

自体脂肪基质细胞组织 - 脱细胞骨基质 - 壳聚糖支架对兔胫骨骨缺损修复作用*

杨鹏¹, 邵擎东^{1**}, 李宇飞², 严旭¹, 江峰¹, 吕峰霞¹, 韦苏¹

(1. 中国人民解放军海军特色医学中心 骨科, 上海 200052; 2. 中国人民解放军海军特色医学中心 整形外科, 上海 200052)

[摘要] **目的:** 探究自体脂肪基质细胞组织 (SVF) 联合脱细胞骨基质 - 壳聚糖支架修复兔胫骨缺损的效果。**方法:** 取新西兰兔背部皮下脂肪制备获取 SVF 细胞、取股骨干制备获取脱细胞骨基质, 将 SVF 细胞种植于脱细胞骨基质 - 壳聚糖支架上, 于种植当日及种植第 7 天时, 扫描电镜观察支架上 SVF 细胞生长情况, 计算种植当日及种植第 3 天时的 SVF 细胞存活率; 将 20 只兔胫骨缺损动物模型均分为研究组和对照组, 研究组用 SVF-脱细胞骨基质 - 壳聚糖支架修复, 对照组用脱细胞骨基质 - 壳聚糖支架修复; 于术后 6 及 12 周时检测 2 组胫骨缺损部位的骨密度, 并进行 X 线拍照, 于术后 12 周时检测 2 组骨缺损部位最大弯曲度负荷、抗弯刚度及破坏扰度的力学特征, 检测缺损骨骨膜中血管内皮细胞生长因子 (VEGF) 和表皮生长因子 (EGF) 水平。**结果:** 电镜结果显示, SVF 细胞种植第 7 天, 支架上黏附大量的 SVF 细胞, 并且 SVF 细胞在支架表面上生长、增殖; SVF 种植当日的 SVF 细胞存活率为 100.0%, 种植第 3 天 SVF 细胞的存活率为 $(98.54 \pm 1.83)\%$, 2 者比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 术后第 6 及 12 周时, 研究组新西兰兔骨缺损处的支架材料和周围骨组织之间的界限模糊, 周围骨组织有骨痂形成; 2 组新西兰兔术后第 12 周时骨缺损部位骨密度均高于同组术后第 6 周, 研究组术后同时点的骨缺损部位骨密度均高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 术后第 12 周时, 研究组新西兰兔最大弯曲度负荷和抗弯刚度大于对照组, 破坏扰度低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 术后第 12 周时, 研究组新西兰兔骨缺损部位骨膜中的 VEGF 和 EGF 蛋白水平均高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论:** SVF-脱细胞骨基质 - 壳聚糖支架可促进兔胫骨骨缺损修复, 可能机制与 SVF 促进骨膜内的血管新生有关。

[关键词] SVF 细胞; 脱细胞骨基质; 壳聚糖; 兔; 胫骨缺损; 血管内皮细胞生长因子类; 表皮生长因子

[中图分类号] R687.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2020)01-0029-06

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2020.01.006

Experimental Study of SVF Cells Combined with Acellular Bone Matrix Chitosan Scaffold in Repairing Rabbit Tibial Bone Defect

YANG Peng¹, SHAO Qingdong¹, LI Yufei², YAN Xu¹, JIANG Feng¹, LU Fengxia¹, WEI Su¹

(1. Department of Orthopedics, Naval Special Medical Center of PLA, Shanghai 200052, China;

2. Plastic Surgery, Naval Special Medical Center of PLA, Shanghai 200052, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of SVF cells combined with acellular bone matrix chitosan scaffold (ABMCS) on repairing rabbit tibial bone defect. **Methods:** SVF cells were seeded on ABMCS. 20 tibial defect models of rabbits were equally divided into the study group and the control group. The study group was treated with SVF combined with ABMCS, while the control group was treated with ABMCS only. SVF was seeded on ABMCS and 7th days later and was scanned by electron microscope. The SVF cells survival rate was calculated at the 0 day and the 3rd day. Bone mineral density (BMD) of tibia defect was detected by bone densitometer in the 6th week and 12th week postoperatively. In the 12th week after operation, the biomechanical parameters of bone defects were

*[基金项目] 全军医药卫生科研课题 (14ZD09)

