植入体内, 以达到修复创伤的目的^[5-6]。

但种子细胞在体外扩增需要数周时间, 从而导致用于骨修复尚存在诸多不利因素。在骨移植过程中血管化也是其关键环节。有研究表明, 脂肪干细胞在体内一定状态下有促进血管生成的作用^[7]。受此启发, 本实验拟将快速浓集的脂肪干细胞注入植入物周围及软组织, 并用正电子发射型计算机断层显像 (positron emission computed tomography, PET)/CT检测其对植入物早期促进血管化的作用, 并用免疫组化法加以验证, 从而探索一种可用于临床的快速构建组织工程骨的方法。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 于2010-10/2011-05在新疆医科大学第一附属医院科技楼及新疆维吾尔自治区人民医院PET中心完成。

材料:

实验动物: 清洁级雄性新西兰大白兔45只, 兔龄3个月, 由新疆医科大学动物实验中心提供。常规饮食水, 分笼饲养, 实验经新疆医科大学第一附属医院动物伦理委员会审核, 符合动物伦理学要求。

主要试剂与仪器:

试剂及仪器	来源
I型胶原酶	Washington Biochemical 公司
胎牛血清	四季青生物材料有限公司
¹⁸ F-NaF	新疆维吾尔自治区人民医院 PET中心
PET/CT, 回旋加速器	GE Healthcare

方法:

实验动物分组: 按随机数字表法将45只实验兔随机等分为异体骨组、自体骨组和复合组。

髂骨条的制备: ①自体髂骨骨条: 取自体骨组兔双侧髂骨, 每侧大小约为20 mm×15 mm, 将其制成大小为1 mm×1 mm×15 mm的单元皮质骨条^[8]。②同种异体髂骨条: 取30只新西兰大白兔, 按自体骨条的规格制成同种异体髂骨条, 25℃蒸馏水清洗6 h; 25℃氯仿: 甲醇溶液(1:1)浸泡脱脂12 h; 37℃、体积分数20%双氧水脱蛋白24 h; 25℃、0.6 mol/L盐酸脱钙2 min; 低温冻干20 h; 密封包装, 每份0.5 g; ⁶⁰Co照射(剂量20 kGy)消毒后备用^[8]。

兔脂肪干细胞的快速分离浓集: 取自体骨组兔颈背部皮下脂肪, 分离肉眼可见的筋膜、血管, 无菌PBS冲洗3遍, 眼科剪将分离的脂肪组织快速剪成糊状, 置于0.15% I型胶原酶中于37℃振荡消化1 h。100目筛网过滤后1 000 r/min离心10 min, 用体积分数10%胎牛血清终止消化, 并用无菌PBS反复冲洗离心3遍, 弃去上清液, 即得浓集脂肪干细胞^[9]。

髂骨条的植入: 术前3 d用硫代硫酸钠在兔颈背部及腰背部脱毛。3%戊巴比妥钠注射液30~35 mg/kg耳缘静脉注射麻醉, 俯卧位固定。2%碘伏消毒术区。取后正中切口, 显露双侧髂骨, 各取约20 mm×15 mm大小髂骨块, 止血缝合切口。沿双侧腰背筋膜纵向切开, 分离最长肌和多裂肌, 显露双侧L₅、L₆横突, 去除部分皮质骨后彻底止血。异体骨组、自体骨组和复合组分别在L₅、L₆横突间植入同种异体髂骨条、自体髂骨条、同种异体髂骨条及自体脂肪干细胞(5×10⁸ L⁻¹)。然后按照分组的不同于双侧横突间分别植入同种异体髂骨条, 复合组在植骨条边缘及周术前、术中、术后各用2×10⁵ U青霉素肌注, 术后3 d内每天2×10⁵ U青霉素肌注, 术后分笼饲养, 食水及活动不限。

PET/CT扫描显像: 3组大白兔分别于术后1, 3, 5周检测。检测前禁食水6 h, 安静休息30 min后经耳缘静脉注射¹⁸F-NaF, 26~29 MBq/kg, 静卧60 min后行PET/CT扫描显像。沿植骨边缘勾画感兴趣区, 由工作站自动计算标准摄取值, 比较各组间同一时间点标准摄取值及同一组不同时间点标准摄取值。

