

· 基础研究 ·

丝素蛋白-羟基磷灰石三维大孔支架复合脂肪干细胞体外构建组织工程骨的可行性研究

丁晓明¹, 张凯三¹, 刘婷婷², 朱明¹, 王祥杰¹, 潘月兴¹, 刘玉田¹, 郭振光¹, 徐开民¹, 杨彬¹

(1. 日照市中医医院, 山东 日照 276800; 2. 日照市人民医院, 山东 日照 276827)

摘要 目的: 探讨丝素蛋白(silk fibroin, SF)-羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)三维大孔支架复合脂肪干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)体外构建组织工程骨的可行性。方法: 以 SF 和 HA 为原料, 采用石蜡微球沥滤技术制备三维大孔支架, 以 micro-CT 扫描重建观察其结构, 并测定支架的弹性模量。将兔 ADSCs 接种到支架上, 给予成骨诱导液培养, 分别取样本进行扫描电子显微镜观察、HE 染色、细胞增殖情况测定(CCK8)、Von Kossa 染色、I 型胶原免疫组化染色及 I 型胶原含量测定(Elisa), 评估 SF-HA 三维大孔支架的生物相容性和 ADSCs 在支架上的成骨分化情况。结果: ①SF-HA 三维大孔支架性能评估结果。支架内部可见均匀排列的大孔结构, 连通性好。支架孔径 $(365.30 \pm 27.10) \mu\text{m}$, 孔隙率 $(85.30 \pm 1.80)\%$, 弹性模量 $(54.93 \pm 5.44) \text{kPa}$ 。②SF-HA 三维大孔支架生物相容性评估结果。扫描电子显微镜图像显示细胞能够很好地在支架孔壁上黏附和伸展, 细胞通过孔隙之间的连通结构长入孔隙内或在孔隙边缘呈网状样覆盖, 细胞周围可见基质分泌。SF-HA 三维大孔支架 ADSCs 复合体 HE 染色结果显示, 细胞核深染、胞浆红染, 均匀黏附在支架孔隙内壁上, 随成骨诱导培养时间延长, 细胞和基质明显增多。CCK8 检测结果显示, 培养 21 d 时 SF-HA 三维大孔支架上的细胞数量较培养 7 d 时增加 $(1.14 \pm 0.08, 1.98 \pm 0.11, t = 13.810, P = 0.000)$ 。③ADSCs 在 SF-HA 三维大孔支架上的成骨分化情况评估结果。Von Kossa 染色和 I 型胶原免疫组化染色可观察到钙沉积和 I 型胶原积累, 而且随时间延长不断增多。成骨诱导培养 1 d、7 d、21 d 时, SF-HA 三维大孔支架 ADSCs 复合体上 I 型胶原含量比较, 差异有统计学意义 $(0.90 \pm 0.24, 1.26 \pm 0.27, 3.89 \pm 0.82, F = 49.780, P = 0.000)$; 成骨诱导培养 21 d 时的 I 型胶原含量高于成骨诱导培养 1 d、7 d 时 $(P = 0.000; P = 0.000)$; 成骨诱导培养 1 d、7 d 时的 I 型胶原含量比较, 差异无统计学意义 $(P = 0.059)$ 。结论: SF-HA 三维大孔支架复合成骨诱导培养的 ADSCs 具有在体外构建组织工程骨的可能。

关键词 组织工程; 丝心蛋白; 羟基磷灰石类; 脂肪干细胞; 骨诱导

A feasibility study of three-dimensional silk fibroin - hydroxyapatite macroporous scaffold-adipose-derived stem cells complex in constructing tissue-engineered bone in vitro

DING Xiaoming¹, ZHANG Kaisan¹, LIU Tingting², ZHU Ming¹, WANG Xiangjie¹, PAN Yuexing¹, LIU Yutian¹, GUO Zhenguang¹, XU Kaimin¹, YANG Bin¹