** 通信作者 E-mail: shaoqingdong412@126.com

网络出版时间: 2020-01-09 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20200109.2011.006.html>

detected, vascular endothelial growth factor (VEGF) and epidermal growth factor (EGF) in periosteum were detected. **Results:** In the 7th day after inoculation of ABMCS, SVF cells adhered to a large number of SVF cells, and SVF cells grew and proliferated on the scaffold surface. The survival rate of SVF cells on day 0 after SVF inoculation was 100.0%. After three days of culture, the survival rate of SVF cells was $(98.54 \pm 1.83)\%$. The difference was not significant. ($P > 0.05$). In the study group, the boundary between bone defect scaffold and surrounding bone tissues began to become blurred 6 and 12 weeks after operation. The bone mineral density of the bone defect in the study group and the control group was significantly higher in the 6th week than in the 12th week after operation, and the bone density of the bone defect in 6th and 12th week after the operation was significantly higher in the study group than that in the control group ($P < 0.05$). The expression levels of VEGF and EGF in the periosteum of bone defect in the study group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$) at 12th week. **Conclusions:** The use of SVF-ABMCS to repair bone defect of tibia in rabbits has significant effect. SVF can not only differentiate into osteoblasts but also promote angiogenesis in the periosteum.

[**Key words**] SVF cells; acellular bone matrix scaffold (ABMCS); chitosan; rabbit; tibial defects; vascular endothelial growth factors; epidermal growth factor

骨缺损是骨科的常见疾病,目前骨缺损修复的治疗方法有多种,其中骨组织工程移植修复是最新使用的修复方法,该方法是将骨髓间充质干细胞与骨架材料生物结合,将骨髓间充质干细胞转化为成骨细胞,完成骨缺损的修复^[1-2]。然而骨髓间充质干细胞具有取材难、供量少、供区创伤大等缺点,这些缺点限制骨组织工程移植在骨缺损修复中的应用^[3]。脂肪组织是一种具有多向分化潜能的功能细胞组织,因为脂肪组织中含有的自体脂肪基质细胞组织(SVF)^[4-6],其中含有脂肪基质细胞(脂肪干细胞),其功能和骨髓间充质干细胞相似,可以分化为成骨细胞、软骨细胞等骨细胞,进而通过分泌大量骨基质因子、血管生长因子、抗凋亡因子及其他细胞因子,促进血管新生,吸引成骨前体细胞参与骨的形成,促进骨缺损部位血供恢复,最终促进骨缺损修复^[7]。SVF还具有取材容易、供量丰富、供区创伤程度小等特点,推测可以将其作为骨组织工程中骨缺损移植修复治疗过程中的种子细胞。目前关于SVF用于骨缺损修复的研究报道较少,本研究以形状结构较为简单的胫骨作为骨缺损部位,复制兔胫骨骨缺损动物模型,以骨科研究应用较多的脱细胞骨基质-壳聚糖为材料制作缺损胫骨支架,将SVF种植于脱细胞骨基质-壳聚糖支架上、对缺损的兔胫骨进行修复,同时观察骨缺损部位骨膜中的血管内皮细胞生长因子(VEGF)和表皮生长因子(EGF)水平,为SVF应用于骨组织工程修复骨缺损提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 选择21只健康的新西兰大白兔,兔龄为4个月,雌雄不限,体质量为2.0~2.5 kg,平均 (2.17 ± 0.61) kg,购买自上海斯莱克实验动物有限责任公司[SCXK(沪)2017-0005]。动物适应性喂养1周,随机取1只用于SVF和脱细胞骨基质制备,剩余20只兔随机分为研究组和对照组,每组10只。

1.1.2 主要试剂及仪器 DMEM培养基、胎牛血清、抗坏血酸、 β -甘油磷酸钠、胰蛋白酶、血管内皮生长因子(VEGF)一抗、表皮生长因子(EGF)一抗(均购自美国Sigma公司),地塞米松、抗坏血酸、吡哆美辛、甲基黄嘌呤、牛胰岛素(均购自上海晶抗生物工程有限公司),倒置显微镜(日本奥林巴斯公司),生物力学实验机(上海衡翼精密仪器有限公司),低温低速离心机、石蜡切片机(德国Thermo公司)。

1.2 方法

1.2.1 SVF的制备 随机取新西兰大白兔1只,耳缘静脉注射戊巴比妥钠麻醉,在兔的背部取10.0 g皮下脂肪,清除脂肪组织中的血管、结缔组织后剪碎,于37℃、1 g/L的I型胶原酶溶液中振荡60 min,待块状脂肪消化成液态,加入含有胎牛血清的培养液终止消化,200目滤网过滤,1 600 r/min离心5 min,PBS重悬;洗涤,离心弃去上清液,

