

骨形态发生蛋白复合物结合CAD/CAM技术原位修复喉甲状软骨缺损

刘艺昌¹, 周敬²(¹南阳市中心医院, 河南省南阳市 473009; ²郑州大学第一附属医院, 河南省郑州市 450003)

文章亮点:

- 1 实验利用一定的医学技术和计算机辅助设计/计算机辅助制造技术进行喉甲状软骨缺损重建。利用医学影像, 结合材料工程学计算机软件和相关设备制备出制作三维模型, 从而从更加直观、具体的角度对整个手术过程予以把握。
- 2 实验结果表明, 利用骨形态发生蛋白复合物结合计算机辅助设计/计算机辅助制造技术进行原位喉甲状软骨缺损修复可以获得良好的效果, 实验过程中所使用的复合物具有良好的骨诱导作用以及组织相容性。

关键词:

组织构建; 软骨组织工程; 喉部; 软骨缺损; 软骨修复; 甲状软骨缺损; 骨形态发生蛋白; 计算机辅助设计/计算机辅助制造技术

主题词:

软骨; 甲状软骨; 骨形态发生蛋白质类; 组织工程

缩略语:

计算机辅助设计/计算机辅助制造技术: computer aided design / computer aided manufacturing technology, CAD/CAM

摘要

背景: 临床修复喉甲状软骨缺损时使用一定的支架材料。骨形态发生蛋白具有成骨诱导活性, 与其他形式的载体联合起来进行复合应用可以更好的发挥出其诱导成骨作用。联合使用计算机辅助设计/计算机辅助制造技术能提高修复效果。

目的: 进一步验证骨形态发生蛋白复合物结合计算机辅助设计/计算机辅助制造技术在原位修复喉甲状软骨缺损中的应用效果。

方法: 纳入 18 只新西兰大白兔, 对动物喉部进行三维扫描, 建立兔甲状软骨三维数字模型。利用泡沫凝胶注模法制备羟基磷灰石支架, 再制备骨形态发生蛋白复合物。18 只动物随机分为观察组和对照组。两组兔行一侧甲状软骨切除后, 观察组植入珊瑚羟基磷灰石支架; 对照组填充明胶海绵。处理后 4, 8, 12 周, 进行大体观察和评分; 处理后 12 周, 对动物行喉镜检查, 喉组织常规切片后进行苏木精-伊红染色, 进行组织学观察。

结果与结论: 处理后 12 周, 对照组兔的喉腔出现明显的变窄现象, 且存在轻微充血; 观察组喉腔黏膜光滑, 且通畅、宽敞, 未出现肉芽生长情况。处理后 4, 8, 12 周, 两组喉甲状软骨评分均呈现出不断下降的情况, 且不同时间点, 观察组评分均显著低于对照组(均 $P < 0.05$)。处理后 12 周, 对照组未出现成熟骨细胞和软骨细胞的生成; 观察组则可见植入材料完全降解, 存在大量多核样组织细胞增生和吞噬, 手术区域软骨母细胞出现增生现象, 并伴有成软骨区域形成情况, 另外还观察到软骨骨质形成以及软骨细胞增生现象。结果表明, 利用骨形态发生蛋白复合物结合计算机辅助设计/计算机辅助制造技术进行原位喉甲状软骨缺损修复可以获得良好的效果, 实验过程中所使用的复合物具有良好的骨诱导作用以及组织相容性。

刘艺昌, 周敬. 骨形态发生蛋白复合物结合 CAD/CAM 技术原位修复喉甲状软骨缺损[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(51): 8228-8233.

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2015.51.006

Bone morphogenetic protein complex combined with CAD/CAM technique in the *in situ* repair of laryngeal cartilage defects

Liu Yi-chang¹, Zhou Jing² (¹Nanyang City Center Hospital, Nanyang 473009, Henan Province, China; ²First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450003, Henan Province, China)

Abstract

BACKGROUND: In the process of repairing laryngeal cartilage defects, a certain scaffold material can be used. Bone morphogenetic proteins have the activity of osteogenic induction, which can be used in combination with other materials. In order to improve the repairing effect, the combination of bone morphogenetic protein complex and computer aided design/computer aided manufacturing (CAD/CAM) technology is preferred.