1. Rizhao Hospital of TCM, Rizhao 276800, Shandong, China

2. People's Hospital of Rizhao, Rizhao 276827, Shandong, China

ABSTRACT Objective: To explore the feasibility of constructing tissue-engineered bone in vitro with the three-dimensional (3D) silk fibroin (SF) - hydroxyapatite (HA) macroporous scaffold-adipose-derived stem cells (ADSCs) complex. **Methods:** With SF and HA as raw materials, a 3D macroporous scaffold was prepared using the paraffin microsphere-leaching method, and its structure was reconstructed by micro-CT scanning, followed by the determination of its modulus of elasticity. The rabbit ADSCs were incubated onto this scaffold and cultured with the osteogenic induction fluid. The samples were then observed under the scanning electron microscope (SEM), followed by HE staining, cell proliferation assay (CCK8), Von Kossa staining as well as immunohistochemical staining of type I collagen for its content determination (Elisa) for assessing the biocompatibility of 3D SF-HA composite macroporous scaffold and the osteogenic differentiation of ADSCs on the scaffold. **Results:** ①The performance evaluation results of 3D SF-HA macroporous scaffold. The homogeneously arranged macroporous structure was present inside the scaffold with good connectivity. The aperture, porosity and modulus of elasticity of the scaffold were $365.30 \pm 27.10 \mu\text{m}$, $85.30 \pm 1.80\%$ and $54.93 \pm 5.44 \text{kPa}$ respectively. ②Biocompatibility evaluation results of 3D SF-HA

基金项目: 山东省医药卫生科技发展计划项目 (2016WS0330)

通讯作者: 杨彬 E-mail: rzgkyangbin@163.com

macroporous scaffold. As demonstrated by the SEM images, the cells displayed good adhesion and extension on the pore wall of the scaffold, and grew into the pores through the interconnected structure between the pores or covered the edges of the pores like a stretched mesh, with matrix secretion seen around the cells. The HE staining results of the 3D SF-HA macroporous scaffold-ADSCs complex showed that the deeply-stained cell nuclei and red-stained cytoplasm were uniformly adhered to the pore wall of the scaffold, and the number of cells and matrix increased significantly with the prolongation of osteogenic culture time. The CCK8 assay proved that the number of cells on 3D SF-HA macroporous scaffold increased on day 21 compared with that on day 7 (1.14 ± 0.08 vs 1.98 ± 0.11 , $t = 13.810$, $P = 0.000$). ③The osteogenic differentiation evaluation results of ADSCs on 3D SF-HA macroporous scaffold. The calcium deposition and type I collagen accumulation were observed after Von Kossa staining and immunohistochemical staining of type I collagen, which were further enhanced over time. The differences in content of type I collagen in 3D SF-HA macroporous scaffold-ADSCs complex were statistically significant on day 1, 7 and 21 osteogenic induction (0.90 ± 0.24 , 1.26 ± 0.27 , 3.89 ± 0.82 , $F = 49.780$, $P = 0.000$). The content of type I collagen was higher on day 21 compared with that on day 1 and 7 ($P = 0.000$; $P = 0.000$), and there was no statistical difference between day 1 and day 7 ($P = 0.059$). **Conclusion:** It is possible to construct tissue-engineered bone in vitro with 3D SF-HA macroporous scaffold-osteogenic-induced ADSCs complex.

Keywords tissue engineering; fibroins; hydroxyapatites; adipose derived stem cell; osteoinduction

因肿瘤切除、创伤和骨髓炎等导致的骨损伤、骨缺损,处理较为困难。目前常用的自体或异体骨移植、骨搬运等技术均有一定的疗效,但都存在一定的缺陷^[1-4]。骨组织工程技术的出现,给骨缺损修复带来了新的思路^[3,5]。骨组织工程技术的关键在于支架的构建^[6-8],支架的孔径、孔隙、连通性对于所构建的组织工程骨的生物力学特征具有重要影响。丝素蛋白(silk fibroin, SF)是一种由 18 种氨基酸组成的天然大分子蛋白,结构稳定、性能优良、可塑性强^[9]。羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)是骨基质的主要矿物质成分,因其本身的生物活性和骨诱导作用^[10],可与聚己内酯、胶原和 SF 等天然或合成材料相结合制备骨支架^[11-14]。本研究探讨了 SF-HA 三维大孔支架复合脂肪干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)体外构建组织工程骨的可行性,现总结报告如下。

1 材料与仪器

I 型胶原酶、CCK8、转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)、胰岛素样生长因子 1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1)、纳米级 HA (Sigma 公司), 石蜡(上海永华石蜡有限公司), 兔 ADSCs (湖南欣瑞生物科技有限公司), 成骨诱导液(成分包括 $10 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ TGF- $\beta 1$ 、 $100 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ IGF-1、 $50 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 抗坏血酸、 $40 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ L-脯氨酸、 $6.25 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 胰岛素、 $6.25 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 转铁蛋白、 $6.25 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 硒酸、 $100 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 丙酮酸钠、 $300 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ L-谷氨酰胺、10% FBS 和 1% 青霉素-链霉素混合溶液), 兔 I 型胶原 Elisa 试剂盒(上

