

## 论著

文章编号:1000-5404(2014)18-1904-05

### 同种异体骨异位再血管化的实验研究

周明武<sup>1,3</sup>, 罗彦平<sup>2</sup>, 杨瑞甫<sup>3</sup>, 宋力<sup>3</sup>, 李扬<sup>2</sup>, 张迅<sup>2</sup>, 徐立博<sup>2</sup>, 王义生<sup>1</sup> (450052 郑州, 郑州大学第一附属医院骨科<sup>1</sup>; 453003 河南 新乡, 新乡医学院研究生处<sup>2</sup>; 450042 郑州, 解放军第153中心医院全军创伤骨科中心<sup>3</sup>)

**[摘要]** **目的** 比较不同时间段兔同种异体大段胫骨与自体大段胫骨异位再血管化程度的差异性。**方法** 健康成年(6月龄)中国白兔70只, 体质量(2.5±0.5)kg, 按随机数字表法分为实验组(同种异体骨组)30只、对照组(自体骨组)30只, 余10只用作制备同种异体骨供体。实验组将制备好的1.5 cm长兔异体胫骨段置于兔大腿隐动脉处的股直肌与股内侧肌的间隙内, 1.0克氏针固定于股骨上。对照组取与实验组相同部位等长自体胫骨同法置于兔大腿相应部位。分别于术后4、8、12周通过大体标本观察、免疫组化法检测移植骨组织血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和CD34蛋白在血管内皮细胞中的表达。**结果** VEGF主要存在于新生血管周围、成骨细胞、软骨细胞以及未分化的间充质细胞, CD34主要分布在以哈弗管为中心的血管内皮细胞。术后4、12周, 实验组VEGF的表达与对照组比较, 差异无统计学意义[术后4周(4.50±2.01) vs (5.50±1.35), 术后12周(4.10±1.52) vs (3.60±1.58),  $P>0.05$ ]; 术后8周, 实验组VEGF的表达与对照组比较, 差异有统计学意义[(6.60±1.07) vs (8.60±2.17),  $P<0.05$ ], 且两组VEGF的表达量4周少于8周( $P<0.05$ ), 8周多于12周( $P<0.05$ )。术后4周, 实验组CD34阳性血管数与对照组比较, 差异有统计学意义[(5.30±1.83)个/视野 vs (7.30±1.34)个/视野,  $P<0.05$ ]; 术后8、12周, 实验组CD34阳性血管数与对照组比较, 差异无统计学意义[术后8周(13.30±1.95)个/视野 vs (13.80±2.62)个/视野, 术后12周(10.90±2.28)个/视野 vs (11.80±1.22)个/视野,  $P>0.05$ ]; 两组CD34阳性血管数4周少于8周( $P<0.05$ ), 8周多于12周( $P<0.05$ )。**结论** 兔同种异体大段胫骨段置于含有知名血管血供丰富的肌肉间隙内2个月能够完成再血管化, 与自体骨无明显差异, 证实了同种异体大段胫骨段异位再血管化的可行性。