OBJECTIVE: To investigate the effect of bone morphogenetic protein complex combined with CAD/CAM technology for *in situ* repair of laryngeal cartilage defects.

METHODS: Eighteen New Zealand white rabbits were enrolled and randomly divided into observation and control

刘艺昌, 男, 1975 年生, 河南省嵩县人, 汉族, 2007 年郑州大学毕业, 硕士, 主要从事耳鼻喉科方面的研究。

通讯作者: 周敬, 博士, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 郑州大学第一附属医院, 河南省郑州市 450003

中图分类号: R318

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344

(2015)51-08228-06

稿件接受: 2015-11-05

http://www.crter.org

Liu Yi-chang, Master, Nanyang City Center Hospital, Nanyang 473009, Henan Province, China

Corresponding author: Zhou Jing, M.D., Master's supervisor, Chief physician, Professor, First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450003, Henan Province, China

Accepted: 2015-11-05

groups followed by three-dimensional scanning of the throat. Then, three-dimensional rabbit models of the thyroid cartilage were made. Porous hydroxyapatite scaffold was prepared using gelcasting-foam method and combined with bone morphogenetic proteins. After unilateral removal of the thyroid cartilage, the composite scaffold and gelatin sponge were implanted into the rabbits in the observation and control groups, respectively. At 4, 8, 12 weeks after implantation, the rabbits in the two groups were observed grossly. At 12 weeks, the animals were sacrificed following laryngoscopy to observe the histological and pathological changes.

RESULTS AND CONCLUSION: At 12 weeks after implantation, the laryngeal cavity was narrowed and appeared to have a slight congestion in the control group; while in the observation group, the laryngeal cavity was smooth, unobstructed and spacious, with no granulation growth. At 4, 8, 12 weeks after implantation, the scores on the thyroid cartilage were decreased dramatically in the two groups, especially in the observation group ($P < 0.05$). At 12 weeks after implantation, there were no mature osteocytes and chondrocytes in the control group; in the observation group, the scaffold degraded completely, there was a large amount of cell proliferation and phagocytosis, and chondroblastic proliferation and cartilage formation were found in the surgical region. These results indicate that the use of bone morphogenetic protein complex combined with CAD/CAM technique can have good achievements in the treatment of in situ laryngeal cartilage defects. Additionally, the composite material used in the experimental procedure has good osteoinductive effect and histocompatibility.

Subject headings: Cartilage; Thyroid Cartilage; Bone Morphogenetic Proteins; Tissue Engineering

Liu YC, Zhou J. Bone morphogenetic protein complex combined with CAD/CAM technique in the in situ repair of laryngeal cartilage defects. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2015;19(51): 8228-8233.

0 引言 Introduction

随着时代的发展, 受到疾病和创伤等因素的影响, 骨缺损患者人数越来越多。临床对不同原因导致的骨缺损患者进行治疗的过程中, 骨移植是一种常用的方法^[1]。但是骨科各种骨移植均会受到一定影响的影响, 均存在一定的局限性, 为此, 需要积极的进行人工骨相关研究^[2]。骨形态发生蛋白是一种特殊的生长因子, 具有诱导成骨活性, 可以在骨缺损修复过程中发挥出十分重要的作用^[3-4]。但是, 单独对骨形态发生蛋白进行局部使用无法获得理想的效果, 一般情况下需要将骨形态发生蛋白与其他形式的载体联合起来进行复合应用^[5], 从而促进其诱导作用的高效发挥, 并更好的发挥出其诱导成骨作用。羟基磷灰石具有良好的生物活性, 是天然骨中矿化基质的重要成分, 将其与聚乙烯醇进行复合之后应用于软骨缺损修复之中, 可以在软骨连接部位产生良好的生物活性, 对骨细胞的生长产生有效的促进作用, 有效提高植入材料的稳定性和生物活性^[6]。为了提高修复效果, 还可以积极的使用计算机辅助设计/计算机辅助制造技术(computer aided design/computer aided manufacturing technology, CAD/CAM)。此次研究过程中, 即探讨骨形态发生蛋白复合物结合 CAD/CAM 在原位修复喉甲状软骨缺损中的应用效果。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 实验于2015年3至7月在南阳市中心医院实验室完成。