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2012.27.011

Received: 2012-03-05
Accepted: 2012-04-20

¹ 新疆医科大学第一附属医院, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市830054; ² 新疆维吾尔自治区人民医院, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市830001

殷剑★, 男, 1983年生, 新疆维吾尔自治区霍城县人, 汉族, 新疆医科大学在读硕士, 主要从事脊柱外科和骨组织工程方面的研究。
qsj1983@163.com

通讯作者: 金格勒, 博士, 博士生导师, 主任医师, 教授, 新疆医科大学第一附属医院, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市830054
jingl81@yahoo.com.cn

中图分类号: R394.2
文献标识码: A
文章编号: 2095-4344(2012)27-04996-05

收稿日期: 2012-03-05
修回日期: 2012-04-20
(20120305002/YJ·S)

免疫组织化学切片检查: PET/CT后的白兔行安乐死, 取出植骨融合标本, 经过体积分数10%甲醛固定, 体积分数8%甲酸溶液脱钙处理, 后石蜡包埋, 组织切片, CD34标记血管内皮细胞免疫组织化学法染色, 光镜观察。

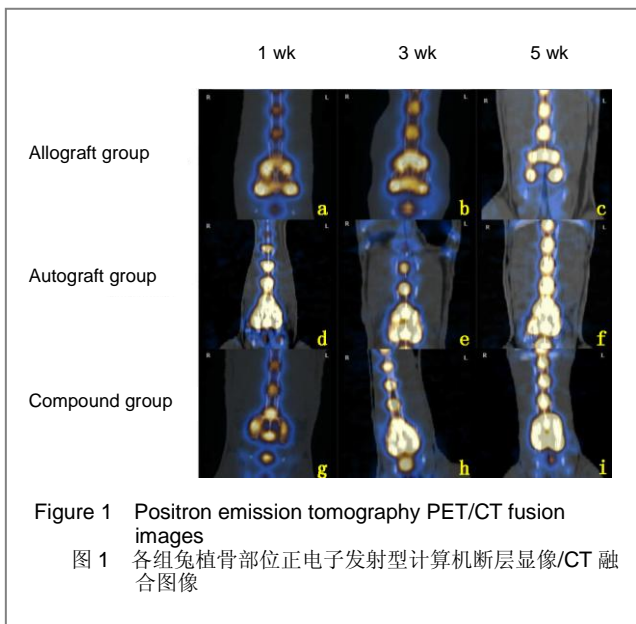
主要观察指标: 各组PET/CT图像及免疫组化切片观察。

统计学分析: 所得计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用SPSS 13.0统计学软件行重复测量资料的方差分析, 组间及组内均数比较采用LSD-*t* 法分析, $P < 0.05$ 差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 45只大白兔均进入结果分析, 无脱失。

2.2 各组兔髂骨条植入后的PET/CT图像 植入后1周, 图像显示同种异体骨条两端放射性分布浓聚显著, 中段较两端明显减低, 自体骨组与复合组放射性分布较异体骨组均匀。植入后3周, 异体骨中段放射性分布无明显改善, 自体骨组与复合组植骨区放射性分布均匀且较术后1周略有增强。植入后5周, 异体骨中段放射性分布仍明显低于其两端, 血供及代谢无明显改善, 自体骨组与复合组放射性分布较均匀, 其中自体骨骨痂形成更为连续光滑, 见图1。