**[关键词]** 同种异体骨; 皮质骨; 血管化; VEGF; CD34

**[中图分类号]** R-332; R617; R683

**[文献标志码]** A

### Ectopic revascularization of allograft segment in rabbits

Zhou Mingwu<sup>1,3</sup>, Luo Yanping<sup>2</sup>, Yang Ruifu<sup>3</sup>, Song Li<sup>3</sup>, Li Yang<sup>2</sup>, Zhang Xun<sup>2</sup>, Xu Libo<sup>2</sup>, Wang Yisheng<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Department of Orthopedics, First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan Province, 450052; <sup>2</sup>Department of Postgraduate, Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan Province, 453003; <sup>3</sup>Orthopedic Trauma Center of PLA, No. 153 Central Hospital of PLA, Zhengzhou, Henan Province, 450042, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the difference in ectopic revascularization between autogenous bone graft and allograft from large segment tibia of rabbits at different time points. **Methods** With random grouping method, 60 healthy adult Chinese rabbits (6 months of age, 2.5±0.5 kg) were divided into experimental group (allograft group) and control group (autograft group), 30 rabbits in each group. Another 10 rabbits were allograft bone donor. In the experimental group, 1.5 cm long rabbit tibial allograft was implanted into spatium intermusculare between the musculus rectus femoris and medial vastus muscle of the rabbit around the saphenous artery and was fastened to the femur by 1.0 Kirschner-wire. In the control group, autologous tibias were used. At 4, 8 and 12 weeks after operation, the postmortem specimens were examined and immunohistochemistry was used to test the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and CD34 of transplanted bone tissue. **Results** VEGF mainly existed in osteoblasts, chondrocytes, and undifferentiated mesenchymal cells as well as around new vessels. CD34 primarily existed in the endothelial cells with Haversian canal as distribution center. Compared with the control group, the expression level of the VEGF in the experimental group at 4 and 12 weeks after operation was not statistically different (4.50±2.01 vs 5.50±1.35,  $P>0.05$ ; 4.10±1.52 vs 3.60±1.58,  $P>0.05$ , respectively), but that at 8 weeks after operation was statistically different (6.60±1.07

**[基金项目]** 河南省科技攻关重点项目(102102310002)

**[通信作者]** 王义生, E-mail: zmw153@126.com

**[优先出版]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140901.1040.005.html> (2014-09-01)

vs  $8.60 \pm 2.17$ ,  $P < 0.05$ ). The expression level of the VEGF in the experimental group at 8 weeks after operation was higher than that at 4 weeks and 12 weeks after operation ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, the amount of CD34-positive microvessel in the experimental group at 4 weeks after operation was statistically different ( $5.30 \pm 1.83$  per vision field vs  $7.30 \pm 1.34$  per vision field,  $P < 0.05$ , but that at 8 and 12 weeks after operation was not ( $13.30 \pm 1.95$  per vision field vs  $13.80 \pm 2.62$  per vision field,  $P > 0.05$ ;  $10.90 \pm 2.28$  per vision field vs  $11.80 \pm 1.22$  per vision field,  $P > 0.05$ , respectively). The amount of CD34-positive microvessel in the experimental group at 8 weeks after operation was higher than that at 4 weeks and 12 weeks after operation ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Allograft bone segment completes revascularization within 2 months after implantation into spatium intermusculare containing famous blood supply, showing no significant difference with autologous bone. It shows the feasibility of ectopic revascularization about allograft segment.

[**Key words**] allograft; cortical bone; vascularization; vascular endothelial growth factor; CD34

Supported by the Key Project of Science and Technology Research of Henan Province (102102310002). Corresponding author: Wang Yisheng, E-mail: zmw153@126.com

高能量损伤所致的小腿开放性粉碎性骨折常合并皮肤软组织严重挫裂或缺损,创面污染重,术后出现骨感染、骨外露、皮肤软组织缺损在临床上较为常见,采用皮瓣、骨皮瓣移植修复是目前一种较理想的方法<sup>[1]</sup>。但是对于感染较严重的患者,仍有相当一部分演变为慢性骨感染,继而发生骨坏死、骨吸收;有些则需采取去除大段死骨、感染骨段及其周围感染病灶等多种治疗措施,经过漫长的抗感染治疗过程,才能达到控制感染的目的。目前,大段骨缺损治疗的相关研究涉及自体骨移植、异体骨移植、骨搬移技术、人工骨移植、组织工程骨、转基因工程等,这些方法均有各自的适应证和优缺点<sup>[2]</sup>。针对感染性大段胫骨缺损,因自体骨量有限、局部血管损伤或炎症反应而废用等因素,无法行带血管自体骨游离移植修复;或靠近关节部位的骨缺损,不能采用骨搬移(牵引成骨)技术修复;而组织工程及转基因工程还处于实验阶段。就目前现有的修复材料相比较而言,同种异体骨来源广泛,不受大小形状的限制,有一定的生物活性,可以满足全身各部位的修复<sup>[3]</sup>,是一种比较理想的选择。而带血管的同种异体骨<sup>[4]</sup>虽有益于临床的报道,但因免疫反应强烈,需要用免疫抑制剂,并发症多,临床应用受限。不带血管同种异体骨移植临床上多用于局部软组织血运较好的骨肿瘤切除后骨缺损的治疗<sup>[5]</sup>。因此,有必要深入探讨同种异体骨移植在感染性骨缺损的修复方法。