1.3 材料

1.3.1 实验动物 新西兰大白兔18只, 均为雄性, 一般情况良好。本次研究相关内容和方法均经本院伦理部门审核并批准, 实验设计方案、使用动物品种规格、处死动物的方法、项目进行设计中设计动物福利和伦理问题等均符合要求。

1.3.2 生物材料 实验过程中使用的羟基磷灰石由四川大学生物材料工程研究中心提供, 产品为白色粉末, 难溶于水, 易溶于酸。材料无细胞毒性和热原反应等, 具有良好的生物相容性。明胶海绵由南昌市祥恩堂医疗器械有限公司提供, 经打泡、固化、干燥、灭菌等工艺制成。材料无细胞毒性和热原反应等, 具有良好的生物相容性。

1.3.3 主要试剂与仪器

喉甲状软骨缺损修复实验用主要试剂与仪器:

试剂与仪器	来源
去离子水	上海弘顺生物科技有限公司
交联剂	扬州中懿化学试剂有限公司
I 型胶原	宁夏三雅精细化工有限公司
骨形态发生蛋白	天津市天昊化工有限公司
喉镜	成都普健医用设备制造有限公司
光学显微镜	上海蔡康光学仪器厂
生物力学测试系统	上海同舸医疗器械有限公司
电子恒速搅拌机	海纳维盛(北京)科技有限公司
电子天平	湖北兴恒化工有限公司
切片机	南京森贝伽生物科技有限公司
甲醛	上海诚凛生物科技有限公司
硝酸	北京索莱宝科技有限公司
无水乙醇	北京福意联医疗设备有限公司
苏木精-伊红	西安沃尔森生物技术有限公司

1.4 实验方法

1.4.1 兔甲状软骨三维重建 对兔喉部使用CT扫描5 cm 视野(100 mAs, 120 kV, 0.67 mm薄层), 获得二维扫描数据。将数据导出, 并利用医学图像处理软件进行处理, 按

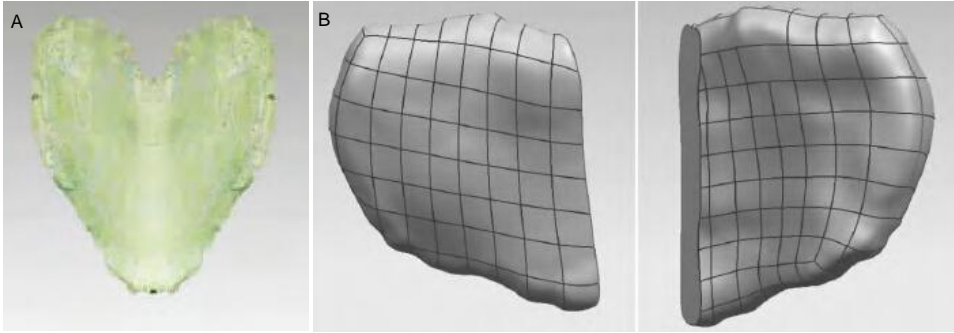


图 1 兔甲状腺软骨三维重建
Figure 1 Three-dimensional reconstruction of the rabbit thyroid cartilage

图注: A 为动物甲状腺软骨三维点云示意图; B 为动物甲状腺软骨三维数字模型图。

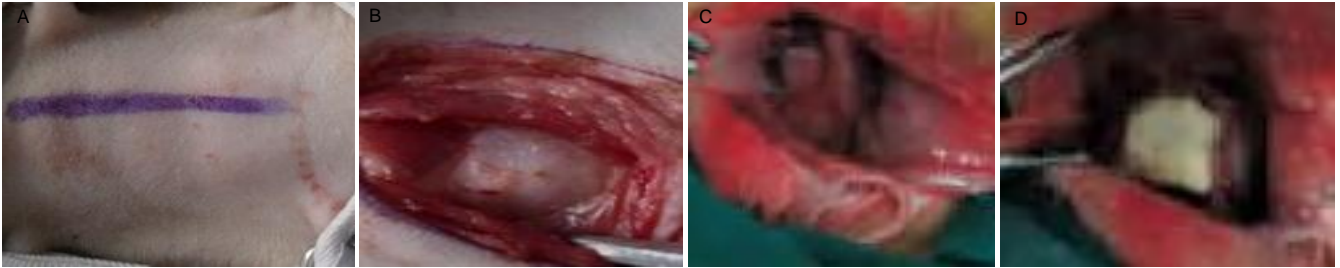


图 3 兔一侧甲状腺软骨切除植入材料处理流程

Figure 3 Removal of the unilateral thyroid cartilage and scaffold implantation in a rabbit