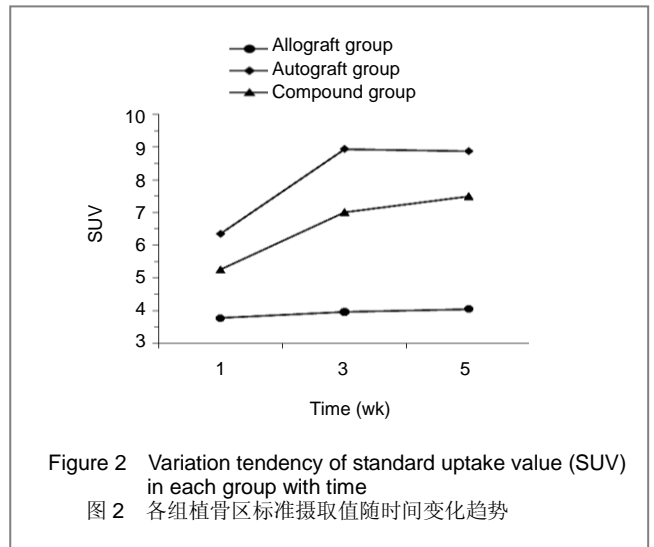
复合组与自体骨组标准摄取值均明显高于异体骨组($P < 0.05$), 但复合组与自体骨组差异无显著性意义($P > 0.05$); 复合组与自体骨组标准摄取值在第3周和第5周时高于第1周($P < 0.05$), 3个时间点异体骨组标准摄

取值接近($P > 0.05$), 见表1, 图2。

表1 各组不同时间植骨区兔植骨部位 PET/CT 图像标准摄取值
Table 1 Standard uptake value in each group at different time points ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Group	After transplantation (wk)		
	1	3	5
Allograft	3.774±1.002	3.966±1.194	4.056±0.405
Compound	6.360±0.525 ^a	8.940±1.948 ^{ab}	8.880±1.040 ^{ab}
Autograft	5.258±0.814 ^a	7.016±0.742 ^{ab}	7.504±1.574 ^{ab}

^a $P < 0.05$, vs. allograft group; ^b $P < 0.05$, vs. 1 wk after transplantation



2.3 各组兔植骨部位CD34阳性细胞的表达 见图3。

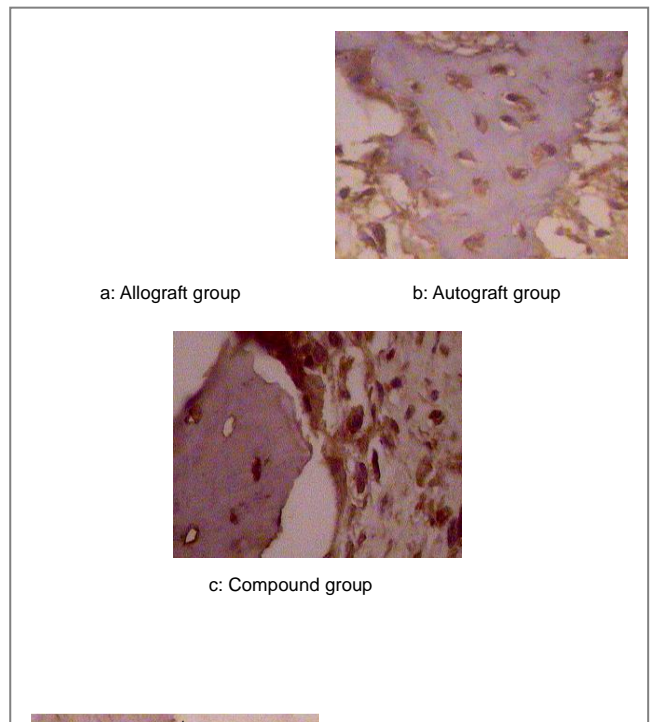


Figure 3 CD34⁺ cells in implantation region in each group at 5 wk after iliac bone implantation (×100)
图3 CD34标记兔髂骨植入5周时各组兔植骨部位CD34阳性细胞的表达(×100)

阳性细胞, 提示为血管内皮细胞。异体骨组术后1, 3, 5周CD34阳性细胞数量较少, 且未见明显增多, 见图3a; 自体骨组CD34阳性细胞在第一周时较少, 但在术后第3周和第5周时有显著增加, 见图3b; 复合骨组在术后第1周时即有一定数量的CD34阳性细胞, 且第3周和第5周时仍有明显增多, 见图3c。