针对这一难题,我们设想在控制小腿创面感染的同时,采用同种异体骨段包埋于肌肉丰富的知名血管处使其再血管化,待感染控制后,二期行带血管同种异体骨回植修复骨缺损。为探索其可行性,我们以中国白兔为研究对象,采用经过去抗原和灭菌处理的兔同种异体胫骨段置于兔大腿部肌肉丰富的隐动脉处,探索其再血管化时间,旨在为大段骨缺损的修复提供一

种思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康清洁级中国白兔(6月龄)70只,雌雄不限,体质量( $2.5 \pm 0.5$ )kg,由郑州大学实验动物中心提供,合格证编号:0007851。按随机数字表法分为实验组(同种异体骨组)30只、对照组(自体骨组)30只,余10只用于制备同种异体骨供体。

1.1.2 主要仪器、试剂 兔多克隆抗体(美国 Santa Cruz), S-P 9000 免疫组化试剂盒(北京中杉生物工程公司), DAB 试剂盒(北京中杉生物工程公司), 钴-60 辐射源(河南同位素研究所), 图像采集(德国 Lecia 显微照像系统), 石蜡切片机(德国 Lecia), 医学图像分析系统(上海山富科学仪器有限公司, Biosens Digital Imaging System v1.6), 微波炉(格兰仕), 温箱(电热恒温水浴箱 DHG-9031, 上海秣马恒温设备厂), 电子天平(BS224S, 德国, 220 g/0.1 mg), 照相显微镜(Olympus BX63), 冰箱(海尔), 苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(郑州博兴生物科技有限公司)。

### 1.2 同种异体骨的制备<sup>[6]</sup>

选取10只中国白兔,耳缘静脉空气栓塞处死后,在无菌条件下取兔胫骨,分离骨组织,修剪成1.5 cm骨段。剥除周围软组织及骨膜,用通条将髓腔内的骨髓组织清除干净,并用生理盐水反复冲洗干净。将截好的胫骨骨段浸入10%庆大霉素中浸泡30 min,用无菌双层血浆袋密封包装。采用辐照灭菌消毒并去除抗原,放入冰箱4℃冷藏12 h、-30℃冷冻12 h,逐渐降温保存于-80℃深低温冰箱保存3周后备用,以进一步去除抗原。

### 1.3 手术方法

实验组:选取健康中国白兔,术前肌注庆大霉素注射液2 mL,用10%水合氯醛腹腔麻醉,麻醉剂量2~3 mL/kg,追加剂量0.5 mL/kg,麻醉成功后仰卧位固定,8%硫化钠溶液脱毛后清洗,碘伏常规消毒、铺巾。沿大腿中段内侧隐动脉走行切口,长约3 cm,切开皮肤及皮下组织,分离股直肌及股内侧肌肌间隙达隐动静脉束处,将制备好的同种异体骨段在37℃生理

盐水中快速复温后,置于股内侧肌与股直肌间隙内隐动静脉处,用1.0克氏针将同种异体骨段与股骨固定(图1),缝合股内侧肌与股直肌包裹骨段,缝合皮肤,术毕。

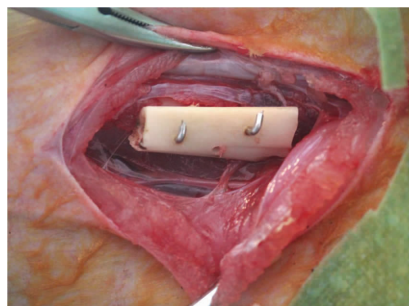


图1 同种异体骨固定于隐动脉周围的股骨上

对照组:选取健康中国白兔,术前处理、麻醉、固定、消毒、铺巾同实验组,切开小腿中上段皮肤及皮下组织,截取1.5 cm长胫骨骨段,生理盐水冲洗干净,胫骨残端用2.5克氏针缩短固定,缝合皮肤。将截取的1.5 cm长胫骨骨段置于股内侧肌与股直肌间隙内隐动静脉处,手术步骤同实验组。

