

新型组织工程化骨磷酸钙骨水泥/聚乳酸-聚羟基乙酸复合骨髓间充质干细胞修复兔桡骨缺损**

王剑龙, 米雷, 侯光辉, 郑治

Repair of radial defects using calcium phosphate cements/poly lactic-co-glycolic acid materials combined with mesenchymal stem cells in rabbits

Wang Jian-long, Mi Lei, Hou Guang-hui, Zheng Zhi

Abstract

BACKGROUND: It is confirmed that calcium phosphate cements/poly lactic-co-glycolic acid (CPC/PLGA) composites materials which were successfully prepared has good mechanical strength and biocompatibility.

OBJECTIVE: To further verificate the feasibility of the composite CPC/PLGA materials combined with mesenchymal stem cells to repair segmental bone defects.

DESIGN, TIME AND SETTING: The randomized control experiment of in vivo observation was performed at the Central Laboratory of the Third Affiliated Hospital of Xiangya Medical College, Central South University from January 2004 to December 2005.

MATERIALS: Prepared tissue engineered bone with self-made CPC/PLGA materials combined with rabbit mesenchymal stem cells.

METHODS: Forty Japanese white rabbits were randomly divided into 4 groups after created radius bone defects models. Tissue engineered bone, CPC/PLGA materials, CPC/PLGA materials combined with mesenchymal stem cells and CPC were implanted into bone defects, respectively.

MAIN OUTCOME MEASURES: The osteogenic effects of materials were investigated by X-ray examination, histomorphology and electron microscope observation at different times.

RESULTS: X-ray results showed that the amount of new bone formation in the tissue engineered bone group was more than that in the other groups at different times, the degradation rate was also faster. Osteoblasts and bone trabecula in the tissue engineered bone group appeared earlier than other groups. Electron microscope photograph showed that bone formation rate in the tissue engineered bone group was faster than that of the other groups.

CONCLUSION: The CPC/PLGA materials combined with mesenchymal stem cells could promote the growing of bone issues, it is a kind of new bio-composite material for repairing bone defects.

Third Affiliated Hospital of Xiangya Medical College, Central South University, Changsha 410013, Hunan Province, China

Wang Jian-long, Doctor, Associate chief physician, Associate professor, Tutor of Master, Third Affiliated Hospital of Xiangya Medical College, Central South University, Changsha 410013, Hunan Province, China Wj11972@126.com

Correspondence to: Zheng Zhi, Doctor, Senior engineerer, Third Affiliated Hospital of Xiangya Medical College, Central South University, Changsha 410013, Hunan Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of China, No.30370412*; the Scientific Research Fund of Technology Department of Hunan Province, No.06FJ3191*

Received: 2008-07-11 Accepted: 2008-08-20

Wang JL, Mi L, Hou GH, Zheng Z. Repair of radial defects using calcium phosphate cements/poly lactic-co-glycolic acid materials combined with mesenchymal stem cells in rabbits. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu 2008;12(41):8001-8005 [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 前期已成功制备磷酸钙骨水泥/聚乳酸-聚羟基乙酸 (calcium phosphate cements /PLGA, CPC/PLGA) 生物复合材料, 并证实具有良好的机械强度和生物相容性。

目的: 进一步验证 CPC/PLGA 复合骨髓间充质干细胞作为一种新型组织工程化骨材料修复骨缺损的可行性。

设计、时间及地点: 随机对照动物体内观察, 于 2004-01/2005-12 在中南大学湘雅三医院中心实验室完成。

材料: 自制 CPC/PLGA 支架材料, 与兔骨髓间充质干细胞复合培养制备组织工程骨。

方法: 日本大耳白兔 40 只, 制备桡骨骨缺损模型后随机分成 4 组, 于骨缺损处分别植入组织工程骨、CPC/PLGA 复合材料、复合了种子细胞的磷酸钙骨水泥及单纯磷酸钙骨水泥。

主要观察指标: 经不同时间的 X 射线片、组织形态学及电镜观察, 了解各组材料的成骨作用。

结果: X 射线照片显示组织工程骨组不同时间新骨形成的量均优于其他组, 其骨缺损修复的方式和速度均优于其他组; 组织学观察到组织工程骨组的成骨细胞及骨小梁出现均早于其他组; 电镜结果表明, 与其他组相比较, 组织工程骨组的成骨速度较快。