3 讨论

在组织工程骨修复骨折损伤时, 血管化进程和有效程度对成骨愈合的优劣起着关键性作用^[10]。血管化作为最基本的环节, 对骨修复起着决定性的影响。通过PET/CT检测结果可知, 在异体骨周围及邻近软组织注射快速浓集的脂肪干细胞比单纯使用异体骨有更强的修复能力, 是由于其在早期有丰富的血供和旺盛的代谢。通过标记CD34进行免疫组化检测, 可以看到异体骨组CD34标记阳性细胞较少, 而复合骨组组织切片中CD34阳性细胞较多, 说明有充足的血管内皮细胞生成, 考虑脂肪干细胞在促进血管化和新生血管生成的过程中起着重要作用^[11-12]。在术后1周时, 复合组即表现出了明显的血管化程度, 也说明在骨修复早期, 脂肪干细胞有明显促进异体骨体内血管化的作用, 并通过此作用增加骨代谢, 为成骨作用提供充足的氧和营养物质, 从而加速了骨修复过程和增强骨修复能力。研究表明, 脂肪干细胞在一定条件下可分化为血管内皮细胞和血管平滑肌细胞^[13-14], 从而促进血管生成。马少林等^[15]发现脂肪干细胞亦可起到促进血管化和新生血管生成的作用。也有研究发现, 脂肪干细胞可通过自分泌或旁分泌途径来上调一些促血管化的生物因子的表达^[16], 如血管内皮生长因子、碱性成纤维细胞生长因子、血管生成素、低氧诱导因子1 α 等, 尤其在缺血缺氧的环境下^[17-19], 部分生物因子可过量表达, 从而促进新血管生成。在骨修复初期, 因无足量血管供应氧和营养物质, 植骨区局部易形成缺血缺氧微环境, 从而上调脂肪干细胞表达促血管化相关生物因子或使其向血管内皮细胞方向分化。脂肪干细胞已被证实可促进局部缺血部位的新生血管形成^[20]。因此, 将脂肪干细胞注入植骨区周围及邻近软组织, 可通过其促进血管化的桥梁作用, 早期改善植入物的营养供给, 从而加速骨修复。

PET是目前惟一可在活体上显示生物分子代谢、受体及神经介质活动的新型影像技术, 具有很高的灵敏度和特异度, 但在定位方面存在一定限制^[21]。CT具有高分辨力, 可以精确定位病变部位, 但缺乏功能、代谢等检

测能力。将PET与CT融为一体可有效克服以上两种仪器单独应用的不足, 减少检测结果的假阳性和假阴性^[22-23]。目前, PET/CT在临床上已得到普遍运用^[24], 由¹⁸F-F作为显像剂对骨代谢方面的检测有独特的优越性^[25]。有研究表明, 通过PET/CT对重组人骨形态蛋白发生蛋白2/异体骨复合骨植入兔腰椎后路横突融合模型检测, 对移植骨在不同时间点的血管化程度和成骨细胞代谢活性进行定性和定量分析, 证明了重组人骨形态蛋白发生蛋白2/异体骨复合骨促进植骨局部代谢及增加血液供应能力不仅优于异体骨, 而且还不低于作为骨移植“金标准”的自体骨^[26]。

目前组织工程骨的构建普遍采用取少量种子细胞在体外培养扩增, 达到一定数量后再定向诱导分化为所需细胞, 将分化好的细胞与支架材料复合, 再将组织工程骨植入体内^[27-28]。在构建组织工程骨的过程中, 种子细胞的培养传代需要数周时间, 培养传代中操作繁杂易污染, 且使用试剂较多, 最终获得的种子细胞具有不稳定性 and 致瘤性^[29], 为组织工程骨的构建和临床应用带来了巨大风险。本实验在移植中即可完成对脂肪干细胞的分离浓集, 为种子细胞的应用缩短了时间, 并避免了不必要的操作和额外试剂的影响, 明显降低了种子细胞的致瘤性作用。本研究中的脂肪干细胞在修复过程中并非仅起着种子细胞的作用, 其更大的作用是通过自分泌或旁分泌生物因子或自身分化为血管内皮细胞, 以促进血管形成, 改善血供和增加代谢, 从而加速修复。