动物术后苏醒后单独分笼饲养,饲料由郑州大学实验动物中心提供,肌注庆大霉素注射液2 mL,2次/d,肌肉注射,共1周,注意饮食及二便情况,伤口按时换药。对于术中及术后死亡的动物及时补充。

#### 1.4 观察指标

1.4.1 大体标本 术后4、8、12周,动物麻醉后,按原切口进入,观察骨段与周围软组织生长情况,取出骨段,剥离骨段周围软组织,观察骨段表面情况。

1.4.2 免疫组织化学染色检测 术后4、8、12周,大体标本观察后,立即置于10%甲醛溶液中固定24 h,脱水、脱钙、石蜡包埋,切片,HE染色,制成常规HE切片后,再采用S-P法检测移植骨组织内血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和CD34的表达。VEGF采用医学图像分析系统进行相对灰度值检测和分析,CD34采用人工计数的方法进行微血管标记<sup>[7]</sup>。

#### 1.5 统计学方法

采用SPSS 17.0统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,观察指标在不同时间点的变化行重复测量资料的方差分析,组内不同时间点之间的进一步比较行Bonferroni法检验,组间不同时间点之间的进一步比较行配对t检验。

## 2 结果

### 2.1 大体标本观察

4周时,两组移植骨段表面及两端髓腔均有少量纤维组织

膜,与骨段稀松粘附,骨表面光滑平整,有光泽。8周时,两组移植骨段表面纤维组织膜增厚,与骨段粘附紧密,骨表面凹凸不平,形如锥状,有光泽。12周时,两组移植骨段表面纤维组织膜进一步增厚,与骨段粘附紧密,骨表面凹凸不平较8周重,形如锥状,有光泽(图2)。