图注: 图 A 为确定手术切口部位; B 为暴露甲状腺软骨; C 为切除一侧甲状腺软骨; D 为植入人工材料支架。



图 2 甲状腺软骨板样件模具

Figure 2 Mould of the thyroid cartilage

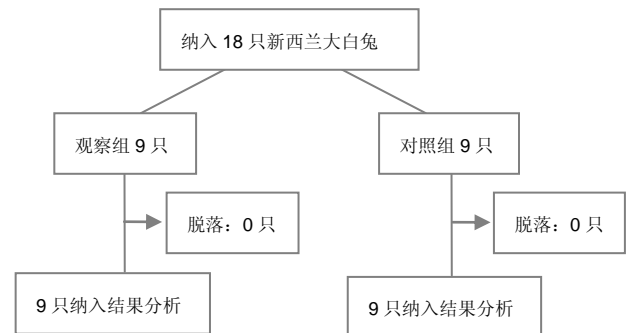


图 4 实验动物分组流程图

Figure 4 Experimental grouping flowchart

照灰度值分割外轮廓, 分割之后将动物甲状腺软骨部分数据导出, 获得三维点云示意图(见图1A)。并将相应的空间点导入专业逆向工程软件进行处理, 获得动物甲状腺软骨三维数字模型(见图1B)。

1.4.2 制备羟基磷灰石支架 利用泡沫凝胶注模法制备羟基磷灰石多孔标准样件, 在常温常压环境下, 利用生物力学测试系统对标准样件的抗压强度进行检测。将去离子水、单体、交联剂、分散剂进行混合, 获得预混液, 与粉末一起搅拌, 制备浆料。添加起泡剂, 见快速的搅拌至, 体积为搅拌前两三倍之后停止, 依次添加催化剂以及引发剂。充分搅拌之后, 注入甲状腺软骨板样件模具中(见图2), 凝固之后开模烘干并进行烧结, 之后取出, 冷却后备用。

1.4.3 制备骨形态发生蛋白复合物 按照1:2的质量比, 对水溶性 I 型胶原冻干粉和羟基磷灰石支架进行混合, 利用冷冻吸附法使 I 型胶原沉淀在支架上, 获得珊瑚羟基磷

灰石支架, 常规环氧乙烷消毒后保存备用。

1.4.4 动物分组和处理 18只动物随机分为2组, 每组9只, 分别设为观察组和对照组, 均接受手术处理。手术过程中, 经常规麻醉和消毒之后, 确定手术切口部位(见图3A), 暴露甲状腺软骨(见图3B), 切除一侧甲状腺软骨(见图3C)。然后观察组植入珊瑚羟基磷灰石支架(见图3D), 对照组填充明胶海绵。

1.4.5 术后处理 术后对动物进行单笼关养和常规饲喂, 并予以常规抗感染处理。

1.4.6 喉镜检查 术后12周, 对动物进行喉镜检查。观察喉腔黏膜有无炎症、有无肉芽生长, 声带闭合情况, 喉腔是否通畅、有无塌陷现象的发生。

1.4.7 组织学观察 术后 4, 8, 12周, 分批处死动物, 每组每批3只, 获得标本进行大体观察和评分, 染色后置于光学显微镜下进行组织学观察。

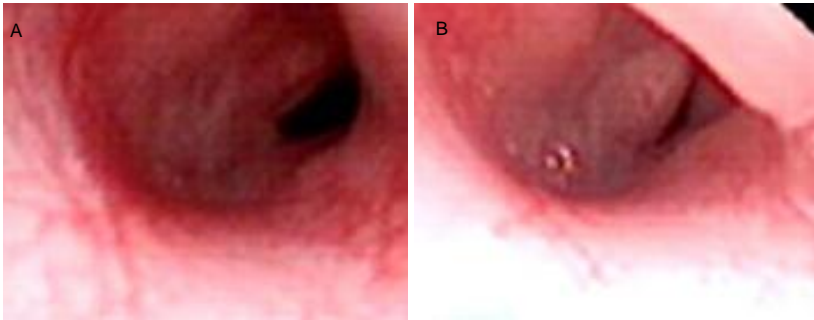


图5 两组兔术后12周喉镜观察结果 (×10)