海蓝基生物科技有限公司), 链霉亲和素-生物素复合物(strept avidin-biotin complex, SABC)免疫组化试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司), S-4800 扫描电子显微镜(Hitachi 公司), Sky Scan 1174 micro-CT (Bruker 公司)。

2 方法

2.1 SF-HA 三维大孔支架构建及性能评估

2.1.1 SF-HA 三维大孔支架构建 采用石蜡微球沥滤技术^[13]制备 SF-HA 三维大孔支架。将 40~60 目石蜡微球加入模具中, 表面给予合适的压力压平, 移入预热的烘箱中在 $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 加热 60 min 后室温冷却。将提纯后的 SF 配制成 10% 溶液。称取一定量的纳米级 HA 粉末, 按照质量比 1:10 添加蒸馏水制成 10% HA 匀浆。2 种液体按照 1:1 混合, 在超声振荡器中混匀后加到模具中, 真空抽吸后移入 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱 4 h, 在无水乙醇中浸泡 2 h 使 SF 结晶, 以正己烷提取石蜡微球后剩余的即为支架结构。

2.1.2 SF-HA 三维大孔支架性能评估 取部分支架样本使用 micro-CT 进行扫描重建, 使用 Image J 软件从扫描图片中选择 50 个以上孔隙, 观察支架结构并计算支架结构的平均孔径和支架孔隙率, 支架孔隙率 = $[1 - (\text{支架总体积} - \text{支架结构体积}) / \text{支架总体积}] \times 100\%$; 将支架样本放入 PBS 中浸泡 24 h, 置于 MTF-100 力学加载装置加力平台上, 以 $0.5 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ 进行压缩测试, 计算支架的弹性模量, 弹性模量 = (截面的载荷/截面面积)/(支架压缩前后高度差值/支架原始高度)。

2.2 SF-HA 三维大孔支架生物相容性评估 将兔 ADSCs 以成骨诱导液培养 7 d 后,按照 1×10^7 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的密度接种到 SF-HA 三维大孔支架上,孵育 2 h 后添加成骨诱导液,移入培养箱继续培养,定期更换培养液,进行以下测试:①培养 7 d 后,取样浸入 2.5% 戊二醛固定,经梯度乙醇脱水,切片喷金后使用扫描电子显微镜观察;②分别于培养 7 d、21 d 后取样,使用多聚甲醛固定,梯度乙醇脱水,透明渗透后,石蜡包埋机常规包埋切片,后经脱蜡处理,进行 HE 染色后镜下观察;③分别于培养 7 d、21 d 后取样,以 CCK8 测定细胞增殖情况。

2.3 ADSCs 在 SF-HA 三维大孔支架上的成骨分化情况评估

2.3.1 定性观察 分别于 SF-HA 三维大孔支架 ADSCs 复合体培养 7 d、21 d 后取样,使用多聚甲醛固定,梯度乙醇脱水,透明渗透后,石蜡包埋机常规包埋切片,经脱蜡处理,取切片分别进行 Von Kossa 染色和 I 型胶原免疫组化染色。

Von Kossa 染色步骤如下:①切片脱蜡、复水;② PBS 洗涤 1 遍;③ 5% 硝酸银水溶液浸泡后紫外光照射 10 min;④ 蒸馏水洗涤 5 min;⑤ 5% 次亚硫酸钠溶液中放置 2 min;⑥ 蒸馏水洗涤 5 min;⑦ 衬染 1 min,水洗后镜检。

I 型胶原免疫组化染色步骤如下:①切片脱蜡、复水,室温下滴加 3% H_2O_2 灭活内源性酶,蒸馏水冲洗 3 次,每次 2 min;②加入 5% BSA,在 20~37℃ 封闭 30 min;③滴加鼠抗兔 I、II 型胶原抗体,冰箱 4℃ 过夜,PBS 缓冲液漂洗、晾干;④滴加生物素化羊抗兔 IgG,37℃ 孵育 2 h,PBS 缓冲液漂洗、晾干;⑤滴加 SABC,37℃ 孵育 30 min,PBS 缓冲液漂洗、晾干;⑥ DAB 室温显色 5~15 min(镜下观察颜色变化确定显色时间),蒸馏水洗涤;⑦ 再经苏木素轻度复染 3 min,蒸馏水洗涤,水洗后镜检。