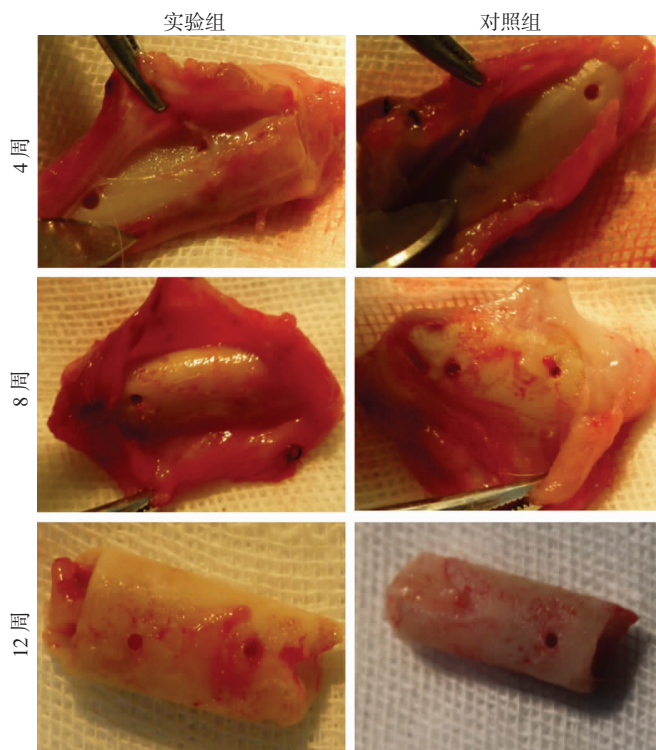


图2 实验组与对照组术后不同时间点大体标本观察

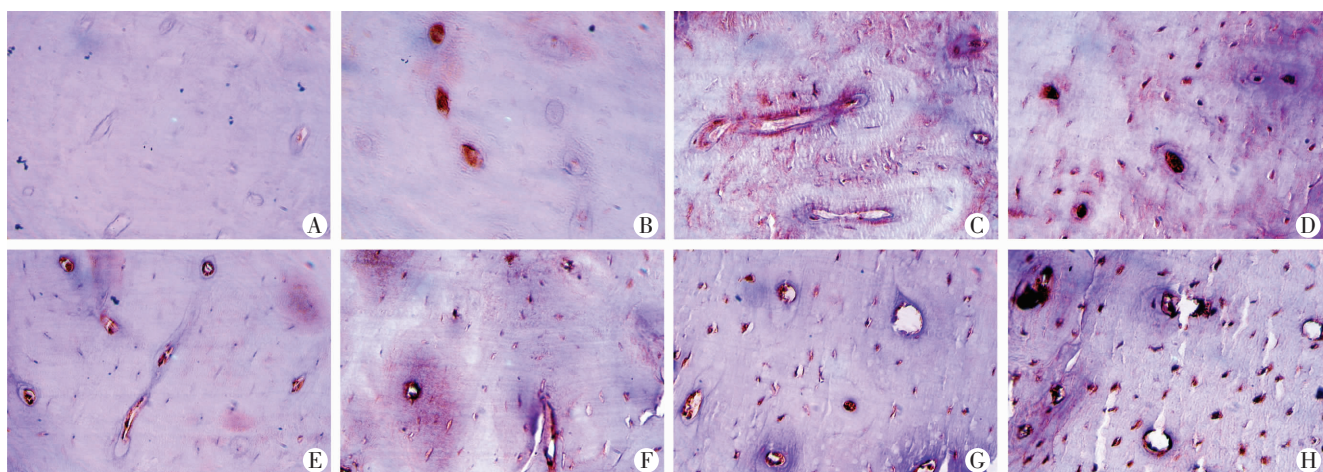
### 2.2 免疫组织化学检测

VEGF主要分布在新生血管周围、成骨细胞、软骨细胞以及未分化的间充质细胞,CD34主要分布在以哈弗管为中心的血管内皮细胞。术后4周,哈弗管轻度变大,VEGF和CD34染色较浅,实验组VEGF的表达与对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );实验组CD34阳性血管数少于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),对照组与自体新鲜骨比较明显下降( $P < 0.05$ )。术后8周,哈弗管进一步变大,VEGF和CD34染色呈棕褐色,对照组VEGF的表达多于实验组( $P < 0.05$ ),且与4周比较差异也有统计学意义( $P < 0.05$ );实验组CD34阳性血管数与对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),与4周比较明显增多( $P < 0.05$ )。术后12周,哈弗管较8周时差异不明显,实验组VEGF的表达和对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),与8周比较明显减少( $P < 0.05$ );实验组CD34阳性血管数与对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),但较8周血管数减少( $P < 0.05$ )。结果见表1及图3、4。