结论: 种植了骨髓基质干细胞的 CPC/PLGA 复合物能促进骨组织生长, 有望作为一种新型人工骨材料修复骨缺损。

关键词: 磷酸钙骨水泥; 聚乳酸-聚羟基乙酸; 骨髓间充质干细胞; 骨缺损; 生物材料

王剑龙, 米雷, 侯光辉, 郑治. 新型组织工程化骨磷酸钙骨水泥/聚乳酸-聚羟基乙酸复合骨髓间充质干细胞修复兔桡骨缺损[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(41):8001-8005 [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

中南大学湘雅三医院, 湖南省长沙市 410013

王剑龙☆, 男, 1972年生, 汉族, 2004年中南大学毕业, 博士, 副主任医师, 副教授, 硕士生导师, 主要从事骨组织工程及骨缺损修复、脊柱疾病方面的基础与临床研究。Wj11972@126.com

通讯作者: 郑治, 博士, 高级工程师, 中南大学湘雅三医院, 湖南省长沙市 410013

国家自然科学基金资助项目(30370412)*; 湖南省科技厅课题(06FJ3191)*

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225(2008)41-08001-05

收稿日期: 2008-07-11
修回日期: 2008-08-20
(54200807110020/N·Z)

>> 本文导读 <<

课题背景: 课题组在 2005 年国家自然科学基金项目(30200064)研究中发现, 获得转染 BMP-2 基因的卵黄囊间质干细胞技术困难, 而且成本很高, 限制了这种种子细胞的应用。2005 年在国家自然科学基金(30370412)的资助下, 成功地将磷酸钙骨水泥与聚乳酸羟基乙酸共聚物微粒聚合制备成新型骨支架材料, 且证实这种支架材料具有良好的机械强度和生物相容性。为了寻找一种理想的新型组织工程骨, 课题组尝试以骨髓间充质干细胞作为种子细胞与上述生物材料复合构建有生物活性的新型组织工程化骨。

应用要点: 实验证实了三维多孔支架材料 CPC/PLGA 可以作为骨组织工程的支架材料安全应用。骨髓间充质干细胞与 CPC/PLGA 复合材料复合, 可以加快骨缺损的修复, 可作为一种新型复合人工骨修复骨缺损, 具有良好的临床应用前景。

同行评价: 实验把无机材料磷酸钙骨水泥与有机高分子材料聚乳酸-聚羟基乙酸结合起来克服了无机材料和有机材料各自的缺点, 用它作为骨组织工程的支架材料与骨髓间充质干细胞构建组织工程化骨修复兔桡骨缺损, 取得了较好的治疗效果。文章论据充足、逻辑较严密、在骨支架材料方面具有一定的创新, 对骨组织工程的研究具有一定指导意义。

0 引言

各种原因造成的骨缺损, 尤其是大段骨缺损的修复一直是困扰着矫形外科、颌面外科的一大难题^[1]。目前临床上常用治疗方法有自体骨移植、同种异体骨移植、人工合成生物替代物移植 3 种方法, 但分别存在增加创伤、供量有限、有免疫原性、生物相容性差等缺点。

1995 年 Crane 等^[2]全面提出了骨组织工程的概念、方法、现状和前景。骨组织工程应用工程学和生命科学的原理和方法, 将种子细胞与生物载体材料(即支架)复合后进行培养, 在体内形成具有生理功能的骨组织, 替代和恢复病变骨组织的功能。这种方法有望解决各种骨缺损修复方法的不足, 成为骨缺损修复的一种全新治疗模式。实验使用磷酸钙骨水泥(calcium phosphate cements, CPC)/聚乳酸-聚羟基乙酸(PLGA)做为生物载体材料, 与种子细胞骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)复合后进行培养, 并植入动物骨缺损区, 探讨此种新型组织工程化骨的成骨活性。

1 材料和方法

设计: 细胞学微观观察, 动物体内实验。

时间和地点: 实验于 2004-01/2005-12 在中南大学湘雅三医院中心实验室完成。

材料: 日本大耳白兔 40 只, 雌雄不拘, 体重 2.5~3.0 kg, 由中南大学实验动物学部提供。实验过程中动物处置符合 2006 年科技部《关于善待实验动物的指导性意见》中的标准^[3]。