2.3.2 定量评价 分别于 SF-HA 三维大孔支架 ADSCs 复合体培养 1 d、7 d、21 d 后取样,以 Elisa 测定其中 I 型胶原含量。具体操作步骤如下:每个时间取 5 个样本,浸入 PBS 小心清洗、剪碎,再经粉碎处理后,反复冻融得到匀浆,离心后提取上清液;取 100 μL 上清液,按照 Elisa 试剂盒说明书操作,使用酶标仪测定波长 450 nm 处的 OD 值,根据标准品曲线范围 (0~100 ng $\cdot \text{mL}^{-1}$) 推算出对应每组样品浓度。

2.4 数据统计 采用 SPSS20.0 统计软件进行数据统计分析。SF-HA 三维大孔支架 ADSCs 复合体培养 7 d、21 d 时的细胞数量比较采用 t 检验;SF-HA 三维大孔支架 ADSCs 复合体培养 1 d、7 d、21 d 时的 I 型胶原含量比较采用方差分析,不同时间点之间的两两比较采用 LSD-t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 SF-HA 三维大孔支架性能评估结果 支架内部可见均匀排列的大孔结构,连通性好(图 1)。支架孔径 (365.30 ± 27.10) μm ,孔隙率 (85.30 ± 1.80)%,弹性模量为 (54.93 ± 5.44) kPa。

3.2 SF-HA 三维大孔支架生物相容性评估结果 扫描电子显微镜图像显示细胞能够很好地在支架孔壁上黏附和伸展,细胞通过孔隙之间的连通结构长入孔隙内或在孔隙边缘呈拉网样覆盖,细胞周围可见基质分泌(图 2)。HE 染色结果显示,细胞核深染、胞浆红染,均匀黏附在支架孔隙内壁上,随成骨诱导培养时间延长,细胞和基质明显增多(图 3)。CCK8 检测结果显示,培养 21 d 时 SF-HA 三维大孔支架上的细胞数量较培养 7 d 时增加 ($1.14 \pm 0.08, 1.98 \pm 0.11, t=13.810, P=0.000$)。

3.3 ADSCs 在 SF-HA 三维大孔支架上的成骨分化情况评估结果 Von Kossa 染色和 I 型胶原免疫组化染色可观察到钙沉积和 I 型胶原积累,而且随时间延长不断增多(图 4、图 5)。成骨诱导培养 1 d、7 d、21 d 时,SF-HA 三维大孔支架 ADSCs 复合体上 I 型胶原含量比较,差异有统计学意义 ($0.90 \pm 0.24, 1.26 \pm 0.27, 3.89 \pm 0.82, F=49.780, P=0.000$);成骨诱导培养 21 d 时的 I 型胶原含量高于成骨诱导培养 1 d、7 d 时 ($P=0.000; P=0.000$);成骨诱导培养 1 d、7 d 时的 I 型胶原含量比较,差异无统计学意义 ($P=0.059$)。

4 讨论

骨组织工程技术经过多年的发展,已取得了很大的进步^[2-3,6]。在众多骨支架材料中,SF 的细胞附着率和增殖率较好,并且具有合适的力学性能、较低的免疫原性以及可控的降解速率等特征,是制备骨支架的理想材料^[8,12]。HA 也具有较好的生物活性和骨诱导作用,可以与天然或合成材料共同制备理想的骨支架^[13-17]。