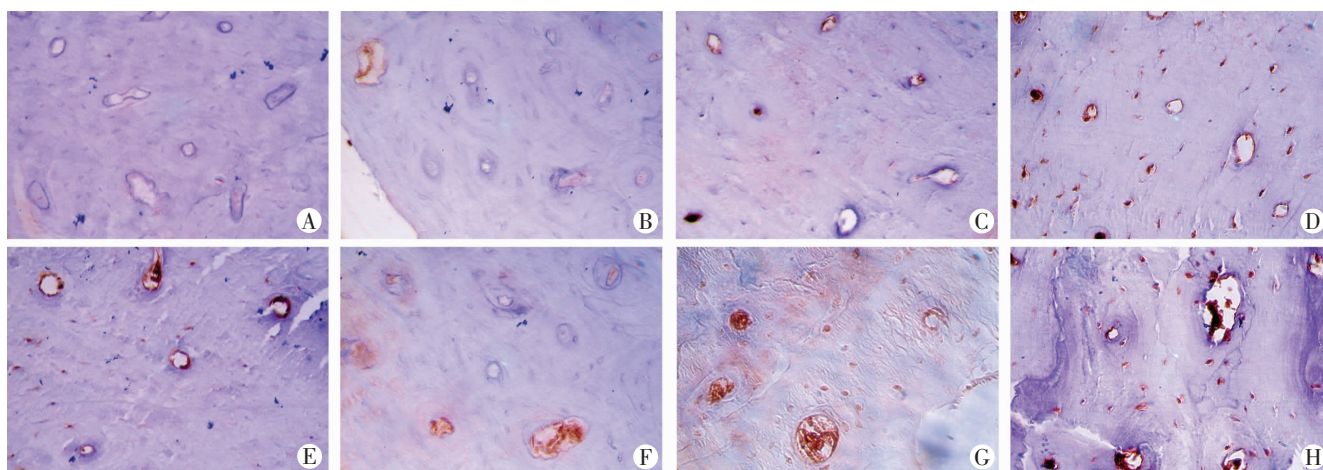
表1 实验组和对照组CD34阳性血管计数及VEGF蛋白表达量( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

组别	CD34(个/视野)				VEGF			
	0周	4周	8周	12周	0周	4周	8周	12周
实验组	0	5.30 ± 1.83 <sup>abc</sup>	13.30 ± 1.95	10.90 ± 2.28 <sup>c</sup>	0	4.50 ± 2.01 <sup>bc</sup>	6.60 ± 1.07 <sup>a</sup>	4.10 ± 1.52 <sup>c</sup>
对照组	9.80 ± 2.30	7.30 ± 1.34 <sup>bc</sup>	13.80 ± 2.62	11.80 ± 1.22 <sup>c</sup>	2.90 ± 1.91	5.50 ± 1.35 <sup>bc</sup>	8.60 ± 2.17	3.60 ± 1.58 <sup>c</sup>

a:  $P < 0.05$ ,与对照组比较;b:  $P < 0.05$ ,与0周比较;c:  $P < 0.05$ ,与8周比较



A~D: 实验组0、4、8、12周; E~H: 对照组0、4、8、12周  
图3 免疫组化染色观察对照组和实验组 VEGF 的表达 (S-P ×200)



A~D: 实验组0、4、8、12周; E~H: 对照组0、4、8、12周  
图4 免疫组化染色观察对照组和实验组 CD34 的表达 (S-P ×200)

### 3 讨论

同种异体骨经过去抗原和灭菌处理后,自身细胞已经死亡,不具备成骨能力,其骨愈合主要靠骨传导和骨诱导作用<sup>[8]</sup>。同种异体骨植入体内,血管化、骨再生、骨端融合是同种异体骨成活密不可分的三个环节,其中血管化是前提<sup>[9]</sup>。血管化对移植骨的活化有重要作用,也是影响骨组织再生成功与否的决定因素之一<sup>[10]</sup>。Amini 等<sup>[11]</sup>认为移植骨能否实现骨愈合,取决于移植骨在体内的血管化进程。同种异体骨在体内血管化过程中,不断产生新生骨细胞等骨组织成分,从而达到移植骨的活化目的。

如何提高骨缺损部位同种异体骨血管化进程的临床研究较多。Nagi<sup>[12]</sup>用血管束植入促进植骨愈合。王剑利等<sup>[9]</sup>运用局部血管束、带血管的骨块或骨膜与同种异体骨组合,可改善大段骨的骨吸收、骨不连问题。杨小彬等<sup>[13]</sup>用同种异体骨复合带血管的自体骨

移植,能够促进异体骨的爬行替代过程。王耀一等<sup>[14]</sup>利用显微外科技术在骨移植的同时就近选择带血管蒂的筋膜瓣包括异体骨,促进移植骨血管化。而本研究对象是感染性骨缺损修复,骨缺损部位存在感染灶,不宜采用同种异体骨直接修复。因此,在控制局部感染的同时,将同种异体骨置于含知名血管的血运丰富的肌肉间隙内使其再血管化,待感染完全控制后,为二期行带血管同种异体骨移植创造条件。