沉淀在红细胞裂解中振荡,离心弃去上清液;PBS清洗沉淀,加入2倍体积的且含有胎牛血清的培养液,混匀;取细胞液0.2 mL,行苔盼蓝染色,接种至培养瓶中,接种密度为 $1.5 \times 10^4/\text{cm}^2$;常规条件下培养细胞,3 d 更换1次培养液,当细胞融合超过90%时进行消化传代。

1.2.2 脱细胞骨基质制备 将1.2.1项下兔的股骨干解剖下来,清除脂肪、血管、结缔组织后将股骨碎裂为 $1.0 \text{ cm} \times 1.0 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$ 规格的碎骨,无菌去离子水高压冲洗碎骨。在甲醇和氯仿混合溶液(1:1)中浸泡24 h,脱去骨碎块中的脂肪;将骨碎块在浓度为30%的过氧化氢溶液中浸泡48 h,脱去骨碎块中的蛋白质;将骨碎块在浓度为6.0 mol/L的盐酸溶液中浸泡5 min,脱去骨碎块中的钙质。上述步骤完成后用无菌去离子水冲洗,冷冻干燥机中干燥48 h,将骨碎块无菌粉碎,过钢筛,选取 $10 \sim 50 \mu\text{m}$ 的骨碎块作为脱细胞骨基质。制备的脱细胞骨基质在 -40°C 条件下保存备用。

1.2.3 SVF-脱细胞骨基质-壳聚糖支架制备 将脱细胞骨基质和5%壳聚糖溶液按照10:1的比例混合,倒入胫骨磨具中,在 -40°C 下先冷冻2 h,然后在冷冻干燥机中干燥48 h,干燥好的脱细胞骨基质-壳聚糖支架在紫外线下照射8 h,在50 mmol/L碳化二亚胺和N-羟基琥珀酰亚胺溶液中交联24 h,无菌去离子水清洗,冷冻干燥机中干燥,钴60照射灭菌,制备好的脱细胞骨基质-壳聚糖支架在 -4°C 条件下保存备用。取支架照射灭菌,完全培养液预湿处理,置入6孔板后,种植SVF细胞(种植密度为 3×10^7 个/ cm^2)于支架上, 37.0°C 、5.0% CO_2 条件下培养1.2 h后转移至含10.0%胎牛血清的DMEM培养液中,在6孔板中培养72 h,在 -40.0°C 环境中冷冻干燥,干燥后的支架复合物保存于 -40.0°C 冰箱中备用。

1.2.4 兔胫骨缺损模型复制及骨缺损修复 将研究组和对照组新西兰大白兔耳缘静脉注射戊巴比妥钠麻醉,备皮,在兔一侧胫骨的中远处用消毒的电钻在暴露的胫骨平台位置钻一个 $9 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ 的孔洞,复制胫骨缺损动物模型。胫骨缺损模型复制完成后,研究组用制备好的SVF-脱细胞骨基质-壳聚糖支架进行修复,对照组用脱细胞骨基质-壳聚糖支架修复,缝合伤口,消毒,肌肉注射青霉素预防感染。

1.3 观察指标

取新西兰兔背部皮下脂肪制备获取SVF细

胞、取股骨干制备获取脱细胞骨基质,将SVF细胞种植于脱细胞骨基质-壳聚糖支架上,于种植当日及种植第7天时,扫描电镜观察支架上SVF细胞生长情况,计算种植当日及种植第3天时的SVF细胞存活率;将20只兔胫骨缺损动物模型均分为研究组和对照组,研究组用SVF-脱细胞骨基质-壳聚糖支架修复,对照组用脱细胞骨基质-壳聚糖支架修复;于术后第6及12周时,检测2组胫骨缺损部位的骨密度、并进行X线拍照,于术后第12周时检测2组骨缺损部位最大弯曲度负荷、抗弯刚度及破坏扰度的力学特征,以内参照蛋白 β -actin作为内对照,参考文献[7]检测并计算缺损骨骨膜中VEGF和EGF蛋白相对表达水平。

1.4 统计学处理

用SPSS 19.0统计软件对数据进行统计处理,用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示计量资料,率(%)表示计数资料,计量资料的组间差异比较用 t 检验,计数资料的组间差异比较用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SVF-脱细胞骨基质-壳聚糖支架的电镜扫描结果