综上所述, 通过PET/CT和免疫组织化学方法检测证实, 将快速浓集的脂肪干细胞注入植骨周围及邻近软组织可促进新生血管生成, 改善植骨区的血供和代谢, 加速骨修复。这种快速构建组织工程骨的方法可为组织工程技术应用于临床提供一定理论依据和思路。

致谢: 感谢新疆医科大学第一附属医院动物实验中心张春老师和马喙老师对于制作实验动物模型的指导, 以及魏琴老师为异体骨制作提供的帮助。

4 参考文献

- [1] Sun H, Liu W, Zhou G, et al. Tissue engineering of cartilage, tendon and bone. *Front Med.* 2011 ;5(1):61-69.
- [2] Crane GM, Ishaug SL, Mikos AG. Bone tissue engineering. *Nat Med.* 1995;1(12):1322-1324.
- [3] Lavik E, Langer R. Tissue engineering: current state and perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2004;65(1):1-8.
- [4] Cao YL, Zhou GD, Liu W, et al. *Zhonghua Chuangshang Zazhi.* 2005;21(1):25-28.
曹谊林,周广东,刘伟,等.组织工程与创伤医学[J].中华创伤杂志, 2005,21(1):25-28.

- [5] Liu Q, Cen L, Yin S, et al. A comparative study of proliferation and osteogenic differentiation of adipose-derived stem cells on akermanite and beta-TCP ceramics. *Biomaterials*. 2008; 29(36):4792-4799.
- [6] Cui DP, Zhao DW. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2011;15(1):37-40.
崔大为,赵德伟.血管内皮细胞生长因子/骨形态发生蛋白2联合修饰骨髓间充质干细胞修复股骨头坏死[J].中国组织工程研究与临床康复,2011,15(1):37-40.
- [7] Hong SJ, Traktuev DO, March KL. Therapeutic potential of adipose-derived stem cells in vascular growth and tissue repair. *Curr Opin Organ Transplant*. 2010;15(1):86-91.
- [8] Jin GL, Wang WC, Cao L, et al. *Zhonghua Chuangshang Guke Zazhi*. 2006;12(8):1165-1168.
金格勒,王武昌,曹力,等.rhBMP-2/异体骨复合骨应用于兔腰椎植骨融合的实验研究[J].中华创伤骨科杂志,2006,12(8):1165-1168.
- [9] Yu FY, Lu SB, Yuan M, et al. *Zhongguo Jiaoxing Waikexue Zazhi*. 2004;5(12):762-764.
余方圆,卢世璧,袁玫,等.脂肪干细胞向软骨细胞方向诱导的初步研究[J].中国矫形外科杂志,2004,5(12):762-764.
- [10] Cousin B, Caspar-Bauguil S, Planat-Bénard V, et al. Adipose tissue: a subtle and complex cell system. *J Soc Biol*. 2006; 200(1):51-57.
- [11] Liu Q, Cen L, Zhou H, et al. The role of the extracellular signal-related kinase signaling pathway in osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells and in adipogenic transition initiated by dexamethasone. *Tissue Eng Part A*. 2009;15(11):3487-3497.
- [12] Gu H, Guo F, Zhou X, et al. The stimulation of osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells by ionic products from akermanite dissolution via activation of the ERK pathway. *Biomaterials*. 2011;32(29):7023-7033.
- [13] Amos PJ, Shang H, Bailey AM, et al. IFATS collection: The role of human adipose-derived stromal cells in inflammatory microvascular remodeling and evidence of a perivascular phenotype. *Stem Cells*. 2008;26(10):2682-2690.
- [14] Grossman ZD. PET and PET/CT: conceptions, misconceptions, and a potential new paradigm for enhanced metabolic imaging. *Curr Med Imaging Rev*. 2010;6(1):23-28.
- [15] Gao W, Qiao X, Ma S, et al. Adipose-derived stem cells accelerate neovascularization in ischaemic diabetic skin flap via expression of hypoxia-inducible factor-1 α . *J Cell Mol Med*. 2011;15(12):2575-2585.