同种异体骨的血管化是一个多种生长因子参与协调的血管再生过程,而 VEGF 尤为重要,具有促进血管内皮细胞增生、增加血管通透性、促进成骨细胞和破骨细胞的分化等作用<sup>[15]</sup>。CD34 是特异性的血管内皮细胞标记物,具有能突出显示较小的、不成熟的微血管和单个内皮细胞,敏感性、重复性及稳定性都较好,能反映新生血管的增生情况<sup>[16]</sup>。虽然在新生血管活跃的疾病(肿瘤)以及骨髓中都表达 CD34,但是我们在制备同种异体骨以及对照组自体骨植入肌肉内时,都已

做去除骨髓处理。骨组织中的 CD34 阳性的血管内皮细胞,都是新生的血管内皮细胞。

本实验采用经过去抗原和灭菌处理的同种异体骨埋于兔大腿隐动脉肌间隙内,分别于 4、8、12 周检测 VEGF 和 CD34 蛋白的表达,分析判断移植骨段骨组织内的血管化情况。在异体骨血管化与再生重建的过程中,Fedorovich 等<sup>[17]</sup>认为周围软组织中的间质细胞转化为破骨细胞,对移植骨破坏吸收,与此同时,新生血管以出芽方式侵入移植骨,骨重建是软组织血管向异体骨侵入进行骨吸收和修复的过程。本研究发现,术后 4 周,虽然两组移植骨段表面及两端髓腔均有少量纤维组织膜,但与骨段粘附疏松,骨表面光滑平整,说明软组织虽然侵入,但还没有破骨细胞对骨段进行吸收,没形成骨陷窝;实验组和对照组 VEGF 的表达比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );实验组 CD34 阳性血管数少于对照组( $P < 0.05$ ),非血管化自体骨移植由于脱离血液供应,大部分细胞死亡,包括血管内皮细胞,对照组与正常骨质比较明显下降( $P < 0.05$ )。周宗科等<sup>[18]</sup>认为深冻+辐照处理的同种异体骨移植宿主后,免疫反应很弱,宿主全身无明显排斥反应。夏武宪等<sup>[19]</sup>通过临床观察,认为深低温冷冻破坏了细胞表面的抗原结构,使移植后的排斥反应显著降低。本研究 4 周同种异体骨血管化进程慢于自体骨,可能与早期的免疫反应有关。术后 8 周,随着软组织的侵入,移植骨段表面出现骨吸收陷窝,破骨细胞为血管长入提供通道,两组 VEGF 蛋白表达量逐渐增加,对照组多于实验组( $P < 0.05$ ),与 4 周纵向比较明显增多( $P < 0.05$ );实验组 CD34 阳性血管数和对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),与 4 周纵向比较明显增多( $P < 0.05$ )。术后 12 周,实验组 VEGF 蛋白灰度与对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),与 8 周比较明显减少( $P < 0.05$ );实验组 CD34 阳性血管数与对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),但较 8 周血管数减少( $P < 0.05$ )。这说明兔胫骨制备的同种异体骨 12 周时已经与自体骨无差异,VEGF 和 CD34 表达量都减少,表明移植骨段已经完成血管化,随着新生骨细胞数量的增多和移植骨段的活化,新生血管量趋于减少,骨的生成与新生血管之间保持一种动态平衡。

大段同种异体骨异位血管化后,可转化为带血管蒂的血管化骨进行复合组织瓣移植修复大段骨皮缺损,移植后不用经过漫长的爬行替代,就如同双极骨折一样实现骨愈合,而且血管化骨还有一定的抗感染能力,不仅弥补了自体带血管活骨移植骨量有限的缺点,而且抗感染和骨的血管化同时进行,节省了时间,对保持原来骨的形状和结构,具有重要的临床意义。