骨支架制备技术较多,如冷冻干燥、盐沥滤、石蜡

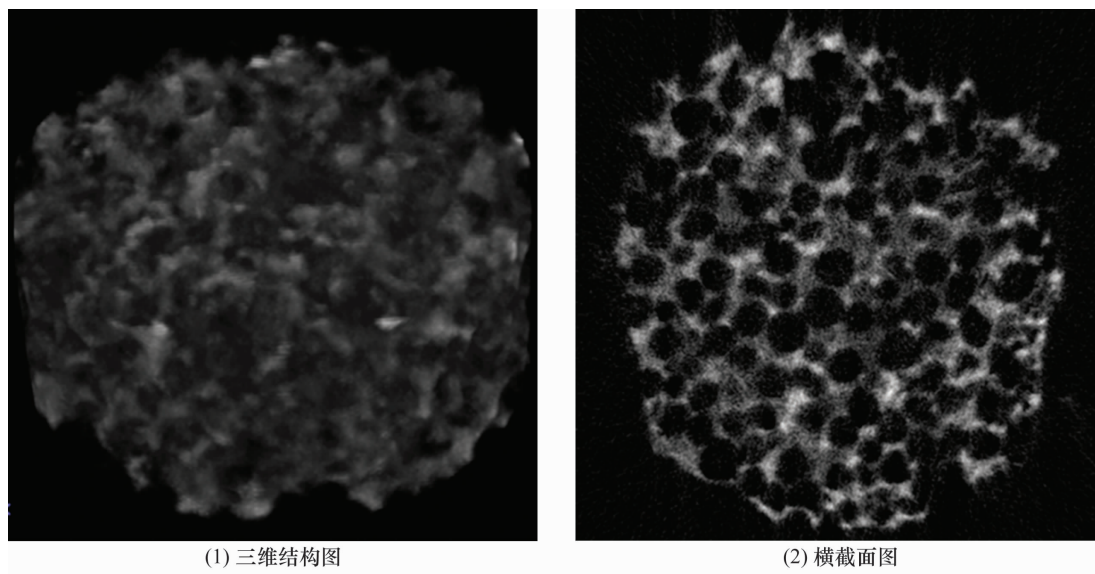


图 1 丝素蛋白-羟基磷灰石三维大孔支架 Micro-CT 三维重建图像

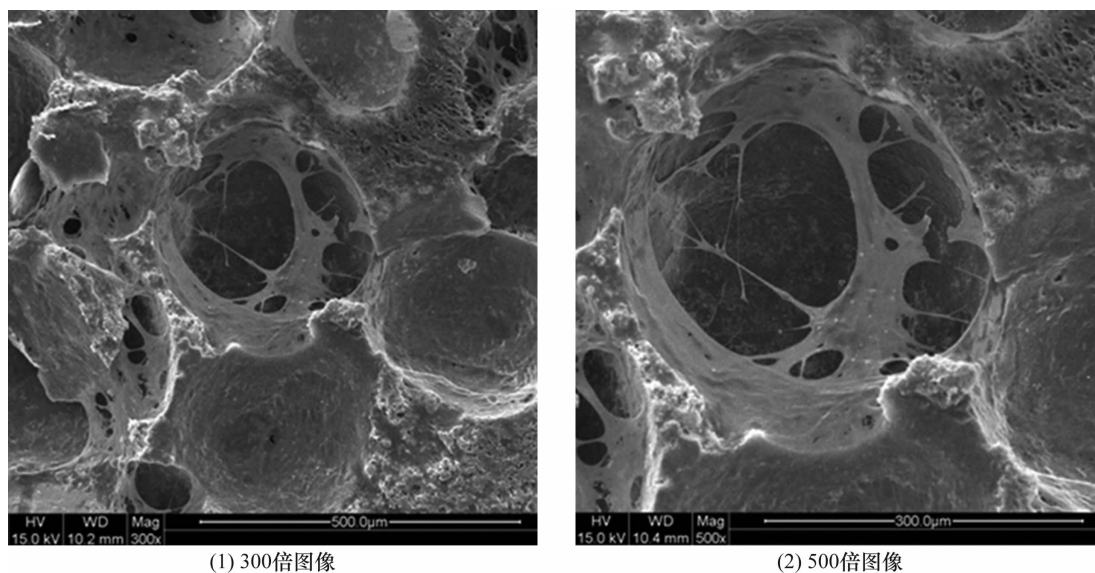


图 2 丝素蛋白-羟基磷灰石三维大孔支架脂肪干细胞复合体成骨诱导培养 7 d 后扫描电镜图像