材料、试剂和仪器	来源
CPC	上海瑞邦生物材料有限公司
PLGA	山东岱罡生物科技有限公司
苏木精、伊红染液、PBS 缓冲液、DSA 封闭液、戊二醛、钨酸、硝酸异戊酯	武汉虹宇生物科技有限公司
EDTA、NaOH 颗粒剂、枸橼酸盐缓冲液	福州迈新生物技术有限公司
培养瓶、培养板、Tip 头等一次性耗材	Corning 公司 美国
戊巴比妥钠、无水乙醇、二甲苯、浓盐酸、丙酮	中南大学湘雅医学院药理学教研室
JSN5600-LV 型 SME X-线摄影仪	日立公司, 日本
XDS-IB 倒置显微镜	西门子公司, 德国
	上海长方光学仪器有限公司

DMEM 完全培养液: 1 L 低糖 DMEM 培养液中加入 100 mL 胎牛血清(FBS), 0.22 μm 过滤器过滤除菌, 4 ℃ 避光保存。

消化液: 0.25% 胰蛋白酶、0.02% EDTA, 用 0.01 mol/L PBS (pH=7.2) 配制。搅拌溶解后, 0.22 μm 过滤器过滤除菌, 4 ℃ 避光保存。

实验方法:

CPC/PLGA 支架材料的制备: 在 PLGA 中加入少许液氮, 在碾钵中充分碾碎, 60 目不锈钢筛网筛选, 收集筛选出的 PLGA 微粒。按最佳质量比例分别称取 CPC 和 PLGA 微粒, 均匀混合, 以质量(g)/体积(mL)比为 3:1 加入固化液, 搅拌成糊状后填入模具挤压成型, 室温下静置 15 min, 放入 Ringer's 液中浸泡 3 d 后风干制成。环氧乙烷消毒, 封装, 备用。

兔 BMSC 分离培养: 用含 2 000 U/mL 肝素的生理盐水湿润 5 mL 注射器内壁。动物经戊巴比妥钠耳缘静脉注射麻醉后, 无菌条件下以 20 mL 注射器针头自兔髂嵴处刺入髂骨骨髓腔, 5 mL

注射器内吸入含1 000 U/mL肝素的生理盐水1 mL,以注射器抽吸双侧骨髓共5 mL,抽吸的骨髓与肝素盐水及时混匀。铺在等量的密度为1.037的Percoll分离液上,低速离心1 000 r/min × 5 min,弃上清液,制成单细胞悬液,血球计数板计数, $5 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$ 密度接种于25 cm²培养瓶,加入培养基至5~8 mL。置37℃、体积分数为0.05的CO₂、饱和湿度孵箱内孵育,24 h后半量换液,72 h后全量换液,以后每两三天全量换液一次,倒置显微镜逐日观察。0.25%胰酶消化原代细胞(3 min),以 $1 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$ 按1:2比例传代接种培养。

细胞与材料的复合培养:将第2代的骨髓基质干细胞用0.25%胰酶消化,以 $5 \times 10^{10} \text{ L}^{-1}$ 接种于材料上,置37℃、体积分数为0.05的CO₂、饱和湿度孵箱内孵育。

动物实验:40只兔随机分成4组,每组10只。所有动物麻醉后,逐层分离显露桡骨,以齿科磨锯截取15 mm桡骨及骨膜缺损^[4],生理盐水冲洗后,于骨缺损处分别植入新型组织工程骨、CPC/PLGA复合材料、复合了种子细胞的CPC及单纯CPC。3-0丝线逐层缝合周围软组织。术后分笼饲养,观察动物的一般状况和切口情况^[5-6]。

主要观察指标:

一般情况:观察动物一般情况及伤口局部的术后情况。

X射线片:各组取同种照射条件,于术后2,4,6,8周拍片了解骨痂生长情况。

局部标本大体观察:观察骨缺损区新骨形成情况。

电镜观察:于2,4,6和8周分别取各组取邻近骨材料两端的钝性断面,将标本制成5 mm × 1 mm × 1 mm大小。

浸入生理盐水中超声清洗5~10 min,用4%的戊二醛固定24 h,再用1%的锇酸固定2 h以上,分别用50%,70%,90%,100%的丙酮进行4次梯度脱水,每次10 min。