## 参考文献:

- [1] 邹林,蔡锦方,刘立峰,等. 小腿外侧腓骨皮瓣交腿修复合并血管损伤的大段胫骨骨感染及缺损[J]. 中华骨科杂志, 2012, 32(7): 675-680.
- [2] 王俊文,程文俊,张青松,等. 同种异体骨混合自体骨复合骨形态发生蛋白-2 修复胫骨骨缺损的研究[J]. 中华实验外科杂志, 2013, 30(2): 394-396.
- [3] Devine J G. Bone grafting techniques in idiopathic scoliosis; a confirmation that allograft is as good as autograft but dispels the purported pain associated with the iliac crest bone graft harvest[J]. Spine J, 2013, 13(5): 530-531.
- [4] 陈振光,祝少博,郑晓晖. 带血管同种异体骨移植研究进展[J]. 中华显微外科杂志, 2007, 30(4): 249-253.
- [5] 李志云,邵增务. 大段同种异体骨修复骨肿瘤手术后缺损研究进展[J]. 国际骨科学杂志, 2012, 33(1): 57-59.
- [6] 丛宪玲,王金成,王亮,等. 骨库的特点及发展趋势[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(33): 6235-6238.
- [7] 田君才,杜国亮,张桂霞. 人工免疫组化判定结果与灰度值相关性[J]. 临床与实验病理学杂志, 2010, 26(1): 112-113.
- [8] Liu L, Tang K L, Yang L, et al. Study of biological safety of scaffold material with heterologous deproteinized bone[J]. Chin J Traumatol, 2006, 9(4): 234-237.
- [9] 王剑利,王五洲,郭永强,等. 长段同种异体骨与自体带血管组织组合治疗大段骨缺损的总结[J]. 中华显微外科杂志, 2010, 33(5): 371-374.
- [10] 冯琳,刘洪臣. “成血管化”对组织工程骨成骨的影响[J]. 中华老年口腔医学杂志, 2013, 11(1): 34-38.
- [11] Amini A R, Laurencin C T, Nukavarapu S P. Differential analysis of peripheral blood- and bone marrow-derived endothelial progenitor cells for enhanced vascularization in bone tissue engineering[J]. J Orthop Res, 2012, 30(9): 1507-1515.
- [12] Nagi O N. Revascularization of diaphyseal bone segments by vascular bundle implantation[J]. Clin Orthop Relat Res, 2005, 440: 233-241.
- [13] 杨小彬,胡蕴玉,徐建强,等. 同种异体骨复合带血管自体骨移植修复大段骨缺损的实验研究[J]. 中国骨肿瘤骨病, 2009, 8(1): 35-38.
- [14] 王耀一,杨新明,胡振顺,等. 带蒂筋膜瓣促非细胞型组织工程化骨血管化及其成骨的组织学变化[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(15): 2674-2680.
- [15] 蔡瑞霖,陈长青. 骨移植再血管化过程中相关生长因子的研究进展[J]. 当代医学, 2011, 17(32): 16-18.
- [16] 李秋平,马兴娜,张小英,等. 氧诱导支气管肺发育不良鼠肺微血管发育及 CD34 表达情况[J]. 解放军医药杂志, 2014, 26(1): 25-28, 39.
- [17] Fedorovich N E, Haverslag R T, Dhert W J, et al. The role of endothelial progenitor cells in prevascularized bone tissue engineering: development of heterogeneous constructs[J]. Tissue Eng Part A, 2010, 19(7): 2355-2367.
- [18] 周宗科,裴福兴,程惊秋,等. 不同方法处理对同种异体皮质骨板移植组织相容性的影响[J]. 华西医学, 2005, 20(1): 30-32.
- [19] 夏武宪,郭华,李龙腾,等. 深低温冷冻骨的形态学及免疫组织化学检测[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(37): 6863-6865.

(收稿:2014-05-04;修回:2014-06-16)

(编辑 龙亮)