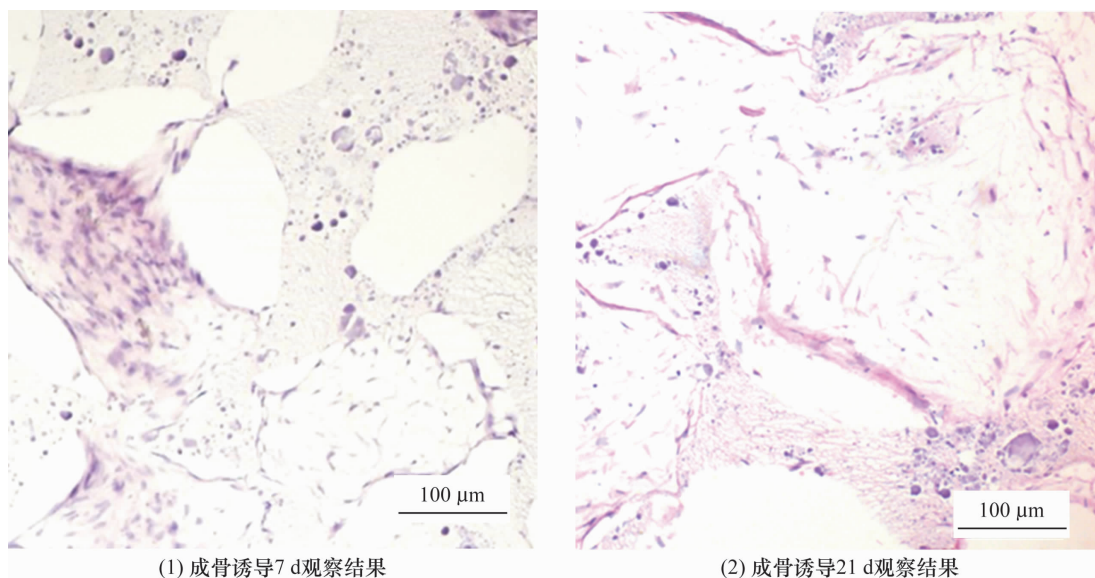


图 3 丝素蛋白-羟基磷灰石三维大孔支架脂肪干细胞复合体 HE 染色结果 (×200)

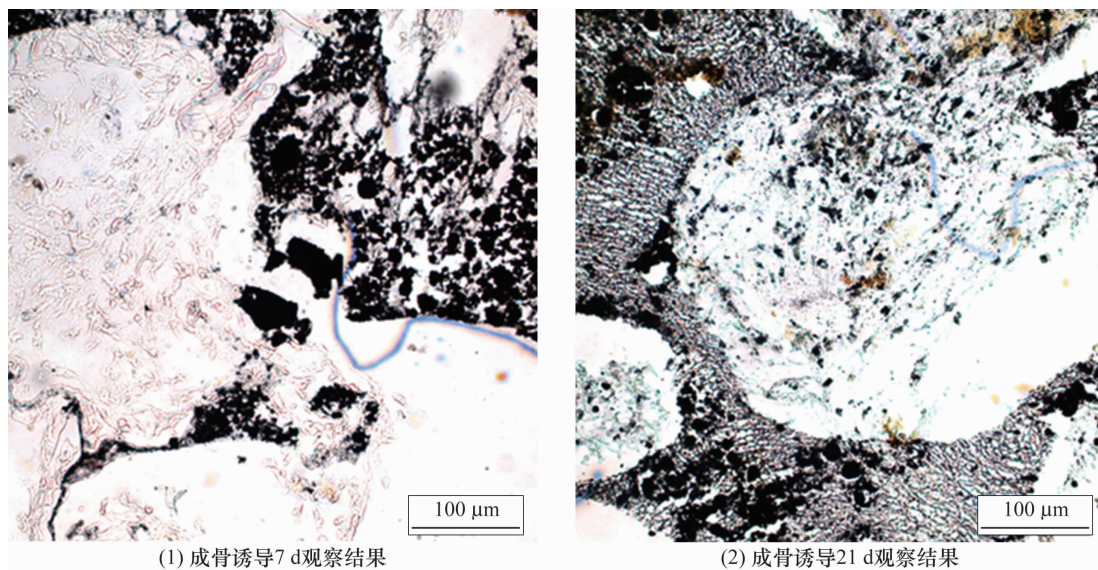


图4 丝素蛋白-羟基磷灰石三维大孔支架脂肪干细胞复合体 Von Kossa 染色结果 (×200)