Figure 5 Laryngoscope observation at 12 weeks after implantation (×10)

图注: A 为观察组, 喉腔黏膜光滑, 且通畅、宽敞, 未出现肉芽生长情况; B 为对照组, 喉腔出现明显的变窄现象, 且存在轻微充血。

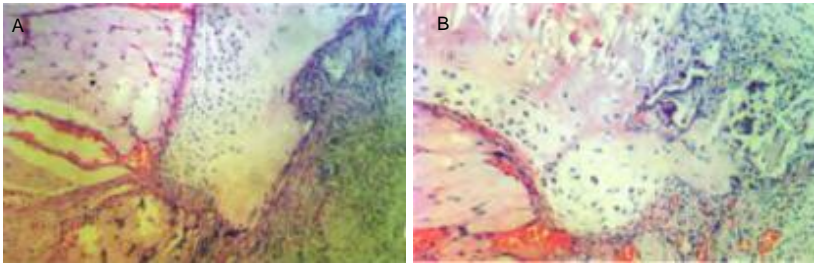


图6 两组术后12周病理学观察结果 (×100)

Figure 6 Pathological observation at 12 weeks after implantation (×100)

图注: A 为对照组, 未出现成熟骨细胞和软骨细胞的生成; B 为观察组, 可见植入材料完全降解, 存在大量多核样组织细胞增生和吞噬, 手术区域软骨母细胞出现增生现象, 并伴有成软骨区域形成情况, 另外还以观察到软骨骨质形成以及软骨细胞增生现象。

软骨的大体观察评分标准:

评分	组织变化
0	正常软骨
2	存在微小磨损, 但表面规整, 并出现轻微的颜色变化
4	软骨明显变薄, 局部发生纤维化, 颜色出现明显的变化
6	局部出现象牙状变化, 出现严重的纤维化现象, 颜色出现显著的变化
8	软骨存在部分缺损现象, 但软骨下骨未暴露
10	部分软骨下骨暴露, 并存在血管翳形成

1.4.8 病理学观察 术后12周, 处死动物后, 即可获得动物的完整喉部及其周围组织, 常规甲醛固定后进行硝酸脱钙处理, 并利用无水乙醇进行梯度脱水等, 常规切片后进行苏木精-伊红染色, 并置于光镜下进行观察。

1.5 主要观察指标 ①动物大体情况和术后12周喉镜检查结果。②两组术后不同喉甲状软骨评分情况分析。③术后12周病理学观察结果。

1.6 统计学分析 对于在此次研究过程中收集到的相关数据, 均利用统计学软件SPSS 19.0进行处理分析。其中, 对于计量资料, 符合正态分布的予以t检验, 不符合正态分布的予以单因素方差分析。并对P值进行检测, 并将不同数据经统计学比较差异存在统计学意义的标准设定为P < 0.05。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 入组的18只动物均全部存活, 未出现感染和中途死亡等情况。实验过程中所有动物均按照时间进行分批处死并获得标本。实验动物分组流程图见图4。

表1 两组术后不同喉甲状软骨评分情况分析 (x̄±s, 分)

Table 1 The scores on the thyroid cartilage in the two groups at different time after implantation

组别	术后4周	术后8周	术后12周
观察组	5.12±0.13	2.15±0.12	1.11±0.01
对照组	7.11±0.21	4.11±0.21	3.13±0.21
P	< 0.05	< 0.05	< 0.05

2.2 动物大体情况和术后12周喉镜检查结果 术后动物2组动物均处于良好的一般状态, 均正常进食、运动等, 发声正常, 且术后切口均甲级愈合。术后12周, 对两组动物进行喉镜检查可以发现, 对照组的喉腔出现明显的变窄现象, 且存在轻微充血; 观察组喉腔黏膜光滑, 且通畅、宽敞, 未出现肉芽生长情况。见图5。