电镜扫描显示,脱细胞骨基质-壳聚糖支架材料呈现为疏松样多孔结构,有利于营养物质进入和各种细胞黏附,将SVF细胞接种于脱细胞骨基质-壳聚糖支架第7天时,支架上黏附大量的SVF细胞,并且SVF细胞在支架表面上生长、增殖。见图1。

2.2 SVF-脱细胞骨基质-壳聚糖支架中SVF细胞存活率

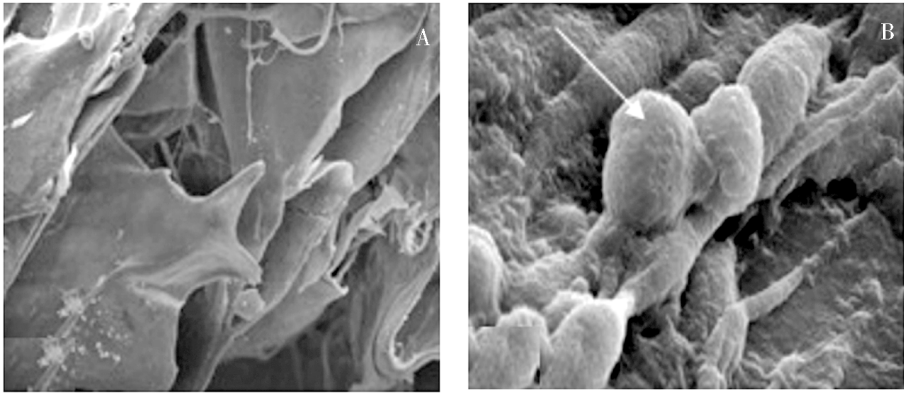
SVF种植当日的SVF细胞存活率为100.0%,种植第3天时,SVF细胞的存活率为 $(98.54 \pm 1.83)\%$,2者比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 术后胫骨缺损部位大体观察及X片结果

大体观可见研究组大白兔修复后第12周时见骨缺损区有血管孔生成,已经骨性愈合;对照组大白兔虽见骨缺损区有血管孔生成,但生成的血管孔数量少于研究组,骨缺损部位仍未完全骨性愈合。胫骨缺损修复术后第6周及12周时,分别用X线进行拍摄缺损部位,结果显示研究组术后第6周时的骨缺损支架材料和周围骨组织之间的界限开始变的模糊,周围骨组织有骨痂形成,术后第12周时骨缺损处骨密度较第6周时显著增加,骨缺损的范

围进一步缩小,凹面和周围骨床保持在同一平面上;对照组术后第6周及12周时骨缺损也有改善,

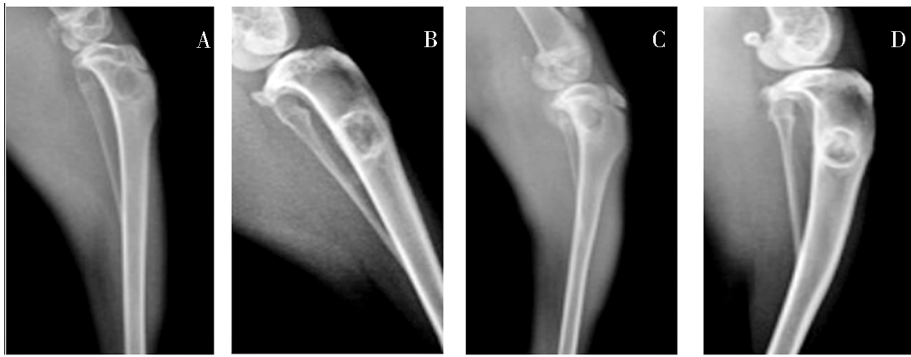
但每个时间点骨缺损的改善程度均弱于研究组。见图2。



注:A为脱细胞骨基质-壳聚糖支架,B为SVF细胞种植在脱细胞骨基质-壳聚糖支架(箭头所示支架上黏附大量的SVF细胞,并且SVF细胞在支架表面上生长、增殖)。

图1 SVF-脱细胞骨基质-壳聚糖支架电镜扫描结果

Fig. 1 SVF-acellular bone matrix-chitosan scaffold by Electron Scanning microscopy