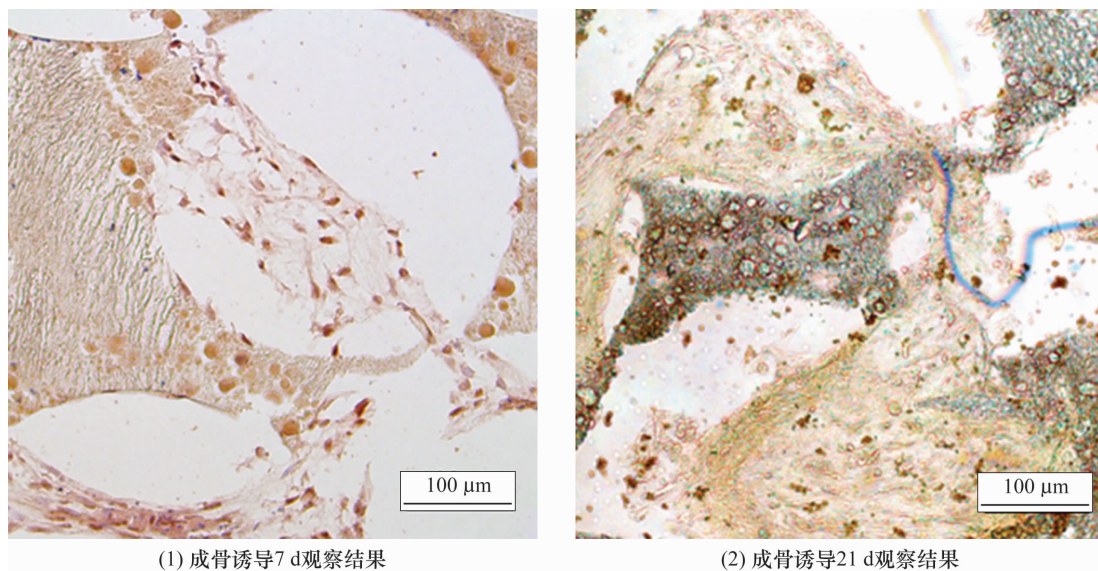


图5 丝素蛋白-羟基磷灰石三维大孔支架脂肪干细胞复合体 I 型胶原免疫组化染色结果 (×200)

微球沥滤等^[8,13,18-20]。石蜡微球沥滤技术可操作性强,通过控制石蜡微球体积及加热温度、时间,可制作出具有理想孔隙和连通性的骨支架。但目前采用该方法加工 SF 支架的研究较少。基于以往的研究,我们模仿天然骨的结构,通过石蜡微球沥滤技术成功制备 SF-HA 多孔结构作为骨支架,并确定了 10% SF 和 10% HA 等比例混合的最佳比例,最终制备的骨支架具有良好的三维大孔结构,孔隙均匀、连通性好、力学性能优良,符合成骨细胞生长对于孔径、孔隙率的基本要求^[13]。

支架材料本身的骨诱导作用并不能完全满足细胞在支架上的成骨诱导分化,这就需要生长因子的调节功能。使用特定的生长因子能够引导和加速细胞在特定方向上的生长、分化^[21-23]。生长因子的添加

需要经过多重检测,充分评估其对细胞生长和诱导分化的利弊,选择相对合适的浓度。根据以往关于 ADSCs 向骨细胞诱导分化的相关研究^[24-26],我们最终选择本研究所述的成骨诱导液成分进行 ADSCs 成骨诱导。

从观察结果可以看出,ADSCs 在骨支架上经过诱导培养后,通过连通结构长入孔隙内或在孔隙边缘呈拉网样覆盖,细胞周围可见基质分泌,支架上的细胞随培养时间延长不断增多,表明细胞在支架结构内黏附、增殖良好;Von Kossa 染色及 I 型胶原免疫组化染色、Elisa 检测结果显示,支架上的骨基质(钙和 I 型胶原)随诱导培养时间延长不断增加。

本研究的结果显示,SF-HA 三维大孔支架复合成骨诱导培养的 ADSCs 具有在体外构建组织工程骨

的可能。接种在 SF-HA 三维大孔支架上的 ADSCs 最终能否分化为成骨细胞及 SF-HA 三维大孔支架复合 ADSCs 能否再生骨组织,还有待于进一步的研究来证实。