2.3 两组术后不同喉甲状软骨评分情况分析 术后4, 8, 12周, 分别获得两组动物喉部标本进行喉甲状软骨评分, 可得随着时间的推移, 两组评分均呈现出不断下降的情况, 且不同时间点, 观察组评分均显著低于对照组, 具体结果见表1。

2.4 术后12周病理学观察结果 术后12周, 处死动物获得标本进行病理学观察, 可见对照组未出现成熟骨细胞和软骨细胞的生成(见图6A); 观察组可见植入材料完全降解, 存在大量多核样组织细胞增生和吞噬, 手术区域软骨母细胞出现增生现象, 并伴有成软骨区域形成情况, 另外还以观察到软骨骨质形成以及软骨细胞增生现象(见图6B)。

3 讨论 Discussion

临床对各种喉部疾病进行治疗的过程中, 经常会实施喉切除术, 容易导致喉甲状软骨缺损的出现。临床进行

骨缺损修复的时候, 自体软骨是理想的支架材料, 但在实际应用方面受到较大的限制^[7-11]。

骨形态发生蛋白可以在骨形成以及骨折愈合中发挥出十分重要的作用, 并可以在骨缺损修复之中发挥出重要的作用^[12-16]。但是, 单纯予以骨形态发生蛋白植入容易出现扩散和降解, 无法对新骨形成予以持续性的影响, 导致对最终的效果产生一定的影响^[17-21]。因此, 需要利用一定的载体来维持重组人骨形态发生蛋白的作用浓度和维持时间, 以保证其良好的成骨能力^[22-26]。胡鹏^[27]通过构建犬甲状软骨缺损模型并进行实验研究发现, 利用骨形态发生蛋白-纤维蛋白复合物、骨基质明胶、羟基磷灰石复合物对动物进行甲状软骨缺损移植修复治疗可以获得理想的修复效果, 相应的复合物是一种良好的喉软骨修复材料。对兔陈旧性关节软骨缺损进行治疗的过程中, 尝试使用人重组骨形态发生蛋白2+碱性成纤维细胞因子纤维蛋白复合物, 并在术后10, 14, 18周进行组织学观察发现, 人重组骨形态发生蛋白2+纤维蛋白复合物可以对兔陈旧性关节软骨缺损予以有效的修复, 获得优于碱性成纤维细胞生长因子纤维蛋白复合物的短期效果。为了提高修复效果, 还可以积极的使用各种计算机辅助技术^[28-29]。

本次研究过程中, 即制备骨形态发生蛋白复合物, 并将其应用于对喉甲状软骨缺损动物的修复治疗之中。治疗过程中, 还积极的使用各种计算机辅助技术。通过对动物喉部进行三维扫描, 获得二维扫描数据, 获得三维点云示意图以及动物甲状软骨三维模型图。本次实验结果显示, 在术后12周对动物进行喉镜检查可以发现, 对照组的喉腔出现明显的变窄现象, 且存在轻微充血; 观察组喉腔黏膜光滑, 且通畅、宽敞, 未出现肉芽生长情况。且在术后4, 8, 12周进行喉甲状软骨评分可以发现, 随着时间的推移, 两组评分均呈现出不断下降的情况, 且不同时间点, 观察组评分均显著低于对照组(均 $P < 0.05$)。即表明, 经骨形态发生蛋白复合物结合CAD/CAM技术修复治疗之后, 获得了理想的喉甲状软骨缺损修复效果。另外, 通过本次实验还发现, 术后12周的病理学观察显示, 对照组未出现成熟骨细胞和软骨细胞的生成; 观察组则可见植入材料完全降解, 存在大量多核样组织细胞增生和吞噬, 手术区域软骨母细胞出现增生现象, 并伴有成软骨区域形成情况, 另外还以观察到软骨骨质形成以及软骨细胞增生现象。羟基磷灰石材料支架具有多孔性网状结构, 孔隙及孔隙率为新生骨样组织的长入提供了场所, 保证了各种营养物质的输入, 还可以为诱导软骨生成的物质提供所需空间^[30]。联合胶原原使用, 可以在为骨形态发生蛋白提供良好载体的同时, 发挥出良好的骨诱导性能^[31-32]。即提示, 骨形态发生蛋白复合物具有良好的骨诱导活性, 可以发挥出理想的骨诱导作用, 达到良好的修复效果。