注:A、B为对照组,C、D为研究组,A、C为修复术后第6周,B、D为修复术后第12周。

图2 两组胫骨缺损修复后第6周及12周时的X片结果

Fig. 2 Tibial defect repair in both groups at 6th and 12th weeks by X-ray

2.4 术后胫骨缺损部位骨密度

结果显示,2组大白兔术后第12周骨缺损部位的骨密度均显著性高于术后第6周,研究组术后第6周及12周的骨缺损部位的骨密度均显著性高于同时点对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 术后第6周及12周时2组胫骨缺损部位骨密度比较($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of bone mineral density in tibial defects in both groups at 6th and 12th weeks($\bar{x} \pm s$)

组别	骨缺损部位骨密度/(g/cm ²)	
	术后第6周	术后第12周
对照组	0.14 ± 0.03	0.21 ± 0.05 ⁽¹⁾
研究组	0.23 ± 0.06 ⁽²⁾	0.35 ± 0.07 ⁽¹⁾⁽²⁾

注:⁽¹⁾与同组术后第6周比较, $P < 0.05$;⁽²⁾与对照组同时点比较, $P < 0.05$ 。

2.5 术后胫骨缺损部位的生物力学指标

结果显示,术后第12周时,研究组最大弯曲度负荷和抗弯刚度显著大于对照组,破坏扰度显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 术后第12周时2组胫骨缺损部位的生物力学指标比较($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of biomechanical indexes of tibial defects at 6th and 12th weeks($\bar{x} \pm s$)

组别	生物力学指标		
	最大弯曲度 负荷/N	抗弯刚度/ (N/mm ²)	破坏扰度/ mm
对照组	94.56 ± 12.43	2 653.36 ± 255.73	0.48 ± 0.08
研究组	168.67 ± 34.57 ⁽¹⁾	4 246.62 ± 492.66 ⁽¹⁾	0.26 ± 0.03 ⁽¹⁾

注:⁽¹⁾与对照组比较, $P < 0.05$ 。

2.6 术后胫骨缺损部位骨膜的 VEGF 和 EGF 蛋白表达

Western blot 结果显示,术后第 12 周时,研究组胫骨缺损修复后骨缺损部位骨膜中的 VEGF 及 EGF 蛋白表达水平均显著高于对照组, $P < 0.05$ 。见图 3 和表 3。

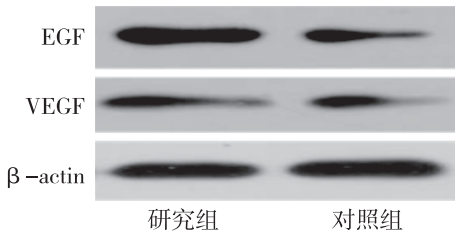


图 3 术后第 12 周时 2 组新西兰兔胫骨缺损部位骨膜的 VEGF 和 EGF 蛋白表达
Fig. 3 Expression levels of VEGF and EGF in periosteum of tibia defect in New Zealand rabbits at 6th and 12th weeks

表 3 术后第 12 周时 2 组胫骨缺损部位骨膜的 VEGF 和 EGF 蛋白相对表达水平($\bar{x} \pm s$)
Tab. 3 Expression levels of VEGF and EGF in tibia defect in New Zealand rabbits at 6th and 12th weeks($\bar{x} \pm s$)

组别	骨缺损部位骨膜蛋白相对表达水平	
	VEGF	EGF
对照组	0.51 ± 0.04	0.61 ± 0.04
研究组	0.66 ± 0.06 ⁽¹⁾	0.75 ± 0.05 ⁽¹⁾

注: ⁽¹⁾与对照组比较, $P < 0.05$ 。

3 讨论

骨缺损是骨科的常见疾病,如缺损骨得不到有效修复,轻者严重降低患者胫骨功能,重者将面临截肢。目前用于骨缺损修复的方法有多种,传统的修复方法有自体骨移植、异体骨移植、假体材料填充等,虽然上述方法的修复效果有效,但上述修复方法中所用到的修复材料没有细胞活性,将修复材料移植至骨缺损部位后,需要自身的成骨细胞缓慢的向骨缺损部位和修复材料上转化为新生骨^[8-10]。上述骨缺损修复方法对于骨缺损小的情况,修复效果尚可以达到预期,但对于骨缺损大的情况,则很难收到预期的修复效果。近年来骨组织工程技术得到快速的发展。使用含有活细胞修复材料修复骨缺损的技术已经用于多种骨缺损的修