50%、70%、90%、100%的醋酸异戊酯置换4次,10 min/次,通过临界点干燥法,应用临界点干燥仪、液态CO₂等进行干燥。

EiKOIB-5型离子溅射仪真空喷镀金膜,然后用JSM5600-LV型扫描电镜获取图像。

组织学观察:动物处死后,取骨缺损修复区标本,脱钙,甲醛固定24 h,石蜡包埋后做常规组织学切片,苏木精-伊红染色,光镜下观察植入材料的组织形态学。

设计、实施、评估者:第一、四作者设计,第二、三作者实施,第一、二、三作者采用三人盲法评估。

2 结果

2.1 动物一般情况观察 术后各组动物一般状况良好,各组伤口一周后完全愈合,未发生感染。饲养过程中无死亡。患肢均无明显肿胀、渗出及窦道形成。

2.2 X射线片及样本局部大体观察

组织工程骨组:

术后2周,断端出现少量骨痂,植入材料部位出现散在局限性密度增高影;

术后4周,断端两侧有骨痂生长,按植入降解材料的外形,出现广泛的高密度影;

术后6周,骨痂增多;

术后8周,移植物与正常骨之间界限不清,移植物形态不规则,见图1a。

CPC/PLGA复合材料组:

术后2周,骨缺损外形明显,断端出现少量骨痂;

术后4周,断端两侧骨痂按植入骨的外形进一步生长,并有聚集趋势;

术后6周,移植物与正常骨之间界限较前模糊;

术后8周,移植物与正常骨之间的界限进一步模糊,移植物形态不规则,见图1b。

复合种子细胞的CPC组:

术后2周,骨断端出现少量骨痂,面积小,密度不高;

术后4周,可见两断端骨痂生长,有向中线聚集趋势,骨缺损处凹陷;

术后6周,两断端骨痂进一步生长、聚合,骨缺损处仍有明显的凹陷;

术后8周,骨缺损处骨质密度增高,见图1c。

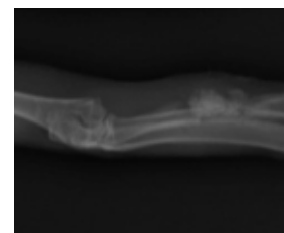
单纯CPC组:

骨痂生长缓慢,至6周时移植物周围被骨痂完全包裹,处死动物,去除包裹的骨痂,可见部分移植物未与宿主骨融为一体,仍为颗粒粉末状;

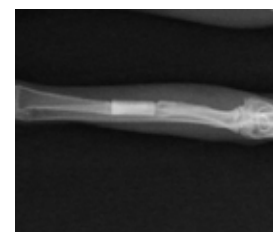
术后8周,移植物周围被大量骨痂包裹,比6周明显增多,移植物形态发生改变,见图1d。



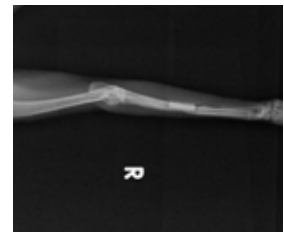
a: Tissue engineered bone group



b: CPC/PLGA materials group



c: CPC/PLGA materials combined with mesenchymal stem cells group



d: CPC group

CPC/PLGA: calcium phosphate cements/poly lactic-co-glycolic acid

Figure 1 X-ray results of grafts at 8 weeks after implantation
图1 术后8周各组移植部位X射线片

2.3 组织学检查

光镜结果：

组织工程骨组：

术后2周, 缺损处PLGA降解形成的孔隙中有散在成团的软骨细胞和少量多核细胞浸润;
 术后4周, PLGA明显降解, 遗留孔隙被新生骨样组织占据, 新生骨相互连接, 基本填充了缺损;
 术后8周, 可见较多成熟的骨小梁, 其内可见较多的成熟成骨细胞、破骨细胞, 且有较成熟的骨细胞和骨基质, 见图2a。