综上所述, 利用骨形态发生蛋白复合物结合CAD/CAM技术进行原位喉甲状软骨缺损修复可以获得良好的效果,

实验过程中所使用的复合物具有良好的骨诱导作用以及组织相容性, 是一种十分理想的治疗方案, 关于其临床甲状软骨缺损修复治疗效果, 值得予以进一步分析。但是, 本次研究过程中, 受到研究时间以及实际条件等因素的影响, 所纳入研究的实验动物数量有限, 相应的观察指标等也较少, 所获得的相关的结果以及结论等均有可能存在一定的不足之处。为此, 进一步结果, 还有待在今后的研究中通过增加观察指标、不断扩大样本容量、延长观察时间等方式予以探讨。

致谢: 对本次研究过程的相关参与人员以及为本次研究提供帮助的机构和人员表示感谢。

作者贡献: 第一作者负责设计和实施, 第二、三作者负责实施及文章的修改。

利益冲突: 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题: 实验动物在戊巴妥钠麻醉下进行所有的手术, 并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 本刊实行双盲外审制度, 文章经国内小同行外审专家审核, 符合本刊发稿宗旨。

学术术语: 数字模型-通过声、光、电、图像、三维动画以及计算机程控技术与实体模型相融合, 可以充分体现展示内容的特点, 达到一种惟妙惟肖、变化多姿的动态视觉效果。对参观者来说是一种全新的体验, 并能产生强烈的共鸣。

作者声明: 文章第一作者对研究和撰写的论文中出现的不良行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] 张龙城, 胡万青, 林文彪, 等. rhBMP-2/CHA修复甲状软骨缺损的实验研究[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2014, 43(3): 316-320.
- [2] 谭崇才, 王文慧, 陈剑飞, 等. 喉软骨支架缺损应用骨形态发生蛋白再生的实验研究[J]. 临床耳鼻咽喉科杂志, 2002, 16(9): 477-480.
- [3] 胡鹏, 谭崇才, 王文慧, 等. 犬甲状软骨缺损应用骨形态发生蛋白材料修复的实验研究[J]. 昆明医学院学报, 2003, 24(3): 126-126.
- [4] Hsu CM, Hsu CH, Yang MY, et al. Glottal insufficiency with thyroid cartilage implantation: Our experience in eight patients. Clin Otolaryngol. 2012; 37(5): 399-405.
- [5] 杨彩荣, 梁传余, 黄玮, 等. 同种脱细胞软骨基质与软骨细胞复合物修复兔甲状软骨缺损的实验研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2005, 19(6): 478-480.
- [6] 韩培, 蒋垚, 陈旻, 等. 重组骨形态发生蛋白-2结合软骨下钻孔治疗犬关节软骨全层缺损的实验研究[J]. 上海医学, 2004, 27(5): 327-330.
- [7] 马洪斌, 李运祥, 王铭伦, 等. 腺病毒携带骨形态发生蛋白14基因转染脂肪干细胞修复损伤关节软骨[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(1): 54-60.