- [16] Kawaguchi M, Tateishi U, Shizukuishi K, et al. 18F-fluoride uptake in bone metastasis: morphologic and metabolic analysis on integrated PET/CT. *Ann Nucl Med*. 2010;24(4): 241-247.
- [17] Sha Y, Liu BH, Liu Q, et al. Effects of transfected adenovirus-mediated transcription factor X-box binding protein 1 on hippocampal-derived neural stem cell proliferation and apoptosis under hypoxia. *Neural Regen Res*. 2010;5(13):1673-1683.
- [18] Wang JC, Xia L, Song XB, et al. Transplantation of hypoxia preconditioned bone marrow mesenchymal stem cells improves survival of ultra-long random skin flap. *Chin Med J (Engl)*. 2011;124(16):2507-2511.
- [19] Xie LW, Fang H, Chen AM, et al. Differentiation of rat adipose tissue-derived mesenchymal stem cells towards a nucleus pulposus-like phenotype in vitro. *Chin J Traumatol*. 2009; 12(2):98-103.
- [20] Jin GE, Ren LL, Yang XF, et al. *Zhonghua Chuangshang Guke Zazhi*. 2010;12(11):1065-1068.
金格勒,任龙龙,杨小丰,等.重组人骨形态发生蛋白-2/异体骨复合骨用于兔腰椎融合的正电子发射计算机断层摄影-CT研究[J].中华创伤骨科杂志,2010,12(11):1065-1068.
- [21] Corbetta M, Miezin FM, Shulman GL, et al. A PET study of visuospatial attention. *J Neurosci*. 1993;13(3):1202-1226.
- [22] Abella M, Alessio AM, Mankoff DA, et al. Accuracy of CT-based attenuation correction in PET/CT bone imaging. *Phys Med Biol*. 2012;57(9):2477-2490.
- [23] Even-Sapir E, Metser U, Mishani E, et al. The detection of bone metastases in patients with high-risk prostate cancer: 99mTc-MDP Planar bone scintigraphy, single- and multi-field-of-view SPECT, 18F-fluoride PET, and 18F-fluoride PET/CT. *J Nucl Med*. 2006;47(2):287-297.
- [24] Cao YL, Cui L, Liu W. *Zhonghua Chuangshang Guke Zazhi*. 2004;6:724-727.
曹谊林,崔磊,刘伟.组织工程在创伤骨科领域的研究进展[J].中华创伤骨科杂志,2004,6:724-727.
- [25] Cao Y, Sun Z, Liao L, et al. Human adipose tissue-derived stem cells differentiate into endothelial cells in vitro and improve postnatal neovascularization in vivo. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;332(2):370-379.
- [26] Yang P, Yin S, Cui L, et al. *Zhongguo Xiufu Chongjian Waikexue Zazhi*. 2008;22(4):481-486.
杨平,尹烁,崔磊,等.脂肪干细胞向血管平滑肌细胞诱导的实验研究[J].中国修复重建外科杂志,2008,22(4):481-486.
- [27] Yuan J, Cui L, Zhang WJ, et al. Repair of canine mandibular bone defects with bone marrow stromal cells and porous beta-tricalcium phosphate. *Biomaterials*. 2007;28(6): 1005-1013.
- [28] Cui L, Liu B, Liu G, et al. Repair of cranial bone defects with adipose derived stem cells and coral scaffold in a canine model. *Biomaterials*. 2007;28(36):5477-5486.
- [29] Lee KE, Simon MC. From stem cells to cancer stem cells: HIF takes the stage. *Curr Opin Cell Biol*. 2012;24(2):232-235.

来自本文课题的更多信息--

基金声明: 新疆维吾尔自治区自然科学基金面上项目(2010211A40), 高校博士学科点专项基金(20116517120001), 新疆医科大学硕士研究生创新基金(MC2010-18), 新疆医科大学第一附属医院组织工程专项基金(201022GC04)。

作者贡献: 殷剑、曹鑫负责细胞的分离和浓集, 杨毅、邓伟、邓强负责动物模型的制作, 杨小丰、柴黎明负责 PET/CT 的检测, 金格勒负责实验结果整理与统计。

利益冲突: 本课题未涉及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。

伦理要求: 实验经过新疆医科大学第一附属医院动物伦理委员会审批。