CPC/PLGA复合材料组：

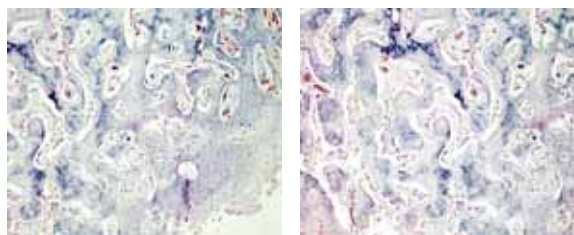
术后2周, 断端有新生骨长入PLGA降解后形成的孔隙, 可见多核细胞浸润;
 术后4周, 新生骨继续生长;
 术后8周, 两侧断端骨痂汇合, 有少量的骨小梁, 其内有较多的软骨细胞, 并趋向成熟, 较少的成熟成骨细胞、破骨细胞, 见图2b。

复合种子细胞的CPC组：

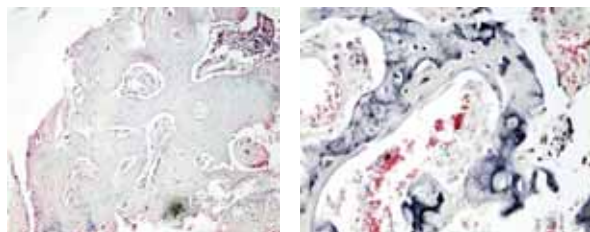
术后2周, 两侧断端有少量新骨生长, 无明显炎性反应;
 术后4周, 两侧新骨继续生长, 可见不同时期的软骨细胞及成骨细胞, 骨缺损部位无软组织长入;
 术后8周, 骨缺损部位被新生骨填充, 可见成熟的骨小梁, 但明显较组织工程骨组少, 其内软骨细胞更成熟, 可见少量的成骨细胞、破骨细胞, 见图2c。

单纯CPC组：

术后2、4及6周, 骨缺损处有少量软骨化骨,
 术后8周, 缺损处大部分由纤维组织填充, 有少许的软骨细胞增生, 散在的骨小梁、骨基质形成, 见图2d。



a: Tissue engineered bone group b: CPC/PLGA materials group



c: CPC/PLGA materials combined with mesenchymal stem cells group d: CPC group

CPC/PLGA: calcium phosphate cements/poly lactic-co-glycolic acid

Figure 2 Light microscope photograph of grafts at 8 weeks after implantation (HE staining X100)

图2 术后8周各组移植部位光镜照片(苏木精-伊红染色, ×100)

电镜结果：

术后4周——

组织工程骨组：

大部分已被胶原纤维充填, 胶原纤维相互交织成粗大的胶原纤维束, 胶原纤维束排列较松散、紊乱, 与骨水泥及脱钙骨基质骨粒相互嵌插, 已形成成熟的骨小梁, 见图3a。

CPC/PLGA复合材料组：

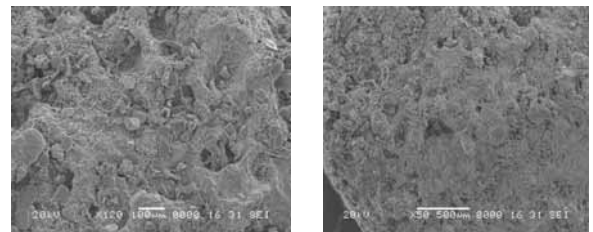
植入区有纵横交错的胶原纤维, 未见片状和颗粒状钙盐结晶沉积, 骨小梁形成不明显, 较复合种子细胞的CPC组和单纯CPC组明显, 但较组织工程骨组差, 见图3b。

复合种子细胞的CPC组：

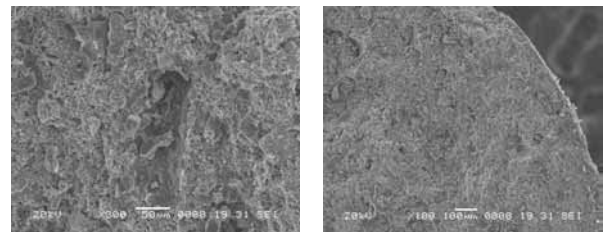
植入区CPC颗粒间主要为排列紧密。纵横交错的胶原纤维, 少量片状和颗粒状钙盐结晶沉积, 少量骨小梁形成, 见图3c。