复治疗,且修复效果十分理想^[11-12]。利用骨组织工程技术修复骨缺损的一个重要环节是将具有分化为成骨细胞的干细胞接种至修复支架材料上,当修复支架材料移植至骨缺损部位后,修复支架材料上的干细胞可以快速的增殖分化为成骨细胞,修复速度和效果好于传统的修复方法^[13-14]。目前接种至修复支架材料上的干细胞主要是骨髓间充质干细胞,然而这种来源的干细胞具有取材难、供量少、供区创伤大等缺点,限制了骨组织工程技术在修复骨缺损的应用。

脂肪组织是一种具有多向分化潜能的功能细胞组织,脂肪组织的这种功能主要是因为脂肪组织中含有 SVF^[15-16]。SVF 具有很好的体外扩增和多克隆的能力,可以诱导分化为成骨细胞^[17-18]。SVF 的这一特性,使其具有干细胞的功能,推测其可以作为接种值修复支架材料上的细胞。另外 SVF 具有取材容易、供量丰富、供区创伤程度小等优点。可以替代骨髓间充质干细胞,可作为骨组织工程中骨缺损移植修复治疗过程中的种子细胞。在本研究将从兔脂肪组织中制备而来的 SVF 接种至脱细胞骨基质 - 壳聚糖支架上,种植第 7 天时支架上黏附大量的 SVF 细胞,并且 SVF 细胞在支架表面上生长、增殖。说明 SVF 在脱细胞骨基质 - 壳聚糖支架材料上具有良好的生物相容性,脱细胞骨基质 - 壳聚糖支架具备的骨缺损修复材料的基础和特性。SVF-脱细胞骨基质 - 壳聚糖支架移植至兔胫骨缺损部位,术后骨缺损的支架材料和周围骨组织之间的界限开始变的模糊,周围骨组织有骨痂形成,骨缺损的范围进一步缩小,骨缺损部位的骨密度逐渐升高,生物力学检测指标逐渐改善,随着术后时间的延长,骨缺损修复的效果越来越好。说明使用应用 SVF-脱细胞骨基质 - 壳聚糖支架修复兔胫骨缺损收到良好的修复效果。

骨膜在骨缺损修复的过程中起到重要作用,骨膜内含有丰富的血管,这些血管为骨的增生提供氧气、营养物质,使骨膜中的成骨细胞具有造骨细胞的功能^[19-21]。VEGF 和 EGF 是 2 种重要的具有促进血管新生的因子,参与血管内皮细胞的增殖分化以及新生血管的形成,机体中 2 者水平的高低与新生血管的生成速度呈正相关^[22-23]。有研究表明 SVF 细胞具有促进血管新生的作用^[24-25]。本研究检测了 2 组大白兔术后第 12 周时骨缺损部位的新生骨膜中的 VEGF 和 EGF 蛋白表达水平,结果显示使用 SVF-脱细胞骨基质 - 壳聚糖之间修复的研

究组新生骨膜中的 VEGF 和 EGF 蛋白表达水平显著高于仅使用脱细胞骨基质 - 壳聚糖支架修复的对照组,说明 SVF-脱细胞骨基质 - 壳聚糖支架修复兔胫骨缺损时促进骨膜中的血管新生,为骨缺损的修复提供营养物质。