- [8] 王鑫,李彦林,金耀峰,等.Ad-BMP-2、Ad-TGF- β 3转染 BMSCs 复合 DBM构建软骨修复猪关节软骨缺损的研究[J].实用医学杂志,2014,30(18):2880-2882.
- [9] 贺继平,苏晓云.转化生长因子 β 1与骨形态发生蛋白2联合修复膝关节软骨损伤[J].解剖学报,2011,42(4):537-541.
- [10] 王卫东,殷力,王刚,等.骨形态发生蛋白-2基因的克隆及重组真核表达质粒的构建[J].中华显微外科杂志,2010,33(3):229-231.
- [11] 胡万青.骨形态发生蛋白复合物结合CAD/CAM技术原位修复喉甲状软骨缺损的实验研究[D].桂林医学院,2013.
- [12] Stancoven BW, Lee J, Dixon DR, et al.Effect of bone morphogenetic protein-2, demineralized bone matrix and systemic parathyroid hormone (1-34) on local bone formation in a rat calvaria critical-size defect model. J Periodontal Res.2013;48(2):243-251.
- [13] 胡晓梅,王俊锋,杨松涛,等.菟丝子总多糖对家兔全层关节软骨缺损 II 型胶原表达的影响[J].实用医院临床杂志,2011,8(1):23-25.
- [14] 廖军义.Sox9增强骨形态发生蛋白2诱导的间充质干细胞成软骨分化抑制成骨分化[D].重庆医科大学,2014.
- [15] 李红喜,张睿,李华哲,等.软骨细胞联合BMP/bFGF移植对关节软骨损伤的修复作用[J].现代生物医学进展,2013,13(22):4237-4241.
- [16] Fujita N, Matsushita T, Ishida K, et al.An analysis of bone regeneration at a segmental bone defect by controlled release of bone morphogenetic protein 2 from a biodegradable sponge composed of gelatin and β -tricalcium phosphate. J Tissue Eng Regen Med. 2012;6(4):291-298.
- [17] 潘海涛,林欣,宋磊,等.骨形态发生蛋白/碱性成纤维细胞生长因子复合材料修复关节软骨缺损的实验研究[J].首都医科大学学报,2006,27(3):397-399.
- [18] Rousseau M,Anderson DE,Lillich JD,et al.In vivo assessment of a multicomponent and nanostructural polymeric matrix as a delivery system for antimicrobials and bone morphogenetic protein-2 in a unicortical tibial defect in goats.Am J Vet Res. 2014;75(3):240-250.
- [19] 李涛涛.重组EGFP慢病毒载体示踪转染的脐带间充质干细胞联合 β -磷酸三钙移植治疗兔股骨头缺血性坏死的研究[D].青岛大学,2011.
- [20] 刘锋,姚剑平. β -TCP-透明质酸复合支架结合自体MSCs和rhBMP2修复兔关节软骨缺损的实验研究[J].中华关节外科杂志:电子版,2008,2(5):547-553.
- [21] Murakami N, Saito N, Horiuchi H, et al.Repair of segmental defects in rabbit humeri with titanium fiber mesh cylinders containing recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) and a synthetic polymer. J Biomed Mater Res. 2002;62(2):169-174.
- [22] 朱国华,王健伟,田小武,等.骨软骨移植联合rhBMP-2/bFGF修复软骨缺损[J].中国矫形外科杂志,2011,19(21):1815-1819.
- [23] 王富友.组织工程骨软骨仿生设计与初步构建[D].第三军医大学,2008.
- [24] 束志勇,查振刚,汪炬,等.PLGA- II 型胶原复合rhBMP-2/bFGF修复兔膝关节软骨的缺损[J].暨南大学学报:自然科学与医学版, 2009,30(2):180-184.
- [25] Nakamura Y, Inloes JB, Katagiri T, et al.Chondrocyte-Specific MicroRNA-140 Regulates Endochondral Bone Development and Targets Dnpep To Modulate Bone Morphogenetic Protein Signaling.Molecular and Cellular Biology.2011; 31(14):3019-3028.
- [26] 王晋平.计算机技术辅助构建复杂形状软骨的实验研究[D].第四军医大学,2007.
- [27] 胡鹏.犬甲状软骨缺损应用骨形态发生蛋白材料修复的实验研究[D].昆明医学院,2001.
- [28] 胡万青.骨形态发生蛋白复合物结合CAD/CAM技术原位修复喉甲状软骨缺损的实验研究[D].桂林医学院,2013.
- [29] Mokbel N, Naaman N, Nohra J,et al.Healing patterns of critical size bony defects in rats after grafting with bone substitutes soaked in recombinant human bone morphogenetic protein-2: Histological and histometric evaluation.Br J Oral Maxillofac Surg. 2013;51(6):545-549.
- [30] 胡鹏,谭崇才,王文慧,等.犬甲状软骨缺损应用骨形态发生蛋白材料修复的实验研究[J].昆明医学院学报,2003,24(3):126-126.
- [31] 谭崇才,王文慧,陈剑飞,等.喉软骨支架缺损应用骨形态发生蛋白再生的实验研究[J].临床耳鼻咽喉科杂志,2002,16(9):477-480.
- [32] 胡鹏.犬甲状软骨缺损应用骨形态发生蛋白材料修复的实验研究[D].昆明医学院,2001.