单纯CPC组：

大部分为排列紧密, 纵横交错的胶原纤维, 可见片状和颗粒状钙盐结晶沉积, 骨小梁形成, 见图3d。



a: Tissue engineered bone group b: CPC/PLGA materials group



c: CPC/PLGA materials combined with mesenchymal stem cells group d: CPC group

CPC/PLGA: calcium phosphate cements/poly lactic-co-glycolic acid

Figure 3 Electron microscope photograph of grafts at 4 weeks after implantation

图3 术后4周各组移植部位电镜照片

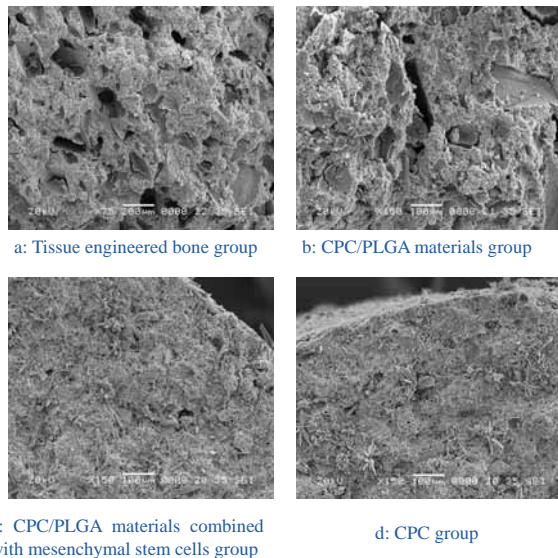
术后8周：

组织工程骨组, 有大量原始骨髓腔形成, 已形成成熟的骨小梁, 见图4a。

CPC/PLGA复合材料组, 大部分骨小梁形成较复合种子细胞的CPC组和单纯CPC组多, 但较组织工程骨组差, 原始骨髓腔形成较组织工程骨组差, 见图4b。

复合种子细胞的CPC组, 植入区未见明显原始骨髓腔, 少量骨小梁形成, 见图4c。

单纯CPC组, 植入区未见明显的原始骨髓腔, 极少量骨小梁形成, 见图4d。



c: CPC/PLGA materials combined with mesenchymal stem cells group
d: CPC group

CPC/PLGA: calcium phosphate cements/poly lactic-co-glycolic acid

Figure 4 Electron microscope photograph of grafts at 8 weeks after implantation

图4 术后8周各组移植部位电镜照片

3 讨论

目前,用于骨组织工程细胞种植基质材料有两大类,一类是天然细胞种植基质材料,另一类为人工合成细胞种植基质材料。但是两类基质材料均存在不同的缺点,如CPC的脆性大,体内降解缓慢;PLGA的亲水性不足,细胞吸附能力较弱,降解过程中引起局部的pH值下降,可引起无菌性炎症。实验将CPC与PLGA混合制备成新型的组织工程化骨植入动物体内观察修复骨缺损的情况。实验中植入CPC/PLGA的动物肢体仅发现有少量类似多核细胞浸润,表现为镜下无菌炎性反应,未发现肢体肿胀或窦道形成等不良后果,说明该材料具有良好的组织相容性。符合前期相关实验结果^[7-8]。

理想的骨组织工程种子细胞应具备以下几个方面的要求^[9-11]:取材容易,对机体损失小;体外培养时增殖能力强,能稳定表达成骨细胞表型;植入体内后能继续成骨等特点。实验中可见兔MSCs可由骨髓穿刺获得,操作创伤小,简易规范,骨髓中细胞数目稳定,培养成功率高。对原代MSCs进行传代培养可以纯化MSCs,且多次传代后仍保持较强的增殖能力,植入动物体内未引起明显的排斥反应,推测原因由于MSCs较原始,免疫原性小,同种属间免疫排斥很小。

实验通过大体观察、影像学、组织学、电镜等方法观察到构建的组织工程骨良好的修复大段骨缺损的能力。从X射线观察,组织工程骨组具有随时间延长而递增的骨重建功能的特征,证实了支架材料具有大段骨缺损的优良重建修复功能。大体观察结果表明,本材料具有良好的