参考文献

- [1] EIVAZZADEH - KEIHAN R, CHENAB K K, TAHERI - LEDARI R, et al. Recent advances in the application of mesoporous silica - based nanomaterials for bone tissue engineering[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2020, 107:110267.
- [2] 廖欣宇,王福科,王国梁. 骨组织工程支架的进展与挑战[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(28):4553-4560.
- [3] 李晓壮,段浩,王伟舟,等. 骨组织工程材料治疗骨缺损疾病在体内实验中的应用[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(4):626-631.
- [4] KOONS G L, DIBA M, MIKOS A G. Materials design for bone - tissue engineering[J]. Nat Rev Mater, 2020, 5(8):584-603.
- [5] JU J, PENG X, HUANG K, et al. High - performance porous PLLA - based scaffolds for bone tissue engineering: preparation, characterization, and in vitro and in vivo evaluation[J]. Polymer, 2019, 180:1217.
- [6] 周思佳,姜文学,尤佳. 骨缺损修复材料:现状与需求和未来[J]. 中国组织工程研究, 2018, 22(14):2251-2258.
- [7] QU H, FU H, HAN Z, et al. Biomaterials for bone tissue engineering scaffolds: a review[J]. RSC Adv, 2019, 9(45):26252-26262.
- [8] 徐海伦,满振涛,李伟. 丝素蛋白生物支架在骨组织工程中的应用[J]. 中国矫形外科杂志, 2020, 28(23):2165-2169.
- [9] 柴乐,全仁夫,黄小龙. 羟基磷灰石构建组织工程骨支架的研究进展[J]. 中医正骨, 2018, 30(1):44-46.
- [10] 张振华,刘姿辰,禹宝庆. 聚己内酯及其复合材料在组织工程骨构建中的地位与问题[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(22):3571-3577.
- [11] ZHOU J, XU C, WU G, et al. In vitro Generation of osteochondral differentiation of human marrow mesenchymal stem cells in novel collagen - hydroxyapatite layered scaffolds[J]. Acta Biomater, 2011, 7(11):3999-4006.
- [12] 于潇,马勇,郭杨,等. 丝素支架应用于骨组织工程的研究进展[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2021, 29(5):84-88.
- [13] DING X, ZHU M, XU B, et al. Integrated trilayered silk fibroin scaffold for osteochondral differentiation of adipose - derived stem cells[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2014, 6(19):16696-16705.
- [14] DANILCHENKO S N, KALINKEVICH O V, POGORELOV M V, et al. Chitosan - hydroxyapatite composite biomaterials made by a one step co - precipitation method: preparation, characterization and in vivo [J]. Biol Phys Chem, 2009, 9:119-126.
- [15] 毛文文,茹江英. 羟基磷灰石类陶瓷在骨组织工程中的研究与更广泛应用[J]. 中国组织工程研究, 2018, 22(30):4855-4863.
- [16] 刘欢欢. 基于胶原自组装/矿化协同策略制备掺杂生物活性元素的骨组织工程胶原支架[D]. 天津:天津医科大学, 2020.
- [17] 魏莉,马保金,邵金龙,等. 羟基磷灰石复合材料在骨组织工程中应用的研究进展[J]. 四川大学学报(医学版), 2021, 52(3):357-363.
- [18] 杨高洁,陈俊孚,吴苏州,等. 仿生骨组织工程材料的微纳制造与性能研究[J]. 中国材料进展, 2020, 39(9):691-700.
- [19] RIBAS R G, SCHATKOSKI V M, MONTANHEIRO T, et al. Current advances in bone tissue engineering concerning ceramic and bioglass scaffolds: a review[J]. Ceram Int, 2019, 45(17):21051-21061.
- [20] UDOMLUCK N, KOH W G, LIM D J, et al. Recent developments in nanofiber fabrication and modification for bone tissue engineering[J]. Int J Mol Sci, 2019, 21(1):99.
- [21] STORTI G, SCIOLI M G, KIM B S, et al. Adipose - Derived stem cells in bone tissue engineering: useful tools with new applications[J/OL]. Stem Cells Int, 2019 [2021-06-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6875209>.
- [22] 慈政,张起新,王雅慧,等. 成骨微环境仿生支架用于骨组织工程的可行性分析[J]. 组织工程与重建外科杂志, 2020, 16(6):437-441.
- [23] 赵刚,刘微微,高伟玮,等. 不同组织来源间充质干细胞体外成骨分化能力的比较研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(5):561-566.
- [24] 王晓锋,吴岩. 骨组织工程中干细胞的研究与应用[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(19):3558-3565.
- [25] 李晓宇,姚金凤,刘政华,等. 成骨诱导脂肪基质细胞在骨组织工程体内成骨中的作用[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(27):4985-4990.
- [26] 张圣敏,刘超. 生物支架材料诱导脂肪来源干细胞成骨分化的最新热点[J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(7):1107-1116.

(收稿日期:2021-06-21 本文编辑:李晓乐)