综上所述,使用 SVF-脱细胞骨基质 - 壳聚糖支架修复兔胫骨骨缺损可以收到显著的效果,SVF 不但可以分化为成骨细胞而且还可以促进骨膜内的血管新生。

4 参考文献

- [1] 林嘉宜,袁伟壮,张洪武. 医用 3D 打印材料应用于骨缺损修复的研究进展[J]. 中国临床解剖学杂志, 2017,35(6):708-712.
- [2] 段宁,张文韬,程辉光,等. 仿生双相陶瓷生物活性骨应用于节段性骨缺损修复[J]. 中国组织工程研究, 2015,19(25):3952-3956.
- [3] 韩操,马宁,李忠义,等. 自体骨髓间充质干细胞载体复合物修复骨缺损的组织学观察[J]. 中国组织工程研究, 2015,19(6):891-897.
- [4] 樊奇,郑丹宁,余力,等. SVF 细胞影响移植脂肪 LPL 表达的实验研究[J]. 组织工程与重建外科杂志, 2015, 11(3):148-151.
- [5] 周峰,李强,黄理旭,等. 基质血管成分细胞与脂肪来源干细胞在全厚皮片移植中的作用比较[J]. 中国美容整形外科杂志, 2019,30(8):491-494,499.
- [6] 冯春朝,卢沛伶,黄婧,等. 改良推注方法制备脂肪移植 SVF 胶的实验研究[J]. 中国美容整形外科杂志, 2019,30(6):338-341.
- [7] 原博,陆树良. 脂肪组织中血管基质部分(SVF)的细胞成分及应用[J]. 组织工程与重建外科杂志, 2007, (1):55-56.
- [8] 李宁远,龚亚莉,刘煊文,等. 不同材料人工髋关节假体对骨界面应力分布及生物力学的影响[J]. 中国组织工程研究, 2016,20(9):1268-1274.
- [9] 杜辉,付勤. 同种异体骨移植与自体骨移植修复四肢粉碎性骨折:骨性愈合及骨活性比较[J]. 中国组织工程研究, 2015,19(8):1206-1210.
- [10] 李凯,樊欣. 脂肪组织来源于干细胞调控血管生成的研究进展[J]. 西南医科大学学报, 2019,42(5):493-497.
- [11] LI X F, XU H, ZHAO Y J, et al. Icarin augments bone formation and reverses the phen-otypes of osteoprotegerin-deficient mice through the activation of Wnt/ β -Catenin-BMP signaling [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013,2013:652317.
- [12] 孙思捷. 脂肪血管基质组分获取方法及临床应用的研究进展[J]. 组织工程与重建外科杂志, 2018,14(6):353-356.
- [13] SAGAR N, PANDEY A K, GURBANI D, et al. In-vivo efficacy of compliant 3D nano-composite in critical-size bone defect repair: a six month preclinical study in rabbit [J]. PLoS One, 2013,8(10):e77578.
- [14] 黄皎,于湄,田卫东. 脂肪组织血管基质成分在组织工程化脂肪构建中的应用[J]. 国际口腔医学杂志, 2016,43(1):74-78.
- [15] CARVALHO P P, LEONOR I B, SMITH B J, et al. Undifferentiated human adipose-derived stromal/stem cells loaded onto wet-spun starch-polycaprolactone scaffolds enhance bone regeneration: nude mice calvarial defect in vivo study[J]. J Biomed Mater Res A, 2014,102(9):3102-3111.
- [16] 侯崇超,周传德. SVF-gel 联合自体颗粒脂肪在外生殖器整形中的临床应用[J]. 中国美容整形外科杂志, 2019,30(3):179-181.
- [17] KOH Y G, KWON O R, KIM Y S, et al. Comparative outcomes of open-Wedge high tibial osteotomy with platelet-rich plasma alone or in combination with mesenchymal stem cell treatment: a prospective study [J]. Arthroscopy, 2014,30(11):1453-1460.
- [18] 樊奇,郑丹宁,余力,等. SVF 细胞影响移植脂肪 LPL 表达的实验研究[J]. 组织工程与重建外科, 2015,11(3):148-151.
- [19] 黄桢雅,陈俊男,赖琳英,等. 不同冻存时间对脂肪组织生物学活性的影响[J]. 中国美容医学, 2019,28(2):14-17.
- [20] 张丽丽,艾红军,郑石磊. 浓缩生长因子对兔骨膜细胞增殖与成血管化的影响[J]. 解剖科学进展, 2017,23(4):385-389.
- [21] 胡强,韩岩. 脂肪组织中纳米脂肪与基质血管成分的对比较研究[J]. 中国美容整形外科杂志, 2019,30(6):331-335.
- [22] 蔡德南,陈斐,王木盛. 脐带间充质干细胞移植对烧伤患者新生肉芽组织 EGF 及 VEGF 表达的影响[J]. 广东医学, 2018,39(5):740-744.
- [23] 蒯权,王宜梅,李聪,等. SVF-gel 促进糖尿病鼠创面愈合的初步实验研究[J]. 组织工程与重建外科杂志, 2019,15(1):13-16.
- [24] 汪正财,顾子春,李奕润,等. 基质血管片段促进脂肪移植后再血管化的机制研究进展[J]. 组织工程与重建外科杂志, 2017,13(6):349-353.
- [25] 殷雅婷,张爱君,王浩,等. 自体脂肪来源基质血管组分辅助脂肪移植改善面部皮肤质量[J]. 中国组织工程研究, 2019,23(9):1428-1433.

(2019-10-30 收稿,2020-01-04 修回)

中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 丁廷森