降解性和生物相容性,植入8周内,未观察到任何急、慢性毒性反应,手术切口未见明显的炎症反应,伤口均如期愈合,说明植入的材料具有良好的生物相容性。组织学观察到组织工程骨组的成骨细胞及骨小梁出现均早于其他组,可能为有机材料PLGA降解后形成的孔洞有利于骨髓间充质干细胞长入材料,加之无机材料CPC具有诱导骨形成功能,故其骨缺损修复所需时间较其他组短。电镜观察结果表明,组织工程骨组8周时缺损修复的效果优于其他组,可见原始骨髓腔的形成。进一步证明有机材料PLGA降解后形成的孔洞有利于骨髓间充质干细胞长入材料,对原始骨髓腔的形成可能有一定的促进作用。

CPC材料的制备工艺可使其获得天然的微孔结构,它虽使材料具有骨传导性,但也影响力学性能。孔径越大,或孔隙率越大,材料的强度越小,当孔隙率达到63%时,CPC的抗压强度为0^[11]。另一方面,较小的孔径,较低的孔隙率虽然可使材料获得更高的力学强度,却不利于新骨的长入。故为使材料具有良好的骨传导性,同样不应盲目地降低孔隙率,缩小孔径。实验在固相中掺入一定比例的PLGA作为成孔剂,目的在于使材料在长期的降解和骨替代的过程中,获得一定的空隙率。结果显示加入致孔剂PLGA组的修复效果优于其他组。其机制可能是致孔剂加入后在不降低的CPC的力学强度的基础上更利于骨髓基质间充质干细胞的长入从而加速骨缺损的修复。

4 参考文献

- Li QH. Zhonghua Guke Zazhi 1997;17(1):13-14
李起鸿. 我国修复长骨大段骨缺损的进展[J]. 中华骨科杂志, 1997, 17(1): 13-14
- Crane GM, Ishaug SL, Mikos AG, et al. Bone tissue engineering. Nat Med 1995;1(12):1322-1324
- The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance suggestion of caring laboratory animals. 2006-09-30. http://www.most.gov.cn/zfwj/zfwj2006/200512/t20051214_54389.htm.
中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见. 2006-09-30. http://www.most.gov.cn/zfwj/zfwj2006/200512/t20051214_54389.htm
- Baadsgaard K. Defect pseudarthroses. An experimental study on rabbits. Acta Orthop Scand 1969;40(6):689-695
- Zellin G, Linde A. Treatment of segmental defects in long bones using osteopromotive membranes and recombinant human bone morphogenetic protein-2. An experimental study in rabbits. Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg 1997;31(2):97-104
- Hollinger JO, Leong K. Poly(alpha-hydroxy acids) carrier for bone morphogenetic proteins. Biomaterials 1996;17(2):187-194
- Xiang QJ, Liu Y, Zheng Z, et al. Fenmo Yejin Cailiao Kexue yu Gongcheng 2005;10(6):361-364
向其军, 刘咏, 郑治, 等. 磷酸钙骨水泥/聚乳酸2聚羟基乙酸复合材料的制备及性能[J]. 粉末冶金材料科学与工程, 2005, 10(6): 361-364
- Xiao F, Zheng Z, Wang JL. Zhonghua Shiyuan Waikexue Zazhi 2006;23(10):1254-1256
肖飞, 郑治, 王剑龙. 新型支架材料磷酸钙骨水泥-聚乳酸聚羟基乙酸二聚体复合物生物相容性的研究[J]. 中华实验外科杂志, 2006, 23(10): 1254-1256
- Xu GH, Li JS, Ye XJ. Jizhu Waikexue Zazhi 2005;3(1):47-50
许国华, 李家顺, 叶晓健. 组织工程化人工骨的研究进展[J]. 脊柱外科杂志, 2005, 3(1): 47-50
- Burg KJ, Porter S, Kellam JF. Biomaterial developments for bone tissue engineering. Biomaterials 2000;21(23):2347-2359
- Ishikawa K, Asaoka K. Estimation of ideal mechanical strength and critical porosity of calcium phosphate cement. J Biomed Mater Res 1995;29(12):1537-1543